

AxSYM İLE YAPILAN KAN BANKASI TARAMA TESTLERİNDE EIA TEKRARLARINI ENGELLEYECEK İNDEKS DEĞERLERİNİN BELİRLENMESİ

DETERMINATION OF INDEX VALUES TO PREVENT REPETITIONS IN BLOOD DONOR SCREENING ASSAYS BY AxSYM

Aydan ÖZKÜTÜK¹ Alp ERGÖR² Melike GÜZÜNLER¹ A. Arzu SAYINER¹
Y. Hakan ABACIOĞLU¹

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir

¹ Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

² Halk Sağlığı Anabilim Dalı

Anahtar Sözcükler: Kan verici, enzim immunoassay, ROC analizi, örnek/eşik değer

Keywords: Blood donor, enzyme immunoassay, ROC analysis, sample/cut off value

Geliş: 05 Ağustos 2005

Kabul: 18 Eylül 2006

ÖZET

Mikropartikül EIA prensibine göre çalışan Abbott-AxSYM, insan immun yetmezlik virüs antikor (anti-HIV), Hepatit C virüsüne karşı antikor (anti-HCV) ve Hepatit B virüs yüzey antijenini (HBs Ag) saptayabilen bir test sistemidir. Bu testler kan vericilerinde sıklıkla tarama testi olarak kullanılmaktadır. Ancak kan vericileri gibi riskin düşük olduğu topluluklarda yalancı reaksiyonlar sık görülebilmektedir. Reaktif bir örneğin gerçek pozitifliğinin belirlenmesi için sonucun tekrarlanıp olmadığını gösterilmesi ve sonrasında immunoblot ve/veya nükleik asit saptama testleri gibi destek testlerinin uygulanması gerekmektedir. Bu çalışma, kan vericilerinde EIA tekrarlarını azaltabilmek için, tekrarlanabilirliğin mutlak olduğu örneklerdeki ilk test EIA indeksinin (örnek/eşik değer (s/co)) belirlenmesi amacıyla planlanmıştır. Yüz doksan altı verici serumunda, anti-HCV, anti-HIV ve HBsAg için yalancı reaksiyonu, tekrarlayan reaktiflikten ayırmada en yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip EIA indeks değeri "Receiver Operating Characteristic" (ROC) analizi ile belirlenmiştir. Bu değerler, anti-HCV için ≥ 2.28 , anti-HIV için ≥ 2.78 ve HBsAg için ≥ 5.22 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, belirlenen indeks değerleri ve üzerindeki sonuçlarda EIA tekrarı yapılmadan destek testlerine geçilebileceği düşünülmektedir.

SUMMARY

The microparticle-based enzyme-linked immunoassay (AxSYM; Abbott Laboratories) can simultaneously detect antibodies against Human Immunodeficiency Virus (anti-HIV), Hepatitis C Virus (anti-HCV) and Hepatitis B Virus surface antigen (HBsAg) which are widely used for screening of blood donors for HIV, HBV, HCV infections. Nevertheless, reactivity on a screening immunoassay may represent false reactivity, particularly in low-risk populations such as voluntary blood donors. Therefore, some supplemental tests such as immunoblot and/or nucleic acid determination assays are required for repeatedly reactive samples. This study was planned to determine the EIA index value (s/co) that can differentiate the repeatedly reactive samples from false reactive ones in order to decrease the need for EIA repetitions. Sera of 196 blood donors were tested for anti-HCV, anti-HIV and HBsAg in order to determine the EIA indexes of the repeatedly reactive samples. The threshold EIA indexes of three assays with highest sensitivity and specificity were determined by using receiver operating characteristics (ROC) analysis. These values were ≥ 2.28 for anti-HCV, ≥ 5.22 for HBsAg and ≥ 2.78 for anti-HIV. Samples with EIA indexes above these values may be accepted as repeatedly reactive and further EIA repetitions can be avoided before performing supplemental tests.

GİRİŞ

ROC analizi; kullanılan testin tanısal yeterlilik ve doğruluğunu gösterebilen istatistiksel bir analiz yöntemidir. Prevalanstan etkilenmemesi ve olası tüm karar eşiklerindeki durumları değerlendirilebilmesi testin önemli avantajlarından. Bu analiz ile hedeflenen duyarlılık-özellik oranlarını en iyi verecek indeks değerleri seçilebilmektedir (1, 2). Kan vericilerine uygulanan serolojik tarama testlerinde duyarlılığın %100 olması istenir. Son yıllarda nükleik asit saptama testleri bazı ülkelerde kan bankası tarama testleri arasında kullanıma girmiştir (3). Ancak bu testlerde de yüksek duyarlılığın beraberinde getirdiği yalancı pozitiflikler ve yüksek maliyetler sorun olmaktadır.

Abbott-AxSYM, kan bankacılığında zorunlu serolojik testlerin yapılmasında sık kullanılan, otomatik, mikropartikül EIA (MEIA) prensibine göre çalışan bir test sistemidir (4). Sistemde tüm pozitif sonuçların en az iki kez incelenmesi önerilmektedir. Tekrarlanan pozitifliğin saptanması durumunda tanı algoritminin diğer basamakları olan ileri inceleme testleri devreye girmektedir. Pozitif EIA sonucunun tekrarlanabilirliği, reaksiyonun kuvveti ile paralellik göstermektedir. Bu durumda kuvvetli pozitif örneklerde test tekrarı gereksiz maliyet ve iş gücü kaybına neden olmaktadır. Test indeksi (serum örneği /eşik değeri; s/co) test tekrarı gerektirmeden ileri incelemelere geçilmesi kararının verilmesinde yardımcı bir gösterge olarak kullanılabilir. Test indekslerinin kullanımı ile ilgili olarak anti-HCV EIA tarama test sonucu pozitif çıkan örneklerin indeks değerlerine göre destek testlerinin uygulanması önerisi MMWR'ın raporunda bildirilmektedir (5). Diğer taraftan, tekrarlanabilirliği olmayan pozitif (yalancı pozitif) örneklerin belirlenebilmesi, gereksiz ileri incelemeleri engelleyecektir. Bu nedenler ile tekrarlanabilirliği olan ve olmayan pozitif sonuçları birbirinden ayırabilecek indeks değerlerinin belirlenmesi ve özgül olmayan reaksiyonlarda izlenecek algoritmayı saptamak büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı HBsAg, anti-HCV, anti-HIV testlerinde gereksiz tekrarların azaltılabilmesi için pozitif örneklerde tekrarlanabilirliğin mutlak olduğu indeks değerinin ROC analizi ile belirlenmesidir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubu: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na başvuran kan verici adayları

Örnek sayısı: Serolojik tarama testlerinde (HBsAg, anti-HCV, anti-HIV) pozitif veya gri zon saptanan örneklerden rastgele seçilen 196 serum örneği çalışmaya alındı.

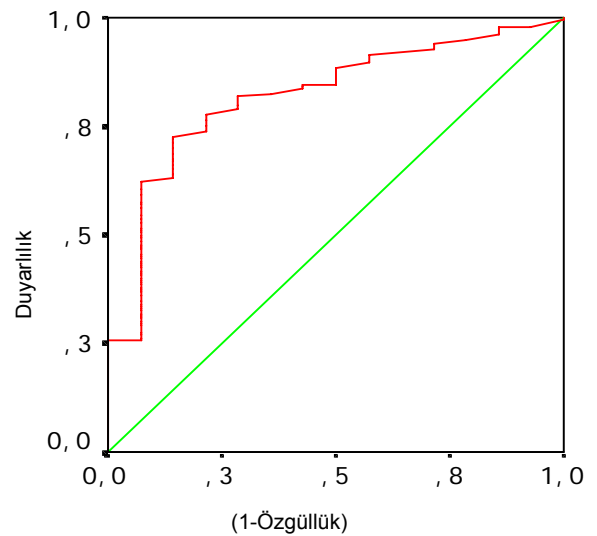
EIA tarama testi: Serum örnekleri AxSYM MEIA (HBsAg version 2, HCV version 3.0, HIV Ag/Ab Combo; Abbot GmbH Diagnostika, Almanya) testleri ile çalışıldı. Yöntemin çalışma prensibine göre, HBsAg, anti-HIV, anti-HCV test sonuçları; örnekten elde edilen floresans oranının eşik değer oranına bölünmesi ile s/co olarak elde edildi.

Birinci testte pozitif veya gri zon saptanan her örnek, 10000 g'de 20 dk santrifüjleme sonrası iki kez daha aynı sistemle çalışıldı. Örnek, tekrarların pozitif veya gri zon saptanması durumunda gerçek reaktif, negatif saptanması durumunda yalancı reaktif olarak kabul edildi.

İstatistiksel yöntem: Test sonuçlarının istatistiksel analizinde SPSS 11.0 bilgisayar programı ile ROC analizi ve ki-kare testleri uygulandı. Duyarlılık ve özgülük hesaplamaları bu esaslara göre yapıldı.

BULGULAR

Çalışma grubunda, HBsAg, anti-HIV ve anti-HCV için tekrarlanabilirliğin en yüksek olduğu indeks değerler araştırıldı. Olası her indeks değerindeki duyarlılık ve yalancı reaktiflik oranları ROC analizi ile hesaplandı. Buna göre HBsAg için, kuşku sınır indeks değerinde (s/co: 1.60) duyarlılık %98, yalancı reaktiflik %95; pozitiflik sınır indeks değerinde (s/co: 2.00) duyarlılık %88, yalancı reaktiflik %38 olarak hesaplandı. Tekrarlanabilir pozitifliğin mutlak olduğu EIA indeks değeri ise 5.22 olarak saptandı.



Şekil 1. Anti-HCV testi için elde edilen ROC eğrisi ($y=0,821$) (Değerin 1'e yakın olması tanısal yeterliliği belirtmektedir)

Anti-HCV için, kuşkulu sınır indeks değerinde (0.80) duyarlılık ve yalancı reaktivite %99; 1.00 indeks değerinde ise duyarlılık %76, yalancı reaktivite %21 olarak hesaplandı. Tekrarlanabilir pozitifliğin mutlak olduğu anti-HCV EIA indeks değeri ise 2.28 olarak hesaplandı (Şekil 1).

Anti-HIV için sonuçlar değerlendirildiğinde kuşkulu sınır indeks değerinde (s/co: 0.90) duyarlılık %91, yalancı reaktivite %53; 1.00 s/co değerinde duyarlılık %82 yalancı reaktivite %27 olarak hesaplandı. Tekrarlanabilirliğin mutlak olduğu EIA indeks değeri ise 2.78 idi.

TARTIŞMA

Testlerin tanısal yeterliliğini değerlendirmede ROC analizi önemli bilgiler vermektedir. ROC yöntemi istatistik karar teorisine dayanmaktadır. 1950'li yılların başında elektronik sinyal saptama ve radar problemlerinde kullanılmaya başlandı (6). 1960'lı yılların ortalarında deneysel psikolojide kullanımının ardından 1967'de Lusted (7), ROC eğrilerini tıp alanında radyolojik görüntüleme karar verme aşamasında ilk olarak kullanıma sokan araştırmacı olmuştur. Günümüzde ROC eğrileri klinik laboratuvarlarda uygulanan birçok testin tanısal yeterliliğini ve performansını ölçmede kullanılmaktadır (1, 8).

ROC eğrileri olası tüm duyarlılık ve özgüllük çiftlerinin tam olarak görülebilmesini sağlar. ROC eğrisi altında

kalan alan hesaplandığında, değerler 1.0 (iki grubun test sonuçlarının ideal ayrımı) ile 0.5 (iki grup arasında test sonuçları açısından dağılım yönünden farkın olmaması) arasında dağılım göstermektedir. Sonuçlar 1'e ne kadar

yakınsa testin tanısal yeterliliği o kadar yüksek olmaktadır (9). Çalışmada, ROC alanı üç test için 0.84 - 0.86 arasında yer almıştır. Testlerin tanısal yeterliliği her üç test için de başarılı görülmektedir.

İstatistiksel olarak yalancı reaktivitenin olmadığı bir başka deyişle gerçek pozitif olma ihtimalinin yüksek olduğu EIA indeksine sahip örneklerin doğrudan destek testlerine yönlendirilmesi uygun olabilir. Belirlenen eşik değerlerin altındaki indeks değerlere sahip örneklerin ise ikinci ve üçüncü EIA çalışmaları yapıldıktan sonra destekleyici testlere geçmesi önerilebilir. Özellikle HCV enfeksiyonlarında tanısal testlerin değerlendirilmesinde uygun algoritmelerin oluşturulması için birçok çalışma yapılmıştır. Bu amaçla anti-HCV EIA testlerinde s/co değeri düşük pozitiflerde yalancı reaksiyonların sık olduğu gösterilmiştir (10-13). Elde edilen indeks değerine göre test tekrarının uygulanması maliyet, iş gücü ve zaman açısından kazanç sağlayacaktır. Sonuç olarak, çalışma grubunda, birinci testte saptanan indeks değeri anti-HCV için ≥ 2.28 , HBsAg için ≥ 5.22 ve anti-HIV için ≥ 2.78 olması durumunda tekrarlanabilirlik mutlak olmaktadır. Bu değerlerin üzerinde EIA indeksine sahip örneklerde, testlerin tekrarına gerek olmadan ileri tetkiklere geçilebileceği düşünülmektedir. Klinik laboratuvarın maliyet, zaman ve iş gücü açısından verimlilik sağlamasında, örneklerin, EIA indekslerini dikkate alan bir değerlendirme sonrası seçilecek ileri testlerin uygulanması yardımcı olacaktır. Böylece her laboratuvar kendi koşulları için en uygun algoritmeleri oluşturabilir.

KAYNAKLAR

1. Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* **1982**; 143: 29-36.
2. Linnet K, Brandt E. Assessing diagnostic tests once an optimal cutoff point has been selected. *Clin Chem* **1986**; 32: 1341-6.
3. Marshall DA, Kleinman SH, Wong JB, et al. Cost-effectiveness of nucleic acid test screening of volunteer blood donations for hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus in the United States. *Vox Sang* **2004**; 86: 28-40.
4. Moerman B, Moons V, Sommer H, Schmitt Y, Stetter M. Evaluation of sensitivity for wild type and mutant forms of hepatitis B surface antigen by four commercial HbsAg assays. *Clin Lab* **2004**; 50: 159-62.
5. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* **2003**; 52 (RR-3): 1-15.
6. Metz CE. Roc methodology in radiology imaging. *Invest Radiol* **1986**; 21: 720-33.
7. Lusted LB. Decision making studies in patient management. *N Engl J Med* **1971**; 284: 416-24.
8. Linnet K. A review on the methodology for assessing diagnostic tests. *Clin Chem* **1988**; 34: 1379-86.
9. Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* **1988**; 240: 1285-93.

10. **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.
11. **Schroter M, Schafer P, Zollner B, et al.** Strategies for reliable diagnosis of hepatitis C infection: the need for a serological confirmatory assay. *J Med Virol* **2001**; 64: 320-4.
12. **Polywka S, Schroter M, Feucht HH, Zollner B, Laufs R.** Relevance of reactivity in commercially available hepatitis C virus antibody assays. *J Clin Microbiol* **2001**; 39: 1665-8.
13. **Dufour DR, Talastas M, Fernandez MD, et al.** 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.

İLETİŞİM

Yrd. Doç. Dr. Aydan ÖZKÜTÜK
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
35340 Inciraltı, İZMİR
e-posta: aydan.ozkutuk@deu.edu.tr