

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра
Е.Л.Богдан
«26» сентября 2020 г.
Регистрационный № 077-0820

**МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ В2 –
МИКРОГЛОБУЛИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ**
инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», учреждение здравоохранения «2-я городская детская клиническая больница» г.Минска

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Козыро И.А., д.м.н., профессор, академик НАН Беларуси Сукало А.В., Белькевич А.Г., Тур Н.И.

Минск, 2020

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель министра

_____ Е. Л. Богдан

26.08.2020

Регистрационный № 077-0820

**МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ β 2-МИКРОГЛОБУЛИНА
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: УО «Белорусский государственный
медицинский университет», УЗ «2-я городская детская клиническая больница»
г. Минска

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. И. А. Козыро, д-р мед. наук, проф., акад. НАН
Беларуси А. В. Сукало, А. Г. Белькевич, Н. И. Тур

Минск 2020

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложены методы определения содержания β 2-микроглобулина (β 2-МГ) в сыворотке крови и моче, которые могут быть использованы в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику наследственных нефропатий и нарушений, развивающихся в результате дисфункции почечных канальцев.

Инструкция предназначена для врачей-педиатров, врачей-нефрологов, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих помощь пациентам, страдающим заболеваниями органов мочевыводящей системы, в частности, наследственными болезнями почек с поражением клубочкового (наследственный нефрит) и канальцевого (тубулопатии) аппарата в стационарных и/или амбулаторных условиях, и/или в условиях отделений дневного пребывания.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Лабораторная посуда: бесцветные, полипропиленовые пробирки типа «эппендорф» объемом 1,5 мл; многоканальный дозатор объемом 100 мкл, пипетки на 10, 100 и 1000 мкл, мерный цилиндр объемом 100 и 1000 мл.
2. Многоместный вортекс с диапазоном скорости от 1200 до 2400 об/мин.
3. Холодильник бытовой (2–8 °С) с морозильной камерой (-20 °С).
4. Дистиллированная или деионизированная вода.
5. Иммуноферментный анализатор с микропланшетным ридером с диапазоном длин волн 400–750 нм.
6. Лабораторный таймер.
7. Набор реагентов для определения содержания β 2-МГ в сыворотке крови и моче.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. МКБ-10: N07. — Наследственная нефропатия, не классифицированная в других рубриках.
2. МКБ-10: Q87.8. — Другие уточненные синдромы врожденных аномалий, не классифицированные в других рубриках.
3. МКБ-10: N25. — Нарушения, развивающиеся в результате дисфункции почечных канальцев.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ β 2-МИКРОГЛОБУЛИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Получение биологического материала

Получение венозной крови и сыворотки осуществляется согласно общепринятым методам забора, хранения и транспортировки образцов биологических сред.

Подготовка реагентов

Промывочный раствор: перед использованием содержимое одной пробирки (20 мл) с буферным промывочным раствором развести с дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл.

Образцовый буфер: перед использованием развести содержимое одной пробирки (20 мл) образцового буфера дистиллированной водой до объема 100 мл.

Приготовление образцов

Разведение сыворотки производится в соотношении 1:100. Для этого 10 мкл сыворотки необходимо добавить к 990 мкл образцового буфера.

Определение содержания β 2-МГ и подсчет результатов

1. Приготовить достаточное количество микромодулей для всех калибраторов, контролей и образцов пациентов.

2. Распределить 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно приготовленных образцов в ячейки.

3. Инкубировать 30 мин при комнатной температуре (20–28 °С).

4. Удалить содержимое ячеек и промыть 3 раза 300 мкл промывочного раствора.

5. Распределить 100 мкл ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубировать 15 мин при комнатной температуре.

7. Удалить содержимое ячеек и промыть 3 раза 300 мкл промывочного раствора.

8. Распределить 100 мкл ТМВ-раствора в каждую ячейку.

9. Инкубировать 15 мин при комнатной температуре.

10. Добавить 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку.

11. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре.

12. Прочитать оптическую плотность при 450 нм и посчитать результат.

13. Для получения количественных результатов необходимо построить график зависимости оптической плотности каждого калибратора от его концентрации для построения калибровочной кривой. Концентрация образцов пациентов может быть оценена по калибровочной кривой путем интерполяции.

Предполагаемые значения

Установлены следующие нормальные референтные значения β 2-МГ в сыворотке крови: 0–3 мг/л.

Практическое применение метода

Определение содержания β 2-МГ в сыворотке крови у нефрологических пациентов может быть информативно для оценки степени повреждения нефрона и диагностики хронической болезни почек (ХБП). Содержание сывороточного β 2-МГ ≥ 3 мг/л позволяет диагностировать ХБП у пациентов с наследственным нефритом и тубулопатиями, когда основные показатели, используемые в настоящее время (креатинин, СКФ, протеинурия) остаются в пределах возрастной нормы. Определение данного биомаркера имеет высокую диагностическую эффективность: чувствительность — 100 %, специфичность — 99,9 %.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ β 2-МИКРОГЛОБУЛИНА В МОЧЕ

Получение биологического материала

Получение образцов мочи осуществляется согласно общепринятым методам забора, хранения и транспортировки образцов биологических сред.

Подготовка реагентов

Промывочный раствор: перед использованием содержимое одной пробирки с буферным промывочным раствором развести с дистиллированной водой до конечного объема 1000 мл.

Образцовый буфер: перед использованием развести содержимое одной пробирки (20 мл) образцового буфера дистиллированной водой до объема 100 мл.

Приготовление образцов

Разведение мочи производится в соотношении 1:10. Для этого 100 мкл мочи необходимо добавить к 900 мкл образцового буфера.

Определение содержания β 2-МГ и подсчет результатов

1. Приготовить достаточное количество микромодулей для всех калибраторов, контролей и образцов пациентов.

2. Распределить 100 мкл калибраторов, контролей и предварительно приготовленных образцов в ячейки.

3. Инкубировать 30 мин при комнатной температуре (20–28 °С).

4. Удалить содержимое ячеек и промыть 3 раза 300 мкл промывочного раствора.

5. Распределить 100 мкл ферментного конъюгата в каждую ячейку.

6. Инкубировать 15 мин при комнатной температуре.

7. Удалить содержимое ячеек и промыть 3 раза 300 мкл промывочного раствора.

8. Распределить 100 мкл ТМВ-раствора в каждую ячейку.

9. Инкубировать 15 мин при комнатной температуре.

10. Добавить 100 мкл стоп-раствора в каждую ячейку.

11. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре.

12. Прочитать оптическую плотность при 450 нм и посчитать результат.

13. Для получения количественных результатов необходимо построить график зависимости оптической плотности каждого калибратора от его концентрации для построения калибровочной кривой. Концентрация образцов пациентов может быть затем оценена по калибровочной кривой путем интерполяции.

Предполагаемые значения

Установлены следующие нормальные референтные значения β 2-МГ в моче: 0–0,3 мг/л.

Практическое применение метода

Определение содержания β 2-МГ в моче у пациентов с болезнями мочевыделительной системы может быть информативно для оценки степени повреждения нефрона и диагностики ХБП. Содержание мочевого β 2-МГ $\geq 0,3$ мг/л позволяет диагностировать ХБП у пациентов с наследственным нефритом и тубулопатиями, когда основные показатели, используемые в настоящее время,

остаются в пределах возрастной нормы. Определение содержания β 2-МГ в моче является не инвазивным методом диагностики повреждения почек и ХБП, что обеспечивает отсутствие осложнений, которые могут возникать при заборе крови у пациента. Определение данного биомаркера имеет высокую диагностическую эффективность: чувствительность — 100 %, специфичность — 99,9 %.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Осложнения отсутствуют.

Ошибки могут отмечаться на этапах получения биологического материала, подготовке реагентов и приготовлении образцов. На первом этапе к ошибкам могут приводить: прием пациентами лекарственных средств, которые могут повлиять на забор крови и мочи, получение биологического материала после проведения других диагностических процедур. Неправильное разведение реагентов и образцов могут привести к ложным количественным данным при определении содержания маркера и подсчете результатов.

Во избежание подобных ошибок при исследовании необходимо строго следовать всем методическим требованиям.