

Résumé

TOLERANCE DE LA GLUCOSE ET HEPATITES VIRALE

Les auteurs ont étudié l'influence des hépatites virales dans le métabolisme de la glucose en déterminant le test de la tolérance de la glucose. Cette tolérance a résulté anormale chez 71% des malades étudiés (350 malades étudiés), surtout chez ceux présentant des formes trainantes d'hépatites virales. Les auteurs ont constaté une normalisation de la tolérance de la glucose chez 96,8% des cas pendant la période de guérison de l'hépatite virale. Chez les malades étudiés on a constaté aussi divers degrés d'hypoglycémie. Chez 3,43% des cas le diabète sucré a fait son apparition pendant le cours de la maladie ce qui est d'ailleurs plus fréquent que dans le reste de la population.

KËRKIME SEROLOGJIKE ME METODAT E IMUNOELEKTROFOREZËS DHE IMUNOFLUORESHENCËS SË TËRTHORTË NË DIAGNOZËN E MIKOZAVE SISTEMATIKE TË SHKAKTUARA NGA KËRPUDHAT OPORTUNISTE

— Dr. shken. MINELLA PAPAJOGE — VLADIMIR GUSMARI —

(Instituti Kërkimor i Higjienës, Epidemiologjisë dhe i Prodhimeve Imunobiologjike)

Në dhjetëvjeçarët e fundit, roli i kërpudhave oportuniste të gjinive *Candida*, *Aspergillus*, *Gectrichum*, *Cryptococcus*, *Mycore* etj. si shkaktare të mikozeve në patologjinë humane ka marrë një rëndësi të veçantë për nga shtimi i madh i numrit të rasteve (sidomos nga mikoza sistematike, si dhe i formave klinike krejtësisht të reja që po paraqiten (2,4,9,10,13).

Kjo patologji e re është pasojë e terapive intensive bashkëkohore (nga përdorimi i antimitotikëve i imunosupresorëve, antibiotikëve me spektër të gjerë veprimi, kortizonikëve etj.) në të sëmurët me neoplazma ose me sëmundje të tjera të rënda të gjakut e të metabolizmit, në të operuarit me zemër të hapur, në të transplantuarit e organeve etj., tek të cilët konstatohen dëmtime të mbrojtjes aspecifike dhe specifike të organizmit (9,10,13,16,20).

Për arësye të mungesës së metodave diagnostike (sidomos të atyre serologjike), si edhe të preparateve të fuqishme antimikotike, shumica e rasteve me mikoza sistematike të përshkruara në literaturë, para 20 vjetësh, diagnostikoheshin pas vdekjes (9,13,14).

Zbatimi në praktikë i metodave serologjike (reaksionet e precipitimit, fiksimit të komplementit, hemoaglutinit pasiv, imunofluoreshencës së tërthortë, prova e lateksit, ELISA) dhe i medikamenteve antimikotike (amfotericina B, 5 — fluorocitocina dhe grupi i imidazolit ka revolucionarizuar diagnozën, ashtu edhe mjekimin e këtyre infeksioneve të rënda (3,7,8,16,19,20).

Diagnoza e plotë e një mikoze sistematike sot bazohet në kompleksin e të dhënave të anamnezës, klinikës, ekzaminimeve mikologjike dhe rezultateve pozitive nga mjekimi me antimikotikë specifikë (9,13,20). Me anën e reaksioneve serologjike dallohet në se në organizëm kemi të bëjmë me një kolonizim nga kërpudhat apo me një infeksion të shkaktuar prej tyre (20).

Qëllimi i këtij punimi është përgatitja e bioreagjentëve, standardizimi me to i metodave, imunologjike (imunoelektroforeza dhe imunofluo-

reshenca e tërthortë); si edhe zbatimi i tyre në diagnozën imunologjike të mikozeve sistematike të shkaktuara nga kërpudhat oportuniste të gjinive *Candida* dhe *Aspergillus*.

Materiali dhe metoda

Studimi ynë bazohet në ekzaminimin e 477 serumeve të marra nga të sëmurë të dyshimtë për kandidozë dhe aspergilozë sistematike, të shtruar në Institutin e Luftës kundër Tuberkulozit, në Spitalin nr. 1 dhe në Spitalin nr. 4. Reaksionet serologjike u kryen me metodën e imuno-elektroforezës (IE) dhe imunofluoreshencës së tërthortë (IF). Reaksionet pozitive u kontrolluan me çifte, me serume të marra me interval 10-14 ditë njëri nga tjetri. Për vlerësimin e cilësisë së bioreagjentëve dhe teknikave të përdorura u ekzaminuan edhe 30 serume të marra nga njerëz të shëndoshë.

Antigjenet. Për kryerjen e teknikës së IE në diagnozën e kandidozës dhe aspergilozës përdorëm antigjene somatike dhe metabolike të firmës (Pasteur) në përqëndrimin 100 mg/ml, si dhe ata të përgatitur nga ne sipas Dvouhet E. (11).

Për kryerjen e teknikës së IF së tërthortë, në diagnozën e kandidozës, u përdor antigeni i përgatitur me kultivimin e shtamit të *Aspergillus fumigatus* (koleksion i Institutit Pastër, Paris) në terrenin Capak. Antigjenin e përgatitëm në përqëndrimin e përshtatshëm sipas teknikës Kawamura (12). Si serum fluoreshent u përdor antiglobulina humane, që drejtohej karshi tri klasave kryesore të imunoglobulinave (IgG, IgA, IgM), në hollimin optimal të përcaktuar paraprakisht prej nesh.

IE e kryem në agarozë 1% në tretësirë tamponi të verenalit 10.075 M, në pH 8.6 (6). Migrimi elektroforetik u krye duke zbatuar një diferencë potenciale 5 volt për centimetër, për 90 minuta. Pozitiviteti u kontrollua pas 24 orëve dhe pas 5 ditëve. Pas larjes me tretësirë fiziologjike dhe citrati sodiumi 5% për të hequr pseudolinjat, realizuam ngjyrosjen me Bleu de Comassie. Si prag pozitiv për IE vlerësuam praninë e linjave të precipitimit, si me antigenin sematik, ashtu edhe me atë qelizor (3,6). Ndërsa, për reaksionin e IF, si prag pozitiv morrëm titrin 1/40 për kandidozën dhe 1/80 për aspergilozën (5).

Rezultatet

Të dhënat serologjike të 477 serumeve me diagnoza të ndryshme klinike, por të dyshimta për mikoza sistematike, si edhe ato të 30 serumeve të marra nga njerëz të shëndoshë jepen në pasqyrën nr. 1.

Duke krahasuar rezultatet e nxjerra nga zbatimi i dy metodave serologjike, nga ekzaminimi i 507 serumeve, rezultoi se 452 prej tyre qenë

negative në të dyja metodat. Me reaksionin e IF së tërthortë rezultuan pozitive 55 të sëmurë, ndërsa me IE rezultuan vetëm 49 serume. Në pasqyrën nr. 2 jepen rezultatet krahasuese të fituara me teknikat e mësipërme, për 55 serume pozitive të të sëmurëve me mikoza sistematike.

Pasqyra nr. 1

Rezultatet e kërkimeve serologjike me IE dhe IF të 500 serumeve.

Grupi i të sëmurëve të ekzaminuar	Nr. i serumeve të ekzamin.	Serume poz. për kandidozë sistematike	Serume pozitive për asperg. sis.	
Bronkopneumopati kronike, bronkopneumoni, bronkite kronike, pneumoni bazale, bronkoektazi, astmë bronkiale, absese mushkërore, të trajtuara gjatë me antibiotikë	330	12	18	30
Kancer mushkëror	13	2	1	3
TBC mushkërore silikoze dhe TBC njëkohësisht	76	4	6	10
Pleurit dhe pleuropneumopati të trajtuara me antibiotikë.	25	—	1	1
Gjendje ethore e zgjatur pa diagnozë klinike	7	1	3	4
Silikoze	5	—	—	—
Diabet i avancuar	3	—	1	1
Aspergilozë mushkërore dhe aspergilozë e shpërndarë	3	—	3	3
Sëmundje të tjera: sarkoidozë, gjendje pas operacionit të luksacionit koksofemoral të trajtuar gjatë me antibiotikë, meningjit, artrit reumatoid i trajtuar gjatë me kortizonikë	15	1	2	3
Serume normale	30	—	—	—
S h u m a :	507	20	35	55

Kërkime serologjike me metodat e imonoelektroforezës dhe imonofluoreshencës së tërthortë në diagnozën e mikozeve sistematike të shkaktuara nga kërpudhat oportuniste

Pasqyra nr. 2

Rezultatet e fituara me teknikët e IE dhe IF në 55 të sëmurë me mikoza sistematike

Grupet e ekzaminuara të të sëmurëve	Nr. i serumeve	Infeksion nga <i>C. albicans</i>		Infeksion nga <i>A. fumigatus</i>	
		IF	IE	IF	IE
1. Bronkopneumopati (bronkite kronike, bronkopneumoni, pneumoni bazale, astmë bronkiale, bronkoektazi të trajtuara mbi 1 muaj me antibiotikë)	30	12	11	18	16
2. Kancer mushkëror	3	2	2	1	1
3. Tuberkuloz mushkëror	7	3	2	4	3
4. Tuberkuloz silikozë	3	1	1	2	1
5. Aspergjomë mushkëriore dhe aspergjomë të përhapur	3	—	—	3	3
6. Gjendje ethore pa diagnozë klinike	4	1	1	3	3
7. Sëmundje të tjera: gjendje pas operimit koksofemoral, diabet i avancuar, artriti reumatoid i mjekuar gjatë me kortizonike	5	1	1	4	4
Shuma:	55	20	18	35	31

Siç shihet edhe nga pasqyra, nga 55 serume pozitiv për mikoza sistematike, 31 rezultuan pozitiv për aspergjomë dhe 18 për kandidozë sistematike me të dyja metodat.

Vëmë në dukje se në 6 raste serumet rezultuan pozitive me metodën e IF së tërthortë, ndërsa me IE rezultuan negative.

Në pasqyrën e mëposhtme jepet krahasimi i dy metodave serologjike.

Pasqyra nr. 3

Krahasimi i metodave serologjike IE dhe IF për diagnozën e mikozeve sistematike

Numri serumeve	Metoda IF	Met. IE	Përputhja — në %	Përputhja totale në %
507	poz. 55 neg. 452	poz. 49 neg. 453	89.09% 98.6%	93.8%

Të dhënat e pasqyrës tregojnë se përputhja e të dyja metodave për serumet negative është 98.20% dhe për ato pozitive 89.09%, me një përputhje totale në 93.80% të rasteve. Të 30 serumet e njerëzve normale rezultuan negative në të dyja metodat.

Diskutim

Nga studimi rezultoi se mikoza sistematike janë ndërlikime të të sëmurëve me tuberkuloz mushkëror, bronkopneumopati kronike të trajtuara gjatë me antibiotikë, kancer mushkëror dhe më rrallë, në sëmundje të tjera. Nga 55 të sëmurë me mikoza sistematike, format parësore i kemi hasur vetëm në 3 raste me aspergjomë sistematike, nga të cilat 2 me aspergjomë mushkëriore dhe 1 me aspergjomë bronkomushkëriore të formës invazive. Të dhënat tona përputhen me ato të shumë autorëve të huaj (4,9,10,13,14,17,18).

Disa autorë takojnë shpesh aspergjomë të përhapur në pacientë me sëmundje granulomatoze kronike, si edhe në pacientë me insuficiencë të veshkave e të mëlçisë dhe në të operuarit në zemër (1,9,14). Në studimin tonë nuk ndeshen të tilla raste.

Mushkëria është organi që preket më shpesh nga kërpudhat oportuniste të gjinisë *Aspergillus* dhe *Candida* (10,19). Infeksioni aspergjomë mushkëror mund të shfaqet në tri sindrome të ndryshme: aspergjomë mushkëriore, aspergjomë bronkomushkëriore alergjike dhe aspergjomë e formës invazive (10). Në studimin tonë, nga 55 raste me mikoza sistematike, 46 rezultuan si infeksione mushkëriore. Nga 3 të sëmurët me aspergjomë mushkëriore parësore konstatuan një rast të formës invazive, rast që u mjekua me sukses me amfotericinë B intravenoze.

Lidhur me krahasimin e të dy metodave, konstatuam se reaksioni i precipitimit rezultoi pozitiv vetëm në rastet kur titri i kundërtrupëzave fluoreshente në të dyja llojet e mikozeve sistematike i kalon 1/640 (1,7,8,15), gjë që shpjegon faktin se 6 serume pozitive me IF rezultuan negativ me IE. Për këtë arsye, zbatimi i teknikës së IF-së së tërthortë ka vlera të mëdha diagnostike atëherë kur titri është i lartë në dinamikë dhe kur reaksionet e precipitimit (IE dhe teknika Laurel) nuk vënë në dukje harqet e precipitimit (5,7).

Sipas të dhënave të literaturës (6,7), kundërtrupëzat fluoreshente *Antiaspergillus fumigatus* përcaktohen jo vetëm në aspergjomën nga *A. fumigatus*, por edhe ndaj *A. nidulans*, *A. flavus* dhe *A. niger*. Nga ana tjetër, IE është specifike vetëm për *Aspergillus fumigatus*, ndaj reaksionet që rezultojnë pozitive me IF duhen vërtetuar me IE në bazë të antigjeneve specifike. Thëksojmë, gjithashtu, se prania e një ose më shumë harqeve precipitimi në IE flet për një aspergjomë sistematike. Në aspergjomat bronkomushkëriore dhe aspergjomat e pathyeshme përgjigja pozitive në IE është vetëm në 80-90% të rasteve, ndërsa në bronkitet aspergjomë alergjike përgjigja është pozitive vetëm në 50% të rasteve (5,6). Këto të dhëna tregojnë se diagnoza e plotë e një mikoze sistematike në këto raste bazohet edhe në kompleksin e të dhënave klinike, radiologjike, ekzaminimet mikologjike dhe rezultati pozitiv nga mjekimi me antimikotikë specifikë të fuqishëm (9,13,20).

Përfundime

1) Antigjenet qelizore të *A. fumigatus* dhe *C. albicans* për përdorim në reaksionin e IF së tërthortë paraqitën cilësitë e duhura biologjike. Zbatimi i reaksionit të IF së tërthortë me serumet hiperimune reference

pozitive dhe negative dha imazhet karakteristike njëllor si me antigenet e referencës.

2) Cilësitë biologjike dhe imunologjike të antigjeneve qelizore dhe metabolike të *A. fumigatus* të prodhuar rezultuan pa dallim me antigenet e referencës dhe me specificitet të plotë në reaksionin me serumet hipeimune të referencës.

3) Nga ekzaminimi serologjik me IF dhe IE i 477 të sëmurëve të dyshimtë për mikoza sistemike, rezultuan pozitiv 55 të sëmurë — 20 prej tyre me kandidozë dhe 35 me aspegjilozë sistemike.

4) Në krahasimin e metodave serologjike të IF të tërthortë dhe IE, u konstatua se kishte një përputhje të plotë në 93.8% të rasteve me një përputhshmëri pozitive prej 89.09% dhe negative prej 98.6%.

Dorëzuar në redaksi më 7.6.1987

BIBLIOGRAFIA

- 1) Agrall F.Y., Simitzis M.A. et coll.: Surveill ance sérologique des candidoses par immunofluorescence indirecte dans 58 cas de leucémie aigues en aplasie chimio-induite. Médecine et maladies infectieuses, 1985, 5, 304.
- 2) Aceti A. et coll.: Il test ELISA nella determinazione degli anticorpi anti-aspergillari. Giornale di mal. inf. e parassit., 1981, 3, 4, 239.
- 3) Axelsen N.: Analysis of human candida precipitins by quantitative immunoelectrophoresis. Scand. J. immunol., 1976, 5, 76.
- 4) Ciannaruchi R., Tincani A., Sueri L.: Un caso di aspergillosi dissaminat in pariente con malattie granulomatosa cronica. Giornale di mal. inf. e parassit., 1982, 5, 729.
- 5) Drouhet E.: Application de l'immunofluorescence à la mycologie médicale. Institut Pasteur, cours de mycologie médicale, 1981.
- 6) Drouhet E.: Analyse immunoelectrophoretique et caracterisation des activités enzymatiques appliquées au diagnostic des mycoses (Aspergillose). Institut Pasteur, cours de mycologie médicale, 1981.
- 7) Drouhet E.: Application à la mycologie médicale. In: «Des techniques de l'immunofluorescence et les réactions immuno-enzymatiques. Paris, 1977, 281.
- 8) Drouilhe P. et coll.: Immunologie parasitaire. In: «Enciclopedia méd. chirurgica. Paris. Mal. infect., 1979, 10, 8078.
- 9) Duporit B.: Candidoses systemiques, 1986, 3, 708.
- 10) Gargani G.: Progresso medico ed oportunismo fungino. Quaderni dell'Istituto di Igiene dell'Universita de Milano, 1981, 5, 3.
- 11) Golvan Y.J., Drouhet E.: Techniques en parasitologie en mycologie. Flammarion Medicine Sciences. Paris, 1972, 391.
- 12) Kawamura I.R.A.: Fluorescent antibody techniques and their applications. University of Tokyo. Orese, 1977.
- 13) OSH: Mycotic disases in Europe., 1987, 105.
- 14) Park R.C. et coll.: Dissiminated aspergillosis occurring in patients with respiratory, renal, and hepatic failure. The lancet, 1982, II, 179.
- 15) Robert R., Guathay H., Chabasse D.: Evalution de quatra techniques de recherche d'antigènes mennanes pour le diagnostic immunologique des candidoses (septicemias, urinaire, vaginale). Bull. soc. franc. mycol. med., 1982, 11, 97.

16) Sabetta R. et coll.: The diagnosis of invasive Aspergillosis by an enzyme — linkes immunosorbent assay for circulating antigen. The J. of inf. dis., 1985, 5, 946.

17) Stahel R.A. et coll.: Systemic fungal infection in haematological malignancies — a growing problem. J. infection, 1982, 5, 269.

18) Tassinari G.: Considerazioni su due casi di aspergillosi. Giornale di malattie infettiva a parassitarie, 1974, 6, 534.

19) Viviani A.M., Tortorano M.A.: Ruolo del laboratorio microbiologico nel diagnosi e nel monitoraggio delle micosi profonde da funghi opportunisti. Quaderni dell'Istituto di Igiene dell'universita di Milano, 1981, 15, 19.

20) Wegmann T.: Medizinische Mykologie — ein praktischer Leitfaden 1979.

Summary

A SEROLOGIC SURVEY USING THE IMMUNOELECTROPHORESIS AND THE INDIRECT IMMUNOFLOURESCENCE TESTS FOR THE DETECTION OF SYSTEMIC MYCOSIS DU TO OPPORTUNISTIC FUNGS

The study comprises 477 patients suspected for systemic mycosis who were examined by the serologic techniques of immunoelectrophoresis and indirect immunofluorescence. For that purpose, metabolic and cellular antigens from the Pasteur Institute were used in parallel with similar antigen prepared by the authors. Of the 477 patients, 55 resulted positive: 20 with candidosis and 35 with aspergillosis. The results with the IE and the indirect IF tests were fully compatible in 93.8% of the cases with 89.09% compatibility for the positive and 98.6% for the negative results.

Résumé

RECHERCHES SEROLOGIQUES PAR LES METHODES D'IMMUNOELECTROPHORESE ET IMMUNOFLOURESCENCE INDIRECTE POUR LE DIAGNOSTIC DES MYCOSES SYSTEMIQUES CAUSEES PAR LES CHAMPIGNONS OPORTUNISTES

Dans cette étude, les auteurs ont réalisé une recherche sérologique sur 477 malades suspectés de mycoses systémiques par les techniques d'immunoelectrophrèse et d'immunofluorescence indirecte. A ce but ont été employés parallèlement des antigènes métaboliques et cellulaires de la firme Pasteur, ainsi que ceux produits par les auteurs.

Sur 477 sujets suspects, 55 ont résultats positifs: 20 avec candidose et 35 avec aspergillose systémique. Les deux méthodes sérologiques employées ont donné des résultats comparables dans 93,8% des cas avec une positivité de 89,09% et une négativité des résultats de 98,6%.