

HBsAg Nötralizasyon Testinin Hepatit B Hastalığının Tanı Algoritmasındaki Yeri ve Önemi

The Significance and Place of HBsAg Neutralization Test in the Diagnosis and Algorithm of Hepatitis B Infection

Özlem AYTAÇ¹, Alparslan TOYRAN¹, Altan AKSOY¹

¹ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara.

¹ Ankara Numune Training and Research Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 06.01.2017 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 08.03.2017

ÖZ

Hepatit B virusu (HBV) enfeksiyonunun tanısı serolojik, virolojik, biyokimyasal ve karaciğerin histolojik göstergeleri ile değerlendirilmektedir. Bu çalışmanın amacı, HBsAg nötralizasyon testinin hepatit B enfeksiyonu tanı algoritmasındaki yeri ve önemini araştırmaktır. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Eylül 2014-Mayıs 2016 tarihleri arasında HBsAg testi için gelen venöz kan örneklerinden her bir hasta için reaktif olduğu kabul edilen (≥ 0.9 S\CO) ve sınır değer olarak kabul ettiğimiz ($0.9 \leq S\CO \leq 30$) serum örnekleri iki kez çalışılmıştır. İki çalışmada da reaktif olan toplam 105 hastaya ait örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Bu örnekler laboratuvarımızda rutin olarak uygulanan nötralizasyon konfirmasyon testi ile değerlendirildikten sonra, örnekler uygun koşullarda saklanarak HBV DNA için gerçek zamanlı PCR testi ve HBeAg, anti-HBeAg, anti-HBc IgM, anti-HBc total antikor testleri ELISA ile çalışılmıştır. HBsAg tespit edilen 105 örnek nötralizasyon testi ile çalışılmıştır. HBsAg varlığı 105 örnekten 67 (%63.8)'inde nötralizasyon testi ile doğrulanmış ve nötralizasyon testi pozitif 67 hastadan HBV DNA'sı ve anti-HBc total antikor testi negatif olan 2 (%2.3) (yalancı pozitif nötralizasyon testi) hasta tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 105 örnekten 78 (%74.3)'inde anti-HBc total antikor testi pozitif tespit edilmiştir. Ancak anti-HBc total antikor testi pozitif 78 hastadan nötralizasyon testi ve HBV DNA'sı negatif olan 13 (%16.7) (yalancı pozitif anti-HBc total testi) hasta bulunmuştur. HBsAg değeri 5 S\CO'dan küçük veya eşit olan örneklerde HBV DNA pozitifliğinin HBsAg 5 S\CO'dan büyük olan örneklerle göre daha az oranda olduğu istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir ($p=0.020$). Çalışmamızda kullanılan nötralizasyon testinin birim fiyatı 17,00 TL iken, HBV DNA'nın birim fiyatının 55,00 TL olduğu saptanmıştır. Hasta bazında nötralizasyon testi HBV DNA testi yerine tercih edildiğinde 38,00 TL gibi bir kazanç sağlanmaktadır. HBsAg titresi 5 S\CO'dan küçük ya da eşit iken doğrulama testi olarak nötralizasyon testinin kullanılması, HBV DNA çalışılmasına gerek kalmadan test maliyetini oldukça düşüreceği saptanmıştır. HBsAg değeri 5 S\CO'dan büyük olan örneklerde nötralizasyon testi negatif bulunduğu anti-HBc total antikor sonucu da negatif tespit edilirse HBV DNA'ya ihtiyaç duymadan sonuç verilebileceği düşünülmüştür. Ancak nötralizasyon testi negatif iken anti-HBc total antikor testi

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Özlem Aytaç, Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Elazığ, Türkiye.
Tel (Phone): +90 506 388 9345, E-posta (E-mail): ozlemozlem5@hotmail.com

pozitif tespit edilirse, anti-HBc total antikor ve nötralizasyon test sonuçlarındaki uyumsuzluğu ortadan kaldırmak için HBV DNA çalışması gerekmektedir. Çalışmamızda aynı zamanda, anti-HBc total antikor testinin yalnızca pozitifliğini (%16.7) yüksek tespit ettiğimiz için tarama testi olarak HBsAg ile birlikte anti-HBc total antikor testinin kullanılmasının bir üstünlük getirmediği tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler: HBsAg; HBsAg nötralizasyon testi; anti-HBc total.

ABSTRACT

The diagnosis of hepatitis B virus infection is evaluated serologically, virologically, biochemically, and with histologic liver indicators. The aim of this study was to investigate the place and significance of the HBsAg neutralization test in the diagnostic algorithm for hepatitis B infection. From the venous blood samples sent to Ankara Numune Education and Research Hospital Medical Microbiology Laboratory between September 2014 and May 2016 for HBsAg test, serum samples regarded each patient as reactive ($\geq 0.9 S/CO$), $9 \leq S \leq CO \leq 30$) were studied twice. A total of 105 samples which were reactive in both analyses were included in the study. After the evaluation of these samples by neutralization confirmation test, which is routinely performed in our laboratory, the samples were stored under optimal conditions and studied for HBV DNA with the real-time PCR and for HBeAg, anti-HBeAg, anti-HBc IgM, and anti-HBc total antibody assays by ELISA. The 105 samples, in which HBsAg was detected, were analyzed with the neutralization test. The presence of HBsAg was confirmed by neutralization test in 67 of 105 samples (63.8%), and of these patients, two patients (2.3%) had negative HBV DNA and anti-HBc total antibody test (false positive neutralization test). Of the 105 samples included in the study, the anti-HBc total antibody test was positive in 78 patients (74.3%). However, out of these 78 patients who were positive for the anti-HBc total antibody test, there were 13 patients (16.7%) with negative neutralization and HBV DNA test results (false positive anti-HBc total antibody test). The HBV DNA positivity was detected significantly lower in samples with HBsAg level $\leq 5 S/CO$ compared to the samples with HBsAg level $> 5 S/CO$ ($p = 0.020$). Also, if the unit price of the neutralization test used in our study was considered, the cost was 17,00 TL while the unit price of HBV DNA test was 55,00 TL. Utilization of the neutralization test instead of HBV DNA test provides a saving of 38,00 TL per patient. The use of the neutralization test as a validation test when the HBsAg titre was less than or equal to 5S/CO will significantly reduce the cost of the test without the need for HBV DNA test. We suggest that if both the neutralization test and the anti-HBc total antibody test is negative in a sample with an HBsAg titration higher than 5 S/CO, the decision can be made without the need for HBV DNA test. However; if the neutralization test is negative, but the anti-HBc total antibody test is positive, then HBV DNA needs to be determined to eliminate the inconsistency between neutralization and anti-HBc total antibody assays. At the same time, we found that the use of anti-HBc total antibody test along with HBsAg as a screening test did not provide any advantage since the anti-HBc total antibody test was detected to have a high false positivity (16.7%) rate.

Keywords: HBsAg; HBsAg neutralization test; anti-HBc total.

GİRİŞ

Hepatit B virusu (HBV), Hepadnaviridae ailesi üyesi, küçük bir DNA virusudur¹. HBV, kanda yüksek konsantrasyonda bulunmakta; ayrıca semen, vajinal salgılar ve diğer vücut sıvılarında da bulunabilmektedir. HBV enfeksiyonu kendini sınırlayabildiği gibi kronikleşebilmektedir. Kronik enfeksiyon riski virusun insanlara bulaştığı yaş ile ilgilidir ve küçük çocuklarda yüksek seviyede görülmektedir. Enfekte bebeklerin yaklaşık %90'ında ve 1-5 yaş arası çocukların %25-50'sinde enfeksiyon kronikleşmektedir. Erişkinlerin ise %95'i tamamen iyileşmekte ve kronikleşme olmamaktadır².

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2016 verilerine göre; dünya genelinde ortalama 240 milyon insan kronik hepatit B hastasıyken, her yıl 686.000'den fazla kişi siroz ve karaciğer kanseri de dahil olmak üzere hepatit B'nin komplikasyonlarından dolayı hayatını kaybetmektedir³.

Hepatit B taşıyıcıların prevalansı dünya üzerinde düşük ($< \%2$), orta ($\%2-7$) ve yüksek ($\geq \%8$) olmak üzere üç grupta sınıflandırılmaktadır. Türkiye $\%2-7$ ile orta prevalans bölgesinde yer almaktadır^{4,5}.

Türkiye'de 20 milyon kişinin HBV ile karşılaştığı ve 3.5-4 milyon taşıyıcının bulunduğu, 500.000-1.000.000 arasında kronik hepatit B'li hastanın var olduğu düşünülmektedir. Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği tarafından 2008-2011 yılları arasında ülkemizde gerçekleştirilen TURK-HEP çalışmasında HBsAg (hepatit B yüzey antijeni) pozitifliği $\%4$, hepatit B kor total antikoru (anti-HBc) pozitifliği $\%30.6$, hepatit B surface yüzey antikoru (anti-HBs) pozitifliği ise $\%32$ olarak saptanmıştır⁵. Karaciğer kanseri olgularının $\%60-80$ 'i HBV ile ilişkilidir⁶. HBV enfeksiyonu, ülkemizde karaciğer hastalıklarının nedenlerinin başında gelmektedir. Bu virusa bağlı olarak gelişen akut hepatit, fulminan hepatit, kronik hepatit, karaciğer sirozu ve hepatoselüler kanser (HSK) gibi hastalıklar, ülkemizin sağlık sorunları arasında önemli yer tutmaktadırlar^{7,8}.

HBV enfeksiyonunun tanısı serolojik, virolojik, biyokimyasal ve karaciğerin histolojik göstergeleriyle değerlendirilmektedir⁹. Bu çalışmanın amacı HBsAg nötralizasyon testinin hepatit B enfeksiyonunun tanı algoritmasındaki yeri ve önemini araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Eylül 2014-Mayıs 2016 tarihleri arasında HBsAg ELISA testi çalışması için gelen venöz kan örneklerinden, yapılan ilk çalışmada kit prosedürlerine göre pozitif olan (≥ 0.9 S/CO) fakat sınır değer olarak kabul ettiğimiz düşük pozitif ($0.9-30$ S/CO) HBsAg tespit edilmiş, aynı serum ile yapılan ikinci çalışmada tekrar düşük pozitif sonuç elde edilen 105 örnek dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen örneklerde nötralizasyon testi çalışıldıktan sonra HBV DNA, HBeAg, anti-HBeAg, anti-HBc IgM ve anti-HBc total antikor çalışılmak üzere -80°C 'de saklandı.

Çalışmamızda HBsAg (DiaSorin, MurexHBsAgVersion 3, İtalya), HbeAg (DiaSorin, ETI-EBK PLUS, İtalya), anti-HBc IgM (DiaSorin, ETI-CORE-IGMK PLUS, İtalya) testleri ETI-Max 3000 cihazı kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda ELISA testi yapılarak kalitatif olarak tespit edildi. Anti-HbeAg (DiaSorin, ETI-AB-EBK PLUS, İtalya), anti-HBc total antikor (DiaSorin, ETI-AB-COREK PLUS, İtalya) testleri ETI-Max 3000 cihazı kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda yarışmalı ELISA testi kullanılarak kalitatif olarak tespit edildi.

Nötralizasyon doğrulama testi için HBsAg'ye özgü antikor ile (nötralizasyon reaktif) nötralizasyon prensibinden yararlanan Access HBsAg Confirmatory test (Beckman Coulter, ABD) kullanıldı. Sistem yazılımı tarafından otomatik olarak belirlenen hasta test sonuçları kullanıldı. Örnek pozitifliğinin doğrulanması Access sistemi tarafından gerçekleştirilen hesaplamalar 1.0 veya daha üzeri bir S/CO oranı ve $\%40$ ya da üzeri bir inhibisyon yüzdesinin saptanmasına göre kabul edildi.

HBV DNA izolasyonu QIAGEN-QIAasyphony cihazı ile Artus HBV QS-RGQ kitiyle kombinasyon halinde bulunan QIAasyphony DSP Virus/Pathogen Midi Kiti kullanılarak yapıldıktan sonra, HBV DNA'nın 134 bp'lik kor bölgesini hedefleyen ArthusHBV QS- RGQ Kit (Qiagen, Almanya) ile gerçek zamanlı PCR cihazında (ROTOR GENE Q, ORBETT ResearchPtyLtd, Avusturya) üretici firma önerilerine uygun olarak HBV DNA kantitatif tespiti yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Değerlendirmede ki-kare testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil ettiğimiz 38 (%36.2)'i kadın, 67 (%63.8)'si ise erkek hastaya ait 105 örneği ilk çalışmada elde ettiğimiz HBsAg testi S/CO değerlerine göre $S/CO \leq 5$, $5 < S/CO \leq 10$, $10 < S/CO < 20$, ≥ 20 olmak üzere dört grupta incelenmiştir.

Nötralizasyon testi ile HBsAg'leri pozitif bulunan 105 örnekten 67 (%63.8)'sinde HBsAg varlığı doğrulanmıştır. HBsAg pozitif tespit edilen örneklerde HBsAg titresi arttıkça nötralizasyon testinin pozitiflik oranındaki artış istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir ($p = 0.001$). Örneklerin hepsinin HBeAg ve anti-HBc IgM test sonuçları negatif iken anti-HBe antikor 73 (%69.5) örnekte pozitif olarak tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 105 örnekten 78 (%74.3)'ünde anti-HBc total antikor pozitif olarak tespit edilmiştir.

HBsAg'leri pozitif olarak tespit edilen örneklerde HBsAg titresi arttıkça anti-HBc total antikor pozitifliğiindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p = 0.024$).

Gerçek zamanlı PCR ile 105 örneğin 23 (%21.9)'ünde HBV DNA pozitifliği tespit edilmiştir. HBV DNA'sı pozitif 23 hastadan 22'sinde HBV DNA'sının düşük düzeyde (< 1000 kopya/ml) pozitif olduğu saptanmıştır.

HBsAg değeri 5 S/CO'dan küçük veya eşit olan örneklerde HBV DNA pozitifliğinin HBsAg 5 S/CO'dan büyük olan örneklerle göre daha az oranda olduğu istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir ($p = 0.020$). HBV DNA sonucu negatif olarak saptanan 82 örnekten 42 (%51.2)'sinin nötralizasyon, anti-HBc total antikor ve anti-HBe antikor testleri pozitif olarak tespit edilmiştir.

Anti-HBc total antikor ve nötralizasyon testlerini birlikte değerlendirdiğimizde anti-HBc total antikor testi pozitif 78 hastadan 56 (%71.8)'sinin HBV DNA'sı negatif tespit edilirken nötralizasyon testi pozitif olan 67 hastadan 45 (%67.2)'inin HBV DNA'sı negatif olarak tespit edilmiştir. Anti-HBc total antikor testi pozitif olup DNA'sı negatif olan 56 hastadan 28 (%50)'ünde HBsAg titresi 5 S/CO'dan küçük veya eşit olarak tespit edilmiştir (Tablo I).

Nötralizasyon testi pozitif 67 hastadan, HBV DNA'sı ve anti-HBc total antikor testi negatif (yalancı pozitif) olan 2 (%2.3) hasta saptanmıştır. Ancak anti-HBc total antikor testi pozitif 78 hastadan nötralizasyon testi ve HBV DNA'sı negatif olan 13 (%16.7) hasta tespit edilmiştir (yalancı pozitif anti-HBc total). Anti-HBc total antikor test sonucu yalancı pozitif olarak tespit edilen 13 hastanın 11 (%84.6)'inde ise HBsAg titresinin 5 S/CO'dan

Tablo I. HBsAg Pozitif Hastaların Nötralizasyon, Anti-HBc Total ve HBV DNA Testi Sonuçları

HBsAg(+)	Nötralizasyon testi				Anti-HBc total			
	Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	HBV DNA (+)	HBV DNA (-)	HBV DNA (+)	HBV DNA (-)	HBV DNA (+)	HBV DNA (-)	HBV DNA (+)	HBV DNA (-)
S/CO ≤ 5	5	17	0	30	5	28	0	19
5 < S/CO ≤ 10	6	11	1	4	6	10	1	5
10 < S/CO < 20	9	11	0	3	9	12	0	2
≥ 20	2	6	0	0	2	6	0	0
Toplam	22	45	1	37	22	56	1	26

küçük veya eşit olduğu görülmüştür. Nötralizasyon testinin ise HBsAg titresi 5 S/CO'dan küçük veya eşit iken yalancı pozitif sonuç vermediği saptanmıştır. Çalışmamızda yalancı pozitif nötralizasyon testi yüzdeleri hesaplanırken hastaların anti-HBc total antikor ve HBV DNA test sonuçlarının birlikte negatif sonuç vermesi, yalancı pozitif anti-HBc total antikor testi yüzdeleri hesaplanırken ise nötralizasyon testi ve HBV DNA test sonuçlarının birlikte negatif sonuç vermesi esas alınmıştır (Tablo II).

Nötralizasyon testi negatif olup anti-HBc total antikor testi pozitif olan 14 örnekten 13 (%92.8)'ünde HBV DNA negatif olarak tespit edilirken, 11 (%84.6)'inde HBsAg düşük pozitif (5 S/CO'dan küçük veya eşit) olarak tespit edilmiştir. Hem nötralizasyon testi hem de anti-HBc total antikor testi negatif olan hastaların tümünde HBV DNA varlığı saptanmamıştır.

Çalışmamızda kullanılan nötralizasyon testinin birim fiyatı 17,00 TL iken HBV DNA testi birim fiyatının 55,00 TL olduğu belirlenmiştir. Hasta bazında nötralizasyon testi HBV DNA testi yerine tercih edildiğinde 38,00 TL gibi bir kazanç sağlanmaktadır.

TARTIŞMA

Hepatit B enfeksiyonları, insanlığın en önemli enfektif hastalıklarından biridir. Karaciğer kanseri ve siroz nedeniyle yılda yaklaşık 800.000 ölüme neden olduğu tahmin edilmektedir¹⁰.

Tablo II. HBsAg Pozitif Olan Hastalarda; Nötralizasyon, Anti-HBc Total Antikor, anti-HBe Antikor ve HBV DNA Testi Pozitif Tespit Edilen Hasta Sayısı ve Yüzdeleri

	HBsAg	Nötralizasyon Sayı (%)	Anti-HBc total Sayı (%)	Anti-HBe Sayı (%)	HBV DNA Sayı (%)
S/CO ≤ 5	52	22 (42.3)	33 (63.5)	30 (58.0)	5 (9.6)
5 < S/CO ≤ 10	22	17 (77.3)	16 (72.7)	16 (72.7)	7 (31.8)
10 < S/CO < 20	23	20 (87.0)	21 (91.3)	19 (82.6)	9 (39.1)
S/CO ≥ 20	8	8 (100)	8 (100)	8 (100)	2 (25.0)
Toplam	105	67 (63.8)	78 (74.3)	73 (69.5)	23 (21.9)

HBV'ye ait antijenlerin veya antikorların hasta serumunda saptanmasını sağlayan serolojik testler, enfeksiyonun hangi evrede olduğunu belirlemede ve enfektivitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır¹¹. Hepatit B enfeksiyonu tanı yöntemleri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler ile arasında ve hepatit B'nin düşük ve yüksek seviyede endemik olduğu ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. ABD gibi bazı gelişmiş ülkelerde devam eden hepatit B enfeksiyonu tanısı HBsAg ve nötralizasyon testleriyle konulmaktadır. Hepatit B enfeksiyon oranının düşük olduğu (< %3) gelişmiş ülkelerde böyle bir uygulama mümkün olabilmektedir^{12,13}.

2016 yılında yayınlanan ulusal kan ve kan bileşenleri rehberi HBsAg tarama testinde tekrarlayan reaktiflik saptanan numunelerin örneklerin doğrulanması için HBsAg nötralizasyon testi yapılması ya da tarama testinde reaktif HBsAg sonuçlarının anti-HBc total testi ile değerlendirilmesini bu testin iki çalışmada reaktif tespit edilmesi durumunda sonucun pozitif olarak bildirilmesi ancak anti-HBc total antikor testinin reaksiyon vermesi durumunda bu örnekten tekrar nötralizasyon testi çalışılarak sonucun doğrulanması gerektiğini önermektedir^{14,15}.

Çalışmamızda HBsAg değeri 5 S/CO'dan küçük ya da eşit olup, nötralizasyon testini negatif tespit ettiğimiz 30 (%57.7) hastadan 11 (%36.7)'inin anti-HBc total antikor testi pozitif bulundu. Bu hastaların HBV DNA'sı ise negatif olarak tespit edildi. HBsAg değeri 5 S/CO'dan küçük ya da eşit olduğunda nötralizasyon testi pozitif bulunan 22 (%42.3) örneğin tamamının anti-HBc total antikor testlerinin de pozitif olduğu görüldü. Çalışmamız verilerine dayanarak özellikle HBsAg titresi 5 S/CO'dan küçük ya da eşit iken nötralizasyon testinin anti-HBc total antikor ve HBV DNA testleri ile doğrulamaya gerek kalmadan tek başına HBsAg pozitifliğini doğrulamak için kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Ancak çalışmamıza dahil ettiğimiz HBsAg'nin 5 S/CO'dan büyük olan örneklerin nötralizasyon, anti-HBc total antikor ve HBV DNA test sonuçlarını incelediğimizde nötralizasyon testi negatif 8 hastadan 5 (%62.5)'inin anti-HBc total antikor ve HBV DNA testleri negatif tespit edildi. Buna karşılık 8 hastadan 3 (%37.5)'ünde ise anti-HBc total antikor testi pozitif tespit edilmiş iken birinde HBV DNA'nın pozitif olduğu görülmüştür. HBsAg değeri 5 S/CO'dan büyük olan örneklerde nötralizasyon testi negatif iken anti-HBc total antikor sonucu da negatif tespit edilirse HBV DNA'ya ihtiyaç duymadan sonuç verilebileceği ancak nötralizasyon testi negatif iken anti-HBc total antikor pozitif tespit edildiğinde anti-HBc total antikor ve nötralizasyon test sonuçlarındaki uyumsuzluğu ortadan kaldırmak için HBV DNA çalışılması gerektiğini düşünmekteyiz.

"Centers for Disease Control and Prevention (CDC)", HBsAg pozitif test sonuçlarının gerçek pozitif olma ihtimalini değerlendirmek için HBV enfeksiyonunun diğer serolojik belirteçlerinin (anti-HBc total antikor, anti-HBc IgM, HBV DNA gibi) kullanılabileceğini ancak pozitif bulunan HBsAg test sonuçlarının bir doğrulama testi ile (örn. nötralizasyon testi) kontrol edilmesini önermektedir¹⁶. O'Brien ve arkadaşlarının¹⁷ yaptığı çalışmada yalnızca zayıf pozitif (S/CO < 5) HBsAg EIA test sonuçlarının nötralizasyon testi ile daha ayrıntılı değerlendirilmesi önerilmektedir. Bizim çalışmamızda da HBsAg sonucu 5 S/CO'dan küçük ya da eşit olan 52 örnekten 30 (%57.7)'unun doğrulama testi negatif bulunurken, bu hastaların HBV DNA sonuçlarına baktığımızda hepsinin HBV DNA'sının negatif sonuç

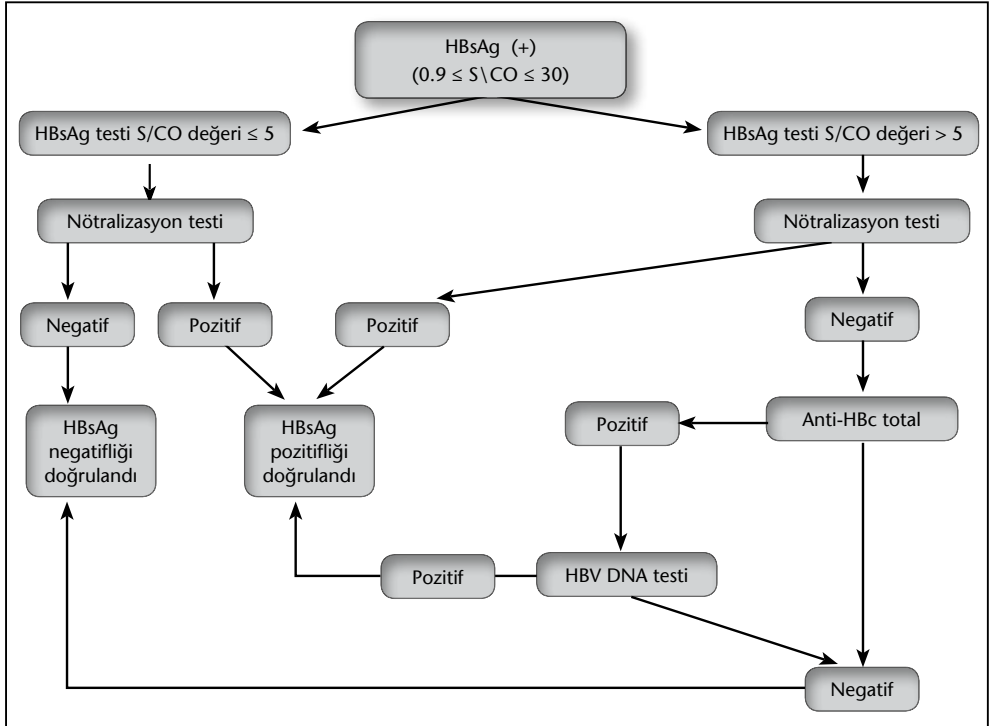
verdiği görülmektedir (yalancı pozitif HBsAg). Çalışmamızda HBsAg 5 S/CO'dan küçük ya da eşit olduğunda nötralizasyon testinin doğrulama oranını %42.3, S/CO oranı $5 < S/CO \leq 10$, $10 < S/CO < 20$ ve ≥ 20 olduğunda sırasıyla nötralizasyon testinin doğrulama oranlarının %77.3, %87.0, %100.0 olduğu bulunmuştur. Özellikle S/CO oranı 5'ten küçük olan örneklerde nötralizasyon testi yapılarak yalancı pozitif HBsAg sonuçlarının saptanarak, hastalarda yanlış pozitif sonuçlara bağlı oluşacak anksiyetenin önüne geçileceği, test karmaşasını ortadan kaldırarak sonuç verme süresini kısaltırken aynı zamanda gereksiz HBV DNA çalışılmasını engelleyeceği ve maliyeti azaltacağı düşüncesindeyiz. Ayrıca çalışmamızda kullanılan nötralizasyon testinin birim fiyatı 17,00 TL iken, HBV DNA'nın birim fiyatı 55,00 TL olarak saptanmıştır. Hasta bazında nötralizasyon testinin HBV DNA testi yerine tercih edilmesi durumunda 38,00 TL kar sağlanmaktadır.

Shao ve arkadaşlarının¹⁸ 2012 yılında yapmış olduğu bir çalışmada, 144 örnekte başlangıç eşik değeri 0.9-10 olan 85 (%59.0) örneğin doğrulama testleri sonucu pozitif, başlangıç eşik değeri 1.0-4.0 arasında olan 59 (%41.0) örneğin doğrulama testleri sonucu ise negatif olarak tespit edilmiştir. Çalışmalarında ilk test sonuçlarının eşik değer indeksi arttıkça doğrulama testinin pozitiflik oranının da arttığını, başlangıç eşik değeri birden küçük veya eşikten doğrulama testinin oranı 0 iken, 4'ten büyük ya da eşikten doğrulama oranını %100 olarak tespit etmişlerdir.

Wan-Zhou ve arkadaşlarının¹⁹ 2013 yılında yapmış oldukları çalışmada yanlış pozitif olarak elde edilen sonuçları dışlamak için ilk testte pozitif sonuç veren örneklerde konfirmasyon testinin gerekli olduğunu, özellikle HBsAg testinin ilk reaktif sonuçları $1.0 \leq S/CO \leq 9.0$ olan örneklerde konfirmasyon testi yapılması gerektiği önerilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına göre HBsAg'nin ilk reaktif sonucu $1.0 \leq S/CO \leq 5.0$ olan örneklerde nötralizasyon testinin HBsAg pozitifliğini doğrulamak için kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Chen ve Kaplan'ın 2006 yılında yaptıkları çalışmada²⁰ zayıf pozitif 127 örnekte viral yük ve diğer serolojik HBV belirteçleri test edilmiştir. Çalışmada yalancı pozitif sonuçların gereksiz klinik takiplere, fazladan finansal giderlere neden olduğunu ve zayıf pozitif HBsAg sonucu veren örneklerde nötralizasyon testinin kullanılması önerilmiştir. Chen ve Kaplan'ın yapmış olduğu bu çalışmada nötralizasyon testi 127 örnekten 38 (%29.9)'inde pozitif bulunurken, 89 (%70.1)'unda negatif elde edilmiştir. Nötralizasyon testi negatif olan bu 89 örnekten 83 (%93.2)'ünde HBV DNA tespit edilememiştir. Bu örneklerin 6 (%6.8)'sında HBV DNA pozitif bulunmuş ve hepsinin viral yükünün (9000 kopya/ml) düşük olduğu tespit edilmiştir. Nötralizasyon sonucu pozitif olan 38 örnekten 22 (%57.9)'sinde HBV DNA negatif iken 16 (%42.1) örnekte HBV DNA pozitif olarak tespit edilmiştir. HBV DNA sonucu negatif olan 22 örnekten altısında anti-HBs negatif/anti-HBc total antikor pozitif/anti-HBc IgM negatif tespit edilmesi durumunda yüksek ihtimalle gerçek pozitif sonuç olduğu ancak HBV DNA'sının tespit edilebilecek düzeyde olmadığı düşünülmüştür. Çalışmamızda nötralizasyon test sonucu pozitif olan 67 örnekten 45 (%67.2)'inde HBV DNA testi sonucu negatif olarak tespit edildi. Bu hastalardan 42 (%93.3)'sinin anti-HBe ve anti-HBc total antikor serolojik belirteçleri pozitif olarak bulundu ve bu örneklerin yüksek ihtimalle gerçek pozitif olduğu ancak tespit edilebilecek düzeyde HBV DNA içermedikleri düşünülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızda elde edilen verilere göre özellikle HBsAg titresi 5 S/CO'dan küçük ya da eşit iken nötralizasyon testinin anti-HBc total antikor ve HBV DNA testleriyle doğrulamaya gerek kalmadan tek başına HBsAg pozitifliğini doğrulamak için kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu amaçla bir tanı algoritması geliştirilmiştir (Şekil 1). Bu durum yalancı pozitifliklere bağlı hastalarda oluşacak endişenin önüne geçerken, aynı zamanda test karmaşasını engelleyerek maliyetinde düşmesini sağlayacaktır. Kanada gibi bazı ülkelerde hepatit B tarama testi olarak HBsAg ile birlikte anti-HBc total antikor testi birlikte değerlendirilmektedir. Ülkemiz gibi orta endemisite bölgesinde olan ülkelerde anti-HBc total antikor testinin yalancı pozitiflik oranı yüksek seviyede saptanmaktadır. Çalışmamızda anti-HBc total antikor testinin yalancı pozitifliği yüksek tespit edildiğinden tarama testi olarak HBsAg ile birlikte anti-HBc total antikor testinin kullanılmasının üstünlük getirmediği düşünülmüştür. Tüm gruplara baktığımızda nötralizasyon testinin yalancı pozitifliği %2.3 iken, anti-HBc total antikor testinin yalancı pozitiflik oranı %16.7 olarak tespit edilmiştir. Bu durumda HBsAg reaktifliğini doğrulamak için öncelikli olarak anti-HBc total antikor testi yerine nötralizasyon testinin kullanılması daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır. Çalışmamızda aynı zamanda 105 hastadan 73 (%69.5)'ünde anti-HBe testi pozitif olarak tespit edilmiş ve bu hastaların tamamında anti-HBc total antikor testi de pozitif olarak saptanmıştır. Hepatit B taramasında HBsAg testi ve anti-HBe testinin birlikte değerlendirilmesinin, HBsAg ve anti-HBc total antikor testinin birlikte değerlendirilmesine herhangi bir üstünlüğü olmadığı düşünülmüştür.



Şekil 1. Düşük pozitif HBsAg sonuçlarında önerdiğimiz tanı algoritması.

KAYNAKLAR

1. Hepadnaviridae. In: Büchen-Osmond C (ed), ICTVdB The Universal Virus Database, version 3. ICTVdB Management. 2003, Columbia University, New York. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/30000000.htm>.
2. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Bulaşıcı Hastalıkların Laboratuvar Tanısı için Saha Rehberi. Hepatit B ve D. Erişim: 28.09.2016. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/ums/H/Hepatit-B-ve-D.pdf>.
3. World Health Organization. Hepatitis B. Erişim: 21.09.2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>.
4. Koziel MJ, Siddiqui A. Hepatitis B virus and hepatitis D virus, pp: 1864-90, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases, 2005, 6th ed. Churchill Livingstone, New York.
5. Tozun N, Özdoğan OC, Cakaloglu Y, et al. A nation wide prevalence study and risk factors for hepatitis A, B, C and D infections in Turkey. Hepatology 2010; 52(Suppl 1): 697A.
6. Lai CL. Discovery and classification, pp: 1-8, In: Lai CL, Locarnini S (eds), Hepatitis B virus, 2002. International Medical Press, London.
7. Değertekin H. Viral hepatitlerin dünyada ve ülkemizdeki epidemiyolojisi. Aktuel Tıp Dergisi 1997; 2: 119-22.
8. Mıstık R, Balık İ. Türkiye’de viral hepatitlerin epidemiyolojik analizi, pp: 10-55. In: Kılıçturgay K, Badur S (eds), Viral Hepatit 2001. İstanbul, Viral Hepatitle Savaşım Derneği.
9. Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. N Engl J Med 2008; 359(14): 1486-500.
10. Lavanchy D, Kane M. Global epidemiology of hepatitis B virus infection, pp: 187-203, Global Epidemiology of Hepatitis B Virus Infection, Part of the series, Molecular and Translational Medicine, 2016. Springer International Publishing, Switzerland.
11. Robinson WS. Hepatitis B virus and hepatitis D virus, pp: 1652-84, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practise of Infectious Diseases, 2000. Churchill Livingstone, New York.
12. Chuang CH. Hepatitis B control program in Taiwan. Acta Paediatr Jpn 1989; 31(6): 645-8.
13. Wong WC, Tsang KK. A mass hepatitis B vaccination programme in Taiwan: its preparation, results and reasons for uncompleted vaccinations. Vaccine 1994; 12(3): 229-34.
14. Ertuğrul Örüç N, Yenicesu İ. Ulusal Kan ve Kan Bileşenleri Hazırlama, Kullanım ve Kalite Güvencesi Rehberi, Türkiye’de Kan Tedarik Sisteminin Güçlendirilmesi Teknik Destek Projesi, 2016. TR0802.15-01/001.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Viral Hepatitis Surveillance and Case Management. Erişim: 25.09.2016 <https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/surveillanceguidelines.htm>.
16. O’Brien JE. Hepatitis B surface antigen: decreased need for confirmation of reactive results. Clin Chem 2000; 46(4): 582.
17. The GS HBsAg Confirmatory Assay 3,0 (BioRad), package insert 32594. Erişim: 26.09.2016. <http://www.bio-rad.com/en-us/product/hepatitis-b/gs-hbsag-confirmatory-assay-3-0>.
18. Shao H, Li Y, Xu W, Zhou X. Increased need for testing to confirm initial weakly reactive results for hepatitis B virus surface antigen. Lab Med 2012; 43(4): 15-7.
19. Wan-Zhou X, Yan L, Qing W, Ming W, Ze-gang W. Brief communication: comparison the diagnostic performance of four HBsAg ELISA kits. J Clin Lab Anal 2013; 27(4): 294-6.
20. Chen D, Kaplan LA. Performance of a new-generation chemiluminescent assay for hepatitis B surface antigen. Clin Chem 2006; 52(8): 1592-8.