

KISA BİLDİRİ:
MİKROPARTİKÜL ENZİM IMMUNOASSAY İLE DÜŞÜK TİTREDE SAPTANAN
ANTI-HCV POZİTİFLİĞİ HEPATİT C VİRUS ENFEKSİYONUNUN
TANISINDA KULLANILABİLİR Mİ?*

SHORT COMMUNICATION:
 LOW POSITIVE ANTI-HCV MICROPARTICLE ENZYME IMMUNOASSAY
 RESULTS: DO THEY PREDICT HEPATITIS C VIRUS INFECTION?

Murat SAYAN**, **Meliha MERİÇ*****, **Birsen MUTLU*****
Suna ÇELEBİ**, **Ayşe WILLKE*****

ÖZET: Hepatit C virusuna (HCV) karşı oluşan antikorları (anti-HCV) tarayan testler, ülkemizin de içinde yer aldığı HCV prevalansının düşük olduğu toplumlarda yalancı pozitif sonuçlar verebilmektedir. Dolayısıyla tanının doğrulanması için oldukça maliyetli bir test olan HCV RNA yöntemlerine gereksiz yere başvurulmak zorunda kalınmaktadır. HCV RNA, eşik değere yakın düşük anti-HCV pozitifliklerine her zaman eşlik etmemektedir. Bu retrospektif çalışmada, düşük anti-HCV S/Co (signal to cutoff) değerlerine sahip olgularda, HCV RNA pozitifliğinin sıklığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, Haziran 2002-Kasım 2005 tarihleri arasında mikropartikül enzim immunoassay (MEIA; v 3.0, AxSYM System, Abbott Laboratories, ABD) yöntemiyle anti-HCV ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR; iCycler IQ, v 3.0a, Bio Rad Laboratory, ABD) ile HCV RNA testleri çalışılmış olan 655 olgu değerlendirilmiştir. Olguların 368'inde (%56) anti-HCV pozitif olarak saptanmış, ancak anti-HCV S/Co değeri 3.8'in (eşik değer: 1.0 S/Co) altında olan hastaların hiçbirisinde HCV RNA varlığı belirlenememiştir. Sonuç olarak, MEIA yöntemi ile düşük ve/veya eşik değere yakın düzeylerde anti-HCV pozitifliğinin saptanması halinde; sonucun doğrulanması için PCR ile HCV RNA araştırılmasından önce, immün blot yöntemlerinin kullanılması, serumun başka bir enzim immunoassay ile çalışılması ya da hastadan alınan yeni bir örneğin çalışılması gibi seçeneklere başvurulması daha uygun ve ekonomik olacaktır.

Anahtar sözcükler: Hepatit C virus, anti-HCV, mikropartikül enzim immunoassay, HCV RNA, PCR.

* Bu çalışma, 2. Ulusal Viroloji Kongresi'nde (13-17 Eylül 2005, Antalya) poster olarak sunulmuştur.

** Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Merkez Laboratuvarı, Kocaeli.

*** Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyojoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Kocaeli.

ABSTRACT: Antibody screening tests for hepatitis C virus (anti-HCV) can yield false positive results among populations such as Turkey, with a low prevalence of HCV infection. This may lead to the unnecessary use of expensive tests like HCV RNA for confirmation. However, HCV RNA is not always positive in samples with low S/Co (signal to cutoff) ratios. This retrospective study was conducted to determine the frequency of HCV RNA positivity in the samples with low anti-HCV levels. A total of 655 patients who were positive for anti-HCV by microparticle enzyme immunoassay (MEIA; v 3.0, AxSYM System, Abbott Laboratories, USA) and positive for HCV RNA by real-time polymerase chain reaction (PCR; iCycler IQ, v 3.0a, Bio Rad Laboratory, USA) between June, 2002 and November, 2005 were evaluated. Anti-HCV positivity was found in 368 (56%) patients and HCV RNA was not detected in samples with S/Co ratios lower than 3.8. As a result, for the confirmation of the samples yielding low and/or indeterminate grey zone anti-HCV levels, immunoblot methods, retesting of the same sample with another enzyme immunoassay or testing of a new sample, would be appropriate and economical prior to use of HCV RNA tests.

Key words: Hepatitis C virus, anti-HCV, microparticle enzyme immunoassay, HCV RNA, PCR.

G İ R İ Ş

Hepatit C virusuna (HCV) karşı oluşan antikorların (anti-HCV) tarama amaçlı olarak araştırılmasında, 1990 yılından bu yana mikro ve/veya makro enzim immunoassay (ELISA) yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır¹. Ancak anti-HCV tarama testleri, ülkemizin de içinde yer aldığı HCV prevalansının düşük (<%3) olduğu toplumlarda yalancı pozitif sonuçlar verebilmektedir²⁻⁴. Bu nedenle bir çok laboratuvar, rekombinant immunoblotting (RIBA) ya da polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testlerini HCV enfeksiyonunun laboratuvar tanısında doğrulama testi olarak kullanmaktadır^{2,5,6}. RIBA yöntemi, her ne kadar yalancı pozitif sonuçların doğrulanmasında önem taşımakta ise de, tarama testlerinde kullanılan proteinlerin benzerlerinin kullanılması nedeniyle anti-HCV pozitifliğinin değerlendirilmesinde yeri olmadığına dair düşünceler de mevcuttur⁷⁻⁹. Öte yandan oldukça maliyetli bir yöntem olan PCR ile HCV RNA araştırılması, gereksiz olarak kullanılabilir, zira HCV RNA varlığı, eşik değere yakın ve/veya çok düşük anti-HCV pozitifliklerine çoğu zaman eşlik etmemektedir^{2,5,10}.

Bu çalışmada, düşük anti-HCV düzeyine sahip olgularda, HCV RNA'nın hangi sıklıkta pozitif olarak saptanabildiğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Haziran 2002-Kasım 2005 tarihleri arasında Merkez Laboratuvarı bünyesinde bulunan Seroloji ve PCR birimlerimizde 31.993 anti-HCV testi mikropartikül enzim immunoassay (MEIA; v 3.0, AxSYM System, Abbott Laboratories, IL, ABD) yöntemi ile, 1.847 HCV RNA testi de gerçek zamanlı PCR (iCycler IQ, v 3.0a - Bio Rad Laboratory, ABD) yöntemi ile çalışıldı. Bunlar arasında, hem anti-HCV hem de HCV RNA test sonuçlarının olduğu 368 kişi retrospektif olarak değerlendirildi.

Anti-HCV sonuçları üretici firmanın önerilerine göre, S/Co (signal to cutoff) >1 ise pozitif olarak kabul edildi. HCV RNA yükleri, 10^2 - 10^7 IU/ml aralığında lineer olan ve analitik duyarlılığı 50 IU/ml olan "Fluorion HCV QNP 2.1" kiti ile elde edildi.

BULGULAR

MEIA ile elde edilen anti-HCV düzeyleri ile HCV RNA pozitiflikleri Tablo I'de verilmiştir. Buna göre HCV RNA pozitifliği; MEIA'da en düşük 3.01-4.00 S/Co aralığında saptanırken, bu değerin altında kalan anti-HCV pozitif 59 olgunun hiç birinde saptanmamıştır.

Tablo I: Anti-HCV Düzeylerine Göre HCV RNA Pozitifliği

Anti-HCV S/Co Değeri (n)	HCV RNA pozitifliği n (%)
1.0–2.0 (38)	–
2.1–3.0 (21)	–
3.1–4.0 (7)	1 (14)*
4.1–8.0 (16)	1 (6)
8.1–20.0 (15)	5 (33)
>20.1 (271)	184 (68)
Toplam (368)	191 (52)

* Bu olgunun anti-HCV S/Co değeri 3.8 olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Anti-HCV saptanmasında kullanılan MEIA, S/Co niteliğinde kantitatif absorbans değerleri veren oldukça duyarlı (%99.8) ve uygun bir tarama yöntemidir¹¹. Dufour ve arkadaşları¹⁰ yaptıkları bir araştırmada, S/Co ≤ 3.7 değerinin, düşük ve yüksek pozitif anti-HCV titrelerini ayırmada uygun bir eşik değeri olduğunu belirtmektedir. CDC (Centers for Disease Control and Prevention)'nin anti-HCV laboratuvar testleri kılavuzunda, S/Co değerinin 8.0'in üzerinde olduğu durumda, sonucun herhangi bir ek teste gereksinim duyulmadan pozitif olarak verilmesi önerilmektedir². Oethinger ve arkadaşlarına⁵ göre anti-HCV S/Co değeri ≤ 5.0 olan olgularda HCV enfeksiyonuna rastlanmamaktadır. Öte yandan HCV RNA pozitiflik sıklığı, anti-HCV düzeyi yükseldikçe (>8.0 S/Co) artmaktadır.

Düşük pozitif anti-HCV sonuçlar sıklıkla yalancı pozitif sonuçlar olarak karşımıza çıkmaktadır^{2,7,10}. Bunun nedenleri arasında; influenza aşılması, diyalize girme, kişilerdeki heterofil antikor çeşitliliği gibi faktörler ileri sürülmekle birlikte özgül bir risk faktörü tanımlanmamıştır^{10,12}. Yapılan uzun dönemli çalışmalarda, önceden HCV enfeksiyonu geçiren bireylerin, vireminin ortadan kalkmasından uzun yıllar sonra düşük anti-HCV düzeylerine sahip olabileceği belirtilmektedir^{13,14}.

Çalışmamızda MEIA ile anti-HCV S/Co değeri 3.8'in altında saptanan hastalarda HCV RNA pozitifliğinin saptanmayışı, düşük titredeki değerlerin HCV enfeksiyonu tanısında çok yararlı olmayacağını düşündürmektedir. Ancak nadiren de olsa, düşük titre (<4.0 S/Co) anti-HCV pozitifliği olan ve HCV enfeksiyonunun

klirik ve biyokimyasal bulgularla desteklenmediği durumlarda bile HCV-RNA pozitifliğinin saptanabileceğinin ifade edilmesi (yayınlanmamış bilgi) nedeniyle, yalancı pozitifliklerin desteklenmesi gereklidir. Bu amaçla RIBA yönteminin kullanılması yanı sıra, serumun başka bir mikroELISA kiti ile çalışılması, hastadan yeni bir serum örneği istenmesi ya da iki hafta sonra alınan yeni bir serum örneğinin çalışılması gibi seçenekler uygulanabilir. Sonuç olarak, klinik HCV enfeksiyon bulgusu olmayan, karaciğer enzim düzeyleri normal olan, bulaş için riskli bir öykü vermeyen ancak RIBA ile "indeterminate" sonuç veren ve anti-HCV'nin ısrarla düşük pozitif saptandığı hastalarda PCR ile HCV RNA araştırılması en son olasılık olarak düşünölmelidir.

KAYNAKLAR

1. Centers for Disease Control and Prevention. Public health service inter-agency guidelines for screening donors of blood, plasma, organs, tissues, and semen for evidence of hepatitis B and hepatitis C. MMWR 1991; 40 (RR4): 1-17.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus (anti-HCV). MMWR 2003; 52 (RR3): 1-13.
3. Hyams KC, Riddle J, Rubertone M, et al. Prevalence and incidence of hepatitis C virus infection in the US military: a seroepidemiologic survey of 21,000 troops. Am J Epidemiol 2001;153: 764-70.
4. Moyer LA, Mast EE, Alter MJ. Hepatitis C: Part I. Routine serologic testing and diagnosis. Am Fam Phys 1999; 59: 1-12.
5. Oethinger M, Mayo DR, Falcone JA, Barua PK, Griffith BP. Efficiency of the ortho VITROS assay for detection of hepatitis C virus-specific antibodies increased by elimination of supplemental testing of samples with very low sample-to-cutoff ratios. J Clin Microbiol 200; 43: 2477-80.
6. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Recommendations and Reports. MMWR 2003; 52(RR03): 1-16.
7. Pawlotsky JM, Lonjon I, Hezode C, et al. What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories? Hepatology 1998; 27: 1700-2.
8. Lok AS, Gunaratnam NT. Diagnosis of hepatitis C. Hepatology 1997; 26: 48-56.
9. Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB. Diagnosis and monitoring of hepatic injury: I. Characteristics of laboratory tests. Clin Chem 2000; 46: 2027-49.
10. Dufour DR, Talastas M, Fernandez MDA, Harris B, Strader DB, Seeff LB. Low-positive anti-hepatitis C virus enzyme immunoassay results: an important predictor of low likelihood of hepatitis C infection. Clin Chem 2003; 49: 479-86.
11. Bossi V, Galli C. Quantitative signal of anti-HCV by an automated assay predicts viremia in a population at high prevalence of hepatitis C virus infection. J Clin Virol 2004; 30: 45-9.
12. MacKenzie WR, Davis JP, Peterson DE, Hibbard AJ, Becker G, Zarvan BS. Multiple false-positive serologic tests for HIV, HTLV-1, and hepatitis C following influenza vaccine, 1991. JAMA 1992; 268: 1015-7.
13. Rodger AJ, Roberts S, Lanigan A, Bowden S, Brown T, Crofts N. Assessment of long-term outcomes of community-acquired hepatitis C infection in a cohort with sera stored from 1971-1975. Hepatology 2000; 32: 582-7.
14. Seeff LB, Hollinger FB, Alter HJ, et al. Long-term mortality and morbidity of transfusion-associated non-A, non-B hepatitis and type C hepatitis: a national heart, lung, and blood institute collaborative study. Hepatology 2001; 33: 455-63.