

Протокол клинической апробации

Идентификационный № _____

Дата _____

I. Паспортная часть

1. Название апробируемого метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации: **Пренатальное (дородовое) определение наиболее распространенных анеуплоидий (синдромы Дауна, Эдвардса, Патау, Клайнфельтера и Тернера) и резус фактора плода методом количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР).**

2. Наименование и адрес федеральной медицинской организации - разработчика метода: **федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 344012, г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43/38/2.**

3. Фамилия, имя, отчество и должность лиц, уполномоченных от имени федеральной медицинской организации подписывать протокол клинической апробации и поправки к нему:

Линде Виктор Анатольевич – Директор.

Афонин Александр Алексеевич – Заместитель директора по научно-исследовательской работе.

II. Обоснование клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации

4. Аннотация метода.

Принцип действия основан на применении количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР), который позволяет с помощью амплификации и последующего капиллярного электрофореза обнаружить тройную дозу специфических для каждой исследуемой хромосомы маркеров - коротких tandemных повторов (STR) и, следовательно, выявить третью «лишнюю» хромосому. Комбинация маркеров позволяет обнаружить хромосомы 21, 18, 13, X и Y, вовлеченные в анеуплоидии со 100%-ой чувствительностью и специфичностью для не мозаичных анеуплоидий. Клиническое применение КФ-ПЦР для целей пренатальной диагностики позволяет получить 97% результатов в течение 24 часов и снизить риск прерывания беременности до 0,5%, так как для получения ДНК плода используют амниотические воды.

5. Актуальность метода для здравоохранения, включая организационные, клинические и экономические аспекты.

Стоимость лечения, реабилитации и пожизненного содержания больного с врожденной патологией в 100-1000 раз превышает затраты на антенатальную диагностику, профилактику и коррекцию патологии плода.

На долю анеуплоидий (нарушения числа хромосом) приходится свыше 95% всей хромосомной патологии у плода. Синдромы Дауна, Эдвардса, Патау, Клайнфельтера и Тернера являются самыми частыми хромосомными патологиями среди новорожденных во всем мире. Общепопуляционная частота рождения детей с синдромом Дауна составляет 1:700-800 новорожденных. Только в Ростовской области ежегодно без проведения пренатальной диагностики рождалось бы около 70 детей с трисомией по 21 хромосоме, от 3 до 6 детей с трисомиями по 13 и 18 хромосомам.

При проведении метода КФ-ПЦР риск по угрозе прерывания снижается до 0,3-0,5%, за счет использования амниоцитов плода при заборе околоплодных вод, и взятие небольшого количества ворсин хориона при биопсии, по сравнению со стандартным кариотипированием. Большая производительность данного метода позволяет организовать скрининг в группах риска из одного региона в единой централизованной лаборатории.

6. Новизна метода и/или отличие его от известных аналогичных методов.

Преимущества заявленного метода состоят в том, что:

- позволяет проводить одновременную быструю диагностику синдромов Дауна, Эдвардса, Патау, Клайнфельтера и Тернера, и резус-фактора при проведении инвазивной пренатальной диагностики,
- в отличие от кариотипирования и FISH-метода (8 образцов в день), позволяет одновременно выполнить до 20-30 образцов в день.
- скорость обработки и выдачи результата при проведении КФ-ПЦР 48 часов, при стандартном кариотипировании 7 дней
- позволяет повысить точность и надежность диагностики (определять примеси материнской ДНК и мозаичные варианты) данных заболеваний за счет использования флюоресцентно-меченных праймеров, количественной флюоресцентной полимеразной цепной реакции, и капиллярного электрофореза.
- позволяет упростить известный способ за счет использования заранее приготовленной смеси для КФ-ПЦР и возможности внесения в ПЦР оптимального количества ДНК.
- позволяет снизить риск прерывания беременности при проведении инвазивной пренатальной диагностики за счет использования амниотических вод для получения ДНК плода.
- большая производительность данного метода позволяет организовать скрининг в группах риска из одного региона в единой централизованной лаборатории.

7. Краткое описание и частота известных и потенциальных рисков применения метода для пациентов, если таковые имеются, и прогнозируемых осложнений.

- раннее отхождение околоплодных;
- ранение сосудов пуповины или самого плода;
- нарушение целостности мочевого пузыря или петель кишечника матери;
- отслойка плодных оболочек и угроза выкидыша;
- преждевременные роды

8. Ссылки на литературные источники публикаций результатов научных исследований метода или отдельных его составляющих (в том числе собственных публикаций) в рецензируемых научных журналах и изданиях, в том числе в зарубежных журналах (названия журналов/изданий, их импакт-фактор):

1. Кривенцова Н.В., Шокарев Р.А., Авруцкая В.В., Кригер С.Ю., Ключкова Н.Е., Гимбут В.С., Корниенко И.В. Количественная флюоресцентная полимеразная цепная реакция в инвазивной пренатальной диагностике для выявления частых трисомий. // Тезисы VI съезда Российского общества медицинских генетиков, Ростов-на-Дону, 14-18 мая 2010 г. - С. 95.

2.Кривенцова Н.В., Шокарев Р.А., Авруцкая В.В., Кригер С.Ю., Ключкова Н.Е., Гимбут В.С., Корниенко И.В. Количественная флюоресцентная полимеразная цепная реакция в инвазивной пренатальной диагностике для выявления частых трисомий. // «Пренатальная диагностика» – 2011. – №1. – С.72-78. ИФ-0,226.

3.Кривенцова Н.В., Шокарев Р.А., Авруцкая В.В., Кригер С.Ю., Ключкова Н.Е., Гимбут В.С., Берлим А.А., Корниенко И.В. Пренатальное выявление частых трисомий методом количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции // Материалы XII Всероссийского научного форума «Мать и Дитя», Москва. – 2011. - С.466.

4.Авруцкая В.В., Кривенцова Н.В., Шокарев Р.А., Гимбут В.С., Кригер С.Ю. Пренатальная инвазивная диагностика с использованием количественной флуоресцентной ПЦР. // Медицинский вестник Юга России, Ростов-на-Дону. – 2011. - № . – С. 60-62. ИФ-0,067.

5. Кривенцова Н. В., Авруцкая В. В., Шокарев Р. А., Кригер С. Ю., Ключкова Н. Е., Гимбут В. С., Тимолянова Е. К. Пренатальный скрининг синдрома Дауна в Ростовской

области в 2010-2011 г. Проблемы и пути решения. // Таврический медико-биологический вестник, Украина. - 2012. – Том 15. - №2,ч.1(58). ИФ-0.

6.Кривенцова Н. В., Авруцкая В. В., Шокарев Р. А., Кригер С. Ю., Клочкова Н. Е., Гимбут В. С. Опыт применения количественной флюоресцентной полимеразной цепной реакции для диагностики частых трисомий // VI Региональный научный форум "Мать и Дитя" 26-28 июня 2012 года, г. Ростов-на-Дону. – С.194-196.

7.Клочкова Н. Е., Кривенцова Н. В., Авруцкая В. В., Шокарев Р. А., Кригер С. Ю., Каушанская Л.В., Гимбут В. С. Опыт пренатального выявления синдрома Дауна в Ростовской области // VI Региональный научный форум "Мать и Дитя" 26-28 июня 2012 года, г. Ростов-на-Дону. - С.197-198.

8.Кривенцова Н. В., Авруцкая В. В., Шокарев Р. А., Гимбут В. С., Кригер С. Ю., Клочкова Н. Е. Загрязнение материнскими клетками в плодных образцах при проведении инвазивной пренатальной диагностики // I Международный форум «Молекулярная медицина – новая модель здравоохранения XXI века: технологии, экономика, образование» 26-27 июня 2013 года, г. Санкт-Петербург. – С.107-109.

9.Кривенцова Н. В., Авруцкая В. В., Шокарев Р. А., Кригер С.Ю., Клочкова Н. Е., Гимбут В. С. Опыт применения количественной флюоресцентной полимеразной цепной реакции для диагностики частых анеуплоидий // Сборник трудов VIII всероссийской научно-практической конференции с международным участием 18-20 марта 2014 года, г. Москва. - Том 2 - С. 196

10. Кривенцова Н.В., Шокарев Р.А., Авруцкая В.В., Кригер С.Ю., Горская Н.Е., Гимбут В.С. Количественная флуоресцентная ПЦР в инвазивной пренатальной диагностике для выявления нарушений числа половых хромосом // Сборник тезисов VI съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС) 15-20 июня 2014 г., г. Ростов-на-Дону. – С. 104

11. Кривенцова Н. В., Авруцкая В. В., Шокарев Р. А., Гимбут В.С., Кригер С.Ю., Клочкова Н. Е. Амниоцентез как оптимальное решение для инвазивной пренатальной диагностики частых анеуплоидий в Ростовской области// «Медицинская генетика» - 2015. - №4. – С. 72. ИФ-0,124.

12. Шокарев Р. А., Кривенцова Н. В., Кригер С.Ю. Субмикроскопические делеции и дупликации при интерпретации результатов методом КФ-ПЦР// «Медицинская генетика» - 2015. - №4. – С. 83. ИФ-0,124.

9. **Иные сведения, связанные с разработкой метода:** Нет.

III. Цели и задачи клинической апробации

10. Детальное описание целей и задач клинической апробации.

Цель: Улучшить качество оказания медицинской помощи беременным с высоким риском рождения ребенка с хромосомной патологией при проведении инвазивной пренатальной диагностики, за счет повышения безопасности акушерского вмешательства путем аспирации околоплодных вод/ворсин хориона в ходе амниоцентеза/хорионбиопсии и доказательства клинической эффективности метода диагностики - количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР).

Задачи:

- Раннее выявление у беременных с высоким риском рождения ребенка с хромосомной патологией основных анеуплоидий (синдромы Дауна, Эдвардса, Патау, Клайнфельтера и Тернера) и определение резус-фактора плода методом количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР).

- Доказать снижение риска прерывания беременности у пациенток с высоким риском рождения ребенка с хромосомной патологией, которым было проведено инвазивное вмешательство трансабдоминальное вмешательство предлагаемым методом.

- Доказать высокую клиническую эффективность и безопасность предлагаемого

диагностического метода для плода и беременной.

- Доказать высокую производительность заявляемого метода для использования в массовом скрининге.

IV. Дизайн клинической апробации

11. Научная обоснованность и достоверность полученных на стадии разработки метода данных, включая доказательства его безопасности:

Проведенное в 2012-2015 гг. ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России исследование доказало безопасность и показало клиническую эффективность применяемых в настоящей клинической апробации подходов к проведению пренатальной (дородовой) диагностики наиболее распространенных анеуплоидий (синдромы Дауна, Эдвардса, Патау, Клайнфельтера и Тернера) и резус фактора плода:

При доклинических испытаниях предлагаемого способа выявления данных патологий обследовано 93 образца амниотической жидкости (параллельно с проведением кордоцентеза) и 57 образцов хориона полученных в результате инвазивных пренатальных диагностик. В 143 образцах не было выявлено трисомий по 21, 13 и 18 хромосомам. В 5 образцах диагностировался синдромом Дауна, в одном образце определялся синдром Патау и в одном синдром Эдвардса - наблюдались трехаллельные пики с отношением высот близким к 1:1:1, или диаллельные пики с отношением высот близким к 1:2. В 27 случаях определялся отрицательный резус-фактор. Для верификации поставленных диагнозов во всех 150 образцах были проведены: стандартное кариотипирование, резус-фактор определялся при рождении ребенка серологическим методом. В 100% случаях диагноз, поставленный с помощью КФ-ПЦР, был подтвержден стандартными методами. Используемые нами в мультиплексной ПЦР маркеры, были информативными для 99,0 % образцов, а применение двух дополнительных маркеров увеличивало информативность системы до 100%. В нашем исследовании не было получено ложноположительных или ложноотрицательных результатов. Из приведенных данных следует, что точность и специфичность способа для выявления немозаичных анеуплоидий – 100%.

12. Описание дизайна клинической апробации должно включать в себя:

12.1. Указание основных и дополнительных исследуемых параметров, которые будут оцениваться в ходе клинической апробации:

- Общеклинический метод обследования – опрос, анамнез, осмотр, общеклиническое обследование, формирование группы риска по врожденной патологии;

- Инструментальные исследования - УЗ исследование плода; аспирация ворсин хориона; амниоцентез.

- Лабораторные исследования – выделение ДНК плода на сорбенте; мультиплексная КФ-ПЦР с флуоресцентно мечеными праймерами; детекция продуктов амплификации с помощью капиллярного электрофореза на ДНК анализаторе. Верификация диагноза после прерывания беременности плодов с патологией.

- Сбор информации после рождения детей без патологии.

- Статистическая обработка результатов.

12.2 Описание дизайна клинической апробации с графической схемой (этапы и процедуры, а также сроки и условия их проведения)

В исследование будут включены 430 беременных женщин из группы повышенного риска по рождению ребенка с врожденной патологией. Продолжительность 3 года.

I этап (оперативный) (1 сутки):

- Хорионбиопсия или амниоцентез, с забором образцов (хорион или амниотические воды) и направление их для проведения молекулярно-генетического исследования.

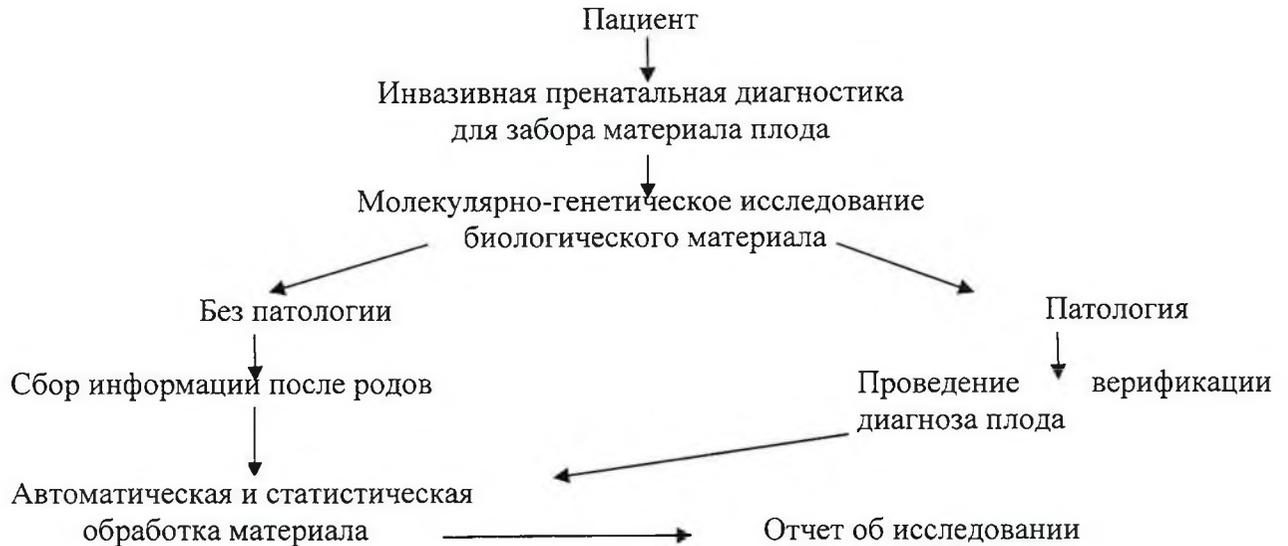
II этап (лабораторный) (2 суток):

-Выделение ДНК плода, постановка мультиплексной КФ-ПЦР, детекция продуктов амплификации, оценка результатов.

III этап (статистический) (7 суток):

- Статистическая обработка оцениваемых величин.

Схема клинической апробации:

**12.3 Описание метода, инструкции по его проведению:**

Предлагаемый способ заключается в следующем. В ходе проведения инвазивной пренатальной диагностики (трансабдоминальная биопсия хориона или аспирация околоплодных вод), путем аспирации получают ворсинки хориона или амниотические воды.

Геномную ДНК выделяют из хориона или амниоцитов плода, полученных после центрифугирования 6 мл амниотической жидкости с использованием сорбента набора для выделения ДНК и растворяют в 50 мкл дистиллированной стерильной воды.

При проведении трех мультиплексных количественных флуоресцентных полимеразных цепных реакций (КФ-ПЦР), для каждой используют 10 мкл. двукратного мастер-микс для мультиплексной амплификации и следующие пары флуоресцентно-меченых праймеров, каждый в концентрации 10 ОЕ/мл. Последовательность прямых (F) и обратных (R) праймеров приведена в табл.

Последовательность прямых и обратных праймеров, используемых в мультиплексных реакциях

Локус	Последовательность праймеров
Первая мультиплексная реакция	
D21S11-F	R6G -ATA TGT GAG TCA ATT CCC CAA G
D21S11-R	TGT ATT AGT CAA TGT TCT CCA G
D21S1411-F	ATAGGTAGATACATAAATATGATGA
D21S1411-R	FAM -TATTAATGTGTGTCCTTCCAGGC
IFNAR-F	FAM -CATTTGATCTTAGCCATCTATTGC
IFNAR-R	ACTATGCAGCCATTTGAAAGACTA
D21S1435-F	FAM -CCCTCTCAATTGTTTGTCTACC
D21S1435-R	ACAAAAGGAAAGCAAGAGATTTC
RHD 10ex-F	R6G -TAAGCAAAAGCATCCAA
RHD 10ex-R	ATGGTGAGATTCTCCT
AMEL-F	TAMRA -CCC TGG GCT CTG TAA AGA ATA GTG

AMEL-R	ATC AGA GCT TAA ACT GGG AAG CTG
Вторая мультиплексная реакция	
D13S628-F	R6G -TAACATTCATTGTCCCTTACAGAT
D13S628-R	GCAAGGCTATCTAACGATAATTCA
D13S634-F	TAMRA -GGCAGATTCAATAGGATAAATAGA
D13S634-R	GTAACCCCTCAGGTTCTCAAGTCT
D13S742-F	TAMRA -ATAACTGGGCTAGGAATGGAAATA
D13S742-R	GACTTCCCAATTCAGGAGGACT
D13S305-F	FAM -GCCTGTTTGAGGACCTGTCGTTA
D13S305-R	TGGTTATAGAGCAGTTAAGGCAC
D18S386-F	R6G -TGAGTCAGGAGAATCACTTGGAAC
D18S386-R	CTCTCCATGAAGTAGCTAAGCAG
D18S391-F	ROX -GGACTTACCACAGGCAATGTGACT
D18S391-R	TAGACTTCACTATTCCCATCTGAG
D18S535-F	TAMRA -CAGCAAACCTTCATGTGACAAAAGC
D18S535-R	CAATGGTAACCTACTATTTACGTC
D18S978-F	TAMRA -GTAGATCTTGGGACTTGTGAGA
D18S978-R	GTCTCCCATGGTCACAATGCT
Третья мультиплексная реакция	
DXS981-F	FAM -CTC CTT GTG GCC TTC CTT AAA TG
DXS981-R	TTC TCT CCA CTT TTC AGA GTC A
DXS1187-F	R6G -CAG CTA CTC AAT GAA AAG CC
DXS1187-R	TGA TGG AGA AAG TCA CTG AAC
XHPRT-F	R6G -ATG CCA CAG ATA ATA CAC ATC CCC
XHPRT-R	CTC TCC AGA ATA GTT AGA TGT AGG
P39-F	FAM -AGC ACA TGG TAT AAT GAA CCT CCA CG
P39-R	CAG TGT GAG TAG CAT GCT AGC ATT TG
X22-F	R6G -TCT GTT TAA TGA GAG TTG GAA AGA AA
X22-R	ATT GTT GCT ACT TGA GAC TTG GTG
SRY-F	TAMRA -AGT AAA GGC AAC GTC CAG GAT
SRY-R	TTC CGA CGA GGT CGA TAC TTA
DYS448-F	FAM -CAA GGA TCC AAA TAA AGA ACA GAG A
DYS448-R	GGT TAT TTC TTG ATT CCC TGT G

В первую КФ-ПЦР вошли праймеры: на 21 хромосому и на участок 10 экзона гена RhD. Во вторую КФ-ПЦР праймеры на 13 и 18 хромосомы. В третью КФ-ПЦР на X и Y хромосомы.

Праймеры вносят в концентрациях 2–22 пМ на реакцию. Смесь для КФ-ПЦР готовится заранее в стерильных условиях, раскапывается в пробирки для проведения ПЦР по 15 мкл и хранится при минус 20 °С до момента добавления 20нг геномной ДНК и проведения амплификации.

Концентрацию исследуемой ДНК рассчитывают по оптической плотности раствора при 260 нм на спектрофотометре и вносят в смесь в конечной концентрации 4 нг/мкл в количестве 5 мкл. Амплификацию проводят на термоциклере с прогреваемой крышкой по следующей схеме: денатурация при 95° – 15 мин, затем 28 циклов, каждый из которых состоит из денатурации – 1,5 мин при 94°; отжига – 1,5 мин при 57° и синтеза – 1,5 мин при 72°, и заключительная элонгация 72° в течении 15 мин.

Три полученных ПЦР-продукта, смешивают в одной лунке по 1мкл. и проводят электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов с помощью капиллярного ДНК-анализатора, который откалиброван под детекцию флуоресцентных красителей меченных праймеров. Для определения длин, полученных фрагментов, используют размерный

стандарт, меченный красителем LIZ. В каждую лунку планшета вносят 9 мкл очищенного формамида, 1 мкл размерного стандарта и по 1 мкл каждого амплификата. Денатурацию проводят при 95° в течение 5 мин. с последующим охлаждением до 4°. Электрофорез проводят в 7% полиакриламидном геле, используя капилляры на 36 см. Фрагментный анализ осуществляется с помощью программы.

При анализе электрофореграмм на наличие трисомий по 13, 18 и 21 хромосомам в образцах без патологии наблюдаются двойные флюоресцентные пики с отношением высот около 1:1 (отношение более высокого аллеля к более низкому не должно быть более чем 1,5) по каждому локусу или один пик в случае неинформативной гомозиготы. При наличии трисомий в электрофореграмме наблюдаются трехаллельные пики с отношением высот близким к 1:1:1, или диаллельные пики с отношением высот близким к 1:2.

12.4. Ожидаемая продолжительность участия пациентов в клинической апробации, описание последовательности и продолжительности всех периодов клинической апробации, включая период последующего наблюдения, если таковой предусмотрен:

Общая продолжительность реализации проекта - 3 года.

Общая продолжительность участия пациенток в клинической апробации 3-5 дней с момента включения пациента в исследование.

Периоды клинической апробации:

Период	Продолжительность
Стандартное необходимое предманипуляционное обследование (согласно приказа МЗ РФ от 01.11.2012 г. №572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» с изменениями и дополнениями от 17.01.2014 г., 11.06.2015 г.)	1-2 дня
Проведение инвазивной пренатальной диагностики с последующим наблюдением за пациенткой	1-2 дня
Выдача результата и консультирование	1 день

12.5. Перечень данных, регистрируемых непосредственно в индивидуальной регистрационной карте клинической апробации метода (т.е. без записи в медицинской документации пациента) и рассматриваемых в качестве параметров, указанных в пункте 12.1 настоящего протокола клинической апробации:

Все клинические данные, результаты лабораторных, инструментальных и статистических исследований фиксируются в медицинской документации пациента (история болезни, амбулаторная карта), а также в индивидуальной регистрационной карте (Приложение 1)

V. Отбор и исключение пациентов, участвующих в клинической апробации

13. Критерии включения пациентов.

Беременные женщины из группы риска по рождению детей с наследственной патологией по результатам расчета индивидуального риска в результате пренатального скрининга первого триместра.

14. Критерии не включения пациентов.

Противопоказания для проведения инвазивной пренатальной диагностики.

15. Критерии исключения пациентов (т.е. основания прекращения применения апробируемого метода), а также процедуры, определяющие:

а) когда и как исключать пациентов из клинической апробации;
 - только лишь по личному неприятию пациенткой I и/или II этапов апробации;
 - в случае, если пациентка выразит желание прекратить участие в исследовании (отзыв информированного согласия), она выбывает из исследования преждевременно.
 - каждый субъект исследования имеет право прекратить участие в исследовании в любое время без объяснения причины.

б) какие данные и в какие сроки должны быть собраны по исключенным пациентам;
 - сбор данных только на том этапе, на котором была завершена апробация;

Все случаи выбывания субъектов из исследования будут задокументированы. Исследователь должен указать дату и причину досрочного выбывания субъекта из исследования в первичной документации и ИРК. Если субъект прекращает участие в исследовании по собственному желанию, исследователь должен постараться выяснить причину.

Если отказ от участия в исследовании/исключение из исследования произошли после первого этапа исследования, его данные, собранные до момента отказа/исключения будут учитываться при анализе эффективности, если возможно.

Процедура замещения

Субъекты, выбывшие до момента проведения первого этапа, могут быть заменены новыми субъектами.

в) последующее наблюдение за пациентами, исключенными из клинической апробации метода;

- последующего наблюдения не требуется.

VI. Медицинская помощь в рамках клинической апробации

16. Вид, форма и условия оказания медицинской помощи:

Вид – Медицинская помощь

Форма – Плановая.

Условия оказания медицинской помощи – дневной стационар.

17. Перечень медицинских услуг (медицинских вмешательств).

В рамках клинической апробации будут применены медицинские услуги в соответствии с приказом Минздрава России от 27 декабря 2011 года №1664н «Об утверждении номенклатуры медицинских услуг».

1.	Консультация врача-генетика	2
2.	Консультация акушера-гинеколога	2
3.	УЗ исследование плода	2
4.	Аспирация ворсин хориона/околоплодных вод	1
5.	Амниоцентез	1
6.	Молекулярно-генетическое исследование биоматериала	1
7.	Определение основных групп крови (А,В,О)	1
8.	Определение резус-принадлежности крови	1
9.	Проведение реакции Вассермана (RW)	1
10.	Определение антигена к вирусу гепатита В (HBsAg Hepatitis B virus) в крови	1
11.	Определение антител классов М, G (IgM, IgG) к вирусу гепатита С (Hepatitis C virus) в крови	1
12.	Определение антител классов М, G (IgM, IgG) к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1 (Human immunodeficiency virus HIV 1) в крови	1
13.	Определение антител классов М, G (IgM, IgG) к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-2 (Human	1

	immunodeficiency virus HIV 1) в крови	
14.	Уход сестринский	1
15.	Уход младшего медицинского персонала	1
16.	Биохимический анализ крови	1
17.	Анализ мочи общий	1
18.	Общий (клинический) анализ крови развернутый	1
19.	Коагулограмма развернутая	1

18. **Лекарственные препараты для медицинского применения, дозировка, частота приема, способ введения, а также продолжительность приема:** Отсутствуют.

VII. Оценка эффективности

19. **Перечень показателей эффективности.**

Чувствительность и специфичность методики для обнаружения основных анеуплоидий, согласно заявленной методике оценки.

20. **Перечень критериев дополнительной ценности.** Нет.

21. **Методы и сроки оценки, регистрации, учета и анализа параметров эффективности:** Интегральная оценка эффективности будет основана на статистическом анализе основного и дополнительных критериев эффективности.

VIII. Статистика

22. **Описание статистических методов, которые предполагается использовать на промежуточных этапах анализа результатов клинической апробации и при ее окончании. Уровень значимости применяемых статистических методов:**

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ Office 2003, Statistica 6.0. С целью определения диагностической чувствительности и специфичности анализируемых параметров построение «Деревьев решений».

23. **Планируемое число пациентов, которым будет оказана медицинская помощь в рамках клинической апробации с целью доказательной эффективности апробируемого метода. Обоснование числа пациентов, включая расчеты для обоснования.**

Планируется провести клиническую апробацию у 430 пациентов с высоким риском рождения ребенка с хромосомной патологией.

В 2015 году – 40 пациентов, 2016 году – 195 пациентов, 2017 году – 195 пациентов.

Учитывая среднюю эффективность пренатальной диагностики (процент выявленной патологии от проведенных процедур) 13% можно предположить, что число выявленных патологических беременностей будет около 52.

IX. Объем финансовых затрат

24. **Описание применяемого метода расчета объема финансовых затрат.**

Для определения норматива финансовых затрат произведена оценка стоимости оказания медицинских услуг, а также текущей стоимости медицинских изделий и диагностических тест-систем, применяемых при апробации. Стоимость медицинских изделий и тест-систем определена путем анализа информации, представленной в сети Интернет, на официальном сайте Госзакупок, или же на официальном сайте производителя изделия/препарата, предусмотренное протоколом апробации число раз. Помимо прямых расходов также учтены косвенные расходы, связанные с содержанием помещений (коммунальные услуги, уборка, техническое обслуживание, услуги связи, в т.ч. Интернет)

для осуществления необходимых манипуляций, с работой вспомогательного персонала, административно-хозяйственных служб.

Для расчета нормативов финансовых затрат применены «Методические рекомендации по расчету финансовых затрат на оказание медицинской помощи по каждому протоколу клинической апробации методов профилактики, диагностики, лечения и реабилитации», Приказ Министерства здравоохранения РФ № 556 от 13.08.2015 г.

25. Предварительный расчет объема финансовых затрат на оказание медицинской помощи в рамках клинической апробации 1 пациенту:

№ п/п	Наименование	Кратность
Перечень медицинских услуг		
1	Консультация генетика	2
2	Консультация акушера-гинеколога	2
3	УЗ исследование плода	2
4	Аспирация ворсин хориона	1
5	Амниоцентез	1
6.	Молекулярно-генетическое исследование биоматериала	1
7.	Определение основных групп крови (А,В,О)	1
8.	Определение резус-принадлежности крови	1
9.	Проведение реакции Вассермана (RW)	1
10.	Определение антигена к вирусу гепатита В (HBsAg Hepatitis B virus)в крови	1
11.	Определение антител классов М, G (IgM, IgG) к вирусу гепатита С (Hepatitis C virus)в крови	1
12.	Определение антител классов М, G (IgM, IgG) к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1 (Human immunodeficiency virus HIV 1)в крови	1
13.	Определение антител классов М, G (IgM, IgG) к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-2 (Human immunodeficiency virus HIV 1)в крови	1
14.	Уход сестринский	1
15.	Уход младшего медицинского персонала	1
16.	Биохимический анализ крови	1
17.	Анализ мочи общий	1
18.	Общий (клинический) анализ крови развернутый	1
19.	Коагулограмма развернутая	1
Перечень используемых медицинских изделий		
1	Праймеры	1
2	Реакционная смесь для ПЦР	1
3	Пробирки 0,2 мкл	3
4	Набор для выделения ДНК	1
5	Пробирки 1,5 мл	6
6	Пробирки для вакуумного забора крови 4мл.	1
7	Наконечники 200-1000 с фильтром	5

8	Наконечники 5-200 с фильтрами	8
9	Пробирки 0,2 мкл	1
10	Наконечники 5-200 с фильтрами	2
11	Наконечники 0,5-10 с фильтрами	5
12	Размерный стандарт	1
13	Крышка для плашки	1
14	Плашка	1
15	Капилляры для ДНК анализатора	1
16	Полимер для секвенирования	1
17	Одна лунка	1
18	Две лунки - 5 анеуплоидий	1
19	Игла для инвазивной методики	1
20	Стерильный комплект (халаты, бахилы, шапочка, маска)	4
21	Шприц трехкомпонентный 20 мл	1
22	Спирт	2
23	Перчатки стерильные	6
24	Одноразовая простыня	5

Общая стоимость апробации метода в одном случае составляет **23,05** тыс. руб.

Планируемое количество случаев апробации - 430.

Общая стоимость апробации составит **9 911,5** тыс. руб.

В том числе в 2015 году - 40 пациентов на сумму 922,00 тыс. руб., в 2016 году - 195 пациентов на сумму 4 494,75 тыс. руб., в 2017 году – 195 пациентов на сумму 4 494,75 тыс. руб..

Директор ФГБУ «РНИИАП»
Минздрава России,
д.м.н., профессор



В.А. Линде