

مقایسه دو تست PPD و BCG برای ارزیابی ایمن سازی واکسن BCG

در کودکان سه ساله شهرکرد

دکتر مجید آویزگان* دکتر نصراله بشردوست**

چکیده :

این مطالعه تشخیصی به منظور مقایسه دو تست PPD و BCG برای پاسخ ایمنی در برابر سل پس از واکسیناسیون صورت گرفت. در این مطالعه ۳۰۰ کودک ۳ ساله (۱۵۹ پسر و ۱۴۱ دختر) انتخاب و برای هر نفر دو تست انجام شد. در یک دست PPD ۵ واحدی و در دست دیگر BCG ۰/۱ سی سی داخل جلدی تزریق گردید. نتایج PPD در روز سوم و BCG در روز پنجم از نظر سفتی و نیز ظهور پوسچول بررسی شد. کودکان از نظر وزن دارای توزیع نرمال بودند. ۹۶ درصد موارد افراد اسکار ناشی از واکسیناسیون BCG بدو تولد را داشتند. ۹۳/۹ درصد افراد PPD منفی و ۸۵/۶ درصد دارای تست BCG مثبت بودند. اکثریت موارد BCG در محدوده ۱۹-۱۰ میلی متر قرار داشتند. در ۴۸ درصد افراد پوسچول در محل تزریق BCG رؤیت شد که ارتباط معنی داری با وزن کودکان به صورت کمی داشت به طوری که افراد با وزن بالاتر، بیشتر پوسچول دار می شدند ولی بین سفتی BCG و وزن ارتباط معنی داری دیده نشد. همچنین جنس با اندازه نتیجه تست ارتباطی نداشت. با استفاده از آزمون های آماری بین ظهور پوسچول و اندازه BCG از نظر کمی و یا کیفی ارتباط معنی دار بود ($P < 0/001$).

کلید واژه ها : تست تویرکولین - ب. ث. ژ - واکسیناسیون - کودکان

Keywords : P.P.D , BCG , Vaccination , Children

□ مقدمه :

BCG قرار گرفتند. روز اول 1 ml / ۰ از محلول BCG شامل $1-5 \text{ mg}$ / ۰ در میلی لیتر سوش ضعیف شده میکوباکتریوم بویس تولید انستیتو رازی (معتبر تا پایان آذر ۱۳۷۶) در بازوی راست و میزان 1 ml / ۰ میلی لیتر از محلول یک Unit ۵ واحدی از PPD معادل $0/0001 \text{ mg}$ در $0/1 \text{ ml}$ از محلول PPD-S تولید انستیتو رازی (معتبر تا پایان خرداد ۱۳۷۷) در بازوی چپ به روش داخل جلدی تلقیح گردید. سپس روز سوم، محل PPD از نظر اندوراسیون و محل BCG از نظر اندوراسیون و پوسچول بازرسی و ثبت گردید. آنگاه مجدداً روز پنجم، محل تست BCG از نظر میزان اندوراسیون و وجود پوسچول معاینه و میزان آن ثبت گردید. اندوراسیون $5-0$ میلی متر منفی و $9-6$ میلی متر مثبت و $10 >$ میلی متر مثبت قوی محسوب شد. ضمناً نمونه‌ها از لحاظ وجود اسکار واکسن BCG معاینه شدند. جاده سلامتی، عدم وجود سابقه فامیلی TB منتشر متعاقب دریافت واکسن BCG، نداشتن بیماری حاد یا مزمن، همچنین وزن فعلی بررسی و در صورت هرگونه اشکال در موارد مذکور کودکان از مطالعه خارج شدند.

□ یافته‌ها :

افراد مورد مطالعه شامل ۳۰۰ کودک، ۴۷ درصد دختر و ۵۳ درصد پسر، بودند. وزن ایشان تقریباً توزیع نرمال یا پراکندگی زنگوله‌ای داشت. از این افراد $83/3$ درصد در شهر و $16/7$ درصد در روستا ساکن بودند و حدود ۹۶ درصد پس از BCG بدو تولد اسکار در محل تلقیح را داشتند. در $93/9$ درصد افراد میزان سفتی PPD زیر ۵ میلی متر بود و منفی تلقی گردید. فقط در یک درصد اندازه واکنش $14-10$ میلی متر بود. پراکندگی واکنش تست BCG نیز ۸۶ درصد مثبت و

در حال حاضر عقیده بر این است که DTH پس از واکسن BCG را با پاسخ بدن در برابر تست توبرکولین یا PPD می‌توان ارزیابی کرد. ولی مطالعات انجام شده بر روی انسان و حیوان ارتباط قوی بین واکنش توبرکولین و ایمنی محافظتی در برابر میکوباکتریوم را نشان نداده است. همچنین DTH فقط بخشی از جواب ایمنی سلولی (CMI) میزبان به PPD است که ارتباط تنگاتنگی با ایمنی ناشی از BCG ندارد (۴). در بررسی‌های انجام شده در سنین مختلف، نتایج متفاوتی به چشم می‌خورد.

در یک مطالعه ۹۰ درصد دانش‌آموزان، هفت سال پس از واکسیناسیون BCG واکنش PPD ۵ واحدی کمتر از 10 میلی متر داشتند (۱). در مطالعه‌ای دیگر، $91/2$ درصد کودکان زیر دو سال DTH کمتر از 6 میلی متر در برابر PPD ۲ واحدی داشتند. همچنین ۶۰ درصد کودکان زیر $1/5$ سال پس از واکسیناسیون BCG بدو تولد و 37 درصد کودکان دو ماهه PPD زیر 10 میلی متر داشتند. در این مطالعه یک گروه کودک ۵ تا ۷ ماهه با PPD ۵ واحدی، 63 درصد واکنش منفی و در گروه دیگری از کودکان همین سن با تست BCG $6/8$ درصد واکنش منفی زیر 5 میلی متر داشتند (۶).

به همین منظور، مطالعه حاضر در یک گروه از کودکان انجام گردید تا تمام شرایط یکسان باشد و هدف اصلی آن نیز تعیین ایمنی القاء شده توسط واکسیناسیون BCG با استفاده از دو تست PPD و نیز BCG در کودکان سه ساله‌ای است که BCG را بدو تولد دریافت کرده‌اند.

□ مواد و روش‌ها :

در این مطالعه تشخیصی ۳۰۰ کودک ۳ ساله با روش تصادفی منظم انتخاب و تحت تست PPD و

جنس یکسان و با استفاده از تست X^2 بدون ارتباط با جنس بود (جدول شماره ۳).

۸۲ درصد دختران و ۸۸ درصد پسران واکنش مثبت BCG داشتند. جهت بررسی وجود ارتباط بین اندوراسیون BCG و جنس افراد با استفاده از آزمون X^2 مقایسه‌ای صورت گرفت که در اینجا نیز ارتباطی را نشان نداد (جدول شماره ۳).

براساس آزمون t که اندازه اندوراسیون BCG را به صورت کمی در دو گروه با پوسچول و بدون پوسچول مقایسه کرده است میانگین اندوراسیون BCG در گروه بدون پوسچول ۹/۹ و در گروه دیگر ۱۳/۴ بود ($P < ۰/۰۰۱$).

همین مقایسه را به صورت دیگری یعنی به صورت کیفی مثبت و منفی انجام دادیم که آزمون X و مک‌نمار اختلاف را نشان داد ($P < ۰/۰۰۱$). بنابراین بین ظهور پوسچول با کیفیت و کمیت BCG ارتباط وجود دارد. آزمون t بین دو متغیر اندوراسیون روز سوم BCG و روز پنجم که هر دو متغیر کمی هستند صورت گرفت و نشان داد میانگین اندوراسیون BCG در روز پنجم ۴/۳ میلی‌متر از میانگین روز سوم بیشتر و اختلاف معنی‌دار است ($P < ۰/۰۰۱$). به عبارت دیگر بهتر است که اندوراسیون BCG حتماً روز پنجم نیز قرائت گردد.

بحث و نتیجه‌گیری :

پس از تست PPD و قرائت نتایج، در ۹۳/۹ درصد واکنش منفی بود. در مطالعات دیگر میزان مثبت بالای ۵ میلی‌متر در سن ۳ ماهگی حدود ۱۹ درصد (۳) و در سن ۷ ماهگی ۱۰ درصد بوده است (۸) که بالاتر از ۶ درصد یافته مطالعه ما است. در گروه اسکاردار (۲۸۸ نفر) واکنش PPD زیر ۵ میلی‌متر و منفی در ۹۳/۹ درصد، بین ۶-۹ میلی‌متر در ۵/۴ درصد و واکنش بالاتر از ۱۰ میلی‌متر تنها در ۱ درصد دیده شد که

حدود ۱۴ درصد منفی زیر ۵ میلی‌متر بود (جدول شماره ۱).

بررسی واکنش تست‌ها در افرادی که اسکار داشتند (۲۸۸ نفر یا ۹۶ درصد کل) نشان داد که ۲۷۰ نفر از جمعیت اخیر (۹۳ درصد) واکنش منفی در تست PPD و ۳۹ نفر (۱۴ درصد) واکنش منفی در تست BCG داشتند. ولی ۲۴۹ نفر (۸۶ درصد) دارای واکنش BCG مثبت و ۱۸ نفر (۷ درصد) دارای واکنش مثبت PPD بودند. در بین گروه بدون اسکار (۱۲ نفر) تست PPD اندوراسیون بالای ۵ میلی‌متر نداشته ولی در تست BCG، ۷ نفر واکنش مثبت بالای ۶ میلی‌متر و ۵ نفر واکنش BCG زیر ۵ میلی‌متر داشتند.

در بررسی پوسچول پس از تست BCG، حدود نیمی از کودکان تحت مطالعه (۵۲ درصد) پوسچول نداشتند. با استفاده از آزمون آماری t بین وزن و ظهور پوسچول در کودکان مورد مطالعه ارتباط معنی‌دار وجود داشت ($P < ۰/۰۰۵$). در گروهی که پوسچول داشتند میانگین وزن، بالاتر از گروهی بود که پوسچول نداشتند. همین بررسی بین وزن افراد و BCG صورت گرفت که با استفاده از آزمون t اختلاف معنی‌دار نبود. با استفاده از آزمون مک‌نمار در کل افراد و نیز در گروه اسکاردار بین دو متغیر BCG و PPD مقایسه‌ای صورت گرفت که اختلاف آماری معنی‌دار ($P < ۰/۰۰۱$) و بیانگر وجود همبستگی و رابطه قوی بین این دو متغیر بود (جدول شماره ۲). به عبارت دیگر قدرت شناسائی DTH توسط تست BCG به مراتب بهتر از PPD بود. ولی در افراد بدون اسکار بدلیل کم بودن تعداد افراد امکان آزمون وجود نداشت.

۹۶ درصد دختران و ۹۱ درصد پسران واکنش PPD زیر ۵ میلی‌متر داشتند و واکنش بالای ۱۰ میلی‌متر فقط در یک دختر و دو پسر دیده شد. به این ترتیب پراکندگی واکنش PPD در این مطالعه در دو

از طریق واکنش برای تحریک سیستم ایمنی، به میزان بالائی آنتی ژن نیاز است.

گرچه واکنش BCG حاوی ۱۰۰۰۰۰۰ باسیل زنده ولی ضعیف شده است که احتمال واکنش های غیرعادی را در بر دارد اما مشابه مطالعات قبلی در این مطالعه نیز واکنش غیرعادی دیده نشد (۲). در این مطالعه اندوراسیون BCG در ۴۳ نفر (۱۴/۳ درصد) زیر ۵ میلی متر و منفی ولی در ۲۵۷ نفر (۸۵/۷ درصد) شامل ۴۴ نفر ۹-۶ میلی متر و ۲۱۳ نفر بیش از ۱۰ میلی متر واکنش مثبت بود (جدول شماره ۱). میزان ۸۵/۷ درصد مثبت، مشابه ۹۳/۲ درصد مثبت در اطفال ۷-۵ ماه است (۸) و این اختلاف ۸ درصد احتمالاً مربوط به گذشت ۳ سال از سابقه واکسیناسیون قبلی است. اگر جمعیت اطفال با اسکار، تحت بررسی قرار گیرد مجدداً ۸۶ درصد واکنش مثبت مطالعه ما مشابه ۹۲ درصد یافته مطالعه قبلی است (۸). دو برابر بودن یافته واکنش منفی مطالعه ما احتمالاً مربوط به گذشت زمان است که بررسی این مسئله به مطالعه دیگری نیاز دارد. شاید با روش های دیگر مثل اندازه گیری $INF - 8$ یا اثرات تحریکی لنفوپرولیفراتیو ناشی از BCG بتوان این مطالعه را انجام داد و اثرات جواب ایمنی BCG اختصاصی برای تویرکلوزیس را بررسی نمود (۵). ولی در افراد بدون اسکار واکنش مثبت در مطالعه قبلی ۴۱/۲ درصد (۸) و یافته ما ۵۹ درصد است یعنی ۴۱ درصد آزمون منفی BCG دارند. بنابراین وجود اسکار شانس مثبت شدن تست BCG را نسبت به گروه بدون اسکار بالا می برد و این یافته مشابه مطالعه قبلی است (۸). احتمالاً می توان نتیجه گرفت که در افراد بدون اسکار میزان منفی شدن واکنش BCG نسبت به افراد با اسکار بیشتر است.

در مطالعه ما مشخص گردید که افراد با میانگین وزن بالاتر نسبت به افراد با وزن کمتر، بیشتر

۵۸/۵ درصد و ۲۶/۷ درصد و ۱۴/۷ درصد به ترتیب میزان واکنش ها در مطالعه ای دیگر است (۸).

همچنین در جمعیت بدون اسکار (۱۲ نفر) واکنش مثبت دیده نشد (۸). بنابراین در زمان نزدیک به زمان واکنش BCG میزان مثبت شدن PPD بالاتر از زمان دورتر و نیز در گروه اسکاردار در هر دو زمان بالاتر از گروه بدون اسکار است. در حالی که در برخی از مطالعات عدم تأثیر اسکار را روی DTH پس از تست PPD ذکر کرده اند (۴) مطالعه ما و برخی دیگر تأثیر آن را نشان داده است (۸).

متوسط اندازه اندوراسیون PPD در این مطالعه ۰/۶ میلی متر بود که در مطالعه ای دیگر این میزان را از ۱۰/۸ میلی متر در سن سه ماهگی به حدود ۳/۸ میلی متر در سه سالگی ذکر کرده اند (۳)، هر دو مطالعه نشان می دهد که متوسط اندازه واکنش پس از ۳ سال منفی می گردد. بنابراین گذشت زمان، اثری معکوس روی نتیجه PPD دارد و به شرط اینکه با آنتی ژن تماس نداشته باشد (منطقه آندمیک) تست منفی می گردد. نسبت دادن PPD مثبت در یک طفل با سابقه واکسیناسیون به واکنش قبلی می تواند یک احساس امنیت کاذب در اطرافیان بوجود آورد (۴). لذا توصیه می گردد که کودکان با PPD+ حتی با سابقه واکسیناسیون بررسی بیشتری گردند.

در حالی که مطالعات بیان می کنند که اندازه اندوراسیون در دختران نسبت به پسران کوچکتر است (۷). ولی در مطالعه ای دیگر ارتباطی بین جنس اطفال و اندوراسیون و اندازه PPD مشاهده نشده است (۳).

در پایان لازم به ذکر است که هر چند PPD 5TU برای بررسی عفونت باسیل TB با بیماری سل در انسان استفاده می شود ولی جهت بررسی ایمنی زائی واکنش BCG باید از PPD 10TU استفاده گردد (۵) زیرا در مورد واکسیناسیون با توجه به ورود میزان کمی آنتی ژن

می‌گردد و ۲-۳ هفته پس از آن التیام می‌یابد. این سفتی بیانگر یک عفونت طبیعی است. تفاوت بین گروه ۲ و ۳ با استفاده از اطلاعات بالینی، رادیوگرافی و غیره است (۲). آیا این ۷۶ نفر (بدون پوسچول) واقعاً در گروه سوم جای می‌گیرد یا می‌توان آنها را در گروه دوم قرار داد و همچنین ۸ نفر گروه ۲ که پوسچول دارند را می‌توان در گروه سوم قرار داد. اگر افراد روز سوم تحت بررسی قرار می‌گرفتند و روز پنجم نیز اندازه اندوراسیون قرانت می‌گردید این مشکل تا حدود زیادی حل می‌گشت (جدول شماره ۴).

تفاوت گروه دوم و سوم در سرعت واکنش مثبت روز سوم (گروه سوم) و نیز ظهور پوسچول در روز پنجم (گروه سوم) است که زودتر از گروه دوم ظاهر می‌شود. لذا پیشنهاد می‌شود:

- افراد روز سوم و پنجم از نظر سفتی و نیز پوسچول بررسی شوند تا بهتر بتوان آنها را در گروه سوم یا دوم قرار داد.

- PPD نه در زمان نزدیک و نه در زمان دور توانائی شناسائی ایمنی پس از واکسیناسیون را ندارد لذا توصیه می‌شود که از تست BCG استفاده گردد.

- ظهور اسکار احتمالاً تأثیر واکسیناسیون را بالا می‌برد لذا در افراد بدون اسکار به دلیل احتمال عدم کارائی واکسن بهتر است مجدداً واکسینه شوند.

- بهتر است نتایج پوسچول و اندوراسیون BCG روز پنجم قرانت گردد.

- کودکان با سابقه واکسیناسیون BCG و PPD مثبت حتماً بررسی بیشتری گردند.

پوسچول دار هستند و اختلاف معنی‌دار است. همچنین بین ظهور پوسچول و سفتی BCG ارتباط وجود دارد به طوری که پوسچول فقط در گروه بالای ۵ mm واکنش دیده شد. پس بین پوسچول و وزن و بین پوسچول و سفتی BCG ارتباط وجود دارد ولی بین وزن و BCG ارتباط دیده نشد. مقایسه بین افراد BCG + PPD و BCG در کل افراد و نیز افراد با اسکار نشان می‌دهد که تست BCG توانائی بیشتری در شناسائی تحریک سیستم ایمنی ناشی از واکسیناسیون را دارد.

میزان واکنش مثبت آزمون BCG در کودکان، در روز اول ۷۷ درصد، دوم ۹۰ درصد، سوم ۹۲ درصد و روز چهارم تا هفتم برابر ۹۶ درصد بود (۸) در مطالعه ما اندازه متوسط اندوراسیون در روز پنجم ۴/۳ میلی‌متر بیش از روز سوم بوده که اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/001$). لذا این مشاهده‌ها نشان می‌دهد که بهترین زمان قرانت واکنش تست BCG روز پنجم است.

در قرانت واکنش BCG نه فقط سفتی و پوسچول بلکه شدت واکنش و ظهور سفتی پس از تزریق (ترجیحاً روز پنجم) اهمیت دارد (۲) پوسچول ظاهر شده در ۴۸ درصد (۱۴۳ نفر) در روز پنجم رؤیت گردید.

آزمون BCG در کودکانی که قبلاً واکسینه نشده‌اند (مثل مطالعه ما) به یکی از سه صورت زیر است (۲).

۱- آزمون منفی BCG: پاسخ پس از ۲-۳ هفته ظاهر و ۲-۳ ماه بعد التیام می‌یابد.

۲- آزمون تأخیر یافته یا مثبت ضعیف: سفتی به قطر $> 5\text{ mm}$ پیدا کرده و در روز ۱۰-۸ پوسچول ظاهر شده که بعد از ۳-۴ هفته التیام می‌یابد. این واکنش به دلیل واکسیناسیون قبلی است.

۳- آزمون مثبت BCG: ۲۴-۴۸ ساعت پس از تزریق، سفتی $> 5\text{ mm}$ و در روز پنجم، پوسچول ظاهر

جدول ۱:

توزیع فراوانی اندازه اندوراسیون در تست‌های BCG و PPD

۰-۵ mm		۶-۹ mm		>۱۰ mm		سایز اندوراسیون
PPD	BCG	PPD	BCG	PPD	BCG	تست
۲۸۲	۴۳	۱۵	۴۴	۳	۲۱۳	تعداد
۹۳/۹	۱۴/۳	۵/۱	۱۴/۷	۱	۷۱	درصد

جدول ۲:

توزیع فراوانی دو تست PPD و BCG برحسب نتایج تست

جمع	PPD		جمع
	-	+	
۴۳	۴۱	۲	-
۲۵۷	۲۴۱	۱۶	+
۳۰۰	۲۸۲	۱۸	جمع

جدول ۳:

توزیع فراوانی اندوراسیون BCG برحسب جنس

۰ mm		۱-۵ mm		۶-۹ mm		۱۰-۱۴ mm		اندوراسیون
BCG	PPD	BCG	PPD	BCG	PPD	BCG	PPD	تست
دختر	پسر	دختر	پسر	دختر	پسر	دختر	پسر	جنس
۳	۶	۱۲۵	۱۳۷	۱۵	۲۰	۱۱	۸	تعداد
۳۴	۳۰	۴	۱۲	۱۰۷	۸۵	۱	۲	تعداد
۲	۴	۸۸/۳	۸۶	۱۰	۱۴	۸	۵	درصد
۲۱	۲۲	۳	۸	۶۷	۶۰	۷/	۱	درصد

جدول ۴:

توزیع فراوانی افراد مورد مطالعه برحسب نتایج

سفتی در روز ۵	پوسچول	تعداد	درصد	تعریف
۰-۵	-	۴۳	٪۱۴/۳	آزمون منفی
۶-۹	-	۳۸	٪۱۲/۷	آزمون مثبت خفیف
۶-۹	+	۸	٪۲/۷	آزمون مثبت خفیف
>۱۰	-	۷۶	٪۲۵/۳	آزمون مثبت
>۱۰	+	۱۳۵	٪۴۵	آزمون مثبت

□ مراجع :

- 1- آویژگان ، مجید ؛ برجیان ، محمد تقی. توانائی تست PPD در شناسائی حساسیت تأخیری در افراد واکسینه با BCG ، خلاصه مقالات بیست و سومین کنگره منطقه‌ای اتحادیه بین‌المللی توبرکلوزیس و بیماریهای ریوی. تهران : اردیبهشت ۱۳۷۶. ص ۶.
 - 2- ولایتی ، علی اکبر. آزمون BCG در کتاب بیماری سل. تهران ، مرکز نشر دانشگاهی ، ۱۳۶۶ صص ۳۱-۳۲۰.
 3. Chhatwal , and etal. Waning of post vaccinalallergy after neonatal BCG vaccination. *Indian-Pediatr.* 1994 Dec ; 31 (12) : 1529-33.
 4. Johnson-H and etal. Tuberculin sensitivity and the BCG scar in tuberculosis contcets. *Tuber-Lung-Dis.* 1995 Apr : 76 (2) : 122-5.
 5. Kemp-E.B ; Belshe-R.B ; Hoft-D.F. Immune Responses stimulated by percutaneous and
- Interadermal Bacille calmette-Cuerin. Journal of Infectious Dis.* 1996 ; 174 : 113-9.
6. Pickwell , S.M. Positive PPD and chemoprophilaxis for TB infection. *AM Fam Physician.* 1995 Jun ; 51 (8) : 1929-34 , 1937-8.
7. Sepulveda-RL and etal. The influence of BCG immunization on tuberculin reactivity in healthy children of women in the third trimester of pregnancy. *Tuber-Lung-Dis.* 1995 Feb ; 76 (1) : 28-34.
8. Shariatzadeh , MR. Evaluation of BCG immunization within first 60 days of life. *Medical Journal of islamic republic of Iran.* 1996 Feb ; 9 (4) : 311-4.