

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Р.А. Часнойть

30 января 2009 г.

Регистрационный № 200-1208

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛОКСВЯЗАННОЙ ФУКОЗЫ
ДЛЯ ОЦЕНКИ ФИБРОЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВИРУСНОМ
ГЕПАТИТЕ С**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: УО «Белорусский государственный
медицинский университет», УЗ «Городская клиническая инфекционная
больница» г. Минска

АВТОРЫ: д-р мед. наук, проф. И.А. Карпов, И.В. Юркевич

Минск 2009

Инструкция предназначена для определения степени выраженности фибротического процесса у больных хроническим вирусным гепатитом С.

Область применения: гастроэнтерология, гепатология, инфекционные болезни, клиническая лабораторная практика.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Набор реактивов:

- 95–96% этанол;
- 0,1 нормальный (н.) едкий натрий;
- серная кислота (6 объемов концентрированной серной кислоты и 1 объем дистиллированной воды);
- 3% раствор солянокислого цистеина (устойчив 6–7 дней при 18–24 °С);
- стандартные растворы, содержащие 5, 20, 40, 80, 100, 200, 400 и 800 мкг L-фукозы в 0,5 мл дистиллированной воды.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Хронический вирусный гепатит С различной степени клинико-биохимической активности с целью выявления групп риска по развитию цирроза.

2. Хронический вирусный гепатит С с целью оценки эффективности проводимой этиотропной терапии.

3. Хронический вирусный гепатит С на стадии цирроза как дополнительный критерий для подтверждения диагноза.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Противопоказаний для обследования не имеется.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА

1. Забор проб биологического материала (сыворотка больных хроническим гепатитом С).

2. Проведение биохимического исследования для определения концентрации белоксвязанной фукозы (БСФ).

3. Интерпретация полученных результатов.

Методика проведения

В две сухие центрифужные пробирки (№ 1 — опыт, № 2 — контроль) наливаем по 0,1 мл исследуемой сыворотки крови и 0,5 мл этанола для осаждения фукозосодержащих гликопротеинов. Содержимое пробирок перемешиваем и инкубируем при комнатной температуре 5 мин, центрифугируем (3000 об/мин, 10 мин). Надосадочную жидкость удаляют деконтированием. В осадке (опыт и контроль) определяем содержание БСФ. К полученным осадкам (опытные, контрольные) добавляем по 0,5 мл 0,1 н. едкого натрия. Пробирки с содержимым встряхиваем (перемешиваем

пипетированием до полного растворения осадка), пробирки опускаем в ледяную баню и добавляем в пробы по 2,3 мл раствора концентрированной серной кислоты 6 : 1 (6 частей концентрированной H_2SO_4 и 1 часть воды), охлажденной до 1–4°C. Содержимое пробирок осторожно перемешиваем, не вынимая из ледяной бани. Указанное выше количество кислоты в условиях охлаждения также добавляем к стандартным растворам фукозы, взятым по 0,5 мл. Затем все охлажденные смеси помещаем на 10 мин в кипящую водяную баню с последующим охлаждением до 18–24 °С. Во все пробы, кроме контрольной (пробирка № 2), добавляем точно по 0,1 мл 3% раствора солянокислого цистеина, тотчас их перемешиваем и инкубируем 60 мин при температуре 18–24 °С. Оптическую плотность опытной пробы измеряем на спектрофотометре при 396 нм против соответствующей контрольной пробы (пробирка № 2).

Построение калибровочных графиков осуществляют с использованием стандартных растворов фукозы, приготовленных по вышеуказанной методике. По калибровочному графику находим содержание БСФ, концентрацию выражаем в миллиграммах на 1 л исследуемой биологической жидкости.

Учет результатов

Учет результатов проводится с помощью спектрофотометра. В последующем определяется концентрация белоксвязанной фукозы по калибровочному графику.

Интерпретация результатов

Результаты необходимо трактовать с учетом всех данных обследования пациентов. Для оценки эффективности этиотропной терапии необходимо осуществить первое исследование до ее начала, последующие выполняются через 1 месяц после инициации терапии. Возможно проведение исследований через 3, 6 и 12 месяцев этиотропной терапии.

При эффективном этиотропном лечении с достижением стойкого вирусологического ответа наблюдается снижение уровня белоксвязанной фукозы по сравнению с исходным значением.

При проведении исследования с целью определения стадии фиброза оценивается уровень БСФ. При наличии цирроза показатель составляет 140 мг на 1 л сыворотки и выше (максимальный уровень — у лиц с декомпенсированным циррозом).

Меры безопасности при проведении

1. Необходимо соблюдать установленные меры безопасности при работе с серной кислотой.

2. Работа с исследуемым материалом должна проводиться как с инфицированным.

3. Использованный биологический материал необходимо обрабатывать дезинфектантом широкого спектра действия по вирулицидному режиму.