

Elena
Sučilienė

**TUBERCULIN REACTIVITY OF CHILDREN
VACCINATED AT DIFFERENT AGE WITH BCG
VACCINES IN PRESCHOOL PERIOD**

SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION

Biomedical sciences, Medicine (07 B)

VILNIUS UNIVERSITY

Elena Sučilienė

**TUBERCULIN REACTIVITY OF CHILDREN VACCINATED AT DIFFERENT
AGE WITH BCG VACCINES IN PRESCHOOL PERIOD**

Summary of doctoral dissertation

Biomedical sciences, Medicine (07 B)

Vilnius

2010

The dissertation was prepared in 1994 – 2010 at Clinic of Children's Diseases of Vilnius University Faculty of Medicine

Scientific supervisor:

Prof. Dr. Habil. Arūnas Valiulis (Vilnius University, biomedical sciences, medicine – 07 B)

Dissertation is being defended at Medical Research Council of Vilnius University under equivalency

Chairman:

Prof. Dr. Habil. Vytautas Usonis (Vilnius University, biomedical sciences, medicine – 07 B)

Members:

Prof. Dr. Habil. Brigita Šitkauskienė (Kaunas University of Medicine, biomedical sciences, medicine – 07 B)

Dr. Augustina Jankauskienė (Vilnius University, biomedical sciences, medicine – 07 B)

Prof. Dr. Habil. Vytas Antanas Tamošiūnas (State Scientific Research Institute, Centre for Innovative Medicine, biomedical sciences, biology – 01B)

Assoc. prof. Dr. Habil. Edvarda Danila (Vilnius University, biomedical sciences, medicine – 07 B)

Opponents:

Assoc. prof. Dr. Irena Narkevičiūtė (Vilnius University, biomedical sciences, medicine – 07 B)

Prof. Dr. Habil. Liutauras Labanauskas (Kaunas University of Medicine, biomedical sciences, medicine – 07 B)

Dissertation will be defended on a public session of Medical Research Council in 30 June 2010 at 13:00 p.m. at the Auditorium of Children Hospital of Vilnius University, Santariškių 4, LT 2021, Vilnius, Lithuania

The summary of doctoral dissertation was distributed on 30 May, 2010.

A copy of doctoral dissertation is available for review at the Library of Vilnius University (Universiteto 3, Vilnius, Lithuania)

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Elena Sučilienė

SKIRTINGU LAIKU BCG VAKCINOMIS SKIEPYTŲ VAIKŲ TUBERKULINO REAKCIJOS
IKIMOKYKLINIŲ LAIKOTARPIU

Biomedicinos mokslai, medicina (07 B)

Vilnius,

2010

Disertacija rengta 1994-2010 m. Vilniaus universiteto Medicino fakulteto Vaikų ligų
klinikoje

Disertacija ginama eksternu.

Mokslinis konsultantas: prof. habil. dr. Arūnas Valiulis (Vilniaus universitetas, medicina-07 B)

Disertacija bus ginama Vilniaus universiteto Medicinos mokslo krypties taryboje

Pirmininkas

Prof. habil. dr. Vytautas Usonis (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina-07B)

Nariai:

Prof. habil. dr. Brigita Šitkauskienė (Kauno medicinos universitetas, biomedicinos mokslai, medicina-07B)

Dr. Augustina Jankauskienė (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina-07B)

Prof. habil. dr. Vytautas Antanas Tamošiūnas (Valstybinis mokslinių tyrimų institutas, Inovatyvios medicinos centras, biomedicinos mokslai, biologija - 01B)

Doc. hab. dr. Edvardas Danila (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina-07B)

Oponentai:

Doc. dr. Irena Narkevičiūtė (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina-07B)

Prof. habil. dr. Liutauras Labanauskas (Kauno medicinos universitetas, biomedicinos mokslai, medicina-07B)

Disertacija bus ginama viešame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2010 metų birželio 30d. 13 val. Vilniaus universiteto Vaikų ligoninės Didžiojoje auditorijoje.

Adresas: Santariškių 4, LT 2021, Vilnius, Lietuva.

Disertacijos santrauka išsiuntinėta 2010 metų gegužės 30d. Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje

CONTENTS

Description of a scientific problem of the research.....	7
Aim and tasks of the research.....	8
Scientific originality and practical significance	9
Defended propositions	9
Methodology of research	10
Results.....	11
Conclusions.....	22
Rezume	23
List of doctoral student's publications on topic of dissertation.....	30
Short information about the dissertant.....	31

DESCRIPTION OF A SCIENTIFIC PROBLEM OF THE RESEARCH

BCG vaccine has been used for tuberculosis prophylaxis for almost 90 years. Its effectiveness for children from disseminated forms (miliary TB of lungs and meningeal TB) exceeds 80 percent. BCG vaccination has been practiced in Lithuania since 1962, and the BCG vaccine, Danish strain 1331 (Danish vaccine), has been used since 1992. The effect of BCG vaccine to protect against tuberculosis, to form the BCG scar and induce the tuberculin sensitivity can vary in different populations [Farhat M et al., 2006, Lalor MK, 2009]. Until now there has not been a study in Lithuania concerning the peculiarities of this vaccine on BCG scarring and tuberculin reactivity in different age groups of children after newborns vaccination. Ildirim I et al. [1992] demonstrated that BCG vaccination of older babies can induce better BCG scarring and better sensitivity to tuberculin, and thus better reactivity and immunogenicity of vaccine. Aggarwal A et al. [1992] showed that reducing the BCG dose by one half (as close the expiry date of vaccine the viability may be reduced compare to starting value) induces smaller tuberculin reactions. The group of BCG vaccines is compounded of different BCG vaccines [Corbel MJ et al., 2004, Reader HL, 2002], and it is important to compare the using BCG vaccine with the WHO International Reference Preparation of BCG. The correlation between BCG scarring and tuberculin reactions is not reported uniformly [Santiago EM et al., 2003], proved correlation could benefit the interpretation of tuberculin test in small children.

As instances of allergic diseases in the world increase, the popular theory of hygiene insists that the lack of bacterial infection conditions the incidence of these illnesses. Asthma occurs more frequently where tuberculosis is more common according to the results of epidemiological studies, and vice versa [von Mutius E et al., 2000, Shirtcliffe P et al., 2000]. The BCG vaccine, which is produced from the pathogenic *M. bovis* bacteria, is known as a Th1 immunity stimulant that prevents Th2 reactions.

Period and lifetime prevalences of atopic dermatitis and recurrent wheezing tended to be lower in the BCG-vaccinated group early in life, whereas no such trend was found after the second birthday. The proportion of children remaining free of clinical manifestations tended to be higher in the BCG-vaccinated group but differences decreased over the age [Grüber C, Kulig M, Bergmann, 2001]. A single (or once

repeated) BCG vaccination in 6-week-old high-risk Caucasian infants was associated with beneficial effect of BCG, especially because a trend towards less eczema and significantly less use of medication for eczema was shown [Steenhuis TJ et al., 2008]. Neonatal BCG-related innate immune responses control the differentiation of T (H) memory responses and vary between populations. This may explain differences in the effects of BCG vaccination between populations [van den Biggelaar AH et al., 2009]. Among Japanese schoolchildren, there was a strong inverse association between delayed hypersensitivity to tuberculin and atopy. Positive tuberculin responses predicted a lower incidence of asthma and lower serum IgE levels [Shirakawa T et al., 1997]. There have been no study of such kind in Lithuania.

AIM AND TASKS OF THE RESEARCH

Aim of the research. To compare the effect of different BCG vaccines, dosage or vaccination schedule on the postvaccinal and general immunity in preschool children.

Tasks of the research

- 1.To evaluate the tuberculin reactivity 3 months after BCG vaccination for babies vaccinated as newborns with standard (0,05 ml of diluted vaccine) or half dose of Danish BCG or standard dose of the WHO International Reference Preparation (IRP) of BCG vaccine or vaccinated at 3 months of age with standard dose of Danish BCG vaccine.
- 2.To investigate the tuberculin reactivity for one and two years old children vaccinated as newborns with standard or half dose of Danish BCG or usual dose of the International Reference Preparation of BCG vaccine or vaccinated at 3 months of age with standard dose of Danish BCG vaccine.
- 3.To valuate the peculiarities of BCG scaring for babies at 3 months after BCG vaccination and for one year old children vaccinated with different BCG vaccines, dosage or vaccination schedule.
- 4.To investigate, whether the tuberculin sensitivity impacts the size of BCG reaction for infants at 3 months after BCG vaccination and one year old children vaccinated with different BCG vaccines, dosage or vaccination schedule.

5.To examine the IgG antibodies to H₃₇ R_v, PPD, Danish BCG and IRP BCG vaccine in the blood serum of babies at 3 months after BCG vaccination and 1 year old children vaccinated with different BCG vaccines, dosage or vaccination schedule.

6.To determine the possible link between the age at BCG vaccination, positivity of tuberculin skin test and food – associated allergic rash in preschool children.

SCIENTIFIC ORIGINALITY AND PRACTICAL SIGNIFICANCE OF THE RESEARCH

1. It is the first complex, prospective cohort study of children up to 6 years of age vaccinated with different BCG vaccination schedules in Lithuania .
2. It is the first effort to compare the influence of different BCG vaccines, dosage or vaccination schedule on the formation of postvaccinal immunity.
3. It is the first prospective study to evaluate the link between the age at BCG vaccination and allergy in preschool children.

DEFENDED PROPOSITIONS

1. 3 months after BCG vaccination and at 1 year of age tuberculin reactions are stronger and formed BCG scars are more frequent in group of children vaccinated with the BCG vaccine at three months, compared as vaccinated in newborn period.
2. There is a correlation between the BCG scaring and the size of tuberculin reaction in children 3 months after the BCG vaccination and at 1 year of age.
3. The BCG vaccination at 3 months of age, compared with the newborn BCG vaccination may reduce the risk of food – associated allergic rash in preschool children.

METHODOLOGY OF THE RESEARCH

509 children were included in this research, all of them received BCG vaccination (table 1). The first (control) group was comprised of 152 newborns who were vaccinated with the standard recommended dosage (0.05 ml of diluted vaccine) of Danish BCG. The second group was comprised of 93 newborns, who were vaccinated with half of the dosage of the same vaccine, and the third group was comprised of 121 newborns who were vaccinated with the International Reference Preparation (IRP) of the BCG vaccine. In the fourth group there were 143 newborns who were vaccinated with the standard dosage of Danish BCG 3-month olds.

	Peculiarities of BCG vaccination	Age of BCG vaccination	Number of infants included
1 (control)	Danish BCG vaccine, standard dosage	newborn	152
2	Danish BCG vaccine, half dosage	newborn	93
3	IRP BCG vaccine, standard dosage	newborn	121
4	Danish BCG vaccine, standard dosage	3 months of age	143
Total			509

Table 1. Description of the research groups

Neonates were entered from Vilnius University Women's clinic or Vilnius Maternity hospital. All babies were healthy, full-terms, with no known TB contact among nearest family members. The infants were divided randomly into the four arms: in one week they were included into the first group, in the next week into the second, etc. In group four (vaccination at 3 months of age) a prevaccination Mantoux test was performed, for all infants it was negative (0 mm).

Methods. Three months after the BCG vaccination each subject was examined clinically. The vaccinal lesion was evaluated by description (scar, crust, secretion) and measurement the maximum diameter. A systemic search for any adenitis especially in the left armpit was done. Mantoux test with 2TU of Tuberculin PPD RT 23 was given on the middle ventral part of the left forearm, tuberculin reactions were read after 72 hours. For one year old children the same procedures were done. An examination at one year of

age rather than one year after the vaccination was done in order to blind the reader as to whether the child had been vaccinated neonatally or at 3 months of age. Specific immunological tests (IgG antibodies to H₃₇R_v, PPD, Danish BCG and IRP BCG vaccine) were done for some infants. Children with considerable tuberculin reaction were examined for Mantoux test at two years of age.

At 6 years of age, the children were examined clinically and by tuberculin skin test with 2 TU PPD RT – 23. The standardized allergy questionnaire was filled out; also they were tested for humoral (IgG, IgA, IgM, IgE) and cellular immunity (lymphocytes, T helpers, T suppressors, natural killers, B lymphocytes).

Statistical analysis. Data were accumulated using Epi Info 3.5.1 (CDC, Atlanta, GA, USA). The means difference between groups was calculated using Mann-Whitney/Wilcoxon Two-Sample Test (Kruskal-Wallis H test for two groups). For more than two groups analysis of variances (ANOVA) was used. The difference between proportions was calculated by χ^2 and Fisher (F) exact tests. Correlations were described in terms of Pearson's product moment correlation coefficient.

RESULTS

423 children were investigated 3 months after the BCG vaccination, and 443 - at one year of age. The outcome cluster for tuberculin skin test results was formed from 343 children who were examined twice.

The groups of research population didn't differ in birth weight, Apgar score, and sex (F=0,78, p=0,50, F=0,45, p=0,70, $\chi^2=1,42$, p=0,70, respectively). However, there were certain difference between groups with regard to the age at the vaccination (table 2) i.e., the infants of IRP BCG group were older than of the control group (p=0,01).

Group	n	Age at BCG vaccination ±SD (days)	Minimum age (days)	Maximum age (days)	p
1(control)	97	3,1±1,5	0	9	-
2	60	2,8±1,4	0	7	0,213
3	78	3,7±1,8	0	10	0,011
4	108	98,1±6,8	83	138	-
Total	343				

Table 2. The age of infants at the time of BCG vaccination

3 months after the BCG vaccination (table 3) the strongest reaction to tuberculin was found in children vaccinated with the BCG vaccine at three months of age ($p < 0,0001$). The size of the tuberculin infiltration and the frequency of positive reactions did not differ in the group of IRP BCG, and in the group that received a half dose of BCG they were smaller and positive reactions less frequent ($p < 0,05$), compare with the standard Danish BCG dosage group.

Group	n	Size of tuberculin reaction			p	Mean size of tuberculin reaction±SD, mm	p
		<2 mm perc.	2-4 mm perc.	>4 mm perc.			
1	97	33,0	20,6	46,4	-	3,9±3,2	-
2	60	43,3	26,7	30,0	0,042	2,8±2,7	0,043
3	78	38,5	16,6	44,9	0,840	3,7±3,5	0,695
4	108	8,3	13	78,7	0,0002	6,7±3,0	<0,0001
Total	343						

Table 3. Tuberculin reactivity 3 months after the BCG vaccination

As there was the difference between the age of newborns at BCG vaccination in research groups, we analyzed tuberculin reactivity separately for children, vaccinated on days 0-2 and 3-6 (table 4).

Group	Age at BCG vaccination (days)				p
	0-2		3-6		
	n	Mean size of tuberculin reaction±SD mm	n	Mean size of tuberculin reaction±SD mm	
1	45	3,5±3,3	49	4,1±3,3	0,356
2	32	2,7±2,7	26	2,8±2,7	0,901
3	18	2,6±3,2	54	4,1±3,4	<0,0001
Total	95		129		

Table 4. Tuberculin reactivity 3 months after BCG vaccination of children, vaccinated on days 0-2 and 3-6.

In the group of 95 newborns vaccinated on days 0-2, the largest mean size of tuberculin infiltration was observed for the children from control group (3,5 mm), but no statistical significance was noted ($F=1,74$, $p=0,60$, ANOVA). In the group of newborns vaccinated older, the smallest size of tuberculin reaction was seen for children from the second group (half BCG dosage), but the difference is not significant. When compare these two mean sizes in the group, the largest ones were for the children vaccinated on days 3-6 in the IRP group ($p<0,0001$).

Group	n	Size of tuberculin reaction			p	Mean size of tuberculin reaction mm ±SD	p
		<2 mm perc.	2-4 mm perc.	>4 mm perc.			
1	97	41,2	9,3	49,5	-	4,7±4,7	-
2	60	48,3	18,3	33,3	0,047	3,5±3,9	0,100
3	78	26,9	9,0	64,1	0,053	7,0±5,5	0,003
4	108	15,7	8,3	75,9	<0,0001	7,7±4,5	<0,0001
Total	343						

Table 5. Tuberculin reactivity in study groups at one year of age

It was found that at one year of age (table 5) the strongest reaction to the intradermal tuberculin was in the group of children vaccinated at 3 months of age ($p < 0,0001$) and those vaccinated with International Reference Preparation of BCG vaccine ($p < 0,01$). Children with the half dosage BCG vaccination had less frequently positivity of tuberculin reactions ($p = 0,047$).

Children from the International Reference Preparation of BCG vaccine group vaccinated on days 3–6 had more large tuberculin reactions than those vaccinated on days 0 – 2, $p < 0,001$ (table 6).

Group	Age at BCG vaccination (days)					
	0-2			3-6		
	n	Mean size of tuberculin reaction \pm SD mm	p	n	Mean size of tuberculin reaction \pm SD mm	p
1	45	4,6 \pm 4,8	-	49	4,5 \pm 4,6	-
2	32	2,7 \pm 3,2	0,060	26	4,7 \pm 4,6	0,951
3	18	3,5 \pm 4,0	0,416	54	8,1 \pm 5,3	<0,001
Total	95					

Table 6. Tuberculin reactivity at one year of age in children, BCG vaccinated on days 0-2 and 3-6.

At two years of age the tuberculin reactivity of 45 children was evaluated, and the tuberculin reactions were stronger and their positivity more frequent for the International Reference Preparation of BCG vaccine group, compare with the standard BCG vaccination group, $p = 0,045$ (table 7).

Group	n	Size of tuberculin reaction			p	Mean size of tuberculin reaction \pm SD	p
		< 2 mm	2–4 mm	>4 mm (perc.)			
1	16	6	1	9 (56,3)	-	5,3 \pm 4,5	-
2	5	2	0	3 (60,0)	0,60	5,8 \pm 5,0	0,80
3	14	1	2	11(78,6)	0,045	8,5 \pm 4,2	0,045
4	10	1	3	6 (60,0)	0,52	6,2 \pm 3,5	0,62
Total	45						

Table 7. Tuberculin reactivity at two years of age.

However, the largest tuberculin reactions were observed at one year of age, if compare the means of tuberculin reactions of the same children at 3 months after BCG vaccination, one or two years of age (table 8), but the statistical significant difference was found only in IRP group and for children who were BCG vaccinated at 3 months of age.

Group	n	MR ₁ mm	MR ₂ mm	MR ₃ mm	MR ₁ :MR ₂ , p	MR ₂ :MR ₃ , p	MR ₁ :MR ₃ , p
1	13	5,1	7,3	5,7	0,08	0,15	0,82
2	4	3,5	9,0	5,8	0,47	0,54	0,85
3	10	5,7	13,1	8,5	<0,001	0,005	0,09
4	10	8,7	12,5	6,2	<0,001	<0,001	0,07
Total	37						

MR₁ – tuberculin reactions at 3 months after BCG vaccination

MR₂ – tuberculin reactions at one year of age

MR₃ – tuberculin reactions at two years of age

Table 8. Tuberculin reactions at 3 months after BCG vaccination, one and two years of age

3 months after the BCG vaccination vaccinal lesion was evaluated by description (scar, crust, secretion) and measurement of the maximum diameter.

Three months after the BCG vaccination, the BCG vaccine induced scar formation (positive) did not differ in half dose and the International Reference Preparation BCG vaccine group, although the size of the scar of the half-dosage group was smaller ($p < 0,05$). In the three-month olds BCG-vaccinated group the post-vaccine mark was seen in all the infants ($p = 0,01$) and size was larger than of the control group's children's ($p < 0,0001$) (table 9).

Group	n	Positive BCG mark n (perc.)	P	The mean of positive BCG mark size \pm SN (mm)	Maximum BCG mark size (mm)	p
1	124	116 (93,5)	-	4,1 \pm 2,1	10	-
2	71	65 (91,5)	0,60	3,5 \pm 2,0	9	0,048
3	100	95 (95,0)	0,64	3,9 \pm 1,9	8	0,31
4	128	128 (100)	0,010	5,2 \pm 1,4	12	<0,0001
Total	423					

Table 9. BCG scaring 3 months after the BCG vaccination

In one year old children (table 10), the size of BCG scar did not differ in groups, although in the three-month olds BCG-vaccinated group the post-vaccine scar formed more frequently - only one child had no BCG scar ($p < 0,001$).

Group	n	Positive BCG scar n (perc.)	P	Positive BCG scar (mm)	Range of positive BCG size (mm)	p
1	130	103(88,0)	-	5,0 \pm 2,2	1 - 15	-
2	83	67(80,7)	0,267	4,5 \pm 1,7	1 - 9	0,11
3	102	93(91,2)	0,768	4,8 \pm 1,8	1 - 9	0,53
4	128	127(99,2)	<0,001	5,4 \pm 1,5	2 - 10	0,08
Total	443					

Table 10. BCG scaring at one year of age

One case of adenitis in the left armpit was reported 3 months after BCG vaccination for the child who had been vaccinated 3 months of age; at one year of age it was resolved spontaneously. No suppurative lymphadenitis or fistulas or serious side effects were reported for children from these study groups.

There was a significant correlation between the size of the BCG vaccination scar and the outcome of the Mantoux test. The correlation coefficient at 3 months after BCG vaccination between the BCG mark and tuberculin reactivity was 0,47, $p= 0,017$, and at 1 year of age – 0,48, $p<0,001$ (figure 1, 2).

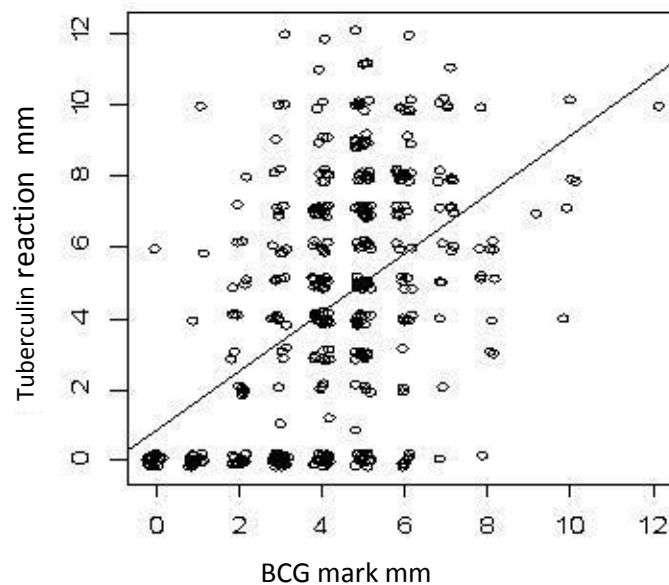


Figure 1. Correlation between the size of the BCG vaccination mark and the outcome of the Mantoux test 3 months after the BCG vaccination

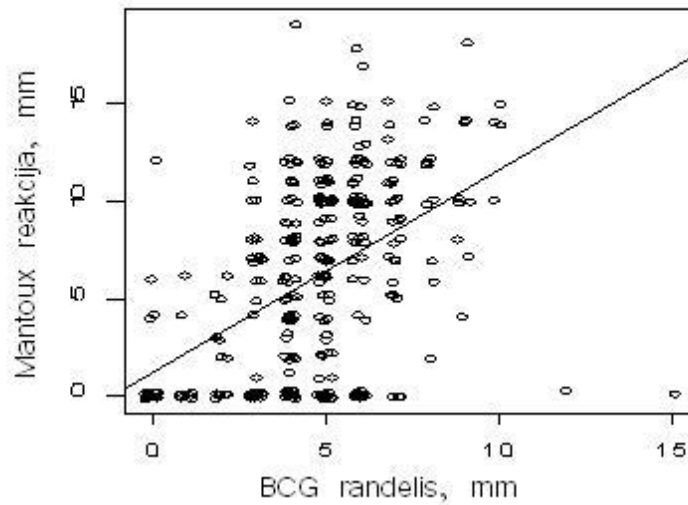


Figure 2. Correlation between the size of the BCG vaccination scar and the outcome of the Mantoux test at one year of age.

For evaluation of specific humoral immunity level 3 months after BCG vaccination enzyme-immunoassay (ELISA) was done for the detection of IgG class antibodies to different antigens ($H_{37}R_v$, PPD, IRP BCG, Danish BCG) in blood serum of infants (table 11).

Compare the particular antibodies only the mean level of anti IRP BCG was higher in IRP BCG group children then in standard BCG vaccination group ($H=5,2$, $p=0,023$). In the group, except for group 2 with one observation, the highest mean antibody level was against PPD, and statistical significant difference was found between PPD and $H_{37}R_v$ ($H=30,12$, $p=0,018$) for children, vaccinated at 3 months of age.

Antigen	Group			
	1 (n=8)	2 (n=1)	3 (n=8)	4 (n=22)
H ₃₇ R _v	0,208±0,079	0,300±0,00	0,214±0,064	0,150±0,041
PPD	0,212±0,035	0,180±0,00	0,215±0,042	0,224±0,044
IRP BCG	0,145±0,032	0,160±0,00	0,201±0,065	0,159±0,051
Danish BCG	0,176±0,041	0,170±0,00	0,206±0,041	0,191±0,048

Table 11. Antibodies (OD₄₅₀) against different antigens in blood serum of 3 months after the BCG vaccination

At one year of age the same antibodies were detected (table 12). There was no statistical difference between the groups or between the antibodies in the groups.

Antigen	Group			
	1 (n=4)	2 (n=6)	3(n=2)	4(n=11)
H ₃₇ R _v	0,263±0,061	0,217±0,063	0,210±0,08	0,240±0,061
PPD	0,203±0,010	0,222±0,115	0,160±0,071	0,169±0,050
PSO TSP BCG	0,240±0,100	0,267±0,070	0,265±0,078	0,180±0,060
Danish BCG	0,245±0,105	0,285±0,041	0,275±0,078	0,187±0,067

Table 12. Antibodies (OD₄₅₀) against different antigens in blood serum at one year of age

For 11 children vaccinated at 3 months of age antibodies were detected twice. At one year of age compare with 3 months after BCG vaccination, higher mean antibody level against H₃₇R_v was found, H=7,27, p=0,038 (table 13).

Antigen	Mean of antibodies at 3 months after BCG vaccination±SD		Statistical significance
	Mean of antibodies at 1 one year of age±SD		
H ₃₇ R _v	0,137±0,040	0,240±0,060	H=7,27, p=0,038
PPD	0,206±0,020	0,170±0,050	H=4,41, p=0,07
IRP BCG	0,140±0,020	0,180±0,060	H=0,05, p=0,58
Danish BCG	0,170±0,030	0,193±0,070	H=0,04, p=0,41

Table 13. Antibodies (OD₄₅₀) against different antigens at 3 months after BCG vaccination and at 1 one year of age of children, vaccinated at 3 months of age (n=11)

In prospective study 48 children were observed from birth until 6 years of age. The control group was comprised of 24 children vaccinated at birth with standard dosage of Danish BCG strain 1331. The investigative group was comprised of 24 children, vaccinated at 3 months with the same BCG vaccine dosage.

There were 12 boys and 12 girls in the investigative group and 17 boys and 5 girls in control group ($\chi^2=2,178$, $p=0,140$). Children from both groups were breast fed for the same period ($4,49\pm 5,12$ and $4,14\pm 4,03$ months, $H=0,007$, $p=0,93$). Parents stated, that 5 (20,8 perc.) children from investigative, and 9 (37,5 perc.) from control group had had recurrent obstructive bronchitis, allergic rhinitis or food - associated allergic rash in the period till 6 years of age ($F=1,613$, $p=0,171$). Most of them had food - associated allergic rash, i.e. 4 (16,7 perc.) from the investigative and 9 (37,5 perc.) from control group ($F=2,637$, $p=0,097$, $RR=2,3$, 95 perc. CI (0,80-6,32)), so there is some tendency to reduce the risk of food - associated allergic rash as being vaccinated at 3 months of age. The levels of IgE in the groups didn't differ statistically significant ($59,7\pm 60,3$ and $84,2\pm 109,3$, respectively, $H=0,87$, $p=0,35$).

As there was no equal distribution of sex in the groups, the influence of sex on the frequency of allergy - related conditions and food - associated allergic rash had been evaluate (table 14): girls of investigative group, rather of control, had had food- associated allergic rash less frequently ($F=6,10$, $p=0,036$).

Sex (n)	Group (n)	A n (perc.)	Statistical significance	B n (perc.)	Statistical significance
Male(29)	Investigative (12)	4 (33,3)	F=0,01, p=0,62,	4 (33,3)	F=0,01, p=0,62,
	Control (17)	6 (35,3)		6 (35,3)	
Female(19)	Investigative (12)	1 (8,3)	F=3,17, p=0,12 ,	0	F=6,10, p=0,036
	Control (7)	3 (42,9)		3 (42,9)	

A – children, who had had allergy - related conditions

B – children, who had had food - associated allergic rash

Table 14. Sex and allergy - related conditions in six years of age children

Compared	Investigative group (n=24)		Statistical significance	Control group (n=24)		Statistical significance
	Had been	No		Had been	No	
Allergy- related conditions	5 (20,8)	19 (79,2)		9 (37,5)	15(62,5)	
Mean of tuberculin reaction±SD mm	4,4±4,2	4,2±4,7	H=0,02, p=0,88	4,3±5,6	3,1±4,8	H=0,64, p=0,42
Positive tuberculin reactions n (perc.)	3 (60,0)	8 (42,1)	H=0,51, p= 0,41	3(33,3)	5(33,3)	H=0, p=1
Mean of positive tuberculin reaction mm ±SD	7,3±1,5	9,0±2,9	H=0,86, p=0,36	10,7±5,1	9,2±3,1	H=0,38, p=0,54
Mean size of BCG mm scar ±SD	5,8± 2,0	5,0± 1,1	H=0,60, p =0,44	4,2±2,5	5,4±2,6	H=0,67, p=0,41

Table 15. Allergy - related conditions and tuberculin reactivity till 6 years of age in children vaccinated at 3 months of age or at birth.

The mean of tuberculin reactions, frequency of positive tuberculin reactions and size of BCG scar didn't differ in the groups, regardless children had or had no allergy - related conditions (table 15).

There were no differences between the groups in humoral (IgG, IgA, IgM, IgE) and cellular immunity (lymphocytes, T helpers, T suppressors, natural killers, B lymphocytes) ($p>0,05$).

CONCLUSIONS

1. 3 months after the BCG vaccination the strongest reaction to tuberculin was found in children vaccinated with the BCG vaccine at three months of age if compare with vaccinated as newborns. Tuberculin reactions in children who received a half dose of BCG were smaller and positive reactions less frequent.
2. At one year of age the strongest reaction to tuberculin was found in children vaccinated with the BCG vaccine at three months if compare with vaccinated as newborns.
3. 3 months after BCG vaccination the mean positive BCG mark was larger and more frequent for children BCG vaccinated at three months and smaller for children vaccinated with half dosage of BCG vaccine, compared with vaccinated as newborns. At one year of age BCG mark was more frequent for children BCG vaccinated at three months of age.
4. 3 months after the BCG vaccination and at one year of age there was a strong correlation between the BCG scaring and tuberculin reactivity.
5. 3 months after the BCG vaccination the highest mean antibody level was against PPD, and statistical significant difference was found between PPD and H₃₇R_v (H=30,12, $p=0,018$) for children, vaccinated at 3 months of age. At one year of age in comparison with 3 months after BCG vaccination, higher mean antibody level against H₃₇R_v was detected for children vaccinated at 3 months of age.
6. BCG vaccination at 3 months of age, in comparison with BCG vaccination at birth may reduce the risk of food-associated allergic rash, especially in girls till 6 years of age.

REZIUME

Mokslo problemos aktualumas

BCG vakcina naudojama pirminei tuberkuliozės profilaktikai jau beveik 90 metų, ji patikimai apsaugo vaikus nuo sunkiausių tuberkuliozės formų: miliarinės plaučių tuberkuliozės, tuberkuliozinio meningito. Lietuvoje BCG vakcina įodiniu būdu naudojama nuo 1962 m., o nuo 1992 m. - daniška BCG vakcina (daniškas štamai 1331). BCG poveikis (tiek apsauginis nuo tuberkuliozės, tiek ir savybė suformuoti povakcininį randelį, sužadinti jautrumą tuberkulinui, sukelti pašalinį poveikį) gali priklausyti nuo skiepijamųjų populiacijos, tačiau iki šiol Lietuvoje nebuvo tyrimų apie šios vakcinai įprasta doze naujagimio amžiaus skiepytųjų vietinės žymės formavimosi ypatumus, jautrumą tuberkulinui įvairaus amžiaus vaikų grupėse. Kai kuriuose tyrimuose nurodoma, kad vyresnio amžiaus BCG vakcinuotų kūdikių povakcininė žymė yra ryškesnė, o jautrumas tuberkulinui – didesnis. Mažesnės nei įprasta BCG vakcinai dozės (tokia vakcina galėtų būti jos galiojimo termino pabaigoje) poveikis tyrimuose vertinamas nevienodai. Kadangi BCG vakcinų grupę sudaro įvairios BCG vakcinai, svarbus Lietuvoje naudojamos BCG vakcinai palyginimas su tarptautine standartizuota paruošimo BCG vakcina. Tuberkulino reakcijos ryšys su BCG randelio dydžiu nevienareikšmis, vis dėlto dauguma tyrinėtojų pastebi šių dydžių teigiamą koreliaciją. Šio dėsningumo patvirtinimas būtų praktiškai reikšmingas mažų vaikų tuberkulino reakcijos interpretacijai.

Alergijos paplitimą pasaulyje bandoma aiškinti higienos teorija: bakterinės infekcijos stoka sąlygoja alerginių ligų vystymąsi. BCG vakcina yra gyva, todėl ją paskiepyti vaikai turėtų būti linkę mažiau sirgti alerginėmis ligomis. Kadangi naujagimio imuninė sistema yra nebrandi, vėliau BCG vakcinuotiems vaikams nuo alergijos apsaugantis poveikis turėtų būti didesnis. Lietuvoje tyrimų šioje srityje nėra.

Darbo tikslas

Ištirti skirtingų BCG vakcinų, dozių ir vakcinavimo laiko įtaką povakcininio ir bendrojo imuniteto formavimuisi ikimokyklinio amžiaus vaikams.

Darbo uždaviniai

1. Įvertinti jautrumą tuberkulinui 3 mėn. po BCG vakcinacijos kūdikiams, skiepytiems įprasta daniškos BCG vakcinės doze, pusine tos pačios vakcinės doze, PSO TSP BCG vakcina naujagimio arba skiepytiems įprasta daniškos BCG vakcinės doze 3 mėn. amžiaus.
2. Palyginti jautrumą tuberkulinui vienerių ir dviejų metų vaikams, skiepytiems įprasta daniškos BCG vakcinės doze, pusine tos pačios vakcinės doze, PSO TSP BCG vakcina naujagimio arba skiepytiems įprasta daniškos BCG vakcinės doze 3 mėn. amžiaus.
3. Įvertinti povakcininio randelio formavimosi ypatumus 3 mėn. po BCG skiepo ir 1 m. amžiaus vaikams, skiepytiems įvairiomis BCG vakcinomis, jų dozėmis ar režimais.
4. Ištirti ar BCG vakcinacijos vietinės reakcijos dydis įtakoja tuberkulino įdinės reakcijos stiprumą 3 mėn. po BCG vakcinacijos ir 1 m. vaikams.
5. Ištirti kūdikių 3 mėn. po BCG vakcinacijos ir 1 m. vaikų, skiepytų įvairiomis BCG vakcinomis, jų dozėmis ar režimais, kraujo serumo H₃₇ R_v, PPD, daniškos BCG bei PSO TSP BCG IgG antikūnų kiekius.
6. Įvertinti galimą ryšį tarp vakcinacijos laiko, tuberkulino reakcijos dydžio ir su maistu siejamų odos alerginių ligų atsiradimo dažnio ikimokyklinio amžiaus vaikams, skiepytiems įprasta daniškos BCG vakcinės doze naujagimio arba 3 mėn. amžiaus.

Darbo mokslinis naujumas ir praktinė vertė

1. Pirmą kartą atliktas kompleksinis, prospektyvinis įvairiais BCG režimais skiepytų Lietuvos vaikų kohortos tyrimas iki 6 m. amžiaus.
2. Pirmą kartą palyginta skirtingų BCG vakcinų, jų dozių bei vakcinuojamų kūdikių amžiaus įtaka povakcininio imuniteto formavimuisi.
3. Pirmą kartą prospektyvinio tyrimo metu įvertintas BCG vakcinacijos laiko ryšys su ikimokyklinio amžiaus vaikų alergija.

Ginamieji teiginiai

1. 3 mėn. amžiaus BCG vakcina skiepytiems vaikams, lyginant su skiepytaisiais naujagimystėje, tiek 3 mėn. po BCG vakcinacijos, tiek ir 1 m. vaikams vietinė BCG žymė yra dažnesnė, o reakcija į tuberkuliną stipresnė ir dažnesnė.
2. 3 mėn. po BCG skiepijimo ir 1 m. vaikams reakcijos į tuberkuliną dydis priklauso nuo BCG žymės dydžio.
3. Ikimokykliniams vaikams BCG vakcinacija 3 mėn. amžiaus, palyginus su vakcinacija vos gimus, gali sumažinti su maistu siejamo odos alerginio bėrimo atsiradimo riziką.

Tyrimo metodika

Tyrimo dalyvavo 509 vaikai, suskirstyti į 4 grupes pagal vakcinos dozę, rūšį, vakcinuojamųjų amžių. Pirmąją (kontrolinę) grupę sudarė įodiniu būdu įprasta rekomenduojama daniškos BCG (*Mycobacterium bovis* Danish 1331) vakcinos doze (0,05 ml ištirpintos vakcinos) skiepyti 152 naujagimiai. Į antrąją grupę įtraukti 93 naujagimiai, vakcinuoti pusine tos pačios vakcinos doze, trečios grupės 121 naujagimiai vakcinuoti TSP (Tokyo) BCG vakcina, o ketvirtą grupę sudarė 143 naujagimiai, numatyti vakcinuoti 3 mėn. amžiaus įprasta daniškos BCG vakcinos doze. Vakcinuoti sveiki vaikai, atitinkantys BCG vakcinavimo kriterijus, ir nesant sergančių TB šeimos ir artimųjų tarpe. Ketvirtos grupės, t.y. 3 mėn. kūdikiai vakcinuoti, prieš tai atlikus jiems Mantoux įodinį mėginį su 2 TV PPD RT - 23 tuberkulino į dešinį dilbį, visiems kūdikiams jis buvo neigiamas (0 mm).

3 mėn. po BCG vakcinacijos kūdikiai buvo kliniškai ištiriami gydytojo, įvertinant BCG vakcinos suleidimo sritį, atliktas Mantoux įodinis mėginys su 2 TV PPD RT-23 į kairio dilbio vidinio paviršiaus vidurinę dalį, kuris vertintas po 72 val. Vienerių metų vaikams buvo atliekamos tos pačios procedūros. Kai kuriems vaikams 3 mėn. po BCG bei 1 m. buvo atlikti specifiniai imunologiniai tyrimai (PPD, BCG, H₃₇R_v IgG antikūnai ELISA metodu). Vaikai, kurių reakcija į tuberkuliną buvo ryškiai teigiama, buvo pakartotinai tirti tuberkulinu 2 m. amžiaus. 6 m. vaikams papildomai surinkta

anamnezė apie vaiko alergines ligas, išmatuotas BCG randelio dydis. Šiems vaikams atliktas ir po 72 val. įvertintas Mantoux mėginys.

Statistinė analizė

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant Epi Info 3.5.1 programą (Ligų kontrolės centras, Atlanta, JAV). Rodiklių vidurkių skirtumai tarp įvairių grupių vertinti pagal Mann-Whitney/Wilcoxon testą (Kruskal-Wallis H testas dviem grupėms). Proporcijų skirtumai vertinti χ^2 ir Fišerio tiksluoju testu. Lyginant daugiau kaip dviejų grupių vidurkius, naudota dispersinė analizė (ANOVA), priklausomybei tarp dviejų kintamųjų - Pearson koreliacija.

Pagrindiniai rezultatai

3 mėn. po BCG vakcinacijos tuberkulino reakcijos buvo stipresnės ($p < 0,001$) ir dažnesnės ($p < 0,0001$) 3 mėn. amžiaus skiepytų vaikų, pusine BCG doze skiepytų naujagimių buvo retesnės ir silpnesnės ($p < 0,05$), o PSO Tarptautinio standartinio paruošimo BCG vakcina skiepytų nesiskyrė nuo įprasta doze naujagimio amžiaus daniška BCG vakcina skiepytų. TSP vakcina 3 - 6 parą vakcinuotų vaikų vidutinio Mantoux infiltrato dydžio reikšmė buvo didesnė ($p < 0,0001$), nei vakcinuotų pirmomis dvejomis paromis.

1 m. vaikams teigiamos tuberkulino reakcijos buvo dažnesnės ($p < 0,0001$) ir didesnės ($p < 0,0001$) 3 mėn. amžiaus daniška BCG vakcina, retesnės pusine daniškos BCG vakcinos doze skiepytų vaikų ($p < 0,05$), o PSO Tarptautinio standartinio paruošimo BCG vakcina skiepytų vaikų didesnės ($p = 0,003$), nei daniška BCG vakcina naujagimio amžiaus skiepytų vaikų. 2 m. vaikų reakcijos į tuberkuliną buvo mažesnės, nei 1m. vaikų, o 3 mėn. po BCG vakcinacijos mažesnės, nei 1 m. vaikų, tai patikimai statistiškai įrodyta PSO TSP BCG vakcina bei 3 mėn. amžiaus skiepytų vaikų grupėse. 6 m. vaikams jautrumas tuberkulinui grupėse nesiskyrė.

Vietinė reakcija BCG vakcinos suleidimo vietoje 3 mėn. po skiepo buvo matyti visiems kūdikiams, skiepytiems 3 mėn. amžiaus ($p = 0,01$), o susidariusi žymė buvo didesnė ($p < 0,0001$). Pusinės BCG vakcinos dozės vaikams žymė buvo mažesnė

($p < 0,05$), nei įprasta BCG vakcinės doze skiepytų kūdikių. BCG randelis 1 m. vaikams susidarė statistiškai patikimai dažniau, jei jie buvo skiepyti 3 mėn. amžiaus ($p < 0,001$).

3 mėn. po BCG vakcinacijos ir 1 m. vaikams gauta tiesioginė priklausomybė tarp BCG randelio ir reakcijos į tuberkuliną dydžio (atitinkamai $p = 0,017$, koreliacijos koeficientas $r = 0,47$ ir $p < 0,001$, $r = 0,48$).

BCG vakcinacijos pašalinis poveikio (nei supūliavusio limfmazgio ar fistulės, nei „šalto“ absceso) tirtų vaikų tarpe nebuvo.

3 mėn. po BCG vakcinacijos didžiausi vidutiniai prieštuberkuliozinių antikūnų dydžiai (OT_{450}) buvo prieš PPD antigeną, tačiau patikimai tai pavyko įrodyti tik 3 mėn. amžiaus BCG skiepytiems kūdikiams, palyginus su antikūnais prieš $H_{37}R_v$ antigeną ($p = 0,018$). 1m. vaikams, palyginti su 3 mėn. po BCG vakcinacijos, 3 mėn. amžiaus BCG vakcinuotų vaikų grupėje padidėjo antikūnų prieš $H_{37}R_v$ antigeną.

6 m. amžiaus tirti 48 vaikai: 24, skiepyti 3 mėn. amžiaus (tiriamoji grupė) ir 24, skiepyti BCG vakcina naujagimio amžiaus (kontrolinė grupė). Tiriamojoje grupėje buvo 12 berniukų ir 12 mergaičių, o kontrolinėje grupėje buvo 17 berniukų ir 5 mergaitės ($p = 0,14$). Tiriamosios grupės 5 (20,8 proc.), o kontrolinės grupės 9 (37,5 proc.) vaikams iki 6 m. buvo recidyvuojančio obstrukcinio bronchito, alerginio rinito ar su maistu siejamo odos bėrimo epizodai ($p = 0,20$). Šiems vaikams dažniausi buvo su pavartotu maistu susiję alerginio bėrimo epizodai (4 tiriamosios, 9 kontrolinės grupės grupės vaikams), $p = 0,097$, šansų santykis 2,3 (95 proc. pasikliautinumo intervalas 0,80-6,32). Turint pakankamai mažą imtį, galima tendencija, kad vakcinacija 3 mėn. kūdikiui, palyginti su naujagimio amžiaus BCG vakcinacija, gali sumažinti riziką su maistu sietintimiems odos bėrimams vaikui iki 6 m. Iš visų 19 mergaičių nė vienai iš tiriamosios grupės nebuvo su maistu sietinų odos bėrimų, o kontrolinės – 3, skirtumas statistiškai patikimas ($p = 0,036$). Ryšio tarp sietų su alergija būklių ir teigiamo tuberkulino mėginio ar BCG randelio dydžio nepastebėta.

Išvados:

1. 3 mėn. po BCG vakcinacijos įdominės reakcijos į tuberkuliną, lyginant su naujagimio amžiaus įprasta daniškos BCG vakcinės doze skiepytaisiais, buvo silpnesnės ir retesnės skiepytiems naujagimio amžiaus pusine šios vakcinės doze, o stipresnės ir dažnesnės - skiepytiems įprasta daniškos BCG vakcinės doze 3 mėn. amžiaus kūdikiams.

2. 1 m. vaikams tuberkulino įodinės reakcijos, lyginant su įprasta daniškos BCG vakcinės doze vos gimus skiepytaisiais, buvo silpnesnės pusine BCG doze naujagimio amžiaus skiepytiems vaikams, o stipresnės ir dažnesnės skiepytiems įprasta daniškos BCG vakcinės doze 3 mėn. amžiaus.
3. 3 mėn. po vakcinacijos BCG vietinė žymė, lyginant su įprasta daniškos BCG vakcinės doze vos gimus skiepytaisiais, buvo mažesnė pusine BCG doze naujagimio amžiaus skiepytiems, o dažnesnė ir didesnė 3 mėn. amžiaus BCG vakcinuotiems kūdikiams. Vienerių metų vaikams BCG randelis dažniau susidarė 3 mėn. amžiaus BCG vakcinuotiems kūdikiams.
4. Kūdikiams 3 mėn. po BCG vakcinacijos bei 1 m. vaikams *Mantoux* reakcijos dydis priklausė nuo povakcininio randelio dydžio .
5. 3 mėn. po BCG vakcinacijos PPD antikūnų vidutiniai kiekiai (OT_{450}) buvo didžiausi, tačiau patikimai tai pavyko įrodyti tik 3 mėn. amžiaus BCG skiepytiems kūdikiams. 1m. vaikams, palyginti su 3 mėn. po BCG vakcinacijos, 3 mėn. amžiaus BCG vakcinuotų vaikų grupėje padidėjo $H_{37}R_v$ antikūnų.
6. 3 mėn. amžiaus kūdikių BCG vakcinacija, lyginant su BCG vakcinacija tuoj po gimimo, galimai sumažino su maistu sietinų alerginių odos bėrimų riziką, o mergaites patikimai nuo jų apsaugojo ikimokykliniu laikotarpiu.

Elena Sučilienė gimė 1957 m. lapkričio 14 d. Komijos respublikoje, Rusijoje. 1982.m. su pagyrimu baigė Vilniaus universiteto Medicinos fakultetą, pediatrijos specialybę. 1983.m. baigė pediatro Internatūros studijas Vilniaus miesto universitetinėje klinikinėje ligoninėje. 1998.m. suteikta aukščiausia gydytojo ftiziatro kvalifikacinė kategorija. Nuo 1999 m. iki šiol turi gydytojo vaikų pulmonologo kvalifikacinę kategoriją. 1983-1985 m. dirbo gydytoja pediatre Vilniaus Žygimantų vaikų poliklinikoje. Nuo 1985 m. iki šiol dirba gydytoja vaikų ftiziatre (nuo 2005 m.vaikų pulmonologe) Respublikinėje tuberkuliozės ir infekcinių ligų universitetinėje ligoninėje Vaikų tuberkuliozės ambulatoriniame skyriuje. Nuo 2005 m. iki šiol dirba Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Vaikų ligų klinikoje asistente. Elena Sučilienė ištekėjusi, turi 3 vaikus.

LIST OF DOCTORATE'S PUBLICATIONS ON TOPIC OF DISSERTATION

1. Sučilienė E, Šlapkauskaitė D, Semėnaitė B. BCG vakcinacija ir tuberkulino diagnostika (BCG vaccination and tuberculin skin tests). *Medicina*, 1997, T.33, Pr.5, P. 17-19.
2. Sučilienė E, Ronne T, Plesner AM, Semėnaitė B, Šlapkauskaitė D, Larsen SO, Haslov K. Infant BCG vaccination study in Lithuania. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 1999, Vol.3 (11), P. 956-961.
3. E.Sučilienė, A.Valiulis. BCG vaccina: dabartis, ateitis, perspektyvos (BCG vaccine: present, future and perspectives). *Vaikų pulmonologija ir alergologija*, 2000, T.3 (2), P. 67.
4. E.Sučilienė. Daniškos BCG vakcinės įvertinimas pagal tuberkulino reakciją, povakcininio randelio susidarymą, vakcinuojamųjų amžiaus bei vakcinės dozės faktorių (Capacity of Danish BCG vaccine to induce tuberculin reactivity and scar formation depending on the dosage and vaccination time). *Vaikų pulmonologija ir alergologija*, 2001, T IV, (4), P 1517-1524.
5. Sučilienė E, Valiulis A, Lapinskas A. Ikimokyklinio amžiaus vaikų, skiepytų BCG vakcina naujagimystėje arba 3 mėnesių amžiuje, jautrumo tuberkulinui ir atopijos ypatumai (Response to tuberculin and its relation to atopy in preschool children, vaccinated with BCG vaccine as newborn or 3 months of age). *Vaikų pulmonologija ir alergologija.ž*, 2009, 12(1), 4131- 4139.
6. Sučilienė E, Valiulis A. Įvairiomis BCG vakcinomis skiepytų naujagimių ir 3 mėnesių kūdikių jautrumo tuberkulinui ir vietinės povakcininės žymės ypatybės praėjus 3 mėnesiams po skiepijimo (Sensitivity to tuberculin and local post-vaccine reaction 3 months after vaccination with different BCG vaccines of newborns or 3 months old babies). *Medicinos teorija ir praktika*, 2009, 15 (1), P. 39 – 44.
7. Sučilienė E, Valiulis A. Skirtingų BCG vakcinų, dozių ir skiepijimo laiko įtaka povakcininio randelio dydžiui ir reakcijos į tuberkuliną stiprumui vienerių metų vaikams (The influence of different BCG vaccines, dosage, regiments of vaccination on sensitivity to tuberculin and scaring in one year old children). *Vaikų pulmonologija ir alergologija*, 2009, 12 (2), P. 4211–4221.

SHORT INFORMATION ABOUT DISSERTANT

Elena Sučilienė was born in the republic of Komi, Russia on November 14, 1957. In 1982 she graduated Pediatric programme in Vilnius University Medical Faculty. In 1983 she graduated Pediatric Internship studies in Vilnius City University Hospital. In 1998 she was gained extreme category of phthysiatrician. In 1999 she was gained a qualification of pediatric pulmonologist. Since 1985 she is working as child pulmonologist in Republican University Hospital of tuberculosis and Infectious Diseases. Since 2005 she works as assistant in Clinic of Children's Diseases of Vilnius University Faculty of Medicine. Elena Sučilienė is married and has three children.