

Damla
Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği Bülteni
EYLÜL 1998 / SAYI: 24

KAN MERKEZLERİMİZİ TANIYALIM

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Balcalı Hastanesi Kan Merkezi

Dr.Nur Banu KILIÇ

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Kan Merkezi 1972 yılında kan istasyonu olarak kurulmuştur (resim 1). 1985 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından A tipi Kan Merkezi olarak nitelendirilmiştir. Halen 1 uzman doktor, 1 hemşire, 26 sağlık teknisyeni, 1 sekreter ve 1 personel ile 24 saat hizmet vermektedir.

Ç.Ü.T.F.Kan Merkezi yaklaşık 600 metrekare alan üzerinde:

İdari Kısım,
Bekleme Salonu,
Danışma,
Kan Alma Salonu,
Kan Ürünü Hazırlama ve Saklama Laboratuvarı,
Mikrobiyolojik Seroloji Laboratuvarı,
İmmunohematoloji Laboratuvarı,
Aferez Ünitesi,
Toplantı ve Dinlenme Odası,
Arşiv,

Soğuk Oda ve Depolardan oluşmaktadır. Ek olarak Medikal Onkoloji Bilim Dalı ile ortak kullanılan Cryopreservation Ünitesi; periferik kök hücre, kemik iliği gibi transplant ürünlerinin saklanması amacıyla oluşturulmuştur.

Kan istemiyle merkezimize başvuranların talepleri, çoğunluğu takas olmak üzere nadiren bağışla alınan kanlardan karşılanmaktadır. Kan alınacak kişiler tam kan sayımı, kan grubu kontrolü ve gerekli sorgulamalardan sonra uygun bulunurlarsa donör olarak kabul edilmektedir (resim 2). Gereksinime göre kanlar tekli, çiftli, pediatrik ya da üçlü torbalara alınmakta, kan alma işlemi sırasında otomatik tartı ve çalkalama cihazından yararlanılmaktadır. Kan alma işlemi klimalı ve televizyonlu özel bir salonda yapılmakta işlem sonrası donörlere meyve suyu ve bisküvi ikram edilmektedir. Ortalama yıllık 3000 donörden kan alınırken bu sayının yalnızca 1000 kadarı bağıştır. Kalan donörler hasta yakınları ve onların temin ettiği vericilerden oluşmaktadır.

Alınan kanlar, Kan Ürünü Hazırlama Saklama Laboratuvarına aktarılır. Burada soğutmalı santrifüjlerle uygun derece ve devirde eritrosit, plazma, trombosit zengin plazma ve trombosit gibi gereken komponentler ayrılır. Ayırma işlemi manuel ve otomatik ekstraktörlerle yapılmaktadır. Komponentlerin lökositlerinin azaltılması ve/veya plazmanın uzaklaştırılması gerekli görülürse lökosit filtrasyonu ve eritrosit yıkama işlemleri yapılabilmektedir (resim 3). Lökosit filtrasyonu için laboratuvar tipi lökosit filtrelerinden, eritrosit yıkama işlemi için ise otomatik kan işlem cihazından yararlanılmaktadır. Ürün hazırlama sırasında gerektiğinde kan torbalarının hortumları özel bir cihaz yardımıyla steril olarak birleştirilebilmektedir. Bu işlem özellikle kan volümü ihtiyacının düşük olduğu pediatrik hastalar için uygulanmaktadır. Bir ünite tam kan küçük volümlere, kontamine edilmeden ayrılarak kalan kısım saklanabilmektedir.

Hazırlanan komponentlerden eritrositler 2-8 C derecede çalışan üç adet kan saklama dolabında çoğunluğu SAG-M ilaveli olarak, trombosit konsantreleri agitatorde, plazmalar ise -20 C derecede ve -40 C derecedeki derin dondurucularda son kullanma tarihlerine kadar saklanmaktadır (resim 4). Eğer kan ürünü herhangi bir hasta adına hazırlanmışsa klinik tarafından özel bir taleple bulunulmadığı takdirde üç gün süreyle hasta adına ayrılmaktadır. Bu

süre kullanılmayan kanlar merkezin kayıtlarına geçirilerek ihtiyacı olan başka bir hasta için hazırlanmaktadır.

Hastanemizde komponent kullanımının yaygınlaştırılması amacıyla hemşire, araştırma görevlisi ve kliniklere yönelik panel, seminer ve konferanslar düzenlenmektedir. Ancak bu tip hizmet içi eğitimlere rağmen komponent kullanımında istenen düzey sağlanamamıştır. Aylık ortalama 2500 ünite kan ve kan ürünü hazırlanmaktadır. Bu ürünlerin %60'ı tam kan kalanı komponent şeklindedir. Eritrosit komponentlerinin %20'si yıkanmış eritrosit konsantresi şeklinde talep edilmektedir. SAG-M eklenerek saklanmaktadır. Hazırlanan ürünlerin yaklaşık %20'si trombosit konsantresidir. Bunların da %55 kadarı aferez ile kalanı tam kandan elde edilmektedir. Kan merkezimizde 1997 yılı Mart ayı örnek alınarak çıkarılan Tablo 1'de kliniklerin kan kullanımı verilmiştir. Belirtilen tarihte cross-match/transfüzyon oranı 4/1'dir. Bu durum kan merkezi iş yükünü fazlasıyla artırmaktadır.

İmmünohematolojik testlerde son 4 yıldır jel-santrifügasyon yöntemi kullanılmaktadır (resim 5). Bu yöntemle ABO-Rh tayini, cross-match, reverse gruplama, direkt combs, antikor tarama, antikor tiplendirme, antikor titresi, Rh subgrup ve ABO-Rh dışı eritrosit antijenleri incelenebilmektedir. Bölgemizde yoğun oranda rastlanan kalıtsal kan hastalığı olanlara hazırlanan kan ürünlerinin ABO dışında kalan Rh subgrup ve bazen diğer antijenlerinin saptanarak transfüzyona hazır hale getirilmesi bu hastalarda transfüzyon etkinliğini artırmaktadır. Ek olarak babalık tayinleri için gerekli olan eritrosit antijenleri tesbiti de Adli Tıp Anabilim Dalı ile birlikte yürütülmektedir.

	HAZIRLANAN KAN MİKTARI (ÜNİTE)	TAZE-TAM KAN İSTEM ORANI (%)	KOMPONENT İSTEM ORANI (%)
Acil-İlk Yardım	283	78.44	21.56
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	407	28.10	71.90
İç Hastalıkları	563	34.83	65.17
Yoğun Bakımlar	411	65.93	34.07
Cerrahi (Genel Çocuk-GKDC Beyin ve Plastik Cerrahi)	1028	66.62	33.38
Diğer Cerrahi Servisler (KBB, Üroloji, Ortopedi) ve Reanimasyon	326	67.68	32.32
Kadın Hastalıkları ve Doğum	160	71.88	28.12
Diğer Dahili Servisler (Enfeksiyon- Göğüs Hast.-Kardiyoloji ve Nöroloji)	106	57.91	42.09
TOPLAM	3284	57.46	42.54

Mikrobiyolojik seroloji laboratuvarına gelen kan örnekleri donör kabulü sırasında alınmaktadır. Plazmaları ayrılan bu örneklerde HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV 1-2 ve RPR taramaları yapılmaktadır (resim6). RPR dışında kalan testlerde mikropartikül enzim immün assay tekniği kullanılmaktadır. Bu teknikle çalışan tam otomatik iki cihaz sayesinde bir örneğin çalışılması en fazla bir saat içerisinde tamamlanmaktadır. Reaktif bulunan örnekler tekrar çalışılmaktadır. Eğer aynı sonuç elde edilmiş ve kan torbaya alınmışsa komponent imha edilmekte, aksi takdirde donöre kan veremeyeceği bildirilmektedir. İki kez reaktif sonuç alınan donörlere yazılı olarak durum bildirilmekte konu hakkında bilgi verilerek ilgili kliniğe başvurularını önerilmektedir. İkinci tekrarla negatif bulunan örnekler için donörden yeni numune bu kez antikoagülsüz tüpe alınmakta ve test, serumla tekrarlanmaktadır. Yine negatif sonuç alınırsa uygun aralık belirlenerek donörün verilen belgeyle tekrar kan merkezine başvurusu önerilmektedir. HIV ile ilgili pozitif test sonuçlarında iki kez pozitiflik elde edilmişse western blot testi ile yeni örnek tekrar çalışılmakta ve alınan sonuca göre donör bilgilendirilmektedir. RPR pozitif örneklerin tekrarı da pozitif ise TPHA ile ve serum kullanılarak yeni test çalışılmaktadır.

Mayıs 1993'te kurulan aferez ünitesinde tek donör trombosit elde edilmektedir (resim 7). Halen beş cihaz ile hastane gereksinimini karşılamaktadır. Hazırlanan trombositler beş günlük trombosit saklama torbasında ajitatörde muhafaza edilmektedir. Tedavi amaçlı plazma exchange, eritrosit exchange, periferik kök hücre toplama işlemleri de yapılmaktadır. 1 Mayıs 1998'e kadar toplam aferez sayısı 10.618'dir. Bunların 10.531'i tromboferez, 41'i plazma exchange, 37'si PBSC toplanması, 6'sı eritrosit exchange ve 3'ü lökoferezdir.

Uygunluk testleri yapıp hasta adına hazırlanmış ürünler merkezimizde hasta adına saklanarak gerektiğinde servislere gönderilmektedir. Taze donmuş plazmalar ise merkezimizde bulunan plazma thaw cihazı ile eritildikten sonra kliniğe gönderilmektedir.

Hasta ve donörlerle ilgili kayıtlar bilgisayarlara kaydedilerek saklanmaktadır. Ancak bu amaçla kullanılan özel bir program mevcut değildir.

KAN BANKACILIĞI AÇISINDAN AIDS/HIV SORUNU: GÜNCEL DURUM

Selim Badur

i.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı-
Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı-Çapa / İSTANBUL

1998 yılının ortalarına gelirken, **AIDS/HIV** ile ilgili olarak hernekadar tedavi ve aşı eldesi gibi pratik önemi olan alanlarda kesin çözümlere ulaşılmamış ise de, konu ile ilgili bilgi birikiminin günümüze dek çok süratli geliştiğini söylemek olasıdır. Gerçektende, ilk olguların bildirildiği 1981 yılından başlayarak, etken ve çeşitli özellikleri ayrıntılı biçimde ortaya konmuş; bulaş yolları, replikasyon mekanizması ve immünopatogenez gibi konularda önemli bulguların eldesi kısa sürede gerçekleşmiştir. İçinde bulunduğumuz yılın ise, HIV-konak hücre ilişkisinde rol oynayan **koreseptör** kavramının ve bu moleküllerin tedavide kullanımının kesinlik kazanacağı bir süreç olduğuna inanmaktayım. Bu yazıda, alınan önlemler sonucu güncelliğini kısmında olsa yitirmiş olan; ancak dönem dönem, bir kaza sonucu ortaya çıktığında dramatik biçimde yeniden gündeme gelen **transfüzyon-AIDS** ilişkisi ele alınacaktır. (*)

HIV'in kan ve kan ürünleri ile bulaştığına dair ilk bulgular 1982 yılına uzanmaktadır. Bu tarihte hemofili hastalarının tedavisinde kullanılan ve infekte oldukları sonradan belirlenen pıhtılaştırma faktörleri ile infeksiyonun bulaşabileceği kanıtlanmış (11); 1984 yılının sonunda ise, transfüzyon sonucu ortaya çıkan HIV infeksiyonları konusu, tıp dünyasının ilk sıralarını işgal etmiştir (12). Bu durumun belirlenmesi, hastalar arasında ciddi boyutlarda endişeye yol açmış; **kan verme** işleminin bile risk taşıdığı şeklinde, gerçeklerle ilgili olmayan söylentiler yayılmış; hastalar sadece kendi belirleyecekleri ve yakın çevrelerinden alınacak kanların kendilerine uygulanmasına izin vermişler; günümüzde pek de yaygınlaşmamış olan **otolog transfüzyon** kavramı geliştirilmiş ve sonuçta, ABD başta olmak üzere birçok ülkede, transfüzyon sayısında önemli oranlarda azalmalar kaydedilmiştir. Hastalar arasında bu tür bir paniğin doruk noktaya ulaştığı 1983-1985 yılları aynı zamanda birçok ülkede kan bankalarındaki rutin tarama testlerinin uygulamaya konduğu tarihtir. O yıllardan günümüze gelindiğinde bir yandan donörlerin eğitim kampanyaları ile bilgilendirilmeleri; öte yandan geçen süre zarfında daha duyarlı ve özgül tarama testlerinin geliştirilmesi sonucu, **transfüzyona bağlı HIV bulaşığı** olasılığının azaldığı görülmektedir.

1- Transfüzyona bağlı HIV infeksiyonlarının epidemiyolojisi:

"Transfüzyon-AIDS" ilişkisinin sayısal boyutlarına değinmek için, 48 Avrupa ülkesinin epidemiyolojik verilerinin toplandığı "**Avrupa AIDS Epidemiyolojisi**" merkezinin dört ayda bir yayınladığı raporlardan örnekler vermek istiyorum. 1998 yılı Nisan ayı itibarıyla, bu merkeze bildirilen toplam 200.276 erişkin olgunun, bulaş yollarına göre dökümleri Tablo 1'de verilmiştir.

Görüldüğü gibi Avrupa'da 1998 yılına girildiğinde toplam AIDS olgularının sadece %1,7'sinde olası bulaş yolunun transfüzyon olduğu anlaşılmaktadır. Ülkemizde ise, bu merkeze bildirilen toplam 253 olgunun %6,3 ünde risk faktörü olarak kan nakli gösterilmiştir.

Yine aynı raporda belirtilen ve transfüzyona bağlı erişkin AIDS olgularının yıllara göre dağılımları tablo 2'de gösterilmiştir.

Bu tablodaki verilere bakıldığında, Avrupa'daki erişkin AIDS olgularından, 1986 yılında %3.5'l transfüzyona bağlı olarak ortaya çıkarken; bu oran 1992 yılında %1.7'ye, 1997 sonunda ise %0.6'ya düştüğü görülmektedir; bu önemli orandaki azalma, kan bankalarındaki sistematik donör taramalarının yanısıra, donörlere yönelik eğitimin ürünü olarak karşımıza çıkmaktadır.

Olayın sayısal boyutlarına ait vereceğim son örnek, aynı merkezin yukarıda değindiğim son raporunda yer almayan, ancak 1997 yılı ortasında yayınlanan raporunda belirtilen 1990-1996 yıllarına ait donör taramalarında elde edilen bulgulara aittir (3). Tablo 3'de örnek olarak verdiğim beş ülkede gerçekleştirilen donör tarama sayısı ve pozitiflik oranları belirtilmiştir.

Bu tablo'dan farklı ülkelerde, toplum genelindeki seropozitifliğin göstergeleri sayılabilecek sayılara ulaşmak mümkün olabilir. Örneğin Fransa'da 1990 yılında 10,3/100.000 olan seropozitifliğin, 1996 yılına geldiğinde 2,4/100.000'lere düştüğü; İngiltere ve Rusya'da donörler arasındaki seropozitifliğin belirli düzeyini koruduğu görülmektedir. Buna karşılık hem Yunanistan'da, hem de ülkemizde tablo 3'de çizilen dramatik tablonun gerçekleri yansıtmadığını düşünüyorum. Örneğin Türkiye'den 1993 yılında bildirilen toplam 343.627 kadar donöre ait verinin, bir yıl içinde taranmış gerçek donör sayısının çol altında olduğu açıktır. Buna karşılık, 1997 yılına ait 7/100.000 oranındaki seropozitiflik ülkemiz için oldukça yüksek bir orandır; bu durumu, kendilerinden şüphelenen bazı kişilerin kan bankalarına donör olarak başvurarak anonim test yaptırma eğilimine bağlı olarak, pozitiflik oranının yapay şekilde yükselmiş olmasının; ayrıca bildirimdeki bazı kavram karışıklıklarının yol açtığını söylemek mümkündür.

Ancak tüm bu sayısal veriler, Avrupa genelinde, transfüzyona bağlı AIDS olgularının başından beri tüm olgular içinde küçük bir bölümü oluşturduğunu; ayrıca yıllar içinde, bu oranın daha da gerilediğini göstermektedir.

Transfüzyona bağlı AIDS (TBA) olgularının belirlenmesinde farklı ülkelerde farklı yöntemlerden yararlanılır. Örneğin bazı ülkelerde, tarama sırasında seropozitif olduğu saptanan donör adayının, eski dönemlerde kan verdiği kişiler kontrol edilerek infeksiyonun onlara bulaşıp bulaşmadığı araştırılır. Bir diğer uygulama ise, seropozitif olduğu saptanan ve geçmişte kan nakli yapılmış olan bireylere, retrospektif olarak kan vermiş kişilerin incelenmesidir. Nihayet bir diğer yaklaşıma göre, sistematik olarak kan veren bir bireyin, bir süreden beri kan vermediği saptandığında, kişi bulunarak incelemeye alınmakta ve serolojik tanıya gidilmektedir.

**"Dramatik biçimde" şeklinde tanımladığım olaylar, çeşitli dönemlerde ülkemiz yazılı/görsel yayım organlarında, magazin türü haberler olarak karşımıza çıktığı gibi, 1990'lı yılların başında Fransa'da büyük yankı uyandıran "kontamine kan skandalı" örneğinde olduğu gibi, gelişmiş batı ülkelerinde de meydana gelebilmektedir (1).

Tablo 1:

Avrupa'da erişkin AIDS olgularının bulaş yollarına göre dağılım (2)

Olası bulaş yolu	Avrupa (%)	Türkiye (%)
Homo/biseksüel ilişki	69.576 (34,7)	38 (15)
Damariçi uyuş.kullanımı	80.098 (39,9)	31 (12,3)
Homo/bisek.+Damariçi uyuş.	2.921 (1,5)	3 (1,2)
Hemofili/koagül.tedavi	3.274 (1,6)	3 (1,2)
Transfüzyon	3.457 (1,7)	16 (6,3)
Heteroseksüel ilişki	30.518 (15,2)	106 (41,9)
Belirlenemeyen	10.891 (5,4)	56 (22,1)
Toplam	200.726	253

2- Transfüzyona bağlı HIV infeksiyonlarını önleme yöntemleri:

Bu amaçla, bir kısmı sosyal ağırlıklı, bir diğer bölümü ise laboratuvar çalışmalarına dayanan çeşitli yöntemlerden yararlanılabilir. Örneğin özellikle eğitim düzeyi yüksek kesimlerin “donör eğitimi” programları sonucunda, AIDS/HIV açısından riskli davranış gösterdiklerinin bilincine vardıklarında kan verme işleminden uzak durdukları belirlenmiştir. Donasyonun gönüllü ve anonim biçimde sürdürüldüğü ABD’de, kan verme işleminden önce her donöre çeşitli yöntemlerle danışmanlık hizmeti verilmesi sonucu, kendilerine HIV ile temas etmiş olma riski görünenlerin “donör” adaylığından çekildikleri (self-exclusion) saptanmıştır. Ancak bu tip bir yaklaşımın Tayvan gibi ülkelerde fazla etkili olmadığı da bildirilmektedir (29). Vericilerin seçiminde, kendilerinin çeşitli dökümanlarla bilgilendirilmeleri, daha sonra verilme istenen mesajın anlaşılıp anlaşılmadığının anketlerle denetlenmesi gibi uygulamaların yanısıra, örneğin damar içi uyuşturucu kullanıp kullanmadıklarının saptanması amacıyla, fizik muayeneye tabi tutulmaları gibiyöntemlere de başvurulabilir. “Eğitim” uygulaması, örneğin gereksiz kan kullanımının azaltılması amacıyla, sağlık personeline yönelik de olabilmektedir.

Riski azaltma çalışmalarının laboratuvar bölümünde ise, hernekadar hücresel komponentler içeren ürünler veya taze plazma için uygulanamaz ise de, diğer kan/kan ürünlerindeki olası virusların inaktivasyonu çalışmalarının yanısıra, donörlerin HIV enfeksiyonu açısından taranmaları yer almaktadır. Bu amaçla kitlesel taramaları kolaylaştırmak için çok sayıda serum örneği havuzlarının, idrar, tükürük örneklerinde veya kağıda emdirilmiş kuru kanlarının incelenmesi gibi bilimsel değerleri tartışma konusu olan öneriler bir yana bırakılır ise, her donör kanının ayrı ayrı deneye alınması görüşü geçerliğini korumaktadır (19). Kan bankalarında kullanılacak tarama testlerinde arar bazı özellikler vardır. Örneğin kullanılacak testin, yalancı negatiflik ve yalancı pozitiflik oranları en aza indirgenmiş olmalı; diğer bir değişle deneyin maksimum duyarlığa ve optimal özgüllüğe sahip olması koşulu aranmalıdır. Ayrıca kullanılacak test, etkenin farklı varyantlarını (HIV -2 veya HIV-1 O subgrubu gibi) saptayabilmeli; serolojik/virolojik pencere dönemi elverdiğince kısa olmalıdır. Pratiklik açısından ise, yöntem otomasyona uygun olmalı; kısa sürede sonuç vermeli, diğer kan bankası testleri ile uyum gösterecek biçimde standart formatta olmalı ve nihayet uygun ekonomik özellikleri taşımalıdır (29).

3- Kan bankalarında kullanılan tarama testleri:

Günümüzde, evrensel kabul görmüş tarama testi, Anti-HIV antikorlarının aranmasına yönelik ELISA tekniğidir. Doğal olarak en uygun ELISA testinin seçiminde, kitlerde yer alan antijenin özelliklerinin yanısıra, ELISA formatının (tipinin) da rolü bulunmaktadır. İlk yıllarda üretilen Anti-HIV ELISA kitlerinde, doku kültüründe üretilen virusun lizatları antijen olarak kullanılmış idi. Ancak ortamdaki çeşitli proteinlerin varlığı nedeniyle, yaklaşık 1/500 oranında yalancı pozitifliğe yol açan bu ürün, yerini önce rekombinant sonra da sentetik peptitlerin antijen olarak kullanıldığı ELISA kitlerine bırakmıştır. Öte yandan günümüzde indirekt ELISA yerine, **kompetitif** veya daha yaygın biçimde “**çift antijen ELISA**” (sandwich ELISA; double antigen ELISA) formatlarından yararlanılmaktadır. 3.jenerasyon testler denilen çift antijen testlerinde antijen konjugatı kullanıldığından, IgM dahil, tüm izotiplerden antikorları saptamak olasıdır(22). Buna bağlı olarak, söz konusu formatın, diğer ELISA tiplerine oranla daha duyarlı olduğunu ve serokonveksiyon süresini kısalttığı bilinmektedir. Kısa bir süre öncesine kadar, ELISA kitlerinde, virusun B subtipine ait antijenlerden yararlanılır idi. Ancak bu durum, son yıllarda önemi anlaşılan ve özellikle Afrikadan izole edilen suşlar arasında sıklıkla rastlanılan O subtipine karşı oluşan antikorları belirlemede sorun yaratmış (28); bu durumun anlaşılmasını takiben, 1994 yılından başlayarak, kit üreticileri, O subtipine özgü antijenleri de kitlerine ilave ederek soruna çözüm getirmişlerdir (15,27). Anti-HIV ELISA kitlerinin belirtilen açılardan zaman içindeki gelişimine paralel olarak, ilk yıllarda gözlenen **yalancı pozitif ve negatif ELISA** sonuçlarına daha az rastlanılmaktadır. Uygun olmayan malzeme kullanımı veya hatalı çalışmaya bağlı yalancı negatiflikler (1/11.000.000 risk) bir yana bırakılır ise, bugün için ELISA kitlerine ait en önemli sorun, henüz antikor oluşturmamış, yeni infekte kişilerdir (11).

Ancak, kaydedilen gelişmelere paralel olarak, günümüzde **pencere** veya **boşluk** dönemi şeklinde tanımlanan serokonversiyon öncesine ait sürenin, üç aydan, ortalama 22 güne inmiş olduğu kabul edilmektedir (13). Buna karşılık yalancı ELISA pozitifliği, çeşitli otoantikorların varlığının yanısıra, bazı karaciğer hastalıklarında, transplantasyon sonrasında, influenza aşısı

olmuş kişilerde, Stevens-Johnson sendromunda, bazı akut DNA virus infeksiyonlarında; ayrıca ısıtılarak inaktive edilmiş örneklerde ya da lipemik veya hemolizli serumlarla çalışıldığında karşımıza çıkabilir (30). Bu tip olasılıkların belirlenmesi amacıyla, her ELISA pozitifliğinin **doğrulama testi** şeklinde tanımlanan teknikler ile komfirme edilmesi gerekmektedir.

Tablo 2:

Avrupa'da transfüzyona bağlı erişkin AIDS olgularının yıllara göre dağılımları ve ölüm oranları (2)

Yıl	Toplam olgu sayısı	Transfüzyona bağlı		Kaybedilen olgu
		Olgu	(%)	
1986	3.663	127	(3,5)	105
1988	10.294	346	(3,4)	300
1990	15.809	348	(2,2)	272
1992	19.972	347	(1,7)	271
1993	21.853	351	(1,6)	253
1994	24.745	268	(1,1)	175
1995	23.715	257	(1,1)	120
1996	20.126	161	(0,8)	55
1997	10.774	67	(0,6)	15

4- ELISA pozitifliğinin doğrulanması:

Doğrulama amacıyla bir dönem FA ya da RIPA gibi testlerden yararlanılmış ise de, günümüzde yaygın olarak **Western-Blot (WB)** yöntemi kullanılmaktadır. Bu testte, nitroselüloz bantlar üzerinde, molekül ağırlıklarına göre farklı bölgelerde yer alan HIV antijenleri, seropozitif kişilerin spesifik antikorlarına bağlanmakta; oluşan antijen-antikor reaksiyonu, presipite olma özelliğindeki bir enzim-substrat sistemi ile görülebilir şekilde sokulmaktadır. Evrensel kabul görmüş olmasına rağmen, **WB pozitifliği** konusunda henüz bir standardizasyon bulunmaması, tekniğin olumsuz özelliğidir (21). Ayrıca, oldukça spesifik bir teknik olan WB yönteminde duyarlılık sorunu olduğu unutulmamalıdır. Buna bağlı olarak, "ELISA (+), WB (?/-)" şeklinde formüle edilen her sonucun, yalancı ELISA pozitifliği olarak ele alınmadan önce, bu tip olguların bir süre (ortalama altı ay) takip edilmeleri yoluna gidilmelidir (4,20). Batı ülkelerindeki donör taramalarında, ELISA pozitifliklerinin %5'inde WB ile indeterminate sonuç alındığı bildirilmiş; özellikle p17, p24, p55 bantlarının varlığı ile ortaya çıkan bu tip olguların üç aylık aralarla iki kez kontrol edilmeleri önerilmiş; bu süre sonunda tabloda bir değişme olmuyor ise, ayrıca kişilerde herhangi bir semptom yok ise ve riskli davranış söz konusu değilse, bu bireylerin infekte olmadıklarının kabul edilmesi önerilmiştir (30).

Katı faz olarak nitroselülozun kullanıldığı bir dizi yöntem (RIBA; LIATEK; INNOLIA....), yalancı pozitiflik olasılıkları daha düşük olmaları nedeniyle (yani indeterminate WB durumunda tamamen negatif kalma özelliği) WB tekniğine alternatif olarak önerildilerse de, duyarlıklarının daha az olmaları sonucu, WB kadar yaygın kullanım alanı bulmamışlardır (24). Bu arada, çeşitli gelişmiş ülkelerde, 1992 yılından başlayarak **Anti-HIV ½ kombine ELISA** testinin rutin kullanıma girmesinden sonra, doğrulama testi olarak **HIV-1-WB** tekniğinin yetersiz olacağı düşünülmüş ve aynı anda HIV-2 doğrulamasını da yapabilecek ilave testlerin kullanımı gündeme gelmiştir. Örneğin bir çalışmada, **HIV ½ recombinant strip immunoblot assay (SIA)**'in, alternatif doğrulama testi olarak kullanılabilirliği ileri sürülmüştür (5).

5- Diğer testler:

Kan bankalarında, özellikle acil durumlarda, spesifik antikor araştırmaları için hızlı tanı tekniklerinden (rapid test-quick test) yararlanılması bir tartışma konusudur. Bu amaçla lateks aglutinasyon, eritrosit aglutinasyonu, dip stick, kard testleri gibi bir çok ürün bulunmaktadır. Ancak, basit ve süratli olmaları açasından yararlı gibi görünen tüm bu testlerin kullanımında bazı sorunlar bulunduğu unutulmamalıdır. Yapılan karşılaştırma çalışmalarında, hızlı testler ile negatif sonuçların doğrulama gerektirmediği; bu testlerin negatif prediktif değerlerinin ELISA'ninkine benzer olduğu ileri sürülmüşse de (6); genel kanı, hızlı testlerin yeterince duyarlı olmadığıdır(9). Kuramsal olarak basit görünen bu testlerden, örneğin lateks aglutinasyonunun yorumunun güç olduğu; bu nedenle muayenehanelerde, acil servislerde ya da bireylerin evlerinde bu tip uygulamalardan uzak durulması gereğine değinilmiş; özellikle laboratuvar deneyimi olmayan kişilerce ve kalite kontrolü sağlanmadan yapılacak uygulamaların ciddi sorunlar doğuracağı kabul edilmiştir(26). Son yıllarda geliştirilen ve ELISA esasına dayanan hızlı testlerde de, kullanılan katı faza bağlı olarak non-spesifik bağlanmaların olabileceği; sonuçta hangi tipten olursa olsun, hızlı testlerin, ELISA'ya oranla yeterince özgül ve duyarlı olmadıkları görüşü ağır basmaktadır(30). Bu durumda, aynı antijen kullanılsa bile, inkübasyon sürelerinin yanısıra, katı faz ve konjugenin özelliklerine bağlı olarak, donör taramaları için hızlı testlerin, ELISA alternatifi olarak değerlendirilmelerinin sakıncalı olduğu unutulmamalıdır.

Kuramsal olarak, spesifik antikorların belirlenmesinden önceki dönemde HIV-antijeninin (p24) saptanması ve bu gösterge aracılığı ile erken tanıya gidilmesi olasıdır. Ancak yapılan tarama çalışmaları, p24-ELISA testinin yetersizliğini ve donörlerde antijen taramasının erken tanı için uygun olmadığını göstermiştir (23). Bu olumsuzluğa antijen-antikor komplekslerinin yol açağını düşünen bazı araştırmacılar, parçaladıkları immükomplekslerden antijeni ayrılaştırarak, bu göstergenin saptanma olasılığının arttırılabileceğini öne sürmüşlerdir (25). Bir dönem yararsızlığı konusunda fikir birliği edinilmiş olan antijen taramaları, Tayland'da 1991 yılından başlayarak; FDA'nin 8 Ağustos 1995 tarihinde almış olduğu bir karar sonucu ise ABD'de kan bankalarında, rutin donör taramaları içine alınmıştır.

Tablo 3:
Beş Avrupa Ülkesi Kan Bankalarına ait Veriler(3).

Yıl	Fransa	İngiltere	Rusya	Yunanistan	Türkiye
1990	409/3.971.207x (10,3)xx	35/2.820.038 (1,2)	1/5.304.967 (0,02)	67/7436.662 (14,9)	0/652.617 (0)
1991	310/3.932.270 (7,9)	26/2953.241 (0,9)	0/5.662.553 (0)	113/470.575 (24)	0/789.407 (0)
1992	217/3.656.310 (5,9)	26/2.903.970 (0,9)	1/5.126.706 (0,02)	48/329.780 (14,6)	36/1.011.881 (3,6)
1993	159/3.406.106 (4,7)	20/2.918.846 (0,7)	1/4.590.467 (0,02)	81/442.085 (18,3)	47/343.627 (13,7)
1994	118/3.139.351 (3,8)	16/2.910.246 (0,5)	1/4.188.525 (0,02)	53/351.002 (15,1)	38/847.001 (4,5)
1995	70/2.907.682 (2,4)	30/2.901.042 (1)	6/4.000.311 (0,1)	64/406.881 (15,7)	77/901.816 (8,5)
1996	67/2.757.507 (2,4)	24/2.914.896 (0,8)	22/4.243.173 (0,5)	58/402.336 (14,4)	73/1.048.479 (7)

(x:HIV (+) / taranan donör; xx:HIV(+) / 100.000)

6- Son söz

Kan bankaları açısından örneklerin HIV enfeksiyonu yönünden taranması önemli ve ciddi bir konudur. Yukarıda belirttiğim şekliyle hernekadar transfüzyona bağlı AIDS olgularının sayısı çok az ise de dönem dönem konu ile ilgili dramatik gelişmeler yaşanmaktadır. Donör taramalarının tarihsel gelişimini iki açıdan değerlendirmek mümkündür:

- a) Batı ülkelerinde, 1985-1990 yılları arasında, ELISA testlerinin kalitesindeki gelişime ve donör seçim kriterlerinin uygunluğuna bağlı olarak, yalancı-ELISA pozitifliği oranında bir azalma kaydedilmiş; 1991-1992 döneminde çeşitli nedenlere bağlı olarak (kit üretiminde sorun, influenza aşısı olanların durumu, HIV 1/2 kombine testlere geçiş gibi) geçici bir yalancı pozitiflik artış dönemi yaşanmış; ancak özellikle 1995 yılından sonra belirli bir standartizasyon sağlanmıştır.
- b) Taramalara rağmen, transfüzyona bağlı HIV enfeksiyonu riski ABD'de 1985 yılında 1/2500 ünite iken, kaydedilen gelişmeler sonucu, bu oran 1992 yılında 1/60.000'e, 1995'de ise 1/420.000'e inmiştir (7,8). Aynı oran Fransa için 1/588.000 olarak hesaplanmıştır(10). Uzun süre donör taramaları için büyük kazanç sağlamadığı düşünülen antijen taramaları (13) yada rutin uygulamaya adaptasyonu çok güç olan nükleik asit taramaları-PCR-(14), en azından bilimsel olarak, boşluk dönemini 22 günden, 11 güne indirmektedir (13,17). Nitekim bu hesaplamalar sonucunda günümüzde ABD'de donörlerin p24 antijeni yönünden de taranması söz konusu olmuştur.

Bugün için, doğrulanmamış ELISA pozitifliklerinin, donör kanlarının sayısında azalmalara yol açtığı bilinmektedir. Büyük bölümü "**gerçek enfeksiyonu**" yansıtmayan bu tip durumlarda, büyük olasılıkla yaşa, cinsiyete, ırklara bağlı olarak karşımıza çıkan ve yanlıgilara yol açan proteinlerin belirlenmesi, bir önlem olarak kullanılmayan bu kanların boşuna israf edilmesini önleyecektir (16).

Kan bankalarında donör kanlarının HIV enfeksiyonu yönünden taranması konusunda, farklı ülkelerde değişik stratejiler izlenmektedir. DSÖ, yöredeki prevalansa göre, çeşitli strateji formülleri önermektedir (27). Anti HIV 1/2 kombine kitlerine bakıldığında, Avrupa ülkelerinde 20'den fazla ürünün taramalar için kullanıldığını; ABD'de ise ekonomik nedenler, patent anlaşmaları gibi nedenlere bağlı olarak FDA'nın sadece iki ürünün kullanımını onayladığı görülmektedir (18). Ülkemizde en akıllı taramaların nasıl yapılacağı; örneğin Anti HIV 1/2 kombine kitlerin, ya da p24 antijen taramasının gerekliliği; ya da hangi kitlerin uygun olduğu; acil durumlarda hızlı test kullanımının geçerliliği, donör seçiminin önemi ve stratejisi, hangi algoritimin kullanılacağı ve kalite kontrolünün gerçekleştirilmesi gibi konularda belirli bir standardizasyona gidilmesi zorunludur. Bu tip kararların (yaptırım sorunu nedeniyle, belkide sadece önerilen) alınmasında akademisyen-Dernek ve Sağlık Bakanlığının işbirliğinin gerekli olduğu açıktır.

KAYNAKLAR

- 1- Transfusion sanguine: L'etat coupable, L'Express International, sayı:2136, 19 Haziran 1992.
- 2- HIV/AIDS Surveğillance in Europe -WHO-European Centre for the Epidemiological Monitoring of AIDS, (Quarterly report no.57) First quarterly Report, 1998.
- 3- HIV/AIDS Surveğillance in Europe -WHO-European Centre for the Epidemiological Monitoring of AIDS, (Quarterly report no.54) Second quarterly report, 1997.
- 4- Georgoulas VA, Malliaraki NE, Theodoropoulcu M et al: Indeterminate human immunodeficiency virus type 1 Western blot may blood donors, Transfusion 1997; 37:65.
- 5- Tobler LH Kaufman E, Geffer N, Schable C, Busch MP; Use of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 and 2 recombinant strip immunoblot assay to resolve enzyme immunoassay anti-HIV-2 repeatably reactive samples after anti-HIV-1/2 combination enzyme immunoassay screening, Transfusion 1997; 37: 921.
- 6- Spielberg F, Kassler WJ: Rapid testing for HIV antibody a technology whose time has come, Ann Intern Med 1996; 125; 509.
- 7- Nelson KE, Donahue JG, Munoz A et al: Transmission of retroviruses from seronegative donors by transfusion during cardiac surgery. A multicenter study of HIV-1 and HTLV-III infections, Ann Intern Med 1992; 117:554.

- 8- Hewlett IK, Epsteĝin JS: Food and drug administration conference on the feasibility of genetic technology to close the HIV window in donor screening, *Transfusion* 1997; 37:346.
- 9- Kuun E, Brashaw M, Heyns AP: Sensitivity and specificity of standart and rapid HIV-antibody tests evaluated by seroconversion and non-seroconversion and non-seroconversion low-titre panels, *Vox Sang* 1997; 72:11.
- 10- Couroucé AM, Pillonel J: Estimation du risque transmission des virus des hépatites B er C et des rétrovirus humains par transfusion de dérivés sanguins labiles, *TCB* 1996; 1:13.
- 11- Ammann AJ, Cowan MJ, Wara DW et al: Acquired immunodeficiency syndrome in an infant; possible transmission by means of blood products, *Lancet* 1983; 1:956.
- 12- Pindyck J: Transfusion-associated HIV infection: epidemiology, prevention and public policy; *AIDS*; 1988:2:239.
- 13- Busch MP, Lee LLL, Satten GA et al: Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion; implications for screening of blood ant tissue donors, *Transfusion* 1995; 35-91.
- 14- Chuansumrit A, Varavithya W, Isarangkura P et al: Transfusion-transmitted AIDS with blood negative for Anti-HIV and HIV antigen; *Vox Sang* 1996; 71:64.
- 15- Jongerius JM, Vander Poel CL, Van loon AM et al: Human immunodeficiency virus (HIV) antibodies detected by new assays that are enhanced for HIV-1 subtype O, *Transfusion* 1997; 37:841.
- 16- Ownby HE, Korelitz JJ, Busch MP et al: Loss of volunter blood donors because of unconfirmed enzyme immunoassay screening results, *Transfusion* 1997;37:199.
- 17- Schreĝiber GB, Busch MP, Kleĝinman SH et al: The risk of transfusion-transmitted viral infections, *N Engl J Med* 1996; 334:1685.
- 18- Busch MP, Couroucé A-M: Relative sensitivity of United States and European assays for screening blood donors for antibodies to human immunodeficiency viruses, *Transfusion* 1997; 37:353.
- 19- Heyns A du P, Kuun E, Brashaw M: HIV antibody testing by a displacement pool method lacks sensitivity and is unsuitable for blood donor screening, *Vox Sang* 1996; 71:61.
- 20- Pilot J: The year of Pasteur: from the concept of antibody and antigen by Bordet (1895) to the ELISA. What future for immunological diagnosis? *Clin Diagn Virol* 1996; 5:191.
- 21- MMWR: Interpretation and use of the western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infections, 1989; 38 (S-7):1.
- 22- ApeltreiC, Loussert-Ajaka I, Descamps D et al: Lack of screening test sensitivity during HIV-1 non-subtype B seroconversions, *AIDS*, 1996; 10:f57.
- 23- Busch MP, Taylor PE, Lenes BA et al: Screening of selected male blood donors for p24 antigen of human immunodeficiency virus type 1, *N Engl J Med* 1990; 323:1308.
- 24- Zaaijér HL, van Rixel T, van Exel-Oehlers P, Cuypers HTM, Lelie PN: New anti-human immunodeficiency virus immunoblot assays resolve non-specific western-blot results, *Transfusion* 1997; 37:193.
- 25- Schüpbach J, Böni J, Tomasik Z et al: Sensitivi detection ant early prognostic significance of p24 antigen in heat-denatured plasma of human immunodeficiency virus type 1-infected infants, *J Infect Dis* 1994; 170:318.
- 26- Van de Perre, P, Nzaramba D, Alten S et al: Comparison of six serological assays for human immunodeficiency virus antibody detection in developing countrie. *J Clin Microbiol* 1988; 26:552.
- 27- Gürtler L: Difficulties and strategies of HIV diagnosis, *Lancet* 1996; 348:176.
- 28- Loussert-Ajaka I, Ly TD, chaix ML et al: HIV-1/HIV-2 seronegativity in HIV-1 subtype O infected patients, *Lancet* 1994; 343:1393.
- 29- Busch MP: HIV testing in blood banks, "AIDS testing, Eds: G.Schochetman, J.R.Geogre" kitabında, s.224, Springer Verlep, New York, 1994.

