

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Н. Кроткова

2023 г.

Регистрационный № 064-0623



МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО
ПРОЦЕССА ПРИ ДЕТСКОМ АУТИЗМЕ

Инструкция по применению

Учреждение-разработчик: государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр психического здоровья»

Авторы: д.м.н., доцент Докукина Т.В., к.б.н. Голубева Т.С.,
Мухартова О.М., Иваницкая В.Б., Гамова А.В., Натяженко Е.М.

Минск, 2023

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод определения активности патологического процесса при аутизме. Метод может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение пациентов с аутизмом.

Инструкция предназначена для врачей-психиатров-наркологов, врачей-неврологов, врачей лабораторной диагностики, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с аутизмом в стационарных и/или амбулаторных условиях, и/или условиях отделения дневного пребывания.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Детский аутизм (F84.0 по МКБ-10).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Не имеется.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РЕАКТИВОВ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Инструменты и расходные материалы:

шприцы одноразовые стерильные (5 мл) или вакутайнеры на 5 мл для взятия крови из вены;

стерильные иглы, стерильные пластиковые или стеклянные пробирки для взятия ликвора;

пробирки типа «эппендорф» (объемом 1,5 мл), криопробирки (объемом 2мл);

пробирки пластиковые (объемом 10 мл) для приготовления разведений;
стаканы мерные вместимостью 100, 200, 500 мл, цилиндры мерные
вместимостью 100 мл;
холодильник бытовой (+2... +8 °С) с морозильной камерой (минус 20 °С);
дозаторы пипеточные переменного объема от 0 до 1000 мкл;
секундомер механический лабораторный;
центрифуга типа «Вортекс», 2000 × g;
термостат, поддерживаемая температура от +18 °С до 60 °С;
фотометр для микропланшетов для проведения иммуноферментного
анализа, рабочие длины волн, нм – 450; 490; 540; 595; 650; 750;
штатив для пробирок лабораторный;
бумага фильтровальная;
вода деионизованная, дистиллированная высокой степени очистки.

2. ИФА-тест системы для выявления легких цепей
нейрофиламентов и фосфорилированной изоформы тау-белка.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Взятие крови, ее транспортировка, получение плазмы крови, получение сыворотки крови производится согласно приказу Министерства Здравоохранения Республики Беларусь «О порядке организации преаналитического этапа лабораторных исследований» (10.11.2015 г. N 1123).

Взятие крови следует производить натошак из локтевой вены одноразовой иглой (диаметр 0,8-1,1 мм) в количестве 5 мл в вакутайнер. После взятия крови пробирку следует плавно несколько раз перевернуть вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянтом. После перемешивания пробирку поместить в штатив.

Для получения сыворотки крови образцы центрифугируют при +4 °С при ускорении 1500 - 2000 × g не более 15 - 20 минут. Полученную сыворотку отделяют от форменных элементов крови и плотно закрывают пробирки крышкой. Если получена липемическая или гемолизированная сыворотка, образец выбраковывают.

Плазму крови получают путем центрифугирования пробирки с цельной кровью в течение 10-20 минут при ускорении 2000 × g, после чего плазму отбирают наконечниками (на 1 мл) с аэрозольным барьером и переносят в пробирки типа «эппендорф». Образцы плазмы крови следует разлить небольшими (0,1-0,3 мл) порциями в отдельные пробирки объемом 1,5 мл типа «эппендорф». Образцы, предназначенные для длительного хранения, отбирают в криопробирки на 2 мл с завинчивающимися крышками. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

Условия хранения и транспортирования материала: образцы цельной крови могут храниться при температуре от +18 до +22 °С – в течение 6 часов с момента получения материала, при температуре от +2 до +8 °С – не более одних суток; образцы плазмы крови: при температуре от +2 до +8 °С – в течение 5 суток; при температуре от минус 16 до минус 20 °С – в течение года. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала. Транспортирование пробирок с кровью и микропробирок с плазмой осуществляют в специальном термоконтейнере с охлаждающим элементом и наличием контрольного термометра при температуре от +2 до +8 °С.

Количественное определение маркеров повреждения нейронов: фосфорилированного тау-белка и легких цепей нейрофиламентов в биологическом материале проводится методом иммуноферментного анализа.

Таблица – Концентрации легких цепей нейрофиламентов в сыворотке крови и фосфорилированного тау-белка в плазме крови в норме, у пациентов с детским аутизмом

Показатель	Биологический материал	Патологический процесс при детском аутизме	Норма (пг/мл)
Фосфорилированный тау-белок (пг/мл)	Плазма крови	↑ выше 10 пг/мл	0-10
Нейрофиламенты легких цепей	Сыворотка крови	↑ выше 40 пг/мл	0-40 пг/мл

Уровень фосфорилированного тау-белка в плазме крови выше 10 пг/мл и уровень легких цепей нейрофиламентов в сыворотке крови выше 40 пг/мл указывают на высокую активность патологического процесса при детском аутизме, что требует назначения лечения с целью улучшения функционального состояния головного мозга.

Повышение уровня фосфорилированного тау-белка в плазме крови выше 10 пг/мл и уровня легких цепей нейрофиламентов в сыворотке крови выше 40 пг/мл указывают на прогрессирование патологического процесса при детском аутизме.

Снижение уровня фосфорилированного тау-белка в плазме крови ниже 10 пг/мл и уровня легких цепей нейрофиламентов в сыворотке крови ниже 40 пг/мл указывают на нормализацию патологического процесса при детском аутизме.

Данные согласно настоящей инструкции должны использоваться в сопоставлении с клиническими и нейропсихологическими показателями согласно клинико-диагностическим критериям (клинический протокол).

ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТОДА

Несоблюдение последовательности проведения этапов и технологии применения метода может приводить к потере биологического материала.

Для исключения ошибок необходимо соблюдать правила и рекомендации, изложенные в данной инструкции. Для обеспечения достоверности результатов образцы следует исследовать четырехкратно.

Ошибки при оценке результатов детекции биомаркеров (фосфорилированного тау-белка, нейрофиламентов легких цепей) методом иммуноферментного анализа могут быть обусловлены:

- нарушениями технологии приготовления анализируемых образцов (пробоподготовки), что приводит к получению ложноотрицательных результатов;
- при исследовании плазмы крови методом иммуноферментного анализа необходимо предварительно вносить в исследуемую пробирку специфические ингибиторы протеаз (концентрация 1 мМ), препятствующие разрушению биомаркеров;
- использованием реактивов с истекшим сроком годности или неправильно хранившихся.