

# Роль количественного определения HBsAg в диагностике и мониторинге гепатита В

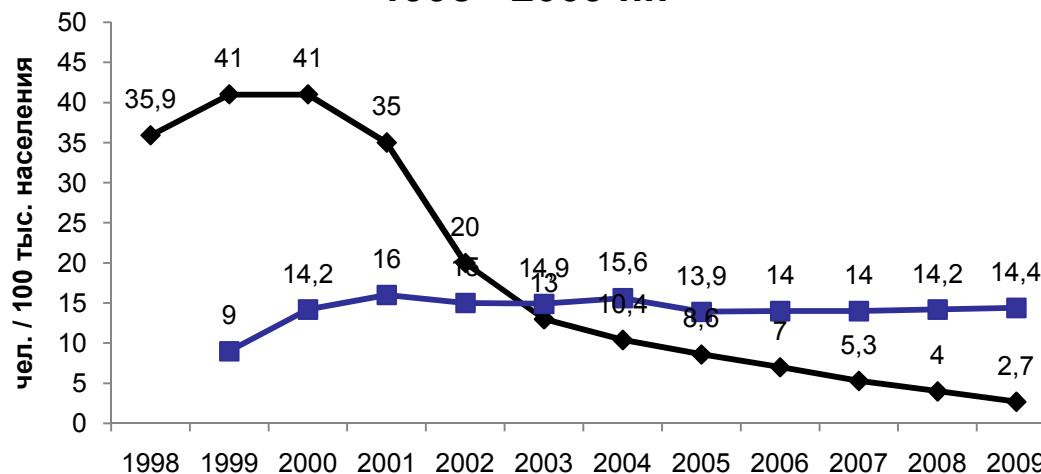
Ластунова Ирина Васильевна  
Руководитель проекта  
«Инфекционная диагностика»  
ООО «Алкор Био»

## Эпидемиологическая ситуация

Вирусом гепатита В инфицировано около 2 млрд. чел. в мире.

Около 350 млн. чел. имеют хроническую инфекцию.

Динамика заболеваемости острым гепатитом В и динамика регистрации хронических гепатитов В в России в 1998 - 2009 г.г.



**Гепатит В является проблемой мирового масштаба!**

**Заболеваемость гепатитом В в России:**

ОГВ болеют 2,7 чел. на 100 тыс. чел. населения

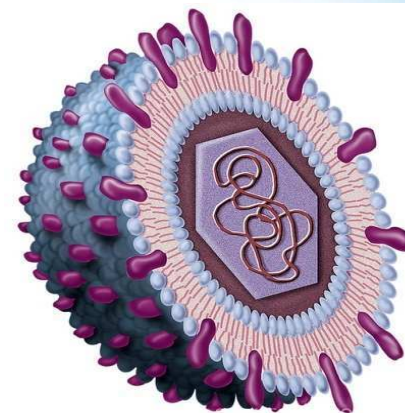
ХГВ болеют 14 чел. на 100 тыс. чел. населения

## Вирус гепатита В

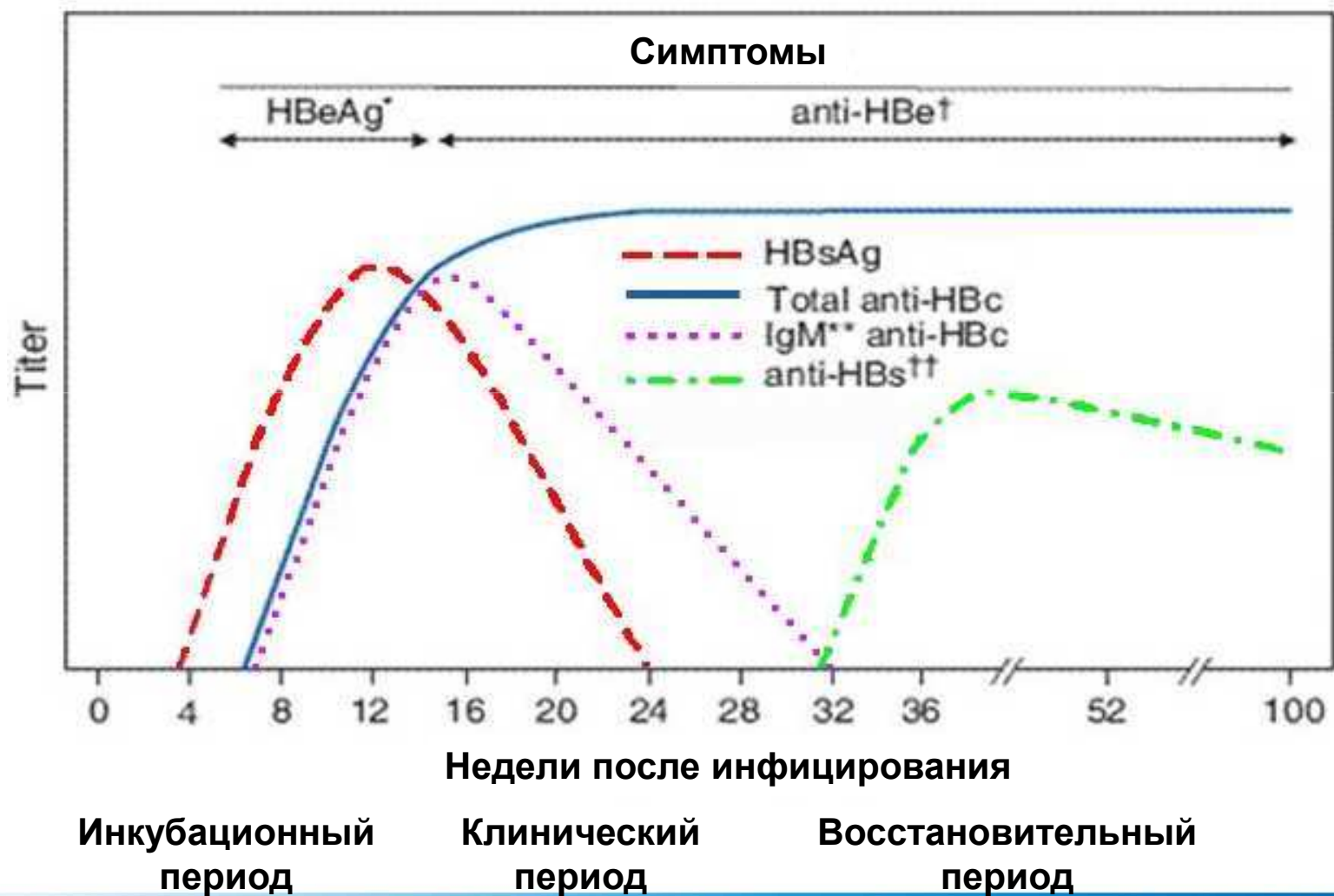
Семейство *Нерадnaviridae*

Диаметр частиц - 42 нм

Геном – ДНК

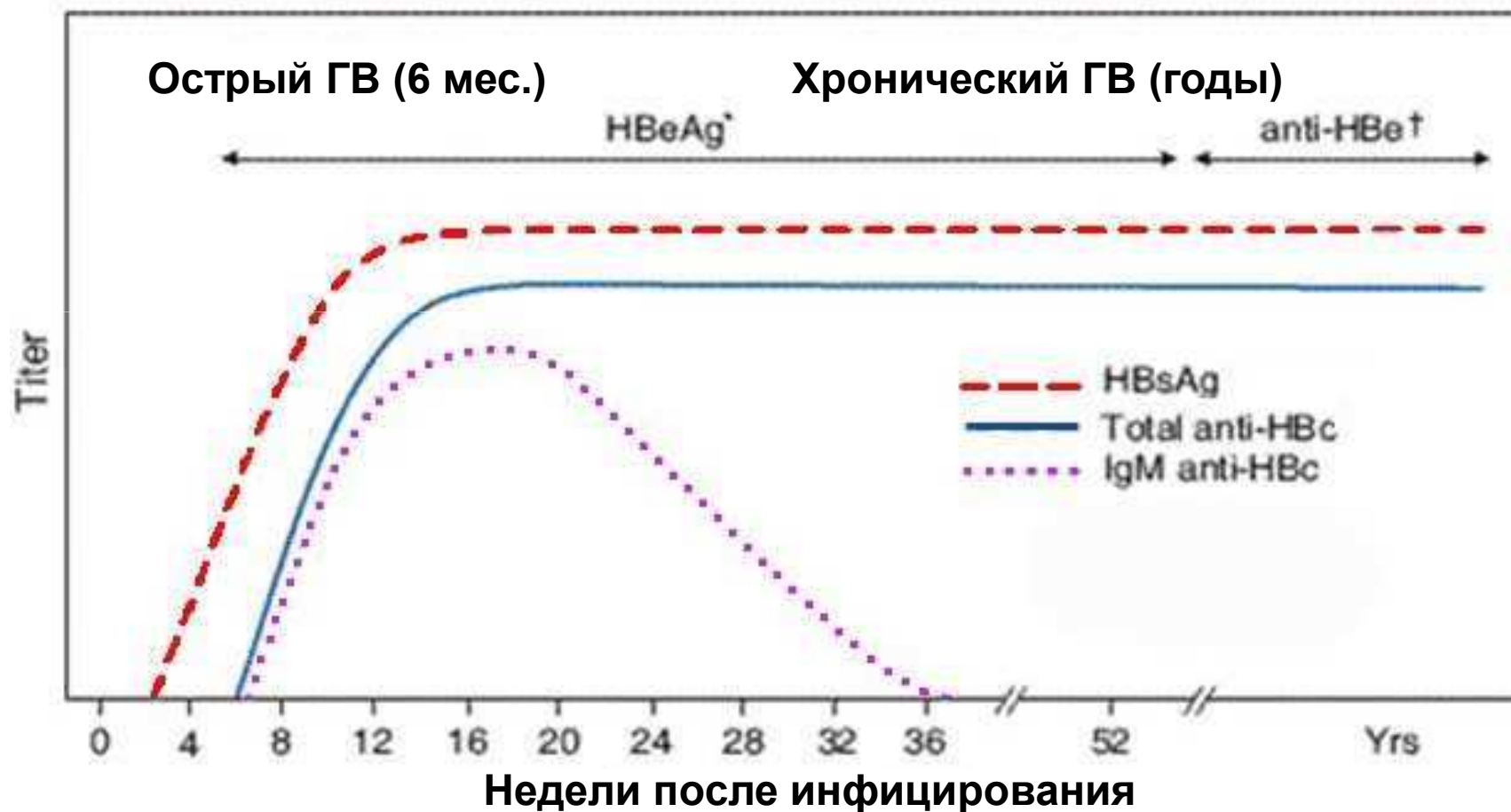


# Острый гепатит В. Стадии заболевания. Маркеры определения.



## Хронический гепатит В

Сохранение в крови HBsAg более 6 месяцев и  
HBeAg более 2 месяцев



## Ассортимент ИФА-наборов для определения маркеров Гепатита В

Маркер	Количество определений	Производитель
<b>HBsAg колич./кач.</b>	96 / 192	Алкор Био
HBsAg кач.	96 / 192 / 480	Radim
HBsAg подтверждающий	48	Алкор Био
anti-HBcore	96 / 192	Radim
anti-HBcore-IgM	96	Radim
anti-HBs	96 / 192	Radim
<b>HBeAg/Ab</b>	96	Radim

**HBeAg/Ab** – уникальный набор Radim, не имеющий аналогов на российском рынке

## Ассортимент ИФА-наборов для определения маркеров Гепатита В

### Наборы позволяют:

- Получать быстрые и надежные результаты скрининга, в том числе в серологическом окне
- Проводить диагностику на любой стадии инфекционного процесса
- Вести мониторинг и контроль терапии
- Обеспечивать достоверность подтверждения

## Тяжелые последствия хронического гепатита В

Самый значимый патогенетический фактор при вирусном гепатите В — гибель зараженных гепатоцитов вследствие атаки собственными иммунными агентами. Массивная гибель гепатоцитов приводит к нарушению функций печени, прежде всего детоксикационной, в меньшей степени — синтетической.



Хронический гепатит В повышает риск развития цирроза и рака печени.

Как правило, цирроз печени развивается через 10-20 лет у 15-40% больных, страдающих хроническим гепатитом В.

Заболеваемость раком печени составляет от 2 до 8 случаев на 100 больных циррозом печени в год.



## Терапия гепатита В

**Цели противовирусного лечения хронического гепатита В:**

- стойкое подавление репликации вируса гепатита В;
- ремиссия заболевания печени.

### Лекарственные средства для проведения терапии хронического гепатита В

1. **Интерфероны-альфа**  
(Интераль-П, Роферон-А, Виферон)
2. **Аналоги нуклеозидов**  
(Ламивудин, Энтекавир, Телбивудин, Тенофовир, Тизека, Себиво)
2. **Пегилированные интерфероны-альфа** (Пегинтрон, Пегасис)

## Результаты терапии гепатита В

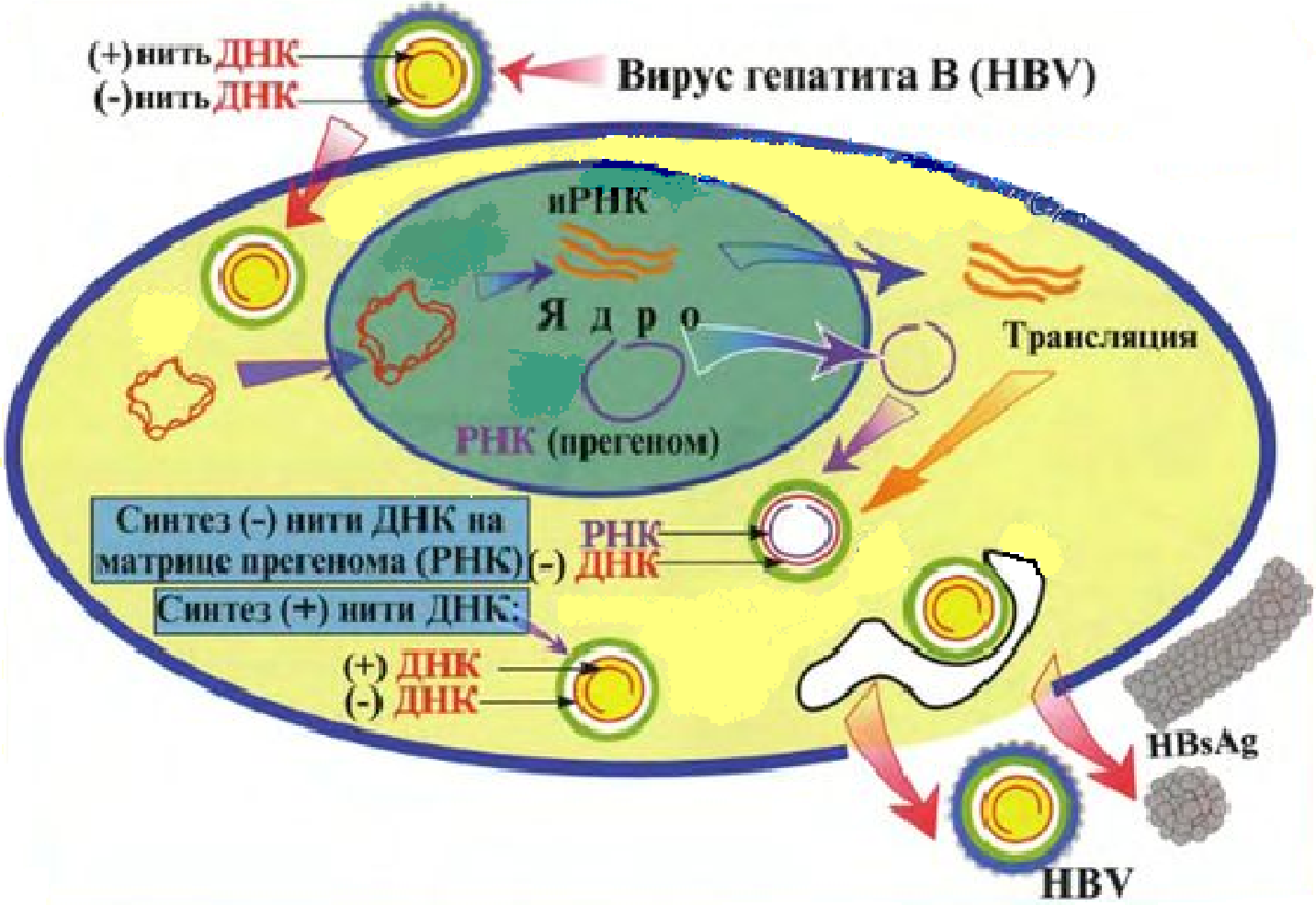
### Критерии ответа на лечение:

- снижение уровня ДНК ВГВ;
- исчезновение HBeAg с или без появления anti-HBe;
- улучшение гистологической картины печени.

Но, результаты противовирусного лечения хронический ГВ в настоящее время можно в целом назвать эффективными лишь в отношении контроля репликации вируса, но не его элиминации.

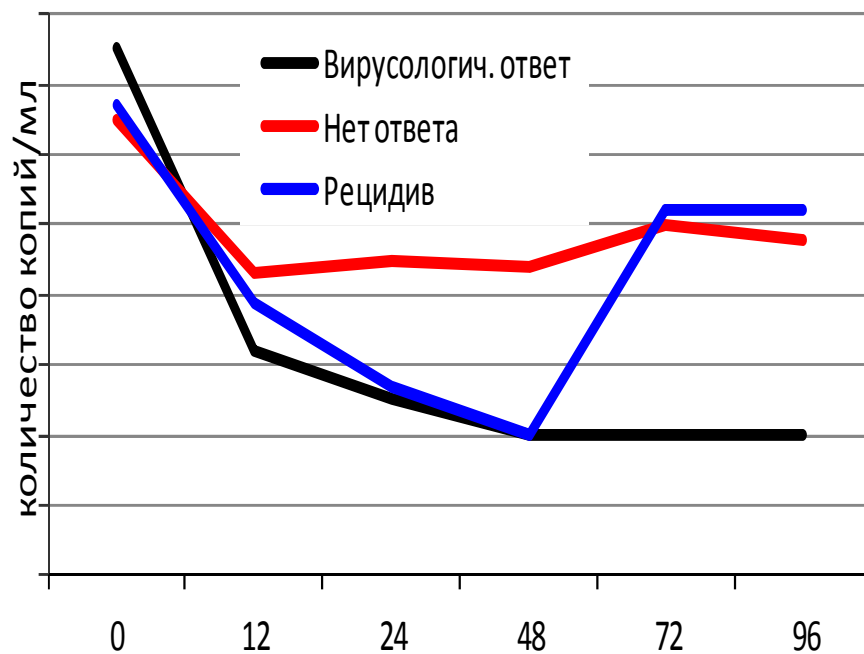
# Схема репродукции вируса гепатита В

## Маркеры ДНК ВГВ и HBsAg

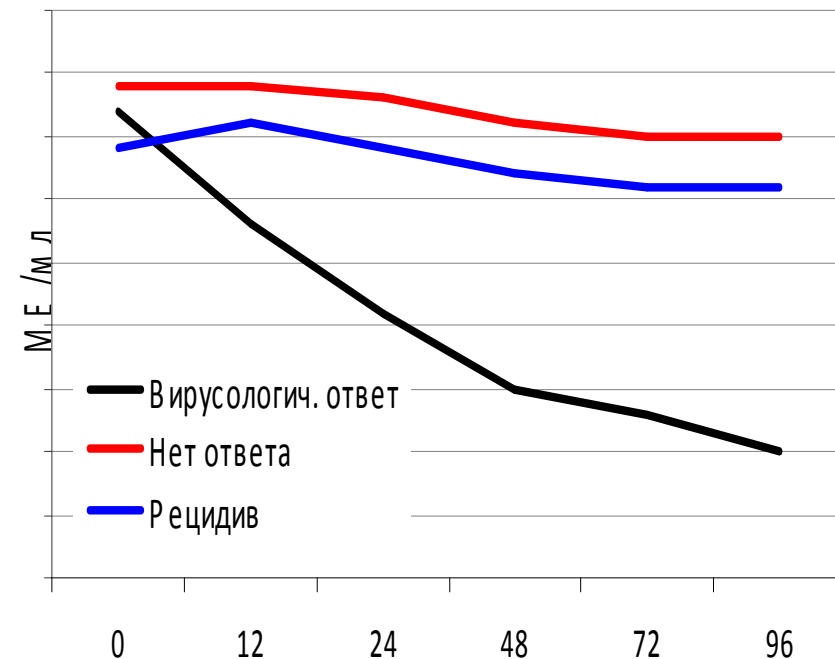


# Мониторинг и корректировка терапии гепатита В

## Уровень ДНК ВГВ у различных групп пациентов



## Уровень HBsAg у различных групп пациентов



## Стоимостное сравнение исследований на количество HBsAg и ДНК ВГВ

Маркер	Метод	Стоимость анализа в лабораториях
ДНК ВГВ	ПЦР	2 300 – 2 800 руб.
HBsAg колич.	ИХЛА	1 100 – 1 800 руб.
HBsAg колич.	ИФА	253 руб. (из расчета 4-х постановок в дублях 1 образца)

# ГепатитИФА-НВsAg и ГепатитИФА-НВsAg подтверждающий

## Основные характеристики наборов:

Количественное определение НВsAg в диапазоне от 0 до 5 МЕ/мл

Калибровочные пробы аттестованы по Международному стандарту 00/588 (NIBSC)

Возможность разведения образцов

Аналитическая чувствительность – 0,025 МЕ/мл

Клиническая специфичность – 99,5 %

Температура инкубации +37°C

Время инкубаций 1 час

Готовые к использованию реагенты

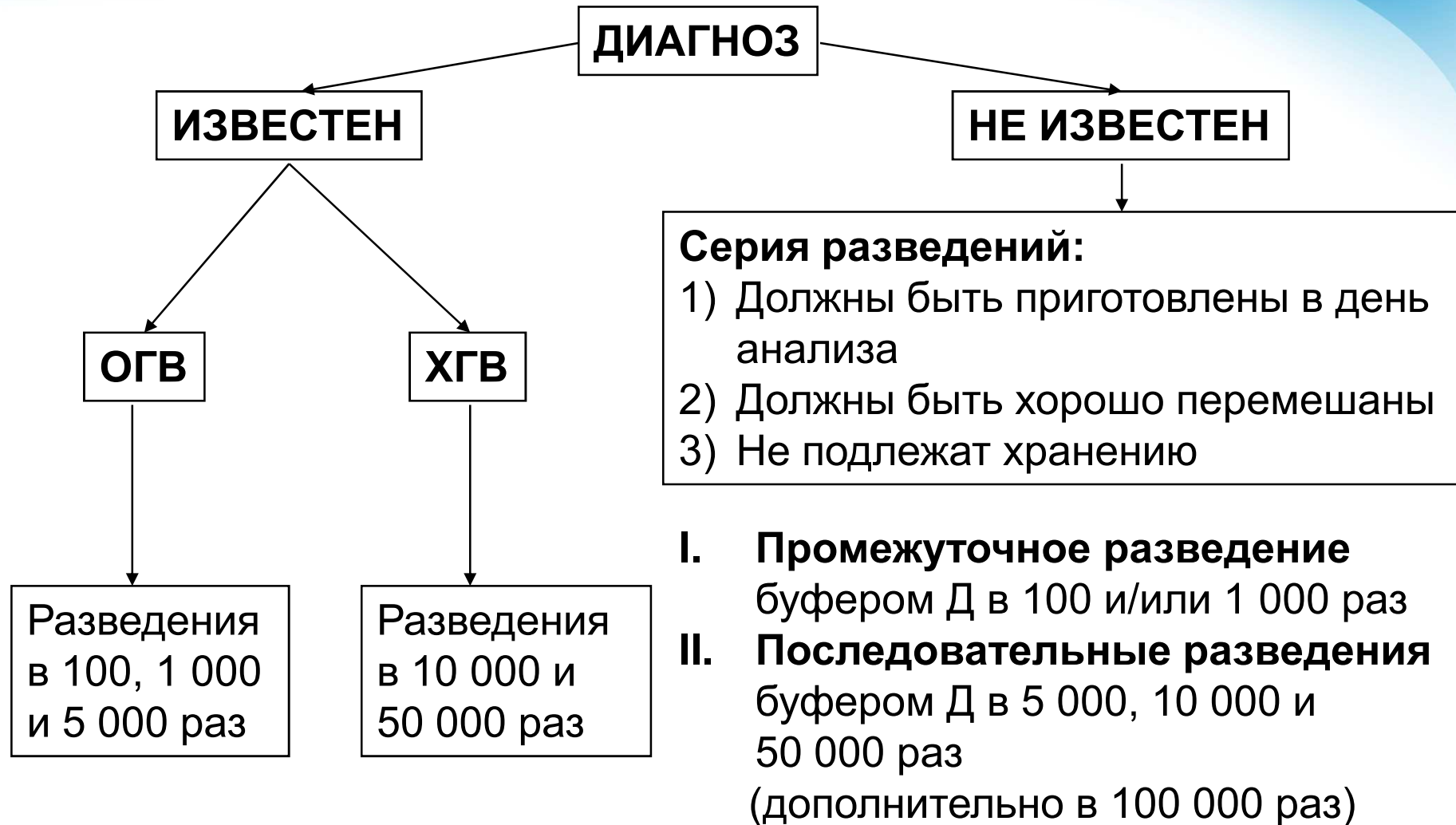
Срок годности 12 месяцев

Наличие РУ

## Особенности применения тест-системы для количественного определения HBsAg

- HBsAg при ХГВ  $0,1 - 10^7$  МЕ/мл
- Для колич. опред. HBsAg не важна высокая чувствительность теста
- Диапазон измеряемых концентраций:
  - «Алкор Био»: 0 – 5 МЕ/мл
  - Abbott Laboratories (США): 0 – 250 МЕ/мл.
- Предварительное разведение образцов – специфика теста (и для ИФА, и для ИХЛА).
- Серия разведений для одного пациента
- Исследование рекомендуется проводить в дублях.

# Алгоритм разведения сывороток





# Количественная постановка набора ГепатитИФА-НВsAg

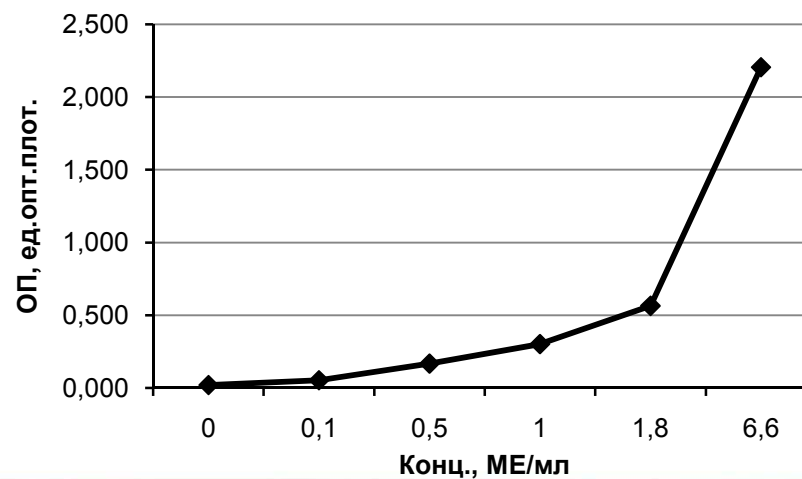
Схема постановки

<b>A</b>	bl	bl	1	1	9	9	17	17	25	25	33	33
<b>B</b>	к1	к1	2	2	10	10	18	18	26	26	34	34
<b>C</b>	к2	к2	3	3	11	11	19	19	27	27	35	35
<b>D</b>	к3	к3	4	4	12	12	20	20	28	28	36	36
<b>E</b>	к4	к4	5	5	13	13	21	21	29	29	37	37
<b>F</b>	к5	к5	6	6	14	14	22	22	30	30	38	38
<b>G</b>	к6	к6	7	7	15	15	23	23	31	31	39	39
<b>H</b>	КС	КС	8	8	16	16	24	24	32	32	40	40
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Типичный калибровочный график

Результаты постановки

КС и КС	Номиналы, МЕ/мл	ОП, ед.оптич. плот.
КП № 1	0	0,021
КП № 2	0,1	0,053
КП № 3	0,5	0,168
КП № 4	1	0,302
КП № 5	2,0	0,565
КП № 6	5,0	2,205
КС		0,265



# Качественная постановка набора ГепатитИФА-НВsAg

Схема постановки

<b>A</b>	bl	bl	1	1	9	9	17	17	25	25	33	33
<b>B</b>	к1	к1	2	2	10	10	18	18	26	26	34	34
<b>C</b>	к2	к2	3	3	11	11	19	19	27	27	35	35
<b>D</b>	к6	к6	4	4	12	12	20	20	28	28	36	36
<b>E</b>	41	41	5	5	13	13	21	21	29	29	37	37
<b>F</b>	42	42	6	6	14	14	22	22	30	30	38	38
<b>G</b>	43	43	7	7	15	15	23	23	31	31	39	39
<b>H</b>	44	44	8	8	16	16	24	24	32	32	40	40
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Отрицательный К – КП № 1  
 Слабоположительный К – КП № 2  
 Положительный К – КП № 6

$$ОП_{крит.} = ОП_{сред.} K^- + K_{крит.}$$

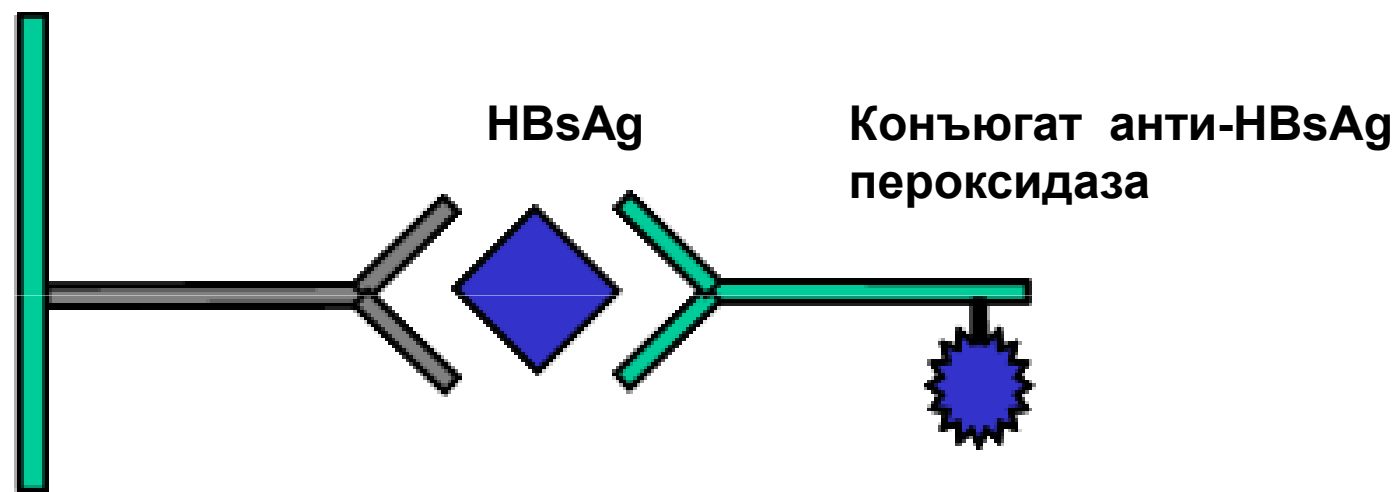
$$K_{ноз.} = \frac{ОП_{иссл.обр.}}{ОП_{крит.}}$$

$$K_{ноз.} (отриц.) < 1$$

$$ОП_{обр.} > ОП_{крит.}$$

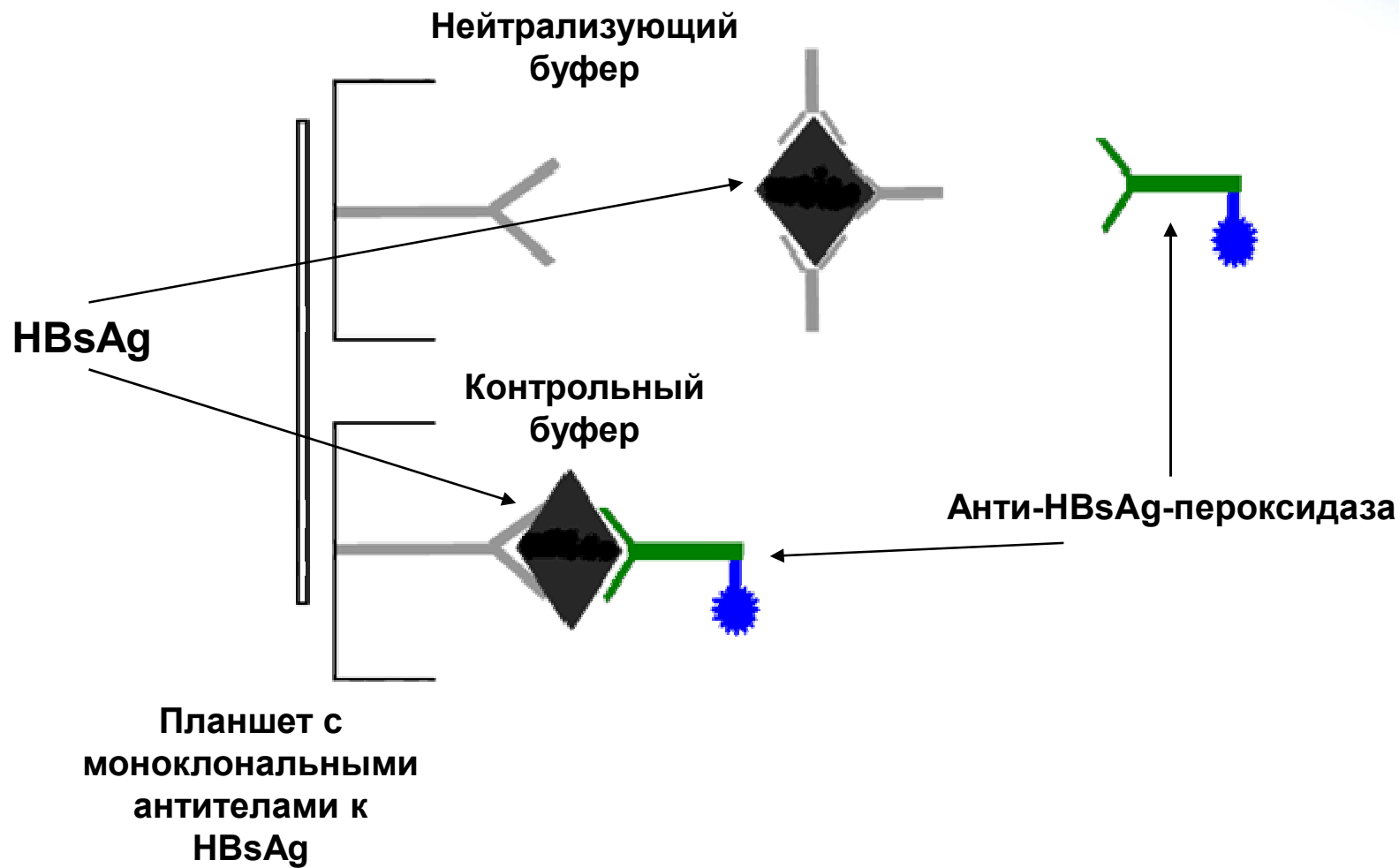
нуждаются в  
 подтверждении

## Количественный и качественный анализ



Планшет с моноклональными  
антителами к HBsAg

# Подтверждающий анализ



# Постановка набора ГепатитИФА-НВsAg-подтверждающий

## Схема постановки

<b>A</b>	bl	bl	1	1	9	9	17	17	25	25	33	33
<b>B</b>	окс	окс	2	2	10	10	18	18	26	26	34	34
<b>C</b>	сп кк	сп кк	3	3	11	11	19	19	27	27	35	35
<b>D</b>	пкс	пкс	4	4	12	12	20	20	28	28	36	36
<b>E</b>	41	41	5	5	13	13	21	21	29	29	37	37
<b>F</b>	42	42	6	6	14	14	22	22	30	30	38	38
<b>G</b>	43	43	7	7	15	15	23	23	31	31	39	39
<b>H</b>	44	44	8	8	16	16	24	24	32	32	40	40
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Рассчитывается коэф. нейтрализации

$$KH = \frac{ОП_{нейтр.буф.}}{ОП_{контр.буф.}} \times 100\%$$

Отрицательный К

Слабоположительный СПК

Положительный К

Контрольный буфер – нечет. стрипы

Нейтрализующий буфер – чет. стрипы

## Клинические испытания тест-системы «ГепатитИФА-НВsAg» Алкор Био

Чувствительность 100%, Специфичность 100%

Коэффициент корреляции с ARCHITECT HBsAg  $r = 0,99$

### Результаты измерения количества НВsAg в низкотитражных образцах

№ образца	Концентрация НВsAg в МЕ/мл	
	ARCHITECT HBsAg Abbott Laboratories (США)	«ГепатитИФА-НВsAg» Алкор Био, Россия
83	34,9	42
91	0,98	1,2
98	14,3	17
101	58	65
102	33	29
107	16	16
109	16,6	18
119	10,1	8

# Наборы «Алкор Био» для инфекционной диагностики

## Диагностика ToRCH-инфекций

- ГерпесИФА-1IgG
- ГерпесИФА-2IgG
- ГерпесИФА-2IgG-авидность
- ТоксоплазмаИФА-IgG
- ТоксоИФА-IgG-авидность

## Диагностика ВИЧ-инфекции

- ВичИФА-HIV-Aг/Ат
- ВичИФА-анти-HIV-1,2

## Диагностика гепатита В

- ГепатитИФА-HBsAg
- ГепатитИФА-HBsAg подтверждающий

## Диагностика гепатита С ГепатитИФА-анти-HCV



## Ассортимент ИФА-наборов для определения маркеров Гепатитов А, С и D

Маркер	Количество определений	Производитель
<b>Гепатит С</b>		
anti-HCV	96 / 192 / 480	Алкор Био, Radim
<b>Гепатит А</b>		
HAV Ab (anti-HAV)	96	Radim
HAV IgM	96	Radim
<b>Гепатит D</b>		
anti-HDV (HDV Ab)	96	Radim



## Выводы:

- «Алкор Био» предлагает широкий ассортимент ИФА-наборов для диагностики гепатитов А, В, С и D, позволяющий проводить диагностику на любых стадиях инфекционного процесса.
- Уникальными позициями являются тест-системы для колич. опред. HBsAg и HBeAg/Ab.
- Использование колич. опред. HBsAg у пациентов является весьма полезным для прогноза течения заболевания и оценки эффективности лечения ХГВ.
- Клинические испытания «ГепатитИФА-HBsAg» показали, что набор Алкор Био обладает высокими чувствительностью и специфичностью.

## Выводы:

- «ГепатитИФА-НВsAg» (Алкор Био) и «ARCHITECT НВsAg» (Abbott) показали высокую корреляцию данных ( $r = 0,99$ ).
- Исследование на опред. конц. НВsAg в ИФА как min в 3 раза дешевле, чем в ИХЛА и в 9 раз дешевле, чем определение ДНК ВГВ.
- Предварительное разведение образцов - специфика теста для колич. опред. НВsAg.
- Для колич. опред. НВsAg не важна высокая чувствительность диагностической тест-системы.

## Выводы:

- «ГепатитИФА-НВsAg» производства Алкор Био может быть использована для широкого применения в клинической практике как для проведения скрининговых исследований, так и для мониторинга лечения и глубокого изучения естественного течения гепатита В.

**Спасибо за внимание!**