

УТВЕРЖДАЮ  
Первый заместитель Министра  
Ю.Л.Горбич  
2025 г.  
Регистрационный № 040-06211

МЕТОД КОНТРОЛЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ  
СИНДРОМА ЗАВИСИМОСТИ ОТ АЛКОГОЛЯ

инструкция по применению

Учреждения-разработчики: государственное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси»; государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр психического здоровья»

Авторы: Шуриберко А.В., к.м.н. Бедин П.Г., к.б.н., доцент Голубева Т.С., к.м.н., доцент Григорьева И.В.

Минск- Гродно, 2024

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод контроля эффективности лечения синдрома зависимости от алкоголя (F10.2) путём определения в сыворотке крови прямого биохимического маркера потребления алкоголя – фосфатидилэтанола (ФЭ).

Инструкция предназначена для врачей-психиатров-наркологов, врачей лабораторной диагностики организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь в стационарных, амбулаторных условиях и/или отделениях дневного пребывания пациентов с синдромом зависимости от алкоголя.

## ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Синдром зависимости от алкоголя (F10.2).

## ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Отсутствуют. Ограничением к применению метода является установление факта приема алкоголя в 2-х недельный срок, предшествующий отбору биологического материала.

## ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РЕАКТИВОВ И РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Высокоэффективный жидкостной хроматограф (ВЭЖХ) с двухканальной градиентной системой подачи растворителей в паре с трехквартупольным масс-анализатором (ТQ-MS).

Весы лабораторные; центрифуга; вихревой смеситель; набор полуавтоматических дозаторов.

Реагенты: формиат аммония квалификации особо чистый (далее – осч), муравьиная кислота (осч), вода деионизированная, метанол (для

градиентной хроматографии), 2-пропанол (для градиентной хроматографии), стандартные образцы «фосфатидилэтанол».

Пробирки с антикоагулянтом (ЭДТА, гепарин).

Колонка для ВЭЖХ диаметром 2,1 × 50 мм с сорбентом C18 и размером частиц 1,8 мкм.

Защитная предколонка 2,1×5 мм с аналогичным сорбентом.

## ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

### **1. Определение концентрации фосфатидилэтанола в сыворотке крови**

В качестве биологического материала выступает венозная кровь, получение которой осуществляется общепринятыми методами в пробирку с антикоагулянтом (ЭДТА, гепарин). Хранение и транспортировка образца крови может осуществляться при температуре +4 °С в течение 72 часов, в случае необходимости более длительного хранения кровь замораживается и хранится при температуре минус 80 °С.

В пробирку объемом 1,5 мл вносят 100 мкл крови и 400 мкл 2-пропанола, смесь перемешивают на вихревом смесителе в течение 10 минут, центрифугируют при температуре 4°С в течение 10 минут при 15000 g. Надосадочную жидкость отбирают и используют для анализа.

Определение концентрации фосфатидилэтанола выполняют на ВЭЖХ с масс-анализатором (объем образца – 5 мкл) надосадочной жидкости: колонка диаметром 2,1 мм, длиной 50 мм с сорбентом C18 и размером частиц 1,8 мкм; защитная предколонка 2,1×5 мм с аналогичным сорбентом; температура колонки во время анализа 50°С.

Подвижная фаза (А): вода/метанол/2-пропанол 4/1/5 (об./об./об.) содержит также 0,1% муравьиной кислоты и 5 мМ формиата аммония.

Подвижная фаза (B): вода/2-пропанол 1/99 (об./об.) содержит также 0,1% муравьиной кислоты и 5 мМ формиата аммония. Разделение выполняют в режиме градиентного элюирования согласно профилю в таблице.

Идентификацию соединения проводят на трехквadrупольном масс-анализаторе в режиме мониторинга реакции (Dynamic MRM) ион-прекурсора (701,5 m/z) и дочернего иона (281,2 m/z) используя отрицательную ионизацию. Количественную обработку хроматограмм проводят по измерению площади пиков реакции 701,5→281,2 m/z.

Калибровочную кривую получают на концентрациях стандартного раствора фосфатидилэтанола (от 0 до 2000 нг/мл в 2-пропанолe, 10 точек концентраций).

Таблица – Градиентное элюирование и параметры бинарного насоса

Время, мин	Элюент «А» %	Элюент «В» %	Скорость потока мл/мин
0,00	100,0	0,0	0,300
1,00	100,0	0,0	0,300
2,00	70,0	30,0	0,300
3,00	25,0	75,0	0,300
7,00	5,0	95,0	0,300
9,00	0,0	100,0	0,300
10,00	0,0	100,0	0,350
12,00	100,0	0,0	0,350
17,00	100,0	0,0	0,350

## 2. Оценка полученных результатов

В случае, когда концентрация фосфатидилэтанола достигает у мужчин 495 нг/мл и выше лечение предполагается неэффективным: установлен факт употребления алкоголя в течение предшествующих 2 недель. В случае, когда концентрация фосфатидилэтанола достигает у женщин 385 нг/мл и выше лечение предполагается неэффективным: установлен факт употребления алкоголя в течение предшествующих 2 недель.

## ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОШИБОК И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Искажение результатов лабораторных исследований может произойти по следующим причинам: неправильное хранение образцов крови; использовании реагентов с истекшим сроком годности или неточном их дозировании; нарушении алгоритма проведения ВЖХ анализа.