

ANTI-HCV POZİTİF SERUM ÖRNEKLERİNDE VİREMİ ORANLARININ VE ANTI-HCV DÜZEYLERİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI*

Işıl FİDAN¹, Tuğba ÇUHADAR¹, Zeynep KOÇ¹, Gamze Gizem DUMAN¹, Ayça ÜNAL¹, Resul KARAKUŞ²

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Dünya nüfusunun yaklaşık %3'ünün Hepatit C virüsü (HCV) ile infekte olduğu tahmin edilmektedir. HCV infeksiyonunun tanı ve takibi, serolojik yöntemlerle anti-HCV antikorlarının taranması ve moleküler yöntemlerle HCV-RNA'nın tespitini içerir. HCV antikor testleri, kronik HCV infeksiyonlu hastalarda çok duyarlı ve özgül iken, aktif HCV infeksiyonu ve geçirilmiş infeksiyonu ayırmada yetersiz kalmaktadır. Moleküler yöntemler, aktif HCV replikasyonunu göstermede kullanılan altın standart yöntemler olarak düşünülmektedir. Çalışmamızda, anti-HCV'si pozitif serum örneklerinde HCV-RNA pozitiflik oranlarının ve HCV-RNA pozitifliğinin Anti-HCV düzeyleri (signal sample/cut-off =S/Co) ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Serum örneklerinde anti-HCV, ELISA (Elecsys Anti-HCV II assay, Roche) yöntemi ile incelenmiştir. Anti-HCV pozitif 297 örnekte HCV-RNA araştırılmıştır. HCV-RNA düzeyleri kantitatif gerçek zamanlı PCR (COBAS Ampliprep/COBAS TaqMan HCV, Roche) yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmamızda, 297 Anti-HCV pozitif serum örneğinin 110'unda (% 37) viremi varlığını doğrulayan HCV-RNA pozitifliği belirlenmiştir. Viremik ve non-viremik serum örnekleri arasında anti-HCV düzeylerinde (S/Co) anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Sonuç olarak, Anti-HCV'nin yüksek S/Co değerlerinin HCV-RNA varlığı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Böylece, HCV-RNA testi yapılmadan önce anti-HCV S/Co değerlerinin bilinmesi, hekimin viremi varlığını önceden tahmin etmesini sağlayacak ve HCV-RNA testlerinin yüksek maliyeti azalabilecektir.

Anahtar sözcükler: Anti-HCV, HCV-RNA, Hepatit C virüsü, viremi

SUMMARY

Investigation of Viremia Rates and Its Correlation With Anti-HCV Levels in Anti-HCV Positive Serum Samples

It is estimated that about 3 % of the world's population are infected with Hepatitis C virus (HCV). The diagnosis and follow-up of HCV infection involve screening for anti-HCV antibodies by serological methods and the detection of HCV-RNA by molecular techniques. HCV antibody assays are highly sensitive and specific in patients with chronic HCV infection, where as they failed to distinguish active HCV infection and past infection. Molecular methods are considered the 'gold standard' for detecting active HCV replication. In our study, it is aimed to determine HCV-RNA positivity in Anti-HCV positive serum samples and its correlation with anti-HCV levels (signal sample/cut-off =S/Co). Serum samples were assayed for anti-HCV by ELISA method (Elecsys Anti-HCV II assay, Roche). A total of 297 anti-HCV positive samples were tested for HCV-RNA. The level of HCV-RNA was measured by quantitative real-time PCR (COBAS Ampliprep / COBAS TaqMan HCV, Roche). In our study, we found HCV-RNA positivity, which confirms the presence of HCV viremia, in 110 (37 %) of 297 anti-HCV positive serum samples. There were significant differences in anti-HCV levels (S/Co) between viremic and non-viremic serum samples. As a result, it is determined that high S/Co values of anti-HCV related to the presence of HCV-RNA. So, knowing about the S/Co values of anti-HCV before performing HCV-RNA testing might allow the clinician to predict presence of viremia and decrease the highcost of HCV-RNA testing.

Keywords: Anti-HCV, HCV-RNA, Hepatitis C viruses, viremia

İletişim adresi: Işıl Fidan. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

Tel: (0312) 202 46 26

e-posta: isilfidan@yahoo.com

Alındığı tarih: 26.01.2017, Yayına kabul: 29.03.2017

*XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur. P.422 (16-20 Kasım 2016, Antalya)

GİRİŞ

Dünya nüfusunun yaklaşık % 3'ünün Hepatit C virüsü (HCV) taşıdığı, her yıl 3-4 milyon yeni olgunun ortaya çıktığı tahmin edilmektedir^(3,19). İnfekte olguların % 75-85'i kronikleşmekte ve kronik olarak infekte kişilerin üçte biri karaciğer sirozu ve hepatosellüler kanser oluşma riski ile karşı karşıya kalmaktadır⁽¹⁵⁾.

HCV enfeksiyonunun tanı ve takibinde ilk aşamada, serolojik yöntemlerle kan örneklerinde HCV antikorlarının belirlenmesi sık kullanılan yöntemlerdir^(4,13,17). HCV antikorlarının tespitinde en sık kullanılan serolojik testler, ELISA (linked immunosorbent assay) ve CIA (chemiluminescence immunoassay) testleridir⁽¹³⁾. Serolojik testlerde, örneğin absorbansına göre elde edilen sinyalin (signal sample=S), teste ait eşik değerine (Cut-off=Co) olan oranına (signal sample/cut-off (S/Co)= cut-off index (COI)) göre anti-HCV düzeyleri ve sonuçları rapor edilir⁽¹³⁾.

Serolojik testler, aktif veya geçirilmiş HCV enfeksiyonunu ayırt etmede yetersizdir. Pozitif anti-HCV sonucu; aktif viremi, geçirilmiş enfeksiyon veya yanlış pozitifliği gösterebilir⁽¹³⁾. Anti-HCV ELISA sonucunu doğrulamak için kullanılan "Recombinant Immunoblot Assay" (RIBA) testleri viremi varlığını yansıtmayabilir. Dolayısıyla, anti-HCV pozitifliği; enfeksiyonun akut veya kronik olması, viremi varlığı ve prognozu hakkında güvenilir bilgiler vermemektedir⁽¹¹⁾. Bu nedenle, anti-HCV antikorları tespit edildiğinde aktif enfeksiyonu veya enfeksiyonun temizlendiğini tespit etmek için tamamlayıcı testlere gereksinim vardır⁽¹⁸⁾. HCV enfeksiyonu tanısında serolojik testler dışında, moleküler yöntemlerle HCV-RNA varlığının belirlenmesi ve HCV

genotip tayini yer almaktadır. HCV-RNA testleri enfeksiyonun tanısında, tedavi seçiminde ve tedavinin takibinde kullanılmaktadır⁽¹³⁾. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler yöntemlerle HCV-RNA tayini, anti-HCV pozitifliğini doğrulamada ve viremi varlığını göstermede kullanılan altın standart yöntemlerdir^(7,15). Moleküler yöntemlerle kantitatif sonuç elde edilmesi tedavinin takibi açısından da önem taşımaktadır. Anti-HCV pozitif hastalarda viremiyi doğrulamak için kalitatif veya kantitatif HCV-RNA testleri kullanılmaktadır⁽¹³⁾. Ayrıca, CIA ile elde edilen yüksek antikor düzeylerinin HCV enfeksiyonlu hastalarda vireminin göstergesi olacağı ve bu yüksek antikor düzeylerinin pozitif bir HCV-RNA sonucunu gösterebileceği belirtilmektedir⁽⁸⁾.

Centers for Disease Control and Prevention'ın (CDC) anti-HCV testi ve yorumu ile ilgili kılavuzunda, anti-HCV'nin yüksek S/Co oranları ile HCV enfeksiyonu arasında bir korelasyon olduğu belirtilmektedir^(1,10). CDC, % 95 oranında gerçek anti-HCV pozitifliğini belirten S/Co değerlerini farklı testler için en düşük ≥ 3.8 , en yüksek ≥ 11 olarak belirtmiştir⁽⁵⁾.

Çalışmamızda, anti-HCV'si pozitif olarak saptanan serum örneklerinde HCV-RNA pozitiflik oranlarının ve HCV-RNA pozitifliğinin Anti-HCV düzeyleri (S/Co) ile ilişkisinin tespit edilmesi ve böylece anti-HCV düzeylerinin daha sonra yapılacak testlerin belirlenmesi açısından bir yol gösterici olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta grubu

Çalışmamızda, anti-HCV pozitif örnekler retrospektif olarak değerlendiril-

miştir. Buna göre, anti-HCV pozitif 297 örnek çalışma kapsamına alınmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde Anti-HCV ve HCV-RNA'nın birlikte çalışılmış olduğu serum örneklerine ait veriler dikkate alınmıştır.

Anti-HCV tayini

Anti-HCV varlığı serum örneklerinde "elec-trochemiluminescence immunoassay" (ECLIA) yöntemi (Elecsys Anti-HCV II assay, Roche) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihaz tarafından otomatik olarak hesaplanan cut-off (Co) değeri dikkate alınarak, örnekler için sonuçlar S/Co olarak belirlenmiştir.

HCV-RNA varlığı

Plazma örneklerinde HCV-RNA kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-time PCR) ile tespit edilmiştir. HCV-RNA varlığını belirlemek için COBAS Ampliprep/ COBAS TaqMan HCV testi kullanılmıştır (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, ABD). HCV RNA'nın cDNA'ya "reverse" transkripsiyonu sonrası HCV genomunun yüksek oranda korunmuş 5'-UTR bölgesine özgü primerler kullanılarak cDNA çoğaltılması gerçekleştirilmiştir. HCV viral RNA miktarının tespiti, HCV QS (kantitasyon standardı) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnek hazırlanmasında COBAS Ampliprep sistemi, sonuçların analizi aşamasında COBAS Taqman 48 analizör kullanılarak, çalışmaların firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Çoğaltılmış hedef nükleik asidin tespiti için, farklı floresan boyalarla işaretlenmiş HCV ve HCV Quantitative Standard (QS) spesifik oligonükleotid problemleri kullanılarak, floresan ışımaya miktarındaki artışla PCR ürünlerinin varlığı belirlenmiştir. Testin dinamik aralığı 15 IU/ml, lineer aralık 15- 1x10⁸ IU/ml'dir.

İstatistiksel analiz

Örneklere ait değişkenlerin karşılaştırılmasında, ki-kare ve Mann-Whitney testi kullanılmıştır. p<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda 297 anti-HCV pozitif serum örneğinin 110'unda (% 37) viremi varlığını doğrulayan HCV-RNA pozitifliği belirlenmiştir.

Çalışmamızda Anti-HCV düzeyleri (S/Co) ile HCV-RNA negatif ve pozitifliği arasındaki ilişki incelendiğinde; HCV-RNA negatif grupta 83 örnekte Anti-HCV'nin 1.01-3.00 S/Co değerleri arasında olduğu tespit edilirken, HCV-RNA pozitif grupta bu aralıkta hiçbir örnek tespit edilmemiştir. Anti-HCV'nin 3.01-20.00 S/Co değerleri arasında HCV-RNA negatif grupta 87, HCV-RNA pozitif grupta 21 örnek belirlenmiştir. Anti-HCV'nin ≥ 20.00 S/Co değerleri ise, HCV-RNA negatif grupta 17, HCV-RNA pozitif grupta 89 örnek olarak tespit edilmiştir (Tablo). Çalışmamızda, Anti-HCV S/Co < 3 olan hiçbir örnekte vireminin göstergesi olan HCV RNA pozitifliği tespit edilmemiştir.

Anti-HCV S/Co değerlerinin artışı ile HCV-RNA pozitifliği açısından anlamlı bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Çalışmamızda, Anti-HCV S/Co değerlerinin artışı ile HCV-RNA viral yükte artış

Tablo. Anti-HCV düzeyleri ile (S/Co) HCV-RNA negatif ve pozitiflik oranları [n (%)].

Anti-HCV (S/Co)	HCV-RNA negatif	HCV-RNA pozitif
1.01-3.00	83 (100)	0
3.01-20.00	87 (80.6)	21
≥ 20.00	17 (16)	89

olduğu belirlenmiş ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

HCV enfeksiyonu kronikleşme oranının yüksek olması nedeniyle önemli bir sağlık problemidir. HCV enfeksiyonu tanısında kullanılan anti-HCV varlığını gösteren testlerde özellikle düşük S/Co oranları olduğunda doğrulama testlerinin gerekliliği vurgulanmaktadır⁽¹⁾. Aminoasit sekansı ve testte kullanılan HCV antijeninin saflık durumu anti-HCV testlerinin duyarlılık ve özgüllüğünü büyük oranda etkilemektedir⁽¹⁴⁾. Üçüncü jenerasyon anti-HCV antikor testleri, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmasına rağmen, özellikle düşük risk grubu kişilerde yanlış pozitif sonuçlar hala önemli sorun oluşturmaktadır^(2,14). Bu nedenle rutin tanıda moleküler yöntemler gibi ek bir test ile anti-HCV pozitifliklerinin mutlaka doğrulanmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Çalışmamızda, Anti-HCV pozitif örneklerde "Gerçek zamanlı" PCR yöntemi ile HCV-RNA pozitiflik oranları incelenmiş ve anti-HCV düzeylerinin HCV-RNA pozitifliği ile olan ilişkisi ve S/Co oranlarının önceden HCV-RNA pozitifliği için bir fikir verip veremeyeceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, ECLIA yöntemi ile anti-HCV'si pozitif olan 297 serum örneğinin 110'unda (% 37) "Gerçek zamanlı" PCR yöntemi ile HCV-RNA pozitifliği tespit edilmiştir. Anti-HCV düzeylerinin (S/Co) artışı ile viremi varlığını gösteren HCV-RNA pozitiflik oranları arasında korelasyon tespit edilmiştir. Ancak, Anti-HCV düzeylerinin

de artış ile HCV viral yük artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Çalışmamızda, Anti-HCV S/Co düzeylerinin 3.0'un altında olduğu örneklerin hiçbirinde HCV-RNA pozitifliği tespit edilmemiştir. HCV-RNA pozitif gruptaki örneklerde tespit edilen en düşük anti-HCV düzeyi 10.19 S/Co olarak belirlenmiştir.

Gökahmetoğulları ve ark.⁽¹¹⁾, anti-HCV'si pozitif olarak bulunmuş 189 hasta serum örneğinin 69'unda (% 36.5) HCV-RNA'yı pozitif bulurken, 120 örnekte (% 63.5) negatif olarak tespit etmişlerdir. Baha ve ark.⁽³⁾ Fas'ta yaptıkları çalışmada, 195 anti-HCV pozitif hastanın % 70.9'unda HCV-RNA pozitifliği belirlemişler ve bölgelerinin HCV enfeksiyonu açısından ara endemik bölge olduğunu belirtmişlerdir. Dağlar ve ark.⁽⁹⁾ 201 hemodiyaliz hastasının 37'sinde (% 18.4) Anti-HCV, 24'ünde (% 12) HCV-RNA pozitifliği belirlemişler ve 3 hastada (% 12.5) Anti-HCV negatif iken, HCV-RNA'yı pozitif tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Lee ve ark.⁽¹⁶⁾ EIA ile anti-HCV'si pozitif olarak bulunan 490 örneğin 228'inde (% 46.5) HCV-RNA pozitifliği belirlerken, 262 hastada (% 53.5) negatif olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, HCV-RNA pozitif grubun % 99.1'inde, HCV-RNA negatif grubun % 19.1'inde anti-HCV IgG indeks değerinin 10'un üzerinde olduğunu tespit etmişlerdir. Bu nedenle, Anti-HCV'nin yüksek indeks değeri, yüksek ALT ve düşük albumin düzeylerinin akut HCV enfeksiyonu ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Çeşitli çalışmalarda HCV enfeksiyonunun tanısında yüksek anti-HCV S/Co değerlerinin prediktif bir veri olabileceği bildirilmesine rağmen, tek başına dikkate alınmaması gerektiği, negatif HCV-RNA durumunda da yüksek S/Co oranlarının görülebildiği bildirilmiştir^(13,16). Çalışmamız-

da elde edilen sonuçlara göre, HCV-RNA pozitif örneklerde en düşük anti-HCV düzeyinin 10'unun üzerinde olması, anti-HCV'nin yüksek S/Co oranlarının HCV infeksiyonunu ve viremi varlığını önceden tahmin etmede önemli bir veri olduğunu düşündürmektedir. Ancak, çalışmamızda anti-HCV S/Co değerleri 20 ve üstü olan 17 örnekte HCV-RNA'nın negatif bulunması, yüksek S/Co değerlerinin HCV infeksiyonunu belirlemede her zaman tek başına yeterli olamayabileceğini de gösterebilir. Anti-HCV ile elde edilen özellikle yüksek pozitif değerlerin HCV-RNA ile negatif bulunması durumunda, anti-HCV antikör testinde yanlış pozitiflik veya geçirilmiş bir HCV infeksiyonu düşünülebilir. Ayrıca, kişide aralıklı olarak viremi görülebileceği ihtimali göz önünde bulundurularak, şu an geçirilmekte olan bir HCV infeksiyonu olabileceği de düşünülmelidir. Dolayısıyla, böyle durumlarda tek bir negatif HCV-RNA sonucunun infeksiyon durumunu belirlemede yeterli olamayacağı, tekrarının yapılması gerektiği belirtilmektedir⁽⁶⁾.

İnci ve ark.⁽¹²⁾ 64 anti-HCV pozitif serum örneğinin 18'inde (% 28) HCV-RNA'yı pozitif olarak belirlemişler, anti-HCV S/Co değeri 1-5 olarak saptanan 28 hasta örneğinin hiçbirinde HCV-RNA pozitifliği saptamamışlardır. Düşük pozitifliklerde yanlış pozitif oranının yüksek olabileceğini ve konuyla ilgili daha fazla sayıda hasta ile yapılmış çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir.

Zhang ve ark.⁽¹⁹⁾ yaptıkları çalışmada, CIA ile tespit edilen S/Co oranının <20.0 olduğu durumlarda nonviremik hepatit C ile nonhepatit C'yi ayırmak için HCV-RNA doğrulama testi önermişlerdir.

Contreras ve ark.⁽⁸⁾ CIA ile belirlenen ≥ 20 S/Co oranlarının kan donörlerinde vire-

mik ve nonviremik hastayı ayırmada önemli bir serolojik gösterge olduğunu ve hepatit C infeksiyonu tanısını doğrulamada HCV-RNA'nın kullanımına yol göstereceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında yüksek antikör düzeylerinin viremi için duyarlılığının % 96.6, özgüllüğünün % 93.8 olduğunu bildirmişlerdir.

EIA testleri için firmalar, S/Co ≥ 1.0 olan örneklerin pozitif olarak kabul edilmesi gerektiğini bildirmektedir. Ancak çalışmamızda görüldüğü gibi, 3.0'ün altındaki S/Co değerlerinde HCV-RNA açısından pozitiflik tespit edilmemiş ayrıca HCV-RNA pozitif örneklerde tespit edilen en düşük anti-HCV düzeyi 10.19 olarak belirlenmiştir. Bu nedenle, bu değerler göz önüne alınarak hasta sonuçları verilirken 1.0-3.0 S/Co değerlerinin pozitif olarak değil de şüpheli aralık olarak değerlendirilip, EIA testinin tekrarının istenebileceği, ancak bunun üzerindeki değerlerin viremi açısından değerlendirilmek üzere moleküler testlere yönlendirilebileceği düşünülmektedir. Bu tür uygulamalar, laboratuvarlarda maliyetin azaltılması ve tanının daha kısa sürede konulup, tedavinin hızla başlanması açısından önemli artılar sağlayabilecektir.

Çalışmamızda, HCV-RNA pozitif örneklerde bulunan en düşük anti-HCV S/Co değerlerinin 10'un üzerinde olması, şüpheli aralıkta verilecek değerlerin yeniden belirlenmesi konusunda yeni seçenekler sunabilir. Ama yine de bunun için daha çok sayıda örneğin kullanıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, çalışmamızda anti-HCV pozitif serum örneklerinde yüksek oranda HCV-RNA pozitifliği tespit edilmiş ve anti-HCV S/Co değerlerinin viremi varlığını önceden tahmin etmede faydalı bir veri olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, gerçek kro-

nik hepatit C insidansının belirlenmesinin HCV-RNA testlerinin uygulanması ile sağlanabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızın verilerinin, rutin laboratuvarlarda yapılan anti-HCV antikor testlerinde elde edilen anti-HCV pozitif sonuçlara HCV-RNA önerilmesi aşamasında dikkate alınacak anti-HCV S/Co değerlerinin daha doğru olarak belirlenmesi konusunda yararlı bilgiler verebileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention, *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-3):1-13.
2. Ansari MHK, Omrani MD. Evaluation of Diagnostic Value of Elisa Method (EIA) and PCR in Diagnosis of Hepatitis C Virus In Hemodialysis Patients, *Hepatitis Monthly* 2006;6:19-23.
3. Baha W, Foulous A, Dersi Net al. Prevalence and risk factors of hepatitis B and C virus infections among the general population and blood donors in Morocco, *BMC Public Health* 2013;18:50.
<https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-50>
4. Cartwright EJ, Rentsch C, Rimland D. Hepatitis C virus screening practices and seropositivity among US veterans born during 1945-1965, *BMC Res Notes* 2014;14:449.
<https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-449>
5. Centers for Disease Control and Prevention, Guidelines for Laboratory Testing and result reporting, Signal to cut-off ratios for commercially available assays, <https://www.cdc.gov/hepatitis/hcv/labtesting.htm>
6. Centers for Disease Control and Prevention, Reference for Interpretation of Hepatitis C Virus (HCV) Test Results, www.cdc.gov/hepatitis/Resources/OrderPubs/HealthProf/Ref-IntHCV_TestResults_Eng.pdf
7. Cicioğlu Arıdoğan B, Aynali A, Kaya S, Önal S, Sesli Çetin E. Comparison of HCV core antigen and anti-HCV with HCV RNA results, *Afr Health Sci* 2014;14(4):816-20.
8. Contreras AM, Ochoa-Jiménez RJ, Celis A et al. High antibody level: an accurate serologic marker of viremia in asymptomatic people with hepatitis C infection, *Transfusion* 2010;50(6):1335-43.
<https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02571.x>
9. Dağlar D, Ergani A, Demirbakan H ve ark. Hemodiyaliz hastalarında Hepatit B ve Hepatit C virüs infeksiyonlarının serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması, *Mikrobiyol Bul* 2014;48(1):143-50.
10. De Maria A, Bean CL, Parker MM et al. Centers for disease control and prevention, testing for HCV infection: an update of guidance for clinicians and laboratorians, *Morb Mortal Wkly Rep* 2013;62(18):362-5.
11. Gökahmetoğlu S, Aygen B, Gürsoy Ş, Artan C, Özbil Y, Tapıroğlu T. Anti-HCV pozitif hastalarda HCV-RNA varlığının değerlendirilmesi, *Viral Hepatit Derg* 2002;8(1):444-6.
12. İnci A, Erus S. Anti HCV pozitif hastalarda HCV RNA sonuçlarının değerlendirilmesi, *J Clin Anal Med* 2015;6:483-5.
13. Kermani FR, Sharifi Z, Ferdowsian F, Paz Z, Tavassoli F. The usefulness of anti-HCV signal to cut-off ratio in predicting viremia in anti-HCV in patients with Hepatitis C Virus infection, *Jundishapur J Microbiol* 2015; 18(4):e17841.
14. Kesli R. Evaluation of assay methods and false positive results in the laboratory diagnosis of hepatitis C virus infection, *Arch Clin Microbiol* 2011;2:1-4.
15. Kopilovic B, Poljak M, Seme K, Klavs I. Hepatitis C virus infection among pregnant women in Slovenia: study on 31,849 samples obtained in four screening rounds during 1999, 2003, 2009 and 2013, *Euro Surveill* 2015;20(22):21144.
<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2015.20.22.21144>
16. Lee CH, Shin HP, Lee JI et al. Predicting factors of present hepatitis C virus infection among patients positive for the hepatitis C virus antibody, *Clin Mol Hepatol* 2013;19(4):376-81.
<https://doi.org/10.3350/cmh.2013.19.4.376>

17. Medicia MC, Chezzi C, De Conto F et al. Evolving strategy for HCV testing in an Italian tertiary care hospital, *J Clin Virol* 2016;77:92-8.
<https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.02.017>
18. Rondahl E, Gruber M, Joelsson S et al. The risk of HCV RNA contamination in serology screening instruments with a fixed needle for sample transfer, *Clin Virol* 2014;60(2):172-3.
<https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.03.011>
19. Zhang K, Wang L, Lin G, Li J. Is Anti-Hepatitis C Virus antibody level an appropriate marker to preclude the need for supplemental testing? *Intervirology* 2015;58(5): 310-7.
<https://doi.org/10.1159/000441474>