

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

ФАКУЛТЕТ ПО ДЕНТАЛНА МЕДИЦИНА

КАТЕДРА „ОБРАЗНА И ОРАЛНА ДИАГНОСТИКА“

Ръководител: проф. д-р Христина Михайлова, д.м.

Д-р Яница Алексиева Истаткова

**АЛЕРГИЯ КЪМ ЛАТЕКС
В ДЕНТАЛНАТА ПРАКТИКА**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на образователната и
научна степен „доктор“ в професионално направление

7.2. Дентална медицина, докторска програма
„Терапевтична дентална медицина“

Научен ръководител:

доц. д-р Мария Стоянова Денчева, дмн

София, 2023г.

Дисертационният труд съдържа 157 страници. Онагледен е с 12 фигури, 59 диаграми, 38 таблици и 8 приложения. Библиографията включва 214 литературни източници, от които 2 на кирилица и 212 – на латиница.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 13.11.2023 г. от 13.30 часа в Пета аудитория на Факултета по дентална медицина, МУ – София, ул. „Св. Георги Софийски“ №1, съгласно чл.5, ал.2 във връзка с чл.73 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в МУ-София и заповед № РК36-1344/26.07.2023г на Ректора на МУ-София на открито заседание на научно жури в състав:

Председател:

Доц. Д-р Ася Захаријева Кръстева-Панова, дмн. – вътрешен член, МУ – София и рецензент

Членове:

1. Доц. д-р Георги Николов, д.м. – външен член, МУ – София и рецензент
2. Доц. д-р Мая Ляпина, дмн – вътрешен член, МУ –София
3. Проф. Георги Томов, д.м. – външен член, МУ – Пловдив
4. Доц. д-р Миглена Балчева-Енева, д.м. – външен член, МУ – Варна

Материалите по защитата са на разположение в библиотеката на Факултета по дентална медицина, МУ –София, бул. „Св. Георги Софийски“ №1 и са публикувани на интернет страницата на МУ – София.

Изказвам дълбока благодарност и признателност на Доц. д-р Мария Денчева, дмн. – моят научен ръководител, за доверието, подкрепата и всеотдайната помощ при подготовката и реализирането на дисертационния труд!

Благодаря на Доц. д-р Ася Кръстева, дмн. и Доц. д-р Мая Ляпина, дмн. за тяхната всеотдайна и безрезервна помощ по време на практическата работа и оформянето на настоящия труд – критичните насоки и приятелско отношение са безценни!

Безкрайна признателност, уважение и благодарност изказвам към Проф. д.ик.н. Г. Петков, директор ИНИОД, УниБИТ за помощта, търпението и доброто отношение към мен!

Благодаря на Доц. д-р Георги Николов, дм. за търпението, насоките и помощта, която винаги получавах от него по време на съвместната ни работа!

Благодаря на колегите от катедра „Образна и орална диагностика“, ФДМ, МУ – София за препоръките при изпълнение на задачите във връзка с научната разработка и доброто отношение!

СЪДЪРЖАНИЕ

- I. Използвани съкращения**
- II. Въведение**
- III. Цел и Задачи**
- IV. Материал и Методи**
- V. Резултати и обсъждане**
- VI. Изводи**
- VII. Приложение в алергологичната практика**
- VIII. Приноси на дисертационния труд**
- IX. Публикации и научни съобщения във връзка с дисертационния труд**

I. Използвани съкращения

АХ - антихистамини

ГДП - горни дихателни пътища

ГЕРБ - Гастроезофагеална рефлуксна болест

ГКС - глюкокортикостероиди

КАП - Кожни Алергологични Проби

НЦЗПБ - Национален Център по Заразни и Паразитни Болести

ОАС - Орален Алергичен Синдром

СПИН - Синдром на Придобита Имунна Недостатъчност

ССС – Сърдечно-съдова система

ХрС – Храносмилателна система

HIV - Human Immunodeficiency Virus

IBS - Inflammatory Bowel Syndrome

IgE - Имуноглобулин Е

IgG4 – Имуноглобулин Г4

PVC - поливинилхлорид

RAST – радиоалергосорбентен тест

SCAP – стволони клетки от апикална зъбна папила

SIT - специфична имунотерапия

SSLIT - сублингвална имунотерапия

II. Въведение

Алергията към латекс се счита за изключително наболял проблем в общата и в денталната медицина и е с голяма значимост във връзка със заболявания като СПИН/ХИВ, вирусните хепатити, Covid-19. През годините, от диагностицирането ѝ за първи път до наши дни, учени са провеждали многократни изследвания сред пациентите и дентално-медицинския персонал, които са с противоречиви резултати. Все още в медицинските среди се спори относно това дали има или няма латексова алергия. Липсват категорични данни относно честотата на проявление на тази алергия. В тази връзка интерес представляват механизмите, по които протичат алергичните реакции, а също и различните клинични проявления и най-честите оплаквания от професионално ангажираните медицински лица при използването на лични предпазни средства, съдържащи латексови протеини и различни добавки. Съществуват редица нерешени проблеми, свързани с прецизирането на методите за диагностика на един от професионалните алергени с огромно значение за дентално-медицинския персонал, а именно латексовият протеин.

Липсата на стандартизиран и сертифициран български препарат за изследване на латексова алергия чрез прик-тест в ежедневната алергологична практика насочиха интереса ни към проучване в детайли на досега известната информация. Осъществихме за първи път в България проучване относно ефекта на новосъздадени латексови алергенни продукти върху клетъчни култури.

III. Цел и Задачи

Целта на настоящия дисертационен труд е да се изследва наличието на сенсibiliзация към латексови продукти и техни добавки сред професионално експонирани лица (лекари, лекари по дентална медицина, студенти по дентална медицина) и пациенти чрез няколко диагностични метода.

Работната хипотеза е да се изследва възможната положителна корелация между прилаганите методи за диагностика.

За изпълнение на така формулираната цел са поставени следните **задачи**:

1. Да се разработи стандартизиран алергенен екстракт на латексов протеин за прик-тест съвместно с Лаборатория по Алергия към НЦЗПБ, гр. София.

2. Да се изследва влиянието на разработените латексови алергени върху стволови клетки от апикална зъбна папила SCAP чрез оценка на пролиферативния, цитотоксичния, апоптотичния ефект и на клетъчната метаболитна активност.

3. Да се изследва наличието на сенсibiliзация спрямо латексови протеини, водещи до развитието на бърз тип алергична реакция чрез:

3.1. Разработване на анкета, целяща да установи наличието на симптоми при контакт с латексови продукти сред професионално експонирани лица;

3.2. Изследване на специфични IgE-антитела към латекс чрез серологично изследване (in vitro диагностичен тест) - флуорометричен имуноензимен метод (FEIA), наречен ImmunoCAP Phadia, основаващ се на принципите на метода ELISA (“сандвич“ имуноензимен метод) за установяване количеството на специфични IgE-антитела към латекс.

3.3. Изследване на сенсibiliзация спрямо латексови протеини чрез прик-тест;

3.4. Изследване на наличието на сенсibiliзация спрямо определени хранителни алергени и полени като изява на кръстосана реактивност и наличието на „latex-fruit syndrome”.

4. Да се изследва наличието на сенсibiliзация към определени компоненти, използвани при преработката на суровия каучук за получаването на различни латексови продукти чрез епикутанен тест (patch-test).

IV. Материал и Методи

1. Материал и Методи по задача 1:

1.1. Подбор на латексови продукти и консумативи за екстракция на латексов белтък и разработване на два вида латексови алергени по методиката на НЦЗПБ – такива, които най-често се срещат в денталната практика. Като изходна суровина са използвани латексови ръкавици с пудра, платна за кофердам, полирни гумички, ортодонтски ластици и др., използвани в ежедневноната работа на студентите и лекарите по дентална медицина във ФДМ-София.

В процеса на работа бяха създадени за първи път в България два комбинирани латексови алергенни екстракта за прик-тест, в съвместно сътрудничество с колегите от Лаборатория по Алергия към НЦЗПБ, гр. София. Единият комбиниран латексов екстракт е получен по метода на изпаряване и концентриране на разтвора (Латекс С), а другият - чрез процес на лиофилизация (Латекс L).

1.2. Методика на изготвяне на алергени за диагностика от латекс:

Латекс С е изготвен след 10 % екстракция на изходната суровина (латексови ръкавици, платна за кофердам, ортодонтски гумени ластици, полирни гумички, стопери от карпули, съдържащи локални анестетици) със солеви разтвор на Соса. Така полученият екстракт е подложен на 4-кратна обемна концентрация.

В хода на стандартизацията се проведеха предвидените от стандартните процедури при изготвяне на алергенни препарати за диагностика тестове за: рН на екстракта; съдържание на фенол; тестове за стерилност и липса на абнормна токсичност.

Латекс L е изготвен след 10 % екстракция на суровината със солеви разтвор на Соса. Така полученият екстракт е подложен на лиофилизация и 4-кратна концентрация чрез разтваряне на сухия остатък със стерилен разреждащ разтвор.

Използваният разтворител представлява 50% глицеринов разтвор на Соса.

Успоредно се прилагат отрицателна и положителна контрола (**Хистамин 1 mg/ ml**). Получените реакции се отчитат на 20 мин. според размера на папулата и еритемата.

На базата на извършените тестове се определи разреждането на основните разтвори (ОР) на алергенните екстракти и се изготвиха диагностични алергенни препарати от латекс с концентрация **1000 BU/ml**, които впоследствие се използваха в проучването.

2. Материал и Методи по задача 2:

- Използвана е клетъчна култура (мезенхимни стволови клетки) от апикална зъбна папила SCAP.
- Използвани са изготвените 2 експериментални алергенни препарата за диагностика от латекс – Латекс С и Латекс L.
- Приложен е методът флоуцитометрия със съответните търговски китове:
 - MTT Cell Proliferation Kit
 - Annexin V Apoptosis Kit [FITC]
 - IDO DuoSet Kit
 - Total HO-1/HMOX1 DuoSet IC

Изследването върху стволовите клетки е проведено съвместно с Лабораторията към Катедра биохимия на МФ-София.

Оценката на показателите за пролиферация, цитотоксичност, апоптоза, и клетъчна метаболитна активност са направени в рамките на 48 часа, така че да бъде обхванат периода на имунопатологична реакция от бърз тип I и забавен тип IV по Coombs & Gell.

- **Клетъчна култура стволови клетки от апикална зъбна папила SCAP:**

SCAP бяха изолирани от прясно екстрахирани зъби с незавършено кореново развитие чрез ензимен метод на смилане в разтвор от 3 mg/ml колагеназа тип I и 4 mg/ml диспаза. Клетките се култивират с Dulbecco's Modified Eagle's Medium, допълнена с 10% фетален говежди серум, пеницилин (100 U/ml) и стрептомицин (100 mg/ml) при 37°C в 5% CO₂. Когато клетките достигнат 80% от сливането, те се субкултивират, като се използва 0,05% трипсин. За целите на това изследване са използвани клетки от пасаж 2 до 4. След това културната среда беше заменена с разтвора на латексовите алергени. SCAPs бяха инкубирани в продължение на 48 часа. Клетки, култивирани без хаптени разтвори в същото състояние, се определиха за контролна група.

- За количествено определяне на пролиферация и цитотоксичност на клетките използвахме тестов комплект МТТ на Novus. МТТ методът се основава на превръщането на водоразтворимо МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиев бромид) съединение в неразтворим продукт формазан. Виталните клетки с активен метаболизъм превръщат МТТ във формазан, но мъртвите клетки губят тази способност. По този начин наблюдаването на цветна реакция служи като полезен и удобен маркер за отдиференцирането само на виталните клетки. Измерената абсорбция (590 nm) е пропорционална на броя на витални клетки. Анализът е извършен съгласно инструкциите на производителя.

- Анализ на клетъчна апоптоза:

Апоптозата в SCAPs беше изследвана с помощта на търговски кит Annexin V на Novus. Изследването се състои в следното: виталните клетки са едновременно Annexin V-FITC и PI (пропидиев йодид) отрицателни; клетките, които се намират в състояние на ранна апоптоза са Annexin V-FITC положителни и PI отрицателни, а клетките, които се намират в състояние на късна апоптоза или мъртви, са едновременно FITC Annexin V и PI положителни. Анализът е извършен съгласно инструкциите на производителя, а флуоцитометричният анализ е проведен от Navios EX Flow Cytometer – Beckman Coulter.

- Клетъчна метаболитна активност:

Извърши се количествена оценка на активността на ензимите Ido и HMOX-1 чрез кит за човешки индолеамин 2,3-диоксигеназа/IDO DuoSet на Novus (DY6030-05) и Human Total HO-1/HMOX1 DuoSet IC ELISA комплект (DYC3776-2). Анализите се

извършват чрез техниката за количествен сандвич ензим имуноанализ и са извършени съгласно указанията на производителя.

- **Статистически анализ на данни:**

Данните бяха анализирани с t-тест и тест на Уилкоксън като се използва статистически софтуер SPSS – 17.

3. Материал и Методи по задачи 3 и 4:

➤ *За реализирането на поставената цел е получена Експертна етична оценка на методологията и документацията по научно изследване на тема „Алергия към латекс в денталната практика“ с Изх.№1521/15.05.2020г.*

➤ Изследването е извършено върху 100 души (над 18г.) – лекари, лекари по дентална медицина и студенти по дентална медицина, помощен персонал и пациенти, които бяха разделени в две групи:

А. Критерии за включване на лицата:

- за първа (I) група: професионално експонирани лица, свързани с дентално-медицинската практика (лекари, лекари по дентална медицина, медицински сестри, студенти по дентална медицина), контактуващи в ежедневието си пряко или чрез средата с различни дентални материали, съдържащи латексови протеини или добавки към латексови продукти, с анамнестични данни за хранителна алергия към животински и/или растителни протеини;

- за втора (II) група: лица, които са професионално експонирани или такива, които в ежедневието си използват различни латексови продукти (ръкавици, презервативи, кофердам и др.), с анамнестични данни за кожни проблеми или нежелани реакции от горни дихателни пътища и очи (алергичен риносинусит и конюнктивит, задух, кашлица) при контакт с латексови изделия, но без анамнестични данни за хранителна алергия към животински и/или растителни протеини.

Б. Критерии за изключване на лицата:

Провеждане в момента на изследването на специфична и неспецифична десенсибилизация или моментно/продължително лечение с противоалергични медикаменти, бременни, лица с декомпенсиран диабет, тиреотоксикоза, ХИВ/СПИН, вирусни хепатити В и С, пациенти на хемодиализа поради остра/хронична бъбречна недостатъчност; пациенти, провеждащи химио-/лъчетерапия поради неопластични образувания; пациенти с тежки психични разстройства, пациенти с аутоимунни заболявания, лица под 18 години.

Задължително условие за тестваните лица е да не са приемали противоалергични медикаменти (антихистамини, кортикостероиди) 7 дни преди провеждането на изследванията.

➤ Бяха използвани следните изследователски методи:

✓ **Социологически** (интервю, пряка анкета, изследване на медицинска документация) за установяване на общоалергичния фон на участниците.

✓ **Серологично** определяне на специфични IgE-антитела към латексов протеин чрез флуорометричен имуноензимен метод (Pharmacia CAP System IgG/ IgG4 FEIA, апарат ImmunoCAP UniCAP 100, Phadia), основаващ се на принципите на метода ELISA („сандвич“ имуноензимен метод).

➤ На 100-те пациенти беше взета 3 мл. венозна кръв и беше извършен тест за определяне на специфични IgE-антитела.

✓ **Прик-тестове** с латексови протеини, хранителни алергени и съответните положителна и отрицателна контроли.

✓

✓ **Епикутанни** алергологични тестове с подобрени, стандартизирани хапчени на „Chemotechnique Diagnostics“, Vellinge, Sweden.

✓ **Статистически** методи – извършен е логически оглед и контрол на материалите, предоставени от изследваните лица. Негодните материали са отстранени, а там където е възможно, липсващите данни са заменени със средните стойности на

извадка. За обработката на данните е използван статистически пакет IBM SPSS Statistics 26.

Получени са едномерните разпределения на изследваните променливи (средни стойности и стандартни отклонения). В съответствие с хипотезите са анализирани двумерни таблици. Приложен е и дисперсионен анализ за установяване на различия между възрастовите групи и групите с различен професионален стаж.

Табл.1. Етапи на работа при извършване на серологичното изследване на специфични IgE-антитела към латекс

	<p>Фиг.1. Апарат ImmunoCAP UniCAP 100, Phadia.</p>
	<p>Фиг.2а),b) Разтвори, използвани за стандартизиране, промиване, фиксиране на реакциите, конюгат и набор от „капчета“- използвани при работа с апарат ImmunoCAP UniCAP 100, Phadia.</p>
	<p>Фиг.3. Проби със серум от пациенти, подготвени за изследване чрез ImmunoCAP 100, Phadia.</p>
	<p>Фиг.4. Серумни проби, заредени в „гнездата“ на апарат ImmunoCAP UniCAP 100, Phadia.</p>

	<p>Фиг.5. Апарат ImmunoCAP UniCAP 100, Phadia, зареден и подготвен за стартиране на цикъла.</p>
	<p>Фиг.6. Разпределяне на пробите в съответните „гнезда“ на апарата, преди стартиране на цикъла</p>

Прик-тест беше извършен със създадените и стандартизирани алергенни екстракти Латекс С и Латекс L, както и със съответните положителна контрола (Хистамин 1мг/мл.) и отрицателна контрола (50% глицеринов разтвор на Соса), приготвени от Лаборатория по Алергия към НЦЗПБ, гр. София.

Допълнително беше използван и алергенен екстракт от латексов протеин „ALYOSTAL” 100 IR/ml на фирма STALLERGENES S.A., France.

Наличието на сенсibiliзация спрямо определени хранителни алергени и полени в търсенето на кръстосана реактивност и съществуването на „latex-fruit syndrome” беше проучено чрез извършването на прик-тест със следните алергенни препарати от ЛАБОРАТОРИЯ „АЛЕРГЕННИ ПРЕПАРАТИ“, БУЛ БИО-НЦЗПБ ЕООД:

- В 10. Домати
- В 12. Праскови
- В 26. Киви
- Б 26. *Ambrosia artwmsisifolia* - Амброзия
- Б 29. *Artemisia sp.* – Пелин

При извършване на епикутанното тестване от серията Rubber Additives Series R-1000 бяха използвани три хаптена:

- **4,4'-Diaminodiphenylmethane (MDA) 0.5 pet (D-001)**
- **N-(Cyclohexylthio)phthalimide 1.0 pet (C-034)**
- **N, N-Di-2-naphtyl-4-phenylenediamine 1 pet (DBNPD) (D-017),**

както и комбинирани препарати:

- **Mx-01 S-3, ICB-10, 1.0 pet Thiuram mix IS-3, SH-6:**

0.25 -Dipentamethylenethiuram disulfide (D-019)

0.25 -Tetraethylthiuram disulfide (TETD) (T-002)

0.25 -Tetramethylthiuram disulfide (TMTD) (T-005)

0.25 -Tetramethylthiuram monosulfide (TMTM) (T-006)

- **Mx-04 V-26 0.6 pet Black rubber mix:**

0.25 -N-Cyclohexyl-N-phenyl-4-phenylene diamine (C-024)

0.25 -N,N'-Diphenyl-p-phenylenediamine (D-024)

0.1 -N-Isopropyl-N-phenyl-4-phenylene-diamine (IPPD) (I-004)

- **Mx-05A S-13, IS-9 2.0 pet Mercapto mix:**

0.5 -N-Cyclohexyl-2-benzothiazyl- sulfenamide (C-023)

0.5 -Dibenzothiazyl disulfide (MBTS) (D- 003)

0.5 - 2-Mercaptobenzothiazole (MBT) (M-003)

0.5 -2-(4-Morpholinylmercapto)benzo- thiazol (MOR) (M-016)

- **Mx-06 ICB-8, IS-21 3.0 pet Carba mix:**

1.0 -1,3-Diphenylguanidine 1.0 D-022

1.0 -ZINC DIBUTYLDITHIOCARBAMATE (ZBC) Z-002

1.0-Zinc diethyldithiocarbamate (ZDC) (Z-003)

- **Mx-27 1.5 pet Thiourea mix:**

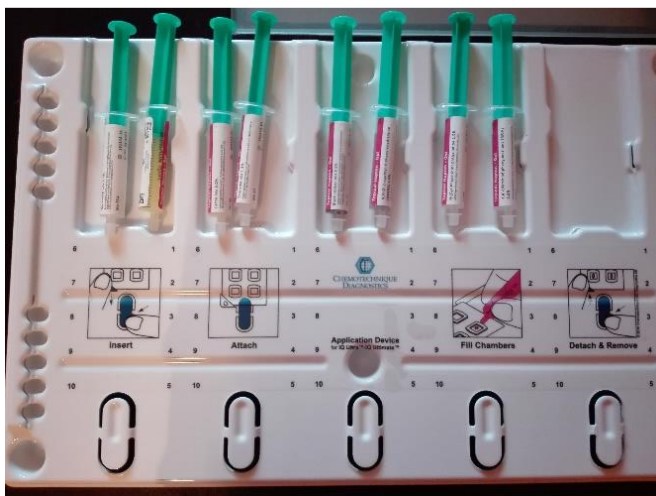
0.5 -N,N'-Dibutylthiourea (D-038)

0.5 -N,N'-Diethylthiourea (D-039)

0.5-N,N'-Diphenylthiourea (D-025).

Използвахме и хаптен, изработен ex-temprore, съдържащ парченца от латексова ръкавица с пудра, смесени с бял вазелин.

На нашите пробанти беше отчетена и късна реакция – на 72-я час от поставянето на пластира с хаптените, като именно тези резултати бяха приемани за достоверни, за да се избегне отчитането на фалшиво-положителни такива при ранното отчитане на 48-я час.



Фиг.7. Консумативи за подготвяне на пластири за епикутанно тестване



Фиг.8.

Използвани консумативи за извършването на прик- и епикутанен тест



Фиг.9. Етап

от подготвянето на пластирите за епикутанно тестване



Фиг.10. Извършен прик-тест на воларната страна на предмишницата

V. Резултати и обсъждане:

Резултати по задача 1 – За изпълнение на задача 1 бяха създадени два комбинирани латексови алергенни екстракта за прик-тест - Латекс С и Латекс L.

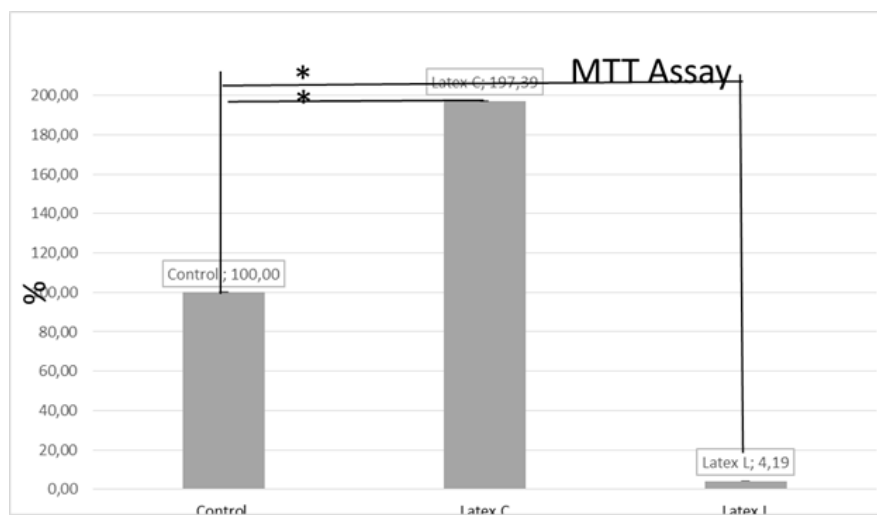


Фиг.11. Новосинтезираните препарати Латекс С и Латекс L

**Латекс С е Латекс I; *Латекс L е Латекс II*

Резултати по задача 2:

Резултатите относно пролиферативния и цитотоксичен ефект на изследваните два латексови екстракта, приложени върху SCAPs (MTT тест), са представени по-долу – Диаграма 1:

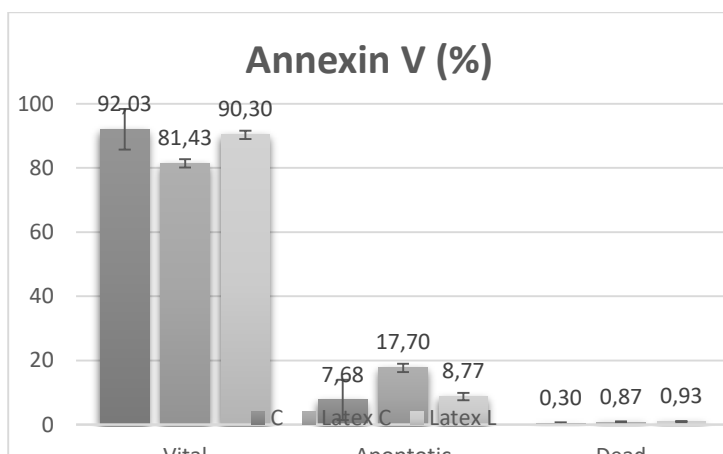


Диаграма 1. Витални клетки (%) в теста за пролиферация и цитотоксичност на SCAPs (MTT тест), третиран с Latex C (кондензационен) и Latex L (лиофилизационен), отнесени спрямо контролата (C)

Резултатите показват, че клетките, при които е приложен Latex C имат повишен пролиферативен потенциал (% витални клетки), което се изразява в ускорен клетъчен цикъл и делене. При Latex L пролиферативният капацитет е силно снижен, т.к. повечето клетки се намират в състояние на клетъчен арест и не се делят.

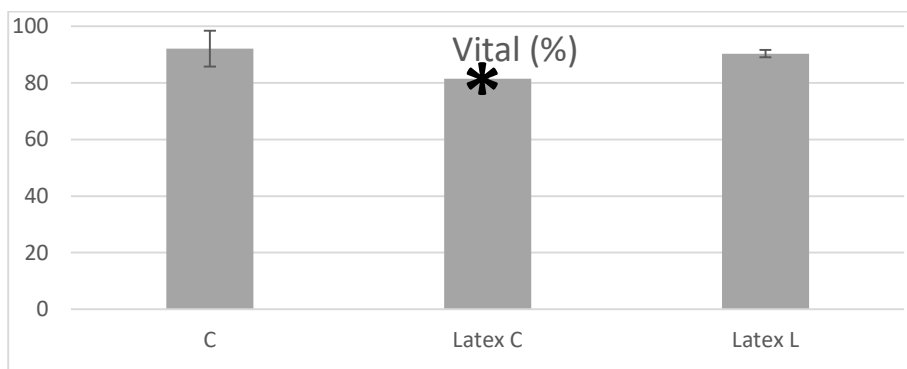
Установява се достоверно по-висок пролиферативен капацитет на Latex C спрямо контролата ($p=0.02$); също така има и статистически значимо снижаване на пролиферативния ефект на Latex L спрямо контролата.

Резултатите относно апоптотичния ефект на двата латексови екстракта, приложени върху SCAPs и виталитета на стволите клетки са показани на фигурата по-долу – Диаграма 2:



Диаграма 2. Витални, апоптотични и мъртви клетки от SCAPs, третирани с двата вида латекс – Latex C (кондензационен) и Latex L (лиофилизационен) и съотнасянето им спрямо при контролата (C).

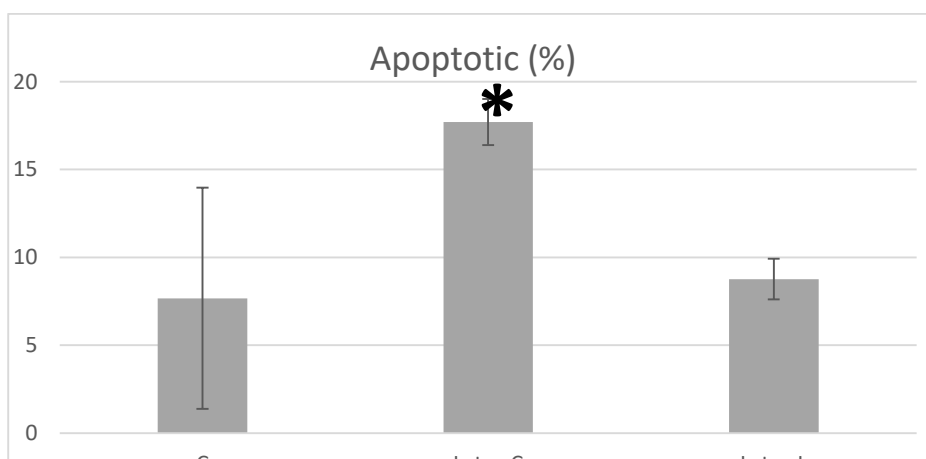
Резултатите относно % витални клетки, получен при обработка на SCAPs с изследваните латексови екстракта (тест с Annexin V) са представени по-долу – Диаграма 3:



Диаграма 3. Витални клетки (% разпределение) след третиране на SCAPs с – Latex C и Latex L, съотнесени към контролата (C)

Установява се достоверно намаляване на % витални клетки, третирани с Latex C, в сравнение с тези от контролата (C) ($p=0.02$).

На Диаграма 4 е представен резултатът от оценката на апоптозата при извършване на теста с Annexin V:



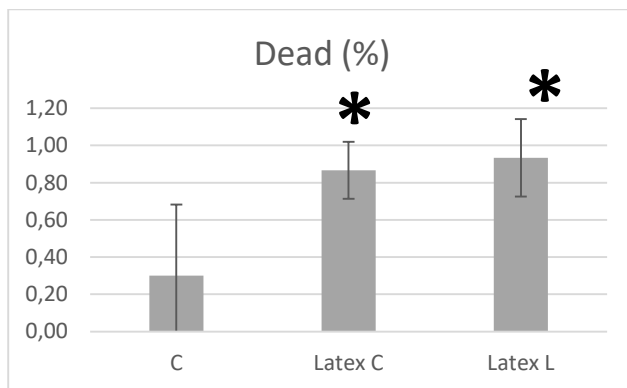
Диаграма 4. Разпределение на % апоптотични клетки при третиране на SCAPs с двата вида латекс – Latex C (кондензационен) и Latex L (лиофилизационен), съотнесени към контролата (C)

Установява се статистически достоверно по-висок % апоптотични клетки ($p=0.02$) спрямо контролата (C) – тези, които са третирани с Latex C.

Резултатите, получени от изследването с Annexin V показват, че клетките върху които е приложен Латекс C се намират в състояние на апоптоза. Клетките са в хиперфункция, което се изразява чрез повишена пролиферация. За разлика от тях,

клетките върху които е приложен Latex L отмират постепенно, без да имат потенциала да се делят отново.

На Диаграма 5 е представен резултатът от изследването за директна клетъчна смърт на двата латексови екстракта спрямо стволите клетки при извършване на теста с Annexin V:



Диаграма 5. Разпределение на % мъртвите клетки при третиране на SCAPs с двата вида латекс – Latex C (кондензационен) и Latex L (лиофилизационен), съотнесени към контролата (C)

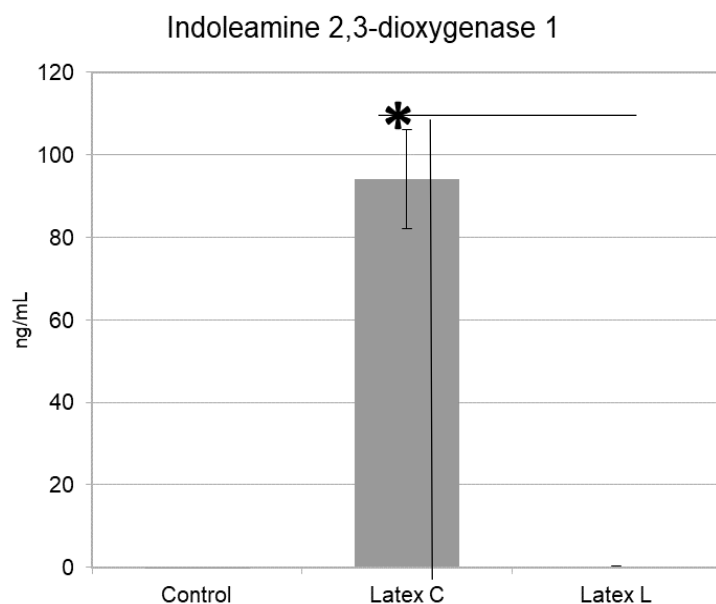
Резултатите от диаграмата показват, че има съвсем малка разлика между Latex C и Latex L спрямо броя на мъртвите клетки, които индуцират, но все пак Latex L е достоверно по-цитотоксичен ($p=0.02$) и предизвиква директна клетъчна смърт на по-голям брой клетки в сравнение с Latex C.

Третирането на клетките с Латекс L предизвиква състояние на клетъчен арест (голям процент от клетките умират без да се извършва клетъчен растеж), клетките не се делят и не се наблюдава апоптоза. **Latex L проявява силно изразена цитотоксичност.**

Данните сочат, че при третирането на SCAPs с Latex C и Латекс L, и при двата вида латексови екстракта се наблюдава статистически по-висок % на мъртвите клетки в сравнение с контролите, като той е по-голям при клетките, третирани с Латекс L.

Считаме, че се наблюдава връзка и съвпадение на резултатите, получени при двата вида изследвания – с Annexin V и МТТ.

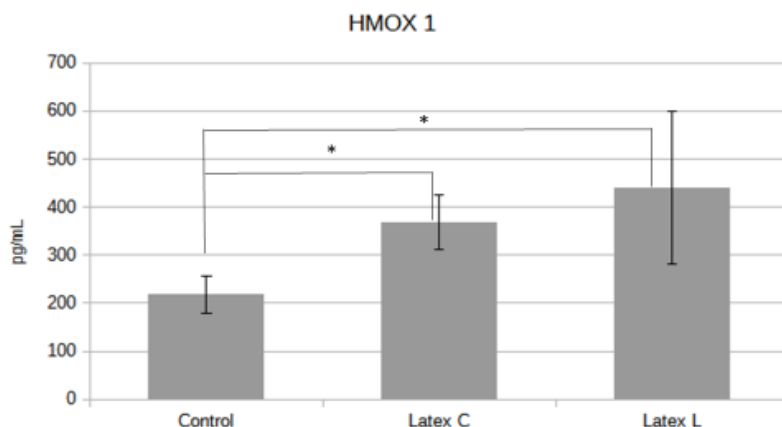
Данните от обработването на SCAPs с двата латексови продукта и освобождаването на IDO от културите са представени по-долу – Диаграма 6:



Диаграма 6. Освобождаване на IDO от SCAPs при третиране с Latex C и Latex L и съотношение спрямо към контролата (C)

IDO е ензим, който се увеличава при оксидативен стрес. Резултатите от графиката показват, че само при **Latex C** се установява статистическа значимост; само той стимулира клетките, върху които е приложен, да произвеждат IDO вътреклетъчно. Повишаването на IDO води до понижаване количеството на серотонина, съответно намалява и нивото на възпаление в клетката. Установява се статистически значима стойност на антиинфламаторния капацитет на **Latex C** спрямо контролата. Клетките обрботени с Latex L остават индиферентни по отношении е на синтеза на този ензим.

Данните от действието на двата латексови екстракта върху SCAPs и освобождаването на HMOX-1 от клетъчните култури е представено по-долу – Диаграма 7:



Диаграма 7. Освобождение на HMOX-1 от SCAPs при третиране с Latex C и Latex L и съотношение спрямо към контролата (C)

Резултатите от нашето проучване сочат, че и при двата вида латексов алерген се установява достоверно повишаване на синтеза на HMOX-1 спрямо контролата. В по-голяма степен това увеличение е при **Latex L** ($p=0.05$).

Стимулацията на клетките с HMOX е силна, те изпадат в състояние на оксидативен стрес и впоследствие умират. Между Latex C и Latex L има малка разлика, но все пак **Latex L** е по-токсичен и убива клетките; при него няма апоптотични клетки, не се предизвиква деление, а има много мъртви клетки.

Обсъждане

Резултатите, получени от изследването с Annexin V показват, че виталните клетки, върху които е приложен Latex C са със статистически занижен брой, намират се в състояние на апоптоза (като мъртвите клетки са статистически завишени в сравнение с контролата), но компенсират с ускорен клетъчен цикъл и пролиферация, видна от анализа на МТТ-теста.

Клетките, върху които е приложен Latex L, отмират постепенно в по-висок процент отколкото контролите и клетките, обработени с Latex C, като не се установява потенциал за пролиферация. Следователно алергенният препарат Latex L се отличава с по-голяма цитотоксичност и предизвикване на клетъчен арест в сравнение с Latex C.

По отношение на клетъчния метаболизъм, измерен чрез двата ензима IDO и HMOX-1, синтезирани от SCAPs, ние установихме следното:

Синтезът на IDO се увеличава при оксидативен стрес, следователно за такъв можем да говорим при клетките, обработени с Latex C и то със статистически значим превес.

HMOX-1 е най-често срещаният доказан генетичен маркер, индуциран от кожни сенсibiliзатори.

В нашите изследвания установихме, че **и двата вида алергенни екстракти водят до статистически значим синтез на този показател, т.е. те водят до сенсibiliзация.**

Обобщение: На базата на направените тестове можем да заключим, че **Latex L е по-цитотоксичен, предизвиква директна програмирана клетъчна смърт като SCAPs остават без пролиферативен потенциал.**

Извод: Оценката на пролиферативния, цитотоксичния, апоптотичен ефект и метаболитната активност на два новосинтезирани латексови алергенни продукти за диагностика показва, че единият от тях е със **силно изразено цитотоксично действие, снижен апоптогенен потенциал и пролиферативна активност, но повишена проинфламаторна активност (Латекс L)**, измерени в рамките на 48 часа върху мезенхимни клетки от апикална зъбна папила.

Латекс C е по-подходящият алергенен препарат за внедряване в практиката.

Нашите изследвания показват, че се очаква много по-бързо и по-токсично действие на Latex L в сравнение с Latex C и на това се дължат резултатите, наблюдавани на 48-я час.

Позволяваме си да направим заключението, че различните методи на синтезиране на двата вида латексови алергенни екстракта за прик-тест са причина за промяна в кристалната решетка на Латекс L – по време на лиофилизацията, което води до силно изявена цитотоксичност спрямо стволите клетки и силно снижен апоптогенен потенциал. Това е основа за въздържане от приложението на Латекс L за масово изследване чрез прик-тест, т.к. би довело до евентуални фалшиво положителни кожни реакции. Бихме дали препоръки да се насочат усилията към бъдещи допълнителни изследвания на Латекс C и неговото допълнително стандартизиране и сертифициране.

Резултати по задача 3.1 – Приложение 1, Приложение 2:

От изследваните 100 лица, разпределението по пол е следното: **мъже – 33, жени – 67.**



Диаграма 8. Разпределение по пол на изследваните лица

Събраните анамнестични показват, че минималната възраст на участниците е **19** години, максималната – **68**, а средната – **31.28** години.



Диаграма 9. Разпределение по професия на изследваните лица

Разпределението по професия показва, че най-голям брой от изследваните лица са студенти по дентална медицина **62% (n=62)**, следвани от лекари по дентална медицина (ЛДМ) **13% (n=13)**, както и помощен персонал и пациенти, но използващи латексови продукти в ежедневието/бита (също **13%, n=13**).

Повече от половината респонденти - **61% (n=61)** са професионално експонирани, но **без** анамнестични данни за хранителна алергия към животински и/или растителни протеини – спадат към група II:



Диаграма 10. Разпределение по групи на изследваните лица

По-долу представяме схематично разпределението на част от анамнестичните данни на изследваните 100 лица за наличието/липсата на заболявания по системи в организма:



Диаграма 11. Разпределение на анамнестичните данни за наличие/липса на алергия към медикаменти и анестетици сред изследваните лица

Данните от диаграмата сочат, че само 18% (**n=18**) от нашите респонденти съобщават за мадеикаментозна алергия (към *сулфонамиди, аспирин, аналгин, пеницилин, бисептол, симетрулан, левокса, парацетамол, ацефеин, тетрациклин, доксациклин, биопарокс, геломиртол, тримезол, мепивакаин, дроперидол, олинт, флуанисол, диазепам*).



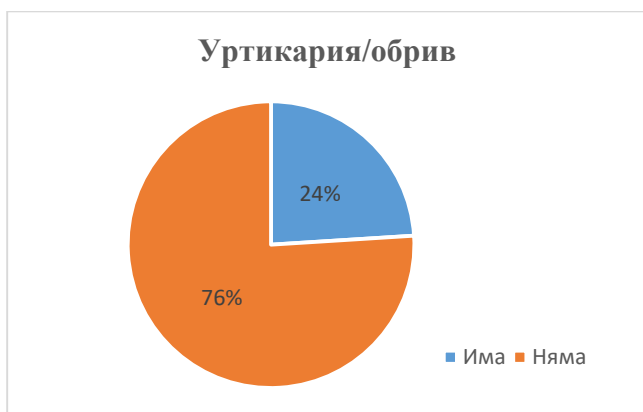
Диаграма 12. Разпределение на анамнестичните данни за наличие/липса на хранителна алергия сред изследваните лица

Диаграмата показва, че близо $\frac{1}{5}$ - 21% (**n=21**) от нашите пациенти имат някаква форма на хранителна алергия (*хр.непоносимост към морски дарове и гъби, алергия към орехи, маслини, суров лешник, яйца, месо, лактозна непоносимост, мляко, шоколад, мъхести плодове, цитруси, мед, пчелен клей, пчелни продукти, соя, ябълки*).



Диаграма 13. Разпределение на анамнестичните данни за наличие/липса на алергия към полени и бронхиална астма сред изследваните лица

От диаграмата се вижда, че 23% (**n=23**) от пациентите съобщават за наличие на бронхиална астма или полиноза (*най-често съобщават за сenna хрема, извяваща се с кихане, кашляне, сърбеж в носа, ринорея и сълзотечение*).



Диаграма 14. Разпределение на анамнестичните данни за наличие/липса на уртикария/обриви сред изследваните лица

Данните от диаграмата показват, че 24% (**n=24**) от респондентите се оплакват от някаква форма на уртикария или обриви (*слънчева уртикария, студова уртикария, от химически продукти, от пластмаса*).



Диаграма 15. Разпределение на анамнестичните данни за наличие/липса на алергия към домашен прах сред изследваните лица

От диаграмата е видно, че само 18% (**n=18**) от лицата съобщават за алергия към домашен прах.

По време на провеждане на анкетното проучване на общоалергичния фон и субективните оплаквания на нашите пациенти установихме, че 14% (**n=14**) съобщават за алергия към бижута, т.е. неблагородни метални сплави, а това има връзка с денталното протезиране; 13% (**n=13**) от изследваните пациенти съобщават за наличие на някакви кожни болести (*атопичен дерматит, невродермит, екзема, периорален дерматит, себореен дерматит, контактен алергичен дерматит, атопичен дерматит*); 12% (**n=12**) съобщават за наличие на някакво заболяване от страна на ССС (*артериална хипертония, тахикардия, таласемия минор бета, прекаран инфаркт, синдром на Рейно*); 10% (**n=10**) потвърждават за наличието на някакво заболяване от страна на ХрС или прекарани в миналото такова (*диспепсия, IBS syndrome, язва на стомаха, хроничен гастрит, атрофичен гастрит, ГЕРБ*), също 10% (**n=10**) от пациентите съобщават за наличието ендокринни заболявания (*недостиг на вит.В12, тиреоидит на Хашимото, диабет, прекаран хепатит Б, хипотиреозидизъм, пролактинемия*).

Само 9% (**n=9**) от респондентите съобщават за алергия към дентални материали (*гипс, талк, както и наличие на алергичен контактен дерматит от пластмаса*).

Установихме, че 9% (**n=9**) от изследваните лица дават анамнестични данни за алергия към домашни любимци (котки), 9% (**n=9**) имат алергия към дезинфектанти. Също така 9% (**n=9**) от изследваните лица съобщават за алергия към пчели и оси. Само 8% (**n=8**) от лицата споделят за заболявания на опорно-двигателната система (*остеохондроза, дископатия, артрит*) или за наличие на отоци по тялото. Може би повечето са с неясна

етиология, като само 1 пациент съобщи за появата на такива след работа с дентална пластмаса. Данните сочат, че 6% (n=6) от анкетираните споделят за алергия към козметика, едва 5% (n=5) от нашите пациенти са алергични към мухъл и плесени, а само 4% (n=4) съобщават за наличието на някакво белодробно заболяване (*десностранна фиброза, интерстициална пневмония*). Едва 2% (n=2) от респондентите дават анамнестични данни за наличие на бъбречни заболявания (*кисти на бъбрека, подковообразен бъбрек*).



Диаграма 16. Разпределение на анамнестичните данни относно провеждано ли е лечение с антихистамини (АХ), глюкокортикостероиди (ГКС) поради алергично състояние/заболяване сред изследваните лица

Почти половината от изследваните пациенти – 46% (n=46) съобщават, че са използвали различни форми на противоалергични лекарства, основно антихистамини (АХ) и глюкокортикостероиди (ГКС) за лечение на техните придружаващи заболявания.

Представените по-долу данни обобщават информацията за използването на латексови изделия от изследваните лица и съответни оплаквания:



Диаграма 17. Процентно разпределение на носенето на ръкавици от изследваните лица

Видно е, че само 4 човека ($n=4$, 4%) са заявили, че **не** използват ръкавици в работата си.



Диаграма 18. Процентно разпределение на видовете използвани ръкавици от изследваните лица

Най-често използваните видове ръкавици са комбинацията от латексови и нитрилни **43%** ($n=43$), следвани по честота от латексовите **35%** ($n=35$). Само 14 души от изследваните са съобщили, че използват и трите вида ръкавици (латексови, нитрилни и винилови - **14%**, $n=14$). Четирима от изследваните **не използват изобщо** ръкавици **4%** ($n=4$).



Диаграма 19. Разпределение на продължителността на използване на ръкавици от изследваните лица – по години

Става ясно, че **61%** ($n=61$) от изследваните лица работят с ръкавици между **1-5 години**. Докато $\frac{1}{4}$ от лицата (**25%**) използват ръкавици **повече от 10 години**. Едва **10%** от изследваните лица използват ръкавици в работата си от **5 до 10 години**. Четирима от

изследваните (**n=4; 4%**) са съобщили, че изобщо не са използвали ръкавици в работата/ежедневието си.



Диаграма 20. Разпределение на продължителността на използване на ръкавици от изследваните лица – дни/седмично

Близо $\frac{2}{3}$ от лицата (**68%, n=68**) посочват, че работят с ръкавици повече от 3 дни седмично.



Диаграма 21. Разпределение на продължителността на използване на ръкавици от изследваните лица – часове/дневно

Отново около $\frac{2}{3}$ от лицата - **64% (n=64)** използват ръкавици по-малко от 5 часа/дневно.



Диаграма 22. Разпределение на различните кожни оплаквания при употреба на латексови ръкавици от изследваните лица

Приблизително половината от изследваните лица – **45% (n=45)** не съобщават за оплаквания при употреба на латексови ръкавици.

От тези, които съобщават за наличие на някакви оплаквания – **55% (n=55)**, водещи са комбинациите от **еритем, сърбеж и сухота (n=13)**, също така **еритем и сърбеж (n=13)**, както и **еритем и обрив (n=11)**.



Диаграма 23. Разпределение на различни оплаквания от страна на горните дихателни пътища (ГДП) при употреба на латексови ръкавици от изследваните лица

Само четирима от изследваните съобщават за наличие на субективни оплаквания от страна на ГДП при използване на латексови ръкавици, като **задух, кашлица и дразнене**

в гърлото е било наблюдавано при двама души (2%, n=2), кихане и ринорея – при един (1%, n=1) и сълзотечение също при един човек (1%, n=1).



Диаграма 24. Разпределение на различните оплаквания при употреба на латексови презервативи от изследваните лица

От диаграмата е видно, че само 10% от изследваните лица (n=10) са посочили наличие на някакви субективни оплаквания при използването на латексови презервативи, като водещи са дискомфорт, дразнене и парене при 4% от изследваните (n=4).



Диаграма 25. Разпределение на различните оплаквания при употреба на латексови изделия от изследваните лица

Само 7% (n=7) от лицата са отбелязали наличието на субективни оплаквания при използване на различни латексови изделия, като положителните резултати се разпределят почти по равно – 3 души споделят за кашлица, 3 са получавали задух и 1 се е оплакал от появата на еритем и сърбеж.

Бяха проучени взаимовръзките между пола на изследваните лица и техните предпочитания относно използването на ръкавици, както и техния вид (или комбинации между отделните видове ръкавици).

Данните сочат, че от попълнените анкетата 100 души, тези които използват ръкавици са **96%(n=96)**. От тях 33 души са мъже (32 използват ръкавици и само 1 - не) , а жените са 67 от изследваните лица (64 от тях използват и ръкавици и 3 – не).

Табл. 2. Двумерна таблица, показваща връзката между пола на изследваните лица и вида на предпочитаните от тях ръкавици/комбинации от тях

		Вид ръкавици							Общо
		Латексови	Нитрилни	+ Латексови Нитрилни	+ Латексови Винилови	+ Латексови Нитрилни	+ Липсват данни		
Пол	Мъже	Брой	11	0	15	2	4	1	33
		% в Пол	33.3%	0.0%	45.5%	6.1%	12.1%	3.0%	100.0%
		% във Вид ръкавици	31.4%	0.0%	34.9%	100.0%	28.6%	25.0%	33.0%
		% Общо	11.0%	0.0%	15.0%	2.0%	4.0%	1.0%	33.0%
	Жени	Брой	24	2	28	0	10	3	67
		% в Пол	35.8%	3.0%	41.8%	0.0%	14.9%	4.5%	100.0%
		% във Вид ръкавици	68.6%	100.0%	65.1%	0.0%	71.4%	75.0%	67.0%
		% от Общо	24.0%	2.0%	28.0%	0.0%	10.0%	3.0%	67.0%
Общо	Брой	35	2	43	2	14	4	100	
	% в Пол	35.0%	2.0%	43.0%	2.0%	14.0%	4.0%	100.0%	
	% във Вид ръкавици	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	
	% Общо	35.0%	2.0%	43.0%	2.0%	14.0%	4.0%	100.0%	

От таблицата се вижда, че 45.5% от мъжете (n=15) използват латексови и нитрилни ръкавици (34.9%), 33.3% от мъжете (n=11) използват само латексови ръкавици, а 12.1%

(n=4) от мъжете – и трите вида (латексови, нитрилни и винилови). Никой от попълнилите тази анкета мъже не е използвал само нитрилни ръкавици.

Относно жените прави впечатление, че 41.8% от тях (n=28) също предпочитат комбинацията от латексови и нитрилни ръкавици, 35.8% (n=24) използват само латексови ръкавици, а само 14.9% (n=10) работят с тройната комбинация. Нито една от жените не е посочила, че използва комбинация от латексови и винилови ръкавици.

Четири души не използват ръкавици в работата си – един мъж (n=1, 3%) и три жени (n=3, 4.5%).



Диаграма 26. Схематично представяне на нормирането на трудовия стаж на изследваните лица в три групи

Данните показват, че повече от половината от изследваните лица - **62% (n=62)** имат трудов стаж до 5 години в момента на провеждане на изследването, 30% (n=30) са работили повече от 10 години, а най-малък е дялът на респондентите с трудов стаж между 5-10г. – 8% (n=8).

Резултатите от събраните анамнестични данни показват още, че минималният трудов стаж е 0г., максималният – 46г., а изследваните лица са работили средно 9.82 години

**Табл. 3. Разпределение на видовете използвани ръкавици
в зависимост от трудовия стаж**

		Вид ръкавици							Общо
		Латексови	Нитрилни	Латексови + Нитрилни	Латексови + Винилни	Латексови + Нитрилни + Винилни	Липсващи данни		
Трудов стаж нормиран	1.00 (до 5 год.)	Брой	25	2	26	2	6	1	62
		% Трудов стаж нормиран	40.3	3.2	41.9	3.2	9.7	1.6	100.0
		% Вид ръкавици	71.4	100.0	60.5	100.0	42.9	25.0	62.0
		% Общо	25.0	2.0	26.0	2.0	6.0	1.0	62.0
	2.00 (между 5-10)	Брой	0	0	6	0	1	1	8
		% Трудов стаж нормиран	0.0	0.0	75.0	0.0	12.5	12.5	100.0
		% Вид ръкавици	0.0	0.0	14.0	0.0	7.1	25.0	8.0
		% Общо	0.0	0.0	6.0	0.0	1.0	1.0	8.0
	3.00 (над 10 год.)	Брой	10	0	11	0	7	2	30
		% Трудов стаж нормиран	33.3	0.0	36.7	0.0	23.3	6.7	100.0
		% Вид ръкавици	28.6	0.0	25.6	0.0	50.0	50.0	30.0
		% Общо	10.0	0.0	11.0	0.0	7.0	2.0	30.0
Общо	Брой	35	2	43	2	14	4	100	
	% Трудов стаж нормиран	35.0	2.0	43.0	2.0	14.0	4.0	100.0	
	% Вид ръкавици	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
	% Общо	35.0	2.0	43.0	2.0	14.0	4.0	100.0	

Става ясно, че в групата изследвани лица с трудов стаж до 5г. най-много са използвани латексови и нитрилни ръкавици - 41.9% (n=26), следвани от тези, които използват само латексови - 40.3% (n=25).

От респондентите с трудов стаж между 5-10г. най-много - 75% (n=6) използват също комбинация от нитрилни и латексови ръкавици.

В последната група с трудов стаж над 10г. комбинация от нитрилни и латексови ръкавици използват 36.7% (n=11), само латексови – 33.3% (n=10), а тройната комбинация

от латексови, нитрилни и винилови ръкавици се използва от 23.3% (n=7) от респондентите.

Табл. 6. Разпределение на кожните оплаквания при използване на латексови ръкавици в зависимост от трудовия стаж

			Кожна реакция										Общо
			Еритем, обрив	Липса на реакция	Сърбеж, сухота	СЕритем, Сърбеж,	Еритем, Сърбеж,	Сърбеж, Парене,	Сухота	Подуване на устни	Еритем, сърбеж	Еритем, сухота	
Трудов стаж – нормиран	1.00 (до 5г.)	Брой	7	29	3	6	3	2	2	0	9	1	62
		% в Трудов стаж нормиран	11.3	46.8	4.8	9.7	4.8	3.2	3.2	0.0	14.5	1.6	100.0
		% в Кожна реакция	63.6	64.4	60.0	46.2	100.0	50.0	66.7	0.0	69.2	50.0	62.0
		% в Общо	7.0	29.0	3.0	6.0	3.0	2.0	2.0	0.0	9.0	1.0	62.0
	2.0 (между 5-10г.)	Брой	1	4	0	1	0	1	0	0	1	0	8
		% в Трудов стаж нормиран	12.5	50.0	0.0%	12.5	0.0%	12.5	0.0	0.0%	12.5	0.0	100.0
		% в Кожна реакция	9.1	8.9	0.0	7.7	0.0	25.0	0.0	0.0	7.7	0.0	8.0
		% в Общо	1.0	4.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	8.0
	3.00 (над 10г.)	Брой	3	12	2	6	0	1	1	1	3	1	30
		% в Трудов стаж нормиран	10.0	40.0	6.7	20.0	0.0	3.3	3.3	3.3	10.0	3.3	100.0
		% в Кожна реакция	27.3	26.7	40.0	46.2	0.0	25.0	33.3	100.0	23.1	50.0	30.0
		% в Общо	3.0	12.0	2.0	6.0	0.0	1.0	1.0	1.0	3.0	1.0	30.0
Общо	Брой	11	45	5	13	3	4	3	1	13	2	100	
	% в Трудов стаж нормиран	11.0	45.0	5.0	13.0	3.0	4.0	3.0	1.0	13.0	2.0	100.0	
	% в Кожна реакция	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
	% в Общо	11.0	45.0	5.0	13.0	3.0	4.0	3.0	1.0	13.0	2.0	100.0%	

Данните показват, че в групата с трудов стаж до 5г. 46.8% (n=29) души нямат оплаквания. От останалите, които са съобщили за наличие на някакви субективни оплаквания, водещи са еритем и сърбеж - 14.5% (n=9), следвани от еритем с обрив - 11.3% (n=7), както и комбинацията от сърбеж и сухота - 9.7% (n=6).

В групата на респондентите с трудов стаж между 5-10г., половината от тях нямат оплаквания- 50% (n=4), а тези с налични кожни оплаквания се разпределят по следния начин:

- еритем и обрив – 12.5% (n=1) ,
- сърбеж и сухота – 12.5% (n=1),
- парене и дразнене – 12.5% (n=1),
- еритем и сърбеж – 12.5% (n=1).

В групата на изследваните лица с над 10г. трудов стаж, тези от тях, които са без кожни оплаквания при използване на латексови ръкавици са 40% (n=12); 20% (n=6), са се оплаквали от сърбеж и сухота, а по 10% (n=3) са отбелязали наличие на еритем и обрив, както и еритем със сърбеж.

Обсъждане:

Резултатите от нашите проучвания показват, че най-често използваните видове ръкавици са комбинацията от латексови и нитрилни (43%, n=43), следвани по честота от латексовите (35%, n=35), а едва 2% от анкетираните лица използват само нитрилни ръкавици. Това силно се отличава от резултатите, установени от Critchley E, Pemberton MN (2020) относно използването на латексови и нитрилни ръкавици в различни дентални практики в Обединеното кралство – 90% от анкетираните участници използват безлатексови ръкавици, предимно нитрилни такива, а 75% - и безлатексови платна за кофердам. Тези резултати потвърждават тенденцията за намаляване продажбите и използването на латексови ръкавици и други латексови изделия в денталните практики във Великобритания. Мнозинството от общопрактикуващите зъболекари там в рутинната си практика използват безлатексови ръкавици и кофердам, главно нитрилни.

Разпространението на латексовата алергия и данните от различните страни варират много. В Русия например H Nolte et al. (2002) съобщават за ниско преобладаване на латекс-алергия и предполагат, че намалената употреба на латексови ръкавици с талк може да снижи разпространението на сенсibiliзацията към латекс сред професионално-експонираните лица. Най-често докладваният симптом, свързан с експозицията към латекс, е контактната уртикария. В нашето проучване анкетираните споделят, че работят основно с комбинацията от латексови и нитрилни ръкавици (43%) и може би това е и

част от обяснението за ниския процент оплаквания от страна на кожата на ръцете - най-често срещаните са сърбеж, сухота и зачервяване (еритем).

Резултати по задача 3.2: (Изследване на специфични IgE-антитела към латекс чрез серологично изследване)



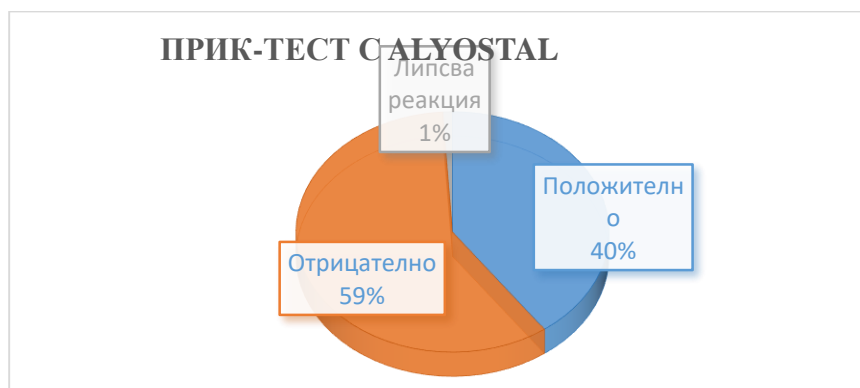
Диаграма 27. Процентно разпределение на резултатите от серологичното изследване

От изследваните 100 лица, само при **4% (n=4)** се установи положителен резултат от серологичното изследване на кръвта за наличие на специфични IgE антитела към латекс. Тяхното разпределение по пол е еднакво – **мъже n=2, жени n=2**. Що се отнася до възрастта на изследваните лица с положителен резултат от серологията, то разпределението е неравномерно, а данните са показани в следната таблица:

Табл. 8. Възрастово разпределение на лицата с положителен резултат от серологичното изследване

Възраст	Честота	Процентно разпределение	Валиден %	Процент % с натрупване
21	1	25.0	25.0	25.0
31	1	25.0	25.0	50.0
33	1	25.0	25.0	75.0
60	1	25.0	25.0	100.0
Общо	4	100.0	100.0	

Резултати по задача 3.3: (Изследване на сенсбилизация спрямо латексови протеини чрез прик-тест)



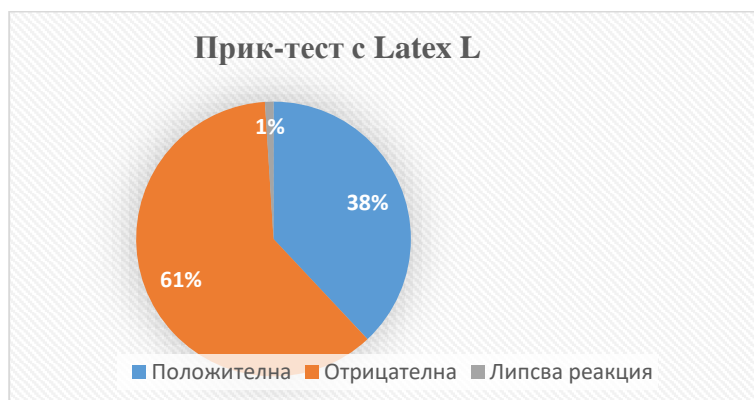
Диаграма 28. Разпределение на резултатите от прик-теста с Alyostal

Вижда се, че **40% (n=40)** от изследваните лица имат позитивна кожна реакция при извършване на прик-теста с Alyostal, а 59% са с отрицателен резултат.



Диаграма 29. Разпределение на резултатите от прик-теста с Latex C

Данните сочат, че едва **13% (n=13)** от изследваните лица имат положителен резултат при извършване на прик-теста с Latex C, а 86% са с отрицателен резултат.



Диаграма 30. Разпределение на резултатите от прик-теста с Latex L

Установихме, че **38% (n=38)** от тестваните лица имат положителен резултат от прик-теста с Латекс L.

Най-висока е честотата на положителни реакции от прик-тест спрямо френския латексов алерген „Alyostal“ (40%), следван от Латекс L (38%) и Латекс С (13%).

Табл. 9. Корелация между резултатите от серологичното изследване и тези от прик-теста с „Alyostal“

			Серологично изследване		Общо
			Положително	Отрицателно	
Latex/Alyostal	Положително телно	Брой	3	37	40
		% в Latex/Alyostal	7.5%	92.5%	100.0%
		% в Серологично изследване	75.0%	38.5%	40.0%
		% от Общо	3.0%	37.0%	40.0%
	Отрицателно телно	Брой	1	58	59
		% в Latex/Alyostal	1.7%	98.3%	100.0%
		% в Серологично изследване	25.0%	60.4%	59.0%
		% от Общо	1.0%	58.0%	59.0%
	Липсват данни	Брой	0	1	1
		% в Latex/Alyostal	0.0%	100.0%	100.0%
		% в Серологично изследване	0.0%	1.0%	1.0%
		% от Общо	0.0%	1.0%	1.0%
Общо	Брой	4	96	100	
	% в Latex/Alyostal	4.0%	96.0%	100.0%	
	% в Серологично изследване	100.0%	100.0%	100.0%	
	% от Общо	4.0%	96.0%	100.0%	

От данните в представената двумерна таблица, представящи корелация в резултатите от серологията и прик-теста с „Alyostal“ можем да заключим, че само **4** от изследваните 100

души имат положителен резултат от серологията, като при трима от тях ($n=3$, 7.5%) се наблюдава и съвпадение с положителен резултат от прик-теста с Latex/Alyostal. При един от изследваните с положителен серологичен резултат има обаче отрицателен прик-тест спрямо Latex/Alyostal.

Табл. 10. Корелация между резултатите от серологичното изследване и тези от прик-теста с Латекс С

			Серологично изследване		Общо
			Положително	Отрицателно	
Латекс С	Положително	Брой	2	11	13
		% в Латекс С	15.4%	84.6%	100.0%
		% в Серологично изследване	50.0%	11.5%	13.0%
		% от Общо	2.0%	11.0%	13.0%
	Отрицателно	Брой	2	84	86
		% в Латекс С	2.3%	97.7%	100.0%
		% в Серологично изследване	50.0%	87.5%	86.0%
		% от Общо	2.0%	84.0%	86.0%
	Липсват данни	Брой	0	1	1
		% в Латекс С+	0.0%	100.0%	100.0%
		% в Серологично изследване	0.0%	1.0%	1.0%
		% от Общо	0.0%	1.0%	1.0%
Общо	Брой	4	96	100	
	% в Латекс С	4.0%	96.0%	100.0%	
	% в Серологично изследване	100.0%	100.0%	100.0%	
	% от Общо	4.0%	96.0%	100.0%	

Резултатите показват, че от четиримата пациенти с положителна серология, само двама ($n=2$, 15.4%) имат и положителен резултат от прик-теста с Латекс С.

Табл. 11. Корелация между резултатите от серологичното изследване и тези от прик-теста с Латекс L

			Серологично изследване		Общо
			Положително	Отрицателно	
Латекс L	Положително	Брой	3	35	38
		% в Латекс L	7.9%	92.1%	100.0%
		% в Серологично изследване	75.0%	36.5%	38.0%
		% от Общо	3.0%	35.0%	38.0%

Отрицателно	Брой	1	60	61
	% в Латекс L	1.6%	98.4%	100.0%
	% в Серологично изследване	25.0%	62.5%	61.0%
	% от Общо	1.0%	60.0%	61.0%
Липсват данни	Брой	0	1	1
	% в Латекс L	0.0%	100.0%	100.0%
	% в Серологично изследване	0.0%	1.0%	1.0%
	% от Общо	0.0%	1.0%	1.0%
Общо	Брой	4	96	100
	% в Латекс L	4.0%	96.0%	100.0%
	% в Серологично изследване	100.0%	100.0%	100.0%
	% от Общо	4.0%	96.0%	100.0%

Данните сочат, че от четиримата пациенти с положителна серология, трима (**n=3, 7.9%**) реагират положително и на прик-теста с Латекс L.

Резултати по задача 3.4 (Да се изследва наличието на сенсibiliзация спрямо определени хранителни алергени и полени в търсенето на кръстосана реактивност и наличието на “latex-fruit syndrome”):



Диаграма 31. Разпределение на резултатите от извършените прик-тестове с домати

Данните от диаграмата показват, че при **38% (n=38)** от изследваните доброволци се установява положителен резултат при извършването на прик-тест с домати.



Диаграма 32. Разпределение на резултатите от извършените прик-тестове с праскови

При **20%** (**n=20**) от изследваните лица се установява положителен резултат при извършването на прик-тест с праскови.



Диаграма 33. Разпределение на резултатите от извършените прик-тестове с киви

Подобни са и резултатите от прик-тест с киви - при **24%** (**n=24**) от изследваните лица има положителен резултат.



Диаграма 34. Разпределение на резултатите от извършените прик-тестове с амброзия

От диаграмата се вижда, че при **21% (n=21)** от изследваните доброволци е установен положителен резултат при извършването на прик-тест с амброзия.



Диаграма 35. Разпределение на резултатите от извършените прик-тестове с пелин

Данните от диаграмата показват, че едва при **15% (n=15)** от изследваните доброволци намираме положителен резултат при извършването на прик-тест с пелин.

Последните резултати бяха допълнени от събраните посредством пряката анкета данни за субективни оплаквания от страна на изследваните лица, при консумация на посочените храни. Това е важно от гледна точка на търсенето на таргетни лица за провеждане на специфични изследвания. Обобщените данни сочат, че респондентите съобщават за усещания, подобни на тези при наличие на „орален алергичен синдром“ и причинните храни се разпределят по следния начин:

- 16% - при консумация на киви
- 8% - праскови
- 6% - фъстъци
- 5% - летни полени, амброзия
- 4% - банани, пъпеш, домати
- 3% - сливи
- 2% - авокадо
- 1% - манго, папая, пелин, амброзия
- 0% - кестени

Обсъждане:

Резултатите от проведеното от нас изследване на специфични IgE антитела към латекс показва, че само при **4% (n=4)** от изследваните 100 души има положителен резултат. Подобни са и наблюденията на Köse Ş et al. (2014), които откриват, че само при 4.2% от изследваните здравни работници в болница в Измир се открива сенсibiliзация към естествения латексов протеин чрез подобен на нашия диагностичен метод. Авторите определят, че това всъщност е истинската латексова алергия, а латекса е сред водещите алергени за възникването на професионални здравословни заболявания. За разлика от тяхното и нашето проучване обаче, Şener et al. (2000) определят 9.22% разпространение на сенсibiliзация към латекс сред 206 здравни работници, които редовно използват латексови ръкавици. В свои проучвания пък Eserverri et al. (1999) оценяват разпространението на латексовата алергия посредством кожни тестове в рамките на 1.08%, а резултатите от определянето на серум специфични IgE антитела е 7.2%. В проучване от Южна Африка (2013) е установено, че 11.9% от здравните работници са алергични към латекс.

Въпреки че няма отчетливи данни в научната литература по този въпрос, женският пол е докладван в няколко изследвания като рисков фактор за развитие на латексова алергия от Pecquet C и Leynadier F. (1993). Köse Ş et al. установяват, че 66% от случаите с диагностицирана латексова алергия са при жени. Но ние намерихме, че само половината от пациентите с положителен резултат от серумното определяне на специфични IgE антитела са жени (2%, n=2).

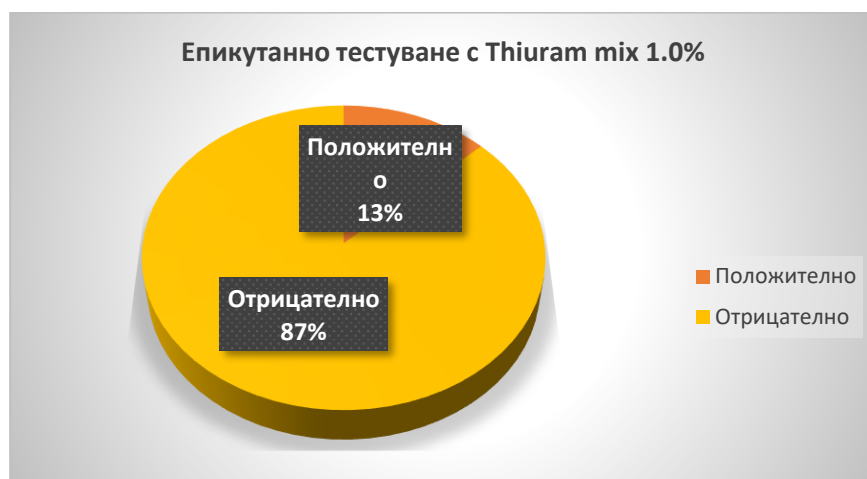
През последните години се установява преобладаване на латексовата свръхчувствителност сред здравни работници, и то основно сред такива с данни за атопия. Според Khader Y et al. (2005) най-вероятно тя е един от най-значимите предразполагащи фактори за развитие на сенсibiliзация към латекс. Köse Ş et al. докладват в изследванията си, че откриват при 43% от изследваните здравни работници данни за атопия. Според тях латексът е считан за водеща причина за професионални болести като алергичен контактен дерматит, алергичен ринит, алергичен конюнктивит и астма. Ние обаче откриваме, че едва 23% (n=23) от нашите пациентите съобщават за наличие на бронхиална астма или полиноза (най-често съобщават за сenna хрема, изпяваща се с кихане, кашляне, сърбеж в носа, ринорея и сълзотечение).

В нашите изследвания установихме, че близо $\frac{1}{5}$ - 21% (n=21) от пациентите ни имат някаква форма на хранителна алергия (хранителна непоносимост към морски дарове и гъби, алергия към орехи, маслини, суров лешник, яйца, месо, лактозна непоносимост, мляко, шоколад, мъхести плодове, цитруси, мед, пчелен клей, пчелни продукти, соя, ябълки).

Счита се, че латексовата алергия се среща по-често сред лица с хранителна алергия. В изследванията на Köse Ş et al. (2014) се съобщава, че при 12.8% от пациентите с латексова свръхчувствителност е доказана алергия към поне един вид храна. При лицата с латексова алергия други автори доказват сенсibiliзация към тропически плодове като банани, авокадо и киви, като авторите предполагат, че това се дължи на налиието на алергени, предизвикващи възникването на кръстосана реактивност.

Резултати по задача 4: (Да се изследва наличието на сенсibiliзация към определени компоненти, използвани при преработката на суровия каучук за получаването на различни латексови продукти чрез епикутанен тест (patch-test)).

По-долу е показано разпределението на част от резултатите от извършеното епикутанно тестване със съответните хаптени:



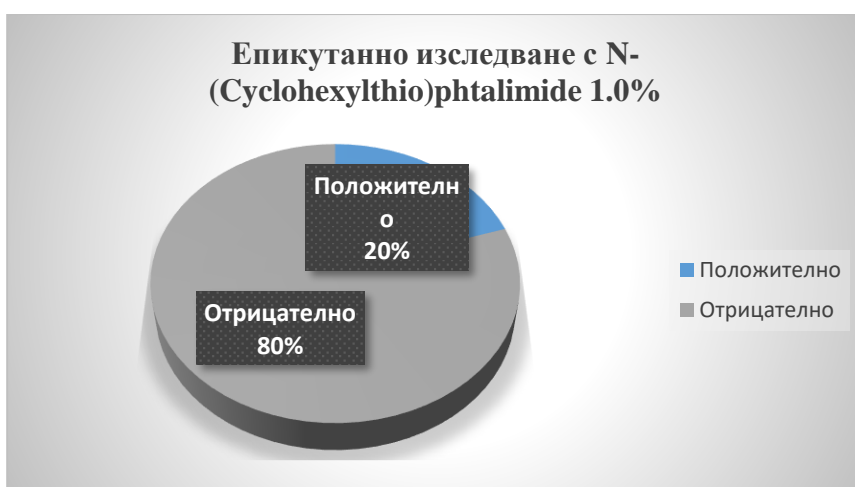
Диаграма 36. Разпределение на резултатите от проведените пач-тестове с Thiuram mix 1,0%

Данните сочат, че при 13% (n=13) от изследваните лица е имало положителен резултат при извършването на епикутанен тест с Thiuram mix.



Диаграма 37. Разпределение на резултатите от проведените пач-тестове с Carba mix 3,0%

Данните сочат, че малко по-малко от половината от пациентите - **42% (n=42)** са дали положителен резултат при извършването на епикутанен тест с Carba mix.



Диаграма 38. Разпределение на резултатите от проведените пач-тестове с N-(Cyclohexylthio) phtalimide 1,0

Резултатите показват, че при **20% (n=20)** от пробантите сме доказали положителни резултати от пач теста с N-(Cyclohexylthio) phtalimide.



Диаграма 39. Разпределение на резултатите от проведените пач-тестове с парченца от латексова ръкавица с вазелин

Данните от диаграмата сочат, че сме открили положителен резултат от пач-теста с парченца от латексова ръкавица с пудра, смесена с вазелин при **17% (n=17)** от пациентите.

Резултатите от останалите пач-тестове показват, че **11% (n=11)** от пробантите са реагирали положително на теста Mercapto mix, **11% (n=11)** реагират положително към 4,4'-Diaminodiphenylmethane, при **10% (n=10)** от пациентите ни се установява положителен реакция спрямо Black rubber mix, също така **10% (n=10)** са реагирали положително към N,N'-Di-2-naphtyl-4-phenylenediamine, а едва **5% (n=5)** от изследваните лица са дали положителен резултат от пач-теста с Thiourea mix.

Обобщавайки резултатите от проведеното епикутанно изследване можем да заключим, че с най-висока честота на положителни резултати са следните хаптени:

- **Carba mix – 42%**
- **N-(Cyclohexylthio) phtalimide – 20%**
- **парченца от латексова ръкавица, смесени с вазелин – 17%**
- **Thiuram mix – 13%**
-

Търсенето на корелация между сенсibiliзацията към определени хаптени и годините трудов стаж на изследваните лица доведе до обработка на данните чрез приложение на дисперсионен анализ (One-Way ANOVA) с LSD метод. Резултатът е показан в долната таблица:

LSD. Least significant difference. ЛСД. Най-малко значима разлика. Този метод не контролира общата вероятност за отхвърляне на хипотезите, че някои линейни контрасти са различни от стойността(ите) на нулевата хипотеза.

Табл. 12. Сравнение между групите изследвани лица с различна продължителност на трудовия стаж

Multiple Comparisons					
LSD					
Dependent Variable	(I) Трудов стаж	(J) Трудов стаж	Mean Differen се (I-J)	Std. Error	Sig.
Mercurio mix 2,0%	До 5 г.	Над 10 г.	0.135	0.07	0.053
4,4'-Diaminodiphenylmethane 0,5%	До 5 г.	Над 10 г.	0.135	0.07	0.053
N,N'-Di-2-naphtyl-4-phenylenediamine 1,0%	До 5 г.	Над 10 г.	0.152	0.07	0.024

Резултатите от представената по-горе таблица, показващи корелацията между годините трудов стаж и резултатите от епикутанното тестване, могат да се интерпретират по следния начин:

При $p=0.05$ се установява, че има статистически значима зависимост от годините трудов стаж на изследваните лица и положителния резултат от пач-теста за следните хаптени:

- **Mercurio mix, 4,4'-Diaminodiphenylmethane и N,N'-Di-2-naphtyl-4-phenylenediamine.**

Колкото по-голям е трудовият стаж на пробантите (групата >10г.), толкова по-голяма е вероятността те да имат (+) кожна реакция от някой от посочените по-горе хаптени и съответно кожни дерматози като изява на продължителното действие на съответните хаптени в състава на използвани латексови продукти.

**Табл. 13. Зависимост между употребата на ръкавици
и резултата от пач-тест с Carba mix**

Carba mix 3,0%

Използвате ли ръкавици?		Честота	Процент %	Валиден %	Процент % с натрупване
Да	Положително	40	41.7	41.7	41.7
	Отрицателно	56	58.3	58.3	100.0
	Total	96	100.0	100.0	
Не	Положително	2	50.0	50.0	50.0
	Отрицателно	2	50.0	50.0	100.0
	Total	4	100.0	100.0	

При 41.7% (n=40) от нашите пациенти, които използват ръкавици, установихме, че има сенсibiliзация към Carba mix. Също така 50% (n=2) показват положителен резултат от пач-теста, въпреки че не използват ръкавици. ***Намираме наличие на корелация между използването на ръкавици и сенсibiliзацията към Carba mix при 41.7% (n=40) от нашите пациенти.***

**Табл. 14. Зависимост между употребата на ръкавици
и резултата от пач-тест с N-(Cyclohexylthio) phtalimide**

N-(Cyclohexylthio) phtalimide 1,0%

Използвате ли ръкавици?		Честота	Процент %	Валиден %	Процент % с натрупване
Да	Положително	19	19.8	19.8	19.8
	Отрицателно	77	80.2	80.2	100.0
	Общо	96	100.0	100.0	
Не	Положително	1	25.0	25.0	25.0
	Отрицателно	3	75.0	75.0	100.0
	Общо	4	100.0	100.0	

Данните от таблицата показват, че при 19.8% (n=19) от нашите пациенти се установява сенсibiliзация към N-(Cyclohexylthio)phtalimide при положителни анамнестични данни за употреба на ръкавици. Също такава се отчита и при 25% (n=1) от неизползващите ръкавици.

Табл. 15. Зависимост между употребата на ръкавици и резултата от пач-тест с парченца от латексова ръкавица

Лат. парченца с вазелин

Използвате ли ръкавици?	Честота	Процент %	Валиден %	Процент % с натрупване
Да	Положително	16	16.7	16.7
	Отрицателно	80	83.3	100.0
	Общо	96	100.0	
Не	Положително	1	25.0	25.0
	Отрицателно	3	75.0	100.0
	Общо	4	100.0	

Представените в таблицата данни сочат, че 16.7% (n=16) от пробантите, използващи ръкавици, както и 25% (n=1) от групата на лицата, неизползващи ръкавици, са показали (+) резултат от епикутанното изследване с парченца от латексова ръкавица, смесена с вазелин.

Табл. 16. Двумерна таблица, показваща взаимовръзките в резултатите между прик теста с латексов протеин и серологичното изследване

		Серологично изследване		Общо	
		Положително	Отрицателно		
Латексов протеин за прик тест	Наличие на реакция	Брой	3	53	56
		% в Латексовия протеин	5.4%	94.6%	100.0%
		% в Серологично изследване	75.0%	55.2%	56.0%
		% от Общо	3.0%	53.0%	56.0%
	Отсъствие на реакция	Брой	1	42	43
		% в Латексовия протеин	2.3%	97.7%	100.0%
		% в Серологично изследване	25.0%	43.8%	43.0%
		% от Общо	1.0%	42.0%	43.0%
	Не е отчетена реакция	Брой	0	1	1
		% в Латексовия протеин	0.0%	100.0%	100.0%
		% в Серологично изследване	0.0%	1.0%	1.0%
		% от Общо	0.0%	1.0%	1.0%
	Общо	Брой	4	96	100
		% в Латексовия протеин	4.0%	96.0%	100.0%
		% в Серологично изследване	100.0%	100.0%	100.0%
		% от Общо	4.0%	96.0%	100.0%

От данните в таблицата може да се заключи, че има корелация при част от тестовете, използвани за доказване алергия към латекс, протичаща по I тип. Установява се, че при 75% (n=3) от пациентите с (+) серологичен резултат има и (+) резултат от прик-теста с латексов протеин. При останалите 25% (n=1) с положителен серологичен резултат не се установява наличие на сенсibiliзация при извършване на прик-тест с латексов алерген. Доказва се, че има частично съвпадение в получените резултати.

Табл. 17. Двумерна таблица, показваща взаимовръзките в резултатите между прик теста с латексов протеин и пач теста с парченца от латексова ръкавица

			Лат. парченца с вазелин		Общо
			Положително	Отрицателно	
Латексов протеин за прик тест	Наличие на реакция	Брой	8	48	56
		% в Латексовия протеин	14.3%	85.7%	100.0%
		% в Лат. парченца с вазелин	47.1%	57.8%	56.0%
		% от Общо	8.0%	48.0%	56.0%
	Отсъствие на реакция	Брой	8	35	43
		% в Латексовия протеин	18.6%	81.4%	100.0%
		% в Лат. парченца с вазелин	47.1%	42.2%	43.0%
		% от Общо	8.0%	35.0%	43.0%
	Не е отчетена реакция	Брой	1	0	1
		% в Латексовия протеин	100.0%	0.0%	100.0%
		% в Лат. парченца с вазелин	5.9%	0.0%	1.0%
		% от Общо	1.0%	0.0%	1.0%
	Общо	Брой	17	83	100
		% в Латексовия протеин	17.0%	83.0%	100.0%
		% в Лат. парченца с вазелин	100.0%	100.0%	100.0%
		% от Общо	17.0%	83.0%	100.0%

Данните от таблицата показват, че при 14.3% (n=8) от пробантите с положителен пач-тест реагират положително и на прик теста с латексов протеин. При останалите 18,6%

(n=8) с (+) резултат от епикутанното тестване се регистрира (-) резултат от прик-теста с латексов протеин, като има частично съвпадение в резултатите.

Табл. 18. Двумерна таблица, показваща взаимовръзките в резултатите между прик теста с латексов протеин и прик теста с домати

			Домати		Общо
			Положително	Отрицателно	
Латексов протеин за прик тест	Наличие на реакция	Брой	32	24	56
		% в Латексовия протеин	57.1%	42.9%	100.0%
		% в Лат. парченца с вазелин	84.2%	39.3%	56.0%
		% от Общо	32.0%	24.0%	56.0%
	Отсъствие на реакция	Брой	6	37	43
		% в Латексовия протеин	14.0%	86.0%	100.0%
		% в Лат. парченца с вазелин	15.8%	60.7%	43.0%
		% от Общо	6.0%	37.0%	43.0%
	Не е отчетена реакция	Брой	0	0	1
		% в Латексовия протеин	0.0%	0.0%	100.0%
		% в Лат. парченца с вазелин	0.0%	0.0%	1.0%
		% от Общо	0.0%	0.0%	1.0%
	Общо	Брой	38	61	100
		% в Латексовия протеин	38.0%	61.0%	100.0%
		% в Лат. парченца с вазелин	100.0%	100.0%	100.0%
		% от Общо	38.0%	61.0%	100.0%

При повече от половината от пробантите с положителен прик тест към домати - 57,1% (n=32) намираме и положителен резултат от прик теста с латексов протеин. Това показва наличието на корелация в резултатите, както и че извършването на прик-тест с домати би бил насочващ при изследване на пациентите за латексова алергия поради наличието на “latex-fruit syndrome”.

Установихме, че при 33.9% (n=19) пробантите с положителен прик тест към праскови, както и към амброзия намираме и положителен резултат от прик теста с латексов протеин.

Намерихме, че при 32.1% (n=18) от изследваните лица с (+) прик тест към киви се установява корелация с (+) резултат от прик-теста с латексов протеин, а при 23.2% (n=13) от пробантите се установява сенсibiliзация към пелин и съответно – положителен резултат и на прик теста с латексов протеин.

Табл. 19. Двумерна таблица, показваща взаимовръзките в резултатите между прик теста с латексов протеин и пач теста с Carba mix

			Carba mix 3,0%		Общо
			Положително	Отрицателно	
Латексов протеин за прик тест	Наличие на реакция	Брой	27	29	56
		% в Латексовия протеин	48.2%	51.8%	100.0%
		% в Carba mix	64.3%	50.0%	56.0%
		% от Общо	27.0%	29.0%	56.0%
	Отсъствие на реакция	Брой	14	29	43
		% в Латексовия протеин	32.6%	67.4%	100.0%
		% в Carba mix	33.3%	50.0%	43.0%
		% от Общо	14.0%	29.0%	43.0%
	Не е отчетена реакция	Брой	1	0	1
		% в Латексовия протеин	100.0%	0.0%	100.0%
		% в Carba mix	2.4%	0.0%	1.0%
		% от Общо	1.0%	0.0%	1.0%
	Общо	Брой	42	58	100
		% в Латексовия протеин	42.0%	58.0%	100.0%
		% в Carba mix	100.0%	100.0%	100.0%
		% от Общо	42.0%	58.0%	100.0%

Резултатите, поместени в таблицата показват, че при почти половината от пациентите с (+) пач тест към Carba mix – 48.2% (n=27) има корелация и с положителния резултат от прик-теста с латексов протеин.

Табл. 20. Двумерна таблица, показваща взаимовръзките в резултатите между прик теста с латексов протеин и пач теста с N-(Cyclohexylthio) phtalimide

			N-(Cyclohexylthio) phtalimide 1,0%		Общо
			Положително	Отрицателно	
Латексов протеин за прик тест	Наличие на реакция	Брой	11	45	56
		% в Латексовия протеин	19.6%	80.4%	100.0%
		% в N-(Cyclohexylthio) phtalimide	55.0%	56.3%	56.0%
		% от Общо	11.0%	45.0%	56.0%
	Отсъствие на реакция	Брой	9	34	43
		% в Латексовия протеин	20.9%	79.1%	100.0%
		% в N-(Cyclohexylthio) phtalimide	45.0%	42.5%	43.0%
		% от Общо	9.0%	34.0%	43.0%
	Не е отчетена реакция	Брой	0	1	1
		% в Латексовия протеин	0.0%	100.0%	100.0%
		% в N-(Cyclohexylthio) phtalimide	0.0%	1.3%	1.0%
		% от Общо	0.0%	1.0%	1.0%
	Общо	Брой	20	80	100
		% в Латексовия протеин	20.0%	80.0%	100.0%
		% в N-(Cyclohexylthio) phtalimide	100.0%	100.0%	100.0%
		% от Общо	20.0%	80.0%	100.0%

Установихме наличие на корелация в положителните резултати от проведените пач-тест с N-(Cyclohexylthio) phtalimide и прик тест с латексов протеин при 19,6% (n=11) от участниците в нашето изследване.

Намерихме, че при 12.5% (n=7) от положително реагиралите на пач теста с Thiuram mix, както и с 4,4'-Diaminodiphenylmethane се установява наличие на (+) реакция и на прик теста с латексов протеин

Установихме корелация в положителните резултати от епикутанния тест с N,N'-Di-2-naphthyl-4-phenylenediamine и прик теста с латексов протеин при 10.7% (n=6) от изследваните пациенти.

При 7.1% (n=4) от изследваните лица с положителен резултат спрямо Black rubber mix, както и спрямо Mercapto mix се установява съвпадение и в (+) резултат от прик теста с латексов протеин.

Установихме, че при едва 3.6% (n=2) от пробантите с положителен резултат от пач тест а с Thiourea mix се намира и (+) резултат от прик теста с латекс.

Обсъждане

Методиката, по която изследвахме нашите пациенти и част от получените от нас резултати се доближават до тези на Japundžić I et al. (2018), само че те прилагат допълнително prick-to-prick тест. Получените от нас резултати за част от различните изследвани добавки чрез епикутанно изследване показват сходство с техните - **Carba mix, Mercapto mix и Thiuram mix** показват най-често положителни резултати. Сходство откриваме и в основните оплаквания на техните и нашите пациенти – водещи са еритем, сухота и сърбеж. Също както Japundžić I et al. установяват малка честота на пациенти, алергични към латекс (7%) и различни добавки към каучука (4.8%), така и при нашите пациенти не се наблюдава пълна корелация в прилаганите методи за диагностика и установихме съответно ниска честота на латексова алергия.

Според Nucera E et al. (2020), както и Bendewald MJ et al. (2010) хаптените, които най-често предизвикват алергични реакции са карбамати, thiuram mix, 2-mercaptopbenzothiazole и 1,3-diphenylguanidine, което частично съвпада и с резултатите от нашето изследване (за Carba mix и Thiuram mix).

През 2017г. Lyarina et al. реализират пилотно проучване относно честотата на контактна свръхчувствителност спрямо различни каучукови добавки и хаптени сред студенти по дентална медицина и дентални пациенти. Те откриват, че с най-силно изразено сенсibiliзиращо действие са Carba mix, следвана от Benzoyl peroxide и Mercapto mix.

Авторите докладват, че намират най-ниска честота на положителни кожни реакции от епикутанно тестване към Thiuram mix.

Luarina et al. намират, че степента на сенсibiliзация спрямо Carba mix е значително по-висока за студентите по дентална медицина, както и за цялата изследвана популация, в сравнение с тази спрямо Thiuram mix, а Carba mix се извява като сенсibiliзатор от първостепенно значение за студентите по дентална медицина и за денталните пациенти. Те откриват, че 40% (n=20) от всички изследвани от тях пациенти в двете групи показват положителен резултат от пач-теста с Carba mix и 8% (n=4) от изследваните лица показват положителен резултат от епикутанното тестване с Thiuram mix. Според авторите, тези два хаптена, заедно с mercapto mix, toluenesulfonamide formaldehyde смола и benzoil peroxide се считат за едни от най-силните кожни сенсibiliзатори.

Ние обаче отчетохме още по-висок процент на сенсibiliзация спрямо тези два хаптена при тестване на нашите пациенти – съответно 42% положителен резултат за Carba mix и 13% положителни реакции спрямо Thiuram mix, а само 11% от нашите пациенти показват сенсibiliзация спрямо Mercapto mix.

В нашето проучване 13% от изследваните лица показват положителен резултат от пач-теста с Thiuram mix. Според Luarina et al. и други учени тиурамите се считат за едни от най-важните контактни алергени сред вулканизаторите заради възможна кръстосана реактивност с дитиокарбамати, които се използват за подобни цели.

Според Warburton et al. (2015), контактната алергия към Thiuram mix намалява в периода на проучването му - 1.87%, Luarina et al. (2017) установяват подобен резултат - 8%, но в нашето проучване степента на разпространение на сенсibiliзация към този хаптен достига 13% и за разлика от направените заключения от Luarina et al., за нашите пациенти Thiuram mix се нарежда сред водещите причинители на кожна сенсibiliзация сред професионално експонираните лица.

Luarina et al. (2017) намират в пилотното си проучване, че общо 16% от всички изследвани лица – студенти по дентална медицина и пациенти са сенсibiliзирани спрямо Mercapto mix, което потвърждава заключенията на други автори, че същият е важен професионален алерген за развитието на алергичен контактен дерматит. Ние обаче открихме по-ниска честота на разпространение на сенсibiliзация към Mercapto mix сред изследваните от нас пациенти – 11%, но все пак е сред първите 5 хаптена по честота на предизвикани положителни реакции от епикутанното тестване. Освен това

получихме данни, че колкото по-голям е трудовият стаж на пробантите (групата >10г.), толкова по-голяма е вероятността те да имат (+) кожна реакция спрямо Mercapto mix и съответно кожни дерматози като изява на продължителното действие на същия в състава на използвани латексови продукти или синтетични каучукови изделия.

Според Lyarina et al. (2017) е много важно да бъде предоставяна изчерпателна информация относно професионалните рискови фактори в качеството на алергени от работната среда и това трябва да бъде извършвано още в ранните етапи на студентското обучение с оглед превенцията на студентите по дентална медицина и денталните лекари от развитието на професионално обусловени заболявания, към което становище ние безусловно се присъединяваме.

Резултатите от всички извършени от нас клинични тестове върху нашите 100 доброволци показват, че работната хипотеза е само частично доказана, т.е. не се установява 100% корелация между всички методи , прилагани за диагностика на латексова алергия!

Намерихме, че има 75% припокриване на резултатите, получени от серологичното определяне на специфични IgE антитела към латекс и извършването на прик-тест с латексови алергенни екстракти; има слаба корелация (14.3%) между резултатите от пач-теста с парченца от латексова ръкавица и прик-тест с латексови алергенни екстракти; доказахме наличието на силна корелация (57.1%) между положителните резултати от прик-теста с домати и положителен резултат от прик-тест с латексови алергени; сравнително висока корелация между прик-теста с латексови протеини и такъв с праскови и амброзия (33.9%), както и силна такава между прик-тест с латексови протеини и киви (32,1%). Намерихме частична корелация и между положителните резултати от прик-тест с латексови алергени и пач-тест с Carba mix (48.2%).

Но при никой от пациентите ни не се установи пълна корелация в положителните резултати от всичките 3 теста – серология, прик-тестове и епикутанни тестове.

Ако трябва да посочим най-оптималната комбинация от методи за доказване на латекс алергия в клиничната алергологична практика, то това са извършването на **прик-тестове с латексов алерген, домати, праскови и амброзия (от полените)**. Това трябва да се осъществява след подробно и внимателно снемане на анамнестични данни от пациентите и при необходимост – предшествано от предварително определяне на сензибилизацията

към латекс чрез ин-витро изследване (серологично). Прик-тестът остава с най-висока диагностична стойност и трябва да се прилага в повечето случаи, въпреки опасността от развитието на алергични реакции по време на тестването – от обучени клиницисти, които притежават съответните умения за екзактно извършване на самия тест, правилно интерпретиране на резултатите и умения за прилагане на утвърдени протоколи за овладяване на евентуално развили се алергични реакции.

В зависимост от клиничната изява и оплакванията на пациентите е препоръчително извършването на **епикутанно тестване с Carba mix и хаптен, изготвен ex tempore от определени латексови продукти.**

VI. Изводи:

1. От двата новосинтезирани латексови алергени Latex L е по-цитотоксичен, предизвиква директна клетъчна смърт като се намалява пролиферативният потенциал на SCAPs. **Латекс С е с по-добра биосъвместимост и е по-подходящият алергенен препарат за въвеждане в практиката!**

2. Резултатите от проведената анкета показват, че:

- Най-често пробантите са имали оплаквания от уртикария/отоци, положително повлиявани от прием на противоалергични медикаменти.

- Най-често използваните лични предпазни средства са комбинация е от латексови и нитрилни ръкавици и трудов стаж между 1-5 години, повече от 3 дни седмично и със среднодневно използване на ръкавици до 5 часа/дневно.

- Водещи оплаквания от страна на кожата на ръцете са комбинациите от еритем, сърбеж и сухота .

- Субективните оплаквания от страна на ГДП като задух, кашлица и дразнене в гърлото са съобщени от 4% от изследваните лица.

3. Серологичното изследване за специфични IgE-антитела към латекс е положително при 4% от пробантите, като разпределението им по възраст е разнородно, а разпределението по пол е еднакво.

4. Резултатите от прик-тест с новосинтезираните експериментални латексови продукти (Лат.С, Лат.Л) са съпоставими с резултатите от прик-теста със стандартизиран и сертифициран латексов алергенен препарат.
5. Изследването за latex-fruit syndrome чрез прик-тест позитивира като най-чести реакциите към **домати**.
6. Най-голям процент (+) реакции към добавки в латексовите продукти са регистрирани спрямо **Carba mix**.

V. Приложение в алергологичната практика

Добре известни са предимствата от използването в ежедневната алергологична практика на алергенни препарати за диагностика и лечение, които са получени от алергени, намиращи се в съответната географска ширина или територия, както и хаптени, използвани от специалистите в съответната държава.

Алергенните препарати трябва да бъдат стандартизирани и сертифицирани, да са пречистени и да не предизвикват появата на токсични или фалшиво-положителни реакции, а също така трябва да са лесно достъпни за закупуване и приложение.

В тази връзка ние участвахме в разработването на два експериментални латексови алергенни препарата за прик-тест, които са получени по два различни метода. Целта на проучването и извършените многобройни тестове – както на клетъчно ниво, така и в клинични условия, беше да получим изчерпателна информация кой от тях е по-подходящ за тестване на пациенти в алергологичната практика. Двата продукта бяха сравнени със сертифициран френски алергенен препарат, изпитани върху всички доброволци в нашето проучване, както и помежду си – чрез ин витро тестове, за оценка на тяхното действие посредством предизвикването на апоптоза, цитотоксичност, оценка на пролиферативния им ефект и предизвикване на възпаление на клетъчно ниво.

В резултат на всички получени резултати бихме изказали мнение, че новосинтезиращият латексов алергенен препарат Latex C (получен чрез кондензационен метод) е по-подходящ за приложение в ежедневната алергологична практика при тестването на пациенти, които са суспектни за наличие на латексова алергия и усилията на колегите от Лабораторията по Алергия към НЦЗПБ-София да бъдат насочени именно към неговото допълнително разработване и разпространяване сред колегите алерголози.

VI. Приноси на дисертационния труд

1. Приноси с научно-теоретичен характер:

1.1. Направен е анализ относно произхода на латекс алергията, основните рискови групи за възникване на такава и епидемиологичните данни за честотата на дерматози сред професионално експонирани лица.

1.2. Проучени са основните рискови групи, като се акцентира върху професионално-експонирания медицински персонал (лекари, лекари по дентална медицина, студенти по дентална медицина, помощен персонал).

1.3. Анализирана е кръстосаната реактивност между латексовите протеини и някои хранителни алергени във връзка с наличието на Latex-fruit syndrome.

1.4. Проучена е корелацията между приложените методи за доказване на латексова сенсibiliзация (КАП и серологични изследвания) - **не** се установи такава.

2. Приноси с научно-приложен и оригинален характер:

2.1. Разработени бяха анкети на български и английски език, целящи получаването на информация за медицинското състояние, общоалергичните заболявания, субективните оплаквания и наличието на симптоми на изследваните лица при контакт с латексови продукти, както и наличието на непоносимост/алергични реакции при консумация на определени храни, свързани с латексова алергия.

2.2. В процеса на работа бяха създадени за първи път в България два комбинирани латексови алергенни екстракта за прик-тест, получени по два различни метода - в съвместно сътрудничество с колегите от Лаборатория по Алергия към НЦЗПБ, гр. София.

2.3. За първи път беше извършена оценка на показателите за пролиферация, цитотоксичност, апоптоза и клетъчен метаболизъм на новосинтезираните латексови алергенни екстракти за прик-тест върху клетъчна култура стволони клетки от апикална зъбна папила SCAP. На базата на това изследване се направиха изводи и се дадоха препоръки за задълбочаване на проучванията върху единия латексов алергенен препарат (Latex C) във връзка с бъдещо внедряване в практиката.

VII. Публикации и научни съобщения във връзка с дисертационния труд:

1. **Истаткова, Я.**, М. Денчева. Алергия към латекс в денталната практика (литературен обзор). ПРОБЛЕМИ НА ДЕНТАЛНАТА МЕДИЦИНА Том 44 • 2018/1; 68-75
2. **Istatkova YA**, Dencheva M, Krasteva A, Nedeva D, Staevska M. Allergic or pseudo-allergic reaction to latex during prick-testing. Int J Med Rev Case Rep. 2020; 4(7): 13-16
3. **Istatkova Y**, M. Dencheva. Latex allergy – myth or reality among professionally involved medical staff – questionnaire survey. PROBLEMS OF DENTAL MEDICINE Vol. 46 • 2020/1; 26-34

* *Участие в обучителен курс и уъркшоп, проведен от фирма „Chemotechnique MB Diagnostics AB”, Vellinge, Sweden на тема “Patch testing in the diagnosis of contact allergy”, 22-26 октомври 2018.*

* *Участие в Седми Национален Конгрес по Алергология с Международно участие, ноември 2018г., Парк Хотел „Москва“, гр. София със следния постер: „Сравнително проучване на латексова алергия сред студенти и лекари по дентална медицина - пилотно проучване“ (Я. Истаткова, М. Денчева, Г. Николов, Е. Станев)*

* Участие в учебници:

- Участие в екип по създаването и отпечатването на протоколни тетрадки за нуждите на преподаването по дисциплината „Дентална клинична алергология“ за учебната 2019/2020г. - на български език с ISBN 978-619-239-243-7 и на английски език - съответно с ISBN 978-619-239-244-4.