1- KAPSAM:

-İmmino hematolojik testler ile ilgili tüm süreçler sipinde yazılmış olmalıdır.

-Kan bağışları, bileşenler ve bunlara ait örnekler barkotlu veya gözle okunabilen numaralar halinde tanımlanmalıdır.

-Bağışlar ile bunları bağışlayan bağışçılar arasında izlenebilirlik sağlanmalıdır.

-Bağışçıya ait kayıtlar her bağışta gözden geçirilebilir olmalıdır.

2- GENEL İLKELER:

BAĞIŞLARDA KULLANILAN İMMÜNO-HEMATOLOJİK TESTLER:

2.1. Örnekler için asgari koşullar:

-Örnek kanlarda aşağıdaki şartlara ilişkin görsel inceleme yapılmalı, uygunsuzluk oluşturabilecek herhangi bir durum test sonucunda rapor edilmelidir. Örneğin; hemoliz test sonucunu etkiliyor ise 'hemolizli örnek ile çalışılmıştır' şeklinde not konulmalıdır.

-Hemoliz

-Lipemi

-Pıhtılaşma

-Hacim

-Plazma oranı

-Hatalı etiketleme yönünden etiketler incelenmelidir.

-Örneğin teste uygunluğu önceden saptanmalıdır.

2.2. Reagenler ve test kitleri için asgari koşullar:

-Her sevkiyattaki reagen ve test kitlelerinin şartnameye uygunluğu değerlendirilmelidir.

-Reagen ve test kitlerinde en az sayılanları kayıt altına alabilecek bir envanter kontrol sistemi bulunması gerekir.

2.3. Ekipman:

-Test ekipmanının rutin kullanıma girmeden önce, performans denetlenmeli, test sistemleri ve ekipman tutarlı geçerli sonuçlar verdiğini garanti eden prosedürler bulunmalıdır.

-Ekipmanın kullanımı, temizlenmesi, kalibrasyonu ve bakımı üreticinin talimatları ve yazılı prosedürleri doğrultusunda uygulanmaktadır.

-Tüm ekipman için aşağıda sayılan maddeleri içeren kayıtların tutulması ve saklanması gerekir:

1. Servis sözleşmesi
2. Arızaların giderilme süresi
3. Hatalar
4. Bakım ve onarım raporları
5. Kalibrasyon.

2.4.Test Prosedürleri:

-Sipler yazılmalı ve uygulanmalıdır.

-Kontrol edilmeli ve gözden geçirilmelidir.

-Eğitim olmuş personelce uygulanmalı ve eğitim kayıtları saklanmalıdır.

-Test sonuçlarına ait kayıtları içermelidir

2.5.Sonuçlarının Rapor Edilmesi:

-Hazırlanan rapor test sonuçlarını içermelidir

-Bir test serisinin 'muhtemelen negatif' olarak rapor edilmesi kabul edilemez.

-Raporlar yazılı veya elektronik ortamda saklanır.

-Test sonuçlarının kabulü ve onaylanması belirlenmiş yetkin bir personelin sorumluluğu altındadır

3. ZORUNLU TESTLER:

3.1.ABO ve HR(D) kan gruplaması

3.1.1.Genel Prensipler:

-Transfüzyon amacı ile hazırlanan her ünite ABO ve Rh(A) tiplendirmesi yapılmalıdır.

ABO ve Rh(B) tiplendirilmesi sonuçları uyumlu ise kayıt altına alınır.Uygunsuzluk halinde yeni bir örnek ile çalışması tekrar edilir.

-ABO gruplaması – bağışçı eritrositlerinin Anti-A ve Anti-B sorumları (direkt-forward-gruplaması), bağışçı plazma veya serumun A1 ve B eritrositleri (reverse gruplama) ile test edilmesi sonucu belirlenir.

-Rh tiplendirilmesi bağışçı eritrositlerinin Anti-D serumu ile test edilmesi sonucu belirlenir.Anti-Dile reaksiyon vermeyen eritrositlere zayıf D testi yapılmalıdır.

-Anti-D ile reaksiyon veren veya zayıf D testi ile pozitif çıkan üniteler Rh(+) pozitif olarak işaretlenir.Tersi durumunda negatif işaretlenir.

-Test ve veri transferinin güvenliği sağlandığında, daha önce gruplandırılması yapılmış olan bağışçıların testlerinin bir kez Anti-A ve Anti-B bakılması yeterli olur.

3.1.2.ABO Kan Gruplanmasında Kalite Kontrol:

-Reagen ve ekipman üreticilerinin tavsiye ettiği kalite kontrol prosedürleri takip edilmelidir.

-ABO kan gruplama testlerinin her partisi için aşağıdaki minimum test kontrollerinin uygulanması gerekir:

-Anti-A, anti-B, anti-A.B, ve/veya anti-A+B ile uygun reaksiyon vermeleri gerekir.

-REagen eritrosit örneklerinin anti-A, anti-B ve/veya anti-A+b uygun reaksiyon vermeleri gerekir.

-Bu kontrol sıklığı test sayısına göre laboratuar sorumlusu tarafından belirlenir.

3.1.3.D Gruplama:

-Her kan bağışında Dgrubu saptanmalıdır.

-İlk kez kan grubuna bakılan bağışçıda iki farklı anti-D gruplama reageni (biri D-VI antijenini saptayabilecek) kullanılmalıdır.

-Her iki anti-D reageniyle net olarak pozitif reaksiyon veren bağışçı kanları D POZİTİF olarak kabul edilir.

-Her iki anti-D reageniyle net olarak reaksiyon veren bağışçı kanları D NEGATİF olarak kabul edilir.

-Anti-D reagenleriyle uyumsuz sonuçlar alınırsa testler tekrar edilir.D grubunun şüpheli bulunduğu durumlarda bağışçıyı D POZİTİF kabul etmek daha güvenlidir.

-Test ve veri transferinin güvenliği sağlandığında, daha önce gruplandırılması yapılmış olan bağışçıları testlerinin bir kez anti-D bakılması yeterli olur.

3.1.4.D Gruplandırılmasında Kalite Kontrol:

-Reagen ve ekipman üreticilerinin tavsiye ettiği kalite kontrol prosedürleri takip edilmelidir.

-D kan gruplama testlerinin her partisi için aşağıdaki minimum test kontrollerinin uygulanması gerekir:

1. D kan gruplandırma testlerinin tüm serileri R1r eritrositleriyle pozitif ve r'r veya rr eritrositleriyle negatif sonuç vermelidir.
2. Bu kontrol sıklığı test sayısına göre laboratuar sorumlusu tarafından belirlenir.

ERİTROSİTLERİN ABO TİPLENDİRİLMESİ

-Tüp

-Mikroplak

-Mikrokolon yöntemi ile yapılır.

1.Tüp Yöntemi İle Eritrositlerin Ve Serumun ABO Grubunun Belirlenmesi: Bu yöntem için anti-A, anti-B, A1 ve B eritrositlerine ihtiyaç vardır.Anti-AB serumu ve A2 eritrositlerinin kullanımı isteğe bağlı olarak teste eklenebilir.Üretici firmanın farklı bir önerisi yoksa günlük olarak A1 ve B eritrositlerinin %2-5'lik süspansiyonunu (serum fizyolojik içinde) hazırlanır.Kullanılacak olan tüm materyal üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmalıdır.

1.1.Eritrositlerin Tiplendirilmesi:

1. Temiz ve etiketlenmiş bir cam tüpe 1 damla anti_A damlatılır.
2. Temiz ve etiketlenmiş bir cam tüpe 1 damla anti-B damlatılır.
3. Her iki tüpe test edilecek olan eritrositlerin %2-5'lik serum fizyolojik içindeki süspansiyonundan bir damla eklenir.
4. Tüpler nazikçe çalkalanır ve aglütinasyon gözlemlenir.Aglütinasyon tablo F1.1'e göre değerlendirilir.

5. Sonuçlar kayıt edilir ve serum testleri ile karşılaştırılır.

1.2. Serum Tiplendirilmesi:

1. İki temiz tüp A1 ve B olarak etiketlenir.
2. Her tüpe 2-3damla serum damlatılır.
3. A1 tüpüne 1 damla A1 hücresi damlatılır.
4. B tüpüne 1 damla B hücresi damlatılır.
5. Tüpler nazikçe karıştırılır ve santrifüj edilir.
6. Tüpler nazikçe çalkalanır ve aglütinasyon gözlemlenir.
7. Sonuçlar kayıt edilir ve eritrosit testleri ile karşılaştırılır.

Serum ve eritrosit tiplendirilmesi arasında uygunsuzluk var ise kan grubu kaydı sorun çözülene kadar kaydedilmemelidir.

2.Mikroplak Yöntemi İle Eritrositlerin Ve Serumun ABO Grubunun Belirlenmesi:

-Hastanın hemogram tüpüne kan alınır.

-ABO solüsyonundan bir plastik tüpe 200 mikron solüsyon konulur

-Hastanın kanından 25 mikron kan solüsyona karıştırılır.

-Elde edilen karışımdan kan grubu kartının her bir kuyucuğuna 10 mikron konur.

-Sonra kan grubu kartı santrifüjde 5 dakika döner.

-Santrifüjden sonra kan grubu kartı değerlendirilir.Kan grubu kartında bulunan anti-A, anti_B, anti-D reaksiyon varsa jelin üst kısmında kırmızı renkte çizgi görülür ve pozitif kabul edilir.Reaksiyon yoksa jelin en alt kısmında çökme olur.Kırmızı çizgi şeklinde aşağıda görülür ve negatif kabul edilir.

2.1.Gerekli malzemeler: kan grubu bakılacak kişinin kanı, üretici firma tarafından verilen solüsyon, üretici firma tarafından verilen kan grubu kartı, mikro pipet ve uç, kan grubu kartı santrifüjü

ERİSTROSİTLERİN Rh (D) TİPLENDİRİLMESİ :

-Tüp

-Mikroplak

-Mikrokolon yöntemi ile yapılır.

1.Tüp Yöntemi İle Eritrositlerin Rh(D) Grubunun Belirlenmesi: Bu yöntem için anti-D serumunda ihtiyaç vardır.Üretici firma talimatlarında kontrol kullanılması gerekiyor ise test prosedürüne eklenir.Kullanılacak olan tüm materyal üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmalıdır.

1.1.Eritrositlerin Tiplendirilmesi:

1. Temiz ve etiketlenmiş bir cam tüpe 1 damla anti-D damlatılır.
2. Temiz ve etiketlenmiş bir cam tüpe gerekiyor ise 1 damla kontrol reagen damlatılır
3. Her iki tüpe test edilecek olan eritrositlerin %2-5'lik serum fizyolojik içindeki süspansiyonundan bir damla eklenir.
4. Tüpler nazikçe karıştırılır ve santrifüj edilir.
5. Tüpler nazikçe çalkalanır ve aglütinasyon gözlemlenir.Aglütinasyon Tablo F1.1'e göre değerlendirilir.
6. Sonuçlar kayıt edilir.Eğer test sonucu negatif ise zayıf D testi çalıştırılır.

2.1.Mikroplak Yöntemiyle Eritrositlerin Rh(D) Grubunu Belirlenmesi: Üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve değerlendirilir.

B.HASTALARDA KULLANILAN İMMÜNO- HEMATOLOJİK TESTLER

Bu bölümün amacı alt kan örneklerinde yapılması gereken immüno-hemotolojik testleri, bu testlerin çalışma yöntemlerini ve kalite kontrol gereklerini belirlemektedir.Bunlara antenatal testler de dahildir.

1.GENEL İLKELER

Güvenli ve etkin işleyiş için aşağıdaki şartlar yerine getirilmelidir:

- Ümmino-Hemotolojik testler ile ilgili Tüm süreçlerin SİP leri yazılmış olmalıdır.
- Örnekler barkotlu veya gözle okunabilen numaralar halinde tanımlanmalıdır.
- Kan bileşenleri ve transfüze edildiği hastalar arasında izlenebilirlik sağlanmalıdır.
- Hastalara ait test kayıtlar gerektiğinde gözden geçirilebilmelidir.
- Reagenler, test kitleri ve ekipman, üreticilerin talimatları doğrultusunda kullanılmalıdır (detaylar bağış bölümünde belirtilmiştir.)
- Rutin kullanım öncesi test işlemlerinin ve ekipmanın geçerlilikleri denetlenmelidir.
- Test prosedürleri ve ekipman işletim talimatları yazılıp uygulanmalıdır.
- Laboratuar testleri kalifiye personel tarafından uygulanmalıdır.Personelin yetkinliği tanımlanmalıdır.

2.1 İstemler: Örnekler, istemi yapan kişiyi tanımlayan onaylı, yazılı veya elektronik formlarla laboratuara gönderilir.Kan ve kan bileşeni isteminin kabulüne yönelik yazılı bir prosedürün bulunması gerekir.Uygunluk testi istemlerine kanın kullanılacağı tarih, saat, sayı ve/veya hacim, istenen bileşenin tipi, varsa herhangi bir spesifik istem transfüzyon endikasyonu yazılmalıdır.Örnek istem konusu formu KISIM B' de verilmiştir.

2.2.Örnekler:

- Hasta örnekleri net bir şekilde tanımlanmalıdır.
- Tüm örnekler minimum olarak şu bilgileri içermelidir.

- Tam adı ve soyadı
- Doğum tarihi(gün/ay/yıl)
- Protokol no
- Testler uygulanmadan önce örneklerle hasta bilgilerinin uyumlu olup olmadığı kontrol edilmelidir.
- Uygun olarak etiketlenmemiş örnekler veya istenen teste uygun olmayan örnekler gönderildiğinde süreç prosedürlere tanımlanmış olmalıdır.
- Örneklerin etiketlenmesi hasta başında yapılmalıdır.
- Transfüzyon öncesi test örneklerinde şunlar bulunmalıdır; kanı alan kişi tarafından el yazısıyla yazılmış tarih ve imza bulunan etiket; veya hasta bilekliğinden barkodun okutulmasıyla hasta başında basılan ve yapıştırılan etiketler.
- Örnek kanlarda aşağıdaki şartlara ilişkin görsel inceleme yapılmalı, uygunsuzluk oluşturabilecek herhangi bir durum test sonucunda rapor edilmelidir.Örneğin hemoliz test sonucunu etkiliyorsa hemolizli örnek ile çalışılmıştır' şeklinde not konulmalıdır.

- Hemoliz
- Lipemi
- Pıhtılaşma
- Hacim
- Hücre:plazma(serum)oranı

1. Örneklerin saklanması ve hazırlanmasına yönelik prosedürlerin bulunması gerekir.
2. Transfüzyon öncesi testlerin örnek alma zamanının belirlenmesinde aşağıdaki Tablo'dan yararlanılabilir

Son Transfüzyon zamanı	Örnek alma Zamanı
3-14 Gün	Transfüzyondan 24 Saat önce
15-28 Gün	Transfüzyondan 72 saat önce
29 Gün-3 Ay	Transfüzyondan 1 hafta önce

C. HASTADA ABO ve D GRUPLAMASI

1.GENEL İLKELR:

Transfüzyon öncesi uygulanan en önemli test ABO gruplandırılmasıdır.

- Kan örneği güvenliğinin sağlanabilmesi için her trnasfüzyondan önce ve antenatal eritrosit örneklerinde ABO v D Dgrubu tayinleri yapılmalıdır.
- Monoklonol kan gruplama reagenlerinin kullanımıyla standart A, B ve D antijenlerinin sensitivitesi büyük oranda artar.Ancak reagenler dikkatli bir şekilde seçilmedikleri taktirde zayıf D de dahil olmak üzere bazı A, B ve D varyantlarının saptanmasında hatalar oluşabilir.
- Tam otomatik ABO ve D gruplama prosedürleri pratik ve uygun olabilecek yerlerde kullanılmalıdır.
- ABO veD gruplama testlerinin sonuçları eski kayıtlarla karşılaştırılmalıdır.
- Pıhtılaşmış veya EDTA'lı örnekler ABO veD gruplamasında kullanılabilir ancak tam otomatik sistemlerde EDTA'lı örneklerin kullanılması şarttır.

2.ERİTROSİTLERİN ABO TİPLENDİRİLMESİ:

2.1. Tüp

2.2. Mikroplate

2.3. Mikrokolon

2.1.Tüp yöntemi ile eritrositlerin ABO grubunun belirlenmesi :

Bağışçı eritrositlerinde ABO belirlenmesi yapıldığı şekli ile aynen yapılır

2.2. Mikroplak yöntemi ile eritrositlerin ABO grubunun belirlenmesi:

Üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve değerlendirilir.

2.4. Mikrolon Yöntemi ile eritrositlerin ABO grubunun belirlenmesi:

Üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve değerlendirilir

3. ERİTROSİTLERİN Rh (D) TİPLENDİRİLMESİ:

Eritrositlerin Rh (D) tiplendirilmesi**,** Bağışçı kanında anlatıldığı şekilde yapılır.

D. TRANSFÜZYON ÖNCESİ UYGUNLUK TESTLERİ

Transfüzyon öncesi yapılması gereken uygunluk testleri 4 aşamadır:

- Hastaya ait eski kayıtların gözden geçirilmesi
- Alıcı ve vericinin ABO ve Rh(D) gruplaması
- Alıcı antikor taraması
- çapraz karşılaştırma

Kullanılan alıcı ve vericiye ait örnekler transfüzyon merkezi laboratuarına ulaştığı tarihten itibaren 7 gün süre ile +4C' de saklanmalıdır.Alıcıya ait örnek transfüzyon için planlanan tarihten en fazla 3 gün öncesine ait olmalıdır.

Çapraz karşılaştırma testi iki amaca eşlik edecek şekilde gerçekleştirilmelidir.

- Alıcı ile verici arasında son bir kez daha ABO kan grubu kontrolü yapılmalıdır.
- Alıcının serumunda vericinin eritrositlerine karşı reaksiyon verebilecek bir antikorun var olup olmadığı araştırılmalıdır.

Çapraz karşılaştırma testleri olarak kullanılacak metotlar ve bu metotların uygulama şekilleri şu şekilde sıralanabilir:

1.ACİL ÇAPRAZ KARŞILAŞTIRMA: Alıcının serumunda antikor tarama testi negatif ve hikayesinde daha önce tanımlanmış bir antikor mevcut değil ise ABO uygunluğu gösterecek serolojik testler yeterlidir.Bu durum;alıcının serumu ile verici eritrositlerinin karıştırtması ve hızla santrifüj edilmesi sonrası hemoliz ya da aglütinin varlığının gösterilmesi ile ortaya konulur.

Metot:

- Hasta serumu ile test edilecek olan her verici eritrositi için 1 adet olmak üzere etiketlenmiş 1 test tüpü hazırlanır
- Her tüpe 2 damla hasta serumu eklenir
- Verici eritrositlerinin her birine ait %2-5 'lik serum fizyolojikte hazırlanmış süspansiyonlar kendilerine ait olan tüplere 1 damla olacak şekilde eklenir.
- Tüpler karıştırılır ve santrifüj getirilir.
- Hemoliz veya aglütinasyon açısından değerlendirilir ve sonuçlar kayıt altına alınır.

Mikroplak yöntemi ile çapraz karşılaştırma:

1. Hasta ve donörün kan grupları teyit edilir
2. Hasta ve donörün kanları santrifüj edilip serumlarına ayrılır
3. Hastanın serumu donörün eritrositi, donörün serumu hastanın eritrosit solüsyonu çapraz karşılaştırılır.
4. Enzimli kuyucuklara 25 mikron solüsyon 2 den konulur
5. Hazırlanan kros kartı 15 dakika ben-maride 37.5C' de bekletilir. Kros kartı 5 dakika santrifüjde döner
6. Kros kartı 5 dakika santrifüjde döner
7. Kros kartındaki kuyucuklar değerlendirilir.Eğer aklutinasyon yoksa cross-match uygundur Eğer varsa cross-match uygun değildir.
8. Firma tarafından üretilen cross-match kartında 5 ve 7. kuyucuklar enzimli ortamı 6 ve 8. kuyucuklar coombslu ortamı belli eder. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve test edilir.

MİKROBİYOLOJİK TARAMA TESTLERİ

1. ZORUNLU TESTLERDE GENEL YAKLAŞIM:

Sağlık bakanlığı tarafından onaylanmış test kitleri kullanılmalıdır.Mikrobiyolojik tarama testleri, Reagan ve kit üreten firma talimatlarına uygun olarak çalışılmalıdır

Bağış kanlarının taranmasında kullanılan testler, ilgili antijen ve antikorun gösterilmesi esasına dayanır.Bu testlerin askeri ve mutlak çalışma koşulu üretici firma talimatlarına uygun olarak kontrollerin doğru sonuç vermesidir

1.1.Anti-HIV Testi.

Alınan tüm kan ve kan bileşenleri, HIV-1 tıp O gibi nadir tipleri de içerecek şekilde HIV-1 ve HIV-2 ye yönelik antijen veya antikorları {anti-HIV-1 ve anti-HIV-2} güvenilir biçimde saptayacak onaylanmış bir testle taranmak zorundadır.

1.2. HBsAg TESTİ:

Tüm kan ve kan bileşenleri, Hepatit B yüzey antijenini en az 0,5IU\ml düzeyinde saptayabilerek anaylanmış bir testle taramak zorundadır.üreteci firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve test edilir.

1.3. Anti-HCV Testi :

Tüm kan ve kan bileşenleri ,Hepatit C virüs antijeni veya antikoronu{Anti-HCV} güvenilir biçimde saptayacak, onaylanmış bir testle taranmak zorundadır.HCV enfeksiyonunu doğrulamak için immünoblast testleri kullanılır.HCV tarama testlerinin kalite kontrolüne ek olarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve test edilir.

1.4. Sifiliz Testi:

Sifiliz taranmasında manüel veya otomatize bir sistemde lesitin bazlı bir antijen içeren kardiyolipin testi veya treponema pallidum hemaglütasyon {TPHA} yöntemine dayalı bir test kullanılmadır.Bu amaçla ELİSA testi de kullanıla bilir.Pozitif sifiliz tarama sonuçlarının TPHA,floresan tropenema antikor testi veya ümmünoblat testleri ile doğrulanması gerekir.