

# Yeni HIV Tanı Algoritmasına Geçiş Sürecinde Ulusal HIV-AIDS Referans Merkezi'nin Deneyimi: Line-İmmunoassay Test ve Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 Antikor Ayırt Edici Hızlı Doğrulama Testleri Karşılaştırmalı Analizi

Experience of the National HIV-AIDS Reference Center of Turkey, in the Transition to the New HIV Diagnostic Algorithm; Comparative Analysis of Line-Immunoassay Test and Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 Antibody Confirmatory Assay

Tülin DEMİR<sup>1</sup>(ID), Dilara YILDIRAN<sup>1</sup>(ID), Selçuk KILIÇ<sup>1,2</sup>(ID)

<sup>1</sup> Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarı, Ankara.

<sup>1</sup> Ministry of Health, General Directorate of Public Health, Department of Microbiology Reference Laboratories and Biological Products, National HIV-AIDS and Viral Hepatitis Reference Laboratory, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup> Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Savunma Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi KBRN Anabilim Dalı, Ankara.

<sup>2</sup> Health Sciences University, Gülhane Defense Health Sciences Institute, Department of Medical CBRN, Ankara, Turkey.

**Makale Atfı:** Demir T, Yıldiran D, Kılıç S. Yeni HIV tanı algoritmasına geçiş sürecinde Ulusal HIV-AIDS Referans Merkezi'nin deneyimi: line-immunoassay test ve bio-rad geenius™ HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testleri karşılaştırmalı analizi. Mikrobiyol Bul 2021;55(1):17-29.

## ÖZ

1981 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk insan immün yetmezlik virüsü [Human Immunodeficiency Virus (HIV)] enfeksiyonunun tespitinden kısa bir süre sonra, olgu sayısının tüm dünyada giderek artış gösterdiği belirlenmiştir. Türkiye'nin sahip olduğu yüksek turizm kapasitesi ve Avrupa ile Asya arasında uzanan coğrafik konumu, bireylerin olduğu kadar HIV dahil olmak üzere cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların da ülkeler arasında geçişi için kolaylık sağlamaktadır. Sağlık Bakanlığının resmi verilerine göre; Türkiye'de epideminin başladığı 1985 yılından 30 Kasım 2020'ye kadar 25809 HIV pozitif ve 1985 kazanılmış immün yetmezlik sendromu [Acquired Immun Deficiency Syndrome (AIDS)] olgusu bildirilmiştir. Enfeksiyonun bulaşma yollarına yönelik alınan ciddi önlemlerin bir sonucu olarak dünyanın birçok bölgesinde yeni tespit edilen olgu sayısında azalma görülmesine rağmen, ülkemizde olgu sayısındaki artış halen devam etmektedir. Enfeksiyonun tanısında raporlandırma süresini kısaltarak tedaviye en kısa sürede başlanabilmesi epideminin kontrolünde kritik öneme sahiptir. Bu amaçla; Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi [Centers for Diseases Control and Prevention (CDC)] 2010 yılında, doğrulama testi olarak yıllardır kullanılan western blot yerine Geenius™ HIV ½ antikor ayırt edici hızlı doğrulama testinin kullanımını öneren yeni bir test algoritması yayımlamıştır. Bu çalışmada; HIV tanısında Geenius™ ve INNO-LIA testlerinin tanıs

**İletişim (Correspondence):** Doç. Dr. Tülin Demir, Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarı, Refik Saydam Yerleşkesi F Blok 1. kat, Adnan Saygun Cad. No: 55.

**Tel (Phone):** +0312 565 55 52, **E-posta (E-mail):** drtlun@yahoo.com

performanslarının değerlendirilmesi ve yeni HIV algoritmasına geçiş sürecinin ilk yılında Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarının deneyiminin paylaşılması amaçlanmıştır. Çalışmaya anti-HIV pozitifliği saptanan ve doğrulama için Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarına gönderilen toplam 2090 hasta örneği dahil edilmiştir. Tüm örnekler laboratuvarımızda dördüncü kuşak "Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)" testi (VIDAS® HIV-1/2 Duo Ultra assay, BioMerieux, Fransa), HIV 1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi (Geenius™ HIV 1/2 confirmatory assay, BioRad, Redmond, WA, ABD) ve Line-immunoassay (INNO-LIA HIV ½ Score, Fujirebio, Belçika) ile test edilmiştir. Doğrulama testleri ile indeterminate/negatif sonuç alınması veya testler arasında uyumsuz sonuç izlenmesi durumunda örnekler HIV-1 RNA revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) (artus HI Virus-1 RT-PCR, Qiagen, Almanya) testi ve 'in house' HIV-2 RNA PCR ve HIV-2 proviral DNA PCR testleri ile değerlendirilmiştir. Tüm testlerin duyarlılık, özgüllük değerleri ve testler arasındaki uyum karşılaştırılmıştır. Testler arası uyumun değerlendirilmesinde Cohen's Kappa analizi kullanılmıştır. Geenius™ ve beraberinde HIV-1 RNA testinin kullanımının önerildiği yeni algoritmaya göre; 1707 (%81.7) örnek HIV-1 pozitif olarak tanımlanmıştır. Bu örneklerin %95.9'u Geenius™, %95.02'si ise INNO-LIA testleri ile HIV-1 pozitif olarak saptanmıştır. Ancak, HIV pozitif örneklerin %2.5'i Geenius™ ve %3.5'i INNO-LIA ile negatif; %1.5'i Geenius™ ile %1.4'ü ise INNO-LIA ile HIV-1 indeterminate olarak saptanmıştır. ELISA pozitifliği tespit edilen örneklerin tümü değerlendirmeye alındığında; örneklerin %1.3'ü Geenius™ ile %2.4'ü ise INNO-LIA testi ile indeterminate olarak belirlenmiştir. INNO-LIA testi ile karşılaştırıldığında; Geenius™ testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla; %99.7, %96.1, %98.9 ve %99.1 olarak saptanmıştır. INNO-LIA ve Geenius™ testleri arasındaki uyumun ise %98.95 ( $\kappa = 0.969$ ; *çok iyi*) olduğu tespit edilmiştir. Doğrulamada Geenius™ ve HIV PCR testleri beraber değerlendirildiğinde; tek başına Geenius™ ve INNO-LIA testlerinin duyarlılığı %99.8 ve %98.3, özgüllüğü %89.8 ve %85.3 olarak belirlenmiştir. Toplam yedi örnekte HIV-2'ye spesifik gp36 veya gp140 bantlarında silik pozitiflik izlenmiş ancak örneklerin dilüsyonu sonrasında pozitiflik kaybolmuş ve örneklerde HIV-2 RNA ve proviral DNA saptanmaması nedeniyle elde edilen sonuçlar hatalı pozitiflik olarak tanımlanmıştır. Elde edilen bulgular Geenius™ ve INNO-LIA testlerinin uyumlarının mükemmel olduğu, hızlı ve güvenilir sonuçlar nedeniyle Geenius™ testinin doğrulamada güvenle kullanılabileceğini göstermektedir. HIV tanısında yapılan güncellemelerin temel nedeni olan akut HIV olgularının hızlı ve erken dönemde tespit edilebilmesi için tüm HIV doğrulama merkezlerinde mutlaka HIV-1 RNA testi yapılması gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** HIV; tanısal algoritma; Line-immunoassay; Geenius™ HIV 1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi.

## ABSTRACT

Shortly after the first detection of human immunodeficiency virus (HIV) infection in USA in 1981, the number of cases have increased gradually from all around the world. Turkey's high capacity for tourism and the unique geographic location extending between Europe and Asia, provides convenience for the passage of individuals across the countries and sexually transmitted infections including HIV, as well. According to the official data of the Ministry of Health; there are 25809 HIV positive and 1958 AIDS cases as of November 30, 2020, after the epidemic started in 1985 in Turkey. Despite the decrease in the number of newly detected HIV cases as a result of serious measures taken for the transmission of infection worldwide, the increase in the number of cases still continues in our country. Shortening the reporting period and starting treatment as soon as possible in the diagnosis of infection is critical for the control of the epidemic. For this purpose, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) published a new test algorithm in 2010, which suggested the use of the Geenius™ HIV ½ supplemental assay test instead of western blot tests, which have been used for many years to verify HIV screening test positivity. In this study, we aimed to report the experience of the National HIV-Acquirer Immunodeficiency Syndrome (AIDS) and Viral Hepatitis Reference Laboratories of Turkey in the first year of transition to the new HIV algorithm and to evaluate the diagnostic performance of Geenius™ HIV ½ and line immunassay (LIA) s. A total of 2090 anti-HIV positive patient sera sent to National HIV-AIDS and Viral Hepatitis Reference Laboratories of Turkey, Ankara for HIV confirmation were included in the study. All samples were retested with a fourth-generation enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) test (VIDAS® HIV-1/2 Duo Ultra assay, BioMerieux, France) followed by the confirmatory tests; Geenius™ HIV 1/2 confirmatory assay (BioRad, Redmond, WA) and Line-immunoassay (INNO-LIA HIV ½ Score, Fujirebio, Belgium). Indeterminate/negative test results or discrepancies between the confirmatory tests were resolved with HIV-1 RNA

reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) (artus HI Virus-1 RT-PCR, Qiagen, Germany) test and in-house HIV-2 RNA and proviral DNA PCR. The sensitivity, specificity, and the agreement of the each assay were compared. Cohen's Kappa analysis was used for the evaluation of the agreement between the tests. According to the new algorithm which recommended Geenius™ test besides HIV-1 RNA test, 1707 (81.7%) HIV-1 positive samples were identified. Of these samples; 95.9% and 95.02% were identified as HIV-1 positive by Geenius™ and INNO-LIA, respectively. However, 2.5% of the positive samples were negative with Geenius™ and 3.5% with INNO-LIA. One and a half percentage (1.5%) of these samples were detected with Geenius™ and 1.4% with INNO-LIA as indeterminate. When all the positive samples determined with ELISA were evaluated; it was detected that, 1.3% were indeterminate by Geenius™ test and 2.4% by the INNO-LIA test. When the INNO-LIA test was regarded as the gold standard method; sensitivity, specificity, positive predictive and negative predictive values of the Geenius™ test were as follows; 99.7%, 96.1%, 98.9%, and 99.1%. The agreement between INNO-LIA and Geenius™ tests was found to be 98.95% ( $\kappa = 0.969$ ; very good). When the Geenius™ and HIV-1 PCR tests were evaluated together for the confirmation; the sensitivities of Geenius™ and INNO-LIA tests were 99.8% and 98.3%, specificities were 89.8% and 85.3%, respectively. Slight positive bands were detected in the gp36 or gp140 bands, the HIV-2 specific envelope proteins, were detected in seven samples, However, the positivity disappeared after the dilution of the samples and it was accepted as false positive reaction due to the absence of HIV-2 RNA and proviral DNA in these samples. In conclusion; we concluded that Geenius™ and INNO-LIA tests have a perfect agreement in HIV diagnosis and due to the rapid and reliable results provided for the HIV test protocol, Geenius™ test can be used safely as an alternative to the immunoblot tests. HIV-1 RNA testing must be performed in all HIV confirmation centers in order to detect acute HIV cases in the fast and early period which are the main reason for the updates in HIV diagnosis.

**Keywords:** HIV; diagnostic algorithm; Line-immunoassay; Geenius™ HIV 1/2 confirmatory assay.

## GİRİŞ

Enfeksiyonun ilk tanımlandığı 1981 yılından itibaren tüm dünyada her yaş grubundan 37.9 milyon enfeksiyona, 2018 yılında 1.7 milyon yeni olgu ve 770000 ölüme neden olan insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu, günümüzde halen en önemli halk sağlığı sorunlarından biridir<sup>1</sup>. Günümüze kadar yaklaşık 40 milyon kişinin ölümüne yol açan kazanılmış immün yetmezlik sendromu [Acquired Immun Deficiency Syndrome (AIDS)] epidemisinin sonlandırılmasına yönelik Birleşmiş Milletler HIV/AIDS Programı (UNAIDS), 2014 yılında HIV enfeksiyonuna küresel yanıt kapsamında 90-90-90 hedeflerini belirleyerek 2020 yılı itibarıyla HIV ile yaşayan kişilerin %90'ının tanı almaları, tanı alan kişilerin %90'ının tedavi almaları ve tedavi alanlarında %90'ında viral baskılanmanın sağlanması amaçlamıştır. Böylelikle 2030 yılında epideminin sonlanarak halk sağlığı ve ekonomi açısından getirdiği büyük yükün ortadan kalkacağı düşünülmektedir<sup>2</sup>. Batı Avrupa ve Kuzey Amerika ülkeleri bu hedeflere oldukça yaklaşmış ancak başta Afrika ülkeleri ve Doğu Avrupa ülkeleri olmak üzere birçok bölgede bu hedeflere ulaşamamıştır. UNAIDS 2019 yılı HIV raporunda, HIV pozitif kişilerin ancak %79'unun tanı aldığı, bunların %62'sinde antiretroviral tedaviye başlandığı ve tedavi alanların ise ancak %53'ünde viral baskılanmanın sağlandığı bildirilmektedir<sup>2</sup>.

Dünya genelinde enfeksiyonun bulaşma yollarına yönelik alınan ciddi önlemlerin bir sonucu olarak yeni tespit edilen HIV olgu sayısında düşüş izlenmesine rağmen, ülkemizde olgu sayısında artış halen devam etmektedir. Ülkemizde ilk olgu 1985 yılında bildirilmiş ve olgu sayısı yıllar içinde giderek artış göstermiştir. T.C. Sağlık Bakanlığı verilerine göre; epideminin başladığı 1985 yılından 30 Kasım 2020 tarihine kadar doğrulama testi yapı-

arak resmi bildirim yapılan 25809 HIV pozitif, 1985 AIDS olgu bulunmaktadır<sup>3</sup>. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) ülkemizdeki HIV durumunu değerlendirdiği bültende; son 10 yıl içinde yeni olgu sayısında %450 artış olduğunu bildirilmektedir<sup>4</sup>. Avrupa Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi [European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)] tarafından 28 Kasım 2019 yılında yayımlanan '2018 yılı Avrupa HIV/AIDS Sürveyans Raporu'nda ülkemiz Orta Avrupa ülkeleri arasında değerlendirilmeye alınmış ve yüz binde 3.9 olgu ile 2018 yılı HIV insidansının en yüksek olduğu ülkeler arasında yer almıştır<sup>5</sup>. Buna rağmen, 82 milyon nüfusu ile enfeksiyon insidansının %0.04 olduğu göz önüne alındığında, Türkiye HIV enfekte kümülatif olgu sayısı ve prevalansının halen düşük olduğu ülkeler arasında yer almaktadır.

Enfeksiyonun tanımlanmasının ardından geçen son 35 yılda HIV/AIDS tanısal testleri ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda HIV tanı testlerinde birçok iyileşmeler yaşanmıştır. Ticari olarak 1985 yılında geliştirilen ilk "Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)" testi sonrasında pozitif değerlerin doğrulanması amacıyla western blot (WB) testleri geliştirilmiştir. Dördüncü kuşak ELISA testleri ile tarama sonrasında pozitif saptanan örneklerin WB ile doğrulanması temeline dayanan iki basamaklı geleneksel HIV tanı algoritması yıllar boyunca tüm dünya genelinde kullanılmıştır<sup>6</sup>. HIV epidemisinin kontrolünde tanı ve raporlandırma sürecini hızlandırarak tedaviye en kısa sürede başlanabilmesi amacıyla Amerika Birleşik Devletleri'nde Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi [Centres for Diseases Control and Prevention (CDC)] 2010 yılında, pozitif tarama testlerinin doğrulanması için hızlı doğrulama testinin kullanımını öneren yeni bir tanı testi algoritması yayımlamıştır<sup>7</sup>. Önerilen bu algoritma önce 2011 yılında "Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)"<sup>6</sup>, daha sonra 2014 yılında ise CDC'nin tanı rehberinde yayımlanmıştır<sup>8</sup>. Ülkemizde ise yeni algoritmaya geçiş süreci Ağustos 2019'da tamamlanarak Sağlık Bakanlığı tarafından "HIV-AIDS Tanı Tedavi Rehberi" adı altında yayımlanmıştır<sup>9</sup>.

Güncel HIV tanı algoritmasında, dördüncü kuşak ELISA testi ile tarama sonrasında pozitif sonuçların WB yerine HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testinin kullanılarak doğrulanması, HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi ile alınan negatif ya da indeterinant sonuçların ise akut HIV enfeksiyonunu dışlayabilmek için HIV nükleik asit testleri ile test edilmesi önerilmektedir<sup>1,10</sup>. DSÖ'nün Kasım 2019'da HIV tanısı ile ilgili yayınladığı güncelleme raporunda hızlı tanıya ulaşmak için global hedefler doğrultusunda WB ve ya "Line Immunassay (LIA)" gibi immüblot testlerin kullanılmasından uzaklaşılması konusu açıkça belirtilmiştir<sup>11</sup>.

İmmüblot testler, özel ekipman ve yetkin personel gerektiren emek yoğun testlerdir. Ayrıca, test sonuçlandırma süresinin uzun olması nedeniyle global HIV tanı hedeflerine uymamaktadır. Yapılan çalışmalarda HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testlerine kıyasla WB veya LIA ile 'indeterminant' test sonuçları ve HIV-1 ve HIV-2 arasında çapraz reaksiyon sıklığının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir<sup>6,10,12,13</sup>.

Sağlık Bakanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarı 2016 yılı sonu itibariyle önerilen yeni algoritma doğrultusunda çalışmalarını sürdürmek-

tedir. Bu çalışmada; yeni HIV tanı algoritmasına geçiş sürecinin ilk yılında laboratuvarımızda kullanılmakta olan LIA testi ile HIV-1/2 ayırt edici hızlı doğrulama testinin HIV enfeksiyonu doğrulamasındaki performanslarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Ülke genelinde hizmet veren kamu-özel kuruluşlar dahil olmak üzere her düzey laboratuvarlarda anti-HIV tanı testinin uygulanması konusunda herhangi bir kısıtlama bulunmamaktadır. Ancak Türkiye’de HIV Doğrulama Mevzuatı’na göre herhangi bir merkezde anti-HIV pozitifliği tespit edilmesi durumunda bu örneklerin Ulusal HIV-AIDS Doğrulama Referans Merkezine ya da Sağlık Bakanlığı tarafından yetkilendirilmiş İzmir, İstanbul ve Adana’da bulunan HIV Doğrulama Merkezlerine gönderilmesi zorunludur.

### Örnek Seçimi ve Tarama Testi

Ocak-Eylül 2017 tarihleri arasında anti-HIV pozitifliği nedeniyle 74 ilden merkezimize gönderilen toplam 2090 hasta örneği çalışmaya dahil edildi. Tüm örnekler önceki test merkezinde elde edilen sonuçlardan bağımsız olarak “Enzyme-Linked Fluorescent Assay (ELFA)” prensibi ile çalışan, p24 antijeni ve HIV-1/2’ye karşı antikorları ayrı ayrı tespit ederek raporlayabilme özelliği ile diğer dördüncü kuşak testlerden ayrılan VIDAS® HIV-1/2 Duo Ultra (BioMerieux, Marcy l’Etoile, Fransa) ile test edildi.

### Doğrulama Testi

Tüm örnekler ELFA test sonucundan bağımsız olarak Geenius™ HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi (Bio-Rad, Redmond, WA, ABD) ve INNO-LIA HIV ½ Score (Fujirebio, Ghent, Belçika) ile test edildi. Geenius™ testi sonuçları görsel olarak ve otomatik okuyucu ile değerlendirildi. Testin yorumlanmasında üretici firmanın kriterleri kullanıldı<sup>14,15</sup>. Geenius™ HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi ile birisi zarf peptidi (gp160 veya gp41) olmak üzere en az iki bant pozitifliği HIV-1 pozitifliği, iki HIV-2’ye özgü bandın varlığı ise HIV-2 pozitifliği olarak yorumlandı<sup>14</sup>. INNO-LIA HIV ½ Score testi yorumunda üretici firma önerileri doğrultusunda iki *env* (gp160/gp41, gp120) ve *gag* (p17, p24, p55) veya *pol* (p31, p51, p66) bandı varlığı HIV-1 pozitifliği olarak değerlendirildi. Her iki test için de diğer kombinasyonlar indeterminate sonuç olarak yorumlandı. Doğrulama testleri ile indeterminate veya negatif test sonuçları alınması durumunda ya da her iki doğrulama testi sonucu arasında uyumsuzluk tespit edilmesi durumunda örneklere HIV-1 RNA polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (artus HI Virus-1 revers transkriptaz PCR (RT-PCR), Qiagen, Hilden, Almanya) ve/veya p24 antijen testi (p24 antigen test, VIDAS® BioMerieux, Marcy l’Etoile, Fransa) uygulandı. HIV 1/2 antikor negatifliğine rağmen HIV-1 RNA ve/veya p24 antijen pozitifliğinin tespit edildiği evre olarak tanımlanan Fiebig Evre I-II örnekler akut HIV enfeksiyonu olarak tanımlandı<sup>16</sup>. HIV-1 RNA tespit edilmediği durumda HIV-2 RNA ve proviral DNA test edildi<sup>17</sup>. Eğer her iki test de negatif ise ELFA hatalı pozitifliği olarak değerlendirildi.

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS 24.0 yazılımı kullanılarak testlerin duyarlık ve özgüllüğü (%95 güven aralığı ile) belirlendi. Geenius™ testi ile Inno-LIA HIV ½ Score arasındaki uyum Cohen'in Kappa testi kullanılarak değerlendirildi. Kappa testinin Landis ve arkadaşlarının<sup>18</sup> önerilerine göre değerlendirildi ( $\kappa = 0.01-0.20$  az uyum/nereedeyse uyum yok;  $\kappa = 0.21-0.40$  ise orta-az derecede uyum;  $\kappa = 0.41-0.60$  ise orta derecede uyum;  $\kappa = 0.61-0.80$  ise iyi derecede uyum;  $\kappa = 0.81-1.00$  ise mükemmel uyum).

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 2090 hasta serumundan 186 (%8.89)'sı VIDAS® HIV Duo Ultra testi ile negatif, 1904 (%91.1)'ü pozitif olarak saptanmıştır. Pozitif örneklerin 55 (%2.88)'inde p24 antijen pozitifliği tespit edilmiştir. Doğrulama testleri değerlendirildiğinde; INNO-LIA HIV ½ Score ile 1624 (%77.7) pozitif, 50 (%2.4) indeterminant sonuç izlenirken; Geenius™ testi ile 1638 (%78.4) pozitif ve 28 (%1.3) indeterminant sonuç elde edilmiştir. İki örnek INNO-LIA HIV ½ Score test ile tanımlanamamıştır. Geenius™ testi ve INNO-LIA HIV ½ Score testlerinin performansları Tablo I'de gösterilmiştir.

Güncel algoritma önerileri doğrultusunda; HIV-1 RNA RT-PCR testi tanıda kullanıldığında, 1707 (%81.67) örnek HIV-1 pozitif olarak doğrulanmıştır. HIV-1 pozitif örneklerin 1638'i (%95.9) Geenius™ testi ile 1622 (%95.02)'sı ise, INNO-LIA ile doğru olarak saptanmış ancak, HIV-1 pozitif örneklerden 43 (%2.5)'ü Geenius™, 60 (%3.5)'i INNO-LIA ile negatif, 26 (%1.5) örnek Geenius™ ile 24 (%1.4)'ü ise INNO-LIA ile indeterminant olarak tanımlanmıştır. ELFA negatif bulunan 186 örneğin tümü HIV RNA negatif olarak saptanmıştır. Bu örneklerden ikisi LIA ile pozitif; 18'i LIA ve ikisi Geenius™ ile indeterminant olarak saptanmıştır (Tablo II).

INNO-LIA testi ile karşılaştırıldığında; Geenius™ testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %99.7, %96.1, %98.9 ve %99.1 olarak belirlenmiştir. INNO-LIA ve Geenius™ testlerinin uyumu ise %98.95 ( $\kappa = 0.969$ ;  $SE = 0.007$ ; %95  $GA = 0.957-0.982$ ; *çok iyi*) olarak tespit edilmiştir. HIV doğrulamada Geenius™ ile

**Tablo I. Doğrulama Testlerinin Karşılaştırılması**

		(n/%) Geenius™			
		İndeterminant	Negatif	Pozitif	Toplam
LIA	*Tanımlanamayan	-	1 (50)	1(50)	2 (100)
	İndeterminant	11 (22)	28 (56)	11 (22)	50 (100)
	Negatif	17 (4.1)	391 (94.4)	6 (1.4)	414 (100)
	Pozitif	-	4 (0.2)	1620 (99.8)	1624 (100)
	<b>Toplam</b>	<b>28 (1.3)</b>	<b>424 (20.2)</b>	<b>1638 (78.3)</b>	<b>2090 (100)</b>

LIA: Line-immunoassay.

\*Tanımlanamayan: Test tekrarı yapılmasına rağmen testin ana değerlendirme kriteri olan 'cut-off' çizgisi ile birlikte herhangi bir bant izlenmemesi durumu.

Tablo II. Kesin HIV Tanı Durumuna Göre Doğrulama Testlerinin Karşılaştırılması

HIV Tanısı**	LIA				Geenius™				Geenius™ + HIV RNA*				LIA + HIV RNA*			
	Pozitif	Negatif	Ind	NI	Pozitif	Negatif	Ind	NI	Pozitif	Negatif	Ind	NI	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
HIV-1 Pozitif (n= 1707)	1622 (95.0)	60 (3.5)	24 (1.4)	1 (0.05)	1638 (95.9)	43 (2.5)	26 (1.5)	1707 (100)	-	-	1706 (99.9)	1 (0.1)				
Negatif (n= 383)	2 (0.5)	354 (92.4)	26 (6.7)	1 (0.2)	-	381 (99.4)	2 (0.6)	-	383 (100)	2 (0.6)	381 (99.4)					
<b>Toplam</b>	<b>1624</b>	<b>414</b>	<b>50</b>	<b>2</b>	<b>1638</b>	<b>424</b>	<b>28</b>	<b>1707</b>	<b>383</b>	<b>1707</b>	<b>1708</b>	<b>382</b>				

\*HIV-1 RNA RT-PCR, HIV-2 RNA/DNA PCR

\*\*HIV Tanısı HIV ELISA, Geenius™ ve HIV RNA test sonuçları temel alınarak değerlendirilmiştir.

**Tablo III. Geenius™ HIV 1/2 Antikor Ayırt Edici Hızlı Doğrulama Testi ve INNO-LIA HIV Score Testlerin Karşılaştırılması\*\***

	Geenius™	LIA	LIA+ NAT*
Duyarlılık (%95 GA)	%99.8	%98.3	%99.7
Özgüllük (%95 GA)	%89.8	%85.3	%99.7
PPD	%97.4	%96.4	%99.9
NPD	%99.4	%92.6	%98.9
Uyum	%97.85	%95.74	%99.76
Kappa (k) değeri	0.931 (SE= 0.010; %95 GA= 0.911-0.951, çok iyi)	0.862 (SE= 0.014; %95 GA= 0.834-0.890, çok iyi)	0.992 (SE= 0.004; %95 GA= 0.985-0.999, çok iyi)
Testin yorumlanması	Otomatize, manual	Manual	Otomatize, manual
Test süresi	30 dakika	3 saat	En az 8 saat
Test basamak sayısı	3	> 15	> 30
Dökümantasyon	Otomatize, elektronik	Manual	Otomatize, elektronik
İzlenebilirlik	Evet (otomatize)	Hayır (manual)	Hayır (manual) (PCR için otomatize)

GA: Güven aralığı, PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer.  
\* HIV-1 RNA revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), HIV-2 RNA/DNA PCR.  
\*\* Analizlerde referans yöntem kombinasyonu olarak Geenius™ HIV ½ ve HIV RNA testleri birlikte kullanılmıştır.

birlikte HIV PCR testleri beraber değerlendirildiğinde; Geenius™ ve INNO-LIA testlerinin duyarlılığı %99.8 ve %98.3, özgüllüğü %89.8 ve %85.3 olarak belirlenmiştir. Testler ve yeni algoritma önerileri doğrultusundaki sonuçlar arasındaki uyum “çok iyi” olarak tespit edilmiştir (Kappa= 0.862 ve 0.931) (Tablo III).

Geenius testi ile dört örnekte gp36, üç örnekte gp140 zayıf pozitifliği tespit edilmiştir. Ancak HIV-2'ye özgü *env* bantlarının numunelerin seyreltilmesinden sonra kaybolduğu belirlenmiştir. Bu örneklerde HIV-2 RNA ve proviral DNA saptanmamıştır.

## TARTIŞMA

İmmünblot testler, HIV tanısında tüm dünya genelinde yıllardır kullanılmaktadır. Güvenilir sonuç alınmasına rağmen, eğitimli personel, özel ekipman, donanım gerektirmeleri, emek yoğun ve zaman alıcı olmaları ve indeterminant sonuçlara sık rastlanması, sonuç yorumlanmasında yaşanan sorunlar gibi önemli dezavantajları bulunmaktadır<sup>8,15,19,20</sup>. Ek olarak, HIV-1 spesifik p24 antijenini saptayamaması nedeniyle akut HIV enfeksiyonunu tanımlayamamaktadır. Akut HIV enfeksiyonlarının sayısında izlenen ciddi artış daha hassas ve hızlı bir doğrulayıcı test ihtiyacı ortaya çıkarmıştır. Böylelikle anti-HIV ½ ELISA testi pozitifliği sonrasında WB veya LIA testleri yerine Geenius™ test kullanımı önerilmeye başlanmıştır<sup>8</sup>.

Türkiye'nin HIV epidemisinin başlangıç safhasında olduğu düşünülmektedir. Halen HIV prevalansı düşük olan ülkeler arasında olmasına rağmen, kaçınılmaz şekilde ortaya çıkan olgu artışını hızlı tanı ile kontrol altına almak için hızlı ve güvenilir testlerin kullanıma girmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, yeni HIV tanı algoritmasına geçiş sürecinde



laboratuvarımızın yaklaşık bir yıllık Geenius™ HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi deneyiminin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamıza dahil edilen VIDAS® HIV Duo Ultra testi ile pozitif saptanan 1904 örnekten %78.4'i Geenius™, %77.7'si INNO-LIA testi ile pozitif; %1.3'ü Geenius™, %2.4'ü INNO-LIA testi ile indeterminant olarak saptanmıştır. Güncel algoritmadaki öneriler doğrultusunda, tanıda Geenius™ testi ile HIV RNA birlikte kullanıldığında; 1707 örnek HIV-1 pozitif olarak doğrulanmıştır. Bu örneklerden %78.37'si Geenius™, %77.6'sı INNO-LIA ile pozitif olarak tanımlanmıştır. Doğrulama da Geenius™ testi kullanıldığında, HIV pozitifliği saptama oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte, INNO-LIA testine göre daha yüksek olarak izlenmiştir. Bununla birlikte Mor ve arkadaşlarının çalışmasında<sup>21</sup> HIV pozitif örneklerin %85'i Geenius™ testi ile, %75'i ise INNO-LIA ile doğru olarak saptandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda ise her iki test ile doğru tanımlama sıklığının benzer olduğu ancak Geenius™ kullanımı ile indeterminant sonuç sıklığında azalma olduğu belirlenmiştir.

İmmünblot testlerin yapısında p24 antijeni olmaması nedeniyle bu tip testlerin akut dönemden IgG'nin ortaya çıkmasına kadar süren erken enfeksiyon evrelerinde tanılabilirliği çok düşüktür. Bu nedenle akut enfeksiyonda HIV RNA test edilmesi doğru tanıda büyük önem taşımaktadır. Fiebig Evre I-II<sup>16</sup> olarak tanımlanan erken dönem HIV enfeksiyonunda, HIV RNA, WB pozitifliğinden 26 gün öncesinde pozitif olarak saptanmaktadır. p24 antijeni içermeleri nedeniyle dördüncü kuşak ELISA testleri ile WB'nin pozitifliğinden yaklaşık 20 gün önce enfeksiyonu tespit edilebilmektedir<sup>22</sup>. Bu çalışmada, akut HIV enfeksiyonu olgularının %2.5'i Geenius™ ve %3.5'i INNO-LIA ile tespit edilememiştir. Ek olarak, bu olguların %1.5'i Geenius™ ile %1.4'ü ise INNO-LIA ile indeterminant olarak tanımlanmıştır. HIV enfeksiyonu seyrinde izlenen p24 antikorunun immünblot testlerle Geenius™ testine kıyasla daha erken tespit edildiği de bildirilmektedir<sup>23</sup>. Ancak çalışmamızda p24 antikorunu Geenius™ ile immünblot testine göre daha erken tespit edilmiştir.

İndeterminant sonuçlar tüm doğrulama testleri ile de izlenebilmektedir. Bununla birlikte, çalışmamızda da elde ettiğimiz verilerle benzer şekilde; WB ile karşılaştırıldığında Geenius™ ile indeterminant sonuçların daha az izlendiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır<sup>20,24</sup>. Serhir ve arkadaşlarının çalışmasında<sup>20</sup>, HIV-1 pozitif örneklerde Geenius™ testi ile indeterminant sonuç saptamamıştır, ancak örneklerin %14'ünde WB ile indeterminant sonuç izlenmiştir. HIV-2 pozitif örneklerde ise Geenius™ ile %3, WB test ile %61 sıklığında indeterminant test sonucu izlendiğini bildirmiştir. WB ve LIA'ya alternatif olarak Geenius™ testi kullanıldığında hatalı pozitiflik oranının çok azaldığı izlenmiştir. Geenius™ ve immünblot test sonuçlarının karşılaştırıldığı birçok çalışmada<sup>19,20,25,26</sup> çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde testler arasındaki uyumun "çok iyi" olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda indeterminant sonuçlar değerlendirme dışı bırakıldığında ise testler arasındaki uyum "mükemmel" olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda INNO-LIA HIV 1/2 Score test ile alınan sonuçlar temel alındığında; Geenius™ testinin duyarlılığı %99.7, özgüllüğü %96.1, her iki test arasındaki uyum %98 ola-

rak belirlenmiştir ve Geenius™ testinin INNO-LIA ile pozitif örnekleri başarılı bir şekilde tanımladığı izlenmiştir. Doğrulama da Geenius™ ile birlikte HIV RNA kullanıldığında ise; Geenius™ ve INNO-LIA HIV Score testlerinin duyarlılıkları %99.8 ve %98.3; özgüllükleri ise %89.8 ve %85.3 olarak belirlenmiştir. Birçok çalışmada Geenius™ testinin akut HIV-1 ve akut HIV-2 enfeksiyonu dışındaki örneklerde %96-100 duyarlılık ve %96.3-100 özgüllük değerleri ile mükemmel performans gösterdiği bildirilmektedir<sup>19-21,23,24,26-32</sup>. Halen Geenius™ ya da WB/LIA doğrulama testleri ile çok sayıda HIV-2 serum örneklerinin değerlendirildiği çalışma bulunmamaktadır. Ağırlıklı olarak HIV-2 pozitif örneklerle yapılan çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Literatür incelendiğinde INNO-LIA ile karşılaştırıldığında Geenius™ testinin duyarlılık ve özgüllük düzeyinin daha düşük olduğu tek bir çalışma tespit edilmiştir. Alınan sonuca gerekçe olarak Geenius™ testinin inkübasyon süresinin düşük olması öne sürülmüştür<sup>33</sup>. Geenius™ ile elde edilen indeterminant test sonuçlarının büyük kısmının akut enfeksiyon olduğu düşünüldüğünde; tanı algoritmasına HIV RNA eklenmediği takdirde bu olguların hatalı tanımlanacağı ve tanı-tedavide gecikmelere yol açacağı unutulmamalıdır.

Geenius™ testi ile örneklerden dördünde sadece gp36, üçünde ise sadece gp140 için silik bant izlenmiştir. İzlenen bandın yoğunluğu çok zayıf olmakla birlikte üretici firmanın önerileri doğrultusunda test sonuçları indeterminant olarak değerlendirilmiştir. HIV-2'ye özgü *env* bandı olan gp36 örneklerin dilusyonu sonrasında kaybolması nedeniyle nonspesifik bant ve yalancı pozitiflik olarak değerlendirilmiştir. Ek olarak anti-HIV negatif saptanan iki (%1.1) örnekte Geenius™ testi ile silik bant varlığı izlenmiş ancak PCR testleri ile pozitiflik saptanmamıştır. Silik bantların varlığı test tekrarlarına neden olması, ek test gereksinimi nedeniyle tanınasal problemlere neden olabilmektedir.

Montesinos ve arkadaşları<sup>27</sup> HIV tanısında Geenius™ ve WB testlerinin duyarlılığını %92 ve %89 olarak bildirmiştir. Moon ve arkadaşları<sup>19</sup> WB ile alınan test sonuçları ile karşılaştırıldığında; Geenius™ testi duyarlılığını %100 olarak belirlemiş ve WB pozitif saptanan hiçbir örneği hatalı tanımlamadığı bildirilmiştir. Serhir ve arkadaşları<sup>20</sup> ise testlerin özgüllüğünü Geenius™ ve INNO-LIA ile %93 ve %90 olarak belirlemiştir. Bizim çalışmamızda literatürdeki bazı çalışmalarla<sup>27,31</sup> benzer veriler elde edilmiş ve Geenius™ ve INNO-LIA testlerinin özgüllüğü %89 ve %85 olarak belirlenmiştir. Testin duyarlılık ve özgüllüğü çalışmaya dahil eden örnek grubuna göre farklılık göstermektedir. Tanı testleri ile elde edilen sonuçlar temel alınarak HIV enfeksiyonun evrelemesinde kullanılan Fiebig sınıflandırma sistemine<sup>16</sup> göre sadece HIV RNA'nın tespit edilebildiği Fiebig Evre I ve HIV RNA ile birlikte p24 antijen pozitifliği tespit edilen Fiebig Evre II olarak tanımlanan örnekler çalışmaya dahil edildiğinde duyarlılığın daha düşük olacağı da açıktır.

HIV tanısında güncellemelerin temel nedeni akut HIV olgularının hızlı tespitine imkan sağlamasıdır. Tanıda ek olarak HIV-1 RNA veya p24 antijen testlerinin uygulanmasını öneren Avrupa HIV tanı rehberlerinde de belirtildiği üzere tüm HIV doğrulama merkezlerinde mutlaka HIV-1 RNA PCR testi yapılmalıdır<sup>34</sup>. Bununla birlikte güncel algoritma ile tüm pozitif örneklerin %25'inden fazlasının PCR testi ile çözümlenmeye gerek duyulması

nedeniyle, özellikle düşük HIV prevalansı olan toplumlarda testlerin maliyet etkinliklerinin geniş kapsamlı analizi gereklidir.

Çalışmadaki en önemli kısıtlılık; çalışma grubuna HIV-2 örneklerinin dahil edilememesi ve Geenius™ testinin HIV-2 tespitindeki performansının değerlendirilememesi olmuştur. HIV-2 Batı Afrika ülkelerinde endemik bir tip olmakla birlikte, ülkeler arasında dolaşımın artması ile tüm dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de olgu sayısının artacağı açıktır. Çalışma döneminde laboratuvarımıza HIV-2 şüpheli olgu örneği gönderilmiş ancak pozitiflik saptanmamıştır. Bununla birlikte, çalışma tamamlandıktan sonra gönderilen HIV şüpheli örneklerden 2018 yılında bir olguda, 2019 yılında üç olguda, 2020 yılında Aralık ayı itibarıyla iki olguda HIV-2 pozitifliği serolojik ve moleküler yöntemlerle laboratuvarımızda doğrulanmıştır. HIV-2 enfeksiyonu ülkemizde halen çok nadir izlenmektedir ve epideminin başlangıcından itibaren yayılmış olan iki olgu<sup>35</sup> ve laboratuvarımızda tespit ettiğimiz altı olgu bulunmaktadır. Laboratuvarımızda tespit edilen HIV-2 olguları Geenius™, MP HIV Blot 2.2 ve INNO-LIA ½ testleri ile çalışılmış ve her üç test ile de HIV-2 antikor varlığı doğrulanmıştır. Değerlendirilen olgu sayısı az olmakla birlikte, HIV-2 tanısında Geenius™ testinin güvenilir bir şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Yeni algoritmada HIV-2 tanısına yönelik ek bir öneri bulunmamakla birlikte özellikle HIV-2 için riskli davranışı olan gruplarda ve HIV-2 endemik bölgelerde yaşayan ya da bu bölgelerde yaşayan kişiler ile riskli davranışı olan kişilerde mutlaka HIV-2 RNA ve HIV-2 proviral DNA testleri tanı algoritmasına eklenmelidir.

Sonuç olarak, elde ettiğimiz veriler ışığında Geenius™ testi HIV-1 RNA testi ile kombine edilerek kullanıldığı durumda tanılabilir performansının çok iyi olduğu ve immüblot testler ile karşılaştırıldığında kolay, pratik ve küresel HIV hedeflerine ulaşma doğrultusunda kısa sürede sonuç alınan bir test yöntemi olduğu belirlenmiştir.

## ETİK KURUL ONAYI

Çalışma verilerinin kullanımı ve yayınlanması ile ilgili olarak Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü'nün olumlu görüşü alınmıştır. Bu çalışma için etik kurul onayı gerekmemektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. UNAIDS. Documents (2019) Available from: <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2019/2019-UNAIDS-data>. (Accessed date: 26.01.2020)
2. UNAIDS. Available from: <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2019/2019-global-AIDS-update>. (Accessed date: 26.01.2020).
3. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. HIV-AIDS İstatistik. Available from: <https://hsgm.saglik.gov.tr/bulasici-hastaliklar/hiv-aids/hiv-aids-liste/hiv-aids-istatistik.html> (Accessed date: 18.01.2021)
4. WHO Regional Office Europe. Key facts on HIV epidemic in Turkey and progress in the health sector response. WHO, 2014.

5. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2019 - 2018 data. Stockholm, ECDC; 2019.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Criteria for laboratory testing and diagnosis of human immunodeficiency virus infection; approved guideline. CLSI document M53-A Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
7. Branson BM. The future of HIV testing. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; 55: 102-5.
8. Centers for Disease Control and Prevention and Association of Public Health Laboratories. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: updated recommendations, 2014. Available from: <http://stacks.cdc.gov/view/cdc/23447>. (Accessed date: 26.01.2020)
9. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. HIV/AIDS Tanı Tedavi Rehberi - 2019. 2019. Sağlık Bakanlığı Yayınları, No: 1133, Ankara.
10. Linley L, Ethridge SF, Orakab E, Owena SM, Wesolowska LG, Wroblewski KL et al. Evaluation of supplemental testing with the Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid Test and APTIMA HIV-1 RNA Qualitative Assay to resolve specimens with indeterminate or negative HIV-1 Western blots. *J Clin Virol* 2013; 58: 108-12.
11. World Health Organization (WHO). Consolidated guidelines on HIV testing services for a changing epidemic. Policy brief, November 2019.
12. Guan M. Frequency, causes, and new challenges of indeterminate results in Western blot confirmatory testing for antibodies to human immunodeficiency virus. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14: 649-59.
13. Cárdenas AM, Baughan E, Hodinka RL. Evaluation of the Bio-Rad Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid Test as an alternative to Western blot for confirmation of HIV infection. *J Clin Virol* 2013; 58: 97-103.
14. Bio-Rad. A Qualitative Assay for the Confirmation and Differentiation of Individual Antibodies to HIV-1 and HIV-2 in Whole Blood, Serum, or Plasma Specimens. Available from: [http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/883601\\_EN.pdf](http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/883601_EN.pdf). (Accessed date: 26.01.2020).
15. Innogenetics. 2011. INNO-LIA HIV I/II score kit package insert, 25431, v13. Innogenetics, Ghent, Belgium.
16. Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, Garrett PE, Schumacher RT, Peddada L, et al. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS* 2003; 17: 1871-9.
17. Youngpairoj AS, Curtis KA, Wells SK, Pau CP, Granade TC, Owen SM. Reference panel of cloned HIV-2 plasmid DNA for nucleic acid assay development, evaluation, and quality monitoring. *J Clin Virol* 2014; 61: 293-7.
18. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: 159-74.
19. Moon H, Huh HJ, Oh GY, Lee SG, Lee A, Yun Y, et al. Evaluation of the Bio-Rad Geenius HIV 1/2 Confirmation Assay as an alternative to Western blot in the Korean population: A multi-center study. *Plos One* 2015; 10:e0139169.
20. Serhir B, Desjardins C, Doualla-Bell F, Simard M, Tremblay C, Longtin J. Evaluation of the Bio-rad Geenius HIV 1/2 assay as part of a confirmatory HIV testing strategy for Quebec, Canada: comparison with Western blot and Inno-Lia assays. *J Clin Microbiol* 2019; 57: e01318-e98.
21. Mor O, Mileguir F, Michaeli M, Levy I, Mendelson E. Evaluation of the Bio-Rad Geenius HIV 1/2 Assay as an alternative to the INNO-LIA HIV 1/2 Assay for confirmation of HIV infection. *J Clin Microbiol* 2014; 52(7): 2677-9.
22. Masciotra S, Smith AJ, Youngpairoj AS, Sprinkle P, Miles I, Sionean C, et al. Evaluation of the CDC proposed laboratory HIV testing algorithm among men who have sex with men (MSM) from five US metropolitan statistical areas using specimens collected in 2011. *J Clin Virol* 2013; 58: 8-12.
23. Tuaille E, Sanosyan A, Pisoni A, Liscouët J, Makinson A, Perre PV. Staging of recent HIV1 infection using Geenius rapid confirmatory assay compared to INNO LIA, New Lav and Blot 2.2 assays. *J Clin Virol* 2017; 95: 47-51.
24. Kondo M, Sudo K, Sano T, Kawahata T, Itoda I, Iwamuro S, et al. Comparative evaluation of the Geenius HIV 1/2 Confirmatory Assay and the HIV-1 and HIV-2 Western blots in the Japanese population. *PLoS One* 2018; 13: e0198924.

25. Aguinaga A, Navascués A, Polo I, Ezpeleta C. Comparative study of HIV-1/2 antibody confirmatory assay: Geenius™ versus INNO-LIA™. *Rev Esp Quimioter* 2016; 30(1): 40-4.
26. Wong CC, Lim SH, Tan CT, Lui SY, Lee YL, Chan KP. Performance of the HIV Blot 2.2, INNO-LIA HIV I/II Score, and Geenius HIV 1/2 Confirmatory Assay for use in HIV confirmation. *PLoS One* 2018; 13(6): e0199502.
27. Montesinos I, Eykmans J, Delforge ML. Evaluation of the Bio-Rad Geenius HIV-1/2 test as a confirmatory assay. *J Clin Virol* 2014; 60: 399-401.
28. Herssens N, Beelaert G, Fransen K. Discriminatory capacity between HIV-1 and HIV-2 of the new rapid confirmation assay Geenius. *J Virol Methods* 2014; 208: 11-5.
29. Malloch L, Kadivar K, Putz J, Levett PN, Tang J, Hachette TF, et al. Comparative evaluation of the Bio-Rad Geenius HIV-1/2 Confirmatory Assay and the Bio-Rad Multispot HIV-1/2 Rapid Test as an alternative differentiation assay for CLSI M53 algorithm-I. *J Clin Virol* 2013; 58: 85-91.
30. Herssens N, Beelaert G, Fransen K. Discriminatory capacity between HIV-1 and HIV-2 of the new rapid confirmation assay Geenius. *J Virol Methods* 2014; 208: 11-5.
31. Friedrichs I, Buus C, Berger A, Keppler OT, Rabenau HF. Evaluation of two HIV antibody confirmatory assays: Geenius HIV 1/2 confirmatory assay and the recomLine HIV-1 & HIV-2 IgG line immunoassay. *J Virol Methods* 2015; 224: 91-4.
32. Fordan S, Bennett B, Lee M, Crowe S. Comparative performance of the Geenius HIV-1/HIV-2 supplemental test in Florida's public health testing population. *J Clin Virol* 2017; 91: 79-83.
33. Tinguely C, Schild-Spycher T, Bahador Z, Gowland P, Stolz M, Niederhauser C. Comparison of a conventional HIV 1/2 line immunoassay with a rapid confirmatory HIV 1/2 assay. *J Virol Methods* 2014; 206: 1-4.
34. Gokengin D, Geretti AM, Begovac J, Palfreeman A, Stevanovic M, Tarasenko O, et al. 2014 European guideline on HIV testing. *Int J STD & AIDS* 2014; 25: 695-704.
35. Kepenekli Kadayıfçı E, Karaaslan A, Midilli K, Soysal A, Bakit M. First HIV-2 infection in a child in Turkey. *J Infect Dev Ctries* 2016; 10: 1042-4.