

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра  
Е.Н.Кроткова



« 4 » *апреля* 20 *21* 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

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Е. Н. Кроткова

24.12.2021

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: ГУ «Республиканский научно-практический центр “Мать и дитя”», ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, доц. Т. В. Гнедько, канд. биол. наук, доц. М. В. Белевцев, Е. А. Полякова, А. С. Старовойтова, С. А. Берестень

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 T- и B-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.

### **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

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

1. Гематологический анализатор.
2. Комплект оборудования и реагентов для определения количественного содержания эксцизионных колец T- и B-клеточного рецептора методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.
3. Комплект оборудования и реагентов для определения показателей гуморального и клеточного иммунитета с определением субпопуляций T- и B-лимфоцитов методом проточной лазерной цитофлуориметрии на проточных цитофлуориметрах.

### **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

1. Общий переменный иммунодефицит с преобладающими отклонениями в количестве и функциональной активности B-клеток (МКБ-10: D83.0).
2. Общий переменный иммунодефицит с преобладанием нарушений иммунорегуляторных T-клеток (МКБ-10: D83.1).
3. Общий переменный иммунодефицит с аутоантителами к B- или T-клеткам (МКБ-10: D83.2).

### **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Отсутствуют

### **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА**

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

#### **Этап 1. Определение гематологических показателей периферической крови у недоношенных новорожденных с лимфоцитопенией**

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

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

### **Этап 2. 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:

а) 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;

б) 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;

в) 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 этапа 3.

### **Этап 3. 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 (МКБ-10: D83.0), общего переменного иммунодефицита с преобладанием нарушений иммунорегуляторных Т-клеток (МКБ-10: D83.1), общего переменного иммунодефицита с аутоантителами к В- или Т-клеткам (МКБ-10: D83.2) свидетельствуют:

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

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

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

#### **Этап 4. Аналитическое заключение**

О наличии общего переменного иммунодефицита с преобладающими отклонениями в количестве и функциональной активности В-клеток (МКБ-10: D83.0), общего переменного иммунодефицита с преобладанием нарушений иммунорегуляторных Т-клеток (МКБ-10: D83.1), общего переменного иммунодефицита с аутоантителами к В- или Т-клеткам (МКБ-10: D83.2) свидетельствует:

а) сохраняющееся снижение в периферической крови лимфоцитов  $\leq 1,0 \times 10^9/\text{л}$  после 4 сут жизни;

б) сниженные или неопределяемые уровни показателей маркеров Т- и В-клеточного неогенеза к 37 неделе постконцептуального возраста;

в) сниженные показатели субпопуляции лимфоцитов.

#### **ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

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