



DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI TEST REHBERİ

İÇİNDEKİLER :

1. LABORATUVARIMIZ HAKKINDA.....	2
2. LABORATUVARIMIZDA ÇALIŞILAN TESTLER	3
3. NUMUNE ALIM KURALLARI	4
a) Resmi İşlemler ve Kimlik Tespiti :.....	5
b) Kan Alım Hazırlığı :	5
c) Hasta/Donör Kimliğinin Tespiti :.....	5
d) Numune Alım Kuralları :	5
4. NUMUNELERİN TRANSFERİ.....	6
5. NUMUNELERİN KABUL-RED KRİTERLERİ.....	6
6. SONUÇLARIN RAPORLANMASI ve YORUMLANMASI	6



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI



Yayın Tarihi: 02.01.2013

Revizyon Tarihi: 04.04.2022

Revizyon No: 05

DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI TEST REHBERİ

1. LABORATUVARIMIZ HAKKINDA

Erciyes Üniversitesi HLA Doku Tipleme Laboratuvarı Prof. Dr. Türkan Patıroğlu tarafından 1991 yılında faaliyete başladı ve T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından ruhsatlandırıldı. HLA Doku Tipleme testleri önce serolojik yöntemle, 2000 yılından itibaren de seroloji ile birlikte moleküler yöntemle çalışılmalar yapmıştır. 2010 yılından beri sorumlu yardımcısı olarak görev yapan İmmünoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa Yavuz Köker, Mayıs 2020’de Doku Tipleme Laboratuvar sorumlusu olmuştur.

Laboratuvar test rehberi güncellenmiş ve yeni nesil dizileme NGS ile yüksek çözünürlük (4-8 basamak) HLA analizi ve Flow Çapraz Karşılaştırma (Flow Crossmatch) ve İmmüfenotiplendirme de testlere eklenmiştir.

Laboratuvarımız **Renal Trasplantasyonu** konusunda cerrahi birimlere, **Kemik İliği Transplantasyonu** konusunda erişkin ve çocuk kemik iliği nakil hastanelerine immünogenetik hizmet verilmektedir. Solid organ ve kemik iliği nakline hazırlanan hastalar ve onların potansiyel donörleri arasındaki en iyi hasta-donör uyumu eşleşmesi ve transplantasyon başarısı için hayati önem arz eden bir laboratuvardır. Bu bağlamda, laboratuvarımız 2012 yılında **“European Federation For Immunogenetics”** EFI’ye akredite olmuştur (Akreditasyon No: 08-TR-009.991). Halen uluslararası kalite kontrolü ve akreditasyonu ile Türkiye’de sekiz (8) EFI akredite laboratuvardan birisidir.

Laboratuvarımız hafta içi 08:00 -17:00 saatleri arasında, kadavra böbrek nakli işlemleri için de kesintisiz hizmet vermektedir.

İletişim Bilgileri:

Adres : Köşk Mah. Prof.Dr.Turhan Feyzioğlu Cad. No: 42 / 38039 / Melikgazi / Kayseri

Telefon: (0352) 207 6 66 / 20219 - 20181

E-posta : dtl@erciyes.edu.tr



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI



Yayın Tarihi: 02.01.2013

Revizyon Tarihi: 04.04.2022

Revizyon No: 05

DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI
TEST REHBERİ

2. LABORATUVARIMIZDA ÇALIŞILAN TESTLER

NO	TEST ADI	ÖRNEK TÜRÜ ve MİKTARI			ÇALIŞILMA ZAMANI	SONUÇ VERME SÜRESİ	TEST ÇALIŞMA YÖNTEMİ	NOTLAR
		Örnek Türü	Miktar	İçerik				
1	HLA-A (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	15 GÜN	PCR-SSO	
2	HLA-B (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	15 GÜN	PCR-SSO	
3	HLA-DR (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	15 GÜN	PCR-SSO	
4	HLA-C (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	15 GÜN	PCR-SSO	
5	HLA-DQ (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	15 GÜN	PCR-SSO	
6	HLA-A (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	30 GÜN	NGS	
7	HLA-B (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	30 GÜN	NGS	
8	HLA-DR (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	30 GÜN	NGS	
9	HLA-C (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	30 GÜN	NGS	
10	HLA-DQ (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	Periferik Kan	3-4ml tüp 1 adet	EDTA	MESAİ GÜNLERİ	30 GÜN	NGS	
11	PRA SINIF 1 ve SINIF 2 TARAMA	Periferik Kan	5-6 ml'lik tüp 1 adet	ANTİKOAGÜLANSIZ TÜP	MESAİ GÜNLERİ	SALI GÜNLERİ	SEROLOJİK	HER HAFTA PAZARTESİ TEST ÇALIŞILMAKTADIR.ERTESİ GÜN SONUÇ VERİLMEKTEDİR.
12	PRA SINIF 1 ve SINIF 2 SINGLE ANTIJEN (LSA)	Periferik Kan	5-6 ml'lik tüp 1 adet	ANTİKOAGÜLANSIZ TÜP	MESAİ GÜNLERİ	1 AY	SEROLOJİK	HER AYIN BAŞINDA TEST ÇALIŞILMAKTADIR.ERTESİ GÜN SONUÇ VERİLMEKTEDİR.
13	LENFOSİT CROSS-MATCH (FC-XM)	Periferik Kan	Hasta : 1 adet 5-6 ml'lik düz tüp, 5 adet heparinli tüpte kan Donör : 5 adet heparinli tüpte kan	ANTİKOAGÜLANSIZ TÜP HEPARİNLİ TÜP	MESAİ GÜNLERİ	AYNI GÜN	AKIM SİTOMETRİ	Örneklerin saat 09:00' a kadar laboratuvara ulaşması gerekmektedir.
14	LENFOSİT CROSS MATCH (CDC)	Periferik Kan	Hasta : 1 adet 5-6 ml'lik düz tüp,5 adet heparinli tüpte kan Donör : 5 adet heparinli tüpte kan	ANTİKOAGÜLANSIZ TÜP HEPARİNLİ TÜP	AYNI GÜN	AYNI GÜN	SEROLOJİK	Örneklerin saat 09:00' a kadar laboratuvara ulaşması gerekmektedir.
15	LENFOSİT CROSS-MATCH (FC-MX ve CDC)(KADAVRA ÇALIŞMASI)	Periferik Kan Dalak Lenf Nodu	Hasta : 1 adet 5-6 ml'lik düz tüp Kadavra : 5 adet EDTA'lı ve 5 adet heparinli tüpte kan	ANTİKOAGÜLANSIZ TÜP Heparinli tüp EDTA	AYNI GÜN	AYNI GÜN	AKIM SİTOMETRİ ve SEROLOJİK	



ERCİYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI



Yayın Tarihi: 02.01.2013

Revizyon Tarihi: 04.04.2022

Revizyon No: 05

DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKU TİPLEME LABORATUVARI TESTLERİ İÇİN GEREKLİ ÖN HAZIRLIK İŞLEMLERİ

1	HLA-A (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
2	HLA-B (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
3	HLA-DR (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
4	HLA-C (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
5	HLA-DQ (DÜŞÜK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
6	HLA-A (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
7	HLA-B (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
8	HLA-DR (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
9	HLA-C (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
10	HLA-DQ (YÜKSEK ÇÖZÜNÜRLÜK)	EDTA 'lı kan örneğinden DNA izolasyonu yapılır.
11	PRA SINIF 1 ve SINIF 2 TARAMA	ANTİKOAGÜLANSIZ TÜP'lere alınan kan örnekleri 4000 rpm'de santrifüj edilir.Serumu alınarak çalışma gününe kadar -20° C 'de saklanır.
12	PRA SINIF 1 ve SINIF 2 SINGLE ANTIJEN	ANTİKOAGÜLANSIZ TÜP'lere alınan kan örnekleri 4000 rpm'de santrifüj edilir. Serumu alınarak çalışma gününe kadar -20° C 'de saklanır.
13	LENFOSİT CROSS-MATCH (FC-XM)	Vericiye ait heparinli tüpteki kan örnekleri ficol ile ayrılıp mononükleer hücreler elde edilerek test başlatılır.
14	LENFOSİT CROSS-MATCH (KADAVRA ÇALIŞMASI)	Kadavraya ait heparinli tüpteki kan örnekleri ficol ile ayrılıp mononükleer hücreler elde edilerek test başlatılır.
15	LENFOSİT CROSS MATCH (CDC)	Heparinli tüpteki kan örnekleri 2500 rpm'de 10 dk.santrifüj edilerek test başlatılır.

3. NUMUNE ALIM KURALLARI

Kan alma işlemleri HLA doku tipleme işlemi için tedavi gören hastalara ve kan bağı olan akrabalarına yönelik uygulanmakta olan bir işlemdir. Bu amaçla hastanelerimizde tedavi gören ve nakil planlanan hasta ve donörüne, tanı amaçlı hizmet vermektedir. Örnek alma işlemleri aşağıda açıklandığı şekilde gerçekleştirilir.



DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI TEST REHBERİ

a) Resmi İşlemler ve Kimlik Tespiti :

Doku tiplendirme testi için ayaktan ya da yatarak tedavi alan hasta / kan bağı olan donörün kimliği, kan alacak kişi tarafından (hemşire, flebotomist gibi) kimlik üzerinden tespit edilir. Doktorun imzalı talep formu ve genetik verinin işlenmesine dair onam formu ile **eksiksiz olarak** tamamlanır. Hastanın ve donörün adı-soyadı kan alan kişi tarafından tüpe yazılır ve numune alınır.

b) Kan Alım Hazırlığı :

Kan alma hazırlığında ilgili kişi, kan alma tüpleri, turnike, dezenfektan alkol, gazlı bez, iğne kelebek seti, şırınga/vakum sistemi, bant, tek kullanımlık eldivenler, tıbbi atık çöp torbası, taşıma ambalajları gibi malzemelerin bulunduğundan emin olmalıdır.

c) Hasta/Donör Kimliğinin Tespiti :

Kanı alacak kişi, örnek alımı sırasında kişinin kimlik bilgilerini kimlik belgesi üzerinden kontrol etmeli ve bu bilgilerle barkod bilgilerini karşılaştırılmalıdır. Ayrıca, Hastanın/Donörün adını, doğum tarihini sorarak ve belgelerdeki bilgilerle karşılaştırarak kimliğin doğruluğundan bir kez daha emin olmalıdır. **Bilgilendirilmiş Olur Formu**'ndaki kişisel bilgileri kontrol etmeli ve kan alınan tüpün üstüne hastanın/donörün adı soyadı yazmalıdır.

d) Numune Alım Kuralları :

Numune alımında aşağıdaki maddelerde sırasıyla anlatılmaktadır.

- ❖ Damar girişi için en uygun ven bulunmalıdır.
- ❖ Turnikenin sıkılığı, arter pulsasyonuna izin verecek ölçüde olduktan sonra biceps bölgesine turnike uygulanmalıdır.
- ❖ Hastanın / donör adayının kolu yere bakan bir açıda uzatılmış olmalıdır.
- ❖ Turnike uygulandıktan sonra, cilt dezenfektan alkolle silinmeli veya cilde dezenfektan sprey sıkılmalıdır. (örn: chlorhexidine gluconate, ethanol 95 °C)
- ❖ Dezenfekte edildikten sonra ven elle palpe edilmemelidir.
- ❖ Hemostazı kolaylaştırmak için hastanın/donörün kolunu yukarı kaldırarak tutması istenmelidir.
- ❖ Kullanılan iğne, güvenlik açısından Tıbbi Atık Kutusuna atılmalıdır.



DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI TEST REHBERİ

4. NUMUNELERİN TRANSFERİ

Kan alan kişi gerekli belgeleri ve alınan kan numunelerini taşıma kabına yerleştirir ve bu kap doğrudan örnek alma postası tarafından veya onun aracılığıyla transfer kurallarına uygun olarak taşınır.

Numune HLA Laboratuvarı'na kurum içinden geliyorsa, **almından sonraki yaklaşık bir saat içinde**, kurum dışından geliyorsa, numunelerin transfer kurallarına uygun olarak **72 saat içerisinde** ulaştırılır.

Numuneyi alan kişi, tüpün dışında hiçbir biyolojik materyal kalmadığından, tüpün tam kapalı ve hasarsız olduğunu, düzgün bir şekilde etiketlendiğini kontrol eder. Transfer işlemi, aşağıda anlatıldığı şekilde üç ayrı kabın kullanımını gerektirir. Bunlar;

Primer Kap: Bu kap, her koşulda, geçirgen olmayan bir materyalden olmalı, hava geçirmeyecek şekilde bantlanmalı, etiketlenmeli, kabın kırılması durumunda dökülecek sıvıyı emecek miktarda, emici bir madde (kağıt havlu veya pamuk) ile sarılmalıdır.

Sekonder Kap (Taşıma Çantası): Primer kabı taşımaya ve korumaya uygun, su geçirmeyen, dayanıklı malzemeden yapılmış bir kaptır. Bu kabın içine, numune dik bir şekilde yerleştirilir. Belgeler, sekonder kabın dışında ayrı bir cebe konmalıdır. Taşıma çantasının üzerinde, biyolojik materyal sembolü ve alıcı laboratuvarın adı olmalıdır.

Dış Kap (Ambalaj): Sekonder kabın içine yerleştirileceği dış kap, fiziksel ajanlar veya su gibi dış faktörler tarafından yol açılabilecek hasarları önlemek içindir. Dış kap, hava koşullarına ve şoka dayanıklı plastik, tahta veya başka bir malzemeden yapılmış olabilir. Ambalajın dış yüzeyinde "Biyolojik Materyal", "Dikkatli Taşınacak", "Ters Tutmayın" sembolleri olmalıdır.

Transfer Sıcaklığı: Numunelerin kabulü için gerekli olan transfer sıcaklık aralığı (+4°C ile +8°C) arasında olmalıdır.

Belgeler: Taşıma çantasının dış cebinde, (F-002) Doku Tipleme HLA İstek Formu ve (F-001) Bilgilendirilmiş Olur Formu eksiksiz ve tamamlanmış olarak bulunmalıdır. Numune servis postası tarafından laboratuvara elden teslim edilir.



DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI TEST REHBERİ

5. NUMUNELERİN KABUL-RED KRİTERLERİ

Laboratuvar Sekreteri, istem yapan ünitenin doktoru tarafından ve eksiksiz olarak doldurulan **(F-002) Doku Tipleme HLA İstek Formu** ile hasta ve/veya donör adayı tarafından imzalanmış olan **(F-001) Bilgilendirilmiş Olur Formu** ile birlikte kan numunesini teslim alır ve aşağıdaki sıralamayı takip eder.

- Kabul edilen numunenin çalışılacak teste göre uygun tüpte olup olmadığını kontrol eder.(PRA testi için sarı kapaklı biyokimya tüpünde gelmesi gibi)
- Numune EDTA'lı tüpe alınmışsa; yavaşça çevirerek, kan örneğinde pıhtılar olup olmadığına bakar.
- Tüpün üzerindeki barkodda aşağıdaki kriterler olmalıdır.
 - Hastanın ve/veya donör adayının adı-soyadı
 - Doğum tarihi
 - Numunenin alındığı tarih/saat
 - Numuneyi gönderen bölüm

Laboratuvar Sekreteri tarafından yapılan inceleme sonrası, laboratuvar çalışanlarına bildirimde bulunulur. Yukarıda belirtilen kontrollerin sonucu uygunsa; laboratuvar çalışanı bu bilgileri (F-003) Teslim Alınan HLA Kanları Listesi'ne kaydeder. Bu form da laboratuvar içinde özel bir dosyada saklanır. Numune için gerekli kayıtlar hem hastane otomasyon sisteminde hem de kağıt üzerinde yapılır ve işleme alınır. Numune kabul ve reddini yapan kişiye ait bilgiler LBYS'de yer alır.

Numune reddi sürecinde; reddedilme nedenleri ve reddeden kişiye ait bilgiler HBYS'de yer almaktadır. Test isteminde bulunan doktor otomasyon sisteminde bu bilgilere ulaşır.

Gerekli durumlarda doktor sözel olarak bilgilendirilir. Aylık olarak da analizi gerçekleştirilir, gerekli hallerde düzeltici ve önleyici faaliyete geçilir.

Hastalara sonuç verme süresi hakkında bilgi merkez laboratuvar sekreterleri tarafından verilir. Randevu kağıdı üzerine sonuç alacağı tarih ve saat yazılarak hastaya teslim edilir.



DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI TEST REHBERİ

Cihaz arızaları, kit olmaması gibi durumlarda hastane örnek alma birimleri ve merkez laboratuvarı sekreterliğine haber verilerek testte gecikme olacağı bildirilir. Test gecikme sürelerini aşan durumlarda uyumsuzluk formu düzenlenir.

Uygun Olmayan Numune

- Formlar eksik doldurulmuşsa veya kimlik bilgileri belirtilmemişse
- Formlar ve barkod bilgileri arasında tutarsızlık varsa
- Barkodsuz veya çift barkod gibi karmaşaya sebep olacak durumlarda
- Heparinli örneklerde (HLA Tiplendirme için zorunlu durumlarda kabul edilebilir)
- Antikoagülsüz kan numunesi gönderiminde
- Kurumumuz dışından gönderilen numunelerde; kanın alınma tarihi, hastanın adı soyadı ve doğum tarihi bilgilerini içermeyen tüplerde **numune kabulü yapılmamaktadır.**

Yukarıda listelenen durumlardan herhangi biri mevcutsa, HLA operatörü, ilgili kişiyle sözel ya da elektronik ortamda numune reddiyle ilgili iletişime geçer. Uyumsuzluk durumu çözümlenemiyorsa; HLA çalışanı numuneyi reddeder ve (F-017 Uyumsuzluk ve Düzeltici Önleyici Faaliyet Raporu)'nu doldurarak, hastadan sorumlu olan doktora ve/veya kanı alan kişiye gönderir. Formun bir kopyasını kendisinde tutar ve yeni bir istemde bulunur.

Numuneler, numune alımıyla ilgili kayıt ve laboratuvara kabul kaydı olmadan çalışmaya alınmamaktadır.

NOT: Örnek alımı ve transferi konusunda ilgili çalışanlara hastane idaresi tarafından eğitim verilmektedir.

6. SONUÇLARIN RAPORLANMASI ve YORUMLANMASI

HBYS otomasyon sistemi dışında laboratuvara ait olan HLA Raporlama Sistemi bulunmaktadır. Bu sisteme kullanıcı kodları ve şifreleri olan yetkilendirilmiş kişilerce erişim sağlanır. Laboratuvar Sorumlusu tarafından gözden geçirilerek yorumlanan ve onaylanan doku tiplendirme sonuçları HLA operatörü tarafından raporlanır. İmzalanan sonuçlar, tarayıcıdan taranır ve elektronik ortamda süresiz bir şekilde arşivlenir. Sonrasında klinik koordintörleri ile iletişime geçilerek raporlar teslim edilir. HLA sonuçları hastane bilgi yönetim sistemine (HBYS) girilmez.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI



Yayın Tarihi: 02.01.2013

Revizyon Tarihi: 04.04.2022

Revizyon No: 05

DOKU TİPLEME (HLA) LABORATUVARI TEST REHBERİ

Raporlar ve kayıtlar en az **otuz yıl**, elektronik kayıtlar yedekleme ile birlikte **süresiz**, kalite kontrol değerlendirme sonuçları laboratuvarında en az **beş yıl**, cihaz test kalibrasyon sonuç kayıtları en az **bir yıl** süre ile muhafaza edilir.