

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ HBSAG, КАК НОВЫЙ МАРКЕР ДЛЯ ПОСТАНОВКИ ДИАГНОЗА НЕАКТИВНОГО НОСИТЕЛЬСТВА

Гарагуля Е.В.<sup>1</sup>, Мазурчик Н.В.<sup>1</sup>, Хафисова О.О.<sup>1</sup>, Огурцов П.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центр изучения печени кафедры госпитальной терапии медицинского факультета Российского университета дружбы народов. (Россия, 117198 г. Москва, ул. Миклухо-Маклая д.10, e-mail:gzenua@mail.ru)

Среди пациентов с хронической HBV-инфекцией важно выделение категории неактивных носителей (НН) HBsAg, поскольку эти пациенты нуждаются только в динамическом наблюдении. Роль количественного определения HBsAg (HBsAgколич) для диагностики НН изучается. На основании анализа 187 пациентов были рассчитаны диагностические характеристики этого метода. При исключении гепатита Дельта и других факторов поражения печени прогностическая ценность положительного результата при значении АЛТ менее 40 Ед\л, и значении HBsAgколич менее 2000 Ед\мл составляет 88 %, при значении HBsAgколич 1000 Ед\мл 90%, при значении HBsAgколич 300 Ед\мл достигает 91 %. Специфичность этих показателей -составляет 70 %,81% и89 % соответственно. При уменьшении порогового значения АЛТ до 30 Ед\л и значении HBsAgколич менее 2000 Ед\мл прогностическая ценность положительного результата составляет 90 %, при значении HBsAgколич 1000 Ед\мл 92%, при значении HBsAgколич 300 Ед\мл достигает 95 %. Специфичность этих показателей - составляет 78%, 86% и 95 % соответственно. Полученные данные позволяют рекомендовать определение HBsAgколич в широкой клинической практике для постановки диагноза НН.

Ключевые слова: гепатит В, хроническая HBV-инфекция, неактивные носители HBsAg, количественное определение HBsAg, АЛТ, диагностические характеристики, специфичность, прогностическая ценность положительного результата.

## QUANTITATIVE ANALYSIS OF HBSAG, AS A NEW MARKER FOR THE DIAGNOSIS OF INACTIVE CARRIERS

Garaguluya E.V.<sup>1</sup>, Mazurchik N.V.<sup>1</sup>, Khafisova O.O.<sup>1</sup>, Ogurtsov P.P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre for the liver researches and hospital medicine department school of medicine faculty People's Friendship University of Russia (Russia, 117198, Moscow, Mikluho-Maklaya st. 10 e-mail:gzenua@mail.ru)

It is very important to define categories of inactive HBsAg carriers (IC), as these patients do not require treatment and need only dynamic observation. The role of HBsAg level for the diagnosis of IC is studied. The quantification of HBsAg (HBsAg quant) level was an innovation in identifying markers of hepatitis B. Based on the analysis of 187 patients characteristics of the diagnostic method were calculated. The positive predictive value was 88% on ALT less than 40 IU\l and HBsAg quant less than 2000 IU \ ml, 90% on HBsAg quant 1000 IU \ ml, and 91% on HBsAg quant less than 300 IU \ ml (hepatitis Delta and other factors of hepatitis were excluded). The specificity of these indices were 70%, 81 % and 89 % respectively. When ALT reduced to 30 IU \ l and the positive predictive value was 90% on HBsAg quant less than 2000 IU \ ml, 92% on HBsAg quant less than 1000 IU \ ml and up to 95% on HBsAg level less than 300 IU \ ml. The specificity of these indices were 78%, 86 % and 95 % respectively. The obtained data allow us to recommend the definition of HBsAg quant in clinical practice for the diagnosis of IC.

Keywords: Inactive carriers of HBsAg, quantification of HBsAg, transaminase, diagnostic characteristics, specificity, positive predictive value.

### Ведение

В настоящее время во многих регионах мира, включая Европу, е-антиген (HBeAg)-негативные носители вируса гепатита В (HBV) составляют основную часть лиц, инфицированных HBV. В последнее десятилетие, учитывая старение HBV-инфицированной популяции, их процент стал еще больше. Клинические состояния, связанные с HBeAg-негативной инфекцией, различны — от неактивного носительства до активного хронического гепатита (ХГВ)[7].

Принципиально важно выделение категории неактивных носителей (НН) HBsAg, поскольку эти пациенты не требуют лечения, нуждаясь только в динамическом наблюдении. «Золотым стандартом» диагностики НН является биопсия печени, при которой должны отсутствовать воспалительные изменения в печени, либо они минимальны. Однако, широкая распространенность инфекции, инвазивность и высокая стоимость биопсии не позволяет рекомендовать ее в широкую клиническую практику. В настоящее время в качестве суррогатных критериев НН ведущими мировыми научными сообществами рекомендованы количественное определение ДНК вируса гепатита В (DNAHBV) и трансаминазы (ТА). Так, на конгрессе EASL от 2012 г «неактивными носителями HBsAg» определены HBe-негативные пациенты с нормальным уровнем АЛТ и АСТ (не более 40 МЕ/мл), уровнем DNAHBV менее 2000 МЕ/мл [5]. Однако, учитывая нестабильность этих показателей, признан целесообразным их динамический мониторинг, который должен проводиться в течение первого года каждые 3 -4 месяца. У некоторых НН уровень вирусной нагрузки может быть более 2000 МЕ/мл, но менее 20000 МЕ/мл, сопровождаясь нормальными значениями трансаминаз [5,8,10]. Этим пациентам целесообразно проведение биопсии печени для уточнения уровня фиброза и воспаления. Пациенты с вирусной нагрузкой менее 2 000 МЕ/мл и высокими трансаминазами должны подвергнуться биопсии печени для уточнения причины поражения печени [2].

Альтернативой многократному мониторингу трансаминаз могут быть неинвазивные методы диагностики фиброза. К методам оценки фиброза печени относят ультразвуковую эластометрию печени с помощью аппарата «FibroScan» («EchoSens», Франция). К достоинствам метода следует отнести простоту, неинвазивность, высокую достоверность результатов. Это определяет широкие показания к проведению метода: скрининг, мониторинг на фоне лечения и без него. При динамическом наблюдении НН должны контролировать АЛТ, по крайней мере, каждые 6 месяцев после первого года и периодически измерять уровень DNAHBV [5].

Инновацией в области определения маркеров гепатита В явилось количественное определение HBsAg (HBsAgколич) [4]. Исследования, проведенные в различных странах, показали широкий диапазон значений HBsAg у пациентов с хронической HBV-инфекцией и достаточно сильную корреляцию между уровнями HBsAg, обнаружением HBeAg и уровнем DNAHBV в крови [3,6].

Количественное определение HBsAg является ключевым маркером при мониторинге терапии хронического гепатита В. Установлено, что значительное снижение уровней поверхностного антигена является одним из критериев успешности терапии [1].

Существуют предположения, что низкая концентрация HBsAg (<500 Ед/мл), позволяет диагностировать неактивных носителей с 100% уверенностью без дополнительного контроля. Однако, такие исследования единичны и содержат малое число наблюдений. На данный момент роль количественного определения HBsAg для диагностики формы HBV- инфекции требует уточнения[9].

**Целью нашего исследования** было изучение диагностических характеристик количественного определения HBsAg для постановки диагноза НН.

Работа основана на изучении 187 HBsAg положительных пациентов, обратившихся в Центр изучения печени медицинского факультета РУДН (РФ, Москва) с 2010 г по март 2013 г. Возраст пациентов распределился от 20 до 75 лет, средний возраст составил 46 лет. Всем пациентам были выполнены биохимическое исследование крови (АЛТ, АСТ, глюкоза, инсулин, холестерин, ЛПВП, ЛПНП, триглицериды, железо, трансферрин, ферритин), определение ИМТ, посчитан НОМА индекс, DNA HBV качественно, DNAHBV количественно, анализ на РНК гепатита Дельта (RNAHDV), количественное определение HBsAg, HBeAg, anti-HBe, проведение фиброэластометрии.

Основным критерием включения в исследование было наличие HBsAg. Из исследования исключались больные, у которых имели место следующие дополнительные этиологические факторы поражения печени: коинфекция HCV, пациенты с выявленной HDV инфекцией, аутоиммунный гепатит, больные с ВИЧ-инфекцией, гипотиреозом и больные, получавшие ранее ПВТ.

#### **Сравнительная характеристика HBsAg позитивных пациентов**

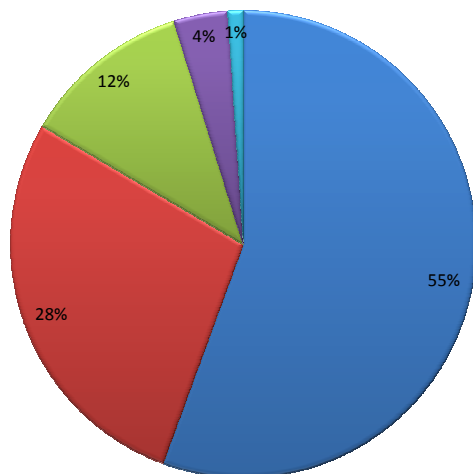
На основании биохимического (АЛТ, АСТ), вирусологического (DNAHBV), иммунологического (HBsAgколич) и фиброэластометрии пациенты были разделены на группы в зависимости от фазы HBV-инфекции. Под неактивными носителями HBsAg мы понимали пациентов, имеющих следующие показатели: АЛТ  $\leq$  40Ед\л, DNAHBV  $\leq$  2000 МЕ\мл, наличием anti-HBe и значениями фиброэластометрии не более 7 кПа. В группу иммунотолерантов (ИТ) вошли пациенты с нормальными значениями ТА  $\leq$  40Ед\л и высоким уровнем виремии (более  $10^6$  МЕ\мл). Пациенты с положительным HBeAg были отнесены к группе HBe-позитивного ХГВ (HBe + ХГВ). Те, у кого выявилось RNAHDV, составили группу с гепатитом Дельта (HDV). Группа пациентов с HBe-негативным ХГВ (HBe-ХГВ) характеризовалась повышенными ТА ( $\geq$  40 Ед\мл) и/или повышенными значениями DNAHBV (более 2000 МЕ\мл), и/или показателями фиброэластометрии более 7кПа.

Распределение пациентов с хронической HBV-инфекцией показано на рис.№1

Рис. №1.

#### Распределение пациентов с хронической HBV- инфекцией

■ Неактивные носители ■ HBe-ХГВ ■ HDV ■ HBe+ХГВ ■ Иммунотолеранты



Как показано на рис №.1 основную часть пациентов составили неактивные носители - 104 человека, (55 %); пациенты с HBe-ХГВ - 52 человека, что составило 28%; пациентов с гепатитом Дельта 22 человека, что составило 12%; пациентов с HBe+ХГВ 7 человек, что составило 4 %; иммунотолерантов 2 человека, что составило 1%.

Стоит отметить, что группа с HBe-ХГВ казалась крайне разнородной. Среди 52 человек около половины имели другой фактор поражения печени- алкоголь, гемохроматоз, дефицит  $\alpha$ 1 антитрипсина, и факторы риска развития неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), (ожирение и ИР, СД 2 типа). Именно в этой группе затруднено принятие решения о начале противовирусной терапии. Можно предполагать, что и повышение трансаминаз, и увеличение фиброза у этих пациентов связано скорее с наличием «второго» диагноза, нежели чем с вирусной инфекцией, особенно в случае, когда  $DNANBV$  менее 2000 МЕ/мл. Подробные обследования и сбор анамнеза позволили распределить этих пациентов на несколько групп, которые представлены на рис. №2

Рис. №2 Процентное распределение пациентов с HBe-ХГВ, имеющих сопутствующую патологию.

Распределение пациентов с HBe-ХГВ имеющих сопутствующие патологии



Как показано на рис.№2 в результате тщательного анализа было выявлено: ожирение в сочетании с инсулинорезистентностью у 21% (n-11), сахарный диабет 2 типа составил 13% (n-7), гемохроматоз, подтвержденный генетическим анализом, был выявлен у 6% (n-3), дефицит α1-антитрипсина, подтвержденный результатами гистологического анализа после проведения пункционной биопсии печени у 4% (n-2) и хроническая алкогольная интоксикация составила 2% (n-1). Остальные 54% (n-28) не имели вторых диагнозов.

Был проведен анализ диагностических характеристик совместного определения АЛТ и HBsAg колич. К ним относятся чувствительность, специфичность, точность, прогностическая ценность положительного результата и прогностическая ценность отрицательного результата. Чувствительность метода – это вероятность истинно положительного (ИП) результата, специфичность- это вероятность истинно отрицательного (ИО) результата. Результаты так же могут быть ложноположительными (ЛП) и ложноотрицательными (ЛО). Чем больше истинных результатов дает тест, тем больше его диагностическая эффективность и точность. Чувствительность =  $\frac{ИП}{ИП+ЛО} \times 100\%$ ; Специфичность =  $\frac{ИО}{ИО+ЛП} \times 100\%$ ; Точность =  $\frac{ИП+ИО}{ЛП+ЛО+ИО+ИП} \times 100\%$ ; Прогностическая ценность положительного результата (ПЦПР) =  $\frac{ИП}{ИП+ЛП} \times 100\%$ ; Прогностическая ценность отрицательного результата (ПЦОР) =  $\frac{ИО}{ЛО+ИО} \times 100\%$ ; ЛО- ложноотрицательный результат, ЛП – ложноположительный результат, ИО- истинно отрицательный результат, ИП – истинно положительный результат.

Результаты: Оценка диагностических характеристик различных уровней HBsAg колич для постановки диагноза неактивного носительства HBsAg.

Полученные данные представлены в таблицах №1-4

Таб.№1 Диагностические характеристики различных уровней HBsAg колич и ТА менее 40 Ед\л для всех пациентов с хронической HBV-инфекцией.

	ПЦПР	ПЦОР	Точность	Чувствительность	Специфичность
HBsAg<2000Ед\мл АЛТ<40Ед\л	82%	62%	73%	74%	72%
HBsAg<1000Ед\мл АЛТ<40Ед\л	84%	54%	67%	60%	80%
HBsAg<300Ед\мл АЛТ<40Ед\л	83%	45%	56%	38%	87%

Таб.№2 Диагностические характеристики различных уровней HBsAgколич и ТА менее 40 Ед\л для всех пациентов с хронической HBV-инфекцией, кроме пациентов гепатитом Дельта и пациентов с HBe-ХГВ с сопутствующими патологиями .

	ПЦПР	ПЦОР	Точность	Чувствительность	Специфичность
HBsAg<2000Ед\мл АЛТ<40Ед\л	88%	49%	73%	74%	70%
HBsAg<1000Ед\мл АЛТ<40Ед\л	90%	42%	65%	60%	81%
HBsAg<300Ед\мл АЛТ<40Ед\л	91%	34%	52%	38%	89%

Таб.№3 Диагностические характеристики различных уровней HBsAgколич и ТА менее 30 Ед\л для всех пациентов с хронической HBV-инфекцией.

	ПЦПР	ПЦОР	Точность	Чувствительность	Специфичность
HBsAg<2000Ед\мл АЛТ<30Ед\л	86%	60%	73%	69%	80%
HBsAg<1000Ед\мл АЛТ<30Ед\л	86%	53%	66%	55%	85%
HBsAg<300Ед\мл АЛТ<30Ед\л	86%	45%	56%	36%	90%

Таб.№4 Диагностические характеристики различных уровней HBsAgколич и ТА менее 30 Ед\л для всех пациентов с хронической HBV-инфекцией, кроме пациентов гепатитом Дельта и пациентов с HBe-ХГВ с сопутствующими патологиями .

	ПЦПР	ПЦОР	Точность	Чувствительность	Специфичность
HBsAg<2000Ед\мл АЛТ<30Ед\л	90%	48%	72%	69%	78%
HBsAg<1000Ед\мл АЛТ<30Ед\л	92%	41%	63%	55%	86%

HBsAg<300Ед\мл					
АЛТ<30Ед\л	95%	34%	51%	36%	95%

Таким образом, как видно из таблицы № 1 для при значении АЛТ менее 40 Ед\л, и значении HBsAgколич менее 2000 Ед\мл, специфичность совместного определения АЛТ и HBsAgколич. для постановки диагноза НН составляет 72 %. При уменьшении значения HBsAg до 1000Ед\мл она становится более высокой 80%, а при значении HBsAgколич 300 Ед\мл достигает 87 %.Прогностическая ценность положительного результата при значении АЛТ менее 40 Ед\л, и значении HBsAgколич менее 2000 Ед\мл, составляет 82 %. При уменьшении значения HBsAgколич до 1000 Ед\мл, она становится более высокой 84%, а при значении HBsAgколич 300 Ед\мл 83 %.( см.таб. №1)

Как видно из таб. № 3, в которой представлены результаты для пациентов разных групп хронической HBV- инфекции при значении ТА менее 30 Ед\мл и HBsAg менее 2000 Ед\мл, специфичность для постановки диагноза НН составляет 80%, при снижении HBsAg до 1000 Ед\л специфичность возрастает до 85%, при значении HBsAg менее 300 Ед\л специфичность составляет 90%.Прогностическая ценность положительного результата для пациентов данной группы при значении АЛТ менее 30 Ед\л, и значении HBsAgколич менее 2000 Ед\мл, составляет 86 %. При уменьшении значения HBsAg до 1000 Ед\мл или до HBsAgколич 300 Ед\мл она остается неизменной 86 %.( см таб. №3).

Таким образом, для впервые выявленных HBsAg-положительных пациентов совместное определение АЛТ и HBsAgколич позволяет диагностировать состояние НН с высокой вероятностью – более 80%, однако вероятность ошибки в пределах 10-20% не позволяет ограничиться только этими показателями, пренебрегая полноценным клиническим обследованием.

Клиническое обследование для исключения «второго» диагноза и гепатита Дельта позволяет существенно улучшить диагностические характеристики. Для группы пациентов, в которую не вошли больные с гепатитом Дельта и пациенты с HBe-ХГВ и сопутствующими патологиями были так же проведены расчеты специфичности и ПЦПР (см. таб. № 2,4)

При значении АЛТ менее 40 Ед\л, и значении HBsAgколич менее 2000 Ед\мл, специфичность этих показателей для постановки диагноза НН составляет 70 %. При уменьшении значения HBsAgколич до 1000 Ед\мл, она становится более высокой 81%, а при значении HBsAgколич 300 Ед\мл достигает 89 %.Прогностическая ценность положительного результата при значении АЛТ менее 40 Ед\л, и значении HBsAgколич менее 2000 Ед\мл, составляет 88 %. При уменьшении значения HBsAgколич до 1000 Ед\мл, она становится более высокой 90%, а при значении HBsAgколич 300 Ед\мл достигает 91%.

В том случае, когда АЛТ не превышает 30 Ед\мл, специфичность для постановки диагноза НН при HBsAgколич менее 2000 Ед\мл составляет 78%, при снижении HBsAgколич до 1000 Ед\мл возрастает до 86%, при значении HBsAgколич менее 300 Ед\мл специфичность составляет 95%.

Прогностическая ценность положительного результата для пациентов данной группы при значении АЛТ менее 30 Ед\мл, и значении HBsAgколич менее 2000 Ед\мл, составляет 90 %. При уменьшении значения HBsAgколич до 1000 Ед\мл 92% , а при HBsAgколич менее 300 Ед\мл 95 %.

Таким образом, после исключения гепатита Дельта, и сопутствующих факторов поражения печени для HBsAg-положительных пациентов совместное определение АЛТ и HBsAgколич позволяет диагностировать состояние НН с высокой вероятностью – около 90%. Особо следует отметить крайне высокую специфичность и ПЦПР при АЛТ менее 30 Ед\мл и HBsAg менее 300 Ед\мл – 95%.

**Выводы:** Полученные данные позволяют рекомендовать определение HBsAgколич в широкой клинической практике. У пациентов без факторов риска сопутствующего поражения печени (ожирение, инсулинорезистентность, сахарный диабет 2 типа, заболевания печени в семейном анамнезе, злоупотребление алкоголем) возможно на первом этапе диагностического обследования определение только АЛТ, RNAHDV и HBsAgколич. Если АЛТ составит менее 30 Ед\мл и HBsAgколич менее 300 МЕ\мл, то с вероятностью 95% можно диагностировать НН. Таким образом, можно избежать дорогостоящего и длительного динамического контроля за значениями DNAHBV и ТА, проведения фиброэластометрии и/или биопсии печени, консультации врача-специалиста. Такой алгоритм может быть рекомендован для врачей разных специальностей, в том числе акушеров-гинекологов, хирургов и др. Если АЛТ превышает 30 Ед\мл, либо HBsAgколич более 300 Ед\мл, то вероятность НН снижается. В таком случае необходимо следовать известным диагностическим алгоритмам для уточнения фазы хронической HBV-инфекции для постановки диагноза.

### Список литературы

1. Brunetto M.R., Moriconi F., Bonino F. et al. Hepatitis B virus surface antigen levels: a guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B // *Hepatology*. 2009. Vol. 49, № 4. P. 1141–1150.



2. Chen Y-C, Huang S-F, Chu C-M, Liaw Y-F. Serial HBV DNA levels in patients with persistently normal transaminase over 10 years following spontaneous HBeAgseroconversion. *J Viral Hepat* 2012;19:138–146.
3. Chan H.L., Wong V.W., Wong G.L. et al. A longitudinal study on the natural history of serum hepatitis B surface antigen changes in chronic hepatitis B // *Hepatology*. 2010. Vol. 52, № 4. P. 1232–1241.
4. Deguchi M., Yamashita N., Kagita M. et al. Quantitation of hepatitis B surface antigen by an automated chemiluminiscentmicroparticle immunoassay // *J. Virol. Methods*. 2004. Vol. 115. P. 217–222.
5. EASL European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2012 vol. 57|167–185
6. Kim Y.J., Cho H.C., Choi M.S. et al. The change of the quantitative HbsAg level during the natural course of chronic hepatitis B // *Liver Int*. 2011. Vol. 31, № 6. P. 819–825.
7. Lok ASF, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007;45: 507–539.
8. Martinot-Peignoux M, Boyer N, Colombat M, Akremi R, Pham B-N, Ollivier S, et al. Serum hepatitis B virus DNA levels and liver histology in inactive HBsAg carriers. *J Hepatol* 2002;36:543–548.
9. Martinot-Peignoux M. Quantitative HBsAg: a new specific marker for the diagnosis of HBsAg inactive carrier *Journal of hepatology* 2010, vol52, s 183-s317
10. Papatheodoridis GV, Manesis EK, Manolakopoulos S, Elefsiniotis IS, Goulis J, Giannousis J, et al. Is there a meaningful serum HBV DNA cut-off level for therapeutic decisions in HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection? *Hepatology* 2008;48:1451–1459.

**Рецензенты:**

Кожевникова Г.М., д.м.н., профессор, зав.кафедрой инфекционных болезней с курсом эпидемиологии РУДН, г.Москва.

Абдурахманов Д.Т., д.м.н., профессор кафедры терапии и профболезней и кафедры патологии человека Первого МГМУ им.И.М.Сеченова, г.Москва.