

Министерство здравоохранения Республики Беларусь



Первый заместитель Министра
Д.Л. Пиневиц

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

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, который 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.

Показания к применению:

1. Хронический вирусный гепатит С различной степени клинико-биохимической активности с целью неинвазивной диагностики выраженного фиброза печени (стадии F3-F4)
2. Цирроз печени, вызванный вирусом гепатита С, с целью ранней диагностики гепатоцеллюлярной карциномы (в качестве метода скрининга).

Противопоказания к применению инструкции: нет.

Перечень необходимых медицинских изделий, реактивов, лекарственных средств:

1. Набор реактивов (указано необходимое количество каждого реагента для исследования 1 биологического образца):
 - раствор 96%-ого 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°C);
вортекс;
спектрофотометр;
кюветы полистирольные для спектрофотометра;
калькулятор.

Описание технологии:

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

2. Проведение биохимического исследования 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%-ого раствора этанола. Образец перемешивается на вортексе и центрифугируется со скоростью 3000 оборотов в минуту в течение 15 минут с последующим удалением надосадочной жидкости с использованием медицинского отсасывателя.

2.2. К осадку добавляется 5 мл 96%-раствора этанола, образец повторно перемешивается на вортексе и центрифугируется со скоростью 3000 оборотов в минуту в течение 15 минут 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°C на 3 минуты.

2.5. В каждую пробирку добавляется 100 мкл цистеинового реагента (3г/100 мл) с тщательными перемешиванием и инкубацией при комнатной температуре в течение 90 минут. 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:

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

3. Интерпретация результатов.

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

Таблица 1. 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 (F3-F4) | Медиана чувствительности 0,736, медиана специфичности 0,941, площадь под характеристической кривой 0,918 |
| > 19,5 мг/100 мл | Имеется высокая вероятность наличия гепатоцеллюлярной | Медиана чувствительности 1,0, медиана |

| | | |
|--|-----------|---|
| | карциномы | специфичности 0,706, площадь под характеристической кривой 0,853 |
|--|-----------|---|

4. Принятие управленческого решения.

4.1. В случае, если по результатам определения общей фукозы сыворотки крови имеется высокая вероятность выраженной стадии фиброза печени (F3-F4), 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 г.

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 от 11.03.2012. № 258.