



İNFLUENZA TANISINDA “BD VERİTOR” HIZLI ANTİJEN TESTİNİN RT-PCR YÖNTEMİNE GÖRE PERFORMANS ANALİZİ

Sevim Meşe¹, Hülya Akan², Aysun Uyanık¹, Selim Badur¹.

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmunoloji Bilim Dalı, İnfluenza Referans Laboratuvarı.

²Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı.

GENEL BİLGİ

- Genel olarak yüksek ateş, öksürük, halsizlik, kas ağrısı belirtileri ile ortaya çıkan influenza, kısa sürede kendini sınırlayabilen enfeksiyonlar oluşturduğu gibi komplikasyonları ile kimi zaman ölüme sonuçlanan geniş kapsamlı hastalık tablolarına yol açabilir.
- İnfluenza enfeksiyonlarını, benzer bulgular ile seyreden diğer solunum yolu enfeksiyonlarından klinik olarak ayırt etmek güçtür ve laboratuvar tanı testlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

GENEL BİLGİ

Laboratuvar Tanı

- İnfluenza virüslerinin izolasyonu ve tiplendirilmesi
- İnfluenza antijenlerin saptanması
 - Direkt immunofloresan antikor testleri (DİFA)
 - İmmünoenzimatik testler (ELİSA)
 - İmmunokromotografik testler
- Viral Nükleik asitlerin saptanması
 - Revers transkriptase real-time PCR

GENEL BİLGİ

Influenza enfeksiyonlarında erken tanı önemlidir:

- En uygun hasta yönetiminin sağlanması
- Yardımcı test istemlerinin azaltılması
- Gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi
- Anti-viral tedavinin zamanında uygulanması
- Enfeksiyon kontrol önlemlerin alınması

GENEL BİLGİ

Hızlı Testler

- Son zamanlarda influenza virusunun antijenlerine karşı elde edilmiş monoklonal antikörlerin kullanıldığı immunokromatografik yöntemler ile hızlı testler geliştirilmiştir.
- Hasta başı veya "point of care" testleri olarak da adlandırılan hızlı testler ile 10-20 dakika gibi kısa bir süre içerisinde sonuç elde etmek mümkündür.

GENEL BİLGİ

Hızlı Testler

- Düşük maliyetli, ileri teknoloji gerektirmeyen kolay uygulanabilir testlerdir.
- Duyarlılıklarının düşük olması hızlı testlerin dezavantajıdır.
- Grip aktivitesine bağlı olarak değişen pozitif prediktif değer (PPD) ve negatif prediktif değer (NPD) hızlı testlerin kullanımında dikkat edilmesi gereken önemli unsurlardır.

GENEL BİLGİ

- Grip aktivitesinin yüksek olduğu dönemde;
 - Yüksek PPD
 - Düşük NPD

Hızlı testin pozitif olması büyük olasılıkla grip lehine iken negatif olması gribi dışlamaz.
- Grip aktivitesinin düşük olduğu dönemde;
 - Düşük PPD
 - Yüksek NPD

Hızlı testin pozitif olması gripin kesin varlığını göstermezken negatif olması büyük olasılıkla gribi dışlamamızı sağlar.

AMAÇ

- Yüksek morbidite ve mortalite ile görülebilen ve toplumda hızla yayılarak salgınlar yapabilen grip ile mücadelede, sağlık sistemimizin ilk temas noktalarını oluşturan aile hekimleri önemli rol oynar.
- İnfluenza sörveyansı ve aşı çalışmalarına aktif olarak katılan aile hekimlerinin tanı olanaklarının güçlendirilmesi, hastaların yönetimi, tedavisi ve korunmada sağlayacağı yararların yanısıra diğer sağlık kurumlarının iş yükünü azaltabilir.

AMAÇ

- BD Verritor hızlı antijen testinin; influenzanın aktif olduğu dönemde, birinci basamak sağlık hizmetlerinde kullanımı sırasında, real-time PCR yöntemine göre duyarlılık, özgülük, PPD ve NPD'nin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

- Çalışma Ekim 2014 – Mayıs 2015 tarihleri arasında İstanbul'da 9 Aile Sağlık Merkezi (ASM) dahil edilerek İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Viroloji Bilim Dalı (İTFVBD) İnfluenza Referans Laboratuvarı'nda yapılmıştır.
- Çalışma için hasta potansiyeli yüksek olan ve influenza s rveyans çalışmalarına katılan ASM'ler seçilmiştir.

MATERYAL VE METOD

Çalışma Grubu

- Çalışmaya influenza benzeri hastalık (ILI) kriterlerine uygun hastalar dahil edilmiştir.
 - 37.8'in üzerinde ateş
 - Öksürük ve/veya boğaz ağrısı
 - Bu belirtiler için bilinen başka bir nedenin olmaması

Centers for Disease Control and Prevention. Morbidity and Mortality Weekly Report, vol.57, no.3, pp.61–65, 2008.

MATERYAL VE METOD

Örneklerin Alınması ve Transportu

- Çalışmanın başlangıcında aile hekimlerine örneklerin alınması, transportu ve hızlı testin uygulanması için gerekli eğitim verilmiştir.
- ILI semptomlarının başladığı ilk üç gün içerisinde aile hekimleri tarafından 2 nazal sürüntü örneği alınmıştır.
- Örneklerin alınması için Virocult (Medical Wire Equipment CO, Ref No: MW 950S, İngiltere) swab kullanılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Örneklerin Alınması ve Transportu

- Örneklerden birisi ASM'de BD Verritor testi için kullanılmıştır.
- Diğerleri real-time PCR testi için İTFVBD İnfluenza Referans laboratuvarına gönderilmiştir.
- Referans laboratuvarına gönderilecek swablar viral transport besiyeri içerisinde +4 °C'de korunarak en geç 48 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır.

MATERYAL VE METOD

BD Verritor Flu A+B Testi

- İnfluenza A ve B nükleoprotein antijenlerini kalitatif olarak saptayabilen hızlı kromotografik bir testtir.
- Test üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulanmıştır. Uygulanması 10 dak süren testin sonucu okuyucu cihazından alınmıştır.



MATERYAL VE METOD

Real-time PCR

- Real-time PCR işlemi İTFVBD İnfluenza Referans Laboratuvarında tek kör olarak yapılmıştır.
- Laboratuvara ulaşan örneklerin uygunluğu kontrol edildikten sonra hazırlık işlemlerinden geçirilmiştir.
 - Homojenizasyon için vorteksleme ve 2ml MEM besiyerine tamamlanarak kriyotüpe (Corning criogenic vial 2.0 ml, Ref No: CLS430659 SIGMA, İngiltere) aktarma
- Örneklerin hazırlanması ile ilgili tüm işlemler laminar kabinde gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE METOD

Ekstraksiyon

- Viral RNA ekstraksiyonu için EZ1 Virus Mini Kit V 2.0 (QIAGEN, Ref No: 955134, Almanya) kullanılmıştır.
- Ekstraksiyon işlemi üretici firmanın talimatları doğrultusunda EZ1 Advanced XL (QIAGEN, Japonya) cihazında yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Amplifikasyon

- Real-time PCR aşaması CDC protokolüne uygun olarak düzenlenmiştir. Çalışmada kullanılan primer - prob dizileri ve pozitif kontroller DSÖ'den temin edilmiştir.
- Amplifikasyon işlemi, “Real Time ready RNA Virus Master” (Roche, Ref No: 05619416001, Almanya) enzim karışımı kullanılarak LightCycler 480 II (Roche, Almanya) cihazında gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

- Çalışma kapsamında 135 kadın (%57), 102 (%43) erkek olmak üzere toplam 237 hastaya ait burun sürüntü örneği incelenmiştir.
- Çalışmaya dahil edilenlerin 165 (%70)'inin yetişkin, 72 (%30)'sinin çocuk (<19 yaş) olduğu belirlenmiştir.
- Yetişkin hastaların yaş ortalaması 42.4 (19-84), çocuk hastaların yaş ortalaması 10.2 (1-18) olarak hesaplanmıştır.

Çalışma Grubunun Özellikleri

	Çocuk grubu (n=72)	Yetişkin grubu (n=166)	Tüm gruplar (n=238)
Kadın	26	109	135 (% 57)
Erkek	45	57	102 (% 43)
Yaş ortalaması	10.3±4.7	42.5±13.7	32.7±18.9
Belirtilerin başlagıç dönemi (gün)	2.8±1.9	2.3±1.5	2.3±1.6
Aşılanma durumu	2 (% 2.8)	11 (% 6.6)	13 (% 5.5)
Kronik hastalık varlığı*	2 (% 2.8)	19 (% 11.4)	21 (% 8.8)

*Kronik hastalık oranları; allerjik rinit %4, astım %1.6, diabet ve hepatit C %4, hipertansiyon (HT) %1.6, diabet+HT %4, epilepsi %4, hipotroidi %4, HT+KKY %4, kr. akciğer hast. %4, KOAH %8, KOAH+HT %4, meme Ca %4, splenektomi %4.

BULGULAR

- Bu çalışmada 237 örneğin 121 (% 51)'inde real-time PCR ile influenza pozitif olarak saptanmıştır.
 - 54 (% 45) influenza A
 - 67 (%55) influenza B
- Bulgularımızın, 2014-2015 sentinel influenza sürveyansı ile uyumlu olduğu görülmüştür.
 - İnfluenza pozitifliği; %44.4
 - İnfluenza A; % 40
 - İnfluenza B; % 60

Hızlı testin *tüm gruplarda influenza A+B* için real-time PCR'a göre performans analizi

Hızlı Test	Real-time PCR		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	95	8	103
Negatif	26	108	134
Total	121	116	237

Duyarlılık: % 78,5

Özgüllük % 93.1

Pozitif prediktif değer: % 92.2

Negatif prediktif değer: % 80.5

Hızlı testin *çocuklarda influenza A+B* için real-time PCR'a göre performans analizi

Hızlı Test	Real-time PCR		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	28	2	30
Negatif	9	33	42
Total	37	35	72

Duyarlılık: % 75.6

Özgüllük % 94.2

Pozitif prediktif değer: % 93.3

Negatif prediktif değer: % 78.5

Hızlı testin *yetişkinlerde influenza A+B* için real-time PCR'a göre performans analizi

Hızlı Test	Real-time PCR		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	67	6	73
Negatif	17	75	92
Total	84	81	165

Duyarlılık: % 79.7
Özgüllük % 92.5

Pozitif prediktif değer: % 91.7
Negatif prediktif değer: % 81.5

Hızlı testin *tüm gruplarda influenza A* için real-time PCR'a göre performans analizi

Hızlı Test	Real-time PCR		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	45	6	51
Negatif	9	177	186
Total	54	183	237

Duyarlılık: % 83.3

Özgüllük % 96.7

Pozitif prediktif değer: % 88.2

Negatif prediktif değer: % 95.2

Hızlı testin *çocuklarda influenza A* için real-time PCR'a göre performans analizi

Hızlı Test	Real-time PCR		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	14	2	16
Negatif	2	54	56
Total	16	56	72

Duyarlılık: % 87.5

Özgüllük % 96.4

Pozitif prediktif değer: % 88.5

Negatif prediktif değer: % 96.4

Hızlı testin yetişkinlerde influenza A için real-time PCR'a göre performans analizi

Hızlı Test	Real-time PCR		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	31	4	35
Negatif	87	123	130
Total	38	127	165

Duyarlılık: % 81.5

Özgüllük % 96.8

Pozitif prediktif değer: % 88.5

Negatif prediktif değer: % 94.6

Hızlı testin *tüm gruplarda influenza B* için real-time PCR'a göre performans analizi

Hızlı Test	Real-time PCR		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	50	2	52
Negatif	17	168	185
Total	67	170	237

Duyarlılık: % 74.6

Özgüllük % 98.8

Pozitif prediktif değer: % 96.1

Negatif prediktif değer: % 90.8

Hızlı testin *çocuklarda influenza B* için real-time PCR'a göre performans analizi

Hızlı Test	Real-time PCR		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	14	0	14
Negatif	7	51	58
Total	21	51	72

Duyarlılık: % 66.6

Özgüllük % 100

Pozitif prediktif değer: % 100

Negatif prediktif değer: % 87.9

Hızlı testin *yetişkinlerde influenza B* için real-time PCR'a göre performans analizi

Hızlı Test	Real-time PCR		Total
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	36	2	38
Negatif	10	117	127
Total	46	119	165

Duyarlılık: % 78.2

Özgüllük % 98.3

Pozitif prediktif değer: % 94.7

Negatif prediktif değer: % 92.1

Tüm Gruplar için performans analizi

	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)
Tüm gruplarda influenza (A+B)	79 (95/121)	93 (108/116)	92 (95/103)	81 (108/134)
Çocuk grubunda influenza (A+B)	76 (28/37)	94 (33/35)	93 (28/30)	79 (33/42)
Yetişkin grubunda influenza (A+B)	80 (67/84)	93 (75/81)	92 (67/73)	82 (75/92)
Tüm gruplarda influenza A	83 (45/54)	97 (177/183)	88 (45/51)	95 (177/186)
Çocuk grubunda influenza A	88 (14/16)	96 (54/56)	88 (14/16)	96 (54/56)
Yetişkin grubunda influenza A	82 (31/38)	97 (123/127)	89 (31/35)	95 (123/130)
Tüm gruplarda influenza B	75 (50/67)	99 (168/170)	96 (50/52)	91 (168/185)
Çocuk grubunda influenza B	67 (14/21)	100 (51/51)	100 (14/14)	88 (51/58)
Yetişkin grubunda influenza B	78 (36/46)	98 (117/119)	95 (36/38)	92 (117/127)

TARTIŞMA

- Hızlı testlerin duyarlılığını etkileyen faktörler;
 - karşılaştırmalı altın standart yöntemler (PCR ya da kültür)
 - populasyon
 - iç çalışma koşulları (örnek toplanması, transport, swab, vb)
 - kullanılan ILI tanımlamaları
 - semptomların başlangıcı
 - kullanılan hızlı testler
 - test edilen alt tipler

Performance of six influenza rapid tests in detecting human influenza in clinical specimens.

Hurt AC, Alexander R, Hibbert J, Deed N, Barr IG

- Çoğunluğu çocuklardan alınan 177 klinik örnekte 6 farklı hızlı testin, hücre kültürüne göre değerlendirilmesi

- Binax Now Influenza A&B,
- Directigen EZ Flu A+B,
- Denka Seiken Quick Ex-Flu,
- Fujirebio Espline Influenza A&B-N
- Quidel QuickVue Influenza A+B Test

Duyarlılık; % 67 – 71
Özgüllük; % 99-100

- Rocheby Influenza A Antigen Test

Duyarlılık; % 10
Özgüllük; % 100

Farklı üç tip hızlı antijen testini karşılaştıran bir çalışmada BD Veritor System Influenza A+B testinin iyi bir performansa sahip olduğu bulunmuştur.

Influenza type	RIDT	Positive agreement (%) (95% CI)	Negative agreement (%) (95% CI)	PPV (%) (95% CI)	NPV (%) (95% CI)
A	Veritor	45/48, 93.8% (81.8–98.4)	188/192, 97.9% (94.4–99.3)	45/49, 91.8% (79.5–97.4)	188/191, 98.4% (95.1–99.6)
	Sofia	46/48, 95.8% (84.6–99.3)	175/192, 91.1% (86.0–94.6)	46/63, 73.0% (60.1–83.1)	175/177, 98.9% (95.5–99.8)
	Binax	38/48, 79.2% (64.6–89.0)	191/192, 99.5% (96.7–100)	38/39, 97.4% (84.9–99.9)	191/201, 95.0% (90.8–97.5)
B	Veritor	49/52, 94.2% (83.1–98.5)	188/188, 100% (97.5–100)	49/49, 100% (90.9–100)	188/191, 98.4% (95.1–99.6)
	Sofia	51/52, 98.1% (88.4–99.9)	133/188, 70.7% (63.6–77.0)	51/106, 48.1% (38.4–58.0)	133/134, 99.3% (95.3–100)
	Binax	42/52, 80.8% (67.0–89.9)	187/188, 99.5% (96.6–100)	42/43, 97.7% (86.2–99.9)	187/197, 94.9% (90.6–97.4)

CI = confidence interval.

TARTIŞMA

- Çalışmamızda BD Veritor System Flu A+B testi, ASM kullanımlarında tüm gruplarda influenza A ve B için iyi performans göstermiştir.
 - Duyarlılık: % 79
 - Özgüllük: % 93
 - PPD: % 92
 - NPD: %81

Accuracy of Rapid Influenza Diagnostic Tests

A Meta-analysis

Chartrand C, Leeflang MG, Jessica Minion J, Brewer, Pai M

- 159 çalışmanın analizi sonucunda havuzlanmış değerler;
 - Duyarlılık: % 62.3 (% 95 CI, % 57.9 - % 66.6)
 - Özgüllük: % 98.2 (% CI, % 97.5 - % 98.7)
 - PPD: 34.5 (CI, 23.8 - 45.2)
 - NPD: 0.38 (CI, 0.34 - 0.43)
 - Erişkinlerde duyarlılık: % 53.9 (CI, % 47 - % 59.8)
 - Çocuklarda duyarlılık: % 66.6 (CI, % 61.6 - % 71.7)
 - İnfluenza A için duyarlılık: % 64.6 (CI, % 59.0 - % 70.1)
 - İnfluenza B için duyarlılık: % 52.2 (CI, % 45.0 - % 59.3).

TARTIŞMA

- Çocuklarda viral atılımın fazla olması nedeniyle erişkinlere göre hızlı testler ile influenza virusunu saptamada daha iyi sonuçlar elde edilmektedir.

Influenza A (H1N1) pdm09 Tanısında Hızlı Antijen Testi ile RT-PCR Testinin Karşılaştırılması

Begüm NALÇA ERDİN, Ö. Alpay ÖZBEK, Murat DUMAN, A. Arzu SAYINER

- Türkiye’de 2009-2010 grip sezonunda çocuklarda yapılan bu çalışmada; influenza A ve B için duyarlılık % 62.5, özgüllük % 96.2 bulunmuştur.
- Aynı çalışmada influenza A (H1N1) pdm09 için;
 - **Duyarlılık; % 63.4,**
 - **Özgüllük; % 100,**
 - **PPD; % 100 ve**
 - **NPD; % 64.2 olarak bulunmuştur.**

TARTIŞMA

- Çalışmamızda çocuk grubundan elde ettiğimiz sonuçlar Türkiye ve Dünyadaki çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur.
- İnfluenza A ve B için;
 - Duyarlılık; % 76
 - Özgüllük; % 94
 - PPD; % 93
 - NPD; % 79

TARTIŞMA

- Çalışmamızda influenza A'nin duyarlılığı metaanaliz çalışmalarında olduğu gibi daha yüksek bulunmuştur.

Duyarlılık	influenza B	influenza A
Tüm Gruplar	75	83
Çocuk	67	88
Yetişkin	78	82

TARTIŞMA

- Çalışmamızda en yüksek PPD; ocuk grubunda influenza B için %100 olarak bulunmuştur.
- Bu sonuç çalıŐmamızın yapıldığı sezonda influenza B'nin baskın olması ile iliŐkilidir.
- Tek bir sezonda gerçekleŐtirilmiŐ olması çalıŐmamızın kısıtlılığıdır. Sonuçlar, diğer influenza suŐlarının baskın olduğu sezon salgınlarında farklılık gösterebilir.

SONUÇ

- Sonuç olarak BD Verritor Flu A+B testinin aile hekimliğinde kullanımı, real-time PCR yöntemine göre yetişkin ve çocuklarda iyi performans göstermiştir.
- Ancak klinik ve maliyet etkilerinin gösterilebilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Teşekkür

DR. NECLA İCRALAN EMİN

26 NOLU ASM, İSTANBUL

DR. DİLEK DALYANCI

BEŞTELSİZ ASM, İSTANBUL

DR. EMİNE DEVRİM ARDA

MURAT UÇKAN ASM, İSTANBUL

DR. AYGÜL BUDAK

SOĞANLIK ASM, İSTANBUL

DR. HAMİT SARAÇOĞLU

ŞİŞLİ MERKEZ ASM, İSTANBUL

DR. VOLKAN MUTLUER

CUMHURİYET ASM, İSTANBUL

DR. ECE GÜRGÜT

AĞAÇLARALTI ASM, İSTANBUL

DR. EMRAH KIRIMLI

ÜMRANİYE ASM, İSTANBUL

DR. AHMET ERDAL UĞURLU

BAHÇELİEVLER ASM, İSTANBUL

DR: EBRU KOYUNCU DİZİCİ


GÜZELTEPE ASM, İSTANBUL

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Analytical performance of the BD veritor™ system for rapid detection of influenza virus A and B in a primary healthcare setting



Sevim Mese^{1*} , Hulya Akan², Selim Badur¹, Aysun Uyanik¹ and Istanbul Rapid Test Study Group

- Bu çalışma (53/457) numaralı proje önerisi ile Yeditepe Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay almıştır.
- «Becton Dickinson» firması, çalışmada kullanılan hızlı antijen testlerini sağlayarak destek olmuştur.





TEŞEKKÜRLER