

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра
Д.Л. Пиневиц
07 декабря 2017 г.
Регистрационный № 116-1117

**МЕТОД МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ
ПРОГНОСТИЧЕСКИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФОРМ
МЕЛАНОМЫ КОЖИ**

Инструкция по применению

Учреждение–разработчик: Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской
радиологии им. Н.Н. Александрова»

Авторы: д.м.н. Е.В. Шаповал, д.м.н. А.С. Портянко, к.м.н. А.Г. Жуковец,
к.м.н. Е.И. Субоч, к.м.н. П.Г. Киселев, А.М. Пашкевич, М.В. Якимова,
Е.Н. Хоревич, К.Г. Рукша

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д.Л. Пиневиц
01.12.2017

Регистрационный № 116-1117

**МЕТОД МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ
ПРОГНОСТИЧЕСКИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФОРМ
МЕЛАНОМЫ КОЖИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

АВТОРЫ: д-р мед. наук Е.В. Шаповал, д-р мед. наук А.С. Портянко, канд. мед. наук А.Г. Жуковец, канд. мед. наук Е.И. Субоч, канд. мед. наук П.Г. Киселев, А.М. Пашкевич, М.В. Якимова, Е.Н. Хоревич, К.Г. Рукша

Минск 2018

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод оценки прогностически неблагоприятных форм меланомы кожи, основанный на определении уровня экспрессии панели микроРНК (мкРНК-21, мкРНК-181, мкРНК-182, мкРНК-214, мкРНК-200b), который может быть использован в комплексе медицинских услуг при лечении меланомы кожи.

Метод предназначен для врачей лабораторной диагностики, врачей-онкологов, врачей-патологоанатомов, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам, страдающим меланомой кожи.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Оборудование

1. Бокс биологической безопасности 2 класса (тип В2, без рециркуляции).
2. Термостат твердотельный с функцией охлаждения (4–100°C).
3. Вортекс.
4. Микроцентрифуга, обеспечивающая скорость вращения ротора до 14000 об./мин.
5. Амплификатор (термоциклер) для проведения ПЦР в режиме реального времени.
6. Автоматические дозаторы переменного объема.
7. Холодильник (2–8°C).
8. Низкотемпературный морозильник (-70°C).

Перечень необходимых реактивов и расходных материалов:

1. Набор реагентов для выделения общей фракции РНК (сорбционный принцип).
2. Набор реагентов для проведения реакции обратной транскрипции микроРНК.
3. Набор реагентов для амплификации микроРНК с использованием ПЦР в режиме реального времени.
4. Олигонуклеотиды синтетические (праймеры).
5. Ксилол.
6. Спирт этиловый 96 %.
7. Микропробирки объемом 1,5 мл.
8. Микропробирки объемом 0,2 мл или микропробирки в стрипах объемом 0,2 мл, имеющие маркировку для ПЦР и оптические крышки к ним.
9. Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером для автоматических дозаторов объемом от 0,1 до 1000 мкл.
10. Хладоэлемент или охладитель проб.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Меланома кожи.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1. Требования, предъявляемые к материалу для исследования.

Для проведения исследования используется опухолевая ткань меланомы кожи, фиксированная 10 % раствором нейтрального формалина и заключенная в парафин (срок хранения образцов не более 6 лет). Парафиновый блок должен содержать ткань меланомы с сохраненной структурой, отсутствием некроза и геморрагий, а также объемом опухолевой ткани не менее 75 % от общего объема гистологического материала. Выбор блока ткани для исследования проводится врачом-патологоанатомом, обладающим знаниями в области опухолевой патологии кожи.

2. Определение уровня экспрессии микроРНК.

Молекулярно-генетическая оценка экспрессионного профиля панели микроРНК проводится согласно инструкции № 109-1216 от 16.12.2016.

Последовательности специфических олигонуклеотидных праймеров для амплификации в режиме реального времени фрагментов кДНК генов микроРНК представлены в таблице.

Таблица — Праймеры для амплификации

микроРНК	Нуклеотидная последовательность праймера
микроРНК-21	5'-UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3'
микроРНК-200b	5'-UAAUACUGCCUGGUAUAUGAUGA-3'
микроРНК-181	5'-AACAUUCAACCGUCGGUGAGU-3'
микроРНК-182	5'-UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU-3'
микроРНК-214	5'-AGCUACAUCUGGCUACUGGGU-3'

3. Критериями прогностически неблагоприятных форм меланомы кожи является наличие одного из указанных признаков:

- уровень экспрессии микроРНК-21 ниже 0,98 отн. ед.;
- уровень экспрессии микроРНК-181 ниже 5,82 отн. ед.;
- уровень экспрессии микроРНК-182 выше 11,31 отн. ед.;
- уровень экспрессии микроРНК-200b выше 7,11 отн. ед.;
- уровень экспрессии микроРНК-214 выше 5,77 отн. ед.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

1. Использование реагентов с истекшим сроком годности или реагентов, условия хранения которых не соблюдались.

Устранение: не использовать реагенты с истекшим сроком годности и соблюдать условия их хранения.

2. Нарушения в технологии лабораторного тестирования (время инкубации, температурный режим и т. д.).

Устранение: точно следовать инструкции к используемому набору реагентов.