



# Primāru imūndeficītu klīniskais skrīnings

Dr. Arina Lazareva

VSIA Bērnu klīniskā universitātes slimnīcā

Rīgas Stradiņa universitāte

Rīga, 2015

# Ievads

- Imūndeficīti tiek iedalīti tādos, kas skar specifisko imunitāti un dabīgo jeb nespecifisko imunitāti.
- Imūndeficītus var iedalīt arī primārajos un sekundārajos.
- Tāpat imunodeficītus var iedalīt pēc deficīta veida, piemēram, metabolie defekti, vitamīnu deficīti, nobriešanas deficīti.

# Ievads

- Klasiski PID ir relatīvi retas patoloģijas ar incidenci no 1:500 līdz 1:1000000.
- Pacienta vecums, kurā attīstās simptomi, dod labu norādi par iespējamo PID.
- Infekcijas veids arī ļauj domāt par noteiktu PID veidu.
- Agrīna PID diagnostika pirms nopietnu infekciju attīstīšanās ir svarīga slimības prognozei.

# Atpazīsti PID pazīmes un simptomus

## Rekurentas infekcijas

- 2 nopietnas vai 1 nopietna un 1 rekurenta viegla infekcija 1 gada laikā
- Neparasti mikroorganismi (*Aspergillus*, *Pneumocystis*), oportūnistu izraisītas infekcijas
- Neparastas lokalizācijas (aknu abscesi, ostomielīti)
- Hroniskas infekcijas (sinusīti)
- Strukturāli infekciju izraisīti bojājumi (piemēram, bronhektāzes, pneimatocēles)
- Ģeneralizētas kārpas vai kontagiozais molusks
- Izteikta kandidoze
- Vakcinācijas komplikācijas

# Ģimenes anamnēze

- Asins radniecība
- Neizskaidrojamas agrīnas zīdaiņu nāves
- Ģimenē iespējams ID, ģimenes locekļiem līdzīgi simptomi
- Skarti vīriešu dzimuma pārstāvji

# Citas pazīmes kas var norādīt uz PID

(bet var arī nenorādīt)

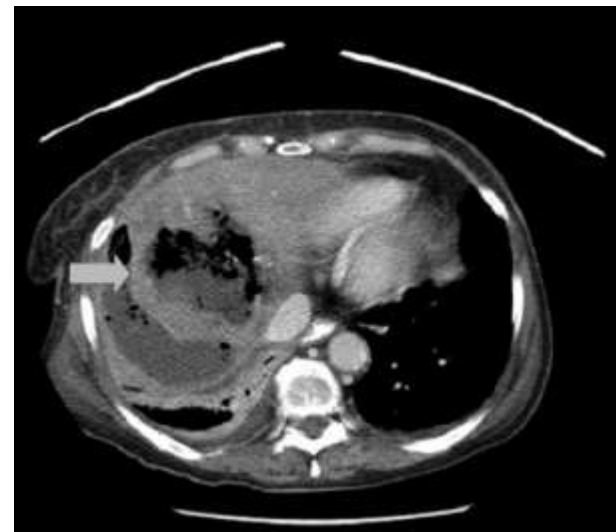
## Ādas un tās derivātu izmaiņas

- Aatipiska ekzēma - Viskota-Aldriča sindorms, Hiper-IgE sindroms, Omenn sindorms.
- Čūlas mutē (cikliski) – neitropēnija.
- Teleangektāzijas –Ataksija - teleangektāzija
- Ektodermāla displāzija
- Vēlīna nabas saites nokrišana - LAD.
- Bungvālišu pirksti
- Hipersensitivitāte pret saules gaismu
- Neonatāla eritoderma – Omenn sindorms
- Daļējs albīnisms – Čediaka – Higaši slimība, Grišcellī slimība
- Slikta brūču dzīšana, rētošanās
- Vaskulīts



# Citas klīniskās pazīmes

- Hronisks ostomielīts/dziļie abscesi – hroniskā granulomatozā slimība.
- Autoimunitāte – VVID, Hiper-IgM sindroms.
- Autoimūnas saslimšanas ģimenē.
- Fiziskās attīstības aizture (bērniem), svara zudums (pieaugušie).
- Hepatosplenomegālija – VVID, Omenn sindroms.



# Citas klīniskās pazīmes

- Ataksija – ataksijas-telangektāzija, purīna nukleozīda fosforilāzes (PNP) deficīts.
- Skeleta izmaiņas:
  - Īsas ekstrimitātes, dvarfisms – ar X hromosomu saistīts ID, Skrimšļa – matu hipoplāzija
  - Izmainītas ribas, lāpstiņas ADA deficīta gadījumā
  - Skolioze – Hiper IgE sindroms
  - Traucēta piena zobu šķilšanās, zobu attīstības traucējumi – Hiper IgE sindroms
  - Disproporcionāla augšana
  - Mikrocefālija



# Citas klīniskās pazīmes

- Endokrinopātija (g.k. ar hipokalciēmiju) – hroniska mukomutāna kandidoze; IPEX sindroms.
- Neonātāla tetānija – 22q11 delēcijas sindroms
- Angioedēma (bez nātrenes) - C1q deficīts
- Iedzimta sirdskaite – diDžordža sindroms, 22q11 delēcijas sindromi
- Malignitātes – limfoma, timoma.

# Citas klīniskās pazīmes

- Smaga kuņģa-zarnu trakta saslimšana, hroniska caureja – IPEX sindroms, SKID, antivielu deficīts.
- Izmainīta seja:
  - Lauvai līdzīga, zivjveidīga mute, zemu novietotas ausis – Hiper IgE sindroms
  - Maza mute, mikrognātija zemu novietotas ausis, epikants – 22q11 delēcijas sindroms.
- Mentāla retardācija – 22q11 delēcijas sindroms, PNP deficīts.
- Plaušu saslimšanas:
  - Grūti ārstējama obstruktīva plaušu slimība
  - Neizskaidrojamas bronhrktāzes, pneimatocēles, intersticiāla plaušu slimība

# Citas klīniskās pazīmes

- Limfoīdo audu iztrūkums – tīmusa hipo- vai aplāzija, nēpalpē/nevizualizē limfmezglus, mandeles
- Pārmērīga limfadenopātija
- Rekurentas asiņošanas, trombocitopēnija ar maziem trombocītiem
- Neizskaidrojama eozinofīlija
- Limfocitopēnija

# Izmeklējumi

## Anamnēze

- Jāiekļauj:
  - Visu infekciju anamnēze: lokalizācija, antibiotiku nepieciešamība, hospitalizācijas
  - Operācijas
  - Imunizācijas anamnēze
  - Ģimenes anamnēze, īpaši nopietnas infekcijas, neizskaidrotas pēkšņas nāves, diagnosticēti imūndeficīti, autoimūnas saslimšanas.

# Laboratorie izmeklējumi

- Svarīgi lietot laboratoros izmeklējumus pēc nozīmējuma, lai veiktu diferencīāldiagnostiku.
- Padomāt vai veiktie izmeklējumi būs lietderīgi diagnozei vai terapijas taktikai.

# Sākotnējie izmeklējumi

- Novērtē humorālo un celulāro imunitāti:
  - Celulārā imunitāte – T šūnas
  - Humorālā imunitāte B šūnas un imunoglobulīni

	<b>Kvanitatīvi (skaits)</b>	<b>Kvalitatīvi (funkcija)</b>
T limfocīti	Limfocītu subpopulācijas	Stimulācijas tests ar mitogēniem
B limfocīti	CD19 IgA, IgG, IgM, IgE (D)	Antivielas pret Pneimo, Tetanus, Difteriju

# Humorālās imunitātes testi

- Seruma un urīna elektroforēze
- IgG apakšklases (no 10 gadu vecuma)
- Antibakteriālās, antivirālās antivielas (atbilstoši imunizācijas vai infekciju anamnēzei)
- Izohemaglutinīni (IgM, atkarībā no asins grupas)

# Nespecifiskās imunitātes funkcijas

- Plūsmas citometrijā nosakāms CD16/56 – galētājšūnas
- Komplementa līmeņa noteikšana – C3, C4, C1 inhibitors, B faktors
- Neitrofīlo marķieri – CD11a, CD11b, CD11c, CD18 UN CD15
- Oksidatīvais metabolisms – nitrozilais tetrazola tests
- Fagozitozes novērtēšana



# Ģenētiskie izmeklējumi

- Veido svarīgu izmeklējumu sadaļu gan diagnozes apstiprināšanai, gan arī prenatalai diagnostikai

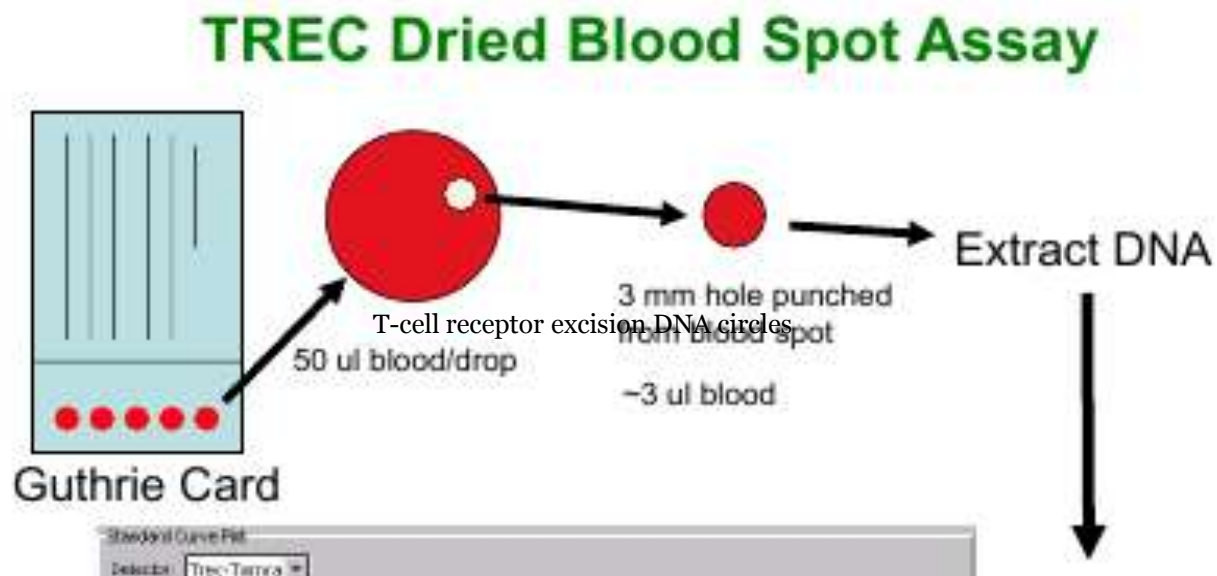
# Citi papildus izmeklējumi

- Atkarīgs no klīniskām izpausmēm:
  - Autoimunitātes noteikšanai – antieritrocitārās antivielas, antitrombocitārās antivielas, antineitrofilo antivielas; antivielas pret endokrīniem orgāniem
  - Sekundāro cēloņu izslēgšanai – nieru saslimšanas, kuņģa-zarnu trakta saslimšanas (Ig±limfocītu zudums); malignitātes, uztura deficīts (Zn, B<sub>12</sub>, Fe<sup>++</sup>), medikamenti (citotoksiskie, antikonvulsanti)
  - Nodulāras limfoīdas hiperplāzijas noteikšanai (CT, bārija pasāža, endoskopijas, biopsijas).
  - Plaušu funkciju izvērtējums, kā arī plaušu CT
  - Tieša patogēnu izolācija – baktērijas, sēnītes, vīrusi (labāk izmantot PCR)

# Smags kombinēts imūndeficīta sindroms (SKID)

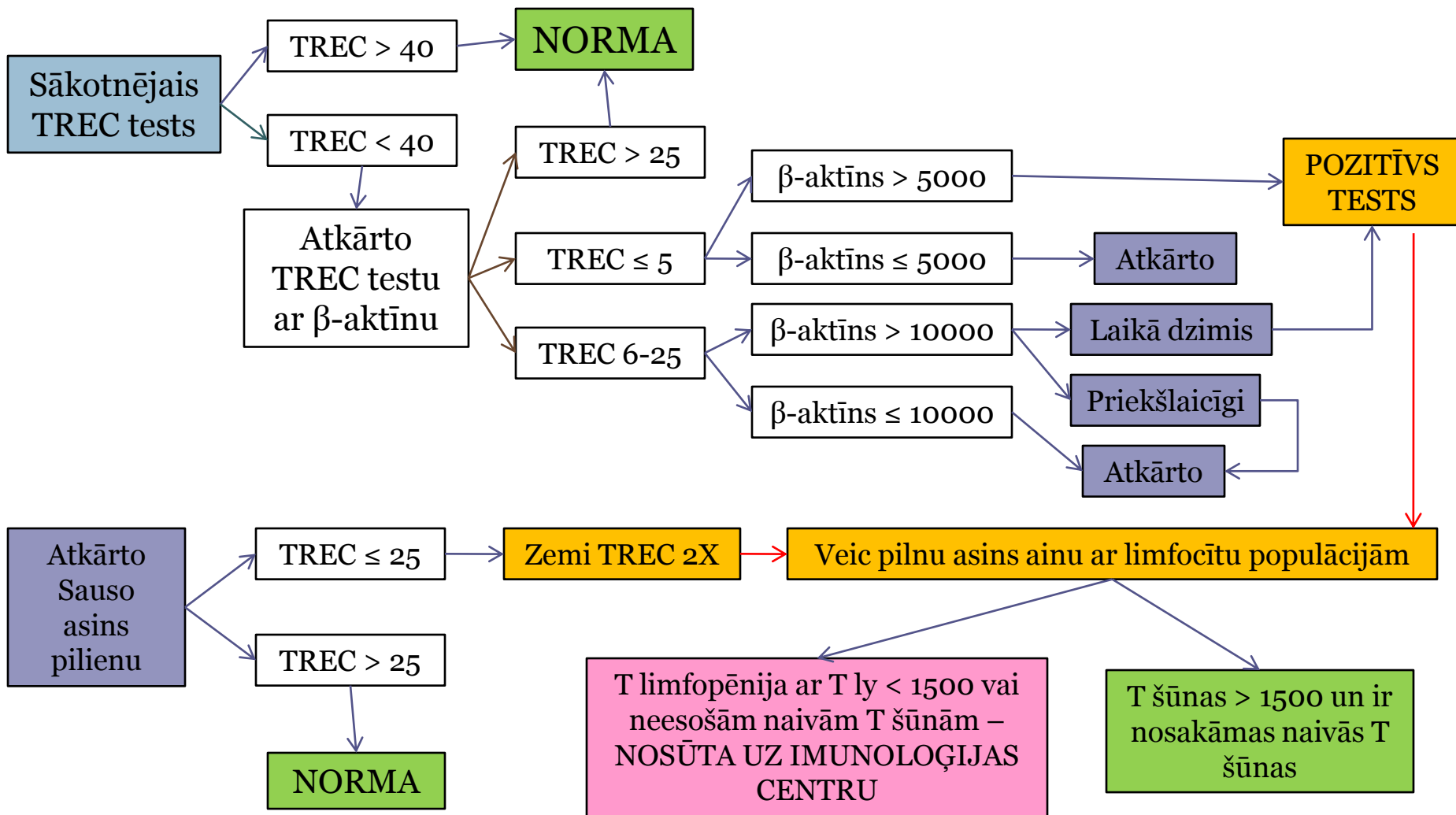
- ▶ Agrīnas diagnostikas problēmas:
  - ▶ Reta patoloģija
  - ▶ Zīdaiņu vecumā infekcijas ir bieži sastopamas arī ne-SKID bērniem
  - ▶ SKID ģimenes anamnēze var tik noklusēta, aizmirsta vai nebūt.
  - ▶ Pirmajos dzīves mēnešos zīdainis šķiet vesels (mātes Ig)
  - ▶ Slimības izpausmei nepieciešams gēnu defekts un ārējās vides ietekme, tādēļ simptomi un to sākšanās laiks variabli
- ▶ Agrīna SKID atklāšana ir galvenais nosacījums veiksmīgai ārstēšanai.

# SKID skrīnīga tests



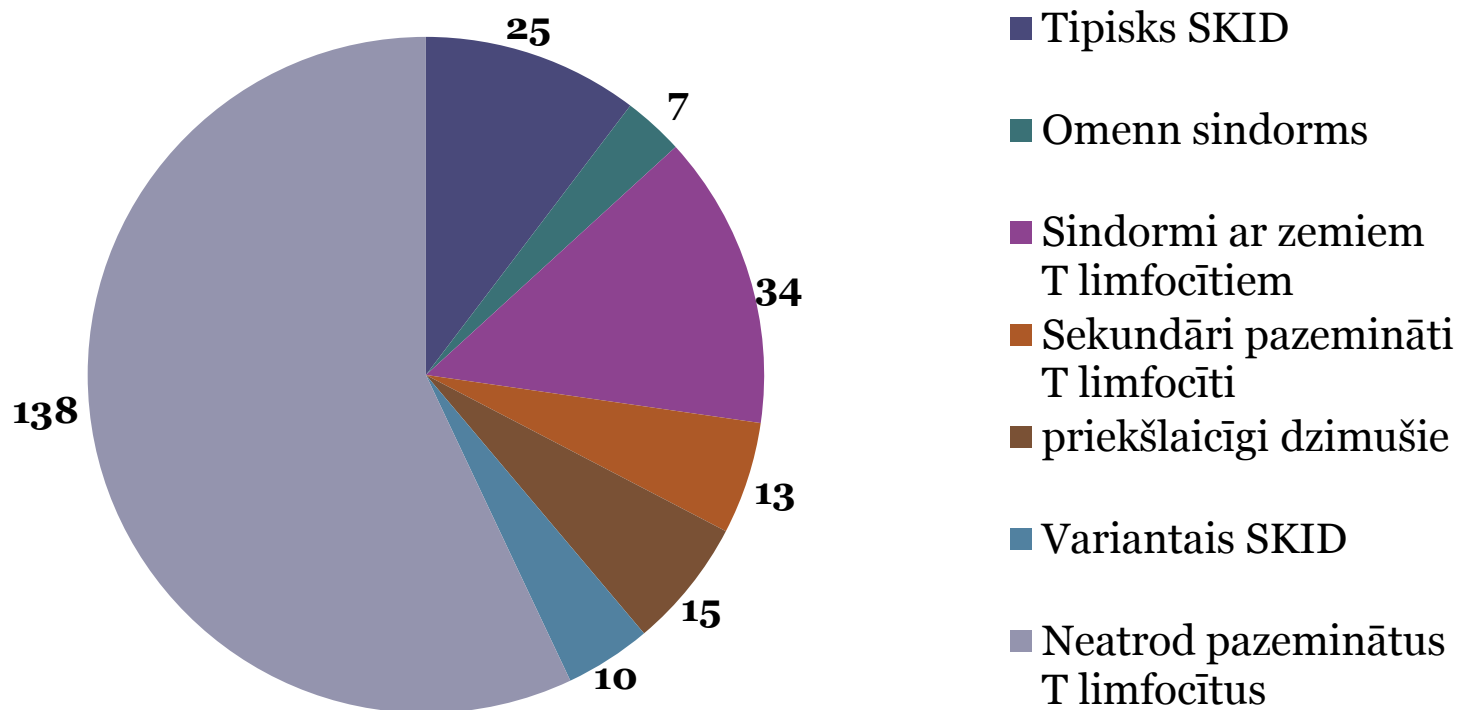
Nosaka TREC (T-cell receptor excision DNA circles), izmantojot PCR metodi.

# TREC algoritms SKID skrīningam



# Skrīninga rezultāti

Kopumā skrīnēti 1737351 jaundzimušo (uz 2014.gada jūliju)  
1,4 no 10000 bija nepieciešams veikt plūsmas citometriju  
104 konstatēts pazemināts T limfocītu daudzums (<1500 šūnas/uL) jeb  
43%



# Eiropas imunodeficitu biedrības (ESID) veidotie diagnostiskie protokoli

E. de Vries et al.

## Protocol 1

<b>Step 1</b>	<b>Rule out severe antibody deficiency and neutropenia.</b>
<i>Perform</i>	Blood count and differential (platelet volume, absolute lymphocyte count, neutrophil and eosinophil counts), IgG, IgA, and IgM
<i>Next step</i>	Neutropenia: go to Protocol 3, step 2. Agammaglobulinaemia: go to step 3. Decreased level of at least one isotype: go to step 2. IgA deficiency: go to step 2. Normal results: In case of recurrent meningococcal infection go to step 2b; in case of recurrent ENT and airway infection wait for 3–6 months to see if clinical condition resolves; if problems persist: go to step 2 (a+b)

<b>Step 2a</b>	<b>Antibody deficiency</b>
<i>Perform</i>	If not secondary to drugs, lymphoid malignancy, immunoglobulin loss (urine, faeces); booster responses (tetanus; unconjugated pneumococcal vaccine if > 2–3 years of age; a rise in titre appropriate for age to above a defined level should be considered a positive response). Consider IgG-subclasses and M-proteins
<i>Next step</i>	Go to step 3.

<b>Step 2b</b>	<b>Complement deficiency</b>
<i>Perform</i>	CH <sub>50</sub> and AP <sub>50</sub> . Consider MBL. In case of angioedema: C1-inhibitor (level), C4 during attack
<i>Next step</i>	Go to step 3

Step 3	Continue with	Possible diagnosis
Agammaglobulinaemia (step 1)	Lymphocyte subpopulations (Table 3), consider lymphocyte proliferation tests (Table 3), genetic determination of defect if possible	X-linked or autosomal recessive form of congenital agammaglobulinaemia
Normal results in step 2a	Wait and see. If problems persist repeat total IgG, IgA, IgM, and IgG-subclasses after 1–2 years (6 months if < 1 year of age), and booster responses after 3–5 years. Consider Protocol 3. Consider lymphocyte subpopulations (Table 3)	No immunodeficiency, isolated IgA deficiency, developing CVID, TLR-signalling deficiency (IRAK4) (not associated with antibody deficiency)
Abnormal results in step 2a: IgA and/or IgG deficiency Abnormal booster responses Hypogammaglobulinaemia	Consider lymphocyte subpopulations (Table 3), genetic determination of defect if possible. Consider lymphocyte proliferation tests (Table 3), chromosomal analysis, CD40, CD40L after stimulation, $\alpha$ -fetoprotein	Polysaccharide antibody deficiency, TH1, CVID $\pm$ thymoma, XLP, HIGM syndrome, WHIM, ICF syndrome, AT, Nijmegen breakage syndrome, Bloom syndrome, WAS
After step 2b	In case of abnormal CH <sub>50</sub> or AP <sub>50</sub> : determination of separate complement components (C1q, C2, C4, C5-C9), ANA. In case of angioedema: C1-inhibitor function (if level is normal)	Inherited complement deficiency, complement consumption (SLE). Hereditary angioedema

Fig. 1. Grey shading: collaboration with an immunologist is highly recommended for this step. ANA, anti-nuclear antibodies AP<sub>50</sub>, haemolytic assay of alternative pathway of complement; AT, ataxia telangiectasia; CD, cluster of differentiation; CH<sub>50</sub>, haemolytic assay of classical pathway of complement; CVID, common variable immunodeficiency; ENT, ear, nose and throat; HIGM, hyper-IgM syndrome; ICF, syndrome of immunodeficiency, centromeric instability and facial dysmorphism; Ig, immunoglobulin; IRAK4, Interleukin-1 receptor associated kinase 4; I, ligand; MBL, mannans binding lectin; SLE, systemic lupus erythematosus; TH1, transient hypogammaglobulinaemia of infancy; TLR, Toll-like receptor; XLP, X-linked lymphoproliferative syndrome.

Patient-centred screening for primary immunodeficiency

## Protocol 2

<b>Step 1</b>	<b>Don't hesitate to rule out SCID and AIDS</b>
<i>Perform</i>	Blood count and differential (platelet volume, absolute lymphocyte count, neutrophil and eosinophil counts), IgG, IgA, and IgM, lymphocyte subpopulations (Table 3), tests for HIV
<i>Next step</i>	HIV-positive: treat accordingly. Agammaglobulinaemia, lymphocytopenia: go to step 2. Normal results, but no improvement, no other diagnosis: go to step 2 → The possibility of SCID is an emergency! <sup>30</sup> Early SCT can save lives

<b>Step 2</b>	<b>Identify the different forms of (severe) combined immunodeficiency</b>
<i>Perform</i>	Lymphocyte proliferation tests (Table 3). Consider lymphocyte subpopulations using a more extended protocol than the one mentioned in Table 3, CD40(L), STAT1, I $\kappa$ B $\alpha$ . If no agammaglobulinaemia: IgG-subclasses, booster responses, M-proteins
<i>Next step</i>	Abnormal results: go to step 4. Normal results: go to Protocol 3

<b>Step 3</b>	<b>Identify defects in communication between T lymphocytes and macrophages</b>
<i>Perform</i>	T lymphocyte/macrophage communication (IL12, IL12-receptor, IFN- $\gamma$ -receptor, STAT1) by referral to specialist centre
<i>Next step</i>	Possible diagnosis: defect in one of these factors Normal results: go to step 1, if not yet performed

Step 4	Continue with	Possible diagnosis
<i>Additional analysis of clinical status if not yet performed</i>	Test for chimerism (maternal T lymphocytes), analyse possible infections (consider viral PCR/culture/serology, BAL, organ biopsy for histology and culture; look for opportunistic pathogens with appropriate techniques)	
<i>Additional analysis of immune system if diagnosis is not yet clear</i>	Consider <i>in vitro</i> cytokine production, <i>in vivo</i> functional tests (e.g. stimulation with neo-antigen; PPD or candida skin tests), analysis of bone marrow, lymph node biopsy. NK cell cytotoxicity	SCID (I $\kappa$ , JAK3, RAG1, RAG2, CD3 $\gamma$ , CD3 $\delta$ , CD3 $\epsilon$ , ADA, PNP, Artemis, IL7-R, IL2-R, HLA-deficiency, Zap-70, CD45), Omenn syndrome, WAS, cartilage hair dysplasia, complete DiGeorge, X-linked hyper-IgM, CMC, EDA-ID (NEMO, I $\kappa$ B $\alpha$ ), Reticular dysgenesis, CD16 deficiency
<i>Look for underlying defect according to clinical and laboratory findings</i>	Consider uric acid, ADA, PNP, $\alpha$ -fetoprotein, X-ray of long bones if short stature or disproportional growth, thymus size (chest X-ray, ultrasound), chromosomal analysis, radiosensitivity tests, 22q11 analysis, clonality studies (V $\beta$ -gene usage). Determination of genetic defect if possible	

Fig. 2. Grey shading: collaboration with an immunologist is highly recommended for this step. ADA, adenosine deaminase; AIDS, acquired immunodeficiency syndrome; BAL, bronchoalveolar lavage; CD, cluster of differentiation; CMC, chronic mucocutaneous candidiasis; HIV, human immunodeficiency virus; HLA, human leucocyte antigens; Ig, immunoglobulin; IFN, interferon; IL, interleukin; JAK, janus kinase; I, ligand; PCR, polymerase chain reaction; PNP, purine nucleoside phosphorylase; RAG, recombination activating genes; SCID, severe combined immunodeficiency; SCT, stem cell transplantation; STAT, signal transducer and activator of transcription; WAS, Wiskott-Aldrich syndrome; Zap, zeta-associated protein.

## Protocol 3

Step 1	Identify neutropenia	Possible diagnosis
<i>Perform</i>	Blood count and differential (absolute neutrophil count, microscopic evaluation); perform repeatedly in case of cyclic pattern of fever and infections (no evidence-based guidelines exist; 3 ×/week for 3–6 weeks is advocated in several reviews)	Cyclic neutropenia, Chediak–Higashi syndrome (giant granules), specific granule deficiency (bilobed nuclei), asplenia (Howell–Jolly bodies)
<i>Next step</i>	Neutropenia: go to step 2. Normal results: determine IgG, IgA, and IgM, CH <sub>50</sub> ; go to step 3. Neutrophilia: go to step 3	
Step 2	Identify the cause of the neutropenia	Possible diagnosis
<i>Isolated neutropenia</i>	Consider secondary causes. Drug use, autoantibodies, ANA, C3/C4, RF, ANCA, Coombs, IgG, IgA and IgM. If normal: analysis of bone marrow (morphology, chromosomes, culture), mobilization tests (G-CSF, prednisone), pancreatic function tests. Consider metabolic disorder and appropriate tests	Drug-induced neutropenia, isolated autoimmune neutropenia, systemic autoimmune disease complicated by neutropenia, agammaglobulinaemia, certain metabolic disorders (e.g. Pearson syndrome), Shwachman–Diamond syndrome, Kostmann syndrome
<i>Pancytopenia</i>	Analysis of bone marrow (morphology, chromosomes, immunophenotyping)	Haematological malignancy, aplastic anaemia
Step 3	Identify defects in phagocyte function	Possible diagnosis
<i>Perform</i>	Phagocyte function tests (Table 4). Serum IgE. Consider hair evaluation, consider CD11/18 and sLeX expression (flowcytometry, in case of neutrophilia)	CGD, hyper-IgE syndrome, Griscelli syndrome, G6PD deficiency, MPO deficiency, LAD, SGD
<i>Normal results</i>	Go to Protocol 1	Selective antibody deficiency, complement deficiency, CVID, TLR-signalling deficiency
	Consider periodic fever syndrome. IgD	PFAPA, Hyper-IgD syndrome, FMF, Hibernian fever
Step 4	Continue with	
<i>Determine the underlying genetic defect if possible</i>	e.g. Mutation in one of the genes coding for the NADPH-oxidase complex, neutrophil elastase gene ELA2, LYST gene, SBDS gene, myosin 5A gene, G6PD gene	

Fig. 3. Grey shading collaboration with an immunologist or hematologist is highly recommended for this step. ANA, anti-nuclear antibody; ANCA, anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies; C, complement component; CD, cluster of differentiation; CGD, chronic granulomatous disease; CVID, common variable immunodeficiency; FMF, familial Mediterranean fever; G-CSF, granulocyte-colony stimulating factor; G6PD, glucose-6-phosphate dehydrogenase; MPO, myeloperoxidase; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; PFAPA, periodic fever-aphthous stomatitis-pharyngitis-cervical adenopathy; RF, rheumatoid factor; SBDS, Schwachman–Diamond syndrome; SGD, neutrophil-specific granule deficiency; sLeX, sialyl Lewis X; TLR, Toll-like receptor.



# Noslēgumā 10 PID pazīmes

1. Četri vai vairāk otīti gada laikā
2. Divi vai vairāk sinusīti gada laikā
3. Divi vai vairāk mēneši antibakteriālās terapijas ar vāju efektu
4. Divas vai vairāk pneimonijas gada laikā
5. Slikta svara, auguma garuma dinamika
6. Recidivējoši dziļie ādas vai orgānu abscesi
7. Persistējoša sēnīšu infekcija mutes dobumā vai uz ādas
8. Nepieciešamība lietot IV antibiotikas, lai likvidētu infekciju
9. Divas vai vairāk dziļas infekcijas, iekšā, ieskaitot septicēmiju
10. Ģimenes anamnēzē PID.



	<b>Kvantitatīvi (skaits)</b>	<b>Kvalitatīvi (funkcija)</b>
T limfocīti	Limfocītu subpopulācijas	Stimulācijas tests ar mitogēniem
B limfocīti	CD19 IgA, IgG, IgM, IgE (D)	Antivielas pret Pneimo, Tetanus, Difteriju