

МИНСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ



Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

2018 г.

Регистрационный № 156-1118

**МЕТОД ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ КОЖИ К ДАКАРБАЗИНУ**

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, М.В. Якимова, Е.Н. Хоревич, К.Г. Рукша

Минск, 2018

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод прогнозирования чувствительности опухолевых клеток меланомы кожи к цитостатической терапии с использованием дакарбазина, основанный на определении экспрессии панели микроРНК (микроРНК-21, микроРНК-200b, микроРНК-221), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение меланомы кожи.

Метод предназначен для врачей лабораторной диагностики, врачей-онкологов, врачей-патологоанатомов, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с метастатической меланомой кожи в стационарных и (или) амбулаторных условиях.

1. Показания к применению: злокачественная меланома кожи.

2. Противопоказания к применению: отсутствуют.

3. Перечень необходимых медицинских изделий, реагентов, расходных материалов и т.п.

Перечень необходимых медицинских изделий:

3.1. Бокс биологической безопасности 2 класса (тип В2 (без рециркуляции)).

3.2. Термостат твердотельный с функцией охлаждения (от +4°C до +100°C).

3.3. Вортекс.

3.4. Микроцентрифуга, обеспечивающая скорость вращения ротора до 14000 оборотов в мин.

3.5. Амплификатор (термоциклер) для проведения ПЦР в режиме реального времени.

3.6. Автоматические дозаторы переменного объема.

3.7. Холодильник (от +2°C до +8°C).

3.8. Низкотемпературный морозильник (-70°C).

Перечень необходимых реактивов и расходных материалов:

3.9. Набор реагентов для выделения общей фракции РНК (сорбционный принцип).

3.10. Набор реагентов для проведения реакции обратной транскрипции микроРНК.

3.11. Набор реагентов для амплификации микроРНК с использованием ПЦР в режиме реального времени.

3.12. Олигонуклеотиды синтетические (праймеры).

3.13. Ксилол.

3.14. Спирт этиловый 96%.

3.15. Микропробирки объемом 1,5 мл.

3.16. Микропробирки объемом 0,2 мл или микропробирки в стрипах объемом 0,2 мл, имеющие маркировку для ПЦР и оптические крышки к ним.

3.17. Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером для автоматических дозаторов объемом от 0,1 до 1000 мкл.

3.18. Хладоэлемент.

4. Технология использования предлагаемого метода

4.1. 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.

4.2. Определение уровня экспрессии микроРНК.

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

Последовательности специфических олигонуклеотидных праймеров для амплификации в режиме реального времени фрагментов кДНК генов микроРНК представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Праймеры для амплификации

микроРНК	Нуклеотидная последовательность праймера
микроРНК-21	5'– UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA –3'
микроРНК-200b	5'–UAAUACUGCCUGGUAUGAUGA–3'
микроРНК-221	5'–AGCUACAUUGUCUGCGGGUUUC–3'

4.3. Критериями чувствительности опухолевых клеток к цитостатической терапии с использованием дакарбазина у пациентов с метастатической меланомой кожи является любой из указанных признаков:

- сочетание уровня экспрессии микроРНК-21 ниже либо равно 0,42 относительных единиц, уровня экспрессии микроРНК-200b ниже либо равно 9,69 относительных единиц и уровня экспрессии микроРНК-221 ниже либо равно 5,14 относительных единиц;

- сочетание уровня экспрессии микроРНК-21 ниже либо равно 0,42 относительных единиц и уровня экспрессии микроРНК-200b ниже либо равно 9,69 относительных единиц;

- сочетание уровня экспрессии микроРНК-21 ниже либо равно 0,42 относительных единиц и уровня экспрессии микроРНК-221 ниже либо равно 5,14 относительных единиц;

- уровень экспрессии микроРНК-21 ниже либо равно 0,42 относительных единиц.

5. Перечень возможных осложнений или ошибок при выполнении метода и пути их устранения

5.1. 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.

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

Устранение: точно следовать инструкции к используемому набору реагентов.