

PAHALI HEPATİT B İMMUNGLOBULİNİ (HBIG)'NE KARŞI GÜNEYDOĞU İG'İ

İsmail Balık*, Uğur Anter**

ÖZET

HBIG, çok pahalı ve ithal bir ürün olması nedeniyle her zaman piyasada bulunamamaktadır. Diğer taraftan, yılda en az 50000 doz HBIG ihtiyacımız vardır. Kendi kaynaklarımızı kullanarak çok ucuza HBIG üretilbileceğini düşündük. Hepatit B(HB), Güney Doğu Anadolu'da hiperendemiktir. Bu bölgede anti-HBs seropositivitesi yaklaşık %50 dolayındadır.

Ankara Kızılay plazma fraksiyonasyon laboratuvarında, bu bölge donör kanlarından, anti-HBs taraması yapılmaksızın IG üretilti. Ankara ve İzmir donörlerinden hazırlanan IG'lerde, 69.8 ve 85.7 mIU/ml antiHBs, Güney Doğu IG'inde ise uluslararası HBIG standartları (>180mIU/ml) kadar, 259.2mIU/ml anti-HBs tesbit ettik. Ürünün pik serum düzeyleri (ort.89mIU/ml) de yeterli koruyucu seviyelerde bulundu.

Bu IG(Kızılay HBIG)'in fiyatı (4 dolar), ithal HBIG(400 dolar)'den 100 kat daha ucuzdur. Sürekli piyasada bulunursa, yılda 20 milyon dolar kazanç sağlanacaktır.

Sonuç olarak hiperendemik bölge IG'i, HB profilaksisi için HBIG gibi kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Hepatit B İmmünglobulini, İmmünglobulin

SUMMARY

Southerneast IG versus expensive hepatitis B immunoglobulin (HBIG)

Because of the very high fee and import problems, HBIG is not always available in Turkey. On the other hand, at least 50000 doses of HBIG is needed per year. We propose that it is possible to produce HBIG by national sources very cheap. Hepatitis B(HB) is hyperendemic in Southerneast Anatolia. Anti-HBs seropositivity is around 50% in this region.

IG had been produced from donor's blood of this region without anti-HBs screening at the plasma fractionation laboratory of The Kızılay (Red Crescent) in Ankara. Anti-HBs levels were found 69.8 and 85.7 mIU/ml in IG of Ankara and İzmir whereas in Southerneast IG was detected as anti-HBs level of 259.2 mIU/ml which is near with the international standart (>180mIU/ml) HBIG values. Peak levels of the IG (mean 89mIU/ml) in serum were found enough for protection.

Fee (\$ 4) of the produced IG is 100 times cheaper than imported HBIG (\$400). Since it is always available in the market, Turkey will get the profit of \$ 20 billion per year.

In conclusion, our result indicates that IG of hyperendemic region may be used as HBIG for prophylaxis of HB.

GİRİŞ

İlk Nobel ödülü 1901'de, Emil Von Behring'e immünglobulin(IG) tedavisini başlatması (difteride) nedeniyle verilmişti(1). Sonraları üretim tekniklerinin geliştirilmesiyle, 1940'lardan itibaren immünyetmezlikler ve bazı infeksiyonların tedavi ve profilaksisinde kullanımı yaygınlaşmıştır (2,3).IG, hepatit A, kızamık, kızamıkçık gibi infeksiyonların profilaksisinde etkindir. Fakat hepatit B, CMV, su çiçeği gibi infeksiyonlarda ise etkisiz yada yetersizdir. Bunun nedeni IG'in bu virüslara karşı koruyucu düzeyde spesifik Ab içermemesidir. Bu amaçla yüksek titrelerde spesifik Ab içeren hiperim-

münglobülin (HIG)'ler üretilmiştir. Hepatit B immünglobülini (HBIG)'de bir HIG'dir. Yüksek titrede Anti-HBs içeren kişilerin plasmalarından elde edilir ve 180 mIU/ml'den daha fazla anti-HBs içermeleri arzu edilir(2). Bu ürünler genellikle batı ülkelerinde üretilmekte ve ülkemize ithal edilmektedir. Batı ülkelerinde, Hepatit B endemisitesi düşük olması nedeniyle koruyucu düzeyde anti-HBs taşıyan insan sayısı az olduğu ve bunları bulmak için çok sayıda donörün taranması gerektiğinden maliyet yüksek olmaktadır. ABD'de HBIG fiyatı, IG'den 20 kat fazladır(4). Türkiye'de satış fiyatı 24-30 milyon TL(400dolar)'dır. Hepatit B pasif ümmün

* Ankara Ü.Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları A.B. Dalı.

** Ankara Kızılay Kan Merkezi Müdürü.

Bu çalışma Viral Hepatit Savaşım Derneği'nin, Hepatit B ile mücadele faaliyetleri çerçevesinde gerçekleştirilmiştir.

profilaksinin en çok gerekli olduğu infeksiyonlardan biridir ve ülkemizde de endemiktir. Bu nedenle infeksiyonun ülke çapında eradikasyonu için yaygın aşılamanın yanında fazla miktarda HBIG kullanımına ihtiyacımız vardır. Eğer olması gerektiği gibi endikasyonu olan her vakaya kullanılırsa, sadece HBsAg pozitif annelerden doğan bebeklerin profilaksisi için yılda enaz 50 bin doz HBIG gereksinimi vardır. Bunun piyasa fiyatından tutarı yaklaşık 20 milyon dolardır (yılda 1 milyondan fazla doğum olmaktadır. Annelerin %5'inde HBsAg pozitifliği düşünülürse 50000 bebeğe aşıyla birlikte HBIG de uygulanması gerektiği ortaya çıkar. Şuan piyasada bulunan tek IM HBIG preparatı "Hepuman Berna-İsviçre"nin perakende fiyatı 24 milyon TL = 400 dolar'dır). Fiyatın bu kadar yüksek olması ve piyasada da sürekli bulunamaması, HBIG'in gerektiği kadar yaygın kullanımını önlemektedir. HBIG'in 24 saat içinde bulunamayışının, temas sonrası profilaksi gereken sağlık personelinde paniğe neden olduğunu sıkça görmekteyiz. Bulaşma riski yüksekliği nedeniyle bu kişiler, eğer zamanında HBIG yapılamamışsa inkübasyon sonuna kadar işgücü azalmasıyla ve endişeyle beklemektedirler. Bulaşma riski, %2 (hastada HBeAg negatifse) ile %40 (HBeAg pozitifse) arasında değişmektedir(5). Sağlık personelinde kontamine tıbbi aletle yaralanma (%80'i iğne batması) oranının yılda %8-12 olduğu tesbit edilmiştir(6,7). Bu da azımsanmayacak miktarda sağlık personeline HBIG profilaksisi gereksinimini ortaya çıkarmaktadır.

Bu gerçekler bizi, HBIG'in ülkemizde çok daha ucuz üretilebilmesi olanaklarını arayışa itmiştir. Çünkü HB endemisitesinin yüksek olması, anti-HBs içeren plazma kaynağının bol ve dolayısıyla maliyetinin de batı ülkelerinininkinden daha düşük olacağını düşündürüyordu. Ancak endemisite düşüklüğü nedeniyle batı ülkelerinin HBIG hazırlamak için mecburen yaptıkları (tüm donörlerde anti-HBs tarayıp sadece Ab içerenlerin kullanılması) gibi bizim de tüm donörlerde anti-HBs araştırmamız durumunda maliyetin istendiği kadar azalmayacağı görüldü. Donör kanlarında anti-HBs oranı İstanbul, Ankara, Antalya, Samsun gibi illerimizde %20-24 iken Diyarbakır'da %50 dolaylarındadır(8).

Acaba 4-5 kişiden birinin anti-HBs taşıdığı bilindiğine göre hiç Ab taraması yapılmadan İzmir ve Ankara donörlerinden hazırlanan IG, koruyucu düzeyde anti-HBs içeriyormuydu? Eğer IG, endemisitenin en yüksek olduğu Güney doğu illerimizden toplanan kanlardan hazırlanırsa ithal HBIG'ler kadar anti-HBs içerecekmiydi? Bu soruların cevabını, gerekli yardımları alabileceğimiz tek kurum olan Kızılay'la (ülkemizde IG üretiminin yapıldığı tek kurum) işbirliği yaparak araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

1.Öncelikle Kızılay'ın önceden üretmiş olduğu IG'

lerde anti-HBs düzeyi araştırılmıştır.

2.Kızılay'ın Güney Doğu illerimizde (Urfa, Diyarbakır, Gaziantep, Adana) yaptığı kan bağışi kampanyası sırasında topladığı ve sadece bu bölgeden 500 kişinin kanlarından oluşan plazma havuzlarında anti-HBs düzeyleri araştırılmıştır. Umulan düzeylerde anti-HBs tesbiti üzerine bu plazmalardan IG üretimine geçilmiştir.

3.IG, Kızılay Ankara Plazma Fraksiyonasyon Merkezinde, Cohn'un Kistler-Nitschmann modifiye "soğuk etanol presipitasyonu" yöntemiyle üretilmiştir(9). Üretim, plazma fraksiyonlarının etanol konsantrasyonu, ısı ve iyon değişiklikleri eşliğinde presipitasyonu esasına dayanır. Gama globulin fraksiyonu (Cohn fraksiyon II) orijinal plasmadan 25 kat fazla antikor içerir. Fraksiyonasyon işlemi tamamlandığında son aşamaya gelmiş olan ürün %16-18 gamaglobulin ihtiva eder. Glicyne buffer'da stabilizasyon ve koruyucu olarak tiomersol ilavesiyle işlem tamamlanır. Son olarak hayvan deneyleri ve pirojenite testleri yapıldıktan sonra 2 ve 4 ml'lik flakonlar şeklinde kullanıma hazır hale getirilir.

4.Yeni IG'nin ve piyasada bulunan intramüsküler(IM) HBIG'lerin anti-HBs düzeylerinin tayini.

5.Yeni IG'nin İM kullanımdan sonraki 48.saatde serumda oluşturduğu anti-HBs düzeyinin tayini. Yeni IG, HBsAg,anti-HBs ve anti-HBc negatif bulunan sağlıklı bir erkek, bir kadın iki kişiye 4ml (yaklaşık 0.06ml/kg dozunda) im yoldan yapılmıştır.

Anti-HBs düzeyi kantitatif (mIU/ml) olarak ELISA (Abbott AXIM) yöntemiyle Ankara Ü. Tıp F. İbni Sina Hast. İnfeksiyon Hast. ELISA laboratuvarında araştırılmıştır.

BULGULAR

Kızılay'ın Ankara ve İzmir'den topladığı plazmalardan hazırladığı IG'lerde anti-HBs düzeyleri 69.8 ve 85.7mIU/ml bulunmuştur. Buna karşın bu çalışma amacıyla Güney Doğu illerinden toplanan kanlardan hazırlanan, ürünün en ham şekli olan plazma havuzundan aldığımız örnekte anti-HBs 65.7mIU/ml, buradan hazırlanan IG'de ise (presipitasyon işlemleri sonucu Ab konsantrasyonu artışına bağlı) anti-HBs düzeyi 259.2 mIU/ml bulunmuştur. Piyasada bulabildiğimiz tek IM HBIG (Hepuman Berna-İsviçre)'in anti-HBs düzeyi, 980mIU/ml idi. Prospektüsünde ise 200mIU/ml içerdiği belirtilmektedir. (Hazırlanış yöntemleri farklı olduğu için IM HBIG'lerle karşılaştırılmayacağından çalışmaya gerek görmediğimiz İV HBIG'ler ise 50 mIU/ml "bak.Hepatect Biotest-Alman" anti-HBs içerirler).

IG'nin 48.saatini sonunda iki gönüllüde oluşturduğu anti-HBs düzeyleri 89.7 ve 88.5 mIU/ml 'di.

TARTIŞMA

Tartışmaya öncelikle bu çalışmanın yapılması için oluşturulan IG'nin hepatit B'ye karşı koruyucu olup olma-

dığını irdeleyerek başlamakta fayda vardır. Kanda anti-HBs düzeylerinin iyi ölçülemediği ve HBIG'in bulunmadığı yıllarda IG'in infeksiyöz hepatiti önlediği, serum hepatitini önlemediği bilinirdi. Bu yaygın kaniye rağmen, bazı IG preparatlarının koruyucu etkisi görüldüğünden yirmi yıl önceki bazı yerli ve yabancı yayınlarda IG'in hepatit B'ye karşı koruyucu olabileceğinin yazıldığına rastlanmaktadır(4,10-12). Hatta HBIG bulunmadığı zaman aynı dozlarda IG kullanılması önerilmektedir(4). Özellikle bulaş yolu, nonparenteral veya inaparan ise ve bulaş miktarı küçükse IG'in etkin olma ihtimali artar(10). Bir IG preparatının hepatit B'ye karşı koruyuculuğu tamamen içerdiği anti-HBs düzeyine bağlıdır. Batı ülkelerinden yapılan yayınlarda, doğal olarak kendi ülkelerinde üretilen ürünleriyle yaptıkları çalışmalara göre IG'in sadece hepatit A'ya etkili olduğu hepatit B'ye ise etkisiz olduğu belirtilmiştir. Muhtemelen batı kaynaklarına bakılarak bizde de, Kızılay'ın 1967'den beri ürettiği IG sadece hepatit A profilaksisinde kullanılmıştır. Halbuki serolojik çalışmalarla da teyid edilmesi sonucu, yetmişli yılların sonlarından beri HB'nin ülkemizde endemik olduğu bilinmesine rağmen Kızılay IG'inin koruyucu düzeylerde anti-HBs içerebileceği akla getirilmemiştir. Araştırdığımız kadarıyla bu konunun araştırıldığı bir çalışmaya rastlayamadık. Bu, belkide hepatit markerlerinin yeterince araştırılmadığı o yıllarda mümkün olmamıştı. Zaten Türkiye'nin HB endemisine haritası da ELISA'nın yaygınlaşmasıyla ancak 1980'lerin sonunda önemli ölçüde belirlenmiştir(8).

Çalışmamızda, %4-5 gibi Türkiye ortalama HBsAg oranlarına sahip Ankara ve İzmir'den toplanan kanlardan üretilen Kızılay IG'lerinin anti-HBs düzeyleri 69.8 ve 85.7 mIU/ml bulundu. Bu düzeylerde anti-HBs içeren bir IG HB'e karşı koruyucu olabilir. Çünkü serumunda 10 mIU/ml anti-HBs bulunan kişiler HB'e karşı bağışık kabul edilir(5). IM IG uygulandığında IG'in 1/3'ünün kana geçtiği düşünülürse bu değer bile koruyucu olabilecektir(1). Biz bununla da yetinmeyip epidemiyolojik verilere bakarak daha fazla anti-HBs içereceğini tahmin ettiğimizden, Güney-doğu illerimizden toplanan kanlardan IG üretildiğinde daha yüksek anti-HBs düzeylerini yakalayabileceğimizi düşündük. Nitekim bu IG'in anti-HBs düzeyi 259.2 mIU/ml ölçüldü. Bu değer koruyuculuk açısından daha güvenilirdir ve HBIG'ler için aranan sınıra (180mIU/ml) üzerindedir(2). Piyasada bulabildiğimiz tek IM HBIG'in prospektüsünde de 200mIU/ml anti-HBs içerdiği belirtiliyordu (fakat bizim elimizdeki seride 980 mIU/ml ölçtük). Bir çalışmada bundan daha düşük düzeyde (150mIU/ml) anti-HBs içeren bir HBIG, temas sonrası 37 sağlık personeline uygulanmış ve yüzde yüz koruyucu bulunmuştur(13). ABD'de ticari IM HBIG preparatlarının içermesi gereken en düşük anti-HBs düzeyi 217 mIU/ml'dir(5).

Hernekadar yeni IG'miz, içerdiği anti-HBs düzeyi gözönüne alındığında rahatlıkla bir HBIG gibi kullanılabilirliği görülüyorsa da, bu tip çalışmaların prosedürünü tamamlamak adına invivo çalışma da yaptık. Bu IG'in insana verildiğinde serumda oluşturacağı anti-HBs düzeylerini tesbit etmek için iki gönüllüye klasik dozda (0.06ml/kg) IM yoldan IG yapıldı. Her iki kişide de 48. saatde yapılan ölçümlerde klasik bilgilere paralel olarak verilenin 1/3 oranında değerler (89.7 ve 88.5 mIU/ml) elde ettik. Bilindiği gibi IG, serum pik Ab konsantrasyonlarına IM enjeksiyondan 48-72 saat sonra ulaşır. IG yarılma ömrü 3-4 haftadır(14). Buna göre, risk yüksekse (HBsAg pozitif kan transfüzyonu, HBeAg pozitif iğne batması, HBeAg pozitif annenin bebeği vb) 20-30 gün sonra bir doz daha IG yapılmalıdır.

Bu çalışmadan Güney Doğu illerimizden (yada tesbit edilecek başka hiperendemik bölgelerden) toplanan kanlardan hazırlanan IG'in, batı illerimizden hazırlanacak IG'e göre daha yüksek düzeylerde anti-HBs içereceği anlaşılmıştır. HBsAg ve anti-HBs oranları göz önüne alındığında, Türkiye ortalaması olarak kabul edebileceğimiz Ankara'nın IG'lerinde ortalama 70-80 mIU/ml düzeylerinde anti-HBs bulunduğuna göre Güney Doğu IG'in anti-HBs düzeyi mutlaka 100 mIU/ml'in üzerinde, bu çalışma göz önüne alınırsa muhtemelen 150-250 mIU/ml arasında olacaktır. Bundan sonra yapılacak üretilere bakılarak Güney Doğu IG'in ortalama ne kadar anti-HBs içereceği ortaya çıkarılacaktır. Ayrıca tek tek bu yöre illerinden hazırlandığında, hangi illerin IG'lerinin daha fazla anti-HBs içereceği de belirlenebilir. Örneğin bu IG hazırlanırken sadece Urfa donörleri kullanılsaydı daha yüksek anti-HBs konsantrasyonu sağlanacağını hesapladık. Bölge seçimi dışında, anti-HBs taşıma ihtimali fazla olan donör (erkek, kırsal kesim, orta yaş vb) seçimi de araştırılmalıdır. Bundan sonraki IG üretimlerinde bu kıstaslara göre seçilmiş çeşitli donör gruplarından hazırlanacak IG'ler karşılaştırılarak, IG üretiminde kullanılacak en ideal donör popülasyonu belirlenebilir. IG, enaz 500 kişinin kanıyla hazırlandığından, bu sonuçlara varmak istatistiksel açıdan da yeterince makul olacaktır. Eğer Kızılay'ın desteğiyle araştırma bu yönleriyle derinleştirilirse çok daha faydalı sonuçlar elde edilebilir.

Sonuç olarak bölgesel IG, özel IG, hatta Kızılay HBIG'i gibi isimlerden birini verebileceğimiz bu ürün rahatlıkla HB profilaksisinde kullanılabilir. Fiyatı da sadece 300 bin TL'dir(ithal HBIG'lerden yaklaşık yüz kat ucuz). Bu üretim devam ettirilirse ve sürekli piyasada bulunursa ülke ekonomisine yılda enaz 20 milyon dolar katkı sağlanacaktır. HBIG pahalı olması veya bulunamaması nedeniyle gerektiğinde yapılamaması sonucu gelişen hepatit olgularının oluşturacağı kayıplar da düşünülürse göz ardı edilmemesi gereken büyük bir imkan

ortadadır. Hatta uluslararası düzeyde kabul görecek oranda anti-HBs içeren (bu çalışmadaki seride olduğu gibi) üretim serileri, üzerine HBIG etiketi yapıştırılarak ihraç dahi edilebilir.

Teşekkür: Bu çalışmaya destekleri nedeniyle Kızılay Genel Müdürlüğüne ve Ankara Plazma Fraksiyasyon Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Schulz G : The changing nature of immunoglobulin therapy, "F Dammacco (ed), Immunoglobulins in Therapy" s.7-14, 1995,Die Med Verl mbH, Marburg.
2. Krugman S: Prophylaxis of Hepatitis B. s.8, 1983,Abbott Labr, USA.
3. Delire M: Immunoglobulins, s.1, 1995,Wrightson Biomed Pub,USA.
4. MMWR: Immunoglobulins and hepatitis B. 1981,30: 427.
5. Gerberding JL: Management of occupational exposures to blood-borne viruses.N Eng J Med, 1995, 332:444-451.
6. Dandoy SE, Lift BLK, Krakowski FM: Hepatitis B exposure incidents in community hospitals. Amer J Public Health, 1984, 74: 804-807.
7. Mc Cormick RD, Maki DG: Epidemiology of needle-stick injuries in hospital personnel. Amer J Med. 1981, 70: 928-932.
8. Balık İ: Hepatit B epidemiyolojisi, "K Kılıçtırgay(ed), Viral Hepatit'94, 2.baskı" kitabında, s. 91-103, 1994, Viral Hepatitle Savaşım Derneği, İstanbul.
9. Kistler P,Nitschman H: Large scale production of human plasma fractions. Vox Sanguinis 1962, 7: 414-424.
10. Ginsberg AL: The use of standard gamma globulin for the prevention of hepatitis B . Digestive Dis, 1976, 21: 404-408.
11. Onul B : İnfeksiyon Hastalıkları, 6.baskı, s. 463, 1980, Ankara Tıp Yay.
12. Demirağ B : Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları 1980, s.499, Türkiye Klinikleri, Ankara.
13. Palmovic D, Palmovic C: Prevention of HBV infection in health-care workers after accidental exposure. Infection 1993, 1: 48-51.
14. Red Book 1994: Report of the Commttec on Infectious Diseases, 22nd ed, s.41, Ame Acad Ped,IL, USA.