

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГЕПАТИТА С: МЕТОД ИФА

Т.С. Белохвостикова<sup>1,2</sup>, М.Ю. Хасина<sup>3</sup>, Е.В. Лосева<sup>3</sup>, А.А. Денисова<sup>1</sup>,  
З.А. Ефременко<sup>1</sup>, С.В. Тяренькова<sup>1</sup>, Д.Ю. Соснин<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ООО «ЮНИЛАБ-ИРКУТСК», г. Иркутск, Россия

<sup>2</sup>ИГМАПО-филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Иркутск, Россия

<sup>3</sup>ООО «ЮНИЛАБ-ХАБАРОВСК», г. Хабаровск, Россия

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь, Россия

## Резюме

Гепатит С (ГС) является социально значимым заболеванием, часто протекает в хронической малосимптомной форме. Несмотря на снижение заболеваемости ГС в восточных регионах России, стратегия здравоохранения по-прежнему направлена на своевременное выявление инфекции во всех социальных и возрастных группах населения. Существенную помощь в диагностике острых и хронических форм заболевания оказывают лабораторные методы исследования. В большинстве случаев для скрининга используют обнаружение суммарных антител к вирусу гепатита С (анти ВГС-антител). Основные результаты скрининговых исследований дают 100% совпадение при использовании реагентов разных производителей, а также совпадение в системе межлабораторных сличительных испытаний АСНП ЦВКК (ФСВОК). При получении положительного результата исследования, полученный результат требует подтверждения. В нашем исследовании в результате скрининга суммарных антител к ВГС был отобран 91 образец сыворотки крови для подтверждения инфекции, что составило 4,84% всех протестированных образцов. Сыворотки в подтверждающих тестах исследовали также реагентами двух производителей. Образцы разделили на две группы: с высоким и низким содержанием анти ВГС-антител. Первая группа образцов, с высоким содержанием антител продемонстрировала полное совпадение результатов подтверждающих тестов. При исследовании образцов с низкой оптической плотностью в подтверждающих тестах неопределённые результаты получили в 11–20% случаев. Разница получена также в результатах обнаружения антител к core-антигену. Получение в небольшом числе случаев неопределённых результатов является самой большой точкой применения ИФА и причины этого до настоящего времени дискуссионны, поскольку попытки улучшить алгоритмы определения и референс границы ограничиваются возможностями метода. Обнаружение методом ИФА суммарных антител к ВГС – скрининговый тест, при сомнительных или положительных результатах которого рекомендовано использовать другие лабораторные методы – ПЦР диагностику, обнаружение core-антигена что регламентировано актуальными клиническими рекомендациями.

**Ключевые слова:** вирусный гепатит С, иммуноферментный анализ, ложноположительные результаты

DOI: 10.58953/15621790\_2025\_16\_1-2\_89

## DETERMINATION OF ANTIBODIES TO HEPATITIS C VIRUS: ELISA METHOD

T.S. Belokhvostikova<sup>1,2</sup>, M. Yu. Khasina<sup>3</sup>, E.V. Loseva<sup>3</sup>, A.A. Denisova<sup>1</sup>,  
Z.A. Efremenko<sup>1</sup>, S.V. Tyarenkova<sup>1</sup>, D. Yu. Sosnin<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ООО "UNILAB-IRKUTSK", Irkutsk, Russia

<sup>2</sup>Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuing Professional Education» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Irkutsk, Russia

<sup>3</sup>"UNILAB-HABAROVSK" Irkutsk, Russia

<sup>4</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia

## Summary

Hepatitis C is a socially significant disease, often occurring in a chronic low-symptom form. Despite the decrease in HCV incidence in the eastern regions of Russia, the healthcare strategy is still aimed at timely detection of the in-

fection in all social and age groups of the population. Laboratory research methods provide significant assistance in diagnosing acute and chronic forms of the disease. In most cases, detection of total anti-HCV antibodies is used for screening. The main results of screening studies give 100% coincidence when using reagents from different manufacturers, as well as coincidence in the system of interlaboratory comparative tests of the ASNP CEQ CCRL. If a positive test result is obtained, the result obtained requires confirmation. In our study, as a result of screening of total antibodies to HCV, 91 serum samples were selected to confirm the infection, which amounted to 4.84% of all tested samples. Sera in confirmatory tests were also tested using test systems from two manufacturers. The samples were divided into two groups: with high and low anti-HCV antibodies. The first group of samples, with a high antibody content, demonstrated complete agreement with the results of confirmatory tests. When studying samples with low OD in confirmatory tests, indefinite results were obtained in 11–20% of cases. The difference was also obtained in the results of detection of anti-core antibodies. Obtaining indefinite results in a small number of cases is the most painful point of ELISA and the reasons for this are still debatable, since attempts to improve the algorithms for determining and the reference limit are limited by the capabilities of the indirect ELISA method. Laboratory detection of total antibodies to HCV by the ELISA method is a screening test, in case of questionable or positive results of which it is recommended to use other laboratory methods – PCR diagnostics, detection of core-antigen, which is regulated by current clinical guidelines.

**Keywords:** viral hepatitis C, enzyme immunoassay, false positive samples

Число людей, заражённых опасным вирусом гепатита С (ВГС, HCV), растёт во всем мире. По данным ВОЗ к 2030 году число негативных исходов хронического гепатита: больных циррозом и гепатоцеллюлярной карциномой может удвоиться, если не будет выполнена предложенная Глобальная стратегия сектора здравоохранения по вирусному гепатиту. Зафиксированное в 2018–2020 г.г. в некоторых регионах РФ падение уровня заболеваемости часто связывают с недообследованностью пациентов в период пандемии COVID-19. По принятой в РФ концепции сохранения здоровья и благополучия людей до 2030 года, определенной в Указе Президента РФ от 21.07.2020 N 474 до 2030 года планируется снизить заболеваемость гепатитом С (ГС) до 3,7 на 100 тыс. населения [1].

В Пригарье количество пациентов инфицированных хроническим вирусным гепатитом С ниже чем в целом в СФО и составляет порядка 7 тыс. человек в виде моноинфекции, примерно такое же количество пациентов — в сочетании с ВИЧ-инфекцией [2]. Уровень заболеваемости в Иркутской области, Хабаровском и Приморском краях, по данным центров СПИД, имеет тенденцию к снижению, однако по-прежнему требует повышения мер по выявлению и медицинскому сопровождению гепатитов. Необходимость своевременного выявления ГС связана с отличительной особенностью и опасностью — скрытым или малосимптомным течением инфекции. Она длительное время может оставаться нераспознанной, и в половине случаев ассоциирована с ВИЧ-инфекцией в этих регионах [3,4]. У этого контингента инфицирование вирусом ГС происходит при незащищенных половых контактах и немедицинском употреблении инъекционных наркотиков. Преимущественно острыми фор-

мами заболевают дети и молодые люди, хроническими формами — люди в возрасте 30–39 лет. В популяции заболевших высока доля коморбидности [1]. В связи с этим, остается актуальным своевременное выявление заболевания, зависящее напрямую от качества лабораторной диагностики вирусного ГС.

Лабораторные исследования используют для прямого или косвенного обнаружения возбудителя т.е. для этиологической диагностики вирусных гепатитов, диагноз вирусного ГС ставит клиницист на основании совокупности клинико-эпидемиологических, физических, инструментальных и лабораторных данных. Арсенал методов лабораторной диагностики в рутинной практике достаточно широкий: для обнаружения антигенов и специфических антител к антигенам вируса используют ИФА и иммуноблот, для обнаружения РНК вируса применяют методы амплификации нуклеиновых кислот, из которых чаще используется ПЦР [1,5,6].

Основным скрининговым тестом в диагностике вирусного ГС является определение специфических антител методом ИФА. По данным клинических рекомендаций, диагностика хронического вирусного ГС основана на выявлении суммарных anti-HCV антител. Если обнаружены anti-HCV, по мнению ВОЗ, следует обязательно провести подтверждение обнаружением РНК ВГС [5]. В случае если анализ для определения РНК ВГС недоступен, допустимо провести тест для обнаружения HCVcoAg (p22) — этот антиген в сыворотке или плазме крови также является маркёром репликации ВГС [5,6].

Каждый из рекомендованных тестов имеет свои особенности и для массового скрининга используется преимущественно ИФА, позволяющий быстро, с ми-

нимальными затратами получить результат определения специфических антител к ВГС. Для лаборатории существуют и большие возможности выбора реагентов с учетом рекомендаций в соответствии с Приказом Минздрава РФ от 30 октября 2000 г. N 384. «О применении в практике здравоохранения иммуноферментных тест-систем для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (анти-ВГС) в сыворотке крови человека». Следует подчеркнуть, что в упомянутом приказе указаны реагенты с чувствительностью 0,05 нг/мл для детекции лишь HBs антигена и не упомянута чувствительность наборов реагентов для детекции антигена ВГС и антител к нему.

**Цель исследования:** сопоставление результатов применения наборов реагентов «Бест- анти-ВГС-подтверждающий тест» и «ДС-ИФА-анти-НСV-спектр GM» для определения специфических антител к вирусу гепатита С и выбора оптимального алгоритма работы.

## Материалы и методы

В исследование включен 91 образец сывороток крови, содержащих суммарные антитела (IgG и IgM) к ВГС, что составило 4,84% всех протестированных образцов наборами реагентов «Вектор ИФА ВГС скрин» (Вектор-Бест, Россия) и «МилаЛаб-ИФА- НCV» (Диагностические Системы, Россия). Далее проведены сопоставление результатов исследования названных образцов подтверждающими наборами реагентов также двух производителей «Бест-анти-ВГС-подтверждающий тест» (ВБ, Вектор-Бест, Россия) и «ДС-ИФА-анти-НСV-спектр GM» (ДС, Диагностические Системы, Россия). Согласно инструкции производителей, оценка результатов исследования на наличие антител к ВГС производилась следующим образом: оптическая плотность (ОП), измеряемая для каждого образца, сравнивалась с расчетной величиной ОП критической — средним значением суммы ОП отрицательного контроля (К) и коэффициента, определяемого производителем наборов. Внутрिलाбораторный контроль качества проводили в соответствии с рекомендациями производителя каждого из использованных наборов реагентов. Внешний контроль качества проводили в системе межлабораторных сличительных испытаний АСНП ЦВКК (ФСВОК), используя панель из 8 образцов. Исследования

выполняли в иммунохимических лабораториях «ЮНИ-ЛАБ» с использованием полуавтоматического ИФА-ридера Multiskan FS (USA).

Сыворотки, содержащие антитела, разделили на 2 группы. В первую группу вошли 30 образцов: 22 образца с большим содержанием антител (КП<sup>1</sup>) более 5,0) и панель из 8 образцов системы АСНП ЦВКК (ФСВОК). Во вторую группу включили 69 «положительных» сывороток с низким КП. Согласно алгоритму лабораторной диагностики гепатита С, для подтверждения положительного результата определяли антитела к индивидуальным белкам ВГС: структурным анти-core и сумму антител к неструктурным белкам вируса — анти-NS-антитела. Производители реагентов рекомендуют следующий алгоритм оценки результатов подтверждающих тестов: при наличии антител анти-core или анти-core и антител к неструктурным белкам вируса анти-NS-антител результат трактовать как положительный подтверждающий результат. Наличие только анти-NS-антител расценивать как неопределённый результат. ДС рекомендуют образцы с неопределёнными результатами дополнительно исследовать на наличие антител к отдельным неструктурным антигенам NS2, NS3, NS4. Другие исследователи рекомендуют результат считать положительным при выявлении АТ даже к одному из четырёх лабораторно определяемых белков ВГС [7].

В первой группе исследованных образцов совпадение результатов тестирования в скрининговых и подтверждающих тестах получены в 100% случаев наборами реагентов ДС и ВБ.

Наибольший интерес представляло тестирование сывороток, отобранных во вторую группу образцов с низкой ОП (низким содержанием антител). Во второй группе наблюдались различия в результатах подтверждающих тестов (таблица 1). Из 69 исследованных образцов в 15 случаях (21,7%) диагноз гепатита С не был подтвержден реагентами обоих производителей.

Таблица 1.

**Результаты обнаружения антител к структурным и неструктурным белкам ВГС в подтверждающих тестах**

| Варианты спектра антител | Бест-анти-ВГС-подтверждающий тест |            | ДС-ИФА-анти-НСV-спектр GM |            |
|--------------------------|-----------------------------------|------------|---------------------------|------------|
|                          | Core (абс-%)                      | NS (абс-%) | Core (абс-%)              | NS (абс-%) |
| Положительные            | 23 (33,3%)                        | 21 (30,4%) | 46 (66,6%)                | 38(55,1%)  |
| Неопределенные           |                                   | 14 (20,2%) |                           | 8(11.6%)   |
| Отрицательные            | 32 (46,4%)                        |            | 15 (21.7%)                |            |
| Всего                    | 69 (100%)                         |            |                           |            |

<sup>1</sup> КП — отношение оптической плотности пробы пациента к пороговому значению.

В 23 случаях (33,3%) применением наборов реагентов «Бест-анти-ВГС-подтверждающий тест» (ВБ) и «ДС-ИФА-анти-НСV-спектр ГМ» (ДС) было подтверждено наличие анти-сог антител. В 23 образцах положительный результат наличия анти-сог антител подтвержден при использовании «ДС-ИФА-анти-НСV-спектр ГМ» (ДС). Производителями рекомендовано образец, который дал положительную реакцию только с каким-либо NS-антигеном, считать сомнительным. Таким образом сомнительные результаты получены в 14 (20,2%) случаях тестирования ВБ и 8 (11,6%) случаях тестирования ДС.

## Обсуждение результатов

Первым возникает вопрос о целесообразности постановки подтверждающих тестов методом ИФА. Несмотря на существование «серонегативного окна» до появления антител и наличие серонегативных форм инфекции, подтверждающие тесты необходимы для уверенности лаборатории в полученном результате и подтверждении иммунологического статуса пациента. Не случайно, при получении первичного положительного результата наличия суммарных анти-ВГС антител в клинических рекомендациях предусмотрено подтверждение результата методом ПЦР или подтверждение наличия сог-антигена.

По данным литературы ложноположительные результаты могут наблюдаться у больных сифилисом, онкобольных, при вакцинации против гриппа, за счет кросс-реактивных реакций, преаналитических факторов (повторное центрифугирование и др.), наличии кардиоимплантов. У иммунокомпроментированных пациентов антитела могут отсутствовать или вырабатываться в небольших количествах [1,7,8]. Получение неопределённых результатов является самой больной точкой ИФА и причины этого до настоящего времени дискуссионны, поскольку попытки улучшить алгоритмы определения и референс-границы ограничиваются возможностями метода ИФА [9,10]. Ранее описаны противоречивые результаты обнаружения анти-NS-антител у беременных женщин, что было предположительно могло быть связано с неспецифическими реакциями антител с антигенами с точки зрения всплеска продукции перекрестно-реагирующих антител, защищающих плод от отторжения. Однако эта гипотеза не подтвердилась, что аргументировано отсутствием РНК вируса [11]. Антитела к NS-антигенам обнаружены с большой частотой у детей с коморбидной патологией — рецидивирующими заболеваниями респираторного тракта и аллергическими заболеваниями [12].

Очевидно, что чувствительность наборов реагентов связана с их конструктивными особенностями. Работая низкочувствительными реагентами мы рискуем получить ложноотрицательные результаты. В то же время, при высокой чувствительности наборов реагентов возможно получение ложноположительных результатов и дополнительные перестановки подтверждающих тестов. Метод ИФА может быть использован как для определения антигенов (прямые методы этиологической диагностики, присутствие патогена), так и для определения антител (косвенные методы этиологической диагностики патогена). Выявление специфических антител к возбудителю в нашем исследовании является непрямым методом этиологической диагностики возбудителя инфекции и имеет ряд объективных существенных, в том числе обнаруженных нами диагностических ограничений. Подобные тесты по мнению ВОЗ, подтверждают лишь иммунологический статус обследуемого и не могут использоваться для диагностики активной ВГС-инфекции в вирусемической стадии [5]. Возможно, выходом из ряда диагностических затруднений будет использование существующих наборов реагентов, позволяющих обнаружить как суммарные антитела, так и сог-антиген ВГС в одном тесте с применением ИФА, что становится доступным в настоящее время.

Обнаружение методом ИФА суммарных антител к ВГС — скрининговый тест, при сомнительных или положительных результатах которого рекомендовано использовать другие лабораторные методы — иммуноблот или ПЦР диагностику, что регламентировано актуальными клиническими рекомендациями. В свою очередь ПЦР-детекция РНК ВГС может быть ограничена рамками чувствительности методики. Однако, для обнаружения РНК ВГС существует большое количество наборов реагентов высокой чувствительности (15 МЕ/мл), в т.ч. отечественного производства. Возможно, применение ПЦР в некоторых клинко-диагностических лабораториях может быть ограничено отсутствием специального оборудования. Дополнительное оборудование также обычно требуется для специального выделения нуклеиновых кислот с целью достижения высокой чувствительности, однако в период пандемии ПЦР-лаборатории были достаточно хорошо оборудованы во многих медицинских учреждениях и широко используются в диагностике инфекций.

Таким образом, ИФА для поиска антител к ВГС в подавляющем большинстве случаев является простой, доступной, рутинной методикой. В ряде случаев, несмотря на наличие высокоспецифичных подтверждающих тестов, получить однозначный результат анализа не представляется возможным по объективным причинам

## Заключение

Несмотря на наличие большого количества наборов реагентов, использующих метод ИФА, до настоящего времени существуют объективные трудности в лабораторной диагностике вирусного гепатита С.

Данные тестирования образцов сывороток пациентов с высоким содержанием антител к вирусу гепатита с помощью российских наборов реагентов «Вектор-Бест» (ВБ) и «Диагностические системы» (ДС), сопоставимы в 100% случаев.

Получение сомнительных результатов ИФА в диагностике вирусного гепатита С могут быть обусловлены низким содержанием анти-ВГС антител и объективной характеристикой непрямого характера теста для детекции возбудителя, что требует подтверждения с помощью дополнительных лабораторных тестов: обнаружения сог-антигена, иммуноблота, ПЦР.

## Список литературы

1. Вирусные гепатиты в Российской Федерации/ под ред. Акимкина В.Г., Тотоляна А.А. – СПб.: ФБУН НИИЭМ им. Пастера, 2024. – 196 с.
2. <https://baikal24.ru/text/12-03-2025/044> (дата обращения 1.07.2025)
3. Базыкина Е.А., Троценко О.Е., Котова В.О. Заболеваемость ВИЧ-инфекцией, сочетанной с хроническими вирусными гепатитами, на дальнем востоке РОССИИ / Вирусные гепатиты – достижения и новые перспективы: сборник тезисов XIV Всероссийской конференции с международным участием (Москва, 12–13 сентября 2024 года) / под ред. академика РАН Акимкина В.Г.. М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2024. – с. 23–24
4. Заболеваемость хроническими вирусными гепатитами и анализ генетического разнообразия вирусов гепатитов В и С среди населения Хабаровска. /Котова В.О., Базыкина Е.А., Балахонцева Л.А., Троценко О.Е., Кузнецова А.В. // ЖМЭИ. – 2025; 102(1) 91. – DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-578>

5. Руководство по тестированию на гепатиты В и С [Guidelines on hepatitis B and C testing]. – ВОЗ. – 2018. – 268 с.

6. Ивашкин В.Т. и соавт. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени, Российской гастроэнтерологической ассоциации, Национального научного общества инфекционистов по диагностике и лечению хронического вирусного гепатита С. – Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии – 2023. – № 1. – С. 84–124 <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2023-33-1-84-124>

7. Лабораторная диагностика инфекционных болезней/Под редакцией Акимкина В.Г., Твороговой М.Г. – М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, 2020. – 480 с.

8. Шальнова Е.Е., Бочкова Г.Б., Загрядская Ю.Е. Ложноположительные результаты серологической диагностики гепатита С – одна из актуальных проблем практического здравоохранения. // Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний. – 2018. – № 1. – С. 26–37.

9. Попов В.Г., Винник Ю.Ю., Петров А.А., Шульмин А.В. Лабораторная диагностика вирусного гепатита С на современном этапе // Вестник ВГМУ. – 2023. – № 6. – С. 60–68. DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2023.6.60>

10. Потапова А.А., Редченко Е.Б., Науменко В.А. Лабораторная диагностика: алгоритм исследования «проблемных» образцов при массовом скрининге сывороток крови на антитела к вирусу гепатита С // Мир вирусных гепатитов – 2008. – № 4. – С. 8–11.

11. Ведин Л.А., Криницкая Э.В., Казарина Н.Е., Ястребова О.Н. Ложноположительные результаты выявления серологических маркеров гепатита С и процесс гестации: существует ли связь? / ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск. // «Новости «Вектор-Бест» N1(55) 2010.

12. Евплова И.А., Сенягина Н.Е., Ершов В.И. Сравнительная клиничко-эпидемиологическая характеристика детей с неопределенными результатами и больных хроническим гепатитом С // Медицинский альманах. – 2010. – № 2. – С. 247–251.