

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 N 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.