

4. Diagnosticul diferențial al maladiilor alergice trebuie să ia în calcul posibilitatea unei invazii parazitare, apelînd pentru aceasta la tehnici performante (ELISA) și insistînd pentru monitorizarea procesului patologic.
5. Suplimentarea tratamentului pacienților cu asocieri alergoparazitare cu remedii imunotrope, îndeosebi la stabilirea unei imunodeficiențe secundare conduce la o eficiență majoră a rezultatelor.

Bibliografie

1. Barba D. Urticaria cronică recidivantă și starea funcțională a ficatului.//Autoreferat al tezei de doctor în medicină. - Chișinău. - 2005 – 22P.
2. Bell R.G. IgE, allergies and helminths parasites: a new perspective on an old conundrum. // Parasite Immunol. Cell Biol. 1996 – Vol.74 – nr4 – p. 337-345
3. Cooper P.J. Intestinal Worms and human allergy.// Parasite Immunology. 2004- vol.26 – Nr 11-12 – P.445-457
4. Frei T. Allergien: Quovadies? // Alergology – 2002 - vol. 22 Nr 4 – P. 189-193
5. Lungu V., Oboleşev G., Cornogolub L. et al. Despre invazia cu *Lamblia intestinalis* la copii cu diferite stări morbide.//Arta Medica. - Chișinău 2007, nr.3 (24) –P 42-43
6. Lungu V. Epidemiology of hidatidosis humani in the Republic of Moldova.// Programme and Abstracts Eighth National Conference of Parasitology (with International Participation). – Varna - 23-26 september 2009. Sofia – Moscow – 2009 – P 25-26
7. Андриеш Л. П. Эпидемиологическая и иммунологическая характеристика аллергических заболеваний в различных экологических зонах Молдовы и критерии мониторинга за состоянием здоровья населения. Автореферат докторской диссертации. – М. – 28 С.
8. Ильина Н.И. Эпидемия аллергии – в чем причины? // Российский Аллергологический Журнал. М. – 2004 - №1 С 37 – 41
9. Курапетенко М.В., Желенина Л. А., Безушкина Н.А.// Диагностические особенности бронхиальной астмы у детей с паразитогами. Аллергология. М - 2006 №3 С. 22-28
10. Рациональная фармакотерапия аллергических заболеваний. Рук-во для практических врачей (под ред. акад. РАМН. проф. Р.М. Хаитова). – М – Литерра. – 2007, 207С.

ELABORAREA PREPARATELOR ALERGENICE INEDITE REGIONALE

(abordare tehnologică, eficacitate diagnostică și clinică)

**Valentina Berjeț¹, Lucia Andrieș², Elena Korneva¹, Svetlana Khlgatian¹,
Olga Radicov¹, I. Kropotov¹, Marina Carauș²**

Laboratorul de elaborare a alergenelor al Institutului de Vaccinuri și Seruri „Iliia Mecinicov” al AȘM din Federația Rusă¹, Laboratorul Alergologie și Imunologie Clinică al USMF „Nicolae Testemițanu” din Moldova²

Summary

***Elaboration of regional preparations of new allergens
(a technological approach diagnostic and clinical efficacy)***

The methods of drugs preparation, the testing in vitro and in vivo of allergen products (unusual foodstuffs, pollen and insect sinantropes) are described. It has been demonstrated the specific activity and its inofensivity. The allergic preparations can be used in the specific diagnostic of the food allergy.

Rezumat

Sunt descrise metodele de preparare, testare *in vitro* și *in vivo* a unor alergene inedite din produsele alimentare, polen și artropodele sinantropice. A fost demonstrată activitatea specifică și inofensivitatea lor. Preparatele alergenică inedite vor contribui la majorarea specificității și sensibilității diagnosticului alergologic al maladiilor alergice. Concomitent ele vor suplimenta șirul de alergene de diagnostic cu majorarea informațiunii diagnostice grație utilizării materiei prime regionale pentru prepararea lor.

Actualitatea temei

Extincția în progresiune continuă a alergiilor s-a profilat în ultimele decenii ca o problemă medico-socială de valență globală [2,3,10]. Maladiile alergice (MA) sunt mai frecvent înregistrate în populația regiunilor ecologic nefavorabile [1,10,13], iar particularitățile de sensibilizare a populației și evoluția alergenilor sunt esențial influențate de gradul de compromitere a mediilor de habitat ecologic și de particularitățile climato-geografice ale regiunii date [17]. Fiecare zonă climato - geografică comportă un spectru specific de alergeni. De altfel, pentru unele regiuni ale Rusiei, pentru așa state ca Georgia, Kazahstan au fost determinate alergenele regionale cu importanță majoră în etiologia MA [10,11].

Nomenclatorul preparatelor alergenică destinate pentru cercetările clinice și de laborator este destul de complex. Pe de altă parte, alergenele produse de așa companii ca „Allergopharma” și „Dr. Fook”, Germania, „Sevapharma”, Cehia ” deși au un grad înalt de purificare, nu sunt suficient de specifice pentru populația din țările CSI. Anume specificitatea seturilor de alergeni, dependența lor de anumite regiuni este foarte importantă pentru diagnosticul corect al patologiei induse de aceștia, iar investigațiile alergologice trebuie să utilizeze alergeni obținuți din flora și fauna regională, care în plus consideră și specificul zonei climaterice.

Scopul cercetării

Elaborarea principiilor de preparare și studiul particularităților clinico-diagnostice ale alergenilor inedite din flora și fauna regională a Republicii Moldova și Federației Ruse.

Obiectivele studiului

Aprecierea informativității diagnostice și clinice a alergenilor inedite alimentare, polenice, acariene și din insecte sinantropice.

Materiale și metode

Preparatele alergenică au fost obținute prin extracția hidro-salină a componentelor active din materialul biologic după metoda A. Coca [18]. Concentrația proteinelor în extrasele obținute a fost apreciată după Nessler și Bredford [4]. Componenta fracțiilor din extrasul rezultat s-a cercetat folosind metoda electroforezei în gel poli-acrilamid după Laemmli [15]. Proprietățile sensibilizante ale alergenilor obținuți, inocuitatea, toxicitatea lor a fost testată pe animale de laborator [16]. Proprietățile antigenice și activitatea specifică a seriilor de alergene obținute s-au apreciat cu ajutorul reacțiilor de imunoblot (imunobloting), ELISA și al testului de degranulare indirectă a mastocitelor [7]. Pentru testele de laborator au fost utilizate serurile pacienților cu sensibilizare menajeră, polenică, alimentară. Materialele obținute au fost prelucrate statistic.

Rezultatele studiului și discuții

S-au realizat extrase alergenică din ardei dulci, vinete, morcovi, mere, struguri, piersici, nuci grecești, tomate și din telemea. Studiul preparatelor alergenică obținute a demonstrat inocuitatea și stabilitatea acestora pe parcursul a 1,5 ani, iar proprietățile fizico-chimice și imunobiologice corespund cerințelor documentației normative valabile în Republica Moldova și Federația Rusă. Testarea clinică și de laborator a acestui set de alergene inedite s-a realizat pe un lot de 186 pacienți, manevră care a demonstrat frecvența importantă a sensibilizării la diverse produse alimentare. Mai des a fost înregistrată sensibilizarea la tomate (82% cazuri), nuci

(81,7% cazuri), telemea (75,8% cazuri), ardei dulce (66,1% cazuri), piersici (55,9% cazuri). Frecvență minoră a alergizării a fost constatată pentru struguri (19,4%), vinete (20,4%), mere roșii (31,7%) și la morcov (34,3%). Cercetările de screening cu utilizarea alergenilor obținute din flora regională a Moldovei s-au efectuat în comparație cu preparatele analogice din Franța, Marea Britanie, Rusia, demonstrând o eficacitate diagnostică superioară și o activitate specifică inofensivă, ceea ce argumentează rațiunea utilizării lor în diagnosticul alergiei alimentare, care predomină în structura etiologică a maladiilor alergice în Moldova.

Extrasele alergice din *Solidago canadensis* au fost preparate din polen și inflorescențe originare din diverse regiuni. Preparatele s-au dovedit a fi inoive, stabile și după proprietățile fizico-chimice corespundeau cerințelor actelor normative (FSP-42-3926-00). Analiza electroforetică a alergenilor obținute a relevat heterogenitatea componistică a antigenelor cu migrarea fracțiilor proteice în diapazonul 16 – 90 kDa. Analiza comparativă a electroforegramelor extraselor alergice din *Asteraceae*, *Solidago canadensis* și a preparatului comercial din *Ambrosia artemisiifolia* a demonstrat identitatea proteică după masa moleculară a preparatelor studiate. Activitatea specifică a alergenilor din *Solidago canadensis* a fost testată *in vitro* și s-a constatat activitatea superioară a preparatului obținut din polen comparativ cu cel din inflorescențe. Sensibilizarea polenică la *Solidago virgaurea* s-a constatat prezentă în 35% cazuri la pacienții cu polinoze prin testarea anticorpilor IgE-specfici, ceea ce denotă importanța acestei plante în etiologia polinozelor și necesitatea de utilizare a alergenului dat în diagnosticul patologiei [11].

Insectele sinantropice prezintă un component alergic important al habitatelor umane. După metoda A. Coca în varianta modificată de autori au fost preparate extracte hidrosaline alergice din următoarele artropode: gândacul roșcat (*Blatella germanica*), negru (*Blatta orientalis*), american (*Periplaneta americana*), gândacul cenușiu (*Nauphoeta cinerea*), furnica roșcată habituală (*Monomorium pharaonis* L), moli (*Tineola bisselliella* Humm), musca domestică (*Musca domestica*), păianjenul domestic (*Tegenaria derhami*), *Attagenus smirnovi zhan*, ploșnița (*Cimex lectularius*), țânțarul (*Culex pipiens*). Preparatele alergice din insecte erau stabile, inoive și atoxice. Testările ce au urmat au demonstrat, că extrasele alergice preparate prezintă un amestec heterogenic de diverse proteine [12]. La migrarea electroforetică a alergenilor majoritatea fracțiilor se încadrează în diapazonul 45-60 kDa și 20-30 kDa. De menționat faptul, că o valoare identică a masei moleculare de 25-30 kDa posedă și alergenul principal al acarinei *Dermato-phagoides pteronyssinus*, responsabil de reacțiile încrucișate dintre diverse specii de insecte și acarine ale prafului de casă.

Experimental a fost stabilită activitatea specifică a alergenilor preparate din insecte. Indici majori ai activității specifice au demonstrat preparatele alergice obținute din gândacul negru și roșcat, musca domestică și furnici. Activitate imunologică și alergică mai minoră posedau preparatele alergice din gândacul american, cenușiu, ploșnițe, păianjen și țânțar. Cu ajutorul tehnicii ELISA a fost evidențiată frecvența alergiei la artropodele sinantropice la pacienții cu astm bronșic și sensibilizare menajeră. La 53% din pacienți cercetați (n=80) în serul sanguin au fost depistați anticorpi IgE – specfici la alergenul obținut din gândacul roșcat, la 46% - la alergenul preparat din gândacul negru și cenușiu și în 47% - la alergenul preparat din gândacul american. În 38% cazuri s-a constatat sensibilizarea pacienților la alergenul din furnici, în 36% - la alergenul ploșniței, 33% - la alergenul din musca domestică, 20% - la alergenul din molii și păianjen, 17% - la cel din țânțar și la 13 % - la *Attagenus pellio*. Nu s-a determinat vre-o corelare esențială dintre prezența sensibilizării la diverse alergene din insecte ($p > 0,1$). Datele obținute demonstrează importanța alergenilor din insecte ca surse active în alergizarea a pacienților [5].

Concluzii

1. Preparatele alergice inedite obținute din produsele alimentare regionale posedă o activitate și o specificitate superioară comparativ cu cele comerciale preparate din flora și fauna diferitor țări, probă care argumentează necesitatea și oportunitatea lor în diagnosticul maladiilor alergice *in vivo* și *in vitro*.

2. Alergenele din artropodele sinantropе oferă posibilitatea de a diagnostica alergia la pacienții cu sensibilizare menajeră prin utilizarea unui spectru major de preparate diagnostice.
3. Utilizarea alergenelor inedite din flora și fauna regională vor favoriza concretizarea factorilor etiologici ai maladiilor alergice prin diverse tipuri de sensibilizare și vor sugera corecția ulterioară a terapiei imunospecifice.

Bibliografie

1. Andrieș L., Mordvinov Gh. et.al.// Regional peculiarities of allergoses in the Republic of Moldova and the improvement of their diagnosis. International Jurnal on Immunorehabilitation// Istanbul 1996 N3, P.46.
2. Barba D. Urticaria cronică recidevantă și starea funcțională a ficatului. Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale, Chișinău, 2005, 22 P.
3. Barba D. Buturov I. Andrieș L. Diagnosticul și tratamentul alergiei alimentare (probleme și perspective). Recomandare metodică, Chișinău, CEP Medica 2010, P.43.
4. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantition of microgram quantities of protein utilizing the principie of protein-due biding.// Anal. Biochem. 1976 v.72,N2, P.248.
5. Frei T. Allergien: Quo vadies?// Allergologie, 2002, v.25, N4, P.189.
6. Shewry P.R., Beaudoin F., Jenkis J. Plant protein families and their relationships to food allergy. Biochemical Society Transactions. 2002, v.30 (6), p.906.
7. Toorenenbergen A., Waanders J., Gerth V. et.al. Immunnoblott analysis of IgE-binding antigens in paprika and tomato pollen.Int.Arch.Allergy Immunol, 2000, 122 (4); 246-50.
8. Vieths S., Scheurer S., Ballmer-Weber B. Current understading of cross-reactivity of allergens and pollen.//Annual N.Y.Academy of Science. 2002 v.964. P. 47-68.
9. Vieths S Food allergy: towads understanding allergenic structures? Mol. Nutr. Food Res., 2004, v.48, N 5, p.343-346.
10. Андриеш Л. П. Эпидемиологическая и иммунологическая характеристика аллергических заболеваний в различных экологических зонах Молдовы и критерии мониторинга за состоянием здоровья населения.// Автореферат дисс. докт. мед. наук, М, 1994, 28 С.
11. Бержец В.М., Пронькина О.В., Хлгатын С.В., Радикова О.В. Частота выявления сенсбилизации к пыльце растений у детей, проживающих в Тульской области, Иммунология, аллергология, инфектология, 2006, №4, С.41-44.
12. Бержец В.М., Радикова О.В., Хлгатын С.В., Кропотова И.С., Бержец А.И. Оценка специфической активности препаратов аллергенов из синантропных насекомых. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии (ЖМЭИ), 2006, №7, С. 74-78.
13. Клиническая аллергология / под ред. Хаитова Р.М, М; МедПресс-информ. 2002, 624.
14. Лусс Л.В. Аллергия – болезнь цивилизации: эпидемиология, факторы риска, этиология, классификация, механизмы развития *Consillium medicum*, 2002, т 4, № 4, С. 3-12.
15. Руководство по количественному электрофорезу: методы и применение / под ред. Н. Аксельсена, Й. Крелля, Б. Вееке. М; Мир, 1977, С. 43-57.
16. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, М: Медицина, 2005. 832 С
17. Смирнова Г.И., Смирнов И.Е. Влияние экологических факторов и формирование респираторных заболеваний и аллергодерматозов у детей. - М: ВНИИМИ, 1991, 68 С
18. Фрадкин В.А. Диагностические и лечебные аллергены. М: Медицина, 1990, 256 С