

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
HALK SAĞLIĞI GENEL MÜDÜRLÜĞÜ

HIV/AIDS TANI KILAVUZU

ANKARA 2018

İçindekiler

I. GENEL BİLGİLER.....	5
II. HIV ENFEKSİYONUNUN TARAMA, TANI ve TAKİBİNDE KULLANILAN TESTLER.....	13
1. HIV tanı hizmetlerinin uygulanması.....	14
2. HIV testi uygulamasında temel prensipler ve test seçimi	17
3. HIV tanı testleri	19
3.1. Serolojik Testler.....	19
3.1.1. Enzim immunoassay	20
3.1.2. Hızlı tanı testleri	20
3.1.3. Antikor saptayan HIV doğrulama testleri.....	21
3.1.4. Antikor saptayan hızlı HIV doğrulama testleri (HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testleri).....	23
HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testlerin avantaj ve dezavantajları	24
3.1.5. Serolojik Testlerin Değerlendirilmesi	25
3.2. Moleküler Testler.....	28
4. Tanıda önerilen algoritmalar.....	29
4.1. Erişkinler ve 18 aydan büyük çocuklarda HIV tanı algoritması	29
4.2. Annesi HIV pozitif; yenidoğan ve 18 aydan küçük bebeklerde tanı algoritması	33
4.3. Sonuçların Raporlanması.....	37
5. Kalite Güvencesi.....	39
6. Antiretroviral (ARV) direnç testi.....	39
7. Abakavir aşırı duyarlılık reaksiyonu.....	45
KAYNAKLAR.....	47

ŞEKİLLER

Şekil 1	HIV virionu yapısı	7
Şekil 2	Düzelere göre test merkezleri ve laboratuvarların sorumlulukları	15
Şekil 3	HIV enfeksiyonu sürecinde günlere göre in vitro tanı metotlarının kullanımı	17
Şekil 4	Hızlı tanı testleri görünümü	21
Şekil 5	Line-immunoassay görünümü	22
Şekil 6	HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama test kiti görünümü	25
Şekil 7	Erişkinlerde ve 18 aydan büyük çocuklarda HIV tarama algoritması	31
Şekil 8	18 aydan büyük çocuk ve erişkinlerde önerilen doğrulama testi tanı algoritması	32
Şekil 9	Yenidoğan ve 18 aydan küçük bebeklerde tanı	36
Şekil 10	Antiretroviral ajanların etki mekanizmaları	40

TABLolar

Tablo 1	ELISA testleri ile yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik nedenleri	26
Tablo 2	HIV Test Sonucu Raporu Açıklamaları	37

KISALTMALAR

AIDS	Acquired-immunodeficiency syndrome (Kazanılmış immün yetmezlik sendromu)
AHI	Akut HIV enfeksiyonu
ARV	Antiretroviral
ART	Antiretroviral tedavi
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi)
CLIA	Clinical Laboratory Improvement Amendments (Klinik Laboratuar İyileştirme Değişiklikleri)
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ECDC	European Center for Disease Prevention and Control (Avrupa Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi)
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent assay
EIA	Enzyme-immunoassay
HAART	Highly active antiretroviral therapy (Yüksek etkili antiretroviral tedavi)
HIV	Human immunodeficiency virüs (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü)
IFA	Immunofloresan antikor testi
LIA	Line-immunoassay
LTS	Long-term survivors
NAT	Nükleik asit testi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
UNAIDS	The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS
WB	Western Blot

I. GENEL BİLGİLER

İnsan İmmun Yetmezlik Virüsü (Human immunodeficiency virus; HIV) Lentivirinae alt ailesinden zarflı bir Retrovirüstür. Virüs bağışıklık sisteminin baskılanması sonucunda fırsatçı enfeksiyonlar ile seyreden AIDS (Acquired-immunodeficiency syndrome) tablosuyla karakterize kronik hastalığa yol açmaktadır.

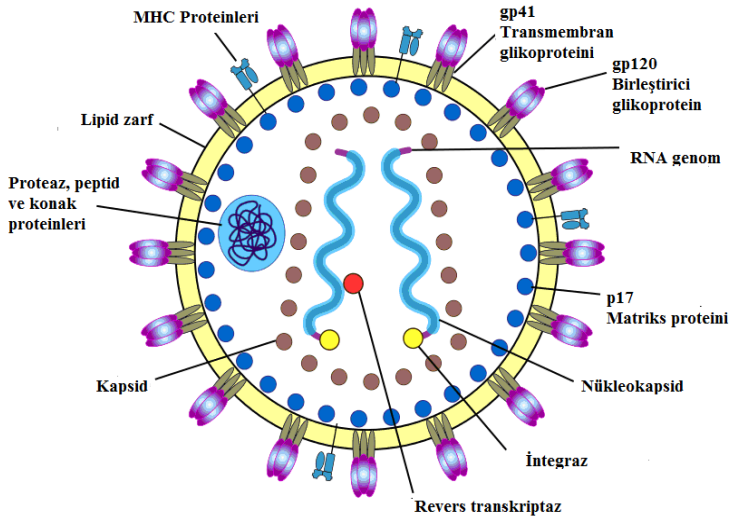
AIDS ilk kez 1981 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde New York, Los Angeles ve San Francisco şehirlerinde önceden sağlıklı, genç homoseksüel erkeklerde *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi ve Kaposi sarkomu vaka sayılarında görülen artış sonrasında tanımlanmıştır. Daha sonraki vakalar, hemofili hastaları, kan transfüzyonu alan kişiler, heteroseksüel damar içi ilaç kullananlar ve bu kişilerin cinsel eşlerinde izlenmiştir. Virüs 1983 yılında, AIDS ve kronik lenfadenopati gibi AIDS ile ilişkili klinik tablosu olan kişilerin kan örneklerinden izole edilmiştir. HIV enfeksiyonunun tanısında kullanılan serolojik testler 1985 yılında geliştirilerek kullanıma girmiştir. Afrika'da, 1986'da iki AIDS hastasında HIV-1'den antijenik yönden farklı bir virüs izole edilmiş ve virüse HIV-2 adı verilmiştir.

HIV-1 ile HIV-2 virüsleri nükleotid dizilimleri %40 dolayında benzerlik göstermektedir. Moleküler çalışmalarda HIV-1 virüsünün şempanzelerde bulunan Simian Immunodeficiency Virus (SIV), HIV-2'nin ise (*Cercocebus atys atys*) maymunlarında izlenen SIV'e benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Her iki virüs tipi de enfeksiyona ve AIDS tablosuna neden olmaktadır. HIV-1 tüm dünyada yaygın olan virüs tipidir. HIV-2 ise; büyük ölçüde Batı Afrika'da sınırlı olmakla birlikte, son yıllarda Avrupa, Brezilya ve özellikle Hindistan'dan HIV-2 vakaları bildirilmektedir.

HIV-1, mutasyon ve rekombinasyon eğilimi nedeni ile genetik özellikleri oldukça değişken bir virüstür. Virüs yapısındaki “*env*” ve “*gag*” bölgeleri dizi analizine göre; M, O, N ve P olmak üzere dört gruba, gp120’yi kodlayan genin baz dizilimi farklılıklarına göre dokuz alt tipe ayrılmaktadır. Birden fazla alt tip ile oluşan ko-enfeksiyonlarda CRF (circulating recombinant form) olarak tanımlanan rekombinant form oluşumu görülebilir. Sahra altı Afrika’da en yaygın alt tip “A” iken, Kuzey Amerika, Avustralya, Avrupa ve ülkemizde ise alt tip “B” daha sık saptanmaktadır. Son yıllarda rekombinant formların sıklığında artış olduğu da bildirilmektedir. HIV-2 virüsünün sekiz alt tipi (A-H) bulunur ve A, B tipleri daha yaygın olarak görülmektedir. HIV-2 virüsünün HIV-1’e göre bulaşma riski daha düşük olup düşük viral yük ile seyreden enfeksiyon tablosuna neden olmaktadır. Ayrıca AIDS evresine kadar geçen sürenin HIV-1’de 7-10 yıl iken, HIV-2’de 10-25 yıl arasında olduğu saptanmıştır.

Virüs gp120 ve gp41 glikoproteinleri içeren bir zarflı sarılı çekirdek bölgesine sahiptir. Genom yapısında *gag*, *pol* ve *env* genlerinin yanı sıra altı adet düzenleyici gen ve HIV replikasyonu için gerekli olmayan, aksesuar (accessory gene) olarak adlandırılan birçok düzenleyici genler bulunmaktadır. Virüs, revers transkriptaz (RNA’ya bağımlı DNA polimeraz) enzimi aracılığı ile genetik materyalini çift sarmallı DNA’ya çevirip konakçı kromozomuna entegre etme özelliklerine sahiptir. Genomdaki “*pol*” geni, RNA genomunu bir kalıp olarak kullanarak DNA sentezi yapan revers transkriptaz, viral DNA’yı hücre DNA’sına bağlanmasını sağlayan integras ve poliprotein yapısındaki viral öncül proteinleri parçalara ayıran proteazı, “*env*” geni ise, gp120 ve gp41 gibi iki zarf (yüzey) glikoproteinini kodlar. gp120 HIV’in hücre yüzeyindeki reseptörlere (CD4 reseptörü ve bir kemokin reseptörü) tutunması ve birleşmesinde görev alırken, gp41 ise virüsün hücre içine girişinde membranlar arası füzyonda rol oynamaktadır. “*gag*” geni ise kapsid proteinlerinin öncüllerini sentezlemektedir (Şekil 1).

Şekil 1. HIV virion yapısı.



Enfeksiyonun primer hedefi CD4+ T lenfositlerdir. T lenfositlerin sayısında azalma sonucunda immunsupresyon gelişir ve hayatı tehdit eden fırsatçı enfeksiyonlar ile çeşitli organlarda malignite görülebilir. Etken vücuda alındıktan sonra ilk 1-6 hafta içerisinde akut retroviral sendrom olarak da adlandırılan enfeksiyon tablosu gelişir. Bu dönemde klinik bulgular, HIV enfeksiyonuna özgü olmayıp oldukça değişkendir. Ateş (%96), lenfadenopati (%74), farenjit (%70), deri döküntüleri (%70), kas veya eklem ağrısı (%54), ishal (%32), baş ağrısı (%32), bulantı ve kusma (%27), karaciğer ve dalak büyümesi (%14) görülebilir. Akut dönem belirti ve bulguları 2-4 hafta içerisinde kendiliğinden kaybolur. Kişi akut enfeksiyon döneminden itibaren bulaştırıcıdır. Enfeksiyonun erken döneminde enfekte kişinin kanında virüs bulunmasına karşın antikor ve antijen saptanamamaktadır. Bu dönem 'pencere' dönemi (eklips) olarak adlandırılmaktadır. Vakaların büyük kısmında 6-12 hafta içerisinde virüse karşı antikorlar gelişir. Enfeksiyondan sonra 5-8 yıl içinde semptomatik safha gelişmesine rağmen özellikle virülan suşlarla enfeksiyon sonucu asemptomatik safhanın kısa sürdüğü olgular görülmektedir. Long-term survivors (LTS) olarak adlandırılan grupta ise bu süre 18

yıla kadar uzamaktadır. Bu hasta grubunda enfekte kişiden izole edilen virüslerin sitopatik etkisi yoktur ve çoğalma hızı yavaş olup viral yük düşük olarak saptanmaktadır.

HIV enfeksiyonu dünyada her bölgeyi etkiler hale gelmiştir. Erkekler arası homoseksüel temas ile bulaşmanın daha yaygın olduğu çoğu gelişmiş ülkede, heteroseksüel temas ve intravenöz ilaç kullanımı ile enfekte olan kişilerin sayısında da artış gözlenmektedir. UNAIDS (The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS) verilerine göre; 2016 yılı itibariyle dünya genelinde 36.7 milyon HIV ile enfekte, 1.8 milyon ise yeni vaka bulunmaktadır. Ülkemizde ilk AIDS vakası 1985 yılında görülmüş olup HIV enfeksiyonunun bildirim zorunludur. Kesin tanı laboratuvar bulgularına dayanmaktadır. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Bulaşıcı Hastalıklar Daire Başkanlığı verilerine göre; ilk vakanın görüldüğü 1985 yılından 31 Aralık 2017 tarihine kadar 16201'i HIV ile enfekte, 1651'i AIDS olmak üzere toplam 17884 vaka bildirilmiştir (15 Mart 2018 tarihi itibari ile doğrulama testi pozitif sonuçlanarak bildirim yapılan vakaları içermektedir).

Kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu öncesinde rutin HIV tarama testlerinin uygulanması ile kan yolu ile bulaşma oldukça azalmıştır. Cinsel yolla bulaşan hastalığı olan kişiler, özellikle sifiliz ve şankroidin ülserli lezyonu bulunanlar, hem virüsü alma hem de bulaştırma yönünden yüksek bir riske sahiptir. Tükürük veya gözyaşı gibi diğer sıvılarda az miktarda virüs bulunmasına karşın, bulaşmada rol oynadığını gösteren kesin bir veri bulunmamaktadır. Diğer bir bulaşma şekli ise enfekte anneden yenidoğana transplasental ya da doğum sırasında veya emzirme sırasında sütle neonatal bulaşmadır.

Erken tanı ve tedavinin, HIV ile enfeksiyonun üzerinde olumlu etkilerinin olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Avrupa Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) HIV taşıyıcılarının olabildiğince erken saptanmasının teşvik

edilmesini ve bunu sağlayıcı düzenlemelerin yapılmasını önermektedir. Önerilerde, tanıda iki aşamalı bir yaklaşım benimsenmektedir: Önce bir tarama testinin yapılması ve reaktif bulunan örneklerin doğrulama incelemesine alınması gerekir. HIV enfeksiyonunun varlığı, ancak doğrulama incelemesinin sonucunun pozitif olması hâlinde kanıtlanmış olur.

Son 30 yılda HIV tanı ve tedavi metotlarında hızlı bir ilerleme kaydedilmiş ve duyarlılık ve özgüllükleri yüksek test metotları geliştirilerek enfekte olan bireylerin erken evrede saptanabilmesi ve tedavi ile viral yük düzeylerinin baskı altına alınabilmesi mümkün olmuştur. HIV-1 ve HIV-2'ye özgü antikorların yanı sıra p24 antijeninin de eş zamanlı olarak saptanmasını sağlayan HIV-1/2 antijen-antikor immunassay (dördüncü kuşak ELISA testleri) kullanımı ile tanısal duyarlılık daha da artarak pencere dönemi kısalmıştır. Az miktarda vücut sıvılarından birkaç dakika içerisinde HIV antikor ve hatta birlikte antijen varlığını saptayan duyarlılık düzeyi oldukça yüksek hızlı test kitleri de kullanıma girmiştir.

Erken tanı, ölüm oranlarını azaltarak yaşam beklentisini uzatmakta ve bulaşma oranlarını düşürmektedir. AIDS ile ilişkili mortalite ve insidansda ciddi azalma 1996 yılında kombine antiretroviral kullanımı (HAART; Highly Active Antiretroviral Therapy) uygulanmasının yaygınlaşması sonrasında gerçekleşmiştir. Bunun için DSÖ, ECDC ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi/Centers for Disease Control and Prevention (CDC) vakaların olabildiğince erken tespitinin teşvik edilmesini ve bunu sağlayıcı düzenlemelerin yapılmasını önermektedirler. Günümüzde doğru tanıya gereksinimin yanı sıra, erken tanıya, tanı konduktan sonra hastalığın ilerlemesi ile ilgili bilgi verecek ve farklı tedavi stratejilerinin etkinliğini tayin edecek hasta takibine de ihtiyaç bulunmaktadır.

Bu rehberde yer alan tanı algoritmaları, CDC ve DSÖ'nün 2014 yılı ve sonrasında yayınladıkları kılavuz ve ek düzenlemeler temel alınarak; erişkinler ile 18 aylıktan büyük

çocuklar için; 18 aydan küçük bebekler ve akut HIV enfeksiyonu tanısı için ayrı ayrı belirlenmiştir. Söz konusu algoritmalar sağlık kurumlarında yürütülecek olan tarama ve tanı amaçlı test uygulamaları içindir. Kan/kan ürünleri, organ güvenliği gibi özel amaçlı tarama testleri bu algoritmanın dışındadır.

KAYNAKLAR

1. Griffith BP, Campbell S, Caliendo AM. Human Immunodeficiency Viruses. In: Versolovic J, Carroll KC, Jorgensen JH, Funke G, Landry ML, Warnock DW (eds). Manual of Clinical Microbiology. 10th ed, ASM Press, Washington D.C. 2011, p. 1302-22.
2. Branson BM, Handsfield HH, Lampe MA, Janssen RS, Taylor AW, Lyss SB, Clark JE. Revised recommendations for HIV testing of adults, adolescents, and pregnant women in health-care settings. MMWR Recommendations and Reports 2006;55(RR14):1-17 <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5514a1.htm>.
3. Branson BM, Mermin J. Establishing the diagnosis of HIV infection: New tests and a new algorithm for the United States. J Clin Virol 2011; 52S:S3-S4.
4. UNAIDS DATA 2017. <http://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>.
5. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S.; Gouws; Ghys; Osmanov. "Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. AIDS. 2006; 20 (16): 13–23.
6. Fundamentals of HIV Medicine. Ed. W. David Hardy. Oxford University Press, ISBN: 9780190493097.
7. *Interim Guidelines for Laboratories on the Use of a New Diagnostic Testing Algorithm for Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection*. New York State Department of Health (http://www.health.ny.gov/diseases/aids/providers/regulations/testing/docs/guidelines_diagnostic_testing.pdf).

8. Abecasis AB, et al. HIV-1 subtype distribution and its demographic determinants in newly diagnosed patients in Europe suggest highly compartmentalized epidemics. *Retrovirology* 2013;10:7.
9. Yilmaz G, Midilli K, Türkođlu S, Bayraktarođlu Z, Kuřkucu AM, Ozkan E, Atasever L, Calangu S, Altař K: Genetic subtypes of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) in Istanbul, Turkey. *Int J Infect Dis.* 2006;10(4):286-90.
10. Nikolopoulos GK, Kostaki E-G, Paraskevis D. Overview of HIV molecular epidemiology among people who inject drugs in Europe and Asia. *Infection, genetics and evolution.* 2016;46:256-268.

II. HIV ENFEKSİYONUNUN TARAMA, TANI ve TAKİBİNDE KULLANILAN TESTLER

Günümüze kadar yaklaşık 40 milyon kişinin ölümüne yol açan AIDS epidemisinin sonlandırılmasına yönelik UNAIDS kuruluşunun belirlediği 90–90–90 global HIV hedefleri doğrultusunda 2020 yılı itibariyle;

1. HIV ile enfekte kişilerin %90'ının belirlenmesi,
2. %90'ının antiretroviral tedavi (ART) alması
3. Bu kişilerin %90'ında ART ile viral baskılanmanın sağlanması amaçlanmaktadır.

Bu üç hedefe ulaşıldığında ise mevcut viral baskılanmanın 2-3 kat artacağı ve 2030 yılında epideminin sonlanarak halk sağlığı ve ekonomik açıdan getirdiği büyük yükün ortadan kalkacağı düşünülmektedir.

UNAIDS HIV ile enfekte kişilerin ancak %45'nin enfekte olduklarını bildiklerini tahmin etmektedir. Epideminin yayılmasında, risk grupları gibi erişilmesi ve test yaptırma konusunda ikna edilmesi güç olan popülasyonda devam eden mikroepidemi odakları kilit rol oynamaktadır. Bu nedenle HIV tarama stratejilerinin bu gruplara erişim ve test olanaklarının sunulmasını sağlayacak şekilde düzenlenmesi ve HIV tanı merkezlerinin enfekte olduğunu bilmeyen %55'lik bölümü ana hedef olarak belirleyerek yeniden organize olmaları gerekmektedir.

Akut HIV enfeksiyonunda bulaşma riskinin enfeksiyonun ileri evrelerine göre daha yüksek olması ve klinik cevap üzerinde olumlu etkisi nedeniyle erken tanı ve tedavi büyük önem kazanmıştır. Global HIV hedefleri doğrultusunda; erken tanı ve tedaviye daha erken

başlanması için HIV tanı algoritmasında çeşitli düzenlemeler yapılmıştır. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) 2014 yılında klasik HIV tanı algoritmasındaki güncellemeleri içeren HIV tanı rehberini yayınlamıştır.

Klasik tanı algoritmasında yapılan güncellemelere neden olarak;

- Duyarlılığı daha yüksek testlerin geliştirilmiş olması,
- Akut HIV enfeksiyonunun tanısında Western Blot (WB) metodunun yetersiz olması,
- WB ile test sonuçlandırma süresinin uzun olması,
- HIV-1 ve HIV-2 arasında çapraz reaksiyon görülmesi nedeniyle HIV-2 enfeksiyonunun tespitinde yaşanan zorluklar gösterilmiştir.

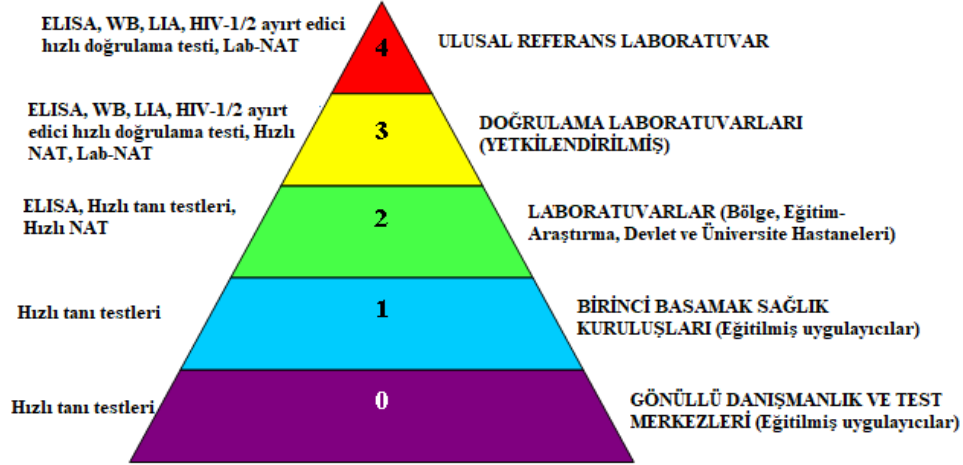
Bu rehber ile HIV-1 ve HIV-2 enfeksiyonlarını doğru olarak ayırt edebilen, akut HIV-1 enfeksiyonunun tespitinde daha duyarlı olan ve “indeterminant (ara değer)” sonuçların azaltılmasına, test sürecinin çok daha kısa süre içerisinde tamamlanmasına olanak verecek testlerin kullanılması önerilmektedir.

1. HIV tanı hizmetlerinin uygulanması

HIV testi gerekli görülen her basamaktaki sağlık kurumlarında uygulanabilmeli ve test sonuçlarının büyük kısmının test edildiği gün içerisinde alınabilmesi sağlanmalıdır. Gönüllü danışmanlık ve test merkezlerinde (Düzey 0) ve birinci basamak sağlık kuruluşlarında (Düzey 1) eğitilmiş uygulayıcılar tarafından hızlı tanı testlerinin kullanımının global hedeflere ulaşmayı kolaylaştıracağı düşünülmektedir. Ancak gizliliğin korunması, ayrımcılığın önlenmesi için gerekli önlemlerin de alınması gereklidir. Testlerin uygulandığı her düzeyde sorumluluklar detaylı tanımlanmış olmalıdır.

DSÖ'nün 2015 HIV tanı rehberinde yer alan öneriler dikkate alınarak hazırlanan HIV test birimlerinin organizasyon şekli ve düzeylere göre uygulanabilecek testler Şekil 2'de gösterilmektedir.

Şekil 2. Düzeylere göre test merkezleri ve laboratuvarların sorumlulukları*



* DSÖ 2015 HIV tanı rehberinden uyarlanarak hazırlanmıştır. ELISA: Enzim immunoassay, Lab-NAT: Laboratuvar yapımı nükleik asit amplifikasyon testi, WB: Western Blot, LIA: Line-immunoassay.

HIV testinin uygulanması enfeksiyonun önlenmesi ve tedavisi için ilk basamaktır. UNAIDS ve DSÖ 2030 yılı için “sıfır yeni HIV enfeksiyonu”, “sıfır ayrımcılık” ve “sıfır AIDS nedeni ölüm” hedeflemektedir. Yanlış tanının tıbbi, sosyal ve psikolojik sonuçları çok ciddidir. Bu nedenle hedef ayrıca “sıfır yanlış tanı” olmalıdır. HIV testi gönüllülük esasına bağlı olmalı, test öncesinde bilgilendirme ve sonrasında yazılı ya da sözlü onam alınmalıdır. Zorunlu test DSÖ tarafından önerilmemekte ancak bazı ülkelerde zorunlu uygulama halen sürmektedir.

HIV testi yapan merkezler, HIV testi ile birlikte test öncesi bilgi ve test sonrası danışmanlık hizmetinin verildiği merkezler olarak tanımlanmıştır.

Tüm HIV tanı testlerinin DSÖ “5C” kuralından ödün vermeyecek şekilde uygulanması gerekmektedir.

Rıza (Consent): HIV testi yaptıracak bireylere test ve danışmanlık için sözlü onam yeterlidir.

Test yapılacak bireyin kabul etmeme hakkı olduğunu bilmeleri gereklidir.

Mahremiyet (Confidentiality): Güvenilir aile bireyi veya eş ile paylaşılan gizlilik sıklıkla yararlıdır. Ancak bunun için de testi yaptıranın onayı olması DSÖ tarafından önerilmektedir.

Doğru test sonucu (Correct test result)

Önleme, tedavi ve bakım servislerine bağlantı (Connection)

Danışmanlık (Counselling)

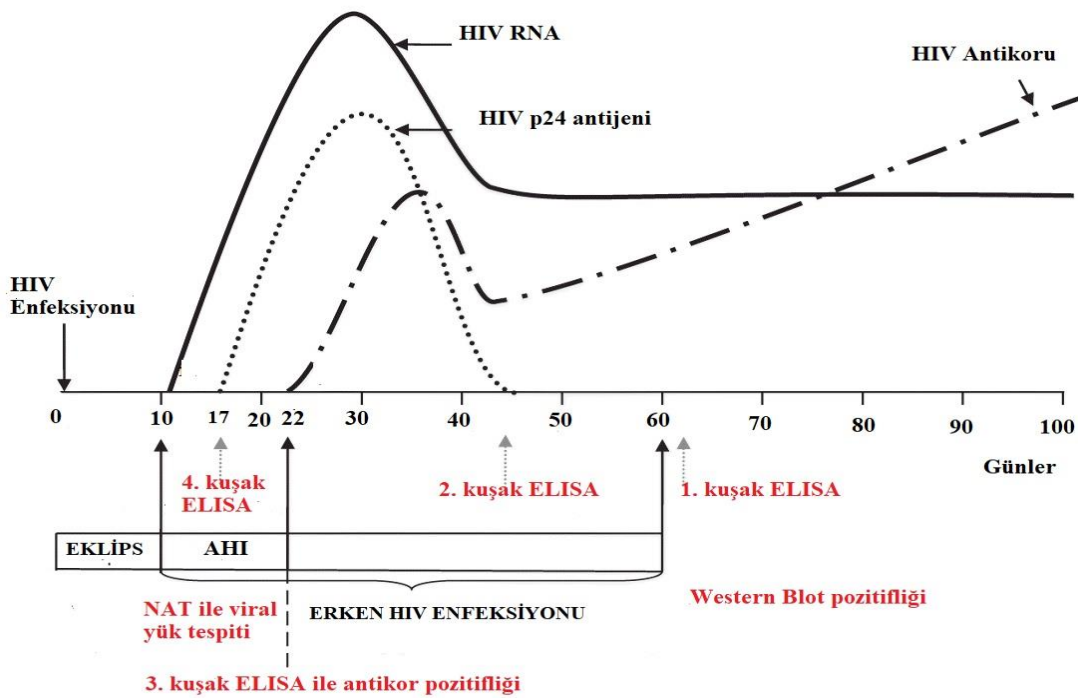
Test öncesi ve sonrasında bilgilendirmeyi yapan kişi danışmanlık eğitimi almış kişiler veya hekim olmalıdır. Bilgilendirme ayrı ve uygun bir ortamda yapılmalı, yargılayıcı bir tavır içinde olmamalı ve herhangi bir ahlaki yargılama ya da görüş açıklamaktan kaçınılmalıdır. Bilgilendirme; HIV bulaşma yolları ve korunmak için kişinin alması gereken önlemler konusunda gerekli bilgileri kapsamalıdır. Test öncesinde kişiye testin ne için yapıldığı, hatalı pozitif sonuçlar olabileceği, yapılacak testin sonucunun pozitif bulunması halinde bile kişide enfeksiyonun kesin bir göstergesi olmayacağı, testin bulaşma sonrası en erken iki hafta sonra sonuç vermeye başlayacağı, bazen bu sürenin kullanılan teste bağlı olarak altı hafta ile 12 haftaya kadar uzayabileceği ve bu nedenle test sonucunun negatif olabileceği anlatılmalıdır. Tekrar testlerin hangi aralıklarla yapılabileceği konusunda bilgi verilmeli, riskli davranış

öyküsü varsa test sonucu çıkana kadar korunma yolları anlatılmalıdır. HIV test sonuçlarına ait doğru ve kaliteli danışmanlık büyük önem taşımaktadır.

2. HIV testi uygulamasında temel prensipler ve test seçimi

Uygulama ve raporlama hatalarını en aza indirmek için tüm testler kit kullanım talimatlarına uygun olarak çalışılmalıdır. Erişkinler ve 18 ayın üzerindeki bebeklerde tanıda HIV-1 ve HIV-2'ye özgü antikorların veya p24 antijeninin tespitini sağlayan dördüncü kuşak ELISA testleri kullanılmaktadır. Şekil 3'de HIV enfeksiyonunun dönemlerine göre tanıda kullanılacak test metotları gösterilmektedir.

Şekil 3. HIV enfeksiyonu sürecinde günlere göre in vitro tanı metotlarının kullanımı*



* AHI: Akut HIV enfeksiyonu, NAT: Nükleik asit amplifikasyon testi. (CDC, Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV infection, Updated Recommendations, CDC, 2014. <http://stacks.cdc.gov/view/cdc/23447>)

Virüsün bulaşması sonrasında eklips dönemi olarak bilinen ilk sekiz-on günlük dönemde enfeksiyonun tespitine yönelik serolojik veya virolojik herhangi bir tanı metodu bulunmamaktadır. Eklips döneminin sona erdiği, bulaşmadan ortalama 10 gün sonrasında NAT ile viral RNA'nın, bundan 4-10 gün sonrasında ise ELISA ile p24 antijeninin tespiti ile anlaşılır. Antikorların saptanamadığı bu dönem akut HIV enfeksiyonu olarak adlandırılmaktadır. Viral partikül miktarında hızlı artışın olduğu bu dönemde bulaştırıcılık çok yüksektir. HIV-1 ve HIV-2 antikorlarının serolojik testlerle tespiti serokonversiyon döneminin sona erdiğini göstermektedir. IgM sınıfı antikorlar p24 antijenemisinden 3-5 gün, RNA pozitifliğinden 10-13 gün sonra saptanabilir düzeye ulaşırlar. IgG sınıfı antikorlar ise daha geç oluşur ve kalıcıdır. Pencere döneminin süresi virüsün genetik yapısına, konağın genetik özellikleri ve immün yanıtına, tespit edilen antijene/antikora bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. HIV antikorlarının tespiti kullanılan test türüne göre değişmektedir. En kısa pencere dönemi HIV-1 ve HIV-2 antikorları ile birlikte p24 antijenlerini de saptayabilen dördüncü kuşak ELISA testleri ile izlenmektedir. Pencere dönemi sentetik peptit içeren ve HIV-1 ve HIV-2'ye özgü IgM ve IgG antikorlarını tespit eden üçüncü kuşak, rekombinant antijen içeren, IgG antikorlarını tespit eden ikinci kuşak ve antijen olarak virüs ile enfekte hücre lizatı içeren birinci kuşak serolojik testler ile giderek artan süreler içerisinde tespit edilmektedir.

HIV-1 ve HIV-2'ye özgü antikorlar tükürükte diğer vücut sıvılarına göre daha düşük seviyededir. Bu nedenle hızlı testlerle tükürükten etkenin tespitinde pencere dönemi uzundur. Ancak, HIV insidansının düşük olduğu birçok merkezde bu metodun başarı ile uygulandığı da bildirilmektedir.

Tanımlanmış HIV enfeksiyonu ise IgG antikorlarının saptandığı dönemdir.

3. HIV tanı testleri

HIV enfeksiyonunun tarama ve tanısında; iki aşamalı yaklaşım ile öncelikle bir tarama testinin yapılması ve “reaktif” bulunan örneklerin doğrulama testine alınması önerilmektedir. Tarama testleri antikor/antijen reaktif örneklerin değerlendirilmesini, doğrulama testleri ise tarama testleri ile “reaktif” bulunan serumların kesin olarak HIV antikorunu taşıyıp taşımadığının tespitini sağlamaktadır. Bu nedenle tarama testleri ile alınan pozitif sonuçların “reaktif”, doğrulama testi ile alınan pozitif sonuçların ise “**pozitif**” olarak tanımlanması önerilmektedir. **HIV enfeksiyonunun varlığı, ancak doğrulama testi sonucunun pozitif olması halinde kanıtlanmış olur.**

3.1. Serolojik Testler

Serolojik testler HIV enfeksiyonunun tanısında en sık kullanılan testlerdir. Kullanılacak testin türü; testin kullanım kolaylığı, laboratuvarın altyapısı ve testi uygulayacak personelin özellikleri gibi birçok faktör ile ilişkilidir. Tüm testlerin yorumlanması kit içeriğinde belirlenen sürelerde yapılmalı, belirlenen inkübasyon süreleri öncesi veya sonrasında değerlendirme yapılmamalıdır.

Serolojik testler, kullanım amacına göre birinci aşama (tarama) ve ikinci aşama (destekleyici/doğrulama testleri) olarak sınıflandırılmaktadır. Tarama testlerinin duyarlılığının, doğrulama testlerinin ise özgüllüğünün yüksek olması beklenmektedir. ELISA testleri tarama amacıyla, Western Blot, Line-immunoassay, indirekt immunfloresan antikor testi (IFA), HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testleri gibi antikor saptayan testler ise doğrulama amacıyla kullanılmaktadır.

3.1.1. Enzim immunoassay

HIV enfeksiyonunun tanısında HIV-1/2'ye özgü antikor veya antikor ile birlikte HIV-1 p24 antijenini de saptayan ELISA testleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bu testler kullanılan antijen ve/veya konjugatın özelliğine göre kuşaklara ayrılmaktadır. Günümüzde HIV-1 ve HIV-2 antikorları ile birlikte HIV-1 p24 antijenini saptayabilen ve “*combo*” olarak adlandırılan dördüncü kuşak ELISA testlerinin kullanımı önerilmektedir. Dördüncü kuşak ELISA testlerinin duyarlılığı diğer test kitlerine göre daha yüksektir ve enfekte bireyleri erken evrede yaklaşık 14. günde saptayabilmektedir. Bazı dördüncü kuşak testler ile reaktivitenin antijen ya da antikor kaynaklı olduğu da belirlenebilmektedir. Sadece antijen reaktivitesi tespit edildiğinde, doğrulama testi olarak LIA, WB gibi antikor saptayan testlerin kullanılması durumunda negatif sonuç ya da “indeterminant” sonuç elde edilecektir. Bu nedenle tarama testiyle saptanan antijen reaktivitesinin doğrulanması için 14 gün sonra alınacak yeni örnekte ELISA ile antikor varlığı araştırılır. Alternatif olarak antijen reaktivitesi tespit edilmiş örnekte p24 antijeni ya da HIV RNA incelenebilir.

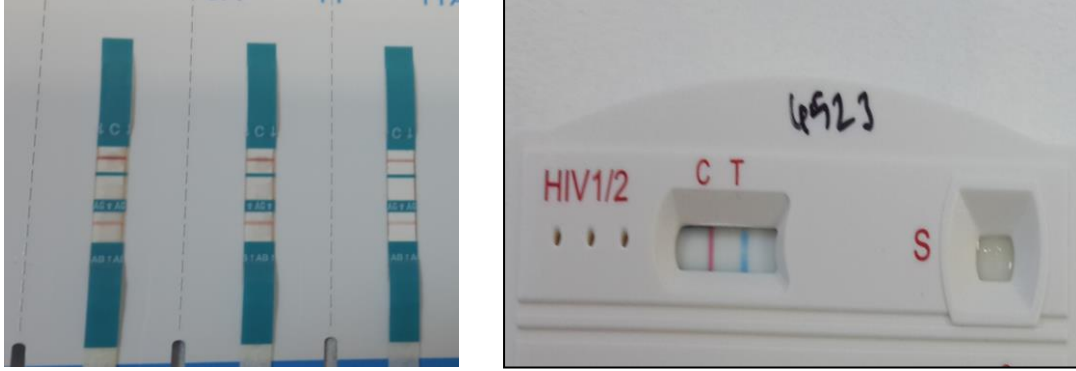
HIV tanısında ELISA testleri hızlı, güvenilir ve ekonomiktir. Aktif replikasyonun izlendiği ve yüksek viremi nedeni ile bulaştırıcılığın fazla olduğu pencere döneminde antikor testleri negatif olabilir. Antijen ve antikoru birlikte saptayan dördüncü kuşak ELISA testleri ile hatalı negatiflik olasılığı büyük ölçüde azalmıştır. Ancak, biyolojik sebepler, test kiti, reaktifler veya cihaz nedenli hatalı pozitifliklerin olabileceği de unutulmamalıdır.

3.1.2. Hızlı tanı testleri

Ulaşılması güç popülasyonlarda tarama, sağlık personelinde kan ve vücut sıvılarıyla mesleki temas ve doğum sırasında annenin HIV ile enfekte olup olmadığının bilinmediği acil durumlarda klasik ELISA testlerine alternatif olarak kullanılmak üzere immünokonsantrasyon

ya da immunokromatografi prensiplerine dayalı hızlı testler geliştirilmiştir. Bu testlerde değerlendirme subjektiftir. Üretimde olan kitlerin değişen düzeyde duyarlılık ve özgüllüklere sahip oldukları, bu nedenle testin seçiminde dikkatli davranmak gerekliliği unutulmamalıdır.

Şekil 4. Hızlı tanı testleri*



* Sol. Strip hızlı test; Sağ. Kaset hızlı test. (T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarı Arşivi)

3.1.3. Antikor saptayan HIV doğrulama testleri

(Western blot, Line-immunoassay, Indirekt Immunfloresan antikor testi)

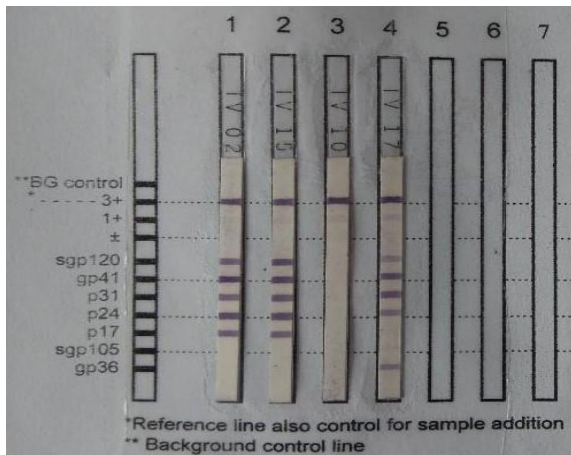
HIV ELISA testinin duyarlılığı %99'un üzerinde olmasına rağmen reaktif çıkan sonuçlar HIV enfeksiyonu riskinin düşük olduğu toplumlarda oldukça düşük prediktif değere sahiptir. Bu nedenle yalancı pozitiflikleri ortadan kaldırmak için reaktif bulunan örneklerin özgüllük düzeyi yüksek doğrulama testleri ile test edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla en sık HIV'e özgü antikorları tespit eden WB ve LIA yöntemleri kullanılmaktadır. IFA ise antikor saptama metodu olarak nadiren kullanılan diğer bir yöntemdir. Özel ekipman ve deneyimli personel

ereksinimi, sadece HIV-1 antikorlarının saptanabilmesi IFA yönteminin en önemli dezavantajlarıdır.

Yıllardır doğrulama testleri arasında en sık kullanılan test olan WB ile virüsün proteinlerine karşı oluşmuş antikorları ayrı ayrı saptamak mümkündür. Poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) yöntemi ile ayrıştırılan HIV proteinleri nitroselüloz şerit üzerine aktararak tespit edilmiştir. Hasta serum örneğinde HIV proteinlerine karşı antikor varlığında nitroselüloz şerit üzerinde proteinlerin bulunduğu bölgelerde bant oluşur. Testin pozitif olarak kabul edilmesi için belirli bantların mutlaka bulunmaları gereklidir. Negatif ve pozitiflik kriterlerine uymayan bantları içeren WB testleri “indeterminant” olarak kabul edilmektedir. Birinci kuşak test olan WB yöntemi kullanımda olan ELISA ve hızlı testlere göre daha özgül fakat daha az duyarlıdır.

Günümüzde WB'nin yerini alarak daha yaygın kullanılan LIA metodunda; HIV-1 ve HIV-2'ye özgü rekombinant proteinler ve sentetik peptitler ile HIV-1 grup O'ya özgü sentetik peptitlerin yerleştirildiği stripler kullanılır. Test edilen örnekte stripteki protein ve peptitlere karşı antikor varlığında bantlar görülür. Değerlendirme WB'ye göre daha kolay, bantların görünümü daha nettir.

Şekil 5. Line-immunoassay görünümü



(T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarı Arşivi)

Birinci kuşak ELISA ile benzer duyarlılıkta olan LIA ve WB gibi antikor tespit yöntemlerinin en önemli dezavantajları; erken dönemde pozitiflik saptanamamasıdır. Antikor gelişiminin izlenemediği erken dönemde, tanı için p24 antijen tespiti, nükleik asit testleri ile HIV RNA veya HIV DNA varlığının saptanması gerekmektedir. p24 antijen tespitinin kısa süreli ve duyarlılığının düşük olması nedeniyle akut HIV enfeksiyonunda en sık kullanılan yöntem HIV RNA tespitidir (Bkz. Şekil 3.).

3.1.4. Antikor saptayan hızlı HIV doğrulama testleri (HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testleri)

Son yıllarda HIV-1 ve HIV-2'nin birbirinden ayırt edilebilmesini sağlayan hızlı tanı testleri kullanıma girmiştir. HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testleri CDC'nin 2014 yılında güncellediği HIV tanı ve doğrulama algoritmasında WB testlerin yerine kullanılmak üzere önerilmiştir. İlk kullanıma giren "*Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid Test (Bio-Rad Laboratories, Redmond, WA)*" lateral-flow metoduna dayalı hızlı ELISA testi, içerdiği HIV-1'e özgü sentetik ve rekombinant gp41 ve HIV-2'ye özgü sentetik gp36 peptidi kaplı mikropartiküller nedeniyle reaktif sonuçların doğrulanmasında başarıyla kullanılmıştır. Testin duyarlılığının WB ile benzer olduğu ancak "indeterminant" sonuçların daha az görüldüğü belirlenmiştir.

Klinik Laboratuvar İyileştirme Değişiklikleri [Clinical Laboratory Improvement Amendments=CLIA] standartlarına göre orta derecede kompleks bir test olarak sınıflandırılan bu testin ardından *Geenius HIV-1/2 Supplemental Assay (Bio-Rad Laboratories, Redmond, WA)* test kiti destekleyici ve doğrulama testi olarak kullanıma sunulmuştur. CDC tarafından hazırlanan 2014 yılı HIV tanı rehberinde reaktif ELISA test sonuçlarının doğrulanmasında bu testin kullanılması önerilmektedir. Mart 2017'de DSÖ tarafından da HIV doğrulama testi olarak önerilen kitler arasına girmiştir.

Bu test kiti serum, plazma veya tam kanda, 30 dakika içerisinde HIV-1 ve HIV-2 antikorlarını ayrı ayrı saptamaya yönelik olarak hazırlanmıştır. Kit içerisinde yer alan nitroselüloz şeritte HIV-1'e özgü gp160, gp41, p31, p24, HIV-2'ye özgü gp36 ve gp140 peptitleri bulunmaktadır (Şekil 6). Hasta örneğinde bu peptitlere karşı antikor varlığı araştırılmaktadır. HIV-1 zarf peptitlerinden (gp41, gp160) her ikisinin birlikte varlığı ya da birisi zarf peptidi olmak üzere iki HIV-1 bant pozitifliği HIV-1 enfeksiyonu pozitifliğini doğrulamaktadır. HIV-2 enfeksiyonu için ise HIV-2'ye özgü her iki peptidin de pozitif bulunması gereklidir.

Bu test kiti ile yapılan çalışmalarda WB ile alınan "indeterminant" sonuçların büyük ölçüde azaldığı izlenmiştir. Test sonuçlarının otomatize okuyucu ile yorumlanabilme özelliği deneyimli personel ihtiyacını da ortadan kaldırmaktadır. Ancak akut HIV enfeksiyonunun tanısında testin yetersiz olduğu bilinmektedir. Bu nedenle ELISA ile reaktivite tespiti sonrasında, ayırt edici test ile negatif veya "indeterminant" sonuç alındığında mutlaka HIV-1 RNA test edilmelidir.

HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testlerin avantaj ve dezavantajları

Avantajları	Dezavantajları
Hızlı sonuç (30 dakika)	Akut enfeksiyonu saptamada yetersiz
Sonuçların otomatik okuyucu ile okunabilmesi sayesinde objektif değerlendirme	
Deneyimli personel ihtiyacının olmaması	
WB'a göre daha az indeterminant sonuç	
WB ve LIA'dan daha önce pozitif sonuç vermesi	

Şekil 6. HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama test kiti görünümü

A. Negatif test sonucu



B. HIV-1 Pozitif test sonucu



C. HIV-1 ve 2 Pozitif test sonucu



Bant 1: gp36 (HIV-2, zarf peptidi), Bant 2: gp140 (HIV-2, zarf peptidi), Bant 3: p31 (HIV-1, polimeraz peptidi), Bant 4: gp160 (HIV-1, zarf rekombinant proteini), Bant 5: p24 (HIV-1, core rekombinant proteini), Bant 6: gp41 (Grup M ve O, HIV-1, zarf peptidi), CTRL bandı: Protein A. (T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarı Arşivi)

3.1.5. Serolojik Testlerin Değerlendirilmesi

ELISA kitlerinin duyarlılık ve özgüllükleri yüksektir. Ancak, test edilen popülasyondaki enfeksiyon prevalansına bağlı olarak testin pozitif prediktif değeri değişmekte buna bağlı olarak da reaktif tarama testi sonuçlarının özgüllüğü daha yüksek testlerle değerlendirilmesi gerekmektedir. Biyolojik ve teknik nedenlerle yalancı pozitiflik ya da negatiflik izlenebilmektedir (Bkz. Tablo 1).

Tablo 1. ELISA testleri ile yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik nedenleri

Sonuç	Biyolojik nedenler		Teknik nedenler
Yalancı negatiflik	<ul style="list-style-type: none">• Hipogamaglobulinemi• İmmüsupresif tedavi• Kemik iliği transplantasyonu• B hücre disfonksiyonu• Temas öncesi/sonrası profilaksi	<ul style="list-style-type: none">• Akut enfeksiyon• İleri evre AIDS (nadiren)• HIV-1 subtip O (kit saptamıyor ise) ve diğer HIV varyantları	<ul style="list-style-type: none">• Isı ile inaktivasyon• Uygun olmayan koşullarda saklama• Teknik hata
Yalancı pozitiflik	<ul style="list-style-type: none">• Otoimmün hastalıklar (SLE, RA, anti-lenfosit antikor, antikollajen antikor, HLA pozitifliği)• Gebelik (özellikle multiparite)• Çoklu kan transfüzyonu• Hipergamaglobulinemi• Pasif immunizasyon, yakın zamanda aşılama (Hepatit B, tetanoz, influenza)• Hemodiyaliz, renal transplantasyon, organ transplantasyonu	<ul style="list-style-type: none">• Malign neoplazmlar, hematolojik malignite/lenfoma, multiple myeloma• Alkolik hepatit, hepatit• Primer sklerozan kolanjit, primer bilier siroz• HAV IgM, anti-Hbc IgM, HSV-1, HSV-2 enfeksiyonu• Tüberküloz, sıtma• HIV aşısı uygulanması• Akut viral enfeksiyonlar, üst solunum yolu enfeksiyonu	<ul style="list-style-type: none">• Teknik hata

Doğrulama testi olarak kullanılması önerilen hızlı testler ELISA testlerine benzer duyarlılık gösterirler ancak akut enfeksiyon sırasında genellikle negatif sonuç verirler. Klasik algoritmada yer alan WB'nin ise üçüncü ve dördüncü kuşak ELISA testlerine göre akut enfeksiyon döneminde **duyarlılığı daha düşüktür**. Tarama testi ile pozitif sonuç alınması durumunda HIV enfeksiyonu varlığını kanıtlayacak tek bir ideal test mevcut değildir. Vakaların %2-5'inde ise HIV antikor pozitifliği olmasına rağmen tedavisiz CD4+ T hücre sayılarının normal düzeyde olduğu, HIV-1 RNA'nın tespit edilemediği (<50 kopya/mL; elit kontrol) veya düşük düzeyde saptandığı (virüs kontrol) "Long-term nonprogressor (LTNP)" olarak adlandırılan hasta grubunun da izlenebileceği de unutulmamalıdır.

CDC tarafından 2014 yılında güncellenen HIV tanı algoritması ile akut HIV-1 enfeksiyonunun tanımlanması, daha hızlı tanı konulması ve HIV-2 enfeksiyonunun doğru ayırıcı tanısı sağlanabilmiştir. Bu algoritmaya göre "reaktif" tarama testi (4. kuşak antijen/antikor ELISA) saptanan örnekler HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi ile doğrulamaya alınmalıdır. Pozitiflik saptanması durumunda ek bir teste ihtiyaç duyulmamaktadır. HIV-1/2 ayırt edici hızlı doğrulama testi ile negatif ve "indeterminant" saptanan örneklerde HIV RNA test edilerek akut enfeksiyon varlığı dışlanmalıdır. ELISA testi "reaktif", HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi negatif veya "indeterminant" olup HIV-1 RNA pozitif saptanan örnekler akut HIV-1 enfeksiyonu olarak değerlendirilmelidir. Örnekte viral yük tespit edilememesi ise ELISA testinin hatalı reaktivitesini göstermektedir.

HIV-1 ve HIV-2 antikorlarının birbirlerinden ayırt edilmesini sağlayan metotlar bulunmakla birlikte, ko-enfeksiyon veya bazen tek etkenli enfeksiyonun ayırımında halen zorluklar yaşanmaktadır. DSÖ'nün test performans çalışmalarında HIV-1 ve HIV-2 arasında çapraz reaksiyonun oldukça sık, ko-enfeksiyonun ise nadir olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, ayırt

edici bir testle saptanan ko-enfeksiyonda öncelikle çapraz reaksiyon düşünölmeli, virüs tipini tanımlamak için uygun doğrulama testi yapılmalı ve HIV tipinin hatalı tespitinin tedavi etkinliğini etkileyeceği unutulmamalıdır. HIV-2 tespit edilen merkezlerde virüsün tipini belirlemek ve ko-enfeksiyonu tanımlayabilmek için HIV-1 ve HIV-2'ye özgü serolojik testler dahil olmak üzere uygun tamamlayıcı testler uygulanmalıdır.

3.2. Moleküler Testler

Moleküler yöntemler;

(i) maternal antikolar nedeniyle tanıda antikor testlerinin kullanılmadığı 18 aydan küçük bebeklerde HIV enfeksiyonunun tanısında,

(ii) antikor yanıtının yetersiz olduğu akut HIV enfeksiyonunun tanısında,

(iii) tanımlanmış HIV enfeksiyonunda ise prognoz ve tedavinin takibinde kullanılırlar.

Tanıda halen birçok moleküler yöntem kullanılmaktadır ve bu testlerle çok düşük düzeydeki (yaklaşık 50 kopya/mL) nükleik asit varlığı saptanabilmektedir.

Moleküler testlerin en önemli dezavantajları; pahalı olması, özel ekipman, laboratuvar donanımı, eğitimli personel gerektirmesi ve akut-tanımlanmış HIV enfeksiyonu ayırımının yapılamamasıdır. Bunun yanı sıra, testlerin çoğunda tüm HIV-1 alt tipleri eşit duyarlılıkta saptanamamaktadır. Halen HIV-2 için ticari bir test bulunmamaktadır.

Doğrulama amacıyla alt saptama limiti 50 kopya/mL ya da altındaki testler tercih edilmelidir. Sadece moleküler testler ile tek bir örnekte saptanan pozitiflik ile kesin tanı konulmamalı, özellikle ilk tanıda saptanan 5000 kopya/mL (yaklaşık 10.000 IU/ml) altındaki değerler dikkatle yorumlanmalı ve yeni örnek ile tekrar test edilmelidir.

Hiçbir tanı testi veya algoritmasının HIV enfeksiyonları tanısında tamamen yeterli olmayacağı unutulmamalıdır. Klinik durumla çelişen tüm test sonuçları farklı ek takip örnekleri ile değerlendirilmelidir.

4. Tanıda önerilen algoritmalar

Tanı algoritmalarının belirlenmesinde kullanılan serolojik testlerin duyarlılığının en az %99 ve özgüllüğünün ise %98 olduğu varsayılarak, pozitif prediktif değer %99 ve üzerinde olması hedeflenmiştir.

4.1. Erişkinler ve 18 aydan büyük çocuklarda HIV tanı algoritması

Tüm örnekler dördüncü kuşak ELISA testleri ile HIV-1/2 antikor ve p24 antijen varlığı açısından taranır. ELISA ile non-reaktif bulunan örneklerde klinik olarak HIV enfeksiyonu bulguları ve temas öyküsü yoksa sonuç “HIV non-reaktif” olarak raporlanır. Klinik bulgu varlığında ise test sonucu “HIV non-reaktif” olarak bildirilmekle birlikte iki-dört hafta sonra ELISA testinin tekrarı önerilir.

Kısa süre önce riskli temas varlığı ya da akut retroviral sendrom bulguları varlığında hemen viral RNA çalışılmalıdır. NAT ile pozitiflik saptandığında sonuç “HIV-1 pozitif”, negatif ise “HIV-1 negatif” olarak raporlandırılır (Bkz. Şekil 7). NAT olanağı bulunmadığı durumlarda ise iki-dört hafta sonra alınan yeni kan örneğinde ELISA testi tekrarlanmalıdır. Bir ay sonra yapılan ELISA testi ile tekrar non-reaktif sonuç alınırsa temasın üçüncü ayında testin tekrarı önerilir.

Tekrarlayan Reaktivite Durumunda Sağlık Kuruluşlarında İş Akışının Tanımlanması:

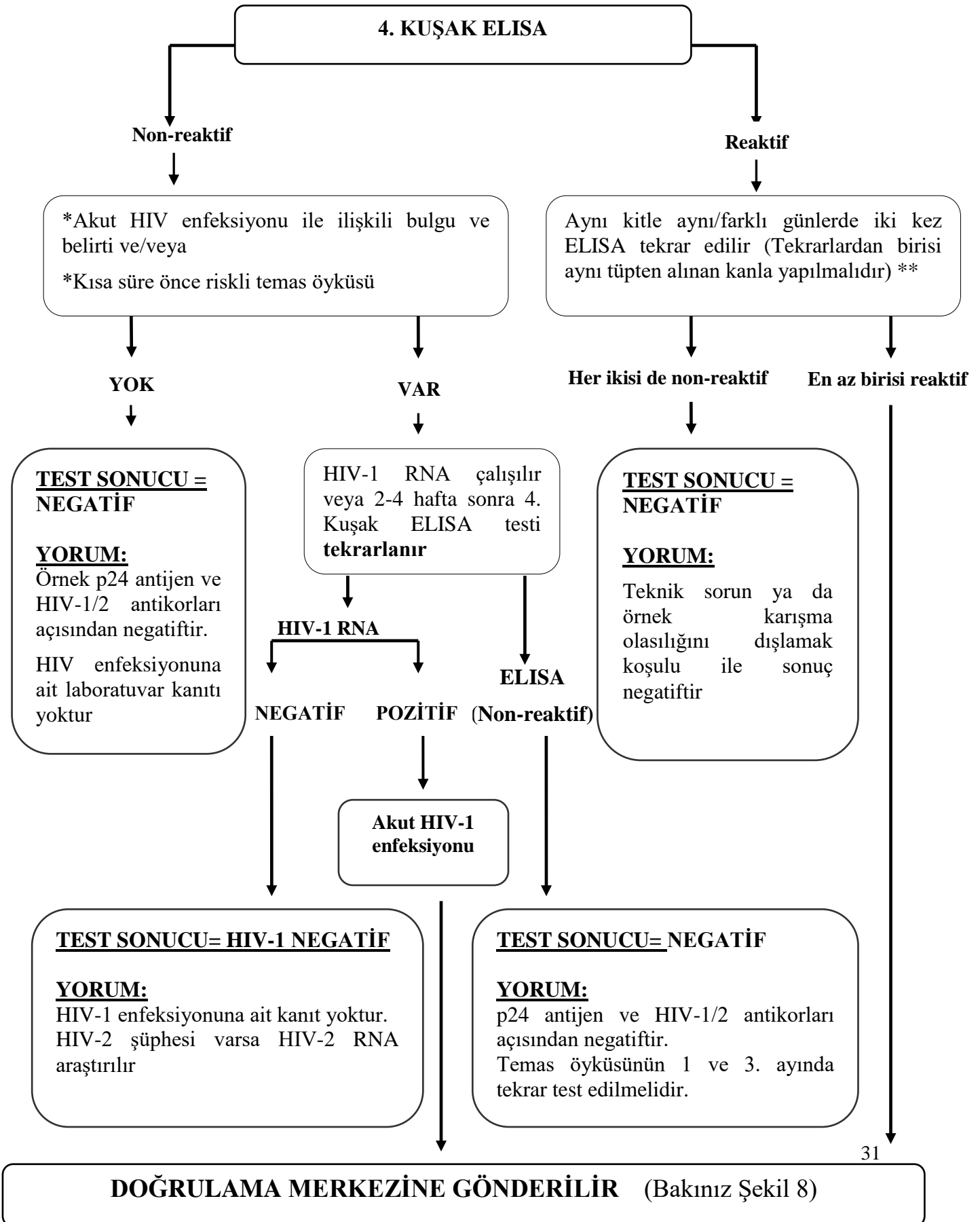
Seroprevalansın düşük olduğu toplumlarda, kişi riskli davranış tanımlamıyorsa, tek bir test ile

reaktivitenin gerçek pozitifliği yansıtma olasılığının düşük olduğu unutulmamalıdır. Bu nedenle tarama testleri ile reaktivite saptandığında test tekrarı önemlidir.

İlk ELISA testi ile reaktivite saptandığında; aynı kit kullanılarak ve kan örneklerinden birisi ilk test edilen örnek ile aynı olmak koşulu ile **iki kez** daha ELISA testi tekrarlanır. Toplam üç testten **ikisinin reaktif** olarak saptandığı durumda örnek soğuk zincir kurallarına uygun olarak doğrulama merkezine gönderilmelidir.

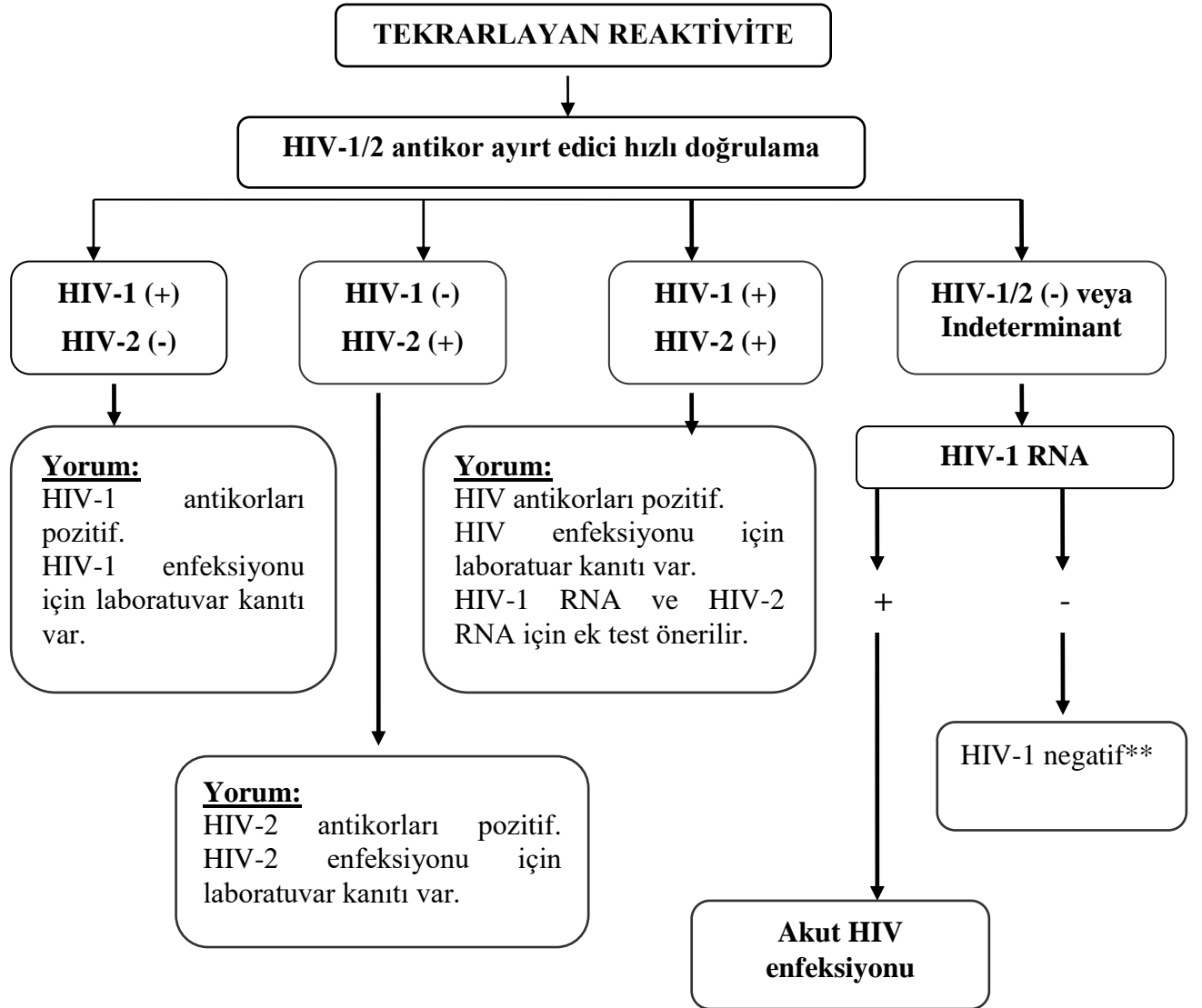
Dođrulanmamıř reaktif tarama testi sonucu **RAPORLANDIRILMAMALIDIR.**

Şekil 7. Erişkinlerde ve 18 ayadan büyük çocuklarda HIV tarama algoritması



** Gebelerde hatalı ELISA pozitifliğine sıklıkla rastlanmaktadır. Doğru tanıya daha hızlı ulaşabilmek için farklı bir test kiti ile ELISA test tekrarının yapılması ya da HIV-RNA'nın test edilmesi önerilmektedir.

Şekil 8. 18 aydan büyük çocuk ve erişkinlerde önerilen doğrulama testi tanı algoritması*



*Annenin HIV negatifliğinin kesin olduğu durumlarda yenidoğan dönemi sonrasında 18 ay altındaki çocuklarda da uygulanabilir.

** HIV-2 enfeksiyonu varlığı yönünden araştırılmalıdır. Genellikle hatalı pozitif ELISA test sonucunu göstermektedir.

Tekrarlayan reaktivite tespit edildiğinde HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi ile antikor pozitifliğinin doğrulanması gereklidir. Bu test ile alınacak sonuçlara göre değerlendirme kriterleri Şekil 8’de gösterilmiştir. Bu testin en önemli avantajları; WB’a göre hızlı sonuç vermesi ve daha önce pozitifleşmesi, “indeterminant” sonuçları azaltması, HIV-2 enfeksiyonunu da doğru şekilde tespit edebilmesi ve özel ekipman gerektirmemesidir. HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testinin %0.8-1.4 oranında “indeterminant” sonuç verdiği, bunların %11-15’inin negatif olduğu saptanmıştır. Ancak yeni algoritmada (Şekil 8) akut HIV-2 enfeksiyonu tespitine yönelik yeterli veri bulunmamaktadır. Tarama testi “reaktif”, HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi negatif, HIV-1 RNA negatif olduğu durumlarda akut HIV-2 enfeksiyonu söz konusu olabilir. Ayırt edici hızlı testte HIV-1 ve HIV-2 birlikte pozitif olduğunda izlenecek yol ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır ancak örneğin dilüe edilerek tekrar çalışılması önerilmektedir. Hızlı sonuç vermesi, güvenilir test sonuçları alınabilmesi nedeniyle CDC tarafından doğrulama testi olarak önerilen HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testinin kullanılmadığı ve temin edilemediği durumlarda alternatif olarak WB, LIA veya IFA testleri de kullanılabilir. Ancak bu alternatif testler kullanıldığında da test sonucunun negatif veya indeterminant olduğu durumlarda mutlaka ***HIV-1 NAT uygulanması gerekmektedir.***

4.2. Annesi HIV pozitif; yenidoğan ve 18 aydan küçük bebeklerde tanı algoritması

Anneden geçen transplasental antikorların uzun süre pozitif olarak saptanması nedeniyle yenidoğan ve 18 aydan küçük bebeklerin tanısı özellik taşımaktadır. Anneden geçen maternal antikorlar nedeni ile ELISA pozitifliği 18 aya kadar devam edebilmektedir.

Annenin HIV negatif olduğu durumlarda yenidoğan dönemi sonrasında yaştan bağımsız olarak Şekil 7’deki tanı algoritması uygulanır.

Özellikle, maternal geçiş riskinin olduğu durumlarda, tanı ve dolayısıyla tedavi geciktiğinde morbidite ve mortalite artmaktadır. Maternal antikorlar nedeni ile ELISA testleri kullanılmadığından, tanıda HIV DNA veya RNA saptanmasına olanak veren moleküler testler kullanılmalıdır. Ancak, anne kanıyla karışma olasılığı nedeni ile moleküler tanı testlerinde kord kanı tercih edilmemektedir. Kullanılan testin duyarlılığının bireyin HIV temas süresine bağlı olarak artması nedeniyle bulaşma sonrasında test çok erken dönemde uygulanırsa enfeksiyon belirteçleri saptanmayabilir. Bu nedenle takvimlendirilmiş seri HIV testleri (Şekil-9) uygulanmalıdır.

Seropozitif anneden doğan bebeklerin erken tanısında önerilen metot PCR ile HIV DNA tespittir. Periferik kan mononükleer hücrelerinde HIV'e ait proviral DNA'yı saptayan kalitatif bir test olan HIV-1 DNA PCR, tam kan ya da kurutulmuş kan örneklerinden de çalışlabilmektedir. Bunun yanı sıra; yenidoğan HIV enfeksiyonu tanısında HIV-1 RNA PCR testinin duyarlılık ve özgüllüğünün en az HIV DNA testi kadar olduğu da gösterilmiş olup, tanıda sıklıkla kullanılmaktadır. Virolojik testlerden NAT ile RNA ya da DNA tayin edildiğinde mutlaka farklı bir örnekle aynı yöntemle pozitiflik doğrulanmalıdır. HIV ile enfekte anneden doğan bebeklerin doğumda ve 4 ile 6 ay arasında seri HIV NAT testleri yapılması önerilmektedir.

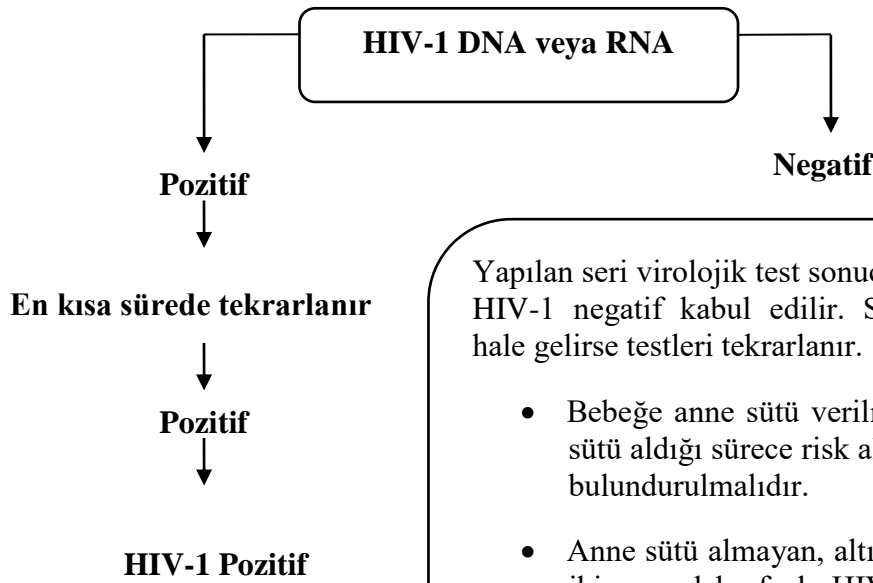
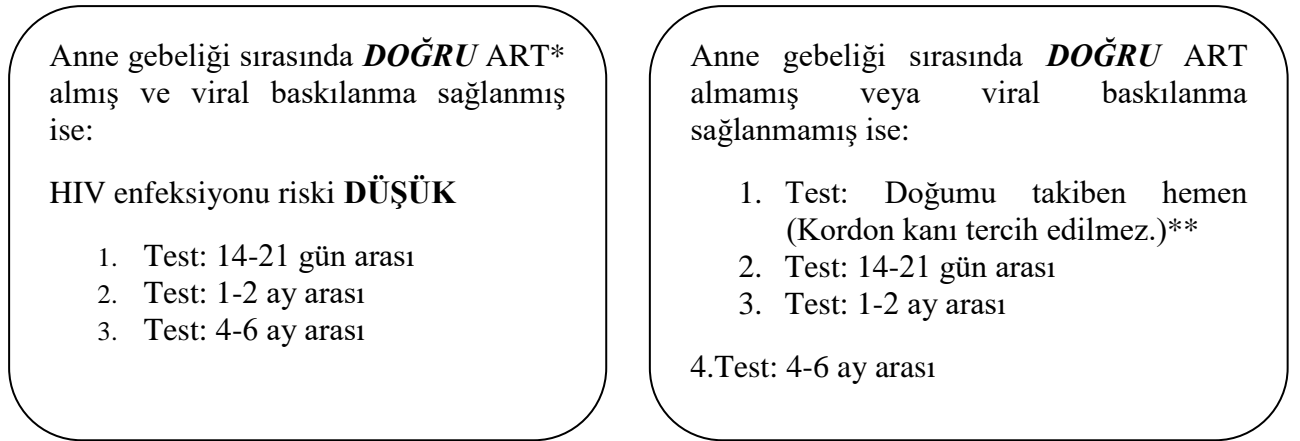
Teste başlama zamanı, annenin prenatal izlem ve tedavi alıp almamasına göre belirlenmektedir. Eğer anne uygun antiretroviral tedavi almış, viral baskılanma elde edilmiş ve bu viral baskılanma süreklilik gösteriyorsa bebek daha düşük risk altındadır ve teste doğumu takip eden postnatal 14-21. günlerde başlanır. Daha sonraki HIV NAT testlerinin ilkinin 1-2. ay arasında ve ikincisinin ise 4-6. ay arasında yapılması önerilir. Bu üç testten

herhangi birinde pozitif sonuç elde edildiğinde, pozitif test sonucunu takiben bir hafta içinde, yeni kan örneği alınarak test mutlaka tekrar edilmelidir.

HIV ile enfekte anne standart tedavi almamış, tedaviye ikinci veya üçüncü trimesterde başlanmış, gebeliği sırasında akut retroviral sendrom tanısı almış, doğuma yakın dönemde saptanabilir viral yükü olan veya tedaviye rağmen viral baskılanma elde edilemeyen anneden doğan bebekler yüksek riskli gruptadır. Bu grupta takvimlendirilmiş seri HIV testlerine (Şekil-9) doğumda yapılan test ile başlanır ve ilk üç gün içindeki pozitif test *in utero* HIV enfeksiyonunun göstergesidir.

HIV ile enfekte anneden doğan bebeklerde maternal antikorlar 12-18. aya kadar pozitif saptanabilmekte, bebek HIV ile enfekte olmadığı durumda bu antikorlar kaybolmaktadır. “Seroreversiyon” olarak adlandırılan pasif antikorların kaybının 24. aya kadar uzayabildiği de bildirilmektedir. Bu nedenle HIV pozitif anne bebeklerinde 12-18 aylar arasında pasif antikorların serolojik takibinin yapılması, kaybolmama durumunun virolojik testle kontrol edilmesi önerilmektedir.

Şekil 9. Annesi HIV pozitif: Yenidoğan ve 18 aydan küçük bebeklerde tanı



Yapılan seri virolojik test sonuçları **NEGATİF** ise bebek HIV-1 negatif kabul edilir. Süt çocuğu semptomatik hale gelirse testleri tekrarlanır.

- Bebeğe anne sütü verilmemelidir. Bebeğin anne sütü aldığı sürece risk altında olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.
- Anne sütü almayan, altı aydan büyük bebeklerde iki veya daha fazla HIV antikör testi negatifliği ile HIV enfeksiyonu dışlanır.

*ART'nin serolojik test sonuçlarını etkileyeceği unutulmamalıdır. Profilaksi tamamlandıktan 2-4 hafta sonra serolojik testler tekrarlanmalıdır. HIV pozitif anne bebeklerinde, 12-18. aya kadar serolojik testlerin tanısal değerinin olmadığı da bilinmelidir.

** Annenin viral yükünün 100.000 kopya/mL üzerinde olması veya annenin tedavi almamış olması durumlarında, kord kanı testleri pozitifliğinde bebeğe tedavi başlanır. Kord kanının negatifliği durumunda proflaktik tedavi açısından değerlendirilir.

4.3. Sonuçların Raporlanması

Kullanılan yöntemler, her birinin sonuçları, yorum ve ek istenen testler belirtilmelidir. Tablo 2’de belirtildiği şekilde sonuç raporunda yorumlamalara yer verilmelidir.

Tablo 2. HIV Test Sonucu Raporu Açıklamaları

Test Basamağı			Yorum	Raporlama	Ek işlemler*
1. Basamak	2. Basamak	3. Basamak			
HIV-1/2 Ag/Ab ELISA	HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama	HIV-1 NAT			
Nonreaktif	-	-	HIV-1 antijen HIV-1/2 antikorları açısından negatif. HIV enfeksiyonuna ait laboratuvar bulgusu yok.	HIV Negatif	Akut HIV enfeksiyonu şüphesi varsa HIV-1 RNA önerilir Riskli davranış söz konusu ise HIV-1 RNA veya 15 gün sonra ELISA ile tekrar önerilir.
Reaktif	HIV-1 Pozitif	-	HIV-1 antikorları pozitif. HIV-1 enfeksiyonu için laboratuvar bulgusu var.	HIV-1 Pozitif	Hasta HIV tedavi ve danışmanlık için yönlendirilir.
Reaktif	HIV-2 Pozitif	-	HIV-2 antikorları pozitif. HIV-2 enfeksiyonu için laboratuvar bulgusu var.	HIV-2 Pozitif	Hasta HIV tedavi ve danışmanlık için yönlendirilir.
Reaktif	HIV-2 Pozitif, HIV-1 çapraz	-	HIV-2 antikorları pozitif. HIV-2		Hasta HIV tedavi ve danışmanlık için

	reaktif		enfeksiyonu için laboratuvar bulgusu var.		yönlendirilir.
Reaktif	HIV Pozitif (Ayırt edilemeyen)	-	HIV-1 ve HIV-2 antikorları pozitif. HIV-1 ve/veya HIV-2 enfeksiyonu için laboratuvar bulgusu var.	HIV Pozitif	Hasta HIV tedavi ve danışmanlık için yönlendirilir. HIV-1 ve HIV-2 ko-enfeksiyonunun kesin tanısı veya dışlanması için HIV-1 RNA/DNA ve/veya HIV-2 RNA/DNA test edilir.
Reaktif	HIV-1 veya HIV indeterminant	Pozitif	HIV-1 pozitif Akut HIV-1 enfeksiyonu için laboratuvar bulgusu var.	Akut HIV-1 Pozitif	Hasta HIV tedavi ve danışmanlık için yönlendirilir.
Reaktif	HIV-1 indeterminant	Negatif	HIV-1 antikorları doğrulanmadı ve HIV-1 RNA tespit edilmedi.	HIV Negatif	Yakın zamanda HIV bulaş şüphesi varsa yeni örnek ile testler tekrarlanır.
Reaktif	HIV-2 indeterminant	Negatif	HIV-1 antikorları doğrulanmadı ve HIV-1 RNA tespit edilmedi, HIV-2 belirsiz.	HIV-1 Negatif, HIV-2 Belirsiz	Farklı bir HIV-2 testi uygulanır (antikor testi veya NAT). Alternatif olarak 2-4 hafta sonra HIV-2 için test tekrarlanır.
Reaktif	HIV Indeterminant	Negatif	HIV-1 antikorları doğrulanmadı ve HIV-1 RNA tespit edilmedi,	HIV-1 Negatif, HIV-2 Belirsiz	Farklı bir HIV-2 testi uygulanır (antikor testi veya NAT). Alternatif olarak 2-4 hafta sonra

			HIV-2 belirsiz.		HIV-2 için test tekrarlanır.
Reaktif	Negatif	Pozitif	HIV-1 pozitif. Akut HIV-1 enfeksiyonu için laboratuvar bulgusu var.	Akut HIV-1 Pozitif	Hasta HIV tedavi ve danışmanlık için yönlendirilir.
Reaktif	Negatif	Negatif	HIV antikorları doğrulanmadı ve HIV-1 RNA tespit edilmedi.	HIV Negatif	Yakın zamanda HIV bulaş şüphesi varsa yeni örnek ile testler tekrarlanır
Reaktif	Negatif veya İndeterminant	Geçersiz ya da test uygulanmamış	Belirsiz	Belirsiz	Yeni örnek ile test tekrarlanır. Gerekli ise HIV-1 NAT yapılmalıdır

* Ek işlemler süreci Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanı tarafından yönetilecektir.

5. Kalite Güvencesi

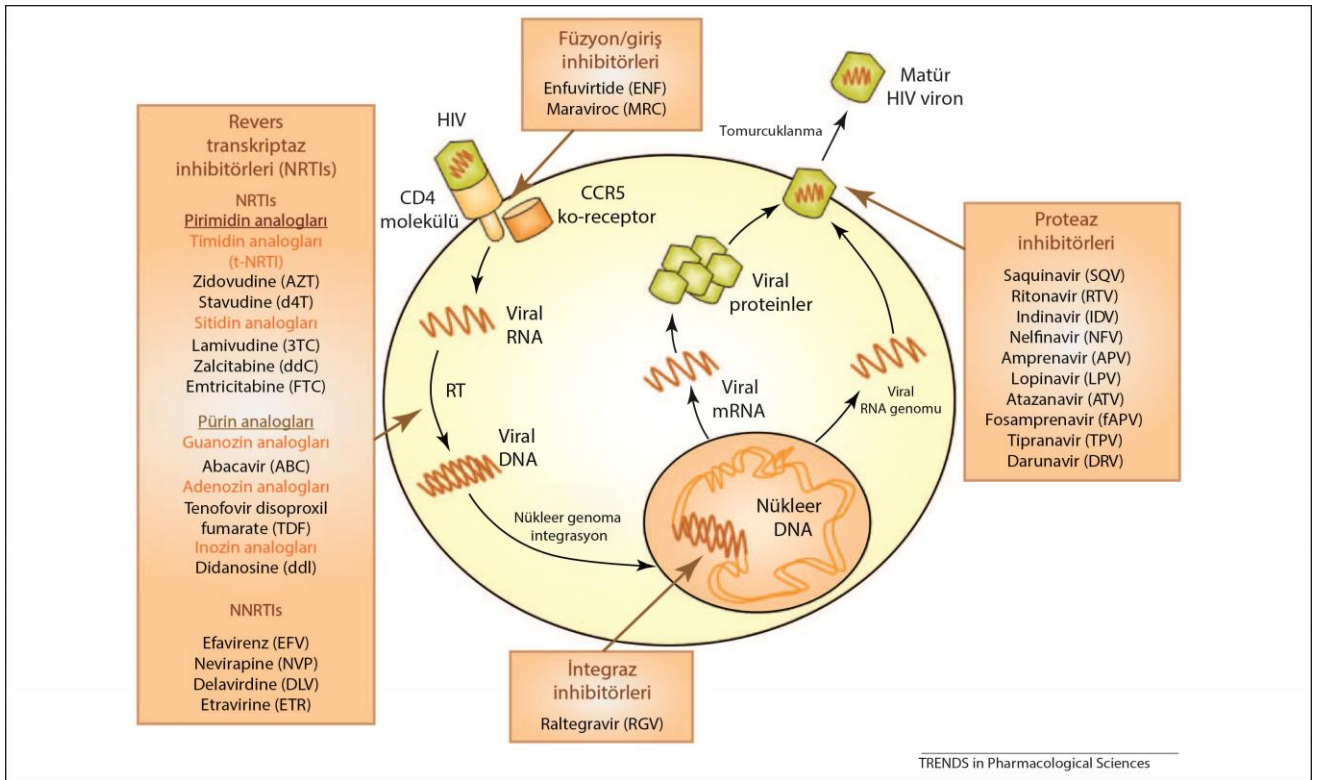
HIV tanısında algoritmada yer alan tüm laboratuvarlarda kalite güvencesi sağlanmalıdır. Bu amaçla laboratuvarlarda kullanılacak ticari testlerin seçimi çok önemlidir ve validasyonu, internal ve eksternal kalite kontrollerinin kullanımı ve sonuçlarının titizlikle takibi gereklidir. Özellikle hızlı tanı testlerin seçiminde FDA onayı ve Ulusal Laboratuvarlarda validasyon şartı olmalıdır.

6. Antiretroviral (ARV) direnç testi

HIV, RNA virüsü olması ve revers transkriptaz aktivitesi nedeniyle mutasyon hızı oldukça yüksek bir virüstür. Bunun yanı sıra enfekte bireylerdeki günlük virüs döngüsünün yüksek olması da virüsün hızla evrimleşmesine katkıda bulunmaktadır. Sonuçta oluşan spontan mutasyonlar aynı konakta birbirinden genetik farklılık gösteren çok sayıda viral varyantların

(quasispecies) oluşumuna neden olmaktadır. Mutasyonlar virüsün çoğalma yeteneğini olumsuz şekilde etkileyebilir. Antiretroviral ilaçların bulunmadığı ortamda replikasyon kapasitesi yüksek varyantlar virüs topluluğu içinde baskın hale gelmektedir. Ayrıca, süperenfeksiyonlar ve rekombinasyonlar aracılığı ile virüs direnç kazanabilmektedir. Antiretrovirallerin varlığında ilaçlara direnç kazandıran mutasyonları taşıyan virüsler baskın hale gelerek tedavi başarısızlıklarına yol açar. Direnç gelişiminde virüs ve konağın genetik özellikleri, kullanılan antiretrovirallerin farmakolojik özellikleri, tedavi uyumu gibi çeşitli faktörler etkili olabilmektedir.

Şekil 10. Antiretrovirallerin etki mekanizmalarının şematize görünümü*



* Apostolova ve ark. Mitochondrial interference by anti-HIV drugs: mechanisms beyond Pol-
y inhibition. Trends in Pharmacological Sciences, Volume 32 , Issue 12 , 715 – 725.

Antiretroviral ilaçlara direnç tedavi sırasında gelişebildiği gibi, dirençli suşların bulaşması ile de kazanılabilmektedir. Özellikle dirençli suşlarla gelişen enfeksiyonlarda zaman içinde replikasyon kapasitesi daha yüksektir ve dirençli olmayan varyantlar baskın hale gelebilir ve ilerleyen dönemde yapılacak direnç testlerinde dirençli varyantlar saptanamaz hale gelebilir. Bununla birlikte hem dirençli hem de dirençli olmayan varyantlar, yaşam süresi uzun olan hücrelerin DNA'sına entegre halde arşivlenirler. Bu nedenle düşük viral yük durumlarında tam kan örneğinden HIV proviral DNA'sı çoğaltılarak elde edilen sonuçlar klinik açıdan yararlı bilgiler verebilir.

ARV direnç tayininde genotipik ve fenotipik yöntemler kullanılmaktadır. Genotipik direnç testleri ticari kitler ya da laboratuvar yapımı testler kullanılarak yapılabilmektedir. Genotipik direnç tayini, virüs genomunun ARV ilaçların hedefi olan ve dirençle ilişkili mutasyonların bulunduğu bölgelerin polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmasından sonra DNA dizi analizine dayanmaktadır.

Genotipik direnç testlerinde proteaz bölgesinin tamamı ile revers transkriptaz geninin ilk 230 aminoasitlik bölgesi incelenmektedir. İntegraz inhibitörlerine primer direnç düşük olduğundan rutin direnç testi önerilmemektedir. Ko-reseptör antagonistlerinin kullanılmasından önce ko-reseptör tropizminin belirlenmesi gereklidir. Bunun için de fenotipik ve genotipik yöntemlere dayalı testler mevcuttur. Direnç testleri genellikle viral yükün 1000 kopya/ml (yaklaşık 2000 IU/ml) ve üzerinde olduğu durumlarda güvenilir sonuçlar vermektedir.

Direnç testlerinin değerlendirilmesinde International AIDS Society-USA (http://www.iasusa.org/resistance_mutations) tarafından güncellenen mutasyon listesinden yararlanılabilir. Mutasyonların ilaç direnci açısından tek başlarına ve başka mutasyonlarla

birlikte buldukları zaman etkileri farklılık gösterebileceğinden direnç sonuçlarının yorumlanması oldukça karmaşık bir işlemdir. Bu nedenle direnç sonuçlarının yorumlanmasında sürekli güncel tutulan veri tabanları (<http://hivdb.stanford.edu>; <http://www.geno2pheno.org/>) yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu veri tabanlarında sonuçların yorumlanmasında farklı yaklaşım ve algoritmalar mevcuttur. Bu nedenle sonuçların farklı veri tabanları ile değerlendirilmesi uygun olabilmektedir.

Antiretroviral direnç testinin;

- *İlk tanı anında,*
- *Tedaviye başlarken,*
- *Suboptimal virolojik baskılanma ya da virolojik tedavi başarısızlıklarında,*
- *Non-nükleozid Revers Transkriptaz İnhibitörü (NNRTI) temelli tedavilere öncesinde tedavi başarılı olsa bile ara verilmesi durumunda,*
- *Temas sonrası profilaksiye başlarken (varsa profilaksi indeks vakanın genotipine göre belirlenir; yoksa profilaksiye başlanır ancak indeks vakanın örneği varsa direnç testi yapılarak profilakside değişiklikler yapılabilir) yapılması gereklidir.*

İlk tanı anında ve tedaviye başlama sürecinde revers transkriptaz ve proteaz inhibitör direnci araştırılmalı, tedavi başarısızlığı, suboptimal baskılanma durumunda ise integraz inhibitörü direnci analize eklenmelidir. Ayrıca yerel integraz direncinin %3 ve üzerinde olduğu durumlarda tedavi öncesi direnç tayinine integraz bölgesi de dahil edilmelidir.

Sonuçların güvenilirliği ve kalite güvencesi açısından antiretroviral direnç tayininde aşağıdaki kurallara uyulmalıdır:

- Her çalışmada RNA/DNA ekstraksiyon aşamasından itibaren uygun sayıda negatif ve pozitif kontrol eklenmelidir.
- Proteaz bölgesinde en az 10-93. amino asitler, Revers transkriptaz bölgesinin en az 41-238. amino asitler, İntegraz bölgesinde ise en az 51-263. amino asitler arasında kalan kısım dizilenmelidir.
- Sonuçların değerlendirilmesi ve yorumlanmasında sürekli güncellenen veri tabanları kullanılmalıdır; farklı veri tabanları ile elde edilen sonuç ve yorumlar karşılaştırılmalı, tutarsızlık durumlarında sonuçlar 'belirsizlik' şeklinde yorumlanmalıdır.
- Elde edilen diziler daha sonra tekrar yorumlanabilmesi için saklanmalıdır.
- Sonuçların değerlendirilmesinde klinik anlamı, tedavi ve ARV direnç öyküleri göz önünde bulundurulmalıdır.
- Elde edilen dizilerin edisyonları izlenebilir olmalıdır.
- İlgili gen bölgeleri çift yönlü DNA dizi analizi ile incelenmelidir.
- Kalite kontrolü için yılda en az bir kez dış kalite kontrol ya da yetkinlik değerlendirme panelleri incelenmelidir.
- İki ayda bir ya da 50 dizilemede bir (hangisinin sırası daha önce geliyorsa) bilinen bir örnek kontrol amaçlı olarak çalışılmalıdır.
- Yorum ve değerlendirmeler saklanmalıdır.

Bunun dışında DSÖ ART direnç gelişimini önlemek için ulusal HIV programlarına direnç gelişimi ile ilişkili erken uyarı göstergelerinin izlenmesinin de dahil edilmesini önermektedir.

Tedavi öncesinde, 12 ay boyunca ART altında kalma oranları, ARV tüketiminin izlenmesi, ART'ye başladıktan 12 ay sonrasındaki viral baskılanma oranları ve virüs yük testlerinin kullanım oranlarının izlenmesi de önerilmektedir.

Konvansiyonel DNA dizi analizi yöntemine dayalı antiretroviral ilaç direnç analizlerinde ancak %20 ve üzerinde bir orana sahip olan varyantlar güvenilir bir biçimde saptanabilmektedir. Son yıllarda yeni kuşak dizileme yöntemleri kullanılarak %1 ve daha düşük oranlardaki varyantlar da saptanabilir hale gelmiştir. Özellikle geç tanı konmuş kişilerde aktarılmış dirençli varyantların konvansiyonel yöntemlerle saptanabilirlik sınırının altına düşmüş olma olasılığının dışlanması ya da tedavi altında direnç gelişiminin daha erken bir şekilde saptanması için yeni kuşak dizilemeye dayalı antiretroviral direnç testleri giderek yaygınlaşmakta ve rutin hale gelmektedir. Yeni kuşak dizilemeye dayalı yöntemler kullanılarak yapılan antiretroviral direnç analiz testlerinde okuma derinliği ve kapsayıcılık (coverage) değerleri ile yorumlamanın hangi veritabanı ile yapıldığı, minör varyantları saptamak için kullanılan sınır değerler raporda belirtilmelidir. Direnç mutasyon analiz ve yorumları klinik gereksinimlere bağlı olarak %1, %5 ya da %10 düzeylerinde minör varyantları saptayacak biçimde yapılmalıdır. Minör varyantların %1'lik sınır değeri kullanılarak güvenilir bir şekilde saptanabilmesi için kapsayıcılık düzeylerinin 10.000 ve üstünde olması gerekir. Ancak viral yükün düşük olması ya da ilgili gen bölgelerinin çoğaltılmasında karşılaşılabilecek güçlükler nedeni ile erişilebilen kapsayıcılık düzeyi 10.000'in altında kalabilir, 1000'in altındaki kapsayıcılık düzeyi kabul edilemez. Bin ila 10.000 arasındaki kapsayıcılık düzeylerinde sonuçların güvenilirliği açısından daha yüksek (%10 ve üzeri) sınır değerler kullanılmalıdır.

Yeni kuşak dizileme ile elde edilen sonuçların da konvansiyonel yöntemle elde edilenlerle aynı algoritmalar kullanılarak yorumlanması gerekir. Yeni kuşak dizilemeye dayalı antiretroviral direnç testlerinde yorum öncesi biyoinformatik analizler conformite european-in vitro diagnostik (CE-IVD) sertifikalı bilgisayar programları ve algoritmalar kullanılarak yapılmalıdır. Bunun mümkün olmadığı durumlarda antiretroviral ilaç direnci tayininde performans ve güvenilirliği klinik çalışmalarda CE-IVD sertifikalı ürünlerle karşılaştırılarak gösterilmiş olan program ve algoritmalar uygulanmalıdır.

7. Abakavir aşırı duyarlılık reaksiyonu

Abakavir, HIV-1 ile enfekte kişilerde kombine ARV tedavinin bir komponenti olarak kullanılan bir nükleozid revers transkriptaz analogudur. İlaç kullanan kişilerin yaklaşık %5-8’inde HLA-B:57:01 alleli ile ilişkilendirilen hafif-orta şiddette döküntü, hipotansiyon, ateş, gastrointestinal ve solunum sistemi semptomları ile karakterize aşırı immün duyarlılık reaksiyonuna neden olur. Semptomlar ilaç kesildikten sonra kısa sürede düzelir. Ancak tekrar başlaması ile anaflaktik şok ve ölüme yol açabilir. Bu nedenle, abakavir kullanılmadan önce kişilerin HLA-B:57:01 alleli varlığı açısından taranmasını önerilmektedir.

HLA-B:57:01 taraması için çok sayıda genotipik test bulunmaktadır. En sık PCR ürünlerinin diziyeye özgül oligonükleotidlerle hibridizasyonu, dizi spesifik PCR, gerçek zamanlı PCR ve kantitatif PCR kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda genotipik testlerin yüksek duyarlılığa sahip oldukları saptanmıştır.

Negatif bir HLA-B:57:01 test sonucu aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişmeyeceği anlamına gelmemektedir. Bu nedenle, tedavi sırasında hipersensitivite belirti ve bulgularının dikkatle izlenmesi hayati öneme sahiptir. Hipersensitivite reaksiyonu belirti veya bulgusu gelişen her kişide HLA-B57:01 test sonucuna bakılmaksızın abakavir tedavisi sonlandırılmalıdır. Deri

yama testi özgül aşırı duyarlılığın doğrulanmasında kullanılabilirse de prospektif uygulamada yeri yoktur. HLA-B:57:01 testinin aşırı duyarlılık sendromu gelişimi açısından pozitif prediktif değeri %33-50 olarak belirlenmiştir ve HLA-B:57:01 alleli taşıyan kişilerin sadece yaklaşık yarısında abakavire bağlı aşırı duyarlılık sendromu gelişebileceği bildirilmiştir. Bu nedenle HLA-B:57:01 testi, klinik karar ve farmakovijilanstaki temel alınmaz.

PCR temelli testlerin yanısıra özgül monoklonal antikorların kullanıldığı akım sitometrisi de HLA-B:57:01 taramasında kullanılabilir. HLA-B:57:01'e özgül olarak bağlanan bir monoklonal antikor tanımlanmamasına karşın HLA-B:57 ve HLA-B:58'e özgül olarak bağlanabilen bir otoantikor geliştirilmiştir. Bu monoklonal antikorla hastaların sadece %5-8'inde pozitif sonuç saptanacağından, hastaların çoğunluğunda ek olarak genotipik test yapılmasına gerek kalmayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Apostolova ve ark. Mitochondrial interference by anti-HIV drugs: mechanisms beyond Pol- γ inhibition. Trends in Pharmacological Sciences, Volume 32 , Issue 12 , 715 – 725.
2. Branson BM, Owen SM: Human Immunodeficiency Viruses, In: Manual of Clinical Microbiology 11th ed Jorgensen JH, Washington, DC ASM Press 2015 p.1436.
3. Branson BM, Handsfield HH, Lampe MA et al. Revised Recommendations for HIV Testing of Adults, Adolescents, and Pregnant women in Health Care Settings. MMWR 2006; 55 (RR 149:1-17).
4. Branson BM, Stekler JD. Detection of acute infection: we can't close the window. J Infect Dis 2012;205: 521-524.
5. Branson BM. The future of HIV testing. AIDS 2010;55 (Suppl2) ; S102-S105.
6. Butto S, Raimondo M, Fanales-Belasio E, Suligoi B, Suggested strategies for laboratory diagnosis of HIV infection in Italy. Ann Ist Super Sanita 2010;46(1):34-45.
7. CDC: Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection Updated Recommendations 2014.
8. Delivering HIV test results and messages for re-testing and counselling in adults. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data,
http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599115_eng.pdf.
9. DRAFT Recommendations: Diagnostic Laboratory Testing for HIV Infection in the United States
http://www.cdc.gov/hiv/pdf/policies_Draft_HIV_Testing_Alg_Rec_508.2.pdf.

10. Dunna DT, Coughlina K and Cane PA. Genotypic resistance testing in routine clinical care. *Current Opinion in HIV and AIDS* 2011, 6:251–257.
11. Gokengin D, Geretti AM, Begovac J, Palfreeman A, Stevanovic M, Tarasenko O, Radcliffe K. 2014 European Guideline on HIV testing. *J STD AIDS*, 2014, doi:10.1177/0956462414531244.
12. Health protection agency (2011):Anti-HIV screening. UK standards for microbiology investigation V11 issue df. <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.
13. HIV Diagnostic update 2010.
http://www.aphl.org/AboutAPHL/publications/Documents/ID_2011August_HIVIssueBrief.pdf.
14. HIV infection screening in France, Laboratory tests and algorithms. 2008,
http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-02/hiv_infection_screening_in_france_-_laboratory_tests_and_algorithms-conclusions.pdf.
15. Hirsch MS, Gunthard HF, Schapiro JM, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: 2008 recommendations of an International AIDS Society-USA panel. *Clin Infect Dis*. Jul 15 2008;47(2):266-285.
16. Hirsch MS. Diagnostic assays for HIV infections.
www.uptodate.com/contents/diagnostic-assays-for-hiv-infection.
17. Lochhead MJ. Insights from the 2010 HIV diagnostics conference. *Expert Rev Mol Diagn* 2010;10: 565-567.

18. Martin MA, Klein TE, Pirmohamed M, Haas DW, Kroetz DL. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for HLA-B Genotype and Abacavir Dosing. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2012; doi 10.1038/clpt.2011.335.
19. Murphy G., Aitken C. HIV testing-The perspective from the across the pond. doi:10.1016/j.jcv.2011.09.027.
20. Poljak M., Smit E. 2008 European Guideline on HIV Testing. <http://www.iusti.org/regions/europe/HIV%20Testing%20Guideline%2011.11.08.pdf>.
21. Read JS, Diagnosis of HIV-1 infection in children younger than 18 months in the United States. *Pediatrics* 2007; 120(6):e1547-e1562.
22. Sax PE. Primary HIV-1 infection: Diagnosis and Treatment. <http://www.uptodate.com/contents/primary-hiv-1-infection-diagnosis-and-treatment>.
23. Shafer RW,¹ Dupnik K, Winters MA, and Eshleman SH. A Guide to HIV-1 Reverse Transcriptase and Protease Sequencing for Drug Resistance Studies. *HIV Seq. Compend.* 2001, 1–51.
24. Slev PR, Hillyard DR. HLA-B*5701 and Abacavir. In: *Molecular Pathology in Clinical Practice*. Leonard DGB (Ed). Caliendo AM, Lyon E, Rennert H, Schrijver I, Sepulveda AR, Van Deerlin VM (Section Editors) Second Ed. Caham: Springer International Publishing, 2016: 292-294.
25. Spiegelaere WD, Philippe J, Vervisch K, et al. Comparison of Methods for In-House Screening of HLA-B*57:01 to Prevent Abacavir Hypersensitivity in HIV-1 Care. *Plos One* 2016; 10 (4): e0123525. doi: 10.1371/journal.pone.0123525.

26. Tani-rehberi/viroloji/UMS-V-MT-02-HIV.pdf), T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu, HIV / AIDS Tanı Tedavi Rehberi
(thsk.saglik.gov.tr/eDosya/...db/hiv_aids_tani_tedavi_rehberi_2013.pdf)
27. National Guidelines for HIV Testing 2008. <http://www.bhiva.org/HIVTesting2008.aspx>.
28. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS) HIV Enfeksiyonunun (Human Immunodeficiency Virus) Mikrobiyolojik Tanısı (<http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr>).
29. Vandamme AM1, Camacho RJ, Ceccherini-Silberstein F, de Luca A, Palmisano L, Paraskevis D, Paredes R, Poljak M, Schmit JC, Soriano V, Walter H, Sönnnerborg A; European HIV Drug Resistance Guidelines AIDS Rev. 2011 Apr-Jun;13(2):77-108.
30. Vandamme AM1, Sönnnerborg A, Ait-Khaled M, et al. Updated European recommendations for the clinical use of HIV drug resistance testing. Antivir Ther. 2004 Dec;9(6):829-48.
31. Vercauteren J, Vandamme AM. Algorithms for the interpretation of HIV-1 genotypic drug resistance information. Antiviral Res. Sep 2006;71(2-3):335-342.
32. WHO: Consolidated Guidelines on HIV Testing Services, July 2015.
33. Wong WY, Hewlett IK. HIV Diagnostics: Challenge and Opportunities. HIV Ther 2010, 4:4; 399-12.
34. Donovan M, Palumbo P. Diagnosis of HIV: challenges and strategies for HIV prevention and detection among pregnant women and their infants. Clin Perinatol. 2010;37(4):751-763.

35. Goldberg, Daniel E. et al. Outwitting Evolution: Fighting Drug-Resistant TB, Malaria, and HIV. Cell , 2012; Volume 148 , Issue 6 , 1271 – 1283.
36. Centers for Disease Control and Prevention and Association of Public Health Laboratories. Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection: Updated Recommendations. <http://dx.doi.org/10.15620/cdc.23447>. Published June 27, 2014. Erişim Tarihi [02.03.2018].
37. WHO/HIVResNet HIV drug resistance laboratory operational framework. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.