



Kan Hizmetleri Genel Müdürlüğü

Sunum Tarihi: 05 Kasım 2015
Nepton, Serkan <Serkan.Nepton@pfizer.com>



www.kanver.org
KAN HİZMETLERİ GENEL MÜDÜRLÜĞÜ
www.kizilay.org.tr



GÜVENLİ KAN BAĞIŞÇISINA ULAŞIMDA NAT TARAMA TESTİ UYGULAMALARI

Uzm. Dr. Kadri DEMİREL
Kuzey Marmara Bölge Kan Merkezi
Laboratuvar Birim Şefi



KAN TRANSFÜZYONU İLE BULAŞAN ENFEKSİYON ETKENLERİNDEN SAĞLIK BAKANLIĞININ ZORUNLU TUTTUĞU ENFEKSİYONLAR

- Hepatit B Virus enfeksiyonları
- Hepatit C Virus enfeksiyonları
- HIV enfeksiyonları
- ***T.pallidum*** enfeksiyonları

- Mikroorganizmaların üretilmesi
- Mikroorganizmaya ait antijenik yapıların gösterilmesi
- Mikroorganizmaya özgü genetik materyalin gösterilmesi
- Mikroorganizmaya karşı konağın oluşturduğu özgül immun yanıtın gösterilmesi

Neden NAT ?

- Serokonversiyon öncesi pencere dönemi,
- İmmun sessiz dönem,
- Prototip virüsler,
- Varyant suş varlığı
- Analitik hatalar

Nükleik Asit Test (NAT) Laboratuvarı

Pencere dönemi	HIV*	HCV	HBV
Temasdan antikor oluşumuna (gün)	22	70	56
NAT ile azalan süre (gün)	10-15	41-60	6-15
*HIV NAT, HIV p24 antijen testine göre pencere dönemini 3-8 gün kısaltır.			

- Transfüzyon ürünlerindeki bulaşıcı ajanlar için daha yüksek tarama standartlarına olan kamu talebi, Nükleik Asit Testi (NAT) teknolojisinin gelişimini hızlandırmıştır.
- Türk Kızılayı 2006 yılında NAT tarama testi,
- Sonuçları sunulması
- Süreç sonunda 6'lı havuz
- 30 Ekim 2014 de NAT testi

Nükleik Asit Test (NAT) Laboratuvarı

Roche Cobas s201 sistemi Türk Kızılayı 'nın Ankara, İzmir, Erzurum ve İstanbul Bölge Kan Merkezi laboratuvarlarında kuruldu.

- **NAT için kullanılan yöntem;** Real Time PCR (Multiplex, Multidye Teknolojisi- MP6)
- **NAT için kullanılan sistem;** Cobas s-201 platformu, Roche Diagnostics, İsviçre
- **NAT için kullanılan Kit;** MPX v2.0 kiti, Roche Diagnostics, İsviçre
- **NAT çalışılan test;** HBV DNA, HCV RNA, HIV-1 RNA / HIV-2 RNA

- NAT testleri 6'lı havuzlar şeklinde (Minipool-6;MP6)
- Nonreaktif havuzda yer alan her bir numune “nonreaktif”
- Reaktif havuzlara ise rezolüsyon
- Rezolüsyonda tüm numuneler tek tek (MP1) çalışılır
(Single NAT, Individual NAT; ID-NAT).
- Rezolüsyon sonucu, test sonucu olarak kabul edilir.
- Rezolüsyon numuneleri nonreaktif ise, başlangıçtaki MP-6 havuz sonucu “yalancı reaktif” olarak kabul edilir.

- MP-6 NAT da, 166 mikrolitre plazma
- Rezolüsyon da 1 mL'lik plazma
- Duyarlılık yaklaşık 6 kat artmakta
- Yöntem, “kalitatif” sonuç vermektedir
- HIV-1 RNA ve HIV-2 RNA taraması yapılabilmekte
- Ancak HIV-1 ve HIV-2 ayırımı yapılmamakta

Cobas s201 sistemi işlem adımları

- Havuzlama (pooling)
Hamilton Microlab STAR IVD Pipetleme Cihazı
- Numune hazırlama / Ekstraksiyon
Cobas AmpliPrep Ekstraksiyon Cihazı
- Amplifikasyon ve deteksiyon
Cobas TaqMan PCR Amplifikasyon Cihazı
- Sonuç gözden geçirme ve yönetme
AMPLILINK Yazılımı ve Bilgisayarı



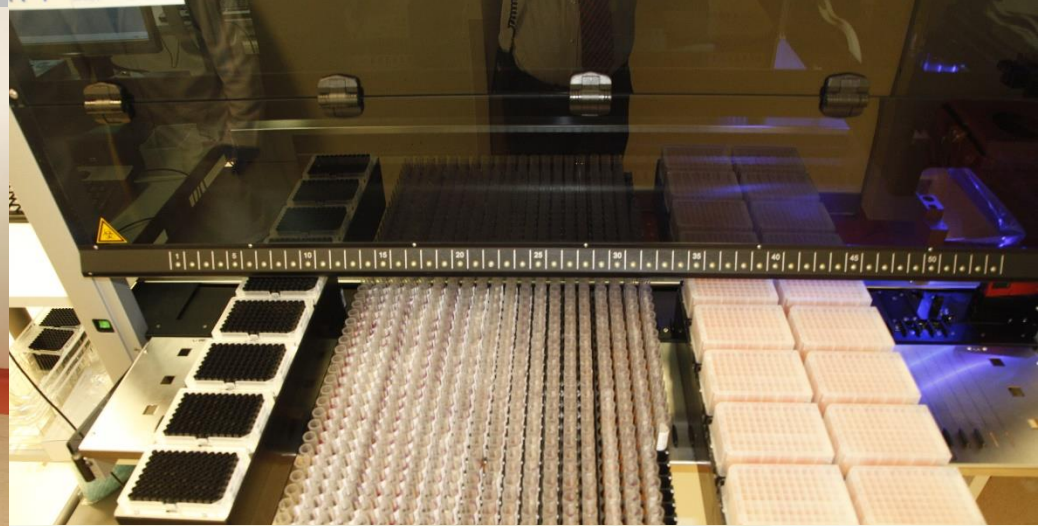
Nükleik Asit Test (NAT) Laboratuvarı



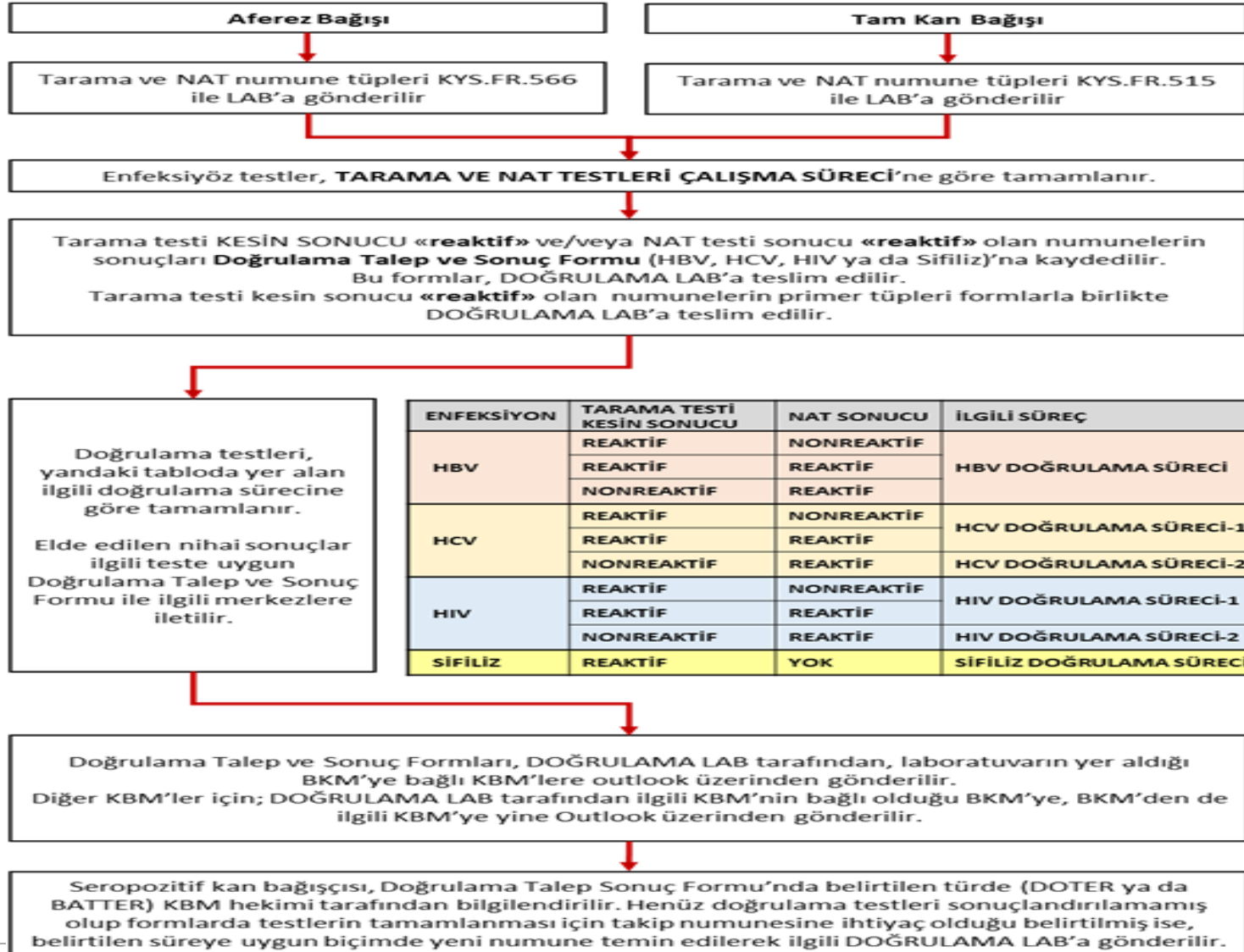
Standart Çalışma Prosedürü

- Numune türü (Plazma)
- Santrifigasyon
- Havuzlama (6'lı havuz)
- Ekstraksiyon, Amplifikasyon ve deteksiyon
- Reaktif numuneler için otomatik rezolüsyon
- Test sonuçlarının değerlendirilmesi, Şahit numune
- Test sonucuna göre doğrulama testi

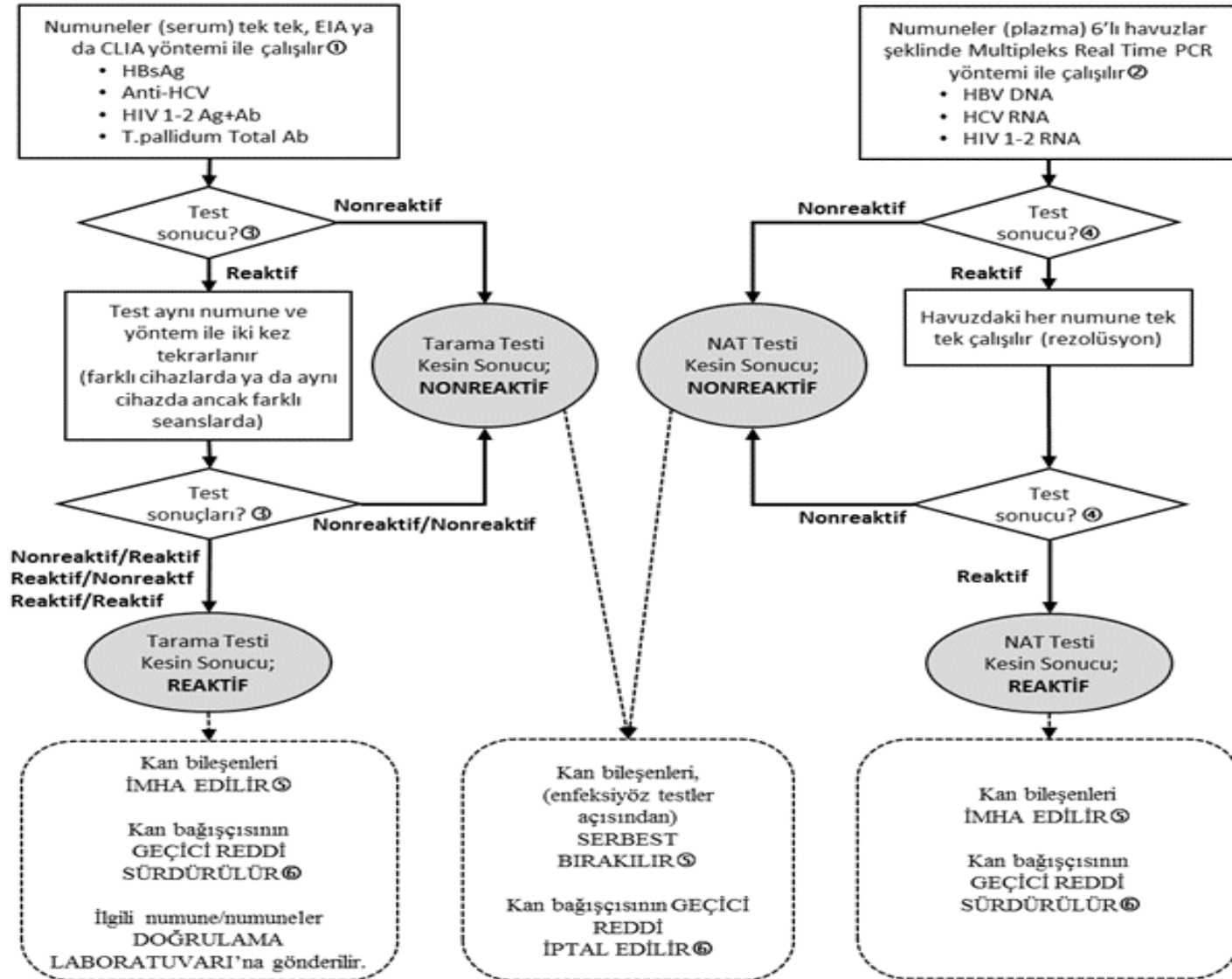
Nükleik Asit Test (NAT) Laboratuvarı



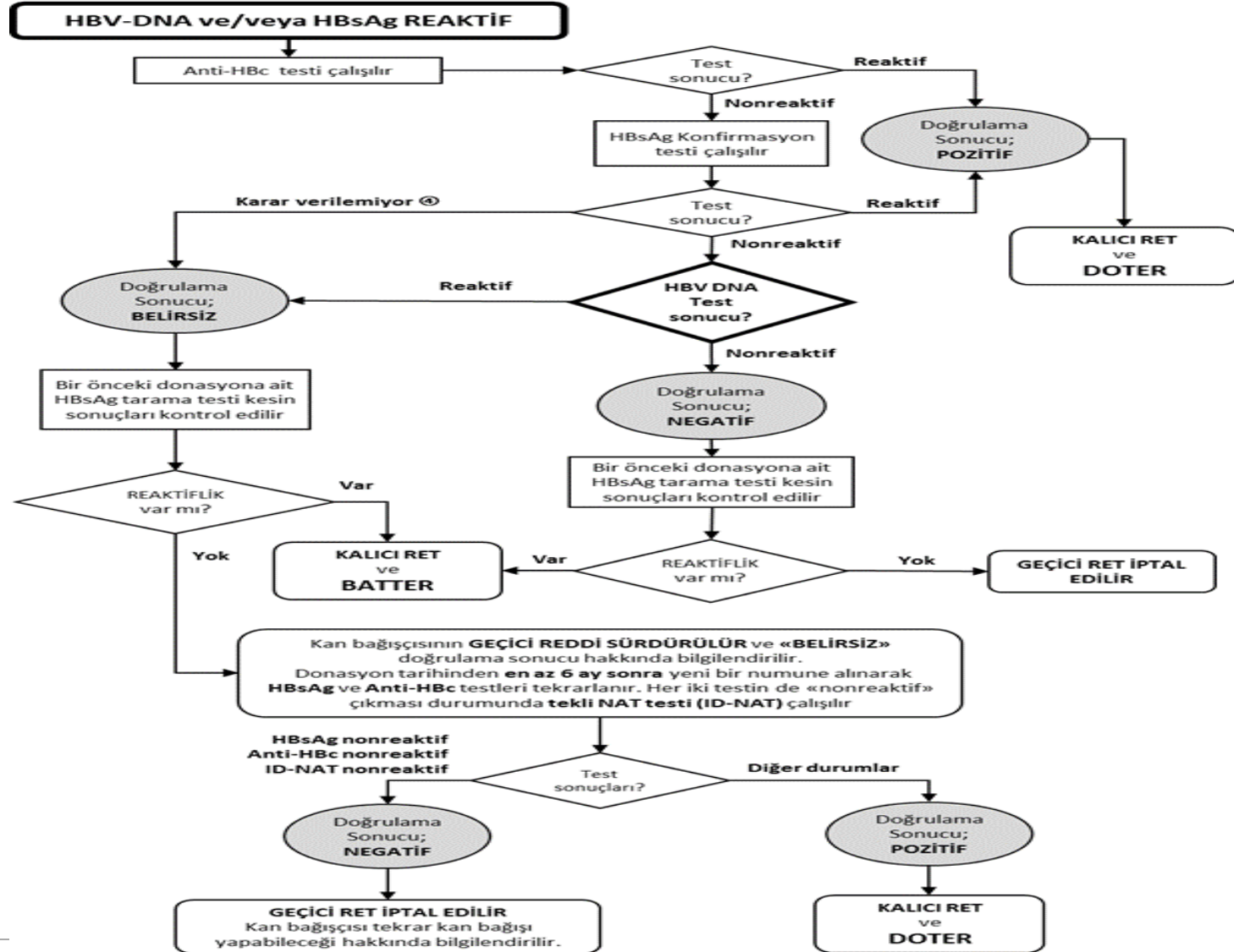
ENFEKSİYÖZ TARAMA-DOĞRULAMA-KAN BAĞIŞÇISI BİLGİLENDİRME SÜRECİ



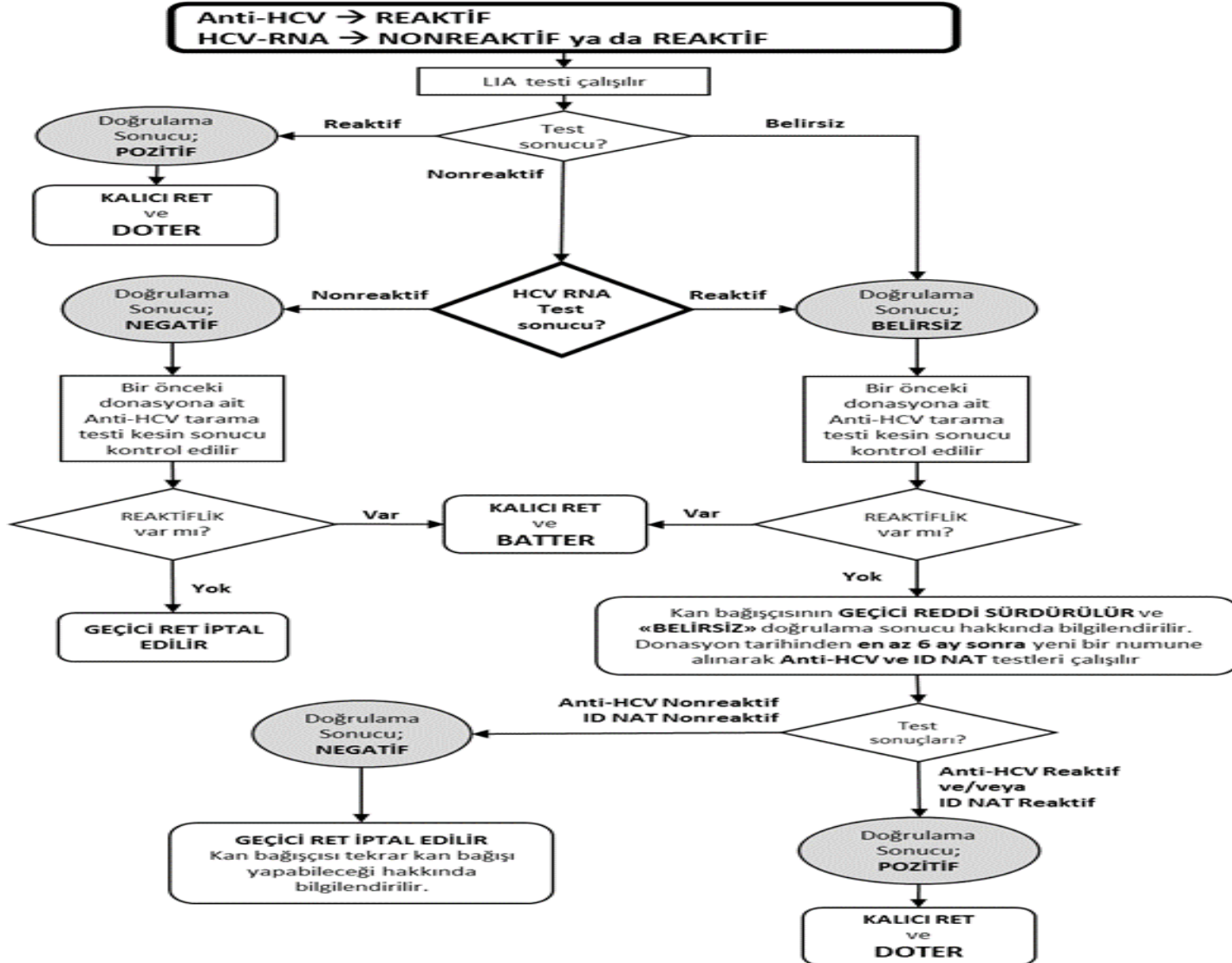
SEROLOJİ VE NAT TARAMA TESTLERİ ÇALIŞMA SÜRECİ



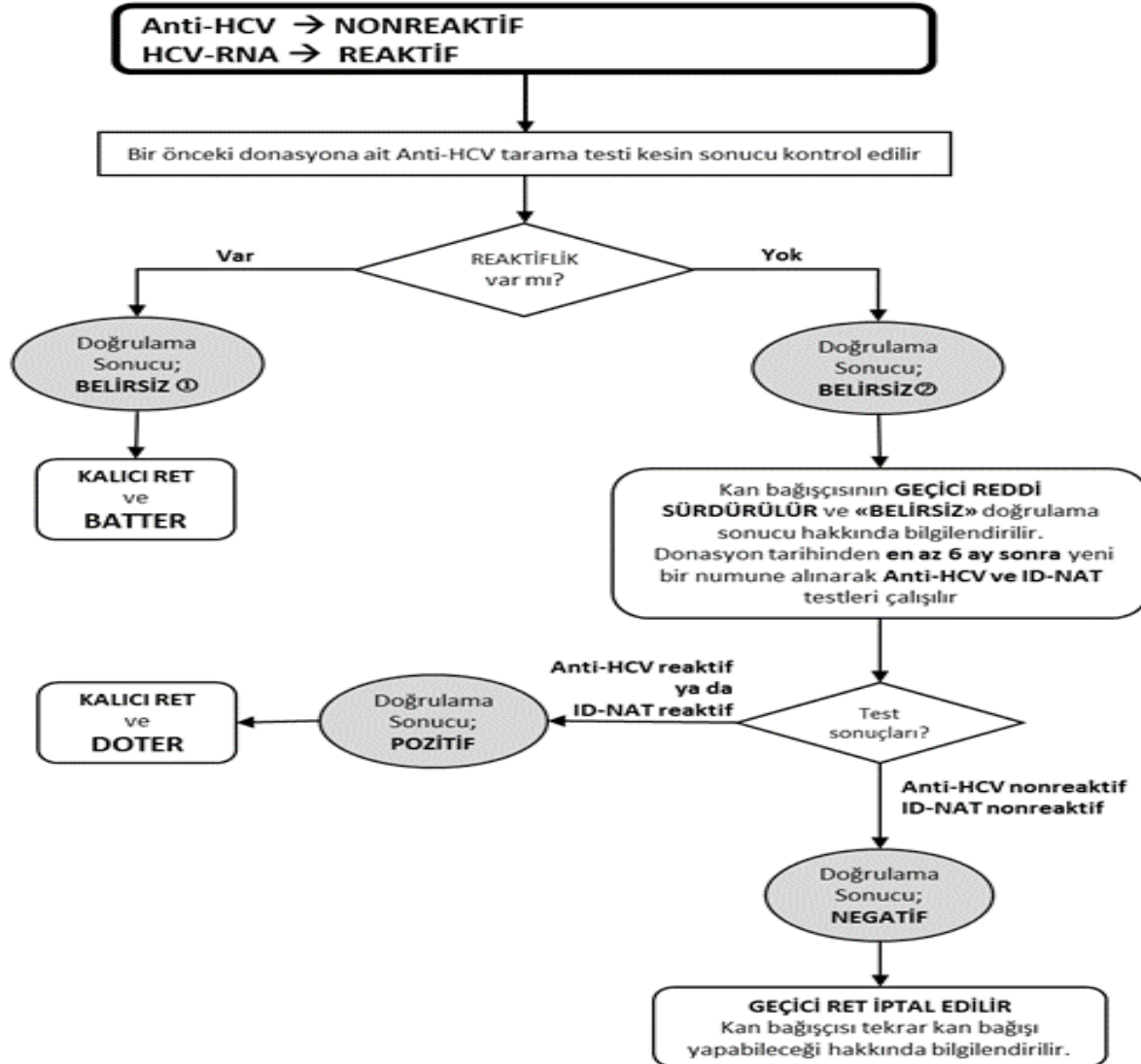
HBV DOĞRULAMA SÜRECİ



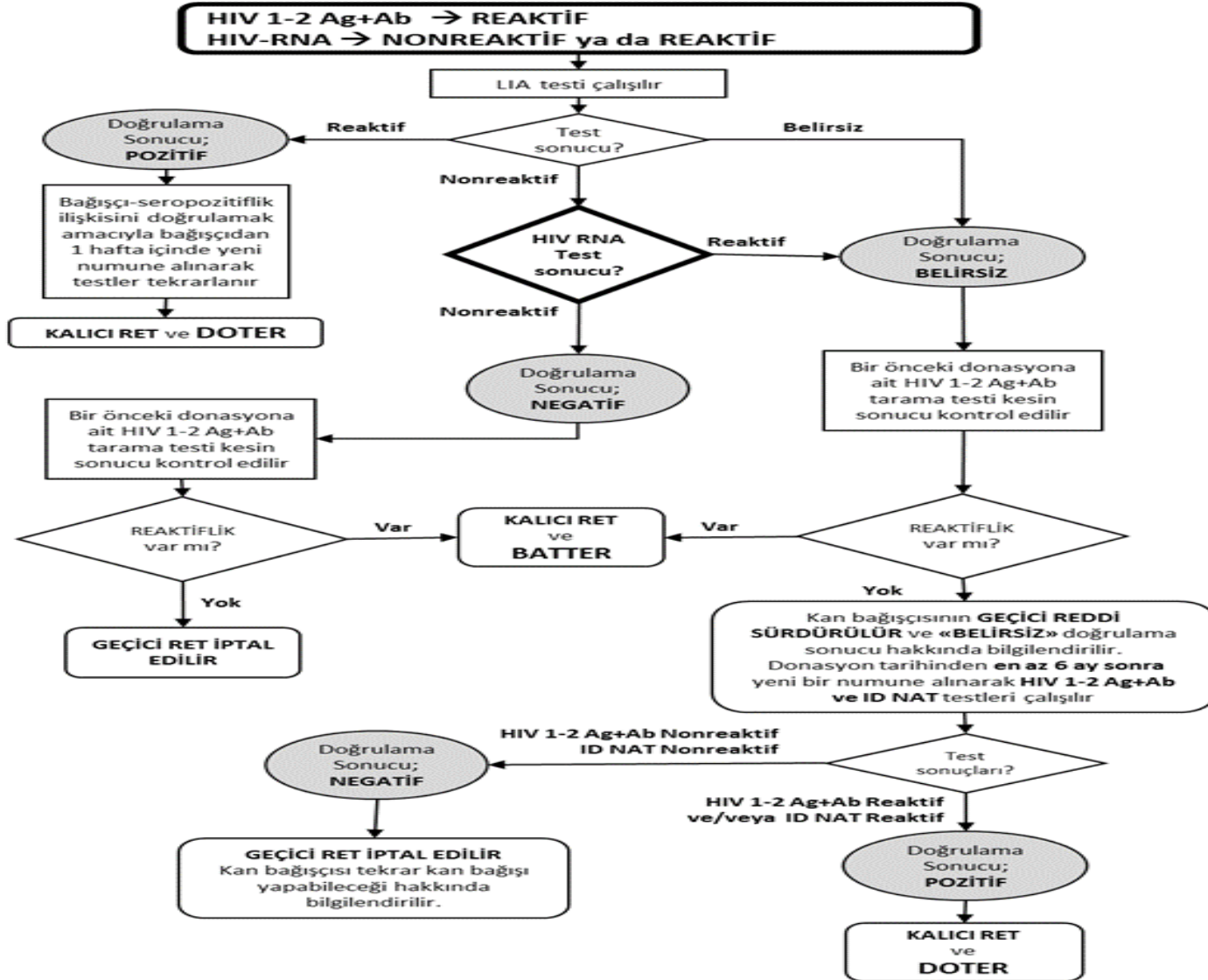
HCV DOĞRULAMA SÜRECİ-1



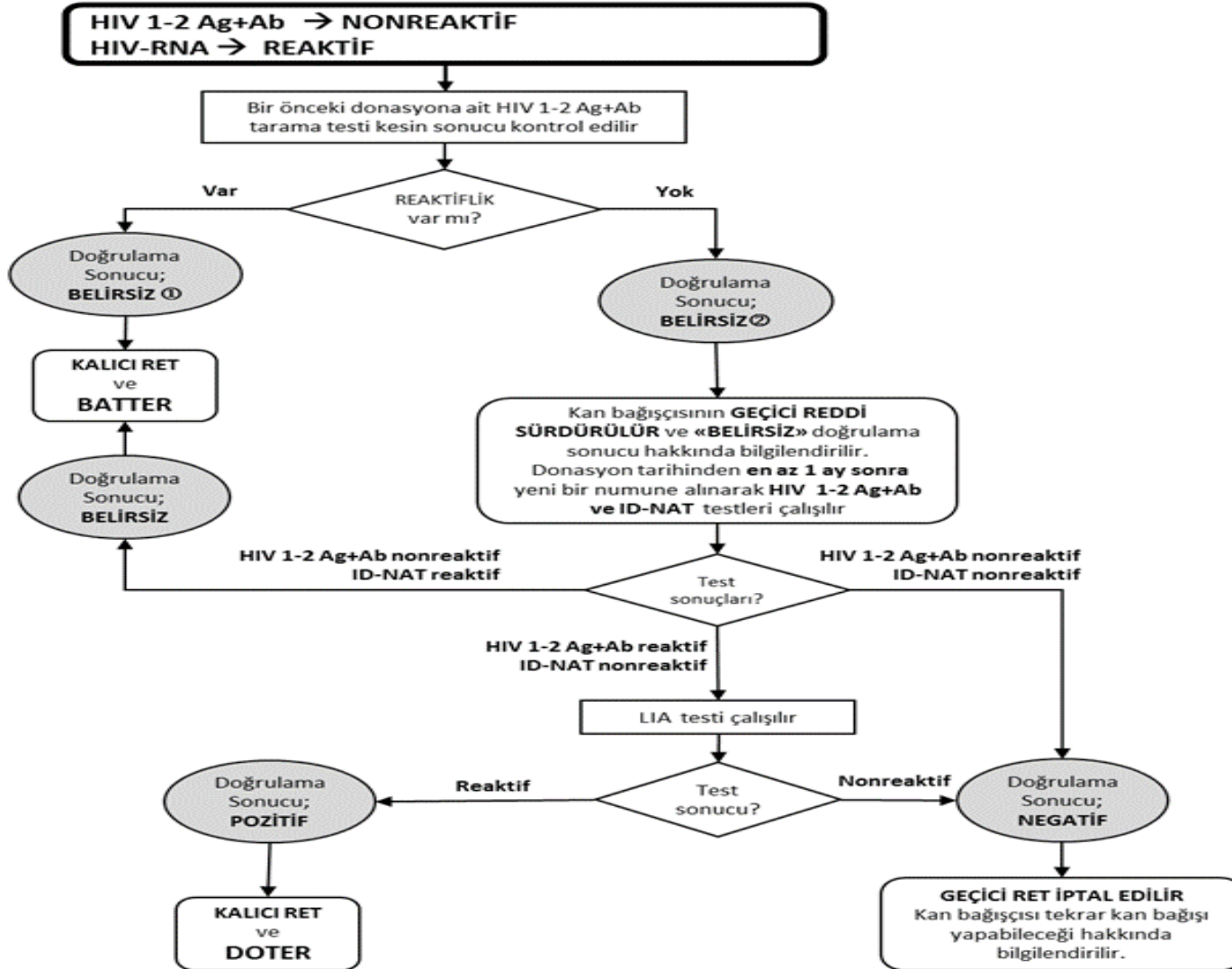
HCV DOĞRULAMA SÜRECİ-2



HIV DOĞRULAMA SÜRECİ-1



HIV DOĞRULAMA SÜRECİ-2



ISBT London 2015 kongresinde (Poster No: 351) yayınladığımız erken bulgularımız;

- 474.248 numune
- 315 (% 0,07), HBsAg Nonreaktif ve HBV DNA Reaktif
- 315 örneğin Kantitatif PCR testi,
- 185 (58.73%)'inin "HBV DNA Pozitif
- 130 (41.27%)'unda HBV DNA Negatif
- Çalışmada HCV ve HIV, pencere döneminde tespit edilmedi

*25th Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion,
June 27-July 1, 2015, London, United Kingdom/ Vox Sanguinis,
June-2015, Volume 109, Supplement 1, poster no:351*

Tablo 1

n=474,248 donörün serolojik ve NAT Tarama
Test sonuçlarının dağılımı

	Seroloji	NAT	n	(%)	10 ⁶
HBV	Nonreactive	Nonreactive	471.876	99,50%	994.998
	Reactive	Reactive	1.484	0,31%	3.129
	Reactive	Nonreactive	573	0,12%	1.208
	Nonreactive	Reactive	315	0,07%	664
HCV	Nonreactive	Nonreactive	473.715	99,89%	998.876
	Reactive	Reactive	57	0,01%	120
	Reactive	Nonreactive	476	0,10%	1.004
	Nonreactive	Reactive	0	0,00%	0
HIV	Nonreactive	Nonreactive	473.623	99,87%	998.682
	Reactive	Reactive	23	0,00%	48
	Reactive	Nonreactive	602	0,13%	1.269
	Nonreactive	Reactive	0	0,00%	0

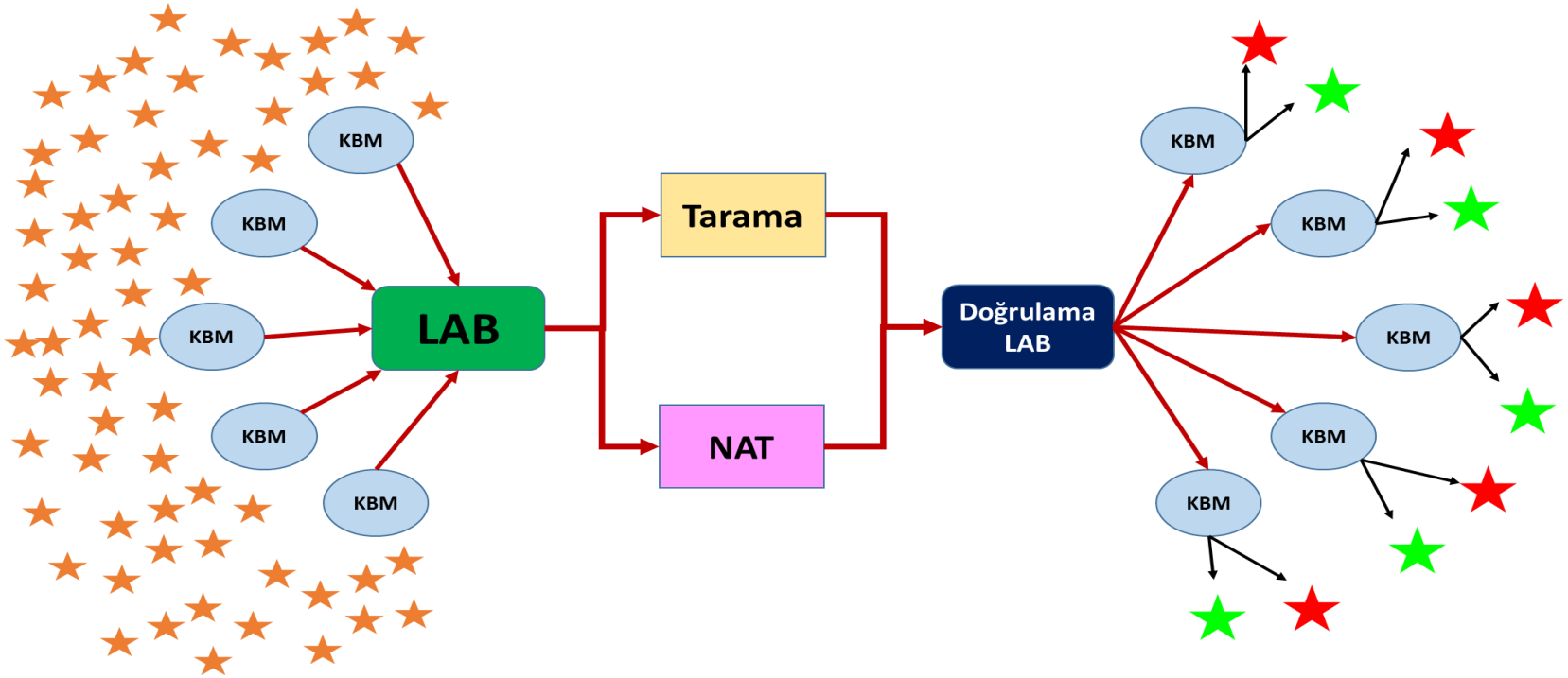
Tablo 2

HBs Ag Nonreaktif NAT reaktif 315 donörün
HBV marker ve Kantitatif PCR test sonuçları

Kantitatif PCR test sonuçları HBV DNA (IU/mL)	Anti-HBc Total Nonreactive				Anti-HBc Total Reactive				Toplam		
	Anti-HBs Nonreactive		Anti-HBs Reactive		Anti-HBs Nonreactive		Anti-HBs Reactive				
Hedef Tespit edilemeyen	13	4,13%	15	4,76%	55	17,46%	47	14,92%	130	41,27%	
<20	11	3,49%	9	2,86%	53	16,83%	73	23,17%	146	46,35%	
20-99	3	0,95%	2	0,63%	11	3,49%	13	4,13%	29	9,21%	
100-199	0	0,00%	1	0,32%	1	0,32%	5	1,59%	7	2,22%	
200-433	1	0,32%	0	0,00%	2	0,63%	0	0,00%	3	0,95%	
Total	28	8,89%	27	8,57%	122	38,73%	138	43,81%	315	100,00%	

- 315 numune NAT reaktif
- 185 numune pozitif HBV DNA
- 130 numune kantitatif PCR ile Nonreaktif
- Rutin NAT testleri; immun sessiz Hepatit B
- HBV enfeksiyonlarında kantitatif PCR pozitif donörlerin Anti-HBc ve Anti-HBs çalışılması

HER BAĞIŞÇI BİR YILDIZDIR



- Erken dönem verilerimize göre NAT laboratuvarlarının kan bankacılığı için faydalı olduğu düşünülmektedir.
- NAT çalışılmamış kan komponentleri ?
- NAT'ı tarama testi olarak uyguluyorsanız, seroloji ve NAT birbirinin doğrulaması olmazlar.
- NAT'ın doğrulamasını ya benzer duyarlılıkta ve daha özgül bir yöntemle yaparsınız ya da belirli bir süre sonra bağışçıdan alacağınız yeni numune ile testinizi tekrar ederek (mümkünse ID-NAT) doğrularsınız.

KMBKM Laboratuvarları





Soru ve Cevaplar