

Anti-HIV-Pozitif Kan Donörlerinde Doğrulama Testi Sonuçları

N. Banu Kılıç¹, Hüsnü Altunay², Gülser Karaboğa¹

Özet: Prevalansın düşük olduğu popülasyonlarda donör tarama testlerinde elde edilen pozitifliklerin sıklıkla yalancı pozitif olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Kan Merkezi'ne 1997-99 yılları arasında başvuran 61416 donörün 24'ünde enzim immün essey ile elde edilen human immunodeficiency virus antikor (anti-HIV) pozitifliğinin Western blot (WB) yöntemiyle çalışılmış doğrulama testi sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. Donörlerde tarama testi olarak mikropartikül enzim immün essey (MEIA) Abbott-AXSYM anti-HIV test kitleri kullanılmıştır. Tarama testlerinde elde edilen reaktivite değerleri 1.0-2.2 arasında dağılmaktadır. Doğrulama testi yapılan 24 örneğin 21'inde hiçbir banda rastlanmazken (WB-negatif) üç örnekten 2'sinde p55, birinde p51 ve p66 bandlarına rastlanmıştır (WB-İndetermine). WB sonucu indetermine olan donörler, bilgilendirilerek ilgili kliniğe yönlendirilmiş ve bir yıl boyunca 6 aylık aralarla test sonuçları izlenmiştir. Birinde MEIA sonucu negatifleşmiş, diğer iki donör eski sonuçlarıyla uyumlu MEIA ve WB sonuçları vermiştir. 61416 kan donörünün hiçbirinde WB ile doğrulanmış HIV pozitifliğine rastlanmamıştır. Devam eden indetermine WB oranı %0.000033'tür (2:61 416). Toplumda nadir rastlanan enfeksiyon hastalıklarında karşılaşılabilecek yalancı pozitiflikler nedeniyle kan donörlerine tarama testlerine göre sonuç verilmemeli, doğrulama testleri yapılmalı, kan ürünü kullanımı ve donör takibi için sonuçlar kan merkezi kayıtlarında yer almalıdır.

Anahtar Sözcükler: HIV, Western blot, donör tarama testleri.

Summary: Confirmation test results in anti-HIV-positive blood donors. It is known that positivity of blood donor screening tests in the populations with a low prevalence of infection is frequently associated with false-positive reactivity. In this retrospective study, the positive anti-HIV screening test results were confirmed by Western blot (WB) in 24 of 61 416 blood donors screened between 1997-1999 at Blood Bank of Çukurova University Medical Faculty. Microparticule enzyme immunoassay (MEIA, Abbott-AxSYM) was used for donor screening. Reactive test results with MEIA were ranged between 1.0-2.2. Of the 24 donors whose samples were confirmed with WB, 21 had no band, 3 had some bands (2 with p55, one with p51 and p66 bands). These 3 donors were evaluated as WB-Indeterminate and suggested to be followed up for a year with 6-month intervals. In one donor, reactivity in MEIA converted to non-reactivity and the other two donors persisted to be reactive both with MEIA and WB. The rate of persisting indeterminate-WB was %0.000033 (2:61416). Because of false positivity in low prevalence populations, any blood donor should not be acknowledged for his/her reactive screening test results as positive without confirming by WB. All these documented values should be recorded in blood bank archives in order to be able to use blood products of these donors in future and also follow up them.

Key Words: HIV, Western blot, blood donor screening tests.

Giriş

1981 yılında edinsel immün yetmezlik sendromu (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) hakkındaki ilk raporların yayımlanmasından sonra özellikle tanıda kullanılan yöntemlerle ilgili pek çok gelişme olmuştur. İnsan immün yetmezlik virusu (human immunodeficiency virus, HIV) antikorlarının gösterilebilmesiyle virus epidemiyolojisi hakkında bilgiler artmış ve daha güvenilir kan ürünleri temin edilebilmiştir. Pek çok ülkede kan merkezlerinde tarama testi olarak antikor saptama prensibine dayanan testler kullanılmaktaysa da, HIV enfeksiyonunun erken tanınabilmesi için bazı ülkelerde 1996'dan sonra donör taramalarına antijen testleri (p24) dahil edilmiştir. Ancak özellikle kan donörleri gibi prevalansın düşük olduğu popülasyonlarda en

sık karşılaşılan problemlerin başında yalancı pozitiflikler gelmektedir (1,2).

Bu çalışmada, 1997-1999 yılları arasındaki üç yıllık dönemde Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Kan Merkezi'ne başvuran kan donörlerinde mikropartikül enzim immün essey (MEIA) ile elde edilen anti-HIV pozitifliklerinin Western blot (WB) yöntemiyle çalışılmış doğrulama testi sonuçları incelenmiştir.

Yöntemler

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Kan Merkezi'ne 1997-1999 yılları arasında başvuran 61 416 kan donöründe MEIA (AxSYM, Abbott Laboratories) yöntemiyle rutinde anti-HIV 1/2 antikorları taranmıştır. Kullanılan yöntemde örnek/“cut off” oranı (“sample/cut off rate, S/CO”) <0.90 olan örnekler negatif, 0.90-0.99 arasında olan örnekler “grayzone”, ≥1.00 olan örnekler reaktif olarak değerlendirilmektedir. Tarama testi sonucunda elde edilen “grayzone” ve reaktiflikler aynı örnekle ikili (“dupli-

- (1) Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kan Merkezi, Balcalı-Adana
- (2) Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Servisi, Haydarpaşa-İstanbul

Tablo 1. Doğrulamaya Alınan Örneklerin MEIA ile S/CO Oranları

Örnek	İlk test (S/CO)	Tekrar-A (S/CO)	Tekrar-B (S/CO)
1.	1.09	1.38	2.07
2.	1.53	1.5	1.15
3.	1.43	1.31	1.49
4.	1.74	1.6	1.45
5.	1.89	1.96	1.66
6.	1.53	1.18	1.23
7.	1.27	1.48	1.06
8.	1.42	1.26	1.28
9.	1.53	1.48	1.62
10.	1.32	1.26	1.58
11.	1.56	1.28	1.34
12.	1.9	1.6	1.8
13.	2.1	2.2	1.6
14.	1.9	1.9	2.1
15.	1.15	1.04	1.35
16.	1.28	1.0	1.02
17.	1.15	1.07	1.4
18.	1.82	1.31	1.55
19.	1.16	1.46	2.01
20.	1.22	1.07	1.31
21.	1.06	1.6	1.59
22.	1.02	1.1	1.36
23.	1.02	0.97	1.46
24.	1.24	0.95	1.82

cate”) tekrara alınmıştır. Her ikisi de S/CO<0.90 çıkan örnekler negatif, ikisi de reaktif çıkanlar ise pozitif kabul edilmiş, pozitif ya da herhangi biri reaktif (veya “grayzone”) çıkan örneklerin WB (New Lav Blot-I ve II, Diagnostics Pasteur, Marnes la Coquette, Fransa) yöntemiyle doğrulaması yapılmıştır. WB testi MEIA sonucunun alındığı günü takip eden 24 saat içerisinde çalışılmıştır. WB yönteminin pozitif kabul edilebilmesi için en az iki *env* (envelope, gp160/gp110-120/gp41) bandının görülmesi gerekmektedir. Bu bandların dışında kalan bandların varlığı, indeterminate; sınıflandırılmamış band ya da band görülmemesi, negatif kabul edilmektedir. Doğrulama yönteminde elde edilen sonuçlar retrospektif olarak incelenmiştir.

Sonuçlar

Üç yıllık dönemi kapsayan çalışmada 61 416 donörün 24’ünde (%0.039) WB ile doğrulama yapılmasına gerek duyulmuştur. İlk yapılan ve tekrarlanan anti-HIV MEIA testlerindeki S/CO oranları Tablo 1’de verilmiştir.

MEIA ile ilk taramalarda elde edilen reaktif sonuçların S/CO oranları 1.02-2.1 arasındadır. Tekrara alınan örnekler içerisinde 23 ve 24. örneklerin ikinci çalışmalarından birinde S/CO değerleri 0.97 ve 0.95 (“grayzone”)’dir. Tüm örneklerde rastlanan en yüksek değer 2.2’dir.

WB testi uygulanan 24 örneğin 21’inde (%87.5) negatif sonuç elde edilmiş, hiçbir banda rastlanmamıştır. Örneklerden üçünde (2, 5 ve 13 numaralı örneklerde) WB sonucu indeterminate (MEIA pozitif örneklerin %12.5’i) olarak değer-

lendirilmiştir. 2. örnekte p66 ve p51 bandı, 5. ve 13. örneklerde p55 bandı gözlenmiştir. Donörler test sonuçları hakkında bilgilendirildikten sonra ilgili kliniğe yönlendirilmiş ve 6 aylık aralarla bir yıl boyunca takip edilmiştir. Kontrol sonunda 5 numaralı örnek, MEIA ve WB ile negatif sonuç vermiştir. 2 ve 13 numaralı örneklerdeki indeterminate sonuçlar aynı şekilde (2:61 416, %0.000033) devam etmiştir.

Toplam 61 416 örnekte indeterminate WB (3 örnek) sonuç oranı %0.000048 olarak bulunmuştur. Tablo 2’de WB yönteminin uygulandığı 24 örneğe ait sonuçlar gösterilmiştir.

İrdeleme

Tarama testleri donörlerin virusla infekte olup olmadıklarını saptamak amacıyla kullanılmaktadır. Anti-HIV tarama testleri çoğu Avrupa ülkesi ve Amerika Birleşik Devletleri’nde 1985 yılından beri kan merkezlerinde uygulanmaktadır (3). Ancak antikör tarama testleriyle tüm infekte donörlerin gösterilemiyor olması ve tarama testi negatif donörlerden 1:493 000 oranında HIV bulaştığının gösterilmesi üzerine 1996’da Batıdaki çoğu kan merkezinde HIV p24 antijen testlerinin kullanımı önerilmiştir. Son yıllarda bu testler arasına çok daha duyarlı olan nükleik asid amplifikasyon testleri (NAT) ilave edilerek infekte bireyi HIV enfeksiyonunun yaklaşık 10. gününde saptayabilir hale gelmiştir (1).

Çalışmamızda üç yıllık dönemde taranan 61 416 donörün 24’ünde (%0.00039) doğrulama testi yapılması gerekmiştir. Kan donörlerinde yapılmış çalışmalar, enfeksiyonun düşük prevalansta görüldüğü popülasyonlarda yalancı pozitif oranının yüksek olacağını göstermiştir. Ferroni ve arkadaşları (4)’nin 201 750 donörde yaptığı çalışmada EIA ile %0.14 oranında anti-HIV antikörleri tekrarlayan reaktif sonuç vermiş, WB ile indeterminate sonuç alınan donör oranı %0.022 bulunmuştur. Busch ve arkadaşları (5) ise EIA-tekrarlayan reaktif WB indeterminate olgu oranını %0.0196, EIA-tekrarlayan reaktifler içerisinde WB negatif %15.2, indeterminate %84.2 bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda EIA-tekrarlayan reaktif (%0.00039) iken WB indeterminate olgu oranı %0.000048’dir. WB sonucuna göre 24 örneğin 21’i (%87.5) negatif ve 3’ü (%12.5) indeterminate’dir.

Indeterminate WB sonuçlarının, serokonversiyonu, HIV-2 enfeksiyonunu, diğer retroviruslarla çapraz reaksiyonu, anti-HLA antikörlerinin varlığını, yöntemdeki viral lizat kontaminasyonunu, teknik artefaktı gösterebileceği bilinmektedir. Ayrıca yüksek bilirübin, romatoid faktör varlığı, poliklonal gammopati, SLE, hemoliz, örneğin dondurulup çözülmesi, ısı ile muamele gibi nedenlerin de bu duruma yol açacağı belirtilmektedir (6).

Kan donörlerinde, sağlıklı ve hiçbir risk faktörü taşımaksızın 6 ay ve daha uzun süreli takiplerde indeterminate olarak devam eden WB sonuçlarına ilişkin yayımlar vardır. Bu tip çalışmalarda rastlanan bandların p19, p24 ve p55 gibi “core” ya da p31, p52, p66 gibi polimeraz antijenlerine karşı oluştuğu yayımlanmıştır (7-9). Centers for Disease

Tablo 2. WB Sonuçları

Toplam	Negatif	İndeterminate	Pozitif
24 (%0.00039)	21 (%0.00034)	3 (%0.000048)	0

Control (CDC), devam eden indetermine paterne sahip kan donörlerinin HIV-1 ile infekte olmadıklarının kabul edilmesini önermektedir. Bu tip sonuçlarda üzerinde titizlikle durulan nokta, donörün yüksek risk taşıyıp taşımadığıdır. Diğer taraftan indetermine WB sonucu nadir de olsa kan donörlerinde erken HIV-1 enfeksiyonunu gösterebilmektedir. Özellikle ilk kez kan verenlerde sürekli donörlere oranla bu duruma daha sık rastlanmış olması nedeniyle CDC'nin kararı bazı araştırmacılar tarafından kabul görmemiştir (6,10-13).

Çalışmamızda elde edilen bandlar "core" (p55) ve polimeraz antijenlerine (p51, p66) ait bandlardır, devam eden indetermine WB örnek oranı, %0.000033'tür.

Ülkemiz HIV açısından düşük endemisite bölgesidir. Kan merkezlerimizde sadece antikör tarama testleri kullanılmakta, antijen testleri yapılmamaktadır. Bu nedenle yalnızca pozitiflikle sık karşılaşılsa dahi tekrarlayan reaktivitenin elde edildiği kan ürünleri kullanılmamalı ve tüm örnekler aynı ya da farklı merkezlerde mutlaka doğrulamaya alınarak donör bilgilendirilmelidir. Ön elemeyi sağlayan donör sorgulama formları titizlikle takip edilmelidir.

Kaynaklar

1. American Association of Blood Banks. *Technical Manual*. 13th ed. Bethesda, MD: AABB, 1999:601-34
2. Gerard C, Sondag-Thull D, Watson-Williams EJ, Fransen L. *Safe Blood in Developing Countries. Principles and Organisation*. 2nd ed. Brussels: European Commission, 1997
3. Reesink HW, Engelfriet CP. What are the consequences of indeterminate results in confirmatory tests for antibodies against transmissible viruses? *Vox Sang* 1997; 73:97-104
4. Ferroni P, Tagger A, Pasquali M, et al. HIV antibody screening and confirmatory testing in Italian blood donors. *Vox Sang* 1988; 55:143-7
5. Busch MP, Kleinman SH, Williams AE, et al. Frequency of human immunodeficiency virus (HIV) infection among contemporary anti-HIV-1 and anti-HIV-1/2 supplemental test-indeterminate blood donors. *Transfusion* 1996; 36:37-44
6. Jackson JB, MacDonald KL, Cadwell J, et al. Absence of HIV infection in blood donors with indeterminate western blot tests for antibody to HIV-1. *N Engl J Med* 1990; 322:217-2
7. Sloan EM, Pitt E, Chiarello RJ, et al. HIV testing: state of the art. *Plasmapheresis* Winter 1991-92: 117-24
8. Mozzi F, Zanella A, Bellobuono A, et al. Clinical and laboratory follow-up of asymptomatic blood donors with only anti-HIV core antibodies. *Vox Sang* 1988; 54:188-9
9. Leitman SF, Klein HG, Melpolder JJ, et al. Clinical implications of positive tests for antibodies to human immunodeficiency virus type 1 in asymptomatic blood donors. *N Engl J Med* 1989; 321:917-24
10. Henrard DR, Phillips J, Windsor I, et al. Detection of human immunodeficiency virus type 1 p24 antigen and plasma RNA: relevance to indeterminate serologic tests. *Transfusion* 1994; 34:376-80
11. Grasse JA, Dodd R, Layug L. Impact on human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) seroprevalance of the change in HIV-1 Western blot criteria. *Transfusion* 1997; 37:246-7
12. Cable RG, Badon SJ, Trouem-Trend JJ, Popovsky MA. Interpretation of false-positive human immunodeficiency virus type 1 Western blot assays in blood donors. *Transfusion* 1997; 37: 670
13. Jackson JB, Human immunodeficiency virus (HIV)-indeterminate Western blots and latent HIV infection. *Transfusion* 1992; 32:479-99