

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Министра

Д.В. Чередниченко

« 08.12. » 2021 г.

Регистрационный № 131-1121



**МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ
ЭНЦЕФАЛОПАТИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННО-ПЛАЦЕНТАРНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУ «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»,

ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфизиологии и медицинских биотехнологий»

АВТОРЫ: д.м.н, доц. М.Г. Девялтовская, д.м.н., проф. М.П. Потапнёв,
к.х.н. Н.В. Петёвка, И.А. Винокурова, В.С. Костюнина

Минск, 2021

В настоящей инструкции по применению (далее - инструкция) изложен метод лечения гипоксической ишемической энцефалопатии (Р 91.6), основанный на применении мезенхимальных стромальных клеток (МСК) пуповинно-плацентарного происхождения.

Инструкция предназначена для врачей-неонатологов, врачей-педиатров, врачей-неврологов детских, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения III-IV технологических уровней, оказывающих медицинскую помощь детям.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Гипоксическая ишемическая энцефалопатия (Р 91.6).
2. Гестационный возраст ребенка при рождении 22-32 недели.
3. Выраженное отставание в психоневрологическом развитии (отставание на 50% и более от нормального уровня).
4. Результаты клинико-лабораторных исследований в пределах возрастной нормы.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Наличие у матери маркеров инфекционных гепатитов (В18.1, 18.2), вируса иммунодефицита человека (В20), онкологических заболеваний.
2. Хромосомные, генетические, онкологические, заболевания у ребенка. .

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, РЕАКТИВОВ

Стандартный перечень необходимых медицинских изделий определен приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 14.11.2008 № 1044 «Об утверждении примерного табеля оснащения

изделиями медицинского назначения и медицинской техники амбулаторно-поликлинических и больничных организаций здравоохранения».

Для получения МСК необходимы :

- морозильная камера (- 80 °С),
- холодильник бытовой с морозильной и холодильной камерами,
- ламинарный бокс 2-го класса защиты,
- автоматические дозаторы переменного объема (пипетатор),
- хирургические инструменты (ножницы, скальпель, пинцеты),
- термостатируемая водяная баня,
- центрифуга стационарная с охлаждением,
- микроскоп биологический,
- микроскоп инвертированный,
- CO₂ инкубатор,
- криогенный резервуар для жидкого азота,
- проточный цитофлуориметр,
- бактериологический анализатор,
- автоклав.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

I этап – Получение материала пуповинно-плацентарного комплекса

Фрагмент пуповинно-плацентарного комплекса получают у матерей, которые поступили в роды со сроком гестации 22-32 недели. Уточняются данные анамнеза, особенности течения беременности и родов (Приложение 1). Роженица подписывает информированное согласие на взятие образца пуповинно-плацентарного комплекса (Приложение 2).

Образец пуповинно-плацентарного комплекса (фрагмент пуповины длиной 10-15 см) помещают в стерильные контейнеры для сбора

биологического материала и хранят при температуре 4-8°C в холодильнике до момента транспортировки в производственную лабораторию. Транспортировка производится в термоконтейнере в течение не более 3-х часов с момента забора ткани.

II этап – Медицинская помощь недоношенным детям первого года жизни с гипоксической ишемической энцефалопатией

Наблюдение и обследование новорожденных осуществляется согласно отраслевым стандартам обследования и лечения детей в стационарных условиях (приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 30.09.2003 № 156) и «Клиническим протоколам диагностики, реанимации и интенсивной терапии в неонатологии», утвержденным приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28.01.2011 г. № 81.

Объем диагностических исследований на стационарном этапе оказания медицинской помощи:

- Медицинский осмотр с оценкой соматического статуса, уровня психоневрологического развития.
- Нейросонография, по показаниям – рентгеновская компьютерная томография, магнитно-резонансная томография головного мозга.
- Электроэнцефалография.
- Клинико-лабораторная диагностика:
 - общий анализ крови;
 - общий анализ мочи;
 - биохимический анализ крови: С-реактивный белок, общий белок, белковые фракции, глюкоза, щелочная фосфатаза, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, билирубин, фракции билирубина, ферритин, трансферрин, мочевины, креатинин, железо, кальций, магний, фосфор, калий, натрий, хлор;

- посев крови на стерильность;
- мазок из 3-х локусов на флору и чувствительность к антибиотикам.
- Иммуноферментный анализ и полимеразная цепная реакция образцов крови на TORCH-инфекции.

На основании оценки результатов вышеперечисленных диагностических исследований: отсутствие дыхательной недостаточности, гемодинамических нарушений, судорожной активности головного мозга, врожденных пороков развития головного мозга, данные клинико-лабораторных анализов соответствуют возрастной норме, посев крови стерилен, мазок из 3-х локусов на флору отрицательный, TORCH-инфекции методом полимеразной цепной реакции не выявлены – принимается решение о наличии показаний для введения МСК пуповинно-плацентарного происхождения.

III этап – Получение МСК пуповинно-плацентарного происхождения

МСК пуповинно-плацентарного комплекса получают в соответствии с технологическим регламентом "Биомедицинский клеточный продукт "Клетки мезенхимальные стромальные человека", ЛТР ЛБКК 05-2020, разработанным и утверждённым в ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий» при соблюдении параметров качества, указанных в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели и методы контроля качества клеточного продукта

Наименование показателя	Характеристика и норма	Метод контроля
Внешний вид	Суспензия клеток в прозрачной слегка опалесцирующей бесцветной жидкости	визуально
Концентрация клеток в	От 1×10^6 до 8×10^6	ГФ РБ II, т.1, 2.7.29.

пробирке, клетки/мл		
Количество жизнеспособных клеток	Не менее 95 %	ГФ РБ II, т.1, 2.7.29.
Подлинность клеток (иммунофенотипическая характеристика)	CD 90 ⁺ – не менее 95 % CD 105 ⁺ – не менее 95 % CD 34 ⁺ – не более 5 % CD 45 ⁺ – не более 5 %	ГФ РБ II, т.1, 2.7.24.
Стерильность	Должны быть стерильными	Инструкция по применению от 19 марта 2010 г. № 075-0210

Полученный продукт должен пройти контроль стерильности в соответствии с Инструкцией по применению «Микробиологические методы исследования биологического материала» (регистрационный № 075-0210), утвержденной МЗ РБ 19.03.2010 г.. Контроль количества, жизнеспособности и подлинности клеток на момент их выдачи проводит специализированная лаборатория в соответствии с утверждёнными для лекарственных средств методами Государственной Фармакопеи Республики Беларусь (таблица 1).

Допускается длительное хранение криоконсервированных МСК пуповинно-плацентарного происхождения в специализированных хранилищах при температуре паров жидкого азота.

Готовые для введения МСК пуповинно-плацентарного происхождения поставляются в термоконтейнере при комнатной температуре в течение 2-4 часов после производства в маркированных пробирках, в которых содержится взвесь клеток в 0,9% растворе натрия хлорида, содержащем 0,5% альбумин человека.

IV этап – Введение ребенку МСК пуповинно-плацентарного происхождения

- Проведение консилиума с целью принятия комиссионного решения о показаниях для введения пациенту МСК пуповинно-плацентарного происхождения.
- Проведение беседы с матерью/законным представителем о состоянии здоровья ребенка и показаниях для введения МСК. Получение письменного согласия матери/законного представителя ребенка на внутривенное введение МСК пуповинно-плацентарного происхождения.
- Введение МСК пуповинно-плацентарного происхождения осуществляется ребенку при наличии показаний в дозе от 3 до 7 млн клеток на кг веса внутривенно со скоростью 1,5-2 мл/мин. Введение осуществляется в процедурном кабинете на стационарном этапе оказания медицинской помощи. Во время введения и в течение 1 часа после пациент наблюдается лечащим врачом в процедурном кабинете, Из стационара ребенок выписывается не ранее 48 часов после введения МСК.
- Первое введение МСК пуповинно-плацентарного происхождения ребенок получает в возрасте 3-х месяцев. Второе и последующие введения производятся при наличии (сохранении ранее установленных) показаний с интервалом в 3 месяца: в возрасте 6, 9, 12 месяцев.

V этап – Оценка эффективности метода лечения гипоксической ишемической энцефалопатии с применением МСК пуповинно-плацентарного происхождения

Наблюдение за недоношенными детьми с гипоксической ишемической энцефалопатией после выписки из стационара осуществляется в организациях здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь на амбулаторно-поликлиническом этапе по месту жительства/месту пребывания ребенка.

- На первом году жизни врач-невролог детский оценивает уровень психоневрологического развития ребенка в 3, 6, 9, 12 месяцев, по показаниям – чаще. При выявлении отставания в уровне психоневрологического развития на 50% и более пациент направляется на стационарный этап для лечения с применением МСК пуповинно-плацентарного происхождения.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

При точном соблюдении настоящей инструкции ошибки и осложнения исключены.

СВЕДЕНИЯ О РОЖЕНИЦЕ

1. ФИО _____

2. Возраст _____ 3. Адрес _____

4. Диагноз:
Основной _____

Сопутствующий _____

Осложнения _____

5. Заболевания, перенесенные матерью _____

в т.ч. во время настоящей беременности _____

Кроме того *:

а) Малярия	Да	Нет
б) Туберкулез	Да	Нет
в) Венерические заболевания	Да	Нет
г) Онкологические заболевания	Да	Нет
е) Заболевания крови	Да	Нет
ж) Гемолитическая анемия	Да	Нет
з) Вирусные инфекции	Да	Нет
и) Трансплантация органов	Да	Нет
к) Диабет (если да, указать какого типа)	Да	Нет

Исследование	Дата	Заключение	Подпись
Наличие анти-ВГС,			
Наличие HBsAg,			
Исследование на ВИЧ			

7. Возраст отца ребенка _____

8. Заболевания, перенесенные отцом ребенка _____

9. Сведения, подлежащие уточнению *:

- Не было ли среди членов семей роженицы или отца лиц:
 - а) С заболеваниями крови (в частности гемофилией, гемолитической анемией, лейкозами)

	Да	Нет
--	----	-----
 - б) С психическими болезнями

	Да	Нет
--	----	-----
 - в) С наследственными заболеваниями

	Да	Нет
--	----	-----
- Отказывали ли роженице быть донором крови?

	Да	Нет
--	----	-----
- Принимала ли роженица таблетки или другие лекарственные препараты за последние 4 недели?

	Да	Нет
--	----	-----

Если да, то какие? _____

10. Сведения о настоящих родах *:

Были ли осложнения в настоящих родах? _____ Да Нет

Если да, то какие? _____

11. Сведения о новорожденном:

Пол ребёнка _____ Вес _____ Рост _____

(* - нужное подчеркнуть)

Сведения предоставлены _____

должн., Ф.И.О.,

(подпись)

Информированное согласие
на взятие образца пуповинно-плацентарного комплекса

Я, _____,
(ФИО, год рождения)

проживающая по адресу _____,

даю добровольное согласие на взятие образца пуповинно-плацентарного комплекса (пуповины) с целью его использования для лечения моего ребенка. Врачом, ответственным за взятие образца пуповинно-плацентарного комплекса (пуповины), мне была предоставлена информация о целях забора образца. Меня проинформировали, что процедура получения образца пуповинно-плацентарного комплекса (пуповины) происходит после родов и абсолютно безвредна для меня и моего ребенка.

Я даю согласие на:

1. Взятие образца пуповинно-плацентарного комплекса (пуповины) после рождения ребенка с целью его использования для получения мезенхимальных стромальных клеток, которые будут применяться по показаниям для лечения моего ребенка.
2. Опубликование результатов исследований в открытой печати при условии, что никакая информация, позволяющая идентифицировать мою личность, опубликована не будет.

Я ознакомлена с тем, что могу получить все результаты обследования образца пуповинно-плацентарного комплекса (пуповины).

Я ознакомлена с тем, что в любой момент могу отказаться от процедуры взятия образца пуповинно-плацентарного комплекса (пуповины) без объяснения причин, и это не повлечет изменения отношения ко мне и моему ребенку со стороны лечащих врачей.

Меня информировали о том, что мое имя и адрес будут храниться конфиденциально и могут быть выданы только представителям уполномоченных государственных контролирующих органов.

Мне известно, что я не получу никакой денежной компенсации за участие в процедуре взятия образца пуповинно-плацентарного комплекса (пуповины).

(Подпись)

Врач, ответственный за процедуру,

(Дата)

(ФИО)
