

A Debreceni Orvostudományi Egyetem Szemklinika
(igazgató: Alberth Béla egyetemi tanár)
közleménye

Cornea donorok AIDS-szűrésével szerzett tapasztalataink

Szalka Andrea, Módis L. és Berta A.

A DOTE Szemklinikán 1992. november 1. óta végezzük a szaruhártya donorok rutinszerű AIDS-szűrését.

A vizsgálatokhoz az ABBOTT TESTPACK diagnosztikus tesztet alkalmazzuk, amely a HIV-1 és HIV-2 ellenes antitestek gyors kimutatását teszi lehetővé humán szérumból vagy plazmából.

A vizsgálati idő alatt (1992. november 1. és 1993. december 31. között) 111 keratoplasztikát végeztünk. A 90 vizsgált donorból 88 volt HIV-negatív. 2 esetben észleltünk reprodukálható HIV-pozitivitást.

Ez utóbbi két alkalommal természetesen nem ültettük át a corneát. Mindkét pozitív mintát a megbízhatóbb, de időigényes ELISA-módszerrel vizsgálva negativitást tapasztaltunk. Mivel mindkét donor malignus tumorban szenvedett, ezért keresztreakció lehetősége is felmerül. Szükségesnek látszik az áttérés az AIDS-fertőzöttség kimutatásának megbízhatóbb módszerére, ezt azonban a vizsgálat időigényessége miatt csak konzervált corneák esetén lehet alkalmazni.

Kulcsszavak: keratoplasztika, HIV-szerológia

Experiences with the screening of corneal donors for AIDS

We have been screening corneal donors at the Department of Ophthalmology of the University Medical School, Debrecen since November 1st, 1992.

We use the ABBOTT TESTPACK diagnostic test which allows a quick detection of HIV-1 and HIV-2 antibodies in human serum or plasma.

We performed 111 keratoplasties in the examined period (between November 1st, 1992 and December 31st, 1993). From the 90 donors 88 proved to be negative. Reproducible HIV positivity was detected in two cases. In the 2 latter cases the cornea was not transplanted. We examined the 2 positive samples with the more reliable but timeconsuming ELISA method, and they turned out to be negative. As both donors suffered from malignant tumor, the possibility of a cross-reaction has to be considered.

It seems to be necessary to switch over to the more reliable method for the detection of AIDS virus infection. This method, however, can be used only in case of preserved corneas due to the longer time needed to perform such a test.

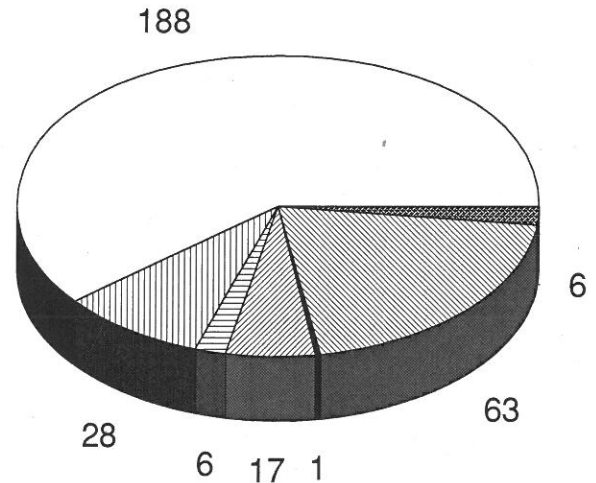
Keywords: keratoplasty, HIV serology

Bevezetés

Napjaink egészségügyének egyik legnagyobb problémája az AIDS (acquired immunodeficiency syndrome) egyre növekvő terjedése. A betegség kórokozója az eredetileg LAV-nak (lymphadenopathiával asszociált vírus), HTLV-nek (III. típus T lymphotrop vírus) [7], illetve ARV-nek (AIDS related vírus)

nevezett vírus, melynek a Nemzetközi Vírus Nomenklatura Bizottság 1986-ban adta a HIV (human immunodeficiency vírus) nevet. A vírusnak két típusa ismeretes, a HIV-1 és a HIV-2, melyek morfológiájukban és betegség okozó képességükben identikusak. Szerológiai vizsgálatok alapján a két típus hasonló mag, de különböző burok antigénnel rendelkeznek. Az elsőként megismert és elterjedt vírustípus a HIV-1 jelzést kapta. 1986-ban Nyugat-Afrikából származó betegekből egy ettől antigénszerkezetiileg jelentősen eltérő vírustípust izoláltak, amit HIV-2-nek neveztek el.

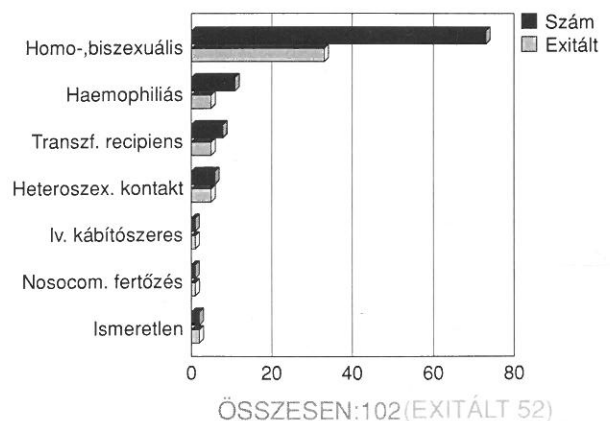
Utóbbi jelenleg is elsősorban Nyugat-Afrikában fordul elő, de kihurcolása már számos országba megtörtént. 1992 júliusáig 309 HIV-fertőzöttről volt tudomásunk. Ezek nagy része a homo- és biszexuálisok közül került ki, de jelentős a hemofiliások aránya is (1., 2. ábra) [OKI adat].



Összesen: 309

- Homo-,biszexuális
- Iv. kábítószeres
- ▨ Transzf. recipiens
- ▩ Haemophiliás
- ▧ Külföldi
- ▦ Heteroszex. kontakt
- ▤ Ismeretlen

1. ábra. Az ismert HIV-pozitív személyek száma és megoszlása Magyarországon 1992. július 1-jéig



2. ábra. Bejelentett AIDS-esetek Magyarországon 1992. július 1-jéig

I. táblázat

A HIV-fertőzés terjedésében fokozott rizikójú csoportok

- homoszexuális és biszexuális férfiak
- parenterális drogélvezők
- hemofiliasok
- transzfúziós és transzplantációs recipiensek
- heteroszexuális kontakto
- HIV-fertőzött anya magzata

II. táblázat

A HIV-fertőzés terjedésének módjai

- vér, vércszióanyagok adagolásával
- a fertőzött egyén bizonyos testnedveivel
- vérrel szennyezett tűk, fecskendők révén
- szerv-, szövetátültetések kapcsán
- anyáról magzatra, újszülöttre

Mivel nem létezik sem oltóanyag a fertőzés megelőzésére, sem hatásos terápia a betegség gyógyítására, ezért a terjedés megfékezésére kell fokozott figyelmet fordítani. Ehhez ismernünk kell a fertőzés terjedésének módjait, illetve azokat a csoportokat, amelyekben az átlagnál nagyobb a betegség előfordulása (I., II. táblázat).

Az egyik lehetőség a szerv- és szövettranszplantációval, ezen belül is a cornea transzplantációval való átvitel. Annak ellenére, hogy a vírus transzmissziója még nem bizonyított szaruhártya-átültetés során, mégis a HIV-fertőzés potenciális súlyossága, valamint azon tény miatt, hogy HIV-pozitív donor szemszövetéből (conjunctiva, cornea), valamint könnyéből izolálták a kórokozó vírust [1, 3, 4, 5, 6], indokoltnak látszik minden cornea donornál a HIV-fertőzöttség szisztematikus keresése és az is, hogy tartózkodni kell az átültetéstől HIV-pozitivitás eseteiben [10]. Ezen megfontolásból végezzük a DOTE Szemklinikán 1992. november 1. óta a cornea donorok AIDS-szűrését.

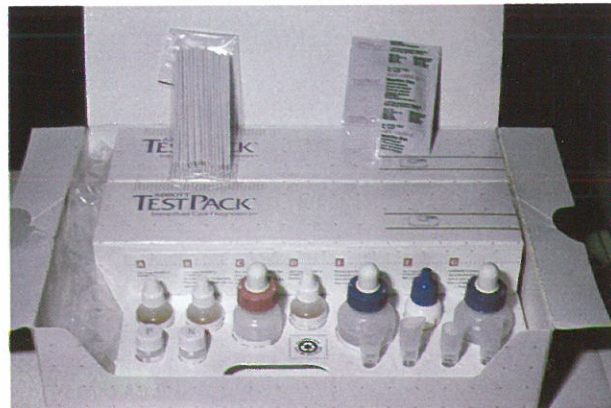
Közleményünkben beszámolunk eddig szerzett tapasztalatainkról.

Anyag és módszer

A HIV-fertőzöttség kimutatására többféle lehetőség kínálkozik. Ezen laboratóriumi vizsgálatok ellenanyagok, antigének, vagy közvetlenül a vírus kimutatásán alapulnak. Szűrővizsgálatra a gyakorlatban az antitestek kimutatását alkalmazzák. Az ellenanyagok 6-8 héttel a fertőzés után jelennek meg és válnak kimutathatóvá a fertőzöttek vérében. *Pepose* és *mtsai* [13] hatásosnak találták a cadaver szérum szerológiai vizsgálatát a jelenleg forgalomban lévő diagnosztikus tesztekkel.

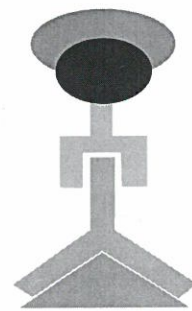
A vizsgálati idő alatt 1992. nov. 1. és 1993. december 31. között intézetünkben 111 keratoplasztika történt. Ehhez 90 donorból végeztük el a HIV-vizsgálatot. A szerológiai teszthez a donorbulbus enucleatiojával egy időben vért vettünk a cadaverből. A leghatásosabb módszer a vena jugularis és a vena subclavia összeömlésénél végezni a punkciót. A szűrés közvetlenül a clavícula mögött, annak belső és középső határánál, a tűt lefelé és befelé irányítva, a clavícula felső szélével 45°-os szöveget bezárva történt. A vérvétel végezhető mind jobb, mind bal oldalon. Az így nyert vért 15 percig centrifugáltuk. A teszt elvégzésére a szérumot használtuk.

A savókat HIV-1 és HIV-2 ellenes antitestek kimutatására egyaránt alkalmas, enzimimmunoassay (EIA) módszerén alapuló ABBOTT gyártmányú gyorstesztet vizsgáltuk (3. ábra).



3. ábra. Az általunk alkalmazott Abbott-gyártmányú teszt

- szubsztrát
- anti-humán IgG-enzim
- anti-HIV a mintában
- antigén (HIV-1/HIV-2)



4. ábra. Az enzimimmunoassay (EIA) módszer sematikus rajza



5. ábra. A reakciós lemezen megjelenő pozitív, illetve negatív eredmények

Ennek lényege, hogy a vizsgálandó szérumot egy reakciós lemezre visszük fel, amelyben mikropartikulumok felszínére vannak lekötvén a vírus antigének (HIV Ag). A vizsgálandó savóval, majd az antihumán immunglobulinnal való inkubálás után, amennyiben HIV-ellenes ellenanyag van jelen (HIV Ab), az antihuman Ig-enzim komplex a hozzáadott enzimszubsztrátot színes vegyületté alakítja át (4. ábra). Ezt a lemezen megjelenő lila színű pozitív jel mutatja. Ha nincs HIV-ellenanyag a mintában, negatív jelet láthatunk a reakciós lemezen. Minden alkalommal egy pozitív és egy negatív kontrollt is végeztünk (5. ábra). Negatív jel megjelenésekor a mintát negatívnak tartottuk, azaz a donort HIV-fertőzéstől mentesnek, tehát corneáját beültethetőnek ítéltük. Amennyiben pozitív eredményt kaptunk, a mintát

duplán újrateszteltük. Az ilyenkor kapott pozitív reakciót reprodukálható módon pozitívnak tekintettük, és a savót a DOTE Mikrobiológiai Intézetébe küldtük, ahol az ORGANON cég ELISA-tesztjével újra elvégezték a vizsgálatot.

Eredmények

A vizsgálati idő alatt (1992. november 1. és 1993. december 31. között) 90 donor esetén végeztük el Abbott-tesztel az AIDS-vizsgálatot. 88 esetben negatív eredményt kaptunk, két esetben viszont a reakciós lemezen pozitív jelet találtunk. Az újratesztelés során (ha a vizsgálatot ugyanabból a savóból egy másik lemezen újra elvégeztük) mindkét minta reprodukálható módon bizonyult pozitívnak. Természetesen e két esetben nem végeztük el a szaruhártya-átültetést. Az ellenőrző ELISA-vizsgálat viszont mindkét esetben negatív eredménnyel zárult. Eredményünket álpozitívnak értékeltük.

Megbeszélés

Az a kérdés, hogy a fertőzött graft okozhat-e szerokonverziót a recipiensnél, még nem eldöntött. Az irodalomból ismerünk olyan eseteket [9, 12, 16, 17], amelyekben HIV-fertőzött donorból történt szaruhártya-átültetés. Ezek részben a szűrővizsgálatok bevezetése előtt történtek, részben abból adódtak, hogy a szűrővizsgálat a fertőzés megtörténte után, de az ellenanyagok megjelenése, azaz a szerokonverzió előtt, az ún. ablak periódusban történt. A követési idő alatt egyik szaruhártya-átültetésen átesett recipiensben sem sikerült szerokonverziót, vagy manifeszt betegséget kimutatni. Ezzel szemben, ha az AIDS-pozitív cornea donorból más szervek és szövetek (szív, tüdő, vese stb.) átültetése is történt, akkor a szervrecipiensek mindegyike már néhány hét múlva AIDS-tüneteket mutatott (láz, leukopenia, enyhe thrombopenia, splenomegalia), majd HIV-pozitívvá vált. *Pepose* és munkatársai néhány olyan esetről számolnak be, ahol a HIV-szűrővizsgálat pozitív eredményét csak napokkal a cornea transzplantáció után tudták meg. Egyik recipiens sem lett beteg a közlés időpontjáig. Ennek a különbözőségnek lehetséges magyarázata, hogy a cornea avascularis, a centralis 8,0-8,5 mm-es korongon belül, melyet perforáló kertoplasztikára használunk. A kompakt szerkezetű stroma kevés szöveti rést tartalmaz, valószínűleg téve ezáltal a fertőzött lymphocyták átadását. Az is lehetséges, hogy a szervezetbe jutó vírus mennyisége nem elegendő [14]. Nem tudjuk, hogy a HIV-pozitív donorból származó corneák mekkora hányadában találhatók fertőző víruspartikulumok, illetve az átültetett korong sejtjei milyen százalékban tartalmaznak vírusokat [14]. *Salahuddin* a cornea epithelsejtek két-három százalékában detektálta a humán immunodeficiencia vírust [14]. Egyes szerzők megfigyelései alapján a HIV-infekció rizikója fertőzött tüvel való véletlen szúrás során jóval kevesebb, mint azonos körülmények között a hepatitis B vírus (HBV) transzmissziója. Ezt valószínűleg az magyarázza, hogy a fertőző vírusrészecskék száma azonos mennyiségű vérben HIV-pozitivitás esetén lényegesen kisebb (10^4 /ml), mint HBV-fertőzötteken (10^{13} /ml) [8]. Meg kell azonban jegyezni azt is, hogy nem tekinthetjük teljesen azonosnak a két vírus (HIV és HBV) terjedési módját sem.

Az AIDS dementia komplex jelenléte alapján következtetnek a HIV neurotróp jellegére [2, 11], ami a rabies és a Creutzfeld-Jakob-betegségek kórokozóihoz teszi hasonlónak. Mindkét betegség átadható cornea transzplantációval is.

Scheiffarth és mtsai [15] egészséges corneában mutatták ki lymphocyták jelenlétét, amely továbbra is felveti az AIDS lehetséges terjedését keratoplasztika során.

Előző megfigyelések a szűrővizsgálatokra alkalmazott kitek (Abbott-teszt) érzékenységét megfelelőnek tartják. A szűrővizs-

gálati kitek alkalmazásakor a valódi pozitív reakciók mellett álpozitív reakciókat is kaphatunk (a módszer specificitása nem éri el a 100%-ot). Ezeket a reakciókat általában úgy állítják be, hogy túlérzékenyek legyenek, hogy minél biztosabb szűrés tegyenek lehetővé (biztosan ne legyenek álnegatív esetek). Álpozitivitást adhatnak HTLV-1 antitestek a szérumban, magas titerű anti HLA antitestek, krónikus hepatitis-B, malignus lymphoproliferatív betegségek [18]. Az általunk vizsgált két álpozitív minta malignus tumorban meghalt donorokból származott.

Összefoglalásképpen megállapíthatjuk, hogy az általunk használt gyorsdiagnosztikai tesztet megfelelőnek tartjuk a donorok szűrővizsgálatára friss cornea esetén. A vizsgálat könnyen, gyorsan elvégezhető. Akár néhány perc alatt kizárható vagy valószínűsíthető a HIV-fertőzés. A teszt kevésbé felszerelt laboratóriumban is alkalmazható. A gyorsdiagnosztikai tesztek azonban ma még nem tökéletesek, csak szigorúan ellenőrzött körülmények között használhatók. Ennél megbízhatóbb szűrővizsgálati módszer az ELISA-technika, amely azonban költségesebb, bonyolultabb, időigényesebb, felszerelt laboratóriumot igényel, hátránya azonban, hogy csak konzerv corneák átültetése esetén alkalmazható.

Irodalom

1. *Baudouin C., Laffont C., Cottarloda J., De Galleani B., Gastaud P., Lefevre J. C.*: Isolement du LAV/HTLV 3 dans les larmes de sujets atteints d'ARC syndrom J. Fr. Ophthalmol 10, 135 (1987).
2. *Cohen S. Y., Dezard X., Nicolon L., Pynson J., Cochet P.*: Dépistage systématique des anticorps anti-HIV chez le donneur avant keratoplastie: justification et modalités pratiques J. Fr. Ophthalmol 12, 47 (1989).
3. *Doro S., Navia B. A., Kahn A., Pumarola-Sune T., Price R. W.*: Confirmation of HTLV-III virus in cornea Am. J. Ophthalmol 102, 390 (1986).
4. *Fujikawa L. S., Salahuddin S. Z., Ablashi D., Palestine A. G., Masur H., Nussenblatt R. B., Gallo R. C.*: Isolation of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type III from the tears of a patient with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) Lancet 2, 529 (1985).
5. *Fujikawa L. S., Salahuddin S. Z., Ablashi D., Palestine A. G., Masur H., Nussenblatt R. B., Gallo R. C.*: Human T-cell leukemia/lymphotropic virus type III in the conjunctival epithelium of a patient with AIDS Am. J. Ophthalmol 100, 507 (1985).
6. *Fujikawa L. S., Salahuddin S. Z., Ablashi D., Palestine A. G., Masur H., Nussenblatt R. B., Gallo R. C.*: Human T-cell leukemia/lymphotropic virus type III in the tears of AIDS patients Ophthalmol 93, 1479 (1986).
7. *Gallo R. C., Salahuddin S. Z., Popovic M., Shearer, G. M., Kaplan M., Haynes B. F., Palker T. J., Redfield R., Oleske J., Safai B., White G., Foster P., Markham P. D.*: Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV 3) from patients with AIDS and at risk for AIDS Science 224, 500 (1984).
8. *Grant R. M., Wiley J. A., Winkelstein W.*: Infection of the HIV: estimates from a prospective study of homosexual men J. Inf. Dis 156, 189 (1987).
9. *L'Age-Stehr J., Schwartz A., Offerman G., Langmaak H., Bennhold I., Niedrig M., Koch M. A.*: HTLV III infection in kidney transplant recipients Lancet 2, 1361 (1985).
10. *O'Day D. M.*: The risk posed by HTLV-III-infected corneal donor tissue Am. J. Ophthalmol 101, 246 (1986).
11. *Pepose J. S., MacRae S., Quinn T. C., Holland G. N.*: The impact of the AIDS epidemic on corneal transplantation Am. J. Ophthalmol 100, 610 (1985).
12. *Pepose J. S., MacRae S., Quinn T. C., Ward J. W.*: Serologic markers after the transplantation of corneas from donors infected with Human Immunodeficiency Virus Am. J. Ophthalmol 103, 798 (1987).

13. *Pepose J. S., Pardo F., Kessler J. A., Kline R., Donegan E., Quinn T. C.*: Screening cornea donors for antibodies against HIV. Efficacy of ELISA testing of cadaveric sera and aqueous humor *Ophthalmol* 94, 95 (1987).
14. *Salahuddin S. Z., Palestine A. G., Heck E., Ablashi D., Luckenbach M., McCulley J. P., Nussenblatt R. B.*: Isolation of the human T-cell leukemia/lymphotropic virus type III from the cornea *Am. J. Ophthalmol* 101, 149 (1986).
15. *Scheiffarth O. F., Stefani F. H., Gabriel N., Lund O. E.*: T-lymphocytes of the normal human cornea *Br. J. Ophthalmol* 71, 384 (1987).
16. *Schwartz A., Hoffmann F., L'Age-Stehr J., Tegzess A. M., Offermann G.*: Human immunodeficiency virus transmission by organ donation-Outcome in cornea and kidney recipients *Transplantation* 44, 21 (1987).
17. *Simonds R. J., Holmberg S. D., Hurwitz R. L., Coleman T. R., Bottenfield S., Conley L. J., Kohlenberg S. H., Castro K. G., Dahan B. A., Schable C. A., Rayfield M. A., Rogers M. F.*: Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a seronegative organ and tissue donor *The New England J Medicine* 326, 726 (1992).
18. *Wilhelmus K. R., Farge E. J.*: HIV antibody screening of corneal donors *Ophthalmologica, Basel* 195, 57 (1987).

Cím: **Dr. Szalka Andrea**
 DOTE Szemklinika
 4012, Debrecen, Nagyerdei krt. 98.

Beszámoló

az Alpok-Adria Közösség 18. Szemészeti Kongresszusáról (Opatija, 1994. október 6-8.)

A horvát tengerparti üdülőhelyen tartott kongresszusnak kb. 150 résztvevője volt, többségükben horvátok és szlovének, néhány olasz, angol és a Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Szemklinikájának képviselőjében magam vehettem részt.

A kongresszusnak két fő témája volt: I. A diabeteszes retinopathia korai diagnózisa és kezelése, a diabetesz és glaukóma kapcsolata; II. a látóideg fiziopatológiája és szabadon választott témák.

A kongresszust a Calcium dobesilat témájú kerekasztal-konferencia vezette be, amelynek során hangsúlyozták, hogy alkalmazása a diabeteszes retinopathia megelőzésére és kezdeti stádiumában hatásos, a nálunk eddig alkalmazott nagyobb mennyiségben (többet tablettából, a kezdeti adag 3x2, fenntartó adag 2x2) kell adni.

A korai RP diagnózisában hangsúlyozták a fluoreszcen angiográfia jelentőségét, a proliferatív DR korai diagnózisában pedig az ultrahangvizsgálat jelentőségét. Egy szlovén felmérés szerint a diabeteszes betegek jelentős hányada későn kerül szemorvoshoz és hiányzik a betegek felvilágosítása, hogy a későn végzett szemészeti vizsgálatnak milyen súlyos következményei lehetnek. A fundus lézer kezelésével kapcsolatos módszerek, eredmények, a vitrectomia eredményei megegyeztek az Európában az utóbbi években ismertett módszerekkel és ered-

ményekkel. A zágrábi nagy statisztikát elemezve, az 1992-1994 között végzett 2864 ECCE+PCL esetből 19% volt diabeteszes és ezek közül 80%-ban nem volt ismert az RP jelenléte. Ezért korai műtétet javasolnak, ha a fundus megtekintése és kezelése akadályozott. A glaukóma előfordulása Horvátországban 1,6%-os, diabeteszben ez 12,8%. Saját előadásunkban bemutattuk, hogy diabeteszben több cardiovascularis és cerebrovascularis betegség fordult elő, mint a nem diabeteszes glaukómás betegeknél és ennek megfelelően több látótérkiesés jelentkezett az alsó látótér-félben, mint a kontrollcsoportban. Az n. opticus fiziopatológiájával foglalkozó előadás a normális és atrófiás látóideg pásztázó elektronmikroszkópos képét hasonlította össze, az utóbbiban kevés axon és üres pia szeptumok voltak kimutathatók. A szabad előadások közül, többek között, a mitomycin C alkalmazása a recidiváló pterygium kezelésében, az emlős neutrális retina túlélésére és átalakulására vonatkozó eredmények keltettek érdeklődést.

A kongresszus hangulata baráti és bizakodó volt, a kongresszus szervezése gördülékeny, a résztvevők kellemes élményekkel gazdagodva tértek haza.

A következő Alpok-Adria kongresszus Triesztben lesz, 1995. szept. 15-16-án.

Follmann Piroska