

Д-р Анелия Гоцева<sup>1</sup>, г-р Десислава Велчева<sup>2</sup>,г-р Иванка Габърска<sup>1</sup>, проф. Татяна Червенякова<sup>1</sup><sup>1</sup>СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“, София<sup>2</sup>МДЛ „Цибалаб“, София

# Проучване на диагностичната стойност на тест за количествено определяне на HBsAg

## Резюме

HBV инфекцията продължава да бъде сериозен проблем в клиничната практика. Днес усилията са насочени към използване на различни диагностични методи за установяване и прогнозиране на хода на инфекцията. Количественото определяне на HBsAg е един сравнително нов и все още недостатъчно популярен маркер. Изследването му дава представа за чернодробната концентрация на HBV и показва наличието на потисната вирусната репликация в хепатоцита посттерапевтично.

**Цел:** Проучване на диагностичната стойност и въвеждане в рутинната практика на тест за количествено определяне на HBsAg по метода ECLIA (електрохемилюминисцентен имунен анализ).

**Материали и методи:** В проучването са използвани клинично-лабораторни и серологични методи. Бяха изследвани 40 серумни проби в МДЛ „Цибалаб“, взети от пациенти с хепатит В вирусна инфекция, както и на клинично здрави лица. Количественото определяне на HBsAg е извършено с тест Elecsys® HBsAgII quant на Roche Diagnostics Ltd. Всички проби са изследвани за HBsAg (качествен тест), HBeAg, anti-HBe, anti-HBeIgM, anti-HBc total, anti-HBs, anti-HCV по метода ECLIA и за наличие на anti-HDV по метода ELISA.

**Резултати:** Получените стойности от количественото определяне на HBsAg са в интервала от 0.05 IU/mL до 52 000 IU/mL. Анализът на стойностите на HBsAg, количествено проследени в динамика, показва, че този тест има място като диагностичен метод за предсказване на хода на остър вирусен хепатит В. Получените резултати потвърждават литературните данни, че в болшинството случаи острата HBV инфекция протича като самоограничаващо се заболяване. Значителен спад в стойностите на този маркер на 1 контролен преглед (1-ви месец) е предиктор за приключване на инфекцията с оздравяване (сероконверсия). Същевременно задържането на високи стойности на количествен HBsAg след 3-тия месец показва повишен риск от хронифициране.

**Заключение:** Elecsys® HBsAgII quant на Roche Diagnostics Ltd е бърз (за 18 минути), чувствителен и специфичен метод. Тестът е стандартизиран към NIBSC стандарт. Анализаторът автоматично калкулира получените концентрации в IU/mL. Успоредно с количественото определяне на

HBV DNA е приложим при комплексната диагностика и мониториране на хепатит В вирусната инфекция.

**Ключови думи:** HBV, HBsAg, Eclia Study Of Diagnostic Value of Test for Quantitative Determination of HBsAg

## Investigation Of The Diagnostic Value Of Test For Quantitative Determination Of Hbsag

Aneliya Gotzeva<sup>1</sup>, Dessislava Velcheva<sup>2</sup>, Ivanka Gabarska<sup>1</sup>, Tatiana Tcherveniakova<sup>1</sup><sup>1</sup>SHIPD “Prof. Ivan Kirov” Sofia<sup>2</sup>MDL “CibaLab”

## Abstract

HBV infection is still a serious problem within the clinical practice. Today our efforts are focused in the use of various methods of diagnosis in order to establish and give an accurate prognosis of the infection. Quantitative determination of HBsAg is a relatively new and still insufficiently popular marker. That's research gives a notion of the hepatic concentration of HBV and shows the presence of viral replication in hepatocytes posttherapeutical.

**Aim:** The aim of the study is investigation of the diagnostic value and establishment in routine praxis of test for quantitative determination of HBsAg using ECLIA (ElectroChemiLuminescenceImmunoAssay).

**Materials and methods:** Our research has been performed only by clinical-laboratory and serological methods. Serum samples taken from 40 patients with hepatitis B viral infection and clinically healthy persons were analyzed. Quantitative determination of HBsAg was performed with diagnostic kit Elecsys® HBsAgII quant (Roche Diagnostics Ltd). All samples were tested for HBsAg, anti-HBe, HBeAg, anti-HBe IgM, anti-HBc total, anti-HBs, anti-HCV in ECLIA method, and for the presence of anti-HDV in ELISA method.

**Results:** The values obtained from the quantitative determination of HBsAg were in the range from 0.05 IU/mL to 52 000 IU/mL. The analysis of HBsAg quantity values shows in a dynamic way that such test is necessary as a method of diagnosis in order to predict the sharp contamination of hepatitis, According to the obtained results confirmed by data in medical literature a sharp HBV infection in most cases is revealed as self limited disease. Considerable drop in the values of this method during a first preliminary examination (in the first month) is considered as a predictor to

terminate the infection and to reach to a recovery status, Meantime, the presence of high values in HBsAg quantity 3 month later shows a high risk the infection to become chronic.

**Conclusion:** Based on the obtained results we conclude that Elecsys® HBsAgII quant (Roche Diagnostics Ltd) is quick (18 min.), sensitive and specific method. This method has been standardized

## Увод

Независимо от постиженията на медицината до настоящия момент, острият вирусен хепатит тип В остава важен етиологичен фактор за възникване на хронично чернодробно заболяване. В световен мащаб 350 млн. души са хроничните носители на HBV. Около 50% от регистрираните случаи на чернодробна цирроза и 30% на рак на черния дроб са свързани с HBV. България се намира в зоната на средна ендемичност на разпространение на HBV инфекцията.

Вирусът на хепатит В се отличава със сложна геномна композиция и репликационна стратегия. Притежава частично двоиноверижен ДНК геном (ds 70%, ss 30%) с големина 3.2 kb. През 1981 г. е установено, че HBV DNA в хепатоцитите може да съществува като интегрирана (двоиноверижна, интрануклеарна) или като епизомална (ссс ДНК, свободна, циркулярна, едноверижна, вътрещитоплазмена) форма. И двете форми могат да съществуват в един и същ хепатоцит (Shafritz, NEJM, 305&1067, 1981). Приема се, че активната вирусна репликация е асоциирана предимно с епизомалната вирусна ДНК, докато ниската репликация е свързана с интегрираната вирусна ДНК.

HBV проявява подчертан хепатотропизъм, като инфектира чернодробните клетки и се размножава в тях. Патогенезата на чернодробното увреждане е имуномедирана. Естественният ход на HBV инфекцията е в пряка зависимост от имунния статус на пациента, възрастта и други компликации. Инфекцията с HBV показва широк диапазон на изява – от субклиничен до самоограничаващ се клинично проявен остър вирусен хепатит и по-рядко фулминантен хепатит до преминаване в хронична фаза. Възможно е хронично неактивно HBsAg носителство или хроничен хепатит с прогресия до чернодробна цирроза и свързаните с нея усложнения, а в част от случаите – и с развитие на първичен хепатоцелуларен карцином.

Диагностичният алгоритъм при остра и хронична HBV инфекция включва откриване на директни (антигени) и на индиректни (антитела) вирусни маркери в кръвта. Необходимо е проследяването им във времето с цел определяне на характерния серологичен профил при налична остра, хронична или преминала (приключила с оздравяване) HBV инфекция. Съвременните вирусологични тестове за детектиране на HBsAg са основани на високочувствителни имунологични методи – ензимосвързан имуносорбентен тест (ELISA), хемилуминисцентен имуноанализ (CLIA) и електрохемилуминисцентен анализ (ECLIA).

against the NIBSC standard. The analyzer automatically calculates the analyte concentrations in IU/mL. In parallel with the quantification of HBV DNA is applicable for complex diagnosis and for monitoring of hepatitis B viral infections.

**Key words:** HBV, HBsAg, Eclia Study Of Diagnostic Value of Test for Quantitative Determination of HBsAg

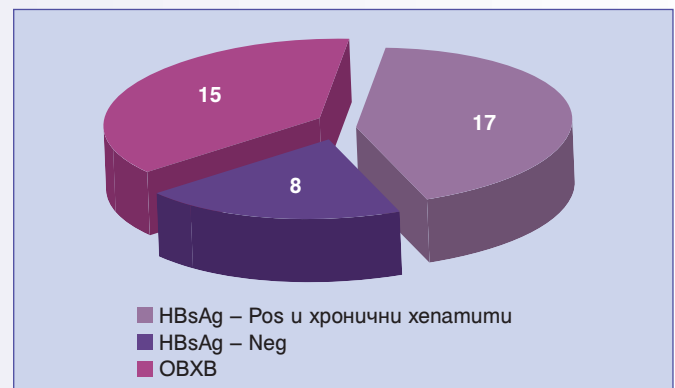
Основен директен скринингов маркер за диагностициране на хепатит В е HBsAg, който се открива в серума още в инкубационния период на заболяването. Резултатите от качествения тест обикновено се дават като положителни (R, реактивни) или отрицателни (нереактивни). При количествено определяне на HBsAg получената стойност се приравнява в IU/mL (международни единици на милилитър). По време на остра инфекция HBsAg се доказва във висока концентрация в кръвния серум.

## Материали и методи

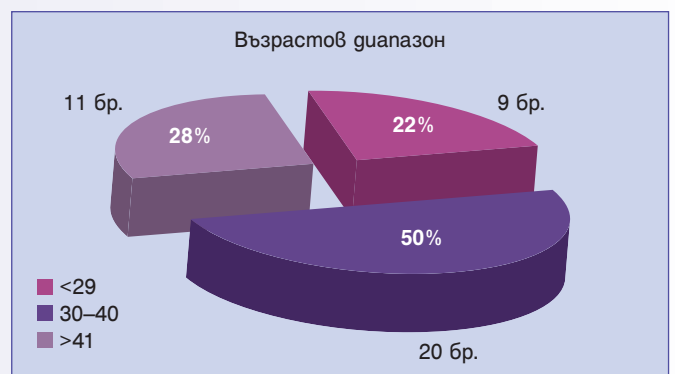
В изследваната група бяха включени 40 лица, от тях 15 – с остър вирусен хепатит тип В (ОВХВ), 17 – с хронична форма на хепатит В вирусна инфекция или носители на HBsAg и 8 клинично здрави лица (фиг. 1).

При всички е направен пълен серологичен профил за HBV (HBsAg качествено тест, HBeAg, anti-HBe, anti-HBcIgM, anti-HBc total, anti-HBs, anti-HCV по метода ECLIA и за наличие на anti-HDV по метода ELISA).

Всички 15 болни с ОВХВ са хоспитализирани в СБА-ЛИПБ „Проф. ИВ. Киров“, София, за периода май 2012–септември 2013 г., с клинично проявена иктерна форма на ОВХВ и характерна биохимична констелация (хипербили-



Фиг. 1. Включени лица в изследваната група



Фиг. 2. Възрастов диапазон на изследваните

рубинемия, цитолитичен синдром). ФЧП (общ и директен билирубин, AST, ALT) са изследвани по време на болничния престой и на контролните прегледи чрез общоутвърдени методики посредством комерсиални китове (Клинична лаборатория на СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“, София). Количественото определяне на HBsAg е извършено с тест Elecsys® HBsAgII quant на Roche Diagnostics Ltd в МДЛ „Ци-балаб“. Част от болните с ОВХВ (n=10) бяха изследвани трикратно на 0–1–3 месец с цел отчитане на динамиката в стойностите на HBsAg.

## Резултати

Изследваните лица бяха във възрастовия диапазон от 20–73 години (фиг. 2), като 50% от тях в активна възраст между 30–40 години (n=20).

От получените резултати се установи корелация между количественото и качествено определяне на HBsAg. Всички изследвани проби от клинично здрави лица бяха негативни и в двата теста. *Количественият тест за определяне на HBsAg показва по-добра чувствителност при слабо позитивните стойности, особено при тези под 0.5 IU/mL.* На табл. 1 са представени резултатите от количественото определяне на HBsAg при 10 от изследваните пациенти с ОВХВ. При пациент № 1 се установи значителен спад в стойностите на HBsAg на втора визита (1-вия месец) и сероконверсия в anti-HBs (3-тия месец). При пациент № 4 не се доказва съществена динамика в стойностите на HBsAg (хроничен ход, HBeAg положителен).

Резултатите от нашето проучване показват ползата от количественото определяне на HBsAg в серума при болни с ОВХВ като специфичен маркер с прогностично значение за изхода от заболяването, т.е. от значение е отчитане на кинетиката му в хода на заболяването. Получените стойности бяха в интервала от 0.05 IU/mL до 52 000 IU/mL. При болните с благоприятен изход се отчете ранен значителен спад в стойностите на количествения HBsAg още по време на острата фаза. Загържането на константно висока концентрация на HBsAg е индикатор за хронифициране на инфекцията.

## Заключение

HBV е сложен устройен вирус, отличаващ се с разнообразие от генотипове, субгенотипове и мутанти. В световен мащаб HBV продължава да бъде водеща причина за чернодробна патология. Независимо от напредъка в знанията ни за HBV инфекцията, същата си остава предизвикателство в клиничната практика. Успоред-

	HBsAg quant. IU/mL		
	I визита	II визита	III визита
I	>52000	3928	<0.05
II	37043	748	0.194
III	15700	10	<0.05
IV	15004	11998	12097
V	30182	1380	<0.05
VI	1157	6737	5094
VII	14752	670	0.118
VIII	8800	16	0.056
IX	37149	592	<0.05
X	705	68	50

Табл. 1. Резултатите от количественото определяне на HBsAg при 10 от изследваните пациенти с ОВХВ

но с рутинните методи за диагностика се налагат и съвременни чувствителни и специфични методи, като количествено определяне на HBV DNA (вирусен товар) в серум/плазма (PCR), количествено определяне на HBsAg и измерване на сссDNA и рgRNA. Приложението им в комплексната диагностика на хепатит В вирусната инфекция може да предостави нов модел относно прогнозата на заболяването още в острата фаза на инфекцията, терапевтичен мониторинг при лечение с интерферон в хроничната фаза, както и определяне на момента за прекратяване на антивирусната терапия.

Тестът HBsAg quantitative има редица предимства, като бързина на изпълнение (около 20 минути), не е трудоемък и скъп, отличава се с висока чувствителност и специфичност, широк линейен диапазон на детекция и стандартизиране към международни унифицирани стандарти (NIBSC стандарт). Автоматичните анализатори, които се използват за диагностика, директно калкулират получените концентрации в IU/mL, което значително намалява риска от следаналитична грешка. Тестът за количествено определяне на HBsAg отразява съвременните тенденции и перспективи в диагностиката на HBV инфекцията. Прилагането му при болни с ОВХВ показва, от една страна, че в болшинството случаи инфекцията е самоограничаваща се. Същевременно при тези с протрахиран ход на инфекцията загържането на високи стойности на количествения HBsAg указва най-вероятно хронифициране. Това налага внимателно и динамично наблюдение на такива болни. Прилагането на този диагностичен тест е една успешна възможност за проследяване на вирусен хепатит В.

HBsAg quantitative има място в комплексната и прецизна диагностика на острата и хроничната HBV инфекция.

## Литература

- Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2001;34:1225-1241.
- Maddrey WC. Hepatitis B: an important public health issue. *MedVirology*. 2000;61:362-366.
- The National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory guidelines for screening, diagnosis and monitoring of hepatic injury. Volume 12/2000.
- Rani Moucari, et al. *Hepatology*. 2009;Vol. 49:1151-1159.
- Sharma SK, Saini N, Chwla Y. Hepatitis B virus: inactive carriers. *Virology Journal*. 2005;2:82.
- WHO Information Office: Fact Sheet WHO /204;2000.