

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель

министра здравоохранения

\_\_\_\_\_ В.В. Колбанов

25 апреля 2005 г.

Регистрационный № 26-0205

**СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ СТАДИЙ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ**

Инструкция по применению

**Учреждение-разработчик:** Белорусский государственный медицинский университет

**Авторы:** И.Е. Гурманчук, О.В. Петракова, О.Н. Почепень

В настоящее время в Беларуси, так же как и в России, наибольшее распространение имеет классификация ожоговой болезни, основа которой была предложена еще на XXVII Всесоюзном съезде хирургов в 1961 году. Позднее предложенная классификация была доработана, и в соответствии с ней выделяют 4 периода ожоговой болезни:

- 1) ожогового шока – продолжается от 2 до 48, редко 72 ч;
- 2) острой ожоговой токсемии – продолжается от 10 до 15 сут;
- 3) ожоговой септикотоксемии – продолжается до 3-5 недели болезни;
- 4) период реконвалесценции – наступает после ликвидации острых проявлений ожоговой болезни и ее осложнений.

Данная классификация опирается на данные, получаемые при наблюдении за клиническим и функциональным состоянием пациента. В ее основу были положены существующие тогда представления о преимущественно инфекционном генезе формирования и развития воспалительных процессов. Однако, с точки зрения современных представлений о развитии системной воспалительной реакции, характер течения воспалительного процесса зависит, главным образом, от способности самого организма поддерживать баланс между интенсивностью проявления про- и противовоспалительных реакций. Это определяется не только силой действия инфекционного агента, но и зависит от характера функционирования иммунной системы в целом и ее неспецифических клеточных реализаторов в частности.

## **УРОВЕНЬ ВНЕДРЕНИЯ**

Ожоговые центры, клинико-диагностические лаборатории. Для диагностики стадии ожоговой болезни, разработки методов лечения, оценки эффективности применяемой терапии, для разработки методов прогноза заболевания.

## **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Диагностика стадии ожоговой болезни, оценка эффективности применяемой терапии, разработка критериев прогноза заболевания.

## **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

*Необходимое оборудование:*

- многоканальный спектрофотометр;
- окуляр-микрометр для микроскопа или проектор с миллиметровой сеткой.

*Реактивы:*

- стимуляторы метаболической, адгезивной (phorbol 12-myristate 13-acetate) и миграционной (N-Formyl-Met-Leu-Phe) активности нейтрофилов;
- среда для культивирования клеток крови человека (RPMI-1640 или другая);
- агароза;
- нитросиний тетразолий.

*Изделия:*

- иммунологические 96-луночные плоскодонные планшеты;
- пластиковые чашки Петри диаметром 40 мм.

## **ТЕХНОЛОГИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА**

Для диагностики стадии ожоговой болезни у пациента производится забор цельной крови, которая стабилизируется внесением гепарина в концентрации 25 ЕД/мл. Далее в лаборатории производится выделение чистой популяции нейтрофилов, например, по методу, описанному в руководстве [3]. Все операции необходимо проводить при 4 °С для того, чтобы избежать возможной агрегации клеток. Исследование адгезивной активности клеток проводят, как описано Хаитовым Р.М. и соавт. [2]; метаболической активности, описано Киселевой Е.П., Полевщиковым А.В. [1] с последующим расчетом количества восстановленного дифомазана; исследование миграционной

активности проводят с использованием метода миграции клеток под агарозой по Нельсону, описанному в руководстве [3]. В качестве стимулятора метаболической и адгезивной активности используют phorbol 12-myristate 13-acetate (РМА) в конечной концентрации 100 нг/мл, а в качестве хемоаттрактанта используют N-Formyl-Met-Leu-Phe (fMLF) в концентрации  $10^{-5}$  М. Время инкубации при исследовании метаболической активности – 30 минут, адгезивной – 60 мин, миграционной – 90 мин. При исследовании метаболической и адгезивной активности проводят расчет индексов стимуляции (ИС) и индекса миграции (ИМ) при исследовании миграционной активности.

При исследовании предлагаемых показателей в группе доноров в лаборатории биохимических методов исследования ЦНИЛ БГМУ были получены следующие значения (табл. 1).

**Таблица 1**

**Уровень адгезивной, миграционной и метаболической активности нейтрофильных гранулоцитов доноров**

Показатель	Единицы измерения	Диапазон значений (М ± m)
Адгезивная активность ИС	%	40,9 ± 2,1
	–	1,3 ± 0,05
Метаболическая активность ИС	мкМ формазана/литр на $10^9$ клеток в 30 минут	4,8 ± 0,3
	–	1,3 ± 0,06
Миграционная активность ИМ	мм	0,254 ± 0,014
	–	1,7 ± 0,06

При благоприятном течении ожоговой болезни характерна следующая динамика показателей:

1. Стадия ожоговой токсемии – характерно увеличение спонтанной адгезивной, миграционной и метаболической активности нейтрофилов выше контрольного уровня. При этом ИС по адгезивной и метаболической активности не отличается от контрольного уровня, а ИМ снижается.

2. Стадия септикотоксемии – характерно значительное снижение уровня адгезивной активности нейтрофилов до значений, не отличающихся от контрольных, метаболическая и миграционная активность остаются выше контрольного уровня. При этом происходит значительное увеличение ИС по адгезивной активности и снижение ИМ. Характерен так же рост концентрации Ig A относительно контрольного уровня.

3. Стадия реконвалесценции – характерна нормализация всех клеточных показателей (за исключением спонтанной адгезивной активности, которая может оставаться выше контрольного уровня). Уровень Ig A остается выше контрольного, а Ig M может снижаться.

### **ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ, ОШИБКИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ, ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

Процедура выделения клеток должна проводиться с использованием максимально щадящих методов. Все манипуляции с клетками должны проводиться при температуре 4 °С во избежание их активации и агрегации. Необходимо строго соблюдать время и условия инкубации, с предварительным подогревом посуды, в которой проводится инкубация. В каждой лаборатории необходимо разработать собственные контрольные значения нормальных донорских показателей.

### **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Отсутствуют.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Киселева Е.П., Полевщиков А.В. Метод автоматизированного учета НСТ-теста // Клиническая лабораторная диагностика. – 1994. – № 4. – С. 27-29.
2. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. – М.: ВНИРО, 1995. – 219 с.
3. Laboratory manual of neutrophil function / J.A. Metcalf, J.I. Gallin, W.M. Nauseef, R.K. Root. – Raven Press Books, 1986. – 191 p.