



Podle posledních odhadů jsou virem hepatitidy C infikovány přibližně 3 % světové populace. HCV infekce jako nejčastější příčina jaterních onemocnění ve vyspělých zemích světa představuje značné problémy jak terapeutické, tak ekonomické a současně znamená i velkou výzvu pro výrobce diagnostických technologií ke zdokonalení dosavadních testovacích možností.

Možnosti testování HCV infekce – NAT, nebo antigen?

Mgr. PETRA TRACHTULCOVÁ, Ph.D.

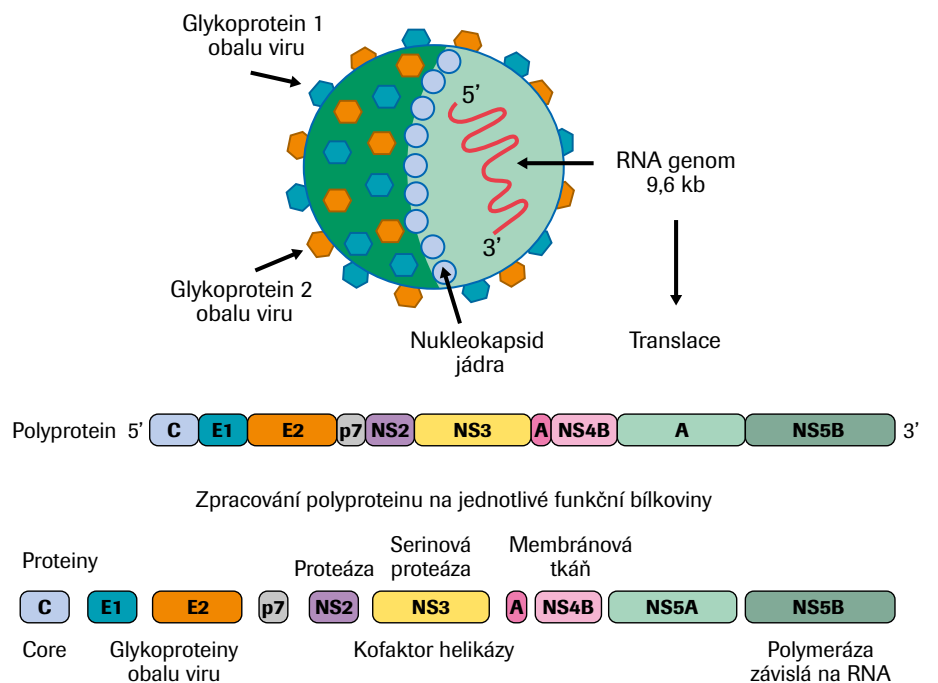
ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Virus hepatitidy C (HCV) je malý obalený virus patří do čeledi Flaviridae. HCV byl identifikován až v roce 1989, přestože již od 70. let minulého století bylo zřejmé, že kromě v té době známých původců hepatitidy A a B musí existovat i další virové agens způsobující virovou hepatitidu.

Genom HCV je tvořen jednořetězcovou pozitivní RNA, která kóduje nejméně 10 různých proteinů (obr. č. 1), jednak strukturálních (core, E1, E2, p7) a jednak nestrukturálních (NS: NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B).

Virus je charakteristický vysokou variabilitou, v současné době je popsáno 7 základních genotypů, v rámci každého je pak identifikováno několik subtypů. Jednotlivé genotypy se mezi sebou liší v 30–50 % nukleotidových sekvencí a různé subtypy se liší v 15–30 % nukleotidových sekvencí.

Infekce HCV se může projevit jako akutní žloutenka typu C, ta je však diagnostikována poměrně vzácně kvůli časté absenci klinických příznaků v akutním stadiu HCV infekce. Studie o přirozeném průběhu HCV infekce dokazují, že 55–85 % pacientů, kteří se infikují virem hepatitidy C, není schopno přirozeným způsobem virus eliminovat a infekce u nich přechází do chronického stadia. U osob s chronickou infekcí HCV významně stoupá riziko rozvoje



▲ Obr. č. 1: Struktura HCV a organizace virového genomu

Upraveno dle: https://www.researchgate.net/figure/Hepatitis-C-virus-HCV-model-structure-and-genome-organization-49-a-Model_fig3_320908322



chronického jaterního onemocnění, jaterní cirhózy (5–20 %) a hepatocelulárního karcinomu (1–2 %).

Infekce virem hepatitidy C patří mezi krví přenosné infekce. Hlavními cestami šíření HCV infekce jsou:

- přenos krevními deriváty,
- injekční aplikace drog,
- tetování a piercing neprováděné za aseptických podmínek (zejména amatérsky),
- pravidelné dialyzační léčení (PDL),
- profesionální riziko expozice HCV,
- sexuální kontakt s osobou HCV pozitivní (častější mezi muži, kteří mají styk s muži),
- rodinný kontakt s osobou HCV pozitivní,
- vertikální přenos z HCV pozitivní matky na novorozence (perinatální přenos),
- iatrogenní přenos,
- přenos orgánovým štěpem před rokem 1992.

Před rokem 1992, kdy bylo zahájeno rutinní testování krevních dárců na přítomnost infekce HCV, představovalo hlavní cestu přenosu infekce přijetí infikovaného krevního derivátu. V současnosti je nejběžnější cestou šíření infekce nitrožilní aplikace drog.

Podle údajů **Pracovní skupiny pro virové hepatitidy České hepatologické společnosti ČLS JEP a Pracovní skupiny pro virové hepatitidy Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP** byla v roce 2001 pomocí sérologického přehledu zjištěna prevalence protilátek anti-HCV v běžné populaci ČR přibližně 0,2 %. Na základě údajů o prevalenci a incidenci infekce HCV mezi prvodárci a opakovanými dárci jak v zařízeních transfúzní služby, tak v plazmaferetických centrech (viz tabulka č. 1, č. 2) je v současnosti v běžné populaci toto číslo patrně o něco vyšší.

Testy ke zjištění HCV infekce

Průkaz infekce HCV je založen zejména na sérologických testech, které detekují přítomnost specifických protilátek proti HCV. Protilátky anti-HCV nemají neutralizační efekt, nejsou nositelem imunity organismu. Přetrvávají ve značném titru i u pacientů úspěšně vyléčených.

V mezinárodních doporučeních pro diagnostiku a léčbu virové hepatitidy C (AASLD, APASL, EASL, US CDC) jsou uvedeny přehledné algoritmy pro postup testování rizikových osob a požadavky na používané testovací soupravy. Všechna doporučení se shodují v základní ose

testovacího procesu, ve kterém po zjištění opakované reaktivity v protilátkových testech následuje konfirmační vyšetření. Pro konfirmaci infekce HCV jsou jednoznačně doporučovány testy založené na detekci HCV RNA v séru nebo v plazmě senzitivními molekulárněbiologickými metodami (doporučení EASL, AASLD, APASL, viz obr. č. 2). Jako testy vhodné pro detekci virové RNA udává doporučení EASL použití technologií s minimální hodnotou dolního detekčního limitu 15 IU/ml. Doporučení EASL současně jako náhradní řešení pro diagnostiku akutní či chronické hepatitidy C v případě nedostupnosti vhodných systémů pro NAT konfirmaci uvádí možnost testovat přítomnost core antigenu HCV. Současně však zdůrazňuje nižší senzitivitu testů detekujících core antigen HCV ve srovnání s NAT technologií (detekční limit pro testy core antigen HCV odpovídá zhruba 500–3 000 IU/ml RNA).

Testování HCV u dárců krve

V případě testování dárců krve je v současnosti jako povinný test legislativně vyžadován pouze sérologický průkaz protilátek anti-HCV. Vzhledem k délce diagnostického okna (obr. č. 3) je však uvedený test relativně málo spolehlivý

ČR	HIV1/2		HBV		HCV	
	PREVALENCE	INCIDENCE	PREVALENCE	INCIDENCE	PREVALENCE	INCIDENCE
2016	4,4	1,1	28,4	4,2	244,7	18,9
2017	13,5	0,4	38,5	3,6	223,4	12,6

▲ Tab. č. 1: Incidence a prevalence ukazatelů infekcí přenosných transfúzí u dárců krve a jejich složek (na 100 tisíc vyšetření)
Upraveno dle: Zpráva zařízení transfúzní služby v České republice v roce 2016, 2017 (pro MZ ČR).

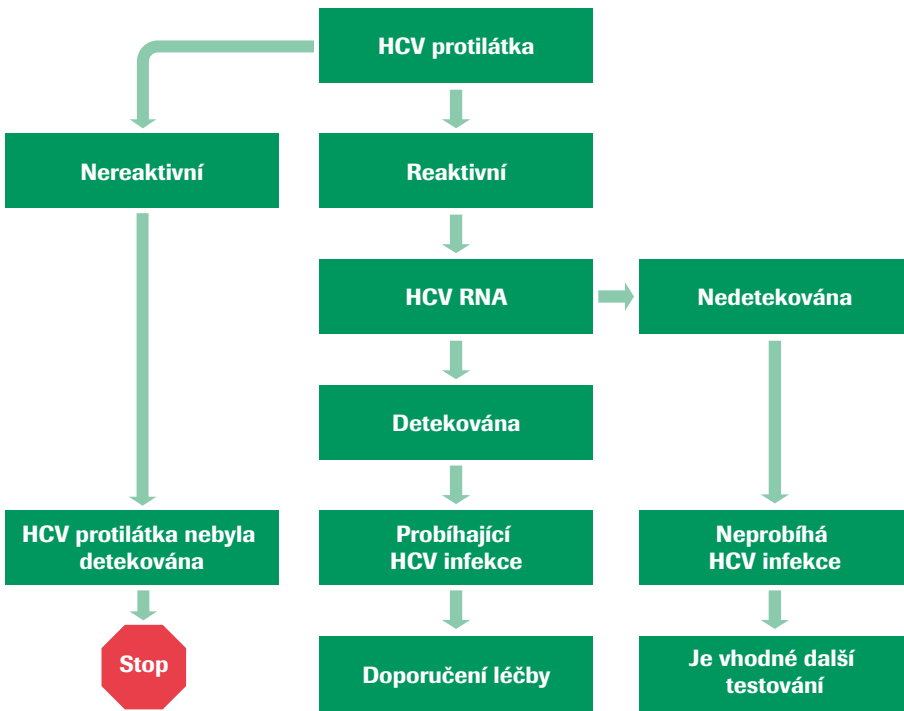
	HIV1/2		HBV		HCV	
	Nemocniční ZTS	Plazmaferetická centra	Nemocniční ZTS	Plazmaferetická centra	Nemocniční ZTS	Plazmaferetická centra
Incidence	1,28	1,52	3,74	4,56	2,14	29,48
Prevalence	5,83	7,26	40,13	55,41	71,8	263,19

▲ Tab. č. 2: Incidence a prevalence ukazatelů infekcí přenosných transfúzí u dárců nemocničních zařízení transfúzní služby a plazmaferetických center (2009–2013) (na 100 tisíc vyšetření)
Upraveno dle: Turek, P., Masopust, J. *Transfúze Hematol. dnes*, 20, 2014, No. 4, p. 125–135.

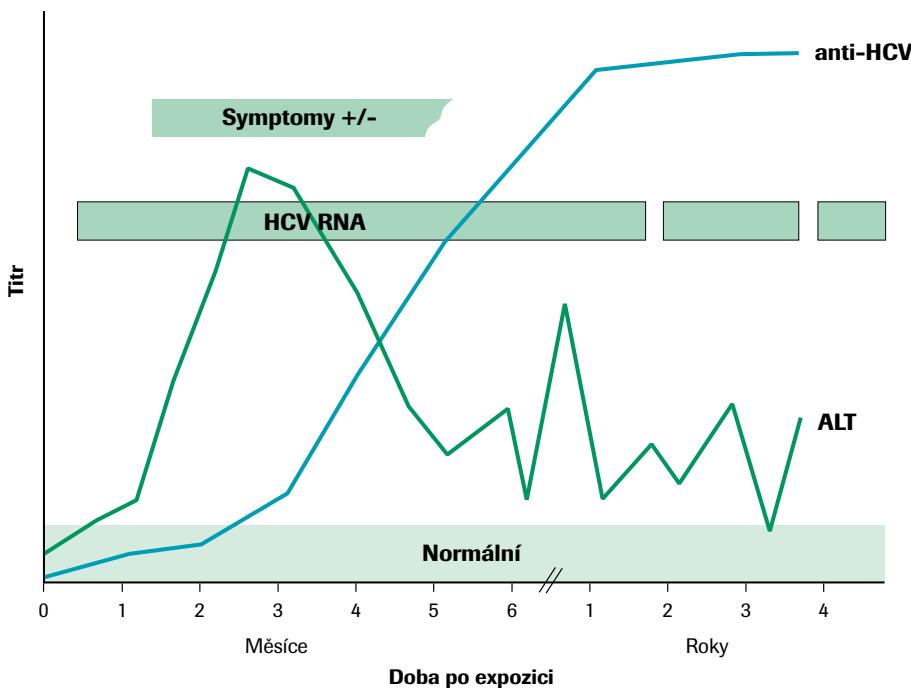


na to, aby zaručil bezpečnost krevních přípravků a krevních derivátů. V současnosti používané diagnostické sady tzv. třetí generace výrazně zkrátily délku

diagnostického okna ve srovnání s testy první a druhé generace, přesto je délka diagnostického okna odhadována na průměrně 66 dnů.



▲ Obr. č. 2: Doporučený postup pro testování infekce HCV
Upraveno dle: AASLD, <https://www.hcvguidelines.org/evaluate/testing-and-linkage>



▲ Obr. č. 3: Sérologický profil akutní HCV infekce s přechodem do chronické fáze
Upraveno dle: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2268§ionid=176083301>

V řadě zemí se proto přistoupilo k provádění doplňujících testovacích strategií, které mohou bezpečnost spojenou s transfuzními přípravky zvýšit. Jednoznačně nejvyšší výpovědní hodnotu mají testy identifikující přítomnost virové RNA v krevním vzorku dárce (Marwaha and Sachdev, 2014). NAT metody se vyznačují vysokou analytickou senzitivitou vůči HCV RNA a v nastavení ID-NAT mohou detekovat RNA již v koncentraci 2–9,4 IU/ml v rozmezí 4–9 dnů po infekci v závislosti na citlivosti použitého testu.

Některá transfuzní pracoviště místo NAT screeningu virové RNA provádějí testy zjišťující přítomnost jednoho ze strukturálních antigenů HCV, core antigenu. HCV core antigen v séru nebo v plazmě je markerem replikace HCV. Core antigen se v krvi infikované osoby objevuje podstatně dříve, než jsou detekovatelné protilátky (obr. č. 4). Ve srovnání s možností detekce virové RNA je antigen přítomen v krvi infikované osoby jen o 2–8 dnů později. Mohlo by se tedy zdát, že použití testů odhalujících přítomnost core antigenu sérologickými metodami může nahradit nákladnější a časově náročnější NAT metody. Citlivost těchto testů je však výrazně nižší ve srovnání s NAT vzhledem k přítomné virové náloži v časně fázi infekce (viz obr. č. 5).

Pokud můžeme srovnat technologie používané pro průkaz infekce HCV, je zřetelné, že NAT postupy zajišťují jednoznačně nejvyšší senzitivitu testu a současně jsou schopny prokázat i velmi časnou infekci (viz tab. č. 3).

Porovnání testů pro HCV antigen a NAT

Detekce antigenu může být podle mezinárodních doporučení použita jako náhradní test pro potvrzení diagnózy akutní nebo chronické HCV. Ve srovnání s NAT RNA testy jsou však testy založené na detekci přítomnosti antigenu



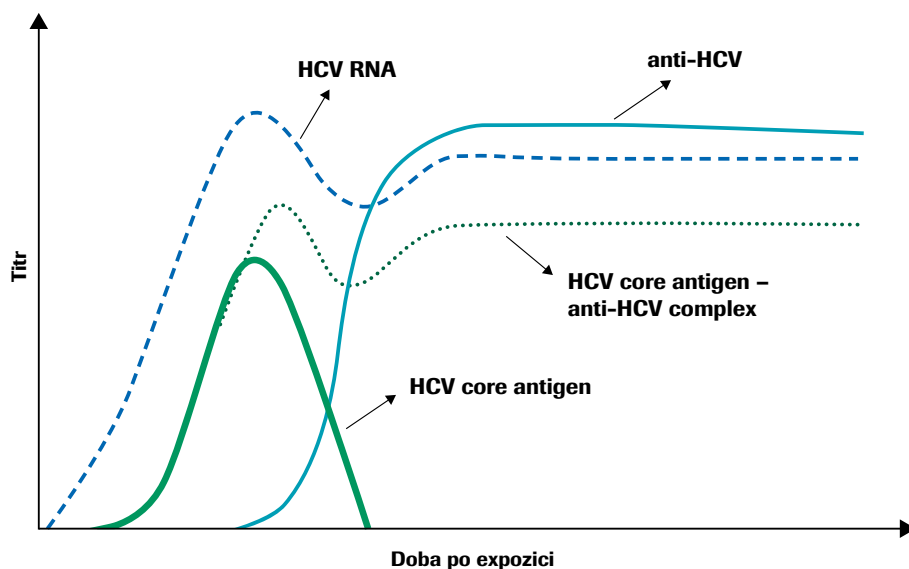
	Maximální koncentrace virové NK během viremické fáze diagnostického okna (vDWP)* (IU/ml)				
	ID NAT	MP(16) NAT	Antigen EIA/CLIA	Combo EIA/CLIA	Antibody EIA/CLIA
HIV	150	2400	2 x 10 ⁴	105	107
HBV	24	384	103	---	---
HCV	30	480	104	5 x 106	108

	Délka viremické fáze diagnostického okna pro jednotlivé typy testů (dny) (vDWP)*				
	ID NAT	MP(16) NAT	Antigen EIA/CLIA	Combo EIA/CLIA	Antibody EIA/CLIA
HIV	8	11	14	16	21
HBV	27	37	42	---	---
HCV	5	7	9	38	60

▲ Tab. č. 3: Srovnání používaných technologií pro detekci infekce HCV

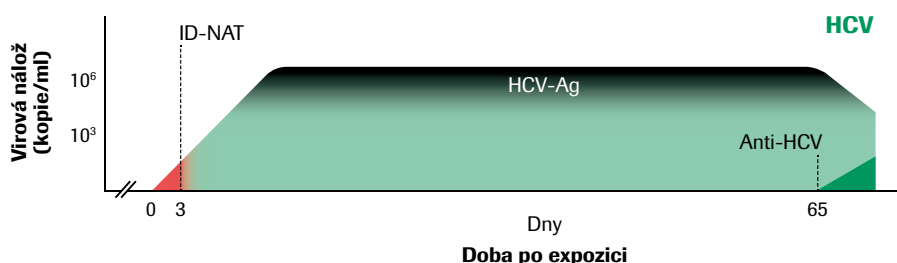
Upraveno dle: WHO GUIDELINE ON ESTIMATION OF RESIDUAL RISK OF HIV, HBV OR HCV INFECTIONS VIA CELLULAR BLOOD COMPONENTS AND PLASMA, 2016.

* vDWP = viremická fáze diagnostického okna – je definována jako období s virovou koncentrací ≥ 1 virová částice v erytrocytární transfuzní jednotce obsahující 20 ml plazmy; 1 virová částice odpovídá 1 (HCV, HBV) nebo 2 (HIV) genomovým virovým kopiím. 1 IU HCV-RNA odpovídá 4 genomovým kopiím HCV-RNA, 1 IU HBV-DNA 5 genomovým kopiím HBV-DNA a 1 IU HIV-1 RNA 0,5 genomové kopie HIV-1 RNA.



▲ Obr. č. 4: Markery infekce HCV – možnosti detekce

Upraveno dle: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386653204002914> (Seme et al., 2005).



▲ Obr. č. 5: Možnost detekce infekce HCV ve vztahu k velikosti virové nálože

Upraveno dle: Kleinman et al., 2009.

méně citlivé (dolní limit detekce antigenu odpovídá zhruba koncentraci RNA HCV 500–3 000 IU/ml, v závislosti na genotypu viru), mohou tedy vést k falešně

negativním výsledkům zejména v případě screeningového testování dárců krve, obzvláště v časné fázi infekce s nízkou virovou náloží.

Diagnostické sety pro identifikaci core antigenu jsou založeny buď na identifikaci samotného antigenu, nebo se jedná o kombinované testy, které současně detekují jak antigen, tak anti-HCV protilátky (tzv. testy čtvrté generace).

Byla provedena celá řada studií, které porovnávaly výkonnost metod detekujících core antigen, ať již samotný, nebo v kombinaci s anti-HCV protilátkami, s metodami NAT (tabulka č. 4).

Z údajů uvedených v tabulce č. 4 je zřejmé, že kombinované testy mají výrazně nižší senzitivitu ve srovnání s testy detekujícími samotný antigen. Např. při použití soupravy Monolisa HCV Ag/Ab ULTRA assay byla potvrzena infekce HCV pouze ve 40,8 % případů HCV-RNA pozitivních vzorků. Pokud byl na stejné skupině vzorků použit test detekující pouze HCV core antigen, senzitivita stoupla na 73,8 %, resp. 96,9 % pozitivních výsledků (Laperche et al., 2005). V další studii tento test dosáhl senzitivity pouhých 29 %, přičemž v některých falešně negativních případech se virová nálož vzorku pohybovala nad hodnotou 106 IU/ml (Tuke et al., 2008). Test Monolisa vykázal také výraznou závislost na testovaném genotypu (genotyp 3 – žádný pozitivně identifikovaný vzorek z celkem 15 NAT-HCV pozitivních). Z těchto výsledků jasně vyplývá,



Použitý systém	Senzitivita testu	Citace	Poznámka
Monolisa HCV Ag/Ab ULTRA assay	40,8%	Laperche et al., 2005	
HCV core Ag blood screening assay (nespecifikováno)	73,8%		
Trak-C assay (Ortho Diagnostics)	96,9%		
Kombin. test Murex Abbott	50%	Tuke et al., 2008	
Komb. test Monolisa Ultra	29%		
Komb. test Prism Abbott	89,8%	Shah et al., 2003	
Hepatitis C cAg (Murine Antibody) ELISA Test Systém (Ortho-Clinical Diagnostics)	82,6%	Nübling et al., 2002	
Architect HCV Ag assay, Abbott	89%	Hullegie et al., 2017	39/44 studie HIV pozitivních pacientů; identifikace akutní HCV
Hepatitis C cAg (Murine Antibody) ELISA Test Systém (Ortho-Clinical Diagnostics)	83%	Marwaha a Sachdev, 2014	(96%, pokud počet kopií RNA > 105; jen 53% pokud počet RNA kopií nižší)
Trak-C; Ortho-Clinical Diagnostics	96,7%	Gaudy et al., 2005	
Architect HCV Ag assay, Abbott	93,4% (spec. 98,8%)	Freiman et al., 2016	23 studií, bez ohledu na reaktivitu anti-HCV
Ortho ELISA	93,2%		6 studií
Architect HCV Ag assay, Abbott	100%	Cresswell et al., 2015	virová nálož 60 950–14 794 746 IU/ml, pouze 15 osob, HIV-pozitivní s akutní infekcí HCV
Architect HCV Ag assay, Abbott	97,8%	Kuo et al., 2012	
Architect HCV Ag assay, Abbott	94,3%	Yuksel et al., 2011	
Architect HCV Ag assay, Abbott	93,8%	Cetiner et al., 2017	Ag test negativní pod 3 000 IU/ml RNA
Antigen – nespecifikovaný test	87%	Peterson J et al., 2000	
Antigen – nespecifikovaný test	72,5%	Shaheen et al., 2014	
Metaanalýza – detekce HCV Ag	poolovaná 84% (95% CI: 83–85%)	Gu et al., 2012	25 studií

▲ Tab. č. 4: Senzitivita testů detekujících HCV core Ag

že kombinované testy rozhodně nejsou kvůli své nízké senzitivě spolehlivým řešením pro screening dárců krve a krevních složek.

V přehledné práci Hanse Tillmanna (2014) jsou shrnuty závěry některých studií porovnávajících senzitivitu a specifitu testů detekujících HCV core antigen. Nejvíce pozornosti věnuje studiím pracujícím se soupravou, která je v současné době pro testování HCV core antigenu nejčastěji používána (Architect HCV Ag assay, Abbott). Kromě jiného cituje práci Rosse (2010), v níž jsou uvedeny výsledky ověření analytické senzitivity tohoto testu (viz tabulka č. 5).

V další souhrnné studii Khan et al. (2017) srovnával celkem 24 prací, které hodnotily analytickou a klinickou výkonnost testů pro detekci core antigenu HCV (viz tabulka č. 6). Z velkého rozptylu hodnot

Genotyp HCV	Výrobce		Ross et al. (2010)	
Subtyp 1a	3 fmol/l	507 IU/ml	5,3 fmol/l	896 IU/ml
Subtyp 1b	3 fmol/l	405 IU/ml	3,5 fmol/l	428 IU/ml
Genotyp 2	3 fmol/l	600 IU/ml	13,5 fmol/l	2 700 IU/ml
Genotyp 3a	3 fmol/l	771 IU/ml	3,9 fmol/L	1 002 IU/ml

▲ Tab. č. 5: Analytická výkonnost Architect HVC Ag assay Abbott (Ross et al., 2010)

	Všechny práce bez ohledu na testované systémy	Práce týkající se soupravy core Ag HCV (Abbott)
Počet studií a testovaných vzorků	24 8 136 vzorků	8 4 427 vzorků
Falešně negativní výsledky	0–18,5% (průměr 3,52%)	0–18,5% (průměr 2,11%)
Falešně pozitivní výsledky	0–2,86% (průměr 0,57%)	0–1,1% (průměr 0,6%)
Specifita testu	40–100% průměr 96,63% (95% CI, 96,42–96,85)	95,08–100% průměr 99,03% (95% CI, 98,73–99,32)
Senzitivita testu	14,29–100% průměr 93,94% (95% CI, 93,73–94,15)	75,83–100% průměr 96,72% (95% CI, 96,42–97,01)

▲ Tab. č. 6: Výsledky studií srovnávajících analytickou výkonnost testů vzhledem k detekci core Ag HCV

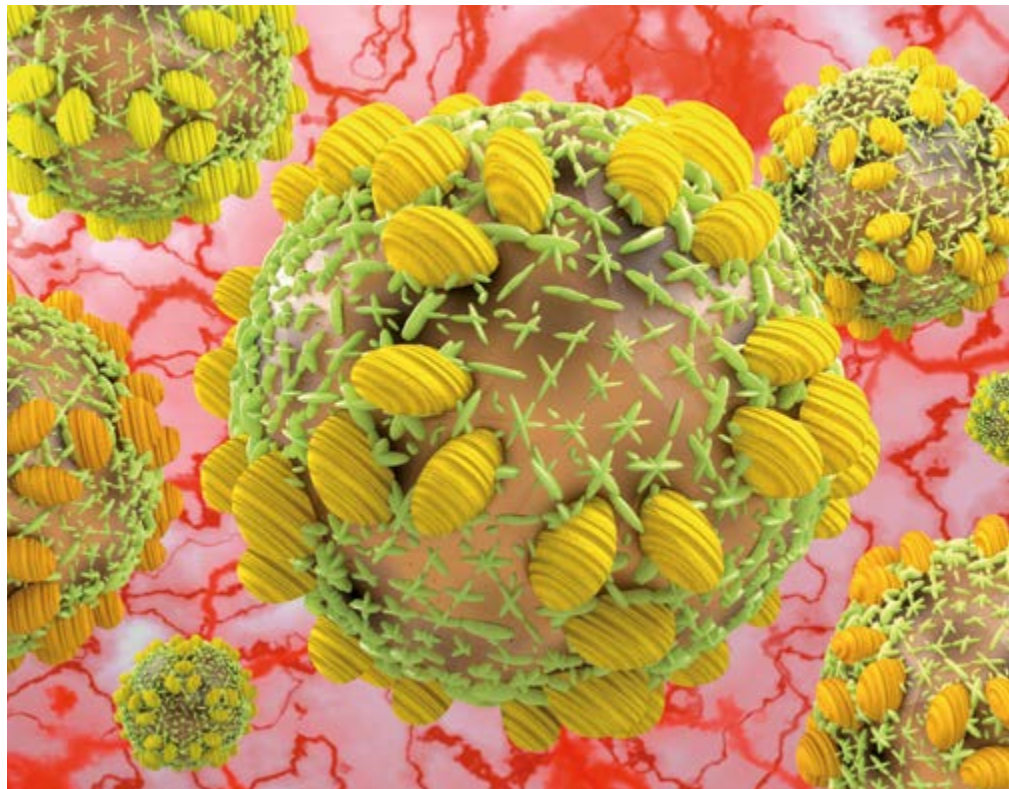


senzitivity testů vyplývá, že pro screening dárců krve a konfirmaci reaktivních výsledků není tato strategie optimální.

Nižší senzitivita testu je kromě virové nálože v ověřovaných vzorcích také velmi ovlivněna variabilitou virového genomu (viz tabulka č. 7, Ottiger et al., 2013).

Je nutné si vždy uvědomit, že při interpretaci výsledků testů citovaných v různých publikacích a studiích je nutné postupovat s ohledem na používaný testovací systém pro virovou RNA a jeho hodnotu LLoD. V případě, že je použitý test s vysokou hodnotou LLoD, hodnota specifity a senzitivity testu core Ag HCV může být vyšší ve srovnání s pracemi, které srovnávaly výkonnost se soupravou pro detekci RNA s nižší LLoD. Senzitivita testu pro detekci antigenu je také ovlivněna množstvím přítomných HCV protilátek ve vzorku, které mohou interferovat s detekcí antigenu a mohou tak snížit senzitivitu testu pro detekci antigenu (např. Reddy et al., 2006, senzitivita pouze 14 %).

Při implementaci testů detekujících přítomnost virové RNA je důležité brát v úvahu fakt, že koncentrace virových partikulí klesá a významně kolísá u infikovaných osob po sérokonverzi nebo během remise a při chemoterapii. Může tedy dojít k tomu, že při použití minipool strategie (MP16 a více) může být vzorek NAT negativní, ale v sérologických testech prokazujících přítomnost protilátek pozitivní (Roth et al., 2012). Z toho je zřejmé, že sérologické a NAT testy jsou navzájem komplementární a nelze je navzájem nahradit.



Genotyp HCV	Analytická senzitivita
Genotyp 1a	963–3 507 IU/ml HCV RNA
Genotyp 1b	1 527–6 382 IU/ml HCV RNA
Genotyp 2 (a/c, b)	568–35 318 IU/ml HCV RNA
Genotyp 3a	1 088–4 920 IU/ml HCV RNA
Genotyp 4 (a/c/d)	251–2 870 IU/ml HCV RNA
Pool genotypů	3 700 IU/ml HCV RNA

▲ Tab. č. 7: Detekční limity pro detekci core antigenu produkovaného virem jednotlivých genotypů HCV (platform Architect i2000SR®, Abbott), (Ottiger et al., 2013)

Z uvedených dat je patrné, že přestože testy detekující core HCV antigen přinášejí výrazné zkrácení diagnostického okna oproti testům anti-HCV, nezajišťují dostatečnou senzitivitu z hlediska požadavků kladených na vyšetřování dárců krve. Pro zařízení transfuzní služby je

testování antigenu sice možnou alternativou, nicméně jde o alternativu méně spolehlivou, a proto je namíste preferovat metody s vyšší citlivostí, tedy NAT technologie, které jsou díky své senzitivě dalším významným pokrokem v zajištění bezpečnosti krevních přípravků.



Mgr. Petra Trachtulcová, Ph.D.

ROCHE s.r.o., Diagnostics Division
Kontakt: petra.trachtulcova@roche.com

Od roku 2018 pracuje ve společnosti Roche Diagnostics s.r.o. jako aplikační specialista pro koagulační analyzátoři a věnuje se spolupráci s laboratořemi v zařízeních transfuzní služby. Přivítala by den alespoň o pár hodin delší, aby kromě práce stihla jógu, kreslení, filmy, dobrou muziku a knížky a spoustu dalších věcí, které dodávají životu tu správnou chuť.



LITERATURA

1. Syria Laperche, Nadine Le Marrec, Annie Girault, Francoise Bouchardeau, Annabelle Servant-Delmas, Michèle Maniez-Montreuil, Pierre Gallian, Thierry Levayer, Pascal Morel, and Nicole Simon. Simultaneous Detection of Hepatitis C Virus (HCV) Core Antigen and Anti-HCV Antibodies Improves the Early Detection of HCV Infection; *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, Aug. 2005, p. 3877-3883, Vol. 43, No. 8.
2. J. Morgan Freiman, MD, Trang M. Tran, Samuel G Schumacher, MSc, PhD, Laura F. White, PhD, Stefano Ongareello, PhD, Jennifer Cohn, MD, MPH, Philippa J. Easterbrook, MD, MPH, Benjamin P. Linas, MD, MPH, and Claudia M. Denking, MD, PhD. HCV Core Antigen Testing for Diagnosis of HCV Infection: A systematic review and meta-analysis; *Ann Intern Med.* 2016 September 06; 165(5): 345-355. doi:10.7326/M16-0065.
3. Cresswell, Martin Fisher, Daniel J. Hughes, Simon G. Shaw, Gary Homer, and Mohammed O. Hassan-Ibrahim. Hepatitis C Core Antigen Testing: A Reliable, Quick, and Potentially Cost-effective Alternative to Hepatitis C Polymerase Chain Reaction in Diagnosing Acute Hepatitis C Virus Infection; *Clinical Infectious Diseases** 2015; 60(2): 263-6.
4. Shah O. Dinesh, Chi D. Chang, Lily X. Jiang, Kevin Y. Cheng, A. Scott Muerhoff, Robin A. Gutierrez, Thomas P. Leary, Suresh M. Desai, Irene V. Batac-Herman, Vince A. Salbilla, Alla S. Haller, James L. Stewart, and George J. Dawson. Combination HCV core antigen and antibody assay on a fully automated chemiluminescence analyzer *Transfusion* 2003, 43 (8): 1067-74
5. Tuke PW, Grant PR, Waite J, Kitchen AD, Eglin RP, Tedder RS (2008). Hepatitis C virus window-phase infections: closing the window on hepatitis C virus. *Transfusion* 48: 594-600. Volume 43, August 2003 *TRANSFUSION* 1067, From the New Assay Development and Infectious Diseases; R & D, Abbott Diagnostics Division, Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois.
6. Roth WK, et al. International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. *Vox Sang* 2012; 102: 82-90 [PMID: 21933190 DOI: 10.1111/j.1423-0410.2011.01506.x
7. Ross RS, Viazov S, Salloum S, Hilgard P, Gerken G, Roggendorf M. Analytical performance characteristics and clinical utility of a novel assay for total hepatitis C virus core antigen quantification. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1161-1168 [PMID: 20107102 DOI: 10.1128/JCM.01640-09].
8. Hans L Tillmann Hepatitis C virus core antigen testing: Role in diagnosis, disease monitoring and treatment; *World J Gastroenterol* 2014 June 14; 20(22): 6701-6706 ISSN 1007-9327 (print) ISSN 2219-2840 (online) *World J Gastroenterol* 2014 March 21; 20(11): 2948-2954 ISSN 1007-9327.
9. Neelam Marwaha, Suchet Sachdev. Current testing strategies for hepatitis C virus infection in blood donors and the way forward; *WJG 20th Anniversary Special Issues (2): Hepatitis C virus.*
10. Micha C. Nübling, Gabriele Unger, Michael Chudy, Steven Raia, Johannes Löwer Sensitivity of HCV core antigen and HCV RNA detection in the early infection phase; *Transfusion* vol. 42; August 2002, 1037-45.
11. Sebastiaan J. Hullege, Corine H. Geurtsvan-Kessel, Annemiek A. van der Eijk, Chris Ramakers and Bart J. A. Rijnders. HCV antigen instead of RNA testing to diagnose acute HCV in patients treated in the Dutch Acute HCV in HIV Study; *Journal of the International AIDS Society* 2017, 20:21621. <http://www.jiasociety.org/index.php/jias/article/view/21621> | <http://dx.doi.org/10.7448/IAS.20.1.21621>
12. Cornelia Ottiger*, Nicole Gygli, Andreas R. Huber. Detection limit of architect hepatitis C core antigen assay in correlation with HCV RNA, and renewed confirmation algorithm for reactive anti-HCV samples; *Journal of Clinical Virology* 58 (2013) 535-540.
13. Harun Khan, Andrew Hill, Janice Main, Ashley Brown, and Graham Cooke. Can Hepatitis C Virus Antigen Testing Replace Ribonucleic Acid Polymearse Chain Reaction Analysis for Detecting Hepatitis C Virus? A Systematic Review; *Open Forum Infectious Diseases**© The Author 2017. DOI: 10.1093/ofid/ofw252.
14. AK Reddy, KV Dakshinamurty, V Lakshmi. Utility of HCV core antigen elisa in the screening for hepatitis C virus infection in patients on hemodialysis *Indian J Med Microbiol.* 2006 Jan;24(1):c 55-7.
15. 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: 80-5.
16. Shaheen A.M, Amin A.M, Tawfik A.K, Ezz Elden M.M. Analytical evaluation of Hepatitis C Virus Core Antigen Detection as a Diagnostic Test in Diagnosis of HCV Infection; *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, October 2014 Vol. 23, No. 41.
17. Katja Semea, Mario Poljaka, Dunja Z. Babic, Tina Mocilnik, Adriana Vince. The role of core antigen detection in management of hepatitis C: a critical review. *Journal of Clinical Virology* 32 (2005), 92-101.
18. Steven H. Kleinman, Nico Lelie, and Michael P. Busch. REVIEW – Infectivity of human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus and risk of transmission by transfusion. *TRANSFUSION* Volume 49, November 2009, 2454-2489.
19. 2017 European Guideline for the screening, prevention and initial management of hepatitis B & C infections in sexual health settings (2017 IUSTI Europe Hepatitis Guideline), <https://www.iusti.org/regions/europe/pdf/2017/IUSTIEuropeHepatitis2017.pdf>
20. Yuksel P, Caliskan R, Ergin S, Aslan M, Celik DG, Saribas S, Ziver T, Yalciner A, Kocazeybek B. New approaches to in vitro diagnosis of hepatitis C infection a reason for post transfusion hepatitis: Diagnostic value of determination of hepatitis C virus core antigen. *Transfus Apher Sci.* 2011 Dec;45(3): 247-50. doi: 10.1016/j.transci.2011.10.002. Epub 2011 Nov 2.
21. Salih Cetiner, Alev Cetin Duran, Filiz Kibar, Akgün Yaman Performance comparison of new generation HCV core antigen test versus HCV RNA test in management of hepatitis C virus infection. *Transfusion and Apheresis Science* 56 (2017) 362-366.
22. Kuo Yuan-Hung, Kuo-Chin Chang, Jing-Houng Wang, Pei-Shan Tsai, Shu-Feng Hung, Chao-Hung Hung, Chien-Hung Chen, and Sheng-Nan Lu. Is Hepatitis C Virus Core Antigen an Adequate Marker for Community Screening? *Journal of Clinical Microbiology* June 2012 Volume 50 Number 6, p. 1989-1993.
23. Turek P., Masopust. J. Činnost transfuzní služby v České republice v období 1989–2013. *Transfuzie Hematol. dnes*, 20, 2014, No. 4, p. 125-135.
24. APASL consensus statements and recommendation on treatment of hepatitis C - *Hepatology* Int. DOI 10.1007/s12072-016-9717-6.
25. AASLD: Testing, Evaluation, and Monitoring of Hepatitis C. From www.HCVGuidance.org on November 27, 2018.
26. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.026>
27. https://talk.ictvonline.org/ictv_wikis/flaviviridae/w/sg_flavi/56/hcv-classification