

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Н. Кроткова

29.09.2023

Регистрационный № 025-0423

МЕТОД ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет», учреждение здравоохранения «Гродненский областной клинический перинатальный центр»

АВТОРЫ: к.м.н. доцент Ганчар Е.П., д.м.н., профессор Гутикова Л.В., к.м.н., доцент Зверко В.Л., Колесникова Т.А., к.б.н., доцент Дорошенко Е.М., к.б.н. Смирнов В.Ю.

Гродно, 2023

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод прогнозирования преэклампсии (ПЭ) у беременных в сроке 11-13 недель, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику ПЭ.

Метод, изложенный в настоящей инструкции, предназначен для врачей-акушеров-гинекологов, врачей лабораторной диагностики и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь беременным в стационарных и/или амбулаторных условиях.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Z32.1 – Беременность 11-13 недель.

Наличие одного и более фактора материнского риска: экстрагенитальная патология (заболевания сердечно-сосудистой системы, эндокринопатии, болезни почек, печени); преэклампсия в предыдущей беременности; возраст до 20 лет и старше 30 лет; многоплодие; ожирение; тромбофилии; антифосфолипидный синдром.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ

1. Высокоэффективный жидкостный хроматограф (ВЭЖХ) с 4-канальной градиентной системой подачи растворителей и детектором флуоресценции.
2. Установка для мембранной фильтрации растворителей для ВЭЖХ с мембранными фильтрами 0,22 мкм и вакуумным насосом.
3. Лабораторное оборудование:
 - центрифуга для микропробирок Эппендорфа 1,6 мл с охлаждением, развивающая не менее 13000 g;

- весы аналитические с ценой деления 0,1 мг;
- магнитная мешалка;
- рН-метр;
- набор автоматических дозаторов со сменными наконечниками от 2 до 1000 мкл.

4. Пластиковые пробирки объемом 5 мл с 3,8% раствором цитрата натрия из расчета, что соотношение объемов крови и цитрата натрия должно быть 9:1, или аналогичные пробирки с гепарином или ЭДТА динатриевой солью.

5. Реактивы:

- натрия ацетат 3-водный;
- кислота уксусная ледяная;
- о-фталевый альдегид;
- 3-меркаптопропионовая кислота;
- метанол «для градиентной ВЭЖХ»;
- ацетонитрил «для градиентной ВЭЖХ»;
- ЭДТА динатриевая соль;
- натрия борат 10-водный;
- хлорная кислота;
- норвалин.

6. Стандарты веществ: аспарат, асимметричный диметиларгинин.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

ЭТАП 1. Определение концентрации аспартата и асимметричного диметиларгинина в плазме крови

Утром натощак из локтевой вены в пробирку, содержащую антикоагулянт, забирается кровь. Кровь центрифугируется при 5 °С при 1500 об/мин в течение 15 минут, отделяется плазма. Объем плазмы, необходимой для исследования, составляет 0,1 мл. К пробе плазмы крови

добавляется равный объем 1 моль/л раствора хлорной кислоты, содержащей 0,5-1 ммоль/л норвалина, после чего центрифугируется при 5 °С 15 минут при 10 000–12 000 g, супернатант отделяется от осадка.

Определение концентрации аспартата и асимметричного диметиларгинина провести с помощью обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколоночной дериватизацией с *o*-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой и детектированием по флуоресценции. Для определения использовать колонку диаметром 2,1 мм и длиной 150 мм с неподвижной фазой типа C₁₈, двойным эндкэпированием, стабильной в диапазоне рН 2–9, размер частиц не более 3,5 мкм, и предколонку размером 2,1×12,5 мм с тем же сорбентом. Скорость потока элюента 0,2 мл/мин.

Предколоночную дериватизацию проводят непосредственно перед вводом проб в хроматограф путем смешивания пробы (0,2 мкл) с 20-кратным объемом 0,4 М Na-боратного буфера, рН 9,4, затем – с 0,3 мкл раствором, содержащим 0,4% *o*-фталевого альдегида и 0,3% 3-меркаптопропионовой кислоты в 0,4 М Na-боратном буфере, затем пробы нейтрализуют смешиванием с 2% раствором уксусной кислоты до слабокислой среды и немедленно вводят в колонку.

Подвижная фаза: 0,1 М Na-ацетатный буфер, рН 4,85, содержащий 20 мг/л ЭДТА (А); ацетонитрил/вода 7/3 (об./об.) (В), метанол/вода 7/3 (об./об.) (С), 0,1 М раствор ацетата натрия, содержащий 20 мг/л ЭДТА (D).

Градиентное элюирование от 3,5 до 100% В, с изменением соотношения В/С и А/D в ходе анализа, за 69,5 минут (полный цикл до начала дериватизации следующей пробы – 81,5 минут); температура колонки 35 °С. Процентное соотношения компонентов подвижной фазы (профиль градиента) приведено в таблице.

Таблица – Профиль градиентного элюирования

Время, мин	%A	%B	%C	%D
0	10,5	3,5	0,0	86,0
1,5	10,2	6,5	0,0	83,3
3	7,7	9,5	0,0	82,8
9	7,6	10,4	0,0	82,0
9,01	14,0	10,4	0,0	75,6
12,50	12,0	11,0	0,0	77,0
12,51	6,5	11,0	0,0	82,5
16	6,5	11,5	0,0	82,0
17	13,8	5,5	13,5	67,2
23	12,7	5,5	19,5	62,3
24	12,7	6,5	19,0	61,8
25	6,1	10,6	14,0	69,3
37	5,9	19,0	8,0	67,1
43	6,1	25,0	7,0	61,9
43,5	15,4	25,5	6,5	52,6
52,8	14,8	31,7	2,9	50,6
53	5,1	35,0	0,0	59,9
58	4,6	42,0	0,0	53,4
61	0,0	40,0	60,0	0,0
68	0,0	40,0	60,0	0,0
69,5	10,5	3,5	0,0	86,0

Для калибровки использовать эталонный раствор, содержащий аспарат и асимметричный диметиларгинин (по 0,5–1 мМ). Данный раствор при пробоподготовке обрабатывается так же, как пробы плазмы крови.

Идентификацию определяемых соединений и количественную обработку хроматограмм проводить с использованием метода внутреннего стандарта (норвалин). Для определения использовать сигнал детектора флуоресценции на длинах волн 338/455 нм.

ЭТАП 2. Оценка полученных результатов

Оценку вероятности развития преэклампсии вычисляем по формуле:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}},$$

где p – вероятность развития преэклампсии;

$z = b_0 + b_1[\text{Asp}] + b_2[\text{ADMA}]$; $b_0 = -12,5$; $b_1 = 0,029$; $b_2 = 12$; $[\text{Asp}]$ – концентрация аспартата (мкмоль/л); $[\text{ADMA}]$ – концентрация асимметричного диметиларгинина (мкмоль/л);

e – основание натурального логарифма ($e = 2,718$).

При расчетном значении $p > 0,461$ прогнозируется высокая вероятность развития преэклампсии.

Оценка качества множественной логистической регрессионной модели: Критерий Хосмера-Лемешова ($\chi^2 = 1,46$; $p = 0,99$); чувствительность метода – 88,9%, специфичность – 85,0%, прогностическая ценность положительного результата – 84,2%, прогностическая ценность отрицательного результата – 89,5%.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Осложнения отсутствуют.

Искажение результатов лабораторных исследований может произойти по следующим причинам: неправильное получение и хранение венозной крови; использование реактивов с истекшим сроком годности или неправильно хранившихся; нарушение технологии ВЭЖХ.

название

учреждения

здравоохранения

УТВЕРЖДАЮ

Главный врач

И. О. Фамилия
«__» _____ 202__ г.
МП

А К Т

учета практического использования инструкции по применению

1. Инструкция по применению: *«Метод прогнозирования преэклампсии»*.
2. Утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 29.09.2023 № 025-0423.
3. Кем предложена разработка: *сотрудниками УО «Гродненский государственный медицинский университет» к.м.н. доцентом Ганчар Е.П., д.м.н. профессором Гутиковой Л.В., к.б.н., доцентом Дорошенко Е.М., к.б.н. Смирновым В.Ю, сотрудниками УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр» главным врачом, к.м.н., доцентом Зверко В.Л., заведующим отделением патологии беременности Колесниковой Т.А.*
4. Материалы инструкции использованы для _____

5. Где внедрено: _____
подразделение и название учреждения здравоохранения

6. Результаты применения метода за период с _____ по _____
общее кол-во наблюдений «_____»,
из них положительные «_____», отрицательные «_____».

7. Эффективность внедрения (восстановление трудоспособности, снижение заболеваемости, рациональное использование коечного фонда, врачебных кадров и медицинской техники) _____

8. Замечания, предложения: _____

_____ 202__ г.

Ответственные за внедрение

должность _____ подпись _____ И. О. Фамилия _____

Примечание: акт о внедрении направлять по адресу:
кафедра акушерства и гинекологии
УО «Гродненский государственный медицинский университет»
ул. Горького, 80; 230009, г. Гродно

