

İÇİNDEKİLER

“Biz Damla Damla Büyüyorum”



3

İmmünohematolojide Yönetim Seçimi
Hemaglutinasyon: Avantaj ve Dezavantajları
Doç. Dr. Gülsüm Özet

5

Kan Grubu Tayininde
Hemaglutinasyon Dışı Yöntemler

8

Prof. Dr. Davut Albayrak

Duyuru

11

Sevgili Kan Bankacalar,

15-19 Kasım 2007 tarihinde Antalya Belek'te Maritim Pine Beach Resort Otel'de “**II. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi**”ne hazır mısınız? Bildiri özetlerini 3 Eylül 2007'ye kadar göndermeyi unutmayın! Duyuru, kayıt, konaklama formlarına bültenin son sayfalarından ulaşabilirsiniz. Ayrıca www.kmttd.org.tr adresinden ayrıntıları elde edebilirsiniz.

Mersin Üniversitesi bir şeyle oluyor! Damla damla büyüyen gönüllü kan bağışçıları arasına her geçen gün yeni üniversiteli gençlerimiz katılıyor. **Mersin Üniversitesi Kan Bağışı Gönüllüleri Öğrenci Topluluğu**'na bu duyarlılıklarından dolayı teşekkür ediyoruz. Bu sayımızda Mersin Üniversitesi Kan Bağışı Gönüllüleri Öğrenci Topluluğu'nun çalışmaları hakkında bilgi bulacaksınız.

Bu sayımızda eritrosit antijen ve antikorlarını saptama yöntemlerinden biri olan hemaglutinasyonun avantaj ve dezavantajlarının incelendiği bir yazı da bulacaksınız. Doç. Dr. Gülsüm Özet'in hazırladığı bu yazımızın başlığı; “**İmmünohematolojide Yönetim Seçimi Hemaglutinasyon: Avantaj ve Dezavantajları**”. Prof. Dr. Davut Albayrak'ın hazırladığı “**Kan Grubu Tayininde Hemaglutinasyon Dışı Yöntemler**” yazısında ise kan grubu tayininde hemaglutinasyonun (kan kümelenmesi) kullanılmadığı istisnai durumlarda kullanılabilecek yöntemler irdelenmektedir.

Bir güzel kongre daha geçirmek dileğiyle herkesi bekliyoruz.

Hepiniz sağlıklı kalın, sağlıkla görüşmek üzere.

Dr. Ramazan ULUHAN

*Türkiye Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği
II. Başkanı*



“BİZ DAMLA DAMLA BÜYÜYORUZ”

Kan tek kaynağı insan olan ve elde edilmesi için başka bir alternatif olmayan hayatı bir sıvidır.

BİR İLAÇTIR KAN !

Bizler, Mersin Üniversite’li gençler olarak bu farkındalık duygusundan hareketle 2006 yılı Mayıs ayında Türk Kızılayı’nın öncülüğünde gerçekleşen bir kongre için Antalya’ya doğru yola çıktık. Bu kongrede kan bağışının önemi ve insan sağlığı üzerine etkilerine değindi. Burada bizleri en çok etkileyen ise 8 yaşındaki talasemi hastası (Akdeniz anemisi) bir çocuktan duyduğumuz ve içinde derin anımlar gizli bir cümleydı;

“ Kana Duyulan Susuzluk Başka Hiçbir şeye Karşı Duyulan Susuzluğa Benzemez”

Bu sözü ona söyleten o küçük yaşta tanışmış olduğu hastalığın verdiği çaresizlikti. Hiç şüphesiz ki bu cümle büyük acılarla örülmüştü. Bizler bu çaresizliği belki yok edemezdik ama acısını en aza indirmek yine bizlerin elindeydi.

Ülkemizde bir gerçek vardı: Gönüllü kan bağışımız hastalarımıza, kana ihtiyacı olanlara yetmiyordu.

Biz Mersin Üniversite’li gençler bu duruma kayıtsız kalmamalıydık, mutlaka bir şeyler yapmaliydık ve Antalya’dan ayrılrıken; Mersin Üniversitesi’nde gönüllü kan bağışı sorumluluğunu oluşturabilmek ve bunu akran eğitimi yolu ile diğer arkadaşlarımıza aşılamak için çalışmalara başlayacağımıza hep beraber karar verdik. Çalışmalarımız için mutlaka danışacağımız, bize yol gösterecek ve düşüncelerimizi amacımız doğrultusunda bir çatı altında toplayacak birine ihtiyacımız vardı. Bütün bu düşüncelerimizi ve yapmak istediklerimizi danışman hocamız Üniversitemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gürol Emekdaş'a aştık. Bundan sonra tüm kapılar bize açıldı. Hocamız ile kan bağışının önemini ve neler yapılması gerektiğini çok daha

iyi kavradık, ve kendisinin onderliğinde, Türkiye’de ilk defa üniversiteli geçelerin oluşturduğu bir topluluk kurduk.

“MERSİN ÜNİVERSİTESİ KAN BAĞIŞI GÖNÜLLÜLERİ ÖĞRENCİ TOPLULUĞU”

Topluluğumuz; Gönüllü, Güvenilir, Sürekli kan bağışçıları oluşturabilmek için bugün ve gelecekte kan bağışının önemini bilen ve bu farkındalığı yaşayan bireylere ulaşmayı amaçlamaktadır.

Buradaki en önemli faktör DUYARLILIKTIR.

Bu duyarlılık sadece kan bağışlamak anlamına gelmemeli. Çünkü kan bağışı yapabilmek için bazı kurallar bulunmakta ve bunlara uymayabiliriz. Yaşımız 18’in

altında olabilir, kilomuz düşük ya da tansiyonumuz yüksek/düşük olabilir ve bu gibi nedenlerle kan veremeyebiliriz ama kan verebilmesi için bir başka insanı ikna edebiliriz. İşte bizim topluluğumuzun asıl amaçlarından biri de bu. Topluluğumuz üyeleri için kan vermek şartı yok. Ama bu bilincin farkında olmak şartı var.

Üniversitemizin her bir yerleşkesinde, her biriminde topluluğumuzun fikirlerini paylaşan, gönüllü arkadaşlarımız var. Bu arkadaşlarımız aracılığıyla Mersin Üniversiteli gençler bir araya geliyor amaçlarımız doğrultusunda paneller düzenliyoruz. Mersin Üniversitesi Kan Bağışı Gönüllüleri Öğrenci Topluluğu ve Türk Kızılayı İşbirliği ile düzenlediğimiz bu panellerde, birçok soru işaretinin yanıtını bulunuyor. Arkadaşlarımız, akranlarımız kan bağışı ve önemi hakkında bilgileniyor, bilgilerini paylaşıyor.

Bu yıl eğitimlerimizi biraz daha yayarak, Üniversite Yaşamına Giriş (ÜYG) dersi kapsamında yerimizi aldık. Gönüllü arkadaşlarımızdan oluşan küçük bir tiyatro grubu oluşturduk ve kan bağışı ile ilgili yanlış ya da eksik



bilinen bilgileri mizahi bir dille kurguladık ve oynadık. Bu oyunda hayatın kendisinin bir tiyatro sahnesinden ibaret olduğunu, sahnede arkadaşlarımıza skeçlerimizi sergilerken öğrendik.

Bu yıl daha çok sesimizi duyurmalı daha çok arkadaşlarımıza ulaşmalıyız düşüncesiyle üniversitemizde bulunan çeşitli fakültelerde Kızılay’ında işbirliği ile “Fakülteler Kan Bağışlıyor!” kampanyası düzenledik. Fakültelerimiz öğrencileri bu kadar önemli bir sosyal sorumluluk için birbirleriyle yarıştılar ve bu kampanyaya ilgi gösterdiler. Kan bağışını düzenli bir alışkanlık ve toplumsal bir tavır konumuna getirmeyi amaçlayan bu çalışmalarla

1. Üniversite öğrencilerimiz kan bağısı konusunda bilgilendirme,
2. Düzenli kan bağısı yapmaları teşvik edilmekte,
3. Kan bağısı konusundaki önyargı ve çekinceleri ortadan kaldırılmakta,
4. Güvenli kan sağlanan kan bağışçısı sayısı arttırılarak genç kan bağışçıları kazanılmakta.

Bu çalışmalarımız dışında topluluğumuz Üniversitemiz Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde tedavi görmekte olan lösemili çocuklara da zaman ayırdı. Üyelerimiz haftanın belirli günleri bu çocukların ziyaretlerine giderek kendi aramızda topladığımız küçük birikimlerle onlara çeşitli hediyeler alarak dünyalarına girdik ve yalnız olmadıklarını hissettirdik, bu çocukların gözlerindeki ışılıtı bize daha da güç kattı.

Bu çalışmalarımızla da yetinmedik sesimizi daha da çok duyurmak için, TRT Çukurova Radyosu ve Mersin Üniversitesi radyolarında canlı yayılara katılarak “Sizin

de başınıza gelebilir söyü” ile herkesi kan bağışına çağrırdık.

Düzenlemiş olduğumuz bu çalışmalardaki panellerimize 3.700 öğrenci katılırken 1.000 arkadaşımız gönüllü kan bağışçısı olup kan bağışında bulundu. Bugün gelişmiş ülkelerin geneline bakıldığından kan bağışlama oranı %5-6 iken bu kısa panellerden sonra eriştiğimiz %27’lik kan bağısı oranı bizim için çok şey ifade etti.

Bizler Mersin Üniversitesi Kan Bağışı Gönüllülerı Öğrenci Topluluğu olarak bu çalışmalarımızı tüm içtenliğimizle, tamamen gönüllü olarak yeri geldiğinde yaşamımızdaki önceliklerin sırasını değiştirerek insanlar için daha ne kadar faydalı olabiliriz düşüncesiyle gerçekleştirdik. Biz bu hayatın içinde küçük bir nokta olarak başladık fakat biliyoruz ki gitgide büyümekteyiz, yorulmadan bıkmadan çalışmamızı devam edeceğiz. Yaptığımız bu çalışmalar birçok üniversiteli arkadaşlarımıza da örnek olmakta ve böylesi topluluklar hızla yayılmaktır.

Topluluğumuz sorumluluk sahibi, insana ve insanlığa karşı duyarlı olan kan vermek isteyen gönüllülerden oluşmaktadır. Hastanede kan bekleyen bir hastaya ihtiyacı olan kanın ulaşmasında ufak da olsa bir faydamızın olması bizim için en önemli mutluluklardan biri. Bizi bilmeseler de tanımasalar da hayatlarında küçük bir imzamız var.

El ele verirsek biz bize yeteriz.

Mersin Üniversitesi Kan Bağışı Gönüllülerı Öğrenci Topluluğu



İmmünohematolojide Yönetim Seçimi Hemaglutinasyon: Avantaj ve Dezavantajları

► Doç. Dr. Gülsüm Özter*

Kan grubu tiplendirme, antikor tarama, tanımlama ve çapraz karşılaşma testleri başlıca transfüzyon için uygun eritrosit temini ve materno-fetal uygunsuzluğun tesbiti için yapılır. Dolayısı ile eritrosit抗jen ve antikorlarının tesbiti immunoematolojide anahtar rol oynar ve bu amaçla çeşitli yöntemler kullanılır. Bunlar:

- 1- Hemaglutinasyon
 - a- Lam (slayt) yöntemi
 - b- Tüp yöntemi
 - c- Jel Santrifugasyon (Mikrokolon aglutinasyon) yöntemi
 - d- Mikropleyt yöntemi
- 2- SPRCA (Solid-Phase Red Cell Adherence Assay) (Solid Faz Yöntemi)
 - 3- Kolon afinite yöntemi
 - 4- ELISA
 - 5- RIA
 - 6- Akım sitometrik yöntem
 - 7- PCR başlıcalarıdır.

Kan grup serolojisinde en sık izlenen reaksiyonlar **aglutinasyon**, hemoliz ve presipitasyondur. Hemaglutinasyon yöntemi kan bankacılığında en sık kullanılan yöntemdir.

Eritrosit aglutinasyonu iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada antikorlar eritrosit yüzeyine yapışır, ikinci aşamada ise antikorların etkileşimi ile eritrositler birbirine yaklaşır ve aglutinasyon oluşur. Aglutinasyonun birinci aşaması ıslı, pH, antikor afiniteyi, inkubasyon süresi, ortamin iyonik gücü ve antijen – antikor oranından etkilenir. İkinci aşama ise hücreler arası mesafeden, suspansiyondaki moleküllerin yükünden ve eritrosit yüzey molekülleri ve moleküller yapıdan etkilenir. Yöntemin sensitivitesini artırmak için bu faktörlerden değiştirilebilir olanlar çeşitli tekniklerle kuvvetlendirilmektedir. Bu tekniklerden başlıcaları:

- a) Yüksek proteinli ortam (sıklıkla albüm), b) Antihumanglobulin (AHG) kullanımı, c) Enzimle muamele, d) Düşük iyonik güçte solusyon (LİSS) kullanımı, e) Polietilen glikol (PEG) kullanımı ve f) Polibren kullanımıdır. Bazı teknikler, LİSS ve AHG gibi birlikte kullanılabilir.

1945 te Coombs ve arkadaşlarının indirek antiglobulin testini, Diamond ve Abelson'un albümini incomplet antikorların tesbiti için tanımlamasının üzerinden yıllar

geçmesine rağmen salin indirek antiglobulin testi (İAT) hala altın standarttır. Literatüre göre 60 dakikalık inkubasyonla İAT klinik önemi olan antikorları %99 oranında yakalayabilir. Inkubasyon süresi 45 dakikaya indiginde bu oran %95'e inmektedir. Yukarıda belirtilen reaksiyonu artıran teknikler bu nedenle geliştirilmiştir. Örneğin LİSS kullanıldığından 15-30 dakikalık inkubasyonla oran %99 a çıkarılabilmiştir. Tüp metodu ile İAT nin klinik önemi olan antikorları tesbitte paha biçilmez olduğu kanıtlanmış olup pek çok kişi tarafından kullanılmaktadır.

Tüp yöntemi ucuzdur, özel alt yapı gerektirmez ve her laboratuvara uygulanabilir.

Her ne kadar tüp yöntemi altın standartsa da pek çok etken testin tekrarlanabilirliğini ve güvenilirliğini etkilemektedir.

- Tüp yönteminde antiglobulin öncesi multiple yıkama işleminin gereklisi istenmeyen sonuçlar doğurabilir. Düşük afiniteyi antikorlar yıkama sırasında eritrosit membranından ayrılabilir. Yetersiz yıkama sonucu serum/plazma kalırsa yanlış negatif sonuç alınabilir.

- Test ara vermeden yapılmalı ve hemen değerlendirilmelidir. Aksi takdirde eritrosite bağlı antikorlar eritrositten ayrılmış AHG yi nötralize edebilir, Ig G bağlı eritrositlerin aglutinasyonu zayıflayabilir ve yanlış negatif değerlendirilebilir.

- Testleri değerlendirmek ve derecelendirmek zordur. Mutlaka yetişmiş kalifiye teknisyen gerektirir. Düşük kapasiteli laboratuvarlarda veya rotasyonla çalışılan laboratuvarlarda bunu idame ettirmek zordur.

- Testleri daha sonra bir uzmanın değerlendirme olasılığı yoktur.

- Otomasyon imkanı hemen hiç yoktur.
- Cam tüpte çalışılması, açık sistem olması personelin kan örneği ile temas riskini artırmaktadır. HİV, hepatit ve son yıllarda KKKA bulaş riskini de artırmaktadır.

Bu olumsuzluklardan kurtulmak, pH, iyonik güç, hücre serum oranının optimize etmek ve otomasyon yöntemlerini kullanmak için yeni metodlar geliştirilmiştir.

Sıvı Faz Mikropleyt Metodu

Hazırlama ve okuma için yarı otomasyon sistemi kullanıldığından ABO/D gruplamasında nisbeten ucuz ve güvenilir metoddur.

Jel Santrifugasyon (Kolon Aglutinasyon) Yöntemi

Lapierre ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemde reaksiyon mikrotüpde gerçekleşir. Mikrotüpde reaksiyon çemberi giderek daralarak 15 mm uzunluğunda ve 4 mm eninde kolona dönüşür. Her kolon LİSS veya salinde hazırlanmış yaklaşık 35 ul dekstran akrilamid jel ve cam mikrobead içerir. Ayrıca jelde koruyucu, çöktürücü ajan (albumin gibi) anti-IgG veya antisерum içerebilir. Altı adet mikrotüp bir plastik kartta bulunur ve bu kolay tutma, test, okuma ve imha imkanı sağlar.

Antikor tarama ve tanımlama testlerinde serum ve eritrosit süspansiyonu reaksiyonun olduğu tüpün üst kısmındaki geniş kısmda, (reaksiyon odacığı) inkübe edilir ve santrifüj edilir. Santrifüj sırasında eritrositler mikrokolona itilirken serumda bulunan bağlı olmayan proteinler ağırlık farkı nedeni ile kolona giremezler ve böylece jeldeki anti IgG yi nötralize ederek yanlış negatif sonuca yol açmazlar. Böylece tüp yöntemindeki en büyük dezavantaj olan yıkama işlemine gerek kalmaz. Üzerine antikor yapmış olan eritrositler anti-İgG varlığında aglutinine olurlar ve aglutinatların büyüğününe göre jel içinde değişik seviyelerde çökerler. Aglutinine olmayan eritrositler dibe çökerler.

Reaksiyon 0 – 4 (+) arasında değerlendirilir. Reaksiyonları değerlendirmek objektif ve kolaydır. Mix – field reaksiyon kolay tanımlanır.

Avantajları:

- Sonuçlar objektif olarak ve kolay değerlendirilebilir, teknisyen bağımlı değildir.
- Yıkama işlemi gerekmez.
- Düşük hacimle çalışılır, tekrarlanan sonuçlar arasındaki uyum yüksektir.
- Kartlar saklanıp (24 – 48 saat) kıdemliler tarafından değerlendirilebilir.
- Otomasyon imkanı vardır, çift yönlü veri akışı ile HIS/LIS e veri direk aktarılabilir ve operatöre bağlı hata oranı düşer.
- Biyoemniyet yüksektir.

Dezavantajları:

- Tüp yöntemine göre pahalıdır. İnkubasyon, santrifüj ve pipetleme için özel cihazlar gereklidir.
- Acil kan grubu tayininde tüp yöntemi daha hızlıdır.
- Zayıf ABO antikorlarının ve heterozigot Kidd antikorlarının tesbitinde tüp yöntemi daha duyarlıdır. Özellikle antijen yoğunluğu düşük olduğunda zayıf aglutinasyonun santrifüj sırasında dağılabileceği bildirilmektedir.

Kolon Afinité Yöntemi

Bu yöntem üzerine antikor bağlanmış eritrositleri immünolojik olarak aktif bir matrikste yakalama prensibine

dayanır. Burada da reaksiyon odacığı, immünolojik olarak reaktif agaroz jel ile dolu kolon ve arada viskoz serum – hücre bariyeri mevcuttur. İmmünreaktif matriks Protein G bağlı sefaroz jel ve protein A bağlı sefakril partiküllerinden oluşur. Protein G streptokok, Protein A stafilocok kaynaklı proteinlerdir ve Ig-G molekülünün Fc kısmını bağlarlar. Sensitiviteyi artırmak için ortama anti Ig M ve anti C3 de eklenmiştir.

Bu yöntemde de jel yönteminde olduğu gibi reaksiyon çemberde gerçekleşir santrifüj sırasında eritrositler bariyerden geçer ve sensitiz olurlar kolonun üzerinde yayılı olan protein G tarafından tutulur. Negatif testler Ig-G kaplı eritrositler ile kontrol edilebilir. Reaksiyonlar 0-4 (+) e kadar derecelendirilir.

Avantajları:

- Teknoloji çok basittir. Yıkama işlemi gerekmez.
- Sabit ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilir.
- Santrifüj kısalıdır.
- Sonuçlar objektiftir, teknisyen bağımlı değildir.
- Kartlar uygun saklanırsa 3-5 gün değerlendirilebilir.
- Otomasyon imkanı vardır. Biyoemniyet yüksektir.

Dezavantajları:

- Tüp yöntemine göre pahalıdır. İnkubasyon, santrifüj ve pipetleme için özel cihazlar gereklidir.

Solid Faz Teknikler (SPRCA)

Solid faz tekniği 1980 lerde Plapp ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Testin prensibi antijen veya antikorun mikropleyt tabanındaki solid matrikse bağlanabilme özelliğine bağlıdır. Uygun reaktif (antijen veya antikor) pleyte konduğunda Ag- Ab reaksiyonu oluşur ve eritrositler tabana yapışır. İki değişik prensiple çalışan ürün USA da kullanılmaktadır.

Capture-R (Immucor) sisteminde eritrosit membranları mikropleyt yüzeyine bağlıdır. Serum veya plazma ve LİSS pleyte konur ve 37 derecede inkübe edilir, eğer Ab varsa membran antijenleri ile reaksiyona girer. Serbest antikorları uzaklaştırmak için yıkama işlemi yapılır ve anti-İgG kaplı eritrositler ortama konur. Santrifüj sonrası test değerlendirilir. Eritrositler yüzeye yayılırsa “pozitif”, dipte düğme gibi toplanırlarsa “negatif” olarak değerlendirilir.

Diğer SPRCA (Solidscreen) test prensibi standart İAT ye benzer. Antikor tarama eritrositleri ve serum/ plazma düşük iyonik ortamda inkübe edilir. Yıkama işlemi sonrası anti-İgG eklenir. Ig kaplı eritrositler santrifüj sonrası anti-İgG aracılığı ile mikropleyt tabanına (aktive edilmiş) yapışırlar.

	Tüp Yöntemi	Solid Faz	Jel Test	Kolon Affinité
Reaksiyon Yıkama İnkübasyon Santrifüj Otomasyon Kalıcı reaksiyon Özel Cihaz Gereksinimi	Hemaglutinasyon Evet Değişken Hayır Hayır Hayır	İmmunaderans Evet 15 dak 2 dak Evet Evet(2 gün) Evet	Hemaglutinasyon Hayır 15 dak 10 dak Evet Evet (2-3 gün) Evet	İmmünaderans Hayır 15 dak 3 dak Evet Evet (7 Gün) Evet

Avantajları :

- Diğer iki yöntemle benzer avantajlara sahiptir.
- Hemolizli, lipemik ve ikterik örneklerle çalışılabilir.
- LİSS- İAT yöntemine göre daha sensitifdir.

Dezavantajları:

- Diğer iki yöntemle benzer dezavantajlara sahiptir.
- Artan sensitivite klinik önemi olmayan antikorların tesbitini kolaylaştırmakta ve spesifiteyi düşürmektedir.

Kan bankacılığında transfüzyonun güvenliğini sağlamak, yenidoğanın hemolitik hastalığını önlemek için yapılan testlerde kullanılan yöntem ucuz, güvenilir, kolay olmalıdır. İmmünohematologların en önemli bekentilerinden biri de kullanılan yöntemin klinik önemi olan antikorları tesbit edip, klinik önemi olmayanları tesbit etmemesidir.

Antikor tarama testinin sensitivite ve spesifitesini artırmak için aglutinasyonun birinci ve değiştirilebilen ikinci aşama özelliklerinde manipasyonlar yapılmıştır. Son yıllarda yeni metotlar ve reaktiflerle sensitivite artırılmaya çalışılırken spesifitede azalma ortaya çıkmıştır.

Weisbach ve arkadaşları çalışmada dört yöntemi karşılaştırmışlar ve jel, kolon affinité ve solid faz yöntemlerini tüp LİSS İAT den daha sensitif bulurken tüp LİSS İAT yöntemini jel ve solid faz yönteminden daha spesifik bulmuşlardır (%98.8, %94.4, %94.3 sırasıyla). Ciavarella ve arkadaşları yaptıkları çalışmada tesbit edilebilir en düşük anti-D değerini PEG ve jel yönteminde 5 ng/mL, tüp LİSS İAT de 11 ng/mL olarak bulmuşlardır. Novaretti ve arkadaşları anti - D titrasyonu için tüp ve jel yöntemlerini karşılaştırdıklarında jel yönteminde daha yüksek titre (ort 3.4 kat) tesbit etmişlerdir. Bu nedenle jel yönteminde anti D için kritik değer belirlemek zordur. Nitekim rehberlerde tüp LİSS İAT yöntemi en uygun metot olarak belirtilmektedir.

Bazı antikorlar yöntem spesifik olabilir. Callahan ve arkadaşları gecikmiş hemolitik reaksiyon gelişen bir hastada sadece SPRCA yöntemi ile anti -Jk b tesbit etmişlerdir.

Klasik tüp yöntemi ve üstte sayılan yeni metotların spesifite ve sensitivitesi (uygun şartlarda yapıldığında) çoğu hastanın ihtiyacını karşılayacak niteliktidir. Ancak immünohematolojide önemli olan trombosit çapraz

karşılaştırması gibi bazı testler bu yöntemle yapılamamaktadır. Bu amaçla akım sitometrik yöntemler kullanılmaktadır. Ayrıca hemaglutinasyon yöntemi:

- Yakın zamanda transfüzyon yapılmış hastaların eritrosit antijenlerinin tesbitinde,
 - Eritrositleri Ig G ile kaplı hastaların kan grubu tayininde,
 - Feto-maternal kanama tayininde,
 - Risk altındaki fetüsü belirlemede,
 - ABO uyumsuz kök hücre nakli yapılan hastalarda,
 - İmmünize olmuş D (-) bayanların eşlerinin Rh D zigozitesini tayinde,
 - Donör ve alicılarda zayıf ve kısmi D ayrimında,
 - ABO alt gruplarının ve nadir kan gruplarının tesbitinde
 - Adli tipta,
- yetersiz kalabilmektedir. Bu durumlarda yeni, özellikle moleküler yöntemler kullanılabilmektedir.

Kaynaklar

1. Brecher ME. And AABB members.Tecnical Manual. 15th ed. Maryland: AABB press; p 271-287: 2005
2. Mc Cullough. Laboratory Detection of Blood Groups and Provision of Red Cells In: Transfusion Medicine Second Ed. Philadelphia Elsevier p 221-250: 2005
3. Casina T.S. In search of the Holy Grail: comparison of antibody screening methods. Immunohematology. 22 (4); 196-202; 2006
4. Harmening D., Walker P. Altenative Technologies in Routine Blood Bank Testing In Denise Harmening Modern Blood Banking and Transfusion Practices 4th Ed. Philadelphia F.A. Davis Company,p 545 -548: 1999.
5. Rumsey D.H., Ciesielski D. J. New protocols in serolojik testing: a review of techniques to meet today's challenges. Immunohematology, 16 (4), 2000

* SB Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
İç Hastalıkları Hematoloji Kliniği, Ankara

Kan Grubu Tayininde Hemaglutinasyon Dışı Yöntemler

► Prof. Dr. Davut Albayrak

Kan grubu tayininde uygulamada istisna haller dışında hemaglutinasyon (kan kümelenmesi) yöntemleri kullanılır. Kırmızı kan hücrelerinin kümelenmesine dayanan testlerin kullanılamadığı veya bu yöntemlerle yeterli bilgi edinilemediği zaman hemaglutinasyon dışı yöntemlere başvurulur. Bu sebeple hemaglutinasyon dışı yöntemler ticari önemi olmayan yöntemlerdir. Ticari hazır kitler bulmak çoğu zaman mümkün değildir. Çokunlukla araştırma amacı ile gereken yöntem geliştirilir.

Kırmızı Kan Hücresi Kümelenmesine Dayalı Yöntemlerin Kullanılamadığı Durumlar Sunlardır:

1. Kurumuş kan bulaşığı örnekleri (çoğunlukla adlı tipla ilgilidirler).
2. Hemoliz olmuş kan örneği
3. Küme yapmayacak miktarda antikor bağlayan zayıf antijen
4. Anne kanına karışmış bebek kanı
5. Çok sayıda kan almış hastalarda grup tayininde karşılaşılan zorluklar
6. Homozigot ve heterozigot kan grubu taşıyan eritrositler
7. Kimerizm(ikiz, kemik iliği nakli)
8. Anne kanında bebek lenfositlerinin gösterilmesi
9. Anne kanında bebek DNA'sının gösterilmesi
10. Korion villus biopsisinden kan grubu tayini
11. Amnion sıvısından kan grubu tayini

İlk üç maddede eliza uygundur. 2-7. maddeler akım sitometre tekniği ile (flow sitometre, FACS) değerlendirilir. Diğer maddeler PCR üzerine kurulu DNA analiz yöntemi gerektirirler.

Kan grubu; kırmızı kan hücrelerinin üzerinde bulunan ve alıcıda antikor cevabı uyaran antijenlerdir. Antijenler üç özelliklerile tanımlanabilirler;

1. Antijen antikor bağlanması
2. Antijen lektin bağlanması
3. Antijen DNA gen dizisinin analizi

Antikorlar antijene bağlandıktan sonra bağlanmış antikor sayısını yansıtacak şekilde bağlı antikorları ölçülebilir hale dönüştürecek ek işaretleme işlemleri yapılır. Bu ekler antikorun üretilmesi sırasında kimyasal işlemlerle (kovalent bağlama) yapılabileceği gibi birinci antikoru spesifik olarak

tanıyan işaretlenmiş ikinci kademe antikor veya biotin avidin sistemleri ile de yapılabılır. Lektinlerde FITIC veya enzim ile kovalent bağlanmış olarak üretilebilir.

Antikor, öğrencebilen bağışıklık sisteminin üyesi olan B lenfositler ve plazma hücreleri tarafından üretilen immünglobulin (A,G,M) yapısındaki proteinlerdir. Her antikor kendisinin üretilmesine yol açan抗原 epitop ile seçici ve güçlü olarak bağlanır. Epitop antijen molekülü üzerinde bulunan ve her biri kendisine seçici olarak bağlanan antikor üretimini uyarabilen parçalardır. Epitoplar genellikle peptit parçalardır. Bir antijenin birden çok epitopu olabilir. Bunun anlamı örneğin her Anti-D antikorunun aynı olmayacağı ve bir antijene aynı anda farklı iki antikorun spesifik olarak bağlanabileceğidir. Bir antijenin farklı epitoplarına farklı tür hayvandan elde edilmiş antikorlar bağlanarak ölçme yöntemleri geliştirilebilir. MAIEA eliza yöntemi buna bir örnektir.

MAIEA:

Eritrosit antijenlerinin monoklonal antikor spesifik immobilizasyonu testinde (MAIEA) kan grubunun iki epitopundan birisine fare kaynaklı diğerine insan kaynaklı antikor bağlanır. Örnek hemoliz edilir. Eliza plajının oyuklarına konulur. Fare kaynaklı antikor eliza oyuguna kaplanmış anti fare antikoruna bağlanırken, insan kaynaklı antikor enzim (peroksidad gibi) bağlanmış anti insan antikoruna bağlanır. (1,2,3)

ELİZA:

Antijen tayininde kullanılan klasik ELİZA tekniklerinde de iki epitop kullanılır fakat prensip daha basittir. Eliza plajının oyuklarına antijenin bir epitopuna karşı olan antikor antijeni sabitleme amaçlı olarak emdirilir. Bu kademe hazır kitlerde yapılmış haldedir. Laboratuvara kit hazırlarken boş polistren plakların oyuklarına sabit oyuga bağlama görevli antikor damlatılır ve bir gece bekletilir. Bu antikor test sırasında sıvı örnekteki antijeni (Anti D gibi) oyuga bağlar ve yıkama kademeinde oyuk çeperinden ayrılmamasını sağlar. Yıkama kademesinde antijen dışındaki örnek sıvı parçaları uzaklaştırıldıktan sonra enzim bağlanmış olan ikinci epitopun antikoru antijene bağlanır. Yıkarak fazla ikinci antijen uzaklaştırılır. Sonra renk reaktanı ($H_2O_2 + TMB$ gibi) damlatılır. İnkübasyon süresinden sonra sülfirik asit ile enzim denatüre edilir. Eliza cihazında okutulur. Test

için sağlam kırmızı kan hücreleri kullanılacak ise antijeneler eritrositten koparılarak süpernatan kullanılır veya kırmızı kan hücreleri patlatılarak zar süspansiyonu elde edilir. (3)

ANTİKORUN PARÇALARI:

Antikor iki hafif ve iki ağır zincirin birbirine bağlanmasıından oluşan ters Y şeklinde bir proteindir. Molekül işlev olarak iki kısımdır. Antijeni spesifik olarak tanıyan ve ona güçlü olarak bağlanan bölüm Fab (fragment antibody) kısmıdır. İkinci bölüm yutucu hücrelerdeki antikor reseptörlerine bağlanır ve FC (fragment cell) kısmı olarak adlandırılır.

Antikorun iki Fab bacağı vardır. İki fab bacağı tek veya ayrı olarak bağlanabilir. İki bacak aynı hücreye bağlandığında sadece işaretleme yapar. İki bacak iki ayrı hücre yüzeyine bağlanırsa hücre kümelenmesine yol açar. Hemaglutinasyon testleri iki Fab bacağının iki ayrı kırmızı kan hücresinə bağlanması ve hücreleri birbirine bağlayarak kümelleştirmesi esasına dayanır.

LEKTİNLER:

Lektinler, bitkiler, bakteriler, virüsler ve mantarlar tarafından üretilen ve canlı zarlarında bulunan şeker zincirlerine seçici ve güçlü olarak bağlanan bileşiklerdir. Çalışma sistemleri antikorlara benzer. İnsan plazmasında bulunan mannoz bağlayan protein de bir lektindir. Fagositoz yapan hücrelerde tipki FC (yutucu hücreye bağlanan parça) reseptörleri gibi lektin reseptörleri vardır. Lektin reseptörleri, bakterilerin üzerinde bulunan lektinlere bağlanarak fagositoz işlemini başlattığı gibi, bakteriye sonradan bağlanmış lektin aracılığı ile de fagositoz yaptırabilirler. Lektinlerin iki veya daha fazla bacakları vardır. Fasulye lektinleri (Dolichos biflorus) A1 grubuna, A2 grubundan 5000 defa daha güçlü bağlanır. Uygun seyreltilmiş fasülye ekstraktları ve hazır kitleri A grubunu A2 grubundan ayırt etmekte kullanılır. Bu lektinin FITIC konjuge edilmiş şekli bulunmaktadır. Flow sitometrik çalışmaya uygundur. Fıstık lektinleri (Ulex Europaeus) H antijenine seçici olarak bağlanır. Bazı lektinler hücrelere bağlandıklarında uyarım ve farklılaşma yapabilirler. (3)

Hemaglutinasyon dışı yöntemler sivilardaki ve hemoliz olmuş maddelerdeki抗jenlerin (kan gruplarının) tayinine imkan verirler. Akım sitometre ölçümlü kırmızı kan hücresi kimerizmini araştırmada ve kan almış hastalarda hücrelerin ayrı ayrı ölçülmesine ve oranlarının bulunmasına imkan verir.

Antikor bağlayarak kan grubu tayinine imkan sağlayan yöntemler:

1. Antikorun FC kısmına kovalent bağlanmış bir işaret molekül konur.

- a. Enzim bağlanır
- i. Renk maddesi dönüştüren enzim, ELIZA, MAIEA, peroksidaz, alkalenfosfataz
- ii. Kimyasal ışık üreten enzim, kemilluminans, lusiferaz
- 2. Flor tipi yeniden işme yapan madde bağlanır. FITIC ve PE konjugasyon
- a. Mikroskopta gözle okunur
- b. Florometri cihazında okunur
- c. Mikroskopta sitometri ile okunur ve bilgisayarda analiz edilir
- d. Akım sitometre (flowcytometri) ile okunur ve bilgisayarda analiz edilir.
- 3. Radyasyon yayıcı radyo izotop bağlanır. Radyasyon sayıcida okunur. Radyo immunoassay (RIA)
- 4. Antikor ile抗jenin bağlanması ile oluşturulan bulanıklık ölçülür (nefelometri)
- 5. İnce jelde fiksasyon. Tipki western blot gibi antikor jelde bilinen yerlere sabitlenir. Antijen elektroforeze veya sürükleyici sıvı ile jelde yürütüülür.

6. Kolon kromatografisi: Antikor kolona konulan kürecik halindeki maddelere bağlanır. Antijenler geçerken bağlanır. Affinite kromatografisi de denir.

Bunlardan eliza, kemilluminans, florometre, RIA ve nefelometre aynı zamanda standart抗jenle şahit ayarlaması yapıldığında miktar tayinine imkan verir (3). Akan hücre teknikleri tek tek hücrelerin üzerindeki抗jen yoğunluğunu yoğunluklarını ölçmeye imkan verir. Burada belirli sayıda flor tipi işme yapan (florokrom) molekül bağlanmış standart plastik tanecikler抗jen sayısının belirlenmesinde şahit rolü oynarlar. Standart miktarla抗jen bağlanmış standart büyülükteki plastik taneciklerin kullanılması daha iyi olmakla birlikte hazırlanması抗jene özeldir ve pratikte temini güçtür.

Literatürde bu yöntemlerin hepsi ile ilgili yayınlar vardır. Fakat ticari kit olarak internet taramamızda rastlanamamıştır. Bu sebeple laboratuvara kullanıcı tarafından üretilmesi veya özel üretim siparişi verilmesi gereklidir.

Bunun için iki kademeli antikor yöntemi kullanılır. İkinci kademeli birinci kademeli antikor türler arası farklılık sebebiyle抗jen olarak tanıyan işaretlenmiş antikordur. İşaret ölçüm için kullanılacak cihaza uygun olarak seçilmiş ve ikinci antikora kovalent olarak bağlanmıştır. Ticari olarak bulmak kolaydır.

Birinci kademeli spesifik tanıycı antikor olarak ticari kan grubu çözeltilerinden faydalananmalıdır. Bağlanmış antikorun okunabilir hale gelmesi için iki kademeli antikor sistemleri kullanılabilir. Akım sitometre için kırmızı kan hücreleri kan grubu tavşan antikorları ile işaretlendikten sonra FITIC işaretlenmiş anti insan antikoru ile inkübe edilir. Yöntem olarak diğer抗jenlerde kullanılan iki kademeli antikor sisteminden farklı değildir. Birinci kademeyiavidinle ikinci

kademeyi biotinle işaretleyen Avidin-biotin sistemi de iki kademe olmakla birlikte avidinin birinci kademe antikora ticari olarak bağlanmış olması gerekmektedir. Bu ihtiyac ticari önemi olmayan kan grubu tayini için biotin avidin sisteminin kullanımını sınırlamaktadır.

Akim sitometre bebekten anneye kanamanın miktarını tesbit etmek, hastaya verilen kan hücrelerini hastanıklardan ayırt etmek, verilen hücrelerin alıcıdaki ömrünü takip etmek, kümeleşme yöntemleri ile tesbit edilebilecek miktarın altındaki antikor bağlanmalarını ölçmek ve anitjeni homozigot olarak taşıyanlarla heterozigotları ayırt etmek için kullanılır. (4-6)

İmmunoblotting ve İnce tabaka kromatografi kan grubu antijeni tayininde kullanılmış diğer yöntemlerdir (7,8).

PCR temelli DNA analizleri, PCR ve DNA analizi yöntemlerini oturmuş laboratuvarı olan kurumlara araştırma amacı ile kan gruplarına bakmakta daha fazla uygulanabilirlik sağlamaktadır. Yazılı kaynaklardaki primerlerin sipariş ile sentezlenebiliyor olması ve kullanılan enzimlerin diğer DNA araştırmaları için de kullanılıyor olması bu testlerin daha kolay ulaşılabilir olmasını sağlamaktadır. Ayrıca saç teli, korion biopsisi gibi örneklerin kullanılabilmesi bu metodun diğer bir üstünlüğüdür.

PCR temelli DNA çalışmaları için anne plazması kullanılıyorsa anne plazmasında bebek DNA sının bulunduğu RASSF1A geni gibi bir şahit çalışma ile önceden kanıtlanması gerekmektedir (9,10) . PCR ile ilgili kan grubu geninin DNA sı çoğaltıldıktan sonra bu grubun alt tiplerinin belirlenmesi için mutasyonları gösteren genel yöntemlerden faydalanjılır. RFLP, ARMS, mutasyon spesifik hibridizasyon, dizi analizi bu yöntemlerden bazlılardır.

PCR Temelli DNA Analizleri İle Yapılan Klinik Uygulamalardan Bazıları Şunlardır:

1. Anne kanına karışın bebek lenfositleri kullanılarak bebeğin kan grubunun tayini
2. Korion villus biopsisi kullanılarak kan grubu tayini
3. Anne plazmasında dolaşan hücre dışı fetal DNA analizi ile bebek kan grubunun tayini (SABER= allele base extension reaction +mass spektroskopi)
4. Anne kanında fetal DNA varlığını araştıran yöntemler. (RASSF1A gene is hypermethylated in the placenta and hypomethylated in maternal blood cells)

Sonuç olarak hemaglütinasyon dışı kan grubu tayin yöntemleri hemaglütinasyon yönteminin uygulanmasının mümkün olmadığı hallerde kan grubu tayininde kullanılırlar. Bunlardan akım sitometre ve PCR temelli DNA analizi yöntemleri daha kolay ve güvenilir kan grubu tayin etme özelliği taşıyan ve gerekli maddelere ticari ortamda ulaşılabilen yöntemlerdir.

Kaynaklar:

1. Petty AC. Monoclonal antibody-specific immobilisation of erythrocyte antigens (MAIEA). A new technique to selectively determine antigenic sites on red cellmembranes. J Immunol Methods 1993;161:91-5.
2. Petty AC, Green CA, Daniels GL. The monoclonal antibody-specific antigens assay (MAIEA) in the investigation of human redcell antigens and their associated membrane proteins. TransfusMed 1997;7:179–88.
3. AABB Technical manual 25 th edition. In: Other Methods to Detect Antigen-Antibody Reactions p 283-87.
4. Garratty G, Arndt P. Applications of flow cytofluorometry to transfusion science. Transfusion 1994;35:157-78.
5. Stussi, G, Huggel, K, Lutz, H. U, Schanz, U, Rieben, R et al Isotype-specific detection of ABO blood group antibodies using a novel flow cytometric method. British Journal of Haematology. 130(6):954-963, September 2005.
6. Garratty G, Arndt P. Applications of flow cytofluorometry to transfusion science. Transfusion 1994;35:157-78.
7. Greedan J.E.; Nakua A.M.; Sato I. Hamabe T.; Yamazaki K.; Watanabe Y.A new method for the determination of the ABO blood type of semen by immunoblotting using anti-ABH antibodies following immunoprecipitation Journal of Immunological Methods, Volume 188, Number 2, 1995 , pp. 229-237(9)
8. Ota M, Fukushima H, Yonemura I, Hasekura H. Detection of ABO blood group-active glycolipids extracted from red cell membrane and heat hematoma using TLC-immunostaining. Z Rechtsmed. 1988;100(2-3):215-21.
9. Chan KC, Ding C, Gerovassili A, Yeung SW et al. Hypermethylated RASSF1A in maternal plasma: A universal fetal DNA marker that improves the reliability of noninvasive prenatal diagnosis. Clin Chem. 2006 Dec; 52(12):2211–8
10. Daniels G. Recent developments in fetal nucleic acids in maternal plasma: implications to noninvasive prenatal fetal blood group genotyping. Transfus Clin Biol. 2006 Mar-Apr;13(1-2):50-2

15 - 19 Kasım 2007 tarihinde, Belek Antalya, Maritim Pine Beach Resort Otel'de
düzenlenecek olan Kongre ile ilgili gelişmeleri

www.kmtd.org.tr ve www.kan.org.tr

web adreslerimizden takip edebilirsiniz

II. ULUSAL KAN MERKEZLERİ ve TRANSFÜZYON TIBBI KONGRESİ

MARITIM PINE BEACH RESORT OTEL, BELEK/ANTALYA

**15 - 19 Kasım 2007 tarihinde, Belek Antalya,
Maritim Pine Beach Resort Otel'de düzenlenecek olan
II. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Kongresi
takvimimiz aşağıdadır.**

Bildiri Özeti Formu (Son Gönderme Tarihi)	03 Eylül 2007
Kayıt Formu (Son Gönderme Tarihi)	01 Kasım 2007
Otel Rezervasyon Formu (Son Gönderme Tarihi)	01 Kasım 2007
Açılış	15 Kasım 2007
Kongre Bilimsel Programı	15 - 19 Kasım 2007
Kurs Bilimsel Programı	15 - 19 Kasım 2007
Kapanış	19 Kasım 2007

Ayrıntılı bilgi için:

Dr. Ramazan Uluhan

Tel/Faks: (0216) 492 9551

GSM: 0542 312 7969

veya

**www.kmtd.org.tr ve
www.kan.org.tr**

sitelerinden

**II.Ulusel Kan Merkezleri ve
Transfüzyon Tıbbı Kongresi'ni
tıklayınız.**

Banka Hesap Numaraları

Kayıt ücretleri ve diğer Bağışlar için:

Banka : Garanti Bankası

Şube : Selamiçeşme (846)

Hesap Adı : Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği

Hesap No : 6299978 (YTL)

Konaklama ücretleri için:

Banka : Garanti Bankası

Şube : Selamiçeşme (846)

Hesap Adı : Türk Kan Vakfı İktisadi İşletmesi

Hesap No : 9099924 (Euro)

İletişim ve Yazışma Adresleri:

Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği

Bağdat Caddesi Kumbaracılar Çıkmazı

Birlik Apt. B Blok No:16 D:24 81030

Fenerolu/Kadıköy/İstanbul

Tel: (0216) 414 44 17 (pbx)

Faks: (0216) 414 4419

E-mail: kmtd@kmtd.org.tr

Kongre Düzenleme Kurulu Genel Sekreteri:

Dr.Ramazan ULUHAN

Tel-Faks: (0216) 492 9551

Cep Tel: (0542) 312 7969

E-mail: ruluhan@superonline.com

Organizasyon:

Interium Congress, Meeting, Incentive
Sıraselviler cd. Hısovergi apt. 48/8 Taksim,
İstanbul, Turkey

Phone: +90 212 292 8808 Fax: +90 212 292
8808
info@interium.com.tr

II. ULUSAL KAN MERKEZLERİ ve TRANSFÜZYON TIBBI KONGRESİ
15-19 KASIM 2007
MARITIM PINE BEACH RESORT OTEL
BELEK / ANTALYA



Lütfen bu formu eksiksiz doldurduktan sonra, ödeme dekontunu ekleyerek kurs düzenleme bürosuna gönderiniz.
 Kayıt formu yalnız bir katılımcı ve refakatçiler için geçerlidir.

Katılmak istediğiniz program: Kongre Bilimsel Programı Temel Kurs Bilimsel Programı

KAYIT VE KONAKLAMA FORMU

Adı : _____ Soyadı : _____ Ünvanı / Branşı: _____
 Kurum : _____ Adres: _____
 Telefon: _____ Faks : _____ E-posta : _____

KAYIT BİLGİLERİ

Erken Kayıt 16 Ekim 2007 tarihine kadar Geç Kayıt 16 Ekim 2007 tarihinden sonra

Katılımcı	<input type="checkbox"/> 225 YTL	<input type="checkbox"/> 275 YTL
Refakatçi	<input type="checkbox"/> 175 YTL	<input type="checkbox"/> 200 YTL

Toplam ____.-YTL

Kayıt ücretine; yaka kartı, çanta, toplantı kitabı, kahve servisleri, hoşgeldin kokteylli ve galá yemeği dahildir.

Refakatçiler;

Adı Soyadı : _____	Yaşı : _____	Ulaşım Şekli
Adı Soyadı : _____	Yaşı : _____	Uçak <input type="checkbox"/> Geliş Tarihi : _____ Varış Saati : _____
		Uçak <input type="checkbox"/> Dönüş Tarihi : _____ Kalkış Saatifi: _____

KONAKLAMA PAKETİ

Maritim Pine Beach Resort

Erken Kayıt 16 Ekim 2007 tarihine kadar Geç Kayıt 16 Ekim 2007 tarihinden sonra

Tek Kişilik Oda	<input type="checkbox"/> 425 EURO	<input type="checkbox"/> 475 EURO
Çift Kişilik Oda (kişi başı)	<input type="checkbox"/> 325 EURO	<input type="checkbox"/> 375 EURO
0-12 yaş	<input type="checkbox"/> %50 indirimli	<input type="checkbox"/> %50 indirimli Toplam ____.-EUR

*Yukarıda belirtilen otel ücretlerine dört günlük (saat 00:00'a kadar) yiyecek - içecek servisleri, oteldeki ücretsiz aktiviteler, sosyal programlar (her şey dahil), havaalanı otel - havaalanı transferi ve %18 kdv dahildir.

ÖDEME BİLGİLERİ

Lütfen uygun kutuyu işaretleyiniz.

Banka havalesi

Banka dekontunun bir kopiesini eklemeyi unutmayın.

Kayıt Ücretleri İçin

Banka : Garanti Bankası	Konaklama Ücretleri İçin
Şube : Selamiceşme (846)	Banka : Garanti Bankası
Hesap Adı : Türkiye Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği	Şube : Selamiceşme (846)
Hesap No. : 6299978 (YTL)	Hesap Adı : Türk Kan Vakfı İktisadi İşletmesi

Konaklama Ücretleri İçin

Banka : Garanti Bankası
Şube : Selamiceşme (846)
Hesap Adı : Türk Kan Vakfı İktisadi İşletmesi
Hesap No. : 9099924 (EURO)

Kredi Kartı *Kredi kartı ödemeleriniz için lütfen formu imzalayınız.

Kart Tipi Visa Mastercard

Geçerlilik Tarihi ____ / ____

Kart Numarası ____ / ____ / ____ / ____

Güvenlik Kodu ____ - ____

*Kartınızın arkasındaki numaranın son üç hanesi

*Kredi kartınızın onlu-arkalı fotokopisinin Kayıt ve Konaklama Formu ile birlikte gönderilmesi gerekmektedir.

Kayıt ücreti için yukarıda belirttiğim toplam YTL'nin kredi kartından çekilemesini kabul ediyorum. **İMZA**

Konaklama ücreti için yukarıda belirttiğim toplam EUR'nun kredi kartından çekilemesini kabul ediyorum. **İMZA**

BAĞIŞ MAKBUZU VE FATURA BİLGİLERİ

Makbuz - Fatura Kesilecek Kişi / Kurum: _____

Ayrıntılı Bilgi İçin:

Uzm. Dr. Ramazan Uluhan

Tel - Faks: 0.216 492 95 51

Gsm: 0.542 312 79 69

veya

www.kmld.org.tr veya www.kan.org.tr sitelerinden
II. ULUSAL KAN MERKEZLERİ ve TRANSFÜZYON TİBİ KONGRESİ'ni
 tıklayınız.

Makbuz - Fatura Adresi: _____

Vergi Dairesi ve No'su: _____

Makbuz - Fatura Gönderim Adresi: _____