Özgün Araştırma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2026;60(2):177-187*/doi: 10.5578/mb.202602144

Geliş Tarihi (Received): 07.11.2025 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 10.03.2026

Okült HBV Enfeksiyonunda ve Düşük Düzey HBsAg Pozitifliğinde Yeni Nesil HBsAg Testinin Konvansiyonel Yöntemle Karşılaştırmalı Değerlendirilmesi

Comparative Evaluation of a New-Generation HBsAg Assay versus a Conventional Method in Occult HBV Infection and Low-level HBsAg Positivity

Ferhat Osman DAŞDEMİR[1](ID), Harika Öykü DİNÇ[2](ID), Serhat SİREKBASAN[3](ID), Nur HAMZELİ[4](ID), Sema ALAÇAM[5](ID), Nuran KARABULUT[5](ID), Süreyya TÜRK[6](ID), Nida DERELİ[6](ID), Rüveyda AKÇİN[7](ID), Koçer Dilan KARAHAN[6](ID), Nesrin GAREAYAGHI[8](ID), Özlem ALTUNTAŞ AYDIN[9](ID), İlhan BİRİNCİ[4](ID), Bekir KOCAZEYBEK[6](ID)

[1] İstanbul Arel Üniversitesi Meslek Yüksekokulu, Çevre Koruma Teknolojileri Bölümü, İstanbul.
[1] İstanbul Arel University Vocational School, Department of Environmental Protection Technologies, İstanbul, Türkiye.

[2] Üsküdar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
[2] Üsküdar University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye.

[3] Çankırı Karatekin Üniversitesi Şabanözü Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Bölümü, Çankırı.
[3] Çankırı Karatekin University Şabanözü Vocational School, Department of Medical Laboratory Techniques, Çankırı, Türkiye.

[4] Türkiye Cumhuriyeti, Türk Kızılayı, İstanbul.
[4] Republic of Türkiye, Turkish Red Crescent, İstanbul, Türkiye.

[5] Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi, Tıbbi Viroloji Kliniği, İstanbul.
5 University of Health Sciences, Başaksehir Çam and Sakura City Hospital, Clinic of Medical Virology, İstanbul, Türkiye.

[6] İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
[6] İstanbul University- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye.

[7] İstanbul Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
[7] İstanbul Health and Technology University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye.

[8] Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kan Merkezi, İstanbul.
[8] University of Health Sciences, Şişli Hamidiye Etfal Training and Research Hospital Blood Center, İstanbul, Türkiye.

[9] Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
[9] University of Health Sciences, Basaksehir Cam and Sakura City Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, İstanbul, Türkiye.

Makale Atıfı: *Daşdemir FO, Dinç HÖ, Sirekbasan S, Hamzeli N, Alaçam S, Karabulut N ve ark. Okült HBV enfeksiyonunda ve düşük düzey HBsAg pozitifliğinde yeni nesil HBsAg testinin konvansiyonel yöntemle karşılaştırmalı değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2026;60(2):177-187.*

İletişim (Correspondence): *Prof. Dr. Bekir Kocazeybek, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 (532) 616 8150,* ***E-posta (E-mail):*** *bzeybek@istanbul.edu.tr*

ÖZ

Bu çalışmada, düşük düzeyde hepatit B yüzey antijeni (HbsAg) pozitifliği saptanan örnekler ile okült hepatit B virüs enfeksiyonu (OBİ) olgularında, konvansiyonel HBsAg testi ile yeni nesil HBsAg NEXT (HBsAgNx) testinin karşılaştırılmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya 300 düşük düzeyde HBsAg pozitif birey, 100 OBİ olgusu (64 seropozitif, 36 seronegatif) ve 97 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 497 birey dahil edilmiştir. Serum örnekleri Abbott ARCHITECT HBsAg Qualitative II testi (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Almanya) ve Abbott Alinity i HBsAgNx testi (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Almanya) ile analiz edilmiştir. HBV DNA varlığı gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu [real-time polymerase chain reaction (Rt-PCR)] yöntemiyle, COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV test v2.0 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) kullanılarak doğrulanmıştır. Tanısal performans değerlendirmesinde altın standart referans olarak HBV DNA (Rt-PCR) testi kabul edilmiştir. Örneklem seçiminden kaynaklanabilecek yanlılığın önlenmesi amacıyla düşük düzey HBsAg pozitifliği olan bireyler ile OBİ olguları ayrı analiz edilmiştir. Düşük düzey HBsAg pozitif grupta testlerin yarı-kantitatif S/CO değerleri karşılaştırılırken, OBİ grubunda yalnızca HBV-DNA pozitif olguların saptanma oranları değerlendirilmiştir. Konvansiyonel test ile negatif bulunan ancak HBsAgNx testi ile pozitif saptanan 17 OBİ olgusu (%17) belirlenmiştir. Testler arasındaki fark McNemar testiyle değerlendirilip $p< 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. HBsAgNx testinin medyan değerleri, konvansiyonel teste kıyasla anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p< 0.001$). HBsAgNx testi, konvansiyonel testlerin yakalayamadığı olguları saptayarak özellikle OBİ grubunda klinik olarak anlamlı katkı sağlamaktadır. Bu bulgular, yüksek duyarlılıklı HBsAg testlerinin HBV tanısında mevcut algoritmalara entegrasyonunun hasta kazanımını artıracağını ve hem transfüzyon güvenliğine hem de OBİ'nin klinik yönetimine katkı sağlayacağını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *HBsAg; okült hepatit B; düşük düzey HBsAg; HBsAgNx.*

ABSTRACT

This study aimed to comparatively evaluate the conventional hepatitis B surface antigen (HBsAg) assay and the next-generation HBsAg NEXT (HBsAgNx) assay in samples with low-level HBsAg positivity and in cases of occult hepatitis B infection (OBI). A total of 497 individuals were included in the study, comprising 300 individuals with low-level HBsAg positivity, 100 OBI cases (64 seropositive and 36 seronegative) and 97 healthy controls. Serum samples were analyzed using the Abbott ARCHITECT HBsAg Qualitative II assay (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Germany) and the Abbott Alinity i HBsAg NEXT assay (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Germany). The presence of HBV DNA was confirmed by real-time polymerase chain reaction (Rt-PCR) using the COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV test v2.0 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). HBV DNA (Rt-PCR) was accepted as the gold standard reference for diagnostic performance evaluation. To minimize potential bias arising from sample selection, individuals with low-level HBsAg positivity and OBI cases were analyzed separately. In the low-level HBsAg-positive group, semi-quantitative S/CO values of the assays were compared, whereas in the OBI group, only the detection rates of HBV DNA–positive cases were evaluated. A total of 17 OBI cases (17%) were identified that were tested negative by the conventional assay but positive by the HBsAgNx assay. Differences between the assays were evaluated using the McNemar test and $p< 0.05$ was considered statistically significant. Median values obtained with the HBsAgNx assay were significantly higher than those obtained with the conventional assay ($p< 0.001$). The HBsAgNx assay provides clinically significant contributions particularly in the OBI group, by detecting cases that cannot be identified by conventional assays. These findings indicate that the integration of high-sensitivity HBsAg assays into current HBV diagnostic algorithms would increase case detection and contribute to both transfusion safety and the clinical management of OBI.

Keywords: *HBsAg; occult hepatitis B; low-level HBsAg; HBsAgNx.*

GİRİŞ

Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu, dünya genelinde yaklaşık 296 milyon insanı etkileyen ve ciddi karaciğer hastalıklarına, siroz ve hepatoselüler karsinom gibi komplikas-

yonlara yol açabilen önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir[1]. HBV enfeksiyonunun tanısında temel belirteçlerden biri olan hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), klinik ve epidemiyolojik açıdan hastalığın seyrini ve bulaştırıcılığını belirlemede kilit rol oynamaktadır[2]. Ancak serolojik tanıda karşılaşılan bazı zorluklar, enfeksiyonun saptanmasında önemli sınırlılıklar doğurabilmektedir. Özellikle düşük düzeyde HBsAg pozitif olan olguların sonuçları, yanlış negatif veya yanlış pozitif olarak yorumlanma riski taşıdığından hem hasta yönetimi hem de halk sağlığı açısından potansiyel tehlikeler barındırmaktadır[3,4]. Bu bireylerde enfeksiyonun gözden kaçması, tedavi süreçlerinin ertelenmesine veya en iyi şekilde yönlendirilmemesine yol açabilmekte, aynı zamanda toplumda sessiz bulaş zincirlerinin oluşmasına neden olabilmektedir[5,6].

Bununla birlikte, serolojik testlerle HBsAg negatif saptanan ancak HBV DNA'sı pozitif olan ve anti-HBc ve/veya anti-HBs gibi bağışıklık belirteçleriyle enfeksiyon geçirmiş olduğu kanıtlanabilen bireylerde tanımlanan okült hepatit B enfeksiyonu (OBİ) klinik pratikte giderek daha fazla önem kazanmaktadır[7]. OBİ, bağışıklığı baskılanmış hastalarda reaktivasyon riski taşıması, transfüzyon güvenliği açısından tehdit oluşturması ve özellikle karaciğer hastalıklarının etiyolojisinde göz ardı edilmemesi gereken bir faktör olması nedeniyle tanı sürecinde özel bir dikkat gerektirir[8]. Ancak OBİ olgularının konvansiyonel HBsAg testleriyle tespit edilmesi çoğu zaman mümkün olmamaktadır[9].

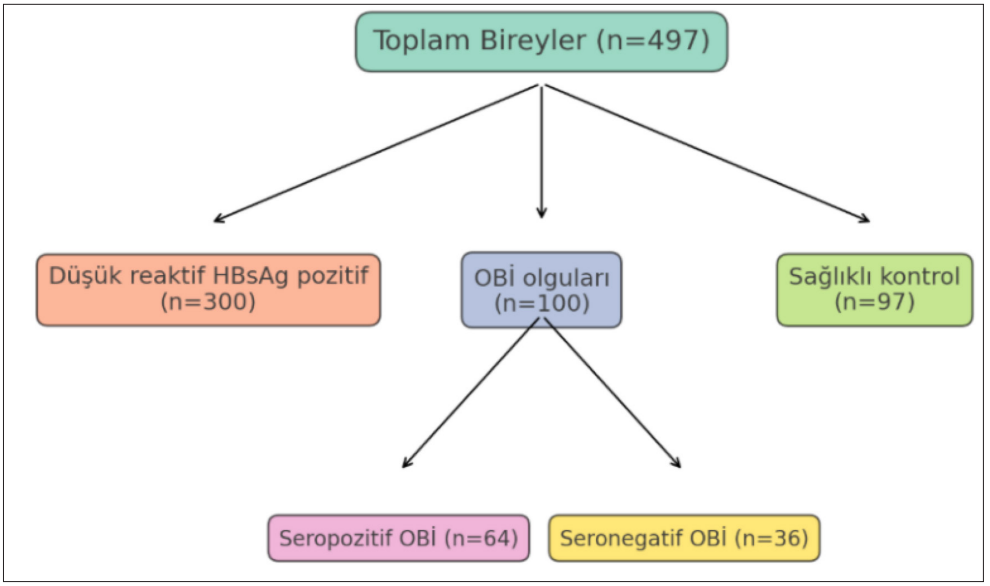
Son yıllarda geliştirilen ve HBsAg düzeylerini daha düşük eşiklerde saptayabilen yeni nesil ticari tanı testleri, bu bağlamda tanı doğruluğunu artırma potansiyeli taşımaktadır[10]. Bu testlerin, özellikle düşük düzey HBsAg pozitif olgularda ve okült HBV enfeksiyonu şüphesi olan bireylerde daha yüksek duyarlılık sunabileceği yönündeki öncül veriler dikkat çekicidir[11]. Ancak klinik uygulanabilirliğin artırılabilmesi için bu testin konvansiyonel testlerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Bu çalışma, düşük düzey HBsAg pozitif bireyler ile okült HBV enfeksiyonu taşıyan bireylerde kullanılan konvansiyonel ve yeni nesil tanı testinin tanısal performanslarını karşılaştırmayı amaçlamaktadır. Özellikle yeni nesil HBsAg NEXT (HbsAgNx) testinin duyarlılık, özgüllük ve tanısal performans açısından sağladığı katkının ortaya konulması hedeflenmektedir. Elde edilecek sonuçların, HBV enfeksiyonlarının daha doğru saptanmasına katkı sağlayarak, klinik karar süreçlerinin ve halk sağlığı müdahalelerinin etkinliğini artıracağı öngörülmektedir. Ayrıca, tanı algoritmalarında yapılabilecek düzenlemeler için bilimsel dayanak oluşturması ve ulusal tanı protokollerinin güncellenmesine zemin hazırlaması bakımından bu çalışmanın önemli bir literatür katkısı sunması beklenmektedir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Tasarımı, Katılımcılar ve Örnek Alımı

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarı Seroloji Bölümü koordinasyonunda; Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi, Tıbbi Viroloji Kliniği ile T.C. Türk Kızılayı iş birliğiyle yürütülmüş, prospektif, kesitsel, gözlemsel ve karşılaştırma çalışması olarak gerçekleştirildi.



Şekil 1. *Çalışma grubunda olguların dağılımı.*

Çalışmaya Ocak 2025 – Temmuz 2025 tarihleri arasında toplam 497 birey dahil edildi (Şekil 1). Bunların 300'ü konvansiyonel serolojik testlerde HBsAg düzeyi 1.0–10.0 S/CO aralığında saptanan bireylerden, 100'ü HBsAg negatif ancak HBV-DNA pozitif olan okült HBV enfeksiyonu olgularından oluşturuldu. Literatürde, düşük düzey HBsAg pozitif olgular nötralizasyon testiyle doğrulanarak araştırılmış ve sonucu 1.0–10.0 S/CO aralığında olanlar "borderline" olarak tanımlandı[12,13]. Kontrol grubu, HBsAg ve HBV-DNA test sonuçları negatif olan 97 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu. Bu olgular, hasta grubuyla yaş ve cinsiyet yönünden eşleştirilerek çalışmaya dahil edildi. OBİ olguları, literatüre göre serolojik durumları gözetilerek seropozitif (HBV-DNA pozitif, anti-HBc ve/veya anti-HBs pozitif) ve seronegatif (HBV-DNA pozitif, anti-HBc ve anti-HBs negatif) olarak sınıflandırıldı[13].

Çalışmaya dahil edilen bireylerden alınan kan örnekleri, serolojik analizler için steril ve antikoagülan içermeyen vakumlu tüplere (Vacusera, Disera Ltd., İzmir, Türkiye), HBV DNA analizi için ise steril etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren vakumlu tüplere (Vacusera, Disera Ltd., İzmir, Türkiye) alındı. Örnekler beş dakika boyunca 5000 rpm'de santrifüj edilip analiz gününe kadar sırasıyla +4 °C, ardından –20 °C ve son olarak –80 °C'de saklandı.

Konvansiyonel HBsAg testi

Çalışmaya dahil edilen olgularda konvansiyonel serolojik değerlendirme, Abbott HBsAg Qualitative II kitiyle ARCHITECT i2000SR sistemi (Abbott, Abbott Park, Illinois, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Bu test kemilüminesans prensipli olup temel olarak HBsAg'nin "a determinant bölgesini" (aa124–147, özellikle aa139–147) hedeflemektedir[14]. Olgulardan sonucu ≥ 1.0 S/CO olan olgular HBsAg pozitif, < 1.0 S/CO olan olgular negatif kabul edildi.

Yeni nesil HBsAgNx testi

Çalışmaya dahil edilen bireylerin serum örneklerinde kemilüminesans temelli yeni nesil ticari HBsAg kiti olan Abbott HBsAgNx kitiyle Abbott Alinity i sistemi (Abbott, Abbott Park, Illinois, ABD) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Yeni nesil HBsAgNx, HBsAg'nin a determinantına ek olarak, pre-S1 ve pre-S2 bölgelerine yakın ek epitopları da hedefleyebilmektedir[15]. HBsAg sonucu ≥ 1.0 S/CO olan olgular pozitif, < 1.0 S/CO olan olgular ise negatif kabul edilmiştir.

HBV DNA'nın Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Kantitatif Analizi

Tüm olgularda HBV DNA varlığı, kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu [quantitative real-time polymerase chain reaction (qRt-PCR)] temelli, HBV genomunun yüksek düzeyde korunan prekor ve kor bölgelerini hedefleyen Cobas® HBV Test ile Cobas® 8800 sistemi (Roche Diagnostics, Basel, İsviçre) kullanılarak araştırıldı. Nükleik asit ekstraksiyonu sırasında olgulardan alınan kan örnekleri, iç kontrol olarak kullanılan DNA Quantitation Standard (DNA-QS) ile işleme alındı. Amplifikasyon aşamasında HBV'ye özgü ileri ve geri primerler, yüksek korunumlu gen bölgelerinden seçildi. Amplifikasyon ürünleri, spesifik floresan problar aracılığıyla eş zamanlı olarak HBV DNA ve DNA-QS için saptandı. Testin alt tespit limiti üretici talimatında EDTA plazma için 2.7 IU/mL olarak, lineer aralık ise 10 IU/mL – 1.0×10^9 IU/mL arasında belirtildiği gibi kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler IBM Statistical Package for the Social Sciences Statistics v25.0 (Windows için) (IBM Corporation, Armonk, New York, ABD) programı kullanılarak analiz edildi. Sürekli değişkenlerin dağılımı Kolmogorov–Smirnov testiyle değerlendirildi; parametrik olmayan dağılım gösteren yaş değişkeni için gruplar arası karşılaştırmalar Mann–Whitney U testiyle yapıldı. Kategorik değişkenlerin dağılımı ki-kare testiyle analiz edildi. Aynı bireylerde uygulanan iki farklı tanı testi (HBsAg ve HBsAgNx) sonuçlarının karşılaştırılmasında McNemar testi kullanıldı. Tanı testlerinin ayırt edici gücü alıcı işletim karakteristiği [receiver operating characteristic (ROC)] eğrisiyle analiz edildi, eğri altında kalan alan [area under curve (AUC)] değeri hesaplandı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi tüm testlerde $p< 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Tanısal performans analizlerinde HBV-DNA (Rt-PCR) sonuçları altın standart referans olarak kabul edildi. Örneklem seçim kriterlerine bağlı yanlılığın önlenmesi amacıyla düşük düzey HBsAg pozitifliği grubu ile OBİ grubu birleştirilmeyip her grup ayrı ayrı değerlendirildi. Düşük düzey HBsAg pozitifliği grubunda testlerin yarı-kantitatif (S/CO) değerleri karşılaştırıldı, OBİ grubunda ise tüm olgular referans yöntemle pozitif olduğundan özgüllük hesaplanmadı ve yalnızca testlerin HBV-DNA pozitif vakaları saptama oranları analiz edildi.

BULGULAR

Çalışma gruplarındaki medyan yaş 45, kontrol grubunda ise 48 olarak saptanmıştır. Yaş ($p= 0.108$) ve cinsiyet dağılımları ($p= 0.587$) açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo I).

Tablo I. Çalışma Grupları ve Kontrol Grubuna Ait Temel Demografik Veriler			
Değişkenler		**Çalışma grupları* (n= 400)**	**Kontrol (n= 97)**
Demografik veriler	Yaş (medyan)	45	48
	Cinsiyet (kadın/erkek)	198 (%49.5)/202 (%50.5)	51 (%52.6)/46 (%47.4)
*Çalışma grupları: Düşük düzey HBsAg pozitif bireyler, Okült HBV enfeksiyonu olan bireyler.			

Tablo II. Düşük Düzey HBsAg Pozitif Bireylerde S/CO Dağılımları [medyan (IQR)]			
Test	**Medyan (S/CO)**	**IQR (25.–75. persentil)**	**p***
CMIA-HBsAg	2.49	1.44 – 5.12	<0.001
CMIA-HBsAgNx	4.79	3.03 – 8.96	
*Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanılarak hesaplanmıştır. CMIA: Kemilüminesan mikropartikül immünoassay, IQR: Çeyrekler açıklığı (25.–75. persentil); S/CO: Sinyal/kesim (cut-off).			

Düşük düzey HBsAg pozitif bireylerde, konvansiyonel testin medyan S/CO değeri 2.49 (1.44–5.12), HBsAgNx'in medyan değeri ise 4.79 (3.03–8.96) olarak hesaplanmıştır. İki testin dağılımları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo II). Konvansiyonel testte negatif saptanan ancak HBsAgNx ile pozitif bulunan 17 OBİ olgusu (%17, n= 100) belirlenmiştir. Konvansiyonel testte pozitif saptanıp, HBsAgNx ile negatif olarak sonuçlanan hiçbir olgu saptanmamıştır.

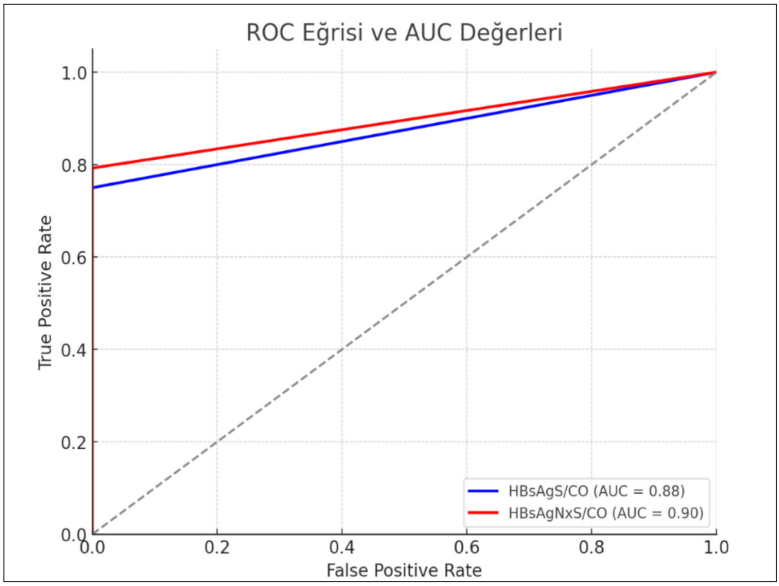
Gruplar ayrı değerlendirildiğinde; düşük düzey HBsAg pozitif bireylerde HBsAgNx testinin medyan S/CO değerleri konvansiyonel teste kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p< 0.001$). Okült HBV enfeksiyonu grubunda ise tüm olgular HBV-DNA ile pozitif olmasına rağmen konvansiyonel HBsAg testi hiçbir olguyu saptayamamıştır. Buna karşılık, HBsAgNx testi OBİ grubundaki 17 olguyu (%17) saptamayı başarmıştır.

HBsAgNx testi ile pozitif saptanan 17 OBİ olgusundan 14 (%82.4)'ü seropozitif OBİ olup bu olguların da yedisi (%50) anti-HBc pozitif olarak saptanmıştır. Tüm seropozitif OBİ olgularında anti-HBs düzeyi ≥ 10 IU/L olup, anti-HBs negatif olgu saptanmamıştır. Seronegatif OBİ olup HBsAgNx ile saptanan üç olgunun anti-HBc ve anti-HBs sonuçları negatif olarak saptanmıştır.

ROC analizi sonuçlarına göre konvansiyonel HBsAg testinin AUC değeri 0.875, yeni nesil HBsAgNx testinin AUC değeri ise 0.896 olarak bulunmuştur (Şekil 2). Her iki test de yüksek tanısal doğruluk sergilese de HBsAgNx testinin daha üstün bir performans sunduğu saptanmıştır.

TARTIŞMA

HBsAg, akut ve kronik hepatit B enfeksiyonunun tanısında en yaygın kullanılan biyobelirteçtir. Ancak HBsAg'ye dayalı serolojik tanı yöntemlerinde bazı zorluklar mevcuttur. Bu zorlukların başında, HBV S genindeki mutasyonlar (özellikle "a-determinant" bölgesinde) ve pre-S1/pre-S2 bölgelerindeki değişiklikler gelir. Bu mutasyonlar, ticari testlerde



Şekil 2. *Konvansiyonel HBsAg ve yeni nesil HBsAgNx testlerine ait ROC eğrisi ve AUC değerleri.*

kullanılan monoklonal antikorların bağlanma bölgelerini değiştirebilir, böylece antijen–antikor etkileşimlerini bozarak yanlış negatif sonuçlara yol açabilir[15,16]. Ayrıca, düşük viremi düzeylerinin görüldüğü veya enfeksiyonun pencere döneminde olduğu olgularda, antijen düzeyleri testlerin kesim değerinin (cut-off) altında kalabilir ve bu durum enfeksiyonların gözden kaçmasına neden olabilir[17,18]. Bu nedenle hem antijenik varyasyon hem de düşük viremi düzeyleri tanısal performans açısından kısıtlayıcı faktörlerdir. Nitekim, HBsAg mutasyonları nedeniyle tanıda gecikmeler, düşük reaktivite veya tamamen saptanamayan olgular artık yaygın hale gelmiştir[19,20].

Bu kısıtlamaları aşmak için yeni geliştirilen HBsAg testinin, HBsAg'nin a-determinant bölgesini hedefleyen H53 ve H166 monoklonal antikor (mAb)'larını katı fazda %50/%50 oranında dağıttığı bildirilmiştir. Bu durum, testin tek bir epitopa bağımlılığını azaltmakta ve farklı antijenik varyantlara karşı bağlanma aralığını artırmaktadır[15]. Buna karşılık, konvansiyonel HBsAg Qual II testinde bu dağılım %75 H166 mAb ve %25 H53 mAb şeklindedir ve bu kombinasyonun, H166 mAb ile ilişkili yüzey (S) epitoplarında gelişebilecek mutasyonlara bağlı olarak tanısal duyarlılığın azalması riskini artırabileceği öne sürülmüştür[14]. Çalışmamızdan elde edilen veriler doğrultusunda, yeni nesil HBsAgNx testi ile konvansiyonel test arasındaki katı faz mAb kombinasyonundaki biyoteknolojik farkın, düşük düzeyde antijenemi ve OBİ olgularının tanısında HBsAgNx testi lehine daha yüksek bir duyarlılık sağladığı görülmektedir. Çalışmamızın amacı doğrultusunda HBsAgNx testinin, düşük düzeyde HBsAg pozitifliği ve gizli HBV olgularında konvansiyonel testlere kıyasla tanısal duyarlılığı artırdığı gösterilmiştir[21,22]. Hindistan'da Gupta ve arkadaşları

tarafından yürütülen bir çalışmada[10], HBsAgNx testi konvansiyonel testlere kıyasla 11 olguda pozitiflik saptamış, bunların beşi moleküler testlerle doğrulanmış OBİ olguları olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde, Kuhns ve arkadaşlarının çalışmasında[11], mevcut testin erken akut enfeksiyon, geç akut enfeksiyon ve OBİ olgularında daha yüksek tespit gücü sağladığı ve yalnızca DNA testiyle pozitif olup serolojide negatif olan olgularda (NAT-yield örneklerinde) ek %36.4 pozitiflik oranı elde ettiği bildirilmiştir. Erken akut HBV, geç akut HBV ve OBİ olgularında yeni geliştirilen HBsAg testinin (prototip test) performansını değerlendiren bu çalışmada, testin konvansiyonel testlere kıyasla pozitifliği 13–74 gün daha erken saptayabildiği ileri sürülmüştür[10]. Ayrıca, pre-S2 antijenini hedefleyen araştırma amaçlı testlerin de mevcut HBsAg testlerine kıyasla daha erken pozitiflik sağladığı gösterilmiştir[10,24–27].

Çalışmamızda, konvansiyonel HBsAg testiyle negatif olup HBsAgNx ile pozitif bulunan ve tamamında HBV DNA pozitifliği saptanan ek 17 OBİ olgusu (%17) belirlenmiştir. Bu bulgu, yeni nesil testlerin klinik olarak anlamlı ek olguları saptayabildiğini ve duyarlılığı artırdığını göstermektedir. Çalışmamızda, düşük reaktivite grubunda HBsAgNx testinin yarı kantitatif ortalama değerleri, konvansiyonel teste kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu testlerin doğası gereği tam kantitatif değerlendirmeye izin vermemesi nedeniyle, istatistiksel analizler test sonucu sınıflandırmasına göre yapılmış ve iki test arasındaki fark McNemar testiyle değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, örneklem seçiminden kaynaklanabilecek yanlılığı önlemek amacıyla gruplar ayrı analiz edilmiştir. En dikkat çekici bulgu, HBsAgNx testinin OBİ grubundaki katkısıdır. Konvansiyonel HBsAg testleri ile tamamen negatif bulunan ve yalnızca HBV-DNA ile tanı alabilen OBİ olgularının %17'si, HBsAgNx testi ile saptanabilmiştir. Bu bulgu, yeni nesil testlerin artırılmış analitik duyarlılıkları sayesinde çok düşük antijen düzeylerini yakalayabildiğini ve OBİ tanısında klinik olarak anlamlı ek katkı sağladığını göstermektedir.

OBİ'nin doğru tanısı, hem bireysel hasta yönetimi hem de halk sağlığı açısından kritik öneme sahiptir[26,27]. OBİ'nin saptanamaması, kan ve kan ürünleri transfüzyonu yoluyla bulaşa, immünsupresif tedavi alan hastalarda reaktivasyona ve kronik HBV enfeksiyonlarının gözden kaçmasına yol açabilir[28]. Bu durum, bireysel düzeyde morbidite ve mortalite artışına yol açarken; toplumsal düzeyde HBV eliminasyon hedeflerinin gerçekleştirilmesinin önünde ciddi bir engel teşkil etmektedir[29].

OBİ özellikle transfüzyon güvenliği açısından önemli bir sorundur. Dünya genelinde yapılan meta-analizler, yüksek endemisite bölgelerinde (örneğin Afrika, Asya) kan donörleri arasında OBİ prevalansının %0.98'e kadar, yüksek riskli popülasyonlarda (örneğin insan immün yetmezlik virüsü pozitif bireyler, hemodiyaliz hastaları, enjeksiyonla ilaç kullananlar) ise %12'ye kadar ulaşabildiğini göstermiştir[29]. Türkiye'de ve benzer endemik bölgelerde yapılan çalışmalar da HBsAg-negatif/anti-HBc-pozitif donörlerde DNA pozitifliği göstererek transfüzyonla bulaş riskine dikkat çekmiştir[21,29]. OBİ'nin klinik önemi yalnızca bulaş riskiyle sınırlı değildir; immünsupresyon altında reaktivasyon riski de söz ko-

nusudur. OBİ'nin doğrudan etkili antiviral tedavi alan HCV hastalarında veya kemoterapi/immünsupresif tedavi gören bireylerde reaktivasyona yol açabileceği gösterilmiştir[28]. Bu bağlamda, yüksek duyarlılığa sahip HBsAg testlerinin ve DNA temelli yöntemlerin tanısal algoritmalara entegre edilmesi hem bulaşın önlenmesi hem de reaktivasyon riskinin öngörülmesi açısından önem taşımaktadır[9,22,24,30].

Her ne kadar bu çalışma üç merkezde yürütülmüş olsa da merkezlerin aynı şehir sınırları içinde yer alması örneklemin belirli bir coğrafi bölgeyle sınırlı kalmasına yol açmıştır. Bu durum, bulguların diğer popülasyonlara genellenebilirliğini kısıtlayabilir. Ayrıca, OBİ alt gruplarındaki olgu sayısının nispeten az olması, test performansının daha geniş serilerde doğrulanması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, bu çalışmada üretici önerisine uygun olarak reaktif örneklerin tekrar çalışılması ve iki kez reaktif bulunanların nötralizasyon ile doğrulanması mümkün olamamış, bu durum özellikle düşük düzey reaktivite gösteren örneklerde olası yanlış pozitiflik ihtimalinin tamamen dışlanamaması nedeniyle çalışmanın önemli bir sınırlılığı olarak değerlendirilmiştir. Bir diğer sınırlılık ise çalışmamızda HBsAg mutasyonlarının doğrudan moleküler karakterizasyonunun yapılamamış olmasıdır. Bu nedenle, konvansiyonel testlerle negatif veya düşük düzeyde pozitif olarak belirlenen olguların kaçının bu mutasyonlara bağlı olduğu kesin olarak belirlenememiştir.

Sonuç olarak, HBsAg mutasyonları ve düşük viremi düzeyleri, HBV tanısında zorluk oluşturmaya devam etmektedir. Ancak yeni nesil HBsAg testlerinin daha yüksek duyarlılığa sahip olmaları nedeniyle bu tanısal güçlükleri azaltabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda HBsAgNx testi ile tamamı DNA pozitif olan 17 ek olgunun (OBİ) saptanmış olması, bu testin tanısal performansını desteklemektedir. Çalışmamızda elde edilen bulgular, yüksek duyarlıklı HBsAg testlerinin özellikle düşük düzey HBsAg reaktivitesi bulunan olgularda ve OBİ olgularının bir kısmında ek saptama sağlayabileceğini göstermektedir. Bu durum, mevcut HBV tarama algoritmalarına daha duyarlı HBsAg testlerinin entegre edilmesinin olgu yakalanma oranını artırabileceğini ve böylece hem transfüzyon güvenliği açısından ek bir koruma sağlayabileceğini hem de OBİ olgularının klinik açıdan daha erken fark edilmesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bu katkının klinik sonuçlara yansımasının farklı popülasyonlarda daha geniş örneklemli ve doğrulama testleri ile desteklenmiş çalışmalarla değerlendirilmesi gerekmektedir. Özellikle, OBİ alt gruplarında (seropozitif ve seronegatif) antijen düzeylerinin ayrıntılı analizi ve bunların mutasyon profilleriyle ilişkisi ile diğer atipik HBV enfeksiyon paternlerinde (örneğin izole anti-HBc pozitifliği veya eş zamanlı HBeAg ve anti-HBe pozitifliği gibi) yapılacak değerlendirmeler, yalnızca testlerin tanısal performansını değil, aynı zamanda klinik faydasını da daha net bir şekilde ortaya koyacaktır. Ayrıca, yüksek duyarlılığa sahip HBsAg testlerinin HBV DNA temelli yöntemlerle birlikte kullanılacağı kombinasyon algoritmalarında değerlendirilmesi, transfüzyon güvenliği, HBV bulaşının önlenmesi ve immünsüpresyon altında reaktivasyon riskinin öngörülmesi açısından kritik öneme sahip olacaktır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 08.01.2025 ve Karar no: 2025/07).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Hsu YC, Huang DQ, Nguyen MH. Global burden of hepatitis B virus: Current status, missed opportunities and a call for action. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2023; 20(8): 524-37. https://doi.org/10.1038/s41575-023-00760-9
2. Kumar M, Pahuja S, Khare P, Kumar A. Current challenges and future perspectives of diagnosis of hepatitis B virus. Diagnostics (Basel) 2023; 13(3): 368. https://doi.org/10.3390/diagnostics13030368
3. Amini A, Varsaneux O, Kelly H, Tang W, Chen W, Boeras DI, et al. Diagnostic accuracy of tests to detect hepatitis B surface antigen: A systematic review of the literature and meta-analysis. BMC Infect Dis 2017; 17(Suppl 1): 698. https://doi.org/10.1186/s12879-017-2772-3
4. Abu N, Mohd Bakhori N, Shueb RH. Lateral flow assay for hepatitis B detection: A review of current and new assays. Micromachines (Basel) 2023; 14(6): 1239. https://doi.org/10.3390/mi14061239
5. Martyn E, Eisen S, Longley N, Harris P, Surey J, Norman J, et al. The forgotten people: Hepatitis B virus (HBV) infection as a priority for the inclusion health agenda. Elife 2023; 12: e81070. https://doi.org/10.7554/eLife.81070
6. Strom BL, Buckley GJ, editors. Eliminating the Public Health Problem of Hepatitis B and C in the United States: Phase One Report. Washington (DC): National Academies Press; 2016. https://doi.org/10.17226/23407
7. Im YR, Jagdish R, Leith D, Kim JU, Yoshida K, Majid A, et al. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in adults: A systematic review and meta-analysis. Lancet Gastroenterol Hepatol 2022; 7(10): 932-42. https://doi.org/10.1016/S2468-1253(22)00201-1
8. Alshrari AS, Hudu SA, Shinkafi SAH, Tahir A, Raji HY, Jimoh AO. Prevalence and transfusion risks of occult hepatitis B infection among HBcAb-positive blood donors in a high-endemic region. Diagnostics (Basel) 2025; 15(4): 486. https://doi.org/10.3390/diagnostics15040486
9. Wong DKH, Chen C, Mak LY, Fung J, Seto WK, Yuen MF. Detection of the hepatitis B surface antigen in patients with occult hepatitis B by use of an assay with enhanced sensitivity. J Clin Microbiol 2022; 60(2): e02204-21. https://doi.org/10.1128/jcm.02204-21
10. Gupta E, Bhugra A, Samal J, Khodare A, Singh K, Rastogi A, et al. Performance evaluation of an improved HBsAg assay (HBsAg NEXT) for detection of HBsAg levels. J Lab Physicians 2023; 15(4): 533-8. https://doi.org/10.1055/s-0043-1768633
11. Kuhns M, Holzmayer V, McNamara AL, Rodgers M, Olivo A, Harris B, et al. Molecular and serological characterization of hepatitis B early acute and occult specimens incrementally detected by a new increased sensitivity HBsAg assay. Hepatology 2019; 70(Suppl 1): 415A.
12. Son BS, Yoo J. Resolving uncertainty in hepatitis B diagnosis: Evaluating neutralization testing for borderline HBsAg. Ann Clin Lab Sci 2025; 55(3): 404-8.
13. Kwak MS, Kim YJ. Occult hepatitis B virus infection. World Journal of Hepatology 2014; 6(12):860. https://doi.org/10.4254/wjh.v6.i12.860
14. Abbott Laboratories. ARCHITECT HBsAg Qualitative II Reagent Kit Package Insert G34444R06. 2019.
15. Abbott Laboratories. Alinity i HBsAg NEXT Qualitative Reagent Kit Package Insert G94551R03. 2020.
16. Candotti D, Allain JP. Diagnostic accuracy of tests to detect hepatitis B surface antigen variants and occult hepatitis B virus infection: A systematic review. J Viral Hepat 2017; 24(12): 1150-63.
17. Zhang Z, Zhang E, He J, Sun L, Cao T, Lu J, et al. Current challenges and future perspectives of diagnosis of hepatitis B virus infection. World J Gastroenterol 2016; 22(37): 8629-39.

18. Candotti D, Assennato SM, Laperche S, Allain JP, Levicnik-Stezinar S. Multiple HBV transfusion transmissions from undetected occult infections: Revising the minimal infectious dose. Gut 2019; 68(2): 313-21.
19. Freiman JM, Tran TM, Schumacher SG, White LF, Ongarello S, Cohn J, et al. Evaluating diagnostic performance of hepatitis B surface antigen rapid tests. J Viral Hepat 2017; 24(8): 629-36.
20. Wong DK, Seto WK, Cheung KS, Chong CK, Huang FY, Fung J, et al. Detection of hepatitis B surface antigen in patients with occult hepatitis B virus infection by use of an assay with a lower detection limit. Clin Gastroenterol Hepatol 2022; 20(8): e1656-66.
21. Candotti D, Laperche S. Prevalence and transmission risks of occult hepatitis B virus infection among blood donors in high-endemic areas. Transfusion 2017; 57(7): 2003-14.
22. Shi Y, Wu YH, Wu W, Zhang WJ, Yang J, Chen Z. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in adults: A systematic review and meta-analysis. J Viral Hepat 2012; 19(6): 401-7.
23. Kuhns MC, Holzmayer V, McNamara AL, Sickinger E, Schultess J, Cloherty GA. Improved detection of early acute, late acute, and occult hepatitis B infections by an increased sensitivity HBsAg assay. J Clin Virol 2019; 118: 41-5. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2019.08.001
24. Raimondo G, Locarnini S, Pollicino T, Levrero M, Zoulim F, Lok AS, Yuen MF. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. Journal of Hepatology 2019; 71(2): 397-408.
25. Kuhns MC, et al. Occult hepatitis B virus infection: clinical implications and treatment. J Clin Virol 2020; 118: 10-7.
26. Cai Y, Yan J, Zhu L, Wang H, Lu Y. A rapid immunochromatographic method based on a secondary antibody-labelled magnetic nanoprobe for the detection of hepatitis B preS2 surface antigen. Biosensors 2020; 10(11): 161.
27. Aggeletopoulou I, Konstantakis C, Manolakopoulos S, Triantos C. Risk of hepatitis B reactivation in patients treated with direct-acting antivirals for hepatitis C. World J Gastroenterol 2017; 23(24): 4317-23. https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i24.4317
28. Mücke MM, Backus LI, Muecke VT, Coppola N, Preda CM, Yeh ML, Vermehren J. Hepatitis B virus reactivation during direct-acting antiviral therapy for hepatitis C: A systematic review and meta-analysis. The Lancet Gastroenterology & Hepatology 2018; 3(3): 172-80.
29. Im YR, Jagdish R, Leith D, Kim JU, Yoshida K, Majid A, Lemoine M. (2022). Prevalence of occult hepatitis B virus infection in adults: A systematic review and meta-analysis. The Lancet Gastroenterology & Hepatology 2022; 7(10): 932-42.
30. Kuhns MC, Holzmayer V, McNamara A, Dwyre DM, Kaidarova Z, Linnen JM, et al. Increased sensitivity of a new hepatitis B surface antigen assay for detecting occult HBV infection and window period donations. Viruses 2021; 13(10): 2053. https://doi.org/10.3390/v13102053

Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.
Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.
©Telif Hakkı 2026 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.