

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра
Е.Н.Кроткова



« 24 » сентября 2021 г.

Регистрационный № 166-1221

МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ОТДЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ, ВОВЛЕКАЮЩИХ ИММУННЫЙ МЕХАНИЗМ, У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРЕС И КРЕС (МАРКЕРОВ Т- И В- КЛЕТОЧНОГО НЕОГЕНЕЗА)

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ:

государственное учреждение «Республиканский научно-практический
центр «Мать и дитя»,
государственное учреждение «Республиканский научно-практический
центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»

АВТОРЫ: д.м.н., доцент Гнедько Т.В., к.б.н., доцент Белевцев
М.В., Полякова Е.А., Старовойтова А.С., Берестень С.А.

Минск, 2021

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод диагностики отдельных нарушений, вовлекающих иммунный механизм, у недоношенных новорожденных с использованием TREC и KREC (маркеров Т- и В-клеточного неогенеза), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику указанных состояний.

Настоящая инструкция предназначена для врачей-неонатологов, врачей клинической лабораторной диагностики и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения III-IV технологического уровня оказания перинатальной помощи.

Показания к применению метода

- D83.0 общий переменный иммунодефицит с преобладающими отклонениями в количестве и функциональной активности В-клеток;
- D83.1 общий переменный иммунодефицит с преобладанием нарушений иммунорегуляторных Т-клеток;
- D83.2 общий переменный иммунодефицит с аутоантителами к В- или Т-клеткам.

Противопоказания к применению метода

Нет.

Перечень необходимых медицинских изделий, расходных материалов

Соответствует таковым для медицинских изделий, используемых для реализации метода, изложенного в инструкции по применению.

Гематологический анализатор; комплект оборудования и реагентов для определения количественного содержания эксцизионных колец Т- и В-клеточного рецептора методом мультиплексной ПЦР в реальном времени; комплект оборудования и реагентов для определения показателей гуморального и клеточного иммунитета с определением субпопуляций Т- и В-лимфоцитов методом проточной лазерной цитофлуориметрии на проточных цитофлуориметрах.

Описание технологии применения метода

Метод, изложенный в настоящей инструкции, реализуется в несколько этапов:

1 этап. Определение гематологических показателей периферической крови у недоношенных новорожденных с лимфоцитопенией.

2 этап. Определение количества копий маркеров Т- и В-клеточного неогенеза в сухом пятне крови.

3 этап. Определение субпопуляционного состава лимфоцитов у недоношенных новорожденных с нарушением иммунного механизма.

4 этап. Аналитическое заключение.

1 этап. Определение гематологических показателей периферической крови у недоношенных новорожденных с лимфоцитопенией

Определение гематологических показателей периферической крови с интерпретацией морфологических индексов у пациентов проводится в организациях здравоохранения I-IV уровня оказания перинатальной помощи.

Сохраняющееся снижение в периферической крови лимфоцитов $\leq 1,0 \times 10^9/\text{л}$ после 4 суток жизни свидетельствует о недостаточности неспецифической резистентности организма и является показанием к проведению 2 этапа.

2 этап. Определение количества копий маркеров Т- и В-клеточного неогенеза в сухом пятне крови

Полученные значения Т- и В-клеточного неогенеза, разделенные по сроку гестации у недоношенных новорожденных, могут быть использованы в качестве диагностических показателей иммунозависимой патологии, требующей дальнейшего обследования при условии:

1. у недоношенных новорожденных в сроке гестации 28 недель и менее – количество маркеров Т-клеточного неогенеза $< 6,4 \times 10^3$ на 10^6 лейкоцитов и/или количество маркеров В-клеточного неогенеза $< 8,1 \times 10^3$ на 10^6 лейкоцитов;

2. у недоношенных новорожденных в сроке гестации 29-32 недели – количество маркеров Т-клеточного неогенеза $< 7,0 \times 10^3$ на 10^6 лейкоцитов и/или количество маркеров В-клеточного неогенеза $< 6,2 \times 10^3$ на 10^6 лейкоцитов;

3. у недоношенных новорожденных в сроке гестации 33-36 недель – количество маркеров Т-клеточного неогенеза

$< 11,2 \times 10^3$ на 10^6 лейкоцитов и/или количество маркеров В-клеточного неогенеза $< 5,5 \times 10^3$ на 10^6 лейкоцитов.

Снижение одного или обоих маркеров Т- и В-клеточного неогенеза требует их повторного определения в 37 недель постконцептуального (гестационного+постнатального) возраста. Сохраняющиеся низкие значения копий маркеров Т- и В-клеточного неогенеза указывают на наличие генетических детерминированных заболеваний иммунной системы, что является показанием для проведения исследований 3 этапа.

3 этап. Определение субпопуляционного состава лимфоцитов у недоношенных новорожденных с нарушением иммунного механизма

Определение субпопуляций Т- и В-лимфоцитов проводится на проточных цитофлуориметрах по стандартным методикам фенотипирования лимфоцитов с набором многоцветных моноклональных антител для определения панели Т-лимфоцитов (CD3+) и В-лимфоцитов (CD19+).

Субпопуляционный состав лимфоцитов у недоношенных новорожденных (Т-лимфоциты и/или Т-хелперы и/или В-лимфоциты), указывающий на наличие общего переменного иммунодефицита с преобладающими отклонениями в количестве и функциональной активности В-клеток (D83.0), общего переменного иммунодефицита с преобладанием нарушений иммунорегуляторных Т-клеток (D83.1), общего переменного иммунодефицита с аутоантителами к В- или Т-клеткам (D83.2) свидетельствуют:

1. у недоношенных новорожденных в сроке гестации 28 недель и менее – количество Т-лимфоцитов (CD3+) $< 1,7 \times 10^9$ /л и/или Т-хелперов (CD3+CD4+) $< 31,7\%$ и/или В-лимфоцитов (CD19+) $< 0,9 \times 10^9$ /л;

2. у недоношенных новорожденных в сроке гестации 29-32 недели – количество Т-лимфоцитов (CD3+) < $2,9 \times 10^9$ /л и/или Т-хелперов (CD3+CD4+) < 35,9% и/или В-лимфоцитов (CD19+) < $0,6 \times 10^9$ /л;

3. у недоношенных новорожденных в сроке гестации 33-36 недель – количество Т-лимфоцитов (CD3+) < $3,9 \times 10^9$ /л и/или Т-хелперов (CD3+CD4+) < 55,5% и/или В-лимфоцитов (CD19+) < $0,5 \times 10^9$ /л.

4 этап. Аналитическое заключение

О наличии общего переменного иммунодефицита с преобладающими отклонениями в количестве и функциональной активности В-клеток (D83.0), общего переменного иммунодефицита с преобладанием нарушений иммунорегуляторных Т-клеток (D83.1), общего переменного иммунодефицита с аутоантителами к В- или Т-клеткам (D83.2) свидетельствует:

1. сохраняющееся снижение в периферической крови лимфоцитов $\leq 1,0 \times 10^9$ /л после 4 суток жизни;
2. сниженные или неопределяемые уровни показателей маркеров Т- и В-клеточного неогенеза к 37 неделе постконцептуального возраста;
3. сниженные показатели субпопуляции лимфоцитов.

Перечень возможных осложнений при применении метода

Возможные ошибки могут быть связаны с отсутствием контроля качества диагностических исследований и неправильной интерпретацией результатов.