DOKU TİPLEME LABORATUVARI (DTL)

TEST REHBERİ

Doku Tipleme Testleri

http://istanbultip.istanbul.edu.tr/tbbi-biyoloji-anabilim-dalı/

HAZIRLAYAN	GÖZDEN GEÇİREN/KONTROL EDEN	ONAYLAYAN

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR……3

HASTA KABUL – KAYIT KURALLARI……4

EK-1 ÖRNEK ALMA……5

ÖRNEK ÖZELLİKLER TABLOSU……6

ÖRNEK KABUL ETMEME KRİTERLERİ……6

DIŞARDAN KAN ALMA FORMU……7

RUTİN HİZMETLER…… ……8

ÖRNEK TRANSFER TALİMATI……10

Kısaltmalar

- **HBYS:** Hastane Bilgi Yönetim Sistemi
- **KBY:** Kronik Böbrek Hastalığı
- **K.İ:** Kemik İliği
- **DTL:** Doku Tipleme Laboratuvarı

HASTA KABUL-KAYIT KURALLARI

- Doku Tipleme Laboratuvarı randevu sistemi ile çalışmaktadır*****.
- Hasta / Donör ilgili polikliniğe başvurduktan sonra, ilgili bölümün hasta kabul birimi tarafından hasta / donöre ait kimlik ve adres bilgileri Hastane Bilgi Yönetim Sistemi (HBYS)' ne kaydedilerek bir dosya numarası verilir. Hastane içerisindeki hastaya ait tüm tıbbi işlemler bu dosya numarası ile yapılmaktadır.
- İlgili birimin sorumlu doktoru tarafından hasta / donör değerlendirilerek, HBYS üzerinden Doku Tipleme Laboratuvarı (DTL) ait test istemleri yapılır.
- Hasta / donör hasta kabul birimine giderek HBYS üzerinde istemi yapılmış olan ilgili test kayıtlarını aldırır. Sistem üzerinden çalışılması istenen testlere uygun olarak hazırlanmış, hasta bilgileri, barkod numarası, istem yapan birim, istem yapılan test grubu, örnek kayıt tarihi ve örnek alınacak test tüpü bilgileri bulunan barkod hastaya / donöre verilerek, örnek alma birimine yönlendirilir.
- Örnek alma biriminde "DTL Laboratuvarı Örneklerin Alınması Kuralları" doğrultusunda hasta / donör örnekleri alınır. Alınan örnekler, örnek alma birimlerinden DTL laboratuvarı giriş kapısının sol tarafında bulunan örnek kabul alanına "DTL Laboratuvarı Örneklerin "DTL Laboratuvarı Örneklerin Kabulü Kuralları" doğrultusunda değerlendirilerek kabulü yapılır, uygunsuz örnekler "DTL Laboratuvarı Örneklerin Red Edilmesi Kuralları" doğrultusunda örnek reddedilir.
- Doku Tipleme Laboratuvarı dışında alınan örnekler "Örnek Özellikler Tablosunda **(Tablo 1)** belirtilen kriterlere uygun olmalıdır.
- Doku Tipleme Laboratuvarında uygulanan tüm testler **Tablo 2,3 ve 4'te** belirtilmiştir. Bu testler için örnekler, Numune kabul biriminde (Temel Bilimler Binası Mikrobiyoloji Kayıt Odası, Tıbbi Biyoloji Bankosu) mesai saatleri içerisinde (Saat 08:00–16:00 arasında) alınmaktadır******.
- Hasta ve vericiler sırayla Numune kabul birimine alınır.
- Kan verecek kişinin "PROBEL'e" kaydı yapılır, protokol numarası verilir. Aynı zamanda hastaların sevk/ücret bilgileri Hastane Bilgi Yönetim Sistemi (HBYS)'ne girilir.
- Protokol numarası ve yapılması gereken testlerin yazılı bulunduğu etiket uygun tüplere yapıştırılarak kan alacak görevliye teslim edilir ve kişinin kanı alınır (Ek-1/Örnek Alma).

EK-1

Örnek Alma

- Örnek alacak personel tarafından barkod üzerinde kayıtlı isim ile örnek alınması için gelen hasta / donör için kimlik bilgileri doğrulaması yapılır.
- Tüm işlemlerde steril, bir defa kullanılıp atılan iğne ve enjektör kullanılır. Kullandıktan sonra kesici – delici alet çöp kutusuna atılmalıdır.
- Hastaya yapılacak işlem hakkında bilgi verilir.
- Her iki kol antekubital bölge incelenerek, venlerin daha belirgin olduğu ekstremite belirlenir.
- Örnek alan kişi önlük ve eldiven giymelidir.
- Dirseğin 3-4 parmak üstünden turnike bağlanır.
- Vene girilecek nokta merkez olmak üzere, en az 3-4 cm çapında bir daire büyüklüğünde alan merkezden çevreye doğru antiseptik solüsyon ile silinir.
- Kan alınacak alan dezenfekte edildikten sonra tekrar palpe edilmez.
- Damara girilecek bölgeden steril iğne veya vakumlama sistemi ile kan ilgili tüplere
- Yeterli miktarda kan alınır. Yeterli miktarda kan alındıktan sonra turnike çözülür.
- Enjektörün yönü değiştirilmeden damardan çıkılır ve damara giriş yeri üzerine kuru bir pamuk ile 2-3 dakika basınç yapılarak, steril bant ile kapatılır.
- Kanın alımı sırasında kanın dökülmesi veya sıçraması gibi kontaminasyona yol açabilecek durumlarda, riskli zemin %10 luk sodyum hipoklorid ile temizlenmelidir.

- Kanı alınan kişiye üzerinde protokol numarası ve rapor alma tarihi bulunan kart kayıt birimindeki görevli tarafından verilir.
- Alınan tüm kanlar kan alma odasında biriktirilir. Görevli kişi kan alma işi bitince kanları uygun laboratuvarlara dağıtır.
- İTF Hematoloji Bilim Dalın'dan Doku Tipleme Laboratuvarına yönlendirilen hastaların sağlıklı vericilerinin her birine Kemik İliği Bankası için gönüllü verici olması teklif edilir.
- Sonuç verme süreleri **Tablo 5'te** belirtilmiştir.

*** NOT:**

- KBY hastalarına diyaliz gününe bağlı olarak randevu verilir.
- KBY vericileri hasta ile birlikte kan vermeye gelir.
- K.İ hastalarına ilaç tedavisi bitiminden 10 gün sonraya gelecek şekilde randevu verilir.
- Diğer hasta gruplarına Cuma gününe (HLA-B51, HLA-B27 testi) randevu verilir.

** Seroloji laboratuvarında yapılan testler için örnekler yalnızca sabah saat 08.00-10.30 arası alınmaktadır.

Tablo 1. ÖRNEK ÖZELLİKLER TABLOSU

	Örnek tipi	Hastanın beslenme durumu	Hedef materyal	Tüp tipi	Örnek miktarı	Transfer süresi (max)/Isı	Saklama zamanı	Saklama koşulu
PCR-SSP	Periferik kan/ Kemik iliği	Aç/tok	DNA	EDTA	5-10 ml	4 saat/ (OI*)	<48 saat	+4^{0}C
PCR-SSO	Periferik kan/ Kemik iliği	Aç/tok	DNA	EDTA	5-10 ml	4 saat/ (OI*)	<48 saat	+4^{0}C
PCR-SBT/ NGS Kimerizm	Periferik kan/ Kemik iliği/ Doku	Aç/tok	DNA	EDTA	5-10 ml	4 saat/ (OI*)	<48 saat	+4^{0}C
Luminex-PRA	Periferik kan	Aç/tok	Serum	Kuru tüp	5 ml	4 saat/ (OI*)	<72 saat >72 saat	+4^{0}C -20 -80 ^{0}C

*OI: Oda ısısı

EN İYİ TEST SONUÇLARI ÖRNEK ALINDIKTAN HEMEN SONRA ÇALIŞILDIĞI ZAMAN ELDE EDİLİR.

ÖRNEK KABUL ETMEME KRİTERLERİ:

- Doktor kaşeli test istek kağıdı olmayan örnekler kabul edilmez.
- Etiketsiz örnekler kabul edilmez.
- Uygun tüpte getirilmeyen örnekler kabul edilmez.
- Doku Tipleme Laboratuvarında alınmayan ancak başka bir merkezde alınan kan örnekleri sadece “Dışardan Kan Alma Formu” **(Ek-2)** karşılığında kabul edilir.
- Doku tiplemesi için gelen hastaların transfüzyon anamnezi 21 günden az olmamalıdır. Aksi takdirde örnek kabul edilmez. Klinik aciliyeti doktoru tarafından bildirilen hastalar için bu durum göz ardı edilebilir.
- Serolojik testler için saat 11’den sonra, tok olarak alınan veya hemolizli, pıhtılı örnekler kabul edilmez.

EK-2

DIŞARDAN KAN ALMA FORMU

- ITF Doku Tipleme Laboratuvarı dışındaki başka bir merkezde alınan ve aşağıda detayları belirtilen kan örneklerini ITF Doku Tipleme Laboratuvarı'na teslim ediyorum.
- Kan tüplerinin üzerinde yazan isimlerin doğruluğunu teyit ediyorum.
- Teslim ettiğim bu kanların üzerinde yazılan isimlere uygun olarak, ITF Doku Tipleme Laboratuvarı bilgisayarına doğru bir şekilde kaydedildiğini gördüm.
- Başka bir merkezde alınmış olan bu kanlarla ilgili herhangi bir isim karışıklığı olması durumunda, İstanbul Tıp Fakültesi Doku Tipleme Laboratuvarını sorumlu tutmayacağımı taahhüt ediyorum.

Kan alınma tarihi: **Kanın alındığı merkez:**

Kanın ITF Doku Tipleme Laboratuvarı'na teslim edildiği tarih ve saat:

Teslim eden kişinin hasta ile yakınlığı:

Teslim edilen tüp sayısı, tipi ve üzerinde yazan isim :

EDTA'lı (mor kapaklı) ve 10 ml ve barkot no:	**EDTA'lı (mor kapaklı) ve 4,5 ml ve barkot no no:**
1)	**1)**
2)	**2)**
3)	**3)**
4)	**4)**
5)	**5)**

EDTA'lı (mor kapaklı) ve 2 ml ve no:

1)
2)
3)
4)
5)

Diğer (……kapaklı ve ……..ml) ve barkot no:

1)
2)

Teslim Eden **Teslim Alan**

RUTİN HİZMETLER

1. Doku tiplemesi: İTF Doku Tipleme Laboratuvarı solid organ ve kemik iliği/kök hücre nakillerinde alıcı ve vericilerin sınıf I ve sınıf II HLA doku gruplarını, düşük ve yüksek çözünürlükte sonuç veren farklı yöntemlerle tayin etmektedir. Ek olarak Behçet hastalığı, spondilo artropati ve Çölyak gibi hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülen HLA doku grupları da laboratuvarlarımızda testlenmektedir **(Tablo 2).**

2. Anti-HLA antikor tayini: Solid organ ve kök hücre nakline hazırlanan hastalarda nakil öncesi ve sonrası dönemde periyodik olarak anti-HLA antikor tarama ve tanımlama testleri çeşitli tekniklerle yapılmaktadır **(Tablo 3).**

3. Cross-match testi: Canlı ve/veya kadavra kaynaklı vericiden nakil planlanan hasta ve verici adayları için yapılan ve nakilin başarısını öngörebilen bu test 2 farklı yöntemle yapılmaktadır **(Tablo 3).**

4. Kimerizm tayini: Kemik iliği/kök hücre nakli sonrası engreftman takibinde kullanılan ve bölümümüzde 2 farklı yöntemle yapılan bir testtir **(Tablo 4).**

5. İcap nöbet hizmeti: Doku Tipleme Laboratuvarı, böbrek ve karaciğer nakilleri için doku tipleme ve uygun diğer testler için icap usulü hizmet vermektedir.

Tüm yapılan testler için sonuç verme süreleri **Tablo 5**'tedir.

Tablo 2. HLA doku tipleme teknikleri

HLA doku tiplemesi	**CDC**	**PCR-SSO (düşük/orta çözünürlük)**	**PCR-SSP (düşük çözünürlük)**	**PCR-SSP (yüksek çözünürlük)**	**PCR-SBT/NGS (yüksek çözünürlük)**
A	✓	✓	✓		✓
B	✓	✓	✓		✓
C		✓	✓		✓
DRB1		✓	✓	✓	✓
DQB1		✓	✓	✓	✓
DQA1		✓			✓
DPB1			✓	✓	✓
B51		✓	✓		✓
B27		✓	✓		✓
DQ2,DQ8		✓		✓	✓
DR3,DR4		✓		✓	✓
B57:01		✓			✓
A29		✓			✓

Tablo 3. Anti-HLA ve donör spesifik antikor test teknikleri

Test adı	CDC	LUMİNEX	Flow Sitometri
Anti-HLA antikor tarama 1		✓	
Anti-HLA antikor tarama 2		✓	
Anti-HLA antikor tanımlama 1/ SAB1		✓	
Anti-HLA antikor tanımlama 2/ SAB2		✓	
Cross-match	✓		✓

Tablo 4. Diğer testler ve teknikleri

Test adı	Multipleks PCR
Kimerizm	✓

Tablo 5. Sonuç verme süreleri

Testler	CDC	PCR-SSO/SSP (düşük/orta/yüksek çözünürlük)	PCR-SBT (yüksek çözünürlük)	Luminex	FCXM	Multiplex	Acil Test*
HLA-A		1 hafta	10 gün				1 gün
HLA-B		1 hafta	10 gün				1 gün
HLA-C		1 hafta	10 gün				1 gün
HLA-DR		1 hafta	10 gün				1 gün
HLA-DQ		1 hafta	10 gün				1 gün
HLA-DP		1 hafta					
Hastalık ilişkili HLA(B5,B27,B57,DQ2,DQ8 vb)		1 hafta					
Anti-HLA tarama 1				1 hafta			1 gün
Anti-HLA tarama 2				1 hafta			1 gün
Anti-HLA tanımlama 1				1 hafta			1 gün
Anti-HLA tanımlama 2				1 hafta			1 gün

Cross-match	**1 gün**				**1 gün**		**1 gün**
Kimerizm						**10 gün**	

*Acil test sonuçları SBT yöntemi için 2 gündür.

ÖRNEK TRANSFER TALİMATI

- Kurum içinden ve anlaşmalı kurumlardan gelen örneklerin taşınmasında "**Enfeksiyöz Madde ile Enfeksiyöz Tanı ve Klinik Örneği Taşıma Yönetmeliği"** hükümlerine uygun davranılır.

- Kurum içinden ve anlaşmalı kurumlardan gelen tüm örnekler örnek taşıma çantasında taşınmalıdır. Cepte ya da elde örnek taşınması örneğin bozulmasına neden olduğundan yapılmamalıdır. Örnek taşıma çantaları temiz olmalıdır. Örnek taşıma çantalarının temizliğinden ilgili örnek transfer personeli sorumludur.

- Transferde görev alan tüm personelin Numune transfer eğitim sertifikaları, Numune Kabul Biriminde bulunmaktadır.

- Kurum içinde ve anlaşmalı kurumlarda örnek transferinde görev alan tüm personel taşıma işleminin her aşamasında eldiven giymelidir.

- Örnek transfer personeli, klinik örnekleri test rehberlerinde belirtilen süre içinde laboratuvara ulaştırmalıdır.

- Tüm örnek kaplarının kapakları tam kapatılmış olmalı ve dik olarak taşınmalıdır. Hiçbir örnek üst üste konularak taşınmamalıdır.

- Tüpler mutlaka tüp taşıyıcılarına konularak taşınmalıdır. Kapların yan yatmasını ve devrilmesini önleyecek önlemler alınmalıdır. Örneklerin taşıma sırasında çalkalanmamasına özen gösterilmelidir.

- Taşıma sırasında karşılaşılan olumsuzluklar (dökülme, kırılma vb.) örnek transfer personeli tarafından ilgili laboratuvarın örnek kabul personeline ve örneği gönderen birimin sorumlusuna bildirilmelidir.

- Anlaşmalı kurumlar tarafından getirilen örnekler için de bu kurallar geçerli olup, uygulama sorumluluğu anlaşmalı kurumun transfer personeline aittir.

- Kurum içi ve anlaşmalı kurumlardan gelen ve DTL'de alınan tüm kanlar, kan alma odasında biriktirilir. Her laboratuvarın personeli, kanları saat 10.00, 12.00 ve 15.45'de alır ve kontrol ederek laboratuvara kabulünü yapar.

Tablo 1'de belirtilen koşullara uygun olarak alınan yatan/poliklinik veya anlaşmalı kurum hasta örnekleri, ilgili birimin sorumlu hemşiresi denetiminde örnek transfer çantalarına yerleştirilerek ilgili servisin örnek transfer personeline teslim edilir. Tüm örnekler bu örnek

transfer personeli tarafından Tablo 1’de belirtilen süre ve ısıya uygun olarak ilgili laboratuvarlara ulaştırılır. Özel koşul gerektiren örnekler için Tablo 1’de belirtilen kurallara uygun olarak gerekli ortam sağlanır.