

ALERGIJOS DIAGNOSTIKA *IN VITRO* PAGAL KRAUJO KREŠUMO MĖGINĮ

PAVEL KORABLIOV¹, JOANA TAMKEVIČIŪTĖ²

¹Valstybinis mokslinių tyrimų institutas Inovatyvios medicinos centras,

²Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Raktažodžiai: *alergija, alergijų diagnostika, kraujo krešumas.*

Santrauka

Alergija kaip liga pasaulyje daugiau kaip prieš 50 metų buvo ne itin aktuali. Atrasti nauji alergijų diagnostikos metodai, pradedant odos testais, baigiant plaučių funkcinio testu. Tačiau dauguma šių metodų yra brangūs, reikalaujantys specialių sąlygų ir nemažai laiko.

Alerginės ligos visame pasaulyje plinta geometrine progresija, o diagnostikos procedūros jau pasenusios ir ne visada pakankamai jautrios. Didėjantis sergančių žmonių skaičius verčia mažinti tyrimų laiko sąnaudas, žinant visuomenės užimtumą būtina turėti greitą, patikimą ir paprastą alergijos diagnostiką.

Analizuojamasis alergijos diagnostikos metodas pagal kraujo krešumą 88 proc. koreliuoja su kitais alerginiais testais. Metodas greitai suteikia informaciją apie paciento sensibilizacijos laipsnį. Per 15 min. gaunami rezultatai apie alergenų ir organizmo jautrumą. Metodas yra pigus, lengvai atliekamas, nesukeliantis jokių komplikacijų pacientams.

IVADAS

Alerginės ligos yra svarbi vaikų ir suaugusiųjų sveikatos problema visame pasaulyje. Šių ligų klinikos įvairumo ir kintamumo bei didėjančio paplitimo priežastys vis dar yra mažai ištirtos. Nuolatinis alerginių ligų gausėjimas per pastaruosius tris dešimtmečius galbūt yra susijęs su didėjančiu aplinkos užterštumu, buitines chemizavimu ir vakarietišku gyvenimo būdu, ne mažiau svarbūs genetiniai veiksniai [3-6].

Alerginis rinitas, astma, egzema ir alergija maistui yra pagrindinės alerginės ligos. Sergamumas šiomis ligomis sparčiai didėja ir tai gerokai didina sveikatos priežiūros išlaidas. Švedijoje, pavyzdžiui, per 12 metų sergančių šiomis ligomis vaikų skaičius beveik padvigubėjo. Jungtinėse Valstijose metinės išlaidos gydant astmą siekia 6 milijardus dolerių [1, 2, 8].

Šiuolaikinis pasaulis labai greitai keičiasi ir reikalauja vis greitesnių ir drauge tikslesnių ligos diagnostikos metodų. Todėl alerginių ligų gydymui ir epidemiologiniams tyrimams labai svarbu įdiegti tobulesnius ir greitesnius diagnostikos metodus [7].

1986 metais Lietuvoje buvo sukurtas alergijos ekspresdiagnostikos metodas *in vitro*, paremtas kraujo krešumu [9]. Šis metodas nereikalauja ypatingų sąlygų, gali būti daromas tiesiogiai prie paciento lovos, nesukelia komplikacijų.

Šiuolaikinė alergijos diagnostika atliekama keliais etapais. Pagrindinis alergologinės diagnostikos tikslas yra alerginę reakciją sukėlusio alergeno paieška, kuri atliekama anamnezės, ligos klinikos bei tyrimų pagalba [12].

Odos dūrio mėginys – dažniausiai naudojamas metodas. Šis metodas neatliekamas esant nėštumui, dideliam jautrumui, menstruacijoms, ūminei infekcijai. Prieš šį testą negalima naudoti antihistamininių bei kitų vaistų. Reakcija vertinama po 15min. Su liniuote išmatuojamas didžiausias pūkslės skersmuo, apskaičiuojamas mm tikslumu [10-12].

Įodinis mėginys - labai jautrus metodas, pranoksta 100 kartų odos dūrio mėginius. Tačiau jo atlikimo laikas daug ilgesnis už dūrio mėginį, gali sukelti pseudoteigiamas bei sisteminės reakcijas. Įodinis mėginys atliekamas, kai yra klinikinių sensibilizacijos požymių, bet odos dūrio metodas buvo neigiamas; kai neturima didesnės koncentracijos alergenų. Kontraindikacijos tokios pat kaip odos dūrio mėginio [10-12].

Lopo mėginys. Šis testas yra pagrindinis norint nustatyti alergenų, sukėlusius kontaktinį dermatitą. Aplikaciniam mėginiui naudojamas pleistras su pritvirtintais aliumininiais dubenėliais; į juos dedamas tiriamas alergenas. Yra iškart paruoštų lipnių juostų testų su alergenais. Dažniausiai ant nugaros (mažiausiai pažeista oda) užklijuojami tiriami alergenai. Metodo privalumas: galima užklijuoti iškart net 60 alergenų. Pleistras su alergenais laikomas 48val. [12-14].

Atliekant šiuos tyrimus reikia turėti priemones anafilaksiniam šokui gydyti.

Provokaciniai mėginiai: akių junginės, nosies (PNM), bronchų, oraliniai - reikalauja daug laiko, specifinių sąlygų, turi pavojingas šalutines reakcijas, gali būti nepatikimi-klaidingai teigiamų reakcijų rizika [12,15].

Darbo tikslas – nustatyti jautrumą įvairiems alergenams kraujo krešumo mėginiumi.

TYRIMO OBJEKTAS IR METODAI

Tiriamoji grupė: ligoniai, jautrūs įvairiems alergenams.

Tyrimą atlikome su įvairiais alergenais: buitiniai, maistiniai ir kt. Vaistiniai alergenai buvo praskiesti mažiausiai 100 kartų. Krešėjimo laikas priklausė nuo paciento sensibilizacijos laipsnio: kuo labiau sensibilizuotas pacientas, tuo ilgesnis buvo kraujo krešėjimo laikas.

Ant parafinuoto objekcinio stiklelio mikropipete užlašinama 0,01 ml fiziologinio tirpalo (kontrolė) ir šalia 0,01 ml. alergeno. Iš paciento piršto arba iš venos imamas kraujas. Mikropipete kraujas po 0,01 ml įterpiamas į fiziologinį tirpalą ir į tiriamąjį alergeną. Kraujo ir fiziologinio tirpalo tūriai kontroliniame mėginyje turi būti maišomi santykiu 1:1, kraujo ir tiriamojo alergeno tūriai mėginyje turi būti maišomi santykiu 1:1. Tarpusavio, kontrolės ir tiriamojo mėginio tūriai turi būti 1:1. Maišymo lazdelėmis (kontrolėi ir tiriamajam mėginiui atskiros maišymo lazdelės) lašai sumaišomi ir fiksuojamas laikas. Po 30- 40 sek., o paskui kas 30sek. maišymo lazdelėmis tikrinami lašai.

Sukrešėjus kontroliniam mėginiui, fiksuojamas kontrolės koaguliacijos laikas. Normalus krešėjimo laikas (pagal Li-Vaitą) yra 7-8 minutės. Toliau laukiama, kol sukrešės tiriamasis mėginys. Reakcijos mėginys vertinamas pagal skirtumą tarp kontrolės ir tiriamojo mėginio krešėjimo laiku. Mėginys vertinamas teigiamai (pacientas turi alergiją), kai kontrolės ir tiriamojo laiko skirtumas siekia 40 proc.

1 lentelė. Erkių *Dermatophagoides pteronyssinus* alergeno tyrimo rezultatai

Ligonio numeris	Laikas kontrolėje (min.)	Laikas su alergenu (min.)	Laiko skirtumas (%)
1	8,15	9,05	11,04
2	6,4	6,55	2,34
3	8,05	8,1	0,62
4	4,35	5,05	16,09
5	10	10,05	0,5
6	8,15	8,2	0,61
7	8,15	8,2	0,61
8	7,2	7,25	0,69
9	6,5	7,1	9,23
10	10	10,07	0,7
11	6	6,3	5
12	9,05	9,1	0,55
13	9	9,15	1,67
14	7,2	7,25	0,69
15	8,2	8,25	0,61
16	8,1	8,15	0,62
17	10	11,05	10,5
18	9,55	9,55	0
19	9,5	10	5,26
20	4	4,04	1
21	8,1	8,2	1,23
22	8,1	17,05	110,49
23	9,4	10,05	6,91
24	10,05	11	9,45
25	7,25	11,2	54,48
26	7,35	7,45	1,36
27	8	10,05	25,63
28	6,25	8,4	34,4
Vidurkiai	8,33	9,18	11,15

REZULTATAI

Tyrimų rezultatai pateikti lentelėje, tai ligonių, jautrių *Dermatophagoides pteronyssinus* erkių alergenams, duomenys. Ištirti 28 atsitiktinai išrinkti savanoriai (vyrai ir moterys), vidutiniškai kraujas sukrešdavo tarp 5 ir 10 minučių. Vidutinis tyrimo laikas yra apytiksliai 9 minutės - tai vienas iš greičiausių alerginių diagnostikos tyrimų. Įvertinus rezultatus, atsakymą apie alergiško paciento sensibili-zaciją galima gauti per 15 min.

Antroje lentelėje pateikti duomenys, tiriant vistusu. Įtariami vaistai pasitvirtino atlikus ekspresmetodą. Padaryta 17 tyrimų, iš jų 3 buvo neigiami - 88 proc. sutapimas su įtartų alergenų anamnezėje.

REZULTATŲ APTARIMAS

Svarbiausios alergijos diagnostikos problemos Lietuvoje - laiko trukmė, tikslumas bei procedūros kaina. Išanalizavus Lietuvoje bei pasaulyje naudojamus alergijos diagnostikos metodus buvo pasiūlytas alergijos ekspresmetodas, kuris remtųsi kraujo krešėjimo stabdymo fenomenu.

Metodas suteikia galimybę sužinoti atsakymą per 15 min. (tyrimų atlikimo vidutinis laikas - 9 min.). Pigus metodo atlikimas - tiriant 27 žmonių kraujo mėginius išnaudojama tik 3 ml alergeno.

Ekspresmetodo tikslumas naudojant kartu su anamneze siekia 88%.

Ekspresalerginis metodas taikomas kartu su odos mėginių metodais (plačiausiai taikomas Lietuvoje) leidžia įvertinti paciento sensibilizacijos laipsnį duotajam alergeniui.

Pacientams, alergiškiems vaistams, nekilo komplikacijų tiriant kraujo mėginių ekspresmetodu. Visi kiti alergijos vaistams tyrimai turi labai didelę tikimybę sukelti pacientui anafilaksinį šoką [12].

2 lentelė. Krešumo mėginio rezultatai su vaistų alergenais

Tiriamąjo cėlės numeris	Tirtas vaistas	Laikas kontrolėje (min.)	Laikas su vaistu (min.)	Laiko skirtumas (%)
1	Penicilinas (10000IU)	9,30	21,0	121
2	Vitaminas B1 (50mg)	8,02	23,0	186
3	Penicilinas (10000IU)	9,15	30	224
4	Analginas (0,5 %)	7,50	10,05	28,7
	Dimedrolas (0,1 %)	7,50	20,10	157
4	Penicilinas (10000IU)	7,50	18,10	150
	Atropinas (1 %)	7,50	9,10	17
	Aminazinas (1 %)	7,50	13,50	76,6
5	Vitaminas B1(50mg)	7,20	16,00	104
		7,2	Išdžiuvo	0 (105+)
5	Aspirinas (50mg)	7,20	15,05	105
	Analginas (0,5 %)	8,10	13,0	59
6	Penicilinas (10000 IU)	8,10	20,0	145
	Aspirinas (50mg)	8,10	19,00	129
7	Analginas (0,5 %)	8,50	13,40	58
8	Aspirinas (50mg)	8,50	19,40	127
9	Penicilinas (10000 IU)	7,20	16,20	123

Metodui atlikti nereikia išskirtinių sąlygų, naudojami visi alergenų tipai (cheminiai, buitiniai, gamtiniai), tyrimas vykdomas „kambario“ sąlygomis.

IŠVADOS

1. Metodas tikslus, greitas ir pigus.
2. Nesukelia pacientams komplikacijų.
3. Paprastas tyrimo atlikimas.

Literatūra

1. Asher MI, Keil U. et al., International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): rationale and methods; European Respiratory Journal ISSN 0903 – 1936, Eur Respir J, 1995; 8, 483–491.
2. Smith DH, Malone DC, Lawson KA, Okamoto LJ, Battista C, Saunders WB, A national estimate of the economic costs of asthma. Am J Respir Crit Care Med 1997;156:787-93.
3. Arshad SH, Hide DW. Effect of environmental factors on the development of allergic disorders in infancy//J. Allergy Clin. Immunol. 1992; 90: 235-241.
4. Bjorksten B. The environmental influence on childhood asthma, Allergy, 1999; 54(49):17-23.
5. Morrison JFJ. Genetic and ethnic factors in allergy and asthma, Allergy, 1999; 54(56): 9-11.
6. Ronmark E, Jonsson E. et al., Different pattern of risk factors for atopic and nonatopic asthma among children - report from the Obstructive Lung Disease in Northern Sweden Study ,1999;54(9): 926-935.
7. http://www.aai.mf.vu.lt/alergija/ligos/astma/bojar_space.htm#Problemos%20aktualumas
8. Abbas K. A., Lichtman A. H., Cellular and Molecular Immunology 7th edition, 2012; 425-427.
9. Vaicekauskaite R., Kančiūrinas A. Medikamentinė alergologija, Vilniaus universiteto leidykla, 1986; 109.
10. Indrajana T et al. Ann Allergy 1997; 29: 639-50.
11. http://www.ehow.com/about_5369660_allergy-test.html
12. Dubakienė R. Alergologija, 2005.
13. Marks JG Jr, Belsito DV, DeLeo Va; et al., North American Contact Dermatitis Group patch-test results, 1998 to 2000. Am J Contact Dermat. 2003;14(2):59-62.
14. <http://www.webmd.com/allergies/guide/skin-test>
15. Dubakienė R., Ėmužytė R., Leišytė P., Razgauskas E., Alergologijos diagnostika in vivo, Metodinės rekomendacijos gydytojams, Lietuvos Mokslų Akademija, 1999.

EXPRESS ALLERGY DIAGNOSIS IN VITRO BASED ON BLOOD COAGULATION TIME

Pavel Korabliov, Joana Tamkevičiūtė

Summary

Key words: allergy, allergy diagnostics, blood coagulation.

More than 50 years ago human allergy was not particularly relevant. New allergy diagnostic methods were discovered starting from skin tests ending with lung function tests. Many of methods were expensive, special complicated procedures, special devices were needed and us a result diagnosis taked a lot of time. Allergy all over the world is geometrically fast spreading disease, diagnostic procedures are old and some times not sensitive. There are so many patients and lack of time to diagnose their illness so allergy diagnostics must be changed. Our blood clotting time dependent method was made and can be used as alternative to of skin thrust (most common in Lithuania) and other methods.

Described Express allergy diagnostics by test of blood coagulation method has 88% correlation with other allergy diagnostics tests. Our method gives information about patients sensibilization level almost immediately, procedure takes up to 15 min. to find allergen and patients dependence level. Furthermore, it's very cheap and easy to use. Test doesnt require special education from Tester. Finally this method can't give any complications to medicine dependent and other allergenic patients.

Correspondence to: tamkeviute.joana@gmail.com

Gauta 2012-04-04