

Şişli Etfal Hastanesi 2000-2006 yılı AntiHIV test sonuçlarının değerlendirilmesi

Evaluation of AntiHIV test results of Şişli Etfal Hospital from 2000 to 2006

Banu BAYRAKTAR*, Emin BULUT*, Hatice ERDOĞAN**

* Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı

** 29 Mayıs TDV Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada 03.04.2000 - 24.11.2006 yılları arasında laboratuvarımızda Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ile elde edilen AntiHIV pozitiflik oranları ve bu pozitifliklerden ne kadarının Western blot (WB) ile doğrulanabildiğinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Çalışma laboratuvar kayıtlarından retrospektif olarak yapılmıştır. HIV enfeksiyonu yönünden 82304 serum örneği, her seferinde tek bir kit kullanılmak kaydıyla, sırasıyla Innogenetics HIV1-2 , Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab (Biomérieux), AxSYM HIV-1/2/O* [MEIA (Mikropartikül Enzim İmmüno Assay) Abbott], Architect HIV Ag/Ab Combo (Chemiflex teknoloji, Abbott) ELISA kitleleri ile test edilmiştir. Pozitif çıkan serum örnekleri WB doğrulama testi için İstanbul İl Sağlık Müdürlüğü Epidemiyoloji Şubesine gönderilmiş ve buradan alınan sonuçlar bildirilmiştir.

Bulgular: Altı yıllık süre içinde toplam 82304 serum örneğine AntiHIV ELISA testi uygulanmıştır. ELISA ile pozitif bulunan 80 serumu WB yapılmıştır. 80 örneğin 50 si WB ile negatif sonuç verirken, 30'unun pozitifliği WB ile doğrulanmıştır.

Sonuçlar: AntiHIV ELISA testi HIV enfeksiyonu taramasında kullanılan güvenilir bir test olmakla birlikte, ELISA ile pozitif çıkan sonuçların WB ile doğrulanması şarttır.

Anahtar kelimeler: AntiHIV ELISA, western blot

SUMMARY

Objective: The aim of this study is to determine positive results rate of the AntiHIV Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and how many of them could be confirmed by western blot (WB) from 03.04.2000 to 24.10.2006 in our laboratory.

Study Design: We analysed our laboratory AntiHIV test reports retrospectively. 82304 serum samples were tested for HIV infection by different ELISA kits by using one at a time, namely HIV1-2 Innogenetics, Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab (Biomérieux), AxSYM HIV-1/2/O* [MEIA (Microparticle Enzyme Immuno Assay) Abbott], and Architect HIV Ag/Ab Combo (Chemiflex technology, Abbott). Positive samples were sent to the İstanbul Health Authority Epidemiology Department for WB confirmation testing and the results are reported here.

Results: During the 6 years period 82304 serum samples were tested for AntiHIV antibodies with ELISA. 80 ELISA positive serum samples were further tested with WB for confirmation. 50 out of 80 samples were found negative and 30 were confirmed as positive.

Conclusions: Although ELISA is a reliable test for HIV infection screening, positive results must be confirmed with WB.

Key words: AntiHIV ELISA, western blot

GİRİŞ

AIDS (Acquired Immun Deficiency Syndrome: Edinsel İmmün Yetmezlik Sendromu) ilk kez 1981 yılında Amerika'da Haitiden gelen göçmenlerde tanımlanmıştır. İlk AIDS vakalarının bildiriminden iki yıl sonra sitopatik retrovirus izole edilerek İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (Human Immunodeficiency Virus, HIV) ismi verilmiştir. HIV enfeksiyonunun tanısında kullanılan serolojik testler 1985 yılında lisans alı-

narak uygulanmaya başlanmıştır (1, 2). Günümüzde HIV enfeksiyonun laboratuvar tanısı HIV'e karşı oluşan antikor cevabının ölçülmesi ya da HIV'e ait bileşenlerin (viral RNA, proviral DNA, virus özgül antijenleri, viral enzimler) saptanması yoluyla konulmaktadır (3, 4, 5).

Bu çalışmada 2000-2006 yılları arasında laboratuvarımızda Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ile elde edilen AntiHIV pozitiflik oranları ve bu pozitifliklerden ne kadarının Western blot (WB) ile doğrulanabildiğinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Laboratuvarımıza çeşitli nedenlerle HIV enfeksiyonu yönünden incelenmek üzere gönderi-

Yazışma Adresi:

Banu BAYRAKTAR

Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Lab.

Tel: (0212) 231 22 09 / 2390

e-posta: banu_bayraktar@yahoo.com

Tablo 1: Yıllara göre AntiHIV test sonuçları

YIL	TEST SAYISI	ELISA(+)	WB(+)	WB(-)
03.04.2000/31.12.2000	3906	2	-	2
01.01.2001/31.12.2001	6401	8	3	5
01.01.2002/31.12.2002	8504	7	3	4
01.01.2003/31.12.2003	9459	11	7	4
01.01.2004/31.12.2004	13885	13	4	9
01.01.2005/31.12.2005	16447	16	7	9
01.01.2006/24.11.2006	23699	23	6	17
TOPLAM	82304	80	30	50

len 82304 serum örneğinde HIV 1-2 antikorları araştırıldı. Bu serumlara önce WHO statejileri doğrultusunda öncelikle ELISA uygulanmıştır. Altı yıllık süre içinde sırasıyla Innogenetics HIV1-2 ELISA, Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab/Biomerieux ELISA, AxSYM HIV-1/2/O* [MEIA (Mikropartikül Enzim İmmuno Assay) Abbott], Architect HIV Ag/Ab Combo (Chemiflex teknolojisi, Abbott) EIA kitleri ile çalışılmıştır. Pozitif çıkan örnekler aynı kit ile tekrar çalışılmıştır. Yineleyen pozitiflikler için aynı hastadan 2. kez serum örneği alınıp test edilmiştir. Alınan ikinci örnekle ELISA testi yine pozitif sonuç veren serum örnekleri Western blot testi ile doğrulanmak üzere Sağlık Müdürlüğü Epidemiyoloji Şubesine gönderilmiştir. Burdan gelen Western blot sonucu pozitif olan bireylerin HIV ile gerçekten infekte olduğu kabul edilmiştir.

BULGULAR

Test edilen 82304 serumun 80'i (% 0,097) ELISA ile pozitif bulunmuştur. WB ile doğrulanmış pozitiflerin oranı ise % 0,036'dır. Yıllara göre ELISA ve Western blot pozitiflikleri Tablo 1 de gösterilmiştir.

Pozitif çıkan hastaların yaş ortalaması 36 bulunmuş, yaş aralığı ise 17-53 arasında değiştiği görülmüştür. İnfekte kişilerin çoğu hastalığı nasıl edindiklerini bilmediklerini beyan etmişlerdir. Bulaşma yolunu bildiren kişiler arasında sırasıyla en sık heteroseksüel cinsel ilişki, bi-

seksüel ilişki ve intravenöz ilaç bağımlılığının sorumlu olduğu saptanmıştır.

ELISA testinin pozitif predictive değeri ise % 37'dir.

TARTIŞMA

Amerki Birleşik Devletlerinde 1981'de karışılan ilk vakadan sonra geçen 20 yılı aşkın sürede HIV enfeksiyonunun global epidemiyolojisinde ciddi değişimler olmuştur. Başlangıçta Kuzey Amerika, Batı Avrupa ve Afrika'da Sahra altı bölgede sınırlı olan enfeksiyon artık tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Etkili ve yaygın eğitim programlarının uygulanmaya başlanması, kan ve kan ürünlerinin rutin olarak HIV enfeksiyonu yönünden taranması, antiretroviral ilaçların kullanıma girmesi, fırsatçı enfeksiyonların profilaksi ve tedavilerinin yapılabilmesi sonucunda gelişmiş ülkelerde epidemide değişiklikler gözlenmiştir. Transfüzyonla infekte olan hasta sayısı, kan ürünlerinin test edilmeye başlamasıyla (1985) hızla azalmıştır. İlk 10 yılda erkekler arası homoseksüel ilişki en sık bulaş yoluken günümüzde heteroseksüel ilişki başlıca bulaş yolu haline gelmiştir. İlk vakaların görüldüğü yerler olan Kuzey Amerika ve Avrupa ülkelerinde 1993-1994 yılından beri yeni tanı konan vaka sayısında artış görülmezken, doğu Avrupa ülkelerinde (Rusya federasyonu, Ukrayna gibi), Afrika kıtasında, Hindistan, Tayland gibi ülkelerde vaka sayıları her yıl artmaktadır. Bu farklılığın sebebi gelişmekte olan ül-

kelerin eğitimde yetersizlikleri ve ekonomik olarak güçlü olmamaları ile açıklanmaktadır (1, 2, 6, 7).

Ülkemiz şartları göz önüne alındığında eğitim programlarının yetersiz olması ve hastalık hakkındaki bilgilerin toplumun her kesimine ulaşmasındaki güçlükler nedeni ile HIV büyük bir sorun olmaya başlamaktadır. Türkiye’de ilk vakaya 1985 yılında tanı konmuş ve 1992 yılından bu yana vaka sayısında artış gözlenmiştir. 31 Aralık 1999 tarihinde AIDS basamağında 318, HIV(+) 665, toplam 983 HIV/AIDS vakası bildirilmiştir. Sağlık kayıt sistemlerinin özellikle cinsel yolla bulaşan hastalıklar konusunda yetersiz olması ve hastalığın uzun süren asemptomatik dönemi nedeni ile gerçek rakamların bildirilenden daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (6). Diğer taraftan 2004 yılında toplam 2254 HIV/AIDS vakası UNAIDS’e rapor edilmiş olup ve bu rakama göre Türkiye’nin düşük prevalanslı ülkeler kategorisinde yer aldığı bildirilmiştir (8). AntiHIV hastanemizde ameliyat öncesi bir tarama testi olarak kullanıldığından ve kimi heyet raporları için bakılması zorunlu olduğundan laboratuvarımıza başvuran bireylerin ülkemizdeki toplam nüfusu temsil edebileceğini düşünebiliriz. Bu durumda verilerimize göre pozitiflik oranı olan % 0,036’nın hastalığın prevalansı hakkında fikir verebileceği kanaatindeyiz.

HIV enfeksiyonunun tanısı için çok sayıda tarama ve doğrulama testi geliştirilmiştir. Bugün HIV taramasında hızlı, ekonomik, standartize edilmiş ve güvenilir bir test olan ELISA sıklıkla kullanılmaktadır. ELISA’nın duyarlılığı %93-100 ve özgüllüğü %99 civarındadır (3, 4, 5). Enfeksiyonun tanısında ELISA testinin bazı kısıtlamaları vardır. Serokonversiyondan önce, immun sistemi baskılanmış kişilerde ve AIDS’in son evrelerinde yalancı negatif sonuçlar vermektedir. Yalancı pozitiflikler ise; insan hatası, hemodiyaliz, RPR(+)'liği, otoimmun bozukluklar, Multipl Myeloma, hemofili ve alkolik hepatit gibi durumlarda görülmektedir. Ayrıca bazı test kitleri HIV-1'i saptarken 2'yi saptayamamaktadır. HIV için 1., 2., 3. jeneras-

yon kitler geliştirilmiştir. 2. jenerasyon kitleri sadece Ig G sınıfı antikor saptarken, 3. jenerasyon kitlerde hem IgM hem de IgG sınıfı antikorlar saptanmakta böylece seropozitiflik daha erken dönemde belirlenmektedir. Serokonversiyon oluşuncaya kadar geçen pencere dönemini ortadan kaldırmak amacıyla HIV antijeni bakılması önerilmektedir. Günümüzde HIV 1 ve HIV 2'e karşı antikorlarla birlikte ve HIV antijeni saptayabilen 4. jenerasyon ELISA kitleri mevcuttur (3, 4, 6).

HIV enfeksiyonunun tanısında kullanılan strateji pozitif çıkan ELISA sonuçlarının, yalancı pozitifliği ekarte etmek için önce testin ELISA ile tekrarlanması ve ikinci seferinde de ELISA ile pozitif saptanan örneklerin, World Health Organization (WHO) önerileri doğrultusunda Western blot (WB), immun floresan assay (IFA) veya HIV DNA PCR'ı ile doğrulanması şeklindedir (3, 4, 5). WB HIV'e özgül antikorların saptanması için sık kullanılan özgüllüğü yüksek bir testtir.

Tanıda hiçbir test veya strateji mükemmel değildir. Testlerin limitlerinin biliniyor olması HIV enfeksiyonunun doğru saptanmasının temel güvencesidir. Yanlış tanı, hastalar ve ilişkide olduğu kişiler açısından önemli sonuçlar içerir (4). Laboratuvarımızda AntiHIV belirlenmesi için 4. jenerasyon Ag ilaveli ELISA kitleri kullanılmakta, pozitif çıkan sonuçlar Western blot ile doğrulanmaktadır. Çalışmamızda ELISA ile pozitif bulunan 80 hastanın serumundan yalnızca 30'u Western blot ile de pozitif bulunmuştur. Kuzucu ve arkadaşlarının (9) yaptığı çalışmada da 5 yıllık süre içinde Anti HIV 1-2 pozitif bulunan toplam 4 serum örneği de WB ile negatif bulunmuştur. Aydın Uraz (10) ve arkadaşlarının Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezinde yaptıkları çalışmada ise ELISA ile pozitif bulunan toplam 81 serumun 64'ü hem latex aglutinasyonu hem de WB ile pozitif bulunmuştur. ELISA'nın kuvvetle pozitif olduğu vakalar WB ile de pozitif sonuç verirken EIA ile sınırda pozitif vakalar WB ile negatif sonuç vermiştir.

Sonuç olarak HIV enfeksiyon prevalansı düşük bir toplumda, tek bir tarama testi kullanıldı-

ğında elde edilen pozitif sonuçlar gerçekte infekte olmuş kişileri tam olarak yansıtmaz. Pozitif bulunan sonuçların spesifitesi yüksek ikinci

bir testle doğrulanması gerekir. WB bu amaçla en sık kullanılan testtir.

KAYNAKLAR

1. Michael H. Merson, Peter Piot. Global perspectives on human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. Mandell, Bennett, & Dolin: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed., 2005 Churchill Livingstone, part II, section O, chapter 113.
2. Carlos Del Rio, James W. Curran: Epidemiology and prevention of acquired immunodeficiency syndrome and human immunodeficiency virus infection. In: Mandell, Bennett, & Dolin: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed., 2005 Churchill Livingstone, part II, section O, chapter 114, page 1477.
3. Jörg Schüpbach: Human Immunodeficiency Viruses. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover CF, Tenover RH ed. Manual of Clinical Microbiology, 7 th ed, ASM pres Washington DC, 1999, 847-870.
4. Lisa M. Demeter, Richard C Reichman. Diagnosis of human immunodeficiency virus infection. In: Mandell, Bennett, & Dolin: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed., 2005 Churchill Livingstone, part II, section O, chapter 115, page 1506.
5. Ustaçelebi Ş, Engin D. HIV enfeksiyonu immunopatogenezi ve tanıda kullanılan yöntemler. In: Ünal S (ed.) Modern Tıp Seminerleri:10, Güneş Kitapevi, Ankara 2000, 11-26.
6. Yılmaz G, Özkan E. Retro viruslar. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (ed.) Enfeksiyon Hastalıkları ve mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul 2002, 1322-1340.
7. Ünal S, Tümer A. Dünyada ve Türkiye’de HIV enfeksiyonu epidemiyolojisi. In: Ünal S (ed.) Modern Tıp Seminerleri:10, Güneş Kitapevi, Ankara 2000, 1-10.
8. Peyman Altan. CTBİ konusunda ülkemizde ve dünyada izlenen politikalar.III.Ulusal Chlamydia Enfeksiyonları Simpozyumu kitabı, s80(2006).
9. Kuzucu Ç, Yücel M, Karakoç E, Acar N: SB. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kan Merkezi’ne başvuran donörlerin HBV, HIV, HCV ve Sifiliz tarama testlerinin beş yıllık değerlendirilmesi, Türk Mikrobiyol Cem Derg 31. 250-254, 2001.
10. AydınUraz N, Yılmaz N, Artuk Ç: HIV-1 enfeksiyonunun serolojik tanısında latex aglütinasyon (tarama) ve Western-Blot (Doğrulama) testlerinin uyumluluğu, Türk Mikrobiyol Cem Derg, 26: 134-137, 1996.