

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Н. Кроткова

« 23 » 12 2022 г.

Регистрационный № 130-1122



МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ  
СОСТОЯНИЙ, СВЯЗАННЫХ С НАСЛЕДСТВЕННЫМИ  
НАРУШЕНИЯМИ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ, ПРОЯВЛЯЮЩИХСЯ  
ПРЕИМУЩЕСТВЕННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ И НЕРВНОЙ  
СИСТЕМЫ (MPI-CDG, PMM2-CDG, ALG6-CDG)

инструкция по применению

ОРГАНИЗАЦИЯ-РАЗРАБОТЧИК: Государственное учреждение

«Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»

АВТОРЫ:

к.б.н. Гусина Н.Б., к.м.н Гусина А.А., Пашук С.Н.

Минск, 2022

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Е. Н. Кроткова

23.12.2022

Регистрационный № 130-1122

**МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ  
СОСТОЯНИЙ, СВЯЗАННЫХ С НАСЛЕДСТВЕННЫМИ НАРУШЕНИЯМИ  
ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ, ПРОЯВЛЯЮЩИХСЯ ПРЕИМУЩЕСТВЕННЫМ  
ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ И НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ (MPI-CDG,  
PMM2-CDG, ALG6-CDG)**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический  
центр “Мать и дитя”»

АВТОРЫ: канд. биол. наук Н. Б. Гусина, канд. мед. наук А. А. Гусина,  
С. Н. Пашук

Минск 2022

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) представлен метод диагностики заболеваний и патологических состояний, связанных с наследственными нарушениями гликозилирования, проявляющихся преимущественным поражением печени и нервной системы (MPI-CDG, PMM2-CDG, ALG6-CDG), который может быть использован в комплексе мероприятий по оказанию медицинской помощи пациентам с MPI-CDG, PMM2-CDG и ALG6-CDG и их семьям. Краткое описание MPI-CDG, PMM2-CDG и ALG6-CDG представлено в приложении А.

Инструкция предназначена для врачей-генетиков, врачей лабораторной диагностики и других врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь этой категории пациентов в амбулаторных условиях и в условиях дневного стационара.

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

1 Оборудование, реагенты и реактивы для определения активности маннозофосфатизомеразы, фосфоманномутаза 2.

2 Оборудование, реагенты и реактивы для выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты (далее — ДНК).

3 Оборудование и реагенты для выполнения полимеразной цепной реакции (далее — ПЦР).

4 Оборудование и реагенты для секвенирования по Сэнгеру.

5 Аппаратное и программное обеспечение для анализа и документирования полученных результатов.

Подробный перечень необходимого оборудования, реагентов и реактивов представлен в приложении Б.

#### **Материал для исследования**

Биологический материал для исследования:

- для определения маркеров нарушенного гликозилирования — сыворотка крови;
- для определения активности ферментов — лейкоциты периферической крови;
- для молекулярно-генетических исследований — ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови, фибробластов, ворсин хориона, амниоцитов, образцов тканей.

### **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

1 Гепатомегалия в сочетании с:

- хронической диареей и рвотой;
- гипоальбуминемией;
- гипогликемией;
- коагулопатией.

2 Задержка физического и психомоторного развития или умственная отсталость любой степени в сочетании с:

- черепно-лицевыми дисморфиями;

- симптомами поражения мозжечка;
- судорогами;
- симптомами поражения желудочно-кишечного тракта и печени, сердечно-сосудистой, дыхательной, иммунной, эндокринной системы, системы гемостаза и органа зрения.

## **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Отсутствуют.

## **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА**

**1 Технология использования метода диагностики заболеваний и патологических состояний, связанных с наследственными нарушениями гликозилирования, проявляющихся преимущественным поражением печени и нервной системы (MPI-CDG, PMM2-CDG, ALG6-CDG)**

Этапы диагностики

Определить наличие маркеров нарушенного гликозилирования в соответствии с инструкцией по применению «Метод диагностики наследственных заболеваний, обусловленных нарушением посттрансляционной модификации белков, содержащих углеводные компоненты, и тактика медико-генетического консультирования» № 114-1118 от 30.11.2018:

- маркеры нарушенного гликозилирования не обнаружены — диагноз заболеваний и патологических состояний, связанных с наследственными нарушениями гликозилирования исключен;

- маркеры нарушенного гликозилирования обнаружены — у пациентов с гепатомегалией перейти к определению активности маннозофосфатизомеразы, у пациентов с задержкой физического и психомоторного развития или умственной отсталостью любой степени перейти к определению активности фосфоманномутаза 2;

- активность маннозофосфатизомеразы более 5 МЕ/мг белка — диагноз MPI-CDG исключен, диагноз CDG-синдром I типа (Нарушения обмена гликопротеидов неуточненные (МКБ-10: E77.9));

- активность маннозофосфатизомеразы равна или менее 5 МЕ/мг белка — диагноз MPI-CDG (Другие нарушения обмена гликопротеидов (МКБ-10: E77.8)), перейти к секвенированию гена *MPI*;

- патогенные мутации в гене *MPI* выявлены — диагноз MPI-CDG (МКБ-10: E77.8) подтвержден, в данной семье возможно проведение пренатальной диагностики MPI-CDG методом секвенирования по Сэнгеру;

- патогенные мутации в гене *MPI* не выявлены — диагноз MPI-CDG (МКБ-10: E77.8), в данной семье проведение пренатальной диагностики MPI-CDG методом секвенирования по Сэнгеру нецелесообразно;

- активность фосфоманномутаза 2 более 0,5 МЕ/мг белка — диагноз PMM2-CDG исключен, перейти к секвенированию гена *ALG6*;

- патогенные мутации в гене *ALG6* выявлены — диагноз ALG6-CDG (Другие нарушения обмена гликопротеидов (МКБ-10: E77.8)) подтвержден, в

данной семье возможно проведение пренатальной диагностики ALG6-CDG методом секвенирования по Сэнгеру;

- патогенные мутации в гене *ALG6* не выявлены — диагноз CDG-синдром I типа (МКБ-10: E77.9);

- активность фосфоманномутаза 2 менее 0,5 МЕ/мг белка — диагноз PMM2-CDG (МКБ-10: E77.8), перейти к секвенированию гена *PMM2* по Сэнгеру в соответствии с инструкцией по применению «Метод диагностики наследственных заболеваний, обусловленных нарушением посттрансляционной модификации белков, содержащих углеводные компоненты, и тактика медико-генетического консультирования» № 114-1118 от 30.11.2018;

- патогенные мутации в гене *PMM2* выявлены — диагноз PMM2-CDG (МКБ-10: E77.8) подтвержден, в данной семье возможно проведение пренатальной диагностики PMM2-CDG методом секвенирования по Сэнгеру;

- патогенные мутации в гене *PMM2* не выявлены — диагноз PMM2-CDG (МКБ-10: E77.8), в данной семье проведение пренатальной диагностики методом секвенирования по Сэнгеру нецелесообразно.

## **2 Стандартные операционные процедуры определения активности маннозофосфатазимы, фосфоманномутаза 2 и секвенирования генов *MPI* и *ALG6***

2.1 Стандартные операционные процедуры определения активности маннозофосфатазимы, фосфоманномутаза 2.

2.1.1 Стандартная операционная процедура подготовки образца биологического материала для определения активности маннозофосфатазимы, фосфоманномутаза 2:

- приготовить гомогенизирующий буферный растворный раствор для лейкоцитов, содержащий 20 ммоль/л HEPES, 10 ммоль/л калия хлорида, 1,5 ммоль/л магния хлорида, 1 ммоль/л дитиотрейтола, 0,25 моль/л сахарозы и по 10 мг/л трасилола, лейпептина, фенилметилсульфонилфторида;

- смешать осадок лейкоцитов с 200 мкл гомогенизирующего буферного раствора, механически лизировать лейкоциты, многократно пропуская смесь через инъекционную одноразовую стерильную иглу 25G, центрифугировать смесь в течение 10 мин при 500g;

2.1.2 Стандартная операционная процедура определения активности маннозофосфатазимы

- приготовить смесь, содержащую 87 мМ триэтанолamina, 0,45 мМ НАДФ+, 1 Ед глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 5,5 мМ маннозо-6-фосфата, 20 Ед фосфоглюкомутаза;

- поместить по 100 мкл смеси в ячейки микропланшета;

- в ячейку A1 (фоновая проба) экстракт лейкоцитов не добавлять, в остальные ячейки добавить по 5 мкл экстракта лейкоцитов;

- измерить оптическую плотность раствора при длине волны 340 нм до начала инкубации (A340<sub>1</sub>);

- инкубировать микропланшет в течение 5 мин при температуре 25 °С;

- измерить оптическую плотность раствора при длине волны 340 нм после окончания инкубации (A340<sub>2</sub>);

- рассчитать изменение оптической плотности раствора в течение 5 мин в каждой ячейке без учета оптической плотности фоновой пробы ( $\Delta A_{340_1}$ ): вычесть из значения  $A_{340_2}$  для конкретной ячейки значение  $A_{340_1}$  для этой же ячейки;

- рассчитать изменение оптической плотности раствора в течение 5 мин в каждой ячейке с учетом оптической плотности фоновой пробы ( $\Delta A_{340_2}$ ): вычесть из значения  $\Delta A_{340_1}$  конкретной ячейки значение  $\Delta A_{340_1}$  в фоновой пробе (ячейке A1);

- рассчитать изменение оптической плотности раствора ( $\Delta D$ ) за одну минуту инкубации в каждой ячейке (кроме ячейки A1): значение  $\Delta A_{340_2}$  конкретной ячейки разделить на время инкубации (5 мин);

- рассчитать активность маннозофосфатизомеразы (A) в МЕ/мг белка по формуле:

$$A = (\Delta D * V * 1000) / (6,22 * l * v * p),$$

где  $\Delta D$  — изменение оптической плотности раствора за одну минуту инкубации;

V — объем реакционной смеси, мл;

1000 — фактор пересчета ммоль/л в мкмоль/л в коэффициенте экстинкции;

6,22 — коэффициент миллимолярной экстинкции восстановленного никотинамиддинуклеотидфосфата (НАДФН) при длине волны равной 340 нм;

l — длина оптического пути, см;

v — объем образца, мл;

p — количество белка в пробе (в мг), определенное параллельно в том же тканевом препарате по методу Лоури.

### 2.1.3 Стандартная операционная процедура определения активности фосфоманномутазы 2

- приготовить смесь, содержащую 50 mM Hepes, pH 7,1, 5 mM магния хлорида, 0,25 mM НАДФ+, 10 мг/мл глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 0,1 mM маннозо-1-фосфата, 1 мкМ маннозо-1,6-бифосфата, 10 мкг/мл фосфоглюкомутазы, 3,5 мкг/мл фосфоманноизомеразы;

- поместить по 100 мкл смеси в ячейки микропланшета;

- в ячейку A1 (фоновая проба) экстракт лейкоцитов не добавлять, в остальные ячейки добавить по 2 мкл экстракта лейкоцитов;

- измерить оптическую плотность раствора при длине волны 340 нм до начала инкубации ( $A_{340_1}$ );

- инкубировать микропланшет в течение 60 мин при температуре 37 °C;

- измерить оптическую плотность раствора при длине волны 340 нм после окончания инкубации ( $A_{340_2}$ );

- рассчитать изменение оптической плотности раствора в течение 60 мин в каждой ячейке без учета оптической плотности фоновой пробы

( $\Delta A_{340_1}$ ): вычесть из значения  $A_{340_2}$  для конкретной ячейки значение  $A_{340_1}$  для этой же ячейки;

- рассчитать изменение оптической плотности раствора в течение 60 мин в каждой ячейке с учетом оптической плотности фоновой пробы ( $\Delta A_{340_2}$ ): вычесть из значения  $\Delta A_{340_1}$  конкретной ячейки значение  $\Delta A_{340_1}$  в фоновой пробе (ячейке A1);

- рассчитать изменение оптической плотности раствора  $\Delta D$  за одну минуту инкубации в каждой ячейке (кроме ячейки A1): значение  $\Delta A_{340_2}$  конкретной ячейки разделить на время инкубации (60 мин);

- рассчитать активность фосфоманномутазы 2 (A) в МЕ/мг белка в соответствии с формулой расчета активности маннозофосфатизомеразы.

## 2.2 Стандартная операционная процедура секвенирования генов *MPI*, *ALG6*

### Проведение амплификации

Для ПЦР использовать 50-100 нг ДНК.

Составить общую реакционную смесь: амплификационный буферный раствор (1x), смесь дезоксирибонуклеотидов 0,2 мМ каждого, 1,5 мМ  $MgCl_2$ , 10 пмоль каждого праймера, 1 ед. Taq-полимеразы. Реакционный объем на 1 реакцию — 50 мкл: 49 мкл реакционной смеси и 1 мкл исследуемой ДНК.

Для ПЦР использовать праймеры, указанные в таблицах 1 и 2 приложения В:

Амплификационная программа: начальная денатурация 94 °С в течение 4 мин, 30 циклов со следующими параметрами — денатурация при температуре 94 °С в течение 30 с, отжиг праймеров при температуре, указанной в таблицах 1 и 2 приложения В в течение 30 с, элонгация при 72 °С в течение 30 с. Конечная элонгация при 72 °С 10 мин.

### Проведение терминирующей реакции

Перед проведением терминирующей реакции с мечеными дидезоксинуклеотидтрифосфатами необходимо провести очистку амплификата. Для очистки амплификата можно использовать метод преципитации с этанолом в соответствии со стандартным протоколом или наборы реагентов (например, GeneJET PCR Purification Kit, «Thermo Fisher Scientific» или аналог).

Терминирующую реакцию проводить в амплификаторе. Для проведения реакции использовать набор BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit «Thermo Fisher Scientific» или аналог. Составить реакционную смесь и провести реакцию секвенирования в соответствии с рекомендациями производителя реагентов. Для удаления не связанных дидезоксинуклеотидтрифосфатов после амплификации провести очистку постаmplификационной смеси методом преципитации с этанолом в соответствии со стандартным протоколом либо использовать наборы реагентов (например, BigDye X Terminator Purification Kit, «Thermo Fisher Scientific» или аналог).

Полученные в реакции секвенирования флуоресцентно меченые одноцепочечные фрагменты ДНК разделить с помощью капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе. Если для очистки продуктов секвенирования использовался метод преципитации с этанолом, то перед

электрофорезом высушенные после этапа очистки образцы следует растворить в 20 мкл формамида, инкубировать 5 мин при 95 °С и перенести пробы на лед до проведения электрофоретического разделения. Если для очистки использовали наборы реагентов, то электрофорез следует проводить в соответствии с рекомендациями производителя реагентов.

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

1 Ошибки, связанные с нарушением правил получения, транспортировки, хранения биологического материала и выполнения лабораторных исследований. Для предупреждения ошибок этой группы необходимо тщательно соблюдать правила работы с биологическим материалом и инструкции по проведению лабораторных исследований.

2 Ошибки при выполнении собственно лабораторных исследований, связанные с несоблюдением СОП исследований, использованием реагентов, утративших активность, загрязнением исследуемых образцов продуктами реакций и др. Для предупреждения таких ошибок необходимо соблюдать СОП исследований, контролировать годность реагентов, использовать контрольные материалы и образцы.



## ПРИЛОЖЕНИЕ А

В МКБ-10 наследственные заболевания и патологические состояния, связанные с наследственными нарушениями гликозилирования, относят к классу E77 «Нарушения обмена гликопротеинов».

MPI-CDG (CDG-1b, наследственный дефицит фосфоманноизомеразы, дефицит маннозофосфатизомеразы, синдром протеин-теряющей энтеропатии — фиброза печени, Saguenay-Lac Saint-Jean syndrome) — это редкое аутосомно-рецессивное нарушение обмена веществ, обусловленное дефицитом активности фермента фосфоманноизомеразы вследствие мутаций в гене *MPI*. Клинические проявления MPI-CDG включают хроническую диарею, гипотрофию, экссудативную энтеропатию, симптомы поражения печени, гипогликемии и коагулопатии. MPI-CDG — один из немногих CDG-синдромов, для которых, в настоящее время существует специфическая терапия. Пероральное назначение маннозы способствует коррекции метаболического дефекта, устраняет явления энтеропатии и коагулопатии, нормализует гликемию, улучшает общее состояние пациентов и повышает качество их жизни.

PMM2-CDG (CDG-1a, болезнь Жакена, дефицит фосфоманномутаза 2) — наиболее распространенное и хорошо изученное наследственное нарушение гликозилирования. Причиной заболевания является дефицит активности фосфоманномутаза 2, возникающий в результате мутаций в гене *PMM2*. Клинические проявления PMM2-CDG включают задержку физического и психомоторного развития, умственную отсталость, специфические дисморфии, изменения со стороны кожи и подкожной клетчатки, атаксию, мозжечковый синдром, судороги, инсультоподобные эпизоды, периферическую полинейропатию, миопатию, кифоз/сколиоз, контрактуры суставов, нарушения функций желудочно-кишечного тракта и печени, патологические изменения со стороны сердечно-сосудистой системы, почек, эндокринной системы, глаз и системы гемостаза.

ALG6-CDG (CDG-1c, наследственный дефицит фермента  $\alpha$ -1,3-глюкозилтрансферазы I) — это редкое аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное дефицитом активности фермента  $\alpha$ -1,3-глюкозилтрансферазы I вследствие мутаций в гене *ALG6*, являющееся вторым наиболее распространенным нарушением N-гликозилирования после PMM2-CDG. Клиническая картина при ALG6-CDG характеризуется неврологическими расстройствами (задержкой психомоторного развития, гипотонией, эпилепсией, косоглазием), а также симптомами со стороны желудочно-кишечного тракта (энтеропатия с потерей белка) и поражением печени. Задержка развития, нарушения речи, умственная отсталость, мышечная гипотония, потеря зрения, а также ранний младенческий эпилептический синдром (инфантильные судороги) являются наиболее частыми клиническими симптомами ALG6-CDG.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

### **Оборудование, реагенты и реактивы для определения активности маннозофосфатизомеразы, фосфоманномутаза 2**

#### Оборудование

- 1 Планшетный фотометр/флюориметр, позволяющий проводить измерения оптической плотности при длине волны 340 нм.
- 2 Центрифуга, позволяющая проводить центрифугирование с центробежным ускорением 5000 g.

#### Реагенты и реактивы

Реагенты и реактивы для определения активности маннозофосфатизомеразы, фосфоманномутаза 2 должны быть предназначены для молекулярно-биологических исследований.

- 1 HEPES.
- 2 Калия хлорид.
- 3 Магния хлорид.
- 4 Сахароза.
- 5 Дитиотреитол.
- 6 Трасилол.
- 7 Лейпептина гидрохлорид.
- 8 Фенилметансульфонила фторид.
- 9 Никотинамиддинуклеотидфосфат, натриевая соль.
- 10 Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа.
- 11 D-Маннозо-6-фосфат, натриевая соль.
- 12 Триэтаноламин гидрохлорид.
- 13 Фосфоглюкомутаза.

### **Оборудование, реагенты и реактивы для выделения ДНК**

#### Оборудование

- 1 Воздушный термостат, позволяющий поддерживать температуру 56 °С.
- 2 Центрифуга, позволяющая проводить центрифугирование с центробежным ускорением 12 000 g.

#### Реагенты и реактивы

Реагенты и реактивы для выделения ДНК должны быть предназначены для молекулярно-биологических исследований.

- 1 Протеиназа К.
- 2 Лаурилсульфат натрия.
- 3 Натрия хлорид.
- 4 Натрия ацетат.
- 5 Этанол.
- 6 Трис.
- 7 ЭДТА.

## **Оборудование и реагенты для выполнения полимеразной цепной реакции**

Оборудование

Амплификатор

Реагенты

Реагенты для выполнения ПЦР должны быть предназначены для молекулярно-биологических исследований.

1 Праймеры.

2 Буферный раствор для ПЦР.

3 Магния хлорид.

4 Комплект дезоксирибонуклеотидов.

5 Таq-полимераза (или аналог).

## **Оборудование и реагенты для секвенирования по Сенгеру**

Оборудование

Генетический анализатор

Реагенты

Реагенты для секвенирования по Сэнгеру должны быть предназначены для молекулярно-биологических исследований

1 Праймеры.

2 Набор BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit «Applied Biosystems» или аналог.

3 Этанол.

4 Ацетат натрия.

5 Трис.

6 ЭДТА.

## **Аппаратное и программное обеспечение для анализа и документации полученных результатов**

Камера для фотографирования гелей

Персональный компьютер

Программное обеспечение Data Collection, SeqScape, Sequencing Analysis Software или аналогичное.

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица 1 — Нуклеотидная последовательность праймеров и условия ПЦР для амплификации экзонов гена *MPI*

Экзон	Последовательность	Tann (°C)	Длина ПЦР продукта (п.о.)
2	(F) - GTGGCAGCTGACCCTGTCTGTGC (R) - ACCCTTCCCAGCTGATTCT	60	217
3	(F) - CCCTCCCAAGTTTCCTGTCT (R) - GGCCTTAGCATAAGCCCTTC	60	272
4	(F) - TGGCACTGGTGTACCTGCTA (R) - CTGTGACATGTGACCCGTTT	60	311
5	(F) - CTCCAACCTCCCACTTGTGTA (R) - TTTAGTGTTCCTACTGGGCA	63	345
6	(F) - TGGCTAGTATAGTCCTGGGC (R) - CCCTTCTCCTTCCTTTGTCC	58	444
7	(F) - GCCCAGAACTGGAGAGCTAA (R) - ACACGAAGGACACCCATCAT	60	290
8	(F) - GCAGAGTCTGAGCTGCACTG (R) - GAATTTAGGGTGGCTGGCAG	62	284

Таблица 2 — Нуклеотидная последовательность праймеров и условия ПЦР для амплификации экзонов гена *ALG6*

Экзон	Последовательность	Tann (°C)	Длина ПЦР продукта (п.о.)
2	(F) - TTA CTGGGTTTCATGTTGTAGTACTG (R) - CCCCAAACAACACCTATTCAAAG	53	400
3	(F) - GATATGCTAAAGTACATTGTTGTTTTG (R) - CCCTTTAATATTTTCAAACAATCTG	53	200
4	(F) - TTGAATATTGATTAACGGAATGGTG (R) - CCTCTAGTCAAGAAAGCCCA	53	200
5	(F) - TGCTAAAAGGGATGAGGAATGAAG (R) - CAATAATAGTACSTTTACCAGTTTGTCCAA	51	220
6	(F) - TGGAGGAAGGGAGGCAGTTAATG (R) - TTTCAGAGACGAACTGTCAGGC	53	200
7	(F) - AAAAGAAAGTGTGACACCTCTGGAAAAG (R) - AAGCAAGCACTCTATCAAATAAGACATTAC	56	300
8	(F) - AAATCACATAAGAGATATGCTATGAGCTTGC (R) - ATTTATAAGAAATCACCAAAAGGCAAAGTG	56	400
9	(F) - AGAGATTATGGGCTGTACTTCATGG (R) - TTCCCTAATGATGCCAAATAAATG	56	320
10	(F) - AAATTAAGTTGATAAATAATATGATCCTT (R) - GTCTAACACAGAAGCTAAGTATGGG	56	340
11	(F) - GCTTTAATAAACTTTCACTTTTCATTTG (R) - CATTTGTGTAGTTTTGTTTTGCATTC	56	250
12	(F) - ATTTATATTTTTTACAATTAGGAGTTGAAG (R) - AAGTTACACAAGCTATAAAAAATGCCATTG	56	300
13	(F) - TATGAAGTGGTTATGGTTTGAATTG (R) - AAAGGCGTAAAAGAAAATCACTACC	50	350
14	(F) - GCTACAAGTCAATGTTTCC (R) - AGCSTTTACGCACTGTTACATTTTC	53	330

\_\_\_\_\_

название

\_\_\_\_\_

учреждения

\_\_\_\_\_

здравоохранения

УТВЕРЖДАЮ

\_\_\_\_\_

Ф.И.О.

\_\_\_\_\_ 20\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

МП

## АКТ

### о внедрении результатов научных исследований в лечебную практику

**1 Наименование предложения для внедрения:** «Метод диагностики заболеваний и патологических состояний, связанных с наследственными нарушениями гликозилирования, проявляющихся преимущественным поражением печени и нервной системы (MPI-CDG, PMM2-CDG, ALG6-CDG)».

**2.Кем предложена разработка:** сотрудниками РНПЦ «Мать и дитя» — канд. биол. наук Гусиной Н. Б., канд. мед. наук Гусиной А. А, Пашук С. Н.

**3 Источник информации:** «Метод диагностики заболеваний и патологических состояний, связанных с наследственными нарушениями гликозилирования, проявляющихся преимущественным поражением печени и нервной системы (MPI-CDG, PMM2-CDG, ALG6-CDG)»: инструкция по применению № \_\_\_\_\_, утв. МЗ РБ. \_\_\_\_\_

**4 Краткая аннотация разработки:** разработанный метод диагностики будет способствовать установлению этиологии заболевания при наследственных болезнях обмена веществ

**5 Где внедрено:** \_\_\_\_\_

**6 Результаты применения метода за период с \_\_\_\_\_ по \_\_\_\_\_**

Общее количество наблюдений \_\_\_\_\_ .

Из них: положительные \_\_\_\_\_, отрицательные \_\_\_\_ .

**7 Эффективность внедрения (восстановление трудоспособности, снижение заболеваемости, рациональное использование коечного фонда, врачебных кадров и медицинской техники)** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**8 Замечания, предложения** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Ответственные за внедрение:

\_\_\_\_\_

Должность

\_\_\_\_\_

подпись

\_\_\_\_\_

И.О.Фамилия

Примечание: акт о внедрении направлять по адресу: лаборатория цитогенетических, молекулярно-генетических и морфологических исследований, РНПЦ «Мать и дитя», ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск