

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ADANA



DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI
TEST REHBERİ

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BALCALI HASTANESİ MERKEZ LABORATUVARI
DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI
ADANA

İLETİŞİM REHBERİ

DOKU TİPLENDİRME LABORATUVAR SORUMLUSU

PROF. DR. ÖZLEM GÖRÜROĞLU ÖZTÜRK

DAHİLİ : (3145)

DOKU TİPLENDİRME LABORATUVAR SORUMLU

YARDIMCISI

ÖĞR.GÖR.SUZAN DİNKÇİ

ÖĞR.GÖR.GÜLÇİN DAĞLIOĞLU

DAHİLİ : (3145)



DOKU TIPLENDİRME LABORATUVARI TEST REHBERİ

İÇİNDEKİLER	1
1-Amaç	2
2-Doku Tiplendirme Laboratuvarı	2
3-Doku Tiplendirme Laboratuvarında Kalite Kontrol Çalışmaları	2
3.1-İç (Internal) Kalite Kontrol	2
3.2-Dış (External) Kalite Kontrol	2
4- 78-3 Doku Tiplendirme İstem Formunda Yer Alan Testlerin Girişi	2
5-Numunelerin Alınması ve Laboratuvara Transferi	2
5.1-Kan Örneklerinin Alınması	2
5.2-Acil Servis ve Yataklı Birimlerde Kan Örneklerinin Alınması	3
5.3-Örnek Saklama ve Sonuç verme süresi	3
5.4. Kurum dışı hastanelerden gelen örneklerin transferi, kabulü ve saklama koşulları, sonuç verme süresi.	3
6- Kan Örneklerinin Alınmasında Dikkat Edilmesi Gereken Konular	4
6.1-Kan Örneklerinin Alım Kuralları	4
6.2-Kan Örnekleri Verilmeden Önce Dikkat Edilmesi Gereken Konular	4
7-Doku Tiplendirme Laboratuvarındaki Testlere Ait Örnek Tüpleri	4
7.1-Mor Kapaklı Tüp(EDTA'lı)	4
7.2-Sarı Kapaklı (Jelli Tüp)	4
7.3-Yeşil kapaklı (Lityum heparinli tüp)	5
8-Doku Tiplendirme Laboratuvarına Örneklerin Transferi ve Ayrışımı	5
9-Doku Tiplendirme Laboratuvarı Örnek Kabul Kriterleri	5-6
10-Doku Tiplendirme Laboratuvarı Örnek Red Kriterleri	6
11-Doku Tiplendirme Laboratuvarı Sonuçlarına Erişim ve Sonuç Teslim Süreleri	6
11.1-Doku Tiplendirme Laboratuvarı Test Tablosu	6
12-Doku Tiplendirme Laboratuvarı Personelinin Eğitimi	6
13-Doku Tiplendirme Laboratuvarında Yapılan Testler ve Uygulama Talimatları	6
13.1-Analizlerde Kullanılan Numuneler	6
13.2-Doku Tiplendirme Laboratuvarında yapılan analizler	6
13.2.1-Serolojik Çalışmalar	7
13.2.1.1-Lenfosit Cross-Match testi	7
a-Kandan T ve B Lenfosit Hücre İzolasyonu ve Cross-Match Testi Çalışma Talimatı:	7-8
b-Dalaktan T ve B Lenfosit Hücre İzolasyonu	8
c-DDT'li Lenfosit Cross-Match(LCM) Testi	8-9
d-Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması	9
13.2.2-Moleküler Çalışmalar	9
13.2. 2.1-Analizlerde Kullanılan Numuneler	9
13. 2.2.2- Kandan DNA İzolasyonu	9
13.2.2.3-HLA Tiplendirme Protokolü	10
A-HLA-ABDRB1 (SSP/SSO) Analizi	10-11
B-HLA(A,B,C,DRB1,DQB1-SSO) Analizi	
C-HLA-B*57:01 SSP Analizi	11
14-PRA Testi	12
14.1-PRA Sınıf I/II Tarama ve Tanımlama Testleri Çalışma Talimatı	
15. Anti HLA CLASS I (Single Antijen), Anti HLA CLASS II (Single Antijen) Testi Prosedürü	12
16.Dış Laboratuvar Hizmet Alımı	13
EK-1 Doku Tiplendirme Laboratuvarında Çalışılan Testlere Ait Örnek Alınması Talimatı	13-18
EK-2 Doku Tiplendirme Laboratuvarında Yapılan Testlerin Listesi	18-20



DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI TEST REHBERİ

- AMAÇ:** Test rehberi, laboratuvar işleyişini başta klinisyenler olmak üzere diğer hastane çalışanlarıyla paylaşmak, laboratuvar işleyişi konusunda bilgilendirmek ve olabilecek aksaklıkları gidermek amacıyla hazırlanmıştır. Rehberde her testin adıyla birlikte çalışılan örnek türü, örneğin alındığı tüp, çalışılan metot, referans değerler, çalışma günleri ve rapor tarihleri belirtilmiştir. Test bilgileri güncellendiğinde, değişiklikler ilgili birimlere bildirilecektir. Daha güvenilir sonuçlar vermek ve kaliteli hizmet edebilmemiz için, test istemleri yapılırken hastayla ilgili bilgilerin, istem yapan doktorun isminin, gönderen birimin, ön tanı kısmındaki bilgilerin eksiksiz doldurulması, örneklerin ise, test rehberinde belirtilen, örnek kabul kriterlerine uygun bir şekilde gönderilmesi önemlidir. Bu test rehberinde Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Doku Tiplendirme Laboratuvarına(DTL) ait istem formunda yer alan testler ve bu testlerle ilgili ayrıntılı bilgilere yer verilmiştir.
- HLA DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI:** Organ ve doku nakli öncesi hasta ve vericiye ait sonuçların değerlendirilmesi, klinik olarak anlamlılığının sağlanması ve risklerin belirlenmesi, hasta ve organ sağ kalımı için kritik öneme sahiptir. Üniversitemiz Doku Tiplendirme Laboratuvarı; solid organ (böbrek, kalp ve karaciğer) ve kök hücre nakline hazırlanan hastalar ve onların potansiyel donörleri arasındaki, en iyi alıcı-verici uyumu, eşleşmesi ve transplantasyon başarısı için hayati önem arz eden testlerin çalışıldığı bir laboratuvardır.
- DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARINDA KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARI**
 - İÇ (İTERNAL) KALİTE KONTROL:** İç kalite; sonuçları önceden bilinen normal ve kontrol örnekleri hasta örneği gibi analiz edilerek, elde edilen değerlerin beklenen aralıklarda olup olmadığı kontrol edilir. Bu süreçte sonuçlar hedeflenen şekilde saptanırsa hastadan alınan örnekler çalışılır. Sonuçlarda beklenenden bir sapma gözleendiğinde cihazların ölçüm ayarları yeniden yapılır ve yeniden İç Kalite Kontrol Örnekleri çalışılır. Bunlar hedef değerlerde ise hasta örnekleri çalışılır. Elde edilen test sonuçları hastanın önceki sonuçları ile karşılaştırılır. Doku Tiplendirme Laboratuvarında bulunan bütün cihazların günlük açılış işlemlerinde, kontrol ve bakımı yapılır, reaktifler hazırlanır. Testlere ait kontroller (negatif ve pozitif kontrol kullanılır) hazırlanır, bütün cihazlarda iç kalite çalışmaları yapılır ve sonuçları teknisyenler, biyolog ve sorumlu uzman tarafından kontrol edilerek kalite kontrol örnekleri değerlendirilir. Ayda bir cihaz kalibrasyonu yapılır. Sonuçlar kayıt altına alınır. HLA testleri için iç kalite kontrol olarak 6 ayda bir daha önce sonuçlandırılmış örnekler seçilir, farklı tarihlerde farklı teknik eleman tarafından yeniden çalışılır sonuçlar karşılaştırılarak değerlendirme raporu hazırlanıp dosyalanır.
 - DIŞ (EKSTERNAL) KALİTE KONTROL:** Laboratuvarımız Balkan External Proficiency Testing (BEPT) ve UKNEQAS dış kalite kontrol programlarına dahildir. Her yıl bu programlar dahilinde bize gönderilen örnekler çalışılır ve sonuçlar değerlendirilmek üzere gönderilir. Değerlendirme sonucu gelen dış kalite sonuç raporları Doku tiplendirme laboratuvar sorumlusu ve sorumlu yardımcısı tarafından değerlendirildikten sonra sonuçlarla ilgili bir problem varsa problemin nedeni araştırılarak, raporlanır. Herhangi bir problem yoksa sonuç değerlendirme raporu hazırlanıp dosyalanarak saklanır.
- DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI İSTEM FORMUNDA YER ALAN TESTLERİN GİRİŞİ:** Doktor tarafından istenen testler ilgili bölümün otomasyon sekreteri tarafından hastane otomasyon sisteminde yer alan giriş sayfası açılarak testin kodu işaretlenerek girişi yapılır. HLA istemi yapılırken; HLA istemleri aynı zamanda istem kâğıtlarına yapılmalı ve istemler kanlarla birlikte mutlaka laboratuvara ulaştırılmalıdır. HLA istemlerinde formda yer alan bilgiler eksiksiz doldurulmalıdır.
- NUMUNELERİN ALINMASI VE LABORATUVARA TRANSFERİ**
 - 5.1.Kan örneklerinin alınması:** Hastane içi polikliniklerden ve kliniklerden gelen (Kemik iliği ve solid organ transplant adayları ve donörlerinin) kan örneklerinde serolojik ve moleküler düzeyde testler çalışılır. Ayrıca kadavra donör için doku tiplendirmesi ve renal transplant adaylarına Lenfosit Cross-match (LCM) testi çalışılır. Polikliniklerden yapılan test isteklerinin LİS'e kaydı yapıldıktan sonra, örnekler ilgili birimin kan alma birimindeki görevli hemşireler tarafından hastanın kimlik bilgileri kontrol edilerek ve testlere uygun örnek tüpü seçimi yapılarak alınır. İlgili birimlerde alınan kan örneklerinin transferi her birimin kan transferinde görevli elamanı tarafından en kısa sürede laboratuvarımıza ulaştırılır. Alınan kan örneklerinin üzerine yapıştırılmış olan etikette; **hasta adı-soyadı, hastanın barkod numarası, istem kabul tarihi ve saati, istemi yapan polikliniğin adı ve çalışılacak testin adını** belirten

bilgiler yer almaktadır. Örnek üzerindeki etikette yer alan bilgiler laboratuvarında görevli teknik eleman tarafından kontrol edildikten sonra eksiksizse imza karşılığı teslim alınır.

5.2.Acil Servis ve yataklı birimlerde kan örneklerinin alınması: Yataklı birimlerde ve Acil Serviste kimlik doğrulaması yapıldıktan sonra kan alma işlemi gerçekleştirilir. Hekim test taleplerini otomasyon sisteminden yapar. Klinik hemşiresi sistemde talepleri görür. Testlerin barkotlarını basar, tüplere yapıştırır. Barkotlarda hastanın kimlik tanımlayıcılarıyla birlikte, testin adı, testin hangi servisten istendiği, örneğin alınış tarihi ve saati yer alır. Böylece numune alım tarihi ve saati HBYS(Hastane Bilgi yönetim Sisteminden) ve buna entegre çalışan Laboratuvar İşletim Sistemi'ne (LİS) kaydedilmiş olur.

- i. HLA istemlerinde hasta veya donörlerden en az 3 cc'lik 1 adet CBC(Edta'lı) tüpüne kan alınmalıdır.
- ii. Panel reaktif antikor testlerinde alıcıdan(hastadan) 1 adet jelli tüpe 5 cc kan alınmalıdır.
- iii. Anti- HLA Class I (Single Antijen), Anti- HLA Class II (Single Antijen) testi için alıcıdan 1 adet jelli tüpe 5 cc kan alınmalıdır
- iv. Cross-Match testinde alıcıdan (hastadan) 1 adet jelli tüpe 5cc kan alınmalıdır. Donörden (en az 3 cc'lik) 3 adet Lityum Heparinli kan (ya da ACD li kan) alınmalıdır.
- v. Kemik iliği nakli olacak hastalarda, HLA testi için; her hastanın öncelikli olarak anne, baba ve kardeşler olmak üzere birinci derece yakınlarından kan gönderilmeli, uyum olmadığı takdirde diğer donörler, aynı anda toplu halde değil, beşer gruplar halinde gönderilmelidir. Her seferinde istem yapılan beşerli grup bir önceki gönderilen gruptan sonuç alınmadığı takdirde gönderilmelidir.

5.3. Örneklerin saklanma ve sonuçların verilme süreleri

- vi. Oda ısısında edta'lı tüpte laboratuvara getirilen, HLA-ABDRB1 SSP/SSO çalışılacak, kan örnekleri + 4 ° C'de muhafaza edilir. Çalışma günü DNA'sı çıkarılarak çalışma yapılır. Çalışma sonrasında DNA örnekleri -20 °C'de muhafaza edilir. HLA-ABDRB1 SSP/SSO sonuçları 15 gün içinde sonuçlandırılır. Solid organ nakli için çalışılan HLA-ABDRB1 SSP/SSO sonuçları hasta veya doktoruna verilmez. Sağlık Bakanlığı Transplantasyon Diyaliz ve İzlem Sistemine (TDIS), sonuçlar iki kişi tarafından çift kontrollü olarak girilir.
- vii. Kemik iliği transplantasyonu için çalışılan HLA-A,B,C,DRB1,DQB1 SSO sonuçları hasta yoğunluğuna göre 1 ay içerisinde, sonuçlandırılır. Sonuçlar hastaya verilmeyip istemi yapan doktor veya doktorun görevlendirdiği bir personele, Doku Tiplendirme Laboratuvarındaki görevli personel tarafından, imza karşılığı verilmektedir.
- viii. Laboratuvara ulaştırılan PRA tarama, tanımlama Anti-HLA Class I (Single Antijen) ve Anti-HLA Class II (Single Antijen) çalışılacak kanların santrüfüj edilerek serumları ayrı bir tüpe alınır. Tüp üzerine hastanın kimlik bilgilerini içeren barkod yapıştırılır. Çalışma hemen yapılacaksa örnekler çalışmaya alınır. Çalışma hemen yapılmayacaksa -20 °C'de saklanır. PRA Class I ve Class II tarama, tanımlama, Anti- HLA Class I (Single Antijen) ve Anti- HLA Class II (Single Antijen) sonuçları 20 gün içerisinde verilmektedir. Bu testlerin sonuç girişleri LBYS sistemine iki kişi tarafından çift kontrollü olarak yapılır. Hizmet alımı yapan kurumların sonuçları ise kurumun görevlendirdiği personele imza karşılığı teslim edilir.
- ix. Cross-match testi laboratuvardan randevu alınarak çalışılmaktadır ve sonuç girişleri aynı gün veya bir gün sonra LBYS sistemine iki kişi tarafından çift kontrollü olarak aktarılır. Hizmet alımı yapan kurumların sonuçları ise kurumun görevlendirdiği personele imza karşılığı verilmektedir.
- x. Hastalardan kan alınırken kan alma biriminde; sonuçlar çıktığı zaman hastanın telefonuna sonucunuz çıkmıştır mesajının iletileceği bilgisi verilmektedir.

5.4. Kurum dışı hastanelerden gelen örneklerin transferi, kabulü ve saklama koşulları, sonuç verme süresi **"Doku Tiplendirme Laboratuvarı Kurum Dışı Hastanelere verilecek Hizmet Prosedürü"**ne uygun şekilde gerçekleştirilir.

Örnek kabulü hafta içi her gün mesai saatleri (08:00-16:00) arasındadır. Hafta sonu ve resmi tatillerde örnek kabulü yapılmaz (Kadavra hariç)

- ii Kurum dışı hastaneden doku tiplendirme, PRA tarama/tanımlama ve cross-match testi için alınan örneklerin istem girişi ilgili kurumun görevlendirdiği personel tarafından hastanemizin Dr. Feyyaz Etiz Hematoloji ve Onkoloji hizmet binasında yer alan Çocuk Onkoloji polikliniğinde yaptırılır (yetkilendirilmiş otomasyon sekreteri tarafından giriş Dahiliye Genel Polikliniği, Anlaşmalı kurum olarak yapılır). İstem girişi yaptırılan örnekler yine kurum dışı hastane görevli personeli tarafından doku tiplendirme laboratuvarına maksimum iki saat içerisinde ulaştırılır ve laboratuvardaki ilgili

- personale imza karşılığı (örnek teslim formu-2) teslim edilir.
- iii. Laboratuvarda teslim alınan örnekler örnek tüpleri üzerindeki bilgilerin doğruluğu kontrol edilerek teslim alınır ve örnekler ‘‘örnek saklama talimatına’’ göre saklanır.
 - iv. HLA-ABDR SSP/SSO sonuçları hasta veya doktoruna verilmeyip Sağlık Bakanlığı Transplantasyon, Diyaliz ve İzlem Sistemlerine (TDIS) iki kişi tarafından çift kontrollü olarak girilir.
 - v. PRA ve cross match testi sonuçları ise kurum dışı hastane görevlisine imza karşılığı teslim edilir.

6. KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASINDA DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN KONULAR

6.1. Kan Örneklerinin Alım Kuralları:

- i. Hasta en az 15 dakika kadar rahat bir pozisyonda olmalıdır. Kol omuz hizasında düz durmalıdır.
- ii. Fistül, damar grefti uygulanmış ya da mastektomili meme tarafındaki kol, ödemli ve skarlı bölgeler, hematom, kan transfüzyonu ile IV sıvı tedavisi uygulanan kolda üst seviyeler, zorunlu kalınmadıkça venöz kan alımı için uygun değildir.
- iii. Hematom oluşabileceğinden hastanın kolu kesinlikle bükülmemelidir.
- iv. Hem geniş hem de yüzeğe yakın damar seçilmelidir.
- v. Hastaya IV infüzyon yapılıyorsa infüzyona 5 dakika ara verildikten sonra veya mümkünse diğer koldan kan alınmalıdır.
- vi. Turnike, kan alınacak damardan yaklaşık 10 cm. yukarı bağlanır. Turnike en fazla bir dakika uygulanmalıdır ve iğne damara girdikten sonra hemen gevşetilmelidir.
- vii. Kan, enjektör ile alınmış ise, hemoliz olmaması için iğne çıkarıldıktan sonra yavaşça ve tüp kenarından kaydırarak tüpe boşaltılmalıdır.
- viii. Damara girilmeden önce yumruk açılıp kapatılmamalıdır; bu hareket, plazma potasyum, fosfat ve laktat konsantrasyonlarını artırır.
- ix. Önce katkı maddesiz, sonra katkı maddeli tüplere kan alınmalıdır.
- x. Özellikle HLA testleri için hastaya kan transfüzyonu yapılması sonuçları etkileyebileceğinden test yapılmadan önce transfüzyon bilgisi mutlaka sorgulanmalıdır. Eğer transfüzyon yapılmışsa **örnek alımı için aradan en az 2 hafta geçmiş olmasına dikkat edilmelidir.**

6.2. Kan Örnekleri Verilmeden Önce Dikkat Edilmesi Gereken Konular

- xi. Laboratuvar testleri için sabah kan verilmelidir
- xii. Hastaneye gelmeden önce ağır ve zorlayıcı egzersiz yapılmamalıdır, kan vermeden önce, yarım saat kadar dinlenilmesi önerilir.
- xiii. Düzenli olarak kullanılan ilaçlar varsa, kan vermeden önce doktora danışılması gerekmektedir.

7. DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARINDAKİ TESTLERE AİT ÖRNEK TÜPLERİ

7.1..MOR KAPAKLI TÜP(EDTA’LI) (Doku Tiplendirme Testlerinde Kullanılır)



7.2.SARI KAPAKLI JELLİ TÜP:(PRA- Anti-HLA Class I (Single Antijen) , Anti-HLA Class II (Single Antijen) ve Lenfosit Cross Match, testlerinde kullanılır.)



7.3. YEŞİL KAPAKLI LİTYUM HEPARİNLİ TÜP :(cross match testlerinde kullanılır)



8. DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI'NA ÖRNEKLERİN TRANSFERİ VE AYRIŞTIRILMASI:

- a. Laboratuvar İşletim Sistemi'ne (LİS) test girişleri yapılırken testlerin aynı zamanda HBYS (Hastane Bilgi yönetim Sisteminden) test girişleri ve kayıtları yapılmış olması gereklidir.
- b. Kan örneklerinin üzerinde mutlaka barkot olmasına dikkat edilmelidir.
- c. İstem girişleri yapılan poliklinik hastalarının kan örnekleri hastanemiz, Yüreğir Yerleşkesi, Hastanemiz Yetişkin Kan Alma Birimi, M.Feyyaz Etiz Onkoloji-Hematoloji Hizmet Binası ve Çocuk Sağlığı Hastalıkları Poliklinik Hizmet Binası kan alma biriminde görevli hemşireler tarafından alınmaktadır.
- d. Yüreğir yerleşkesinde alınan kan örnekleri Merkez laboratuvarı örnek transferi görevli personeli tarafından saat 10:00, 12:00, 14:00 ve 16:00 olmak üzere gün içerisinde 4 kez, '**numune transferi talimatına**' uygun şekilde, doku tiplendirme laboratuvarına ulaştırır. Numuneler taşıma kabında oda sıcaklığında taşınmalıdır. Numune kabının ısısının numune kabında yer alan ısı ölçer aracılığıyla uygun ısı aralığında (22-24 °C) olup olmadığı kontrol edilerek ısı değerleri kayıt altında tutulur.
- e. Hastanemiz Yetişkin Kan Alma Birimi, M.Feyyaz Etiz Onkoloji-Hematoloji Hizmet Binası ve Çocuk Sağlığı Hastalıkları Poliklinik Hizmet Binasında saat 08:00-16:00 arasında kan alma biriminde görevli hemşireler tarafından alınan kan örnekleri ise ilgili birimin personelleri tarafından örnek alındığı andan itibaren **maksimum iki saat içerisinde** laboratuvarımıza ulaştırılır. Örnekler laboratuvarda testi çalışan ilgili personel tarafından imza karşılığında (Örnek teslim formu-1) teslim alınır.
- f. Acil Servis ve yataklı birimlerden alınan tüm kan örnekleri de **maksimum iki saat içerisinde ilgili birimin** personeli tarafından doğrudan Doku Tiplendirme laboratuvarına ulaştırılır. Laboratuvardaki testi çalışan ilgili personel imza karşılığında (Örnek teslim formu-1) örnekleri teslim alır.

- g. Kurum dışı hastaneden gönderilen kan örnekleri laboratuvarda testi çalışan ilgili personel tarafından(Örnek teslim formu-2) imza karşılığı teslim alınır.
Laboratuvara ulaşan kan örnekleri laboratuvar teknisyenlerince düzenli olarak toplanır ve testlere göre gruplanır.
- g. Testlere göre gruplanmış kanların, numune kabul kriterlerine göre uygunluğu kontrol edilir, kabul-red kriterleri doğrultusunda barkod okuyucudan geçirilerek girişi yapılır.

9. DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI ÖRNEK KABUL KRİTERLERİ:

- a. Örnekler analize uygun tüp veya kaplara alınmış olmalıdır.
- b. Örnekler testlere uygun vakumlu tüplere (kanın enjektörle alınmaması gerekir) ve örnek kaplarına alınmış olmalıdır.
- c. Örnekler hemolizli olmamalıdır.
- d. Örnekler yeterli miktarda alınmış (tüpün yarısından fazlası dolu olmalıdır) olmalıdır.
- e. Hastane bilgisayar sistemine girilen ve barkod etiketi kesilen örnekler kabul edilir.
- f. Barkod etiketleri silik ve yırtık olmamalı, barkod etiketi tüpün etiketi üzerine denk gelecek şekilde düzgün yapıştırılmış olmalıdır.
- g. Örnek kabının üzerindeki barkoddaki hasta bilgilerinin doğruluğu kontrol edilmelidir.

10. DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI ÖRNEK RED KRİTERLERİ

- a. Kayıtsız / barkodsuz numuneler.
- b. Uygun zaman periyodunda gelmeyen numuneler.
- c. Uygun tüpe ve/veya kaba alınmamış numune.
- d. Hemolizli numune.
- e. Antikoagülan içeren tüplerle alınması gereken numunelerde kan miktarının gereğinden az
- f. veya çok olması.
- g. Antikoagülanlı tüplere alınan kanlarda pıhtı olması.
- h. Numune miktarının gereğinden az olması (kan, idrar, vb.)
- i. Barkodun numune kabı veya tüpü üstünde uygunsuz veya hasarlı yapıştırılmış olması.
- j. Çok beklemiş numuneler (kan, idrar, vb.)
- k. Kontamine edilmiş numune alımı (Örneğin: Mayii giden koldan kan alınması,vb.)
- l. Numunenin otomasyon kontrolünde alma zamanının belli olmaması ve/veya numunenin üzerindeki barkod etiketinde numune alım zamanının yazılmamış olması.
- m. Test istem formlarına hasta ile ilgili klinik bilgi yazılmaması.
- n. Laboratuvara, uygun transfer koşullarında gelmeyen numuneler.
- o. Kırık veya steril olmayan kaplar ile gönderilen numuneler olması.

11. DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI SONUÇLARINA ERİŞİM VE SONUÇ TESLİM SÜRESİ
11.1.DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI TEST TABLOSU

TEST ADI	ÖRNEK	YÖNTEM	ÇALIŞMA GÜNÜ	RAPORLAMA TARİHİ	TÜP
HLA Testleri	Tam Kan	Moleküler Yöntem	Mesai Saatleri	(HLA-A, B, C, DRB1, DQB1) SSO 1 ay (HLA SBT) 1 ay (HLA-A, B, DRB1 SSP/SSO) 15 gün HLA-B*57:01 15 gün	EDTA'lı
PRA Testleri PRA tarama PRA tanımlama	Serum	Serolojik Yöntem	Mesai Saatleri	20 gün	Düz Tüp
Anti HLA Class I Anti HLA Class II	Serum	Serolojik Yöntem	Mesai Saatleri	20 gün	Düz Tüp
Cross-Match Testi	Serum ve Tam Kan	Serolojik Yöntem	Mesai Saatleri	1 gün	Düz Tüp ve Lityum Heparinli veya ACD li tüp

12. DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI PERSONELİNİN EĞİTİMİ: Doku Tiplendirme Laboratuvarı yıllık eğitim planı mevcut olup, her yıl yenilenmektedir.

13. DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARINDA YAPILAN TESTLER ve ÇALIŞMA TALİMATLARI

13.1.Analizlerde Kullanılan Numuneler

- Crossmatch testinde donörün kanından elde edilen T ve B lenfosit hücreleri ve hasta serumu kullanılır.
- Moleküler çalışmalarda ise kullanılan materyal kandan izole edilen DNA dır.
- PRA, Anti- HLA Class I, Anti- HLA Class II analizleri için hasta serumu kullanılır.

13.2.Doku tiplendirme laboratuvarında yapılan analizler

13.2.1.Serolojik Çalışmalar

13.2.1.1.LENFOSİT CROSS-MATCH(LCM) TESTİ

a- KANDAN T VE B LENFOSİT HÜCRE İZOLASYONU VE CROSS-MATCH TESTİ ÇALIŞMA TALİMATI

- Vericiden Lityum Heparinli veya ACD'li tüpte kan örnekleri alınır. 2700 devirde 10 dk santrüfuj edilir.
- Vericiden T ve B lenfositleri izole edileceği için iki ayrı tüp hazırlanır. Santrüfuj sonrası üstte kalan plazma kısmı ayrılır.
- Oluşan buffy-coat tabakasından pastör pipeti ile 1 ml (1000 µl) alınır. T ve B için hazırlanan tüplere ayrı ayrı konur.
 - Her bir tüp üzerine T ve B için ayrı ayrı Stemcell isolation kiti içerisinde yer alan isolation Coctail'den 50 µl konur.
 - Üzerine 50 µl T için ve B için ayrı ayrı bid ilave edilir (coctail ve bid 30 sn vortekslelendikten sonra önce coctail sonra bid konur). Tüp hafifçe karıştırılır. Oda sıcaklığında 5 dk bekletilir.
 - Daha sonra üzerine B için 800 µl, T için 1000 µl RPMI veya PBS (Ca ve Mg'suz) eklenir. Hafifçe pipetaj yapılır. Tüpler 5 dk magnette bekletilir.



DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI TEST REHBERİ

- Bu süre bitiminde pastör pipetiyle tüp içerisindeki sıvı kısım yeni bir tüpe aktarılır.
- T ve B için yeni tüplere aktarılan örnekler üzerine 50 µl T ve B bidleri konur hafifçe karıştırılır. Tüpler 5 dk oda ısında (22-24 °C) sporda, daha sonra 5 dk magnette bekletilir.
- Tüplerdeki sıvı kısım yeni tüplere aktarılarak magnette 5dk bekletilir. Daha sonra sıvı kısım yeni tüplere aktarılır elde edilen hücrelerin canlılığı kontrol edilir.(Bid ler ortak kullanılabilir, maksimum dört kez bid konulabilir.)
- Boş bir plağa elde ettiğimiz B ve T lenfositleri 50 µl'lik pipetle(0.05ml) her bir kuyuya 1 µl pipetlenir.
- Üzerine 50 µl'lik pipetle AKRİDİN ORANGE/ EB boyası konur.
- İmmünofloresan mikroskopta bakılır, hücreler canlı ise gerekli dilüsyonlar verilerek hücre yoğunluğu ayarlanır. Hücreler ölü ise cross-match testine devam edilmez ertelenir. (Kadavrada ise dalakla devam edilir.)
- Hücreler canlı ise testi çalışmaya devam edilir.
- Parafin kaplı terasaki plakları hazırlanır.
- Terasaki plağına hücreler aşağıda tabloda belirtilen şekilde her bir kuyucuğa 1'er µl pipetlenir.

1	VB+NK	VB+NK	VB+NK	VB+NK	VB+NK	VB+NK
2	VB+PK	VB+PK	VB+PK	VB+PK	VB+PK	VB+PK
3	VB+HS	VB+HS	VB+HS	VB+HS	VB+HS	VB+HS
4	VB+HS	VB+HS	VB+HS	VB+HS	VB+HS	VB+HS
5	BOŞ	BOŞ	BOŞ	BOŞ	BOŞ	BOŞ
6	VT+NK	VT+NK	VT+NK	VT+NK	VT+NK	VT+NK
7	VT+PK	VT+PK	VT+PK	VT+PK	VT+PK	VT+PK
8	VT+HS	VT+HS	VT+HS	VT+HS	VT+HS	VT+HS
9	VT+HS	VT+HS	VT+HS	VT+HS	VT+HS	VT+HS
10	BOŞ	BOŞ	BOŞ	BOŞ	BOŞ	BOŞ

VB+NK: Verici B Lenfosit + Negatif Kontrol

VB+PK: Verici B lenfosit + Pozitif Kontrol Serum (PK kuyularına en son basılır.)

VB+HS: Verici B Lenfosit + Hasta Serumu

VT+NK: Verici T Lenfosit + Negatif Kontrol

VT+PK: Verici T lenfosit + Pozitif Kontrol Serum (PK kuyularına en son basılır.)

VT+HS: Verici T Lenfosit + Hasta Serumu

-Oda sıcaklığında(22-24 °C) ve karanlık ortamda 30 dk inkübasyona bırakılır.

-30 dk'nın sonunda her kuyucuğa 5 µl (250 µl'lik Hamilton pipet ile) kompleman ekilir.

-60 dk inkübasyondan sonra 5µl boya (EtBr/Akridin Orange) ekilir.

-Mikroskopta değerlendirilir. (Olympus IMT-2 Inverted mikroskopta 10X objektifle değerlendirme yapılır.)

-Lenfositler yeşil renkli ise canlı ise NEGATİF, olarak rapor edilir.

Kırmızı renkli ise ölü oranına göre % POZİTİF verilerek rapor edilir.

b-DALAKTAN T VE B LENFOSİT HÜCRE İZOLASYONU ÇALIŞMA TALİMATI

-Mevcut dalaktan bistüri ile bir parça kesilip serum fizyolojik ile yıkanır.

-İçinde 20 cc RPMI olan petri kabına alınarak bistüri vasıtasıyla hücre sağımı yapılır.

-İşlem sonunda petri içindeki RPMI pasteur pipeti yardımıyla partikülleri almadan dikkatlice çekilerek 10 cc lik Lityum heparinli veya ACD'li tüpe alınır ve renk değişimine bakılır. RPMI' ın rengi sararırsa hücreler



DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI TEST REHBERİ

ölü demektir.

- Renk sararmamışsa RPMI boş bir polipropilen tüpe alınır.
- T ve B lenfosit için ayrı ayrı tüp alınır. 1000 µl lenfosit konur.
- Her bir tüp üzerine T ve B için ayrı ayrı Stemcell isolation kiti içerisinde yer alan isolation Coctail'den 50 µl konur. Üzerine 50 µl T için ve B için ayrı ayrı bid ilave edilir (coctail ve bid 30 sn vortekslendikten sonra önce coctail sonra bid konur). Tüp hafifçe karıştırılır
- Oda sıcaklığında (22-24 °C) 5 dk bekletilir.
- Daha sonra üzerine B için 800 µl, T için 1000 µl RPMI veya PBS (Ca ve Mg'suz) eklenir. Hafifçe pipetaj yapılır
- Tüpler 5 dk magnette bekletilir. Bu süre bitiminde pastör pipetiyle tüp içerisindeki sıvı kısım yeni bir tüpe aktarılır.
- T ve B için yeni tüplere aktarılan örnekler üzerine 50 µl T ve 50 µl B bidleri konur hafifçe karıştırılır.Tüpler 5 dk oda ısında(22-24 °C) sporda, daha sonra 5 dk magnette bekletilir. Tüplerdeki sıvı kısım yeni tüplere aktarılarak tekrar magnette 5dk bekletilir. Daha sonra sıvı kısım yeni tüplere aktarılır elde edilen hücrelerin canlılığı kontrol edilir.
- Boş bir teresaki plağına 1 µl hücre pipetlenip üzerine 5 µl boya (Acridineorange/Ethidiumbromide-AO/EB) eklenip floresan mikroskopta hücrelerin canlılığı ve yoğunluğuna bakılır.
- Bu işlemden sonra istediğimiz hücreleri izole etmiş oluruz.
- Cross- match testi çalışmasına elde edilen hücrelerle devam edilir.

c-DTT'Lİ LENFOSİT CROSS-MATCH (LCM) TESTİ ÇALIŞMA TALİMATI: Majör cross-match (+), DTT'li cross-match (-) ise test hastada IgM HLA antikorlarının varlığını gösterir.

- DTT'li cross match testi çalışılacaksa: **0.016 gr** ya da **0.032 gr DTT** tartılır.

0.016 gr DDT tartılmışsa **1 ml PBS** ile sulandırılır.

0.032 gr DTT tartılmışsa **2 ml PBS** ile sulandırılır. Hazırlanan DTT **250 veya 500 mikrolitre** olarak **ependorf tüplere bölünerek -20 °C** de saklanır. DTT'li crosmatch için hazırlanan DTT den **10 µl hasta serumundan** ise **90 µl alınarak karıştırılır. (1 plak için 5 µl DTT+ 45 µl serum)**

-Hücreler ve DTT'li serum normal cross-match prosedüründe olduğu gibi Terasaki plaklarına ekilir.

-Oda sıcaklığında(22-24 °C) ve karanlık ortamda 30 dk. inkübe edilir.

-Bu süre sonunda kuyucuklara 5'er µl kompleman eklenir.

-Oda sıcaklığında (22-24 °C) 60 dk inkübe edilir.

-Her bir kuyucuğa 5'er µl EtBr/AO boya karışımı konularak mikroskopta incelenir. (Olympus IMT-2 Inverted mikroskopta 10X objektifle değerlendirme yapılır.)

-Lenfositler yeşil renkli ise canlı NEGATİF, Kırmızı renkli ise ölü oranına göre % POZİTİF verilerek rapor edilir.

d-KULLANILAN SOLÜSYONLARIN HAZIRLANMASI:

- PLAKLAR:** Boş terasa ki plaklarına parafin ekilir. Parafin kullanıma hazır oda ısısında(22-24°C) saklanır.
- ÇÖZELTİLER:** DPBS(1X) CaCl₂(-) MgCl₂(-) kullanıma hazır oda ısısında (22-24°C) saklanır.
- **RPMI(1640)** kullanıma hazır 2-8 °C de saklanır.
- CLASS I –II BEADS:** Kullanıma hazır. 2-8 °C de saklanır.
- %5' lik FCS : 1ml medium** 199 veya 1640 alınır. Üzerine **50 µl FCS** (fatal calf serum) eklenir. T ve B'nin konsantrasyon ayarı ve negatif kontrol olarak kullanılıyor. Artan atılır. Saklanmaz.
- DTT(Sigma D-0632, MW:154.2):**1.6 mg(0.0016 g) DTT 1 ml PBS içinde çözündürülür (0.01 M). Hazırlandıktan sonra porsiyonlara ayrılır ve -20 °C'de saklanır.
- Kompleman bidistile su ile sulandırılır hem T crosmatch hem de B crossmatch için kullanılır.

•**Stok AO/EBr Hazırlama:** 15 mg Acridin Orange ve 50 mg Etidium bromid tartılarak 1 ml %95'lik etanol içerisinde çözülür.

Bu karışıma 49 ml PBS eklenir. İyice karıştırılır 1 ml'lik tüplere bölünerek -20 °C de stok solüsyon olarak saklanır.

•**Stok AO/EBr solüsyonundan çalışma solüsyonu hazırlama:** 1 ml stok AO/EBr solüsyonu eritilir. pH'sı 7.4 olan PBS ile 1:10 dilüe edilir. İyice karıştırılır. Bölünerek 2-8 °C de ışık geçirmeyecek şekilde bir ay kullanılabilir.

13.2.2-Moleküler Çalışmalar:

HLA-ABDRB1 (SSP/SSO) , HLA-A,B,C,DRB1,DQB1 (SSO) ve HLA-B*57:01 (SSP) testleri

13.2.2.1-Analizlerde Kullanılan Numuneler

Moleküler çalışmalarda kullanılan materyal kandan izole edilen DNA dır.

13.2.2.2-Kandan DNA İzolasyonu: Otomatik DNA izolasyon cihazı (14 örneklik) ile DNA İzolasyonu yapılmaktadır.

- Cihazın fişi prize takılır. Açma/kapama düğmesinden cihaz açılır.
- Cihazın içinden raklar çıkartılır. Rakların birine kartuşlar yerleştirilir.
- Diğer rakın:
 1. sırasına DNA çıkarılacak ependorf tüp konur (DNA çıkarılacak boş tüp üzerine **örnek bilgileri doğru ve eksiksiz** olarak yazılarak 1. sıraya yerleştirilir)
 2. sıraya tip ve tip holder konur
 3. sıra **BOŞ** bırakılır
 4. sıraya kanların konacağı boş tüpler yerleştirilir. Boş tüpler içerisine 200 µl DNA sı çıkartılacak kan örneği **kontrollü bir şekilde** ilave edilir.
- Raklar cihaza yerleştirilmeden önce 1. sıradaki DNA elde edilecek tüplerin kapakları çıkartılır.
- Hazırlanan raklardan kartuş yerleştirilen rak arkada, diğer rak önde olacak şekilde cihaz içerisine yerleştirilir.
- Cihazın kapağı kapatılır Cihazın ekranındaki ana menüden sırasıyla;
 - ✓ Reminder maintenance weekly (haftalık kontrol) 2:DO seçilir.
 - ✓ Start seçilir
 - ✓ ESC:NO seçilir
 - ✓ 1 (200 µl)
 - ✓ 3(200 µl)
 - ✓ 1 (NO) (Ethonelle yıkama yapılınsın mı?)
 - ✓ Start
 - ✓ Start
 - ✓ Start

- ✓ Start
- ✓ Start
- ✓ Start seçilir. Cihazın çalışması başlatılır.

- DNA izolasyon işlemi 18 dk da tamamlanmaktadır. İşlem bittikten sonra cihazın kapağı açılır. DNA elde edilen tüplerin her biri raktan alınıp içerisinde DNA örneği var mı yok mu kontrol edilir. DNA elde edilen tüpler üzerindeki her bir hasta bilgisi tekrar kontrol edilerek kapakları kapatılıp raklardan alınır. Daha sonra rakların hepsi cihazdan çıkartılır ve diğer tüpler, tip tip holder ve kartuşlar atık kutusuna atılır. Boş raklar cihazdaki yerlerine yerleştirilir, cihazın kapağı kapatılarak açma kapama düğmesinden cihaz kapatılır.

13.2.2.3-HLA TİPLENDİRME PROTOKOLÜ

A-HLA-ABDRB1(SSP) ANALİZİ:

- 2000 µl lik ependorf tüpüne 312 µl master miks konulur.(mastermiks hazır gelen bir kittir)
- Üzerine 506 µl dH2O ve 8,3 µl Taq Polimeraz enzimi eklenir ve vortekslenir.
- Bu karışımdan 96 numaralı kuyuya 10 µl konulur.(HLA-ABDRB1 kiti 96 adet kuyudan oluşmaktadır. Bunlardan 96 numaralı kuyu kontrol kuyusudur)
- Kalan karışıma 206 µl DNA konulur vortekslenip, diğer kuyulara 10'ar µl dağıtılır.
- Daha sonra kuyular kendine özel seal(yapışkan bant) ile kapatılıp iyice sıkıştırılır.
- Sonra bu düzenek PCR cihazına konur aşağıdaki programa göre çalıştırılır.

1 döngü	10 döngü	20 döngü	1 döngü
94 °C de 2 dk	94 °C de 10 sn 65 °C de 60 sn	94 °C de 10 sn 61 °C de 50 sn 72 °C de 30 sn	4 °C de ∞

- Daha sonra 2 gr agarose bir erlen mayere konulup, üzerine % 0,5 lik TBE den 100 ml eklenip, mikrodalga fırında pişirilerek özel kalıbına dökülür ve kalıbın 96 kuyu oluşturacak tarafları yuvalarına yerleştirilir. Jelin donması beklenir.
- Jel, jel elektroforezine yerleştirilip üzerine seviyesini geçecek şekilde %0,5 lik TBE eklenir.
- PCR cihazından çıkarılan 96 kuyulu PCR ürünü jele uygun sırada yüklenir ve güç kaynağıyla 165 Volt, 400 amper, 17 dk yürütülür.
- İşlemden sonra Jel tankından çıkarılarak transilüminatöre (görüntüleme cihazına) konur ve lambası, yakıldığında jelde görülen bant numaraları analiz kağıdına yazılır ve Jel görüntüleme cihazında fotoğrafı çekilerek kayıt altına alınır.
- Bu bant numaraları kitin değerlendirme kitapçığından veya **run Score** programında değerlendirilerek hastanın HLA-ABDR moleküler sonucu elde edilir.

B-HLA -A, B,C,DRB1,DQB1 (SSO) ANALİZİ

- Her örnek için yapılacak test sayısı kadar 0,2 µl lik PCR tüpü kullanılır.
- PCR tüplerinin dibine 4 µl DNA pipetlenir.
- Daha sonra her bir tüp için 6 µl master Mix + 10 µl dH2O+0,2 µl taq polymerase enzimi karışımı hazırlanır. Hazırlanan mix karışımından içerisinde dna örneği olan tüplerin her birinin üzerine 16 µl pipetlenir.
- Tüplerin kapakları kapatılarak thermal cycler'a konur ve aşağıdaki programa göre çalıştırılır.

1 döngü	12 döngü	28 döngü	1 döngü	1 döngü
95 °C de 3 dk	95 °C de 15 sn 60 °C de 30 sn 72 °C de 30 sn	95 °C de 10 sn 63 °C de 30 sn 72 °C de 30 sn	72 °C de 2 dk	4 °C de ∞

- PCR işlemi sonunda 5 µl PCR ürünü alınarak costar plate'e pipetlenir
- Kit içinden Baed mix(Probe mix) alınarak ısı bloğunda 56 °C de 5-10 dk ısıtılır.
- Probe mix 15 sn Sonikatör cihazında sonike edildikten sonra 15 sn vortekslenir.
- 15 µl Baed mix(Probe mix), 5 µl'lik PCR ürünü üzerine dağıtılır.(her 10 örnek pipetlemede probe mix vortekslenir)
- Pipetleme sonunda plate'in üzeri seal(yapışkan bant) ile kaplanır.
- Aşağıdaki programla hibridizasyon için thermal cyclere konur.

97 °C 2 dk	47 °C 10 dk	56 °C 8 dk	56 °C ∞
------------	-------------	------------	---------

- Örnekler hibridizasyondayken son 10 dk kala her kuyu için 170 µl Dilution solution + 0,85 µl Streptavidin karışımı hazırlanır. Hazırlanan karışım ışığa duyarlı olduğu için karanlıkta tutulur.(Dilution solüsyonu laboratuvara teslim alındığında bir defaya mahsus 45 °C 'de 5 dk ısıtılır ve oda sıcaklığında saklanır.)
- 56 °C ∞ aşamasında plate termal cycler üzerinde iken seal kaldırılarak 170 µl streptavidin karışımı kuyulara pipetlenir.
- Luminex- cihazında okunur.
- Matchit-DNA programında analiz edilir.

C-HLA-B*57:01 (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜKLÜ) SSP ANALİZİ

- 2000 µl lik ependorf tüpüne 132,8 µl distile su konur
- Üzerine 81 µl master mix konur.(mastermiks hazır gelen bir kittir)
- Bu karışım üzerine 2,2 µl Taq Polimeraz ilave edilir.
- Bu karışımdan 24 numaralı kuyuya 10 µl konulur.(HLA-B*57:01 kiti 24 adet kuyudan oluşmaktadır. Bunlardan 24 numaralı kuyu kontrol kuyusudur)
- Kalan karışıma 54 µl DNA konulur vortekslenip, 24. kontrol kuyusu dışındaki bütün kuyulara 10'ar µl dağıtılır.
- Daha sonra kuyular kendine özel seal(yapışkan bant) ile kapatılıp iyice sıkıştırılır.
- Sonra bu düzenek PCR cihazına konulup, PCR-SSP çalışma programı seçilip, cihaz çalıştırılır.
- Daha sonra 2 gr agarose bir erlen mayere konulup, üzerine %0,5 lik TBE den 100 ml eklenip, mikrodalga fırında pişirilerek özel kalıbına dökülür ve kalıbın 96 kuyu oluşturacak tarafları yuvalarına yerleştirilir. Jelin donması beklenir.

- Jel, jel elektroforezine yerleştirilip üzerine seviyesini geçecek şekilde %0,5 lik TBE eklenir.
- PCR cihazından çıkarılan 24 kuyulu PCR ürünü jele uygun sırada yüklenir ve güç kaynağıyla 165 Volt ,400 amper, 17 dk yürütülür.
- İşlemden sonra Jel tankından çıkarılarak transilminatöre konur ve lambası, yakıldığında jelde görülen bant numaraları analiz kağıdına yazılır ve Jel görüntüleme cihazında fotoğrafı çekilerek kayıt altına alınır.
- Bu bant numaraları kitin değerlendirme kitapçığından veya run Score programında değerlendirilerek, hastanın HLA-B*57:01 moleküler sonucu pozitif veya negatif olarak raporlanır.

14-PRA TESTİ: KLAS I / II TARAMA TESTLERİ - KLAS I / II TANIMLAMA TESTLERİ

14.1-PRA KLAS I / II TARAMA VE TANIMLAMA TESTLERİ ÇALIŞMA TALİMATI: (Çalışmada millipore filtreli plate kullanılır)

- 300 µl distile su, plate'in kullanılacak boş kuyularına eklenerek kuyular ıslatılır. 2-5 dakika sonra vakumlanır.
- Bu sırada tarama veya tanımlama kitlerine ait beadler 30 sn santrifüj edilir ve sonrasında vortekslenir.
- Her bir kuyuya sırasıyla aşağıdakiler eklenir
 - a -40 µl Wash Buffer
 - b -12,5 µl Serum Örneği
 - c -5 µl HLA I / II Beads
- Plate'in üzeri kapatılıp karanlıkta,oda ısısında 30 dk shaker 'da inkübe edilir.
- İnkübasyon sırasında, konjugat + wash buffer (her bir kuyu için 45 µl wash buffer + 5µl konjugat) hazırlanır ve karanlıkta saklanır.
- Süre sonunda her bir kuyucuğa 100 µl wash buffer konur, karıştırılır ve vakumlanır.
- Kullanılan tüm kuyulara 250 µl yıkama solüsyonu eklenir ve vakumlanır.(bu işlem 3 kez tekrarlanır)
- Daha önce hazırlanan ve karanlıkta bekletilen konjugattan, 50 µl kullanılan tüm kuyulara eklenir.
- Plate'in üzeri kapatılıp karanlıkta, oda ısısında 30 dk shaker'da inkübe edilir.
- Süre sonunda 150 µl yıkama solüsyonu eklenir ve karıştırılır.
- Luminex- cihazında okunur.
- MatchIT-antibody programında analiz edilir.

15.Anti HLA CLASS I (Single Antijen), Anti HLA CLASS II (Single Antijen) TESTİ ÇALIŞMA TALİMATI (Çalışmada millipore filtreli plate kullanılır)

- Bütün reaktifler oda ısısına çıkarılır.
- Beadler vortekslenir.
- Plate kuyuları 100 µl distile su ile ıslatılır ve 2 dk sonra aspire edilir.
- Bütün kuyulara 40 µl bead konur
- Belirlenen kuyulara 10 µl serum eklenir.
- Oda sıcaklığında(22-24 °C) karanlıkta 30 dk çalkalayıcıda inkübasyon yapılır.
- 100 µl wash solisyon eklenir ve aspire edilir.
- 3 defa 250 µl wash solisyonu ile yıkanır.
- 50 µl dilüe edilmiş konjugat eklenir(5 µl konsantre konjugat+45 µl wash solüsyon örnek başına)

- Oda sıcaklığında(22-24 °C) karanlıkta 30 dk çalkalayıcıda inkübasyon yapılır.
- İnkübasyon sonrasında 130-150 µl wash solüsyon eklenir ve her kuyu pipetaj yapılarak beadler resuspense edilir.
- Luminex cihazında okutulur
- MatchIT Antibody Softwarinde analiz edilir.

16. DIŞ LABORATUVAR HİZMET ALIMI

Yüksek çözünürlüklü HLA testi çalışılması gerekli olan Kemik İliği nakli yapılacak hastalar için dış laboratuvar test istemi “**Doku Tiplendirme Laboratuvarı dış laboratuvardan test hizmet alımı prosedürü**”ne uygun olarak yapılır. Sonuçlar 1 ay içerisinde sonuçlanmaktadır. Dış laboratuvarda çalışılan test sonuçları eksiksiz bir şekilde laboratuvarımıza ulaşıktan sonra, laboratuvar sonuç formumuza göre (raporda testin çalışıldığı dış laboratuvar ismi ve adresi de belirtilerek) raporlanır ve ilgili birimin doktoru veya doktorun görevlendirdiği personele imza karşılığı teslim edilir.

EK-1: DOKU TIPLENDİRME LABORATUVARINDA ÇALIŞILAN TESTLERE AİT ÖRNEK ALINMASI TALİMATI

1. **AMAÇ:** Örneklerin doğru bir şekilde alınması ve doku tiplendirme laboratuvarına uygun zamanda ve koşullarda ulaştırılması
2. **KAPSAM:** Doku tiplendirme laboratuvarına örnek gönderen tüm birimler
3. **SORUMLULAR:** Doku tiplendirme laboratuvar sorumlusu, Doku Tiplendirme Laboratuvar Sorumlu Yardımcısı
4. **FAALİYET AKIŞI:**
 - **Doku Tiplendirme Laboratuvarında Çalışılan Testlere Ait Örnek Alınması**
 - 4.1 **Kan Örnekleri Alım Kuralları:**
 - 4.1.1 **Kan almadan önce aşağıdaki malzemeleri hazır bulundurunuz:**
 - 4.1.1.1 Deri dezenfeksiyonu: %70'lik alkol (izopropil alkol, etanol) veya %10'luk povidon iyot, swablar, gazlı pedler, yara bandı.
 - 4.1.1.2 Tek kullanımlık lateks veya vinil eldivenler
 - 4.1.1.3 Turnike, adaptör, iğne uçları veya tek kullanımlık şırıngalar
 - 4.1.1.4 Etiketler ve kalem
 - 4.1.2 **Tüm yukarıda bahsedilenler göz önüne alındıktan sonra;**
 - 4.1.2.1 Kan alma işleminden önce ellerinizi iyice yıkayınız.
 - 4.1.2.2 Hastanın kimliğini doğrulayın. Bunu hastanın ismini sorarak veya kimlik kartını görerek yapabilirsiniz.
 - 4.1.2.3 Hasta sandalye veya koltuğa rahat bir pozisyonda oturmalı, kolunu düz bir şekilde uzatarak koluğa yerleştirmelidir. Kol dirsekten bükülü halde olmamalıdır, hastanın kolunu omuzdan bileğe kadar düz uzatmasını sağlayın.
 - 4.1.2.4 Oturarak/yatarak ve ayakta durarak kan alma pozisyonları, sonuçları ciddi anlamda etkiler. Yatarak ve oturma pozisyonu arasındaki fark % 5-15' dir !!!
 - 4.1.2.5 Büyük yaralı veya hematumlu koldan, mastektomili kadınlarda memenin alındığı taraftaki koldan, iyileşmekte olan yanık alanlarından kan alınmamalıdır. Hematom bölgesinden alınan numuneler hatalı test sonuçlarına yol açabildiği için diğer bir ven bölgesi mevcut değilse numune hematoma alt kısmından alınabilir.



DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI TEST REHBERİ

- 4.1.2.6** Hastadan ne kadar hacimde kan alınacağını belirleyin, istenen testler için uygun sayıda ve türde tüp ve uygun iğne seçip hazırlayın. En sık kullanılan iğneler 19-22 numaradır.
- 4.1.2.7** Numara büyüdükçe çap küçülür, normal erişkinde genellikle 21-yeşil uçlu veya 22-siyah uçlu kullanılır.
- 4.1.2.8** Eğer venöz kan toplayacaksanız, uygun veni seçin. Büyük ve dolgun venleri seçmek için her iki kolu kontrol edin. Yetişkinlerde antekubital fossada kalın ve derinin yüzeyine yakın veni tercih edebilirsiniz.
- 4.1.2.9** Kan alınacak bölgenin çevresini, %70'lik izopropanolle doymuş gazlı bezle, dairesel hareketlerle ve kan alma bölgesinden dışa doğru temizleyin.
- 4.1.2.10** Hemolizi ve hastadaki yanma duygusunu önlemek için bölgenin hava ile kurummasını sağlamalısınız.
- 4.1.2.11** Kan alma bölgesinin 10-15 cm üzerinden turnikeyi uygulayıp, İşaret parmağı ile venlerin geçiş yolunu palpe edin.
- 4.1.2.12** Alım yapılacak ven bölgesine gerekirse işaret parmağı ile ve ikinci parmakla hafifçe vurarak venin dilate olmasını sağlayın.
- 4.1.2.13** Hastanın yumruğunu bir iki defa açıp kapamasını söyleyerek venlerin daha belirgin olması da sağlanabilir ama aşırı el pompası kan akımını aktive etmek için gerekli değildir ve kaçınılmalıdır, bu hareket plazma potasyum, fosfat ve laktat konsantrasyonlarını arttırır.
- 4.1.2.14** Damara girme ve kan alma kola turnike bağlandıktan sonra 1 dakika içinde tamamlanmalıdır. Eğer yeniden kan almanız gerekirse diğer kol kullanılmalıdır. Kola uzun süre turnike uygulanması sonucu protein konsantrasyonunda, proteine bağlı ve hücresel komponentlerde artışa sebep olabilir.
- 4.1.2.15** İnfüzyon yapıyorsanız infüzyon 3 dakikalığına durdurulmalı ve sonra tercihen diğer koldan kan alınmalıdır.
- 4.1.2.16** Vakumlu kan tüpüne kan almak için, kan alma tüpü tutucusuna iğnesini vidalayın.
- 4.1.2.17** Vene girmek için iğneyi, kan alınacak venle hizalayıp, deriye yaklaşık 15 derecelik açı yapacak şekilde venin içine 0,5-1cm itin.
- 4.1.2.18** İğne yerine yerleştikten sonra tüp, tıpayı delmek ve vakumu boşaltmak amacıyla ileri (adaptöre doğru) bastırılmalıdır. Tüpü çok ileri itmeyin, böylece iğnenin tüp kapağını delmesi ve vakumun erken kaybına yol açmasını önlemiş olursunuz.
- 4.1.2.19** Kan tüpün içine akmaya başladığında iğne hareket ettirilmeden turnikeyi gevşetiniz.
- 4.1.2.20** Vakum bitinceye kadar tüp doldurulur, sonra tüp adaptörden çekilir ve yerine başka tüp sokulur.
- 4.1.2.21** Kan alma tüplerine şu sırayla kan almaya özen gösteriniz. Önce katkı maddesiz kırmızı yada sarı kapaklı düz tüplere sonra sitrat içeren mavi kapaklı koagülasyon tüplerine sonra sıra ile kırmızı yada sarı kapaklı jelli düz tüpler, yeşil kapaklı heparinli tüpler, mor kapaklı, EDTA içeren, hemogram tüpleri ve gri kapaklı okzalit-fluoridli tüplere kan alınız.
- 4.1.2.22** Tüplerin ağzını sıkıca kapatın, tüplerin içinde katkı maddesi veya antikoagulan varsa tüpleri yavaşça 5-7 kez alt üst ederek karıştırın.
- 4.1.2.23** Kan alma işlemini tamamladığımızda, iğneyi geri çektikten sonra sızıntı olmaması için hastaya kuru gazlı bez veya pamuk vererek, kan alınan bölgeye 2,5 dakika bastırması ve kolunu yukarıya doğru tutmasını sağlayın. Sonra yara bandı yapıştırın.
- 4.1.2.24** DTL'de çalışılmak üzere alınan numuneler biyokimya tüpünde alınmış ve serolojik testlerin (PRA tarama/ tanımlama, Anti-HLA Class I, Anti-HLA Class II testlerinin) çalışılacağı kan örnekleri ise aynı gün çalışılmıyorsa +4 °C derecede buzdolabında en fazla 1 gece bekletilebilir. Daha uzun süreler kalacaksa serumları ayrılarak -20 °C derecede dondurulup saklanır. Çalışılacağı zaman çözündürülür ve test çalışılır. EDTA'lı tüpte alınan ve moleküler testler çalışılacak olan kan örnekleri + 4 °C de muhafaza edilir. Çalışılacağı zaman DNA elde edilerek test çalışılır. Çalışma tamamlandıktan sonra DNA örnekleri -20 °C'de saklanır.



DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARI TEST REHBERİ

4.1.2.25 Kan alma için kullandığımız iğne uçları ve enjektör uçlarını da sarı renkli tıbbi atık kovasına atınız.

4.1.3 Kan aldıktan sonra;

4.1.3.1 Antikoagülanlı tüplere kan aldıysanız tüpleri nazik bir şekilde en az 5-6 defa alt üst etmeyi unutmayın

4.1.3.2 Tüm tüpleri hastanın ismi veya kimlik numarası, kan alınan saat ve tarih ve kan alan kişinin baş harflerinin yazılı olduğu barkotla etiketleyip, Test Talep Formundaki doldurulması gereken bilgileri kontrol edin.

4.1.3.3 Serumları ayırmadan önce kırmızı ya da sarı kapaklı tüpleri tercihen dik pozisyonda 10-20 dakika süreyle (45 dakikayı geçmemeli) pıhtılaşmaya bırakın.

4.1.3.4 Tüpler sallanmamalıdır. Kuvvetli bir karıştırma köpürmeye ya da hemolize neden olur. Serum tüpleri yetersiz veya gecikmiş karıştırılma, geciken pıhtılaşmaya neden olur. Antikoagulant tüplerdeki, yetersiz karıştırma işlemi trombositlerin birikimine neden olur ve pıhtılaşmaya ya da yanlış test sonuçlarına sebep olur. Damara girildikten sonra, kapağın üst kısmı, artık kan kapsayabilir. Kanla temas edilmemesi için uygun önlemleri alınmalıdır. Herhangi bir iğne tutacağına (holder) kan bulaştığında, tehlikeli olduğu düşünülmeli ve derhal çöpe atılmalıdır.

4.1.4 Kan aldıktan sonra Hematom oluşmaması için aşağıdaki kurallara dikkat edin;

4.1.4.1 Venin sadece ön duvarı delinir.

4.1.4.2 İğneyi çıkarmadan önce turnike kaldırılır.

4.1.4.3 Sadece büyük venler kullanılır. Yüzeysel ince venlerden alınmaz.

4.1.4.4 İğnenin venin ön duvarına tamamen girdiğinden emin olunur. Kısmen girmesi kanın yumuşak dokuya sızmasına neden olabilir.

4.1.5 Kan örneği alınmazsa;

4.1.5.1 İğnenin pozisyonunu değiştirin, iğne venin çok uzağından giriş yaptıysa iğne geri çekilmeli,

4.1.5.2 İğne venin çok uzağında değilse vene doğru ilerletilmelidir. İğne yarım tur döndürülebilir.

4.1.5.3 Başka bir tüp deneyin, tüpün vakumu kalmamış olabilir.

4.1.5.4 Turnikeyi gevşetin. Çok sıkı uygulanmış böylece kan akımını durdurmuş olabilirsiniz.

4.1.5.5 Vene sondaj yapmak (iğneyi dik sokmak) hastada ağrıya yol açtığı için bu hareketten kaçının. Çoğu zaman ilk girilen bölgenin altında bir yere girilmesi önerilir.

4.1.5.6 Hiç bir zaman iki defadan fazla giriş yapmayın.

4.1.6 Kan Örnekleri Verilmeden Önce Dikkat Edilmesi Gereken Kurallar

4.1.6.1 Doku tiplendirme laboratuvarında yapılan testlerin hiç biri ön hazırlık gerektiren testler değildir. Ancak kan vermeden önce dikkat edilmesi gereken bazı konular vardır.

4.1.6.2 Kronik böbrek yetmezliği olan hastaların PRA kontrollerinde ve Lenfosit çapraz uyum testlerini yaptırmadan önce aşı olmaları, diyalize girme zamanları (aynı gün kan verilmemesi önerilir) ,hastaların geçirdikleri enfeksiyonlar varsa daha önceki nakil bilgileri, kan transfüzyonları ve bayan hastaların geçirdiği gebeliklerin bilinmesi bu testlerin sonuçlarının analizinde önemlidir. Bu etkenler aynı zamanda test sonuçlarını da etkilemektedir.

4.1.7 Doku Tiplendirme Laboratuvarı İçin Örnek Alım Tüpleri

4.1.7.1 **Mor Kapaklı Tüpler:** Tüp duvarının iç kısmı EDTA K2 veya EDTA K3 ile kaplıdır. Tüp %8 sıvı EDTA ile sağlanır. EDTA kalsiyum iyonlarını bağlar ve böylece pıhtılaşmayı bloke eder. Bu tüpler gerçekte açılmaksızın doğrudan örnekleme analizlerinde kullanılır. Eritrosit, Lokosit, ve trombositler EDTA pıhtılaşmamış kanda 24 saat süresince durağan kalır 3 ml tam kan mor kapaklı EDTA'lı tüplere alınır. Tüplerin içerisinde pıhtı oluşmaması için kan alınır alınmaz tüp 5-6 kez yavaşça alt üst edilerek karıştırılır. Çalkalama işleminden kesinlikle kaçınılmalıdır. Kan alımı esnasında kanın işaretli çizgiye kadar doldurulmasına özellikle dikkat edilmelidir. Kan tam olarak tüp üzerindeki işaretli çizgiye kadar alınmamış veya tüpün içerisinde pıhtı oluşmuş ise yeniden örnek alınmalıdır.

4.1.7.2 **Sarı/Kırmızı Kapaklı Tüpler:** Sarı kapaklı plastik jelli tüp veya kırmızı kapaklı plastik jelli tüp,



DOKU TIPLENDİRME LABORATUVARI TEST REHBERİ

- 4.1.7.3 Tüpler içinde bulunan jel, santrifüj sonrasında serum ve kan hücreleri arasında fiziksel bir engel oluşturmakta, tüp çeperinde bulunan silika partikülleri sayesinde serum pıhtılaşmasını hızlandırmaktadır.
- 4.1.7.4 Tüp kesinlikle çalkalanmamalıdır.
- 4.1.8 **Doku Tiplendirme Laboratuvarındaki Testlere Ait Örnek Tüpleri**
- 4.1.8.1 **Mor Kapaklı Tüp (EDTA'LI) Doku Tiplendirme Testlerinde**
- 4.1.8.2 **Yeşil Kapaklı Lityum Heparinli veya ACD'li tüp cross-match testinde kullanılır**
- 4.1.9 **Sarı Kapaklı Jelli Tüp:**(PRA, Anti-HLA Class I/Class II ve Lenfosit Cross Match, testlerinde kullanılır.)
- 4.1.10 **Doku Tiplendirme Laboratuvarına Örneklerin Transferi:**
Örnek Transferi Doku Tiplendirme Laboratuvarı Örnek transfer talimatı'na göre yapılır
- 4.1.10.1 Lenfosit cross match testleri için alınan kanlar ise bekletilmeden alınır alınmaz laboratuvara ulaştırılır. Numune kabul saati cross match testi için en geç saat 10:00 dur.
- 4.1.10.2 Kadavradan organ nakillerinde istemi yapılan numuneler bekletilmeden görevli personeller tarafından imza karşılığı laboratuvara teslim edilir.
- 4.1.10.3 Hastanemiz Doku Tiplendirme laboratuvarından hizmet alımı yapan hastanenin kadavradan organ nakillerinde ise; örnek istem girişleri mesai saatinde Başhekimliğin bilgi ve onayı dahilinde hastanemizin Dr. Feyyaz Etiz Hematoloji ve Onkoloji hizmet binasında yer alan Çocuk Onkoloji polikliniğinde yaptırılır (yetkilendirilmiş otomasyon sekreteri tarafından giriş Dahiliye Genel Polikliniği, Anlaşmalı kurum olarak yapılır). Mesai saati dışında ise hastane nöbetçi amirinin bilgisi ve onayı dahilinde hastanemiz acil biriminde yaptırılır. İstem girişi yaptırılan örnekler görevli personel tarafından Doku Tiplendirme Laboratuvarına ulaştırılır. Örnekler laboratuvardaki testi çalışan ilgili personel tarafından (Örnek Teslim Formu-2) imza karşılığı teslim alınır.
- 4.1.10.4 Numunelerin transferi esnasında personele ve çevreye bulaşı önlemek için taşıma işlemi azami dikkat göstererek yapılır.
- 4.1.10.5 Örneklerin laboratuvara transferi örnek taşıma kabının yer aldığı, taşıma çantası içerisinde gerçekleştirilir.
- 4.1.10.6 Transfer işlemi esnasında personel koruyucu eldiven giymelidir.
- 4.1.10.7 Numune kapaklarının sıkıca kapandığından emin olmalıdır.
- 4.1.10.8 Numune kapları taşıma kabına devrilmelerini önleyecek şekilde DİKEY olarak yerleştirilmelidir.
- 4.1.10.9 Numuneler taşıma kabında oda ısısı sıcaklığında taşınmalıdır. Numune kabının ısısının numune kabında yer alan ısı ölçer aracılığıyla uygun ısı aralığında (22-24 °C) olup olmadığı kontrol edilir ve ısı dereceleri kayıt altında tutulur.
- 4.1.10.10 Taşıma kabı içerisine yerleştirilen örnekler teslim alınır alınmaz en kısa sürede laboratuvara ulaştırılır.
- 4.1.10.11 Transfer esnasında sert ve ani hareketlerden kaçınılmalı, numunelerin çalkalanmamasına dikkat edilmelidir.
- 4.1.10.12 Taşıma kaplarının temizliğine dikkat edilmelidir. Her hafta mesai bitiminden önce deterjanlı su, ardından %1 lik çamaşır suyu ile temizlenir. Eğer kap içine biyolojik materyal bulaşmışsa üzerine %10 luk çamaşır suyu ile ıslatılmış gazlı bez, kağıt havlu vb.ile kapatılıp 15 dk bekledikten sonra temizlenir.
- 4.1.10.13 İlgili çalışanlara hastane eğitim birimi tarafından örnek alımı ve transferi konusunda eğitim verilmektedir.
- 4.1.10 **Örneklerin Laboratuvara kabulü**
- 4.1.10.1 İlgili poliklinik ya da servislerdeki görevli personel numuneleri barkod okuyucusundan geçirerek materyal kabulünü gerçekleştirir.

- 4.1.10.2** Kan transferinde görevli personel tarafından laboratuvarımıza teslim edilen örnekler, test istem formları, tüplerin üzerindeki barkod bilgileri kontrol edilerek teslim alınır. Teslim alınan örneklerin numune kabullerinin kontrolü ve deftere kayıtları laboratuvarında örnekleri çalışan kişiler tarafından yapılır.
- 4.1.10.3** Örnekler test rehberinde belirtilen kabul ve red kriterlerine göre kabul edilir.
- 4.1.10.4** Laboratuvar tarafından reddedilen örnekler aylık olarak analiz edilmeleri için kayıt altına alınır. Bu örnekler için gerekli düzenleyici önleyici faaliyet başlatılır.

4.1.11 Doku Tiplendirme Laboratuvarında Test Sonuçlarının Onaylanması ve Sonuçlara

Erişim: --Laboratuvar sorumlu ve sorumlu yardımcısı analiz süreci tamamlanan test sonuçlarının kontrollerini yaparak onaylar.

Uzman onayı tamamlanmış HLA-A,B,C,DRB1,DQB1 SSO yöntemi ile çalışılmış kemik iliği nakli olacak hasta ve donörlerinin sonuçları ilgili birimlerin doktoruna veya sonuç almak için görevlendirdikleri personele doku tiplendirme laboratuvarında imza karşılığı teslim edilir.

HLA-ABDRB1 SSO/SSP yöntemi ile çalışılmış olan böbrek nakli olacak hasta ve donörlerinin sonuçları doğrudan Sağlık Bakanlığı sitesine (TDİS) girilir. Sisteme sonuç girişleri iki teknisyen tarafından çift kontrollü olarak gerçekleştirilir.

HLA-SSP yöntemiyle çalışılan, HLA-B*57:01 sonuçları ilgili birimin personeline imza karşılığı teslim edilir.

PRA tarama , PRA tanımlama, Anti HLA Class I ve Anti HLA Class II ve Cross-match testi sonuçları otomasyon sisteminden girilir.

Sisteme girişler iki teknisyen tarafından çift kontrollü olarak gerçekleştirilir. Hizmet alımı yapan kurumlara ise; pra ve cross match testi sonuçları ilgili personele imza karşılığı teslim edilir.

Doku Tiplendirme Laboratuvarı Sonuçlarına Erişim ve Sonuç Teslim Süresi

TEST ADI	ÖRNEK	YÖNTEM	ÇALIŞMA GÜNÜ	RAPORLAMA TARİHİ	TÜP
HLA Testleri	Tam Kan	Moleküler Yöntem	Mesai Saatleri	(HLA-A, B, C, DRB1, DQB1) SSO 1 ay (HLA SBT) 1 ay (HLA-A, B, DRB1 SSP/SSO) 15 gün HLA-B*57:01 15 gün	EDTA'lı
PRA Testleri PRA tarama PRA tanımlama	Serum	Serolojik Yöntem	Mesai Saatleri	20 gün	Düz Tüp
Anti HLA Class I Anti HLA Class II	Serum	Serolojik Yöntem	Mesai Saatleri	20 gün	Düz Tüp
Cross-Match Testi	Serum ve Tam Kan	Serolojik Yöntem	Mesai Saatleri	1 gün	Düz Tüp ve Lityum Heparinli veya ACD li tüp

Örnek alımı için hastalara verilen sıra numarasının yer aldığı bilgilendirme fişinde testlerin sonuçlanma süreleri ile ilgili hastayı bilgilendirici bilgiler yer alır.

EK-2: DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARINDA ÇALIŞILAN TESTLERİN LİSTESİ
DOKU TİPLENDİRME TESTLERİ

- HLA-A (Düşük çözünürlük)
- HLA-B (Düşük çözünürlük)
- HLA-C (Düşük çözünürlük)
- HLA-DRB1 (Düşük çözünürlük)
- HLA-DQB1 (Düşük çözünürlük)

HLA ANTİKOR TARAMA , TANIMLAMA ,ANTI-HLA CLASS I/CLASS II TESTLERİ

- PRA HLA Class I tarama
- PRA HLA Class II tarama
- PRA HLA Class I spesifik Ag tanımlama
- PRA HLA Class II spesifik Ag tanımlama
- Anti HLA Class I (Single Antijen)
- Anti HLA Class II (Single Antijen)

CROSS MATCH TESTLERİ

- CDC Cross Match (Kompleman Bağımlı Sitotoksiste)
- CDC DTT'li Cross Match (Kompleman Bağımlı Sitotoksiste)

DOKU TİPLENDİRME TESTLERİ

Eş Anlamlı HLA Tipleme

Metod SSP, Luminex SSO

Numune Türü EDTA'lı kan

Numune Miktarı 3 ml

Numune Kabı Mor Kapaklı Tüp

Çalışma Zamanı Her Gün

Sonuç Verme Süresi : SSO-HLA-A,B,C,DRB1,DQB1(1 ay), SSP/SSO HLA-ABDRB1(15 gün) , HLA-B*57:01 (15 gün)

Numune Red Kriteri Barkodsuz, pıhtılı, hemolizli, 3 cc'den az, 48 saatten fazla sürede laboratuvara ulaşmış kanlar, uygun tüpe alınmamış ve yeterli miktarda alınmamış kanlar, tüpün kapağının kapalı olmadığı kanlar, hasta ad-soyad- numunenin türü bilgisi yazılmamış kanlar, çalışılacak test türü bilgisi olmayan kanlar kabul edilmez.

Numune Kabul Kriterleri Pıhtılı ve hemolizli olmayan, çalışılacak teste yeterli miktarda ve uygun tüpe alınmış, oda sıcaklığında (22-24 °C) muhafaza edilmiş, hasta ad-soyad- numunenin türü, çalışılacak test bilgisi yazılmış kanlar kabul edilir

Not: Kadavra vericili nakillerde doku tipleme çalışma süresi 4 saattir.

HLA ANTİKOR TARAMA , TANIMLAMA, Anti HLA Class I ve Anti HLA Class II TESTLERİ

Eş Anlamlı PRA, Single Antigen

Metod Luminex

Numune Türü Kan

Numune Miktarı 5 ml

Numune Kabı Kırmızı/Sarı Kapaklı Jelli Tüp



DOKU TIPLENDİRME LABORATUVARI TEST REHBERİ

Çalışma Zamanı Her Gün
Sonuç Verme Süresi 20 gün

Numune Red Kriterleri: Barkodsuz, pıhtılı, hemolizli, 5 cc'den az, 48 saatten fazla sürede laboratuvara ulaşmış kanlar, uygun tüpe ve yeterli miktarda alınmamış kanlar, tüpün kapağının kapalı olmadığı kanlar, hasta ad-soyad- numunenin türü bilgisi yazılmamış kanlar, çalışılacak test türü bilgisi olmayan kanlar kabul edilmez

Numune Kabul Kriterleri: Pıhtılı ve hemolizli olmayan, çalışılacak teste yeterli miktarda ve uygun tüpe alınmış, oda sıcaklığında (22-24 °C) muhafaza edilmiş hasta ad-soyad- numunenin türü, çalışılacak test bilgisi yazılmış kanlar kabul edilir.

Not: Kadavra vericili nakillerde test çalışma süresi 3 saattir.

CROSSMATCH TESTLERİ

Eş Anlamlı LCM

Metod CDC, CDC DTT

Numune Türü Verici: Lityum Heparinli veya ACD li tüp

Alıcı: Serum

Numune Miktarı -Canlıdan nakilde Cross-Match testinde alıcıdan (hastadan) 1 adet jelli tüpe 5cc kan alınmalıdır. Donörden (en az 3 cc'lik) 3 adet Lityum Heparinli kan (ya da ACD li kan) alınmalıdır.
-Kadavra çalışmalarında kandan yapılacak crossmatch testinde kadaverik vericiye ait 6 tüp Lityum Heparinli veya ACD'li kan, her bir alıcıdan 1'er adet 5cc'lik jelli tüpte kan alınır.
- Kadavradan nakilde dalaktan elde edilen lenfositlerle çalışılacak crossmatch testi için her bir alıcıdan 1'er adet 5cc'lik jelli tüpte kan alınır. Test taze kan ile çalışılmalıdır. kadavra donörden 2x4cm boyutlarında dalak parçası(kültür medyumuna konularak muhafaza edilmelidir) doku tiplendirme laboratuvarına ulaştırılır.

Numune Kabı Lityum Heparinli Yeşil/Sarı Kapaklı Jelli Tüp

Çalışma Zamanı Randevulu

Sonuç Verme Süresi 1 İş Günü

Numune Red Kriteri: Barkodsuz, pıhtılı, hemolizli, 48 saatten fazla sürede laboratuvara ulaşmış kanlar, uygun tüpe alınmamış ve yeterli miktarda alınmamış kanlar, tüpün kapağının kapalı olmadığı kanlar, hasta ad-soyad- numunenin türü bilgisi yazılmamış kanlar, çalışılacak test türü bilgisi olmayan kanlar kabul edilmez.

Numune Kabul Kriterleri Pıhtılı ve hemolizli olmayan, çalışılacak teste yeterli miktarda ve uygun tüpe alınmış, oda sıcaklığında (22-24°C) muhafaza edilmiş, hasta ad-soyad- numunenin türü, çalışılacak test bilgisi yazılmış kanlar kabul edilir

Uyarı: Diyaliz hastaları test örneklerini diyalize girmeden önce vermelidirler.

Not: Kadavra vericili nakillerde çalışma süresi 4 saattir.