


**T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
FARABİ HASTANESİ**



**DOKU TİPLEME LABORATUVARI
TEST REHBERİ**

**HAZIRLAYANLAR
Prof. Dr. Mehmet SÖNMEZ
Kimyager Seda KURT**

**2023
TRABZON**

 KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ Farabi Hastanesi	KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi (Farabi Hastanesi) Başhekimliği			
	DOKU TİPLEME LABORATUVARI TEST REHBERİ			
Dok. Kod.: DL.RH.01	Yayın Tarihi: 30.03.2016	Revizyon No:05	Revizyon Tar:25.09.2023	Sayfa Sayısı:27

İÇİNDEKİLER

1.0	AMAÇ	3
2.0	KAPSAM	3
3.0	KISALTMALAR	3
4.0	TANIMLAR	3
5.0	SORUMLULAR	4
6.0	FAALİYET AKIŞI	4
6.1	DOKU TİPLEME LABORATUVARI GENEL BİLGİLER	4
6.2	DOKU TİPLEME LABORATUVARINDA ÇALIŞILAN TESTLER VE YÖNTEMLERİ	5
6.3	DOKU TİPLEME LABORATUVARI TEST GİRİŞLERİ	6
6.4	DOKU TİPLEME LABORATUVARI İÇİN ÖRNEK ALIM TÜPLERİ	7
6.5	DOKU TİPLEME LABORATUVARINDA ÇALIŞILAN TESTLERE AİT ÖRNEK ALINMASI	8
6.6	DOKU TİPLEME LABORATUVARINA ÖRNEKLERİN TRANSFERİ VE KABULÜ	10
6.7	DOKU TİPLEME LABORATUVARI PERSONEL TANIMI VE EĞİTİMİ	13
6.8	DOKU TİPLEME LABORATUVARI TEST YÖNTEMLERİ	14
6.9	ÇALIŞILAN ÖRNEKLERİN RAPORLANMASI	22
6.10	ANALİZ ÖRNEKLERİ, TEST VERİLERİ VE SONUÇLARIN ARŞİVLENMESİ	23
6.11	DOKU TİPLEME LABORATUVARI İÇ VE DIŞ KALİTE KONTROL	23
6.12	STOK YÖNETİMİ	24

1.0 AMAÇ

KTÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Farabi Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı Test Rehberi, laboratuvar işleyişini başta klinisyenler olmak üzere diğer hastane çalışanlarıyla paylaşmak, laboratuvar işleyişi konusunda bilgilendirmek ve olabilecek aksaklıkları gidermek amacıyla hazırlanmıştır.

2.0 KAPSAM

KTÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Farabi Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı Test Rehberi laboratuvar çalışanları, örnek gönderen doktorları, örnek transferini yapan personeli, laboratuvara gelen tüm örnekleri kapsar.

3.0 KISALTMALAR

HBYS: Hastane Bilgi Yönetim Sistemi

HLA: Human Leukocyte Antigen (İnsan Lökosit Antijeni)

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

PRA: Panel Reaktif Antikor

DSA: Donör Spesifik Antikor

GVHD: Graft-versus-host hastalığına

LİS: Laboratuvar İşletim Sistemi

LCM: Lenfosit Crossmatch

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

RPMI: Roswell Park Memorial Institute medium

FCS: Fetal Calf Serum

RBC: Red Blood Cell (Kırmızı kan Hücresi)

SSP: Sequence Specific Primer (Diziye Özgü Primer)

SSO: Sequence Specific Oligonucleide

TBE: Tris-Borate-EDTA

PCR: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincirleme tepkimesi)

UV: Ultraviyole

DL: Doku Laboratuvarı

AO: Acridine Orange

EB: Ethidium Bromide

UKNEQAS: United Kingdom National External Quality Assessment Scheme

4.0 TANIMLAR

İç (İnternal) Kalite Kontrol: Sonuçları önceden bilinen normal ve patolojik kontrol örnekleri hasta örneği gibi analiz edilerek, elde edilen değerlerin beklenen aralıklarda olup olmadığı kontrol edilmesidir.

Dış (Eksternal) Kalite Kontrol: Doku tipleme laboratuvarı test sonuçlarının uluslararası ölçekte diğer laboratuvarların performansı ile karşılaştırılarak değerlendirilmesidir.

Doku Grubu Antijenleri: HLA, İngilizce "Human Leukocyte Antigen" kelimelerinin kısaltılmış halidir. Çok sayıda ve çeşitte HLA antijen çifti bulunur (en iyi bilinenleri A, B, C, DR, DQ ve DP'dir). Anne ve babamızdan bu antijenlerin her birinden birer tane alırız (ve çocuklarımıza her çiftten birer tanesini kalıtsal olarak aktarıyoruz). Serolojik yöntemler ile doku tipi antijenleri belirlenir.

HLA'ları kodlayan gen bölgesi insanda 6. Kromozom üzerinde bulunur. İnsan genomundaki en polimorfik gen bölgesidir. Moleküler testler doku tipi antijenlerini kodlayan bu genlerin belirlenmesini sağlar.

Amlifikasyon: Bir DNA parçasının kopya sayısının in vitro ya da konak hücresi içinde fazla üretilerek artırılması.

Hibridizasyon: Yapay olarak çoğaltılmış ve DNA problemleri olarak hazırlanmış olan spesifik DNA fragmantlerinin niteliği araştırılacak olan hedef DNA molekülü ile birleştirilmesi işlemidir.

Panel Reaktif Antikor (PRA): Böbrek nakillerinde HLA antijenlerine karşı gelişmiş antikorlar graft sağ kalımını etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Bu antikorlar, red olmuş nakiller, gebelik ve kan transfüzyonları nedeniyle oluşabilmekte ve genel olarak Panel Reaktif Antikor (PRA) adını almaktadır.

Donör Spesifik Antikor (DSA): Vericiye özgü antikorlardır. Nakilden önce bu antikorların saptanması, rejeksiyon riski olan nakillerin belirlenmesine yardım eder. Çünkü lenfositler HLA antijenlerini yüksek oranda eksprese eder ve DSA'ların belirlenmesi için hedef hücre olarak seçilirler.

Kan Transfüzyonu: Kan transfüzyonları anti-HLA antikor oluşumu için en büyük risklerden biridir. Ortalama 1-5 Ünite tam kan transfüzyonu sonrası antikor gelişme riski vardır.

Multipar gebelik: Multipar birden fazla doğum yapmış birden fazla gebeliği (düşük, kürtaj hikâyesi) olan bayanlarda anti-HLA antikor meydana gelebilir. Her gebelikte HLA antikor oluşmaz.

Doku veya Organ Transplantasyonları: Antikorlar, organ nakilleri sonrası görülen rejeksiyonlarda hemen artmaya başlar. Bu yüzden nakil sonrası dönemlerde rejeksiyon şüphesi olan hastalarda düzenli aralıklarla anti-HLA antikorlarına bakılması gerekir

Lenfosit Çapraz Uyum Testi (Crossmatch): Doku grubu uyumlu vericisi olan, alıcı ve verici arasındaki immunolojik cevapları test etmek amacıyla, verici seçiminden sonra alıcı ve vericinin serum ve hücreleri karşılıklı olarak bir araya getirilir. Böylece, naklin hemen ardından gerçekleşecek hiperakut yada akut yanıtların oluşması engellenir.

5.0 SORUMLULAR

• Başhekimlik
• Hastaneler Başmüdürü
• Kalite Koordinatörlüğü
• Doku Tipleme Laboratuvar Sorumlusu
• Bölüm/Birim Kalite Temsilcileri
• Bölüm /Birim Sorumluları
• Doku Tipleme Laboratuvarı Çalışanları
• Tüm Çalışanlar

6.0 FAALİYET AKIŞI

6.1 DOKU TİPLEME LABORATUVARI GENEL BİLGİLER

6.2 DOKU TİPLEME LABORATUVARINDA ÇALIŞILAN TESTLER VE YÖNTEMLERİ

6.3 DOKU TİPLEME LABORATUVARI TEST GİRİŞLERİ

6.4 DOKU TİPLEME LABORATUVARI İÇİN ÖRNEK ALIM TÜPLERİ

6.5 DOKU TİPLEME LABORATUVARINDA ÇALIŞILAN TESTLERE AİT ÖRNEK ALINMASI

6.6 DOKU TİPLEME LABORATUVARINA ÖRNEKLERİN TRANSFERİ VE KABULÜ

6.7 DOKU TİPLEME LABORATUVARI PERSONEL TANIMI VE EĞİTİMİ

6.8 DOKU TİPLEME LABORATUVARI TEST YÖNTEMLERİ

6.9 ÇALIŞILAN ÖRNEKLERİN RAPORLANMASI

6.10 KAYITLARIN SAKLANMASI

6.11 DOKU TİPLEME LABORATUVARI İÇ VE DIŞ KALİTE KONTROL

6.12 STOK YÖNETİMİ

6.1 DOKU TİPLEME LABORATUVARI GENEL BİLGİLER

KTÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Farabi Hastanesi Doku Tipleme 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 bir laboratuvardır. Bu anlamda laboratuvarımız organ ve doku nakli hizmetleri için gerekli desteği sağlayarak bu alandaki uygulamaların başarılı olmasını sağlar. 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.

Laboratuvarımızda rutin olarak yapılan testler yanında moleküler düzeyde araştırma amaçlı testler de yapılmaktadır. Gerek doku uyumu tayini gerekse de iç ve dış kalite denetim uygulamaları ile verdiğimiz hizmetlerin kalite güvenliği sağlanmaktadır.

Misyonumuz; laboratuvarımızda uluslararası kalite standartlarına ve etik kurallara uygun olarak, bilimsel veriler ışığında, güvenilir, kaliteli, verimli bir hizmet sunmaktır.

Vizyonumuz; güven, saygınlık konusunda lider, referans ve ulusal standartlara uygun bir laboratuvar olmaktır. Doku Tipleme Testleri saat 08.00'de çalışılmaya başlanır. Laboratuvarımızda her personel her işi yapabilecek şekilde eğitilmiştir. Çalışmalar uluslararası yöntemlere uygun şekilde çalışılır.

6.2 DOKU TİPLEME LABORATUVARINDA ÇALIŞILAN TESTLER VE YÖNTEMLERİ

6.2.1 Doku Tipleme Testleri

DOKU TİPLEME TESTLERİ
HLA-A (Düşük Çözünürlük, Yüksek Çözünürlük)
HLA-B (Düşük Çözünürlük, Yüksek Çözünürlük)
HLA-C (Düşük Çözünürlük, Yüksek Çözünürlük)
HLA-DR (Düşük Çözünürlük, Yüksek Çözünürlük)
HLA-DQ (Düşük Çözünürlük, Yüksek Çözünürlük)
HLA-DP (Düşük Çözünürlük, Yüksek Çözünürlük)
HLA-B*27 (Düşük Çözünürlük)
HLA-B*5/51 (Düşük Çözünürlük)

HLA ANTİKOR TARAMA VE TANIMLAMA 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
DSA (Donör Spesifik Antikor) Class I / II

CROSSMATCH TESTLERİ
CDC Crossmatch (Kompleman Bağımlı Sitotoksiste)

6.2.2 Doku Tipleme Laboratuvarı Test Yöntemleri

Eş Anlamlı	HLA Tipleme
Metod	SSP, Luminex LAB Scan 3D SSO,
Numune Türü	EDTA'lı kan
Numune Miktarı	2 ml
Numune Kabı	Mor Kapaklı Tüp
Çalışma Zamanı	Her Gün
Sonuç Verme Süresi	2 Hafta

NOT: Kadavra Vericili Nakillerde Doku Tipleme Çalışma Süresi 3 Saattir.

Eş Anlamlı	PRA, DSA
Metod	Luminex LAB Scan 3D SSO
Numune Türü	Düz Kan (SERUM)
Numune Miktarı	3 ml
Numune Kabı	Kırmızı/Sarı Kapaklı Jelli Tüp
Çalışma Zamanı	2 Hafta
Sonuç Verme Süresi	2 Hafta

NOT: Kadavra Vericili Nakillerde Test Çalışma Süresi 2 Saattir

Eş Anlamlı	LCM
Metod	CDC
Numune Türü	Verici, ACD-A tüp Alıcı, ACD-A tüp +Serum (sarı kapaklı)
Numune Miktarı	8ml ACD-A tüp (her tüp için) 3ml Serum
Numune Kabı	Kırmızı /Sarı Kapaklı Jelli
Çalışma Zamanı	Her Gün
Sonuç Verme Süresi:	1 Gün

NOT: Kadavra Vericili Nakillerde Çalışma Süresi 3 Saattir.

UYARI: Diyaliz hastaları test örneklerini diyalize girmeden önce vermelidirler.

6.3 DOKU TİPLEME LABORATUVARI TEST GİRİŞLERİ

Polikliniğe başvuran tüm hastalara, Poliklinik sekreteri tarafından hastaya ait kimlik doğrulaması yapılır ve giriş işlemleri tamamlanarak hasta muayene olmak üzere gerekli polikliniğe yönlendirilir.

Muayene olan hastaya doku tiplleme laboratuvarı test istekleri HBYS üzerinde doktor modülü üzerinden gerekli testler işaretlenir. Hasta erişkin veya çocuk kan alma ünitesine yönlendirilir.

Laboratuvar İstek Formu [BİM]

Dosya No Protokol No Hastanın Adı Soyadı Pol / Servis Res/Ücr. Hastanın Maliyeti

1. Grup 2. Grup Tümü

Biyokimya Laboratuvarı

- Kan Tahlilleri
- İdrar Tahlilleri
- Vücut Sıvısı Tahlilleri
- Dış Tetkikler

Mikrobiyoloji Laboratuvarı

- THOMA İnceleme
- Kültür
- Parazitoloji
- Seroloji
- İmmünoloji
- Moleküler Testler
- Tüberküloz Tanısı
- Helikobakter Tanısı
- Dış Tetkikler
- Kan Bankası Testleri

TIBBİ GENETİK

DOKU TİPLEME / HEMATOLOJİ LAB.

- Hemostaz Tetkikleri
- Periferik Kan
- Kemik İliği
- Özel Boyalar
- Mutasyon Analizi/Hücre Kültürü
- İmmünolojik Testler - Akım Sitometri
- Hemoglobin ve Eritrosit Tetkikleri
- Serolojik
- Moleküler PCR-SSP / SSO

Aradığınız tetkiki yazınız...

Tetkikleri çift tıklayarak isteyebilirsiniz

HLA-B27	Periferik venöz ka	M	>
HLA-A	Periferik venöz ka	M	>
HLA-B	Periferik venöz ka	M	>
HLA-C	Periferik venöz ka	M	>
HLA-DR	Periferik venöz ka	M	>
HLA-DQ	Periferik venöz ka	M	>
HLA-DP	Periferik venöz ka	M	>
HLA A,B,C,DR,DQ,DP (Donör Tarama)	Periferik venöz ka	M	>
HLA-ABDR (KBY Hastası için)	Periferik venöz ka	M	>
PRA Class I-II Tarama	Periferik venöz ka	M	>
PRA Class I-II Spesifik Tanımlama	Periferik venöz ka	M	>

Yeni İstekler Önceki İstekler Red Numuneler

Tetkik Listesi (Yeni / Eklenen)

HLA A,B,C,DR,DQ,DP (Donör Tarama) (Periferik venöz ka) Birim Fiyat : -

PRA Class I-II Tarama (Periferik venöz ka) -

HLA-ABDR (KBY Hastası için) (Periferik venöz ka) -

Toplam Fiyat : -

Hasta / Donör Hasta
Adı -

İstek Açıklaması : Acil

Kaydet
-Temizle-

Test Rehberi (Mikrobiyoloji) Testler hakkında detaylı bilgi için : <http://labtestonline.org.tr/> Konsültasyon İstek

Test Rehberi (Biyokimya) Dış Tetkik Rehberi ICD-10 Giriş Barkod Kontrol Telefon Rehberi ÇIKIS

KONTROLLÜ KOPYA

Hastalar, kan alma sekreterliğinden giriş yaparak HBYS üzerinden isteği görülen tetkiklere ait barkotlu tüplerini alıp kan alma hemşirelerine yönlendirilir. Hemşire tarafından kimlik doğrulaması gerçekleştirilen hastaların kan alma işlemi gerçekleştirilir.

Laboratuvar tarafından tanımlanmış ve gerekli eğitimleri verilmiş posta tarafından belirli periyotlarla gün içinde erişkin ve çocuk kan alma ünitesinden numuneler doku tiplene laboratuvarına transfer edilir.

Laboratuvara transfer edilen numuneler, numune kabul birimi tarafından karşılanıp kabul formu ile birlikte ilgili çalışma alanlarına (serolojik, moleküler veya immünolojik) aktarılır.

	N.Alım Tarihi : 05.07.2021 08:30 - POL N.Alan Kişi : ██████████
14 ██████████ 3	Kabul Tarihi : 05.07.2021 09:32 Servis / Pol. : Dahiliye Polikliniği İsteyen Dr. : Asistan Dr. ██████████
Dosya No : ██████████ Adı Soyadı : ██████████	Yaş: 65, Cinsiyet: E
H (DOKU TİPLEME) MR^H (DOKU TİPLEME) MR TANI : M02.96 Reaktif artropati, tanımlanmamış, bacak K58.9 İrritabl barsak sendromu, diarezis E55.9 Vitamin D eksikliği, tanımlanmamış AÇIKLAMA : HLA-B27 (Periferik venöz kan)	

Numune Kabul Formunda

Numune kabul formunda.

- Dosya/Protokol No
- Hastanın Adı Soyadı
- Numune Alım Tarihi
- Numuneyi alan tanımlı hemşire
- Numunenin karşılanma Tarihi/Saati
- Hangi poliklinikten istendiği
- İsteği yapan hekim bilgileri mevcuttur.

6.4 DOKU TİPLEME LABORATUVARI İÇİN ÖRNEK ALIM TÜPLERİ

6.4.1 Mor/Pembe 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 2 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.

6.4.2 Sarı/Kırmızı Kapaklı Tüpler

Sarı kapaklı plastik jelli tüp veya kırmızı kapaklı plastik jelli tüp. Tüpler içinde bulunan jel, santrifüj sonrasında serum ve kan hücreleri arasında fiziksel bir engel oluşturmakta, tüp çeperinde bulunan silika partikülleri sayesinde serum pıhtılaşmasını hızlandırmaktadır.

NOT: Tüp Kesinlikle Çalkalanmamalıdır !!!!!

KONTROLLÜ KOPYA

6.4.3 Açık Sarı Kapaklı Tüpler

Tüpün içerisinde 1,5ml ACD-A bulunmaktadır. Pıhtı önleyici (anticoagulant) ACD-A hareketle geçer, böylece pıhtılaşmayı bloke eder ve seruma ek olarak pıhtılı kan yerine tam kan/plazma örneği üretir

TÜPLER	İÇERİK	ETKİSİ	KULLANILDIĞI TESTLER
	Pıhtı aktivatör ve jel separatör	Pıhtı Oluşumunu Hızlandırmak	PRA HLA Class I Tarama PRA HLA Class II Tarama PRA HLA Class I Spesifik Ag Tanımlama PRA HLA Class II Spesifik Ag Tanımlama
	EDTA	Ca' u Bağlayarak Pıhtılaşmayı Engellemek	HLA A, B, C, DR, DQ HLA B27
	ACD-A	Pıhtılaşmayı Önlemek	CDC Croosmatch

Tablo 1: Doku Tiplendirme Laboratuvarında Kullanılan Test Tüpleri

6.5 DOKU TİPLEME LABORATUVARINDA ÇALIŞILAN TESTLERE AİT ÖRNEK ALINMASI

Doku Tipleme Laboratuvarında yapılan testlerin hiçbiri ön hazırlık gerektiren testler değildir. Ancak kan vermeden önce dikkat edilmesi gereken bazı konular vardır.

- 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,
- Daha önceki nakil bilgileri,
- Kan transfüzyonları,
- Bayan hastaların geçirdiği gebeliklerin bilinmesi,

Bu testlerin sonuçlarının analizinde önemlidir. Bu etkenler aynı zamanda test sonuçlarını da etkilemektedir.

6.5.1 Kan Örneklerinin Alınması

Hastane içi polikliniklerden ve kliniklerden gelen (Kemik iliği ve solid organ transplant adayları ve donörlerinin) kan örneklerinde serolojik moleküler düzeyde testler çalışılır. Ayrıca kadavra donör için doku tipleme ve renal transplant adaylarına Lenfosit Crossmatch (LCM) çalışılır.

6.5.1.1 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 sisteminde 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.

6.5.1.2 Polikliniklerden Kan Alma Ünitesine Gelen Hastaların Kan Örneklerinin Alınması

- Kan Alma Ünitesine gelen hastayı, ünite sekreteri karşılar.
- Ünite sekreteri hastaya ait kimlik doğrulaması yapar.
- Hastanın test istemlerini otomasyon sisteminde görülür, testlere ait barkotları basar.
- Barkotlarda hastanın kimlik tanımlayıcılarıyla birlikte, testin adı, testin hangi poliklinikten istendiği örneğin alınış tarih ve saati yer alır.
- Böylece örneğin alım tarihi ve saati HBYS (Hastane Bilgi yönetim Sisteminden) ve Laboratuvar İşletim Sistemi'ne (LİS) kaydedilmiş olur.
- Başhekimlik tarafından çocuk ve erişkin kan alma ünitelerinde yetkilendirilmiş hemşireler, Doku Tipleme Laboratuvarından verilen formu kontrol edip doldurarak kan alma işlemini gerçekleştirir.

6.5.2 Kan Örnekleri Alım Kuralları

Kan Almadan Önce Aşağıdaki Malzemeleri Hazır Bulundurulur

- Deri dezenfeksiyonu: %70'lik alkol (izopropil alkol, etanol) gazlı pedler, yara bandı.
- Tek kullanımlık lateks veya vinil eldivenler
- Turnike, adaptör, iğne uçları veya tek kullanımlık şırıngalar
- Etiketler ve kalem

Tüm Yukarıda Bahsedilenler Göz Önüne Alındıktan Sonra,

- Kan alma işleminden önce ellerinizi iyice yıkayınız.
- Hastanın kimliğini doğrulayın. Bunu hastanın ismini sorarak veya kimlik kartını görerek yapabilirsiniz.
- 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.
- Oturarak/yatarak ve ayakta durarak kan alma pozisyonları, sonuçları ciddi anlamda etkiler. Yatarak ve oturma pozisyonu arasındaki fark % 5-15' dir !!!
- 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 hematomun alt kısmından alınabilir.
- 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.
- Numara büyüdükçe çap küçülür, normal erişkinde genellikle 21-yeşil uçlu veya 22-siyah uçlu kullanılır.
- Eğer venöz kan toplayacaksanız, uygun veni seçin. Büyük ve dolgun venleri seçmek için her iki kolu kontrol edin. Yetişkinlerde antekubitalfossada kalın ve derinin yüzeyine yakın veni tercih edebilirsiniz.
- Kan alınacak bölgenin çevresini, %70'lik izopropanolle doymuş gazlı bezle, dairesel hareketlerle ve kan alma bölgesinden dışa doğru temizleyin.
- Hemolizi ve hastadaki yanma duyusunu önlemek için bölgenin hava ile kurummasını sağlamalısınız.
- Kan alma bölgesinin 10-15 cm üzerinden turnikeyi uygulayıp, İşaret parmağı ile venlerin geçiş yolunu palpe edin.
- Alım yapılacak ven bölgesine gerekirse işaret parmağı ile ve ikinci parmakla hafifçe vurarak venin dilate olmasını sağlayın.
- 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 artırır.
- 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.
- İnfüzyon yapıyorsa infüzyon 3 dakikalığına durdurulmalı ve sonra tercihen diğer koldan kan alınmalıdır.
- Vakumlu kan tüpüne kan almak için, kan alma tüpü tutucusuna iğnesini vidalayın.
- Vene girmek için iğneyi, kan alınacak venle hizalayıp, deriye yaklaşık 15 derecelik açı yapacak şekilde venin içine 0,5-1cm itin.
- 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.
- Kan tüpün içine akmaya başladığında iğne hareket ettirilmeden turnikeyi gevşetiniz.
- Vakum bitinceye kadar tüp doldurulur, sonra tüp adaptörden çekilir ve yerine başka tüp sokulur.
- 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 alınır.

- Tüplerin ağzını sıkıca kapatın, tüplerin içinde katkı maddesi veya antikoagulan varsa tüpleri yavaşça 5-7 kez alt üst ederek karıştırın.
- Kan alma işlemini tamamladığınızda, 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.
- Alınan numuneler kan ise aynı gün çalışılmıyorsa +4 °C derecede buzdolabında 1 gece bekletilebilir. Daha uzun süreler kalacaksa serumları ayrılarak -20 °C derecede dondurulup saklanır. Çalışılacağı zaman çözündürülür.
- Kan alma için kullandığınız iğne uçları ve enjektör uçlarını da sarı renkli tıbbi atık kovasına atınız.

Kan Aldıktan Sonra Numunelerin Bekletilmesi

- Antikoagulanlı tüplere kan aldıysanız tüpleri nazik bir şekilde en az 5-6 defa alt üst etmeyi unutmayın
- 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.
- Serumları ayrılmadan önce kırmızı ya da sarı kapaklı tüpleri tercihen dik pozisyonda 10-20 dakika süreyle pıhtılaşmaya bırakın.

NOT

Tüpler sallanmamalıdır. Kuvvetli bir karıştırma, köpürmeye ya da hemolize neden olur. Serum tüplerinde 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 kan bulaştığında, tehlikeli olduğu düşünülmeli ve derhal çöpe atılmalıdır

6.5.2.1 Kan Aldıktan Sonra Vericide Hematom Oluşmaması İçin Aşağıdaki Kurallara Dikkat Edilir

- Venin sadece ön duvarı delinir.
- İğneyi çıkarmadan önce turnike kaldırılır.
- Sadece büyük venler kullanılır. Yüzeysel ince venlerden alınmaz.
- İğnenin venin ön duvarına tamamen girdiğinden emin olunur. Kısmen girmesi kanın yumuşak dokuya sızmasına neden olabilir.

6.5.2.2 Vericiden Kan Örneği Alınmadığı Durumlarda

- İğnenin pozisyonunu değiştirin, iğne venin çok uzağından giriş yaptıysa iğne geri çekilmeli,
- İğne venin çok uzağında değilse vene doğru ilerletilmelidir. İğne yarım tur döndürülebilir.
- Başka bir tüp deneyin, tüpün vakumu kalmamış olabilir.
- Turnikeyi gevşetin. Çok sıkı uygulanmış böylece kan akımını durdurmuş olabilirsiniz.
- Vene sondaj yapmak (iğneyi dik sokmak) hastada ağrıya yol açtığı için bu hareketten kaçının. Çoğu zaman ilk girilen bölgenin altında bir yere girilmesi önerilir.
- Hiçbir zaman iki defadan fazla giriş yapmayın

6.6 DOKU TİPLENDİRME LABORATUVARINA ÖRNEKLERİN TRANSFERİ VE KABULÜ

6.6.1 Örneklerin Transferi

- Yetişkin ve Pediatri kan alma ünitelerinde alınan hasta numuneleri, Doku Tipleme Laboratuvarı tarafından tanımlanan posta aracılığı ile dereceli taşıma çantalarında gün içerisinde belirli periyotlar ile laboratuvara transfer edilir.
- Kadavradan organ nakillerinde numuneler bekletilmeden laboratuvara teslim edilir.

KONTROLLÜ KOPYA

- Numunelerin transferi esnasında personele ve çevreye bulaşı önlemek için taşıma işlemi azami dikkat gösterilerek yapılır.
- Transfer işlemi esnasında personel koruyucu eldiven giymelidir.
- Numune kapaklarının sıkıca kapandığından emin olmalıdır.
- Numune kapları taşıma kabına devrilmelerini önleyecek şekilde DİKEY olarak yerleştirilmelidir.
- Transfer esnasında sert ve ani hareketlerden kaçınılmalı, numunelerin çalkalanmamasına dikkat edilmelidir.
- 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, kâğıt havlu vb. ile kapatılıp 15 dk. bekledikten sonra temizlenir
- İlgili çalışanlara örnek alımı ve transferi konusunda eğitim verilmiştir.
- Taşıma kabı seri bir şekilde doğrudan laboratuvara ulaştırılır.

6.6.2 Örnek Kabul ve Ret Kriterleri

Numune kabul birimine gelen kan örnekleri aşağıdaki şekilde sınıflandırılarak kabul ve ret işlemleri gerçekleştirilir.

LABORATUVAR ADI	HANGİ TÜP	ÇALIŞILAN TEST
MOLEKÜLER GENETİK KİMERİZM	CBC Tüpü	Kimerizm (DNA İzolasyonu)
HEMOSTAZ AKIM SİTOMETRİ	CBC Tüpü APTT Tüpü Biyokimya Tüpü Heparinli Tüp	İmmüfenotipleme PNH Trombosit Paneli İmmün Yetmezlik DNA Apopitozis Lösemi Panelleri
DOKU TİPLENDİRME	CBC Tüpü Biyokimya Tüpü	Tüm HLA'lar PRA
LCM	ACD'li Tüp Biyokimya Tüpü	LCM

6.6.3 Numune Kabul Ret Kriterleri

NUMUNE RED KRİTERİ	NUMUNE KABUL KRİTERLERİ
• Pıhtılı ve hemolizli numuneler,	• Pıhtılı ve hemolizli olmayan numuneler,
• 3 ml'den az veya fazla alınmış	• Çalışılacak teste yeterli miktarda ve uygun tüpe alınmış numuneler,
• 25°C'nin altındaki oda sıcaklığında muhafaza edilmemiş EDTA'lı kanlar,	• 25°C'nin altındaki oda sıcaklığında muhafaza edilmiş kanlar,
• 48 saatten fazla sürede laboratuvara ulaşmış kanlar	• 48 saatten az sürede laboratuvara ulaşmış kanlar,
• Uygun tüpe ve yeterli miktarda alınmamış kanlar	• Uygun tüpe ve yeterli miktarda alınmış kanlar,
• Tüpün kapağının kapalı olmadığı kanlar,	• Hasta adı/soyadı, numunenin türü bilgisi yazılmış kanlar,
• Hasta adı/soyadı, numunenin türü bilgisi yazılmamış kanlar,	• Çalışılacak test bilgisi yazılmış kanlar.
• Çalışılacak test türü bilgisi olmayan kanlar.	

NOT: Numunenin reddedilmesi durumunda HBYS sisteminde **Kırmızı** renkli bant şeklinde renk değişikliği ile görüntülü olarak uyarı sistemi mevcuttur. Numune ret nedeninin bilgilendirilmesi HBYS üzerinden yapılmaktadır.

6.6.4 Örneklerin Laboratuvara Kabulü

- Numune Kabul Birimimde görevli personel tarafından numuneler LHSS ne göre göre karşılanır.
- Ret edilen numuneler aynı gün/ay içerisinde **Sağlık Bakanlığı Türkiye Hasta Güvenliği Bildirim Sistemi/Laboratuvar Güvenliği Olay Bildirim Sistemine** kayıt edilir.
- LCM testleri için ayrıca **Hasta/Donör Ön Bilgi Formu** doldurtularak kabul edilir.
- Örnekler seroloji laboratuvarında görevli personele teslim edilir.
- Laboratuvar tarafından reddedilen örnekler aylık olarak analiz edilmeleri için kayıt altına alınır.

6.6.5 Doku Tipleme Laboratuvarı Test Bilgileri ve Sonuç Verme Süreleri

TESTİN ADI	ÇALIŞMA METODU	ORTALAMA ÇALIŞMA SÜRESİ	ÖRNEK MİKTAR	İLGİLİ ENDİKASYON	TRANSFER
HLA-A, B, DR	Moleküler SSO/SSP	2 HAFTA	2 ml	Solid ya da Kök Hücre Nakli İçin Doku Tipleme	18-24 °C 1 GÜN
HLA-B*27	SSP	1 HAFTA	2ml	Ankilozon Spondilit İçin Doku Tipleme	18-24 °C 1 GÜN
HLA-B*5/51	SSO	1 HAFTA	2ml	Behçet İçin Doku Tipleme	18-24 °C 1 GÜN
HLA-DQ Lokus	SSO	1 HAFTA	2ml	Çölyak İçin Doku Tipleme	18-24 °C 1 GÜN
HLA-DP Lokus	SSO	1 HAFTA	2ml	Kök Hücre Nakli İçin	18-24 °C 1 GÜN
HLA-DR Lokus	SSO	1 HAFTA	2ml	Diyabet İçin Doku Tipleme	18-24 °C 1 GÜN
CDC-Crossmatch	Serolojik	2 GÜN	Verici:20 ml Alıcı:20ml+3 ml	Solid Organ Nakli İçin Donöre Spesifik Antikor Tarama	18-24 °C 1 GÜN
Flow Crossmatch	Akım sitometri	2 GÜN	Verici:20 ml Alıcı:20ml+3 ml	Solid Organ Nakli İçin Donöre Spesifik Antikor Tarama	18-24 °C 1 GÜN
PRA Spesifik Ag Tarama	LAB. SCREEN	2 HAFTA	3ml	Solid Organ Nakli İçin Antikor Tarama	18-24 °C 1 GÜN
PRA/DSA ClassI Spesifik Ag Tanımlama	LAB. SCREEN	2 HAFTA	3ml	Solid Organ Nakli İçin Antikor Tanımlama	18-24 °C 1 GÜN
PRA/DSA ClassII Spesifik Ag Tanımlama	LAB. SCREEN	2 HAFTA	3ml	Solid Organ Nakli İçin Antikor Tanımlama	18-24 °C 1 GÜN

NOT: Herhangi bir nedenle mevcut durumda bir değişiklik olduğunda (cihaz arızaları, otomasyon sorunları gibi) hastaların sisteme kayıtlı telefonlarına SMS gönderilerek sonuç verme süreleri hakkında bilgilendirme yapılmaktadır.

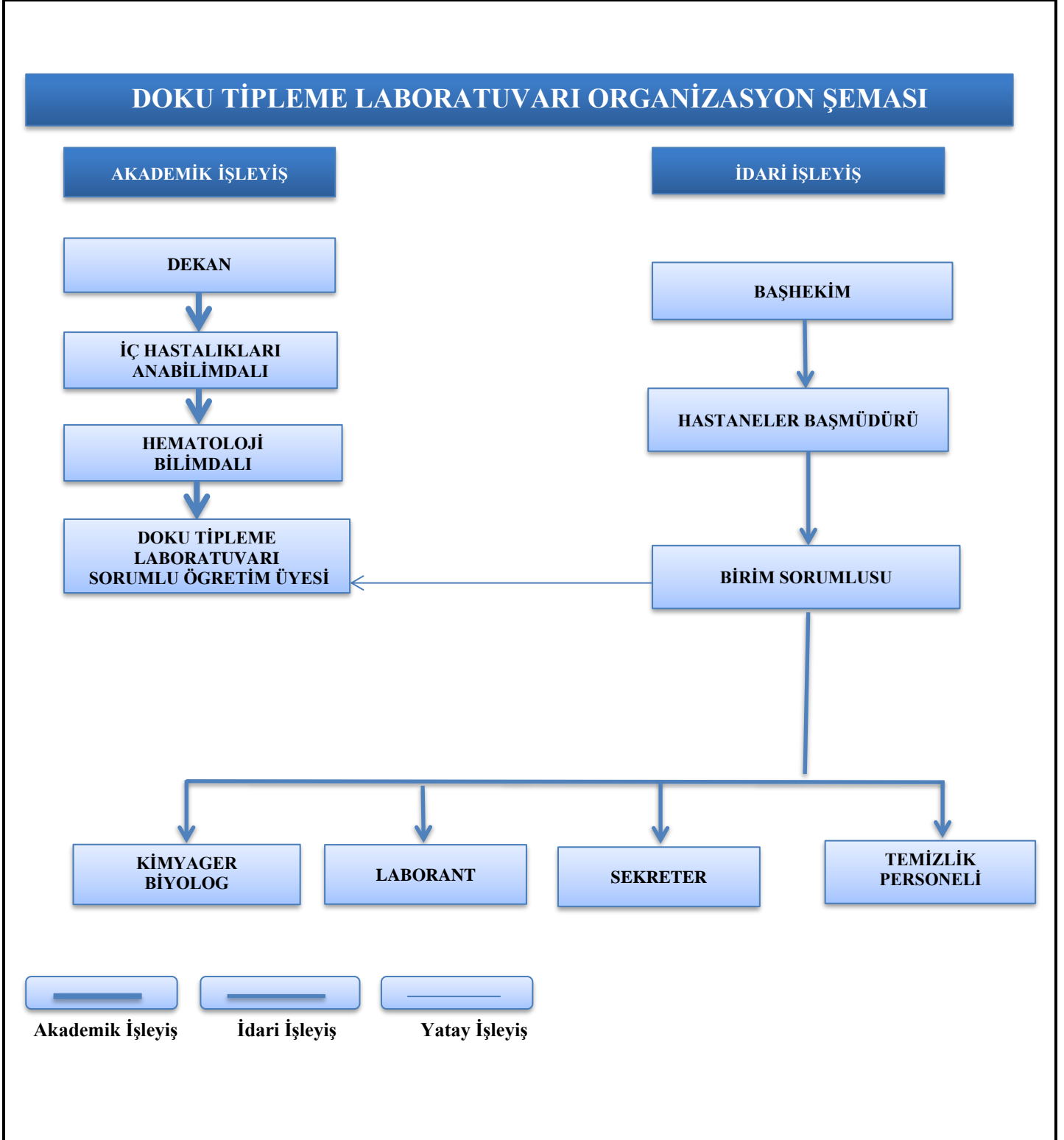
6.6.6 Doku Tipleme Laboratuvarında Test Sonuçlarının Onaylanması

- Analiz süreci tamamlanmış test sonuçları *Tetkik ve Analiz Sorumlusu* tarafından kontrol edilerek *Laboratuvar Sorumlusu/Yardımcısına* onaya sunulur.
- Onayı tamamlanmış test sonuçları hasta/hastanın birinci dereceden yakınına elektronik ortamda kayıt edilerek teslim edilir.

NOT: Crossmatch testleri ve PRA testleri için istenen tek bir test örneği ile diğer istenecek Crossmatch ve PRA testleri çalışılabilmektedir.

6.7 DOKU TİPLEME LABORATUVARI PERSONEL TANIMI VE EĞİTİMİ

6.7.1 Organizasyon Şeması



6.7.2 Doku Tipleme Laboratuvarı Personel Görev Tanımları

Doku Tipleme Laboratuvarı Bölüm Sorumlusu;

- Üçüncü taraflara karşı doku tipleme laboratuvarını temsil eder. Ayrıca, laboratuvar çalışanlarının görev dağılımını, çalışma alan, kapsam ve saatlerini, malzeme/cihaz gereksinim ve alımlarını belirler, hizmet içi eğitimden, hizmet kalite standartlarının uygulanmasından sorumludur.
- Laboratuvarında gerçekleştirilen tüm tetkiklerin planlanması, sonuçlandırılması ve raporlandırılması konularında yetkilidir.
- Laboratuvarında çalışanlardan birinci derecede sorumludur.

Doku Tipleme Laboratuvarı Bölüm Sorumlu Yardımcısı

- Sorumluya görevlerinde yardımcı olur,
- Sorumlunun görev başında olmadığı durumlarda ona vekâlet eder.
- Laboratuvarında tam zamanlı olarak görev yapar.

Tetkik ve Analiz Sorumlusu; Doku tipleme laboratuvarı sorumlusunun belirlediği görev alanları içerisinde, tetkiklerin analizi, rapora hazırlanması, saklanması ve arşivlenmesi aşamalarında uygulayıcı olarak görev alır.

Teknik Sorumlu; Doku tipleme laboratuvarı sorumlusunun belirlediği görev alanları içerisinde tetkiklerin gerçekleştirilmesi, analize hazırlanması örneklerin saklanması aşamalarında uygulayıcı olarak görev alır.

Laboratuvar Teknisyeni; Doku tipleme laboratuvarı sorumlusunun belirlediği görev alanlarında verilen görevleri yerine getirir

Birim Kalite Sorumlusu; Hizmet kalite standartlarının yerine getirilmesinde gerekli organizasyondan, iç denetim yapılması ve gereken iyileştirici tedbirlerin alınmasından Laboratuvar Sorumlusuna karşı sorumludur.

6.7.3 Doku Tipleme Laboratuvarı Personel Eğitimi

Hizmet kalite standartları gereği alınması gereken zorunlu eğitimler dışında ayda bir adet seminer yapılmaktadır.

6.8 DOKU TİPLEME LABORATUVARI TEST YÖNTEMLERİ

Doku tipleme laboratuvarında yapılan analizler; serolojik çalışmalar, moleküler çalışmalar ve PRA olmak üzere üç ana başlık altında toplanmaktadır.

1.Serolojik Çalışmalar

- HLA A, B, C (Lenfositotoksite) Testleri Lenfosit Crossmatch (LCM)

2.Moleküler Çalışmalar

- HLA-A, B, C, DR, DQ, DP (SSP – SSO)

3. PRA (Panel Reaktif Antikor)

- KLAS I / II Tarama Testleri
- KLAS I / II Tanımlama Testleri

Doku Tipleme Laboratuvarında Analizlerde Kullanılan Numuneler

- Serolojik çalışmalarda kandan elde edilen T ve B lenfosit hücreleri ve ayrıca lenfosit crossmatch analizinde bu hücrelere ek olarak hasta serumu kullanılır.
- Moleküler çalışmalarda ise kullanılan materyal kandan izole edilen DNA dir.
- PRA analizleri için hasta serumu kullanılır.

6.8.1 Serolojik Çalışmalar

Crossmatch, HLA A/ B/ C çalışmalarında hastanın T-B lenfosit hücreleri ve serumu, donörün kandan veya dalaktan izole T-B lenfosit hücreleri kullanılır.

6.8.1.1 Kandan T ve B Lenfosit Hücre İzolasyonu

- Hastadan 8 ml ACD li tüpe tüpe kan alınır
- Donörden 8 ml ACD li tüpe tüpe kan alınır
- Alınan bu kanlar en geç 30 dk. içinde çalışılmalıdır.
- Hasta biyokimya tüpü 2500 rpm de 5 dk. santrifüj edilir, serum çalışılmak üzere ayrılır.
- Hasta ve donör için ikişer tane tüp alınır. İlk tüpler B-lenfositler, ikinci tüpler T-lenfositler için yazılır ve ayrılır.

- Hasta B-lenfosit tüpüne, 2000ul hasta ACD tüpünden kan alınır. Donör B-lenfosit tüpüne, 2000ul donör ACD tüpünden kan alınır. Üzerlerine 2000ul PBS eklenir.
- Hasta T-lenfosit tüpüne, 2000ul hasta ACD tüpünden kan alınır. Donör T-lenfosit tüpüne, 2000ul donör ACD tüpünden kan alınır.
- B lenfosit tüplerine 40ul B Fluoro Beads ilave edilir.
- T lenfosit tüplerine 80ul T Fluoro Beads ilave edilir.
- Tüm tüpler karıştırıcıda 4dk. karıştırılır.
- T lenfosit tüplerine 2000ul 1X Developer eklenir, karıştırıcıda 2-3dk.karıştırılır. B-lenfosit tüpler miktarısta 4dk.bekletilir.
- T lenfosit tüpleri miktarısta 4dk.bekletilir, süre sonunda sıvı kısım atılır (tüpler miktarıstayken). Tüplere 4000ul PBS koyulur 4dk. bekletilip sıvı kısım atılır. Bu işlem bulanıklık giderilene kadar 1 dk. beklenerek tekrar edilir.
- Miknatısta 4 dk. bekletilen B lenfosit tüpleri de aynı T lenfosit tüpleri gibi PBS ile yıkama yapılır. (Aynı işlem uygulanır)
- 1425ul RPM-I ve 75ul fetal calf serum karıştırılarak 1/5 oranında dilue edilir.
- Miknatıstan alınan B-lenfosit tüplerine 100ul dilue fcs eklenir.
- Miknatıstan alınan T-lenfosit tüplerine 200ul dilue fcs eklenir.
- Hemen ekim yapılmayacaksa tüpler +4C de saklanır.

6.8.1.2 Dalaktan T ve B Lenfosit Hücre İzolasyonu

- Mevcut dalağa içinde PBS olan enjektörle 2-3 yerinden enjekte edilir.
- Steril gazlı bez ile süzülerek tüplere PBS'li kan karışımı alınır.
- B lenfosit tüpüne bu kan süspansiyonundan 2000ul alınır. T lenfosit tüpüne 2000ul kan süspansiyonundan alınır.
- B lenfosit tüpüne 2000ul PBS eklenir karıştırılır ve B lenfosit tüpüne 40ul B Floro Beads ilave edilir.
- T lenfosit tüplerine 80ul T Fluoro Beads ilave edilir.
- Tüm tüpler karıştırıcıda 4dk. karıştırılır.
- T lenfosit tüplerine 2000ul 1X Developer eklenir, karıştırıcıda 2-3dk.karıştırılır. B-lenfosit tüpler miktarısta 4dk.bekletilir.
- T lenfosit tüpleri miktarısta 4dk.bekletilir, süre sonunda sıvı kısım atılır(tüpler miktarıstayken).Tüplere 4000ul PBS koyulur 4dk. bekletilip sıvı kısım atılır. Bu işlem bulanıklık giderilene kadar 1 dk. beklenerek tekrar edilir.
- Miknatısta 4 dk. bekletilen B lenfosit tüpleri de aynı T lenfosit tüpleri gibi PBS ile yıkama yapılır. (Aynı işlem uygulanır)
- 1425ul RPM-I ve 75ul fetal calf serum karıştırılarak 1/5 oranında dilue edilir.
- Miknatıstan alınan B-lenfosit tüplerine 100ul dilue FCS eklenir.
- Miknatıstan alınan T-lenfosit tüplerine 200ul dilue FCS eklenir.
- Ve bu işlemden sonra istediğimiz hücreleri izole etmiş oluruz.
- Mikroskopta hücre yoğunluğuna bakılarak sulandırma işlemi artırılabilir.

6.8.1.3 Lenfosit Crossmatch (LCM) Analizi

Kullanılan Materyaller:

- 1/5'lik FCS+RPMI1640
- Hasta serumu
- Pozitif/negatif control
- Vericinin T ve B lenfosit hücreleri.
- Hastanın T ve B lenfosit hücreleri.
- Analizde 72 kuyucuklu plaklar kullanılır
- Kuyucukların üzerine 1 ul hücre pipetlenir. Hücreler hamilton pipeti denilen özel bir pipetle ekilir.20 dk oda ısısında inkübe edilir.
- Süre sonunda 5 ul komplement elkenip 30 dk inkübe edilir. (Komplement hazır bir kittir, bir flakonda toz şeklinde bulunur, 2 mlt dH₂O ile sulandırılarak hazır hale getirilir)
- Süre sonunda 5 ul boya (AO/EB) ekilip 5-10 dk inkübe edilir.

- Süre sonunda plak floresan mikroskopta okunur. Kuyulardaki hücrelerin ölü ve canlı oranına göre skorlanır (puanlanır). Pozitiflik yani ölü hücre oranı %80 in üzerinde ise 8, %80-%60 arasında ise 6, %60-%40 arasında ise 4, %40-%20 arasında ise 2, %20 nin altında ise 1 şeklinde skorlanır. Hangi kuyucuklarda pozitif reaksiyonlar meydana gelmişse ona göre hastanın HLA-ABC doku grubu ortaya çıkartılır. (Mikroskopta ölü hücreler kırmızı, canlı hücreler yeşil renkte görülür)

Plak Düzeni

a: T lenfosit kontrol (2 ul negatif/pozitif kontrol)+(vericinin T hücrelerinden 1 ul)
a: B lenfosit kontrol (2 ul negatif/pozitif kontrol)+(vericinin B hücrelerinden 1 ul)
a: T lenfosit otolog (1 ul hasta serumu + hastanın T lenfositlerinden 1 ul)
a: B lenfosit otolog(1 ul hasta serumu + hastanın B lenfositlerinden 1 ul)
a: T LCM (1 ul hasta serumu+ vericinin T lenfositlerinden 1 ul)
a: B LCM (1 ul hasta serumu+ vericinin B lenfositlerinden 1 ul)

Parafinlenmiş plaklara ekim yukardaki düzende olduğu gibi yapılır. Hücre inkübasyonu 37 derecede 30 dakika inkübe edilir. Süre sonunda 1 ul cystine solüsyonu ekilir oda ısısında 5 dakika inkübe edilir. Süre sonunda 5 ul komplement ekilir oda ısısında 60 dakika inkübe edilir. Süre sonunda 5 ul boya ekilir(AO/EB) oda ısısında 5-10 dakika inkübe edilip mikroskopta okunur.

6.8.1.4 DTT'li Lenfosit Crossmatch (LCM) Analizi:

Kullanılan Materyaller:

- DTT solüsyonu (16 mg DTT (D, L- Dithiothreitol) + 10 ml PBS (Ph 7.4 olacak)
- 75ul FCS+1425ul RPMI1640 =1/5'lik
- Hasta serumu
- Vericinin T ve B lenfosit hücreleri
- Hasta T ve B lenfosit hücreleri
- Pozitif/negatif kontrol

Plak Düzeni DTT

a: T lenfosit kontrol (2 ul negatif/pozitif kontrol)+(vericinin DTT'li T hücrelerinden 1 ul)
a: B lenfosit kontrol (2 ul negatif/pozitif kontrol)+(vericinin DTT'li B hücrelerinden 1 ul)
a: T lenfosit otolog (1 ul hasta serumu + hastanın DTT'li T lenfositlerinden 1 ul)
a: B lenfosit otolog(1 ul hasta serumu + hastanın DTT'li B lenfositlerinden 1 ul)
a: T LCM (1 ul hasta serumu+ vericinin DTT'li T lenfositlerinden 1 ul)
a: B LCM (1 ul hasta serumu+ vericinin DTT'li B lenfositlerinden 1 ul)

6.8.1.5 Serolojik Testler İçin Kullanılan Solüsyonların Hazırlanışı

a. PBS Solüsyonu:

	1 Litre Hazırlamak İçin	5 Litre Hazırlamak İçin
NaCL	8gr	40gr
KCL	0,2gr	1gr
Na ₂ HPO ₄	0.92gr	4.6gr
KH ₂ PO ₄	0.2 gr	1gr

NOT: 1lt PBS solüsyonu içine 6 gr sodyum sitrat konularak sitratlı PBS solüsyonu hazırlanır.

- b. Stok Boya Solüsyonu (AO/EB):** 50mg Ethidium bromide + 15 mg Acridine orange karışımı 1ml %95 lik etanolde çözülür ve üzerine 49 ml distile su eklenir. Daha sonra bu karışım 50 adet ependorf tüpüne 1 ml şeklinde bölünüp -20 C de saklanır.
- c. Fluoro Quench AO/EB (One lamda)**
İçeriği,
 - Disodyum
 - Etilen Diamin-Tetra-Asetat-Dihidrat
 - Glioksal (FQ-AO/EB plus)
 - Sodyum Azid

- d. **Çalışma Boya Solüsyonu:** 1 ml stok boya solüsyonu 9 ml PBS ile karıştırılarak solüsyon hazırlanır. Plaklar çalışma solüsyonu ile boyanır.
- e. **DTT hazırlanışı:** 16mg DTT + 10ml PBS (Ph:7.4) =(1.6mg/ml)

6.8.3 Moleküler Çalışmalar

Moleküler çalışmalar için gerekli materyal kandan izole edilen DNA dır.

Kandan DNA İzolasyonu (Manuel)

- Laboratuvarımızda DNA izolasyonu için dört farklı solüsyondan oluşan kit kullanılmaktadır. Bu solüsyonlar; RBC solüsyonu, cell lysis solüsyonu, protein precipitation solüsyonu, DNA hidrasyon solüsyonu.
- İki adet 2000 ul lik ependorf tüp hazırlanır ve üzerine hastanın ismi yazılır.
- Tüplerden birine 900 ul RBC solüsyonu konur ve üzerine 300 ul tam kan ilave edilip en az 5dk beklenir. (Kan, tam kan tüpünde alınmış olacak).
- Süre sonunda 14000 rpm de 20 sn santifrüj edilir. Tüp santifrüjden çıkarılıp süpernatant dökülür. Tüpün dibinde beyaz hücre pelleti makroskobik olarak görülür.
- Tüpteki pelletin üzerine 300 ul cell lysis solüsyonu eklenip pipetajlanır, sonra üzerine 100 ul protein precipitation solüsyonu konulur ve vortekslenir.
- 14000 rpm de 1 dk santifrüj edilir. Diğer boş ependorf tüpüne 300 ul isopropanol alkol konulur.
- Santifrüjden çıkarılan tüpün üzerindeki süpernatant, isopropanol alkol konulmuş olan diğer ependorf tüpüne alınır ve tüpün kapağı kapatılarak 40-50 defa alt-üst edilir ve DNA makroskobik olarak görülür.
- Tüp tekrar santifrüjde 14000 rpm de 1 dk çevrilir. Tüp içerisindeki alkol dökülüp üzerine %70lik etanol konulur.
- 14000 rpm de 1 dk santifrüj edilir, daha sonra tüp içindeki etanol iyice dökülür. Üzerine 150-250 ul DNA hidrasyon solüsyonu konulur ve en az 5dk, en fazla 1 saat 65°C de hot-plate de bekletilir.
- Böylece DNA hazır hale getirilmiş olur.
- Otomatik DNA izolasyon cihazı vasıtasıyla da DNA izolasyonu yapılabilir.

6.8.3.1 HLA Tipleme Analizi (SSP)

a. HLA A, B, DR (SSP) Analizi

- Mikro SSP D-mix tüpleri, plaklar, DNA örnekler, belirtilen saklama koşullarından çıkarılarak oda sıcaklığına (20-25 C) çözülür.
- Çözülen malzemeler vortexlenir
- Aşağıdaki tabloya göre D-mix tüpleri hazırlanır.

Satır Adedi/Test	PCR Reaksiyon Adedi/Test	D-Karışım Hacmi (µl)/Test (Sağlanır)	DNA hacmi (µl)/test	Tag polimeraz hacmi (µl)/test
1-2	1-16 Reaksiyon	180	19	1
3	17-24 Reaksiyon	270	29	1,5
4	25-32 Reaksiyon	360	39	2
5	33-40 Reaksiyon	450	49	2,5
6	41-48 Reaksiyon	540	59	3
7-8	49-64 Reaksiyon	720	79	4
9	65-72 Reaksiyon	810	89	4,5
10-12	73-96 Reaksiyon	1000	111	5,6

- Negatif kontrol kuyucuğuna 1ul distilesu (ya da DNA seyreltici) eklenir.
- Tag polimeraz'dan gereken miktar, D-mix'e eklenir. Vortexlenir.
- Tag + D-mix karışımından 9ul negatif kontrol kuyucuğunda bulunan 1ul distilesu'ya eklenir.
- Gereken miktar DNA örneği, Tag+D-mix karışımına eklenir ve vortexlenir.
- Son karışımından 10ul (negatif kontrol kuyusu dışındaki) bütün kuyucuklara paylaşılır.
- Sağlanan plak kapağı ile tüplerin ağzını kapatılır. Termalcycler'a yerleştirilir. SSP-OLİ programı başlatılır.

Döngü Sayısı	Aşama	Sıcaklık(C)	Zaman(sn.)
1	1	96	130
	2	63	60
9	1	96	10
	2	63	60
20	1	96	10
	2	59	50
	3	72	30
SON	1	4	...

(Bu süre zarfında, 50ml TBE tampon + 1,25gr Agaroz ile hazırlanır.10-30ml TBE tamponu ise jel üstü için gereklidir.1-2 damla boyar madde olarak etihidium bromide kullanılır.)

- Plak termalcykler cihazından çıkarıldıktan sonra, plaktaki örnekler ve jele, negatif kontrol kuyucuğu sol üste gelecek şekilde yerleştirilir.
- Jel kasedinin kapağı kapatılır.150 voltta 4-8 dk. elektroforeze tabi tutulur. Süre bitiminde jel UV ışık ile analiz edilir.
- Jel sonuçları HLA Fusion 3.4.18 versiyon programında değerlendirilir.

b. HLA C-DQ (SSP) Analizi

- 2000 ul lik ependorf tüpüne aşağıdaki tabloya göre mastermiks hazırlanır.

Satır Adedi/Test	PCR Reaksiyon Adedi/test	D-Karışım Hacmi (µl)/test (Sağlanır)	DNA Hacmi (µl)/test	Tag Polimeraz Hacmi (µl)/test
1-2	1-16 Reaksiyon	180	19	1
3	17-24 Reaksiyon	270	29	1,5
4	25-32 Reaksiyon	360	39	2
5	33-40 Reaksiyon	450	49	2,5
6	41-48 Reaksiyon	540	59	3
7-8	49-64 Reaksiyon	720	79	4
9	65-72 Reaksiyon	810	89	4,5
10-12	73-96 Reaksiyon	1000	111	5,6

- Kuyulara 10 ar ul dağıtılır.
- Daha sonra kuyular kendine özel seal(yapışkan bant)ile kapatılıp iyice sıkıştırılır.
- Sonra bu düzenek PCR cihazına konulup, uygun program seçilip, cihaz çalıştırılır.
- Daha sonra 2 gr agarose bir erlenmayere konulup, üzerine %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 %5 lik TBE eklenir.
- PCR cihazından çıkarılan 96 kuyulu PCR ürünü jele uygun sırada yüklenir ve güç kaynağıyla 150 wat,40 amperde 4-8 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 kitapçığından veya run Score programında değerlendirilerek hastanın HLA-ABC moleküler sonucu ortaya çıkartılır

c. HLA B27 (SSP) Analizi

- SSP B27 kiti, DNA örnekleri belirtilen saklama koşullarından çıkarılarak oda ısısında çözülür. Çözünen malzemeler vortexlenir.
- Kitler 8'er hastalık, SSPT1-F1 ve SSPT1-G1 olmak üzere iki kutu halindedir.

KONTROLLÜ KOPYA

- F1 ve G1 'in kendine özgü D-mixleri içinde bulunur. (Çalışmaya başlamadan önce F1 ve G1 kutularının aynı lotlu olmasına dikkat ediniz)
- Gereken miktarda D-mix ve Tag Polimeraz karıştırılır, vortexlenir. (8 hastalık çalışma için; 90ul D-mix + 1ul Tag Polimeraz)
- Her hasta için bir F1 kuyucuğu ve bir G1 kuyucuğu kullanılır. Kuyucuklara 9ul D-mix+Tag polimeraz karışımı pipetlenir.
- Kuyucuklara 1ul DNA pipetlenir. Kapakları kapatılıp termalcycler'da SSP-OLİ programı başlatılır.

Döngü Sayısı	Aşama	Sıcaklık (°C)	Zaman(sn.)
1	1	96	130
	2	63	60
9	1	96	10
	2	63	60
20	1	96	10
	2	59	50
	3	72	30
SON	1	4	...

- Bu sürede 50ml TBE tampon+1,25gr agaroz hazırlanır.10-30ml TBE tamponu ise jel üstü için gereklidir.1-2 damla boyar madde olarak etidyum bromür kullanılır.
- Amplifikasyon sonunda jele ekim yapılarak 150 voltta 4-8dk. yürütülür.
- Jel UV ışıkta analiz edilir.Oluşan bantlara göre HLA-B27 pozitif veya negatif şeklinde değerlendirilip raporlanır.

Kullanılan Solüsyonların Hazırlanışı

TBE Solüsyonu: 100 ml TBE çözeltisi üzerine 400 ml dH₂O eklenerek 1X TBE hazırlanır.

6.8.3.2 HLA A, B, C, DR, DQ, DP Tipleme Analizi (SSO)

- DNA örnekleri, D-mix ve Primerler -20C'den çıkarılıp çözülür.

Amplifikasyon;

- Çözünen tüm çözeltiler vortexlenir.
- DNA örneklerinden 2ul'şer PCR plağına eklenir.
- Gereken miktarda lokusa özgü primer, D-mix ve Tag polimeraz karıştırılır. Vortexlenir.

Reaksiyon sayısı	D-mix(ul)	Çoğaltma primeri (ul)	Tag Polimeraz (ul)
1	13.8	4	0.2
10	138.0	40	2.0
50	690.0	200	10.0
96	1491.0	432	21.6 (22)

- 3. Basamakta hazırlanan karışımdan DNA içeren bütün kuyulara 18ul dağıtılır ve plak ağzı seal ile kapatılarak vortexlenir.
- SSO programı kullanılarak, amplifikasyonu termalcyclerda yapılır. (Bir sonra ki aşamaya geçilmeyecekse, -20C derecede saklanmalıdır.)

	Sıcaklık Ve İnkübasyon Süresi		Döngü Sayısı
Adım 1	96 °C	03: 00	1
Adım 2	96 °C	00: 20	5
	60 °C	00: 20	
	72 °C	00: 20	
Adım 3	96 °C	00: 10	30
	60 °C	00: 15	
	72 °C	00: 20	
Adım 4	72 °C	10: 00	1
Adım 5	+4 °C sonsuza kadar		1

KONTROLLÜ KOPYA

Denaturasyon-Nötralizasyon;

- Temiz bir PCR plağı kuyucuklarına, 2,5ul denatürasyon tamponu dağıtılır.
- Kuyucuklara, amplifiye olmuş DNA'lerden 5ul eklenir. (Karışım parlak pembe rengini alana kadar pipetlenir.)
- Oda sıcaklığında (20-25C) 10dk. inkübe edilir. (Bu inkübasyon sırasında Hibridizasyon Tamponu ve lokusa özgü boncuk karışımı gereken miktarda karıştırılarak Hibridizasyon Karışımı hazırlanır. Öncelikle boncuklar en az 5dk. vortexlenir. Karışımı ışıktan koruyunuz.)

Test sayısı	Denatürasyon Tamponu(ul)	Nötralizasyon Tamponu(ul)	Hibridizasyon Tamponu(ul)	Yıkama Tamponu(ul)	Boncuk Karışımı(ul)
1	2.5	5	34	480	4
10	25	50	340	4800	40
20	50	100	680	9600	80
50	125	250	1700	24000	200
96	240	480	3264	46080	384

- Her kuyucuğa 5ul Nötralizasyon Tamponu eklenir.
- Karışım renksiz veya solgun sarı rengini alana kadar pipetlenir. Eğer renk değişimi olmaz ise 1-2ul daha tampon eklenebilir.
- Plak buza yerleştirilir.

Hibridizasyon-Yıkama;

- Lokusa özgü hazırlanan Hibridizasyon Karışımı önce vortexlenir ve kuyucuğa 38ul eklenir.
- Plağın ağzı kapatılır ve düşük hızda vortexlenir.
- Termalcyclerda 60 C 'de 15dk. inkübe edilir.
- Plak termalcyclerdan çıkarılır, Soğutulmuş plağa yerleştirilir ve her kuyucuğa 100ul yıkama tamponu ilave edilir. Plağın ağzı kapatılır, düşük hızda vortexlenir.4100rpm de 5dk. santrifüjlenir.
- Süpernatant, kuyucuklarda yaklaşık 10ul yada daha az olacak şekilde uzaklaştırılır. Çırpma metodu kullanılarak plak ters çevrilmeden plağın üzerinde kalan yıkama tamponu önceden hazırlanmış olan peçetelere emdirilir. Sonrasında boncuklar plakta kalan yıkama tomponunun içinde çözülmeleri için vortexlenir.
- Plak termalcycldan çıkarılır, Soğutulmuş plağa yerleştirilir ve her kuyucuğa 100ul yıkama tamponu ilave edilir. Plağın ağzı kapatılır, düşük hızda vortexlenir.4100rpm de 5dk. santrifüjlenir. Bu basamak 2 defa tekrar edilir.
- 3. Yıkama basamağı sırasında 100XSAPE ve SAPE Tamponu gereken miktarlarda karıştırılır hazır hale getirilir ve oda ısısında, karanlıkta bekletilir.

Test Sayısı	SAPE Stok Hacmi (ul)	SAPE Tampon Hacmi(ul)
1	0.5	49.5
10	5.0	495.0
20	10.0	990.0
50	25.0	2475.0
96	48.0	4752.0

İşaretleme;

- 3.yıkamadaki süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra (bu basamakta eklenecek olan SAPE'nin seyrelmemesi için kuyucuklarda 10ul den daha az yıkama tamponu olmasına dikkat edin.)Her kuyucuğa 50ul SAPE karışımı eklenir.
- Plağın ağzı kapatılır ve düşük hızda vortexlenir.
- Termalcyclerda 60 C de 5dk.inkübe edilir.
- Plak termalcyclerdan çıkarılır, soğutulmuş plağa yerleştirilir ve her kuyucuğa 100ul yıkama tamponu ilave edilir. Plağın ağzı kapatılır, düşük hızda vortexlenir.4100rpm de 5dk. santrifüjlenir.
- Süpernatant, kuyucuklarda yaklaşık 10ul yada daha az olacak şekilde uzaklaştırılır. Çırpma metodu kullanılarak plak ters çevrilmeden plağın üzerinde kalan yıkama tamponu önceden hazırlanmış olan

KONTROLLÜ KOPYA

peçetelere emdirilir. Sonrasında boncuklar plakta kalan yıkama tomponunun içinde çözülmeleri için vortexlenir.

- Her kuyucuğa 70ul Yıkama Tamponu eklenir. Pipetlenir.
- Bütün örnekler, 80ul 'ye ayarlanmış bir pipet kullanılarak, okuma plağına aktarılır.
- Luminex LabScan 3D cihazında Luminex X Ponent programında çalışılır.
- Fusion 3.4.18 programı ile değerlendirilir.

6.8.3.3 PRA ve DSA Class I / II Tarama ve Tanımlama Testleri

- Hasta serumları uygun saklama koşullarından çıkarılarak çözülür. Vortexlenir.
- Lab Screen boncukları kullanmadan önce hafifçe vortexlenir veya pipet ile iyice karıştırılır.
- Çalışmada 96'lık okuma plağı kullanılır.
- 5ul Lab Screen-DSA boncukları ile 20ul test serumu aynı kuyuda 30dk.karanlıkta, oda ısısında inkübe edilir.
- Yıkama solüsyonu (10X), distile su ile sulandırılarak, (1X) olarak kullanılmalıdır.
- İnkübasyon sonrası kuyulara 150ul 1X yıkama tamponu eklenir. Plak üzeri yapışkan bant ile kaplanır. Vortexlenir.
- Plak 5dk. süreyle 4100rpm 'de santrifüjlenir.
- Yıkama tamponu çırpma metodu ile plaktan uzaklaştırılır.
- Plaktaki kuyulara 200ul 1X yıkama tamponu eklenir. Plak üzeri yapışkan bant ile kaplanır. Vortexlenir.
- Plak 5dk. süreyle 4100rpm 'de santrifüjlenir.
- Yıkama tamponu çırpma metodu ile plaktan uzaklaştırılır.
- Plaktaki kuyulara 200ul 1X yıkama tamponu eklenir. Plak üzeri yapışkan bant ile kaplanır. Vortexlenir.
- Plak 5dk. süreyle 4100rpm 'de santrifüjlenir.
- Yıkama tamponu çırpma metodu ile plaktan uzaklaştırılır. Böylece 3 kez yıkama işlemi yapılmış olur.
- (3. Yıkama sırasında gereken miktarda 100X PE-kojuge anti-human IgG, 1X'lik yıkama tamponu ile sulandırılır.1X PE-konjuge anti-human IgG elde edilir. (Karışım karanlıkta bekletilir.)
- (1 test için oran;1ul 100X PE-konjuge anti-human IgG +99ul 1X'lik yıkama tamponu şeklindedir.)
- Her test için 100ul, 1X PE-konjuge anti-human IgG kuyuya eklenir. Plak üzeri yapışkan bant ile kaplanır. Vortexlenir.
- 30dk. karanlıkta, oda ısısında inkübe edilir.
- Plak 5dk. süreyle 4100rpm 'de santrifüjlenir.
- Süpernatant çırpma metodu ile plaktan uzaklaştırılır.
- Plaktaki kuyulara 200ul 1X yıkama tamponu eklenir. Plak üzeri yapışkan bant ile kaplanır. Vortexlenir
- Plak 5dk. süreyle 4100rpm 'de santrifüjlenir
- Yıkama tamponu çırpma metodu ile plaktan uzaklaştırılır
- Plaktaki kuyulara 200ul 1X yıkama tamponu eklenir. Plak üzeri yapışkan bant ile kaplanır. Vortexlenir
- Plak 5dk. süreyle 4100rpm 'de santrifüjlenir
- Yıkama tamponu çırpma metodu ile plaktan uzaklaştırılır
- Her kuyuya 80ul 1X PBS eklenir.
- Plak üzeri yeni yapışkan bant ile kapatılır. Vortexlenir.
- (Plak hemen analiz edilmeyecek ise 2-8 C'de karanlıkta 24 saat saklanabilir.)
- Luminex LabScan 3D cihazında Luminex X Ponent programında çalışılır.
- Fusion 3.4.18 programı ile değerlendirilir.

6.9 ÇALIŞILAN ÖRNEKLERİN RAPORLANMASI

6.9.1 Çalışılan Örneklerin Sonuç Verme Süreleri Aşıldığı Durumlar

- Belirlenen sürelerde hasta analizlerinden sonuç alınmayıp raporlanamadığı durumlarda: Öncelikle aynı anda çalışılan tüm hasta test sonuçları ve analizleri kontrol edilir. Tüm hasta çalışmalarında sorun varsa çalışılan kit içeriği, kullanılan reaktifler, mix içeriği, tag polimeraz, PCR döngüleri kontrol edilir. Ayrıca kitin lot numarası ilgili firma aranarak çalışmasıyla ilgili sorun olup olmadığı sorgulanır.
- Tek bir hastanın test sonuçlarında ve analizinde sorun olduğu durumlarda: Hastadan alınan kan örneğinden elde edilen aynı DNA ile test tekrarlanır. DNA miktarının yetersiz olduğu düşünüldüğü durumlarda ise aynı kan örneğinden yeniden DNA elde edilerek test tekrarlanır.
- Hastadan alınan ilk kan örneğinin yetersiz veya sorunlu olduğu düşünüldüğü durumlarda: Elimizde var olan hasta bilgileri doğrultusunda hasta ve ilgili yakınları ile iletişime geçilerek yeni kan örneği vermesi sağlanır.

6.9.2 Çalışılan Örneklerin Sonuç Verme Sürelerinde Raporlanması

- Örneklerin analiz aşaması bittikten sonra, hastane HBYS programında bulunan Doku Tipleme kısmına hasta dosya numarası ile sisteme giriş yapılır.
- Çalışılan teste ait giriş onay kutucukları seçilir. (SSO/SSP/LCM/PRA/DSA)
- Hasta verileri HBYS 'den alınır.
- Çalışılan hastanın;
 - Kullanılan çalışma tekniği
 - Örnek türü
 - Örnek (DNA) kayıt numarası
 - Numune kabul tarihi
 - Rapor tarihi ve saati
 - Doku tipleme ise donör bilgileri
 - İstemi yapan hekimin adı soyadı
 - Çalışan teknik personel ve sorumlu öğretim üyesi bilgileri girilir.
- Hastane otomasyon sonuç girme ekranından ilgili yerlere hasta verileri girilir ve onaylanır.

HLA-B ve HLA-DR TİPLANDİRMESİ RAPORU(GENOTİP ÇALIŞMA / PCR)

HEMA01 AYAKTAN HASTA YATAN HASTA

Protokol No Dosya No Dosya No ARA Protokol Ay.Prot. S/Ü A/Y Pol.Kodu

Verileri Aktar İstek Yapan Dr. İstek ID İstek ID 2 İstek ID 3

Dosya No İstek Yapılan Böl. Num.Kabul Tar Kan Alım Tar

Vizit No Adı Soyadı DNAno Rapor No Not : Memur

PCR-SSO PCR-SSP Rapor Tarihi

HLA - B	B5	B51	B27	B57:01
HLA - DR	DR 3	DR4		
HLA - DQ	DQ2	DQ8 (DQ3)		
HLA - A	A29			

Doktor Doktor

KAYDET Düzeltme/Silme ÇIKIŞ

NOT: Hasta raporu hastane HBYS sistemine kayıt edilir ancak, HBYS de sadece sonucun Doku Tipleme Laboratuvarından alınabileceği ibaresi vardır.

UYARI: HBYS de kayıtlı hasta raporunu doku tipleme laboratuvarı sorumlu personeli haricinde kimsenin görme yetkisi yoktur.

KONTROLLÜ KOPYA

6.10 ANALİZ ÖRNEKLERİ, TEST VERİLERİ VE SONUÇLARIN ARŞİVLENMESİ

Bilgi güvenliği açısından;

Biyolojik örnekler ile DNA izolatlarının saklanması ve yok edilmesi;

DNA Verileri ve Türkiye Milli DNA Veri Bankası Kanunu Tasarısı kapsamında;

- **MADDE 10-** (2) 5 inci maddenin birinci fıkrasının (b) bendinde belirtilen esaslar uyarınca DNA analizi yapılmak üzere laboratuvara gönderilen biyolojik örnekler DNA analiz sonuçları ortaya çıktıktan sonra ilgili mercie analiz sonuçlarının yorumunu içeren rapor ile birlikte gönderilir. Bu örneklerden elde edilen izolatlar **en az beş yıl** saklanır. Ancak gönderen merciin istemi üzerine laboratuvar yetkilileri tarafından yok edilir ve bu hususta düzenlenen tutanağın bir sureti, yok edilmesini isteyen mercie gönderilir.
- (4) Bu madde hükümlerine göre elde edilen izolatlar, DNA analizinin yapıldığı kurum veya laboratuvar tarafından teknik koşullara ve usulüne uygun olarak saklanır.

Elektronik ve kâğıt ortamındaki veriler;

- Elektronik ortamdaki test süreci ile ilgili kayıtlar bilgisayara şifresini laboratuvar sorumlusu ve sorumlu yardımcısının belirlediği ve bildiği giriş ile yapılmaktadır.
- Elektronik ortamdaki veriler ayda bir olmak üzere laboratuvar sorumlu ya da yardımcısı tarafından harici belleklere yedeklenmektedir.
- Doku Tipleme Laboratuvarında hasta raporları hastalara ait özel dosyalarında metal arşiv dolaplarda saklanmaktadır.
- Bu dolaplar hastaların güvenliği açısından kilitli tutulmaktadır
- Rapor kayıtları en az 30 yıl bu şekilde muhafaza edilmelidir.
- Hasta raporları aynı zamanda elektronik ortamda süresiz saklanmaktadır

Diğer veriler;

- Doku Tiplendirme Laboratuvarında iç/dış kalite kontrol değerlendirme sonuçları yıl yıl dosyalanmakta ve en az beş yıl süre ile saklanmaktadır.
- Doku Tipleme Laboratuvarında kalibrasyonu yapılan tüm cihazların kayıtları cihazlara ait dosyalarında en az bir yıl süre ile saklanmaktadır.

6.11 DOKU TİPLEME LABORATUVARI İÇ VE DIŞ KALİTE KONTROL

KTÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Farabi Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı kalite güvenilirliği açısından iç ve dış kalite kontrol programlarınca kontrol edilmektedir.

6.11.1 İç Kalite Kontrol

İç kalite kontrol; 3 aylık periyotlarla daha önceden çalışılıp sonuçları bilinen hastalara ait DNA veya serum örnekleri kullanılarak SSO yöntemi ile HLA (A, B, C, DR, DQ, DP). SSP yöntemi ile HLA (A, B, DR, B27), PRA tarama, PRA tanımlama, DSA testlerinde çalışılır.

Sonuçlar bir önceki sonuçlar ile karşılaştırılarak **“Doku Tipleme Laboratuvarı İç Kalite Değerlendirme Formu”** da kayıt altına alınıp değerlendirilir ve gerekli ise ilgili iyileştirme çalışmaları yapılır

Uyumsuz sonuç çıktığında Pre analitik, Analitik ve Post analitik süreçler, çalışılan yöntemler, kullanılan tüm cihazlar, kullanılan kitler ve testi çalışanlar kontrol edilerek iç kalite kontrol çalışması tekrarlanır. Tekrarlanan test sonuçları uyumsuz gelirse **Düzeltilici Önleyici Faaliyet (DÖF)** başlatılır.

6.11.2 Dış Kalite Kontrol

Laboratuvarımız kök hücre ve kronik böbrek yetmezliği olan hasta ve vericilerinin doku tipi uyumu, Panel reaktif antikor tarama ve tanımlama, donöre spesifik antikorların belirlenmesi amacıyla lenfosit çapraz uyum testlerini çalışmaktadır.

Bunların yanı sıra İnsan Doku Antijenleri (HLA; Human leukocyte Antigen) ile ilişkili diğer hastalıklar için de (Behçet, Ankilozon Spondilit, Çölyak, Romatoid Artrit, Diyabet) doku tipi incelemesi yapılmaktadır.

Laboratuvarımız kalite güvenilirliği açısından iç ve dış kalite kontrol programlarınca kontrol edilmektedir.

Dış kalite kontrol programları, analitik sistemlerin **“kararlılık ve doğruluk”** larının uzun dönemde değerlendirmesinde önemli rol oynar.

Dış kalite kontrol efektif olarak kullanıldığında;

- Problemlerin tanımlanmasını sağlar.
- Laboratuvara performansını değerlendirme olanağı verir.
- Laboratuvarın gelişmesini destekler.
- Sonuçlardaki hata riskini azaltmayı hedefler.

Doku tiplene laboratuvarımız dış kalite kontrol değerlendirme için Ulusal ve uluslararası ölçekte kullanılan dış kalite kontrol programları üyesidir ve düzenli olarak doku tiplene, PRA, HLA doku grupları ve CDC için kalite kontrol programlarına katılmaktadır.

Belirli periyotlarla HLA doku grupları ve CDC için bilinen ve gizli tutulan en az 3 örnek numune tarafımıza çalışılmak üzere gönderilir.

Çalışılan örneklerin sonuçları Laboratuvar Sorumlusu tarafından değerlendirilerek ilgili kuruluş tarafından gönderilen orijinal formlara işlenir ve email yoluyla firmaya gönderilir.

Daha sonra firmadan gelen geri bildirim sonuçları **“Doku Tiplene Laboratuvarı Dış Kalite Değerlendirme Formu”** da kayıt altına alınarak değerlendirilir ve gerekli ise ilgili iyileştirme çalışmaları yapılır.

6.12 STOK YÖNETİMİ

İlaç, kit ve malzemelerin satın alınması, depolanması ve stok hareketlerinin izlenmesi faaliyetlerinin yönetimi, stok yönetimi olarak adlandırılır. Stok, hareketsiz duran malzemeyi ifade eder ve potansiyel değeri olan durağan kaynaklardır.

Hastane işletmelerinde, hastaların teşhis ve tedavi hizmetlerinin sürdürülebilmesi için başlıca unsurlar insan gücü ve malzemelerdir. Bu iki unsurun etkinliği sunulan hizmetin de kalitesini artıracaktır. Malzeme etkinliği ise iyi kurgulanmış bir stok yönetimi ile mümkündür

6.12.1 Stok Yönetiminde Amaç

Stok yönetiminin hedefi hastane için gereken minimum miktarda malzemenin stoklarda bulundurulmasıdır.

Hastane işletmeleri açısından direkt olarak malzeme yönetimi anlamına gelen stok yönetiminin amacı,

- İstenilen zamanda,
- İstenilen miktarda,
- İstenilen yerde,
- İstenilen kalitede malzemenin sağlanabilmesi için ne zaman ne kadar tedarik edilebileceği sorularına cevap bulma işlemidir.

Hastanelerde bulunan stokları genel olarak ikiye ayırabiliriz:

Tıbbi Stoklar: İlaç, anestezi ajanı, kit, kalibratör, kontrol serumları vs.

Diğer Stoklar: Büro, Temizlik, Isıtma, Yiyecek vs.

6.12.2 Stok Yönetiminin Faydaları

- Talep dalgalanmalarına karşı önlem
- Stok gereksinimleri doğru belirlendiğinde finansal yönetim etkinliği kazanır
- Tedarik ve satış masrafları azalır
- Malzeme ve ürün kayıpları en aza indirilir
- Aşırı stoklar önlenir

6.12.3 Stok Takip Sistemlerinin Amacı

- Periyodik gözlem
- Stok seviyeleri periyodik aralıklarla kontrol edilir
- Sürekli gözlem sistemleri: Sistem stoğa giriş çıkışları takip eder ve mevcut seviyenin her an bilinmesi mümkün olur.

Maksimum Stok Seviyesi, Rutin sipariş aralığı içerisinde kuruma yetecek düzeyde stok miktarıdır.

Kritik Stok Seviyesi, Rutin stok temin süresi içerisinde kuruma yetecek stok miktarıdır. Kritik stok seviyesi aşağıda belirtilen sürelerden önce bitmeyecek bir miktarda tespit edilmelidir.

- Talepten sonra sipariş verilinceye kadar geçen süre
- Tedarikçinin kuruluşa teslim süresi
- Muayene ve kabul işlemleri

- Depoya giriş işlemlerinin yapılp stoklara yansıma süresi

Minimum Stok Seviyesi, Hızlı stok temin süresi içerisinde kuruma yetecek stok miktarıdır

6.12.4 Stok Seviyeleri ve Miat Kontrollerinin Hastane Bilgi Sistemi (HBYS) Üzerinden Takibi

Hastanemizde stok seviyeleri ve miat takipleri HBYS üzerinden yapılmaktadır. Buradaki amaç insan kaynaklı ihmalleri ortadan kaldırarak stok yönetim sürecini otomatize etmektir.

- Doku Tipleme Laboratuvarı içinde yetkilendirilmiş olan stok takip sorumlusu, hastane HBYS üzerinden Ana Depo programına tanımlı şifresi ile giriş yapar,
- Stok-Satın alma-İhale penceresinden malzeme ayrıntılarından laboratuvar stoklarına ulaşır,

10.10.4.64 - KTÜ FARABI - Hemşirelik Süreç Yönetimi

Memur: HEMA07
Tarih: 17/03/2016

Ameliyathane

Ameliyat Bilg. ve Tetkik Kaydı | Ameliyat Matz. Hazırlama | LCD Ekran Mesajı
Malzeme Çoğaltma | Günlük Ameliyat Listesi

Giriş - Çıkış İşlemleri

DEPO

Taşınır İşlem Fişleri(Çıkışlar)	HEMATOLOJİ	Taşınır İşlem Fişleri(Çıkış)	ŞARJ (Eczane)
Hastaya Çıkışlar	HEMATOLOJİ	Hastaya Çıkış Fişi	İADE (Eczane İçin)
İlaç İade İşlemi	YHEM	Hemşirelik Yönetim Sistemi	Reçete Listesi (Eczane İçin)
TPN	101	Servis Hast. İçin Diyet İsteği	ITS (Eczane İçin)
Kemoterapi ANT			E-Reçete Onay

Stok - Satınalma - İhale

Malzeme Ayrıntıları
Malzeme Kontrolü
Stok Detay Görme
Malzeme Satınalma İsteği
İhale Süreci
Depo Malzeme/İlaç/Demirbaş İsteği
Malzeme Sorun Bildirme
Hasta İçin Malzeme Talep Etme

Araçlar

Birimlerden Yapılan Talepler
İhracat Kontrol
Hizmet Kayıt
Hasta Rapor Bilgileri
Kalite Koordinatörlüğü
Yıl Sonu Sayım Formu
201 | 03 | Aylık Rapor | Onayla
Hasta Malzeme Talep Karşılı

Diğer Formlar

Eczane Son 2 Günde Aldığı İlaç Listesi
Personel Yemek İstek Formu
Ara Öğün İstek Formu
Personel Mesai Tanımlama Formu
Aşı Kayıt | Doğum Değ. | Y.Doğ.İst
Zimmet Dökümü | Zimmet Listesi
Hemşirelik Bakım Planları

Güncelle | Duyurular | Telefon Rehberi | İstek Bildirimi | Arıza Bildirimi | Çıkış

NOT: HKS, belirlenen stok seviyelerine ulaşılması durumunda bu seviyelerin vermiş olduğu mesaj doğrultusunda atılması gereken adımların atılmış olmasını istemektedir.

- Daha sonra stok programından ana depodaki genel stoklarına ve laboratuvarda bulunan malzeme stoğuna ulaşarak takibini yapar.

6.12.5 Stokların Uygun Koşullarda Muhafaza Edilmesi

Stok yönetim sürecinin önemli aşamalarında biri de temin edilen stokların uygun koşullarda muhafaza edilmesinin sağlanmasıdır.

Bu amaç doğrultusunda;

- Depo yerleşim planlarının oluşturulması,
- Hemzemin yerleştirme yapılmaması,
- Depo ve buzdolapları için sıcaklık ve nem takiplerinin yapılması,
- İstiflemede malzemelerin tavandan en az 40 cm aşağıda yapılması

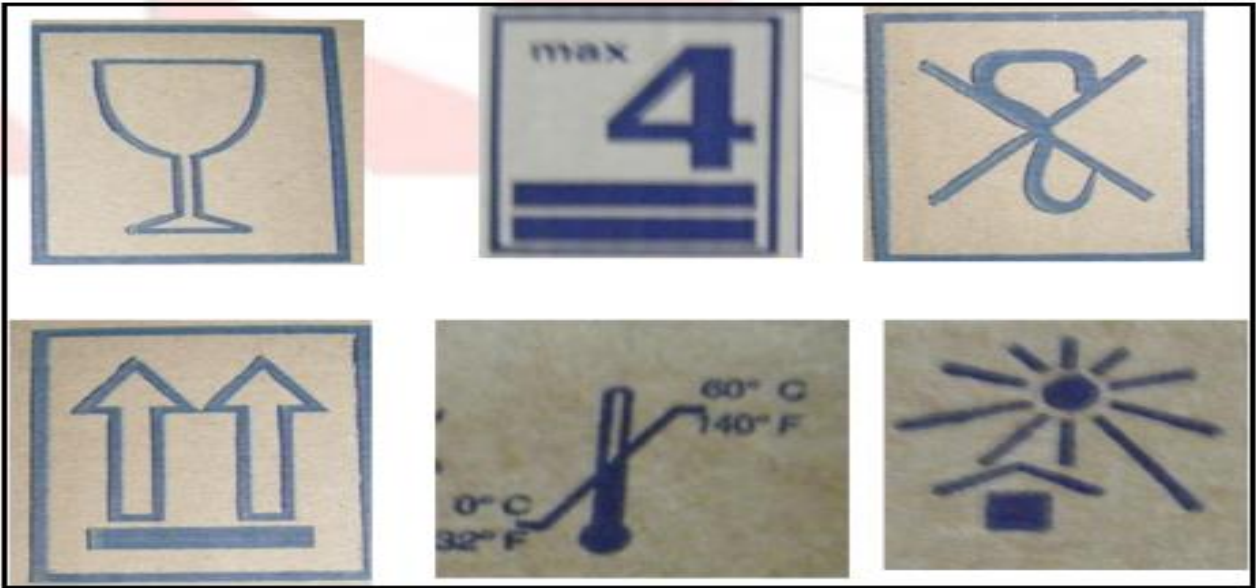
Depoda Stoklara İlişkin Uyulması Gereken

Kurallar



- Stokların, kolileri üzerinde yer alan ikazlara uygun muhafaza edilmesi

Koli Üzerinde Yer Alan İkazlardan Örnekler



- Malzemenin cinsine göre uygun yerleştirme yapılması,
- Depoya özgü olası riskler belirlenmesi ve bu risklere ilişkin önlemlerin alınması istenmektedir.

6.12.6 Stok Yönetimi Sorumluları

• Anabilim/Bilim Dalı/Bölüm Başkanları
• Bölüm/Birim Sorumlusu
• Doku Tipleme Laboratuvar Çalışanları

6.12.7 Kitlerin Satın Alınma Süreci

- Başhekimlik Makamına belirlenen güncel isteklerin temini yönünde 1 yıllık istek sunulur.
- Sunulan bu planın doku tipleme laboratuvar tarafından hazırlanan bu planın teknik şartnamesi bulunur.

KONTROLLÜ KOPYA

- Bu şartname sistem ile ilgili gereksinimleri ve kitlerin özelliklerini belirtir.
- Başhekimlik planlama ve satın alma birimleri gerekli çalışmaları yapar ve ihale gününü tespit eder.
- İhale sonucuna göre yasal teslimat süresi başlar.

6.12.8 Kitlerin Kabulü

- Yasal süre içinde, teslimat tarihinden önce şartnamede belirtilen demonstrasyon, örnek numune vb. şartlar için örnek kabul bürosunda incelemeler yapılır.
- Onay verilirse yasal teslimat süresinde belirtilen miktar ve çeşit ürünler kısım kısım alınmaya başlanır.

6.12.9 Kitlerin Muhafaza Edilmesi

Muhafaza iki kısımdan oluşur.

1.Kısım: Başhekimlik tarafından belirlenen merkezi depoda kitlerin muhafazası için ayrılmış dolaplarda uygun koşullarda sıcaklık kontrolleri yapılarak muhafaza edilir.

2.Kısım: Merkezi depodan ihtiyaca göre alınan malzemeler uygun sıcaklık koşullarında laboratuvar ortamında bulunan dolaplarda muhafaza edilir.

Minimum ve Maksimum Düzeylerin Kontrolü: Maksimum seviye ana depoda bulunur. Minimum seviye her test grubundan 100'er test olmak kaydıyla doku tiplene laboratuvarında bulunur.

7.0 İLGİLİ DOKÜMANLAR