

ALERGENII ȘI METODA ALERGOLOGICĂ DE DIAGNOSTIC

Apărarea specifică a organismului față de agresiunea antigenică se desfășoară în două faze: la *primul contact* apar semne ale acțiunii directe a antigenului (toxina, venin etc.) sau nu apar semne vizibile dacă antigenul este lipsit de o asemenea acțiune (seruri heteroloage ș. a.); la *al doilea contact* organismul prezintă o stare de rezistență specifică la acțiunea nocivă directă a antigenului, «imunitate», sau o stare de sensibilitate crescută, «sensibilizare».

În 1906 von Pirquet numea această modificare a reacțiilor organismului după contact repetat cu antigeni «alergie» (gr. *allos* = alt și *ergein* = a acționa, deci altă reacție). Progresiv, prin uz, semnificația termenului de alergie s-a restrâns, el devenind, în limbajul medical contemporan, sinonim cu sensibilizare.

Imunitatea și sensibilizarea sunt două modalități de manifestare ale unui fenomen unic: reacția aceluiși antigen cu efectorii imunitari. Imunitatea și manifestările sensibilizării față de un antigen depind de:

- raporturile cantitative realizate între antigen și anticorpii omologi;
- tipul efectivelor implicați;
- sediul reacției antigen-anticorp.

R. A. Coombs și P. G. Gell au clasificat sensibilizările, după mecanismul de producere, în patru tipuri:

- *tipul I* — reacțiile mediate de anticorpi citofili;
- *tipul II* — reacțiile citolitic-citotoxice, care sunt mediate de anticorpi față de antigeni de pe suprafața celulelor cu participarea complementului, a celulelor *K* sau macrofagelor;
- *tipul III* — reacțiile mediate de complexe imune cu participarea complementului;
- *tipul IV* — reacțiile mediate de limfocitele *T* sensibilizate la antigen (figura 11.1).

Pentru că reacțiile de tip I—III se manifestă la intervale de minute sau ore după pătrunderea antigenului, se numesc *sensibilizări imediate*, în timp ce reacțiile de tip IV, care se manifestă după 24—48 ore, sunt *sensibilizări întârziate*.

În evoluția unor infecții, efectorii imunitari pot contribui, alături de agentul etiologic, la patogenia bolii. Este cazul sensibilizărilor la antigeni ale agenților infecțioși:

- Fenomene anafilactice apar în evoluția unor infecții cronicizate ale tractusului respirator inferior (astmul intrinsec), helmintiaze cu fază tisulară (ascaridioză, echinococoză etc.).

- Reacții citolitic-citotoxice determină leziunile de hepatită cronică în infecția persistentă cu virusul hepatitei B sau C.

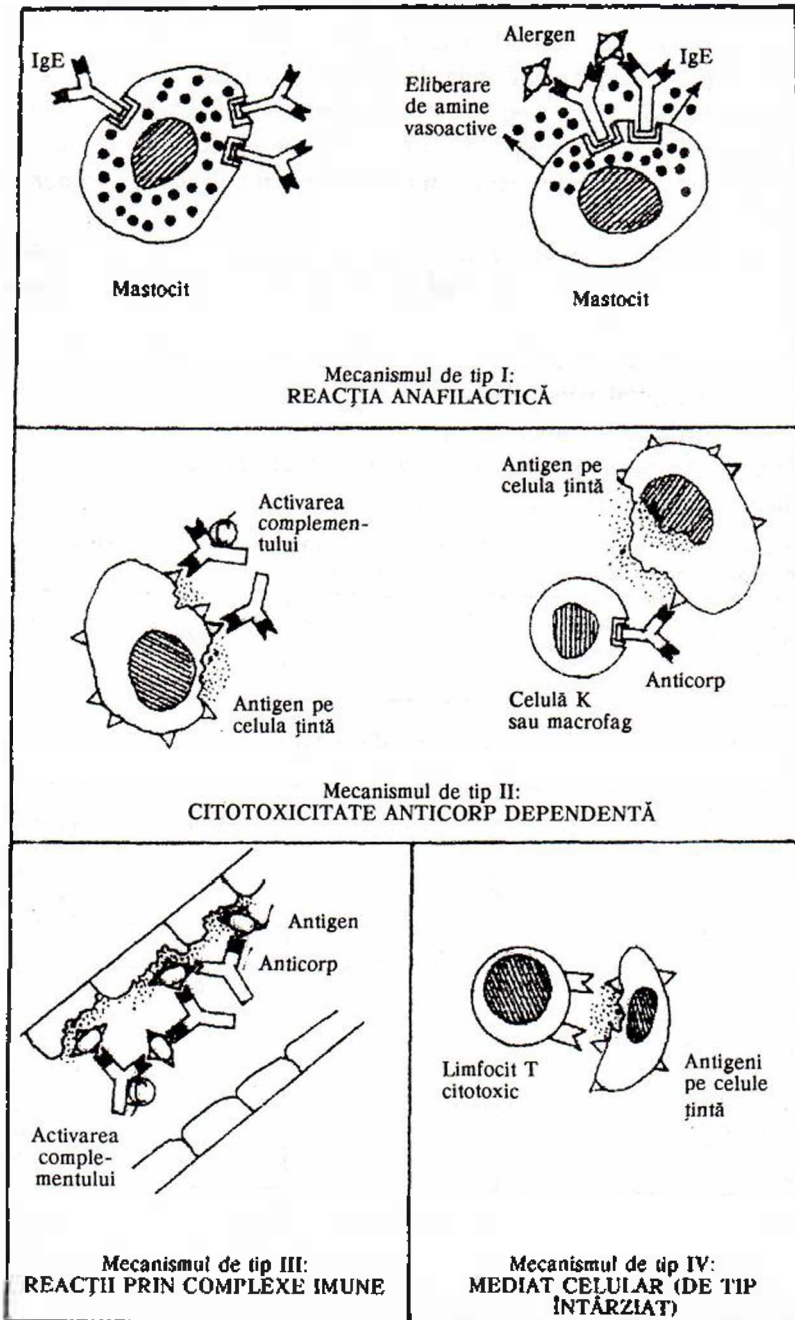


Fig. 11.1. Reprezentare schematică a celor patru tipuri de sensibilizare stabilite de R. A. Coombs și P. G. Gell

■ Reacții localizate prin complexe antigen-anticorp se întâlnesc în aspergiloza pulmonară (infecția cu *Aspergillus fumigatus* a persoanelor sensibilizate prin inhalare repetată de pulberi conținând sporii acestui fung).

■ Leziunile de glomerulo-nefrită care apar la pacienții cu endocardită bacteriană subacută sau după 2—3 săptămâni de la debutul infecției cu anumite serotipuri de *Streptococcus pyogenes* sau *S. zooepidemicus* se datorează sensibilizării prin complexe antigen-anticorp circulante. Acești pacienți au complementul seric scăzut, iar colorația imunofluorescentă depistează subendotelial, în lungul membranei bazale glomerulare, depozite de imunoglobuline și C₃.

■ Sensibilizarea de tip IV apare ca un corolar al imunității când în organism pătrunde ori s-a format în cantități mari antigenul sensibilizant în infecții cu microorganisme intracelulare.

Sensibilizările la variații alergeni din mediul extern (tabelul 11.1) este o temă relativ mare, dar în acest capitol vom trata cu precădere metodele și tehnicile de depistare a sensibilizărilor la antigeni ale unor agenți infecțioși cu rol semnificativ pentru diagnosticul infecțiilor determinate și, eventual, în patogenia bolilor respective. Putem recurge la teste *in vivo* sau la testări *in vitro*.

Tabelul 11.1. Teste intradermice de sensibilizare la unii agenți infecțioși sau alți alergeni cu interes pentru patologia infecțioasă

Antigen	Diluții doze, ml	Citirea după	Diagnostic	Observații
<i>Diagnosticul infecției</i>				
Brucelina ¹	0,1	24—48 ore	Bruceloză	Papulă cu diametrul ≥ 10 mm absentă la martorul cu vehicolul antigenului
Frei ²	0,1	48—72 ore	Limfogranulomatoză veneriană	Papulă cu diametrul ≥ 6 mm absentă la martorul cu vehicolul antigenului. Apare pozitivă și în alte infecții cu <i>Chlamydia trachomatis</i>
Limforeticuloză benignă de inoculare ³	0,1	24—48 ore	Boala zgârieturii de pisică	Papulă cu diametrul ≥ 6 mm
Rickettsian ⁴	0,1	24—48 ore	Febră Q Tifos exantematic Febre pătate Tifos de lăstăriș	Papulă cu diametrul ≥ 5 mm absentă la martorul cu vehicolul antigenului

Tabelul 11.1 (continuare)

Antigen	Diluții doze, ml	Citirea după	Diagnostic	Observații
Tuberculină (PPD ⁵)	2 U/0,1 10 U/0,1	48—72 ore	Tuberculoză (infecție latentă sau boală)	Papulă cu diametrul ≥10 mm
Tularină ⁶	0,1	48—72 ore	Tularemie	Papulă cu diametrul ≥10 mm; posibil vezicule în centrul leziunii. Martor cu vehicolul antigenului
Toxoplasmină ⁷	01	24—48 ore	Toxoplasmoză	Papulă cu diametrul ≥10 mm; posibil veziculă centra- lă. Martor cu vehicolul antigenului
Casoni ⁸	0,2	Reacție precoce: 10—20 minute Reacție tardivă: 24 ore	Hidatidoză: chist nefisurat, imunoselectiv Chist fisurat, imunoactiv	Papulă cu diametrul ≥10 mm. Martor cu vehicolul an- tigenului. Sen- sibilitate: 75%; specificitate: 90%
Trichinian ⁹	10 ⁻⁴ /0,1	Reacție precoce: 5—20 minute Reacție tardivă: 18—24 ore	Trichineloză	Papulă cu diametrul ≥10 mm. Martor cu vehicolul antigenului
Coccidioidină ¹⁰ Sferulină ¹¹	10 ⁻⁴ —10 ⁻² /0,1	24—48 ore	Coccidioido- micoză	Papulă cu diametrul ≥ 5 mm. Martor cu vehicolul antigenului
Histoplasmină ¹²	0,1	48—72 ore	Histoplasmoză	Papulă cu diametrul ≥5 mm. Martor cu vehicolul antigenului
<i>Aspergillus</i> sp. și alte mucegaiuri ¹³	10 ⁻⁴ —10 ⁻³ /0,1	10—20 minute 4 ore	Sensibilizări atopice (astm bronșic) Aspergiloză bron- hopulmonară	Papulă cu diametrul ≥5 mm. Martor cu vehicolul antigenului
<i>Medicamente</i>				
Seruri hiperimune heterologe	10 ⁻³ —10 ⁻² /0,1	5—30 minute	Sensibilizare anafilactică	Papulă urticariană sau numai eritem cu diametrul ≥5 mm

Tabelul 11.1 (continuare)

Antigen	Diluții doze, ml	Citirea după	Diagnostic	Observații
Penicilină G potasică	50—1000 UI/ml ¹⁴ 10 ⁴ UI/ml 0,1	15 minute	Sensibilizare anafilactică	Se începe cu testul percutan ¹⁶ ; dacă rămâne negativ, se continuă la intervale de 15 minute cu i. d. r. începând cu cea mai mică doză recomandată. Papulă urticariană sau numai congestie cu diametrul ≥ 5 mm
<i>Evaluarea imunității mediate celular</i>				
Candidină ¹⁷	10 ⁻⁴ —10 ⁻¹ /0,1	24—48 ore	—	Papulă cu diametrul ≥ 5 mm: prezintă capacitatea de a elabora un răspuns imun celular. Mar-tor cu vehiculul antigenului
Antigen urlian ¹⁸	0,1	24—48 ore	—	Ibidem
Streptokinază-strep-todornază ¹⁹	0,1	24—48 ore	—	Ibidem
<p>¹ Brucelină: Filtrat al culturii de <i>Brucella</i>, fază S, în vârstă de 25 zile. Nu este imunogen, ci numai reactogen. În caz de rezultat neconcludent, testul se poate repeta numai după 30 zile pentru a evita desensibilizări.</p> <p>² Extract inactivat termic din celulele sacului vitelin al embrionului de găină infectat cu <i>Chlamydia trachomatis</i>, serotipurile L₁-L₃; poate provoca seroconversie; are înrudiri cu celelalte serotipuri de <i>C. trachomatis</i>.</p> <p>³ Puroi din leziunile unul caz tipic; aspirat aseptice și inactivat termic.</p> <p>⁴ Antigen rickettsian solubil (specific de grup) sau corpuscular (specific de specie) obținut din sacul vitelin al embrionului de găină infectat.</p> <p>⁵ <i>Tuberculina clasică</i>: filtratul culturii în bulion glicerinat al bacililor tuberculozei, omorâți prin căldură, concentrat prin evaporare în baie de apă la 80°C până la 1/10 din volumul inițial. Elementul activ sunt tuberculoproteinele, care, denaturate prin căldură, își pierd imunogenitatea, dar își păstrează reac-tivitatea specifică. Se utilizează pentru i.d.r. în diluții de la 10⁻⁶ la 10⁻⁴. PPD (<i>Purified Proteine Derivative</i>) este mai stabil, mai specific și mai sensibil decât tuberculina brută și dozat mai precis în unități tuberculice.</p>				

- ⁶ *Tularină*: Suspensie cu 10^8 cocobacili tularemici/ml în soluție salină izotonă, glicerinată 3% și inactivată o oră la 80°C .
- ⁷ *Toxoplasmină*: Extract în soluție salină izotonă din trofozoizi de *T. gondii*; poate fi liofilizat.
- ⁸ Lichid hidatic formolat; poate fi liofilizat.
- ⁹ Extract din larve de *Trichinella spiralis*.
- ¹⁰ Filtratul culturii de *Coccidioides immitis* în bulion sintetic.
- ¹¹ Extract din sferule tisulare de *C. immitis*.
- ¹² Filtratul culturii de *Histoplasma capsulatum* în bulion sintetic. Este unul din pușinii antigeni utilizați în i.d.r. care nu-și pierde imunogenitatea și poate determina creșteri ale titrului anticorpilor anti-*Histoplasma* (e. g. anticorpii fixatori de complement).
- ¹³ Filtratul culturii acestor specii.
- ¹⁴ La pacienți cu antecedente certe de sensibilizare imediată.
- ¹⁵ La pacienți fără antecedente certe de sensibilizare.
- ¹⁶ Testul percutan: Se antisepticizează tegumentul de pe fața anterioară a antebrațului succesiv cu alcool și apoi cu eter pentru a-l usca. Cu un vaccinostil sau cu un ac de seringă se scarifică de 2—3 ori tegumentul pe o lungime de 0,5—1 cm până apare o picătură de limfă ușor sangvinolentă. Se depune pe suprafața scarificată o picătură din soluția de antigen și se urmărește reacția de tip anafilactic.
- ¹⁷ Filtratul culturii de *Candida albicans*.
- ¹⁸ Extract antigenic din embrionul de găină infectat cu virusul parotiditei epidemice.
- ¹⁹ Filtratul culturii de *Streptococcus pyogenes* în bulion.

11.1. TESTĂRI *IN VIVO*: INTRADERMOREACȚII LA ALERGENI

Principiu: Un alergen inoculat intradermic la o persoană sensibilizată reacționează cu efectorii imunitari preexistenți și determină o inflamație locală în interval de 5—20 minute, de tip anafilactic (implicarea anticorpilor IgE), până la 6 ore, de tip Arthus (implicarea anticorpilor IgG, IgM și complementului), între 24—72 ore sau mai mult de tip tuberculinic (implicarea limfocitelor specific sensibilizate).

Indicații:

- Diagnosticul unor infecții inaparente, latente sau manifeste clinic.
- Depistarea sensibilizării la unele medicamente injectabile ca: seruri hiperimune heterologe, penicilină, novocaină, substanțe iodate pentru contrast radiologic.
- Determinarea capacității unei persoane de a elabora răspuns imun celular.
- Identificarea alergenilor responsabili de anumite stări morbide (astm bronșic, eczeme profesionale ș. a.).

Necesar:

1. Truse cu extracte alergene, mai mult sau mai puțin complete, sunt comercializate de diferite laboratoare ca Institutul Pasteur din Paris, Institutul Cantacuzino din București ș. a. (tabelul 12.1).
2. Seringă Luer de 1 ml, cu gradajii de 0,05 ml, prevăzută cu ac 16/5 (lungime de 16 mm, calibru de 0,5 mm).
3. Tampoane din vată sau tifon.
4. Alcool etilic de 70° .

Procedură: Se antiseptizează cu alcool de 70° tegumentul feței anterioare a antebrațului în 1/3 mijlocie. Se inoculează strict intradermic cantitatea indicată de antigen (tabelul 11.1), uzual 0,1 ml.

Observații: Când pacientul declară în antecedente reacții de tip anafilactic, antigenii care pot induce asemenea reacții vor fi testați mai întâi percutan (vezi nota 16, tabelul 11.1) cu diluția cea mai mare a antigenului, iar testarea nu va fi începută fără trusa de urgență antișoc (adrenalină, hidrocortizon hemisuccinat, romergan) sau antiastmatică (astmofug, bronhodilatant, Alupent spray, Berotec spray etc.).

Citirea:

1. *Reacțiile de tip anafilactic*, apar în interval de 5—20 minute și se manifestă ca o papulă urticariană palidă, înconjurată de o aureolă congestivă cu tegumentul catifelat și pruriginoasă; dispar în interval de 30—60 minute.

2. *Reacțiile de tip III, Arthus*, apar după 4—6 ore ca o papulă infiltrativă, indurată, congestivă împreună cu regiunea înconjurătoare. În caz de reacție intensă centrul leziunii poate lua aspect peteșial, chiar necrotic. Dispar în interval de 24 ore sau mai mult, în funcție de intensitatea leziunii.

3. *Reacțiile de tip IV, întârziate sau de tip tuberculinic*, apar după 24—96 ore, chiar mai mult, în funcție de antigen (tabelul 11.1) ca o papulă infiltrativă, indurată, congestivă împreună cu regiunea înconjurătoare. La reacții intense, în centrul leziunii pot apărea vezicule. Dispar lent în interval de câteva zile.

Aprecierea reacțiilor se face după diametrul papulelor (tabelul 11.1) în condițiile absenței unei asemenea leziuni sau a dispariției ei semnificativ mai precoce la martor (e. g. sensibilizarea de tip anafilactic sau de tip Arthus asociate unei sensibilizări întârziate la antigeni cum sunt candidina, antigenul trichinian).

Interpretarea rezultatelor trebuie diferențiată:

1. *Testele percutane sau i.d.r. pentru sensibilizări de tip imediat:*

a) *Au importanță deosebită pentru identificarea alergenului în boli prin sensibilizări atopice* (astm, edem Quinque etc.), în aspergiloza pulmonară, identificarea sensibilizărilor la unele medicamente.

b) *Pentru diagnosticul unor helmintiaze* (ascaridioză, distosomiaze, filarioze, schistosomiază) sau micoze (candidoze) sunt prea puțin sensibile și specifice, încât nu se mai utilizează. Doar în unele servicii, care nu au posibilitatea altor teste, se mai utilizează i.d.r. Casoni pentru diagnosticul hidatidozei cu o sensibilitate de 75% și o specificitate de 90%.

2. *Testele i.d.r. pentru sensibilizări de tip întârziat:*

a) *În diagnosticul bolilor infecțioase* trebuie interpretate prudent:

Sensibilizarea întârziată poate fi demonstrată numai între 1 și 10 săptămâni după debutul infecției. Intervalul în care apare acest tip de sensibilizare depinde de mai mulți factori ca: agentul infecțios, perioada de incubație a bolii, reactivitatea gazdei și alți factori mai puțin cunoscuți. Cel mai precoce apare în boli ca histoplasmoza, limfogramulomatoza veneriană; în infecția tuberculoasă apare abia după 10 săptămâni, iar în lepră și mai târziu.

Testele intradermice de tip întârziat se pot nega temporar în unele circumstanțe fiziologice (sarcină) sau patologice (convalescența unor viroze anergizante ca gripa, rujeola etc.) și tratamente imunodepresive. Se negativează la pacienții cu SIDA. Nici nu se pozitivă la pacienți cu imunodeficiențe congenitale ale răspunsului imun celular, deși infecțiile cu microorganisme facultativ intracelulare evoluează deosebit de grav la acești pacienți (e. g. lepra lepromatoasă, tuberculoza miliară, histoplasmoza și coccidiomicoza diseminate progresiv).

Sensibilizarea întârziată persistă cât persistă și infecția latentă cu microorganismele respective sau este întreținută prin contacte repetate cu acestea.

Agenți infecțioși ca micetele (c. g. *Histoplasma*, *Coccidioides*), serovarurile de *Chlamydia trachomatis* ș. a. au antigeni comuni.

În aceste condiții i.d.r. devin semnificative pentru diagnosticul unei infecții atunci când:

- Se surprinde virajul de la negativ la pozitiv.
 - Se surprinde saltul de la o intensitate la alta a reacției. Așa este «saltul tuberculinic»: creșterea cu peste 8 mm a diametrului reacției între două testări. Dar pentru aceasta sunt necesare testări în dinamică la intervale de 6 luni (testări mai frecvente duc la desensibilizări), care se pot efectua numai în focare de tuberculoză.
 - Cum între cantitatea de antigen din organism și intensitatea i.d.r. la o persoană normoreactivă este o relație direct proporțională, se admite că un test intradermic foarte intens indică boala și nu infecția latentă cu agentul infecțios respectiv.
 - Dată fiind înrudirea antigenică între unii agenți infecțioși:
 - Rezultatele i.d.r. trebuie interpretate în contextul clinic: e. g. antigenul Frei dă i.d.r. pozitivă și la pacienții cu limfogranulomatoză veneriană și la cei cu conjunctivite sau uretrite cu incluziuni;
 - Se recurge la testarea cu baterii de antigeni: e. g. testare în puncte diferite cu coccidioidină sau sferulină și histoplasmină.
- b) Pentru *diagnosticul areactivității imune celulare* interpretarea rezultatelor i.d.r. la candidină, la antigenul urlian și la streptokinază-streptodornază este mai ușoară.

11.2. TESTE IN VITRO

11.2.1. Testul radioimunosorbentului (RIST)

Acest test dozează cantitatea totală de anticorpi IgE din sânge, așa cum apare crescută în infecțiile determinate de helminți cu fază tisulară sau prevăzuți cu cârlige de fixare pe mucoase. Anticorpul de iepure anti-IgE umană sunt adsorbiți pe particule de Sephadex (un imunoabsorbent) și reacționează cu cantități determinate de ser standard sau de pacient. IgE legată pe imunosorbent este măsurată apoi prin adăugare de anti-IgE marcată radioactiv.

11.2.2. Testul radioalergosorbentului (RAST)

Acest test dozează IgE responsabile de sensibilizarea anafilactică față de un anumit alergen (e. g. polen de graminee, mucegaiuri etc.). Alergenul este fixat pe un imunosorbent (particule de Sephadex, rondelă de hârtie) care este apoi tratat cu serul pacientului și spălat pentru îndepărtarea IgE necuplate. Cantitatea de IgE specifică alergenului este apoi estimată prin adăugare de anti-IgE umană marcată radioactiv.

11.2.3. Testul Schultz-Dale

Uterul sau un fragment de intestin de la un cobai normal preincubat cu serul unui pacient cu sensibilizare anafilactică este sensibilizat pasiv, prin fixarea IgE, și la adăugarea alergenului specific, în baia de organ, se contractă.