

ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΜΟΝΟΠΥΡΗΝΩΣΗΣ

Dr. K. ΘΕΜΕΛΗ - ΔΙΓΑΛΑΚΗ
Αναπληρώτρια Διευθύντρια Μικροβιολογικού Εργαστηρίου

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ίος Epstein-Bar (EBV) ανήκει στους ερπητοϊόύς και θεωρείται ο κυριότερος αιτιολογικός παράγοντας της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης σε ποσοστό 95% των περιπτώσεων. Υπολογίζεται ότι το 80%-90% όλων των ενηλίκων έχουν προσβληθεί από EBV σε παγκόσμια κλίμακα.

Παρόμοια κλινική συνδρομή μπορούν να προκαλέσουν και άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί όπως ο Cytomegalovirus, ο ίος της Ερυθράς, οι Αδενοίοι και το Τοξόπλαστα σε ποσοστό 5%.

Η εργαστριακή διάγνωση της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης κυρίως στηρίζεται στην ανίχνευση των ειδικών αντισωμάτων έναντι του ιού Epstein-Bar. (3) Η αιματολογική εικόνα του περιφερικού αίματος παρουσιάζει μέτρια ή σχετική λεμφοκυττάρωση με άτυπα λεμφοκύτταρα > 10% και με την παρουσία των υπερβασεοφίλων λεμφοκυττάρων.

Ο βιοχημικός έλεγχος παρουσιάζει την τιμή των τρανσαμινασών (SGOT, SGPT) μέτρια ηυξημένη.(1)

Η κλινική εικόνα περιλαμβάνει ποικιλία συμπτωμάτων. Συνήθως προηγείται πρόδρομο στάδιο διάρκειας 2-3 εβδομάδων, το οποίο περιλαμβάνει άτυπα συμπτώματα λοιμώξης. Χαρακτηριστικά συμπτώματα της νόσου είναι πυρετός, κυνάγχη, εξάνθημα ποικίλης μορφής διόγκωση του ήπατος και του σπληνός και λεμφαδενοπάθεια. Η απομόνωση του EBV είναι δύσκολος και χρονοβόρα, ενώ με την οροδιάγνωση εφαρμόζονται ταχείς διαγνωστικές τεχνικές, οι οποίες δίνουν γρήγορα αποτελέσματα (10 λεπτά – 2 ώρες).

Η διάγνωση της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης μέχρι σήμερα βασιζόταν στην ανίχνευση των ετεροφίλων αντισωμάτων, απαραίτητος όμως είναι ο προσδιορισμός των αντισωμάτων IgM, IgG, έναντι του καψιδίου και του πυρήνα του ιού Epstein-Bar, για τη σωστή παρακολούθηση της πορείας της νόσου. (2)

ΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τον Paul Bunnell. Πρόκειται για συγκολλητίνες έναντι των ερυθρών αιμοσφαιρίων του προβάτου, οι οποίες στη Λοιμώδη Μονοπυρήνωση εμφανίζονται στο 30%-60% των πασχόντων. Συχνότερα ευρίσκονται στα παιδιά από τον πρώτο μήνα της νόσου σε ποσοστά 80-85%. Σε νεαρούς ενήλικες ανιχνεύονται σε ποσοστό 60%, ενώ σε μεγαλύτερες ηλικίες κάτω από 50%. Τα ετεροφίλα αντισώματα είναι μη ειδικά, επειδή παράγονται και από άλλους παράγοντες, μικροβιακούς και μη (εμβόλια, κ.α.).

Η κλασσική εξέταση Paul Bunnell είναι αυτή, στην οποία ο ορός του ασθενούς συγκολλάται με ερυθρά προβάτου κατόπιν προσρόφησης από αντιδραστήριο νεφρών ινδόχοιρου, ενώ δεν συγκολλάται με ερυθρά βούσ. Η συγκολλητινοαντίδραση αυτή δίνει ψευδών θετικά αποτελέσματα με τα φυσικά αντισώματα του οργανισμού forssman ή με αντισώματα τα οποία παράγονται μετά από εμβολιασμό με αντιορό ίππου και χαρακτηρίζεται από χαμηλή ευαισθησία και διαρκεί 18-24 ώρες.

Σήμερα εφαρμόζεται το MONO –TEST σαν προκαταρκτική εξέταση (screening test). Στην εξέταση αυτή χρησιμοποιείται αντιδραστήριο latex στο οποίο έχουν προσροφήθη τα ερυθρά προβάτου και παρουσιάζει ταχεία αποτελέσματα εντός 5 λεπτών, με ψηλότερη ευαισθησία από την κλασσική μέθοδο. Επίσης αξιόπιστο και γρήγορο αποτέλεσμα (10 λεπτά) παρουσιάζει η συγκολλητινοαντίδραση στην οποία χρησιμοποιείται αντιδραστήριο με διπλή προσρόφηση.

Αρχικά προσροφάται ο ορός του ασθενούς με εκχύλισμα νεφρών ινδόχοιρου & συγκολλάται με ερυθρά προβάτου. (2,3)

EIDIKA ANTISOMATA ENANTI TOY Epstein-Bar

Ο προσδιορισμός των ειδικών αντισωμάτων έναντι του ιού Epstein- Bar είναι απαραίτητος, ακόμα και όταν τα ετερόφιλα αντισώματα είναι θετικά, για την επιβεβαίωση της διάγνωσης της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης, για τον καθορισμό του σταδίου της νόσου και για την παρακολούθηση της πορείας της.

Η ανοσολογική απάντηση του οργάνισμού στην Λοιμώδη Μονοπυρήνωση εκφράζεται με την παραγωγή IgM, IgG αντισώματων έναντι του Epstein-Bar. Τα IgM αντισώματα χαρακτηρίζουν την οξεία ή πρόσφατη φάση της λοιμωχης, ενώ τα IgG επαναλούμενη, ή παλαιά λοιμωχη. Ο ιός Epstein-Bar παρουσιάζει αντιγονική πολυπλοκότητα, γι' αυτό και η παραγωγή των ειδικών αντισωμάτων είναι πολυσύνθετη. Η ανοσολογική έκφραση έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή αντισωμάτων έναντι του καψιδίου του ιού, τα αντικαψιδικά αντισώματα (viral capsid antigen – VCA), τα πρώιμα αντισώματα (early antibodies- EA IgG) & τα αντισώματα έναντι του πυρήνα (nuclear antibodies-EBNA).

Οι μέθοδοι διάγνωσης, οι οποίες συνήθως χρησιμοποιούνται είναι ο ανοσοφθορισμός, ο αντισυμπληρωματικός ανοσοφθορισμός, η ανοσοενζυματική, η ανοσοαποτυπωτική (Western blot) & η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR). (2)

ANTIKAPSIDIKA ANTISOMATA

Τα αντικαψιδικά αντισώματα παράγονται στην οξεία φάση της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης, VCA IgM & VCA IgG, & IgA. Μέθοδος αναφοράς θεωρείται ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (IFA), εφαρμόζονται όμως η ανοσοενζυματική (EIA) με τη χρήση ανασυνδυασμένων αντιγόνων, Western Blot & η PCR.

Επιπλέον ο προσδιορισμός των διαφόρων υποτάξεων των ειδικών αντισωμάτων σε ένα μόνο δείγμα ορού επιβεβαιώνει την προκαταρκτική διάγνωση με τα ετερόφιλα αντισώματα

Για τον προσδιορισμό των VCA αντισωμάτων χρησιμοποιείται η κυτταρική σειρά από λεμφοκύτταρα P3 HR1, ευαισθητοποιημένα με τον ιό, ενώ για τα EA & EBNA η κυτταρική σειρά Raji. (3)

VCA IgM: Η ανίχνευση των αντισωμάτων αυτών με IFA, αποτελεί ευαίσθητο και ειδικό δείκτη για τη διάγνωση της

οξείας φάσης της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης. Θετικά αποτελέσματα με τίτλο στον ορό του ασθενούς

+>1:10 είναι διαγνωστικά στο 90% των περιπτώσεων της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης εντός του πρώτου δεκαήμερου από την εκδήλωση της νόσου. Τα αντισώματα αυτά διατηρούνται για 4-5 μήνες. Η πτώση των τίτλων των VCA IgM γίνεται σχετικά γρήγορα, από τον πέμπτο με έκτο μήνα ανιχνεύεται μόνο το 10% των αντισωμάτων αυτών. Κατά τον προσδιορισμό των VCA IgM, τα οποία θεωρούνται δείκτες ενεργού λοιμώχης παρατηρούνται ψευδώς θετικά αποτελέσματα, σε άτομα με ρευματοειδή παραγόντα, γι' αυτό χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια, τον προσροφόν και αποφεύγεται η επιδραση του RF, στη διάγνωση της νόσου.

VCA IgG: Τα αντισώματα αυτά παράγονται μετά τη τρίτη με τέταρτη εβδομάδα της νόσου. Τίτλοι των αντισωμάτων αυτών στον ορό του ασθενούς >1:160 είναι διαγνωστικοί για πρόσφατη λοιμωχη. Παραμένουν θετικά δια βίου, σε χαμηλούς τίτλους. Η εξέταση δυο διαδοχικών δειγμάτων αίματος, τα οποία λήφθηκαν σε χρονικό διάστημα δυο εβδομάδων, με υπερδιπλασισμό του τίτλου των VCA IgG αποτελεί τον καλύτερο δείκτη πρόσφατης λοιμωχης,

EA IgG: Τα πρώιμα αντισώματα παράγονται 2-6 μήνες μετάποτην εισβολή, εξαφανίζονται μετά από 2 χρόνια. Στην οξεία φάση της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης παράγονται σε ποσοστό 70% και είναι δείκτες πρόσφατης λοιμωχης ή επαναλούμενης. Υπάρχουν δύο τύποι αντισωμάτων, τα δεξιόστροφα, αντι-D και τα αριστερόστροφα, αντι-R. Τα αντι-D ανιχνεύονται στη Λοιμώδη Μονοπυρήνωση, ενώ τα αντι-R σε φυσιολογικά άτομα και στο λέμφωμα Burkitt.

EBNA IgG: Τα αντιπυρηνικά αντισώματα παράγονται μετα τον 2ον μήνα, σε όλες τις περιπτώσεις της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης. Τα αντισώματα αυτά είναι ενδεικτικά παλαιάς λοιμωχης και διατηρούνται δια βίου. Για τον προσδιορισμό τους εφαρμόζεται ο αντισυμπληρωματικός ανοσοφθορισμός ACIF test. Διακρίνονται σε 6 υποτύπους, EBNA 1,2,3,4,5,6, τα οποία βαθμιαία παράγονται κατά την φάση ανάρρωσης. Στη Λοιμώδη Μονοπυρήνωση κυρίως παράγονται τα EBNA-1, τα οποία αυξάνονται από τον 2ον –3ον μήνα, ενώ τα EBNA-2 από τον 6ον –12ον μήνα της νόσου. (3,4)

ΑΛΛΟΙ ΟΡΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ

VCA IgA Τα αντισώματα αυτά σπάνια χρησιμοποιούνται στην απλή διάγνωση ρουτίνας, αλλά για ερευνητικούς,

επιδημιολογικούς λόγους και σε επαναλοιμώξεις από τον Ιό Epstein-Bar. Η ανίχνευση τους γίνεται με ανασυνδυασμένα αντιγόνα και με ανοσοαποτυπωτική μέθοδο.

Early-IgG-avidity & EBNA-IgG-avidity Οι ανοσοσφαιρίνες της συνάφειας είναι σε θέση να διακρίνουν την παλαιά λοίμωξη από επαναλοιμώξη. Η επαναδραστηριοποίηση του ιού Epstein-Bar συμβαίνει συχνότερα από τους άλλους ερπητοίους, γι' αυτό οι δείκτες αυτοί είναι πολύ χρήσιμοι για την οροδιάγνωση της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης.(5)

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΤΟΥ EBV

Ευαίσθητο για λοίμωξη θεωρείται το άτομο, όταν τα VCA (IgM, IgG) είναι αρνητικά, σε τίτλο $<1:10$. Στη πρωτοφαθή λοίμωξη, τα VCA (+) $<1:40$ ενώ τα EBNA (-). Σε περίπτωση παλαιάς λοίμωξης, ή ανοσίας τα αντικαψιδικά (VCA) & αντιπυρηνικά (EBNA) είναι θετικά. Τα πρώιμα αντισώματα (EA IgG) παράγονται σε υψηλό ποσοστό ασθενών με οξεία Λοιμώδη Μονοπυρήνωση, είναι δείκτες ενεργού λοίμωξης ή επαναλοιμώξης. (6)

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΆΛΛΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Η ανίχνευση των ειδικών ειδικών αντισωμάτων έναντι άλλων μικροοργανισμών, οι οποίοι ευθύνονται για Λοιμώδη Μονοπυρήνωση, όπως ο Κυτταρομεγαλοϊός, οι ιοί Ερυθράς, Ήπατίτιδας Α, Ανθρώπειος ερπητοίος –6, Αδενοιοί, Εντεροιοί και Τοξόπλασμα.

Ο προσδιορισμός της IgM ανοσοσφαιρίνης σε ένα μόνο δείγμα ορού θέτει την διάγνωση ενεργού ή οξείας λοίμωξης. Για την IgG χρειάζεται να εξεταστούν δυο διαδοχικά δείγματα αίματος, με χρονική απόσταση δυο εβδομάδων. Αξιολογείται η άνοδο του τίτλου της IgG, που είναι ενδεικτικός πρόσφατης λοίμωξης, ενώ η θετικοποίηση της δηλώνει ότι πρόκειται για παλαιά λοίμωξη. (4,7)

Ειδικά για τον CMV, η ανίχνευση του αντιγόνου (pp65) του ιού, από αίμα ή ούρα με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων, θεωρείται ο καλύτερος τρόπος διάγνωσης της οξείας λοίμωξης. Ειδικά στα ανοσοκατασταλμένα άτομα και σε ασθενείς με AIDS, στους οποίους υπάρχει χαμηλή ανοσολογική απάντηση και αδυναμία παραγωγής αντισωμάτων, η ανίχνευση του αντιγόνου προσφέρει ασφαλή διά-

γνωση.

Σήμερα βέβαια εφαρμόζονται και οι μοριακές δοκιμές οπως DNA probes, PCR, οι οποίες ανιχεύουν τα μικρόβια απευθείας από τα κλινικά δείγματα με ευαισθησία και ειδικότητα μέχρι 100%. (7)

Σύγχρονες διαγνωστικές απόψεις αναφέρουν ότι η αιτιολογική διάγνωση της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης βοηθά στη αντιμετώπιση, παρακολούθηση και στον έλεγχο της λοίμωξης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Τσότσος Α. Ιατρική Ιολογία. Εκ. Λίτσας Αθήνα, 1992
2. Gray, J J Caldwell J. Sillis M: The rapid serological diagnosis of infections mononucleosis. J Infec. 1992, 25: 39-46
3. Θέμελη - Διγαλάκη. Κ. Οικονόμου Μ. Καίρης Δ. Κούτσια - Καρούζου Χ. Εκτίμηση των ορολογικών δεικτών του ιού Epstein-Bar σε ασθενείς με Λοιμώδη Μονοπυρήνωση. Ελληνική Ιολογία 1996: 166-170
4. Μαρκουρή Μ. Θέμελη - Διγαλάκη Κ. Οικονόμου Μ. Ζήβα Μ. Κούτσια - Καρούζου Χ. Παπαδάκου - Λαγογιάννη Σ. Αξιολόγηση κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων σε παιδιά με Λοιμώδη Μονοπυρήνωση. Ελληνική Ιολογία, 1998, 3 (1): 26-31
5. Θέμελη- Διγαλάκη Κ. Οικονόμου Μ. Κούτσια – Καρούζου Χ. Ο προσδιορισμός της δύναμης συνάφειας των αντικαψιδικών αντισωμάτων του ιού EBV στη διάγνωση της λοιμώδους μονοπυρήνωσης. Ελληνική Ιολογία 1997, 2(1): 52-55
6. O. Kano M. Thiel M. G. Davis J. Gierson H. L. Purtilo T. D Epstein-Bar virus and human diseases:recent advances in diagnosis, Clin.Micr Rev. 1988,1: 300-312
7. De Ory F, Antonaya S, Fernandez V M, Echevarria J M, De La Loma A. Comparison of diagnostic criteria for Epstein- Bar virus infection in children. Serodiag Immunother. Inf. Dis. 1993, 1: 46-48.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο ιός Epstein Bar (EBV) θεωρείται το σπουδαιότερο παθογόνο αίτιο της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης (ΛΜ).



Παρόμοια συμπτωματολογία μπορούν να προκαλέσουν και άλλοι μικροοργανισμοί, με σημαντικότερο τον Κυτταρομεγαλοιό. Τα ετερόφιλα αντισώματα δεν θεωρούνται ειδικά για την διάγνωση της νόσου, γι' αυτό είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός των ειδικών αντισωμάτων έναντι του ιού Epstein-Bar.

Τα αντισώματα αυτά, διακρίνονται σε αντικαψιδικά (Virial Capsid Antigen-VCA) IgM, τα οποία είναι ενδεικτικά οξείδας ή ενεργού λοίμωξης και IgG, τα οποία δηλώνουν πρόσφατη λοίμωξη. Τα πρώιμα αντισώματα (Early Antibodies - IgG) είναι ενδεικτικά πρόσφατης λοίμωξης, η επαναλοίμωξης. Τα αντιπυρηνικά (Nuclear IgG- EBNA IgG) αντισώματα, που είναι δείκτες παλαιάς λοίμωξης, Οι ορολογικοί αυτοί δείκτες βοηθούν στη διάγνωση, αντιμετωπίζοντας και την παρακολούθηση της πορείας της Λοιμώδους Μονοπυρήνωσης.

Λέξεις ευρετηρίου

Λοιμώδης Μονοπυρήνωσης, Αντικαψιδικά αντισώματα IgM, IgG, Πρώιμα αντισώματα, Αντιπυρηνικά αντισώματα, Ετερόφιλα αντισώματα

SUMMARY

LABORATORY DIAGNOSIS OF INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

Dr. K. THEMELI- DIGALAKI

Dpt of microbiology "Asclepeion Voulas" Hospital

The detection of specific Epstein-Bar antibodies (virial capsid antigen IgM and IgG antibodies-VCA IgM, VCA IgG,

