

# Новое поколение ИФА тест-систем для лабораторного скрининга гепатита С

## Тест для совместного определения антител и антигенов вируса – «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА»

**Колупаев В.Е., Яшина Т.В.**  
*ООО «Био-Рад Лаборатории», Москва*

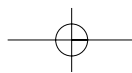
Гепатит С является одной из наиболее значимых проблем мирового здравоохранения. Считается, что число людей, инфицированных вирусом гепатита С (ВГС) в мире, превышает 500 миллионов человек. В России их количество приближается к 5 миллионам [1]. В США гепатит С является причиной 20% острых и 70% случаев хронических гепатитов [2]. Особенностью инфекции является высокая частота хронизации инфекционного процесса (60–80%) при этом только 20% пациентов демонстрируют отчетливую симптоматику. По окончании латентного периода, который может длиться 10–20 лет, хроническая инфекция, как правило, вызывает формирование цирроза, гепатокарциномы (10–20%) и целого ряда других серьезных заболеваний печени [3]. В многочисленных исследованиях на основании длительного мониторинга вирусной нагрузки было показано, что раннее назначение противовирусной терапии предупреждает переход инфекции в хроническую стадию и развитие осложнений [4–6]. Таким образом, успех лечения гепатита С зависит в том числе и от ранней диагностики инфекции.

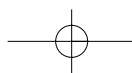
Известно, что источником ВГС инфекции являются больные всеми формами гепатита С, как с клиническими проявлениями, так и протекающими бессимптомно, включая носительство. Основной путь передачи – любые парентеральные вмешательства: гемотрансфузии, стоматологические и гинекологические операции, зондовые обследования, инъекции и др. Распространение гепатита С среди потребителей инъекционных наркотиков

достигает по данным ВОЗ 60–90%. Длительное, в некоторых случаях, до 20–30 лет, бессимптомное течение заболевания, отсутствие яркой клинической картины, характерное явление вирусоносительства заставляют некоторых авторов предположить, что во многих, в том числе и в развитых странах выявляемость гепатита С составляет не более 20% от реальной частоты встречаемости инфекции [7–9]. Авторы делают вывод, что проблема ограничения эпидемического процесса, во-первых, определяется эффективностью терапии при ранней постановке диагноза гепатита С, во-вторых, тесно связана с увеличением выявляемости инфекции в массовых скрининговых исследованиях [7]. Таким образом, одним из основных требований к методам, применяемым в первичной диагностике гепатита С, является чувствительность тест-систем на разных стадиях заболевания. Особое внимание к чувствительности тест-систем уделяется при скрининге донорской крови, так как переливание инфицированной крови остается одним из путей передачи инфекции.

Международная практика предусматривает в качестве тестов первичного обследования и скрининга определение антител к ВГС (АТ) с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) [10]. Развитие методов лабораторной детекции гепатита С началось с определения последовательности вирусной РНК в 1988 году [11].

По мере расширения представлений о структуре ВГС методы выявления инфекции становились все более чувствительными.





## НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

### Определение анти-ВГС антител

Усилия разработчиков тест-систем были направлены на отбор антигенных детерминант, АТ к которым служат индикатором как можно более ранних стадий инфекции [13]. Использование синтетических пептидов и рекомбинантных белков, оптимизация антигенного состава тестов позволило значительно увеличить чувствительность тестов. Вместе с тем, риск инфицирования ВГС, несмотря на применение чувствительных АТ тест-систем остается высоким. Это связано с особенностями серологической картины гепатита С. В типичных случаях анти-ВГС АТ появляются в конце острой фазы инфекционного процесса, т.е. через 4–9 мес. и более после заражения (рис. 1) [14], что определяет длительность серонегативного периода АТ тестов в случае гепатита С.

### Определение РНК ВГС методом ПЦР

В настоящее время большое внимание уделяется методам прямого определения РНК ВГС, которая является самым ранним маркером гепатита, появляющимся в сыворотке пациента на 7–21-й день после инфицирования ВГС [15]. В лабораторной практике для обнаружения РНК ВГС часто применяется ПЦР, как один из наиболее чувствительных методов обнаружения вируса.

Однако во многих случаях в период латентной стадии заболевания или при хроническом процессе

сыворотка пациента содержит крайне низкий уровень РНК ВГС [16] (рис. 1). ПЦР не может использоваться в качестве единственного метода в массовых скрининговых исследованиях. Несмотря на более чем пятилетнюю практику внедрения ПЦР в качестве обязательного метода в Службе крови некоторых стран, вопрос о целесообразности использования ПЦР в скрининге доноров остается открытым [17, 18, 19].

### Определение антигенов вируса

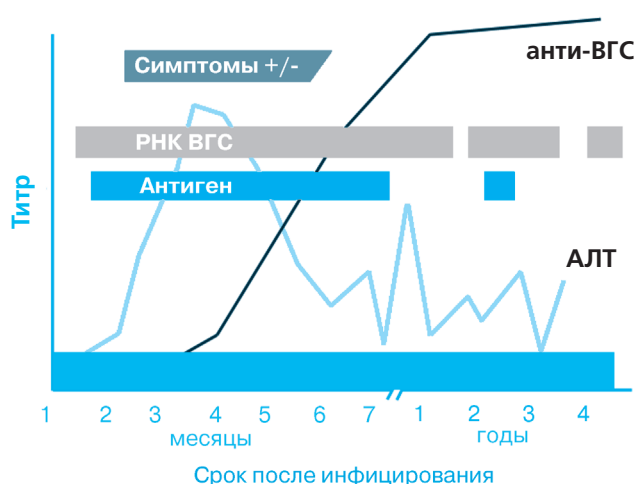
Первая коммерческая тест-система ИФА для выявления ядерного (Core) антигена (АГ) появилась на рынке иммунобиологических препаратов в 1999 году. В ходе клинических испытаний этот тест продемонстрировал высокую чувствительность [20–22]. Однако, выраженное снижение концентрации АГ ВГС в крови в латентный период инфекции, необходимость дополнительного определения АТ, а также высокая стоимость диагностического набора ограничивают практическое применение этого исследования.

### Новая тест-система «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА»

В 2004 году компания «Био-Рад Лаборатории» представила тест-систему, предназначенную для совместного определения АГ и АТ к ВГС, что дает возможность значительно сократить серонегативный период в скрининговых исследованиях гепатита С по сравнению с традиционно используемыми АТ тестами.

«МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» является двухшаговым иммуноферментным тестом в микропланшетном формате. Антитела к ВГС определяются с помощью непрямого ИФА, а антиген вируса — методом «сэндвич». Обе методики объединены в единый протокол анализа и выполняются в одной и той же лунке микропланшета. (Рис. 2)

В лунках фиксированы моноклональные антитела к капсидному белку вируса гепатита С; рекомбинантные белки — антигены NS3, NS4, а также модифицированный ядерный пептид (Core) ВГС. Выбор антигенных детерминант был сделан на основе большого количества научных исследований, и опыта практического внедрения нескольких поколений тест-систем МОНОЛИЗА анти-ВГС. Антигены NS4 отличаются высокой частотой встречаемости у инфицированных пациентов. Анти-NS3 и анти-Core появляются в более ранние сроки, чем остальные антитела. В большинстве ис-

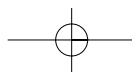


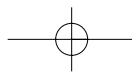
**Рис. 1.** Динамика изменения содержания маркеров гепатита С в сыворотке пациента

По оси абсцисс — срок после инфицирования

По оси ординат — содержание анти-ВГС и АЛТ

На графике отмечены периоды регистрации (сверху вниз) клинической симптоматики, РНК, антигенов





следованных случаев сероконверсии один, два или все три вида антител детектируются на самых ранних стадиях. Таким образом, эта тест-система может использоваться в диагностике как острого, так и хронического ВГС.

NS5 в качестве антигенной детерминанты не использовался. Это связано с неоднократно отмеченной перекрестной реактивностью анти-NS5 АТ к РНК-полимеразе других вирусов, что оказывает влияние на специфичность теста, имеющего в своем составе АГ NS5. С другой стороны, за весь период исследований не было зафиксировано случаев, когда анти-NS5 АТ являлся единственным маркером сероконверсии. Многочисленные исследования подвергают сомнению диагностическую эффективность определения анти-NS5 АТ [23, 24, 25].

В качестве конъюгата для определения АГ вируса, используются мышинные биотинилированные моноклональные антитела, реагирующие со стрептавидином. Модификация структуры Core АГ в составе тест-системы позволила исключить его взаимодействие с мышинными моноклональными анти-Core АТ, которые входят в состав тест-системы в качестве конъюгата для определения АГ. При этом высокая реактивность по отношению к АТ исследуемого образца сохранялась. Конъюгат для определения анти-ВГС АТ — меченные пероксидазой мышинные антитела к человеческому IgG.

При создании тест-системы обращалось внимание на удобство ее практического использования: образцы для исследования не требуют предварительной подготовки, правильность внесения образцов и реагентов оценивается с помощью цветовой кодировки. Продолжительность анализа до получения результатов — 2 часа 30 минут.

#### Клинические исследования чувствительности и специфичности тест-системы МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА

Характеристики тест-системы, чувствительность и специфичность оценивались в рамках многоцентрового исследования при использовании клинических образцов и коммерческих сероконверсионных панелей. В исследовательской программе участвовали собственный исследовательский центр Bio-Rad Laboratories (Марн-ля-Кокетт, Франция) Центры крови в Руни и Бордо, вирусологические лаборатории при медицинских центрах в Париже и Тулузе (Франция). Также проводились параллельные независимые исследования в Национальном Референсном Центре по гепатитам В и С (Франция), в Институте Пастера на Мадагаскаре, в вирусологическом отделении Госпиталя Пити (Париж, Франция) а также в Гепатогастроэнтерологическом отделении больницы г. Генуя (Италия). Результаты представлены в материалах XV Конгресса Международного Общества Трансфузиологов [27] и 8-го Ежегодного заседания Европейского Общества Клинической Вирусологии [30].

Эффект совместного определения АГ и АТ на продолжительность серонегативного периода в острой стадии инфекции исследовался на коммерческих сероконверсионных панелях (VCP-IMPATN, VVI, NAVI) и клинических образцах пациентов с острым и хроническим гепатитом С.

С помощью тест-системы «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» были исследованы пробы из 35 коммерческих сероконверсионных панелей.

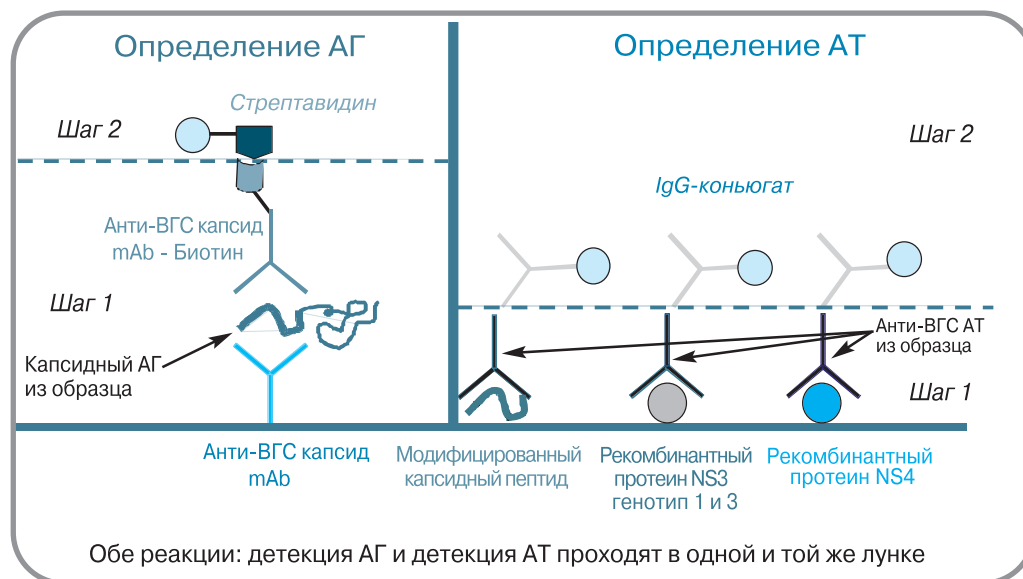
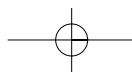
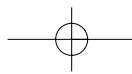


Рис. 2. Протокол тест-системы МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА




**НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ**

Образцы включали в себя 1a, 1b, 2b, 3a субтипы ВГС. Параллельно все панели были исследованы скрининговыми ИФА тест-системами для определения анти-ВГС АТ (как в микропланшетном формате, так и предназначенными для «закрытых» автоматизированных систем). Результаты также сопоставлялись с полученным методом ПЦР.

На рис. 3 представлен серологический профиль одной из типичных панелей (VCP 6211). Сопоставляются показатели реактивности АТ, АГ и комбинированного АГ-АТ теста при исследовании отдельных образцов панели, которые были взяты в период сероконверсии у одного и того же пациента, инфицированного гепатитом С. На горизонтальной оси показаны сроки взятия крови (сутки, начиная от первого взятия крови). Вертикальная ось отражает показатель реактивности (отношение оптической плотности образца к критической оптической плотности в данной постановке) для всех исследуемых тест-систем. На графике видно, что реактивность комбинированного теста в первые 20 суток совпадает с результатами АГ теста. Для АТ тест-системы характерна задержка приблизительно 60 суток в получении положительного результата. Интересно отметить, что реактивность комбинированного теста сохранялась высокой для всех исследуемых образцов, тогда как показатель АГ теста на 80 сутки снизился до нуля. Это может свидетельствовать об отсутствии вирусного антигена в сыворотке пациента на поздних сроках сероконверсии. Таким образом, для данной сероконверсионной панели комбинирован-

ный тест «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» способен выявлять ВГС инфекцию одновременно с антигенным тестом, тогда как анти-ВГС антитела определяются на 60 дней позже [26].

Сравнение с результатами коммерческих анти-ВГС АТ тест-систем на всех 35 сероконверсионных панелях показало, что сыворотки в комбинированном АГ-АТ тесте оцениваются как положительные в среднем на 17 дней раньше, чем в тестах, выявляющих только АТ к вирусу (Рис. 4). В исследуемые панели были включены образцы, взятые до сероконверсии в которых определялась РНК ВГС, но АТ не содержались (РНК ВГС(+)/АТ(-)). Из 145 таких сывороток комбинированный ВГС АГ-АТ тест определил как положительные 126 образцов, что составило 87%. Сравнительный анализ времени задержки относительно определения первого образца методом ПЦР показало, что определение РНК вируса при исследовании единичных (не пулированных) сывороток, опережает положительный результат в тесте «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» всего на 4,4 дня.

В независимом исследовании, проведенном на базе Гепатогastroэнтерологического отделения больницы в г. Генуя (Италия), получены сходные результаты. Были исследованы 93 образца РНК ВГС(+)/АТ(-) из сероконверсионных панелей, из них 85 образцов тестом «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» определены как положительные.

Исследования по продолжительности серонегативного периода для АТ и комбинированных АГ-АТ тестов проводились также в Национальном Референсном Центре по гепатитам В и С (Франция). Использовались десять сероконверсионных панелей, которые содержали 107 сывороток (81 сыворотка соответствовала периоду до начала сероконверсии, 26 – собрано после сероконверсии). Результаты, полученные с использованием тест-системы «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» сопоставляли с данными двух протоколов ПЦР анализа (Тест-система 1: пулирование по 8 сывороток и Тест-система 2: пулирование по 24 сыворотки)

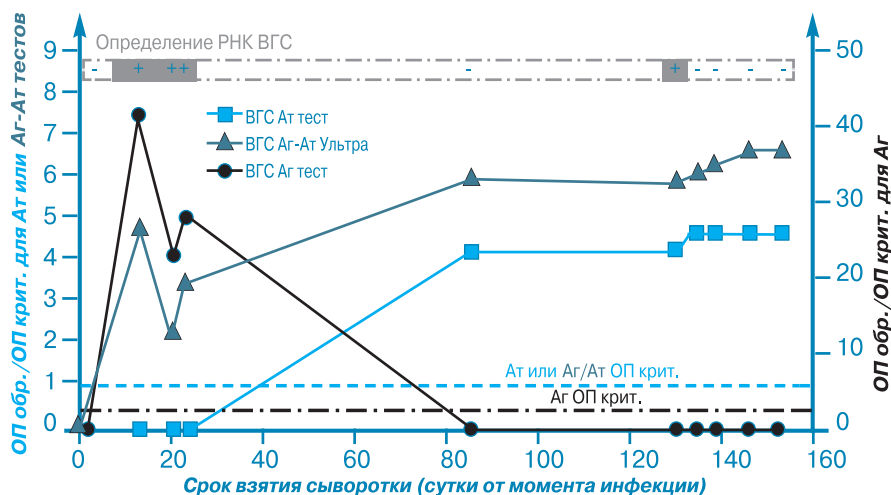
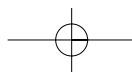
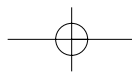
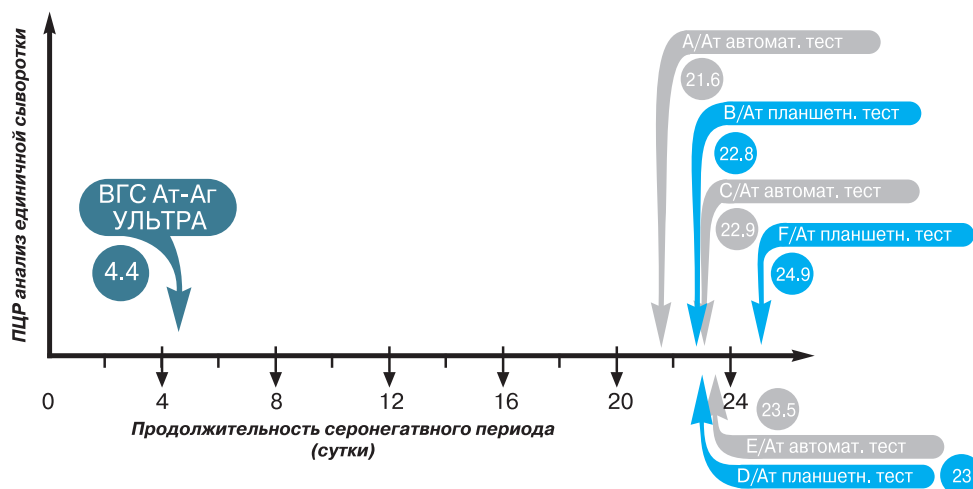


Рис. 3. Сероконверсионная панель VCP 6211




**НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ**


**Рис. 4.** Сравнительный анализ серонегативного периода различных тест-систем по сравнению с ПЦР исследованием

Результаты исследования продемонстрировали, что тест-система «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» определяла маркеры инфекции в среднем на 26,8 суток раньше, чем лучшие скрининговые анти-ВГС АТ тесты. 70,5 % образцов, собранных до конверсии, и все образцы после сероконверсии в этом исследовании определялись АГ-АТ тестом как положительные. Сопоставление с результатами ПЦР анализа тех же самых сывороток показало, что средняя продолжительность серонегативного периода комбинированного теста составляет всего 5,1 суток относительно ПЦР исследования единичных (непулированных) сывороток [28].

Таким образом, использование тест-системы «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» приводит к значительному (почти на 70%) сокращению серологического окна по сравнению с результатами АТ тестов. Первые положительные результаты комбинированного АГ-АТ теста практически совпадают с появлением РНК, первого маркера гепатита С, в сыворотке.

В комплексной многоцентровой исследовательской программе чувствительность тест-системы «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» оценивалась на 646 положительных образцах пациентов с подтвержденным диагнозом гепатита С, из которых 405 образцов были предварительно генотипированы, представлены все типы вируса (1–6). Все исследованные образцы были определены как положительные. При обследовании 200 пациентов, инфицированных различными субтипами вируса гепатита С в вирусологической ла-

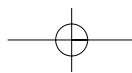
боратории больницы г. Тулуза (Франция), чувствительность «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» также была определена как стопроцентная.

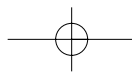
В парижском госпитале Пити было проведено исследование сывороток, полученных у 115 пациентов с хроническим гепатитом С в разведении 1:10. Все сыворотки были определены как положительные. Полученные результаты полностью совпадали с результатами, полученными лучшими тестами для определения анти-ВГС АТ [26].

Согласно приведенным данным при исследовании острой и хронической форм инфекции, связанной с разными фенотипами вируса, новая тест-система «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» продемонстрировала высокую (100%) чувствительность. В Институте Пастера на Мадагаскаре были исследованы 2169 сывороток, собранных у жителей г. Антананариву. Проводилось параллельное тестирование с помощью тест-систем «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА», «МОНОЛИЗА анти-ВГС ПЛЮС Вер. 2», а также методом ПЦР.

Образцы, которые были определены как положительные или оказались неопределенными хотя бы в одном из двух ИФА тестов, тестировались повторно, результат подтверждался в иммуноблоте и с помощью метода ПЦР. Из 2169 образцов с помощью тест-системы МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА 32 сыворотки были определены как положительные, что было подтверждено в иммуноблоте. Однако, только в 17 случаях из указанных 32 образцов метод ПЦР зафиксировал выраженную вирусную (> 200 МЕ/мл РНК ВГС) [29].

При проведении систематических скрининговых исследований групп риска в госпитале Пити в Париже удалось выявить среди ВИЧ-инфицированных гомосексуалистов 20 человек с острым гепатитом С. ВГС был представлен 1, 3 и 4 субтипами. При этом для всех пациентов сохранились сыворотки, полученные до инфицирования (РНК ВГС (-)/АТ(-)). Для иллюстрации сероконверсии после получения положительного результата в





## НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

комбинированном тесте и подтверждения с помощью ПЦР сыворотки исследовались регулярно. При сравнительной оценке клинической эффективности тестов для определения анти-ВГС и комбинированного АГ-АТ теста было показано, что у 9 пациентов первый положительный результат определялся в одном и том же образце. Для трех пациентов положительный результат был зафиксирован при следующем взятии крови от момента регистрации вирусемии. У остальных 7 пациентов, которые, как правило, были инфицированы ВГС типа 4, результат комбинированного теста оставался неопределенным для нескольких последовательных образцов. Следует отметить, что наличие АТ в сыворотке определялось по прошествии длительного (до 5 месяцев) периода [30]. Зафиксированная задержка АТ ответа является характерной для ВИЧ-инфицированных.

Новый комбинированный АГ-АТ тест продемонстрировал высокую клиническую эффективность как при обследовании контингента населения с относительно низким распространением гепатита С (г. Антананариву, Мадагаскар), так и в скрининге групп риска при наличии сопутствующей ВИЧ инфекции (госпиталь Пити, Париж).

Таким образом, «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» позволяет одновременно определить капсидный антиген вируса гепатита С и анти-ВГС (core, NS3, NS4) антитела, что значительно сокращает период между выявлением РНК вируса и определением положительного результата методом ИФА. Эффект совместного определения антител и антигена проявляется в значительном сокращении серонегативного периода, характерного для гепатита С, по сравнению с АТ тестом. Во всех представленных клинических исследованиях новый тест показал высокую чувствительность, сравнимую с ПЦР анализом. Высокая чувствительность теста в сочетании с простотой протокола анализа позволяет значительно увеличить клиническую эффективность массовых скрининговых обследований, в том числе — донорской крови на гепатит С.

Специфичность теста оценивалась по результатам исследования 12401 образцов крови, взятых у случайной выборки доноров, в 4 различных Центрах Крови Европейского Союза. Из 12 399 сывороток в первичном обследовании было вы-

явлено 23 положительных образца. При повторном анализе положительных образцов в дублях 19 сывороток также оказались реактивными. Среди последних для 2-х образцов положительный результат подтвердился. Таким образом, исследуемая тест-система при повторном анализе выявила как положительные 0,15 % от общего объема образцов (19/12 399). Следовательно, специфичность «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» составляет 99,85%.

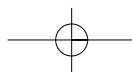
Исследования воспроизводимости проводились с разведенными АГ или АТ — содержащими сыворотками в 68 независимых экспериментах. Коэффициент вариации составил величину менее 10 %.

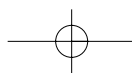
**Заключение**

Благодаря уникальной чувствительности «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» близка по своим характеристикам к ПЦР анализу, значительно превосходит все коммерческие АТ тесты и может быть использована в скрининге доноров как метод, альтернативный определению РНК ВГС в пулированных образцах методом ПЦР [27].

Высокая чувствительность при определении анти-ВГС антител в сочетании с определением антигена позволяет использовать новую тест-систему для выявления ранних стадий острого гепатита С и его хронической формы. Клинические испытания показали, что тест-система может успешно применяться как для исследования популяции с низкой частотой встречаемости гепатита С, так и в группах с высоким риском.

Таким образом, использование принципа совместного определения антигена и антител к ВГС в скрининговых исследованиях благодаря уникальной чувствительности и специфичности теста положила начало новому поколению тест-систем в исследовании гепатита С. Внедрение этого теста в Службу крови позволит без дополнительных финансовых и трудовых затрат значительно увеличить чувствительность скрининговых исследований, сократив среднюю продолжительность серонегативного периода практически до сроков выявления инфекции методом ПЦР. В клинической практике более раннее выявление маркеров инфекции с помощью тест-системы «МОНОЛИЗА ВГС АГ-АТ УЛЬТРА» позволяет значительно сократить сроки назначения противовирусной терапии, увеличивая ее эффективность.





## Литература:

1. «Гепатит С (Российский консенсус)» 26–27 сентября 2000 г. в Москве. На сайте [www.hepatit.ru](http://www.hepatit.ru)
2. CDC: Hepatitis C. Fact Sheet. 2004, Dec. 17, 1-888-4HEP-CDC на сайте [www.cdc.gov/hepatitis](http://www.cdc.gov/hepatitis)
3. Баранов А.А. Каганов В.С., Учайкин В.Ф. и др. «Диагностика и лечение хронических вирусных гепатитов В, С и Д у детей (пособие для врачей). Вопросы современной педиатрии, 2004; том 3, прилож. 4: 5 – 35.
4. Jaeckel E, et al. Treatment of acute hepatitis C with interferon alfa-2b. *N Engl J Med.* 2001 Nov 15;345(20):1452-7.
5. Weigand J. et al. Long term Follow-up After Successful Interferon Therapy of Acute Hepatitis C. *Hepatology*, 2004; 40: 98 – 107.
6. Kamal S.M. et al., Pegylated Interferon \_ Therapy in Acute Hepatitis C: Relation to Hepatitis C Virus – Specific T Cell Response Kinetics. *Hepatology*, 2004; 39: 1721-1731.
7. Locarnini SA, and Bartholomeusz A. 2002. «Advances in hepatitis C: what is coming in the next 5 years?» *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 442-447.
8. Михайлов М.И. «Форум по гепатиту С (19 – 22 сентября 2002 года, Греция) Мир вирусных гепатитов, 2002;12: 2 – 9.
9. Shehab T.M., Orrego M., Chunduri R. et al «Identification and management of hepatitis C patients in primary care clinics» *Am. J.Gastroenterol.*, 2003; 98(3): 639 - 644
10. CDC. Recommendations for Prevention and Control of Hepatitis C virus (HCV) Infection and HCV-related Chronic Disease. *MMWR* 47: RR-19, October 16, 1998.
11. Choo QL, Kuo G, Weiner J et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood borne non-A non-B viral hepatitis genome. *Science*, 1989; 244: 359-362
12. Мукомолов С.Л., Калинина О.В. Молекулярная эпидемиология вирусных гепатитов (часть 2). Мир вирусных гепатитов, 2003, № 12, стр. 3 – 10.
13. Landry M.L. Progress in diagnosis of hepatitis C virus: antibody assays. *Lab News*, 1999, Vol. 39, No. 3
14. Kuo G, Choo Q-L, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of Human non-A,non-B hepatitis. *Science*, 1989, 244: 362-364.
15. Legler TJ, et al., Testing of individual blood donations for HCV RNA reduces the residual risk of transfusion-transmitted HCV infection. *Transfusion.* 2000;40: 1192-1197.
16. Bush M.P. et al., Very low level viremia in HCV infectious unit missed by NAT. *Transfusion*; Aug 2003, Vol.43: 1173-4
17. S. Loubi\_re et al. Including polymerase chain reaction in screening for hepatitis C virus RNA in blood donations is not cost-effective. *Vox Sanguinis*, 2001, Vol. 80: 192 – 204.
18. B.R. Jackson, M.P. Busch, S.L. Stramer, & J.P. AuBuchon. The cost-effectiveness of NAT for HIV, HCV, and HBV in whole-blood donations. *Transfusion*, 2003; Vol. 43: 721 - 729
19. J.Pillonel. Trends in risk of transfusion-transmitted viral infections (HIV, HCV, HBV) in France between 1992 and 2003 and impact of nucleic acid testing (NAT). *Eurosurveillance*, 2005; Vol. 10, issue 2: 5 – 6
20. Komatsu F, Takasaki K. Determination of serum hepatitis C vims (HCV) core protein using a novel approach for quantitative evaluation of HCV viraemia in anti-HCV-positive patients. *Liver* 1999 Oct;19(5):375-80
21. Aoyagi K, Iida K, Ohue C, et al., Performance of a conventional enzyme immunoassay for hepatitis C vims core antigen in the early phases of hepatitis C infection. *Clin Lab* 2001;47(3-4):119-27
22. Peterson J, Green G, Iida K, et al., Detection of hepatitis C core antigen in the antibody negative 'window' phase of hepatitis C infection. *Vox. Sang* 2000;78(2):80-85
23. Lok A.S.F., Gunaratnam N.T. Diagnosis of Hepatitis C. *Hepatology*, 1997; vol. 26, no 3, suppl. 1: 485 - 512
24. Lemaire J.M. et al. HCV RNA in blood donors with isolated reactivities by third-generation RIBA. *Transfusion*, Jul. 2000; vol. 40: 867 - 874
25. Uyttendaele S. Et al. Evaluation of Third-Generation Screening and Confirmatory Assays for HCV Antibodies. *Vox Sang.*, 1994;66:122-129
26. Lambert N. et al Performance Features of the New Bio-Rad HCV Antigen and Antibody: MONOLISA HCV Ag-Ab ULTRA Abstract for XIV International Society of Blood Transfusion Congress, Edinburgh, 11/15 July 2004
27. Laperche S. et al Combined detection of hepatitis C virus core antigen and antibody as an alternative to nucleic acid testing in blood screening. Abstract for XV International Society of Blood Transfusion Congress, Athens 2-6 July 2005
28. ANSALDI Filippo. Combination Hepatitis C Virus Antigen and Antibody Immunoassay as a New Tool for Early Diagnosis of Infection. *Journal of Viral Hepatitis*, 2005, in press.
29. Kit Evaluation Report: MONOLISA HCV Ag-Ab ULTRA. Madagascar Pasteur Institut. Antanarivu, 2005, 12 p.
30. A.Schnuringer et al. Early detection of Hepatitis C seroconversion using a new combined antigen-antibody detection assay: Potential use in high risk individuals. Abstract for 8th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology, 27-30 April 2005, Geneva

