



## Tanısal Mikrobiyolojide Altın Standart Testin Yokluğunda Gizli Sınıf Analizinin Kullanımı Usage of Latent Class Analysis in Diagnostic Microbiology in the Absence of Gold Standard Test

Gül Bayram Abiha<sup>1</sup>, E. Arzu Kanık<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksekokulu, Mersin, Turkey

<sup>2</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, Mersin, Turkey

### ABSTRACT

The evaluation of performance of various tests diagnostic tests in the absence of gold standard is an important problem. Latent class analysis (LCA) is a statistical analysis method known for many years, especially in the absence of a gold standard for evaluation of diagnostic tests so that LCA has found its wide application area. During the last decade, LCA method has widely used in for determining sensitivity and specificity of different microbiological tests. It has investigated in the diagnosis of mycobacterium tuberculosis, mycobacterium bovis, human papilloma virus, bordetella pertussis, influenza viruses, hepatitis E virus (HEV), hepatitis C virus (HCV) and other various viral infections. Researchers have compared several diagnostic tests for the diagnosis of different pathogens with LCA. We aimed to evaluate performance of latent class analysis method used microbiological diagnosis in various diseases in several researches. When we took into account all of these tests' results, we suppose that LCA is a good statistical analysis method to assess different test performances in the absence of gold standard.

**Key words:** Diagnostic tests, infection, nucleic acid amplification techniques.

### ÖZ

Altın standardın olmadığı çeşitli tanı testlerinin performansının belirlenmesi enfeksiyon hastalıklarının tanısında önemli bir problemdir. Gizli sınıf analizi (GSA), özellikle altın standardın olmadığı tanı testlerinin değerlendirilmesinde, uzun yıllardır bilinen bir istatistiksel analiz yöntemidir. Bu yüzden GSA kendisine geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Son on yılda GSA yöntemi çeşitli mikrobiyolojik testlerin duyarlılığının ve özgüllüğünün belirlenmesi için büyük ölçüde kullanılmıştır. Bu test,



*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, human papilloma virüs, Bordetella pertussis, influenza virüsleri, hepatitis E virüs (HEV), hepatit C virüs (HCV) ve diğer viral enfeksiyonların tanısında araştırılmıştır. Araştırmacılar çeşitli tanı testlerinin performansını GSA ile farklı patojenlerin tanısında karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada birçok hastalığın mikrobiyolojik tanısında GSA yönteminin performansının değerlendirildiği çeşitli araştırmaların derlenmesi amaçlanmıştır. Tüm testlerin sonuçlarını göz önüne aldığımızda, GSA yönteminin, altın standardın olmadığı farklı testlerin performansının değerlendirilmesinde iyi bir istatistiksel analiz yöntemi olduğunu düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Tanısal testler, enfeksiyon, nükleik asit amplifikasyon.

## Giriş

Dünya genelinde hastalıkların prevalansının doğru bir şekilde saptanması halk sağlığının korunmasında önemli bir noktadır. İnsan sağlığını tehdit eden bazı patojenlerin saptanmasında kullanılabilecek bir referans testin olmaması, bu patojenlerin tanısında güçlükler yaşanmasına neden olmaktadır. Günümüzde birçok tanı testinin varlığı, bu hastalıkların tanısında ortaya çıkan belirsizliği yok etmemekle birlikte, çalışılan popülasyonun kendine özgü biyolojik özellikleri de tanı testlerinin performansını etkileyen önemli bir nokta olarak karşımıza çıkmaktadır. Bir derlemede, çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan 69 prevalans çalışmasının hiçbirinin prevalansın doğru bir şekilde belirlenmesi için gerekli bulguları sağlamadığı bildirilmiştir<sup>1</sup>.

Bir hastalığın statüsünün belirlenmesinde, kullanılan testin analitik ve tanı doğruluğunun birbirinden ayrılması çok önemlidir. Analitik doğruluk, bilinen bir hastalığa sahip örneklerle uygulanan testin tekrarlanılabilirliği ve sağlamlığı ile ilgilidir<sup>2</sup>. Bunun aksine, tanı doğruluğu, popülasyondan rastgele seçilen bireye uygulanan testin gerçek hastalığı ve hasta olmayı doğru bir şekilde tanımlayabilme yeteneğidir. Bu popülasyon biyolojik, coğrafik yada diğer ortak özelliklerine göre tanımlanabilir. Yüksek analitik doğruluk, yüksek tanı doğruluğunu göstermez. Literatürde, çeşitli tanı testlerinin eksikliği ve hatalı sonuçlarını belirten çeşitli istatistiksel modeller uzun yıllardır varlığını korumaktadır<sup>3</sup>. Bu modellerden biri de uzun yıllardır bilinen gizli sınıf analizidir<sup>4</sup>. Gizli sınıf analizi özellikle altın standardın olmadığı tanı testlerinin değerlendirilmesinde kendine geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Bu yöntemin performansı, dış çürüğünün tiplendirilmesinde, meme kanseri ve kolorektal kanser tarama testlerinde araştırılmıştır<sup>5</sup>. Birçok araştırmacı gizli sınıf analizini, özellikle kültürü yapılamayan ya da zor olan virüs, bakteri ve parazitlerin tanısında kullanılan testlerde de çalışmışlardır<sup>6,7</sup>.

Gizli sınıf analizi gerçek hastalık durumunda, ortak bir gizli değişken tarafından etkilenen aynı hastalık için farklı testlerde hatalı sonuçların gözlenmesi durumunda kullanılan bir testtir<sup>8</sup>. Bu testlerin sayısındaki artışla birlikte latent hastalık durumu ile ilgili olarak da bilgiler artmaktadır.

Bu derlemede, dünya genelinde enfeksiyonlara yol açan mikroorganizmaların tanısında kullanılan çeşitli tanı yöntemlerinin performansının GSA ile değerlendirildiği çalışmalara yer verilmiş olup bu çalışmalar insanlarda ve hayvanlarda yapılan araştırmalar olarak gruplandırılmıştır. Derlemede, GSA'nın altın standardın olmadığı durumlarda testleri değerlendirmede uygun bir istatistiksel analiz yöntemi olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Yöntem

Bu çalışmada, GSA'nın altın standardın olmadığı durumlarda tanı testlerini değerlendirmede uygun bir istatistiksel analiz yöntemi olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamız meta analiz benzeri bir çalışma olup; literatürde yer alan insan ve çeşitli hayvan türlerinde farklı enfeksiyonların tanısında kullanılan birçok testin performansının GSA ile analiz edildiği araştırmalar değerlendirilmiştir. Konuyla ilgili olarak 230 ulusal ve uluslararası yayın taranmış olup, çalışmaya dahil edilme kriterlerine bağlı olarak 36 adet yayın incelenmiştir (Tablo 1 ve 2). Literatürden elde edilen verilere göre çalışmalarda kültür, serolojik testler ve moleküler biyolojik yöntemler kullanılmıştır. Tüm bu yöntemlerin performansı gizli sınıf analizi ile değerlendirilmiştir. Çalışmalar randomize olarak yapılmıştır ve örneklem büyüklüğü  $n > 1000$ 'dir.

Değerlendirilen çalışmalarda istatistik programları olarak; gizli sınıf analizi Statistical Software Mplus version 6.11, Latent GOLD program, Hui–Walter model, Epi-Info 2000 (version 1.1; CDC), Latent 1 (version 3) and LEMWIN (1997) software, SAS v.9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC), SPSS version 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA), package polCA[15] ve bootstrap, R v 2.11 [R Development Core Team, Vienna, Austria] using packages polCA ve randomLCA ve SA Sv9.2 [SAS Institute, Cary NC, USA], MPLUS 6.1, SPSS for Windows version 10.0.5 (SPSS, Inc., Chicago, IL), Latent Gold® version 2.0.18 (Statistical Innovations, Inc., Belmont, MA), GraphPad Prism; version 5a for Mac, JAGS software, B LCM: Bayes Latent Class Models version 1.3, Bayes DiagnosticTests Version 2.1 Software Package, PASW Statistics (formerly SPSS, Version 18), polCA package statistics software R version 2.15, WinBUGS (Stata Statistical Software: Release

12. StataCorp LP) ve R, Bayes Latent Class Models software, WinBUGS version 1.4.1. kullanılmıştır.

**Tablo 1. Gizli sınıf analizinin kullanıldığı insanlarda yapılan çalışmalar**

No	Yaş	Cinsiyet	Etken	Yöntem	Duyarlılık	Özgüllük	Ülke	Yıl	Yazar
1	-	-	<i>Cylamydia trachomatis</i>	Nükleik asit tabanlı teknikler	%88.1-89.6	Kültür negatifken %97.6 Kültür pozitifken %95.3	Kanada	2005	Hadgu
2	15 ve yukarı	Kadın n=603	<i>Cylamydia trachomatis</i>	BD probe tec Cobas TM PCR	Serviks örnekleri %89 İdrar örnekleri %90.2	Serviks örnekleri %99.2 İdrar örnekleri %98.3	Norveç	2010	Haugland
3	14 yaş ve yukarı	Kadın n=4316	<i>Cylamydia trachomatis</i> (n=281) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (n=69)	CT/NG Test Aptima AC2 Viper CTQ/GCQ	<i>Cylamydia trachomatis</i> (%97.6-98) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (%96.9-100)	<i>Cylamydia trachomatis</i> ≥ %99.6 <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ≥ %99.8	ABD	2012	Pol B
4	18 yaş ve yukarı (n=393)	-	Mycobacterium tuberculosis complex (n=50)	LJ yumurta bazı besiyeri. non-selektif 7H10 non-selektif 7H11 selektif 7H10 selektif 7H11 selektif 7H11	7H105 ve 7H115 p <0.003	7H105 ve 7H115 p <0.003	ABD	2014	Heilig
5	---	-	Norovirus group (n=189)	RT-PCR EIA EM	RT-PCR %100 EIA %86 EM %17	RT-PCR %84 EIA. %92 EM %100	Kanada	2009	Fisman
6	18 yaş ve üzeri (n=146)	-	<i>Aspergillus spp.</i>	Kültür Gluktomannan RT-PCR	Kültür %37 Gluktomannan. %46 RT-PCR. %74	-	İngiltere	2013	Baxter
7	---	-	<i>Bordetella pertussis</i> (n=212)	Kültür PCR Seroloji	Kültür 0.339 Seroloji 0732 PCR 0.339	Kültür 0.990 Seroloji 0.990 LCA 0.990	ABD	2008	Baughman

8	≥ 62 yaş n=196 < 62 yaş n=176	Kadın n=238 Erkek n=176	HCV	Anti-HCV HCV-RNA HCV core protein	Anti-HCV %97 HCV-RNA %91 HCV core protein %85	Anti-HCV %96 HCV-RNA %98 HCV core protein %100	ABD	2001	Arduino
9	-	----	HCV (n=1289)	Fibrotest Fibroscan Biyopsi	<b>Fibrozisli hastalarda</b> Fibrotest 0.93 Fibroscan 0.96 Biyopsi 0.67 ALT 0.79 <b>Sirozlu hastalarda</b> Fibrotest 0.87 Fibroscan 0.93 Biyopsi 0.95 ALT 0.78	<b>Fibrozisli hastalarda</b> Fibrotest 0.70 Fibroscan 0.45 Biyopsi 0.63 ALT 0.78 <b>Sirozlu hastalarda</b> Fibrotest 0.41 Fibroscan 0.39 Biyopsi 0.51 ALT 0.08	Fransa	2012	Poynard
10	-	----	<i>Leishmania donovani</i> (n=310)	Pansitopeni FGT IFAT DAT rK39	Pansitopeni %16.3 FGT %39.9 IFAT %28.4 DAT %95.1 rK39 %87.4	Pansitopeni %96.8 FGT %95.2 IFAT %94.4 DAT %77.8 rK39 %77	Belçika	2004	Boelaert
11	-	VL şüpheli erkek hasta n= 83 VL şüpheli kadın hasta n=33  VL tedavisi alan erkek n= 41 VL tedavisi alan	<i>Leishmania donovani</i> complex	Kalazar Detect DiaMed-IT Leish DAT IFAT PCR	Kalazar Detect %90.5 DiaMed-IT Leish %89 DAT %88.8 IFAT %96 PCR %23.2	Kalazar Detect %90.7 DiaMed-IT Leish %91 DAT %97.4 IFAT %89.6 PCR %99.5	ABD	2011	Canavate

		kadın n=13 Erkek Kontroller n=32 Kadın Kontroller n=34							
12	42±	Kadın n=74 Erkek n=39	HIV Leishmania spp.	rK39 IFAT DAT-LPC qPCR	rK39 %46.2 IFAT %61.5 DAT-LPC %89.7 qPCR %84.6	rK39 %98.4 IFAT %88.5 DAT-LPC %85.3 qPCR %91.8	Brezilya	2013	Cota
13	--		Kapoi sarcoma ilişkili Herpes simplex (n=449)	IMT IFA-LANA IMT IFA-lytic IMT whole-virus ELISA MAP ELISA (K8.1 and 73) ABI ELISA (whole virus) DIAVIR (K8.1 and 65)	IMT IFA-LANA %54 IMT IFA-lytic %55 IMT whole-virus ELISA %87 MAP ELISA (K8.1 and 73) %64 ABI ELISA (whole virus) %82 DIAVIR (K8.1 and 65) %79	IMT IFA-LANA %98 IMT IFA-lytic %99 IMT whole-virus ELISA %100 MAP ELISA (K8.1 and 73) %88 ABI ELISA (whole virus) %83 DIAVIR (K8.1 and 65) %88	İngiltere	2007	Nascimento
14	20-71 yaş Ortalama yaş=42±	Kadın n=122 Beyaz, siyah ve asyalı	HPV	Hybrid Capture II high-risk HPV (HC2 H-HPV); carbonic anhydrase IX (CAIX); ve histolojik tanı	Hybrid Capture II high-risk HPV (HC2 H-HPV): 1.00. CI = 1.00–1.00 carbonic anhydrase IX (CAIX) %0.67 Histolojik tanı 1.00. CI = 0.98–1.00	Hybrid Capture II high-risk HPV (HC2 H-HPV): 0.87. CI = 0.79–0.94 carbonic anhydrase IX (CAIX): %0.93 Histolojik tanı 0.99. CI = 0.96–1.00	ABD	2012	Carter
15	-	-	<i>Leptospira interrogans</i> (n=133)	ELISA IHA LDS	ELISA %86.5 IHA %79 LDS %93.2	ELISA %97 IHA %95.8 LDS %89.6	ABD	2003	Bajani

				DST MAT	DST %92.5 MAT % 98.2	DST %98.8 MAT %97			
16	-	-	<i>Leptospira interrogans</i> (n=919)	MAT IgM-ELISA Leptocheck -WB	MAT %39.8 IgM-ELISA %45.8 Leptocheck- WB %38.7	MAT %97.6 IgM-ELISA %84.5 Leptocheck- WB %82.9	Brezilya	2015	Niloofo
17		Erkek n=715 Kadın n=463 Yenidoğa n= 214	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Cryptococcus gattii</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	BOS kültürü Lökosit sayımı Protein miktarı	BOS kültürü%29.8 Lökosit sayımı%99.6 Protein miktarı%99.5	BOS kültürü%100 Lökosit sayımı%98.7 Protein miktarı%25.3	Avusturya	2014	Manning
18		N=149	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Balgam kültürü NP kültürü İdrar antijen testi Pnömolizin PCR Otolizin PCR	Balgam kültürü %39 NP kültürü %26.8 İdrar antijen testi %62.5 Pnömolizin PCR balgam %77.8 Otolizin balgam PCR %73.4 Pnömolizin NP PCR %58.5 otolizin NP PCR %58.5	Balgam kültürü %75.8 NP kültürü %86 İdrar antijen testi %60.7 Pnömolizin balgam PCR %25 Otolizin balgam PCR %34.1 Pnömolizin NP PCR %61.5 Otolizin NP PCR %61.5	ABD	2003	Butler
19	ortalama 25 yaş	Kadın n= 334 Erkek n=174	HSV	BD ProbeTec HSV kültürü PCR	BD ProbeTec % 100 HSV kültürü %90 PCR %100	BD ProbeTec %99.4 HSV kültürü %99.2 PCR %99.9	ABD	2012	Pol
20	20-55 yaş arası	Erkek n=172 Kadın n=225	<i>Schistosoma haematobium</i>	Hematuri Mikroskopi PCR	<b>Kadınlar</b> Hematuri %86.7. Mikroskopi %70 PCR %100 <b>Erkekler</b> Hematuri	<b>Kadınlar</b> Hematuri %77 Mikroskopi %100 PCR %100 <b>Erkekler</b> Hematuri	ABD	2012	Ibironke

					%87.6 Mikroskopi %70 PCR %100	%34.7 Mikroskopi %100 PCR %100			
--	--	--	--	--	--	---	--	--	--

**Tablo 2. Gizli sınıf analizinin kullanıldığı hayvanlarda yapılan çalışmalar**

No	HAYVAN TÜRÜ	ETKEN	YÖNTEM	DUYARLILIK	ÖZGÜLLÜK	ÜLKE	YIL	YAZAR
1	Siğir (n=892)	<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	ELISA EZN	ELISA:0,832 EZN:0,437	ELISA:0,998 EZN:0,980	Hollanda	2009	Weber
2	Koyun ve keçiler (n=368)	<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	ELISA Dışkı Kültürü	<b>Keçi</b> ELISA %63 Dışkı Kültürü %8 <b>Koyun</b> ELISA %37 Dışkı Kültürü %16	<b>Keçi</b> ELISA %95 Dışkı Kültürü %98 <b>Koyun</b> ELISA %97 Dışkı Kültürü %97	Yunanistan	2006	Kostoulas
3	Siğir (n=697)	<i>Mycobacterium bovis</i>	PCR Bakteriyoloji Histopatoloji	PCR %87,7 Bakteriyoloji %78,1 Histopatoloji %93,6	PCR %97,0 Bakteriyoloji 99,1% Histopatoloji %83,3	Fransa	2014	Courcoul
4	Siğir=1260 Keçi=764 Domuz=311 Koyun=427	<i>T. brucei</i>	T. brucei s.l. specific PCR T. brucei s.l. ITS-PCR	T. brucei s.l. specific PCR=0,76 T. brucei s.l. ITS-PCR=0,640	T. brucei s.l. specific PCR=0,998 T. brucei s.l. ITS-PCR=0,997	İngiltere	2010	Broonvort
5	2 yaşından küçük siğirler (n=189)	<i>Brucella spp.</i>	Rose bengal testi, ELISA, Floresan polarizasyon	Rose bengal testi %93 ELISA %97 Floresan polarizasyon %89	Rose bengal testi %81 ELISA %54 Floresan polarizasyon %87	Zambiya	2007	Muma
6	Domuz (n=837)	<i>Salmonella</i>	ELISA A ELISA B ELISA C	ELISA A 0,88 ELISA B 0,96 ELISA C 0,40	ELISA A 0,74 ELISA B 0,43 ELISA C 0,99	İspanya	2009	Vico
7	Somon balıkları (n=166)	Enfeksiyöz somon anemisi virüsü	Histopatoloji RT-PCR Virüs izolasyonu	Histopatoloji %66 RT-PCR %90 Virüs izolasyonu %26	Histopatoloji %96 RT-PCR %97 Virüs izolasyonu %98	Norveç	2010	Abayneh



8	Somon balıkları (n=400)	Enfeksiyöz somon anemisi virüsü	IFAT RT-PCR Virüs izolasyonu	IFAT %65-76 RT-PCR %92-100 Virüs izolasyonu %92-100	IFAT %96-100 RT-PCR %96-100 Virüs izolasyonu %96-100	Canada	2005	Nerette
9	Köpekler (n=978)	Ekinokok paraziti	Ab ELISA CpAg ELISA	Ab ELISA 0,822 CpAg ELISA 0,87	Ab ELISA 0,951 CpAg ELISA 0,922	İspanya	2006	Benito
10	Sığır(n=22) At (n=17) Koyunlar (n=10)	<i>Cryptosporidium spp.</i>	DFAT Kinyoun's ELISA PCR	<b>Sığır</b> DFAT %93 Kinyoun's %78 ELISA %82 PCR %84 <b>Koyun</b> DFAT %80 Kinyoun's %84 ELISA %24 PCR %10 <b>At</b> DFAT %31 Kinyoun's %18 ELISA 0 PCR %56	<b>Sığır</b> DFAT %58 Kinyoun's %76 ELISA %22 PCR %78 <b>Koyun</b> DFAT %90 Kinyoun's %54 ELISA %85 PCR %90 <b>At</b> DFAT %100 Kinyoun's %66 ELISA 0 PCR %100	İrlanda	2015	Mirhas hemi
11	Tek hörgüçlü develer (n=399)	<i>Trypanosoma spp.</i>	CATT PCR RoTat 1.2 PCR 18S PCR ITS-1 Giemsa	CATT %42,5 PCR RoTat 1.2 %52,9 PCR 18S %47,7 PCR ITS-1 %39,1 Giemsa %10,8	CATT %80,4 PCR RoTat 1.2 %85,9 PCR 18S %99,2 PCR ITS-1 %99,4 Giemsa %100	Etopya	2015	Fikru
12	Domuzlar (n=505)	HEV	ORF2-SwG3 ELISA EIAgen HEV	ORF2-SwG3 ELISA 0,47 EIAgen HEV 0,92	ORF2-SwG3 ELISA 0,98 EIAgen HEV 0,98	Fransa	2010	Rose
13	Domuzlar (n=779)	HEV	Indirect ELISA 1 Indirect ELISA 2 Blocking ELISA	Indirect ELISA 1 %89 Indirect ELISA 2 %94 Blocking ELISA %95	Indirect ELISA 1 %99 Indirect ELISA 2 %96 Blocking ELISA %90	İtalya	2014	Pezzoni

14	Domuzlar (n=111)	HEV	ELISA-ORF-2 ELISA-kit Western Blotting	ELISA-ORF-2 0,961 ELISA-kit 0,936 Western Blotting 0,775	ELISA-ORF-2 0,599 ELISA-kit 0,475 Western Blotting 0,944	İtalya	2015	Ponteri o
15	Köpekler (n=124)	Influenza A virüs H3N8	Virüs İzolasyonu RT-PCR Directigen Flu A+B™	Virüs İzolasyonu %72 RT-PCR %65 Directigen Flu A+B™ %95	Çalışmada sadece hastaları ayırtma gücü değerlendirilmiştir.	ABD	2015	Pecoraro
16	Koyunlar (n=450)	Maedi-Visna virüs (MVV)	AGID pELISA hELISA	AGID %50,2 pELISA %98,0 hELISA %96,9	AGID %99,4 pELISA %97,4 hELISA %94,7	Danimarka	2007	Toft

### Gizli Sınıf Analizinin Kullanıldığı İnsanlarda Yapılan Çalışmalar

Toplum sağlığı açısından önemli bazı patojenlerin tanısı rutin kültür yöntemleriyle mümkün olamayabilir. Özellikle son on yılda moleküler biyoloji ve genetikteki ilerlemeler sonucu geliştirilen nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) ile kültürde izolasyonu zor olan patojenlerin tanısı mümkün hale gelmiştir. DNA/RNA amplifikasyon testleri arasında Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), Real-time PZR (RT-PZR), ligaz zincir reaksiyonu (LZR), Transcription mediated amplification (TMA) sayılabilir<sup>9</sup>. Ancak bu yöntemlerin sonuçları her zaman bilimsel olarak kesin ve doğru olmayabilir. Bu nedenle bu tanı testlerinin performansının değerlendirilmesi önemli bir nokta olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu düşünceden yola çıkarak, Hadgu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, *Cylamydia trachomatis*'in tanısında nükleik asit amplifikasyon testlerindeki uyumsuzlukları GSA ile değerlendirmişlerdir<sup>10</sup>. Çalışma sonucunda gizli sınıflama modeli yaklaşımında, kültür duyarlılığına negatif açıdan bakıldığında, NAAT özgüllüğü %97.6, pozitif açıdan bakıldığında özgüllük %95.3'tür. Haughland ve arkadaşları yine *Cylamydia trachomatis* tanısında kullanılabilecek üç yöntemi (BD probe tec, Cobas TM, PZR) 603 kadın hastanın idrar ve servikal swab örneklerinin analizinde kullanmışlardır<sup>11</sup>. İdrar örneklerinin duyarlılığı %90,2, özgüllüğü %98,3, serviks örneklerinin duyarlılığı %89, özgüllüğü 99,2 olarak saptanmış olup çalışma sonucunda bu etkenin saptanmasında idrar yolu örneklerinin kullanılabileceği belirlenmiştir. Pol ve arkadaşları *Cylamydia trachomatis* ve *Neisseria gonorrhoeae* tanısında nükleik asit

tabanlı tam otomatize üç tanı testinin karşılaştırmasında GSA kullanmışlardır<sup>12</sup>. CT/NG Test, Aptima AC2 ve Viper CTQ/GCQ tanı testlerinin kullanıldığı çalışmada 14 yaş ve üstü 4316 kadının 281'inde *Cylamydia trachomatis*, 69'unda *Neisseria gonorrhoeae* saptanmıştır. Yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü birbirine yakın olarak belirlenmiştir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında virüslerin kültürü için özel donanım ve konusunda uzman personel gerekmektedir. Son yıllarda virüslerin izolasyonu ve tanısına yönelik yapılan araştırmalarda nükleik asit tabanlı testler ön plana çıkmaktadır. İnsanlarda özellikle cinsel yolla bulaşan hastalıklar içerisinde yer alan ve kadınlarda servikal kansere yol açan human papilloma virüsü (HPV) belirlemeye yönelik olarak, Carter ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, altın standart tanı testlerinin olmadığı durumlarda, AGC-NOS pap smear tanılı Amerikalı kadınlarda, HPV'yi saptamada kullanılan sitoloji ve histoloji temelli testlerin yaşa özgü, yanlış pozitiflik, yanlış negatiflik oranlarını araştırmışlardır<sup>7</sup>. HPV tanısında kullanılan, HC2 H-HPV, karbonik anhidraz IX ve invaziv histolojik tanı testlerini GSA yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Histoloji temelli testin sonuçları GSA ile mükemmel olarak belirlenmiştir Çalışmada, HC2 H-HPV testinde yanlış pozitif sonuçların oranı histolojik testle karşılaştırıldığında her yaş grubunda yüksek olup HC2 H-HPV testinde yanlış negatiflik oranı histolojik testle karşılaştırıldığında her yaş grubunda düşük olarak bulunmuştur. CA IX testiyle birlikte HC2 H-HPV'nin uygulanmasının performansı etkilemediği belirlenmiştir. Ayrıca HC2 H-HPV sonucu negatif olan kadınların güvenli bir şekilde invazif tedaviden vazgeçebileceği ve düzenli aralıklarla kontrollere gelmeleri gerektiği vurgulanmıştır.

Tüberküloz dünya genelinde çok önemli bir halk sağlığı problemidir. Dünya sağlık örgütü verilerine göre her yıl yaklaşık 3 milyon kişinin ölümüne yol açması, takibi zor olması gibi nedenlerle tüberkülozun erken tanı ve tedavisinde moleküler yöntemler gündeme gelmiştir<sup>13</sup>. Tüberküloz tanısında altın standart kültürdür. Ancak tüberküloz basilinin kültüründe, tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için yaklaşık 45-65 gün arasında süreye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle son yıllarda tanıda hızlı sonucu sağlayan çok sayıda nükleik asit tabanlı teknik geliştirilmiştir<sup>14,15</sup>. Fakat tanıda bu testlerin mutlaka kültür teknikleri ile birlikte değerlendirilmeleri gerekmektedir. Gizli sınıf analizi tüberküloz tanısında kullanılan testlerin performansının değerlendirilmesinde birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. Heilig ve arkadaşları günümüzde tüberküloz tanısında kullanılan beş tane katı besiyerinin performansını gizli sınıf analizi ile değerlendirmişlerdir<sup>16</sup>. Bu beş katı besiyeri Löwenstein Jensen (LJ) yumurta bazlı besiyeri, non-selektif 7H10 ve 7H11 ve selektif 7H10 ve

7H11'dir. Çalışmada, Pulmoner tüberküloz tanısı yeni konmuş, aside dirençli basil oranı Ehrlich-Ziehl – Neelsen'de (EZN) yüksek olan 50 HIV negatif Ugandalı hastadan 393 örnek analiz edilmiştir. On iki haftalık tedavi boyunca her 2-4 haftada bir örnekler toplanmıştır. İki kompozit referansa göre kültürler değerlendirilmiştir. Kültürlerden herhangi biri pozitifken diğeri pozitif olarak varsayılmış, diğeri gizli sınıf analizine göre değerlendirilmiştir. Her iki referans standart, tüberküloz basiline varlığının saptanması için en güvenilir besiyeri olarak iki selektif Middlebrook besiyeri olan 7H10S ve 7H11S'yi göstermiştir. Bu iki besiyerinin kontaminasyon oranı düşük olup LJ ile birlikte bu iki besiyerinden birinin tüberküloz tedavisinin izlenmesinde kullanılabileceği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Kuzey Amerika ve Avrupa'da ortaya çıkan gastroenterit salgınlarında Caliviruslar içerisinde yer alan norovirüs grubu (NVG) etken olarak ortaya çıkmaktadır. NVG'nun kültürü yapılamamakla birlikte tanıda referans bir yöntemin olmayışı test karakteristiklerinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Ontario'da 2006-2007 yılları arasında 440 akut gastroenterit salgını araştırılmış olup 189 örnek bu salgınlardan toplanmıştır<sup>17</sup>. RT-PCR, EIA ve EM testleri NVG tanısında kullanılmıştır. Test duyarlılık ve özgüllüğü gizli sınıf analizi ve kompozit referans standart teknikler kullanılarak belirlenmiştir. Testlerin pratik uygulamaları binomiyal olasılık modelleri ile belirlenmiştir. GSA sonucunda elde edilen bulgulara göre EM testinin duyarlılığı NVG salgınlarında eksiktir, belirli sayıda örnek üzerinde NVG salgınlarını saptamada RT-PCR ve EIA'nın duyarlılığı yüksektir ve yanlış pozitif test sonuçlarını ortaya çıktığı durumlarda, RT-PCR ve EIA ile test edilecek örnek sayısının sınırlanması mantıklıdır.

Baxter ve arkadaşlarının kistik fibrozisli hastalarda aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olan *Aspergillus* türlerini sınıflandırdıkları çalışmada, kültür, antijen testi ve RT-PZR'nun duyarlılığını GSA ile karşılaştırmışlardır<sup>18</sup>. Bu üç yöntem içerisinde duyarlılığı en yüksek olan yöntem RT-PZR olarak saptanmıştır.

Baughman ve arkadaşları boğmaca etkeninin (*Bordetella pertusis*) izolasyonunda kullanılan kültür, seroloji ve PZR yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmada, duyarlılığı en yüksek olan yöntem seroloji olarak belirlenirken, her üç yöntemin özgüllüğü aynı bulunmuştur<sup>19</sup>. Arduino ve arkadaşları, Amerika Birleşik Devletleri de 2001 yılında 238 HCV'li kadın ve 176 erkekte yaptıkları çalışmada, GSA ile Anti-HCV, HCV-RNA ve HCV core protein yöntemlerinin performansını değerlendirmişlerdir<sup>20</sup>. GSA ile Anti-HCV tekniğinin duyarlılığı yüksek olarak

bulunurken HCV core protein yönteminin özgüllüğü diğer iki yönteme göre çok daha yüksek bulunmuştur.

Fransa'da 2012 yılında yapılan çok merkezli çalışmada, 1289 kronik hepatit C'li hastada ilerlemiş fibrozis ve siroz tanısında Fibrotest, Fibroscan, Biyopsi ve ALT teknikleri GSA ile değerlendirilmiştir<sup>21</sup>. Çalışmada altın standardın olmadığı durumlarda Fibrotest ve Fibroscan yöntemlerinin kullanılabilmesi bildirilmiştir.

Nepal'de 2004 yılında, 310 viseral leishmaniyozisli hastanın tanısında pansitopeni, FGT, IFAT, DAT ve rK39 yöntemleri karşılaştırıldığında tanıda DAT ve rK39 testlerinin kullanılabilmesi bildirilmiştir<sup>22</sup>. Canavate ve arkadaşları, 2011 yılında Etiyopya'da viseral leishmaniyozisli 35 hastada tanıda kullanılan beş yöntemin duyarlılığını ve özgüllüğünü GSA ile karşılaştırdıkları çalışmada Kalazar Detect ve DiaMed-IT Leish yöntemlerinin özgüllüğü yüksek bulunmuştur ve DAT yöntemiyle birlikte kullanılacakları çalışmada saptanmıştır<sup>23</sup>. Cota ve arkadaşları 2013 yılında yine viseral leishmaniyozis görülen HIV'li 113 hastada yaptıkları çalışmada, GSA ile rK39, IFAT, DAT-LPC ve qPCR yöntemlerinin özgüllük ve duyarlılıklarını analiz etmişlerdir<sup>24</sup>. Çalışma sonucunda, rK39, DAT-LPC ve qPCR yöntemleri arasında istatistiksel açıdan çok fazla bir fark olmadığı ve DAT-LPC ile sonuç alınamayan vakalarda qPCR'in iyi bir alternatif olabileceği vurgulanmıştır. Kaposi Sarkomu bağlantılı Herpes virüs (KSHV) enfeksiyonlu 449 kişide yapılan çalışmada virüsün saptanmasında kullanılan altı yöntemin performansının GSA ile değerlendirildiği çalışmada, en iyi performans IMT whole-virus ELISA yönteminde belirlenmiştir<sup>25</sup>.

Su kaynaklı bir enfeksiyon olan leptospiroz tanısında DST ve ELISA'nın tanıda kullanılabilmesi bildirilmiştir<sup>26</sup>. Yine benzer bir çalışmada 919 leptospirozlu hasta üç yöntemle test edilmiştir<sup>27</sup>. Bu testler içerisinde IgM-ELISA ve Leptocheck-WB benzer oranda duyarlılık ve özgüllük göstermişlerdir. Leptospirözün erken tanısında IgM-ELISA'nın kullanılabilmesi, laboratuvar donanımının yetersiz olduğu yerlerde uygulanması pratik ve kolay olan Leptocheck-WB testinin kullanılabilmesi çalışmada belirtilmiştir.

Bakteriyel menenjitin tanısı uygulanacak tedavi protokolünün seçimi için çok önemlidir. Özellikle çocuklarda ve yeni doğanlarda ölümcül olabilen bu hastalığın tanısında Manning ve arkadaşları, BOS kültürü, lökosit sayımı ve protein miktarının tanıdaki performansını GSA ile karşılaştırmışlardır<sup>28</sup>. Araştırmada, lökosit sayımının akut bakteriyel menenjit tanısını koymada daha etkili bir yöntem olduğu saptanmıştır.

Toplum kaynaklı pnömoninin (TKP) tanısı hasta ya da laboratuvar kaynaklı bazı yetersizlikler yüzünden zordur. Bu nedenle tanıda kullanılacak yöntemlerin GSA ile değerlendirilmesi çok önemlidir. Butler ve arkadaşları 149 TKP'li hastanın örneklerinde kullandıkları yöntemlerin duyarlılığını ve özgüllüğünü GSA ile karşılaştırmışlardır<sup>29</sup>. GSA'nın bu tanı testlerinin değerlendirilmesinde ve TKP salgınlarının belirlenmesinde kullanışlı olduğu çalışmada bildirilmiştir. Yine genital enfeksiyonlarda Herpes simpleks virüsünün saptanmasında kullanılacak yöntemleri GSA ile değerlendiren bir başka çalışmada 508 hastaki anogenital lezyonlar, BD ProbeTec, HSV kültürü ve PZR ile analiz edilmiştir<sup>30</sup>. BD ProbeTec tekniğinin diğer yöntemlere göre çok daha hızlı sonuç verdiği için alternatif olarak kullanılabileceği saptanmıştır.

Afrika ve Batı Asya'da endemik olan ürogenital şistozamiyaz etkeni *Schistosoma haematobium*'un saptanmasında çeşitli tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Özellikle yetişkin hastalarda zaman zaman tanıda parazit yumurtalarının saptanamaması klinik tanıyı zorlaştırarak mesane kanserlerine neden olmaktadır. Ibironke ve arkadaşları tarafından 397 hastada parazitin varlığı Hematuri, mikroskopi ve PZR ile araştırılmıştır<sup>31</sup>. Yapılan çalışmada, özellikle PZR ile idrarda parazit DNA'sının saptanmasının parazit yumurtalarının saptamadığı vakalarda kesin tanı konmasını sağlayabileceği bildirilmiştir. Benzer bir çalışma, Şistozomiyazın başka bir etkeni olan *Schistosoma mansoni* tanısında kullanılabilir dört yöntem Kenyadaki 1801 ilkokul çağındaki çocukta test edilmiştir<sup>32</sup>. Çalışma sonucunda CCA testlerinin duyarlılığı yüksek bulunmuş olup bu testlerin Kato-katza alternatif olabileceği bildirilmiştir.

### **Gizli Sınıf Analizinin Kullanıldığı Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar**

Tüberküloz sadece insanlarda değil hayvanlarda önemli bir enfeksiyon olup bazı mikobakteri türleri çeşitli hayvansal gıdalarla insanları da enfekte edebilmektedir. Bu nedenle çeşitli tanı testlerinin performansı, hastalığın yayılımı, kontrolü ve tedavisinde çok önemlidir. Kostoulas ve arkadaşları 368 koyun ve keçide *Mycobacterium paratuberculosis* kaynaklı paratüberkülozun tanısı için ELISA ve dışkı kültürünü tanıda kullanmışlardır<sup>33</sup>. Çalışmada keçilerde ve koyunlarda ELISA'nın duyarlılığı ve özgüllüğü GSA ile yüksek bulunmuştur. Weber ve arkadaşları, klinik olarak şüpheli sığırların fekal sürüntülerinde aside dirençli mikobakterilerin saptanmasında EZN ve ELISA yönteminin tanı özelliklerinin belirlenmesi amacı ile Nisan 2003- Nisan 2006 tarihleri arasında örnekler toplamış ve çalışma sonuçlarının

değerlendirilmesinde istatistiksel analiz yöntemi olarak Bayesian latent klass kullanmışlardır<sup>34</sup>. Bu çalışmada Kostoulas ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmayla uyumlu olarak, paratüberküloz tanısında EZN yerine ELISA'nın da kullanılabilceği bildirilmiştir. EZN'nin ELISA'ya katkı olarak da kullanılabilceği vurgulanmıştır. Courcoul ve arkadaşları, sığır tüberkülozunun tanısında kültür, histopatoloji ve nükleik asit tabanlı amplifikasyon testlerinin duyarlılığını ve özgüllüğünü, 5211 hayvanda gizli sınıf analizini kullanarak karşılaştırmışlardır<sup>35</sup>. Çalışma grubu mezbahadaki kesimlerde alınan örneklerden sığır tüberkülozu olduğu şüpheli ya da sığır tüberkülozu olduğu doğrulanmış hayvanlardan oluşmaktadır. Bu hayvanlardan alınan 697 örnek histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Bakteriyoloji ve PZR bağımlı, histopatolojiden bağımsız Bayesian modelleri geliştirilmiştir. Çalışmada, PZR'nin duyarlılığı bakteriyolojiden yüksek bulunurken her iki testin özgüllüğü çok yüksek olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar şüpheli sığırlardan alınan örneklerde sığır tüberkülozu doğrulanmasında bakteriyoloji yerine PZR'nin de kullanılabilceğini göstermektedir.

*T. brucei*'nin rezervuar ve vektörlerdeki epidemiyolojik araştırmasında PZR önemli bir tanı aracıdır. Broonswort ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *T. brucei*'ye özgü PZR ve trypanozoma ribozomal RNA'sındaki ITS bölgelerini hedefleyen single nested PZR yöntemleri tanı amaçlı olarak kullanılmıştır<sup>6</sup>. Çalışmanın istatistiksel analizi Hui-Walter gizli sınıf analizi yapılarak testlerin duyarlılık ve özgüllüğü değerlendirilmiştir. Kan örnekleri whatman kartlarına emdirilmiş şekilde, sığır, domuz, koyun ve keçilerden alınmıştır. Çalışma sonucunda *T. brucei*'ye özgü PZR, ITS PZR'a göre daha duyarlı bulunmuştur. ITS PZR ile diğer tripanozomalar çalışılabilceği için, bu yöntemin çoklu parazitlerin araştırıldığı çalışmalarda kullanılabilceği çalışmada vurgulanmıştır.

Günümüzde birçok laboratuvar tarafından, geç ve güç üreyen *Brucella spp.* türlerinin yol açtığı Bruselloz tanısında serolojik testler kullanılmaktadır. Muma ve arkadaşları Zambia'da rose bengal testi, kompetitive ELISA, floresan polarizasyon testini (FPA) sığırlarda karşılaştırmışlardır<sup>36</sup>. Yapılan testler ve bunların gizli sınıf analizi ile değerlendirmesi sonucunda en yüksek duyarlılık ELISA testinde saptanmıştır. En yüksek özgüllük FPA'da belirlenmiştir. Bruselloza benzer şekilde gıda kaynaklı bir diğer enfeksiyon olan Salmonelloz halk sağlığı açısından önemli bir tehdit olduğu için özellikle Avrupa'da bu etkenin saptanmasına yönelik çalışmalar artmıştır. Vico ve arkadaşları 837 domuzda ELISA A, ELISA B ve ELISA C yöntemlerini GSA ile karşılaştırmışlardır<sup>37</sup>. Yöntemlerin içerisinde duyarlılığı en yüksek yöntem ELISA B iken özgüllüğü en yüksek diğer test ise ELISA C olarak bulunmuştur.

Nerette ve arkadaşları somon balıklarında önemli bir enfeksiyon etkeni olan enfeksiyöz somon virüsünü saptamada kullanılan üç yöntem olan IFAT, RT-PZR ve virüs izolasyonunun performansını GSA ile analiz etmişlerdir<sup>38</sup>. Araştırmacılar, RT-PZR'nun duyarlılığı ve özgüllüğünün yüksek olduğunu ancak tanıda laboratuvarlar arasında standardizasyon açısından fark olabileceğini ayrıca yöntemin inaktif, ölü virüsleri de pozitif olarak saptayacağı için yanlış pozitif sonuçlara neden olabileceğini vurgulamışlardır. Bu çalışmada IFAT yöntemi, hızlı, pratik ve performans açısından iyi olduğu için önerilmiştir. Abayneh ve arkadaşları yine somon balıklarında yaptıkları benzer çalışmada tanıda histopatoloji, RT-PZR ve virüs izolasyonunu karşılaştırmışlardır<sup>39</sup>. Çalışmada özellikle RT-PZR'nun ucuz, hızlı ve performansının iyi olan bir yöntem olması nedeniyle salgın durumlarında kullanılabileceği bildirilmiştir. Çalışmada Nerette ve arkadaşlarının vardıkları sonuca benzer olarak IFAT yönteminin tanıdaki önemi bildirilmiş olup sonraki çalışmalarda bu testin kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Önemli bir zoonoz olan ekinokoklar halk sağlığı için önemli bir tehdittir. İspanya'da 978 köpek üzerinde yapılan çalışmada, AbELISA ve CpAgELISA yöntemlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü GSA ile birbirine yakın olarak tespit edilmiştir<sup>40</sup>. Bir başka zoonoz olan cryptosporidiyoz Mirhashemi ve arkadaşları tarafından 22 sığır, 17 at ve 10 koyunda DFAT, Kinyoun's boyama, ELISA ve PZR yöntemleri ile araştırılmıştır<sup>41</sup>. Sığırlarda, koyunlarda ve atlarda duyarlılığı en yüksek olan yöntem DFAT iken özgüllüğü en yüksek olan yöntem PZR olarak saptanmıştır.

Tek hörgüçlü develerde (n=399) uyku hastalığı etkeni olan *Trypanosoma spp.* enfeksiyonunu saptamada kullanılan dört yöntem (CATT, PCR RoTat 1.2, PCR 18S, PCR ITS-1, Giemsa) GSA ile karşılaştırılmıştır<sup>42</sup>. Etopya da yapılan bu çalışmada yöntemler arasından nükleik asit tabanlı tekniklerin duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olarak bulunmuştur. Ancak kullanılan yöntemler içerisinde Giemsa boyama yönteminin özgüllüğü GSA ile en yüksek olarak saptanmıştır.

İnsan ve hayvanlarda akut hepatitten sorumlu olan HEV'nün ana rezervuarı domuzlardır. Rose ve arkadaşları 505 domuzda yaptıkları çalışmada, ORF2-SwG3 ELISA ve EIAgen HEV testlerini HEV'nü saptamada kullanmışlardır<sup>43</sup>. Çalışmada kullanılan testlerin özgüllüğü aynıyken EIAgen HEV testinin duyarlılığı en yüksek olarak bulunmuştur. HEV'nü saptama yönelik İtalya'da 779 domuzda yapılan bir başka çalışmada kullanılan üç yöntemin içinde duyarlılığı en yüksek olan yöntem Blocking ELISA iken özgüllüğü en yüksek olan yöntem Indirect ELISA 1'dir<sup>44</sup>. Yine benzer bir çalışmada 111 domuzda HEV'nü belirlemede üç yöntemin duyarlılığı ve



özgüllüğü karşılaştırılmıştır. Çalışmada ELISA-ORF-2 tekniğinin duyarlılığı yüksekken özellikle western blotlamanın özgüllüğü diğer iki yönetime göre oldukça yüksek olarak tespit edilmiştir<sup>45</sup>.

Kümes hayvanlarında kuş gribi etkeni olan influenza virüslerinden H5 ve H7 hem insanlarda hem hayvanlarda ölümcül olmalarının yanı sıra ciddi düzeyde ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Altın standart test olarak kullanılan hemagglütinasyon inhibisyon (HI) testinin gerçekten altın standart olup olmadığını sorgulayan bir çalışmada, bu test ile daha önce yapılmış olan altı testin performansı GSA ile karşılaştırılmıştır<sup>46</sup>. Çalışma sonucunda HI'nun duyarlılığı %99,8 ve özgüllüğü %95,5 olarak bulunarak test performansı mükemmel olarak bildirilmiştir. Blocking ELISA testinin sonuçları HI testine yakın olarak belirlenmiş olup rutinde kullanımı pratik olduğu için salgınlarda HI'na alternatif olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir. Yine benzer bir çalışmada influenza virüsleri içerisinde olan H3N8 virüsünün izolasyonunda kullanılan çeşitli teknikler 124 barınak köpeğinde analiz edilmiştir<sup>47</sup>. Çalışmada RT-PZR'nun duyarlılığının yüksek olduğu ve serolojik testlere alternatif olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir.

Toft ve arkadaşları koyunlarda iç organlarda kronik enflamatuar hastalıklardan sorumlu olan Maedi-Visna virüs (MVV) enfeksiyonu tanısında kullanılan AGID, pELISA, hELISA testlerinin performansını değerlendirdikleri çalışmada, GSA ile pELISA testinin duyarlılığını diğer testlere göre daha yüksek bulmuşlardır. Araştırmacılar farklı doğrulama testleri ile daha çok çalışma yapılması gerektiğini vurgulamışlardır<sup>48</sup>.

## Sonuç

Gizli sınıf analizinde, hastalığın tanısına yönelik olarak kullanılan tüm tanı testleri, kesin olmayan referans test olarak kabul edilerek, bu tanı testlerinin sonuçlarına dayanılarak gözlenemeyen gerçek hastalık durumunu saptamaya çalışmaktadır. Ayrıca bu istatistiksel analiz yöntemi, kesin olmayan referans testin kullanıldığı durumlar için yeni tanı testi performansını değerlendirmek ve kesin, yansız sonuçlar elde etmek için kullanılmaktadır. Gizli sınıf analizinin diğer yöntemlere nazaran daha güvenilir sonuçlar verdiği, insan ve hayvanlar üzerinde yapılan çeşitli araştırmalarda bildirilmiştir. Tüm bu çalışmaların sonucunda, gizli sınıf analizinin, klinik mikrobiyolojide enfeksiyon hastalıklarının tanısında kullanılacak testlerin performansının değerlendirilmesinde uygun bir istatistik modeli olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, gizli sınıf modelinin altın standardın olmadığı durumlarda kullanılabilir yöntemleri

gösteren bir model olduğunu ve yakın gelecekte geliştirilecek yeni tanı testlerinin değerlendirilmesinde potansiyel bir kullanım alanına sahip olabileceğini düşünmekteyiz.

## Kaynaklar

1. Guatto R, Seegers H, Taurel AF, Joly A, Beaudeau F. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: a critical review. *Vet Microbiol.* 2011;149:1-16.
2. Rabenau HF, Kessler HH, Kortenbusch M, Steinhorst A, Raggam RB, Berger A: Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. *J Clin Virol.* 2007;40:93-8.
3. Qu YS, Tan M, Kutner MH: Random effects models in latent class analysis for evaluating accuracy of diagnostic tests. *Biometrics.* 1996; 52:797-810.
4. Pepe MS, Janes H. Insights into latent class analysis of diagnostic test performance. *Biostatistics.* 2007;8:474-84.
5. Strizich G, Gammon MD, Jacobson JS, Wall M, Abrahamson P, Bradshaw PT et al. Latent class analysis suggests four distinct classes of complementary medicine users among women with breast cancer. *BMC Complement Altern Med.* 2015;15:1-10.
6. Broonsvoort BMC, Wissmann B, Fevre EM, Handel IG, Picozzi K, Welburn SC. No gold standard estimation of the sensitivity and specificity of two molecular diagnostic protocols for *Trypanosoma brucei* spp. in Western Kenya. *Plos one.* 2010;5:1-8.
7. Carter RL, Kang L, Darcy KM, Kauderer J, Liao SY, Rodgers WH et al. A modified Latent Class Model assessment of human papillomavirus-based screening tests for cervical lesions in women with atypical glandular cells: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer Causes Control.* 2012;23:2013-21.
8. Erdoğan S, Temel GO. Altın standart testin olmadığı durumda tanı testlerinin performanslarının değerlendirilmesi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi.* 2014;16:58-62.
9. Bloomfield MG, Balm MND, Blackmore TK. Molecular testing for viral and bacterial enteric pathogens: gold standard for viruses, don't let culture go just yet? *Pathology.* 2015;47:227-33.
10. Hadgu A, Dendukuri N, Hilden J. Evaluation of nucleic acid amplification tests in the absence of a perfect gold-standard test. *Epidemiology.* 2005;16:604-12.
11. Haugland S, Thune T, Fosse B, Wentzel-Larsen T, Hjelmevoll SO, Myrmel H. Comparing urine samples and cervical swabs for Chlamydia testing in a female population by means of strand displacement assay (SDA). *BMC Women Health.* 2010;10:1-6.
12. Pol BVD, Liesenfeld O, Williams J, Taylor SN, Lillis RA, Body BA et al. Performance of the cobas CT/NG Test compared to the Aptima AC2 and Viper CTQ/GCQ assays for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol.* 2012;50:2244-49.

13. World Health Organization (WHO). [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/2015](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/2015). (accessed 16.5.2015)
14. Taylor TB, Patterson C, Hale Y, Safraneck WW. Routine use of PCR-Restriction fragment length polymorphism analysis for identification of mycobacteria growing in liquid media. *J Clin Microbiol.* 1997;35:79-85.
15. Brunello F, Ligozzi M, Cristelli E, Bonora S, Tortoli E, Fontana R. Identification of 54 mycobacterial species by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the hsp65 gene. *J Clin Microbiol.* 2001;39:2799–806.
16. Heilig C, Feng PJ, Joloba ML, Johnson JL. How we determined the most reliable solid medium for studying treatment of tuberculosis. *Tuberculosis.* 2014;94:317-22.
17. Fisman DN, Greer AL, Brouhanski G, Drews SJ. Of gastro and the gold standard: evaluation and policy implications of norovirus test performance for outbreak detection. *J Transl Med.* 2009;7:1-9.
18. Baxter CG, Dunn G, Jones AM, Webb K, Gore R, Richardson MD et al. Novel immunologic classification of aspergillosis in adult cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:560-66.
19. Baughman AL, Bisgard KM, Cortese MM, Thompson WW, Sanden GN et al. Utility of composite reference standards and latent class analysis in evaluating the clinical accuracy of diagnostic tests for Pertussis. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15:106-14.
20. Arduino JM, Stuver SO, Spiegelman D, Okayama A, Tabor E, Yu MW et al.. Assessment of Markers of Hepatitis C Virus Infection in a Japanese Adult Population. *J Infect Dis.* 2001;184:1229-35.
21. Poynard T, Ledinghen V, Zarski JP, Stanciu C, Munteanu M, Vergniol J et al. Fibrosis-TAGS group. Relative performances of FibroTest, Fibroscan, and biopsy for the assessment of the stage of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a step toward the truth in the absence of a gold standard. *J Hepatol.* 2012;56:541-48.
22. Boelaert M, Rijal S, Regmi S, Singh R, Karki B, Jacquet D et al. A comparative study of the effectiveness of diagnostic tests for visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;70:72-7.
23. Canavate C, Herrero M, Nieto J, Cruz I, Chicharro C, Aparicio P et al. Evaluation of two rK39 dipstick tests, direct agglutination test and indirect fluorescent antibody test for diagnosis of visceral leishmaniasis in a new epidemic site in highland Ethiopia. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;84:102-6.
24. Cota GF, Sausa MR, Freitas Nogueira BM, Gomes LI, Oliveira E, Assis TS et al. Comparison of parasitological, serological and molecular tests for visceral leishmaniasis in HIV-infected patients: a cross-sectional delayed-type study. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;89:570-7.
25. Nascimento MC, Souza VA, Sumita LM, Freire W, Munoz F, Kim J et al. Comparative study of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus serological assays using clinically and serologically defined reference standards and latent class analysis. *J Clin Microbiol.* 2007;45:715-20.

26. Bajani MD, Ashford DA, Bragg SL, Woods CW, Aye T, Spiegel RA et al. Evaluation of four commercially available serologic tests for diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 2003;41:803-9.
27. Niloofa R, Fernando N, Silva NL, Karunanayake L, Wickramasinghe H, Dikmadugoda N et al. Diagnosis of Leptospirosis: comparison between microscopic agglutination test, IgM-ELISA and IgM Rapid Immunochromatography Test. *Plos One.* 2015;10:1-12.
28. Manning L, Laman M, Mare T, Hwaiwhanje I, Siba P, Davis TM. Accuracy of cerebrospinal leucocyte count, protein and culture for the diagnosis of acute bacterial meningitis: a comparative study using Bayesian latent class analysis. *Trop Med Int Health.* 2014;19:1520-4.
29. Butler JC, Bosshardt SC, Phelan M, Moroney SM, Tondella ML, Farley MM et al. Classical and latent class analysis evaluation of sputum polymerase chain reaction and urine antigen testing for diagnosis of pneumococcal pneumonia in adults. *J Infect Dis.* 2003;187:1416-23.
30. Pol BVD, Liesenfeld O, Williams JA, Taylor SN, Lillis RA, Body BA et al. Performance of the cobas CT/NG test compared to the Aptima AC2 and Viper CTQ/GCQ assays for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol.* 2012;50:2244-49.
31. Ibironke O, Koukounari A, Asaolu S, Moustaki I, Shiff C. Validation of a new test for schistosoma haematobium based on detection of dra1 dna fragments in urine: evaluation through latent class analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6:1-6.
32. Foo KT, Blackstock AJ, Ochola EA, Matete DO, Mwinzi PN, Montgomery SP et al. Evaluation of point-of-contact circulating cathodic antigen assays for the detection of *Schistosoma mansoni* infection in low-, moderate-, and high-prevalence schools in western Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 2015;92:1227-32.
33. Kostoulas P, Leontides L, Enoe C, Billinis C, Florou M, Sofia M. Bayesian estimation of sensitivity and specificity of serum ELISA and faecal culture for diagnosis of paratuberculosis in Greek dairy sheep and goats. *Prev Vet Med.* 2006;76:56-73.
34. Weber MF, Verhoeff J, Schaik G, Maanen C. Evaluation of Ziehl–Neelsen stained faecal smear and ELISA as tools for surveillance of clinical paratuberculosis in cattle in the Netherlands. *Prev Vet Med.* 2009;92:256-66.
35. Courcoul A, Moyen JL, Bruge L, Faye S, Henault S, Gares H. Estimation of sensitivity and specificity of bacteriology, histopathology and PCR for the confirmatory diagnosis of bovine tuberculosis using latent class analysis. *Plos One.* 2014;9:1-8.
36. Muma JB, Toft N, Oloya J, Lund A, Nielsen K, Samui K et al. Evaluation of three serological tests for brucellosis in naturally infected cattle using latent class analysis. *Vet Microbiol.* 2007;125:187-92.
37. Vico JP, Engel B, Buist WG, Mainar-Jaime RC. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunoabsorbent assays for the detection of antibodies against *Salmonella* spp. in meat juice from finishing pigs in Spain. *Zoonoses Public Health.* 2010;57:107-14.

38. Nerette P, Dohoo I, Hammell L. Estimation of specificity and sensitivity of three diagnostic tests for infectious salmon anaemia virus in the absence of a gold standard. *J Fish Dis.* 2005;28:89-99.
39. Abayneh T, Toft N, Mikalsen AB, Brun E, Sandberg M. Evaluation of histopathology, real-time PCR and virus isolation for diagnosis of infectious salmon anemia in Norwegian salmon using latent class analysis. *J Fish Dis.* 2010;33:529-32.
40. Benito A, Carmena D, Joseph L, Martinez J, Guisantes JA. Dog echinococcosis in northern Spain: comparison of coproantigen and serum antibody assays with coprological exam. *Vet Parasitol.* 2006;142:102-11.
41. Mirhashemi ME, Zintl A, Grant T, Lucy FE, Mulcahy G, Waal T. Comparison of diagnostic techniques for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in animal samples. *Exp Parasitol.* 2015;151:14-20.
42. Fikru R, Andualem Y, Getachew T, Menten J, Hasker E, Merga B et al. Trypanosome infection in dromedary camels in Eastern Ethiopia: Prevalence, relative performance of diagnostic tools and host related risk factors. *Vet Parasitol.* 2015;211:175-81.
43. Rose N, Boutrouille A, Fablet C, Madec F, Eloit M, Pavio N. The use of Bayesian methods for evaluating the performance of a virus-like particles-based ELISA for serology of hepatitis E virus infection in swine. *J Virol Methods.* 2010;163:329-35.
44. Pezzoni G, Caminiti A, Stercoli L, Grazioli S, Galletti G, Santi A et al. Comparison of three in-house ELISAs for the detection of hepatitis E virus infection in pigs under field conditions. *J Virol Methods.* 2014;207:95-103.
45. Ponterio E, Bartolo ID, Orru G, Liciardi M, Ostanello F, Ruggeri FM. Detection of serum antibodies to hepatitis E virus in domestic pigs in Italy using a recombinant swine HEV capsid protein. *BMC Vet Res.* 2014;10:1-7.
46. Comin A, Toft N, Stegeman A, Klinkenberg D, Marangon S. Serological diagnosis of avian influenza in poultry: is the haemagglutination inhibition test really the 'gold standard'? *Influenza Other Respir Viruses.* 2013;7:257-64.
47. Pecoraro HL, Spindel ME, Bennett S, Lunn KF, Landolt GA. Evaluation of virus isolation, one-step real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay, and two rapid influenza diagnostic tests for detecting canine Influenza A virus H3N8 shedding in dogs. *J Vet Diagn Invest.* 2013;25:402-6.
48. Toft N, Kerstedt JA, Tharaldsen J, Hopp P. Evaluation of three serological tests for diagnosis of Maedi-Visna virus infection using latent class analysis. *Vet Microbiol.* 2007;120:77-86.

**Correspondence Address / Yazışma Adresi**

Gül Bayram Abiha  
Mersin University  
Vocational School of Health Services  
Mersin, Turkey  
e-mail: gulbayram78@gmail.com

**Geliş tarihi/ Received:** 25.02.2016**Kabul tarihi/Accepted:** 30.03.2016