

Kan Donörlerinde İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü, Hepatit B ve Hepatit C Virüslerinin Moleküler ve Serolojik Yöntemlerle Araştırılması

Ayşe ALICI^{1,a}, Gülgün YENİŞEHİRLİ², Bahise Çağla TAŞKIN DALGIÇ³, Abdullah YAYLI⁴

¹Tatvan Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Bitlis, Türkiye

²Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tokat, Türkiye

³Rıza Halk Sağlığı Laboratuvarı, Tıbbi Mikrobiyoloji, Rize, Türkiye

⁴Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Tokat, Türkiye

ÖZ

Amaç: Çalışmamızda; Hepatit B Virüs (HBV), Hepatit C Virüs (HCV) ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) ile oluşan enfeksiyonların tanısına yönelik kan donörlerinde rutin bakılan tarama testlerinin yanı sıra; HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, Anti-HbcIgM/Anti-Hbc total düzeylerinin araştırılması ve bu testlerin transfüzyon kaynaklı enfeksiyonların bulaşma riski açısından önemi olup olmadığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Hastanemiz kan transfüzyon merkezi'ne Temmuz 2020- Nisan 2021 tarihleri arasında kan bağışçısı olarak başvurup, kan donörü olmaya uygun sağlıklı 18-65 yaş arası 200 kişi çalışmamıza dahil edildi. Serum örneklerinde, Hepatit B virüs DNA, Hepatit C virüs RNA ve İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) RNA Real-Time PCR yöntemiyle ve Hepatit B virüsünün cor antijenine karşı oluşmuş, Anti-Hbc IgM ve Anti-Hbc total antikorları ELISA yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular: Real time PCR sonucunda donörlerin hiçbirinde HBV DNA, HCV RNA ve HIV RNA pozitifliğine rastlanmadı. Ayrıca yapılan serolojik testler sonucunda hiçbir donörde Anti-Hbc IgM pozitifliği saptanmazken, donörlerin 28'inde(%14) Anti-Hbc total pozitifliği saptandı.

Sonuç: Bu çalışmada biz hiçbir donörde HBV DNA, HCV RNA ve HIV RNA pozitifliği saptamadık. Çalışmaya dahil edilen donör sayısının az olması bu sonuca neden olmuş olabilir. Daha fazla sayıda örnek yapılabilecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Kan donörü, HBV, HCV, HIV.

ABSTRACT

Investigation of Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B and Hepatitis C Viruses in Blood Donors by Molecular and Serological Methods

Objective: In our study; in addition to routine screening tests in blood donors for the diagnosis of infections with Hepatitis B Virus (HBV), Hepatitis C Virus (HCV) and Human Immunodeficiency Virus (HIV); it is aimed to investigate HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, Anti-HbcIgM/Anti-Hbc total levels and to evaluate whether these tests are important in terms of transmission risk of transfusion-borne infections.

Material and Method: A total of two hundred healthy people between the ages of 18-65 who applied to our hospital's blood transfusion center as blood donors between July 2020 and April 2021 were included in the study. Hepatitis B virus DNA, Hepatitis C virus RNA and Human immunodeficiency virus (HIV) RNA were investigated by Real-Time PCR method from serum samples. Anti-Hbc IgM and Anti-Hbc total antibodies were screened by macroelisaassay.

Results: As a result of real time PCR, HBV DNA, HCV RNA and HIV RNA positivity were not found in any of the donors. Also, as a result of serological tests, Anti-Hbc total positivity was detected in 28 (14%) of the donors while Anti-Hbc IgM positivity was not detected in any donor.

Conclusion: In this study, we did not detect HBV DNA, HCV RNA or HIV RNA positivity in any donor. The small number of donors included in the study may have caused this result. Studies with larger numbers of samples are needed.

Keywords: Blood Donor, HBV, HCV, HIV.

Bu makale atıfta nasıl kullanılır: Alici A, Yenisehirli G, Taskin Dalgic BÇ, Yayli A. Kan Donörlerinde İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü, Hepatit B ve Hepatit C Virüslerinin Moleküler ve Serolojik Yöntemlerle Araştırılması. Fırat Tıp Dergisi 2025; 30(2): 109-112.

How to cite this article: Alici A, Yenisehirli G, Taskin Dalgic BC, Yayli A. Investigation of Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B and Hepatitis C Viruses in Blood Donors by Molecular and Serological Methods. Fırat Med J 2025; 30(2): 109-112.

ORCID IDs: A.A. 0000-0003-3709-1332, G.Y. 0000-0001-7030-0752, B.Ç.T.D. 0000-0002-1271-7522, A.Y. 0000-0002-7667-3784.

Güvenli kan ve transfüzyonu güvenliği için en önemli konu enfeksiyöz ajanların transfüzyon öncesi taranması ve bulaş riskinin en aza indirilmesidir (1). Ülkemizde, yürürlükteki mevzuata göre, enfeksiyon etkenlerinin bulaşını önlemeye yönelik olarak HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV-1/2, Treponema pallidum total antikor taramasının her kan bağışında yapılması zorunludur (2).

Bununla birlikte, bu testlerde kullanılan yöntemlerin gerek prensipleri gerekse teknik süreçleri itibarıyla pencere dönemi sorunu, mutasyonlara bağlı yanlış negatiflikleri sorunu, bağışlanan kanların israfına yol açabilecek biyolojik yanlış pozitiflik sorunu gibi kısıtlılıklar mevcuttur (1). Bu nedenle güvenli transplantas-

^aYazışma Adresi: Ayşe ALICI, Tatvan Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Bitlis, Türkiye

Tel: 0546 872 6064

Geliş Tarihi/Received: 30.05.2023

* Bu çalışma 3. ulusal viroloji günlerinde poster bildiri olarak sunulmuştur (18-20 Haziran 2021, ONLINE).

e-mail: aysealici14@gmail.com

Kabul Tarihi/Accepted: 26.07.2024

yon için kan donörlerinde nakil öncesi yapılan testler oldukça önemlidir. Hepatit B, Hepatit C ve HIV ‘in viral nükleik asit tespitine yönelik belirteçlerin kanda serolojik belirteçlerden çok daha önce yükselmesi ayrıca Hepatit B enfeksiyonu pencere dönemi tespitinde HbsAg negatif iken Anti-HbcIgM’ in iyi bir serolojik belirteç olması kan donörü taramasında bu testlerin gerekliliğini düşündürmektedir (3). Çalışmamızda kan donörlerinde, Hepatit B Virüs (HBV), Hepatit C Virüs (HCV) ve İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV)’ nün tespitine yönelik rutin serolojik testlere (HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV) ek olarak HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, Anti-HbcIgM/Anti-HbcIgG’nin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastanemiz kan transfüzyon merkezi’ne Temmuz 2020-Nisan 2021 tarihleri arasında kan bağışçısı olarak başvurup, sağlık bakanlığı kan ve kan ürünleri rehberinde yayınlanan kan bağışçısı sorgulama ve kan bağışçısı tıbbi değerlendirme ve kan alma formu ile değerlendirilip kan donörü olmaya uygun sağlıklı 18-65 yaş arası ve çalışmaya katılmayı kabul eden 200 kişi çalışmamıza dahil edildi. Kişilerden rutin serolojik tarama için alınan kan örnekleri çalışmada kullanıldı. Kan örnekleri 3500 rpm de 10 dk santrifüj edilerek serum kısımlarının ayrışması sağlandı. Serum örnekleri çalışma yapılacak tarihe kadar -80 C de saklandı. Serum örneklerinde, Hepatit B virüs DNA, Hepatit C virüs RNA ve İnsan immün yetmezlik virüsü RNA Real-Time PCR yöntemiyle Montania 4896 (Anatolia, Türkiye) cihazı kullanılarak araştırıldı. HBV DNA Bosphore HBV kantifikasyon kiti kullanılarak yapıldı. Kitin analitik saptama sınırı 1×10^1 IU/ml’dir. HCV RNA Bosphore HCV Quantification Kiti kullanılarak yapıldı. Kitin analitik saptama sınırı $1,2 \times 10^1$ IU/ml’dir. HIV RNA Bosphore HIV-1 Quantification Kiti kullanılarak yapıldı. Kitin analitik tespit limiti 50 IU/ml’dir. Ayrıca Hepatit B virüsünün cor antijenine karşı oluşmuş, Anti-Hbc IgM ve Anti-Hbc total antikorları ELISA yöntemiyle Roche Cobas 6000 (Roche MolecularSystems, Inc., Germany) cihazı kullanılarak bakıldı. Anti-Hbc IgM COI <1.0 non-reaktif, COI ≥ 1.0 reaktif; Anti-Hbc total COI >1.0 non-reaktif, COI ≤ 1.0 reaktif olarak değerlendirildi.

Veri analizi SPSS 20 yazılımı (IBM, Armonk, ABD) kullanılarak yapıldı. Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş verilerinin normal dağılım gösterip göstermediği ShapiroWilk testi kullanılarak yapıldı. Normal dağılım göstermeyen verilerin ifadesi medyan (25. Yüzdelik-75. Yüzdelik) olarak, normal dağılım gösteren verilerin ifadesi mean $\pm$ standart sapma olarak yazıldı.

BULGULAR

Çalışmaya dahil ettiğimiz donörlerin 188’i (%94) erkek, 12’si (%6’sı) kadındı. Donörlerin yaş medyan değeri 35 (27,25-44,75) olarak bulundu. Real time PCR

sonucunda donörlerin hiçbirinde HBV DNA, HCV RNA ve HIV RNA pozitifliğine rastlanmadı. Ayrıca yapılan serolojik testler sonucunda hiçbir donörde Anti-Hbc IgM pozitifliği saptanmazken, donörlerin 28’inde (%14) Anti-Hbc total pozitifliği saptandı (Tablo 1).

Tablo1. Donörlerin HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA, Anti-Hbc IgM ve Anti-Hbc total pozitiflik oranları.

	Pozitif n, %	Negatif n, %
HBV DNA	0/0	200/100
HCV RNA	0/0	200/100
HIV RNA	0/0	200/100
Anti-Hbc IgM	0/0	200/100
Anti-Hbc total	28/14	172/86

TARTIŞMA

Kan bağışçısı seçim ölçütleri uygulamaları, tarama testlerindeki gelişmeler, antijen, antikor ve viral genom tespitine yönelik duyarlı ve gelişmiş yöntemlerin kullanılmasıyla transfüzyon güvenliği artmıştır. Teknolojik gelişmelerle birlikte ülkemizde bağışçı kanlarında 1983’ten beri HBsAg, 1987’den beri anti-HIV, 1996’dan beri anti-HCV testleri zorunlu olarak yapılmaktadır. Ancak, düşük olasılıkla da olsa hastalığa göre süresi değişen pencere döneminde alınan kanlar ile enfekte kan transfüzyon riski bulunmaktadır (4). Pencere dönemi HBV de 56 gün, HCV’de (3. kuşak ELİSA kitleriyle) ortalama 70 gün, HIV’de ise (p24 antijen ile birlikte) ortalama 16-17 gündür. Nükleik asit teknolojisi (NAT) testleriyle pencere dönemi HIV de 10-15 gün, HCV de 41-60 gün ve HBV de ise 6-15 gün azaltılmaktadır (5). Pencere döneminde, hastalığın klinik belirti ve laboratuvar bulgusu olmadığı için en hassas yöntemler ile kan tetkiki yapılmış olsa bile transfüzyon ile sifilis, hepatit B, hepatit C ve HIV/ AIDS geçişi olanaklıdır (4). NAT prensipli moleküler testler, kan ve kan bileşenlerinden viral etkenlerin transfüzyonla bulaşını ciddi oranlarda azaltması amacıyla kan taramalarına sokulmuştur. Günümüzde özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler çapında kullanılan üçlü (HBV, HCV, HIV) viral moleküler testler sıklıkla immünolojik (serolojik) testlerle birlikte kullanılmaktadır (1).

Kan donörlerinde HbsAg ile Hepatit B enfeksiyonu taraması yaygın kullanılan bir yöntemdir. Ancak bu viral belirteçin kullanılması bulaş riskini tamamen dışlamaz. HBsAg için negatif ancak HBV antikorları için pozitif olan veya olmayan hastalarda kan veya karaciğer dokularında HBV DNA’nın varlığı olarak tanımlanan gizli HBV enfeksiyonuna sahip bireyler kan transfüzyonu yoluyla HBV bulaşı için potansiyel risk oluşturur. Ayrıca enfeksiyonun pencere döneminde kişide hepatit B virüsü mevcut iken HbsAg tespit edilemez. Bu nedenle, pencere döneminde hepatit B enfeksiyonunu gösterecek bir belirteç, kan bankacılığında büyük önem taşımaktadır. Pencere dönemi ve gizli HBV enfeksiyonunun gösterilmesinde Anti-Hbc IgM ve HBV DNA’nın ideal göstergeler olduğu bilinmektedir (6). Çalışmamızda bu amaçla kan donörlerinde Anti-Hbc IgM ve HBV DNA araştırılmış ancak hiçbir

rinde pozitiflik saptanmamıştır. Yılmaz ve ark. (7) HbsAg negatif 121 hemodiyaliz hastasının inceledikleri çalışmalarında hastaların 10'unda (%8,2) HBV DNA'yı pozitif olarak bildirmişlerdir. Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada ise HbsAg negatif, AntiHbc pozitif 51 kronik hepatit B hastanın %21'inde Real Time PCR ile HBV DNA pozitif olarak bulunmuştur (8). Bayram ve ark.(9)'nın HbsAg negatif 4.352 sağlıklı kan donörünü inceledikleri çalışmalarında 2 hastada HBV DNA pozitifliği tespit edilmiş, ancak alternatif başka bir yöntemle test tekrar edildiğinde iki hastanın da sonucunun negatif olduğu bulunmuştur. Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada ise, kan donörlerinde HBV DNA pozitifliği %0,16 olarak bulunmuş, ancak pozitif hastalardan tekrar örnek alındığında hiçbir hastada pozitiflik tespit edilememiş, bu oran yalancı pozitiflik oranı olarak bildirilmiştir (10). Bal ve ark. (11) 8.333 donörü inceledikleri çalışmalarında 1 donörde(%0,012) HBV DNA pozitifliği tespit etmişlerdir. Kumar ve ark. (12) 2007 yılında 2.552 donörü inceledikleri çalışmalarında HbsAg negatif Anti-HBc IgM pozitif 10 tane donör(%0,39) tespit etmişlerdir. Grabarczyk ve ark.(13) seronegatif sağlıklı kan donörlerinde HBV DNA görülme oranının 1/61.047, HCV RNA görülme oranını 1/119.235 ve HIV RNA'yı ise 1/783.821 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamıza dahil edilen 200 kan donörünün hiçbirinde HCV RNA pozitifliği saptamadık. Cappy ve ark. (14) 18 yıllık dönemde yaklaşık 48 milyon donörü inceledikleri çalışmalarında, donörlerin %0.5'inde antikor negatif olmasına rağmen HCV RNA pozitif olarak bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada da sağlıklı kan donörlerinde HCV RNA görülme oranının 1000'de 2,6 olarak bildirirken, HBV DNA görülme oranı 1000'de 12,5 ve HIV RNA görülme oranı 1000'de 2,6 olarak bildirilmiştir (15). Zhang ve ark. (16) çalışmalarında anti-HCV negatif 56.000 kan donörünün 146'sında (%0,25) HCV RNA'yı pozitif olarak

bildirmişlerdir. Kabaş ve ark. (17) anti-HCV negatif 2.592 donörü; Bozdayı ve ark. (18) 6.000 donörü inceledikleri çalışmalarında çalışmamızla benzer şekilde hiçbir hastada HCV RNA pozitifliği saptamamışlardır. Kan donörlerine 2001'den beri havuz NAT, 2010'dan beri de bireysel NAT uygulanan Fransa'da, daha önce de kan donörü olan bir hastada anti-HIV pozitif olarak bulunmuştur. Bu donörün HIV RNA açısından negatif olan önceki kanı daha hassas bir NAT ile tekrar çalışıldığında HIV RNA pozitif olarak tespit edilmiştir (19). Bu da bize HIV RNA negatif bile olsa düşük viral yük durumunda bulaşın yine de olabileceğini göstermektedir. Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada ise bireysel NAT uygulamaları ile kan transfüzyonu ile HIV bulaşını milyonda 0,13 olarak bildirmişlerdir (20). İtalya'da yapılan kan donörlerinde HIV ve HCV nükleik asitlerinin araştırıldığı bir çalışmada bir hastada HIV RNA pozitifliği tespit edilmiş ve bu hastanın RNA pozitifliği saptandıktan 41 gün sonra serokonversiyon geliştiği bulunmuştur (21).

Almanya'da 2008-2015 yılları arasında 46 milyon donörün tarandığı çalışmada 20 HIV1-NAT, 61 HCV-NAT ve 29 HBV- NAT pozitifliği tespit edilmiştir. HIV1, HBV ve HCV'nin görülme sıklığının sırasıyla milyonda 0,43, 0,64 ve 1,32 olduğunu bildirmişlerdir (22).

Tüm bu sonuçlar bize göstermektedir ki kan donörlerinde ülkemizde rutinde bakılmayan HBV DNA, HCV RNA ve HIV RNA'nın taranması serolojik olarak negatif erken dönem olguların yakalanması, pencere dönemindeki enfeksiyonların tespiti açısından son derece önemlidir. Tarama testlerinde NAT temelli testlerin kullanılması tranfüzyon ile enfeksiyon bulaş oranını düşürecektir. Bu çalışmada biz hiçbir donörde HBV DNA, HCV RNA ve HIV RNA pozitifliği saptamadık. Çalışmaya dahil edilen donör sayısının az olması bu sonuca neden olmuş olabilir. Daha fazla sayıda örnekle yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Özbey D, Akçin R, Kocazeybek BS. Kan bankacılığında mikrobiyolojik tarama ve doğrulama testleri. Ceran N, editör. Kan Bankacılığı ve Transfüzyon. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri 2021; p.58-65.
- Müdürlüğü SHG. Ulusal Kan ve Kan Bileşenleri Hazırlama, Kullanım ve Kalite Güvencesi Rehberi. Ank Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü 2016.
- Acar A, Kemahli S, Altunay H, Kosan E, Oncul O, Gorenk L, vd. HBV, HCV and HIV seroprevalence among blood donors in Istanbul, Turkey: how effective are the changes in the national blood transfusion policies? Braz J Infect Dis 2010; 14: 41-6.
- Saraçoğlu GV, Kaya AD, Kurç MA, Saraçoğlu A. Güvenli Kan İçin Kime Güvenelim? Tekirdağ İlinde Kızılay Kan Bağış Merkezi Çalışmalarının Mikrobiyolojik Açısından Değerlendirilmesi Who Should We Trust for Safe Blood? Microbiological Evaluation of Kızılay Blood Donation Center Studies in Tekirdağ. Bozok Tıp Dergisi. 2017; 7: 46-53.
- Tekin A. Kan ve Kan Ürünleri Nakli ile Bulaşan Enfeksiyonlar. Konuralp Med J 2011; 3: 38-45.
- Akhan S, Aynioğlu A, Çağatay A et al. Kronik hepatit B virusu enfeksiyonunun yönetimi: Türk klinik mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalıkları derneği viral hepatit çalışma grubu uzlaşısı raporu. Klimik Derg 2014; 27: 2-18.
- Gürses G. HBsAg Negatif Olgularda HBV DNA Pozitifliğinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2006.
- Celikbas AK, Baykam N, Sebnem ER, Dokuzoguz B. The Evaluation of HBV-DNA Levels In Patients who Had Lost Hbsag After Recovery From Hepatitis B Virus Infection. Viral Hepatit Dergisi 2012; 1; 18.
- Bayram A, Tezcan S, Değirmenci A ve ark. Ege Üniversitesi ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakülte-lerinin kan merkezlerine başvuran HBsAg negatif kan vericilerinde HBV-DNA varlığının araştırılması. ETD 2016; 55: 26-8.
- Bali SK, Mutlu B, Sayan M, Laboratuvarı HM. Sağlıklı Kan Bağışçılarında Nükleik Asit Amplifikasyon Teknolojisi Yöntemi ile Hepatit B Virüs DNA'sının Araştırılması. Enfeksiyon Derg Turk J Infect 2008; 22: 131-4.
- Bal SH. İzole Anti-HBc total pozitif olgularda Real-Time PCR yöntemi ile HBV-DNA araştırılması ve bu olguların Kan Bankacılığı açısından önemi. Bursa Uludağ University 2006.
- Kumar H, Gupta P, Jaiprakash M. The role of anti-HBc IgM in screening of blood donors. Med J Armed Forces India 2007; 63: 350-2.
- Grabarczyk P, Kopacz A, Sulkowska E, Kubicka-Russel D, Mikulska M, Brojer E, Łętowska M. Blood donors screening for blood born viruses in Poland. Przegl Epidemiol 2015; 69: 473-7.
- Cappy P, Boizeau L, Candotti D et al. Effectiveness of the HCV blood screening strategy through eighteen years of surveillance of HCV infection in blood donors in France. Blood Transfus 2022; 20: 1-7.
- Mabunda N, Augusto O, Zicai AF et al. Nucleic acid testing identifies high prevalence of blood borne viruses among approved blood donors in Mozambique. PLoS One 2022; 17: e0267472.
- Zhang Y, Li J, Liu Y, Zhao H, Tian G. Significance of blood HCV RNA screening in the prevention of post-transfusion hepatitis C. Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Xue Za Zhi Zhonghua Shiyuan He Linchuang Bingduxue Zazhi Chin. J Exp Clin Virol 2006; 20: 70-2.
- Kabaş ZM. Anti-HCV negatif kan donörlerinde real-time PCR yöntemiyle HCV-RNA aranması ve sonuçların kan bankacılığı açısından öneminin tartışılması. Uludağ Üniversitesi 2007.
- Bozdayı MTD, Çuhadar BY. Anti-HCV taraması yapılmış olan kan vericilerinde RT-PZR ile HCV RNA tarama çalışması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2006.
- Cappy P, Barlet V, Lucas Q et al. Transfusion of HIV-infected blood products despite highly sensitive nucleic acid testing. Transfusion 2019; 59: 2046-53.
- Vermeulen M, Lelie N, Coleman C et al. Assessment of HIV transfusion transmission risk in South Africa: a 10-year analysis following implementation of individual donation nucleic acid amplification technology testing and donor demographics eligibility changes. Transfusion 2019; 59: 267-76.
- Aprili G, Gandini G, Piccoli P et al. Detection of an early HIV-1 infection by HIV RNA testing in an Italian blood donor during the preseroconversion window period. Transfusion 2003; 43: 848-52.
- Fiedler SA, Oberle D, Chudy M et al. Effectiveness of blood donor screening by HIV, HCV, HBV-NAT assays, as well as HBsAg and anti-HBc immunoassays in Germany (2008-2015). Vox Sang 2019; 114: 443-50.