

Hepatit C Serolojik Tanısında Anti-HCV Antikoru Düşük Pozitif ve Sınır Değerlerin İki Farklı Enzim İmmunassay Yöntemiyle Değerlendirilmesi[§]

Evaluation of Low Positive and Borderline Values of Anti-HCV Antibody in the Serological Diagnosis of Hepatitis C Using Two Different Enzyme Immunoassay Methods

Mehmet Soylu*^{ORCID}, Ayça Aydın Uysal*^{ORCID}, Aysin Zeytinoğlu**^{ORCID}

* Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

** İzmir Ekonomi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Atf/Cite as: Soylu M, Aydın Uysal A, Zeytinoğlu A. Hepatit C serolojik tanısında anti-HCV antikoru düşük pozitif ve sınır değerlerin iki farklı enzim immunassay yöntemiyle değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derg. 2024;54(3):176-181.

Öz

Amaç: Hepatit C virüsü (HCV) akut ve kronik hepatit tablolarında rol oynayan bir viral etkindir. HCV enfeksiyonunun tanısında en sık başvurulan yöntemler anti-HCV antikorlarının saptanması, alanin transaminaz düzeylerinin (ALT) ölçülmesi ve HCV-RNA pozitifliği değerlendirilmesidir. Bu çalışmada kanda iki farklı enzim immünoassay tabanlı test olan enzim bağlı floresan test (ELFA) ve kemilüminesans immün assay (CLIA) yöntemlerinin en az birinde sınır değer ve zayıf pozitiflik olarak değerlendirilen hastaların HCV antikor indeks değerleri ile olguların ALT ve HCV-RNA sonuçları karşılaştırılmıştır.

Yöntem: Ekim 2018-Kasım 2019 tarihleri arasında hastanemize başvuran 59 hastanın serum örneklerinin CLIA sistemindeki sinyal/cut-off (S/CO) ve ELFA sistemindeki Test Value (TV) değerlerine göre zayıf pozitif ve sınır değer sonuçlar çalışmaya dahil edildi.

Bulgular: Serum örneklerinden elde edilen HCV antikorları için S/CO ve TV ortalamaları; ELFA testi için 2.78 TV, CLIA testi için ortalama 2.32 S/CO olarak saptandı. Tüm serum örneklerinin ALT düzeyi ortalaması 28.7 U/L olarak saptandı. ELFA testi ile negatif sonuç verilen 17 hastanın (11 Kadın-6 Erkek, yaş ortalamaları: 42.2) serum örneklerinde CLIA testi ile zayıf pozitif sonuç elde edildi ve ELFA testi ortalaması 0.24 TV, CLIA testi ortalaması 1.74 S/CO olarak saptandı. ELFA testinde sınır değer olguların ortalaması 0.82 TV; aynı grupta CLIA ortalaması 1.97 S/CO olarak saptandı.

Sonuç: Bir sistemle elde edilen HCV antikoru sonuçlarının; zayıf pozitif ve sınır değer sonuçların olanak varsa farklı bir sistemle tekrarı ve HCV-RNA testi ile doğrulanması önerilmekle birlikte pozitiflik için baz alınan "1 S/CO" ve "1 TV" değerlerinin daha yüksek seviyelere çekilmesinin ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Hepatit C, Enzim immünoassay, Polimeraz zincir reaksiyonu

ABSTRACT

Objective: Hepatitis C virus (HCV) is the leading cause of acute and chronic hepatitis. Diagnosis primarily relies on detecting anti-HCV antibodies, measuring alanine transaminase (ALT) levels, and evaluating HCV-RNA positivity. This study focused on patients with borderline or weakly positive results in two enzyme immunoassay-based blood tests: enzyme-linked fluorescence assay (ELFA) and chemiluminescent immunoassay (CLIA). It compared their anti-HCV antibody index values against their ALT and HCV-RNA outcomes.

Methods: The research included serum samples from 59 patients, collected between October 2018 and November 2019, evaluated using the Signal/Cut-off (S/CO) values in the CLIA system and the Test Value (TV) values in the ELFA system.

Results: The mean S/CO and TV values for HCV antibodies obtained from serum samples were determined as 2.78TV for ELFA test and 2.32 S/CO for CLIA test. Mean ALT level of all serum samples was determined as 28.7U/L. Weak positive results were obtained with CLIA in serum samples of 17 patients (11 Female-6 Male, mean age: 42.2) who had negative results with ELFA, and mean ELFA value was 0.24 TV, and the mean CLIA value was 1.74 S/CO. The mean of borderline cases in ELFA was 0.82TV; mean CLIA was 1.97 S/CO in same group.

Conclusion: The study underscores the importance of validating HCV antibody results obtained from one assay with another system, preferably alongside HCV-RNA testing, and suggests revising the "1 S/CO" and "1 TV" thresholds for positivity in future research to ensure accuracy in diagnosis.

Keywords: Hepatitis C, Enzyme immunoassay, Polymerase chain reaction

Alındığı tarih / Received:
21.09.2023 / 21.September.2023

Kabul tarihi / Accepted:
02.05.2024 / 02.May.2024

Yayın tarihi / Publication date:
20.09.2024 / 20.September.2024

ORCID Kayıtları

M. Soylu 0000-0002-9145-1506
A. Aydın Uysal 0000-0003-0192-7126
A. Zeytinoğlu 0000-0003-4174-9539

✉ mehmet.soylu@ege.edu.tr

§ Çalışma poster sunum olarak 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi'nde (20-24 Ekim 2021) online olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Hepatit C (HCV) virüsü akut ve kronik hepatit tablolarında rol oynayan bir viral etkindir. HCV; *Flaviviridae* ailesinin *Hepacivirus* genusunda yer alan, zarflı, pozitif polariteye sahip ve tek iplikli bir RNA virüsüdür⁽¹⁾. Global olarak HCV enfeksiyonu prevalansı %3 olarak belirtilmekle birlikte dünya genelinde yaklaşık 184 milyon olgunun HCV ile enfekte olduğu bildirilmiştir^(2,3). HCV için en sık bulaş yolları, damar içi uyuşturucunun ortak iğne ile kullanımı, transfüzyon, hemodiyaliz, büyük cerrahi girişim, uzun süreli onkoloji veya hematoloji kliniğinde yatış yapılması olarak gösterilmiştir⁽⁴⁾. HCV ile enfekte olguların %85'i kronik enfeksiyonlar ile seyir gösterir, kronik enfeksiyonlu olguların %15-30'unda siroz gelişmekte ve yıllık yüzbinlerce olguda hepatoselüler karsinom gelişimi söz konusu olmaktadır⁽⁵⁾. Günümüzde HCV enfeksiyonunun tanısında en sık başvurulan yöntemler anti-HCV antikorlarının saptanması, alanin transaminaz düzeylerinin (ALT) ölçülmesi ve HCV-RNA pozitifliğinin değerlendirilmesidir⁽⁶⁾. Ayrıca yakın döneme kadar RIBA (Rekombinant immünblot assay) Anti-HCV pozitifliklerinin doğrulanmasında; tanı testlerinin önemli bir bileşeni olsa da, pratik zorluklar ve yeni test algoritmalarının geliştirilmesi nedeniyle rolü azalmıştır⁽⁷⁾. Çeşitli çalışmalarda Anti-HCV değerlendirmelerinde yüksek sinyal/cut-off değerlerine sahip olguların HCV-RNA testlerindeki pozitifliklerle daha yüksek uyum göstermekle birlikte düşük sinyal/cut-off değerlerinde farklı sistemlerde farklı sonuçlar alınabileceği gösterilmiştir⁽⁸⁾. Bu çalışmada iki farklı enzim immünoassay yöntemi olan; enzim bağlı floresan test (ELFA) ve kemilüminesans immün assay (CLIA) yöntemlerinin en az birinde sınır değer ve düşük pozitiflik olarak saptanan hastaların, HCV antikor indeks değerleri ile olguların ALT ve HCV-RNA sonuçları karşılaştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Ege Üniversitesi, Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.09.2023 tarih ve 23-9T/49 sayı) onaylanmıştır.

Bu çalışmada Ekim 2018-Kasım 2019 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine

başvuran yaş ortalamaları 47.5 (min=8, max=87) olan 59 hastanın (31 kadın, 28 erkek) serumlarında rutin çalışılan Alinity Anti-HCV (Abbott Laboratories, IL, ABD) CLIA sisteminde 1-8.5 sinyal/cut-off (S/CO) aralığında sonuçlanmış zayıf pozitif örnekleri ile 0.7-0.99 S/CO aralığındaki sınır değer sonuçları çalışmaya dahil edildi. Bu örnekler bioMérieux Anti-HCV (Vidas°, bioMérieux, Fransa) ELFA sisteminde çalışıldı ve elde edilen sonuçlar karşılaştırıldı. ELFA sisteminde >1 Test Value (TV) üzeri örnekler pozitif, 0.7-0.99 TV aralığındaki değerler sınır değer olarak kabul edildi.

Çalışma grubuna alınan hastalara referans yöntem olarak HCV-RNA PCR testi uygulandı. HCV-RNA saptama yöntemi, iki farklı dönemde ve iki farklı sistem kullanılarak gerçekleştirildi. Ekim 2018-Aralık 2018 aylarında başvuran 11 hastada, HCV genomunun 5'UTR gen bölgesinin amplifikasyonunu hedefleyen ve gen izolasyonu ile örnek hazırlama işlemleri için Abbott m2000sp (Abbott Laboratories, IL, ABD) sistemini kullanan Abbott HCV-RNA kiti (Abbott Laboratories, IL, ABD) ile çalışıldı. Bu işlemler Abbott m2000rt (Abbott Laboratories, IL, ABD) test sistemi üzerinde gerçekleştirildi.

Ocak 2019-Ekim 2019 arasında başvuran 48 hastada ise, gen izolasyonu Magnesia° 2448 Nükleik Asit İzolasyon ve PCR Setup Robotu (Anatolia Geneworks, İstanbul, Türkiye) ile yapıldı. Bu dönemde, 5'UTR gen bölgesinin amplifikasyonuna dayalı olarak Anatolia Bosphore HCV Kantifikasyon Kiti (Anatolia Geneworks, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Çalışma grubundaki hastaların Anti-HCV çalışılmak üzere çalışmaya dahil edilen örnekleri ile eş zamanlı olarak alınan ALT düzeyleri (normal sınırları: 5-40 U/L) retrospektif olarak hasta dosyalarındaki kayıtlardan elde edildi.

BULGULAR

Çalışılan tüm serum örneklerinden elde edilen HCV antikorları için S/CO ve TV ortalamaları; CLIA testi için ortalama 2.32 S/CO [min:0.9-max:8.17] ve ELFA testi için 2.78 TV [min:0.04-max:23.98] olarak saptandı. Bu olguların eş zamanlı örneklerindeki ALT düzeyleri ortalaması 28.7 U/L [min:8-max:156] olarak saptandı.

Çalışma grubundaki 49 hastanın ALT düzeyleri normal (<40 U/L) altında, 10 hastanın sonucu ise normal değer üzerinde (>40 U/L) saptandı. Ortalama S/CO ve TV indeksleri, yaş ve cinsiyet karşılaştırması Tablo 1'de gösterilmektedir. Çalışma grubunu oluşturan CLIA yönteminde zayıf pozitiflik ve sınır değer saptanan 59 olgunun tamamının plazma örneklerinde HCV RNA testleri negatif olarak saptandı.

CLIA testi ile zayıf pozitif sonuç elde edilen 17 hastanın ELFA testi negatif sonuçlandı (11 kadın; 6 erkek, yaş ortalamaları: 42.2 yıl). Bu olguların CLIA testi ortalaması 1.74 S/CO [min:1-max:3.2] olarak saptanırken, ELFA testi ortalaması 0.24 TV [min:0.1-max:0.67] saptandı. CLIA testinde üç zayıf pozitiflik ve iki olguda sınır değer sonucu elde edilen [3 kadın; 2 erkek, yaş ortalamaları 52.4 yıl] toplam beş olgunun ise ELFA testi ile sınır değer olarak elde edildi. ELFA testinde sınır değer saptanan olguların ortalaması 0.82 TV [min:0.7-max:0.9]; bu grupta CLIA ortalaması 1.97 S/CO [min:0.96-max:3.1] olarak sonuçlandı. ELFA testinde sınır değer saptanan grubun ise ALT değerlerinin ortalaması 16.4 [min:12-max:24] olarak saptandı. ELFA testi sonuçlarının, ALT ve doğrusal yaş grafiği Şekil 1'de gösterilmektedir.

CLIA testi ile sınır değer olarak değerlendirilen üç olgunun [1 kadın; 2 erkek, yaş ortalaması: 43 yıl] ortalaması S/CO değeri ise 0.94 [min:0.9-max:0.97] olarak elde edildi. Bu olguların ELFA ortalaması 0.62 TV [0.05-0.9] olarak saptandı. CLIA testi ile sınır değer saptanan grupta ALT değerlerinin ortalaması 15.3 [min:12-max:21] olarak kaydedildi. CLIA testi sonuçlarının, ALT ve doğrusal yaş grafiği Şekil 2'de gösterilmektedir. 59 olgunun 29'unda (%49.1) her iki sistem ile zayıf pozitif sonuç saptandı.

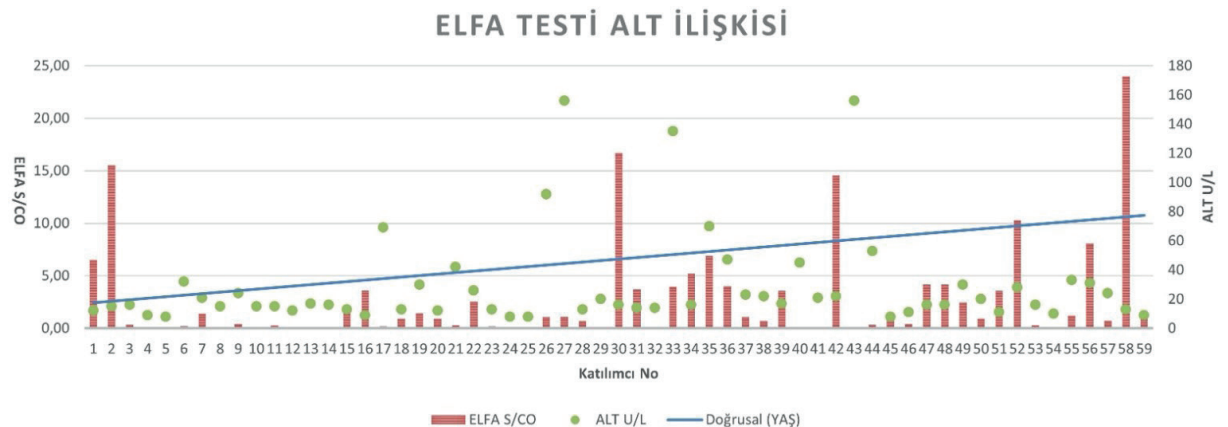
TARTIŞMA

İki farklı EİA yönteminden elde edilmiş zayıf pozitif ve sınır değerlerin karşılaştırmalı olarak irdelenmiştir. Bu sistemlerin sonuçları kalitatif olarak bildirilmesine rağmen arada kalan bazı S/CO ve TV değerlerinin laboratuvar hekimi ve klinisyenler için hasta yönetiminde zorluk yarattığı, ayrıca test tekrarları ve refleks testlerle kaynak kaybına yol açması istenilmeyen durumlardır⁽⁹⁾. Yeni nesil EİA testlerinde duyarlılık ve özgüllük yüksek düzeylere ulaşmış ve yalancı seronegatiflik olasılığı azaltılmış olmasına rağmen, HCV enfeksiyonlarında Anti-

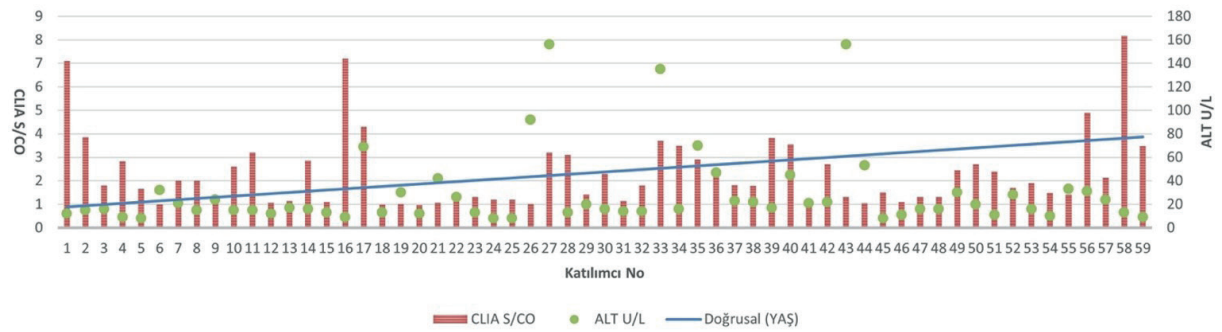
Tablo 1. Ortalama yaş, S/CO ve TV indeks değerlerinin cinsiyete göre dağılımı (n=59; [min-max])

	CLIA (S/CO) [0.9-8.17]	ELFA (TV) [0.04-23.98]	Yaş (yıl) [8-87]	ALT (U/L) [8-156]
Erkek	2.25	2.29	48.75	36.11
Kadın	2.38	3.22	46.48	22.16
Genel Toplam	2.32	2.78	47.56	28.78

S/CO: Sinyal/Cut-off; TV: Test değeri; U/L: Unite/litre



Şekil 1. ELFA testi sonuçlarının, ALT ve doğrusal yaş grafiği



Şekil 2. ELFA testi sonuçlarının, ALT ve doğrusal yaş grafiği

HCV'nin oluşmasına kadar süren bir seronegatif dönem olabilir. Serolojik pencere dönemi dışında; immunsupresyonda ve tedavi sonrasında da Anti-HCV düzeylerinin düşük olabileceği akılda bulundurulmalıdır⁽¹⁰⁾. EİA testlerinde Anti-HCV pozitifliğinin saptanması HCV ile karşılaşma konusunda fikir verebilir fakat doğru klinik yönetim için pozitif ve yüksek şüpheli sonuçların HCV-RNA testi ile doğrulanması gerekmektedir⁽¹¹⁾. Moleküler yöntemler ile HCV-RNA saptanması akut ve kronik olguların izleminde altın standart olarak kabul edilmektedir ve maruziyetten yaklaşık 1-3 hafta sonra kanda viral RNA pozitifliği saptanabilmektedir⁽¹²⁾.

Çalışma grubundaki CLIA testinde zayıf pozitiflik tespit edilen 17 hastanın ELFA sonucunda negatif değerler elde edilmiş olması test yöntemlerinin duyarlılık düzeylerinin farklı olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca bu 17 olgunun doğrulama yöntemi olarak kullanılan HCV RNA PCR yöntemi negatif saptanmıştır. Gupta ve ark.⁽¹³⁾ çalışmasında CLIA testi için ">8 S/CO" değerinin viral RNA pozitifliğiyle %95 oranında ilişkisi bulunduğu bildirilmiş, CLIA testinin PCR ile karşılaştırıldığı benzer bir seroprevalans çalışmasında CLIA testinde %26 yalancı pozitif, %1.5 yalancı negatif sonuç elde edilmiştir⁽¹⁴⁾. Ha ve ark.⁽⁸⁾ yapmış oldukları çalışmada da 8.85 S/CO değeri pozitiflik kesme noktası olarak ele alındığında viremiyi %50 doğrulukla saptayabilmektedir. Yöntem olarak benzer çalışmalar referans alınarak bu çalışmada da zayıf pozitif değer kesme noktası olarak 8.5 S/CO değeri kullanılmıştır. Heinrichs ve ark.⁽¹⁵⁾ yapmış oldukları ELFA ve CLIA yöntemlerinin karşılaştırmalı çalışmasında CLIA yönteminin daha yüksek yalancı pozitif oranlarına vurgu yapılmıştır. Bahsi geçen çalışmada özellikle kateteri bulunan hastalar veya damar yüzeyinde stres oluşturan durumların von Willebrand multimerleri

oluşturabileceği ve bu durumun da yalancı test pozitifliklerine sebep olma hipotezi üzerinde durulmuştur⁽¹⁵⁾. Çalışmamızdaki ELFA negatif, CLIA zayıf pozitif 17 hastanın özgeçmişlerinde; iki olgunun tip II diyabet, üç olgunun yakın dönem gebelik, bir olguda kronik lenfosit lösemi, üç olguda dermatolojik hastalık (dermatit, pemfigus vulgaris ve ürtiker), bir HIV+, bir kronik hepatit B, bir pankreas karsinomu ve bir hastanın bipolar bozukluk öyküsünün bulunması bu olgulardaki damar stresinin artmasına yol açabilecek durumlarla ilişkilendirilmesi açısından dikkat çekici olmakla birlikte, bu gruptaki geri kalan dokuz olgunun spesifik hastalık öyküsü bulunmamaktadır. Zayıf test pozitiflikleri ile bu olguların mevcut hastalıklarının ilişkisi açığa kavuşturulamamıştır ve ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca tüm hasta sonuçlarının geriye yönelik taramasında Anti-HCV testleri ile eş zamanlı çalışılan ALT düzeyleri ile EİA testlerindeki S/CO ve TV düzeyleri arasında herhangi bir ilişki kurulamamıştır. Bu çalışmadaki ALT düzeyleri >40U/L olan 10 olgu ele alındığında bu hastaların tamamında CLIA testinde zayıf pozitiflik saptanmışken ELFA ile beş olguda zayıf pozitiflik saptanmıştır. Her iki EİA yönteminin S/CO ve TV düzeyleri ile ALT düzeyleri yüksekliği ve yaşları arasında doğrusal bir ilişki kurulamamıştır. ALT yüksekliği bulunan olguların hiç birisinde HCV-RNA pozitifliği mevcut değildir. Önceki yıllarda doğrulama testi olarak kullanılan immunoblot testlerinin de EIA testlerindeki düşük pozitiflik ve sınır değer serum örneklerinde benzer reaktivite göstermesi HCV ile enfekte hastalarda doğru tanıya ulaşmada bir diğer zorluk olarak karşımıza çıkmaktadır. Altuğlu ve ark.⁽¹⁶⁾ 245 olgudaki düşük pozitiflik CLIA Anti-HCV S/CO değeri saptanan serum örneklerinde yaptıkları immunoblot yöntemi çalışmasında bu örneklerde %20 oranında immunoblot pozitifliği saptanmıştır.

ELFA sisteminin irdelendiği bir başka çalışmanın da sonuçlarına göre HCV-RNA pozitif 100 hasta serumunda yapılan çalışmada TV değeri ortalaması 22.56 ± 1.24 TV, ELFA Anti-HCV'nin duyarlılığı: %100 (%95 güven aralığı: %96.4-100.0); ELFA Anti-HCV'nin özgüllüğü: %99.5 (%95 güven aralığı: %98.8-99.8) olarak saptanmıştır⁽¹⁷⁾.

Son yıllarda geliştirilmiş olan HCV core antijeninin tespiti ve miktarının ölçülmesi için kullanılan testler, maliyet açısından daha uygun ve uygulaması daha kolaydır; bu yüzden, bu testler nükleik asit testleri için pratik bir alternatif olarak görülmektedir^(18,19). Akılda tutulması gereken bir diğer önemli husus CDC önerilerine göre de CLIA ve ELFA testlerinde zayıf pozitiflik durumlarında çalışılan HCV RNA testinin negatif saptanması durumunda da HCV RNA testi tekrar edilmelidir⁽²⁰⁾.

HCV-RNA testleri negatif olan 59 olgunun sonuçlarının incelendiği bu çalışmada; kullanım kolaylığı, otomasyona uygunluğu ve çabuk sonuç verme özelliklerine sahip olması avantajlarıyla mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla tercih edilen iki EIA sisteminin zayıf pozitif ve sınır değerleri kıyaslanmıştır. Bir sistemle elde edilen HCV antikor düzeyinin; zayıf pozitif ve sınır değer sonuçlar için olanak varsa farklı bir sistemle tekrar edilmesi ve HCV-RNA testi ile doğrulanması, kesin tanı için önemlidir. Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı az sayıda olgu üzerinde gerçekleştirilmiş olmasıdır, bu durum elde edilen istatistiksel verilerin genel popülasyona projekte edilmesini sınırlandırabilir. Pozitiflik için baz alınan "1 S/CO" ve "1 TV" değerlerinin daha yüksek seviyelere çekilmesi ise tartışmaya açık bir konudur ve her iki EIA yöntemi için ayrı ayrı ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Ege Üniversitesi, Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (07.09.2023 tarih ve 23-9T/49 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of Ege University, Medical Research Ethics Committee (09.07.2023; 23-9T/49).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

1. Choo QL, Richman KH, Han JH, et al. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88(6):2451-5. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.6.2451>
2. Klenerman P, Fitzmaurice K. An update on hepatitis C virus. *Clin Med (Lond)*. 2015;15(Suppl 6):33-6. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.15-6-s33>
3. Thrift AP, El-Serag HB, Kanwal F. Global epidemiology and burden of HCV infection and HCV-related disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(2):122-32. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.176>
4. Prakash S, Sankhwar SN, Jain A, et al. Comparison of third generation ELISA and conventional nested RT-PCR for detection of HCV among hemodialysis patients. *J App Pharm Sci*. 2014;4(8):18-22.
5. Khullar V, Firpi RJ. Hepatitis C cirrhosis: New perspectives for diagnosis and treatment. *World J Hepatol*. 2015;7(14):1843-55. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i14.1843>
6. Hajarizadeh B, Lamoury FM, Feld JJ, et al. Alanine aminotransferase, HCV RNA levels and pro-inflammatory and pro-fibrogenic cytokines/chemokines during acute hepatitis C virus infection. *Virology*. 2016;13:32. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0482-x>
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Testing for HCV infection: an update of guidance for clinicians and laboratorians. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013;62(18):362-5.
8. Ha J, Park Y, Kim HS. Signal-to-cutoff ratios of current anti-HCV assays and a suggestion of new algorithm of supplementary testing. *Clin Chim Acta*. 2019;498:11-5. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.08.002>
9. Nam M, Song DY, Song SH, et al. Performance evaluation of immunoassay for infectious diseases on the Alinity i system. *J Clin Lab Anal*. 2021;35(3):e23671. <https://doi.org/10.1002/jcla.23671>

10. Myrmel H, Navaratnam V, Asj  B. Detection of antibodies to hepatitis C virus: false-negative results in an automated chemiluminescent microparticle immunoassay (ARCHITECT Anti-HCV) compared to a microparticle enzyme immunoassay (AxSYM HCV Version 3.0). *J Clin Virol.* 2005;34(3):211-8. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2005.05.013>
11. Erensoy S. Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection and laboratory monitoring of its therapy. *J Clin Virol.* 2001;21(3):271-81. [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(00\)00170-0](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(00)00170-0)
12. Richter S. Laboratory assays for diagnosis and management of hepatitis C virus infection. *J Clin Microbiol.* 2002;40(12):4407-12. <https://doi.org/10.1128/jcm.40.12.4407-4412.2002>
13. Gupta E, Bajpai M, Choudhary A. Hepatitis C virus: Screening, diagnosis, and interpretation of laboratory assays. *Asian J Transfus Sci.* 2014;8(1):19-25. <https://doi.org/10.4103/0973-6247.126683>
14. Ibrahim AM, Abo-El-Azaem NGM, Mohamed MA, Ghaith AA, Ahmed SHH, Zaki MMA. Evaluation of some available HCV antibody detection tests (ELISA, Chemiluminescence, Immune Assay) and RT-PCR assay in the diagnosis of Hepatitis C virus infection. *Egypt J Hosp Med.* 2018;72(7):4874-9. <https://doi.org/10.12816/ejhm.2018.10167>
15. Heinrichs A, Antoine M, Steensels D, Montesinos I, Delforge ML. HCV false positive immunoassays in patients with LVAD: A potential trap! *J Clin Virol.* 2016;78:44-6. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.03.007>
16. Altuğlu İ, Zeytinoğlu A, Varıcı Balcı K, Sert z R,  i ek C, Erensoy S. Evaluation of anti HCV Line immunoassay indeterminate results. *J Clin Virol.* 2016;82(Suppl.):S66. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.08.131>
17. Hyun J, Ko DH, Kang HJ, Whang DH, Cha YJ, Kim HS. Evaluation of the VIDAS anti-HCV assay for detection of Hepatitis C virus infection. *Ann Lab Med.* 2016;36(6):550-4. <https://doi.org/10.3343/alm.2016.36.6.550>
18. Őamlıođlu P, Karaca Derici Y, Dođan G, Bayram A, TaŐ S, Yılmaz N.  c nc  basamak kamu hastanelerinde altı yıllık HCV seroprevalansı ve HCV RNA korelasyonunun değerlendirilmesi. *J Tepecik Educ Res Hosp.* 2022;32(2):235-9. <https://doi.org/10.4274/terh.galenos.2021.01709>
19. Vieira R, Caldas C, Carvalho JA, Costa E, Magalhaes TR, Queiroga FL. HCV core-antigen assay as an effective alternative to HCV RNA quantification in patients with Hepatitis C. *In Vivo.* 2023;37(4):1498-503. <https://doi.org/10.21873/invivo.13234>
20. Schillie S, Wester C, Osborne M, Wesolowski L, Ryerson AB. CDC recommendations for Hepatitis C screening among adults — United States, 2020. *MMWR Recomm Rep.* 2020;69(2):1-17. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr6902a1>