

Министерство здравоохранения Республики Беларусь



Первый заместитель Министра
Д.Л. Пиневич

2018 г.

Регистрационный № 240-1218

**Метод определения вероятности развития выраженного фиброза
печени и гепатоцеллюлярной карциномы при хроническом
вирусном гепатите С**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ:

Юркевич И.В., к.м.н. Анисько Л.А., д.м.н., профессор Карпов И.А.

Минск, 2018

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Д. Л. Пиневиц

28.12.2018

Регистрационный № 240-1218

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ
ВЫРАЖЕННОГО ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ
И ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ
ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ С**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: УО «Белорусский государственный
медицинский университет»

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

Минск 2018

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод определения вероятности развития выраженного фиброза печени и гепатоцеллюлярной карциномы по уровню содержания общей фукозы в сыворотке крови у пациентов с различными клиническими формами хронического вирусного гепатита С. Метод может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на вторичную медицинскую профилактику осложнений, развивающихся при данном заболевании.

Настоящая инструкция предназначена для врачей-инфекционистов, иных врачей-специалистов организации здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с хроническим вирусным гепатитом С в стационарных или амбулаторных условиях.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Набор реактивов (указано необходимое количество каждого реагента для исследования 1 биологического образца):

раствор 96 %-го этанола — 20 мл;

серная кислота в соотношении 6 частей концентрированной кислоты и 1 часть дистиллированной воды — 9 мл, дополнительно 4,5 мл на стандартный образец, 4,5 мл на бланк;

стандарт L-фукозы в концентрации 20 мкг/мл — 1 мл;

цистеиновый реагент в концентрации 3 г/100 мл — 200 мкл, дополнительно 200 мкл на стандартный образец, 200 мкл на бланк;

0,1 Н раствор гидроксида натрия (NaOH) — 2 мл.

2. Медицинское оборудование и материалы:

центрифуга лабораторная; медицинский отсасыватель;

автоматические дозаторы с переменным объемом 1–5 мл, 200–1000 мкл;

весы лабораторные;

пробирки объемом 10 мл с плотными пластиковыми крышками, устойчивыми к действию кислот и щелочей;

пластиковые наконечники для дозаторов 1–5 мл, 200–1000 мкл;

холодильник бытовой 2–8 °С;

вортекс;

спектрофотометр;

кюветы полистирольные для спектрофотометра; калькулятор.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Хронический вирусный гепатит С различной степени клинико-биохимической активности с целью неинвазивной диагностики выраженного фиброза печени (стадии P3-P4).

2. Цирроз печени, вызванный вирусом гепатита С, с целью ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы (в качестве метода скрининга).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

1. Забор проб биологического материала (кровь) осуществляется общепринятыми методами.

2. Биохимическое исследование для определения концентрации общей фукозы в сыворотке крови осуществляется согласно следующему алгоритму:

2.1. В пластиковую центрифужную пробирку вносится 100 мкл сыворотки пациента, к которой добавляют 5 мл 96 %-го раствора этанола. Образец перемешивается на вортексе и центрифугируется со скоростью 3 000 об/мин в течение 15 мин с последующим удалением надосадочной жидкости с использованием медицинского отсасывателя.

2.2. К осадку добавляется 5 мл 96 %-го раствора этанола, образец повторно перемешивается на вортексе и центрифугируется со скоростью 3000 об/мин в течение 15 мин с последующим удалением надосадочной жидкости с использованием медицинского отсасывателя.

2.3. К преципитату добавляется 1 мл 0,1 Н раствора NaOH с перемешиванием до полного растворения осадка. Параллельно ставится стандартная проба (с известной концентрацией фукозы) и бланк. В качестве стандартного образца используется 1 мл стандарта фукозы в концентрации 20 мкг/мл, в качестве бланка — пробирка с 1 мл дистиллированной воды.

2.4. В пробирки с опытным образцом, стандартом и бланком вносится по 4,5 мл раствора серной кислоты с последующим перемешиванием образцов. Все пробирки помещаются в условия холодильной установки с температурой 4 °С на 3 мин.

2.5. В каждую пробирку добавляется 100 мкл цистеинового реагента (3г/100 мл) с тщательным перемешиванием и инкубацией при комнатной температуре в течение 90 мин. Содержимое пробирок повторно перемешивается.

2.6. Методом спектрофотометрии определяется оптическая плотность опытных образцов, стандарта и бланка при длине волны 396 и 430 нм.

2.7. Расчет концентрации фукозы (мг/100 мл) осуществляется по следующей формуле:

$$\frac{(OP_{396} - OP_{430}) - (OP_{\text{бланк}396} - OP_{\text{бланк}430})}{(OP_{\text{стандарт}396} - OP_{\text{стандарт}430})} * 0,02 * 1000$$

3. Интерпретация результатов.

Для оценки определения степени выраженности фиброза печени, риска развития гепатоцеллюлярной карциномы достаточно однократного исследования биохимического образца.

Таблица — Интерпретация результатов определения общей фукозы сыворотки крови у пациентов с различными клиническими формами хронического вирусного гепатита С и оценка вероятности развития выраженного фиброза печени и гепатоцеллюлярной карциномы

Значение общей фукозы сыворотки крови, мг/100 мл	Интерпретация результата	Диагностические характеристики
>14,72 мг/100 мл	Имеется высокая вероятность наличия выраженной стадии фиброза печени (P3-P4)	Медиана чувствительности 0,736, медиана специфичности 0,941, площадь под характеристической кривой 0,918
>19,5 мг/100 мл	Имеется высокая вероятность наличия гепатоцеллюлярной карциномы	Медиана чувствительности 1,0, медиана специфичности 0,706, площадь под характеристической кривой <u>0,853</u>

4. Принятие управленческого решения.

4.1. В случае, если по результатам определения общей фукозы сыворотки крови имеется высокая вероятность выраженной стадии фиброза печени (P3-P4), решение принимается в соответствии с пунктом 14 инструкции по применению № 226-1212 «Алгоритм диспансерного наблюдения при вирусных гепатитах», утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь от 20.12.2012.

4.2. В случае, если по результатам определения общей фукозы сыворотки крови имеется высокая вероятность гепатоцеллюлярной карциномы, решение принимается в соответствии с пунктом 119 клинического протокола «Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований», утвержденного приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 258 от 11.03.2012.