

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц



2018 г.

регистрационный номер № 102 - 1018

**МЕТОД ДИАГНОСТИКИ КОНТАКТНОЙ АЛЛЕРГИИ
НА КЛЕЙКИЕ ВЕЩЕСТВА И ПОЛИМЕРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ**
(инструкция по применению)

Учреждение-разработчик:

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Авторы: к.м.н., доцент Карпук И.Ю., Угалев А.Н., к.м.н. Карпук Н.А.

Витебск, 2018

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику аллергии неуточненной (Т-78.4) и контактной, вызванной клейкими (L23.1) или другими химическими веществами (L23.5), путем постановки аппликации мукоадгезивной пленки на слизистую оболочку щеки с мономерами акрилатов и метакрилатов и оценке полученных результатов через 3 часа с момента постановки.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей аллергологов-иммунологов, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с симптомами характерными для аллергических реакций.

Перечень необходимых медицинских изделий, лекарственных средств, реактивов и т.д.

1. Стерильные пакеты (3 шт.).
2. Холодильник.
3. Производные, мономеры акрилатов и метакрилатов: гидроксипропанметакрилат (HEMA), уретан диметакрилат (UDMA), бисфенол А-глицидил метакрилат (Bis-GMA), триэтилен гликоль диметакрилат (TEGDMA), этилен гликоль диметакрилат (EGDMA), метилметакрилат (MMA), далее испытываемые вещества.
4. Вода очищенная (Государственная фармакопея Республики Беларусь, том 2, стр. 309).
5. Метилцеллюлоза (Государственная фармакопея Республики Беларусь, том 2, стр. 276).
6. Натрий-карбоксиметилцеллюлоза (Государственная фармакопея Республики Беларусь, том 2, стр. 276).
7. Вода аммиачная (Государственная фармакопея Республики Беларусь, том 2, стр. 70).

8. Этиловый спирт 96% (Государственная фармакопея Республики Беларусь, том 2, стр. 295).

9. Краситель эозин.

10. Ацетат-целлюлозные диски.

11. Весы электронные лабораторные.

12. Ступка фарфоровая с пестиком.

13. Сушильный шкаф.

14. Микроскоп (увеличение x400).

Показания к применению

1. Аллергический контактный дерматит, вызванный клейкими (L23.1) или другими химическими веществами (L23.5).

2. Аллергия неуточненная (T78.4) (на полимерные материалы).

Противопоказания для применения

1. Наличие везикул, пузырей и язв на слизистой оболочке полости рта (пробы можно ставить только на слизистой оболочке щеки физиологической окраски).

2. Период после острой аллергической реакции 3-4 недели (рефрактерный период).

3. Прием пациентом антигистаминных лекарственных средств, трициклических антидепрессантов, топических стероидов.

Ограничения к применению:

1. Обострение основного и сопутствующих заболеваний.

Описание технологии использования метода с указанием этапов

1. *Изготовление мукоадгезивных пленок с гидрофобным испытуемым веществом.*

Для этого к охлажденной до +4 °С дистиллированной воде объемом 25 мл медленно добавляют 0,45 г метилцеллюлозы и 7 капель глицерина, тщательно перемешивают смесь и оставляют на 10 минут для набухания. Затем тонким

слоем равномерно насыпают второй компонент – 0,45 г натрий-карбоксиметилцеллюлозы и оставляют для набухания при комнатной температуре на 30 минут. Полученную смесь гомогенизируют и помещают в холодильник при +4°C на 24 часа. По истечении суток проводят повторную гомогенизацию смеси.

Отдельно в каждую готовую основу вводят испытуемое вещество с массовой долей 0,1%, представленное мономерами акрилатов и метакрилатов и их производными – гидроксиэтилметакрилатом (HEMA), уретан диметакрилатом (UDMA), бисфенол А-глицидил метакрилатом (Bis-GMA), триэтилен гликоль диметакрилатом (TEGDMA), этилен гликоль диметакрилатом (EGDMA), метилметакрилатом (MMA). Полученную смесь перемешивают и разливают на ячейки в силиконовой подложке диаметром 20 мм и помещают в сушильный шкаф при температуре 37°C на 24 часа. После полного высыхания получают гладкие, прозрачные, эластичные мукоадгезивные пленки в форме диска толщиной 2 мм. Упаковывают пленки в стерильные пакеты. Хранят в холодильнике при температуре от +2 °C до +5 °C. Обновлять пленки необходимо не реже 14 дней.

2. Постановка слизисто-аппликационного тестирования.

2.1 Проводят контрольный тест.

Для этого пациент за сутки до тестирования не употребляет алкоголь, продукты с кофеином, никотин, за двое суток – противоаллергические лекарственные средства (антигистаминные, глюкокортикостероиды), исключает потенциально аллергенные продукты и напитки. За 1 час до исследования не принимает пищу. Пациент ополаскивает рот водой, а затем полощет рот 50 мл физиологического раствора хлорида натрия 0,9% в течение 3 мин. Через 10 минут участок слизистой щеки просушивают струей воздуха и делают отпечаток ацетатно-целлюлозным диском $d=13$ мм (d пор = 0,45 мкм) в течении 3-5 секунд (образец 1, контрольная проба).

2.2 Проводят провокационный тест с испытуемым веществом.

Мукоадгезивную пленку с испытуемым веществам, апплицируют к слизистой оболочке щеки. Через 3 часа образец с испытуемыми веществами удаляют. С участка фиксации пленки получают второй отпечаток (образец 2, опытная проба). В качестве отрицательного контроля используют чистую карбоксиметилцеллюлозную пленку без аллергенов.

3. Подготовка образцов к исследованию

Диски-отпечатки, полученные до и после воздействия испытуемого вещества, погружают в емкость с ксилолом до полного просветления ацетатно-целлюлозного диска (1 мин). Далее погружают в гематоксилин на 30 мин, последовательно отмывают в двух флакона: одном – аммиачной воды и в одном – дистиллированной. Затем погружают в емкость с эозином (спиртовой раствор на 1-2 сек, водный на 20 минут), отмывают в двух флаконах этилового 96% спиртового раствора, далее помещают на предметное стекло, наносят 1-2 капли полистирола и накрывают покровным стеклом. Световую микроскопию выполняют на микроскопе при увеличении x400. Счет общего количества нейтрофилов ведут по зигзагу на всей поверхности диска-отпечатка.

3. Учет результатов.

Проба считается положительной в случаи, если происходит снижение числа нейтрофилов в опытной пробе по сравнению с контрольной пробой более чем на 20%.

Перечень возможных осложнений или ошибок при выполнении и пути их устранения

Осложнение: нет

Ошибки могут быть связаны с нарушением технологии выполнения анализа:

- 1) несоблюдение условий приготовления и хранения испытуемых веществ;
- 2) нарушения технологии проведения тестирования.