

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц



2017 г.

Регистрационный номер № 058-0812

**МЕТОД ДИАГНОСТИКИ КОНТАКТНОЙ АЛЛЕРГИИ
НА МЕТАЛЛЫ**

(инструкция по применению)

Учреждение-разработчик:

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»

Авторы: к.м.н., доцент Карпук И.Ю., д.м.н., профессор Д.К. Новиков,
Угалев А.Н., к.ф.н., доцент Дубашинская Н.В.

Витебск, 2017

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневиц
30.08.2017
Регистрационный № 058-0817

МЕТОД ДИАГНОСТИКИ КОНТАКТНОЙ АЛЛЕРГИИ НА МЕТАЛЛЫ

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. И. Ю. Карпук, д-р мед. наук, проф. Д. К. Новиков,
А. Н. Угалев, канд. фарм. наук, доц. Н. В. Дубашинская

Витебск 2017

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 металлами (хромом, никелем) (L23.0), путем постановки кожных аппликационных проб с солями металлов на вазелин-ланолиновой основе и оценки полученных результатов через 24 и 48 ч 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 НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Стерильные шприцы 10–20 мл (8 шт.).
2. Холодильник.
3. Соли металлов: хлорид хрома (III), хлорид никеля (II), хлорид кобальта (II).
4. Вода очищенная (Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2, с. 309).
5. Весы электронные лабораторные.
6. Ступка фарфоровая с пестиком.
7. Чашка выпарительная.
8. Вазелин (Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2, с. 208).
9. Ланолин (Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2, с. 583).
10. Баня водяная.
11. Аппликаторы для выполнения кожных проб.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Аллергический контактный дерматит, вызванный металлами (хромом, никелем) (L23.0).
2. Аллергия неуточненная (Т78.4) (после зубопротезирования).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Диффузные изменения кожи (кожные пробы можно ставить только на здоровой коже).
2. Период после острой аллергической реакции 3–4 недели (рефрактерный период).
3. Пациенту нельзя отменить прием антигистаминных, трициклических антидепрессантов, топических стероидов.

Ограничением к применению является обострение основного и сопутствующих заболеваний.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Получение аппликационной мази: подготовка вазелин-ланолиновой основы и введение в нее растворов солей металлов.

Состав основы для аппликационных проб представлен вазелином и ланолином, который способен эмульгировать до 150 % воды. Соли металлов вводят в основу в виде водных растворов с образованием эмульсии типа вода/масло.

Для получения мази нужной концентрации (таблица) помещают в ступку фарфоровую воду очищенную, в которой растворяют навеску соли металла под пестиком. Для получения основы в чашку выпарительную помещают вазелин и ланолин и сплавляют при нагревании на кипящей водяной бане. Полученным сплавом тщательно эмульгируют водный раствор солей металлов до появления характерного потрескивания и получения однородной массы.

Таблица — Соотношение компонентов тестовой основы

Состав аппликационной мази	Концентрация мази 3 %	Концентрация мази 1 %	Концентрация мази 0,5 %
Соль металла, г	0,3	0,1	0,05
Вазелин, г	8,73	8,91	8,95
Ланолин, г	0,73	0,74	0,75
Вода очищенная, г	0,24	0,25	0,25

Диагностические растворы хранят в холодильнике при температуре от 2 до 5 °С. Обновлять диагностические растворы необходимо не реже 2–3 недель.

Постановка кожного аппликационного тестирования.

Участникам исследования ставят аппликационные кожные пробы с использованием специальных аппликаторов и тестовых субстанций — солей металлов Cr^{3+} , Ni^{2+} на вазелин-ланолиновой основе.

В качестве отрицательного контроля используют вазелин-ланолиновую основу (Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2, с. 208, 583).

Аппликаторы наклеивают в область спины по околопозвоночной линии.

За 7 дней до тестирования следует исключить употребление алкоголя, никотина, продуктов с высоким гликемическим индексом и кофеином, противоаллергические лекарственные средства (антигистаминные, глюкокортикостероиды).

Оценку результатов проводят через 3, 24, 48 ч в соответствии со следующими критериями:

“-“ — отрицательная реакция (отсутствие видимых изменений на кожных покровах на месте аппликации);

“+” — слабopоложительная реакция (эритема, инфильтрация, папулы);

“++” — положительная реакция (эритема, инфильтрация, папулы, везикулы) на месте аппликации;

“+++” — резкоположительная реакция (буллезная реакция) на месте аппликации;

“+–” — сомнительная реакция (эритема с отсутствием инфильтрации);

“irr” — локальное контактное раздражение (эритема с отсутствием везикул).

Учет результатов.

Наличие на кожных покровах в месте аппликации слабоположительной, положительной или резкоположительной реакции на исследуемые аллергены указывает на аллергический контактный дерматит, вызванный металлами.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Отсутствуют.

Ошибки могут быть связаны с нарушением технологии выполнения анализа:

1. Несоблюдение условий приготовления и хранения аллергенов.
2. Нарушения технологии проведения тестирования.

Обоснование целесообразности использования метода

Проблеме непереносимости металлических стоматологических сплавов посвящен ряд исследований, что указывает на ее высокую актуальность. Отсутствие четко выраженных патогномоничных симптомов, характерных только для аллергии на зубопротезные материалы, не позволяет в большинстве случаев точно установить аллергическую этиологию непереносимости, что мешает адекватной оценке диагностической эффективности методик, предлагаемых для диагностики аллергии.

Одним из методов диагностики аллергии является постановка кожных тестов. Но несмотря на достижения в области диагностики аллергии на металлы, специалисты сталкиваются с проблемой неясных результатов кожных тестов, что связано, например, с выбором высоких концентраций солей металлов.

Анализ специальной литературы убедительно показывает, что нет точных данных воздействию на организм солей металлов в различных концентрациях при постановке аппликационных кожных проб. Так, Л. Д. Гожая предлагает хлорид никеля в виде 5 % раствора. Остается неясным, из каких данных исходит автор при выборе солей и их концентраций, хотя очевидно, что разные соли металлов различны по степени раздражающего воздействия на организм.

В большинство панелей для определения аллергии к металлам входят растворы солей Ni^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Mn^{2+} , Ti^{3+} , Zn^{2+} в концентрациях порядка 1 г/100 мл или 1 моль/л. Однако они могут различаться использованными в их изготовлении растворителями (вода, спирт, масла, вазелин), анионами (хлориды, сульфаты, нитраты и т. д.). Это обуславливает определенную вариабельность получаемых результатов. Так как панели включают в основном вещества, имеющие наиболее высокий аллергенный потенциал, в принципе получаемые результаты имеют определенный параллелизм, что позволяет использовать эти панели в клинических целях, но остается неясной достоверность результатов такой диагностики.

Преимущество использования воды в качестве растворителя (основы) при постановке аппликационных проб заключается в том, что соли в ней диссоциируют, однако она не обладает поверхностными свойствами для преодоления клеточного барьера в виде гидрофильно-гидрофобной мембраны поверхностных клеток кожи.

Спирт этиловый обладает свойствами раздражающего характера и при местном применении вызывает локальное раздражение тканей, на фоне которого могут возникать фармакологические эффекты рефлекторного и трофического характера.

Вазелин является наиболее подходящей основой и обладает поверхностными свойствами, но соли металлов в нем не растворяются. Существует проблема интерпретации кожных тестов, что по нашему мнению связано с тем, что вазелин является гидрофобной основой, поэтому соли металлов не способны в нем диссоциировать на составные компоненты, и реакция кожи возникает не на причинный катион металла, а на его соль, что в полной мере не является достоверным признаком аллергии к металлу. Кроме того, это может

привести к появлению разрозненных точечных участков эритемы, отсутствию инфильтрации, характерных для локального контактного раздражения.

Таким образом, существует необходимость разработки способа диагностики аллергии к металлам, позволяющего снизить степень раздражающего действия солей металлов на кожу, а также метода аппликационных проб с применением метода диагностики аппликационных проб с применением вазелин-ланолиновой основы для их растворения.

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач УЗ «Витебская
областная клиническая больница»
_____ А. А. Оладько
_____ 2017

Отчет о предварительном клиническом испытании метода диагностики контактной аллергии на металлы

Обследовано 92 пациента в возрасте от 42 до 74 лет, из них 9 мужчин и 83 женщины, направленных в клинику кафедр общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии, клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО ВГМУ с жалобами на НСМ. Все пациенты указывали на наличие причинно-следственной связи между возникновением симптомов непереносимости зубопротезного материала и фактом контакта с ним.

Группу сравнения составили 30 пациентов (5 мужчин и 25 женщин) в возрасте от 45 до 68 лет без жалоб на непереносимость стоматологических материалов (НСМ) и гиперчувствительности к ним, сопоставимые по полу, возрасту, типу конструкций и количеству зубопротезных единиц, согласившиеся пройти обследование на гиперчувствительность к зубопротезным материалам перед плановой заменой ортопедических конструкций.

Сформированные группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Все пациенты, включенные в исследование, дали и собственноручно заполнили добровольное информированное согласие на участие в работе.

Аппликационное кожное тестирование с растворами солей металлов.

Аппликационные пробы остаются золотым стандартом, сомнительные реакции и локальное контактное раздражение, безусловно имеют место.

Сомнительные результаты проб могут быть обусловлены либо раздражением кожных покровов самой тестовой субстанцией, либо слабовыраженной аллергической реакцией. Дифференцировать слабовыраженную аллергическую реакцию и местное неспецифическое раздражение практически невозможно. Для исключения ложноположительных результатов при выполнении исследований авторы предпочитают учитывать все слабовыраженные реакции как сомнительные, применяя индекс реакции Reaction Index (RI) для определения диагностической значимости тестовых субстанций с солями металлов, используемых для аппликационных проб, чтобы выявить те из них, в отношении которых регистрируется наибольшее количество сомнительных или малодостоверных результатов.

Применение RI, предложенного Brasch и Henseler, позволяет определить диагностическую эффективность для каждой тестовой субстанции, используемой для аппликационных проб.

Результаты кожно-аппликационного тестирования были оценены путем сравнения RI, предложенного в 1992 г. Brasch. RI, рассчитывается из числа истинно аллергических (+, ++, +++), сомнительных (+-) и раздражающих (irr) реакций следующим образом:

$$RI = (+, ++, +++)-(+-)-(irr) / (+, ++, +++)+(+-)+(irr).$$

RI для различных аллергенов неодинаков. При всех положительных аллергических реакциях равен 1. Напротив, аллергены с высокой долей раздражающих и сомнительных реакций имеют RI с отрицательным значением. Когда наблюдаются только сомнительные и раздражающие реакции, RI равен -1.

Результаты аппликационных проб с 3 % раствором хлорида никеля (II) на вазелиновой и вазелин-ланолиновой основах и их сравнение

Как видно из представленных результатов (таблицы 1–4) спустя 48 ч с момента постановки пробы с *вазелиновой* основой количество реакций, обусловленных раздражающим действием, было достоверно больше по сравнению с результатами с *вазелин-ланолиновой* основой.

Таблица 1. — Результаты проведения аппликационных проб с раствором соли NiCl₂ (3 %) на вазелиновой и вазелин-ланолиновой основах в группе пациентов с НСМ (n = 92) через 3, 24, 48 ч

Время аппликации (в ч)	Вазелиновая основа абс. (%)				Вазелин-ланолиновая основа абс. (%)			
	-	irr	+ -	+ / + + / + + + ++	-	irr	+ -	+ / + + / + + + +
3	92 (100 %)	-	-	-	92 (100 %)	-	-	-
24	53 (57,6 %)	-	1 (1,08 %)	38 (41,3 %)	60 (65,2 %)	-	-	32 (30,6 %)
48	39 (42,39 %)	6 (6,52 %)*	4 (4,35 %)*	43 (46,7 %)	45 (48,91 %)	1 (1,08 %)	2 (2,17 %)	45 (48,91 %)*
* — различия результатов проб с вазелиновой и вазелин-ланолиновой основой, p _{Wilcoxon} < 0,001.								

Таблица 2. — Результаты аппликационных проб с раствором соли NiCl₂ (3 %) в группе сравнения (n = 30) через 3, 24, 48 ч

Время аппликации (в ч)	Вазелиновая основа абс. (%)				Вазелин-ланолиновая основа абс. (%)			
	-	irr	+ -	+ / + + / + + + ++	-	irr	+ -	+ / + + / + + + +
3	30 (100 %)	-	-	-	30 (100 %)	-	-	-
24	30 (100 %)	-	-	-	29 (96,67 %)	-	-	-
48	25 (83,33 %)	3 (10 %)*	1 (3,3 %)	1 (3,3 %)	28 (93,33 %)	-	1 (3,3 %)	1 (3,3 %)
* — различия результатов проб с вазелиновой и вазелин-ланолиновой основой, p _{Wilcoxon} < 0,001.								

Результаты аппликационных проб с 3 % раствором хлорида хрома (III) на вазелиновой и вазелин-ланолиновой основах и их сравнение

Таблица 3. — Результаты аппликационных проб с раствором соли CrCl₃ (3 %) с вазелиновой и вазелин-ланолиновой основами в группе пациентов с НСМ (n = 82) через 3, 24, 48 ч

Время аппликации (в ч)	Вазелиновая основа абс. (%)				Вазелин-ланолиновая основа абс. (%)			
	-	irr	+-	+ / + / + / + / +	-	irr	+-	+ / + / + / + / +
3	92 (100 %)	-	-	-	92 (100 %)	-	-	-
24	70 (76,1 %)	1 (1,08 %)	1 (1,08 %)	20 (21,7 %)	54 (58,7 %)	-	17 (18,5 %)	21 (22,8 %)
48	39 (42,39 %)	7 (7,6 %)*	6 (6,52 %)	40 (43,5 %)	38 (41,3 %)	1 (1,08 %)	2 (2,17 %)	51 (55,4 %)
* — различия результатов с вазелиновой и вазелин-ланолиновой основой, p _{Wilcoxon} < 0,001.								

Таблица 4. — Результаты аппликационных проб с 3 % раствором соли CrCl₃ в группе сравнения (n = 30) через 3, 24, 48 ч

Время аппликации (в ч)	Вазелиновая основа абс. (%)				Вазелин-ланолиновая основа абс. (%)			
	-	irr	+-	+ / + / + / + / + / +	-	irr	+-	+ / + / + / + / + / +
3	30 (100 %)	-	-	-	30 (100 %)	-	-	-
24	29 (96,7 %)	-	1 (3,3 %)	-	28 (93,3%)	-	1 (3,3 %)	-
48	26 (86,67 %)	3 (10 %)*	-	1 (3,3 %)	28 (93,3 %)	-	-	2 (6,67 %)
* — различия результатов проб с вазелиновой и вазелин-ланолиновой основой, p _{Wilcoxon} < 0,001.								

Индекс реакции RI для тестовой субстанции NiCl₂ с вазелиновой основой составил 0,62, а с вазелин-ланолиновой 0,875; для тестовой субстанции CrCl₃ с вазелиновой основой 0,5 а с вазелин-ланолиновой 0,88. Оценка индекса реакции с NiCl₂ и CrCl₃ указывает на повышение специфичности метода постановки аппликационных проб с вазелин-ланолиновой мазью.

Результаты исследования убедительно свидетельствуют о снижении количества реакций, обусловленных локальным раздражающим действием и сомнительных реакций постановки аппликационных проб с вазелин-ланолиновой мазью по сравнению с вазелиновой через 48 ч после постановки, что может быть связано с отсутствием неспецифического раздражения кожи недиссоциированной солью.