

Rh Faktör



*RHESUS MAYMUNLARI

İÇİNDEKİLER



POSTER
D Negatif, CDE Pozitif
Donör Kanlarının Kullanımı

3

Destekleyici Testler
ve Moleküler
Yöntemler
Dr. N. Banu Kılıç



6

ÇALIŞMA
Dr. Meral Sönmezoglu

11



CİHAZLARIMIZ
Kan Saklama Cihazları

13

Kan Bankalarında Hemogloblin
Testinin Önemi ve Ölçüm Yöntemleri
Emine Eyidoğan

15

Sevgili Kan Bankacılar

Rh KAN GRUP ANTİJENLERİ VE TRANSFÜZYONDAKİ ÖNEMİ

Rh kan grup antijenleri ABO sisteminden sonra transfüzyonda en önemli kan grup sistemidir. Rh kan grup antijenleri protein yapıda antijenlerdir. Şimdiye kadar 46 dan fazla Rh kan grup antijeni tanımlanmıştır. Bu antijenler, (kendisini taşımayan kişilerde) alloantikor oluşumu için kuvvetli uyarıcılardır. Bu durum, gebelik sırasında anne ile aynı Rh antijenlerini taşımayan fetüsün, annede bebeğin taşıdığı (paternal) Rh antijenlerine karşı antikor yapmasına neden olabilir. Oluşan alloantikorlar yenidoğanın hemolitik hastalığına yol açarlar. Benzer şekilde daha önceki transfüzyonlar sırasında alıcıya kendinde olmayan Rh antijenlerini içeren bir kan transfüze edildi ise bu antijenlere karşı alıcıda alloantikor oluşmasına yol açabilir ve daha sonraki transfüzyonlarda aynı antijeni taşıyan bir kanın transfüze edilmesi halinde ekstrasvasküler hemolize, en azından verilen eritrositlerin yaşam süresinin kısalmasına yol açar. Sonuç olarak transfüzyon yapılacak kanların hasta ile aynı ABO kan grup sisteminden olması kadar Rh kan grup sisteminin de hasta ile aynı olması önemlidir.

Rh kan grup antijenleri 1 numaralı kromozomun üzerinde bulunan genler tarafından kodlanırlar. Bu antijenlerden en immünojenik olanı D antijendir. D antijeni taşıyan kişiler Rh pozitif, taşımayan kişiler ise Rh negatif olarak isimlendirilirler. Beyaz ırkta toplumun %85 kadarı Rh pozitif iken %15 kadarı Rh negatiftir. D antijeni taşıyan (Rh pozitif) eritrositlerin Rh negatif kişilere transfüzyonu sonucu %60-80'inde anti-D antikorları oluşur. Bazı insanlar eritrositleri üzerinde az sayıda D antijeni taşırlar. Bu kişiler D weak (zayıf D) olarak isimlendirilirler ve kan gruplarının tesbiti sırasında yanlışlıkla Rh negatif olarak isimlendirilebilirler. Bu kişilerin kanının verildiği Rh negatif insanların bir kısmı da anti-D antikorlar geliştirirler. Bu nedenle zayıf D kişilerin kan vericisi olduklarında Rh pozitif olarak kabul edilmelidirler. D antijeni geni ile yakın komşulukta bulunan diğer Rh antijeni kodlayan genler ise C, c, E, e

antijenlerini kodlarlar. Kişi bu genlerden hangisini taşıyorsa o antijeni üretir. C/c ve E/e allellerinin birbirlerine çok yakın olması nedeniyle bu antijenler genetik olarak birlikte (bir haplotip halinde) geçiş gösterirler. Örneğin beyaz toplumda CDe haplotipi en çok rastlanan kombinasyon iken cDe haplotipi daha seyrek. Tersine cDe haplotipi siyah ırkta daha fazla görülür.

Rh antijenleri eritrosit membranının yapısal proteinlerindendir. D antijeni taşımayan bir eritrosit (Rh negatif) üzerinde diğer Rh antijenlerini taşımaktadır. Yani Rh negatif demek Rh antijenlerinin hiçbirini taşıyor demek değildir. Aslında Rh antijenlerinin hiçbirinin taşınmaması durumu bu antijenlerin genlerinin delesyonu gibi bir kromozom bozukluğunun sonucu olabilir. Bu durumda kişi hiçbir Rh antijeni taşımaz. Bu kişiler Rh_{null} olarak isimlendirilirler. Rh_{null} eritrositlerin membranı hatalı bir membrandır ve bu eritrositler normale göre daha çabuk hemoliz olurlar. Yani bu durum, bir membran bozukluğuna bağlı hemolitik anemi durumudur.

Rh antijenlerinin kuvvetli immünojen olmaları özellikle çok kan transfüzyonu alan kişiler için önemlidir. Bir çalışmada (Spanos ve ark. Vox Sang. 58;50-55, 1990) sadece D antijenine bakılarak yapılan transfüzyonlar sonucu (83 hasta) %15.7 oranında alloantikör oluşurken, Rh ve Kell sistemlerine yönelik kan grup fenotipinin tesbiti ve bu fenotipe uygun transfüzyonlar yapılması durumunda (162 hasta) %3.7

oranında alloimmünizasyon oluşmuştur.

Aslında ABO ve Rh dışında pek çok kan grup sistemi de alloantikör oluşmasına neden olabilir. Ancak oluşan her alloantikör klinik anlamda sorun yaratmayabilir. Bu nedenle bazı alloantikörlerin varlığı klinik olarak önemli iken, bazı alloantikörlerin varlığı ise klinik olarak önemsizdir. Rh kan grup sistemine bağlı antijenlere karşı oluşan alloantikörler klinik olarak önemli alloantikörlerdir.

Bu durumda her kan transfüzyonunda donör ve alıcının Rh antijen fenotipi tayin edilerek bütün antijenleri tamamen uyuşan kanlarla mı transfüzyon yapılmalıdır? Bu sorunun cevabı eğer hasta bundan sonra yaşamını devamlı olarak kan transfüzyonu yapılarak geçirecek bir hastalığa sahipse "Evet"dir. Hastanın hastalığı devamlı transfüzyon gerektirmiyorsa böyle bir tarama maddi olarak büyük yük getirebilir. Bazı kan merkezleri antijen araştırırken hem D hem de CDE miyarlarını (antiserum) kullanmaktadırlar. D negatif (Rh negatif), fakat CDE pozitif (belli ki ya C, veya E, veya her ikisi de pozitif) kişilerin kanlarının yanlış olarak Rh pozitif olarak değerlendirilmesi ile Türk toplumunda zaten az olan Rh negatif grupta bazı kanların (Rh pozitif sanılarak) kullanılmadığı anlaşılmıştır. Bu sayıda bu konuyla ilgili bir yazıyı okuyacaksınız.

Sağlıkla kalınız.

Prof. Dr. Mahmut Bayık

K.M.T.D Başkanı

ÇALIŞMA

İbni Sina Kan Merkezine Başvuran Donörlerde Zayıf D Pozitiflik Oranı

► **Önder Arslan, Yeşim Özer, Melek Kurşun, Yeliz Bilgilioglu, Gülümser Koç***

D testi negatif olan kan donörlerinde zayıf D testi (eski adıyla Du testi) yapmak bir zorunluluktur. Alıcılarda ise bu testi yapmaya gerek yoktur. Özellikle monoklonal anti-D reaktiflerinin kullanılmasından sonra zayıf D saptanan donörlerin sayısında belirgin azalma olmuştur. Bu nedenle kullanılan anti-D'nin özelliğine ve uygulanan metoda bağlı olarak değişmek üzere beyaz ırkta zayıf D pozitiflik oranı %0.2-1 arasında değişmektedir. Bu çalışmamızda İbni Sina Kan Merkezine Ekim 1999-Temmuz 2000 tarihleri arasında donasyon yapan 13878 donörde tüpte aglütinasyon yöntemi ile D antijeni tespit edildi (Novoclone anti-D, blend IgG+IgM, Dominion, Canada). D antijeni negatif bulunan donörlerde test AHG fazına kadar devam

ettirilerek zayıf D testi yapıldı. Negatif sonuçlar check hücreleri ile kontrol edildi. D antijeni bakılan donörlerden 1646'sı (%11.86) D negatif olarak değerlendirildi. D negatif grupta ise 20 donörde (%1.21) zayıf D testi pozitif olarak bulundu ve bu donörlerin kan komponentleri Rh pozitif olarak etiketlendi. Tüm donör popülasyonu içinde ise zayıf D pozitiflik oranı (20/13878) %0.1 olarak saptandı. Bu sonuçlar beyaz ırktaki literatür bilgileri ile uyumlu bulundu.

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İbni Sina Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı
ve Kan Merkezi / Ankara

D Negatif, CDE Pozitif Donör Kanlarının Kullanımı

► Şaban Özbayburtlu, Fuat Çetinkaya, Sevilay Biçer, Yalçın Aksu

ÖZET

Rh pozitif veya Rh negatif tanımlaması , eritroit yüzeyindeki D antijeninin varlığı veya yokluğunu ifade etmektedir. Donör ve hasta kanlarında rutin Rh tiplendirmesi sadece D antijeni araştırılmasına ve donör kanlarında zayıf D nin gösterilmesine yöneliktir. D dışındaki diğer Rh antijenlerinin rutin olarak saptanması önerilmemektedir.

Kızılay kan merkezlerinde, D antijeni negatif kanlarda rutin olarak "CDE" taraması yapılmakta ve D antijeni negatif olduğu halde CDE pozitif olan donörlerin kanları, Rh Pozitif olarak etiketlenerek sadece Rh pozitif kan istemleri için verilmektedir.

Çalışmamızda son üç yıl içerisinde Kızılay Zeynep Kamil Kan Merkezinde bakılan toplam 98547 donör kan grubunun 12905 inde (%13.1) D antijeninin Negatif, D antijeni Negatif bulunan bu kanların da 1138 inin (%8.82) CDE testinin pozitif olduğu saptanmıştır.

D antijeni negatif donörlerin yaklaşık % 9 unun CDE pozitifliği nedeniyle Rh Negatif kan ihtiyacı için kullanılmamıştır.

CDE miyarı ile yapılan Rh isimlendirmesi, Kızılay Kan Merkezleriyle, hasta yakını ve hastane kan merkezi arasında gereksiz tartışmalara, Rh negatif donörlerin ziyan edilmesine ve CDE miyarı için harcanan bedel nedeniyle maddi kayıplara neden olmaktadır. Rutin uygulamalarda CDE bakılmasının gereksizliği yanısıra, özel kan transfüzyonu ihtiyaçları için, kanlarda ABO ve D dışında klinik önemi olan C, c, E, e, Kell ve Duffy antijenlerine ayrı ayrı bakılabilmesi ve stok kanların bilgisayara bu antijenik yapılarıyla kaydedilerek en uygun çıkışa imkan verilmesi konusu da tartışılmalı ve tüm kan merkezleri için ortak bir uygulamaya geçilmelidir.

GİRİŞ

D antijeni, A ve B antijenlerinden sonra kan transfüzyonlarında rol alan en önemli antijendir. A ve B'nin aksine D antijenine karşı doğal bir antikor bulunmaz. Anti-D, D antijeni olmayan şahıslarda bu antijen ile olası karşılaşmalar (transfüzyon, gebelik) sonrası gelişebilir.

D antijenini içeren Rh sistemine, 1940'ların ortalarından sonra C, c, E, e antijenleri tanımlanarak dahil edilmiştir. Daha sonraki yıllarda kalitatif ve kantitatif varyasyonlara dayalı olarak Rh ile ilgili 50 den fazla antijen ortaya konmuştur. Ancak klinik sorunların hemen tamamı D, C, c, E, e ile ilgilidir.

1. koromozomun kısa kolu üzerindeki oldukça homolog iki gen Rh antijenik aktivitesini gösteren polipeptidleri kodlarlar. Bu genlerden birisi RHD olarak isimlendirilir ve eritrosit yüzeyindeki D antijenik aktivitesini oluşturur. D negatif kişilerde kromozom üzerinde bu bölgede herhangi bir genetik materyal yoktur. Araştırmalarda d antijeni (küçük d) gösterilememiştir. Bitişi lokusdaki diğer gen ise RHCE olarak isimlendirilir ve C, c, E, e antijenlerinden sorumludur.

RHD ve RHCE nin her ikisi de 416 aminoasitten oluşmuştur ve ürünleri arasında önemli oranda benzerlik vardır. C ve c birbirinden 4, E ve e ise sadece bir aminosid farkı ile birbirlerinden ayrılırlar. D polipeptidinde ise durum biraz farklıdır ve sahip olduğu 36 aminoasid, D negatif kişilerde yabancı antijen olarak algılanmaktadır.

Bir şahsın C, c, E, e kodlayan genlere sahip olup olmadığını anlamak için, kişinin eritrositleri bu antijenlere

karşı üretilmiş antiserumla karşılaştırılır. D-negatif şahıslarda ya D antijenini kodlayan RHD geni yoktur ya da nadiren bu gende fonksiyon bozukluğu söz konusudur. D negatif pek çok kişi homozigot Rhce dir ve bu kişilerde c ve e vardır. Az bir kısmında da RHcE veya RhcE söz konusudur. RHCE geninin hem C hem E oluşturması son derece nadirdir.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda son üç yıl içerisinde Kızılay Zeynep Kamil Kan Merkezinde bakılan donör kan grupları retrospektif olarak incelenmiştir.

Rh antijenleri lam metodu ve monoklonal+poliklonal anti-D antikorları kullanılarak araştırılmıştır. Süpheli görülenler tüp metodu ile ve antiglobulin eklenerek tekrarlanmıştır.

D antijeni Negatif olarak tespit edilen örneklerde Anti-C, D ve E'yi kombine olarak içeren anti CDE miyarı ile CDE testi yapılmıştır. Bu antiserumla yapılan testte D, C veya E den herhangi biri Pozitif olması durumunda sonuç pozitif olarak değerlendirilmektedir. Bu test öncesi D antijeni negatif olduğu bilindiğine göre, pozitiflik durumu C veya E antijenine ait olmaktadır.

BULGULAR

Toplam 98547 donör kan grubunun 12905'inde (%13.1) D antijeninin Negatif bulunmuştur.

D antijeni Negatif bulunan 12905 örneğin 1138'inin (%8.82) CDE testinin pozitif olduğu saptanmıştır.

Böylece D antijeni negatif donörlerin yaklaşık % 9'u CDE pozitifliği nedeniyle Rh Negatif kan ihtiyacı için kullanılamamıştır.

TARTIŞMA

Rh pozitif veya Rh negatif tanımlaması, eritrosit yüzeyindeki D antijeninin varlığı veya yokluğunu ifade etmektedir. Donör ve hasta kanlarında rutin Rh tiplendirmesi sadece D antijeni araştırılmasına ve donör kanlarında zayıf D nin gösterilmesine yöneliktir. Anti D dışındaki diğer Rh antijenlerinin rutin olarak saptanması önerilmemektedir. D ışıdaki diğer antijenlerin saptanması Rh antikörlerinin ortaya konması çalışmalarında, Rh antikörlerine sahip hastalara uygun kan bulabilmek için yapılan taramalarda, babalık tayinlerinde, antikör tayini için kullanılan panel eritrositlerin seçiminde veya bir kişinin RHD için homozigot ya da heterozigot durumunun ortaya konması sırasında bakılabilir. Son yıllarda kan bankalarında Rh Pozitif veya Negatif şeklinde kullanılan terminoloji yerini "D Pozitif" veya "D Negatif" deyimlerine bırakmıştır.

Değişik D pozitif kan örnekleri anti-D lerle farklı reaktivite gösterebilirler. Bazıları kolayca saptanan aglütinasyon gösterirken, bazılarında uzun süreli enkübasyon ve reaksiyon için antiglobulin eklenmesi gerekebilir. Bunların tamamı D pozitif kabul edilir.

Geçmişde ek işlemler gerektiren ve Du olarak adlandırılan hücreler, artık "zayıf D" şeklinde isimlendirilmektedir. Poliklonal anti-D miyarlari ile zayıf D olarak saptanan örnekler, günümüzde yaygın olarak kullanılan monoklonal anti-D miyarlariyle direkt pozitif reaksiyon göstermektedir. Gene de D antijeninin tanımlanamayan hitherto epitoplari veya nadiren reaksiyon göstermeyen değişik konfigrasyondaki varyantlari söz konusu olabilir.

Teorik olarak zayıf D antijeni taşıyan kanların Rh negatif şahıslara verilmesi immunojenik bir yaniti uyarabilir. Ancak bu olasılık normal D pozitif kanın transfüzyonuna kıyasla son derece düşüktür. Bir çalışmada, 45 D-negatif alıcıya 68 ünite zayıf D kan transfüze edilmiş ve herhangi bir yaniti görülmemiştir. Ancak bu 45 kişiden 15'i immunsuprese durumdaki hastalardır. Bu çalışmadaki hastalardan birinde anti-E ve bir diğerinde de anti-K meydana gelmiştir.

Burada potansiyel immunojeniteden daha önemli bir konu, bu tip kanların anti-D bulunan hastalara verilmesinde meydan gelebilecek hemolizdir. Literatürde bu tip hemolitik transfüzyon reaksiyonlari rapor edilmiş olmakla beraber günümüzdeki anti-D miyarlari ile olaydan sorumlu eritrositler muhtemelen pozitif olarak tanımlanacaktır. Son yıllarda bu tip bildirimler yoktur.

Zayıf D söz konusu olan alıcıların D pozitif kan transfüzyonu almasında immunojenik olarak herhangi bir risk yoktur. Fakat zayıf D, bir veya birkaç D epitopunun yokluğundan kaynaklanıyorsa alloD antikörlari gelişebilir. Gene de bu tip durumlarda bile, halen kullanılan anti-D

miyarlari ile bu örnekler kuvvetli pozitif sonuç vermektedir.

AABB standartlarına göre donör kanlarında zayıf D araştırılmalı ve pozitif bulunması durumunda pozitif olarak etiketlenmelidir. Alıcı örneklerinde zayıf D nin araştırılması gereksizdir.

Şu anda kullanılmakta olan anti-D miyarlari, zayıf D antijenik yapıdaki grupların pek çoğunu ortaya çıkarmakta yeterince güçlüdür. Geri kalan ve Rh negatif olarak gözüken çok az sayıdaki alıcıya ise problem çıkmaksızın D negatif kan verilebilir.

D dışındaki diğer antijenlerin rutin olarak bakılması, zaman ve para kaybının yanısıra sınırlı kaynakların aşırı tüketilmesine neden olmaktadır. Kızılay kan merkezlerinde D antijeni negatif kanlarda rutin olarak CDE taraması yapılmakta ve D ntijeni negatif olduğu halde CDE pozitif olan donörlerin kanlari, sadece Rh pozitif kan istemlari için kullanıma sunulmaktadır.

CDE miyari ile yapılan Rh tiplendirmesi, Kızılay kan merkezleriyle, hasta yakını ve hastane kan merkezi arasında gereksiz tartışmalara, Rh negatif donörlerin ziyan edilmesine ve CDE miyari için harcanan bedel nedeniyle maddi kayıplara neden olmaktadır.

Rutin uygulamalarda CDE bakılmasının gereksiz olduğunu düşünmekteyiz. Ancak özel kan transfüzyonu ihtiyaçlari için, gerektiğinde, kanlarda ABO ve D dışında klinik önemi olan C, c, E, e, Kell ve Duffy antijenlerine ayrı ayrı bakılabilmesi ve kanların bilgisayara bu antijenik yapılarıyla kaydedilerek en uygun çıkışa imkan verilmesi için Kızılay kan merkezlerinde yeterli imkanlari bulunmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine, 9th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993.
2. Klein HG, ed. Standards for blood banks and transfusion services, 17th ed. Bethesda, MD:



D ve CDE antiserumları

1. ULUSAL KAN MERKEZLERİ VE TRANSFÜZYON TIBBİ KONGRESİ

KAPADOKYA HATIRASI 24-29 EYLÜL



Destekleyici Testler ve Moleküler Yöntemler

► Dr. N. Banu Kılıç*

Kan Bankalarında rutinde kullanılan tarama testleri ülkeden ülkeye hatta bazen bölgeler arasında farklılıklar göstermektedir. Hemen hemen tüm dünyada HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV 1-2, Syphilis antikorları zorunlu olarak taranan testler arasındayken antiHBc, ALT, HTLV, T.cruzi, Brusella, Malaria, Anti-CMV, p24, anti-HBs, anti-varisella zoster, anti-rabies, anti-tetanus bazı ülkelerde zorunludur. Bu durumda öncelikle sağlık otoritelerince o ülkede hangi enfeksiyon markerlarının kan bankalarında taranmasının zorunlu olduğu belirlenmelidir. 2857 sayılı kan ve kan ürünleri kanunu ve yönetmeliği gereğince ülkemizde kan ürünlerinde taranması zorunlu testler: HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV 1-2 ve Syphilis antikorlarıdır. Bu testlere ek olarak her hangi bir destekleyici ve/veya doğrulama testi zorunluluğu getirilmemiştir. Bu bölümde ülkemizde taranması zorunlu testlerle ilgili gelişmiş ülkelerde kullanılan destekleyici testler, doğrulama testleri ve moleküler yöntemlerden bahsedilecektir.

İNDİREKT-NONSPESİFİK TESTLER (SURROGATE MARKERLAR)¹⁻⁵:

ABD’nde 1971 yılında tüm kan donörlerinde HBsAg taranması zorunlu hale getirilmiş ancak Non-A non-B Hepatit (NANBH) viruslarına ilişkin taramalar uzun yıllar yetersiz kalmıştır. Posttransfüzyon hepatitlerle ilgili çalışmalar sonucunda: ALT düzeyi yüksek ve/veya anti-HBc pozitif donörlerden kan alanlardaki posttransfüzyon hepatite rastlama oranının ALT düzeyi normal ve anti-HBc negatif kan ürünü alanlara oranla 3-4 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bunun üzerine önce ABD’nde ve daha sonra pek çok ülkede 1987 başlarında ALT ve anti-HBc testleri **surrogate markerlar** olarak donör tarama testlerine dahil edilmiştir.

Kan donörlerinde anti-HBc testinin rutin olarak yapılmasının şu yararları olmuştur: a) HBV’na bağlı posttransfüzyon hepatit insidansında azalma, b) anti-HCV testlerinin kullanımından önce HCV’na bağlı posttransfüzyon hepatit insidansında azalma, c) benzer yollarla bulaşan HIV gibi enfeksiyonlarda risk gruplarını elimine etme. (Grafik 1) Anti-HBc için kullanılmakta olan EIA testlerinin en önemli dezavantajları yalancı pozitif oranının yüksekliği ve bu testin doğrulanmasında kullanılabilecek anlamlı bir yöntemin bulunmayışıdır. Özellikle prevalansın düşük olduğu popülasyonda HBsAg negatif ve anti-HBc pozitif olguların tama yakınında HBV DNA negatif bulunmuş prevalansın yüksek olduğu popülasyonda ise HBsAg negatif donörlerde HBV DNA’nın %5 pozitif olduğu saptanmıştır. Örneğin İngiltere’de

%0.5-0.7 arasındaki anti-HBc pozitifliğinin yaklaşık %50’sinin yalancı pozitif olduğu belirtilmektedir. Ancak bu orana rağmen yılda ortalama tek başına anti-HBc pozitifliği ile HBV bulaştırabilen donör sayısının yaklaşık 550 olması, gerekliliğini düşündürmektedir.

ALT ile ilgili en ciddi sorunların arasında cutoff belirleme güçlüğü gelmektedir. ALT düzeyini etkileyen pek çok faktör (yaş, cinsiyet, kilo ve ırka vb) vardır ve genellikle hafif yükseklikler geçicidir. Bu nedenle cutoff belirlerken önce donör popülasyonunun genelinde bir ölçüm yapılır. Bu ölçümlerde %97.5’e denk gelen IU/L alt cutoff değeri olarak kabul edilir. Üst limit ise bu değerin iki katıdır. Alt limit üzerinde çıkan sonuçlar için kan ürünü atılır, donör bilgilendirilmez, daha sonra tekrar kabul edilebilir. Üst limit üzerinde bir sonuçta ise donör sürekli reddedilir ve bilgilendirilir. Reddedilme ve bilgilendirme bir yıl içerisinde iki kez alt limitin üzerinde sonuç veren donörler için de geçerlidir. ALT yüksekliği nedeniyle reddedilen donör oranı Avrupa ve ABD’de ortalama %1-3’dür.

HCV’nun tanımlanması ve 1990 yılında 1. jenerasyon test kitlerinin donör taramasına dahil edilmesi, 1992’de 2 ve 1994’de 3. jenerasyon anti-HCV test kitlerinin kullanıma sunulmasıyla ALT ve anti-HBc önemini kaybetmiştir. Özellikle ALT tarama zorunluluğu Amerikan Kan Bankaları Birliği (AABB) tarafından kaldırılmış diğer taraftan anti-HBc taramasının HBV ve NANBNCH’leri işaret edebilmesi yönünden devam etmesi gereği düşünülmüştür. Ancak bazı Avrupa ülkelerinde özellikle plazma fraksinasyonunun yapıldığı merkezlerde ALT’nin halen zorunlu testler arasında olması nedeniyle bu merkezlere plazma satan ABD’deki kan merkezleri de ALT taramalarına devam etmektedir.

SUPPLEMENTAL/CONFIRMATORY YÖNTEMLER (DOĞRULAMA TESTLERİ)²⁻⁵:

Tarama testlerinde elde edilen tekrarlayan pozitiflik sonrası kan ürünü atılmalı ve donörün kan örneği doğrulamaya alınmalıdır. Doğrulama testleri gerçek pozitifleri yalancı pozitiflerden ayırmak için yapılır ve temel amaç, özellikle düzenli donörlerin kaybedilmemesi ve bu testlerin sonucuna göre donörlerin bilgilendirilmesidir.

HBsAg bir antijen testi olmasına rağmen kesin bir karar için nötralizasyon testiyle doğrulanması ya da surrogate markerlarla tekrarlayan reaktivite sonucunun desteklenmesi gereklidir.

Anti-HIV tarama testinden sonra kullanılabilecek birkaç tip (indirekt immüno Floresan, radioimmünopresipitasyon

vb) doğrulama yöntemi olmakla beraber en sık kullanılan yöntem Western Blot'dır (WB). Kan bankalarında en sık sorun yaratan indetermine WB sonuçlarıdır. İndetermine sonuçlardaki gerçek pozitiflik oranının %5'in altında olduğu gösterilmiştir. Böyle bir durumda kan ürünü kullanılmaz ve 3-6 ay sonra WB tekrar edilir. 6 aydan daha uzun süre aynı indetermine pattern'e sahip kişilerin HIV ile enfekte olmadıkları kabul edilirse de bu kişiler donör olarak kabul edilmezler. Bu tip donörlerde sonucu netleştirmek için RNA PCR yapılması önerilmektedir. FDA, HIV ile enfekte donörlerin daha erken dönemde gösterilebilmesi, pencere döneminin kısaltılabilmesi için HIV antijen testlerinin donör tarama testlerine eklenmesi gerektiğini belirtmiş ve Mart 1996'dan itibaren rutin donör taramalarına p24 HIV antijen testleri dahil edilmiştir. Antijen testlerinin sayesinde transfüzyonla HIV bulaşma riskinin yaklaşık %25 oranında azalacağı tahmin edilmiştir. Bu testlerin de nötralizasyon testi ile doğrulanması gerekmektedir.

Anti-HCV EIA testlerindeki en ciddi sorunlardan biri yalancı pozitiflik olduğundan tekrarlayan pozitif örneklerin, onaylanmış ve kullanılan EIA ile aynı jenerasyonda bir RIBA ile doğrulanması gerektiği bildirilmiştir. RIBA pozitiflikler gerçek kabul edilmekle birlikte %70-90'ının PCR ile HCV RNA'ya sahip olduğu gösterilmiştir. HCV RNA varsa ürünün enfektivitesi %100'dür. Daha ciddi diğer problem ise yalancı negatifliktir. PCR'da dahi karşılaşılabilen bu sorun, yetersiz sensitivite ya da virusun farklı genotipleri arasındaki antijenik farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Konfirmasyon amacıyla RIBA'ya alternatif olarak iki farklı EIA ile pozitif sonuçlar irdelenebilir. Bazı merkezlerde iki farklı EIA ile pozitif bulunan sonuçlar RIBA yapılmaksızın HCV PCR ile desteklemektedir.

MOLEKÜLER YÖNTEMLER (NAT) 6-12;

İnvitro nükleik asitlerin amplifiye edildiği PCR ve benzeri yaklaşımlar (LCR -ligase chain reaction-, NASBA -nucleic acid sequence-based amplification-, TMA -transcription-mediated amplification-) NAT (nucleic acid amplification testing) adı altında birleştirilmiştir. Kan bankacılığında NAT, özellikle tarama testleriyle tanınabilmesi için antikor gelişmesi gereken HCV, HIV gibi virusların direkt olarak genetik materyallerinin gösterilmesine yarayan yeni bir test tekniğidir. 1980'li yıllarda AIDS'in gündeme gelişi, 1990'larda ise moleküler biyoloji laboratuvarlarındaki teknolojik gelişmeler NAT'ın kan ürünlerinde tarama amaçlı kullanımı düşüncesini doğurmuştur. Avrupa Birliği'nin Proprietary Medicinal Products Komitesi (CPMP) Temmuz 1999'dan sonra fraksiyasyonda kullanılacak tüm plazmaların HCV-NAT ile tarama zorunluluğu getirmiştir. Bu zorunluluk Avrupa Birliği'ne bağlı ülkeler için geçerliyse de ABD'ndeki çoğu üretici firma ve kan bankaları ürünlerini Avrupa'ya sattığından NAT'ın ABD'nde hızla kullanıma girmesi gerekmiştir.

NAT'da Terminoloji:

NAT ile ilgili çalışmalarda ortak bir terminoloji oluşturulmaya çalışılmıştır. Buna göre ana havuz (master pool), her bir donörden alınan plazmaların toplandığı serum havuzudur. Test sonucu negatif veya reaktif olabilir. Bazı merkezlerde ara havuzlar (intermediate pools) hazırlanır ve buradan ana havuz oluşturulur. Burada da sonuçlar negatif ya da reaktif olarak değerlendirilir. Pozitif sonuç, örneklerin NAT ile reaktif olduğu ve doğrulandığı anlamına gelmektedir.

Neden NAT?

Araştırılması gereken yönleri olmasına rağmen NAT'ın kabul edilebilirliğindeki temel neden sıfır riske en yakın kan ürününün elde edilebilmesidir. ABD'nde yılda yaklaşık 12 milyon ünite tam kan alınmaktadır. Tablo 1'de sadece serolojik yöntemler çalışıldığında ve bunlara NAT eklendiğinde yıllık tahmini enfeksiyöz kan ürünü miktarı verilmiştir. Bir ünite tam kanın eritrosit konsantrisi, trombosit konsantrisi ve plazmaya ayrıştırılarak 3 farklı hastaya transfüze edildiği durum da son sütunda değerlendirilmiştir.

Son 20 yılda tarama testlerindeki ilerlemeler sayesinde transfüzyonla bulaşan enfeksiyonlarda belirgin azalmalar olmuştur. Transfüzyonla virus bulaşma riski hesaplamalarında HIV ve HBV için bulaşma riskinin %90'ının pencere dönemindeki kanlardan kaynaklandığı, HCV'de bu oranın %75 olduğu bilinmektedir. HCV prevalansı relatif olarak yüksek olduğundan kalan %25'in immunolojik olarak sessiz enfeksiyonlar ya da laboratuvar hatalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Donörün virusla karşılaştıktan sonra antikorların gösterilebilir düzeye gelinceye kadar geçen süreye preserokonversiyon pencere dönemi denir. Donörler arasında HCV, HIV riski oldukça düşük ve tarama testlerinin sensitivitesinin yüksek olmasına rağmen NAT ile gösterilen antikor yanıtı değil dolaşımdaki virusun kendisi olduğundan pencere dönemi kısalıp serokonversiyon öncesi enfeksiyöz ürün belirlenebilir ve transfüzyonla bulaşma riski azalır (Örneğin HCV'de 1/100 000'den 1/500 000-1 000 000'a inmektedir). Nonviremik eklips dönemi haricinde NAT, antijenik yöntemlerden daha sensitif olduğundan yalancı negatif oranı azalmaktadır. Ayrıca daha spesifik olması yalancı pozitif oranını da azaltır. Böylece gereksiz ürün imhası ve donör reddi azalması olur.

NAT'ın enfektivitesi hem pencere döneminin süresi hem de o enfeksiyonun toplumdaki prevalansı ile ilişkilidir. Örneğin HCV'nin pencere dönemi daha uzun, Avrupa ve ABD'nde prevalansı nispeten yüksektir. Diğer taraftan prevalansının düşük olması, pencere döneminde fazla kısalma olmaması nedeniyle HIV için kullanımı (p24 testlerinde olduğu gibi) biraz düşündürücü olsaydı da AIDS'in transfüzyonla bulaşma riskinin çok azalması halk sağlığı açısından önemli kabul edilmektedir. HBV açısından halen kullanılmakta olan testin bir antijen testi olması, sensitivitesinin yüksek olması ve pencere döneminde virus miktarının

az (ortalama 10^3 /mL) olması fazla bir yarar sağlamayacağı düşüncesiyle öncelik taşımamakta ve hatta uygulamaya sokulması önerilmemektedir. NAT'ın rutin kullanımının anti-HBc ve viral inaktivasyon yöntemlerinin kullanımını gereksiz kılacağı düşüncesini de doğurmuştur.

Neden NAT Değil?

Otomasyon: Avrupa Birliği CPMP'sine göre plazma fraksinasyon ürünlerinde NAT zorunlu kılınmış, fakat tam otomatik bir sistemin geliştirilmesi ve geçerliliği için süre yetersiz olmuştur. Diğer taraftan yarı otomatik bir sistemle tek tek çalışmanın güçlüğü havuz yönteminin geliştirilmesini sağlamıştır. Çoğu kan merkezinde kullanılan bu yöntem, sadece maliyeti düşürmekle kalmamış ilginç olarak insan hatalarını da minimize indirmiştir.

Havuz Büyüklüğü: Havuz büyüklüğünün dilüsyon faktörü nedeniyle sensitiviteyle yakın ilişkisi olduğu bilinmektedir. Ek olarak yöntemin sensitivitesi test öncesi ultrasantrifüjasyonla virusların konsantre edilmesinden de etkilenmektedir. Yapılan çalışmalarda HCV-RNA yönünden test edilen plazma havuzlarının %1-4.5 oranında NAT pozitif olduğu ancak pozitif örneklerin %33-50'sinin ikinci havuzlarda ya da tek tek çalışmalarda doğrulanmadığının görülmesi yüksek oranda yalancı pozitif olduğunu düşündürmüştür. Bu durumda şu soru ile karşılaşılacaktır: NAT pozitif havuzlardan hazırlanmış tüm örnekler atılmalı mı yoksa yalancı pozitif olarak mı kabul edilmelidir? Diğer yönden çeşitli bölgesel çalışmalarda antikor testlerinde küçük boyutlu havuzların kullanımı halinde dilüsyon faktörünün sensitiviteyi fazla etkilemediğinin gösterilmesi 16-24'lük havuzların uygun olabileceği düşüncesini desteklemiştir. Bu konudaki tartışma ve çalışmalar halen sürmektedir. Önerilen havuz büyüklüğü her virus için ayrı olarak belirlenmelidir.

Kısa miadlı kan ürünleri: Trombosit konsantresi gibi kısa miadlı ürünlerde, kanın toplandığı ve testlerin çalışıldığı yerlerin farklı olması durumunda zaman problemiyle karşılaşılacaktır. Havuzlanmış örneklerde pozitive neden olan örnek saptanıncaya kadar havuzdaki tüm örnekler çalışılmalıdır. Özellikle yalancı pozitifliklerde bu durum zaman kaybını ve maliyet artışını ortaya çıkarmaktadır. Zaman kaybı ile ilgili düşünceler NAT'ın kan ürünleri dağıtımından sonra yapılabileceği fikrini geliştirmiştir. Bu sayede alıcı eğer enfekte bir ürüne maruz kaldıysa erken tedaviye başlanmasını ve sekonder bulaşın önlenmesini sağlayabilecektir. Yalancı pozitifliklerde kan bankalarını zor durumda bırakan bir diğer nokta ise özellikle sürekli donörlerin reddedilmeleri konusunda bilgilendirilmesidir. NAT reaktif bir sonuçla karşılaşıldığında donöre ulaştırılması gereken mesaj şu şekilde olmalıdır: 'Bir araştırma yöntemiyle yapmış olduğumuz testiniz virusuna karşı reaktif sonuç vermiştir. FDA'nın gerektirdiği serolojik tarama testi sonucunuz negatiftir; bu sonuçların öneminin belirlenebilmesi için her iki test sonucunuzun netleştirilmesi gerekmektedir.

Tam bir sonuç alıncaya kadar başka kişilere hastalık bulaştırmamanız için kan bağışınız kabul edilemeyecektir.' Daha sonraki çalışmalarda testler enfeksiyonu doğrularsa kişi medikal takibe alınıp süresiz olarak donörlüğü reddedilmektedir. Donör 6-12 aylık bir periyotta izlenmeli, eğer NAT reaktivitesi devam etmez ya da seropozitivite gelişmezse donör olarak kabul edilmelidir.

Kontaminasyon: ABD'nde klinik çalışmalarda plazma örnekleri ayrı gruplar halinde çalışmakta ve gerçek pozitifler asla diğerleriyle bir arada test edilmemektedir. Çünkü pozitif örneklerde fazla miktarda olan viral RNA'nın negatifleri kontamine etme ihtimali yükselmektedir. Çalışma sırasında kullanılan tüpler mutlaka kapaklı olmalıdır. Kontaminasyon çoğu kez pozitif örneğin pipetlenmesi sırasında yandaki tüpe sıçrama nedeniyle. Kalifiye elemanlarla çalışma, cihazların sık aralarla temizliği ve bir gece UV irradiasyona tabii tutulmayla kontaminasyon sorunu aşılmaya çalışılmaktadır.

Diğer Virüsler: Lipidle kaplı olmayan virusların (HAV ve Parvo virus B19 gibi) plazma fraksinasyon ürünleri ve kan ürünleriyle bulaşmaları arasında ciddi farklılıklar olduğu bilinmektedir. Fraksinasyon sırasında kullanılan inaktivasyon yöntemleri lipidsiz viruslara etki edememektedir. Bu ürünleri (havuz yapılarak hazırlandığından) kullananlarda bu tip viruslarla bulaş bildirildiği halde kan ürünlerinde benzer bir bildirim yoktur. Avrupa'daki plazma fraksinasyon ürünleri üretici firmalarının bu konuda çalışmaları olmasına rağmen lipidsiz virusların NAT ile araştırılması konusunda henüz herhangi bir uyarılma yoktur.

Maliyet: NAT'la ilgili tartışmalarda en fazla üzerinde durulan maliyet olmuştur. Benzer tartışmalar p-24 antijen testleri taramaya dahil edilirken de yapılmıştır. FDA'nın Blood Product Advisory Committee'si 1995'de p24 antijen testlerinin yıllık 60 milyon dolar ek maliyet getirdiğini belirtmiştir. Ancak HIV politikası ve kanın güvenilirliği konuları 1996'da FDA'nın bu testi zorunlu kılmasına neden olmuştur. NAT'da tahmini ek maliyetin yılda 96 milyon dolar olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada pencere dönemindeki tek bir HIV enfeksiyonunu yakalamanın 16 milyon doların üzerinde bir maliyet getireceği hesaplanmıştır.

* Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kan Merkezi Sorumlusu

KAYNAKLAR:

1. Mollison P.L., Engelfriet C.P., Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 10th ed. Blackwell Science. 1997: 509-557.
2. Rossi E.C., Simon T.L., Moss G.S., Gould S, et al, eds. Principles of transfusion medicine. 2nd ed. Baltimore, MD:Williams and Wilkins, 1996: 675-708.
3. American Association of Blood Banks. Technical Manual. 13th ed. Bethesda, American Association of Blood Banks, 1999: 601-634.
4. Smith D.M., Dodd R.Y. Transfusion transmitted infections. Chicago, ASCP Press, 1991: 243-269.

5. McCullough J. Transfusion medicine. 1st ed. McGraw-Hill Companies. 1998: 149-165., 361-386.

6. NAT Implementation, AABB Association Bulletin #99-3, February 8, 1999.

7. ISBT Oslo, Norway, 1998, Prevention of Transfusion-transmitted Infections by PCR Screening of Blood Donations

8. Roth W.K., Weber M., Seifried E. Feasibility and efficacy of routine PCR screening of blood donations for hepatitis C virus, hepatitis B virus, and HIV-1 in a blood-bank setting. The Lancet, 1999; 353: 359-63.

9. Gallarda J.L., Dragon E. Blood Screening by nucleic acid amplification technology: current issues, future challenges. Molecular Diagnosis, Vol.5, No.1, 2000, p.11-22

10. Lefrere J.J., Coste J., Defer C., Mercier B, et al.

Screening blood donations for viral genomes: multicenter study of real-time simulation using pooled samples on the model of hepatitis C virus RNA detection. Transfusion 1998;38:915-923.

11. Rogers P.M., Saldanha J., Allain J.P. Report of EP-FA/NIBSC Workshop 'Nucleic Acid Amplification Tests (NAT) for the Detection of Blood-Born Viruses' Held on 31 October 1996 in Amsterdam, The Netherlands. Vox Sang 1997; 72:199-206.

12. Busch M.P., Kleinman S.H, Jackson B. et al. Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion-transmitted infectious diseases. Transfusion, 2000;40:143-159.

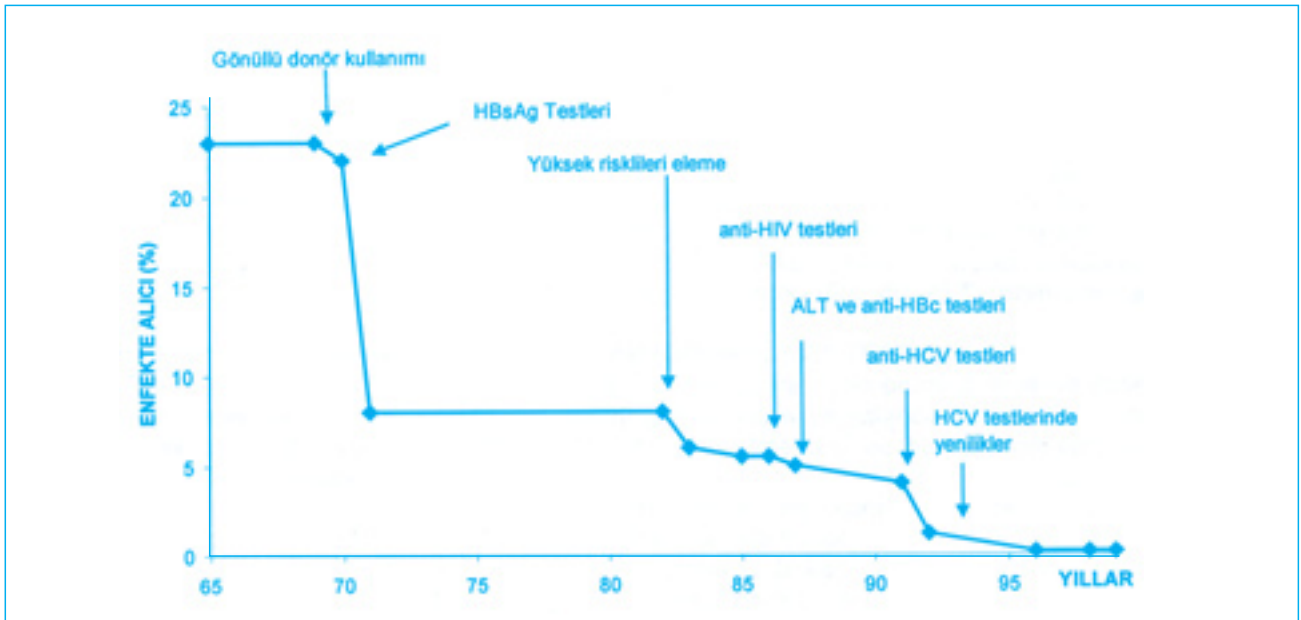
Tablo 1. ABD’nde tahmini enfeksiyöz kan ürünü miktarı

	Serolojik Testlerle	+ NAT	FARK (x3)
HCV	116 Ünite	32 Ünite	84 Ünite (252)
HIV	18 Ünite	12 Ünite	6 Ünite (18)

Tablo 2. HIV ve HCV’nin preserokonversiyon pencere dönemi

	Antikor Tarama Testleri ile	Antijen Tarama Testleri ile	NAT ile
HIV	20-25 gün	16-17 gün	10-12 gün
HCV	70-82 gün	-	11 gün

Grafik 1. ABD’nde posttransfüzyon hepatit oranının yıllara göre değişimi (AABB Technical Manual)



Rh faktörüne adını veren Rhesus Maymunları hakkında ne biliyoruz?..

► Elif Merdanoğulları*

Rhesus Maymunu / *Macaca Mulatta* (Kapak konusu)

Al yanaklı şebek olarak da bilinen bu maymun türü, neşeli, zeki ve meraklı davranışları ile hayvanat bahçelerinin en popüler hayvanları arasındadır.

Rhesus maymunu aynı zamanda insanoğluna, biyolojide ve tıp alanında yapılan bilimsel araştırmalarda deney hayvanı olarak sağladığı yararlılığı ile de dikkati çekmektedir.

Son derece zeki olması ve insana olan yakınlığı nedeniyle bu maymundan psikoloji biliminde, algılama, öğrenme ve davranış alanlarındaki çalışmalarda da yararlanılmaktadır.

1940 yılında Karl Landsteiner, Philipe Levine, Alexander Wiener'in yaptıkları araştırmalar ile Rhesus maymunlarının kanında Rh (rhesus) faktör antijenlerine rastlanmıştır. Bu antijenler, aynı zamanda insanda da bulunan kırmızı hücrelerin kalıtsal kan antijeni Rh faktörünün keşfedilmesini sağlamıştır. Rh faktörü bu maymunun kanındaki aglutinojenlerle tepkimeye girip girmemesine göre (+) veya (-) olarak tanımlanmaktadır. Bilimadamları faktöre bu maymunun adını vermişlerdir.

Doğada bulunması ve izlenmesi kolay olduğundan Rhesus maymununun ekolojisi ve davranışları ile ilgili çok şey öğrenilmiştir.

Rhesus maymunu Asya'nın güney ve güneydoğusunda Afganistan'dan Tayland'ın batısına ve Çin'in güneyine kadar geniş bir alanda yaşamaktadır.

Macaca mulatta adı verilen grubun bir türüdür.

Rhesus maymunları 48-64 cm uzunluğundadır, ağırlıkları 4-10 kg arasında değişmektedir. Tüylerinin rengi sarı ve kahverengi tonlarındadır.

Yerde veya ağaç üzerlerinde 5 ila 100 maymundan oluşan gruplar halinde yaşarlar. Grup büyüklüğü 80-100 üyeye ulaşınca bir grup dişi yeni bir grup kurmak üzere ayrılır. Gruplar genellikle akraba olmayan birkaç erkek ve yakın akraba olan birçok dişiden oluşur. Sadece erkeklerden oluşan küçük gruplara da rastlanabilir. Erkekler genellikle doğmuş oldukları grubu cinsel olgunluğa erişikten kısa bir süre sonra terkederler. Anne ve oğlundan doğma yavruya çok nadir rastlanır.

Hiyerarşik üstünlük her iki cins için de geçerlidir. Erkekler arasında rekabet yüzünden çıkan çatışmalar çok sık görülür ancak dişi üyeler tam bir uyum içinde yaşarlar. Aralarında çatışma çok nadirdir.

Grup halinde yaşayan Macaca mulattalar mülkiyetçi değillerdir. Grubun her üyesinin kendine ait yeri olsa da bazen bu yerler diğer grubun üyeleri tarafından kullanılabilir. Bu nedenle veya diğer nedenlerle iki grup arasında çatışma çok nadirdir.

Her türlü doğa şartlarına uyum gösteren yapıları sayesinde çok değişik yerlerde yaşamaktadırlar. Ormanlarda, dağlık alanlarda (Himalayalarda 3000 m de yaşayanları vardır), bataklıkta ve hatta

çöl şartlarında bile yaşama adapte olurlar. Vahşi doğada olduğu gibi insanların içinde yaşayan küçük gruplara da rastlanır. Bu maymunlara Kuzey Hindistan'ın köylerinde veya şehirlerin kalabalık pazarlarında rastlamak mümkündür.

Yiyecekleri arasında meyve, böcek, tomurcuklar, yapraklar, kökler ve değişik türden ekinler bulunur. Diyetleri sezona ve yaşanan bölgenin iklimine göre değişiklik gösterir. Örneğin Kuzey Pakistan'ın ormanlık dağlarında yaşayanlar yaz boyunca yonca ile beslenirler, ancak kışın kar kaplı olduğundan çam iğneleri veya meşe yaprakları gibi daha düşük kalorili besinlere mecbur kalırlar. Bu şartlarda yaşayanlar, kış aylarında önemli oranda kilo kaybetmeler de

ölümle sonuçlanan durum çok nadirdir.

Üreme mevsimleri geniş bir yelpazeyi kapsar. Soğuk yerlerde yaşayan gruplar için üreme mevsimi ilkbahardır. Hamilelik periodu 165 gündür ve genellikle tek bir yavru doğururlar. 26-28 gün arasında mensturuel siklusu takip ederler.

Ancak doğal yaşam alanlarının yok edilmesi maymunların vahşi doğadaki yaşamlarını her geçen gün tehlikeye atmaktadır.

Önceleri bazı Hindular Rhesus maymunlarına kutsal olarak değerlendirmişlerdir. Ancak ekinleri bozmaları ve maddi zararlar vermeleri sonucu bu inanış uzun sürmemiştir.

1978 yılına kadar Hindistan'dan dünya genelinde laboratuvar çalışmalarında kullanılmak için yılda 200.000 maymun

ihrac edilmekte idi. Hindistan ihracatını bu yıldan itibaren durdurmuştur. Bugün bilimadamlarınca araştırmalarda kullanılacak maymunlar kafeslerde özel olarak yetiştirilmektedir.

Rhesus maymunları Rh faktörünün keşfedilmesi başta olmak üzere birçok bilimsel araştırmada insanlığa hizmet etmiş ve etmektedir. Uzun araştırmalarında stratosfere fırlatılan ilk maymun da yine bir Rhesus maymunudur.

* *Amphi Ltd. Şti. Genel Müdürü*

KAYNAKÇA

1. Buscovitch, F.B. The acquisition of dominance among free-ranging rhesus monkey siblings. *Animal Behavior*. 36: 754-72. Jun. 1988
2. Dotta, S. Dominance, rank, and reproduction maturation in male rhesus macaques (*Macaca mulatta*).
3. *Journal of Reproduction and Fertility*. 99: 113-20. Sept. 1993
4. Macdonald, D. *The Encyclopedia of Mammals*. Facts on File Publishing, NY. 1984
5. Nowak, R.M. *Walker's Mammals of the World: Fifth Edition*, vol. I. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London. 1990
6. Parker, S.P. *Grzimek's Encyclopedia of Mammals*, vol. II. McGraw-Hill Publishing Co. 1990.



Kan Bankalarında Donör Kan Hemoglobin Seviyesi Ölçümü İçin Kullanılan İki Metodun Karşılaştırılması

► Dr. Meral Sönmezoğlu*

Kan bankalarında, kan bağıışı öncesinde hemoglobinin seviyesinin ölçümü hem donör adayının sağlığının riske atılmamasını, hem de donörden toplanacak kanın hemoglobin düzeyinin bilinmesi ile transfüze edilecek kanın fonksiyon ve yaşam süresinin tahmin edilmesine olanak sağlar. Donör hemoglobin düzeyi ölçümü genel sağlık için de nonspesifik bir göstergedir. Demir eksikliği gibi alıcıya zarar vermeyecek bir hastalığı gösterebildiği gibi anemi ile görünen alıcıya bulaşabilecek ciddi infeksiyon hastalıklarının işareti de olabilir. Ayrıca donasyona izin vermeyen bazı kronik hastalıklar ve neoplazmalarda da anemi belirteç olabilir. Bunların dışında klinisyen bakış açısıyla, devamlı donörlerin aynı metodla kontrolünde hemoglobin konsantrasyonunda % 2.7'den daha azalma anlamlı kabul edilmeli ve nedeni araştırılmalıdır. Taramada kullanılacak metod anemiyi saptayacak kadar duyarlı olmalı, olası kanamalı hastalık varlığında kanamayı başlatacak kadar invazif olmamalıdır.

Metodlar: Kan bankalarında donör adaylarının hemoglobin ölçümü için aşağıdaki testler kullanılabilir;

1- Tam kan sayımı: Hemoglobin konsantrasyon ölçümü için referans metottur. Kan sayım cihazı gerektirir. Cihaza özel solüsyonlarla çalışır. Hemoglobin dışında kan lökosit, eritrosit, trombosit ve hematokrit düzeyleri de değerlendirilebilir. Pahalıdır ve ölçüm öncesi EDTA'lı tüpe alınan kanın 5-10 dakika süre ile ters yüz edilmesi gerekir. Siyanomethemoglobin ölçümü yapan cihazlarda yanlış düşük düzeyler ölçülebilir (karboksihemoglobin-siyanomethemoglobin dönüşümü yavaş olduğu için).

2- Hemoglobin veya hematokrit düzeyi ölçümü: İki ölçüm için de özel cihaz gereklidir. Hematokrit ölçümü için kapiller tüp, hemoglobin için özel hemoglobin küveti

kullanılır. Tam kan sayımından daha ucuz ve hızlı tekniklerdir. Kapiller tüp kullanımında sızıntı ve kırılma olasılıkları yüksektir. İnfeksiyon kontrolünde zorluklara yol açar. Hematokrit düzeyi üçe bölünerek hemoglobin düzeyi tahmin edilebilir. Ancak kişinin MCHC düzeyi normal olmalıdır.

Hemoglobin, oksijen taşıma kapasitesi için daha doğru ölçüm sağlar. Demir eksikliği gelişiminde hematokritten daha hızlı düşer.

3- Bakır sülfat testi: Hızlı, ucuz ve deneyim gerektirmeyen bir tekniktir. Ancak göreceli değerlendirme yapılır. Kantitatif değer vermez. Yanlış negatif değerler (anemik olmadığı halde testi geçemeyen) verdiği gibi anormal yüksek hemoglobin değerleri saptanamaz. Ayrıca test atıkları biyolojik tehlikeli ve çevreye zararlı kabul edildiği için tıbbi atıklar içinde özel imha gerektirir.

ÇALIŞMA:

Marmara Üniversitesi Hastanesi Kan Merkezinde rutin donör hemoglobin ölçümü için tam kan sayım cihazı kullanılmaktadır. Donör kanında hemoglobin yanında lökosit ve trombosit düzey ölçümleri de yapılarak infeksiyon ve trombositopeni olasılıkları da ekarte edilmektedir. Ancak 8 parametre ölçümü nedeniyle pahalıdır.

Hastane dışında yapılacak kan bağış kampanyalarında donör adaylarında hemoglobin ölçümü yapmak için alınan hemoglobin fotometre cihazının değerleri kan sayım cihazı ile elde edilen değerlerle karşılaştırılarak test doğruluğu değerlendirildi. Kan sayım cihazı her çalışma gününde kalibre edilerek kontrol kanı ile sınır değerler arasında ölçüm yaptığı gösterilmekte ve bu değerler internal kalite kontrol için saklanmaktadır.

Kan Merkezimizde kan bağıışı için başvuran; sorgulama formu ve diğér rutin ön değérlelendirmelerden geçen donör adaylarından EDTA'lı tüpe alınan venöz kan örnekleri hem kan sayım cihazında, hem de mikroküvetlere alınarak fotometre cihazında ölçüldü.

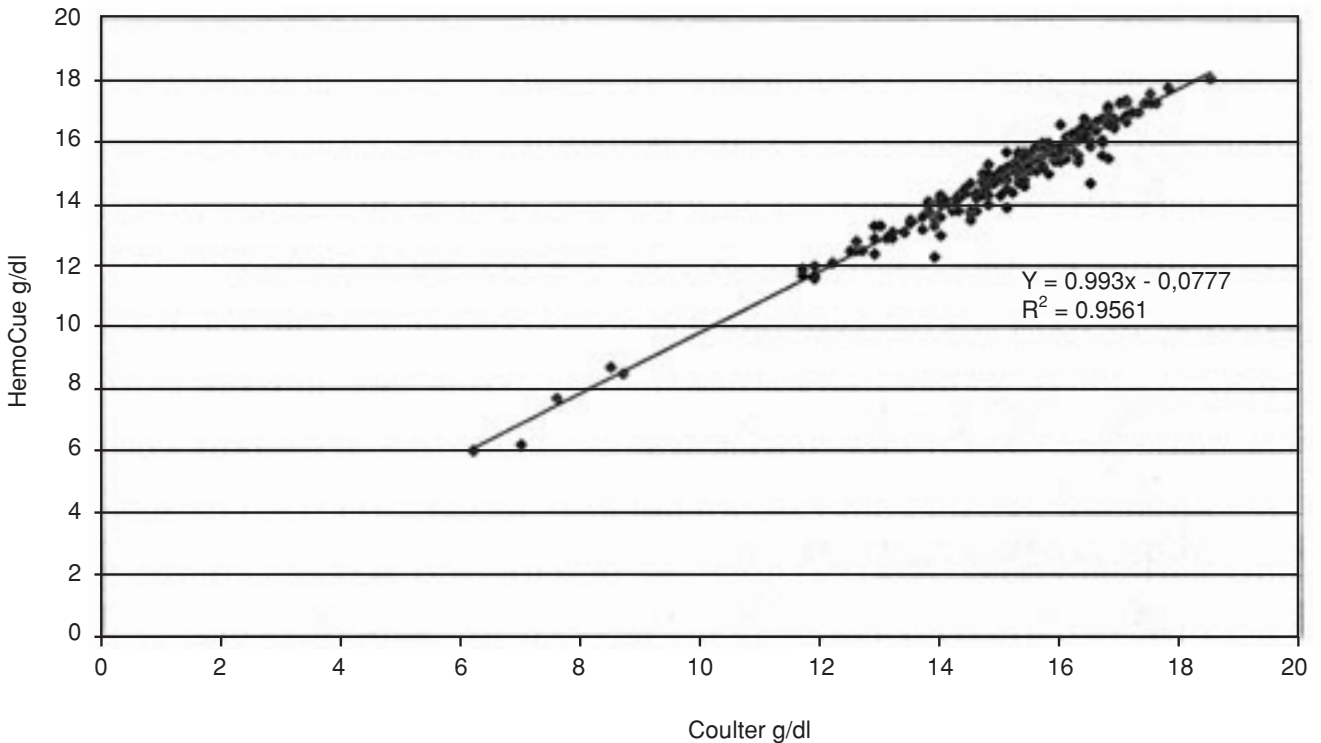
SONUÇ :

200 örnek test edilen çalışmamızda Coulter AcT cihazı ve HemoCue hemoglobin fotometre cihazından alınan ölçümler arasında 0.95 uyumlu sonuçlar elde edildi. HemoCue hemoglobin analizörü kapiller tam kandan (venöz veya arteryel) 10 µ'lik bir örnekle ve 60 saniye içinde ölçüm yapmaktadır. Ölçüm için kullanılan plastik mikroküvetlerin içi kuru reaktifle kaplıdır ve kan teması halinde otomatik olarak 10 µ kanı çeker. Mikroküvetler fotometre içine yerleştirildiğinde 45 saniye içinde hemoglobinin düzeyi ekranda görüldü. Ölçüm, absorbands değérleri 570-880 nm olan iki dalga boyunda yapılarak turbiditeden kaynaklanabilecek ölçüm hataları en aza indirilir. Bu

nedenle hemoglobin değeri, kan lipid, yüksek lökosit ve yüksek IgM konsantrasyonundan etkilenmez. Cihaz kalibrasyonu stabildir ve testler arasında kendisini sıfırlar. HemoCue fotometresinin fonksiyonu belirli bir hemoglobin konsantrasyonundaki kontrol küvetinin günlük bazda ölçümü ile kontrol edilebilir. Ayrıca özel olarak hazırlanmış yüksek, normal ve düşük düzeyde hemoglobin değérlerine sahip kalite kontrol materyalleri Hemo Trol ve Euro Trol mevcuttur. Cihaz sadece özel tasarlanmış mikroküvetleri ile çalışır. Mikroküvetler tek kullanımlıktır ve çevreye zararlı değildir. Kırılma, kanı sızdırma olasılıkları yoktur. Donör ve personel sağlığı açısından son derece güvenlidir. Cihaz küçük ve taşınması kolaydır. Dünyanın birçok ülkesinde, özellikle kan bankalarında donör hemoglobin ölçümü için yaygın kullanılan HemoCue hemoglobin analizörünün, tam kan sayım cihazı bulunmayan kan bankaları ve mobil kan toplama çalışmaları için çok uygun bir metod olduğu sonucuna varılmıştır.

*Marmara Üniversitesi Hastanesi
Kan Merkezi

HemoCue vs Coulter



Kan Saklama Cihazları

► Dr. Erhun Merdanoğulları*

Kan merkezlerinde kan ve komponentlerin saklanması için üç değişik cihaz kullanılır.

- I- Kan saklama dolabı
- II- Derin dondurucu
- III- Trombosit çalkalama cihazı ve/veya inkübatörü

I- Kan saklama dolabı

Tam kan, eritrosit süspansiyonu (ES) saklamak için tasarlanmış cihazlardır. Günümüzde trombositlerin (TS)

terilerin çoğalmalarını durdurma amaçlıdır. Bu amaç için ısı kontrolü son derece önemlidir. Cihazlar $+4^{\circ}\text{C}$ de $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ısı ayarıyla ısıyı sabit tutarlar. Cihaz montaj aşamasında istenilen ısı aralığında ayarlanır. Kapağın sık açılıp kapanacağı düşünülürse bu durumdan minimum etkilenmeli ve iç ısını stabil tutmalıdır. Ayarlanan ısı aralığının dışına çıkarsa görsel ve işitsel alarm verirler. Bu alarm otomatik şarj olabilen bir enerji kaynağı ile desteklenir. Isının kontrolü dış kısımda dijital olarak anlık izlenebilir ayrıca haftalık (bazı cihazlarda aylık) ısı değişim grafiğini görebileceğimiz kayıt bölümleri vardır. Otomatik defrost sistemi karlanmaya izin vermez. İçinde bulunan fan yardımıyla tüm raflarda aynı ısı aralığı korunur. Cihazın hacmi (...kan saklama kapasitesine sahip ... Litre hacimli diye belirtilir) kan merkezinin kapasitesine göre seçilir. Paslanmaz metalden gövde ve rafları (raflar kolay sökülebilmeli ve temizlenebilmelidir) bulunur. Raflar eğer kendinden bölmeli değil ise adaptör istenmelidir. Ancak bu sayede kanları dik saklayabilir ve plazmayı kontrol edebilirsiniz. Bazı dolaplar kanın alındıktan sonra soğuk ortamda torbalı lökosit filtreleriyle süzülmesine izin verecek şekilde dizayn edilmiştir. İngiltere gibi lökosit filtresi kullanımı zorunlu olan ülkeler için faydalı olabilir. Dolapların kapak kısmı içinin görünmesine izin verecek şekilde camlı olmalıdır. İç aydınlatması görüşü kolaylaştıracak güçte olmalıdır. Burada hatırlatılması gereken önemli bir husus yukarıda belirttiğim özellikler



Şekil 1: Kan saklama dolabı

de 9 gün bu cihazlarda saklanabilmesi için trombosit ile yapılan çalışmalar vardır. Ayrıca yıkanmış ES ler bir gün süreyle; taze donmuş plazmalardan kriyo hazırlamak amacıyla da geçici süreyle kan saklama dolapları kullanılmaktadır. Temel amaçları kanın içinde olası bak-



Şekil 2: Yatay tipte derin dondurucu



Şekil 3: Dikey tipte derin dondurucu

nedeniyle kanlar kesinlikle ev tipi buzdolaplarında saklanmamalıdır.

II – Derin dondurucular

Kan saklama dolaplarıyla bir çok ortak özellikleri vardır: Dış ve iç yüzleri paslanmaz metal malzemeden oluşur, havanın rahat dolaşması ve ısıнын tüm hacimde eşit dağılabilmesi için fan sistemleri vardır. Cihazın ısısı $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ısı hassasiyetiyle ayarlanabilir, kontrol paneli elektronik hafızalı ve haftalık grafik verebilecek özelliktedir, ısı sınırları emniyet değerlerinin dışına çıktığında sesli ve görsel uyarıcı sistemleri vardır, kolay temizlenebilir.

Kan merkezlerinde plazma, kriyo ve dondurulmuş ES, TS saklamak için kullanılırlar. Kısa süreli kök hücre saklanması da kullanılabilirler. Yatay ve dikey tipleri mevcuttur (Bkz. Şekil: 2-

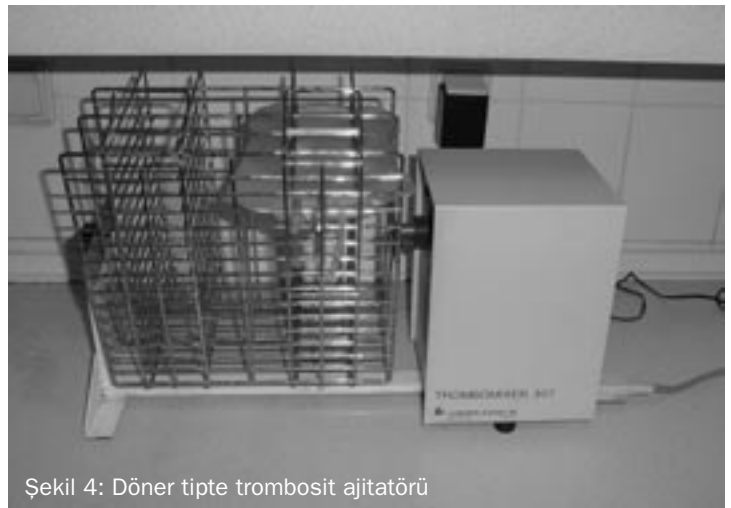
3). $-18 / -85^{\circ}\text{C}$ aralığında olabilirler. Plazmalar -40°C veya daha altındaki ısılarda 24 ay, $-30^{\circ}\text{C} / -40^{\circ}\text{C}$ arası ısılarda 12 ay, $-25^{\circ}\text{C} / -30^{\circ}\text{C}$ arasında 6 ay, $-18^{\circ}\text{C} / -25^{\circ}\text{C}$ de 3 ay saklanabilirler. Rafların ayrı ayrı kapaklı olması ısıнын korunmasında yardımcı olur. Çok sık açılıp kapanan dolaplarda ısıyı sabit tutmak amacıyla karbondioksit tüpü bağlanması gerekebilir.

III - Trombosit çalkalama ve/veya inkübatör cihazları

Trombositler oda ısısında ($20-25^{\circ}\text{C}$) saklanırlar. Saklanmaları sırasında sürekli ajite edilmeleri gerekir. TS leri ajite etmek için döner tarzlı (bkz. Şekil 4) ya da yatay sallama hareketi yapma kabiliyeti olan iki tip ajitatör vardır. (Bu gün yatay tip olan önerilmektedir.) Oda ısısını değişken olduğu düşünülürse sabit ısı altında çalkalamanın yapılması idealdir. Bu işlem içinde TS inkübatörleri kullanılmalıdır. Bu cihazlar TS lerin çalkalama işlemini yaparken dış yüzlerinde bulunan ısı kontrol panelinden sabit ısı ayarı yapılmasına izin verirler ayrıca haftalık ısı değişimlerini izleyebileceğiniz bir bölümleri mevcuttur. Isı ve çalkamada olabilecek istenmeyen değişimler sesli ve ışıklı alarmlar sayesinde kullanıcıları uyarır. Çalkalama işlemini horizontal olarak yaparlar. Trombositlerin yerleştirildiği raflar paslanmaz çeliktenidir. Raflar torbaların her iki yüzünün hava sirkülasyonuna izin verebilmesi için delikli dir. Raflar aferez yada random donör TS'lerin yerleştirilmesine uygun dizayn edilmiştir.

Cihazlarda teknik destek ve bakım sözleşmesinin önemi çok fazladır. Bir arıza durumunda aradığınız gün içinde hizmet alamazsanız kanlarınızı imha etmek zorunda bile kalabilirsiniz.

* Haydarpaşa Numune Hastanesi
Kan Merkezi



Şekil 4: Döner tipte trombosit ajitatörü

Kan Bankalarında Hemogloblin Testinin Önemi ve Ölçüm Yöntemleri

► *Emine Eyidoğan**

Kandaki hemogloblin miktarının ölçümüne hemoglobinometri denir. Hemogloblin ölçümü donör veya hastanın anemi, polisitemi ya da normal durumunun ayırımı için en kesin, doğru ve faydalı bir laboratuvar testidir. Oldukça sık ratlanan düşük hemogloblin düzeyi aslında bir hastalık değildir fakat başka patolojileri temsil eden bir işaret veya semptom olabilir. Bu nedenle bağış öncesi donörlerin hemogloblin düzeylerinin bilinmesi hem donöre hem kan bankasına ayrı bir güven sağlar. Bazen kan bankalarında donörlerin hemogloblin değerleri kan bağışından sonra test edilir. Bu uygulama sadece düşük hemogloblinli bir kanın kullanılması riskinin dışında donörün sağlığını da tehlikeye atabilir. Bir başka deyişle başlangıçta hemogloblin düzeyi düşük olan donörün sağlığı, kan bağışından kaynaklanan ilave kayıp ile birlikte daha fazla kötüleşebilir. Kan bağışını takiben nefes darlığı, anjinal ağrılar, karın ağrısı ve senkop meydana gelebilir.

Neden Hemogloblin ölçülmeli?

Eritrosit Süspansiyonunun veya Tam Kanın Kalitesi

Donörün hemogloblin miktarının bilinmesinin en önemli faydası, hastalara transfüze edilen eritrosit süspansiyonu veya tam kan ünitesi ile nakledilen minimum hemogloblin miktarının kesin olarak bilinen ve garanti edilmesidir. Hemogloblin tespitinin diğer bir potansiyel faydası ise, nakledilen eritrositlerin canlılığı ve fonksiyonunu etkileyebilecek doğuştan hemogloblin anomalilerinin (sferositozis, thalessemi ve diğer bazı kalitatif veya kantitatif hemogloblinopatilerde olduğu gibi) tespitidir. Örneğin talasemililerde, kalıtsal olarak hemoglobline ait bir veya daha fazla globin zincirinin üretim hızı azalmıştır. Buna bağlı olarak düşük hemogloblin seviyesi ile birlikte, hipokromi, mikrositozis ve farklı derecelerde hemoliz görülür.

Donör Seçimi

Donörde hemogloblin bakılması genel sağlık taramasının bir parçasıdır. Donördeki demir eksikliği kanı alan hastayı direkt olarak etkileyebilir, ancak anemiye neden olabilecek bazı gizli hastalıklar (örn. AIDS, malarya) alıcıya zarar vermektedir. Anemi, romatoid artrit veya gizli neoplazm gibi kronik hastalıkların işareti de olabilir. RPR taraması ile cinsel yolla bulaşan hastalıklar hakkında fikir sahibi olunabildiği gibi hemogloblin tayini de pek çok hastalık hakkında bir fikir verebilir.

Herkes kendine ait normal bir hemogloblin değerine

sahiptir. Eğer donörün hemogloblin düzeyi toplumdaki kabul edilen anemi düzeyi ile karşılaştırılırsa olası anemi farkedilemeyebilir. Örneğin daha önce normal hemogloblin değeri 16g/dl olan bir kadında, donör olarak başvurduğu anda kendi normalinden %25 daha düşük bir hemogloblin (12g/dl) düzeyi tespit edildiğinde kişinin anemik olduğu düşünülmeyebilir. Oysa klinik açıdan bireyin kendi normal Hb değerinin ± 2.7 'sinden daha fazla bir değişiklik klinik açıdan önemlidir.

Donörün Korunması

Hemogloblin tespitinde birincil amaç donörün korunmasıdır. Donörün bir bağışından bir sonraki bağışına hemogloblin düzeyindeki azalma eğilimi, donörde ileri araştırmayı veya diyet tavsiyesini gerektirir. Donörün hemogloblin düzeyi kan bağışından sonra kişinin yapısına ve bağış öncesi hemogloblin düzeyine göre yaklaşık 0,7 –1,5 g/dl azalır. Anemi belirtileri hemogloblin değeri 9 –10 g/dl iken başlayabilir. Bu nedenle kan bağışı sonunda hemogloblinin bu eşik değerin altına inmemesi için, bağış öncesi donörün hemogloblin düzeyi en az 11 – 11,5 g/dl olmalıdır.

Alıcının Korunması

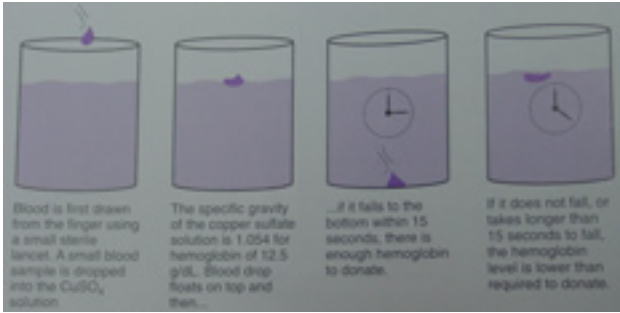
Donörde yapılan hemogloblin tayini sonrasında bağış olarak alınarak hastaya transfüze edilen kan veya kan komponenti içindeki hemogloblin miktarının kesin olarak bilinmesi, alıcıda transfüzyon sonrasında bir ünite kandan beklenen hemogloblin artışının olup olmadığının takibi ve hastanın tedavisinin buna göre planlanması açısından da önemlidir.

Kan Bankalarında Yaygın Laboratuvar Yöntemleri ve Avantajlar – dezavantajlar

Bakır Sülfat Testi

Bu yöntemde değişik özgül ağırlıkta bakır sülfat solüsyonları hazırlanır. Bir damla kan hazırlanan solüsyon yüzeyine dikkatlice bırakılır. Bu sırada kan damlası denatüre olan pazma proteinleri ile kuşatılır ve bir kitle gibi davranır. Eğer kan damlası hazırlanan 1.053 özgül ağırlıklı solüsyonda batarsa hemogloblin 12.5 veya daha yüksek, eğer 1.055 g/dl veya daha yüksektir. (Bkz. Şekil 1).

Hızlı, pahalı olmayan ve eğitilmiş personel gerektirmeyen bir testtir. Ancak test görecelidir ve kantitatif sonuç vermez. Bakır sülfat testi ile anormal yüksek hemogloblinli donörler tespit edilemediği gibi yüksek plazma proteinli ve yüksek lökositli kanlar yüksek hemogloblin sonuçlarının tahminine



Şekil 1: Bakır sülfat yöntemi

neden olarak yanılabilir. Bunun yanı sıra kan damla sayısı kap içerisinde arttıkça hazırlanan bakır sülfat solüsyonunun özgül ağırlığı da değişeceğinden bu durum hatalara yol açar. Ayrıca bakır sülfat biyolojik tehlikelidir ve çevreye zarar verir.

Hematokrit

Donör adayının uygunluğu donörün hemoglobinin veya hematokrit düzeyi ile belirlenebilir. Hematokrit 100 ml kan içindeki eritrosit hacmidir ve % olarak gösterilir. Hematokrit ölçümü, hemoglobinin ölçümü kadar hassas olsa da standardizasyondan uzaktır ve pek çok teknik hataya açıktır. Hemoglobinin değeri, HCT'in 3'e bölünmesi ile bulunabilirse de bu sadece normal MCHC (ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu = hemoglobin / hematokrit) ye sahip donörler için geçerli olacaktır. Ayrıca demir eksikliği gelişmekte olan bireylerde hemoglobinin, HCT'den daha hızlı azalır. Kapiller tüpün doldurulması, taşınması ve santrifüjü esnasında kırılma riski, eritrositler arasına sıkışmış plazma, antikoagülan kullanımı, santrifüj taşıyıcı plaka dengesi, dönüş hız ve zamanı, cetvelden okuma gibi kişisel beceriler sonuçları etkileyebilecek diğer faktörlerdir.

Kan Sayım Cihazları

Kan sayım cihazlarında hemoglobinin tespiti genellikle spektrofotometrik olarak yapılmaktadır. Hemoglobinin ölçüm medodu modifiye siyanmethemoglobindir. Siyanidin toksik etkisi nedeni ile bazı kan sayım cihazları azidmethemoglobinin metodunu da kullanabilir. Ölçüm, absorplanan ve ışığı dağıtan maddeler; lipidler, yüksek konsantrasyondaki lökositler tarafından etkilenir. Ayrıca analiz hassasiyeti otomasyonun derecesi ile değişir, fakat ± 0.3 g/dl doğruluk kolaylıkla elde edilir. Hücre sayıcılar, hemoglobinin düzeyinden çok hematolojik indeksler hakkında bilgi verirler ve eğitilmiş laboratuvar personeli gerektirirler. Pek çoğu doğru ve iyi kontrol edilirler ancak pahalı ve taşınmaz olduklarından kan bankalarında henüz tam olarak yaygınlaşmamıştır.

Fotometre

Hemoglobinin tespiti için referans metottur. Belirli bir filtredeki ışık kaybı veya absorban bileşiğin konsantrasyonu ile orantılıdır. Hemoglobinin fotometrik olarak siyanmethemoglobinin veya azidmethemoglobinin yöntemi ile ölçülür, sonuçlar hemen hemen birbiriyle aynıdır. Eğer manuel çalışılırsa testteki ana hata numune homojenizasyonu ve/veya dilüsyonundan kaynaklanabilir. Bu tür cihazlar kan bankalarında yaygın olmadıklarından merkez laboratuvarlarda bulunabilir. Hasta ve personel kan alımı için beklemek zorunda kalır. Kan sayım cihazlarında olduğu gibi bu tür cihazlarda bir diğer temel hata hücrelerin parçalanmasından kaynaklanan bulanıklığın yok edilmemesi veya çok sigara içenlerdeki karboksihemoglobinin siyanmethemoglobine ağır dönüşümüdür, bu yalancı yüksek okumalara neden olabilir.

Kan Gazları

Kan gazları cihazlarında hemoglobinin genelde ölçüm sonucu ile değil HCT üzerinden hesapla bulunur. Hemoglobinin değeri olarak ölçülen hematokritin üçte biri alınır. Hematokrit tespiti ise kan iletkenliğinin ölçümü ile yapılır. Bu, kanın elektrolit konsantrasyonu ve nispeten iletken olmayan eritrosit hacmine bağlıdır. Elektrolit ve/veya protein dengesi bozuk hastalarda ve MCHC (hemoglobin/hematokrit)'nin 320 - 333 g/l dar aralığı dışında hatalı sonuçlara neden olur.

Kan gazları sistemlerinde eğer hemoglobinin hesaplama değil de ölçülüyorsa, ölçümler ko-oksimetre ile gerçekleştirilen spektrofotometrik ölçümlerdir. Ko-oksimetrelili kan gazı cihazları ile ölçülen hemoglobinin çok spesifik ve doğru, ancak oldukça yüksek maliyettedir.

Karşılaştırmalı Yöntemler (Talquist, Sahli)

Talquist yönteminde kurutma kağıdı üzerine bir damla kan damlatılır ve damla kuruduğunda, meydana gelen renk, % hemoglobinin olarak ve %10 aralıklarla derecelendirilmiş standard renk yelpazesi ile karşılaştırılır.

Derecelendirilmiş bir tüp olan Sahli de ise 0.1 HCl solüsyonunda, referans tüpteki 20 µl'lik numune rengine uygun dilüsyonu gerektirir. Problem sirküle eden hemoglobininin tam asit hematine çevrilememesi ve standard renk ile uygunluk zorluğundan kaynaklanır. Karşılaştırmalı yöntemler manuel yöntemler olup, test sonrası oluşan renk, standardındaki ile göz ile karşılaştırılır. Hızlı, basit ve düşük test maliyeti gibi avantajlara sahip olsalar da bütün karşılaştırmalı metotlarda olduğu gibi hatalı sonuç, düşük hassasiyet ve özellikle açık renklerde göreceli renk karşılaştırma güçlükleri de beraberinde getirirler.

* Biyolog Teknomed Sağlık Gereçleri Tic. Ltd.