

KRONİK HEMODİYALİZ TEDAVİSİ UYGULANAN HASTALARDA HEPATİT B ve C GÖSTERGELERİNİN İKİ FARKLI YÖNTEMLE DEĞERLENDİRİLMESİ

THE EVALUATION OF HEPATITIS B and C MARKERS BY TWO DIFFERENT METHODS IN CHRONIC HEMODIALYSIS PATIENTS

Mustafa Aygündüz, Canan Ağalar*, Tuğrul Sezer**,
Mehmet İşler ***, Osman Karaçetin****

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
*Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, **Nefroloji Bilim Dalı, ***Gastroenteroloji Bilim Dalı
**** Devlet Hastanesi Hemodiyaliz Ünitesi - İSPARTA

ÖZET

Bu çalışmada, hemodiyaliz hastalarında, hepatit B ve C göstergeleri RP HA (Reverse Passive Hemeagglutination) ve 3. jenerasyon ELISA(Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemleriyle incelenmiş ve RPHA yönteminin tanı değeri araştırılmıştır. İlimiz Devlet Hastanesi Hemodiyaliz Merkezi'ndeki 60 hasta (27'si kadın ve yaş ortalaması 44.817.1) çalışmaya alınmıştır. Bu hastalardan, 1998 Temmuz ayı içinde fistülize venden alınan kan örneklerinde, RPHA yöntemiyle HBsAg, anti-HBs ve anti-HCV; 3.jenerasyon ELISA yöntemiyle ise HBsAg, anti-HBs, anti-HBc total ve anti-HCV düzeyleri çalışılmıştır. ELISA yöntemiyle elde edilen sonuçlar "gerçek doğru" kabul edildiği zaman, RPHA yönteminin sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif prediktivitesi, sırasıyla, HBsAg için % 75, % 98, % 75, % 98; anti-HBs için % 54, % 91, % 91, % 51; anti-HCV için %91, % 100, % 100, % 90 olarak bulunmuştur. Sonuçlarımız, hemodiyaliz hastalarında hepatit B virus göstergelerinin belirlenmesinde RPHA yöntemi yerine, en azından ELISA yönteminin kullanılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hepatit B, hepatit C, ELISA, RPHA

GİRİŞ

Viral hepatitler, kronik böbrek yetmezlikli olgularda önemli bir sorundur. Bu olguların sık kan transfüzyon gereksinimleri ve bazılarında kronik periton diyalizi ya da hemodiyaliz tedavisi uygulanması, hepatit virüsleriyle daha fazla karşılaşmalarına neden

SUMMARY

In this study, hepatitis B and C markers were evaluated in hemodialysis patients with RPHA (Reverse Passive Hemeagglutination) and ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) methods to assess the diagnostic value of RPHA. Sixty patients (27 women, mean age 44.817.1 years) from the hemodialysis center in our Government Hospital were enrolled to the study. At July 1998, in blood samples derived from the fistulised venous system HBsAg, anti-HBs and anti-HCV were studied with RPHA while HBsAg, anti-HBs, anti-HBc total and anti-HCV were studied with 3th generation ELISA method. If the results obtained from the ELISA method are assumed to be "real true"; the sensitivity, specificity, positive and negative predictivity of the RPHA method are found to be 75%, 98%, 75%, 98% for HBsAg; 54%, 91%, 91%, 51% for anti-HBs and 91%, 100%, 100%, 90% for anti-HCV, respectively. Our results indicate that, at least ELISA should be preferred to RPHA method to determine the hepatitis B virus markers in hemodialysis patients.

Key Words: Hepatitis B, hepatitis C, ELISA, RPHA

olmaktadır. Kronik böbrek yetmezliğinde immün sistemin de baskılanmış olması bu olgularda hepatit enfeksiyonlarının daha sık görülmesine katkıda bulunabilir. Ülkemizdeki bazı merkezlerde kronik hemodiyaliz hastalarında farklı yöntemlerle bakılan HBsAg sıklıkları, % 5.4-28.5 arasında bildirilirken (1-

4); sağlıklı popülasyonda bu oran % 5-10 arasındadır (5). Bir çalışmada, anti-HCV pozitifliği sağlıklı kan donörlerinde % 0.75 bulunurken, hemodiyaliz grubunda % 62.7 ve sürekli ayaktan periton diyalizi grubunda % 13.8 olarak bildirilmiştir (6). Yine diğer bir çalışmada kronik hemodiyaliz olgularında anti HCV prevalansı % 67.1 olarak saptanmıştır (7).

Bu bulgular, hemodiyaliz olgularının viral hepatit enfeksiyonu için risk grubu olduğunu destekleyen klinik gözlemlerdir. Bu nedenle, hemodiyaliz olgularının ve bunlara transfüze edilecek kan ve kan ürünlerinin hepatit virus göstergeleri yönünden en kısa zamanda ve en doğru yöntemle belirlenmesi ve testlerin aralıklarla tekrarlanması gereği ortaya çıkmaktadır.

Hemodiyaliz Ünitesinde tedavi gören hastalar da dahil olmak üzere, tüm birimlere hizmet eden İsparta Devlet Hastanesi Kan Merkezi'nde viral hepatit serolojisinin belirlenmesi amacıyla Ekim 1998 tarihine kadar RPHA (Reverse Passive Hemeagglutination) yöntemiyle, sadece HBsAg , anti-HBs ve anti-HCV bakılmakta ve klinik uygulamalarda bu test sonuçları esas alınmakta idi. Oysa hepatit serolojisinin değerlendirilmesi konusunda 3. jenerasyon ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) testlerinin, RPHA yöntemine göre daha sensitif ve daha spesifik olduğunu gösteren çalışmalar vardır (8,9). Bu çalışmada, hemodiyaliz hastalarında hepatit B ve C göstergeleri RPHA ve 3. jenerasyon ELISA yöntemleriyle incelenmiş ve RPHA yönteminin tanı değeri araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Devlet Hastanesi Hemodiyaliz Merkezi'nde, kronik böbrek yetmezliği nedeniyle hemodiyaliz tedavisi almakta olan 60 hasta, Temmuz 1998 tarihinde çalışmaya alınmıştır.

Bu hastalardan, hemodiyaliz öncesinde, ön kol fistüleze veninden iki ayrı tüpe 5'er cc'lik iki kan örneği alınmıştır. Bir örnekte, Devlet Hastanesi Kan Merkezi'nde RPHA yöntemiyle HBsAg (HBsAg Tek Adım Testi - HSB Diagnostics Inc., U.S.A.), anti-HBs (HBsAb Membran Testi - BioTANI Invitro Diagnostics Inc., U.S.A.) ve anti-HCV (HCV Spot Testi - HSB Diagnostics Inc., U.S.A.) çalışılmıştır. Diğer kan örneğinde ise Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarındaki 3. jenerasyon ELISA cihazıyla (Cobas-Core, Macro-ELISA, Boncuk Sistemi) HBsAg , anti-HBs , anti-HBc total ve anti-HCV düzeyleri araştırılmıştır.

RPHA ve ELISA yöntemleriyle elde edilen test sonuçları karşılaştırılmıştır; sonuçlar arasında

uyumsuzluk saptanan olgularda ve hepatit B serolojisi açısından ek tetkik gereken hastalarda aynı kan örnekleri kullanılarak, HBsAg, anti-HBs, anti-HBc total düzeyleri tekrar çalışılmıştır.

ELISA yöntemiyle elde edilen sonuçlar "gerçek doğru" kabul edildiği zaman, RPHA yöntemiyle elde edilen HBsAg , anti-HBs ve anti-HCV test sonuçlarının gerçek pozitif, gerçek negatif, yanlış pozitif ve yanlış negatif olma durumları belirlenerek, buradan RPHA yönteminin her bir gösterge için sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif prediktivitesi hesaplanmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 60 hemodiyaliz olgusunun 27'si kadını ve yaş ortalaması 44.817.1 (14-85 yıl) idi. Bu olguların ortalama hemodiyaliz süreleri 24.820.3(2-97 ay) idi. Hastaların RPHA yöntemiyle elde edilen HBsAg, anti-HBs ve anti-HCV sonuçları ile ELISA yöntemiyle elde edilen HBsAg , anti-HBs , anti-HBc total ve anti-HCV sonuçları **Tablo 1**'de sunulmuştur.

Tablo 1: RPHA ve ELISA yöntemleriyle elde edilen HBsAg, anti-HBs, anti-HBc total ve anti-HCV sonuçları

Gösterge	RPHA		ELISA	
	n=60	%	n=60	%
HBsAg (+)	4	6.7	4	6.7
HBsAg (-)	56	93.3	56	93.3
Anti-HBs (+)	23	38.3	39	65.0
Anti-HBs(-)	37	61.7	21	35.0
Anti-HBc total (+)	—	—	23	38.3
Anti H Be total (-)	—	—	37	61.7
Anti-HCV (+)	30	50.0	33	55.0
Anti HCV (-)	30	50.0	27	45.0

ELISA ve RPHA yöntemleriyle elde edilen sonuçların olgu bazında birbiriyle ilişkileri **Tablo 2**'de sunulmuştur.

ELISA yöntemiyle elde edilen sonuçlar "gerçek doğru" kabul edildiği zaman, RPHA yöntemiyle elde edilen HBsAg , anti-HBs ve anti-HCV test sonuçlarının gerçek pozitif, gerçek negatif, yanlış pozitif ve yanlış negatif olma durumları belirlenerek, buradan RPHA yönteminin her bir gösterge için sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif prediktivitesi hesaplanmış ve **Tablo 3**'te sunulmuştur.

Tablo 2: ELISA ve RPHA yöntemleriyle elde edilen sonuçların olgu bazında birbiriyle ilişkileri

Gösterge	RPHA	ELISA	n=60	%
HBsAg	+	+	3	5.00
	-		55	91.67
	+		1	1.67
		+	1	1.67
Anti-HBs	+	+	21	35.00
	-		19	31.67
	+		2	3.33
		+	18	30.00
Anti-HCV	+	+	30	50.00
	-		27	45.00
	+		0	0
		+	3	5.00

Tablo 3: ELISA yöntemiyle elde edilen sonuçlar "gerçek doğru" kabul edildiği zaman, RPHA yönteminin sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktivitesi

Gösterge	RPHA Yönteminin Değeri	%
HBsAg	Sensitivite	75
	Spesifite	98
	Pozitif prediktif değer	75
	Negatif prediktif değer	98
Anti-HBs	Sensitivite	54
	Spesifite	91
	Pozitif prediktif değer	91
	Negatif prediktif değer	51
Anti-HCV	Sensitivite	91
	Spesifite	100
	Pozitif prediktif değer	100
	Negatif prediktif değer	90

Tablo 4: ELISA yönteminin HBsAg, anti-HBs, anti-HBc total ve anti-HCV göstergeleri için sensitivite ve spesifite değerleri

Gösterge	ELISA yönteminin tanı değeri	%
HBsAg	Sensitivite	> 99.9
	Spesifite	>99.9
Anti-HBs	Sensitivite	> 99.0
	Spesifite	> 98.9
Anti-HBc total	Sensitivite	> 99.9
	Spesifite	>99.6
Anti-HCV	Sensitivite	> 99.5
	Spesifite	> 99.7

TARTIŞMA

Hepatit virus serolojisinin araştırılması için günümüze kadar farklı birçok yöntemlerden yararlanılmıştır. Günümüzde ise RIA (**Radyoimmüno Assay**), PCR (Polimerase Chain Reaction) gibi daha duyarlı yöntemlerin bulunmasına rağmen, bu yöntemlerin pahalı olması ve yaygın olarak bulunmaması nedeniyle bir çok merkezde ELISA, hatta bazılarında halen RPHA yöntemi kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, kliniklerimizde kullanılan ELISA yöntemi esas alınarak, RPHA yönteminin sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerleri hesaplanmıştır. ELISA yöntemi Hepatit B ve C göstergelerinin değerlendirilmesi için oldukça güvenli bir test yöntemidir. HBsAg , anti-HBs , anti-HBc total ve anti-HCV testleri için bildirilen sensitivite ve spesifite değerleri **Tablo 3** ve **4**'de sunulmuştur (10).

HBsAg'nin saptanmasında ilk önceleri presipitasyon yöntemleri kullanılmıştır (11). Daha sonra geliştirilen yöntemlerin duyarlık ve özgüllükleri bazı çalışmalarda benzer bulunurken, bazılarında ise farklı saptanmıştır. Örneğin, hepatit B taşıyıcılarında yapılan bir çalışmada, ELISA ile % 12.3 oranında HBsAg saptandığı halde, Lateks ile bu oran % 14.2 olarak bulunmuştur (12). HBsAg saptanması konusunda yapılan diğer çalışmalarda, CIE (Counter Immun Electrophoresis) ve RPHA yöntemleri arasında % **7.4'lük** (13), RPHA ile ELISA arasında ise % 17'lik (8)

duyarlık farkı bulunduğu bildirilmiştir. İngiltere'de yapılan bir çalışmada, HBsAg için çeşitli RPHA uygulamaları, ELISA ile karşılaştırılmış ve sonuçta erken dönemdeki akut hepatit olgularının % 25'inin RPHA yöntemiyle saptanamadığı, genel anlamda ise 3.jenerasyon testlerin; 2.jenerasyon testlere göre 100 kat daha duyarlı oldukları bildirilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 0.2 ng/ml'lik HBsAg'nin saptanması gerektiği konusundaki önerisi göz önüne alındığında, RPHA yerine ELISA testlerinin kullanılması gerektiği ortaya çıkmaktadır (14).

Bizim çalışmamızda HBsAg için RPHA yönteminin spesifite ve negatif prediktif değerini oldukça yüksek olarak (% 98) bulmamıza karşın, sensitivite ve pozitif prediktif değerini % 75 olarak saptadık. Bu ise, gerçekte HBsAg taşıyan hastaların % 25'inin RPHA yöntemiyle atlandığı anlamına gelmekte olup, yukarıda bahsedilen çalışmayı destekler niteliktedir.

Çalışmamızda Anti-HBs için RPHA yönteminin sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerleri de oldukça düşük olarak bulunmuştur; bu durum özellikle sensitivite (% 54) ve negatif prediktivite (% 51) için daha belirgindir. ELISA ile anti-HBs (+) saptanan hastaların %46'sını RPHA yöntemi anti-HBs (+) olarak saptayamamaktadır. Bu ise RPHA yönteminin ancak 30 mIU/ml üzerindeki anti-HBs değerlerini ölçebilmesinden kaynaklanmaktadır (15). Ek olarak, aşı ile halen korunmakta olan hastaların takibinde; anti-HBs'nin yalnız pozitif veya negatif olarak bilinmesinden çok, anti-HBs titrasyonu esas alındığından RPHA yöntemi bu nedenle de uygun değildir.

Diğer taraftan hepatit B serolojisinin belirlenmesi amacıyla Devlet Hastanesi Kan Merkezi'nde RPHA yöntemiyle yalnızca HBsAg ve anti-HBs bakılmakta ve anti-HBc bakılmamaktadır. Oysa, hepatit B taraması amacıyla en azından HBsAg, anti-HBs ve anti-HBc total'in araştırılması gerekmektedir (16).

HCV antikorlarının saptanması amacıyla yapılan bir çalışmada, risk gruplarında RPHA yönteminin HCV için sensitivitesinin %98, spesifitesinin %71.8 ve ELISA yönteminin ise sensitivitesinin % 97.8, spesifitesinin %66.7 olduğu bildirilmiş, ELISA ve RPHA yöntemleri arasında %96.5 oranında uyumluluk olduğu kaydedilmiştir (17). HCV prevalansının düşük olduğu popülasyonlarda ELISA ile yanlış pozitifliğin halen bir sorun teşkil etmesine karşın, C virus prevalansının yüksek olduğu popülasyonlarda ELISA testi yeterli bulunup, üzerine ek bir testin gerekmediği kabul edilmektedir (18). Bizim çalışmamızda, anti-HCV için RPHA yönteminin sensitivite ve negatif prediktif

değerini daha düşük saptamamıza karşın (sırasıyla % 91 ve % 90), spesifite ve pozitif prediktif değerini ELISA ile eşdeğer olarak bulduk. Bu sonuçlara göre, RPHA yöntemi HCV antikorlarının saptanmasında halen klinik olarak kabul edilebilir bir tanı değerine sahiptir.

Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışma klinik uygulamaların yönlendirilmesi açısından gerekli idi ve sonuçlarımız RPHA test yönteminin en azından Hepatit B göstergelerinin araştırılmasında artık kullanılmaması gerektiğini ortaya koymaktadır. Viral hepatit için risk grubu olan hemodiyaliz hastalarında, hepatit virus göstergeleri en azından ELISA gibi daha sensitif ve daha spesifik bir yöntemle değerlendirilmelidir. Acil olarak hemodiyaliz başlanması gerektiği durumlarda, hızlı sonuç alınabilmesi nedeniyle RPHA yöntemi bir avantaj gibi görülmekle birlikte; hekim bu yöntemin özelliklerini gözönünde tutmalı ve ideal olarak hastanın hepatit serolojisi daha önceden belirlenerek, gerekirse aşılama programına alınmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Önen K, Ereğ A, Ülkü U, Serdengeçti K, Ataman R, Dalmak S: Bir hemodiyaliz ünitesinde Atı antijeni ve enfeksiyon hepatitis sıklığı, Aktüel Hepatoloji Uluslararası VI.Hepatoloji Sempozyumu Kitabı, ss.60, İstanbul, 1986.
2. Badur S: HBV'nun yapısı ve enfeksiyonların seroepidemiolojisi. "Viral hepatit B'nin toplumdaki yeri ve korunma" simpozyumu, Haydarpaşa Numune Hastanesi Bilimsel Toplantıları, Simpozyum Kitabı, Derleyen G. Yaylı, ss.8, İstanbul, 1990
3. Özbal Y: The incidence of HBV and HIV infections in the blood transfusion center of Erciyes University, "Molecular Probes: Technology and Medical Applications" Kongresi, Kongre Kitabı, ss.13,1988
4. Doğanay M, Patıroğlu T, Utaş C ve ark. : Değişik gruplarda HBsAg, Anti-HCV ve Anti-HDV pozitifliğinin karşılaştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni, 27: 107, 1993
5. Badur S: Ülkemizde Viral Hepatitlerin Durumu. Viral Hepatit 94, Kılıçturgay K (ed). Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını, 1994, ss.18
6. Süleymanlar G, Süleymanlar İ, Sezer T ve ark. : Hemodiyaliz veya sürekli ayaktan periton diyalizi uygulanan kronik böbrek yetmezliği hastalarında hepatit C virus enfeksiyonu: karşılaştırmalı analiz sonuçları, Türk J Gastroenterol 1997; 8: 21-27
7. Sarıçam T, Harmancı A, Genç Y, Akgün Y, Erenoğlu E: Hemodiyaliz hastalarında Anti-HCV prevalansı, The Turkish J Gastroenterohepatol 1994, 5:124-126
8. Aslan T,Ökten A, Çalangu S, Çetin ET: Akut viral hepatitin serolojik tanısı. 6.Türk Gastroenteroloji Kongresi,22-25 Ekim 1985, Kongre Kitabı, Eds: S.

- Koşay, T. İltar, İ. Şimşek, A. Muşoğlu, ss.334, Nurettin Uyca Basım San., İstanbul, 1986
9. Sayiner AA, Erdem İ, Bilgiç A : HBsAg olumsuz kan donörlerinde HBV profilleri ve HBsAg saptamada RPHA ile EIA yöntemlerinin karşılaştırılması. **III. Ulusal Viral Hepatit Simpozyumu. Kongre Kitabı**, ss:p-28. Ankara, 1996
 10. Cobas-Core Macro-ELISA Systems, Users Manual
 11. Lostia O, Lorenzini P, Maroccia E: A comparison of methods for the detection of hepatitis B surface antigen (HBsAg). *Boll Ist Sieroter Milan* 62:381,1983
 12. Coşkun S, Taşdelen N, Ünlü E, Yağmurluoğlu M: HBsAg taşıyıcılığının genel kadınlarda ve enstitü personelimizde ELISA yöntemi ile insidansı ve Latex aglütinasyon yöntemi ile karşılaştırılması. **XXIV.Türk Mikrobiyoloji Kongresi**,26-28 Haziran 1990, Kongre Özet Kitabı, ss. 17, Kayseri, 1990
 13. Ökten A, Yıldır C, Dilmener M, Saraçbaşı Z, Ulagay 1: Hepatit B yüzey antijeninin karşı immünelektroforez ve RPHA yöntemleri ile karşılaştırılması. *Tıp Fak Mecm* **41:655**, 1978
 14. Ronalds CJ, Grint PCA, **Hardiman** AE, Heat RB: Testing for hepatitis B surface antigen- a critical review, *Serodiagn Immunother Infect Dis* 3: 293, 1989
 15. HBsAb Membran Test - BioTANI Invitro Diagnostics, Users Manual
 16. J.L. Dienstag, K.J. Isselbacher: Acute Viral Hepatitis, **in** Harrison's Principles of Internal Medicine, 14th ed, A.S. Fauci et al (eds), McGraw-Hill, 1998, pp:1687-88
 17. Güillekin M, Çolak D, Sülcymenler İ, Erkiş M, Süleymanlar G. Otomasyon ve Çabuk Tanı. **17. Türk Mikrobiyoloji Kongresi**, 1996, Antalya, Kongre Kitabı, ss: 198
 18. Gretch D : Diagnostic tests for hepatitis C, in NIH Consensus Development Conference on Management of Hepatitis C, March 24-26, 1997, Bethesda, Maryland, Program and Abstracts, pp:34-42