

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель Министра  
Д.Л. Пиневич

«06» *августа* 2019 г.



Регистрационный номер № 005-0219

## МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ПЕРИИМПЛАНТИТА

(инструкция по применению)

**УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:** учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

**Авторы:** к.м.н. Карпук Н.А., д.м.н., профессор Рубникович С.П.,  
Афанасьев Д.В., д.м.н., доцент Карпук И.Ю.

Витебск-Минск, 2019

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику периимплантита, путем применения диоксида титана ( $\text{TiO}_2$ ), который разводят физиологическим раствором в соотношении 1:1000 для добавления к лейкоцитам крови пациентов с периимплантитом.

Предлагаемый метод диагностики периимплантита с помощью реакции алергениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) позволяет достигнуть высокой диагностической эффективности, при методической простоте его выполнения и дешевизне.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей-стоматологов, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с симптомами периимплантита.

#### **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РЕАГЕНТОВ И Т.Д.**

1. Центрифуга (1000 об/мин).
2. Камера Горяева.
3. Стеклянные центрифужные пробирки 10 мл (100 шт.).
4. Термостат.
5. Автоматические дозаторы 20 – 200 мкл.
6. Микроскоп с иммерсионным увеличением.
7. Предметные стёкла (50 шт.).
8. Иммунологические планшеты (10 шт.).
9. Физиологический раствор хлорида натрия.
10. Набор антигенов или аллергенов (по необходимости).
11. Бычий или человеческий сывороточный альбумин.
12. Спирт ректификат 96°C (100 мл.).

13. Азур-эозин.
14. 0,85% раствор хлорида аммония.
15. Диоксид титана.
16. Трипановая синька.

### **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Периимплантит.

### **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Метод применяется в условиях *in vitro* и не имеет противопоказаний. Метод не применяется в случае невозможности получения у пациентов 2 мл крови.

### **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА С УКАЗАНИЕМ ЭТАПОВ**

Используют 0,001% суспензию  $TiO_2$  в физиологическом растворе хлорида натрия.

Для исследования одной концентрации аллергена достаточно 0,5 мл крови, для 10 – 3-5 мл (в зависимости от количества лейкоцитов). Из небольших количеств крови, взятой из пальца, лейкоциты выделяют путем лизиса эритроцитов 0,85% раствором хлорида аммония. Для испытания 10 и более антигенов берут из вены 10 мл крови в пробирку, в которую добавлено 20 ед/мл гепарина. Используют суспензию неразделенных лейкоцитов, полученных из плазмы крови после её отстаивания 30-40 мин. Лейкоциты отмывают от плазмы крови раствором хлорида натрия и готовят их суспензию в концентрации  $2 \times 10^6$  в 1 мл.

0,25 – 0,05 мл суспензии лейкоцитов смешивают с равным объемом различных концентраций испытуемых аллергенов-растворов солей металлов, к одной пробе (контроль) аллерген не добавляют. Смеси лейкоцитов с аллергенами инкубируют при 37°C в течение 30 мин. Все пробы дублируют. После инкубации смесь центрифугируют при 1000

об/мин 5 мин, надосадочную жидкость сливают, добавляют 2 капли 0,1% раствора трипанового синего, ресуспендируют и подсчитывают в камере Горяева процент окрашенных лейкоцитов. Цитотоксический индекс (ЦИ) рассчитывают по формуле:

Цитотоксический индекс (ЦИ) равен:  $(a-b) : a \times 100\%$ ,

где а – процент окрашенных клеток в опыте после инкубации с аллергеном; б – то же, но в опыте без аллергена.

*Интерпретация результатов.*

Цитотоксические индексы больше 0,15 или присутствие более 14% поврежденных клеток в опыте по сравнению с контролем, указывают на наличие сенсibilизации лейкоцитов к испытуемому аллергену, т.е. на его аллергическую этиологическую роль в данном заболевании.

### **ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

1. Использование отрицательного контроля на специфичность при постановке реакции – отрицательная реакция с лейкоцитами доноров или неаллергических пациентов.

2. Контроль положительной реакции. При визуальной оценке результатов реакции с лейкоцитами 2-3 пациентов с известным диагнозом и соответствующим аллергеном – реакция положительная.