

Clinica de pediatrie (cond.: prof. dr. Gh. Puskás, doctor-docent,
membru corespondent al Academiei de științe medicale) din Tirgu-Mureș

UTILITATEA TESTULUI DE HEMOLIZĂ A ERITROCITELOR CU APĂ OXIGENATĂ ÎN DIAGNOSTICUL DIFERENȚIAL AL ICTERULUI COLESTATIC LA NOU-NĂSCUT ȘI SUGAR TÎNĂR

Gh. Puskás, Bianca Indig, Olga B. Metz, Ecaterina Ajtay Puskás,
A. Kovács, L. Nagy, Ecaterina Lukács

În sindromul de obstrucție biliară completă diferențierea atreziei
căilor biliare extrahepatice de hepatită neonatală fără atrezie cunoaște
dificultăți și în prezent, deoarece testele de laborator uzuale pot fi ne-
concludente. Or, diagnosticul precoce este esențial pentru evitarea lapa-

ratomiei explorative în cazuri de hepatită neonatală, ceea ce ar crește de 3 ori riscul spre evoluția cirozei hepatice (1, 4, 5, 6). În hepatita neonatală cu evoluție favorabilă, obstrucția biliară completă retrocedează treptat. Pentru urmărirea în dinamică a excreției biliare continuă să fie utilizat testul excreției de J^{131} roz bengal (ERB) având un indice de siguranță de 80 % (3,6).

În clinica noastră, începând din anul 1975, în locul testului ERB folosim testul de hemoliză a eritrocitelor cu apă oxigenată (THP) recomandat de B. H. Lubin și colab. (2). THP conform și experienței noastre are același indice de siguranță ca testul ERB dar avantajele sînt importante: inocuitatea, maniabilitatea superioară la nou-născut și sugar tînăr. Totuși acest test nu este răsîndit ca metodă curentă de diagnostic.

Utilitatea clinică a THP se bazează pe următoarele premise: vitamina E după absorbția intestinală este transportată la țesuturi, pe membrana eritrocitară; prin efectul ei antioxidativ previne hemoliza eritrocitelor incubate în apă oxigenată. În deficiență de vitamină E, gradul hemolizei eritrocitelor incubate în apă oxigenată va fi în funcție de titrul vitaminei E pe membrana hematiei. Absorbția intestinală a vitaminei E liposolubilă este dependentă de prezența și cantitatea sărurilor biliare din intestin. Gradul absorbției intestinale a vitaminei E, respectiv, prezența sărurilor biliare în intestin pot fi urmărite prin gradul de hemoliză a hematiilor incubate în apă oxigenată. THP este pozitiv și indică obstrucție biliară completă dacă hemoliza depășește 80 %.

Material și metodă

Tehnica metodei THP: se recoltează 1 ml sînge venos de la martor și bolnav cu 0,1 mg heparină în tub de centrifugă gradată; eritrocitele se spală de 3 ori cu 5 volume de ser fiziologic, păstrat în frigider la $+4^{\circ}\text{C}$: din ambele materiale se prepară o suspensie de eritrocite 4 % cu tampon fosfat 20m M cu pH 7,4 pregătît cu ser fiziologic; la 0,25 ml suspensie de eritrocite se adaugă 0,25 ml soluție H_2O_2 2 % pregătîtă cu tampon fosfat; probele se efectuează în cîte 3 exemplare și se incubează timp de 3 ore în termostat la 37°C ; se incubează cîte o probă și fără H_2O_2 ; la sfîrșitul incubației se adaugă 4,5 ml tampon la toate probele cu excepția uneia cu sîngele bolnavului incubat fără H_2O_2 , la care se adaugă 4, 5 ml apă distilată pentru a efectua o liză de 100 %; tuburile se invertează de mai multe ori și se centrifughează timp de 10 minute cu o turație de 2500. Gradul de hemoliză a supernatantelor se determină cu spectrofotometrul cu 540 mm de absorbție. Procentul de hemoliză a probelor se calculează cu ajutorul probei cu hemoliză completă.

Interpretarea rezultatelor: testul se consideră negativ la sugarii născuți la termen pînă la vîrsta de 6 luni dacă hemoliza a fost sub 20 %. Testul se consideră sigur pozitiv dacă hemoliza este mai mare decît 80 %.

Am efectuat THP la 49 nou-născuți, respectiv sugari în vîrstă de 1—5 luni, dintre care 26 sîntoși servind drept martori și 23 cu icter colestatic de etiologie de grade diferite.

La cei 26 martori valorile THP au variat între 0—17,4 %.

La cei 23 sugari cu icter colestatic valorile THP în funcție de natura colestazei au fost următoarele (tabelul nr. 1).

Tabelul nr. 1

| Dg. clinic | Nr. cazuri | Dg. chirurgical și anatomo-patologic | Dg. histopatologic | THP | Vindecare sau ameliorare |
|------------------------------------|------------|--------------------------------------|--------------------|----------------------|--------------------------|
| Atrezie biliară e.h. + | 7 | 7 | Ciroză hepatică | 80—95 % | 0 |
| Atrezie biliară i.h. ++ | 1 | 1 | Atrezia CB i.h. | 90 % | 0 |
| Hepatită neonatală totală | 7 | | | Între 68—76.55 % | 5 |
| din care | 5 | | Ciroză hepatică | Între 7.5—85 % | 0 |
| Ciroză hepatică | | | | creștere în dinamică | |
| Întârziere în dezvoltare a CB i.h. | 4 | | | 3.9—24 % | 4 |
| — prematuritate | | | | | |
| — hipotrofie neonatală | | | | | |
| Etiologie neclară | 3 | | | 1.9—3 % | 3 |

+ e.h. (extrahepatic) ++ i.h. (intrahepatic) THP (testul de hemoliză a eritrocitelor cu apă oxigenată — peroxid)

— în atreziea căilor biliare extrahepatice la 7 sugari și în atreziea căilor biliare intrahepatice (s. MacMahon-Tannhauser) la 1 sugar — diagnostice confirmate chirurgical și histopatologic — iar în 5 cazuri anatomo-patologic valorile THP au fost pozitive (80—95 %) atât inițial cit și în dinamică repetate la intervale de 2 săptămâni. Efectuând testări paralele cu ERB și THP în cite un caz de atrezie biliară intrahepatică, respectiv extrahepatică am obținut rezultate similare: ERB < 5 % iar THP > 80 %;

— în 7 cazuri de hepatită neonatală cu sau fără ciroză hepatică la care s-au pus în evidență particule virale transmisibile, unele asociate cu antigenemie HB_s (examinări efectuate de prof. dr. I. László, Catedra de microbiologie a I.M.F. Tîrgu-Mureș) sau infecție bacteriană (septicemie), iar într-un caz toxoplasmoză, valorile THP inițial normale s-au apropiat de 80 %, în cazurile cu evoluție favorabilă au scăzut în dinamică chiar înaintea apariției semnelor clinice sau biologice de ameliorare. Dimpotrivă, în evoluție spre ciroză valorile THP au crescut progresiv;

— în întârziere de dezvoltare a căilor intrahepatice la prematuri și în hipotrofie neonatală peste 10 săptămâni vîrstă — 4 cazuri, valorile au fost constant normale între 3,9—2,4 % cu scădere în dinamică;

— în 3 cazuri cu etiologie neclară dar cu evoluție favorabilă, valorile THP au fost între 3—1,9 %.

Discuții

Utilitatea clinică a THP constă în diagnosticul obstrucției biliare complete la nou-născut și sugar în vederea diferențierii icterului colestatic medical de cel chirurgical.

În cazurile noastre de icter colestatic, eficiența testului a fost dovedită chirurgical și anatomopatologic în atrezii biliare sau prin evoluția clinică în hepatite neonatale cu sindrom de colestază sugerind obstrucție biliară completă; în toate aceste cazuri valoarea THP a depășit 80 0/0. În alte cazuri de hepatită neonatală valorile THP inițial pozitive dar scăzând în dinamică au permis renunțarea la laparotomie explorativă.

Testul negativ de la început în hepatită neonatală și la prematuri sau în hipotrofie neonatală (întârziere a dezvoltării căilor biliare intrahepatice) (3) a precedat sau a fost concordant cu retrocedarea semnelor clinice și de laborator ale colestazei.

Lubin și colab. (2) consideră THP mai sensibil ca ERB; în 6 din 7 cazuri de hepatită neonatală au găsit THP inițial normal sau conversiune la normal în decurs de 2—3 săptămâni, în timp ce ERB a fost negativ numai în 2 din aceste cazuri; în 16 cazuri de atrezie biliară confirmate chirurgical s-au obținut rezultate similare cu cele două teste.

Menționăm că în alte condiții de deficiență de vitamina E ca: malabsorbția intestinală în mucoviscidoză, A beta-lipoproteinemie, doze excesive de fier, alimentația cu exces de acizi grași polinesaturați nu se folosește THP, icterul colestatic nefiind problemă capitală de diagnostic diferențial. La prematuri însă THP pozitiv nu este întotdeauna concludent pentru bola hepatobiliară, la această categorie de copii putând exista o deficiență de vitamina E prin absorbția intestinală scăzută, consecutiv anemie hemolitică la 6—10 săptămâni vîrstă, care poate fi corectată cu aport de vitamină E (7).

Concluzii

Considerăm că în diagnosticul diferențial al icterului colestatic la nou-născut și sugar THP are utilitate importantă și poate înlocui ERB pe baza următoarelor considerente: THP este un test inofensiv avînd aceeași sensibilitate ca ERB; — poate fi repetat de mai multe ori, copilul nefiind expus la efectul izotopului; nu necesită măsuri antiepidemice ca ERB; — tehnica este simplă și nu necesită aparatură și chimicale deosebite, nici recoltări de scaune și urină; — pentru testare este suficient 1 ml sînge.

Recomandăm introducerea metodei THP în laboratoarele clinice și de spitale de pediatrie.

Bibliografia la autori.

Sosit la redacție: 12 aprilie 1978.

Gh. Puskás, Bianca Indig, Olga B. Metz, Ecaterina Ajtai Puskás, A. Kovács, L. Nagy, Ecaterina Lukács

UTILITY OF THE TEST OF ERYTHROCYTE HAEMOLYSIS WITH OXYGENATED WATER IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CHOLESTATIC ICTERUS IN THE NEW-BORN AND YOUNG SUCKLING

For the differential diagnosis between the atresia of biliary ducts and partial cholestasis in the new-born and young suckling, the authors make use of oxygenated water (peroxide), THP. The test is based on the premise that in vitamin deficiency on the erythrocyte membrane haemolysis is produced. The degree of hae-

molysis depends on the intestinal absorption of vitamin E, which in turn is dependent upon the presence and amount of biliary salts in the intestine. The test shows complete biliary obstruction if the haemolysis is over 80%. In 26 controls tested, the values were between 0—17.4%.
