

Altı Yıllık Dönemde HIV(Human Immunodeficiency Virus) Antikor Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Dr. Rüchan ULUTÜRK (1), Muzaffer FİNCANCI (1)

ÖZET

Amaç: İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin farklı kliniklerinden Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen hasta kan örnekleri ve kan merkezine gelen sağlıklı donörlerin tarama test sonuçları, anti-HIV pozitifliği yönünden değerlendirilmiştir. Laboratuvarımızda kemilüminisans Enzyme linked immunosorbent (ELISA) yöntemi ile anti-HIV antikor pozitif bulunan örneklerin oranı ile bu örneklerin nekadarının Western Blotting (WB) testi ile doğrulanabildiğini araştırmayı amaçladık

Gereç ve Yöntem: Ocak 2001 – Aralık 2006 tarihleri arasında hastanemiz servis ve polikliniklerinden gelen 42547 kan örneği ve kan merkezimize başvuran 38836 donörden alınan kan örneklerinden anti-HIV taraması yapılmış, makroelisa Access kemilüminisans immünoasay sistem(Becman Coulter, UK) HIV 1-2 kiti, 2005-2006 yılları hasta kan örnekleri için mikroelisa sistemi Dade Behring(US) ve Biorad(Marnes-la-Coquette-France) kitleri(antikor ve p24 antijeni de saptayabilen) kullanılmıştır. Pozitif sonuç alınan hastaların veya donörlerin yeniden alınan serum örnekleri tekrar çalışılmış, iki kez pozitif bulunan serumlar İl Sağlık Müdürlüğü'ne Western-Blot (WB) ile doğrulama testi için gönderilmiştir.

Bulgular: Değerlendirmeye alınan 42547 hasta örneğinin 18'inde (%0.042) anti-HIV pozitif bulunmuştur. WB ile 6 hastada pozitif sonuç doğrulanmıştır. Böylece doğrulama testi sonrası anti-HIV pozitifliği %0.0141 olarak saptanmıştır. Donör grubunda 38836 kan örneğinin 4'ünde (% 0.010) pozitiflik saptanmış ve WB ile bir donörde sonuç doğrulanmıştır. Doğrulama testi sonrası anti-HIV testi pozitifliği %0.0026 olarak bulunmuştur. ELISA testinin pozitif prediktif değeri hasta grubunda %33.3, donör grubunda % 25 bulunmuştur.

Sonuç: Ülkemiz HIV açısından düşük endemisite bölgesidir. İrdelenen altı yıllık süre içerisinde bizim çalışmamızda da HIV enfeksiyonu prevalansı düşük bulunmuştur. Kan vericilerinde anti-HIV pozitiflik oranı hasta grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Anti-HIV, AIDS, ELISA, doğrulama testi

SUMMARY

Evaluation of HIV (Human Immunodeficiency Virus) Antibody Results Obtained in Six Years

In this study, the incidence of anti-HIV seropositivity of the sera obtained from patients in various clinics and blood donors and tested in microbiology laboratory of Istanbul Education and Research Hospital was investigated. Between January 2001 and December 2006, 42547 clinical samples and 38836 donor samples were tested for anti-HIV antibody and p24 antigen by macro ELISA (Beckman Coulter) and micro ELISA (Dade Behring and Biorad). Anti-HIV positive sera was retested by ELISA and those which were positive for the second time were sent to reference laboratory for Western-blot (WB) confirmation test. Of the 18 (0.042%) ELISA Anti-HIV positive sera from clinical samples and 4 (0.01%) ELISA positive samples from donors, six and one proved to be positive by WB respectively. Positive predictive value of ELISA was 33.3% for patient group and 25% for donor group. Our results indicate that endemicity of HIV is still low in our country and ELISA may yield false positive results which need to be confirmed by WB.

Key Words: HIV, AIDS, ELISA, Western blot

GİRİŞ

1981 yılında ilk Edinsel İmmün Yetmezlik Sendromu'nun (Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS) bildirilmesinden ve AIDS'e yol açan virus 1983 yılında

İnsan İmmün Yetmezlik virusu (Human Immunodeficiency virus, HIV) olarak tanımlandıktan sonra o günden bu güne AIDS/HIV geniş çapta araştırmalara konu olmuştur(1,2). Dünya Sağlık Örgütü(DSO) Aralık 2006 verilerine göre dünyada 47.1 milyon kişi HIV/AIDS ile yaşamaktadır(3).

Ülkemizde ilk defa 1985 yılında HIV/AIDS vakası

bildirilmiş, daha sonra her yıl HIV/AIDS vakalarının sayılarında giderek artma gözlenmiştir(4). 2006 Aralık ayı verilerine göre Türkiye'de 2544 kişinin HIV'le infekte olduğu, bunların 43'ünün infeksiyonu transfüzyon yolu ile aldığı bildirilmektedir. Bu rakam 623 AIDS vakasını ve 1921 HIV taşıyıcısını içine almaktadır(5). Sürveyans sistemindeki ve sağlık bilgi ağındaki sorunlara bağlı olarak, resmi rakamlar vakaların gerçek sayısını yansıtmamaktadır(6).

HIV virüsü kan ve kan ürünleri, cinsel ilişki ve anneden bebeğe plasental yol ile bulaşabilen RNA grubundan bir retrovirüstür(7). Günümüzde HIV virusunun iki ayrı serotipi bilinmektedir: tüm dünyada dominant olan HIV-1 (major virus) ve daha çok Afrika ülkelerinde görülen HIV -2. HIV 2'nin daha sonra Avrupa, Brezilya ve Hindistanda da görülmeye başlandığı rapor edilmiştir(8,9,10).

HIV enfeksiyonu tanısı HIV'a karşı oluşan antikor cevabının ölçülmesi(ELISA), veya HIV'a karşı oluşan bileşenlerin(virus özgül antijenleri, viral RNA, viral enzimler, proviral DNA) saptanması ile konulmaktadır(11,12).

Bu çalışmada 2001-2006 yılları arasındaki 6 yıllık dönemde İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen kan örnekleri ve Kan Merkezi'ne başvuran sağlıklı donörlerin tarama test sonuçları, anti HIV pozitifliği yönünden değerlendirilmiş, laboratuvarımızda ELISA yöntemi ile anti-HIV antikor pozitif bulunan örneklerin oranı ile bu örneklerin nekadarının Western Blotting (WB) testi ile doğrulanabildiği araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2001 – Aralık 2006 tarihleri arasında hastane-miz servis ve polikliniklerinden gelen 42547 kan örneği ve kan merkezimize başvuran 38836 donörden alınan kan örneklerinden anti-HIV taraması yapılmış, makro ELISA Access kemilüminesans immünoasay sistem (Bekman Coulter,UK) HIV 1-2 kiti, 2005-2006 yılları hasta kan örnekleri için mikro ELISA sistemi Dade Behring (US) ve Biorad (Marnes la Coquette-France) antikor ve p24 antijeni de saptayabilen kitler kullanılmıştır. Pozitif sonuç alınan hastaların veya donörlerin yeniden alınan serum örnekleri tekrar çalışılmış, iki kez pozitif

bulunan serumlar İl Sağlık Müdürlüğü'ne Western Blotting(WB) ile doğrulama testi için gönderilmiştir.

BULGULAR

Değerlendirmeye alınan 42547 hasta örneğinin 18'inde (%0.042) anti-HIV ELISA ile pozitif bulunmuştur. WB ile 6 hastada pozitif sonuç doğrulanmıştır. Böylece doğrulama testi sonrası anti-HIV pozitifliği %0.014 olarak saptanmıştır. Yıllara göre ELISA ve WB pozitiflikleri Tablo 1 de gösterilmiştir..

Tablo 1: Hasta Grubunda Anti-HIV1-2 test sonuçlarının yıllara göre dağılımı

Yıl	Test edilen örnek sayısı	ELISA		WB	
		Pozitif	%	Pozitif	%
2001	7064	1	0.014	-	-
2002	4197	1	0.024	-	-
2003	4433	3	0.068	2	0.045
2004	6264	4	0.064	2	0.032
2005	7735	5	0.065	-	-
2006	12854	4	0.031	2	0.016
Toplam	42547	18	0.042	6	0.0141

Tablo 1: Donör Grubunda anti-HIV1-2 test sonuçlarının yıllara göre dağılımı

Yıl	Test edilen örnek sayısı	ELISA		WB	
		Pozitif	%	Pozitif	%
2001	6848	1	0.015	-	-
2002	6146	-	-	-	-
2003	5883	1	0.017	-	-
2004	6879	1	0.014	1	0.014
2005	5775	1	0.017	-	-
2006	7305	-	-	-	-
Toplam	38836	4	0.010	1	0.0026

Donör grubunda 38836 kan örneğinin 4'ünde (%0.010) ELISA ile pozitiflik saptanmış ve WB ile bir donörde sonuç doğrulanmıştır. Doğrulama testi sonrası anti-HIV testi pozitifliği %0.0026 olarak tespit edilmiştir. Tablo 2 de yıllara göre ELISA ve WB pozitiflikleri gösterilmiştir..

ELISA testinin pozitif predictive değeri hasta grubunda %33.3, donör grubunda % 25 bulunmuştur.

TARTIŞMA

HIV ile enfekte olguların, gerek virüsün yayılımında potansiyel kaynak olmaları, gerekse erken antiviral tedavi ile yaşam süresinin ve kalitesinin uzatılması ve tedavinin takibi açısından virüsün laboratuvar tanısı hayati önem arz etmektedir(13). Transfüzyonla bulaşan HIV enfeksiyonu olan donörün serokonversiyonun erken döneminde bulunmasıdır. AIDS olgularında HIV enfeksiyonu tanısında en sık kullanılan tanı yöntemi standart bir yöntem olması, çabuk sonuç vermesi ve güvenilir olması nedeni ile ELISA yöntemidir. Günümüzde kullanılan 3. kuşak ELISA kitleri ile HIV-1 ve HIV -2 birlikte taranmaktadır. Çift antijen sandviç yöntemine dayalı bu testlerle hem IgM hem de IgG sınıfından antikorlar belirlenmektedir(14,15). Taramalara p24 antijeninin saptanmasını sağlayan testlerin katılmasının güvenliği arttıracığına ilişkin kanıtlar üzerine HIV antijen ve antikorunun birlikte gösterilmelerini sağlayan 4. kuşak tarama testleri geliştirilmiştir(16,17). Ancak tarama testlerinin duyarlılığı yüksek tutulmak istendiğinden ELISA testleri HIV ile ilgili olmayan diğer bazı proteinleri de HIV'e özgü antikorlar olarak tanıyabilir ve yalancı pozitif sonuçlar bildirilir. Özellikle kan donörleri gibi prevelansın düşük olduğu popülasyonlarda en sık karşılaşılan problemlerin başında yalancı pozitiflikler gelmektedir. HIV'a özgül antikorun saptanması ve ELISA pozitif/belirsiz sonuçların doğrulanması için en sık WB testi uygulanmaktadır. Bu testte virusun tüm yapı proteinlerine karşı oluşan antikorları saptamak mümkündür. ELISA yöntemi ile yapılan testten daha pahalı ve daha uzun sürede yapılan testtir(18). Dünyada ve Türkiye'de donörden alınan kanlara HIV tarama testi 1985 yılından beri uygulanmaktadır. Anti-HIV tarama testleri çoğu Avrupa ülkesi ve Amerika Birleşik Devletleri'nde 1985 yılından beri kan merkezlerinde uygulanmaktadır. Ülkemizde anti HIV tarama testleri 1985 beri kan merkezlerinde zorunlu tarama testi olmuştur(19). Son yıllarda geliştirilen teknolojiler ve bunların uygulamada yer almalarıyla günümüzde kan ya da kan ürünleriyle virüs enfeksiyonlarının bulaşma riski oldukça azaltılmıştır. Transfüzyonlarla HIV enfeksiyonu bulaşma riskinin p24 testinin eklenmesi ile 1:676000

düzeylerine düşürülmüştür(17). HIV tarama testleri her ne kadar en yüksek duyarlılık ve özgüllük sınırlarına ulaşmak için tasarlanmışsa da, testin duyarlılığı daha ön planda tutulmaktadır. Bunun nedeni yalancı negatif sonuçların hastalara HIV pozitif kan veya kan komponenti verilmesi telafisi imkansız hatalara neden olabilmesidir. HIV prevalansı son yıllarda bizde de önemli bir artış göstermesine rağmen resmi kayıtlara göre halen oldukça düşüktür. Dünyada HIV enfeksiyonu ile bulaşların yaklaşık %5-10'unun kan transfüzyonu ile olduğu düşünülmektedir(20). Ancak görülen transfüzyona bağlı HIV enfeksiyonları az da olsa, riskin yadsınamayacağını göstermektedir. Transfüzyonla bulaşan HIV enfeksiyonu olan donörün serokonversiyonu erken döneminde bulunmasıdır. Yalancı pozitif sonuçlar alkol kullanımı, romatizmal hastalıklar, konjenital kanama bozuklukları, sifiliz gibi pek çok durumda ortaya çıkabilir.

Anti-HIV hastanemizde ameliyat öncesi bir tarama testi olarak kullanıldığından ve bazı heyet raporları için zorunlu olduğundan laboratuvarımıza başvuran sağlıklı kişilerin sayısı fazladır.

Çalışmamızda ELISA ile test edilen örneklerin hasta grubunda %33.3'ü, donör grubunda %25'i WB ile pozitif bulunmuştur(ortalama %29.1). Bulduğumuz değerler Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Viroloji Laboratuvar Şefliği AIDS Araştırma ve Doğrulama Merkezinde 1987-2002 yılları arasında Türkiye'nin değişik illerinden gönderilen serum örneklerinin WB sonuçları (% 28.1) ve aynı merkezin bir başka çalışması ile (29.9) uyumlu bulunmuştur(21,22). Türkiye çapında 56 kan merkezinde tarama testlerinin incelenmesi sonucunda ELISA ile anti-HIV 1-2 pozitiflik oranı % 0.05 olarak bildirilmiştir(23). Bizim kan merkezimizde bulduğumuz sonuç %0.01'dir. Can B ve arkadaşları İstanbul'da yaptıkları bir çalışmada kan donörlerindeki HIV enfeksiyon seropozitivitesini 2001 yılı için %0.006, 2002 yılı için %0.007 olarak bildirmişlerdir(24). Bizim aynı yıllar için bulduğumuz sonuç %0.008'dir.

Tanıda kullanılan ELISA testlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü fazla olmasına rağmen bu testlerin yalancı pozitifliği unutulmamalı ve mutlaka WB ile doğrulanması yapılmalıdır. Bayraktar ve ark yaptıkları bir çalışmada örneklerin %0.097'si ELISA pozitif bulunmuştur. WB ile doğrulanmış pozitiflerin oranı ise %0.036'dır(25). Aynı çalışmada ELISA pozitif predictive değeri %37 bu-

lunmuştur. Bizim çalışmamızda da benzer sonuç elde edilmiştir(%33.3). ELISA ile yüksek değerlerde pozitif saptanan vakalar WB ile pozitif sonuç verirken, sınırdaki pozitif vakalar WB ile negatif sonuç vermiştir. Üç yıllık dönemi kapsayan bir çalışmada Kılıç ve ark. 61416 donör örneğinde indeterminate WB (üç örnek) sonuç oranı 0.000048 olarak bulunmuş, pozitif sonuca rastlanmamıştır. Kan merkezlerinde yalancı pozitiflikle sık karşılaşılsa dahi tekrarlayan reaktivitenin elde edildiği kan ürünleri kullanılmamalı örnekler doğrulamaya alınarak donör bilgilendirilmelidir. Ön elemeyi sağlayan donör sorgulama formları titizlikle takip edilmelidir. Serokonversiyondan önce, immun sistemi baskılanmış kişilerde ve AIDS'in son evrelerinde yalancı negatif sonuçlar elde edilebilir. Yalancı pozitiflikler ise; insan hatası, hemodiyaliz, RPR pozitifliği, otoimmün bozukluklar, hemofili, multipl myeloma ve alkolik hepatit gibi durumlarda görülmektedir.

SONUÇ

Ülkemiz HIV açısından düşük endemik bölgedir. İrdelenen altı yıllık süre içerisinde bizim çalışmamızda da HIV enfeksiyonu prevalansı düşük bulunmuştur. Kan vericilerinde anti-HIV pozitiflik oranı hasta grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Ancak HIV/AIDS olgu sayısının her yıl yükseldiği göz önünde tutulursa, bulaş riskini en aza indirmek ve güvenilirliğini arttırmak açısından özellikle donör tarama testlerinde WHO tarafından önerilen HIV-1 ve HIV-2'nin antijen ve antikorunun birlikte gösterilmelerini sağlayan yüksek duyarlılığa sahip bir test sisteminin kullanılmasıdır. ELISA ile pozitif çıkan sonuçların mutlaka daha yüksek spesifitesi olan ikinci bir testle (WB) doğrulanması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Tümer A, Ünal S. Dünyada ve Türkiye'de HIV Enfeksiyonu Epidemiyolojisi. AIDS, Modern Tıp Seminerleri: 10, Güneş Yayınevi; 2000;1-10
2. Del Rio Carlos, Curran WJ. 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, sec O, chapter 114;1477-1496.
3. T.C.Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar Dairesi Başkanlığı, HIV/AIDS Sürveyans verileri, Aralık 2006
4. Harmancı A, Zarakoğlu P. Human Immunodeficiency Virus: Laboratuvar tanısı. HIV/AIDS. Nisan-Mayıs-Haziran 2003; cilt: 6, sayı: 2.
5. www.unaidsturkiye.org. UNAIDS Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Türkiye'de HIV/AIDS verileri. "Türkiye'de HIV/AIDS Verileri"
6. Yılmaz G, Özkan E. Retro virüsler. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M(ed). Enfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitapevi İstanbul 2002; sayfa 1322-1340.
7. Streicher H Z, Reitz M S Jr, Gallo R. Human Immunodeficiency Viruses. In Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell G, Bennett J, Dolin R.. Fifth Edition, Churchill Livingstone 2000; Philadelphia. Chapter 157, p. 1874- 1885
8. Merson M, Piot P. Global perspectives on human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. In Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell G, Bennett J, Dolin R. Fifth Edition, Churchill Livingstone sixth edition, 2005, Elsevier Inc.Philadelphia.
9. Quinn TC, Chaisson RE. International Epidemiology of the Human Immunodeficiency Virus. In Infectious Diseases. Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, second Edition, Saunders Company, Philadelphia. 1998; chapter 121, p 1063- 1077.
10. Erensoy S. HIV/AIDS tanısında laboratuvar Yöntemleri. AIDS ve Cinsel Sağlık. AIDS Savaşım Derneği Yayını.I Baskı: Kasım 2005; sayfa 58-63.
11. Demeter L M., Reichman RC. Diagnosis of Human Immunodeficiency Virus Infection. In: Mandell, Bennett&Dolin.: Principles and practice in Infectious Diseases, 6th ed., 2005 Churchill Livingstone, part II, section O, chapter 115, page 1506.
12. Ustaçelebi Ş, Engin D. HIV enfeksiyonu immunopatogenezi ve tanıda kullanılan yöntemler. Ünal S(ed). Modern Tıp Seminerleri: 10, Güneş Kitabevi, Ankara 2000; sayfa 11-26.
13. Çakal B, Ağaçfidan A. Cinsel yolla bulaşan hasta-

- lıkların mikrobiyolojik tanısı. Türkiye Klinikleri. Dahili Tıp Bilimleri. Enfeksiyon. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar özel sayısı(sayı ed.) GökenginGD, 2006; cilt:2, sayı:11, sayfa 11-20.
14. **Yenen OŞ.** Transfüzyon öncesi yapılması gereken enfeksiyöz tarama testleri."Ulusal Kan merkezleri ve Transfüzyon Tıbbı kursu(I) Kurs Kitabı.Adana, Çukurova Üniversitesi Basımevi" Kitabında 1997; sayfa191-206.
15. **Malderelli F.** Diagnosis of Human Immunodeficiency Virus Infection. IN: Mandell GL;Bennett JE; Dolin R eds. Mandell, Douglas and Bennett'S Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005; 1506-1526.
16. **Weber B et al.** Reduction of diagnostic window by new fourth-generation human immunodeficiency virus screening assays. J Clin microbiol 1998; 36: 2235-9
17. **Yenen OŞ.** Transfüzyonla bulaşan virus enfeksiyonları. Klinik Gelişim cilt 14, sayı 2, Nisan-Eylül Özel Sayı 2001; 73-83.
18. **Ay S.** HIV enfeksiyonlarında Laboratuvar tanısı ve tanıda karşılaşılan sorunlar. 6.Türkiye AIDS Kongresi kitabında, 2003; sayfa 113-116.
19. **Bayık M.** Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Tarihi. Herkes İçin Transfüzyon Tıbbı Kitabında; Ed. Ülkü B, Soysal T Semp. Dizisi No:44. Mayıs 2005; sayfa 9-14.
20. **Barbara JAJ, Sultsman MK, Rossi U, ed.** Detection and Prevention of Transmitted Infections. Proceedings of the ESTM Residential Course 1998;35.
21. **Yalçınkaya T, Aydınuraz N.** Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı AIDS Araştırma ve Doğrulama Merkezi Faaliyet Raporu. Türk HIV/AIDS Dergisi; Nisan-Mayıs-Haziran 2003; cilt:6, sayı:2, sayfa 55-56.
22. **Yılmaz N.** HIV Enfeksiyon Tanısında Tanı testlerinin Kullanımı. 6.Türkiye AIDS Kongresi Kitabında. İstanbul, 2003; sayfa 68-73.
23. **Töre O, Uluhan R, Karakoç E, Altunay H, Kılıç B.** Türkiye'de Transfüzyonla Bulaşan Enfeksiyon Sorunu. Klimik 2005, XII.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Belek- Antalya; Kongre Kitabında.16-20 Kasım 2005; sayfa 109-117
24. **Can B, Genç L, Özkan E, İskanova B ve diğer.** İstanbul'da 2001-2002 yıllarında kan donörlerindeki HIV enfeksiyonu prevalansı. 1.Ulusal AIDS Savaşım Sempozy., Kitabında Ankara 2002; sayfa 61, p 007.
25. **Bayraktar B, Bulut E, Erdoğan H.** ŞEH 2000-2006 yılı Anti-HIV test sonuçlarının değerlendirilmesi. ŞEH TIP Bülteni 40:4-2006; sayfa 47- 50