

## DAMLA

### Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği Bülteni

ŞUBAT 1997 / SAYI: 5

#### İnfeksiyon Hastalıkları ve Transfüzyon Tıbbı

**Prof.Dr. O.Şadi Yenen**

KLİMİK Derneği Genel Sekreteri

Kan ya da kan ürünlerinin transfüzyonu, günümüzde, medikal ve cerrahi tedavilerin vazgeçilmez tamamlayıcısı durumundadır. Transfüzyon uygulamalarının İkinci Dünya Savaşı ile birlikte başlayan bir süreçte hızla artması transfüzyonla bulaşan infeksiyon hastalıklarına dikkatlerin yoğunlaşmasına neden olmuştur. Bir yandan, kan merkezleri transfüzyon alıcılarına elverdiğince güvenli kan sunmak için çeşitli önlemler alınırken, diğer yandan da sağlık yöntemleri merkezi otorite aracılığı ile kimi önlemlerin alınmasını zorunlu kılmaktadır. Yine de uygulamalar göstermektedir ki tüm bu önlemlere karşın infeksiyonlar açısından yüzde yüz güvenli transfüzyon henüz olası değildir.

Kan ya da kan ürünleri ile bulaşabilen infeksiyonlar aşağıdaki tablo' da sıralanmıştır. Görüleceği gibi bir çok bakteri, virus, riketsiya ve parazitler bu yolla bulaşabilmektedir. Genel olarak bakıldığında transfüzyonla bulaşan infeksiyon etkenlerinin ortak özellikleri şu şekilde sıralanabilir: Kan dolaşımında uzun süre kalıcıdır, taşıyıcılık ya da latent infeksiyon durumuna geçebilirler, kuluçka süreleri uzundur, belirtisiz hastalığa neden olabilirler, depolanmış kanda uzun süreler için dayanıklılıklarını koruyabilirler ve bir çoğu plazma katmanlarında da varlıklarını sürdürebilirler.

#### Transfüzyonla bulaşabilecek infeksiyonlar

VİRÜSLER	BAKTERİLER
HAV	Treponema pallidum
HBV-HDV	Borreila burgdorferi
HCV	Brucella melitensis
HGV	Yersinia enterocolitica (ve diğerleri)
B 19	Staphylococcus türleri
HTLV-1/2	Pseudomonas türleri
HIV-1/2	Serratia türleri
CMV	Salmonella türleri
EBV	Campylobacter türleri
	Streptococcus türleri

PARAZİTLER	RİKETSİYALAR
Plasmodium türleri	Rickettsia rickettsii
Toxoplasma gondii	Coxiella burnettii
Trypanosoma cruzi	
Babesia türleri	

Ülkemizde kan merkezlerinde **HBV, HIV, HCV, Sıtma** ve **Sifiliz** bakımından donör kanlarının taranması zorunlu kılınmıştır. Ne yazık ki, bir çok benzer ülkede olduğu gibi bu uygulamalar ülke gerçeklerinin zamanında belirlenmesiyle gündeme gelmemiş, zorunluluklar ya

ileri ülkelerdeki uygulamalara bakılarak ya da toplumsal sansasyonlar sonucu yönlenmişlerdir. Olayın böyle gelişmesinde başlıca etkenlerden biri transfüzyona bağlı infeksiyonların saptanamaması ya da bildirimlerinin eksikliğidir. Diğer önemli bir etken ise böyle bir izlem açısından kuralları koyacak ve alt yapıyı hazırlayacak ulusal çapta bir transfüzyon örgütünün kurulamamış olmasıdır. Öte yandan, günlük uygulamalarında transfüzyona sıklıkla yer veren hekimlerin transfüzyona bağlı infeksiyonlar açısından eğitim eksikliği ve kimi kez duyarsızlıkları da önemli etkenlerden biri olma özelliğini korumaktadır.

Transfüzyonlarda kullanılacak kan ya da kan ürünlerinin güvenliği açısından en büyük tehdit “**pencere**” dönemindeki donörlerin infeksiyonlarından gelmektedir. Tarama testlerinin ileri derecede geliştirilmiş olmaları, testlerin kendi doğalarına ilişkin az sayıda sınırlılıkları yanında asıl bu nedenle, yine de, bütün infeksiyöz kanların belirlenmelerini engellemektedirler. 1996 Haziran’ında yayınlanan bir ABD çalışmasında infeksiyöz “**pencere**” döneminde kan başıslama riskini HIV için 493000 de 1, HTLV için 641000 de 1, HCV için 103000 de 1 ve HBV için 63000 de 1 olarak vermektedir. Ülkemizde HIV seroprevalansı ABD’ye göre çok düşük, dolayısıyla riskin daha az, HBV seroprevalansı ise çok yüksek, giderek riskin daha fazla olduğu değerlendirilebilir.

Taramalarda kullanılacak test kitlelerinin seçiminde bir çok ülke, kitlerin performanslarına göre eleme yapmakta ve çeşitli onay merkezlerinin onayladığı kitlerin kullanımına izin vermektedir. Ancak ülkemizde böyle bir onay sistemi geliştirilmemiş ve gündeme alınmamış olup hemen her kit piyasada pazarlanma şansı bulmakta; birçok kez de kullanılan kitlerin performans özellikleri kullanıcı üniteler tarafından bile bilinmemektedir. Bu durumun transfüzyonların güvenliğini tehdit ettiği ortadadır.

Donör kanlarındaki zorunlu genel taramalar yanında kimi transfüzyon alıcılarının özel durumları da ek kimi taramaları gerektirmektedir. Bu gibi durumlara örnek olarak duyarlı alıcılara verilecek kanlardaki CMV, EBV ve Paryovirus B19 taramaları sayılabilir. Yine; Lyme hastalığı etkeninin (B. burgdorferi) kan şamını sürdürebildiği gösterilmiş olup bu hastalığın da transfüzyonla bulaşabileceği kuramsal olarak ileri sürülmüştür.

Kan bankalarında tarama testlerinin yapıldığı laboratuvarların ülke çapında bir kalite kontrol programına alınmaları ve bu programlarının sürekliliğinin sağlanması transfüzyonların infeksiyonlar açısından güvenliklerinin sağlanmasında zorunludur.

Kimi ülkeler bu programlara sadece HIV ve/veya HBsAg testlerine ilişkin panelleri almışken kimi ülkelerde ise paneller tüm tarama göstergelerini kapsamaktadır. Ülkemizde genel olarak ülke çapında işleyen böyle bir program yoktur. Kimi laboratuvarlar internal kalite kontrol çalışmalarıyla yetinmektedirler.

Yukarıda sıralamaya çalıştığı, gerek bilimsel gelişmelerin dayattığı, gerekse uygulamaların doğurduğu sorunlar açısından çözümlerin üretilmesinde **Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği**’nin kuruluşunu önemli bir adım olarak kabul etmek gerekir. Böyle bir örgütlenme en azından sorunların dillendirilmesine ve ilgililerin eğitim açıklarının kapatılmasına katkıda bulunacaktır. Transfüzyon Tıbbı alanında çalışanlar örgütlenerek üstüne düşeni yapmıştır. Şimdi sıra **Ulusal Transfüzyon Örgütünün** kurulmasına gelmiştir ki bu da merkezi otoritenin gündemini oluşturmalıdır. Transfüzyonların İnfeksiyonlar açısından güvenliğinin sağlanmasının transfüzyon tıbbının en önemli ayaklarından biri olduğu unutulmamalı bu bağlamda gerek İnfeksiyon Hastalıkları gerekse Mikrobiyoloji bilim dalları ile sıkı işbirliği kurulmalı ve sürdürülmelidir.

**HABER.....HABER.....HABER.....HABER.....**

- Sağlık Bakanlığı Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü tarafından, Türkiye’deki bazı Kan Merkezleri ve Kan İstasyonlarında Bakanlık Teftiş Kurulu Başkanlığınca yapılan denetimler

sonunda saptanan aksaklıkları belirten 03.01.1997 tarih ve 0041 sayılı bir yazı Valilikler, İl Sağlık Müdürlükleri ve diğer ilgili kuruluşlara gönderildi.

Söz konusu yazı ile birlikte 2857 sayılı Kan ve Kan Ürünleri Yönetmeliğindeki esaslar doğrultusunda hazırlanan bir “**Uygulama Talimatı**” da gönderildi. Talimat’ da;

- a. Kan Merkezleri ve Kan İstasyonlarının Fiziki Yapıları
- b. Teknik Donanımları,
- c. Personel Durumu,
- d. Kayıt Sistemlerine ilişkin çeşitli konulara dikkat çekilerek uyulması gereken kurallar belirtilmektedir.

- Sağlık Bakanlığından gönderilen Uygulama Talimatı’ na göre Kan Merkezlerinde bulundurulması ve kayıtların işlenmesi zorunlu olduğu defterler şunlardır:

1. Kan Grup Defteri (Kan Merkezi Laboratuvar Defteri)
2. Bağış Kan Kayıt Defteri
3. Satın Alınan Kan Kayıt Defteri
4. Cross-match ve Servis Çıkış Defteri
5. Serolojik Testler Kayıt Defteri
6. İmha Edilen Kan Kayıt Defteri

Ayrıca talimatla birlikte gönderilen ve Derneğimiz tarafından hazırlanan “**Donör Sorgulama Formu**” ve “**Donör Bilgi Formu**” nun donörden kan alma işlemlerinin yapıldığı tüm kan merkezi ve istasyonlarında kullanılması zorunlu hale getirilmektedir. Yine talimatla birlikte gönderilen “**Kan İstem Formu**” nun da kullanılması zorunlu kılınmaktadır.

- Derneğimiz Sağlık Bakanlığının Kan Merkezleri ve İstasyonlarında kullanımını zorunlu hale getirdiği kayıt defterlerini (6 adet) ve diğer Kayıt Formlarını Türkiyedeki Kan Merkezlerinin talep etmesi halinde temin etmek amacıyla hazırlamaktadır. Söz konusu kayıt defterlerinden almak isteyen Kan Merkezi sorumluları miktar belirterek Dernek telefonlarından bilgi alabilirler.
- 2857 nolu ve 23.6.1983 tarihli “**Kan ve Kan Ürünleri Kanunu ile Yönetmeliği**” nin günün koşullarına uygun olarak değiştirilmesi için Bakanlık tarafından bir çalışma başlatıldı. Derneğimiz kuruluşundan bugüne kadar çeşitli etkinliklerde gündeme getirdiği görüşlerini ve önerilerini Yönetmelik taslağını hazırlayan ilgili “**Yasal Düzenlemeler Komitesi**” ne gönderdi.
- Talassemi Dayanışma Derneği (TADAD)’nin olağan “Türkiye Talassemi Birliği” toplantısı 8-9 Mart 1997 tarihlerinde TADAD Talassemi Dayanışma Derneği Denizli Şubasının ev sahipliğinde PAMUKKALE-Lycus River Hoteli Konferans salonunda yapılacaktır. Katılımcılar 28.2.1997 saat 17.00’ ye kadar TADAD Genel Merkezinin 0262-641 29 32 Fax numarasına başvurabilirler.

## **Kan ve kan ürünlerini tanıyalım (5)**

**Dr.Nuri Solaz**  
Ankara Üniv.Tıp.Fak.Hastanesi  
Kan Merkezi

## **PIHTILAŞMA FAKTÖRLERİ**

Yaklaşık 20 değişik glikoproteinle fibrinin etkileşimi sonucunda pıhtı oluşmakta daha sonra trombositler ve eritrositlerin katılımı ile trombüs meydana gelmektedir.

Koagülasyon mekanizmasıyla ilgili ilk bilgiler bu yüzyılın başında ortaya çıkmışsa da güncel pıhtılaşma mekanizmasıyla ilgili bilgiler ancak 1960'lı yılların başında netlik kazanmıştır.

İntrensek-ekstresek diye iki ayrı yola ayrılan pıhtılaşma reaksiyonunda, intrinsek yolda etkileri olan protein yapısındaki pıhtılaşma faktörlerini irdeleyeceğiz. İntrensek pıhtılaşma mekanizmasında rol alan faktörler “**Romen rakamıyla**” rakamlandırılmışlardır. Bu faktörlerin eksikliklerinde değişik şiddette pıhtılaşma bozuklukları ortaya çıkmaktadır, bunların başlıcaları aşağıda belirtilmiştir (Tablo: 1)

#### **Tablo var.**

1960-1970'li yıllarda pıhtılaşmayla ilgili proteinlerin birçoğu izole edildi ve yapısal özellikleri tanımlandı. Aynı yıllarda insan plazmasından bu proteinler hazırlanarak eksiklik durumlarında spesifik tedavide kullanılmaya başlandı.

Bunun ilk ve en önemli örneği hemofiliaklarda kullanılan F VIII konsantresidir. 1984 yılında F VIII geninin klonlanması, bu proteinlerin biomühendislik yöntemleriyle elde edilme şansını doğurmuştur.

**Kan Bankacılığı** protein yapısındaki bu maddelerin plasmadan elde edilerek tedavide kullanılmasında üretimle ilgili odağı oluşturmaktadır.

Her ne kadar, biomühendislik uygulamaları bu alanda hizmet vermeye başlamışsa da, plazma kaynaklı pıhtılaşma faktörlerinin önemi halen devam etmektedir.

#### **I- Plazma Pıhtılaşma Faktörlerinin Elde Edilmesi:**

Plazma pıhtılaşma faktörlerinin hammaddesi olan taze donmuş plazmanın (TDP) elde edilmesinde, son ürün kalitesi ve miktarına etkili bazı önemli konular vardır.

Bunlardan en önemlisi plazmanın, donörden alındıktan hemen sonra, +2 C derece - +6 C derecede saklanan tam kandan **en geç 8 saat içinde** 5000 devirde, soğutmalı santrifüjde ayrılıp dondurulması ile elde edilmesidir. Daha uzun süre beklemiş kandan ayrılan plazmalarda pıhtılaşma protein miktarı önemli ölçüde azalmaktadır (Tablo2).

Tam kandan ayrıldıktan sonra, plazma 2 şekilde dondurulur;

##### **a) Yavaş dondurma:**

Tam kandan ayrılmış plazma derin dondurucular yardımıyla -18 C derecede, tercihan -30 C derecede dondurulur ve saklanır.

##### **b) Şok dondurma:**

Kuru buz/ethanol veya kuru buz / antifiriz ile veya şok soğutmalı derin dondurucularda (-) 65 C derecede dondurma.

Tablo 2: Labil pıhtılaşma faktörleri ve saklama süreleri

**Tablo var.**

Taze donmuş plazma (TDP) birçok kan ürününün temel maddesi olduğu için, sadece kan bağıışı yolu ile değil “**plazmaferez**” yöntemiyle de temin edilmeye çalışılmaktadır. Bu yöntemle tek bir donörden her seferde 500-600 ml plazma elde edilirken aynı donör gerekli testlerle kontrol edilerek yılda 26 kere bağıış yapabilmektedir.

Plazmaferez yöntemiyle elde edilen plazma daha donörün damarından çıktığı anda ayrıldığı için yüksek konsantrasyonda pıhtılaşma faktörü içermekte ve istenildiğinde tek bir donörden normal yöntemle göre 20 misli fazla plazma elde edilebilmektedir. 1 yılda plazmaferez yöntemiyle  $26 \times 600 = 15\ 600$  ml, normal yöntemle  $4 \times 200 = 800$  ml plazma elde edilebilir. (Bir donörün normal yöntemle yılda ortalama 4 kez kam kan verdiği varsayıldı.)

Üretim amacıyla kullanılacak TDP' nin standart özellikleri belirlenmiştir. Buna göre kabul edilebilir rezidüel hücre miktarları aşağıda belirtilmektedir:

Eritrosit sayısı	<b>küçüktür işareti</b>	$6.0 \times 10$	<b>üssü dokuz yaz</b>	/ L
Lökosit sayısı	“	$0.1 \times 10$	“	/ L
Trombosit sayısı	“	$25 \times 10$	“	/ L

## **PLAZMA ÜRÜNLERİ ÜRETİM ŞEMASI TABLO YAPILACAK**

**( COHN METODU)**

**Taze Donmuş Plazma**

**Temel üretim teknikleri:**

Plazma ürünlerinin üretimi 1945 yılında J.F. Cohn isimli Amerikalı bilim adamının savaş alanlarında kana alternatif bir ürün üretme çalışmalarına dayanmaktadır. Günümüzde de Cohn tarafından bulunan ethanol çöktürme yöntemi temel üretim tekniği olarak kullanılmaktadır.

Belli başlı mevcut üretim tekniklerini 3 ana grupta toplayabiliriz;

- 1) Cohn Metodu:** Temel prensip ph, di elektrik katsayısı, iyonik gerginlik, ısı ve protein konsantrasyonları gibi özellikleri kullanarak plazmada bulunan proteinlerin ethanol yapdımıyla çöktürülmesi esasına dayanır.
- 2) Kromatografik Metod:** Temel prensip jel kolonlarından plazmanın geçişi sırasında proteinlerin ayrıştırılması esasına dayanır. Bu uygulamada iyon exchange veya affinite kromatografisi kullanılmaktadır.
- 3) Kombine Metod:** Günümüzde en çok kullanılan yöntemdir; albumin ve Ig, Cohn metoduyla elde edildikten sonra pıhtılaşma faktörlerinin saflaştırılması ve viral inaktivasyon ajanlarından temizlenmesi amacıyla kromatografik metod kullanılmaktadır.

Tablo 3: Cohn Fraksinyasyon Evreleri ve Elde Edilen Ürün Çeşitleri.

## **Tablo yapılacak.**

Plazma pıhtılaşma faktörlerinin üretimindeki bir diğer önemli hususda “**viral inaktivasyon**” dur. Bilindiği üzere dünyadaki mevcut test yöntemlerinin hiçbiri %100 güvenilir değildir, bu nedenle tam hammadde olarak kullanılan TDP’ dan geçebilecek virüslere karşı (Tablo: 4) hastaları korumak amacıyla değişik viral inaktivasyon yöntemleri kullanılmaktadır.

### **II- Viral inaktivasyon teknikleri:**

Plazma ürünleri ile viral hastalık geçişinin önlenmesi amacıyla çeşitli viral inaktivasyon yöntemleri üretimin değişik evrelerinde kullanılmaktadır.

Bunların başlıcaları;

**a) Cohn-Oncley Uygulaması:** HIV’ e karşı etkili (günümüzde resmi inaktivasyon yöntemi olarak kabul edilmemekte)

Tablo 4: Plazma Pıhtılaşma Faktörleri ile Bulaşan Virüsler

## **Tablo yapılacak**

**b) pH 4.0 Uygulaması:** Lipid zarfsız virüslere karşı etkili

**c) Solvent/ Deterjan Yöntemi:** TNBP / Tween -80 veya Triton X-100 yardımıyla yapılan ve bugün için lipid zarflı virüslere karşı en etkili inaktivasyon metodudur.

**d) Kuru Isı Uygulaması:** Lipid zarfsız virüslere karşı etkilidir.

**e) Pastörizasyon:** Lipid zarfsız virüslere karşı etkilidir.

**f) U.V. Işık Uygulaması,**

**g) Nanofiltrasyon Uygulaması,**

**h) B-Propiolakton Uygulaması,**

### **FAKTÖR VIII KONSANTRESİ:**

Hemofili A hastalığının spesifik ilacıdır. TDP veya kreopresipitatdan üretildiği gibi biomühendislik yöntemleriyle de üretilmektedir.

TDP’ daki protein içeriğinin % 0.003’ ü (200 ng/ml) kadar bulunur.

Tek zincir molekül yapısına ve 330 000 Da molekül ağırlığına sahiptir.

Sentezi ve stabilizasyonunda Von Willebrand Faktörü etkilidir, vWF aynı zamanda F VIII’ in yarı ömrünü uzatmaktadır.

Kanla geçen hastalıklar açısından önemli bir kan ürünüdür, bu sebeple hem madde kaynağı, üretim şekli, viral inaktivasyon, saflık derecesi, yarı ömrü, refrakterliğe sebebiyet gibi parametreler ürün seçiminde göz önünde bulundurulmalıdır.

Günümüzde kullanılan F VIII preparatları S/D ve ısı yöntemleriyle viral inaktivasyona tutulmuş preparatlardır. Isı uygulamasından sonra filtrasyon evresinin bulunması ısı sonucu oluşan artefaktların temizlenerek daha az allerjik reaksiyon görülmesine yardımcı olmaktadır.

#### **FAKTÖR IX KONSANTRESİ:**

Hemofili B hastalığının spesifik ilacıdır. TDP ve kreopresipitatdan elde edilir.

Tek zincir molekül yapısına ve 57 000 Da molekül ağırlığına sahiptir.

1982 yılında genetik kodunun tespitinden sonra biomühendislik yöntemiyle üretilmesi için çalışmalar devam etmektedir.

FIX konsantresi içinde FIX, FX, FII' de bulunur. Bu yüzden FIX konsantresi sadece Hemofili B hastalarında değil; FX ve FII' nin konjenital yetmezliklerinde, FVII inhibitörü gelişmiş Hemofili A vakalarında da kullanılmaktadır.

Çift viral inaktivasyon yöntemi ile virus inaktivasyonu uygulanmaktadır.

#### **PROTROMBİN KOMPLEKS KONSANTRESİ:**

F II, F VII, FIX, FX gibi K-vit bağımlı pıhtılaşma faktörlerini içeren liyofilize bir üründür. Klinik kullanımı pek yaygın olmamakla birlikte aşağıdaki durumlarda kullanılır;

F II, F VII, FIX, F X konjenital eksikliğinde  
Kumarin doz aşımında  
Vit-K eksikliğinde  
Ağır karaciğer hastalıklarında  
Antikor gelişmiş F VIII ve F IX hastalarının kanama dönemlerinde

#### **KREOPRESİPİTAT:**

TDP' nin + 4 C derecede çözülüp, seperasyonu sonucu elde edilen, yüksek konsantrasyonda **F VIII, FXIII, vWF, fibrinojen, fibronektin** içeren kan bölümüdür.

Daha çok ürün elde edilmesinde kullanılır ancak gerektiğinde tedavi amacıyla da kullanılabilir.

---

#### **Kaynaklar:**

- 1) Prowse, C.V. (1992) Plasma and Recombinant Blood Products in Medical Terapy, John Wiley & Sons Ltd. (London) 16-45 pp.
- 2) CLB (1990) Science Put into Practice, CLB Netherlands. CLB (the Netherlands) 4-15 pp.
- 3) Rossi, U., Van Aken, W.G., Orlando, M. (1992) Therapy with Plasma and Albumin: Production and Clinical Use. SIITS - AICT 139-155 pp.

## **Damla**

Sayı: 5 - Şubat 1997  
Aylık ücretsiz bülten

Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği' nin bilimsel, kültürel, aktüel yayın organıdır.

Sahibi: Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği adına  
Başkan Prof. Dr. Mahmut BAYIK

Sorumlu Yazı İşleri Müdürü:  
Dr. Reha MASATLI

İmzalı yazıların bilimsel, düşünsel sorumluluğu yazarlarına aittir.

Katkıda Bulunanlar:  
Dr. Nuri Solaz  
Dr. O.Şadi YENEN

Reklam Koordinatörü:  
Dr. Ramazan ULUHAN

Yazışma adresi:  
Nişancı Sok. Yedili Apt. No.6/1  
Kızıltoprak 81030 Kadıköy-İSTANBUL  
Tel: (0216) 414 44 17 - 347 34 79  
Fax:(0216) 414 44 19

Görsel düzenleme:  
Yazıvi/Tasarım, Yapım  
(0212) 526 55 98

Basıldığı yer: Reyo Ofset  
(0212) 565 79 93



