

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Sistemleri

ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA) SYSTEMS

Meltem YALINAY ÇIRAK*

*Öğr.Gör.Dr.,Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, ANKARA

Özet

ELISA terimi, antijen antikor reaksiyonlarını gösterebilmek için enzim kullanılan tüm teknikleri içerir. Farklı laboratuvarlarda uygulanabilen çok çeşitli ELISA sistemleri ve kimyasal maddeler bulunmaktadır. Bu derlemede, kullanılan belli başlı ELISA protokolleri ve uygulama yöntemleri özetlenmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: ELISA, Standardizasyon

T Klin Tıp Bilimleri 1999, 19:242-248

Summary

The term 'ELISA' encompasses all techniques in which enzymes are used to label antigen antibody reactions. The many different forms of ELISA systems and reagents can be used in distinct laboratories. In this review, generally used main ELISA protocols and application methods are tried to be summarized.

Key Words: ELISA, Standardization

T Klin J Med Sci 1999, 19:242-248

Antijen antikor reaksiyonlarını gösterebilmek için enzim kullanılan tüm tekniklere genel olarak enzim immunotest (enzyme immunoassay, EIA) denir. Enzimle işaretli immuno reaktiflere dayalı bu testler, mikrobiyoloji tanı laboratuvarlarında oldukça önemli bir yere sahiptir. Radyoimmünotestler (RIA) EIA'den daha önce kullanılmaya başlanmış, ancak işaretleme için I^{125} gibi kısa ömürlü izotopların kullanılması, toplum sağlığı ve çevreye zararlı radyoaktif madde kullanımı, RIA'nin endokrinoloji laboratuvarlarında kullanımı ile sınırlı kalmasına neden olmuştur. Mikrobiyoloji alanında immünfloresan (IF) teknikleri RIA'dan daha yaygın bir kullanım alanı bulmuştur. Ancak IF tekniklerinin uygulanmasında iyi eğitilmiş eleman gereksinimi ve sonuçların yorumlanmasının subjektif olması bu tekniklerin de yaygın kullanımını engellemektedir. ELISA sistemleri 1960'larda radioimmunoassay yöntemlerine alternatif aranırken

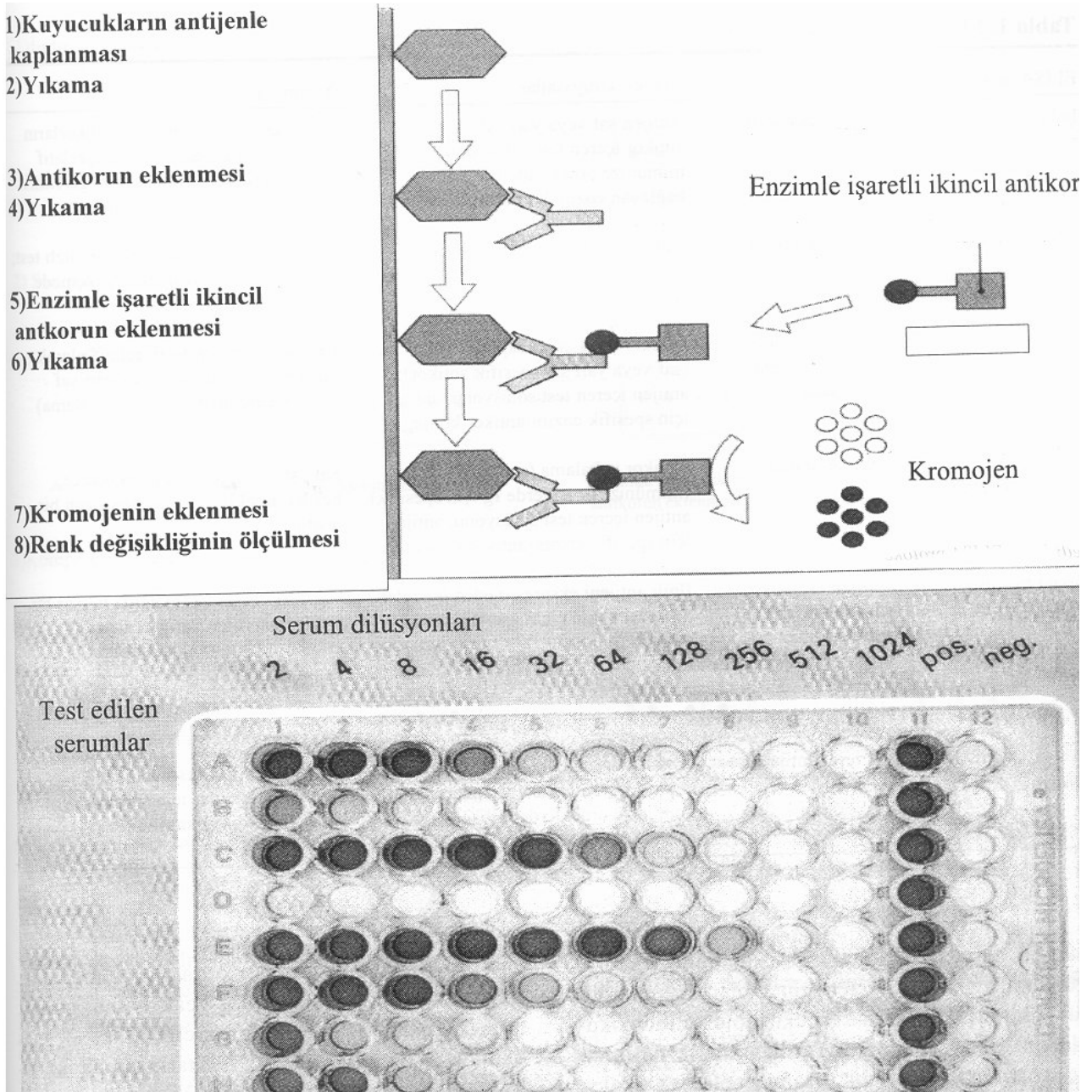
bulunmuştur. EIA'de kullanılan reaktiflerin uzun ömürlü olmaları, atık maddeleri ile ilgili radyasyon tehlikesi olmaması, basit testler olması ve otomatize edilebilmesi diğer iki tekniğe olan üstünlükleridir. Daha önemlisi laboratuvarlara çok fazla sayıda örnekle çalışma olanağı verdiği gibi analizlerin kısa sürede sonuçlanması gibi üstünlükleri de vardır.

EIA diye isimlendirilen yöntemler, homojen ve heterojen olmak üzere iki çeşittir. Homojen tekniklerde, enzim bir haptene ile konjuge haldedir. Tekniğin esası, bu konjugatın antikor ile reaksiyona girmesi halinde enzim aktivitesinin başlamasına dayanır. Ancak bu tekniğin düşük moleküler ağırlıklı maddeler kullanma zorunluluğunun bulunması, pahalı ve zahmetli olması gibi dezavantajları vardır. Bu nedenlerden dolayı fazla sık kullanılmazlar (1).

Mikrobiyolojide kullanılan enzim immunotestler heterojen yöntemlerdir. Heterojen EIA'de bağlı olan ve olmayan reaktifler birbirinden yıkama işlemi ile fiziksel olarak ayrılırlar. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), heterojen EIA'e örnektir. ELISA'da bir enzimle konjuge

Geliş Tarihi: 06.07.1998

Yazışma Adresi: Dr.Meltem YALINAY ÇIRAK
Noktalı sok., No:7/18
Gaziosmanpaşa, ANKARA



Şekil 1. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) (10).

edilmiş antikor (veya antijen), substratı ile reaksiyona girerek renkli bir ürün oluşturur (Şekil 1). ELISA testleri antijeni veya antikoru (sınıfa özgül antikor da olabilir) ölçmek için kullanılabilir (1-11).

ELISA kompleks bir teknik olmamasına rağmen bu teknikte birçok değişken kontrol edilmelidir. Katı faz, yıkama işlemleri, kullanılan enzim ve substratların seçimi ve etkinliği, reaksiyonların

sonlandırılma zamanı, kontrol edilmesi gereken değişkenlerdir. Katı faz olarak çoğunlukla mikrotitrasyon plakları şeklinde plastik kullanılmaktadır. Polistren mikrotitrasyon çukurcuklarından başka, plastik boncuklar, ferröz boncuklar ve nitrosellüloz membran da solid materyal olarak kullanılabilir (11,12). ELISA'da kullanılan enzimler kinetikleri ve konjuge edilme dereceleri açısından iyi tanımlanmış enzimlerdir. Bunlar peroksidaz, alkalen fos-

Tablo 1. ELISA protokolleri (5)

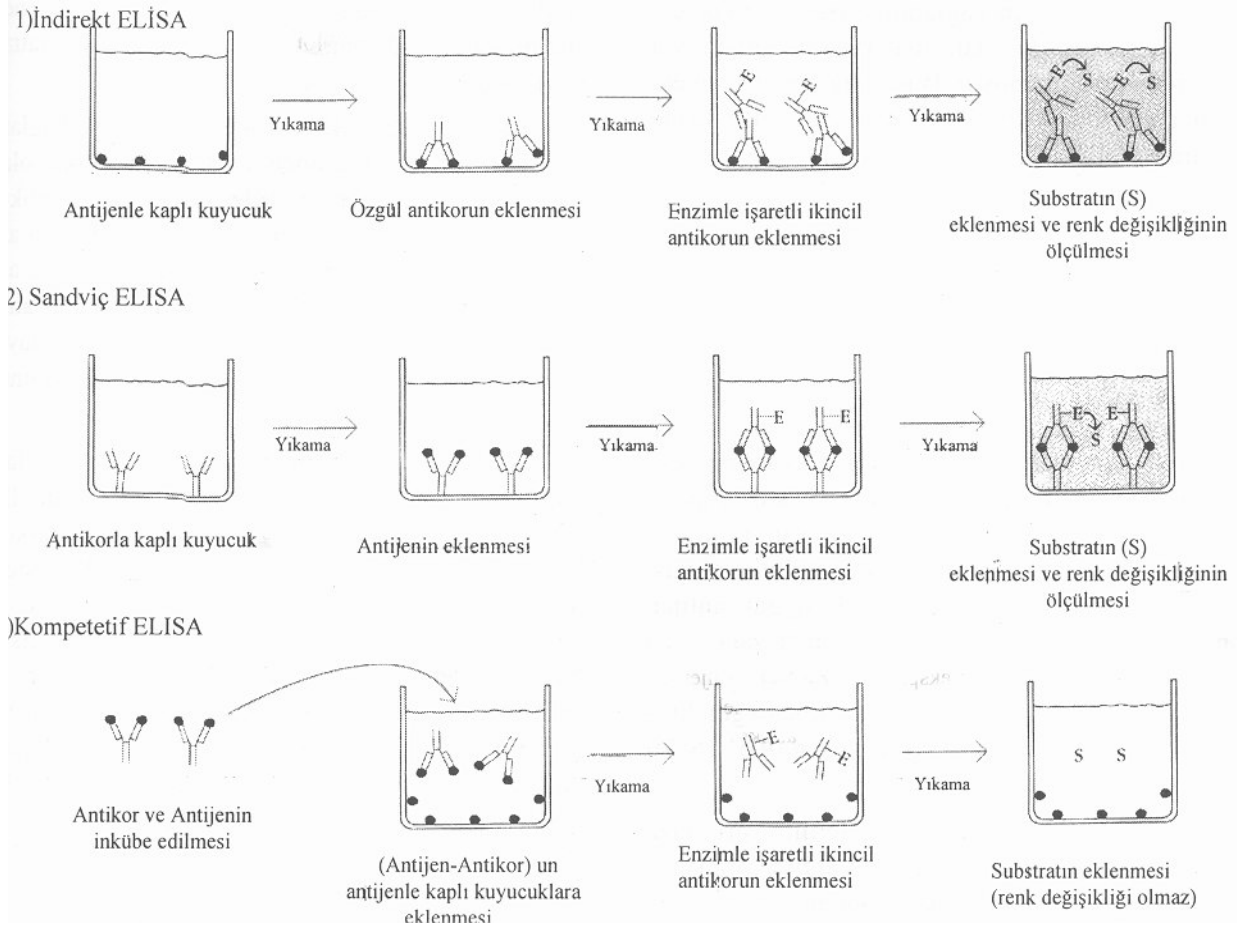
ELISA protokolü	Kullanımları	Gerekli kimyasallar	Yorumlar
İndirekt	Antikor aramada	Antijen saf veya yarı saf; antikor içeren test solüsyonu; immünize örneklerde Ig'i bağlayan enzim konjugatı	Önceden varolan spesifik antikorların kullanımına gerek duyulmaz; relatif olarak fazla miktarda antijen gerektirir.
Direkt kompetitif (yarışmacı)	Antijen aramada; çözünür antijeni saptamada	Antijen saf veya yarı saf; antijen içeren test solüsyonu; spesifik antijen için enzim-antikor konjugatı	Sadece iki basamaktan oluşan hızlı test; antijenik çapraz reaksiyonu ölçmede çok kullanışlı
Antikor-sandviç yöntemi	Antijen aramada; çözünür antijeni saptamada	Antikor yakalama (capture) (saf veya yarı saf spesifik antikor); antijen içeren test solüsyonu, antijen için spesifik enzim-antikor konjugatı	En hassas antijen testi; relatif olarak fazla miktarlarda saf veya yarı saf antikor gerektirir (antikor yakalama)
Çift antikor-sandviç yöntemi	Antikor arama	Antikor yakalama (capture) (immünize örneklerde Ig için spesifik); antijen içeren test solüsyonu, antijen için spesifik enzim-antikor konjugatı	Saflaştırılmış antijen gerektirmez; beş basamaklı relatif olarak uzun bir testtir.
Direkt hücresel yöntem	Antijen ekspresse eden hücrelerin aranmasında; hücresel antijen ekspresyonunun ölçülmesi	İlgili antijeni ekspresse eden hücreler; hücresel antijen için spesifik enzim-antikor konjugatı	Fazla miktarda taramalarda hassas bir testtir; heterojen karışık hücre gruplarında hassas değildir.
İndirekt hücresel yöntem	Hücresel antijenlere karşı oluşan antikorların aranmasında	İmmünizasyonda kullanılan hücreler, antikor içeren test solüsyonları; immünize örneklerde Ig bağlayan enzim konjugatı	Düşük miktarda ekspresse edilen hücresel antijenler için spesifik antikorları saptayamayabilir.

fataz, beta-galaktozidaz gibi substratları renkli ürünlere çevirebilme yeteneğinde olan enzimlerdir. Bu renkli ürünler standart spektrofotometrede okutulabilir. Beta-galaktozidaz kullanılmışsa florimetrede okunmalıdır. Substratlar genellikle alkalin fosfataz için nitrofenil fosfat, peroksidaz için ortofenilendiamindir (1-5, 8).

Genel olarak 6 farklı ELISA protokolünden bahsedilebilir (Tablo 1) (5): Yarışmacı olan (kompetitif) ve olmayan ELISA testleri vardır. Yarışmacı ELISA genellikle antijen varlığını göstermek için kullanılır. Aranılan antijene özgül antikor katı faza bağlanmıştır. Enzimle işaretli antijen ve test edilecek antijen (klinik örnek) katı fazdaki antikora aynı zamanda eklenir ve her iki antijenin de antikordaki bağlanma bölgeleri için yarışması amacıyla inkübe edilir. İnkübasyondan sonra yıkanarak bağlanmamış antijenler uzak-

laştırılır, ve enzim substratı konarak inkübe edilir. Bağlanmış enzim substratla reaksiyona girerek renk oluşturur, spektrofotometrede absorbans okunur. Substratın hidroliz miktarı, örnekteki antijen miktarı ile ters orantılıdır. Yani sonuçta renk değişikliği olmazsa bu klinik örnekte antijen varlığını gösterir (2,3,5-7).

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında yarışmacı olmayan ELISA daha sık kullanılmaktadır. Yarışmacı olmayan ELISA sandviç tekniği antijeni saptar. Antikor katı faza bağlanmıştır. Bunun üzerine antijen içeren vücut sıvısı konur. İnkübasyon ve yıkama işleminden sonra enzimle işaretli antikor eklenir. İnkübasyon ve yıkama işleminden sonra özgül kromojenik enzim substratı eklenir. Bağlı enzim substratla reaksiyona girerek renk değişikliğine neden olur. Bu renk değişikliği antijen varlığının kanıtıdır (2-5).



Şekil 2. Çeşitli ELISA yöntemleri (6).

Yarışmacı olmayan ELISA antikor varlığını saptamak üzere de kullanılır. Bu yöntemde katı faza antijen bağlanmıştır. Test edilecek serum eklenir, serumda antijene özgül antikor varsa antijen-antikor kompleksi oluşacaktır. Yıkamadan sonra enzimle işaretli antiglobulin konur. İnkübasyon ve yıkamadan sonra substrat eklenir. Özgül antikor varsa enzimle işaretli antiglobuline bağlanacak ve substrat hidrolize olacaktır. Her iki yöntemde de absorbans miktarı mevcut antijen veya antikorun miktarıyla doğru orantılıdır (2-5, 13).

ELISA yöntemlerinde de bazı modifikasyonlar yapılabilir. En çarpıcı olan "capture" yakalama testleridir. Yakalama testleri de antikor ve antijen saptanmasında kullanılır. Antijen saptama için kullanılan yakalama testinde katı faza poliklonal veya monoklonal antikor bağlanır. Enzimle işaretli antikor da poli veya monoklonal olabilir. Monoklonal

antikorların sadece bir epitopa bağlandığı düşünülürse, poliklonal antikorlar antijenin farklı formlarını saptamada daha güvenilir antikorlardır (2, 5, 11, 14, 15).

ELISA plakları hazırlanırken, antijen aranacaksa antijene özgül antikor veya antikor aranacaksa antikora özgül antijen katı faza (plastik çukur veya boncuğa) bağlanmalıdır. Plakların kaplanma işlemi, 2 saat 37°C'de ya da bir gece oda ısısında veya +4°C'de bekletildikten sonra yıkama yapılarak gerçekleştirilir. İnkübasyonlar ise 1-2 saat 37°C'de yapılır (16).

Antijen ve antikor arama ayrı ayrı ele alınacak olursa, antijen arama için kullanılan yöntemler:

* Direkt ELISA (sandviç yöntemi); araştırılacak antijene özgü antikor, solid faza bağlanır. Antijen araştırılacak materyal ile birlikte inkübe

edilir. Üzerine enzim bağlanmış özgül antikor eklenir. İncelenmekte olan materyalde antijen var ise, katı faza bağlanmıştır. Buna bağlanmış olan enzimli antikorun enzimi, substrat eklenince kendi substratına etkili olarak renk oluşur (4, 5, 17) (Şekil 2).

* Direkt ELISA tek basamaklı sandviç yöntemi; direkt ELISA'dan farkı, katı fazda yapışık özgül antikorun üzerine aynı anda antijen aranmakta olan materyal ile enzim bağlantılı antikor eklenir (4,5).

* İndirekt ELISA ; katı faza yapışmış özgül antikora daha önce bir süre inkübe edilmiş antijen aranacak materyal ve özgül antikor karışımı eklenir. Ancak bu ikinci antikorun, katı fazda yapışık antikorun elde edilmiş olduğu hayvan türünden farklı bir hayvan türünden elde edilmiş olması gerekir. Eğer incelenen materyalde uygun antijen varsa, bir yandan serbest antikora diğer yandan da katı fazdaki antikora bağlanır; eklenen enzimli antiglobulin yıkama ile gitmez. Enzime uygun kromojen substrat eklenince renk oluşur (4,5) (Şekil 2).

* Kompetitif ELISA yöntemi, katı faza yapışmış özgül antikorun üzerine antijen aranacak olan materyal eklenir. İnkübasyondan sonra, enzim bağlanmış özgül antijen, takiben substrat eklenir. İncelenen materyalde antijen varsa, katı fazdaki antikora bağlanmıştır, enzimli antijen yapışamayacağı için, yıkama ile uzaklaşır; substrat eklenince renk oluşmaz (3-5) (Şekil 2).

Antikor arama amacıyla kullanılan yöntemler:

* İndirekt yöntem (katı faz sandviç yöntemi); bilinen antijenin katı faza adsorbsiyonundan sonra, antikor aranan hasta serumu ile inkübe edilir. Antijen-antikor kompleksinin gösterilebilmesi için, enzim ile konjuge insan antiglobulini eklenir. Antikor bağlanmışsa enzimli antiglobulin de bağlanır; uygun enzim substratı eklenince renk oluşur (4, 5) (Şekil 2).

* Sandviç inhibisyon yöntemi; serbest antijen hasta serumu ile karıştırılıp bir süre inkübe edilir. Hasta serumunda antikor varsa antijene bağlanarak onu bloke edecektir. Bu karışım katı fazdaki özgül antikorun üzerine eklenir. İnkübasyondan sonra sırasıyla, enzim bağlanmış özgül antikor ve kromojen substrat eklenir. Hasta serumunda antikor varsa serbest antijen ile bloke olmuş olduğundan solid

fazdaki antikora bağlanmaz. Bu durumda eklenen enzimli antikor da bağlanmayacağından substrattan renk oluşmaz (4,5) (Şekil 2).

* Kompetitif ELISA yöntemi; katı faza bağlanmış antijenin üzerine önce antikor aranmakta olan hasta serumu, takiben enzimle işaretli özgül antikor ve kromojen substrat eklenir. Hasta serumunda antikor varsa, enzimle işaretli antikora göre daha aktif olduğundan, yarışma sonucu solid fazdaki antijene bağlanmıştır. Enzimli antikor bağlanamayıp yıkama ile uzaklaştığı için substrat eklendiğinde renk oluşmaz (2-5) (Şekil 2).

ELISA yönteminin birçok uygulama alanı vardır: TORCH (Toxoplasma gondii, rubella, CMV, HSV) ajanlarına özgül IgG ve IgM antikorları saptanmaktadır (18, 19). Legionella pneumophila, Mycoplasma pneumoniae, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Rickettsia, Neisseria gonorrhoeae, Mycobacterium türleri ve Brucella türlerinin serolojik tanılarında başarıyla kullanılmıştır (20-22). Hepatit viruslarına (Hepatit A, B, C, D ve E) karşı oluşan özgül antikorlar, HIV, RSV ve diğer birçok virüs hastalığında antijen antikor ilişkisi bu yöntemle saptanabilir (1, 8, 23-25). ELISA-antikor testleri, hepatit virusları, kızamık virusu, kızamıkçık virusu, CMV, Rota virus ve Arbo virusların sebep olduğu viral hastalıklarda da, epidemiyolojik değerlendirmeler yapılabilmesi açısından da değerlidir (1, 8, 26, 27). Paraziter hastalıklarda da ELISA yöntemi geniş bir kullanım alanına sahiptir. Antijen aranmasında kullanılan ELISA tetkikleri, daha çok endokrinoloji sahasında gelişmiştir (1, 28).

Günümüzde ELISA yöntemi daha gelişmiş sistemler içinde yer almaktadır. Araştırılacak etkenin DNA'sının PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılması ve elde edilen PCR ürününe özgü problerle kaplı mikrokuyucuklarda hibridizasyonu takiben ELISA'ya benzer şekilde kolorimetrik reaksiyon ile değerlendirme yapılması tanısı konacak viral hastalıkta yalancı pozitif sonuçların minimuma indirilmesi bakımından çok yararlıdır (29, 30). Örneğin, Hepatit C virus tanısı için geliştirilen ticari bir HCV PCR kiti olan "Amplicor HCV", ELISA ile HCV'ye karşı antikor pozitifliği saptanan olgularda HCV viremisinin gösterilmesinde önemlidir (31, 32, 33), ancak bu yöntem de halen standardizasyon sorunu yaşamaktadır (33).

Amplifikasyon ürününün ELISA sistemi ile gösterilmesine dayalı bir başka geliştirilen teknik dallanmış DNA'dır. Amplifikasyon tekniklerinden belirli bir şekilde farklı olan dallanmış DNA (branched DNA) tekniğinde hedef nükleik asit çoğaltılmamaktadır; bunun yerine reaksiyonun duyarlılığı sinyal amplifikasyonu ile sağlanır. bDNA tekniği enfeksiyöz hastalıkların değerlendirilmesinde kullanılır. HIV-1, HCV ve HBV'nin saptanması ve kantitatif olarak değerlendirilmesi için ELISA sistemini esas alan geliştirilmiş kitler bulunmaktadır (29).

ELISA teknikleri, antijen ve antikor saptamak için tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Birçok laboratuvar enfeksiyon hastalıklarının tanısı veya endokrinoloji sahasında kendi amaçlarına yönelik ELISA sistemleri geliştirmiştir; ancak bu tekniklerin uluslararası standardizasyonu ve geçerliliği tam olarak gerçekleşmemiştir. Hızlı ve kolay yöntemler olan ELISA tekniklerinin güvenilirliğini arttırmak için, ELISA protokollerinin ve testlerde kullanılan kimyasal maddelerin uluslararası standardizasyonu gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Babacan F. İnfeksiyon Hastalıklarının İmmünoerojisi. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M ed. İnfeksiyon Hastalıkları. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri 1996: 98-9.
- Baron JE, Peterson LR, Finegold SM. Nontraditional Methods for Identification and detection of pathogens or their products. In: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. Missouri: Mosby-Year Book, 1994: 125-7.
- Hendry DI. Identification of viral isolates by enzyme immunoassay. In: Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington: American Society for Microbiology, 1992: 2: 8.1.1-8.1.9.
- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, İkinci baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, 1995: 224-8.
- Coligan JE, Kruisbeek AM, Margulies DH, Shevach EM, Strober W. Antibody Detection and Preparation. In: Current Protocols in Immunology. Vol 1., New York: John Wiley & Sons, 1994: 2.1.1-2.1.4.
- Kuby J. Antigen-Antibody Interactions. In: Immunology. New York: WH Freeman and Company, 1997: 156-8.
- Gülmezoğlu E, Ergüven S. İmmünoloji. Ankara: Hacettepe - Taş Kitapçılık, 1994: 287-9.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: Current rapid techniques and emerging technologies in diagnosis. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 4th edition, Philadelphia: JB Lippincott Company, 1992 :1086-87.
- Engvall E, Perlman P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Immunochemistry 1971; 8: 871-9.
- Roitt I, Brostoff J, Male D: Immunological Techniques. In: Immunology, 5th edition, Mosby, London: 1998: 386.
- Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS: Quantitation of antigen. In: Cellular and Molecular Immunology, 3rd edition, Philadelphia: WB Saunders Company, 1997: 59-60.
- Hendry RM, Hermann JE. Immobilization of antibodies on nylon for use in enzyme-linked immunoassay. J Immunol Methods 1984; 67: 21.
- Beatty JD, Beatty BG, Vlahos WG. Measurement of monoclonal affinity by noncompetitive immunoassay. J Immunol Methods 1987; 100: 173-9.
- Feit C, Bartal AH, Tauber G, Dymbort G, Hirshaut Y. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of monoclonal antibodies recognizing antigens expressed on viable cells. J Immunol Methods 1983; 58: 301-8.
- Macy E, Kemeny M, Saxon A. Enhanced ELISA. How to measure less than 10 picograms of a specific protein (immunoglobulin) in less than 8 hours. FASEB J 1988; 2: 3003-09.
- Jitsukawa T, Nakajima S, Sugawara I, Watanabe H. Increased coating efficiency of antigens and preservation of original antigenic structure after coating in ELISA. J Immunol Methods 1989; 4: 251-7.
- Schots A, Van der Leede BJ, De Jong E, Egberts E. A method for the determination of antibody affinity using a direct ELISA. J Immunol Methods 1988; 109: 225-33.
- Michalki FJ, Shaikh M, Sahraie S, Desa İS, Verano L, Vallabhaneni J. Enzyme-linked immunosorbent assay spin amplification technique for herpes simplex virus antigen detection. J Clin Microbiol 1986; 21: 310-31.
- Swenson PD, Kaplan MH. Rapid detection of cytomegalovirus in cell culture by indirect immunoperoxidase staining with monoclonal antibody to an early nuclear antigen. J Clin Microbiol 1985; 21: 669-73.
- DeKlerk E., Anderson R. Comparative evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay in the laboratory diagnosis of brucellosis. J Clin Microbiol 1985; 21: 381-6.
- Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. Clin Infect Dis 1992; 14: 121-40.
- Bowden RA, Cloeckert A, Zygmunt MS, Bernard S, Dubray G. Surface exposure of outer membrane protein and lipopolysaccharide epitopes in Brucella species studied by enzyme-linked immunosorbent assay and flow cytometry. Infect Immun 1995; 63: 3945-52.
- Welliver RC. Detection, pathogenesis, and therapy of respiratory syncytial virus infections. Rev. Clin. Microbiol. 1988; 1: 27.

24. Waris M, Ziegler T, Kivivirta M, Ruuskanen O. Rapid detection of respiratory syncytial virus and influenza A virus in cultures by immunoperoxidase staining with monoclonal antibodies. *J Clin. Microbiol* 1990; 28: 159-7.
25. Jackson JB, Balfour HH Jr. Practical diagnostic testing for human immunodeficiency virus. *Rev Clin Microbiol* 1988; 1:124.
26. Cengiz TA, Kıyan M, Dolapçı İ, Aysev D, Tibet M. Çocukluk yaşlarındaki olguların serumlarında Rubella IgG ve IgM antikorlarının ELISA ile araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 1996; 10(3): 249-52.
27. Cengiz TA, Kıyan M, Dolapçı İ, Aysev D, Tibet M. Çocukluk çağı olguların serumlarında ELISA ile Sitomegalovirus (CMV) IgG ve IgM antikorlarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 1997; 11(2): 123-5.
28. Wang KC, Leung BS. Fluorometric ELISA methods for rapid screening of anti-estrogen receptor antibody production in hybridoma cultures. *J Immunol Methods* 1985; 84: 279.
29. Aslanzadeh J. Molecular techniques in laboratory diagnosis of infectious diseases. In: Coleman WB, Tsongalis GJ, ed. *Molecular diagnostics for the clinical laboratorian*. New Jersey: Humana Press. 1997: 342-4.
30. Tunçbilek S, Baykam N, Aksaray S, Tezeren D, Köseoğlu T, Dokuzoğuz B. Hepatitis C Virus (HCV) enfeksiyonu tanısında üçüncü kuşak ELISA'nın line immunoblot ile doğrulanması. *İnfeksiyon Dergisi* 1998; 12(3): 297-300.
31. Tiltson P, Morris DJ, Klapper PE, Corbitt G. Commercial assay for hepatitis C virus RNA. *Lancet* 1994; 344:201-2.
32. Türkoğlu S, Bozacı M, Bayraktar M, Atasaygın A, Badur S. Hepatit C virüsü enfeksiyonunun tanısında ticari bir kit (Amplivor HCV) ile nested PCR'in karşılaştırılması. *Viral Hepatit Dergisi* 1996; 1: 3-5.
33. Saltoğlu N, Taşova Y, Dalgınlı Ö, Dündar İH. Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonunun tanısında nested polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile ticari bir HCV PCR kitinin (Amplivor HCV) ile karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 1998; 12(3): 289-92.