



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



### 1.0 AMAÇ:

Bu talimat kan ve kan ürünlerinin güvenli bir şekilde hazırlanması, bağışçıdan alınan ünite kan için çalışılacak tesleri tanımlamayı ve kan ve kan ürünü etiketi üzerindeki bilgilerin doğru ve eksiksiz olarak bulunmasının sağlanmasını amaçlar.

**3.0 KAPSAM:** Donör ve hastaları kapsar.

**3.0 SORUMLULAR:** Baştabip, Sorumlu Hekim, Transfüzyon Hekimi, Biyologlar, Laboratuvar Teknisyenlerini kapsar.

### 4.0 UYGULAMA:

#### KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI:

##### A. TAM KAN:

###### **Tanım**

Transfüzyon için hazırlanan tam kan, uygun bir bağışçıdan, steril ve ajirojen antikoagulan ve torba kullanılarak alınan kandır. Temelde kan bileşenlerinin hazırlanması için kaynak olarak kullanılır.

###### **Özellikler**

Taze alınmış tam kan tüm özelliklerini ancak kısa bir süre koruyabilir. Tam kandaki Faktör VIII, lökosit ve trombositler 24 saatten uzun süre saklandığında hızla bozulacağından hemostaz bozukluklarında tam kan kullanımı uygun değildir.

###### **Hazırlama yöntemleri**

Transfüzyon için hazırlanan tam kan, ek işlem gerektirmeden kullanılır.

###### **Etiketleme**

Etiket, aşağıdaki bilgileri içermelidir;

- hazırlayan BKM adı ve/veya kodu;
- izlenebilirlik kriterlerini karşılayan kod,
- ABO ve Rh (D) grubu;
- bağış tarihi;
- antikoagulan solüsyonun adı;
- kan bileşeninin adı;
- ek işlem bilgileri: ışınlanmış vs (gerekli ise);
- son kullanma tarihi;
- bileşenin hacmi veya ağırlığı;
- saklama sıcaklığı;
- ABO ve Rh(D) dışındaki kan grubu fenotipleri (isteğe bağlı);

##### **Saklama Koşulları**

Transfüzyon amacıyla alınan tam kan +2°C ile +6°C aralığında saklanmalıdır. Saklama süresi kullanılan antikoagulan/koruyucu sıvıya bağlıdır. CPD-A1 için saklama süresi 35 gündür.

#### B. ERİTROSİT SÜSPANSİYONU:

##### **Tanım**

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	1 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



Tam kandan plazmanın uzaklaştırılması dışında herhangi bir işlem yapılmaksızın hazırlanan bileşendir.

### Özellikler

Bileşenin hematokriti 0.65-0.75 arasındadır. Her bir ünite, işlem sonunda minimum 45 gram hemoglobin içermelidir. Ünite orijinalindeki eritrositlerin tümünü içerir. Özel bir işlem uygulanmadıysa, lökositlerin büyük bir kısmı (yaklaşık  $2.5-3.0 \times 10^9$ ) ve kullanılan santrifüjasyon metoduna bağlı olarak değişen miktarda trombosit üründe kalır.

### Hazırlama yöntemleri

Bileşenin hazırlanması için santrifüjasyondan sonra plazma tam kandan uzaklaştırılır.

### Etiketleme

Etiketleme; tam kanda olduğu şekilde yapılır.

### Saklama Koşulları

Tam kandaki gibidir.

## C. ERİTROSİT SÜSPANSİYONU EK SOLÜSYONLU:

### Tanım

Bileşen, tam kanın santrifüjasyonundan sonra plazmanın ayrılması ve eritrositlere uygun, besleyici bir solüsyonunun ilave edilmesiyle hazırlanır.

### Özellikler

Bu bileşenin hematokriti, ek solüsyonun özelliğine, santrifüjasyon yöntemine ve kalan plazmanın miktarına bağlıdır. Ancak 0.70'i geçmemelidir. Her bir ünite, minimum 45 gram hemoglobin içermelidir. Ünite orijinalindeki eritrositlerin tümünü içerir. Özel bir işlem uygulanmadıysa, lökositlerin büyük bir kısmı (yaklaşık  $2.5-3.0 \times 10^9$ ) ve kullanılan santrifüjasyon yöntemine bağlı olarak değişen miktarda trombosit üründe kalır.

### Hazırlama yöntemleri

Temel antikoagülan solüsyon CPD olmalıdır. Ek solüsyonlar genellikle suda çözülmüş sodyum klorür, adenin, glukoz ve mannitol içerir. Sitrata, mannitol, fosfat ve guanozin içerenleri de vardır. Hacim 80-110 ml arasında olabilir. Tam kanın santrifüj edilmesinden sonra eritrositler ve plazma ayrılır. Eritrositlerin ek solüsyonla dikkatlice karıştırılmasından sonra  $+2^{\circ}\text{C}$  ile  $+6^{\circ}\text{C}$  arası sıcaklıkta saklanır.

### Etiketleme

Etiketleme tam kandaki gibidir. Ek solüsyonun adı eklenmelidir.

### Saklama koşulları

Tam kandaki gibidir. Kullanılan antikoagülan/ek solüsyona bağlı olarak saklama solüsyonunun izin verdiği süreye kadar uzatılabilir.

## D. TAZE DONMUŞ PLAZMA (TDP):

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	2 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



### Tanım

Labil pıhtılaşma faktörlerinin fonksiyonlarının yeterince korunabileceği bir sürede ve uygun bir sıcaklıkta dondurularak, gerek tam kan gerekse aferezle toplanan plazmadan transfüzyon veya fraksinasyon amacıyla hazırlanan bileşendir.

### Özellikler

Bu bileşen stabil koagülasyon faktörleri, albümin ve immunoglobülinleri normal plazma düzeylerinde içerir. Taze donmuş plazma klinik önemi olan beklenmedik antikorları içermemelidir.

### Hazırlama yöntemleri

**Tam Kandan:** Plazma, kendine bağlı transfer torbaların kullanıldığı bir kan torbasına alınmış tam kandan, tercihen ilk 6 saat içinde veya buzdolabında saklanılmışsa 18 saat içinde, yüksek hızda santrifügasyon ile ayrılır. Plazma, trombosit-ten zengin plazmadan da ayrılabilir.

### Etiketleme

Aşağıdaki bilgiler etiketin üzerinde bulunmalıdır;

- hazırlayan hizmet birimi
- ünite no;
- ABO Rh (D) grubu
- bağış tarihi;
- antikoagülan solüsyonun adı;
- kan bileşenin adı;
- son kullanma tarihi;
- bileşenin hacmi veya ağırlığı;
- saklama sıcaklığı;
- Eritmeden sonra son kullanma tarihi uygun bir son kullanma tarihi ile (saati) değiştirilmelidir. Saklama sıcaklığı buna göre değiştirilmelidir. Labil faktörleri korumak amacıyla plazma eritildikten sonra hemen kullanılmalıdır. Tekrar dondurulmamalıdır.

### Saklama Koşulları

Saklama sırasındaki stabilite ortamın saklama sıcaklığına bağlıdır. Optimal saklama sıcaklığı -25°C veya altıdır. Saklama sıcaklığına göre izin verilen saklama süreleri aşağıdaki gibidir:

- 25°C nin altında 36 ay;
- 18°C ile -25°C arasında 3 ay.

### Taşıma

Taşıma sırasında saklama sıcaklığı korunmalıdır. Hemen kullanılmayacaksa, torbalar, önerilen sıcaklıkta hemen depolanmalıdır.

### Kullanım endikasyonları

Taze donmuş plazma özellikle çok sayıda koagülasyon faktör eksikliği olan klinik durumlarda ve sadece virüs inaktivasyonu yapılmış, stabil, spesifik pıhtılaşma faktör konsantrasyonlarının olmadığı durumlarda kullanılabilir. Taze donmuş plazma, Trombotik Trombositopenik Purpura (TTP) tedavisinde kullanılabilir. Temel kullanım alanı plazma fraksinasyonu için kaynak materyal şeklindedir.

### Kullanım uyarıları

Taze donmuş plazma, koagülasyon eksikliğinin olmadığı durumlarda, basitçe volüm açığını kapatmak amacıyla veya immunglobulin kaynağı olarak kullanılmamalıdır. Viral inaktivasyonu yapılmış, uygun bir pıhtılaşma faktör

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	3 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



konsantresi var ise taze donmuş plazma kullanılmamalıdır. Taze donmuş plazma, plazma proteinlerine intoleransın olduğu hastalarda kullanılmamalıdır. ABO kan grubu uyumlu plazma kullanılmalıdır. Labil faktörleri korumak amacıyla plazma eritildikten hemen sonra kullanılmalıdır. Tekrar dondurulmamalıdır. Zorunlu durumlarda 2-6°C'da da en çok 24 saat bekletilebilir. Kullanımdan önce ürün, uygun koşullarda kontrollü olarak eritilmeli ve torbanın sağlamlığı, herhangi bir defekt veya sızıntı içerip içermemesi yönünden kontrol edilmelidir. Eritme işleminin sonunda çözünmemiş kriyopresipitat gözlenmemelidir.

### **E. TROMBOSİT SÜSPANSİYONU (TAM KANDAN):**

#### **Tanım**

Taze tam kandan hazırlanan, tam kanın trombosit içeriğini yüksek oranda ve etkin formda içeren bileşendir.

#### **Özellikler**

Hazırlama yöntemine bağlı olarak bir ünitedeki trombosit içeriği 50-60 ml süs- pansiyonda 45-85x10<sup>9</sup> (ortalama 70x10<sup>9</sup>) arasında değişecektir. Ek bir işlem yapılmadığı sürece benzer şekilde bir ünitedeki lökosit içeriği 0.05-1x10<sup>9</sup>, eritrositler ise 0,2-1x10<sup>9</sup> arasında olacaktır.

#### **Hazırlama yöntemleri**

##### **Trombositten zengin plazma (TZP) hazırlanması**

İlke: +20°C ve +24°C arasındaki sıcaklıkta en fazla 24 saat beklemiş bir ünite tam kan santrifüj edilerek; plazmada yeterli sayıda trombosit ve tanımlanmış düzeyde azaltılmış eritrosit ve lökosit sayısı olacak şekilde hazırlanır. İçerisinde yukarıda belirtilen miktarlarda trombosit, lökosit ve eritrosit kalacak şekilde ürün elde edilir. Yöntemin kilit noktaları:

- Santrifüj işleminin etkinliği g x dakika olarak tanımlanır;
- Santrifüj işlemi sırasında kanın sıcaklığı standart olmalıdır;
- Santrifüj işlemi sonrasında kan bileşenleri katmanları bozulmamalıdır;
- Üstte kalan plazmanın uzaklaştırılması çok hızlı yapılmamalı ve ayırma işlemi eritrosit tabakasının 8 -10 mm üzerinde durdurulmalıdır.

##### **Trombositten Zengin Plazmadan trombosit hazırlanması**

İlke: TZP içerisindeki trombositler yüksek devir santrifügasyonla çöktürülür; üstteki trombositten fakir plazma, trombositlerle beraber 50-70 ml bırakılacak şekilde alınır; son olarak trombosit kümeleri ayrıştırılıp süspansiyon haline getirilir.

İlke: +20°C ile +24°C arasındaki sıcaklıkta en fazla 24 saat beklemiş bir ünite tam kan; trombositler lökositlerle birlikte buffy coat içerisinde çökecek şekilde santrifüj edilir. Buffy coat ayrılır ve trombosit konsantresi elde etmek için yeni işleme geçilir. Tek bir buffy coat veya kan grubu uygun 4-6 buffy coat havuzlanarak plazma veya uygun bir besleyici solüsyonla dilüe edilir. Dikkatli bir şekilde karıştırıldıktan sonra buffy coat veya havuzlanmış buffy coatlar, eritrosit ve lökositler torbanın dibinde çökecek, trombositler üstte kalacak şekilde santrifüj edilir. Bu işlemin kilit noktaları TZP'de anlatılanlarla aynıdır.

Lökosit azaltılmış trombositler filtrasyonla hazırlanabilir, saklama öncesi lökosit azaltma önerilir (tercihan elde edildikten sonraki 6 saat içerisinde). Santrifüj koşullarının dikkatli bir şekilde standardize edilmesi, buffy coat'tan lökosit azaltılmış trombosit elde edilmesine olanak verir. Lökosit azaltılmasında optimum koşulların sağlanması amacıyla valide edilmiş bir yöntem geliştirilmelidir.

#### **Etiketleme**

Aşağıdaki bilgiler etiketin üzerinde bulunmalıdır:

- hazırlayan hizmet birimi;
- ünite numarası. (trombositler havuzlanmışsa etiketten orjinal başışa ulaşılabilir)

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	4 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



- ABO ve Rh (D) grubu;
- bağış tarihi
- antikoagülan solüsyonun adı veya ek solüsyonun adı ;
- kan bileşeninin adı;
- ek bileşen bilgileri: lökosit azaltılmış, ışınlanmış, viral inaktivasyon yapılmış, havuz yapılan bağışların sayısı, vs (gerekli ise);
- son kullanma tarihi;
- saklama sıcaklığı;

### Saklama koşulları

Trombositler canlılıklarını ve hemostatik aktivitelerini optimal olarak garantile- yen koşullar altında saklanmalıdır. Trombositler, plazma veya bir “plazma + besleyici solüsyon” kombinasyonu içinde saklanabilir. Trombosit saklanması için kullanılan plastik torbalar, trombositlere gereken oksijeni sağlayabilecek gaz geçirgenliğine sahip olmalıdır. Gerekli oksijen miktarı üründeki trombosit sayısına bağlıdır. Genellikle en uygun saklama; trombosit yoğunluğu  $1,5 \times 10^9/ml$ 'den az olduğunda ve ürünün pH'sı kullanılan saklama periyodu sırasında sürekli olarak 6,4'ün üzerinde olduğunda mümkündür. Saklama sırasında trombositlerin ajitasyonu yeterli oksijen geçişini garanti edecek kadar etkin fakat olabildiğince yumuşak olmalıdır. Saklaması sıcaklığı  $+20^{\circ}C$  ile  $+24^{\circ}C$  arasında olmalıdır. Hazırlanan trombositler için maksimum saklama süresi 5 gündür, ancak bakteriyel kontaminasyonun saptanması veya azaltılmasına yönelik ek bir yöntemin kullanılması durumunda 7 gün saklanabilir

## TESTLERİN HAZIRLANMASI, DAĞITILMASI VE İMHASI:

### A. İMMÜNO-HEMATOLOJİK TESTLER:

#### Zorunlu testler

#### ABO ve Rh (D) kan gruplaması

#### Genel prensipler

- Transfüzyon amacı ile hazırlanan her ünite kana ABO ve Rh (D) tiplendirmesi yapılmalıdır. ABO ve Rh (D) tiplendirmesi iki farklı kişi tarafından çalışılır. Sonuçlar uyumlu ise kayıt altına alınmalıdır. Herhangi bir uygunsuzluk halinde yeni bir örnek ile çalışma tekrar edilmelidir.
- ABO gruplaması; bağışçı eritrositlerinin anti-A ve anti-B serumları (direkt-forward -gruplama), bağışçı plazma veya serumunun A1 ve B eritrositleri (karşıt-reverse- gruplama) ile test edilmesi sonucu belirlenir.
- Rh (D) tiplendirmesi bağışçı eritrositlerinin anti-D serumu ile test edilmesi sonucu belirlenir. Anti-D ile reaksiyon vermeyen eritrositlere zayıf D testi yapılmalıdır. Anti-D ile reaksiyon veren veya zayıf D testi pozitif çıkan üniteler Rh (D) **POZİTİF** olarak işaretlenmelidir. Anti-D serumu ve zayıf D testi negatif olan üniteler **NEGATİF** olarak işaretlenir.
- Transfüzyon veya gebelik öyküsü olan bağışçıdan alınan tüm ünitelere ve ilk kez başvuran bağışçıya beklenmeyen antikorlar açısından antikor tarama testi uygulanmalıdır.
- Ünitenin üzerinde bulunan etikette ABO ve Rh (D) tiplendirmesine ait bilgi açık olarak yer almalıdır.
- Test ve veri transferinin güvenliği sağlandığında, daha önce gruplandırması yapılmış olan bağışçıların testlerinin bir kez anti-A ve anti-B ile bakılması yeterli olur.

#### ABO kan gruplamasında kalite kontrol

- Reagen ve ekipman üreticilerinin tavsiye ettiği kalite kontrol talimatleri 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, A1, B ve 0 grubundan hücrelerle uygun reaksiyonlar vermesi gerekir.
  - reagen eritrosit örneklerinin anti-A, anti-B ve/veya anti-A+B ile uygun reaksiyon vermeleri gerekir.

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	5 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



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

### D gruplama

- Her kan bağışında D grubu 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 negatif 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 gruplandırması yapılmış olan bağışçıları testlerinin bir kez anti-D ile bakılması yeterli olur.

### Antikor tarama

- Rutin antikor taramasında kullanılan reagen eritrositler en az şu antijenleri: D;C;c;E;e;K üzerinde bulunduran eritrositlerden oluşmalıdır.
- Kullanılacak kanlarda antikor taramasının sonucu negatif olmalıdır.

### ABO ve D gruplaması

#### Genel gereklilikler

Transfüzyon öncesi uygulanan en önemli test ABO gruplandırmasıdır.

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

#### Test talimatleri

- Hastanın eritrositleri monoklonal anti-A, anti-B ve/veya anti-AB reagenleri kullanılarak direct -forward- gruplama yöntemi ile test edilmelidir. Anti-A,B veya anti- A+B reagenleri anti-A ve anti-B ile birlikte kullanılabilir ancak bu şart değildir.
- Anti-B reageni, edinsel B antijenleri içeren eritrositlerle reaksiyona girmemelidir.
- Reverse gruplama A1 ve B reagen eritrositler kullanılarak yapılmalıdır.
- Daha öncesine ait kan gruplama kayıtları olmayan hastalara ait örneklerde uygulanacak gruplama talimatü en az şu ikisini içermelidir:
  - ABO için direct -forward- ve karşıt -reverse- gruplama ile Rh için D grubu tayini; ve
  - İkinci ABO tayininde forward ya da reverse gruplama yapılmalıdır. İkinci D gruplamasında ise aynı veya farklı reagen kullanılabilir.

Manuel gruplamada (a) ve (b) maddelerinde belirtilen işlemler iki farklı laboratuvar personeli tarafından uygulanmalıdır.

- Yorumlanmış olan test sonuçları, önceki test sonuçlarıyla karşılaştırılmalıdır.

### Manuel ve otomatik ABO ve Rh (D) gruplamalarında uygulanması gereken kontroller

- Reagen ve ekipman üreticilerinin tavsiye ettiği kalite kontrol talimatleri takip edilmelidir.
- Kalite kontrol testlerinin sıklığı test sayısına göre laboratuvar sorumlusu tarafından belirlenir.

### Manuel ve otomatik ABO ve Rh (D) gruplamasının kontrolleri

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	6 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



Reagen	Pozitif kontrol	Negatif kontrol
Anti-A	A hücresi	B hücresi
Anti-B	B hücresi	A hücresi
Anti-D	Rh D- pozitif hücre	Rh D-negatif hücre
A1 gruplama hücreleri	Anti-A serumu	Anti-B serumu
B gruplama hücreleri	Anti-B serumu	Anti-A serumu

### Sonuçların değerlendirilmesi

- Sonuçlar iki ayrı laboratuvar personeli tarafından bağımsız olarak değerlendirilmelidir.
- Sonuçların değerlendirmesine yönelik talimat bulunmalıdır.

### Sonuçların onaylanması

Onaylama işleminde şunların yerine getirilmesi gerekir:

- Gelen örnekteki kişiye özel tanımlama numarası, istem formundaki veya bilgi- sayardaki numara ile karşılaştırılmalı, etiketlemede ve kayıt safhasında hata yapılmadığından emin olunmalıdır.
- ABO ve Rh (D) gruplarının, mümkünse elektronik ortamda, daha önce bakılan gruplama sonuçlarıyla karşılaştırılarak doğrulaması yapılmalıdır. Transfüzyondan önce tüm uyumsuzluklar giderilmelidir.
- Laboratuvarında test sonuçlarının kontrolüne ve bağımsız iki kişi tarafından onaylanmasına olanak veren bir talimatün bulunması gerekir.

### Grup uyumsuzluklarında yaklaşım

- Bir uyumsuzluk görüldüğünde ABO ve/veya Rh (D) gruplamaları tekrar edilmelidir.
- Tekrarlar aynı örnekte ve yıkanmış eritrositler kullanılarak yapılmalıdır.
- Devam eden uyumsuzluk durumunda test tekrarı yeni bir örnekle yapılmalıdır.
- Eski ile yeni kayıtlar arasında bir uyumsuzluk tespit edilirse yeni bir örnek istenmelidir.

• Reverse gruplama sonucu bilgi vermiyorsa (örn. hipogamaglobulinemi) direkt- forward gruplama tekrar edilmelidir. Bu durumda sonuç direkt-forward gruplamaya göre belirlenir.

**a) Beklenmeyen karışık-alan reaksiyonları:** Karışık alan reaksiyonları görülen gruplarda onaylama işleminden önce test tekrar edilmeli veya incelenmelidir. Bu reaksiyonlar bir ABO/Rh (D) uygunsuz transfüzyon (planlı veya planlı olmayan), ilik/ kök hücre naklini veya A3, B3 veya ikiz kimerizmi (çok nadir) işaret edebilir.

**b) A/B varyantları:** A ve B gruplarının varyantları monoklonal anti-A ve anti-B ile daha zayıf reaksiyonlar verir. (Örneğin Ax ve Bx değişik reagenlerle farklı şiddetlerde reaksiyonlar verir; hatta hiç reaksiyon vermeyebilir.) Varyantların saptan- masında anti AB, lektin A1, lektin H, A2 hücresi ve anti-A veya anti-B ile uygulanan absorpsiyon/elüsyon çalışmalarının faydası vardır. Zayıf A/B antijenlerinin saptan- ması zordur ve bu yüzden bu tip hastaların transfüzyonunda 0 grubu eritrositlerin kullanılması daha uygundur.

**c) Edinsel B:** Bazı anti-B reagenleri edinsel B antijeni ile güçlü bir reaksiyona girer. Bu durum çoğunlukla forward ve reverse gruplar arasında uyumsuzluğa neden olur. Edinsel B hücreleriyle reaksiyona girdikleri saptanan anti-B reagenleri rutin ABO gruplamasında kullanılmamalıdır.

**d) İntrauterin transfüzyonlar:** İntrauterin transfüzyon uygulanmış yenidoğanlarda, kemik iliği supresyonuna bağlı olarak, doğumdan aylar sonra transfüzyonda verilen kanın ABO ve Rh (D) grupları ile aynı gruplar görülür.

**e) Soğuk reaksiyon gösteren alloantikörlerin varlığı:** Soğuk reaktif alloantikörler (anti-A ve anti-B dışındakiler) reverse gruplama hücreleriyle beklenmedik reaksiyonlara sebep olabilir. Bu gibi durumlarda, reverse gruplama, 37°C'de tekrar çalışılmalı ya da ilgili antijeni taşımayan A1 ve B hücreleriyle test edilmelidir.

**f) Soğuk otoantikörlerin varlığı:** Örnekte güçlü otoaglutinasyon varsa, hücreler önceden ısıtılmış serum fizyolojik ile yıkanır. Gerekliğinde hasta hücreleri, serum/ plazma ve gruplama reagenleri önceden ısıtılıp 37°C'de karıştırılıp inkübe edildikten sonra testler çalışılabilir.

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	7 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



### g) Zayıf D ve parsiyel D

- Tek bir anti-D reageni kullanılarak zayıf bir reaktivite saptandığında hasta sadece buna dayanılarak Rh (D) pozitif olarak kabul edilmemelidir. İki ayrı monoklonal anti-D reageni ile belirgin D pozitif sonuç alınmadıkça hastanın Rh (D) negatif olarak kabul edilmesi daha güvenlidir.
- D gruplaması yapılan hastalarda kategori D-VI'yı saptayan reagenler kullanılmamalıdır. D-VI kategorisine dahil olan hastalar büyük olasılıkla anti-D üretir.
- Bağışçıda kategori D-VI'yı saptayan reagenler kullanılmalıdır.
- Parsiyel D oldukları saptanan hastalar Rh (D) negatif olarak kabul edilmelidir.
- Parsiyel D oldukları saptanan bağışçılar Rh (D) pozitif olarak kabul edilmelidir.
- Zayıf D veya parsiyel D olduklarından şüphelenilen hastalarda araştırma yapılırken hastaya ait olan hücrelerin D antijeninin değişik epitoplara karşı monoklonal antikolar içeren tanımlama kitleri ile test edilmeleri yararlı olur. Kitler genellikle IgG ve IgM antikolarından oluşan bir karışım içerirler ve bunlarla bilinen çoğu parsiyel D antijenleri saptanabilir. Bu kitler zayıf D'nin teyit edilmesinde de kullanılabilir.

### Antikor tarama

Antikor tarama tüm transfüzyon öncesi ve antenatal test örneklerinde uygulanmalıdır. Hastaların plazmasında klinik öneme sahip eritrosit antikolarının taranmasında kullanılacak primer yöntem indirekt antiglobulin testi (IAT) olmalıdır. Tüp (likid faz), mikropak (likid veya katı faz) veya kart/kaset (kolon aglütinasyonu) kullanılan test sistemleri uygundur.

### Antikor tanımlama

Tarama talimatı sırasında bir alloantikor saptandığında tanımlanmalı ve olası klinik önemi değerlendirilmelidir. Antikor tanımlama işleminde sistematik bir yaklaşımın uygulanması gerekir. Bazı antikor kombinasyonlarının tanımlanabilmesi için birçok reagen eritrosit paneline ihtiyaç vardır.

### Antikor tanımlamanın prensipleri

- Hastanın serumu veya plazması reagen eritrositlerden oluşan bir tanımlama paneline karşı uygun bir teknik kullanılarak test edilmelidir. İlk olarak antikorun saptandığı tarama testi kullanılmalıdır.
- Antikor, antijeni içeren reagen eritrosit örneklerinden en az iki tanesiyle reaksiyona girmeli ve içermeyen örneklerden en az iki tanesiyle reaksiyon vermemelidir. İlgili antijenin homozigot ekspresyonuna sahip olan eritrositler kullanılarak mümkün olduğu kadar anti-Jka,-Jkb,-S,-s,-Fyb'lerin varlıkları ekarte edilmelidir.
- Çoklu antikor varlığında klinik öneme sahip başka antikoların atlanmadığından emin olunmalıdır. Multiple antikoların varlığı ancak belirlenen spesifisite açısından antijenleri negatif olan hücreler kullanılarak teyit edilebilir. Hastanın fenotipinin bilinmesi tanımlama ve ekartasyon işlemlerinde hücre seçimi konusunda yardımcı olur. Ancak yakın zamanda transfüzyon almış olan bir hastada bu mümkün olmayabilir. Şu antijenler aranmalıdır: C,c,D,E,e,M,N,S,s,K,k,Fya,Fyb,Jka,Jkb.
- Enzimle (örn. papain) işlem görmüş hücre panelinin antikor tanımlamasında kullanılması önerilir, özellikle antiglobulin tekniğinde zayıf reaksiyon veren veya multiple antikoların varlığında bu daha da önem kazanır.
- Hastanın eritrositlerinin, fenotiplendirmede belirlendiği şekilde, normalde ilgili antikor spesifisitesine karşı antijenleri içermemesi beklenir. Eğer durum böyle değilse:
  - (a) Antikor bir otoantikor olabilir ( bu durumda hastanın hücreleri normal olarak DAT pozitif olur), ve/veya
  - (b) Antiglobulinli test yöntemi kullanıldıysa hastanın hücreleri globulin bileşenleriyle kaplanmış olabilir (bu durumda ise hücreler DAT pozitifdir)
  - (c) Antikor spesifisitesi yanlış tayin edilmiş olabilir
  - (d) Hastaya yakın zamanda transfüzyon uygulanmış olabilir.
- Bir bağışçadan alınan eritrositlerle hasta plazması antiglobulin çapraz karşılaştırması pozitif çıkarsa ve tanımlama panelindeki plazmada bir reaksiyon görülmezse akla şunlar gelir:
  - (a) Plazmada az görülen bir antijene karşı antikor bulunuyor

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	8 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



- (b) Bağışdan alınan eritrositler DAT pozitif  
(c) Çapraz karşılaştırma için yanlış ABO grubundan kan seçilmiştir.

### Sonuçların Rapor Edilmesi

#### Sonuçların Rapor Edilmesi

- Onaylama ve test sonuçlarının rapor edilmesi bu iş için yetkilendirilmiş bir laboratuvar personeli tarafından yapılmalıdır.
- Sonuç bir web tarayıcısına gönderiliyorsa sistemin İnternet ortamında yapılan yayınların düzenlenmesi ve bu yayınlar yoluyla işlenen suçlarla mücadele edilmesi hakkında kanunun (4/5/2007) prensiplerine uygun olması gerekir ve giriş şifreleri net olarak tanımlanmış bir erişim seviyesinde kontrol edilmelidir.
- Test sonuçları ve diğer ilgili test bilgileri mevzuata uygun olarak elektronik ve/veya yazılı ortamda arşivlenip saklanmalıdır.

#### Eritrositlerin ABO tiplendirmesi

- Tüp
- Mikroplate
- Mikrokolon yöntemi ile yapılır.

**Tüp yöntemi ile eritrositlerin ve serumun ABO grubunun belirlenmesi:** Bu yöntem için anti-A, anti-B, A1 ve B eritrositlerine ihtiyaç vardır. Anti-AB serumu ve anti-A2 eritrositlerinin kullanımı isteğe bağlı olarak teste eklenebilir. Günlük olarak A1 ve B eritrositlerinin %2-5'lik süspansiyonu SF ile hazırlanır. Kullanılacak olan tüm materyal üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmalıdır.

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 eritrositleri %2-5'lik serum fizyolojik içindeki süspansiyonundan bir damla eklenir.
4. Tüpler nazıkçe karıştırılır ve santrifüj edilir.
5. Tüpler nazıkçe çalkalanır ve aglütinasyon gözlemlenir. Aglütinasyon değerlendirilir.
6. Sonuçlar kayıt edilir ve serum testleri ile karşılaştırılır. Serum tiplendirmesi:
  1. İki temiz tüp A1 ve B olarak etiketlenir.
  2. Her tüpe 2-3 damla serum damlatılır.
  3. A1 tüpüne 1 damla A1 reagen hücresi damlatılır.
  4. B tüpüne 1 damla B hücresi damlatılır.
  5. Tüpler nazıkçe karıştırılır ve santrifüj edilir.
  6. Tüpler nazıkçe çalkalanır ve aglütinasyon gözlemlenir.
  7. Sonuçlar kayıt edilir ve eritrosit testleri ile karşılaştırılır.

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

**Mikroplak yöntemi ile eritrositlerin ve serumun ABO grubunun belirlenmesi:** Üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve değerlendirilir. Test tüplerinde uygulanan hemaglütinasyon yönteminin prensipleri aynen geçerlidir.

**Mikrokolon yöntemi ile eritrositlerin ve serumun ABO grubunun belirlenmesi:** Üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve değerlendirilir.

#### Eritrositlerin Rh (D) tiplendirmesi

- Tüp
- Mikroplate

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	9 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



- Mikrokolon yöntemi ile yapılır.

**Tüp yöntemi ile eritrositlerin Rh grubunun belirlenmesi:** Bu yöntem için anti-D serumuna ihtiyaç vardır. Üretici firma talimatlarında kontrol kullanılması gerekiyor ise test talimatüne eklenir. Kullanılacak olan tüm materyal üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmalıdır.

### 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 reagenti damlatılır.
3. Her iki tüpe test edilecek olan eritrositlerin %2-5'lik serum fizyolojik içindeki süspansiyonundan bir damla eklenir.
4. Tüpler nazıkçe karıştırılır ve santrifüj edilir.
5. Tüpler nazıkçe çalkalanır ve aglütinasyon gözlemlenir. Aglütinasyon değerlendirilir.
6. Sonuçlar kayıt edilir. Eğer test sonucu negatif ise zayıf D testi çalışılır.

**Mikroplak yöntemi ile eritrositlerin Rh (D) grubunun belirlenmesi:** Üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve değerlendirilir. Test tüplerinde uygulanan hemaglütinasyon yönteminin prensipleri aynen geçerlidir.

**Mikrokolon yöntemi ile eritrositlerin Rh (D) grubunun belirlenmesi için yapılacak testler:** Üretici firmanın talimatları doğrultusunda çalışılır ve değerlendirilir.

### Zayıf D testi

Bu test indirek antiglobülin fazında test eritrositlerinin anti-D ile inkübasyonu prensibine dayanır.

1. Temiz ve etiketlenmiş bir cam tüpe 1 damla anti-D damlatılır.
2. Temiz ve etiketlenmiş bir cam tüpe gerekiyor ise 1 damla kontrol reagenti damlatılır.
3. Her iki tüpe test edilecek olan eritrositlerin %2-5'lik serum fizyolojik içindeki süspansiyonundan bir damla eklenir.
4. Tüpler nazıkçe karıştırılır ve 15-30 dakika 37°C'de inkübe edilir.
5. Tüpler santrifüj edilir.
6. Tüpler nazıkçe çalkalanır ve aglütinasyon gözlemlenir. Aglütinasyon değerlendirilir.
7. Eğer test tüpünde aglütinasyon mevcut ancak kontrol tüpünde aglütinasyon yok ise test sonucu
8. D pozitif olarak kayıt edilir. Bu durumda antiglobülin fazında işleme devam etmeye gerek yoktur.

Test hücreleri aglütine olmamış ise hücreler serum fizyolojik ile 3-4 defa yıkanır.

9. Test tüpüne üretici firmanın önerisi doğrultusunda antiglobülin eklenir.
10. Tüpler nazıkçe karıştırılır ve santrifüj edilir.
11. Tüpler nazıkçe çalkalanır ve aglütinasyon gözlemlenir. Aglütinasyon değerlendirilir.
12. Eğer test tüpünde aglütinasyon mevcut ancak kontrol tüpünde aglütinasyon yok ise test sonucu D pozitif olarak kayıt edilir.

### ANTİKOR TARAMA TESTİ:

- Tüp
- Mikroplate
- Mikrokolon yöntemi ile yapılır.

### Tüp yöntemi ile antikor tarama

1. Uygun bir şekilde etiketlenmiş tüplere 2 damla serum veya plazma ekleyin.
2. Bu tüplere 1'er damla %2-%5'lik NaCl solüsyonunda süspansiyon edilmiş 0 grubu reagen hücreleri ekleyip karıştırın.
3. Santrifüj edip hemoliz ve aglütinasyon olup olmadığı gözlemleyin. Derecelendirin ve sonuçları kaydedin.
4. 37°C'ta 30-60 dakika süreyle inkübe edin. Santrifüj edip hemoliz ve aglütinasyon olup olmadığı

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	10 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



gözlemleyin.

5. Derecelendirin ve sonuçları kaydedin.
6. Hücreleri NaCl solüsyonuyla üç dört kez yıkayın ve son yıkama solüsyonunu dökün.
7. Üretici firmanın talimatlarına uygun olarak kuru olan hücrelerin üzerine AHG ekleyin ve iyice karıştırın.
8. Santrifüj edip hemoliz ve aglütinasyon olup olmadığı gözlemleyin. Derecelendirin ve sonuçları kaydedin.
9. IgG ile kaplanmış eritrositleri ekleyerek negatif çıkan testlerin validitesini teyit edin.

### DİREKT ANTİGLOBULİN TESTİ, METOD:

1. Tüpe %2-%5'lik eritrosit süspansiyonu konur.
2. Eritrositler SF ile üç-dört kez yıkanır ve son yıkama solüsyonu dökülür.
3. Hemen ardından antiserum eklenip karıştırılır. Kullanılacak antiserum miktarı için üretici firmanın talimatlarına bakılır.
4. Üreticinin talimatları doğrultusunda santrifüj edilir.
5. Aglutinasyon açısından hücreler kontrol edilir. Reaksiyon derecelendirip kaydedilir.
6. Polispesifik AHG veya anti-C3d kullanıyorsa, nonreaktif testler oda sıcaklığında 5 dakika süreyle inkübe edilir, sonra santrifüj edilip tekrar okunur.
7. IgG ile kaplanmış eritrositleri anti-IgG içeren testlere ekleyerek negatif çıkanların doğruluğu teyit edilir.
8. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda santrifüj edilir.
9. Hücreler aglütinasyon açısından kontrol edilip reaksiyonu kaydedilir.

### Değerlendirme

1. Hemen veya oda sıcaklığındaki inkübasyondan sonra santrifüj edilen örnekte aglutinasyon varsa DAT pozitifdir.
2. Hemen veya oda sıcaklığındaki inkübasyondan sonra santrifüj edilen örnekte aglutinasyon yoksa ve 7. basamakta IgG kaplı hücreler aglutine olduğunda DAT negatif kabul edilir. Eğer IgG ile kaplı olan hücreler aglutine olmazsa, negatif çıkan DAT sonucu geçersiz kabul edilir.
3. DAT çalışılırken kullanılan tüm antiserumlarla ve kontrolde sonuçlar reaktifse herhangi bir değerlendirme yapılamaz. Bu durum spontan aglutinasyonu işaret eder ve ileri testler uygulanmadan önce bu durumun çözümlenmesi gerekir.

### 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 laboratuvarına 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.

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	11 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

## TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI TALİMATI



### B. MİKROBİYOLOJİK TARAMA TESTLERİ:

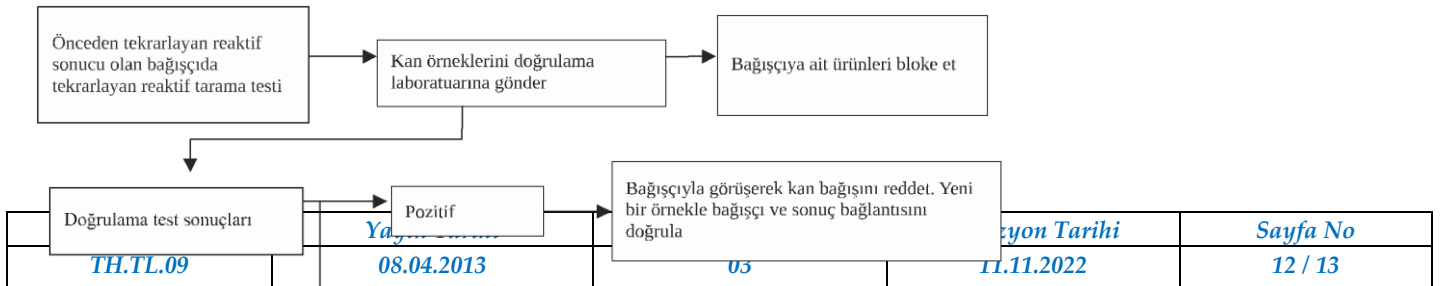
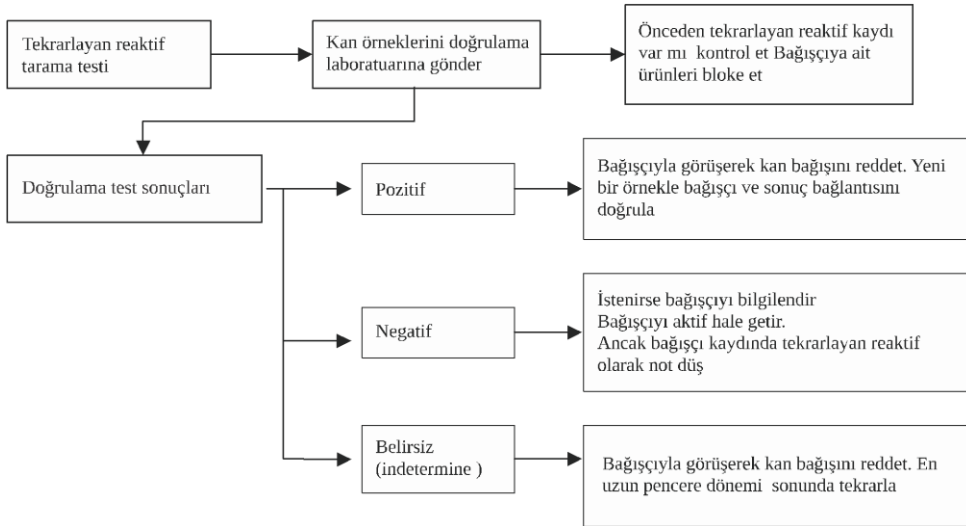
#### **Zorunlu testlerde genel yaklaşım**

Sağlık Bakanlığı tarafından onaylanmış test kitleri kullanılmalıdır. Mikrobiyolojik tarama testleri, reagen ve kit üreten firma talimatlarına uygun olarak çalışmalıdır.

Tarama testleri 9.Ocak.2007 tarih, 26398 sayılı resmi gazetede yayımlanmış olan Invitro (vücut dışında kullanılan) tıbbi tanı cihazları yönetmeliği'ne uygun olarak üretilmiş olmalıdır (Bkz KISIM A). Üretici, bu Yönetmeliğe uygun şekilde, yetkili makam tarafından verilmiş eksiksiz bir Kalite Sistem sertifikasına ve bu kapsamda yer alan her reagen için tüm kontrol sonuçlarını içeren bir belgeye sahip olmalıdır.

Bağış kanlarının taranmasında kullanılan testler, ilgili antijen ve/veya antikorun gösterilmesi esasına dayanır. Testler, her çalışma için negatif ve pozitif kontrolleri içeren kitler halinde temin edilir. Bu testlerin asgari ve mutlak çalışma koşulu, üretici firma talimatlarına uygun olarak kontrollerin doğru sonuç vermesidir. Bunun yanı sıra bu testlerin, zayıf pozitif bir dış kontrolü de içermeleri önerilmektedir.

İlk çalışmada reaktif olarak belirlenen bağışlara ait örnekler, üretici firma talimatında aksi belirtilmedikçe aynı testle yeniden iki kez çalışmalıdır. Tekrar edilen testlerin herhangi biri reaktif bulunursa bu kan, **“tekrarlayan reaktif”** olarak kabul edilmeli; bağışlanan kan, transfüzyonda kullanılmamalı ve örnekler HCV ve HIV için doğrulama laboratuvarına gönderilmelidir. HBV için tekrarlayan reaktiflik durumunda bağışçı bilgilendirilir. HCV ve HIV için “tekrarlayan reaktif” örneklerin pozitifliği doğrulandığı takdirde, bağışçı ile görüşülmeli ve bağışçı-sonuç bağlantısını doğrulamak amacıyla yeni bir serum örneği alınmalıdır. İdeal doğrulama testleri, tarama testleri kadar duyarlı ve tarama testlerinden çok daha özgün olmalıdır. Yine de bazı tarama testleri, doğrulama testlerinden daha duyarlıdır. Uyumsuz veya doğrulanmamış sonuçlara bağlı sorunlarda kalıcı bir çözüm için aşağıdaki algoritma uygulanmalıdır.



Yayın Tarihi	Sayfa No
11.11.2022	12 / 13



# Özel Ekol Hastanesi

TRANSFÜZYON MERKEZİ KAN VE KAN BİLEŞENLERİNİN  
HAZIRLANMASI, TEST EDİLMESİ, DAĞITILMASI VE İMHASI  
TALİMATI



Hazırlayan	Kontrol Eden	Onaylayan
 Kalite & Akreditasyon Sorumlusu Kardelen ASMA	 Kalite Koordinatörü Yeşim İNCİ	 Kalite Yönetim Direktörü Prof. Dr. Tuncay ÇAĞLAR

Doküman No	Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
TH.TL.09	08.04.2013	03	11.11.2022	13 / 13