



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**KAN BANKACILIĞINDA  
İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARINA TEMEL  
OLUŞTURMAK ÜZERE HEPATİT B TARAMA  
TESTLERİ İÇİN İÇ KALİTE KONTROL  
SERUMLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

**Doktora Tezi**

Fahri Yüce AYHAN

**Danışman**

Prof. Dr. Rüçhan SERTÖZ

Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Anabilim Dalı

Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı

**İzmir**

**2020**



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**KAN BANKACILIĞINDA  
İYİ LABORATUVAR UYGULAMALARINA TEMEL  
OLUŞTURMAK ÜZERE KAN BAĞIŞÇILARINDA  
HEPATİT B TARAMA TESTLERİ İÇİN İÇ KALİTE  
KONTROL SERUMLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

**Doktora Tezi**

Fahri Yüce AYHAN

**Danışman**

Prof. Dr. Rüçhan SERTÖZ

Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Anabilim Dalı

Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı

**İzmir**

**2020**

## DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan :  
(Danışman) Prof. Dr. Rüçhan SERTÖZ

Üye : Prof. Dr. Yeşim AYDINOK

Üye : Prof. Dr. Selda ERENŞOY

Üye : Prof. Dr. Filiz Vural

Üye : Prof. Dr. İsmail Yaşar AVCI

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Yavuz DOĞAN

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 22.12.2020

## Önsöz

Türkiye’de sağlık hizmetleri sunumunda çok önemli bir yeri bulunmasına karşın tıp lisans/lisanüstü ve uzmanlık eğitiminde görece ihmal edilen bir alan olan Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı’nın ayrı bir bilim alanı olarak yapılandırılmasında Ege Üniversitesi öncü bir rol üstlenmiştir.

Öncesinde bu alanda az sayıda merkezde yüksek lisans düzeyinde yürütülen eğitim programları olmakla birlikte Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı’nın bir doktora eğitim programı olarak planlanması ve yürütülmesi ilk kez 2015 yılında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çatısı altında gerçekleştirilmiştir. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Anabilim Dalı’nın kurulmasında öncü rol üstlenen ve bu alandaki yetkinliğiyle doktora eğitim sürecini benim için unutulmaz kılan Prof. Dr. Yeşim Aydınok ile kuruluş döneminin Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Varol Pabuçcuoğlu’nu şükranla anmak isterim.

Ege Üniversitesi’nde atılan bu öncü adımın ardından Prof. Dr. İsmail Yaşar Avcı önderliğinde Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde de Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Doktora eğitim Programı başlatılmış ve bu alanda fiilen hizmet sunumunda yer alan pek çok hekim için akademik ilerleme şansı yaratılmıştır. Bu akademik gelişmenin yakın bir gelecekte ülkemizde kan bankacılığı ve transfüzyon hizmetlerinin sunumunda kaliteyi yükseltmesi kaçınılmazdır.

Ülkemizde ilk defa yürürlüğe sokulan ulusal bir eğitim programının ilk mezunu olarak Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Bilim Doktoru (PhD) ünvanını kazanma fırsatı bulmuş olmak ise benim için ayrı bir kıvanç sebebidir.

Özünde multidisipliner bir alan olan Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı doktora eğitimime, bu alanın temel unsurlarından olan tıbbi mikrobiyoloji alanından bir uzman olarak başladığım günden bu yana danışmanım olan ve her aşamada sınırsız desteğini aldığım için minnettarlığımı belirtmek istediğim Prof. Dr. Rüçhan Sertöz’ün yönlendiriciliğinde tamamlanan tez çalışmamın ülkemizde henüz şekillenmekte olan bu akademik alana bir katkısı olmasını içtenlikle dilerim.

**İzmir, 2020**

**F.Yüce Ayhan**

## İçindekiler

|                                                       |      |
|-------------------------------------------------------|------|
| <b>Önsöz</b>                                          |      |
| <b>Özet</b>                                           | II   |
| <b>Abstract</b>                                       | IV   |
| <b>Tablo Dizini</b>                                   | VI   |
| <b>Resim Dizini</b>                                   | VII  |
| <b>Grafik Dizini</b>                                  | VIII |
| <b>Kısaltmalar ve Semboller</b>                       | IX   |
| <b>Giriş</b>                                          | 1    |
| <b>Genel Bilgiler</b>                                 | 4    |
| 1.1.Hepatit B Virüsü (HBV)                            | 4    |
| 1.1.1.Biyolojik özellikleri                           | 4    |
| 1.1.2.Genom özellikleri                               | 5    |
| 1.1.3.Yaşam döngüsü                                   | 5    |
| 1.1.4.HBV Proteinleri                                 | 6    |
| 1.2.HBV Enfeksiyon Göstergesi Olarak HBsAg            | 7    |
| 1.3.İyi Laboratuvar Uygulamaları                      | 7    |
| 1.3.1.İç Kalite Kontrol                               | 8    |
| 1.3.2.Levey-Jennings Grafikleri ve Westgard Kuralları | 10   |
| <b>Gereç ve Yöntem</b>                                | 11   |
| 2.1. DNA İzolasyonu                                   | 12   |
| 2.1. HBV DNA Analizi                                  | 12   |
| 2.3.Plazmanın koagülasyonu                            | 13   |
| 2.4.Lipidlerin uzaklaştırılması                       | 18   |
| 2.5. İKK örneklerinin belirlenmesi                    | 20   |
| 2.6.İKK örneklerinin performans analizi               | 21   |
| <b>Bulgular</b>                                       | 22   |
| <b>Tartışma</b>                                       | 32   |
| <b>Sonuç ve Öneriler</b>                              | 42   |
| <b>Kaynaklar</b>                                      | 44   |
| <b>Özgeçmiş</b>                                       | 51   |
| <b>Teşekkür</b>                                       | 52   |
| <b>Etik Kurul Raporu</b>                              | 54   |

## Özet

### Kan Bankacılığında

#### İyi laboratuvar Uygulamalarına Temel Oluşturmak Üzere Hepatit B Tarama Testleri İçin İç Kalite Kontrol Serumlarının Geliştirilmesi

Kan bağışçılarının transfüzyonla bulaşan enfeksiyonlar yönünden mikrobiyolojik taramasının yapılması güvenli kan temini açısından önemli ve gereklidir. Bu alana ilişkin ulusal mevzuat ile zorunlu tarama testlerinin kapsamı hepatit B, hepatit C, AIDS ve sifiliz enfeksiyonlarına ilişkin göstergelerin araştırılması olarak belirlenmiştir. Bu testlerin güvenilir ve doğru sonuç vermesi ise iyi laboratuvar uygulamaları çerçevesinde kalite kontrol basamaklarının eksiksiz yerine getirilmesi ile mümkündür.

Uluslararası kaynaklı ticari tarama kitleriyle birlikte tedarik edilen internal kalite kontrol serumları uluslararası kökenli olup tedarikçilerin ticari yaklaşımı nedeniyle birim test maliyetini arttırmaktadır.

Bu çalışmada kan bağışçılarının hepatit B taramasında kullanılan zorunlu tarama testleri için HBsAg reaktivitesi gösteren bağışçı kanlarından internal kontrol serumlarının hazırlanması amaçlandı.

Bu amaçla Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kan Merkezine kan bağışında bulunmuş ve zorunlu tarama testlerinde saptanan HBsAg reaktivitesi nedeniyle karantinaya alınmış kanlardan plazmaları ayrıldı ve hazırlık süresince -40°C'de dondurularak saklandı.

HBsAg S/CO değeri yüksek (>1000) ve saptanabilir (>50 IU/ml) HBV DNA kantitasyonu bulunan bağışçılara ait plazmalar internal kalite kontrol örneği hazırlamak üzere havuzlanarak birleştirildi. Kalsiyum klorür ve trombin ile koagülasyonu sağlanan plazmadan elde edilen serum dekstran sülfat ile muamele edildi ve bir dizi santrifügasyon işlemi uygulanarak lipid presipitasyonu sağlandı. Serum havuzundan alınan örnekler farklı sulandırım oranlarında fosfat tamponlu serum fizyolojik (PBS) ile sulandırıldı. Farklı sulandırımlar HBsAg reaktivitesi yönünden test edilerek S/CO oranlarına göre düşük reaktif, orta reaktif ve yüksek reaktif olarak üç farklı seri internal kontrol serumu kriyotüplere dağıtıldı ve donduruldu. Dondurulan İKK serumlarından farklı günlerde her seriden birer

kriyotüp çözdürölerek HBsAg yönünden test edildi. Bulunan S/CO değeri Levey-Jennings grafiğine işlendi ve Westgard kurallarına göre değeriendirildi.

Hazırlanan her üç seriden İKK serumlarının HBsAg analizinde elde edilen S/CO değerilerinin % 95 güven aralığında normal dağılım gösterdiği görüldü.

Yüksek, orta ve düşük reaktif İKK serumlarının S/CO değerilerinin istatistik analizinde ortalama sırasıyla 219.57, 1725.57 ve 3323.75 bulunurken ortanca sırasıyla 217.34, 1753.48, 3401.76 olarak; standart sapma ise sırasıyla 14.93, 210.62 ve 271.19 olarak belirlendi. Değişim katsayıları ise yüksek reaktif İKK serumlarında %8.1, orta reaktif İKK serumlarında %12.2 ve düşük reaktif İKK serumlarında %7.6 olarak belirlendi.

Westgard kurallarına göre yapılan incelemede bir kez  $1_{2s}$  kuralının ihlal edildiği görülmüştür. Uyarıcı kural olarak tanımlanan bu durum dışında uyumsuzluk saptanmaması ve sistematik hata gözlenmemesi çalışmamız sonucunda hazırlanan İKK örnekleri ile elde edilen sonuçların tutarlı ve uygun olduğuna işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: HBsAg; HBV; Kan Bağışçısı; İç Kalite Kontrol; Tarama Testleri

## **Abstract**

### **Development of Internal Quality Control Sera for Hepatitis B Screening in Respect of Good Laboratory Practice.**

Microbiological screening of blood donors for agents of transfusion transmitted infections is important and necessary for ensuring the transfusion safety.

Screening of markers for hepatitis B, hepatitis C, AIDS and syphilis in blood donors is obligatory in our national legislation. Quality control (QC) is a crucial step to obtain reliable and accurate results in these assays. Internal quality control sera which are dependent to in vitro diagnostic test kits supplied from international market can lead an extra financial burden for laboratories. Besides the increasing costs, the use of QC material dependent to kit manufacturer would be a problem for quality management of the laboratory.

Human plasma and cells that would be supplied from blood donors can be a reasonable source of preparation of in house QC materials for blood banks.

In this study, it was aimed to prepare in house QC sera for HBsAg screening of blood donors by using the human plasma collected from blood donors whom had have detectable HBsAg.

Quarantined fresh plasma separated from whole blood collected from blood donors with repeatedly reactive screening tests for HBsAg in the blood bank of Ege University Medical Faculty Hospital were reserved and stored at -40°C for the preparation of QC material for HBsAg screening tests.

Reserved plasmas from donors with high S/CO ratio (>1000) and detectable (>50 IU/ml) HBV DNA were thawed and pooled for the preparation of internal QC sera. In vitro coagulation of pooled plasma was performed by using calcium chloride and bovine thrombin. Following the removal of coagulum dextrane sulphate was added and precipitation of lipids was carried out in a series of centrifugation processes. Samples from the sera pool were diluted with PBS in different ratio and diluted samples were tested for HBsAg reactivity. Sera from three categories were assigned as high, medium and low reactive HBsAg control samples and transferred to cryotubes and frozen at -40°C. One cryotube from each category were thawed and control samples were tested for HBsAg reactivity in consecutive days. Recorded

S/CO ratio of IQC samples from each category was applied to Levey-jennings control charts and evaluated according to Westgard rules.

S/CO ratio of QC samples obtained from each category represented normal distribution in 95% confidence interval.

In descriptive analysis of high, medium and low reactive IQC samples the mean was found as 3323.75, 1725.57 and 219.57; the median was determined as 3401.76, 1753.48 and 217.34; the standard deviation was calculated as 271.19, 210.62 and 14.93, respectively. Coefficients of variation for high, medium and low reactive IQC samples were determined as %8.1, %12.2 and %7.6, respectively.

Evaluation according to Westgard rules demonstrated one violation of  $1_{2s}$  rule. Except this warning rule no evidence of unconformity or sytematic error. Therefore, it can be stated that IQC samples prepared in our study can be reliable in-house run controls for using in HBsAg immunoassays for screening of blood donors.

**Key Words:** HBsAg; HBV; Blood Donor; Internal Quality Control; Screening Tests

## Resimler Dizini

|         |                                                                   |    |
|---------|-------------------------------------------------------------------|----|
| Resim 1 | Bağışçı plazmalarının havuzlanma öncesi çözündürülmesi            | 14 |
| Resim 2 | Havuzlanmış plazmanın “Plazma Şoklama Cihazı”nda dondurulma       | 15 |
| Resim 3 | “Plazma Şoklama Cihazı”nda dondurulmuş havuzlanmış plazma torbası | 16 |
| Resim 4 | Plazmanın <i>in vitro</i> koagülasyonu                            | 17 |
| Resim 5 | Lipit presipitasyonu                                              | 19 |
| Resim 6 | Dondurulmak üzere hazırlanan HBsAg İKK örnekleri                  | 20 |

## **Tablolar Dizini**

|                |                                                                                               |           |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tablo 1</b> | <b>İKK örneği için seçilen bağışçı plazmaların HBsAg ve HBV DNA içeriği</b>                   | <b>22</b> |
| <b>Tablo 2</b> | <b>Yüksek, orta ve düşük İKK örneklerinin tekrarlayan analizlerde elde edilen S/CO değeri</b> | <b>24</b> |



## Grafikler Dizini

|                 |                                                                                               |           |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Grafik 1</b> | <b>HBsAg reaktif kan başışçılarında HBV DNA ve s/CO ilişkisi</b>                              | <b>23</b> |
| <b>Grafik 2</b> | <b>Yüksek reaktif İKK ölçümlerinin dağılım grafikleri<br/>(a)Q-Q grafiğı (b) Kutu grafiğı</b> | <b>25</b> |
| <b>Grafik 3</b> | <b>Orta reaktif İKK ölçümlerinin dağılım grafikleri<br/>(a)Q-Q grafiğı (b) Kutu grafiğı</b>   | <b>26</b> |
| <b>Grafik4</b>  | <b>Düşük reaktif İKK ölçümlerinin dağılım grafikleri<br/>(a)Q-Q grafiğı (b) Kutu grafiğı</b>  | <b>27</b> |
| <b>Grafik 5</b> | <b>Yüksek reaktif İKK örneklerinin HBsAg testi performansları</b>                             | <b>29</b> |
| <b>Grafik 6</b> | <b>Orta reaktif İKK örneklerinin HBsAg testi performansları</b>                               | <b>30</b> |
| <b>Grafik 7</b> | <b>Düşük reaktif İKK örneklerinin HBsAg testi performansları</b>                              | <b>31</b> |

---

### Kısaltmalar ve Semboller Dizini

|               |                                                                                                                         |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>AB</b>     | Avrupa Birliği                                                                                                          |
| <b>ABD</b>    | Amerika Birleşik Devletleri                                                                                             |
| <b>AGL</b>    | <b>[Antigenic loop]</b><br>Hepatit B virüsünün ortak antijen ilmeği                                                     |
| <b>BSL-2</b>  | Biyogüvenlik Düzeyi 2                                                                                                   |
| <b>cccDNA</b> | <b>[covalently closed circular DNA]</b> Kovalen bağlı, süper kıvrımlı, uçları kapalı, çembersel yapıdaki HBV-DNA        |
| <b>CIE</b>    | <b>[Counter immunoelectrophoresis]</b> Karşıt immün elektroforez                                                        |
| <b>CMIA</b>   | Kemilüminesans mikropartikül immüno assay                                                                               |
| <b>DHBV</b>   | Ördek hepatit B virüsü                                                                                                  |
| <b>DNA</b>    | Deoksiribonükleik asit                                                                                                  |
| <b>ECDC</b>   | <b>[European Center for Disease Prevention and Control]</b><br>Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi                |
| <b>EIA</b>    | Enzim immünassay                                                                                                        |
| <b>FAM</b>    | Fluorescein amidite                                                                                                     |
| <b>FDA</b>    | <b>[Food and Drug Administration]</b> ABD İlaç ve Gıda Dairesi                                                          |
| <b>HBcAg</b>  | Hepatit B kor antijeni                                                                                                  |
| <b>HBeAg</b>  | Hepatit B e antijeni                                                                                                    |
| <b>HBsAg</b>  | Hepatit B yüzey antijeni                                                                                                |
| <b>HBV</b>    | Hepatit B virüsü                                                                                                        |
| <b>HBV</b>    | Hepatit B virüsü                                                                                                        |
| <b>HBx</b>    | Hepatit B x proteini                                                                                                    |
| <b>HCV</b>    | Hepatit C virüsü                                                                                                        |
| <b>HEX</b>    | Hexachloro- <i>fluorescein</i>                                                                                          |
| <b>HHBV</b>   | Balıkçıl hepatit B virüsü                                                                                               |
| <b>HIV</b>    | İnsan immün yetmezlik virüsü                                                                                            |
| <b>HSPG</b>   | Hepatosit ilişkili heparan sulfat proteoglikan                                                                          |
| <b>ILAC</b>   | <b>[International Laboratory Accreditation Cooperation]</b><br>Uluslararası Laboratuvar Akreditasyon İşbirliği Kuruluşu |
| <b>ISO</b>    | <b>[International Organization for Standardization]</b><br>Uluslararası Standartlar Örgütü                              |
| <b>IU</b>     | Enternasyonal ünite                                                                                                     |

|                 |                                                                                                               |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>İKK</b>      | İç Kalite Kontrol                                                                                             |
| <b>LHBs</b>     | Büyük HBs                                                                                                     |
| <b>MHBs</b>     | Orta HBs                                                                                                      |
| <b>ml</b>       | Mililitre                                                                                                     |
| <b>n</b>        | Sayı                                                                                                          |
| <b>nm</b>       | Nanometre                                                                                                     |
| <b>NTCP</b>     | <b>[Na<sup>+</sup> taurocholate co-transporting protein]</b><br>Sodyum taurokolat taşıyıcı protein            |
| <b>°C</b>       | Derece santigrat                                                                                              |
| <b>OECD</b>     | <b>[Organization for Economic Cooperation and Development]</b> Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü          |
| <b>ORF</b>      | <b>[Open reading frame]</b> Açık okuma çerçevesi                                                              |
| <b>PBS</b>      | <b>[Phosphate Buffered Saline]</b> Fosfat tamponlu serum fizyolojik                                           |
| <b>PCR</b>      | <b>[Polymerase chain reaction]</b> Polimeraz zincir reaksiyonu                                                |
| <b>PP</b>       | Polipropilen                                                                                                  |
| <b>PVC</b>      | Polivinil klorür                                                                                              |
| <b>RIA</b>      | Radyoimmünassay                                                                                               |
| <b>RNA</b>      | Ribonükleik asit                                                                                              |
| <b>RPHA</b>     | Reverse pasif hemaglütinasyon                                                                                 |
| <b>RT</b>       | Revers transkriptaz                                                                                           |
| <b>S/CO</b>     | <b>[Signal-to-cut-off-signal ratio]</b> Test edilen örneğin sinyal değerinin eşik değer sinyal değerine oranı |
| <b>SHBs</b>     | Küçük HBs                                                                                                     |
| <b>SİP</b>      | Standart işletim prosedürü                                                                                    |
| <b>TDP</b>      | Taze Donmuş Plazma                                                                                            |
| <b>TP</b>       | Trepanoma pallidum                                                                                            |
| <b>WHBV</b>     | Dağ sıçanı hepatit B virüsü                                                                                   |
| <b>DSÖ</b>      | Dünya Sağlık Örgütü                                                                                           |
| <b>ICBS</b>     | <b>International Consortium for Blood Safety</b><br>Uluslararası Kan Güvenliği Konsorsiyumu                   |
| <b>WHO ECBS</b> | <b>[WHO Expert Committee on Biological Standardization]</b><br>DSÖ Biyolojik Standardizasyon Uzman Komitesi   |

## Giriş

Kan transfüzyonu ile hepatit B virüsü (HBV) bulaşı ilk kez 1943 yılında tanımlanmış, transfüzyon ile ilişkisi nedeniyle uzun yıllar bu enfeksiyon “**Serum Hepatiti**” olarak adlandırılmıştır (Dwyre ve Holland, 2008).

Aslında tıp çevrelerinin hastalığa ilişkin farkındalığı bundan çok daha öncesinde olmuştur. **Epidemik ikter**, ilk olarak, günümüz tıbbının öncülü olarak kabul edilen Hipokrat tarafından tarif edilmiş olsa da gerçekten hepatit B’nin sorumlu tutulabileceği salgınlara ilişkin kayıtlara daha çok 19.yüzyılda rastlanmaktadır. İnsan kökenli lenf sıvısından hazırlanan bir çiçek aşısı ile yapılan kitle aşılmasının ardından ortaya çıkan sarılık salgını 1885 yılında Lürmann adlı araştırmacının dikkatini çekmiş ve hastalığın parenteral bulaşma özelliği açıkça ortaya konabilmiştir. O dönemde hazırlanan aşılar stabilizör olarak insan serumu ilavesi yönündeki uygulamaya bağlı olarak bu tarihten sonra da çeşitli aşılarla bağışıklama sonrası sarılık salgınları bildirilmiştir (Gerlich, 2013).

Ancak 1963 yılında Samuel B. Blumberg ve arkadaşları tarafından bir Aborjin yerlisinin kanında bulunan ve bu nedenle “**Avustralya Antijeni**” olarak adlandırılan antijenin hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) olarak tanımlanmasının ardından hastalık Hepatit B olarak adlandırılmış ve tanısı olanaklı hale gelmiştir (Gerlich, 2007). Kan bağışçılarının hepatit B yönünden taranmasına ise 1969 yılında başlanmıştır. O günden bu zamana dek geçen 50 yılda bilim dünyasında virüsün biyolojisinin anlaşıldığı, enfeksiyonun tanısına ve tedavisine yönelik ilerlemelerin sağlandığı, bağışıklama yoluyla korunmanın yaygınlaştığı bir döneme tanıklık edilmiştir (Thomas, Yoneda ve Schiff, 2015).

Avrupa Parlamentosu ve Konseyi’nin 2002 98/EC direktifi ile kan bağışçılarında serolojik tarama testlerine ilişkin gerekliliklerin tanımlanmasının ardından transfüzyon öncesi serolojik tarama testleri AB ülkeleri açısından bir yasal zorunluluk haline gelmiştir. (Fiedler ve diğerleri, 2019; Dodd, Nguyen, Krysztof, Notari, Stramer, 2018).

Bu testler transfüzyon güvenliğini sağlamadaki etkin rolleri yanında toplum sağığı açısından da büyük önem taşımaktadırlar. AB/ Avrupa Hastalık Kontrol Merkezi (ECDC) (2018) HIV eliminasyonu için ve viral hepatitle etkili mücadele için belirlediğı 2030 yılı hedefine ulaşmada ülkelere HIV, HBV ve HCV için ulusal düzeyde bütünleşik test stratejilerini ya da programlarını geliştirmelerini tavsiye etmektedir.

Genel anlamda tarama testlerinin en önemli performans ölçütü geniş bir topluluk içerisindeki gerçek hastaları saptayabilmesi olarak kabul edilmektedir. Bu da testin duyarlılığının yüksek olması beklentisini yaratmaktadır. Çoğunlukla tarama testlerinde %95'den yüksek bir duyarlılık olması istenmektedir (Clark, Lewinski, Loeffelholz ve Tibbetts, 2009).

Ancak kan bağışçılarının serolojik taramasında kullanılan testlerde sadece analitik duyarlılığın yüksek olması transfüzyon güvenliği açısından yeterli değildir. Bu testlerin uygulanması sırasındaki süreçlerde kalite güvencesinin sağlanması ve sürdürülebilirliği önemli ve gereklidir.

Analitik sürecin düzgün biçimde tamamlandığını güvence altına almada önemli araçlardan birisi de kalite kontrol numuneleridir. Bunlar hasta numunelerine benzer ve belirli bir konsantrasyonda analitik madde içeren örneklerdir. Test kiti üreticileri, tedarik ettikleri test kiti ile birlikte kontrol örneklerini de sağlamaktadırlar. Ancak tıbbi laboratuvarlar için geçerli standartları tanımlayan ISO 15189 kapsamında tıbbi laboratuvarların iç kalite kontrol (İKK) örneklerini kit tedarikçisinden bağımsız olarak sağlamaları önerilmektedir. Bu şekilde laboratuvardaki analitik sürecin daha nesnel ve gerçekçi bir biçimde değerlendirilmesi mümkündür. Bağımsız İKK örnekleri kit üreticilerinden farklı ticari kaynaklardan sağlanabilmekle birlikte bu maliyet arttırıcı bir unsurdur. Bu açıdan laboratuvarların kendi bağımsız İKK örneklerini hazırlaması uygun bir çözüm olarak gözükmektedir. İKK örneğı hazırlamada en önemli aşama analite denk özellikte bir serum örneğı elde etmektir. Bu da İKK örneğı olarak hazırlanan ürünün bizzat kendisinin bir kalite yönetim süreciyle hazırlanmasını gerektirmektedir. Geçmişte pek çok araştırmacı bu yönde çalışmalar yapmış, plazmanın in vitro koşullarda koagülasyonu ve çeşitli şekilde işlenmesiyle laboratuvarın kendisi tarafından bir İKK örneğı hazırlanması için yöntemler tanımlamıştır (Proksch ve Bonderman, 1976; Gidez, Miller, Burstein,

Slagle ve Eder, 1982; Bais, O'loughlin, Philcox ve Edwards,1983; Letellier ve Desjarlais, 1985; Ataullakhanov, Pohilko, Sinauridze ve Volkova, 1994; Shida, Kurasawa, Maki, Toyama ve diğeri, 2016).

Kan hizmet birimlerinde erişkin bireylerden toplanan kan, transfüzyon amaçlı tedaviler için önemli bir hücre ve plazma kaynağıdır. Öte yandan bu kaynaktan kan bağışçılara yönelik analizlerde kullanılacak bağımsız kalite kontrol materyallerinin hazırlanmasında yararlanmak ta mümkündür. Kan hizmet birimlerinde yürütülen rutin laboratuvar incelemeleri sırasında immünohematolojik tetkikler için ciddi miktarlarda eritrosit konsantrasyonuna, enfeksiyon tarama testleri için de seruma ihtiyaç vardır. Kan hizmet birimlerinde laboratuvar kalite yönetim çerçevesinde elzem olan bu ihtiyacın kurumların kendi olanaklarıyla ve ulusal bağışçı kaynağından sağlanması olasıdır. İmmünohematolojik incelemelerde kontrol materyali olarak kullanılacak eritrositlerin hazırlanması ayrı prosedürel ve operasyonel gereklilikler içermektedir. Kan bağış kapasitesi yüksek kan hizmet birimlerinde planlanması sürdürülebilirlik açısından daha gerçekçi olacaktır. Ancak kan bağışı kabul eden en küçük ölçekli kan hizmet biriminde bile tarama testlerinde reaktiflik nedeniyle kullanılmayıp imha edilen bağışçı kanlarından yine bu testler için İKK örnekleri hazırlanması düşünülebilir. Bu girişim kan hizmet biriminde kalite yönetimi çerçevesinde transfüzyon güvenliğini arttırmaya yönelik bir edim olması yanında maliyet etkinliği arttıracak bir kaynak yaratma eylemi olarak da faydalı olacaktır.

## Genel Bilgiler

### 1.1.Hepatit B Virüsü (HBV)

#### 1.1.1.Biyolojik özellikleri:

İnsanlarda bir enfeksiyon etkeni olarak tanımlanması ve araştırılması 1960'lı yıllarda başlamış olsa da araştırmalar Hepatit B virüsünün dinozorlar çağından kalma bir etken olduğunu ortaya koymaktadır. Mezozoik dönem kanatlılarından izole edilmiş virüs DNA'sı 82 milyon yıla tarihlenmekle birlikte virüsün insana geçişinin nispeten daha yeni olduğu, 40 bin yıl öncesine dayandığı düşünülmektedir (Lamontagne, Bagga, ve Bouchard, 2016).

Türe özgü hepatotropik virüsler olan hepatit B virüsleri, *Hepadnaviridae* ailesi içerisinde yer alırlar. Hepadnavirüsler, genomik özellikleri ve konak seçimleri açısından iki genusa ayrılırlar. Avihepadnavirus genusu kanatlıları enfekte ederken Orthohepadnavirus genusu memelilerde enfeksiyon oluşturmaktadır. Avihepadnavirus genusu içinde ördek (*Duck Hepatitis B Virus- DHBV*) ve balıkçıl (*Heron Hepatitis B Virus-HHBV*) hepatit B virüsleri yer alırken orthohepadnavirus genusu içinde insan ve dağ sıçanı (*Woodchuck Hepatitis B Virus- WHBV*) hepatit B virüsleri bulunmaktadır (Hassemer ve diğerleri, 2017).

Son yıllarda primatlarda enfeksiyon oluşturan hepatit B benzeri yeni bir virüs tanımlanmıştır. *Yünlü maymun* olarak adlandırılan bir maymun türüne özgü bu virüsün orthohepadnavirüsler ile en çok %40 düzeyinde genetik dizilim farklılığı gösterdiğinin anlaşılmasıyla bu virüs hepatit B benzeri yeni bir virüs prototipi olarak tescil edilmiştir (Lamontagne ve diğerleri, 2016).

Coğrafi dağılım, patojenite ve tedaviye yanıt açısından farklılıklar gösteren on farklı HBV genotipi tanımlanmıştır. Latin alfabesinin dizinine uygun olarak A-J aralığında büyük harflerle sınıflandırılan genotiplerin alt tipleri de bulunmakta ve bunlar da genotipi simgeleyen harfe alt tipi belirleyen rakamın ilavesiyle (A1, A2, B1, B2, vb) gösterilmektedir (Wong ve Locarnini, 2018).

### 1.1.2.Genom özellikleri

HBV, dairesel ve kısmen çift sarmallı bir DNA iplikçğine sahiptir. Çemberin dış yüzünde yer alan, negatif polariteli ve 3200 nükleotitten oluşan uzun DNA iplikçğine karşılık iç yüzünde yer alan pozitif polariteli ve 1700-2800- nükleotitten oluşan kısa DNA iplikçği ile karakterize virüs genomunda dört farklı protein kodlayan bölge –açık okuma çerçevesi (*open reading frame –ORF*) bulunmaktadır (Seeger ve Mason, 2015, Lamontagne ve diğerleri, 2016).

- **Pol ORF:** En büyük ORF bölgesidir ve viral polimerazı kodlamaktadır. Revers transkriptaz etkisine sahip viral polimeraz virüsün DNA iplikçğinden ara ürün RNA iplikçiklerini sentezler.
- **Pre-S/S ORF:** Zarf proteinlerini kodlayan ve büyüklükte ikinci sırada yer alan ORF bölgesidir. Büyük (**LHBs**) , orta (**MHBs**) ve küçük (**SHBs**) yüzey antijenlerini (**HBsAg**) sentezler.
- **Pre-C/C ORF:** Nükleokapsitin temel proteini olan kor proteini kodlayarak kor antijeni (**HbcAg**) oluşturur ve aynı zamanda soluble dimerik bir protein olan e antijenini (**HbeAg**) kodlar.
- **X ORF:** Virüsün replikasyonu için gereken ve hepatosellüler karsinom gelişiminde etkisi gösterilmiş küçük bir polipeptid olan X proteinini (**HBx**) kodlar (Wong ve Locarnini, 2018).

### 1.1.2.Yaşam döngüsü

Virüsün yüzey antijeni ile hepatosit yüzeyindeki bir reseptöre (Hepatosit ilişkili heparan sülfat proteoglikan-HSPG) birincil bağlanmasının ardından preS1 bölgesinin, safra asidi homeostazını sağlayan bir polipeptid olan sodyum taurokolat taşıyıcı proteine (NTCP) ikincil bağlanmasıyla penetrasyon için gereken şartlar sağlanmış olur. Bu bağlanma sonrasında viryon, endositoz vasıtasıyla sitoplazmaya geçer. Hücre nükleus mebranına yönelen ve nükleokapsitinden sıyrılarak nükleus içine giren virüs genomu replikasyon sürecine başlar.

Virüsün gevşek DNA'sı nükleus içerisinde konak enzimlerinin etkisiyle kovalent-kapalı-sirküler DNA (cccDNA) halini alarak virüsün replikasyonu için gereken RNA transkripsiyonunu başlatır. Virus genomunda bulunan ORF bölgeleri tarafından

kodlanan RNA molekülleri genomik ve subgenomik olarak iki farklı şekilde sentezlenirler. Subgenomik transkriptler sadece HBV proteinlerinin (HBx ve HBsAg [SHBs, MHBs, LHBsS]) kodlanması için kalıp işlevi görürken genomik transkriptler prekor, kor ve polimeraz sentezi için mRNA olarak görev yaparlar. Hem kor proteinlerini hem de polimeraz enzimini kodlayan çok işlevli bir genomik transkript olan pregenomik RNA ise revers transkriptaz etkisiyle negatif polariteli viral DNA iplikçığı için kalıp işlevi üstlenir. Negatif polariteli DNA iplikçığı ise sonrasında pozitif polariteli DNA iplikçığının oluşturulmasında kalıp işlevi görmektedir (İnan ve Tabak, 2015; Lamontagne ve diğerleri, 2016; Wong ve Locarnini, 2018).

#### 1.1.4.HBV Proteinleri

HBV genomu dört ORF bölgesiyle yedi farklı protein kodlar. Pol ORF bölgesinin kodladığı polimeraz, X ORF bölgesinin kodladığı HBx, Pre-C/C ORF bölgesinin kodladığı HbcAg ve HbeAg ile Pre-S/S ORF bölgesinin kodladığı üç HBsAg proteindir (Wong ve Locarnini, 2018).

- **HBsAg**

Hepatit B virüsünün zarf proteinleri olan HBsAg üç farklı proteinden oluşmaktadır. Boyutlarına göre küçük (**SHBs**), orta (**MHBs**) ve büyük (**LHBs**) olarak adlandırılan bu proteinler enfekte hücrenin endoplazmik retikulumunda sentezlenirler (Wong ve Locarnini, 2018).

HBV genom özellikleri henüz bilinmezken elektron mikroskopisi ile yapılan incelemelerde HBV enfeksiyonu geçiren hastaların serumlarında farklı şekil ve boyutta partiküller saptanmıştır. Daha küçük ebattaki sferik (20 nm) ve filamantöz (22 nm) partiküllerin HBsAg ve konak kökenli lipidlerden oluşmuş, HBV genomu içermeyen, dolayısıyla enfeksiyon oluşturma özelliği bulunmayan subviral partiküller olduğu, ilk gözlemi yapan araştırmacının adıyla **Dane partikülü** olarak adlandırılan daha büyük (42 nm) sferik partikülün ise viral genomu içeren tam bir HBV viryonu olduğu anlaşılmıştır (İnan ve Tabak, 2015; Seeger ve Mason, 2015).

SHBS hem viryonlarda hem de diğer subviral partiküllerde en bol bulunan HBsAg tipidir ve proteinin temel antijenik belirleyicisini (*a* determinant) barındırır. Tüm HBsAg izolatlarında bulunması nedeniyle virüsün ortak antijen ilmeği (AGL) özelliğinde olan **a** determinant yanında alt tipleri oluşturan diğer belirleyiciler de (**d**

veya *y* ve *w* veya *r* subdeterminant) bulunmaktadır (Seeger ve Mason, 2015; İnan ve Tabak, 2015; Lamontagne ve diğerleri, 2016; Wong ve Locarnini, 2018).

### 1.2.HBV Enfeksiyon Göstergesi Olarak HBsAg

HBsAg'nin tanımlanmasının, viral partikül özelliklerinin keşfedilmesinin ardından bu antijenin hepatit B virüs enfeksiyonu için belirleyici bir gösterge olduğunun anlaşılması HBsAg saptamaya yönelik olarak pek çok tanısal yöntemin denenmesine yol açmıştır. Bu amaçla ilk olarak immünpresipitasyon ilkesine dayalı mikro-*Ouchterlony* immunodiffusion testi ve agar jel difüzyon yöntemleri denenmiştir. Uygulama zorlukları ve test duyarlılıklarındaki yetersizlikler araştırmacıları yeni arayışlara yöneltmiş ve izleyen yıllarda "ikinci faz testleri" olarak adlandırılan test yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Bunlar arasında uygulama kolaylığı ve hızlı sonuç alma özelliğiyle karşıt immün elektroforez (CIE) 1970'lerde en yaygın kullanılan test olmuştur. Bu dönemde kompleman fiksasyon testi, pasif hemaglutinasyon inhibisyon testi denenmiş olsa da reverse pasif hemaglutinasyon (RPHA) ve reverse pasif lateks aglutinasyon (RPLA) testleriyle HBsAg saptanmasında önemli bir duyarlılık artışı sağlanmıştır. Ancak sonrasında radyoimmünoassay (RIA) ve enzim immünoassay (EIA) yöntemleriyle daha tatmin edici sonuçlar alınması bu yöntemleri kullanan pek çok ticari kitin üretilmesini ve piyasaya sürülmesini sağlamıştır (Zanetti, Bedarida, Ferroni, D'agostino ve diğerleri, 1980).

### 1.3.İyi Laboratuvar Uygulamaları

1970'lerin ortalarında bazı toksikoloji çalışmalarında bilimsel bütünlük eksikliği ve kalite sorunları saptanması üzerine ABD İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) klinik dışı laboratuvar çalışmalarında asgari standartları sağlamak üzere düzenlemelere yönelmiştir. Bu düzenlemeler esas olarak klinik olmayan araştırmaların planlanmasında ve yürütülmesinde uygulanacak kurallar olarak öngörülmüş olsa da zaman içinde klinik laboratuvar çalışmalarını da kapsayacak şekilde genişletilmiştir (Baldeshwiler, 2003).

Aslında bu tür bir standart arayışı daha eskilere dayanmaktadır. İlaç endüstrisinde 1960'larda başlayan laboratuvar analizlerinin güvenilirliğini sağlamaya dönük çalışmalar ilk kez **İyi Üretim Uygulamaları**'nın bir parçası olarak gündeme gelmiş

sonrasında da bu kavram günümüzdeki **İyi Laboratuvar Uygulamaları** kavram ve işleyişine evrilmiştir (Prieto, 2008).

Farklı ülkeler, farklı kuruluşlar veya topluluklar (OECD, FDA, AB, DSÖ vb.) tarafından geliştirilmiş ve belirli farklılıklar göstermekle birlikte özünde aynı ilkeler çerçevesinde yapılandırılmış **İyi Laboratuvar Uygulamaları** bulunmaktadır (Fowler, Salminen ve Greenhaw, 2013).

DSÖ rehberlerinde (2010, 2011) İyi Laboratuvar Uygulamaları *“organizasyon süreci ile klinik dışı sağlık çalışmaları ve çevre güvenliği çalışmalarının planlanması, uygulanması, gözlenmesi, kaydedilmesi, arşivlenmesi ve raporlanması ile ilgili bir kalite sistemi”* olarak tanımlanmaktadır. Bu kalite sisteminin temel bileşenleri ise

- Kuruluş, çalışanlar, tesisler ve donanımdan oluşan kaynaklar bütünü
- Test kalemleri ve test sistemleri
- Standart işlem prosedürü (SİP) ve protokolleri içeren kurallar bütünü
- Ham veri olarak elde edilen sonuçların nihai rapor haline getirilmesi ve arşivlenmesi
- Bağımsız izlem ile kalite güvencesinin sağlanması

olarak ifade edilmektedir (World Health Organization 2010).

Tıbbi laboratuvarlarda kalite yönetim sistemi önceleri laboratuvar akreditasyonuna yönelik uluslararası bir işbirliği kuruluşunun (International Laboratory Accreditation Cooperation-ILAC) ticari mallara uygulanan laboratuvar analizlerinin standardizasyonuna yönelik geliştirdiği kılavuzdan analitik laboratuvarlara yönelik koşulları tanımlayan ISO 17025’e, bundan da tıbbi laboratuvarlara yönelik koşulları tanımlayan ISO 15289 standardına uzanan bir süreçte geliştirilmiştir (World Health Organization 2011).

İlk kez 1978 yılında **Standart 25** adıyla yayımlanmış olan ISO 17025 standardı test ve kalibrasyon laboratuvarları için genel gereklilikleri içeren bir belgedir. ABD’de 1979 yılında FDA tarafından geliştirilen 21CFR58 kodlu ve **Klinik Dışı Laboratuvarlarda İyi Laboratuvar Uygulamaları** başlıklı doküman ulusal ölçekli olma özelliğinde iken Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (OECD) tarafından akreditasyona yönelik bir dizi belge olarak hazırlanan **İyi Laboratuvar Uygulamalarında İlkeler** başlıklı doküman uluslararası ölçekte kullanıma sokulan

ilk kaynak olmuştur. İlk kez 2003 yılında yayımlanan ISO 15189 ise günümüzde tıbbi laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan kalite standardı halini almıştır (Datema, Oskam ve Klatser, 2012).

### **1.3.1.İç Kalite Kontrol**

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1981 yılında, laboratuvar çalışmalarını ve üretilen sonuçların sürekli bir değerlendirmeye tabi tutulması için gerekli bir dizi prosedür olarak tanımlanmış İKK uygulamasının esas amacı analitik sürecin tutarlılığını güvence altına almak ve sonuçların güvenilirliğini sağlamaktır (World Health Organization, 2011; Kinns ve diğerleri 2013).

Kalite kontrol ve iç kalite kontrol terimleri zaman zaman birbirlerini yerine kullanılmakla, bazı üreticiler tarafından ticari kite özel üretilmiş kontroller de yanlış biçimde İKK olarak adlandırılabilir (World Health Organization, 2011).

Oysa etkin bir kalite kontrol sisteminde dikkat edilmesi gereken pek çok etmen bulunmaktadır. Kalite kontrol örneklerinin uygun bir düzeyde reaktif sonuç vermesi, aynı öbekteki (tek bir lot numarasına sahip) kalite kontrol örneklerinin uzun bir zaman diliminde tekrar tekrar çalışılması, çalışılan kalite kontrol örnekleri için kontrol sınırlarının belirlenmesi önemlidir (Dimech, Karakaltsas ve Vincini, 2018).

Öte yandan kantitatif, ölçülebilir bir değer elde edilebilen klinik biyokimyasal analizler için iyi tanımlanmış bir süreç olan İKK çalışmalarının enfeksiyon hastalıklarının serolojik tanısı için kullanımında bir takım kısıtlılıklar baş gösterebilmektedir. Öncelikle bu alanda kullanılan pek çok testte yapılan ölçümün bir eşik değere oranı (S/CO) esas alınarak pozitif / negatif ya da reaktif / nonreaktif şeklinde kalitatif bir sonuç üretilmektedir (Galli ve Plebani, 2020).

Ayrıca İKK çalışması laboratuvarın özgün test performansını göstermesi nedeniyle analiz öncesi (pre-analitik) ve analiz sonrası (post-analitik) süreçler hakkında bilgi vermemektedir (Scherz, Durussel ve Greub, 2017).

Kalite kontrol örneğinin beklenen sonucu vermesi bu örneğin hazırlanmasında kullanılan materyal seçimi ile yakından ilişkilidir. İKK örneği kalibrasyon için kullanılan ile aynı örnek olmamalıdır. Kit üreticisi dışında bağımsız bir kaynaktan sağlanmalıdır. Analiz sırasında kullanılan İKK örneği hasta örneğinin bileşimine ne denli yakın ise matriks etkilerini o ölçüde azalacaktır. Varyasyon azaldıkça analitik hata azalacak dolayısıyla test güvenliği artacaktır. Ticari kaynaklardan tedarik edilen

İKK örnekleri uzun erimli stabilitesi nedeniyle tercih edilmektedir. Fakat hasta örneği ile İKK örneği arasındaki matriks farklılıkları sonuç varyasyonlarına yol açmaktadır. Öte yandan havuzlanmış hasta örnekleri bir avantaj sağlamasına karşın stabilite sorunu nedeniyle dezavantajlı olduğu da ileri sürülmektedir (Kinns, Pitkin, Housley ve Freedman, 2013; Dimech, Vincini ve Karakaltsas, 2015).

### **1.3.2. Levey-Jennings Grafikleri ve Westgard Kuralları**

Kalite kontrol örneklerinde tekrarlanan analizler, rutin çalışmada kullanılan analitik yöntemlerin kalitesini değerlendirmek ve değişiklikleri görmek açısından uygulanır. Genelde günlük olarak ya da gün içerisinde birden fazla sayıda tekrar yapılması tercih edilmektedir.

Bu periyodik gözlemlerin kaydedilerek tekrarlayan çalışmalardaki sonuçların gözlenmesi kalite kontrol sürecini değerlendirmek açısından yararlıdır. Shewhart tarafından geliştirilen kontrol çizelgesinin laboratuvar analizleri için uygun olduğunu fark ederek klinik laboratuvarlarda kullanımını yaygınlaştıran araştırmacıların adıyla anılan Levey-Jennings grafikleri kalite kontrol örneklerinin değerlendirilmesinde, sonuçlardaki değişimin ya da benzerliğin takibini gözleyebilmek için önemli bir araçtır. Ancak bu grafiklerin ilk kullanıma başlandığı dönemde sonuçların yorumlanmasında laboratuvarlar arasında farklılıklar olması standart bir değerlendirme yöntemini zorunlu kılmıştır. Bu eksikliği gideren araştırmacı ise James O. Westgard olmuştur. Westgard kuralları, bir internal kalite kontrol sisteminin analitik hatalarını saptamak, bunun yanında hataların tipini ve büyüklüğünü belirlemek için Levey-Jennings grafiklerinin değerlendirilmesinde genel kabul gören bir metodoloji sunmaktadır. Belirli bir kuralın belirli bir hatayı değerlendirmek için yeterli olmadığı bu yöntemde kuralların bir bütün olarak ele alınmasıyla ve birden fazla kuralın farklı kombinasyonlarında farklı değerlendirmeleriyle analitik hataların belirlenebilmesi yanında bu hataların sistematik hata ya da rastgele hata olarak sınıflandırılabilmesi olanağı bulunmaktadır (Westgard, Groth, Aronsson, Falk ve De Verdier, 1977; Nelson, 1984).

## Gereç ve Yöntem

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi (EÜTF) Hastanesi kan merkezine kan bağışında bulunmak üzere başvuran kişiler ilgili mevzuatı kapsamında değerlendirildi ve kan bağışı için uygun bulunan kişilerden kan bağışı kabul edilerek kan merkezinin standart işlem prosedürü doğrultusunda kan bileşenleri hazırlandı.

Hizmet birimine kan bağışı için başvuran bağışçı adayına *Ulusal Kan ve Kan Bileşenleri Hazırlama, Kullanım ve Kalite Güvencesi Rehberi* (Örücü ve Yenicesu, 2016)'da yer alan *Kan Bağışçısı Sorgulama Formu* verildi ve formda yer alan soruları tek tek okuyarak uygun yanıt seçeneğini işaretlemesi istendi. Sorgu formunu dolduran bağışçı adayı kan merkezinde bağışçı muayenesi ile görevlendirilmiş hekim tarafından muayene ve değerlendirmesi yapıldıktan sonra *Kan Bağışçısı Tıbbi Değerlendirme ve Flebotomi Formu* dolduruldu. Sorgu, muayene ve değerlendirme sonucunda kan bağışı yapabileceğine karar verilen kişinin kolunda uygun bir venöz damara flebotomi uygulandı. Kan toplamak amacıyla üretilmiş antikoagulan içeren steril PVC torba setine kan toplandı. Toplanan kanlar otomatik hücre ayırıcı bir sistem (Reveos® Automated Blood Processing System, Terumo BCT, Japonya) kullanılarak bileşenlerine ayrıldı.

Kan bağışı ile toplanan kanlarda zorunlu mikrobiyolojik tarama testleri yapılması için ayrılmış numunelerde EÜTF Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarının kan bağışçısı zorunlu tarama testi prosedürü doğrultusunda kemilüminesans mikropartikül immünoassay (CMIA) yöntemiyle (Architect i2000, Abbott Laboratories, ABD) hepatit B virüsü yüzey antijeni (HBsAg), insan immün yetmezlik virüsü (HIV) 1-2 antijen ve antikoru, hepatit C virüsü antikoru (anti-HCV) ve sifiliz etkeni olan *Treponema pallidum* antikoru (anti-TP) araştırıldı. Zorunlu mikrobiyolojik tarama testlerinde reaktivite saptanması nedeniyle transfüze edilemeyeceğine karar verilen ve imha edilmek üzere ayrılmış kan bileşenlerinden HBsAg reaktivitesi saptanmış olan sıvı plazma bileşenleri çalışma amacıyla ayrıldı. HBsAg reaktivitesi yanında taranan diğer enfeksiyon etkenlerine (HIV, HCV, *T.pallidum*) yönelik testlerinde de reaktifite saptanmış bağışçı plazmaları çalışma kapsamı dışında bırakıldı.

Ayrılan plazmalar HBsAg S/CO değerleri açısından kategorize edildi ve S/CO değeri 1000 altında bulunmuş plazmalar çalışma kapsamı dışında bırakıldı.

HBsAg S/CO değeri 1000 üzerinde bulunan 14 plazmadan ikişer adet steril, vidalı kapaklı 50 ml hacimli polipropilen (PP) tüplere ve beşer adet 2 ml hacimli PP kriyotüplere dağıtılarak torba üzerindeki sayısal kod ile işaretlenerek ve -40°C’de dondurularak saklandı.

Saklanan plazmaların HBsAg analiz sonuçları araştırma için hazırlanmış olgu rapor formlarına kaydedildi.

2 ml PP kriyotüplere ayrılmış plazma numunelerinde HBV DNA kantitasyonunu belirlemek üzere gerçek zamanlı (*real time*) PCR yöntemiyle ve ticari bir kit kullanılarak (Bosphore HBV Quantification Kit, Anatolia Geneworks, Türkiye) kantitatif HBV DNA analizi yapıldı. Üretici talimatları doğrultusunda plazma örnekleri nükleik asit izolasyon prosedürünü takiben PCR hazırlığı yapıldı.

### **2.1. DNA İzolasyonu**

İncelenecek plazma örneklerine Magnesia16® manyetik tanecikli izolasyon sistemi ile nükleik asit izolasyonu uygulandı. Taşıyıcı (*carrier*) RNA ve proteinaz K ile karıştırılan plazma örnekleri ve izolasyonda kullanılacak solüsyonları içeren tek kullanımlık kartuşlar Magnesia16® izolasyon cihazına yerleştirildi. Paramanyetik boncuk yöntemi olarak adlandırılan ve solüsyon içerisindeki nükleik asitlerin manyetik boncuklara bağlanması ve ardından manyetik alana maruz bırakılarak bu boncukların toplanması ilkesine dayanan bu yöntemde nükleik asitlerle birlikte manyetik boncuklar üzerine toplanan yan maddelerin değişik konsantrasyonlardaki tuz solüsyonları vasıtasıyla ve nükleik asit içermeyen boncukların manyetik alan etkisiyle uzaklaştırılması sağlandı.

### **2.2.HBV DNA Analizi**

Taq DNA polimeraz enzimi, PCR tampon solüsyonu, HBV genomuna özgü forward ve reverse primerler ile iki farklı floresan boya ile işaretlenmiş problemler –FAM (*Fluorescein amidite*) ve HEX (*Hexachloro-fluorescein*)– içeren PCR ana karışımından (*master mix*) 0.2 ml’lik PCR tüplerine 15 µl konduktan sonra nükleik asit izolasyonu uygulanmış örneklerden de 10 µl eklenerek tüplerin kapakları kapatıldı. Kit üreticisi tarafından sağlanmış olan DNA izolasyonu ve PCR inhibisyonunu kontrol etmek üzere insan genomundan elde edilmiş sentetik bir DNA molekülü olan internal kontrol ile HBV DNA içeren bir pozitif kontrol ve 4 farklı

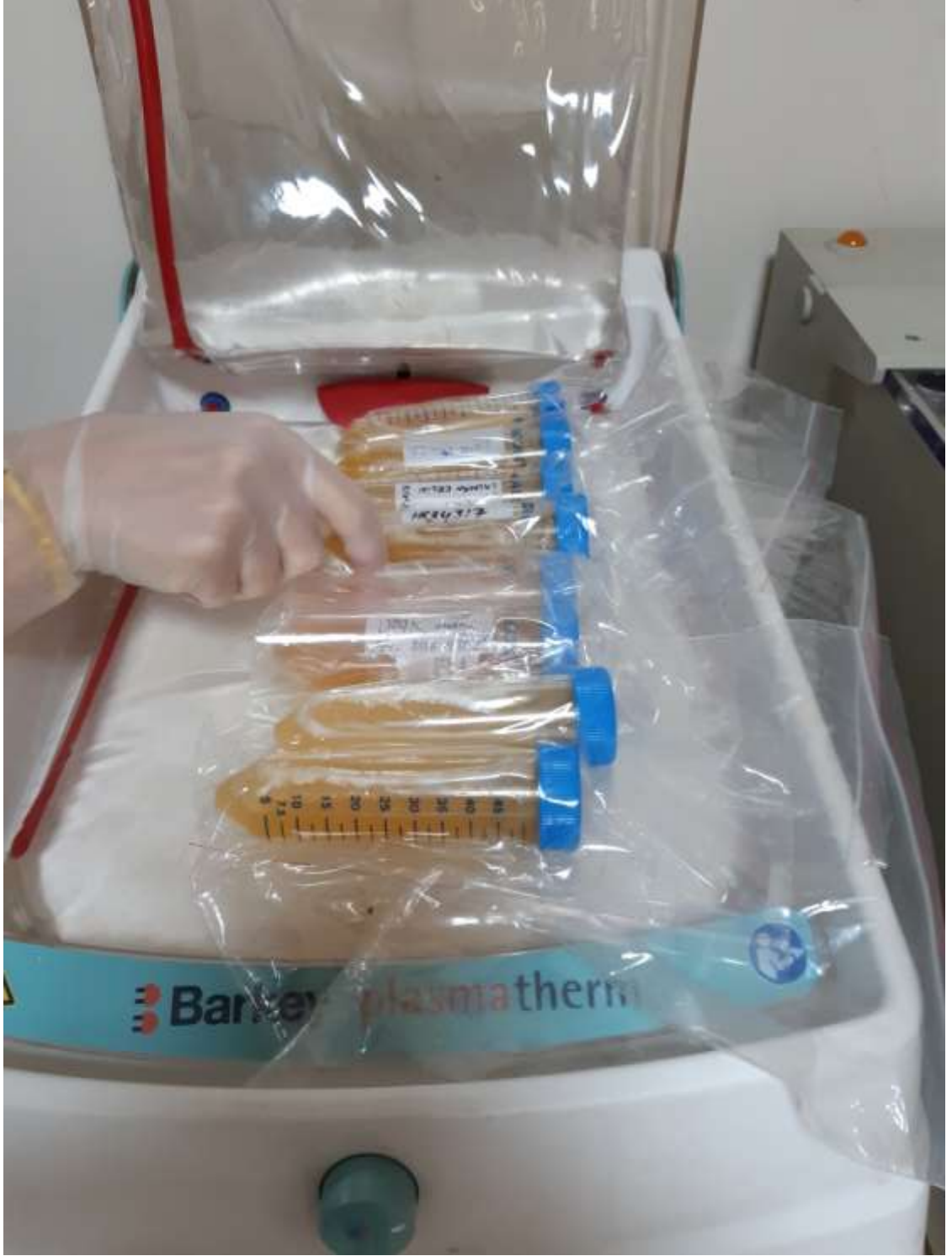
seviyede ( $1 \times 10^6$  IU/ml,  $1 \times 10^5$  IU/ml,  $1 \times 10^4$  IU/ml,  $1 \times 10^2$  IU/ml) HBV DNA içeren, kalibre edilmiş kantitasyon standartları da örneklerle eş zamanlı olarak Montana 483 PCR cihazına yüklenerek tekrar eden ısıtma ve soğutma döngülerinden oluşan bir termal protokol uygulandı.

Termal protokolde  $95^\circ\text{C}$ 'de 14 dakika 30 saniyelik inkübasyonla ilk denatürasyon aşaması tamamlandıktan sonra  $97^\circ\text{C}$ 'de 30 saniyelik denatürasyon ve  $54^\circ\text{C}$ 'de 90 saniyelik bağlanma ve sentez aşamalarını içeren 50 döngü gerçekleştirildi. Son olarak  $22^\circ\text{C}$ 'de 1 dakikalık inkübasyon aşamasından sonra termal protokol tamamlandı. Termal protokolün sona ermesinin ardından Montana 48 sistemine entegre bir bilgisayar yazılımı ile standart eğrisi, *baseline* döngüleri ve eşiği belirlenerek amplifikasyon eğrileri otomatik olarak oluşturuldu. Eşiği geçen örneklerde hesaplanan konsantrasyonlar "IU/ml" cinsinden HBV DNA miktarı olarak belirlendi. Bulunan HBV DNA analiz sonuçları araştırma için hazırlanmış olgu rapor formlarına kaydedildi.

### **2.3.Plazmanın koagülasyonu**

Derin dondurucuda saklanmakta olan ve HBsAg reaktif donör plazmalarını içeren 50 ml'lik PP tüplerden birer adet alınarak 14 donöre ait plazmanın eş zamanlı olarak çözünmesi sağlandı. Donmuş plazmaların çözündürülmesi, kan hizmet birimlerinde taze donmuş plazma (TDP) eritilmesi amacıyla üretilmiş olan bir "Plazma Eritme Cihazı" (Barkey, Almanya) vasıtasıyla  $37^\circ\text{C}$ 'lik ısı altında homojenize biçimde erimenin sağlanması şeklinde gerçekleştirildi (Resim 1).

Çözünmüş plazmalar steril bir şişeye aktarılacak havuzlandı ve karıştırılarak homojenize edildi. Homojenize edilmiş plazma havuzundan konik tabanlı 50 ml'lik PP tüplere 40 ml eşit miktarlarda plazma dağıtılarak 10 adet tüpten oluşan bir seri hazırlandı.



**Resim 1: Bağışçı plazmalarının havuzlanma öncesi çözündürülmesi**

İleride tekrar kullanma olasılığı hesaba katılarak şişede kalan havuzlanmış plazmanın steril koşullarda, antikoagulan içermeyen boş PVC kan torbasına infüzyonu sağlandı. Havuzlanmış plazma içeren bu torba kan hizmet birimlerinde sıvı plazma içeren torbaların hızla dondurulması için kullanılan plazma şoklama cihazına yerleştirilerek şok dondurma ile donduruldu ve -40°C'lik derin dondurucuya yerleştirilerek saklandı (Resim 2,3).



**Resim 2: Havuzlanmış plazmanın “Plazma Şoklama Cihazı”nda dondurulması**



**Resim 3: “Plazma Şoklama Cihazı”nda dondurulmuş havuzlanmış plazma torbası**

Havuzlanmış plazmaların koagule edilmesi için kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) solüsyonu ile muamele edilmesi planlandı. Bu amaçla Proksch ve arkadaşları (1976) tarafından uygulanmış yöntem esas alınarak bazı modifikasyonlarla işlemler gerçekleştirildi.

Steril bir behere 1.1 gr  $\text{CaCl}_2$  (Sigma Aldrich, Japonya) eklendi. Üzerine 200 ml havuzlanmış plazma konarak karıştırıldı,  $37^\circ\text{C}$ 'de 1 saat süreyle inkube edildi. Liyofilize haldeki sığır trombini (Q.F.A.Thrombine, HemosIL, Instrumentation Laboratory, ABD) steril su ile sulandırılarak çözelti haline getirildi. Sulandırılmış

halde 100 NIH/ml sığır trombini içeriğine sahip 2 ml'lik çözelti oda ısısında  $\text{CaCl}_2$  ile inkube edilmiş plazmaya eklenerek karıştırıldı (Resim 4).

Koagülasyonun makroskobik olarak görünür hale gelmesi için oda ısısında 20 dakika daha bekletilen karışım steril bir aplikatör ile koagulum hacmi küçültülerek konik tabanlı PP tüplere 50 ml olarak dağıtıldı. Yirmi dakika süreyle 4500 g'de ve  $10^\circ\text{C}$ 'de santrifüjasyon uygulandı. Santrifüjasyon sonrası üst sıvı steril bir şişede toplanarak serum havuzu oluşturuldu.



**Resim 4: Plazmanın *in vitro* koagülasyonu**

Homojenize edilmiş serum havuzundan konik tabanlı 50 ml'lik PP tüplere 45 ml eşit miktarlarda plazma dağıtılarak 3 adet tüpten oluşan bir seri hazırlandı.

#### **2.4.Lipidlerin uzaklaştırılması**

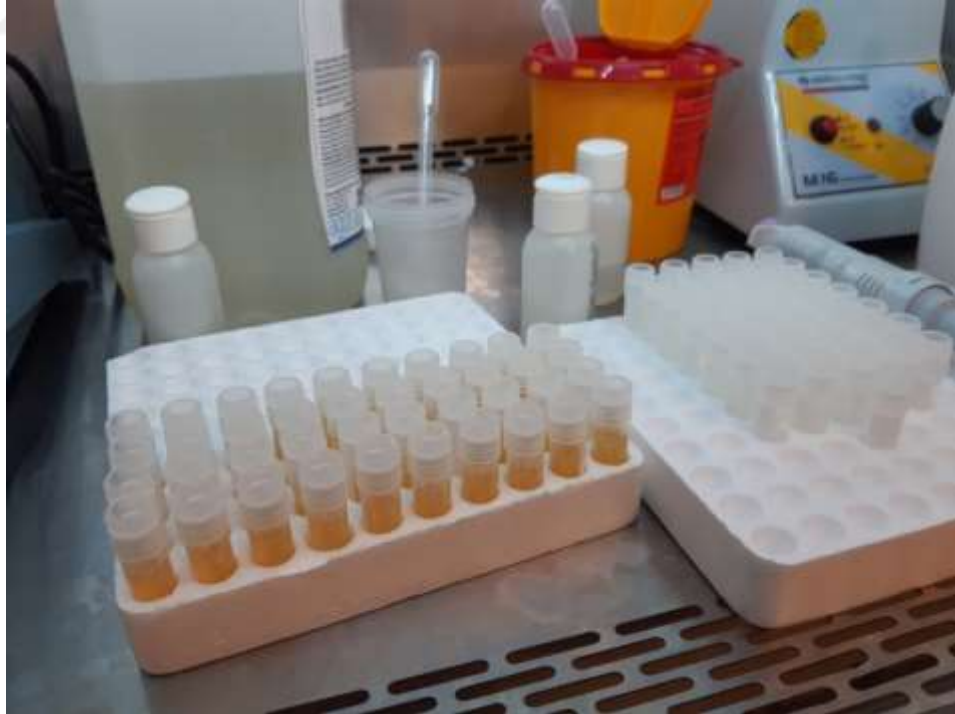
Serum havuzundan lipidlerin uzaklaştırılması için dekstran sülfat ile presipitasyonu planlandı. Bu amaçla öncesinde Proskch ve arkadaşları (1976) tarafından uygulanmış yöntem esas alınarak işlemler gerçekleştirildi. 3 gr toz dekstran sülfat (OmniPur® Dextrane Sulfate, Calbiochem, Japonya) 100 ml steril distile su içerisinde çözündürülerek %10'luk dekstran sülfat solüsyonu hazırlandı. 50 ml'lik PP tüplere dağıtılmış 45 ml havuzlanmış seruma 5 ml %10'luk dekstran sülfat solüsyonu konarak litrede 300 mg dekstran sülfat içerecek serum tüpleri hazırlandı. Tüpler oda ısısında 30 dakika süreyle bekletilerek havuzlanmış serum içeriğinde bulunan lipidlerin presipitasyonu hedeflendi. Bekleme süresinin sonunda tüpler 20 dakika süreyle 10°C'lik ısıda ve 4500 g kuvvetinde santrifüj edildi. Santrifügasyon sonrası dipte oluşan çökeltinin karışmasına izin vermeden ve çökelti üzerinde yaklaşık 2 ml berrak serum tabakası bırakılacak şekilde üst sıvı pipet ile çekilerek steril bir şişede toplandı. Toplanan serum konik tabanlı 15 ml'lik PP tüplere 10 ml eşit miktarlarda dağıtıldı. Tüplerde makroskobik bulanıklık varlığı nedeniyle 40 dakika süreyle 10°C'lik ısıda ve 4500 g kuvvetinde ikinci kez santrifüj edildi. Santrifügasyon sonrası dipte oluşan çökeltinin karışmasına izin vermeden üst sıvı pipet ile çekilerek konik tabanlı 15 ml'lik PP tüplere aktarıldı. Bir gece 4°C'lik soğutucuda beklemeye bırakıldı. Bekleme süresi sonunda tüpler 40 dakika süreyle 10°C'lik ısıda ve 4500 g kuvvetinde santrifüj edildi. Santrifügasyon sonrasında dipte yoğun bir çökeltinin biriktiği ve makroskobik olarak berrak bir görünüm oluştuğu gözlemlendi. Tüplerdeki berrak üst sıvı steril bir şişede toplanarak İKK örneklerinin hazırlanacağı serum havuzu oluşturuldu (Resim 5).



**Resim 5: Lipit presipitasyonu**

## 2.5. İKK örneklerinin belirlenmesi

Elde edilen serum havuzundan steril 15 ml'lik PP tüplere aktarım yapılarak fosfat tamponlu serum fizyolojik (PBS) (RTA Laboratuvarları, Türkiye) ile 1/5, 1/10, 1/50, 1/100 ve 1/1000 sulandırılmaları hazırlandı. Her sulandırmadan birer örnek alınarak hasta ve kan bağışçılarının HBsAg taramasında kullanılan CMIA esaslı bir immünoassay cihazında (Architect i2000, Abbot laboratories, ABD) HBsAg yönünden analiz edildi. Elde edilen HBsAg konsantrasyon ve S/CO değerleri çerçevesinde İKK örnekleri için uygun bir konsantrasyon sağlayabileceği öngörülen 1/100 ve 1/1000 sulandırılmış serumlar 2 ml'lik kriyotüplere dağıtılarak -40 °C'de saklanmak üzere donduruldu. Orijinal serumun 1/100 ve 1/1000 oranında sulandırılmasıyla hazırlanan bu serilerdeki kriyotüpler sırasıyla **İK100** kodu verilerek orta reaktif İKK olarak ve **İK1000** kodu verilerek düşük reaktif İKK olarak etiketlendi. Sulandırım yapılmamış havuzlanmış serum ise yüksek reaktif İKK olarak kullanılmak üzere **İK1** koduyla etiketlenerek 2 ml'lik kriyotüplere dağıtıldı ve -40 °C'de saklanmak üzere donduruldu (Resim 6).



**Resim 6: Dondurulmak üzere hazırlanan HBsAg İKK örnekleri**

Plazmaların işlenmesi ve serum örneklerinin hazırlanmasına yönelik tüm süreç **Biyogüvenlik Düzey-2 (BSL-2)** laboratuvar koşullarında ve bu koşullara uygun kişisel koruyucu ekipman kullanılarak gerçekleştirildi.

Kan bağışçılarının HBsAg S/CO değerleri ile HBV DNA konsantrasyonları arasında korelasyon varlığı Pearson korelasyon analizi ile araştırıldı.

## **2.6.İKK örneklerinin performans analizi**

İKK örneklerinin günler arası değişkenlik derecesinin saptanması amacıyla farklı günlerde dondurucudan çıkarılarak çözülen internal kontrol serumları hasta ve kan bağışçısı örneklerinin rutin HBsAg analizleri sırasında kontrol numunesi olarak eşzamanlı test edildi. Her çalışmada her seriden (İK1, İK100 ve İK1000) birer tüp kullanılmak üzere 21 farklı çalışmada analiz gerçekleştirildi. İKK serumları kemilüminesans mikropartikül immünoassay (CMIA) cihazında (Architect i2000, Abbott Laboratories, ABD) kontrol numunesi olarak analize alındı.

İKK örneklerinin günler arası değişkenlik derecesinin saptanması amacıyla farklı günlerde rutin HBsAg analizi sırasında İK1, İK100 ve İK1000 kodlu örneklerden birer tüp derin dondurucudan çıkarıldı ve oda ısısında çözülmesi beklendi. Çözülmüş örnekler bağışçı ve hastaların rutin HBsAg incelemesinde İKK numunesi olarak analiz edildi. Analiz sonrasında S/CO değerleri İKK örnek performans çizelgesine kaydedildi. Hazırlanan İKK örneklerinin 21 farklı analiz sonucunda elde edilen S/CO değerleri ile Levey-Jennings grafikleri oluşturuldu.

Tanımlayıcı ve analitik istatistikler için PASW (versiyon18.0) yazılımı (SPSS Inc. Hong Kong) kullanıldı. İKK örneklerinin S/CO ortalamaları, standart sapmaları ve değişim katsayıları belirlendi. Ölçüm değerlerinin normallik sınaması Kolmogrov-Smirnov testi ile yapıldı. Levey-Jennings grafikleri Westgard 3 sigma kurallarına göre sistematik hata ve rastgele hata yönünden incelendi.

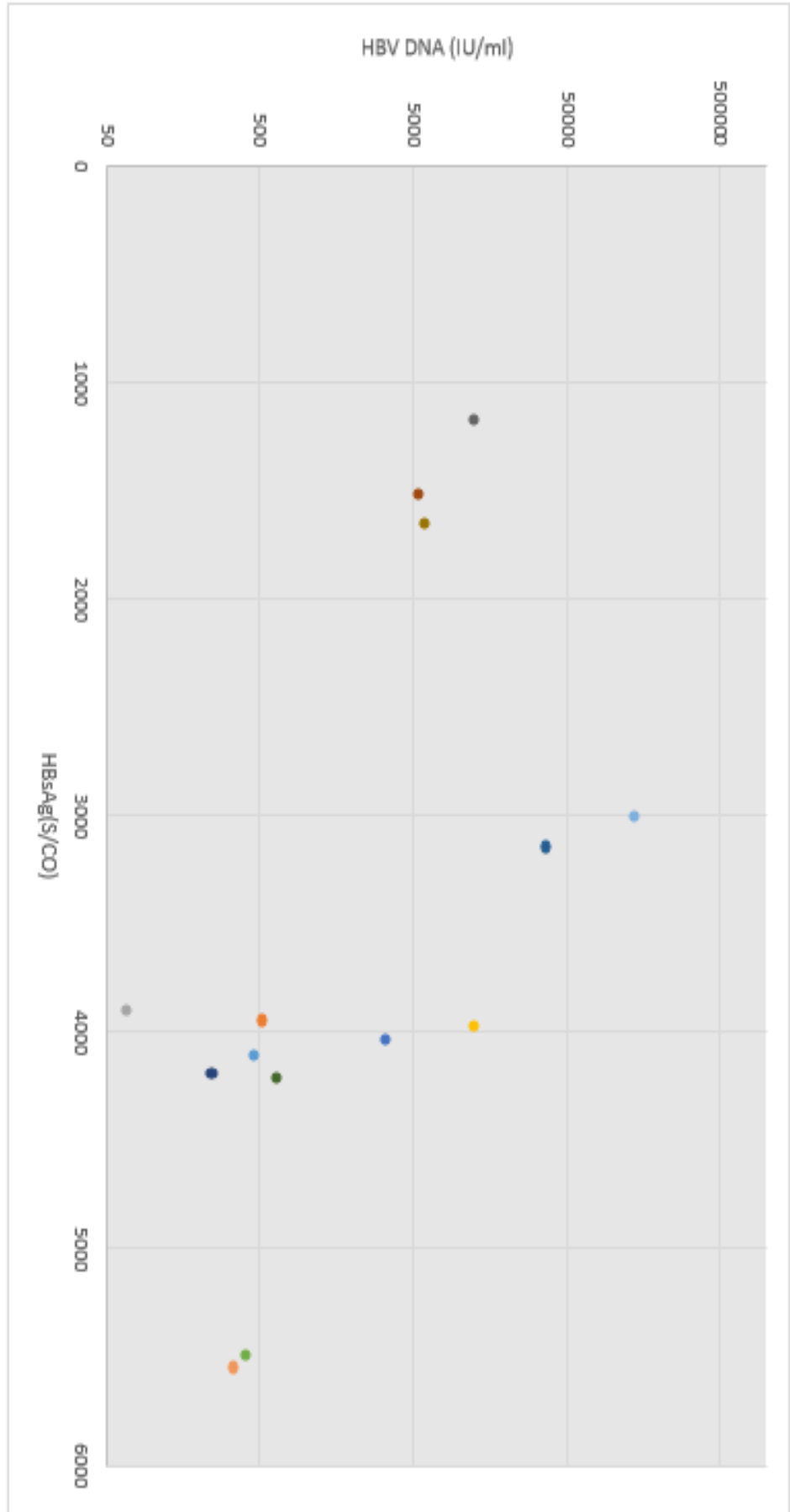
## BULGULAR

HBsAg reaktivitesi S/CO ölçümünde 1000 ve üzerinde S/CO değeri saptanan ve HBsAg reaktivitesi nedeniyle bağışladıkları kan transfüzyon için uygun bulunmayan kan bağışçılarından (n=14) toplanan sıvı plazmalarda HBV DNA konsantrasyonu 65,6 ila 135300 IU/ml arasında bulundu (Tablo 1).

| KAN BAĞIŞÇISI<br>SIRA NO | HBSAG<br>(S/CO) | HBV DNA<br>(IU/ml) |
|--------------------------|-----------------|--------------------|
| 1                        | 4111            | 449                |
| 2                        | 3950            | 503.7              |
| 3                        | 3907            | 65.6               |
| 4                        | 3984            | 12390              |
| 5                        | 4043            | 3226               |
| 6                        | 5500            | 396.7              |
| 7                        | 3146            | 36360              |
| 8                        | 1524            | 5212               |
| 9                        | 1178            | 12360              |
| 10                       | 1661            | 5749               |
| 11                       | 4199            | 234.9              |
| 12                       | 4212            | 617.1              |
| 13                       | 3008            | 135300             |
| 14                       | 5554            | 332.5              |

**Tablo 1: İKK örneği için seçilen bağışçı plazmaların HBsAg ve HBV DNA içeriği**

Kan bağışçılarının HBsAg S/CO değerleri ile HBV DNA konsantrasyonları arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı ( $R = -0.2129$ ,  $p = 0.46$ ) (Grafik 1).



**Grafik 1: HBsAg reaktif kan bağışçılarında HBV DNA ve S/CO ilişkisi**

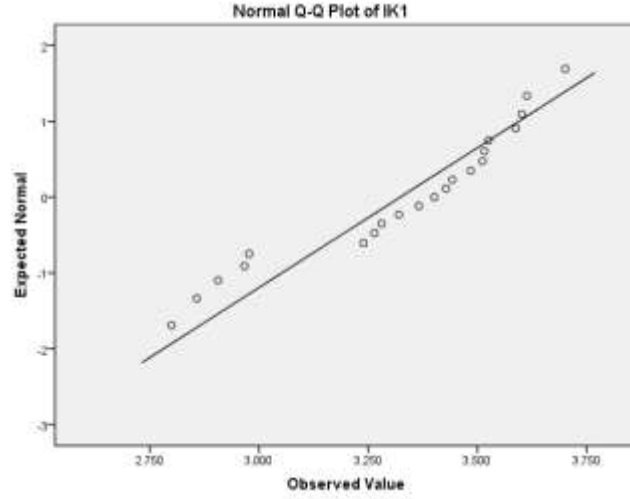
Hazırlanan her üç seriden İKK serumlarının rutin HBsAg analizi sırasında elde edilen S/CO değerleri kaydedilerek veriler tanımlayıcı ve analitik istatistiklerde kullanıldı (Tablo 2).

| GÜNLER | S/CO DEĞERLERİ |         |        |
|--------|----------------|---------|--------|
|        | İK1            | İK100   | İK1000 |
| 1      | 3239.90        | 1868.48 | 208.75 |
| 2      | 3401.76        | 1916.96 | 248.60 |
| 3      | 2857.87        | 1379.90 | 231.07 |
| 4      | 2967.07        | 1440.66 | 226.60 |
| 5      | 3320.55        | 2006.75 | 229.82 |
| 6      | 2977.28        | 1748.60 | 217.34 |
| 7      | 3365.97        | 1788.46 | 222.39 |
| 8      | 3442.92        | 1742.52 | 204.95 |
| 9      | 3264.68        | 1545.54 | 205.72 |
| 10     | 3613.74        | 1617.91 | 248.60 |
| 11     | 2800.10        | 1534.26 | 190.86 |
| 12     | 3511.84        | 1919.01 | 195.27 |
| 13     | 3428.02        | 1773.09 | 221.16 |
| 14     | 3525.86        | 1893.48 | 234.28 |
| 15     | 3701.40        | 1240.71 | 216.67 |
| 16     | 3516.38        | 1633.30 | 224.60 |
| 17     | 3588.62        | 1753.48 | 229.62 |
| 18     | 3281.07        | 1644.66 | 217.07 |
| 19     | 2906.98        | 1872.06 | 214.99 |
| 20     | 3485.11        | 2048.64 | 214.77 |
| 21     | 3601.67        | 1868.61 | 207.97 |

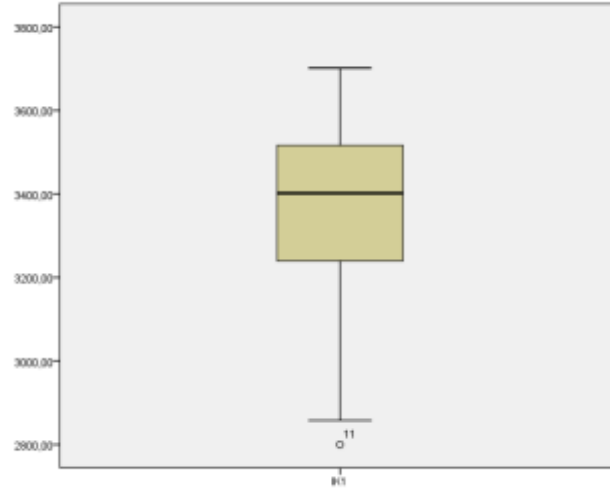
**Tablo 2: Yüksek, orta ve düşük İKK örneklerinin tekrarlayan analizlerde elde edilen S/CO değerleri**

Yüksek reaktif İKK (İK1) serumlar ile elde edilen S/CO değerleri için ortalama 3323.75 bulunurken ortanca 3401.76 olarak, standart sapma 271.19 olarak, değişim katsayısı ise %8.1 olarak belirlendi. Kolmogrov-Smirnov testi ile ölçüm değerlerinin % 95 güven aralığında normal dağılım gösterdiği görüldü ( $p=0,200$ ). (Grafik 2).

(a)



(b)

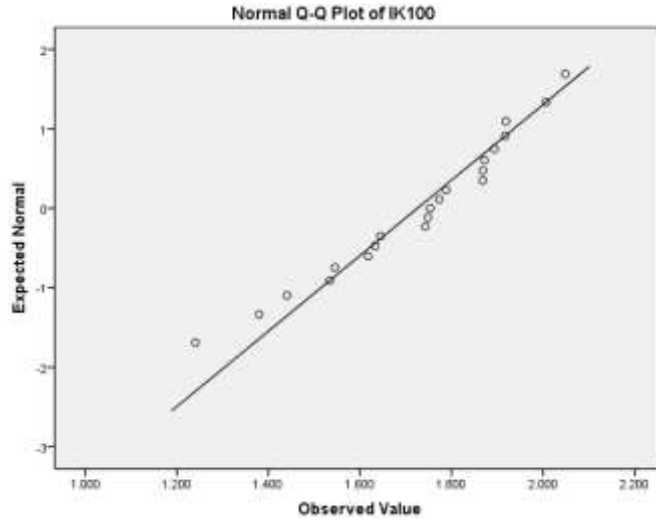


**Grafik 2: Yüksek reaktif İKK ölçümlerinin dağılım grafikleri**

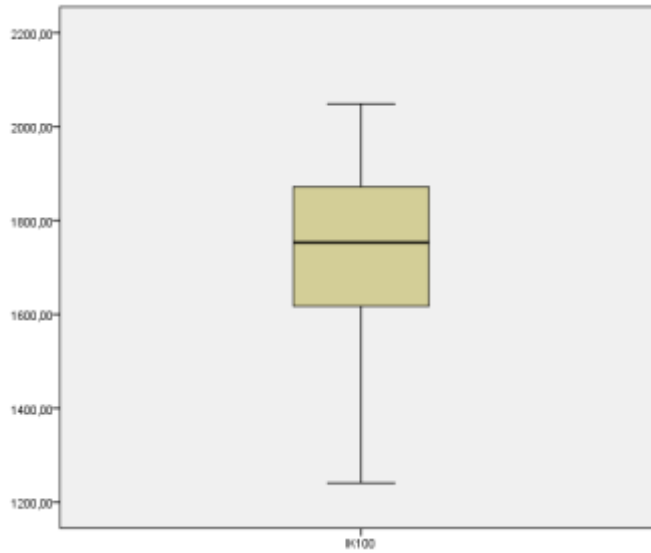
**(a) Q-Q grafiği (b) Kutu grafiği**

Orta Reaktif İKK (İK100) serumları için ortalama 1725.57 olarak bulunurken ortanca 1753.48 olarak, standart sapma 210,62 olarak, değişim katsayısı ise %12.2 olarak belirlendi. Kolmogrov-Smirnov testi ile ölçüm değerlerinin % 95 güven aralığında normal dağılım gösterdiği görüldü ( $p=0,200$ ).

(a)



(b)

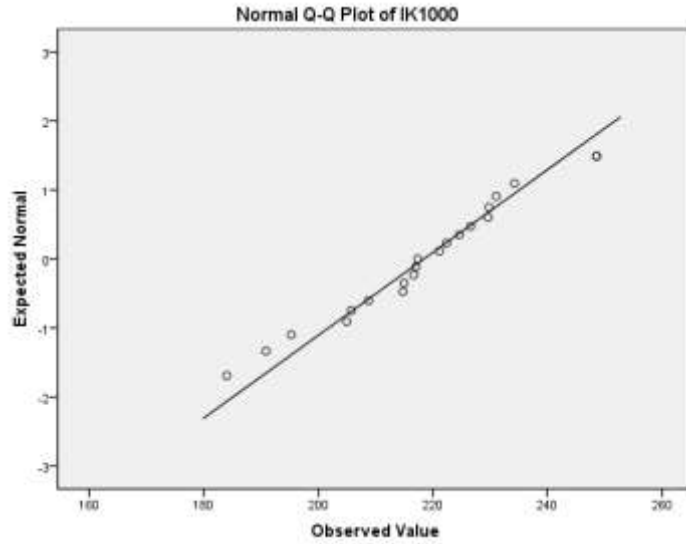


**Grafik 3: Orta reaktif İKK ölçümlerinin dağılım grafikleri**

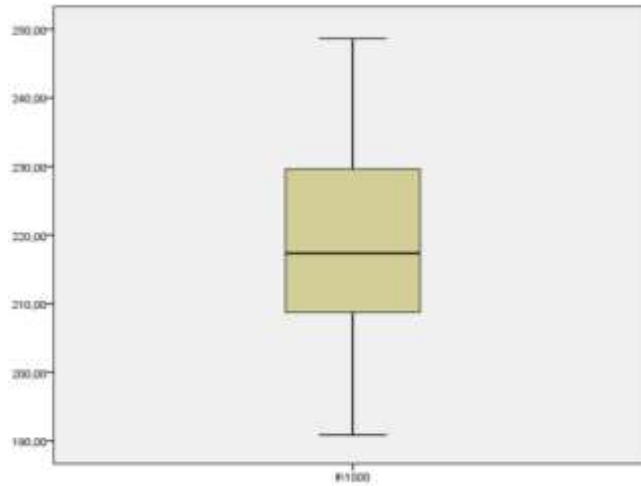
**(a) Q-Q grafiği (b) Kutu grafiği**

Düşük Reaktif İKK (İK1000) serumları için ortalama 219.57 olarak bulunurken ortanca 217.34 olarak, standart sapma 14.93 olarak, değişim katsayısı ise %7.6 olarak belirlendi. Kolmogrov-Smirnov testi ile ölçüm değerlerinin % 95 güven aralığında normal dağılım gösterdiği görüldü ( $p=0,200$ )

(a)



(b)



**Grafik 4: Düşük reaktif İKK ölçümlerinin dağılım grafikleri**

**(a) Q-Q grafiği (b) Kutu grafiği**

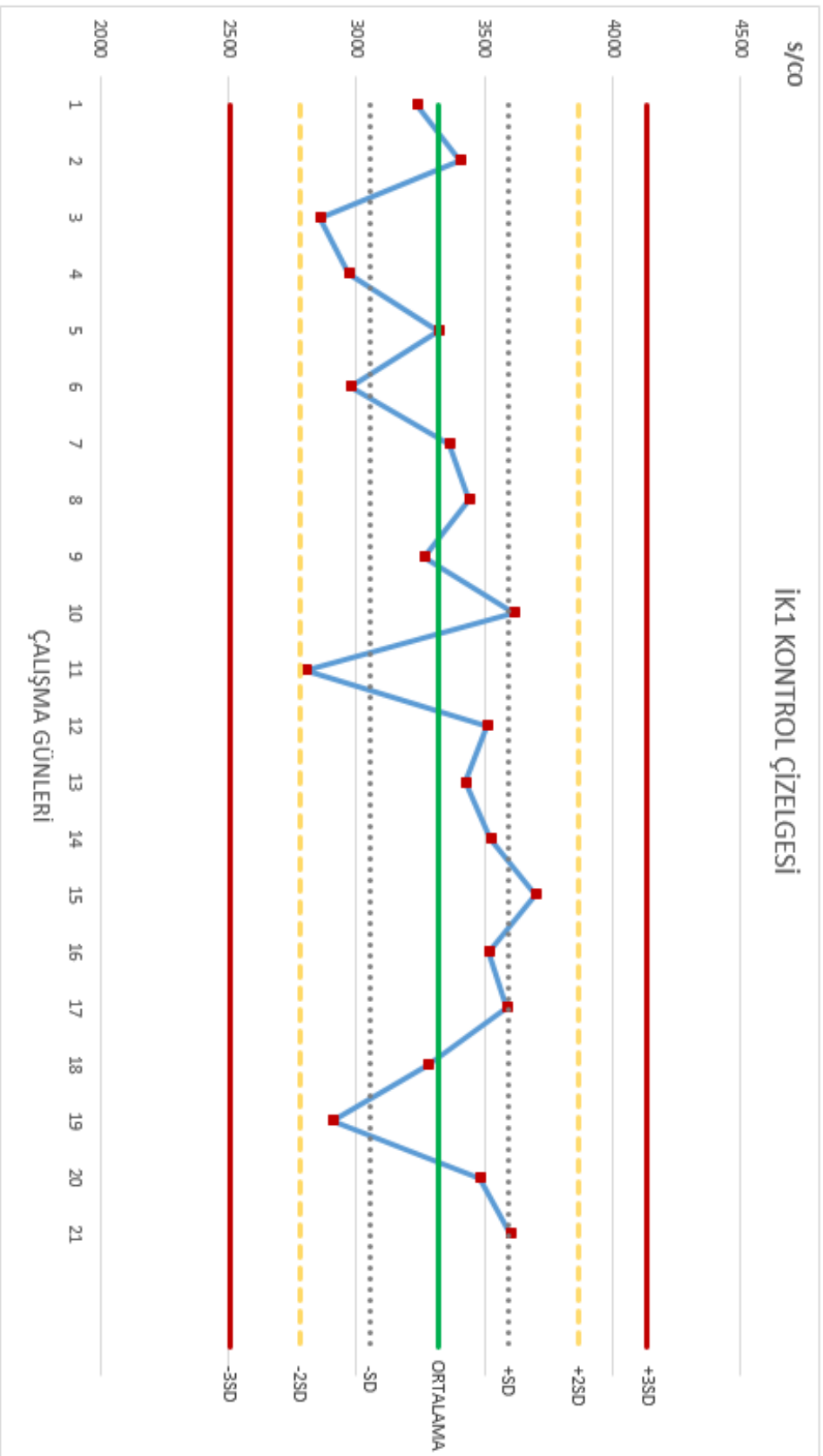
S/CO değerlerinin aktarıldığı Levey-Jennings grafiklerinin incelenmesinde yüksek reaktif İKK örneklerinin tümünde ölçüm değerlerinin  $\pm 2SD$  içerisinde yer aldığı görüldü (Grafik 5).

En yüksek S/CO değeri 2048.65 olarak ölçülen orta reaktif İKK örneklerinde en düşük S/CO değeri olan 1240.71 ölçümünün  $-2SD$  dışına çıktığı görüldü. Ancak diğer tüm değerlerin  $\pm 2SD$  içerisinde yer aldığı gözlemlendi (Grafik 6).

En düşük S/CO değeri 190.86, en yüksek S/CO değeri 248.60 olarak ölçülen düşük reaktif İKK örneklerinde tüm değerlerin  $\pm 2SD$  içerisinde yer aldığı gözlemlendi (Grafik 7).

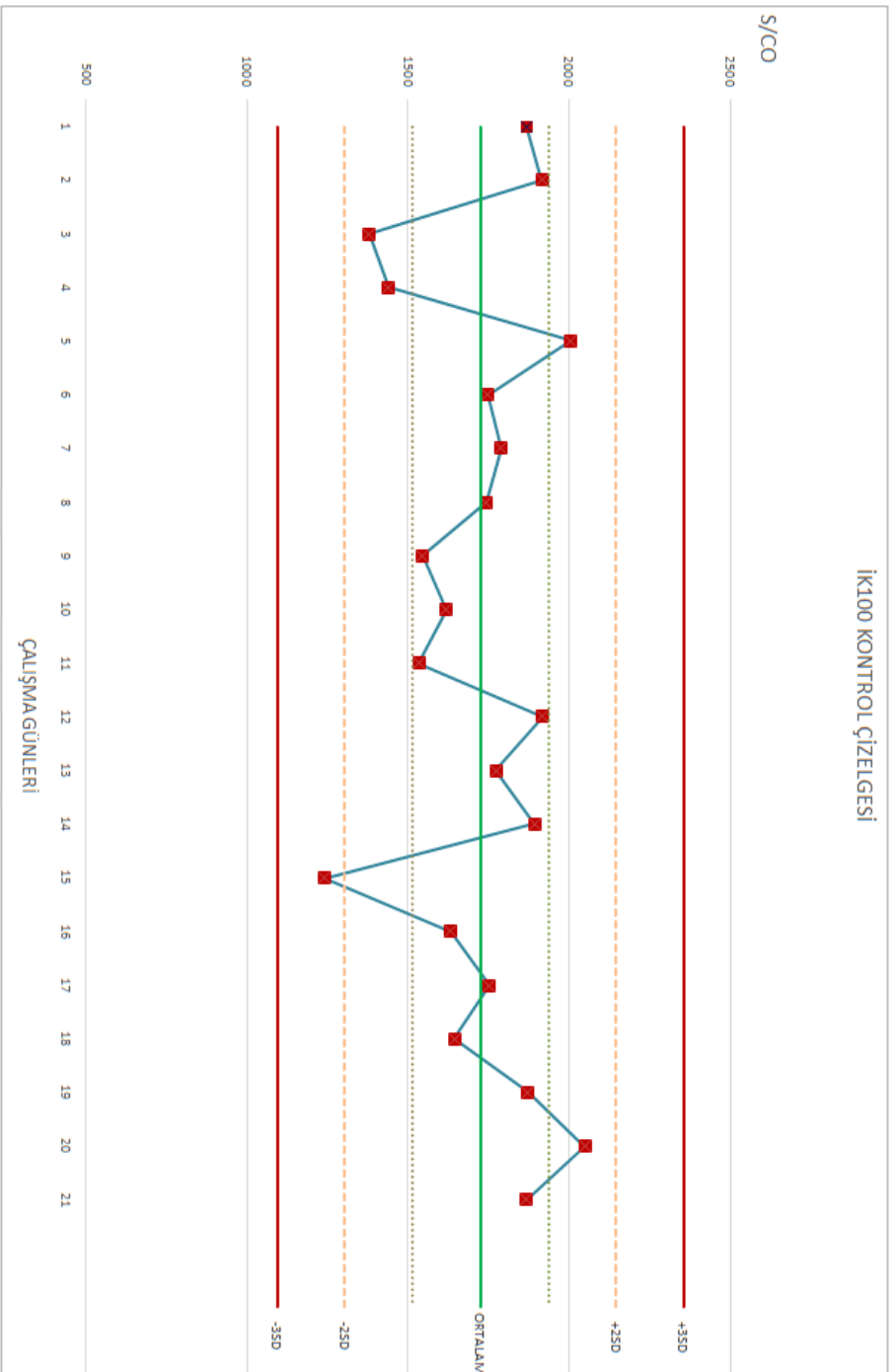
Orta reaktif İKK örneklerinde  $-2SD$  dışına çıkan değer nedeniyle Westgard'ın  $1_{2s}$  kuralının ihlal edildiğı saptandı. Uyarıcı özellikteki bu kural ihlali dışında her üç seride de rastgele hata veya sistematik hataya işaret eden bir kural ihlali saptanmadı.

## İKİ KONTROL ÇİZELGESİ



Grafik 5: Yüksek reaktif İKK örneklerinin HBsAg testi performansları

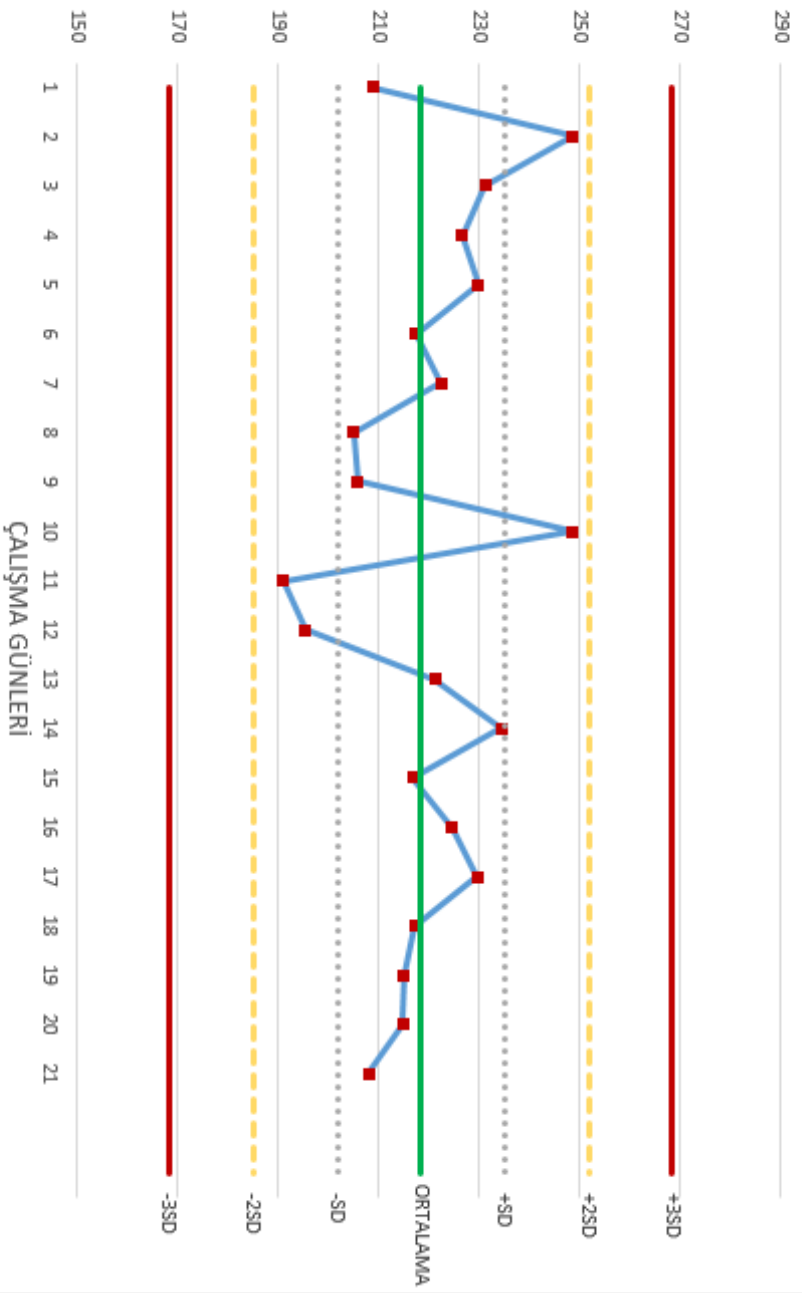
İK100 KONTROL ÇİZELGESİ



Grafik 6: Orta reaktif İKK serumlarının HBsAg test performansı

s/co

İK1000 KONTROL ÇİZELGESİ



Grafik 7: Düşük reaktif İKK serumlarının HBsAg test performansı

## Tartışma

HBsAg'nin 1970'lerde ABD'inde kan bağışçılarında zorunlu tarama testi olarak kabulünün ardından transfüze edilecek kan ve kan bileşenlerinde enfeksiyon göstergelerinin araştırılması yaygın bir uygulama halini almıştır. Avrupa Parlamentosu ve Konseyi'nin 2002 98/EC direktifi ile kan bağışçılarında serolojik tarama testlerine ilişkin gerekliliklerin tanımlanmasının ardından transfüzyon öncesi serolojik tarama testleri AB ülkeleri açısından bir yasal zorunluluk oluşturmuştur (Fiedler ve diğerleri, 2019; Dodd ve diğerleri, 2018).

Ülkemiz mevzuatında da karşılığını bulan bu gereklilik nedeniyle kan bağışçılarında HBV, HCV, HIV ve sifilize yönelik enfeksiyon göstergelerinin taranması zorunludur (Örüş ve Yenicesu, 2016).

Zaman içerisinde nükleik asit test yöntemlerinin ve kan bileşenlerinde patojen azaltmaya yönelik teknolojilerin geliştirilmesi, serolojik tarama testlerinin geleceğini tartışmaya açsa da daha epeyce bir süre serolojik tarama testlerinden vaz geçilmesi olası gözükmemektedir. Yaygınlaşan hepatit B aşılması ve geliştirilen antiviral tedavilere karşın hepatit B enfeksiyonu yeryüzünde ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak önemini sürdürmektedir. Kan bağışçısı kazanım programları sayesinde gönüllü ve sürekli kan bağışçılarının sayısının artması, kan bağışçılarının transfüzyon ile bulaşan enfeksiyonlara yönelik riskli davranışlar konusunda bilinçlendirilmesi de dahil tüm gelişmelere karşın transfüzyon ile HBV bulaşma riski bulunmaktadır. Pencere dönemi nedeniyle incelenen patojenin tarama testlerinde saptanamadığı durumda enfeksiyonun bulaşma riski olarak tanımlanabilecek **rezidüel risk** hesaplamasında değişik modeller kullanılabilmektedir. ABD'de on yıllık bir süredeki (2007-2016) kan bağışlarını ele alan yakın tarihli bir çalışmada HBV sıklığı 100 bin kan bağışında 7,58 olarak bildirilmiş ve pencere dönemi esas alınarak HBV enfeksiyonu için 18,5 günlük bir risk periyodu hesaplanmıştır. Amerikan Kızılhaçı tarafından toplanan kanlarda 2015-2016 yılları için rezidüel HBV riski yaklaşık 1,5 milyonda 1 olarak bildirilmiştir (Dodd ve diğerleri, 2018). Global olarak ise HBV için rezidüel risk düşük endemik ülkelerde bir milyonda 1.4'e varan oranlarda, yüksek endemik ülkelerde ise milyonda 100'e ulaşan oranlarda hesaplanmaktadır (Candotti ve Laperche, 2018).

HBsAg saptanmasında pek çok kısıtlayıcı durum bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi HBV enfeksiyonunun başlangıcından viral antijenin tespit edilebilir seviyeye ulaşmasına dek geçen pencere dönemidir (Allain ve Cox, 2011; Candotti ve Laperche, 2018).

Viral zarfın temel proteini olan sHBS'nin majör hidrofilik bölgesinde bulunan ve antijenik belirleyici olan **a** determinantı 42 aa'den oluşan primer yapısı yanında sekiz sistein molekülünden oluşan sekonder bir yapıya sahiptir. Bu sistein moleküllerinden bazılarında ortaya çıkan yapısal bozulmanın HBsAg test sonuçlarını etkilediği, yalancı negatif sonuçlara yol açtığı bildirilmiştir. HBsAg incelemesinde bu bölgedeki epitopların test içeriğindeki monoklonal ve/veya poliklonal antikorlarla reaksiyona girmesi, antijenin antikorlar tarafından yakalanmasından sonra işaretli ikinci bir antikorun bağlanmasıyla ya da çeşitli sistemlerle sinyal güçlendirilerek antijenin tespiti sağlanmaktadır. HBsAg testleri enfekte karaciğer hücrelerinden salınan viral partiküller belirli bir seviyeye ulaşmaya dek HBsAg testinde antijen saptanmamaktadır. HBsAg tespitinde fonksiyonel viral partiküllerden daha çok sHBS moleküllerinin spontan agregasyonun bir sonucu olan sferik partiküllerin ya da tubuler partiküllerin etkili olduğu ileri sürülmüştür (Allain ve Cox, 2011).

HBsAg S/CO değerleri ile HBV DNA düzeylerini karşılaştıran lineer regresyon modellerinde bu iki ölçüm değeri arasında anlamlı pozitif bir korelasyon saptanmış olsa da HBV DNA ve HBsAg'nin hızla arttığı akut enfeksiyonun erken döneminde bu durum beklenen bir sonuçtur. Çalışmamızda HBsAg S/CO değerleri ile HBV DNA konsantrasyonları arasında anlamlı bir korelasyon bulunmaması ise HBsAg reaktivitesi gösteren plazmaların aktif enfeksiyonu bulunmayan taşıyıcı özelliğindeki kan bağışçılarından sağlanmasıyla açıklanabilir. Ayrıca çalışmamızda homojenize bir plazma havuzu elde etmek amacıyla kan bağışçı sayısının kısıtlanması da bir etken olabilir. Kan bağışçıları arasında HBsAg ile HBV DNA arasında korelasyon eksikliğine dikkat çeken başka çalışmalar bulunmaktadır. Kuhns ve arkadaşları tarafından 2004 yılında yayımlanan bir çalışmada HBsAg reaktif kan bağışçılarının %6'sında HBV NAT *minipool* analizlerinde HBV DNA saptanamadığı bildirilmiştir (Kuhns, Kleinman, McNamara, Rawal ve diğerleri, 2004). Öte yandan HBsAg ile HBV DNA konsantrasyonları arasındaki ilişkinin HBV genotiplerine göre farklılık gösterdiği bilinmektedir. HBV genotip A ve genotip D'de bu iki ölçüm

arasında yüksek düzeyde korelasyon görülürken B ve C genotipi taşıyıcılarda korelasyon düşük bulunmuştur (Liu, Yang, Lee, Jen ve diğerleri, 2016).

Murayama ve arkadaşları (2019) kantitatif HBsAg ölçümü yapan kitlerin HBV genotiplerinden etkilendiğini göstermişler ve HBV tanısında kullanılan test kitlerinin kullanımında ve kalite kontrolünde bu durumun önemine dikkat çekmişlerdir.

HBV genotipleri yeryüzünde farklı coğrafi dağılım göstermektedir. Bunlardan HBV A ve D genotipleri küresel bir dağılım gösterirlerken doğu ve güneydoğu Asya'da B ve C genotipleri, batı Afrika'da F genotipi, orta ve güney Amerikada H genotipi baskındır. ABD'de genotip G öne çıkarken Amerika kıtasının yerli halklarında ise F genotipi yaygın görülmektedir. Testlerin bu farklılıklardan etkilenmemesi için Uluslararası Kan Güvenliği Konsorsiyumu (ICBS) HBsAg test panelleri için farklı HBV genotiplerini ve farklı HBsAg subtiplerini (*adw* 2-4, *ayw* 1-4, *adr*) içerecek şekilde bir tasarım önermiştir (Scheiblaue, El-Nageh, Diaz, Nick, ve diğerleri, 2010).

Çalışmamızda HBV genotipleme çalışması yapılmamıştır. Ancak hepatit B ile enfekte hasta gruplarında yapılan çeşitli çalışmalar Türkiye'de HBV D genotipinin baskın olduğunu göstermiştir (Leblebicioglu Eroglu ve Hepatitis Study Group, 2004; Bozdayı, A. M., Aslan, Bozdayı, G., Türkyılmaz ve diğerleri, 2004; Özdemir, Duman, Ertem, Avşar, ve diğerleri, 2005). Ülkemizde hasta grupları dışında kan bağışçıları arasında yapılan bir çalışmada da HBsAg reaktivitesi gözlenen tüm bağışçılarda HBV genotip D saptanmış ve bunun büyük oranda (%94) D1 genotipi olduğu gösterilmiştir (Cox, Arslan ve Allain, 2011).

HBsAg varlığını saptamaya yönelik kalitatif test kitlerinde 0.5-100 IU/ml aralığında değişen analitik duyarlılıklar bildirilmiştir. İlk yıllarda düşük olan duyarlılıklar test tekniğindeki gelişmelere bağlı olarak artmıştır. Bu konuda, başlangıçta katı fazda mikropatlardan veya plastik boncuklardan yararlanılırken günümüzde kaplama yüzeyi olarak mikropartiküllerin kullanılması ve optik absorbans ölçümüne dayalı testlerden kemilümünensans temelli testlere geçilmesiyle önemli gelişme sağlanmıştır. HBsAg testlerinde önemli bir sorun ise HBV varyantlarıdır. Güvenilir bir sonuç için farklı varyantların varlığında bile test duyarlılığının etkilenmemesi gerekir (Allain ve Cox, 2011; Pronier, Candotti, Boizeau, Bomo ve diğerleri, 2011; Amini, Varsaneux, Kelly, Tang ve diğerleri, 2017).

Biyolojik maddeler için standartlar oluşturmaya yönelik çalışmalar yürüten DSÖ Biyolojik Standardizasyon Uzman Komitesi (ECBS) klinik laboratuvarlar ile kan hizmet birimlerinde ve kan ürünü veya in vitro diagnostik üreticileri tarafından kullanılacak HBsAg testlerinin validasyonu için de bir uluslararası standart (3rd WHO IS) hazırlamıştır. Bu standardın hazırlanma sürecindeki aşamalar ve paylaşılan deneyim çalışmamız için de yol gösterici olmuştur. HBsAg özelinde bir standart oluşturulmasında birçok etmene dikkat çekilmektedir. Özellikle kullanılan örnek matriksinin türü, standardın hazırlanma yöntemi ve antijenik varyantların önemine vurgu yapılmaktadır. DSÖ tarafından hazırlanan uluslararası standardın farklı laboratuvarlar ve farklı sistemlerle analizinde elde edilen veriler incelendiğinde örneğin niteliğinin önemi dikkat çekmektedir. HBsAg reaktif plazma kullanılması ile pürifiye ve inaktive plazma kullanılması arasında varyasyonlar yönünden önemli fark olduğu bildirilmiş, hatta bu farkın HBV genotip ya da subtip farklılıklarından daha etkili olduğu ileri sürülmüştür. Ancak potens değerlendirmelerinde kantitatif ve kalitatif yöntemler arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Wilkinson, Seiz, Schüttler ve Gerlich, 2016).

Laboratuvarlarda üretilen sonuçların doğruluk ve kesinliğini etkileyen hatalar analiz öncesi sürece ilişkin (pre-analitik) hatalar, analiz sırasındaki (analitik) hatalar, analiz sonrasındaki sürece ilişkin (post-analitik) hatalar olarak sınıflandırılmaktadır. Hataların sınıflandırılmasında bilişsel olan ve bilişsel olmayan hataların ayrımı önemlidir. Bilişsel hatalar bireylerin kavrama/algılama yetersizliği ve bilgi eksikliği nedeniyle ortaya çıkan hatalardır. Bilişsel olmayan hatalar ise rutin bir prosedürün yürütülmesi sırasında ortaya çıkan “takılıp düşmeler” olarak görülmektedir. Bilişsel hataların önlenmesinde eğitim, yetkinlik ve yeterliliğin değerlendirilmesi, prosedürlerde kolay anlaşılır akış şemaları gibi uygulama kolaylıklarının sağlanması yeterli olmaktadır. Bilişsel olmayan hatalarda ise daha çok sistemsel iyileştirmelere gerek bulunmaktadır. Analitik hatalar diğerlerinde göre daha az sıklıkta görülse de güvenilir bir sonuç açısından çoğunlukla kritik ve sistematik hatalar olarak karşımıza çıkar. Analitik sürecin güvenilir, doğru ve kesin sonuçlar üretebilmesi için laboratuvarlarda kalite yönetim sisteminin oturtulması ve iyi laboratuvar uygulamalarına yer verilmesi gerekir. İyi laboratuvar uygulamalarının ve kalite güvencesinin önemli bir bileşeni olan kalite kontrol laboratuvarında uygulanan analizin performansın kabul edilebilir sınırlarda olduğunun güvence altına alınmasını sağlar.

Kalite kontrol numuneleri hasta numunelerine benzer ve belirli bir konsantrasyonda analitik madde içeren örneklerdir. Analitik sürecin düzgün biçimde tamamlandığını güvence almaya yarar. Test kiti üreticileri, çalışılan testlerin kalite güvencesini sağlamak üzere tedarik ettikleri test kiti ile birlikte İKK örneklerini de sağlamaktadırlar. Ancak ISO 15189 kapsamında da teşvik edildiği üzere laboratuvarın bağımsız İKK örnekleri ile çalışması tercih edilmelidir. Kit tedarikçisinden bağımsız olarak İKK örnekleri farklı ticari kaynaklardan sağlanabilmekle birlikte bu laboratuvarlar açısından ek maliyet anlamına gelmektedir. Bu açıdan laboratuvarların kendi bağımsız İKK örneklerini hazırlaması uygun bir çözüm olarak gözükmektedir (Public Health England, 2015; Sepulveda, 2019).

İnsan sağlığına yönelik bir hizmet sektörü olan tıbbi laboratuvarlarda analitik işlemlerin kalite güvencesi altına alınması çok temel bir gerekliliktir. Ancak bir laboratuvar ölçümünün hatadan muaf olması söz konusu değildir ve sonuçlarda belirsizliğin tümüyle ortadan kaldırılması olanaksızdır. Bu nedenle kabul edilebilir bir hata oranında küçük sapmalar klinik olarak önemli değildir. Tekrarlanan test sonuçlarının %95 güven aralığında normal dağılım göstermesi koşuluyla değişim katsayısının 1.65 katı “**rastgele hata**” olarak kabul edilir. Toplam analitik hata ise bir dizi test sonucundan elde edilen değerlerde sapma olarak tanımlanan “**sistematik hata**” ile “**rastgele hata**”nın kombinasyonudur (Sepulveda, 2019).

Sigma ölçümleri olarak adlandırılan değerlendirme yöntemi pek çok alanda kullanılmakta, tıbbi laboratuvarlarda da analizlerin doğruluk ve kesinliğini hesaplamakta bu ölçümlerden yararlanılmaktadır. Bu yöntem ile kalitenin nesnel ve nicel biçimde ölçülmesi mümkün olmaktadır. Bu ölçüm yönteminde yer alan “**izin verilen toplam hata**” (TEa) , “**taraflılık**” (bias) ve “**kesinlik**” kavramları laboratuvarlarda uygulama hatalarını ve/veya test performans kalitelerini değerlendirmede en sık kullanılan unsurlardır. Bu yöntemde kullanılan ölçüm seviyelerine göre izin verilen hata oranları değişmektedir. Birden altıya dek ölçeklendirilen sigma kurallarında “**6 Sigma**” sonuçların % 99.99966 oranında hatasız olduğunu yani en fazla milyonda 3.4 kadar bir kusur olabileceğini gösterirken “**3 Sigma**” sonuçların %93.3 oranında hatasız olduğuna ve en fazla milyonda 66.807 kadar bir kusur olabileceğine işaret eder. Kabul edilebilen bir hata oranını gösteren bir kalite göstergesi olarak “**3 Sigma**” tıbbi laboratuvarlarda sıkça kullanılmaktadır.

Standart sapmanın ortalamadan 3 katı bir aralıkta ( $\pm 3SD$ ) saptanan varyasyonların tolerans limitleri içerisinde olduğu bu düzeyde tıbbi laboratuvarlarda tüm kurallara bütünüyle uyulmuş olsa bile ortaya çıkabilecek az sayıda kusura izin veren bir kalite değerlendirme yaklaşımı vardır (Hens, Berth, Armbruster ve Westgard, 2014).

Çalışmamızda, HBsAg reaktif kan bağışçılarının plazmalarından hazırladığımız İKK serumları bağımsız kontroller işlev görmek üzere üretilmiştir. Rutin HBsAg analizlerinde bağımsız kontroller olarak kullanılan İKK örneklerimize ilişkin ölçüm değerleri kontrol çizelgelerine işlenmiş ve performansları da “**3 Sigma**” kuralına göre değerlendirilmiştir. Ancak tarafımızdan hazırlanan İKK serumları için bir **TEa** hedefi olmadığından performans incelemesi,  $\pm 3SD$  içerisindeki değişim oranlarını gösteren değişim katsayısı hesaplanarak Westgard kuralları temelinde yapılmıştır. Bu değerlendirmelerde İK1, İK100 ve İK1100 serisi için tüm ölçümlerin üst ( $+3SD$ ) ve alt ( $-3SD$ ) kontrol sınırları içerisinde bulunduğu görülmüştür. İK100 için bir örneğin  $2SD$  dışında bulunması nedeniyle sadece bir kez  $1_{2s}$  kuralının ihlal edildiği görülmüştür. Uyarıcı kural olarak tanımlanan bu durum dışında uyumsuzluk saptanmaması ve sistematik hata gözlenmemesi çalışmamız sonucunda hazırlanan İKK örnekleri ile elde edilen sonuçların tüm serilerde (İK1, İK100, İK1000) tutarlı ve uygun olduğuna işaret etmektedir.

Wilkinson ve arkadaşları (2016) nativ HBsAg içeren plazmanın sulandırılmasıyla hazırlanan bir standart ile yapılan kalibrasyonda yüksek varyasyon bildirmiştir. Bu standart için saptanan değişim katsayısı oldukça yüksek olup %29 olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda nativ HBsAg içeren plazmadan elde edilen serumun sulandırılmış ve sulandırılmamış formlarıyla hazırlanan kontrol örneklerinde değişim katsayıları İK1 için %8.1, İK100 için %12.2 ve İK 1000 için %7.6 olarak belirlenmiştir. Aynı serum havuzundan elde edilmesine karşın farklı sulandırılarda değişim katsayıları arasında fark görülmüştür. Dondurulmuş örnekler çözüldükten sonra hemen cihaza yüklenmesine karşılık analiz süreleri cihazın o andaki doluluk oranına göre değişmektedir. Bu durumda bazı örnekler yüklemekten kısa bir süre sonra analize alınırken bazı örnekler daha uzun bir bekleme süresinden sonra analize alınmaktadır. Bu zaman farkı varyasyon için açıklayıcı olabilir. Wilkinson ve diğerleri (2016) plazma kökenli bir aşı suşundan hazırladıkları standardın uzun süre  $-20^{\circ}C$ 'de saklanma ve 3 kez çözüp dondurma ile stabilizeyi koruduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda hazırlanan İKK serumlarının derin

dondurucuda bekletilme süresinin stabiliteye etkisinden emin olmak açısından daha uzun bekleme süreli bir çalışmaya ihtiyaç vardır. Ancak kısa erimli bu çalışmada Levey-Jennings grafiklerindeki eğilim bekledikçe değişen bir varyasyonu düşündürmemiştir. HBsAg analizinde kullandığımız immünoassay platformunda (Architecth i2000) kullanılan ticari kantitatif HBsAg kitiyle Liu ve arkadaşlarının (2015) yaptığı bir çalışmada düşük, orta ve yüksek HBsAg kantitasyonu gösteren örneklerde elde edilen değişim katsayıları %0.44 ile %9.5 arasında bulunmuştur. Wang ve arkadaşları da (2017) aynı platformu kullanarak, ardışık 5 günde aynı numuneleri her gün üçer kez çalışarak HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc, anti-HCV, anti-TP, and HIV-Ag/Ab test kitleriyle yaptıkları çalışmada düşük konsantrasyondaki numuneler için %1.9 ile %7.49 aralığında, orta konsantrasyondaki numuneler için %1.29 ile %5.09 arasında, yüksek konsantrasyondaki numuneler için %1.06 ile %12.74 arasında değişen varyasyon katsayıları bildirmişlerdir.

Her üç seride de elde edilen p değerleri İKK örneklerinin ölçüm değerlerinin normal dağılımına işaret etmektedir. Hazırladığımız İKK serumlarının karşılaştırılacağı bir referans değer bulunmadığından bias hesaplaması olanağı yoktur ve bu nedenle toplam analitik hata belirlenmesi söz konusu olmamıştır. Buna karşılık Westgard kuralları kapsamında incelendiğinde sistematik hata saptanmamış olması hazırlananan İKK serumlarının rutin uygulamada kullanılabileceğine işaret etmektedir.

### **Kan Bankacılığında Yeni Tarama Stratejileri**

Transfüzyon güvenliği sadece testlerle ilişkili bir kavram değildir. Kan bağışçısının kazanımı, bilinçlendirilmesi ve eğitimi, değerlendirilmesi ve uygun kan bağışçısının seçimi; kan bileşenlerin hazırlanması, saklanması ve taşınması; transfüzyon ve sonrasındaki izlem süreci gibi çok sayıda durumun birbirlerinden bağımsız olarak etkilendiği bir olgudur.

Kan bağışçılarının seçiminde artan hassasiyet ve katı kuralların uygulanması ve son yıllarda kan hizmet birimlerinde yaygınlaşan patojen azaltma yöntemleri transfüzyon güvenliğini arttırıcı girişimler olarak anılabilir. HBV özelinde değerlendirildiğinde ise düzenli bağışıklama programı kapsamında yaygınlaşan hepatit B aşı

uygulamasının toplumda HBsAg seroprevalansını düşürerek güvenli kan bağışçısı yönünden ayrıca bir etkisi olduğu da görülmektedir (Niederhauser, 2011).

Laboratuvar süreçleri açısından ise nükleik asit temelli testlerin yaygınlaşmasıyla kan bağışçılarında transfüzyon ile bulaşan enfeksiyon etkenlerinin araştırılmasında yeni bir kapı açılmıştır. Enfeksiyon taşıyıcılarında pencere dönemini azaltması nedeniyle büyük yarar sağlayan nükleik asit testlerinin serolojik testlerin yerini alıp almayacağı, transfüzyon öncesi tarama stratejilerinde bir değişiklik olup olmayacağı tartışılmaya başlanmıştır (Busch, 2004).

Yeryüzünde bölgesel farklılıklara bağlı olarak transfüzyon öncesi testlerde ilave enfeksiyon etkenlerinin taranması gündeme gelse de HIV, HBV, HCV ve Sifiliz taraması dünya çapında yaygın bir uygulamadır. ABD’de bu etkenlere ek olarak *Trypanosoma cruzi*, Batı Nil Ateşi virüsü ile HTLV-I ve HTLV-II virüs enfeksiyonu göstergeleri de rutin olarak taranmakta, endemik bölgelerde bulunan kan bağışçılarında ayrıca *Babesia* araştırması yapılmakta, patojen azaltma uygulanmamışsa tüm bağışçı kanlarının Zika virüs enfeksiyonu yönünden de taranması önerilmektedir (Candotti ve Laperche, 2018; Godbey ve Thibodeaux, 2019).

Öte yandan hepatit B aşılması ve antiviral tedavi olanaklarının gelişmesine karşın HBV küresel bir sorun olmayı sürdürmektedir. Ülkelerin gelişmişlik ve gelir durumlarına bağlı olarak aşıya ve tedaviye erişim olanakları değişmektedir (Kupek, 2013).

Ülkelerin nasıl bir tarama stratejisi oluşturacaklarına karar vermelerinde test maliyeti önemli bir sorun olarak öne çıkmaktadır. Ancak testlerin maliyet etkinliğini belirlemede transfüzyon sonrası enfeksiyonların önlenmesine yönelik bütüncül bir yaklaşım gerekmektedir. Bu noktada HBV rezidüel bulaş riskinin bilinmesi önem taşır. Posttransfüzyonel hepatit B enfeksiyonu gelişmesi için gereken minimum enfeksiyöz doz (ID50) HBsAg için 20-200 IU aralığında hesaplanmıştır. Bu aralığın 100-1000 viriyona denk düştüğü öngörülmektedir. Ancak rezidüel risk sadece enfeksiyöz doz ile ilişkili olmayıp HBV epidemiyolojisi, tercih edilen testlerin analitik duyarlılıkları ve uygulanan test algoritmaları ile de yakından ilgilidir. HBsAg ve nükleik asit testlerinin birlikte kullanımı rezidüel riski düşürmektedir. Ülkemizde henüz sağlık uygulama tebliği (SUT) içeriğinde tanımlanmadığından sosyal

güvenlik kurumu kapsamında verilen hizmetlerde ücretlendirilemeyen ancak pek çok ülkede yaygın olarak kullanılan patojen azaltma teknolojileri ümit verici görülmektedir. Ancak bu yöntemlerin de tarama testlerine bir alternatif olarak değerlendirilmemesi gerekir. Özellikle viral yükü yüksek olan bağışçılardan sağlanan kanların %100 güvenli olmadığı, HBV enfeksiyon riskini önemli ölçüde azaltsa da tümüyle ortadan kaldıramadığı anlaşılmaktadır. Ayrıca patojen azaltma teknolojilerinin poliovirüs ile hepatit A ve E virüsleri gibi zarfsız virüslere ve *Bacillus cereus* sporlarına etkisiz bulunduğu dair bildirimler bu yöntemin tarama testlerinin yerine geçebilme olasılığını zayıflatmaktadır (Candotti ve Laperche, 2018; Godbey ve Thibodeaux, 2019).

HBV enfeksiyon riskini azaltması öngörülen bir diğer durum hepatit B bağışıklaması olmakla birlikte aşılama bireylerin %5-10'unda yeterli bir antikor yanıtı gelişmediği, HBsAg ve HBeAg pozitifliği olan annelerden doğan yenidoğanların %10-30 kadarında hepatit B aşılması ile etkili bir korunma sağlanamadığı bildirilmiştir. Üstelik koruyucu düzeyde anti-HBs titresi bulunan bazı kişilerde okült HBV enfeksiyonu görülmüştür. Ayrıca Çin'de universal hepatit B aşısının uygulamaya sokulmasından sonraki dönemde doğan ve bu program çerçevesinde HBV aşılması uygun şekilde yapılmış genç kan bağışçılarında HBsAg prevalansının aşı programından önce doğmuş daha ileri yaştaki kan bağışçılarında göre daha yüksek bulunması oldukça şaşırtıcıdır. Yanısıra hepatit B aşısı olmasına karşın anti-HBs geliştirmeyen ya da düşük antikor düzeylerine sahip bağışçılarda okült HBV enfeksiyonu gelişebildiği dikkate alınacak olursa aşılamanın da kan bağışçılarında yönelik tarama testlerinden vazgeçmemizi sağlayacak bir etkisi beklenmemelidir (Wang, Zeng, Li ve Zheng, 2016; Gerlich, Glebe, ve Schüttler 2018; Candotti ve Laperche, 2018).

HBsAg testlerinde saptama limitlerinin kitlere göre farklılık gösterdiği bilinmektedir. Ekonomik kaynakları kısıtlı pek çok ülkede kan bağışçılarında HBsAg taramasının analitik duyarlılıkları nispeten düşük HBsAg kitleriyle yapıldığı bilinmektedir.

Yüksek duyarlılık özelliğindeki HBsAg testleri 0.5 pg/ml'lik analitik duyarlılıklarıyla nükleik asit testlerine rakip olmaktadır. Bu saptama sınırındaki bir HBsAg testinin ml'de 20 virüs partikülünü saptayabileceği öngörülmektedir ki bu da 4 IU/ml HBV DNA'ya denk bir sayı olarak hesaplanmaktadır. Öte yandan nükleik asit testlerinde de farklı duyarlılık oranları görülmektedir. En duyarlı nükleik asit

testlerinde bile düşük seviyelerdeki HBV DNA saptanamayabilir. Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar erken evre bir hasta serumundaki tek bir HBV partikülünün tam bir HBV enfeksiyon tablosuna yol açabildiği gösterilmiştir. Bu noktada kan bağışlarında uygulanacak nükleik asit testlerinde 0.15 IU/ml analitik duyarlılığında bir saptama limiti olması gerektiği ileri sürülmektedir. (Candotti ve Laperche, 2018; Gerlich ve diğerleri, 2018; Candotti, Assennato, Laperche, Allain ve diğerleri, 2019)

Testlerde analitik duyarlılıkların artması, nükleik asit testlerinin yaygınlaşması, kan bileşenlerinde patojen azaltma teknolojilerinin gelişmesi olumlu gelişmeler olmakla birlikte yakın gelecekte immünoassay temelli tarama testlerinden vaz geçilmesini sağlayacak bir durum yaratmayacaktır. Bu durumda bu testlerin kalite güvencesini sağlamaya yönelik girişimlerimizin de devam etmesi gerektiği açıktır. Kan hizmet birimlerinde kan toplama - kan bileşeni hazırlama döngüsünde işlenen önemli miktarda hücre ve plazmanın bir kısmının bağımsız kalite kontrol materyallerinin hazırlanmasında kullanılması hem kaynakların doğru kullanımı açısından hem de transfüzyon güvenliği açısından yararlı olacaktır.

## Sonuç ve Öneriler

Transfüzyon güvenliği kan bağışının öncesinden başlayıp transfüzyonun sonrasına uzanan bir süreç yönetimi gerektirmektedir. Bağışçı kazanımı ve seçimi ile başlayan, kan bağışı sonrasında tam kanın bileşenlerine ayrılması ve transfüzyona uygun hale getirilmesi, transfüzyonda kullanılan kan bileşenlerinde enfeksiyon riskinin en düşük seviyeye çekileceği şekilde tarama testlerinin gerçekleştirilmesi, transfüzyon sonrasında da istenmeyen etki ve olayların araştırılması olarak özetlenebilecek bu sürecin her aşaması toplam kalite yönetimi ilkeleriyle yönetilmek zorundadır.

Kan hizmet birimlerinde laboratuvar incelemeleri ciddi sonuçları nedeniyle önem seviyesi en yüksek aşamalardandır. Testlerde güvenilir, kesin ve doğru sonuçlar alınması hedefi iyi laboratuvar uygulamaları ve laboratuvar kalite yönetimini zorunlu kılmaktadır. Verifikasyon ve validasyonu yapılarak uygulamaya sokulmuş laboratuvar testlerinin düzenli kalite kontrollerinin gerçekleştirilmesi gerekmektedir. DSÖ 2016 raporunda Türkiye’den enfeksiyon tarama testleri için dış kalite değerlendirme programına katılan kan hizmet birimi 2011 yılında yokken 2012 yılında 60 merkezin dış kalite değerlendirme programına üye olduğu görülmektedir. Ülkemizde son on yılda ülkemizde kan bankacılığı ve transfüzyon tıbbi hizmetlerinde kalite yönünden çitanın yükseldiği kadar bu yaklaşımın sürdürülmesinin gerekliliği de aşikardır.

Bu aşamada kan hizmet birimlerimizde uygulanacak İKK işlemlerinde bağımsız kontrollerin kullanılması çok önemlidir. Ülkemizde yaygın eğilim uyarınca uluslararası ticari kit üreticilerinden sağlanan tarama test kitleri ile birlikte tedarik edilen İKK örnekleri bu gereksinimi karşılamamaktadır.

Kan bağışçılarından toplanan kanlardan İKK örneklerinin hazırlanması bu zorluğun üstesinden gelmede gerçekçi bir çözüm sunmaktadır. Olağan dışı bir dönem yaşadığımız COVID-19 pandemisinde moleküler mikrobiyolojik testlerde ve bu testlerin kalite değerlendirmelerinde ulusal çözümlerle yol aldığımız bilinmektedir. Bu yaklaşımın, ülkemizin kan bankacılığı ve transfüzyon tıbbi açısından zengin insani kaynaklarını, yetkin ve deneyimli işgücünü, güçlü donanım ve altyapı olanaklarını değerlendirmek amacıyla da sürdürülmesi gerekir.

Ülkemizde kan bankacılığı ve transfüzyon tıbbı açısından önümüzdeki hedef zorunlu tarama testlerinde incelenen tüm göstergeler (HIV, HBV, HCV ve T.pallidum) ve immünohematolojik incelemeler (ABO gruplama, Rh tiplendirme, Coombs testleri) için kullanılacak ulusal, bağımsız bir İKK tedarik zincirinin kurulması olmalıdır.



## Kaynaklar

1. Allain, J. P., & Cox, L. (2011). Challenges in hepatitis B detection among blood donors. *Current opinion in hematology*, 18(6), 461-466.
2. Amini, A., Varsaneux, O., Kelly, H., Tang, W., Chen, W., Boeras, D. I., ... & Easterbrook, P. (2017). Diagnostic accuracy of tests to detect hepatitis B surface antigen: a systematic review of the literature and meta-analysis. *BMC infectious diseases*, 17(1), 698.
3. Ataullakhanov, F. I., Pohilko, A. V., Sinauridze, E. I., & Volkova, R. I. (1994). Calcium threshold in human plasma clotting kinetics. *Thrombosis research*, 75(4), 383-394.
4. Bais, R., O'loughlin, P. D., Philcox, J. C., & Edwards, J. B. (1983). Preparation and characterization of a human serum matrix suitable for quality control or reference materials. *Pathology*, 15(1), 15-19.
5. Baldeshwiler, A. M. (2003). History of FDA good laboratory practices. *The Quality Assurance Journal: The Quality Assurance Journal for Pharmaceutical, Health and Environmental Professionals*, 7(3), 157-161.
6. Bozdayı, A. M., Aslan, N., Bozdayı, G., Türkyılmaz, A. R., Sengezer, T., Wend, U., ... & Bozkaya, H. (2004). Molecular epidemiology of hepatitis B, C and D viruses in Turkish patients. *Archives of virology*, 149(11), 2115-2129.
7. Busch, M. P. (2004). Should HBV DNA NAT replace HBsAg and/or anti-HBc screening of blood donors?. *Transfusion clinique et biologique*, 11(1), 26-32.
8. Candotti, D., & Laperche, S. (2018). Hepatitis B virus blood screening: need for reappraisal of blood safety measures?. *Frontiers in Medicine*, 5, 29.
9. Candotti, D., Assennato, S. M., Laperche, S., Allain, J. P., & Levicnik-Stezinar, S. (2019). Multiple HBV transfusion transmissions from undetected occult infections: revising the minimal infectious dose. *Gut*, 68(2), 313-321.
10. Clark, R. B., Lewinski, M. A., Loeffelholz, M. J., & Tibbetts, R. J. (2009). Cumitech 31A, verification and validation of procedures. *Clinical Microbiology Laboratory*.

11. Cox, L. E., Arslan, Ö., & Allain, J. P. (2011). Characterization of hepatitis B virus in Turkish blood donors, and the prevalence of the SP1 splice variant. *Journal of medical virology*, 83(8), 1321-1325.
12. Datema, T. A., Oskam, L., & Klatser, P. R. (2012). Review and comparison of quality standards, guidelines and regulations for laboratories. *African journal of laboratory medicine*, 1(1).
13. Dimech, W., Vincini, G., & Karakaltsas, M. (2015). Determination of quality control limits for serological infectious disease testing using historical data. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 53(2), 329-336.
14. Dimech, W., Karakaltsas, M., & Vincini, G. A. (2018). Comparison of four methods of establishing control limits for monitoring quality controls in infectious disease serology testing. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 56(11), 1970-1978.
15. Dodd, R. Y., Nguyen, M. L., Krysztof, D. E., Notari, E. P., & Stramer, S. L. (2018). Blood donor testing for hepatitis B virus in the United States: is there a case for continuation of hepatitis B surface antigen detection?. *Transfusion*, 58(9), 2166-2170.
16. Dwyre, D. M., & Holland, P. V. (2008). Hepatitis viruses. J. A. J. Barbara, F.A.M.Regan, M. C. Contreras (Eds.), In *Transfusion Microbiology* (pp. 9-24). Cambridge University Press.
17. European Centre for Disease Prevention and Control. (2018). Public Health Guidance on HIV, Hepatitis B and C Testing in the EU/EEA. An Integrated Approach,
18. Fiedler, S. A., Oberle, D., Chudy, M., Scheiblaue, H., Henseler, O., Halbauer, J., ... & Funk, M. (2019). Effectiveness of blood donor screening by HIV, HCV, HBV-NAT assays, as well as HBsAg and anti-HBc immunoassays in Germany (2008–2015). *Vox Sanguinis*, 114(5), 443-450.
19. Fowler, J. M., Salminen, W. F., & Greenhaw, J. (2013). Good Laboratory Practices. In *Nonclinical Study Contracting and Monitoring* (pp. 19-58). Academic Press.
20. Galli, C., & Plebani, M. (2020). Quality controls for serology: an unfinished agenda. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 1(ahead-of-print).

21. Gerken, G., Gerlich, W. H., Brechot, C., Thomas, H. C., Bonino, F., De Moura, C., & Zum Büschenfelde, K. H. M. (1992). Biological standards for hepatitis B virus assays. *Journal of hepatology*, 15(1-2), 251-255.
22. Gerlich, W. H., Glebe, D., & Schüttler, C. G. (2007). Deficiencies in the standardization and sensitivity of diagnostic tests for hepatitis B virus. *Journal of viral hepatitis*, 14, 16-21.
23. Gerlich, W. H. (2013). Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology journal*, 10(1), 1-25.
24. Gerlich, W. H., Glebe, D., & Schüttler, C. G. (2018). Hepatitis B viral safety of blood donations: new gaps identified. *Ann Blood*, 3(0).
25. Gidez, L. I., Miller, G. J., Burstein, M., Slagle, S., & Eder, H. A. (1982). Separation and quantitation of subclasses of human plasma high density lipoproteins by a simple precipitation procedure. *Journal of Lipid Research*, 23(8), 1206-1223.
26. Godbey, E. A., & Thibodeaux, S. R. (2019, October). Ensuring safety of the blood supply in the United States: Donor screening, testing, emerging pathogens, and pathogen inactivation. In *Seminars in Hematology* (Vol. 56, No. 4, pp. 229-235). WB Saunders.
27. Hassemer, M., Finkernagel, M., Peiffer, K. H., Glebe, D., Akhras, S., Reuter, A., ... & Hildt, E. (2017). Comparative characterization of hepatitis B virus surface antigen derived from different hepatitis B virus genotypes. *Virology*, 502, 1-12.
28. Hens, K., Berth, M., Armbruster, D., & Westgard, S. (2014). Sigma metrics used to assess analytical quality of clinical chemistry assays: importance of the allowable total error (TEa) target. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 52(7), 973-980.
29. Hu, J., & Liu, K. (2017). Complete and incomplete hepatitis B virus particles: formation, function, and application. *Viruses*, 9(3), 56.
30. İnan, N., & Tabak, F. (2015). Hepatitis B virus: Biology and life cycle. *Viral Hepatitis Journal* 2015; 21(1): 1-7.
31. Kinns, H., Pitkin, S., Housley, D., & Freedman, D. B. (2013). Internal quality control: best practice. *Journal of clinical pathology*, 66(12), 1027-1032.
32. Kuhns, M. C., Kleinman, S. H., McNamara, A. L., Rawal, B., Glynn, S., & Busch, M. P. (2004). Lack of correlation between HBsAg and HBV DNA

- levels in blood donors who test positive for HBsAg and anti-HBc: implications for future HBV screening policy. *Transfusion*, 44(9), 1332-1339.
33. Kupek, E. (2013). Residual risk of hepatitis-B-infected blood donations: estimation methods and perspectives. *ISRN Infectious Diseases*, 2013.
  34. Lamontagne, R. J., Bagga, S., & Bouchard, M. J. (2016). Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. *Hepatoma research*, 2, 163.
  35. Leblebicioglu, H., Eroglu, C., & Hepatitis Study Group. (2004). Acute hepatitis B virus infection in Turkey: epidemiology and genotype distribution. *Clinical microbiology and infection*, 10(6), 537-541.
  36. Letellier, G., & Desjarlais, F. (1985). A simple procedure for the preparation of concentrated sera. *Clinical Biochemistry*, 18(5), 267-271.
  37. Levey, S., & Jennings, E. R. (1950). The use of control charts in the clinical laboratory. *American Journal of Clinical Pathology*, 20(11\_ts), 1059-1066.
  38. Liu, T. W., Yeh, M. L., Huang, C. F., Lin, I. L., Huang, J. F., Dai, C. Y., ... & Yu, M. L. (2015). Clinical performance of a new hepatitis B surface antigen quantitative assay with automatic dilution. *The Kaohsiung journal of medical sciences*, 31(1), 26-33.
  39. Liu, J., Yang, H. I., Lee, M. H., Jen, C. L., Batrla-Utermann, R., Lu, S. N., ... & Chen, C. J. (2016). Serum levels of hepatitis B surface antigen and DNA can predict inactive carriers with low risk of disease progression. *Hepatology*, 64(2), 381-389.
  40. Murayama, A., Momose, H., Yamada, N., Hoshi, Y., Muramatsu, M., Wakita, T., ... & Kato, T. (2019). Evaluation of in vitro screening and diagnostic kits for hepatitis B virus infection. *Journal of Clinical Virology*, 117, 37-42.
  41. Nayagam, S., Sicuri, E., Lemoine, M., Easterbrook, P., Conteh, L., Hallett, T. B., & Thursz, M. (2017). Economic evaluations of HBV testing and treatment strategies and applicability to low and middle-income countries. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 69
  42. Nelson, L. S. (1984). The Shewhart control chart—tests for special causes. *Journal of quality technology*, 16(4), 237-239.
  43. Niederhauser, C. (2011). Reducing the risk of hepatitis B virus transfusion-transmitted infection. *Journal of blood medicine*, 2, 91

44. Nithya, K. N., & Meera, S. (2020). Sigma metrics-A guide to quality control strategy in clinical biochemistry laboratory. *International Journal of Clinical Biochemistry and Research*, 7(2), 267-271.
45. Örüç, N. E., Yenicesu İ. (2016). Ulusal Kan ve Kan Bileşenleri Hazırlama, Kullanım ve Kalite Güvencesi Rehberi. *Avrupa Birliği'nin IPA-I finansal desteği ile "Kan Tedarik Sisteminin Güçlendirilmesi Teknik Destek Projesi*. T. C. Sağlık Bakanlığı <https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/Yayin/523>
46. Özdemir, F.T., Duman, D., Ertem, D., Avşar, E., Eren, F., Özdoğan, O., ... Tözün, N. PCR-RFLP, R. F. L. P. (2005). Determination of hepatitis B genotypes in patients with chronic hepatitis B virus infection in Turkey. *Turk J Gastroenterol*, 16(4), 183-187.
47. Pereira, P., Westgard, J. O., Encarnação, P., Seghatchian, J., & de Sousa, G. (2015). Quality management in European screening laboratories in blood establishments: A view of current approaches and trends. *Transfusion and Apheresis Science*, 52(2), 245-251.
48. Prieto, Y. O. (2008). Good Laboratory Practices and the ISO 9001: 2000 standards. *Biotechnologia Aplicada*, 25(3), 258-261.
49. Pronier, C., Candotti, D., Boizeau, L., Bomo, J., Laperche, S., & Thibault, V. (2020). The contribution of more sensitive hepatitis B surface antigen assays to detecting and monitoring hepatitis B infection. *Journal of Clinical Virology*, 104507.
50. Proksch, G. J., & Bonderman, D. P. (1976). Preparation of optically clear lyophilized human serum for use in preparing control material. *Clinical chemistry*, 22(4), 456-460.
51. Public Health England. (2015). Quality assurance in the diagnostic virology and serology laboratory. *Standards Unit Microbiology Services*. Q2(7).
52. Scheiblaue, H., El-Nageh, M., Diaz, S., Nick, S., Zeichhardt, H., Grunert, H. P., & Prince, A. (2010). Performance evaluation of 70 hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HBsAg) assays from around the world by a geographically diverse panel with an array of HBV genotypes and HBsAg subtypes. *Vox sanguinis*, 98(3p2), 403-414.
53. Scherz, V., Durussel, C., & Greub, G. (2017). Internal quality assurance in diagnostic microbiology: A simple approach for insightful data. *PloS one*, 12(11), e0187263

54. Seeger, C., & Mason, W. S. (2015). Molecular biology of hepatitis B virus infection. *Virology*, 479, 672-686.
55. Sepulveda, J. L. (2019). Variation, errors, and quality in the clinical laboratory. In *Accurate Results in the Clinical Laboratory* (pp. 3-9). Elsevier.
56. Shida, N., Kurasawa, R., Maki, Y., Toyama, Y., Dobashi, T., & Yamamoto, T. (2016). Study of plasma coagulation induced by contact with calcium chloride solution. *Soft matter*, 12(47), 9471-9476.
57. Stramer, S. L., Zou, S., Notari, E. P., Foster, G. A., Krysztof, D. E., Musavi, F., & Dodd, R. Y. (2012). Blood donation screening for hepatitis B virus markers in the era of nucleic acid testing: are all tests of value. *Transfusion*, 52(2), 440-446.
58. Theodorou, D., & Giannelos, P. (2015). Medical laboratory quality systems—a management review. *International Journal of Health Care Quality Assurance*. 28(3), 267-73.
59. Thomas, E., Yoneda, M., & Schiff, E. R. (2015). Viral hepatitis: past and future of HBV and HDV. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(2), a021345.
60. Wang, Z., Zeng, J., Li, T., Zheng, X., Xu, X., Ye, X., ... & Li, C. (2016). Prevalence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in a blood donor population born prior to and after implementation of universal HBV vaccination in Shenzhen, China. *BMC infectious diseases*, 16(1), 498.
61. Wang, L., Chen, W., & Yu, Y. (2017). The performance of the Abbott i2000 for measuring serum markers of infectious diseases. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 31(1), e22015.
62. Westgard, J. O., Groth, T., Aronsson, T., Falk, H., & De Verdier, C. H. (1977). Performance characteristics of rules for internal quality control: probabilities for false rejection and error detection. *Clinical chemistry*, 23(10), 1857-1867.
63. Westgard, J. O. (2003). Internal quality control: planning and implementation strategies. *Annals of clinical biochemistry*, 40(6), 593-611.
64. Wilkinson, D. E., Seiz, P. L., Schüttler, C. G., Gerlich, W. H., Glebe, D., Scheiblauer, H., ... & Heath, A. B. (2016). International collaborative study on the 3rd WHO International Standard for hepatitis B surface antigen. *Journal of Clinical Virology*, 82, 173-180.

65. World Health Organization. (2010). Handbook: good laboratory practice (GLP): quality practices for regulated non-clinical research and development. World Health Organization.
66. World Health Organization. (2011). Laboratory quality management system: handbook, Version 1.1. World Health Organization.  
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/44665>
67. World Health Organization. (2017). The 2016 global status report on blood safety and availability. World Health Organization.  
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/254987>
68. Wong, D.J., Locarnini, S.A.(2018) Molecular Virology and Life Cycle. J.H. Kao, D.S. Chen (Ed). In: Hepatitis B Virus and Liver Disease. (s.1-23).
69. Zanetti, A. R., Bedarida, G., Ferroni, P., D'agostino, F., & Bianchi, V. (1980). Status and significance of testing for hepatitis B surface antigen and surface antibody. *Journal of virological methods*, 2(1-2), 71-83.

## Özgeçmiş

Denizli, 1963 doğumluyum. İlk ve orta öğrenimini İzmir’de tamamladım. 1987 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden mezun oldum. 1988-1992 yılları arasında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık eğitimini tamamladım. 1992-1994 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda, 1994-1995 yılları arasında İzmir Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü’nde 1996-2000 yılları arasında Kızılay İzmir Kan Merkezi Müdürlüğü’nde Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanı olarak çalıştım. 2000 yılından bu yana S.B.Ü. İzmir Dr.Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanı olarak çalışmaktayım. Çalışmakta olduğum kurumda Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı sorumluluğunu, Transfüzyon Merkezi sorumluluğu ve Terapötik Aferez Merkezi teknik sorumluluğunu yürütmekteyim.

Sağlık Bakanlığı tarafından yürütülen AB destekli projelerden **“Kan Tedarik Sistemlerinin Güçlendirilmesi”** projesi ile **“Bulaşıcı Hastalıkların Kontrolü ve Sürveyansı Sisteminin Güçlendirilmesi ”** projesinde görev aldım, bu projeler kapsamında yürütülen **“Laboratuvarlarda Kalite Yönetim Sistemi”, “Kan Kuruluşlarının Denetimi”, “Kan Hizmet birimlerinde Kalite Yönetim Sistemi”, “Biyogüvenlik”** eğitimlerinde eğitici olarak görev yaptım; projeler kapsamında hazırlanan rehberlerin **(Ulusal Kan ve Kan Bileşenleri Rehberi-2011, Hemovijilans Rehberi-2013, Laboratuvar Güvenliği Rehberi-2014)** yazarları arasında yer aldım.

Türkiye Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği tarafından düzenlenen kongrelerde eş zamanlı gerçekleştirilen **Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbi Kursu** düzenleyici ve uygulayıcıları arasında (2013-2020) yer aldım.

Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbi alanında gerçekleştirilen ulusal ve uluslararası bilimsel toplantılarda konuşmacı olarak görev aldım. Bu alandaki çalışmalarımın hazırlanmış sözlü ve poster bildirilerim, yayınlanmış özgün makalelerim ve derleme yazılarımla kitap bölüm yazarlıklarım bulunmaktadır.

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD), Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti (TMC), Türkiye Kan Merkezleri ve Transfüzyon Derneği (KMTD), Uluslararası Kan Transfüzyon Derneği (ISBT) ve İzmir Tabip Odası üyesiyim.

İzmir, 2020

F.Yüce Ayhan

## Teşekkür

Doktora eğitimimde danışmanlığımı üstlenerek her aşamada destek olan, tez konusu belirlenmesinde ve tez çalışmasının planlanmasında yol göstericiliğiyle çalışmamı şekillendiren danışmanım **Prof. Dr. Rüçhan Sertöz'e**,

Türkiye'de Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı'nın akademik bir disiplin haline gelmesindeki değerli katkılarıyla bir rol modeli olarak gördüğüm **Prof. Dr. Yeşim Aydınok'a**;

Tezimin hazırlanma sürecinde viroloji alanındaki engin tecrübesinden yararlandığım, öneri ve görüşleriyle tezimin tamamlanmasına katkıda bulunan **Prof. Dr. Selda Erensoy'a**;

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kan Merkezi'ndeki çalışmalarımda içten yardımlarını esirgemeyen **Uzm. Dr. Ajda Turhan, Doç. Dr. Aysu Değirmenci Döşkaya, Doç. Dr. Servet Uluer Biçeroğlu** ile Sorumlu Teknisyen **Alime Ünüvar Sözer** başta olmak üzere **Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kan Merkezi'nin tüm çalışanlarına**;

Doktora eğitimim sürecinde birlikte ders yapma fırsatı bulduğum, bilgi ve tecrübeleriyle ufkumu genişleten öğretim üyeleri **Prof. Dr. Filiz Vural, Prof. Dr. Deniz Karapınar, Prof. Dr. Fahri Şahin, Prof. Dr. Yüksel Atay, Doç. Dr. Murat Ersel, Prof. Dr. Utku Ateş, Prof. Dr. Sevgi Mir, Prof. Dr. Güzide Aksu, Prof. Dr. Metin Korkmaz, Doç. Dr. Timur Köse'ye**;

Birlikte ders işleme ayrıcalığı yanısıra tez çalışmamın tamamlanma sürecinde de Enstitü Müdürü olarak her zaman varlığını hissettiğim **Prof. Dr. Mahmut Töbü** ile Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Anabilim Dalı Başkanı **Prof. Dr. Sezgin Ulukaya'ya** ve şahıslarında **E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına**;

Doktora eğitimim ve tez sürecimde her zaman yakın ilgi ve desteklerini aldığım ülkemizde Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı'nın gelişmesinde değerli katkılarda bulunmuş **Prof. Dr. İsmail Yaşar Avcı, Dr. Öğretim Üyesi Yavuz Doğan, Prof. Dr. Fatih Demirkan'a**;

S.B.Ü. Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Transfüzyon Merkezi'ndeki **çalışma arkadaşlarıma,**

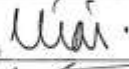
Tüm bu süreçte desteklerini esirgemeyen **sevgili aileme** teşekkür ederim.

**İzmir, 2020**

**F.Yüce Ayhan**



## Etik Kurul Raporu

|                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <b>EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b><br>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR<br>Tel: 0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34<br>e-mail: aetik@mai.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
| <b>ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ</b>                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
| <b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>                                                          | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Kan Bankacılığında İyi Laboratuvar Uygulamalarına Temel Oluşturmak Üzere Kan Bağışçılarındaki Hepatit B Tarama Testleri İçin Kalite Kontrol Serumlarının Geliştirilmesi.                                                                                                                                                                                                                                                                    |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Prof. Dr. Rüçhan SERTÖZ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Tıbbi Mikrobiyoloji                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | DESTEKLEYİCİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Bilimsel Araştırmalar Proje Fonu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | FAZ 1 <input type="checkbox"/> FAZ 2 <input type="checkbox"/> FAZ 3 <input type="checkbox"/> FAZ 4 <input type="checkbox"/><br>Gözlemsel İlaç Çalışması <input type="checkbox"/> Tıbbi Cihaz klinik Araştırması <input type="checkbox"/><br>In Vitro Tıbbi Tanı Cihazları ile Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları <input type="checkbox"/> İlaç Dışı Klinik Araştırma <input checked="" type="checkbox"/><br>Diğer ise belirtiniz: |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
| ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER                                                     | TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/> ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/> ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/> ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
| <b>DEĞERLENDİRİLEN BELGELER</b>                                                   | Belge Adı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Tarihi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Versiyon Numarası | Dili                                                                                                         |                                                                                       |
|                                                                                   | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 28.12.2017                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | -                 | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |                                                                                       |
|                                                                                   | BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                   | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |                                                                                       |
|                                                                                   | OLGU RAPOR FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                   | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |                                                                                       |
|                                                                                   | SİGORTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | DİĞER                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
| <b>KARAR BİLGİLERİ</b>                                                            | Karar Nu: 18-4.1/47                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Tarih: 17.04.2018                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
|                                                                                   | Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, <b>araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda</b> araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğu oy birliği ile karar verilmiştir. |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
| <b>EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b>             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
| <b>ÇALIŞMA ESASI</b>                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
| <b>BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:</b>                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>Prof. Dr. Ayşe EROL</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                   |                                                                                                              |                                                                                       |
| Unvanı / Adı / Soyadı<br>EK Üyesi                                                 | Uzmanlık Dalı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Kurumu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Cinsiyeti         | İlgili (*)<br>Katkı (**)                                                                                     | İmza                                                                                  |
| Prof. Dr. Ayşe EROL<br>Başkan                                                     | Tıbbi Farmakoloji                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Tıbbi Farmakoloji AD.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | K                 | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H                                          |  |
| Prof. Dr. Mine HEKİMGİL<br>Başkan Yardımcısı                                      | Tıbbi Patoloji                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi<br>Patoloji AD                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | K                 | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H                                          |  |
| Prof. Dr. Bülent SEMERCİ<br>Üye                                                   | Üroloji                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Üroloji AD.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | E                 | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H                                          |  |
| Etik Kurul Başkanının<br>Unvanı/Adı/Soyadı:<br>Prof. Dr. Ayşe EROL                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Araştırma Başvurusu Onay Belgesi                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Belge Kodu<br>22  | Rev. Tarihi / No.su:<br>17.10.2017/06                                                                        | Sayfa<br>1/2                                                                          |



**ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ**

|                         |                                                                                                                                                                        |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI   | Kan Bankacılığında İyi Laboratuvar Uygulamalarına Temel Oluşturmak Üzere Kan Bağışçılarında Hepatit B Tarama Testleri İçin Kalite Kontrol Serumlarının Geliştirilmesi. |
| ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU | -                                                                                                                                                                      |

| KARAR BİLGİLERİ                            |                                      | Karar Nu : 18-4.1/47                                                                             |           |                                                                     |                                                                     |                      |
|--------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Unvanı / Adı / Soyadı<br>EK Üyeliği        | Uzmanlık<br>Deli                     | Kurumu                                                                                           | Cinsiyeti | İlişki<br>(*)                                                       | Kablim<br>(**)                                                      | İmza                 |
| Prof. Dr. Ayça Arzu SAYINER<br>Üye         | Mikrobiyoloji                        | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Temel Tıp Bilimleri<br>Bölümü Tıbbi Mikrobiyoloji<br>AD, Tıbbi Viroloji BD | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |
| Prof. Dr. Şebnem PIRILDAR<br>Üye           | Ruh Sağlığı Ve<br>Hastalıkları       | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Ruh Sağlığı Ve Hastalıkları<br>AD.                                         | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |
| Prof. Dr. Murat PEHLİVAN<br>Üye            | Biyofizik                            | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Biyofizik AD.                                                              | E         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |
| Prof. Dr. Mine DÜNDAR<br>ÇÖMLEKOĞLU<br>Üye | Protetik Diş Tedavisi                | E.Ü. Diş Hek. Fakültesi<br>Protetik Diş Tedavisi AD                                              | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |
| Prof. Dr. Nevin ORUÇ<br>Üye                | Gastroenteroloji                     | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Gastroenteroloji BD                                                        | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |
| Prof. Dr. Şafak TANER<br>Üye               | Halk Sağlığı                         | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Halk Sağlığı AD.                                                           | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |
| Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN<br>Üye             | Tıp Tarihi ve Etik                   | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Tıp Tarihi ve Etik AD.                                                     | E         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |
| Prof. Dr. Sema KALKAN UÇAR<br>Üye          | Çocuk Metabolizma<br>Hastalıkları    | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Çocuk Sağlığı ve<br>Hastalıkları AD                                        | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |
| Prof. Dr. Aynur UYSAL TORAMAN<br>Üye       | Halk Sağlığı<br>Hemşireliği          | E.Ü. Hemşirelik Fakültesi<br>Halk Sağlığı Hemşireliği<br>AD                                      | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | TOPLANTIYA KATILMADI |
| Yard. Doç. Dr. Candide ŞENTÜRK             | Ceza ve Ceza<br>Muhakemesi<br>Hukuku | Yaşar Üniversitesi Hukuk<br>Fakültesi                                                            | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H |                      |
| Uzm. Ecz. Ebru BEDİR<br>Üye                | Eczacı                               | E.Ü. Tıp Fakültesi<br>Tıbbi Farmakoloji AD.                                                      | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |
| Fatma BÜYÜKAKKUŞ<br>Üye                    | Ziraat Mühendisi                     | Emekli                                                                                           | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                      |

- \* Araştırma ile İlişki  
\*\* Toplantıda Bulunma

**ASLI GİBİDİR**  
Sünniye Çelebi  
EÜTF Klinik Araştırmaları  
Etik Kurulu Sekreteri

|                                                                    |  |                                  |                  |                                       |              |
|--------------------------------------------------------------------|--|----------------------------------|------------------|---------------------------------------|--------------|
| Etik Kurul Başkanının<br>Unvanı/Adı/Soyadı:<br>Prof. Dr. Ayşe EROL |  | Araştırma Başvurusu Onay Belgesi | Belge Kodu<br>22 | Rev. Tarihi / No.su:<br>28.09.2011/05 | Sayfa<br>2/2 |
|--------------------------------------------------------------------|--|----------------------------------|------------------|---------------------------------------|--------------|