МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель Министра
_____ Е.Л.Богдан
«28» _____ 2026 г.
Регистрационный № 063-0926

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТИ ВЫРАЖЕННОГО ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: Цейко З.А., д.м.н., профессор Стома И.О., к.м.н., доцент Воропаев Е.В., Осипкина О.В., Ковалев А.А., Зятьков А.А., Шафорост А.С., к.м.н., доцент Козорез Е.И., к.м.н., доцент Демчило А.П., к.м.н. Терешков Д.В.

Гомель, 2026

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод определения вероятности выраженного фиброза печени. Метод основан на расчёте комбинированного индекса вероятности фиброза печени (далее – ИВФП), интегрирующего данные о составе кишечной микробиоты и клинико-лабораторные показатели. Метод направлен на раннее выделение групп высокой вероятности неблагоприятного течения болезни для своевременного проведения лечебно-профилактических мероприятий, предупреждающих развитие цирроза при хроническом вирусном гепатите С (далее – ХГС) (В18.2 по МКБ-10) и может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на медицинскую профилактику осложнений ХГС.

Инструкция предназначена для врачей-инфекционистов, врачей-гепатологов, врачей-гастроэнтерологов, врачей-терапевтов, врачей общей практики и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с ХГС (В18.2 по МКБ-10) в стационарных и (или) амбулаторных условиях, и (или) в условиях отделения дневного пребывания.

1. Показания к применению

ХГС (В18.2 по МКБ-10).

2. Противопоказания

Отсутствуют.

3. Перечень необходимых медицинских изделий

– холодильник, поддерживающий температуру в диапазоне +2…+8 ^{0}C;

– морозильник, поддерживающий температуру –70 ^{0}C;

– морозильник, поддерживающий температуру в диапазоне –18… –20 ^{0}C;

– ПЦР-бокс с УФ-рециркулятором воздуха;

– центрифуга (максимальное ускорение – не менее 13000g);

– магнитный штатив для пробирок объемом 0,2 мл для очистки продуктов ПЦР;

– штатив для вакуумных пробирок с ЭДТА для взятия крови;

– штатив «рабочее место» для микроцентрифужных пробирок объемом 0,2 мл и 1,5 мл;

– твердотельный термостат, поддерживающий диапазон температур +40…+100 ^{0}C;

– термоконтейнер для транспортировки, поддерживающий температуру в диапазоне +2…+8 ^{0}C;

– микроцентрифуга-вортекс;

– аспиратор с колбой-ловушкой объемом 1л;

– комплект пипеточных дозаторов (объемы: 0,5-10 мкл, 10-100 мкл; 100-1000 мкл);

– спектрофотометр для измерения концентрации и определения качества нуклеиновых кислот;

– флуориметр для измерения концентрации двуцепочечной ДНК;

– амплификатор (термоциклер);

– система для электрофоретического разделения и детекции нуклеиновых кислот;

– высокопроизводительный секвенатор, имеющий функцию длины прочтения не менее 250 нуклеотидов;

– сервер с установленным набором программного обеспечения для биоинформатического анализа данных и определения состава микробиоты: FastQC, Kraken2 (база PlusPF от 05.06.2024), Preprocess16S, или аналогичное программное обеспечение для проверки качества прочтений, удаления последовательностей праймеров, фильтрации

некачественных прочтений и классификации таксономических последовательностей;

– набор реагентов для экстракции ДНК для высокопроизводительного секвенирования;

– набор магнитных частиц для очистки ДНК;

– деионизированная вода;

– этиловый спирт 80%;

– набор реагентов для измерения концентрации двуцепочечной ДНК;

– праймеры на V3-V4 регион гена 16S рРНК прокариот:

– прямой V3/V4: 5'-последовательность адаптера-ag'3;

– обратный V3/V4: 5'-последовательность адаптера-gactachvgggtatctaatcc'3;

– праймеры на V1-V5 регион гена 16S рРНК прокариот:

– прямой V1-V5: 5'agagtttgatcctggctcag'3;

– обратный V1-V5: 5'ccgtcaattcctttragttt'3;

– натрия гидроксид концентрацией 2 моль/дм^3;

– набор индексов, совместимый с используемым высокопроизводительным секвенатором;

– проточная ячейка, совместимая с используемым высокопроизводительным секвенатором;

– картридж, совместимый с используемым высокопроизводительным секвенатором;

– стандартный контрольный образец (фаговый геном PhiX174);

– индивидуальные пакеты с Zip-Lock;

– анализатор биохимический;

– шприцы объемом 10 мл;

– пробирки для забора крови с активатором свертывания или без антикоагулянта;

пробирки для забора крови с антикоагулянтом K_3EDTA;

– жгут венозный;

– набор реагентов для определения концентрации общего билирубина в сыворотке/плазме крови фотометрическим методом;

– калибратор (стандарт) для биохимического анализатора в диапазоне измеряемых концентраций билирубина;

– контрольные сыворотки (нормальная и патологическая) для контроля качества определения билирубина;

– реагент для определения СОЭ (цитрат натрия 3,8% или 3,2% для метода Вестергрена) или готовые вакуумные пробирки с цитратом для анализаторов;

– ПЦР-пробирки объемом 0,2 мл;

– микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл;

– наконечники с фильтром для автоматических дозаторов объемом 10, 20, 200, 1000 мкл;

– наконечники без фильтра для автоматического дозатора объемом мкл;

– комплект средств индивидуальной защиты (одноразовые стерильные халаты, латексные перчатки, маски, бахилы, шапочки).

4. Технология осуществления метода

Метод, изложенный в данной инструкции, реализуется в несколько этапов.

Этапы

4.1. Определение биохимических показателей крови

В качестве биологического материала используют венозную кровь. Взятие крови проводят в утренние часы, натощак. Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и концентрации общего билирубина выполняют общепринятыми методами.

4.2. Определение состава кишечной микробиоты

В качестве биологического материала используют кал. Получение биоматериала проводят в утренние часы.

4.2.1. Транспортировка образцов кала в лабораторию

Транспортировку образцов кала в лабораторию осуществляют в течение 1-2 часов в термоконтейнере для транспортировки с температурным режимом +2…+8 ^{0}C. Хранение образцов кала осуществляют при температуре не выше минус 70 ^{0}C.

4.2.2. Проведение высокопроизводительного секвенирования 16S рРНК и биоинформатический анализ

Выделение ДНК, подготовку библиотек ампликонов региона V3-V4 гена 16S рРНК (включая этапы целевой ПЦР, при необходимости обогащения с использованием праймеров V1-V5, очистку, индексную ПЦР и нормализацию), настройку высокопроизводительного секвенатора, а также последующий биоинформатический анализ данных (включая программное обеспечение FastQC, Preprocess16S, Trimmomatic, Kraken2 и базу PlusPF) выполняют в соответствии с разделами 4.1–4.5 и приложением 2 Инструкции по применению «Метод определения вероятности инфекции мочевыводящих путей при циррозе печени», утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь 31.12.2024 № 131-1224, адаптируя процедуру экстракции и пробоподготовки для образцов кала.

4.3. Проведение расчета ИВФП

Расчет ИВФП проводят после определения состава кишечной микробиоты методом высокопроизводительного секвенирования 16S рРНК, биоинформатического анализа и получения стандартных клинико-лабораторных параметров.

Подготовка исходных данных:

- Пол: кодируется как 1 для мужчин и 0 для женщин.
- Общий билирубин: значение в мкмоль/л.
- СОЭ: значение в мм/ч.
- *Streptococcus* (бинарная переменная): присваивается значение 1, если относительная представленность рода *Streptococcus* в образце составляет ≥ 1,36%. В противном случае присваивается значение 0.
- *Intestinimonas* (бинарная переменная): присваивается значение 1, если относительная представленность рода *Intestinimonas* в образце составляет ≥ 0,041%. В противном случае присваивается значение 0.

После подготовки данных проводят расчет ИВФП по формуле:

ИВФП = (Пол × 1,1286) + (Streptococcus_bin × 0,90339) + (Intestinimonas_bin × 1,79422) + (Билирубин × 0,041599) + (СОЭ × 0,062214)

Для автоматизированного расчёта ИВФП рекомендуется использовать веб-калькулятор (Приложение 2).

4.4. Определение степени вероятности выраженного фиброза печени (стадии F3-F4)

Определение вероятности наличия выраженного фиброза печени проводят по рассчитанному значению ИВФП в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 – Определение вероятности наличия выраженного фиброза печени

Степень вероятности фиброза F3-F4	**Значение ИВФП**	**Клиническая интерпретация**
Низкая вероятность	≤ 4,36	Вероятность наличия фиброза F3-F4 минимальна. Вероятность развития цирроза в ближайшие годы низка.
Высокая вероятность		Высокая вероятность прогрессирования фиброза в цирроз.

5. Принятие клинического решения

Рассчитанное значение ИВФП позволяет отнести пациента к группе низкой или высокой вероятности фиброза печени F3-F4.

5.1. При низкой вероятности (ИВФП ≤ 4,36):

Диспансерное наблюдение в соответствии с клиническим протоколом «Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с хроническими вирусными гепатитами В и С», утверждённым постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 19.03.2019 № 19 (в части наблюдения для пациентов с фиброзом F0-F2). Повторный расчёт индекса не требуется, за исключением случаев ухудшения клинико-лабораторной картины.

5.2. При высокой вероятности (ИВФП > 4,36):

Рекомендовано скорейшее рассмотрение вопроса о противовирусной терапии (при её отсутствии) в соответствии с пунктом 18 клинического протокола «Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с хроническими вирусными гепатитами В и С», утверждённого постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 19.03.2019 № 19. До назначения противовирусного лечения пациенту

показано диспансерное наблюдение в соответствии с вышеуказанным протоколом.

6. Перечень возможных осложнений или ошибок

Использование расчетного метода не связано с прямым риском для здоровья пациента. При точном соблюдении инструкции ошибки исключены.

Приложение 1
к инструкции по применению «Метод определения вероятности выраженного фиброза печени при хроническом гепатите С»

Адреса репозиториев программного обеспечения для выполнения биоинформатического анализа данных высокопроизводительного секвенирования:

1. FastQC: https://github.com/s-andrews/FastQC
2. Preprocess16S: https://github.com/masikol/preprocess16S
3. Trimmomatic: https://github.com/timflutre/trimmomatic
4. Kraken2: https://github.com/DerrickWood/kraken2
5. База Kraken2: https://benlangmead.github.io/aws-indexes/k2

Приложение 2
к инструкции по применению «Метод определения вероятности выраженного фиброза печени при хроническом гепатите С»

1. Адрес веб-калькулятора для расчёта ИВФП:

https://mellow-druid-373d20.netlify.app/

2. QR-код веб-калькулятора для расчёта ИВФП:



Обоснование целесообразности практического применения метода определения вероятности выраженного фиброза печени при хроническом гепатите С

Хронический вирусный гепатит С (ХГС) остаётся одной из актуальных проблем здравоохранения в мире и в Республике Беларусь. Естественное течение ХГС сопровождается формированием и прогрессированием фиброза печени, что в отсутствие своевременного вмешательства приводит к развитию цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы. Эти особенности патогенеза определяют высокую медицинскую и социальную значимость не только ранней диагностики фибротических изменений, но и мероприятий по предупреждению их неблагоприятной эволюции [1]. Степень фиброза печени является ключевым прогностическим фактором, определяющим тактику ведения пациента, сроки начала противовирусной терапии и необходимость профилактики осложнений [2].

В настоящее время «золотым стандартом» оценки фиброза остаётся биопсия печени, однако её инвазивность, риск осложнений и ограниченная пригодность для динамического наблюдения стимулируют поиск надёжных неинвазивных альтернатив [3]. В клинической практике широко применяется ультразвуковая эластография, а при её недоступности – сывороточные индексы (FIB-4, APRI). Однако расчётные индексы, в частности FIB-4, характеризуются наличием обширной «серой зоны» (до 30–40% пациентов), в которой результат остаётся неопределённым и не позволяет принять однозначное клиническое решение, что затрудняет своевременное проведение профилактических мероприятий [4].

В последние годы ось «кишечник-печень» признана важным патогенетическим звеном в прогрессировании хронических заболеваний

печени. Кишечный микробиом, модулируя системное воспаление, проницаемость кишечного барьера и метаболические процессы, напрямую влияет на фиброгенез [5, 6]. Ряд исследований продемонстрировал связь между дисбиозом кишечника и различными стадиями фиброза при неалкогольной жировой болезни печени и алкогольной болезни печени, однако роль специфических таксонов кишечной микробиоты в качестве прогностических маркеров прогрессирования фиброза при ХГС изучена недостаточно, а комбинированные модели, интегрирующие клинические и микробиомные данные, практически не разрабатывались [7].

Предложенный метод основан на расчёте комбинированного индекса выраженного фиброза печени (ИВФП), который интегрирует данные о составе кишечной микробиоты (бинарные маркеры *Streptococcus* и *Intestinimonas*) с рутинными клинико-лабораторными параметрами (пол, билирубин, СОЭ). Разработанный индекс демонстрирует хорошую прогностическую точность (AUC 0,75 на тестовой выборке) и позволяет проводить двухуровневую стратификацию вероятности выраженного фиброза печени (низкая, высокая) с определёнными пороговыми значениями ($\leq 4{,}36$; $> 4{,}36$).

Преимуществами данного метода являются:

- патогенетическая обоснованность – учёт состояния кишечной микробиоты как важного фактора, влияющего на прогрессирование фиброза;
- интегративный подход – совместное использование клинических и микробиомных данных для повышения точности стратификации риска;
- клиническая значимость – возможность выделения групп с высокой вероятностью выраженного фиброза среди пациентов с

неопределёнными результатами стандартных неинвазивных тестов («серая зона» FIB-4);

- профилактическая направленность – раннее выявление пациентов, нуждающихся в интенсификации наблюдения и коррекции факторов риска (включая дисбиоз) для предотвращения развития цирроза;
- воспроизводимость – стандартизированный алгоритм расчёта на основе объективных лабораторных данных и результатов секвенирования;
- персонализация подхода – возможность учёта индивидуальных особенностей микробиома при планировании профилактических и лечебных мероприятий.

Применение разработанного метода в клинической практике позволит своевременно выявлять пациентов с высокой вероятностью выраженного фиброза печени и обоснованно определять профилактическую тактику. Метод может быть рекомендован для использования в рамках персонализированной профилактики у пациентов с хроническим гепатитом С, а также в научно-практических целях.

Литература.

1. Liu Z, Shi O, Zhang T, et al. Disease burden of viral hepatitis A, B, C and E: A systematic analysis. Journal of Viral Hepatitis. 2020;27(12):1284-1296.

2. Fortea JI, Crespo J, Puente Á. Cirrhosis, a Global and Challenging Disease. J Clin Med. 2022;11(21):6512.

3. Roehlen N, Crouchet E, Baumert TF. Liver Fibrosis: Mechanistic Concepts and Therapeutic Perspectives. Cells. 2020 Apr 3;9(4):875. doi: 10.3390/cells9040875. PMID: 32260126; PMCID: PMC7226751.

4. Rungta S, Kumari S, Deep A, Verma K, Swaroop S. APRI and FIB-4 performance to assess liver fibrosis against predefined Fibroscan values in chronic hepatitis C virus infection. J Family Med Prim Care. 2021

Nov;10(11):4082-4088. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_666_21. Epub 2021 Nov 29. PMID: 35136771; PMCID: PMC8797084.

5. Lee NY, Suk KT. The Role of the Gut Microbiome in Liver Cirrhosis Treatment. International Journal of Molecular Sciences. 2021; 22(1):199. https://doi.org/10.3390/ijms22010199.

6. Zhang L, Zi L, Kuang T, Wang K, Qiu Z, Wu Z, Liu L, Liu R, Wang P, Wang W. Investigating causal associations among gut microbiota, metabolites, and liver diseases: a Mendelian randomization study. Front Endocrinol (Lausanne). 2023 Jul 5;14:1159148. doi: 10.3389/fendo.2023.1159148. PMID: 37476494; PMCID: PMC10354516.

7. Особенности кишечной микробиоты при выраженном фиброзе и циррозе печени, ассоциированных с хроническим гепатитом С / И. О. Стома, З. А. Цейко, Е. В. Воропаев [и др.] // Журнал инфектологии. – 2026. – Т. 18, № 1. – С. 62-73. – DOI 10.22625/2072-6732-2026-18-1-62-73. – EDN ODIPFG.

8. Многофакторный анализ состава кишечной микробиоты на разных стадиях формирования фиброза печени при хронической HCV-инфекции / И. О. Стома, З. А. Цейко, Е. В. Воропаев [и др.] // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. Журнал имени академика Н.Д. Ющука. – 2026. – Т. 15, № 2. – С. 6-17.