# **VETERİNER LABORATUVAR TEKNİKLERİ VE PRENSİPLERİ**



# **Amaçlarımız**

Bu üniteyi tamamladıktan sonra;

- Laboratuvarlarda kullanılan başlıca örnekleri açıklayabilecek,
- Rutin (Günlük) laboratuvarlarda kullanılan başlıca tüpleri tanıyabilecek,
- Orneklerin saklama koşullarını açıklayabilecek,
- ② 24 saatlik idrar örneklerinin toplanmasını tartışabilecek,
- Wan ve idrar dışında kullanılan başlıca örneklerin neler olduğunu açıklayabileceksiniz.

# **Anahtar Kavramlar**

- Kan örnekleri
- Kan alma tüpleri
- Antikoagülanlar
- Koruyucu maddeler
- İdrar örnekleri
- Gaita
- BOS
- Vücut sıvıları

# İçindekiler

Veteriner Laboratuvar Teknikleri ve Prensipleri Biyolojik Örnekleri Alma ve Saklama Koşulları

- KAN ÖRNEKLERİ
- KAN ALMA TÜPLERİ
- İDRAR ÖRNEKLERİ
- GAİTA
- BEYİN OMURİLİK SIVISI
- VÜCUT SIVILARI

# Biyolojik Örnekleri Alma ve Saklama Koşulları

Laboratuvar analizleri yalnızca analitik süreçten oluşmaz, preanalitik ve postanalitik süreçleri de içerir. Günümüzde teknolojik gelişmeler analitik süreçteki hataları en aza indirgemiş, bu durum preanalitik evredeki hataların ön plana çıkmasına neden olmuştur. Bu nedenle biyolojik örneklerin alınması ve saklama koşulları preanalitik sürecin önemli bir kısmını oluşturmaktadır.

Laboratuvarlarda kullanılan örnekler bakımından çeşitlilik söz konusudur. Kan, idrar, süt, mide özsuyu, rumen sıvısı ve gaita örnekleri, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve vücut sıvıları (sinovial sıvı, periton ve plevral sıvılar) analizlerin uygulandığı başlıca materyallerdir.

# KAN ÖRNEKLERİ

Laboratuvarda kullanılan biyolojik örneklerin başında kan yer alır. Kanın dolaşımdan alındığı yere göre, vena (toplardamar) (çoğunlukla kol venaları kanı), kapiller (parmak ucu yada kulak memesinden alınan kan) ve arter (atardamar) kanlarından bahsedilir. Venöz kan, genel olarak tercih edilen kandır. Arteriel kan, kan gazları analizleri için kullanılır. Çocuklarda kapiller kan alınması daha uygundur. Kapiller kan örnekleri alınırken bebeklerde topuk tercih edilir.

Kan gazları ve analizi:

Arteriel kan gazları analizi hastanın asit-baz durumunu değerlendirmemizi ve solunum fizyolojisi hakkında önemli fikir sahibi olmamızı sağlayan değerli bir laboratuvar yöntemidir. Kan gazı analizinde parsiyel arteriel oksijen basıncı (PaO<sub>2</sub>), parsiyel karbondioksit basıncı (PaCO<sub>2</sub>) ve pH elektrotlar aracılığı ile ölçülür, HCO<sub>3</sub> ise "Henderson-Hasselbach" denkleminden hesaplanır.

Kan analizleri için kan nerelerden alınır. Bu farklı kan örnekleri ne amaçla kullanılır?



## İnsanlarda Kan Örneklerinin Alınması

## Venöz Kan Örneklerinin Alınması

Venöz kan, enjektör iğnesiyle alınıp tüplere aktarılabileceği gibi iğne ucu ile vakumlu tüplere de alınabilir. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) H3-A5'de önerilen venöz kan alımı tekniği özetle şu şekildedir:

- Kan almaya başlamadan önce hastanın barkodu ile istemleri karşılaştırılır.
  Hastanın adı-soyadı sorularak kimliği doğrulanır.
- Eğer test için açlık gerekiyorsa hastanın aç olup olmadığı sorgulanır.
- Hastanın rahat bir şekilde oturması sağlanır. Kan alımı için gerekli tüp ve ekipman hazırlanır.



Turnike: Kan akışını yavaşlatmak ve alınmasını kolaylaştırmak için uygulanan bant veya sargıya turnike denir. Venöz kan akımını yavaşlatmak için direnç oluşturulunca damar belirgin hale gelir ve kan alınması kolaylaşır.

- Uygun ven seçilir. Yetişkinlerde antekubital fossada kalın ve derinin yüzeyine yakın ven tercih edilir. Kan alınacak bölgenin çevresi temizlenir. Derinin kendi halinde kurumasını beklenir. Kan alma bölgesinin 10-15 cm üzerinden turnike uygulanır.
- Kan alma tüpü tutucusuna iğnesi vidalanır. Vene girmek için iğne ucu, kan alınacak venle hizalanarak ve deriye yaklaşık 15 derecelik açı yapacak şekilde ven içerisine itilir. İğne yerine yerleştikten sonra tüp, tıpayı delmek ve vakumu boşaltmak amacıyla ileri (adaptöre doğru) bastırılır. Kan tüpün içine akmaya başladığında iğneyi hareket ettirmeden turnike gevşetilir. Vakum bitinceye kadar tüp doldurulur. Sonra tüp adaptörden çekilerek, istenilen diğer testler için uygun tüpler sıra ile tüp tutucusuna yerleştirilir.

DİKKAT



Kan alma tüpleri ve iğneleri hakkındaki bilgi ünitenin ilerleyen bölümünde verilmiştir.

- Kan alma işlemi tamamlandığında, iğne geri çekilir ve sızıntı olmaması için hastaya kuru gazlı bez veya pamuk verilerek kan alınan bölgeye bastırması istenir. Hastanın kolunu yukarıya doğru tutmasını söylenir.
- Tüpler katkı maddesi veya antikoagulan içeriyorsa, kan alma işlemi sonrasında yavaşça 5-10 kez ters çevirerek karıştır. Kesinlikle çalkalanmaz.
- Hasta kontrol edilir. Kullanılan ve kirlenen malzemeler uygun atık kaplarına atılır.
- Örnek alma zamanı kaydedilir.
- Tüplerin uygun laboratuvarlara iletilmesini sağlanır.

Venöz kan alımı sırasında hastanın kolunu omuzdan bileğe kadar düz uzatması sağlanmalıdır. Büyük yaralı veya hematomlu koldan, mastektomili kadınlarda memenin alındığı taraftaki koldan kan alınmamalıdır. Hastadan ne kadar hacimde kan alınacağı belirlenmeli, istenen testler için uygun sayıda ve türde tüp ve uygun iğne (kanül) seçilmelidir. En sık kullanılan iğneler 19-22 numaradır (G). İğne numarası büyüdükçe çap küçülür. Normal erişkinde genellikle 20 numara iğne tercih edilir. Uygun ven seçiminde elle yoklama ven seçimini kolaylaştırır. İnfüzyon yapılıyorsa infüzyon 3 dakikalığına durdurulmalı ve sonra tercihen diğer koldan kan alınmalıdır. Turnikenin uzun süre tutulması kanın bileşimini belirgin değiştirir. Vene girilmeden önce yumruk açılıp kapatılmamalıdır. Bu hareket, plazma potasyum, fosfat ve laktat konsantrasyonlarını arttırır. Önce katkı maddesiz tüplere sonra katkı maddeli tüplere kan alınmalıdır.

SIRA SİZDE



Venöz kan alımı sırasında dikkat edilmesi gereken noktalar nelerdir? Açıklayınız.

DİKKAT



Kan örnekleri alınırken önce katkı maddesi olmayan tüplere, sonra katkı maddeli tüplere kan alınır.

Her ne kadar artık kan alımı hemen her yerde vakumlu tüplerle gerçekleştiriliyorsa da bazen enjektörle de kan alımı yapılabilmektedir. Bu durumda enjektöre alınmış kanın, hemoliz olmaması için, iğne enjektörden uzaklaştırıldıktan sonra, hazırlanmış tüplere yavaşça ve tüp kenarından kaydırarak dikkatli bir şekilde aktarılmalıdır. Aktarımdan sonra tüplerin ağzı kapatılmalıdır.

# Arteriyal Kan Örneklerinin Alınması

Arteriyel kan alınması el bileğindeki radial arterden, dirsekteki brakial arterden, kasıktaki femoral arterden, yeni doğanlarda umbilikal arterden (kateter ile) alınmaktadır. Uygun arter seçimi yapıldıktan sonra arter palpe edilir ve bölge %70'lik izopropil alkol ile temizlenir. Bölge kuruduktan sonra arteryal kan alımı gerçekleştirilir.

# İnsanlarda arteryel kan hangi arterlerden alınır?

SIRA SİZDE

Arteryal kan, enjektör iğnesiyle heparinli tüplere alınır. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) H11-A4'de önerilen arteryal kan alımı tekniği özetle şu şekildedir:

- Kan gazı enjektörü hazırlanır. İğne ile (brakial arter için 18-20 G) 45-60 derecelik açıyla (femoral arter için 90 derece) deriden yavaşça ve dikkatlice girilir. 23-25 G iğne kullanılacaksa radial arterden girmek için bileğin dorsifleksiyonu gereklidir. Eğer artere girilmişse enjektörde pulsasyon hissedilir. Enjektör pistonu çekildikten sonra hava geliyorsa enjektör geri çekilir.
- Arteryal kan alımı gerçekleştikten sonra enjektördeki heparin ve kanın karışması için enjektör alt üst edilir. Lökositlerin oksijen tüketimini en aza indirmek için buz üzerine yerleştirilir.
- Kan alma işlemi tamamlandığında en az 2 dakika boyunca, tercihen 5 dakika kuru gazlı bez ile kan alınan bölgeye basınç uygulanır ve sıkıca bandajlanır. Farklı kalınlıkta iğne uçlarının kan gazı üzerine olan etkisi incelendiğinde 19 numara 25 numaralı iğneyle Pco<sub>2</sub> ve Po<sub>2</sub> ölçümlerindeki farklılık 1 mmHg'yı geçmediği görülmüştür. Antikoagülan miktarı mL kan başına 0,05 mL sıvı heparin şeklinde olmalıdır (1000 IU/mL). Daha fazla miktarda heparin kan gazı ölçümlerinde en sık görülen preanalitik hatadır.

### Kapiller Kan Örneklerinin Alınması

Kapiller kan çocuklarda özellikle yeni doğanlarda tercih edilir. Tekrarlayan venoponksiyonlarla büyük miktarda kan alınması başta prematüreler olmak üzere çocuklarda iatrojenik anemiye neden olur. Pediatrik hasta grubunda derin venlerden venoponksiyon kardiyak arrest, hemoraji, venokonstriksiyon sonucu ekstremitenin gangreni ve enfeksiyon gibi komplikasyonlara yol açabilir. Yenidoğan hasta grubunda venler parenteral tedaviye ayrılmalıdır. Kapiller kan erişkin hasta grubunda aşırı şişmanlarda, ciddi yanıklarda ve trombotik yatkınlığı olan kişilerde uygundur. Ayrıca kapiller kan geriatrik hasta grubu içinde derinin ince ve daha az elastik olması nedeniyle venoponksiyon sonrası oluşabilecek hematomların engellenmesi için uygun olabilir.

#### İnsanlarda kapiller kan hangi hasta gruplarında tercih edilir? Açıklayınız.

SIRA SİZDE

Kapiller kan elin 3., 4. veya 5. parmak ucundan, kulak memesinin alt kenarından ve bebeklerde topuktan veya ayak baş parmağından elde edilebilir. Clinical Laboratory Standards Institude (CLSI) H4-A5'de önerilen kapiller kan alımı tekniği özetle şu şekildedir:

 Kapiller kan için uygun bölge seçilir. Yenidoğan için bu bölge çoğunlukla topuğun madial veya lateral plantar yüzüdür. Kapiller kan için uygun diğer bölgeler el parmak ucu, ayak parmağı plantar yüzeyi ve kulak memesinin alt kenarıdır. Ponksiyon yeri ödemli olmamalıdır.

- Ponksiyon sahasının, sıcaklığı 42 °C'yi aşmayan ılık, nemli bir havluyla ısınması sağlanır. Böylece arteriyel ve kapiller kan akımı artar ve zengin arteryal kan eldesi sağlanır.
- Kan alınacak bölge % 70 izopropil alkol ile temizlenir ve kuruması için beklenir. Temizlenmiş bölgeye steril olmayan malzeme dokundurulmaz.
- Steril lanset çabuk bir şekilde saplanır. Kesinin derinliği 2,5 mm'yi geçmemelidir. Kanın ilk damlasını silinir. Parmakla yavaş bir şekilde bastırılarak kan akışı sağlanır. Kan akışını uyarmak için masaj yapılmaz. Bu durum hemoliz ve doku sıvısı artışına neden olur.
- Parmak, kan alınmasını kolaylaştıracak ve yer çekiminden yararlanılacak şekilde tutulmalıdır. Kanın ilk damlası silindikten sonra, kan damlaları uygun tüplere alınır. Pıhtılaşmayı önlemek için tüp hızlı doldurulmalı, tüpün içerisine hava kabarcıklarının girmesi önlenmelidir.
- Ponksiyon bölgesine kuru gazlı bezle basınç uygulayın.

Yeni doğan taramaları için kan alma işlemi filtre kağıdına emdirilmektedir. Filtre kağıdı, büyük bir kan damlasına yavaşca bastırılır. Kan işaretli dairenin içerisini dolduruncaya kadar kağıda nüfuz etmesi sağlanır. Emilimin tam olup daireyi doldurduğundan emin olduktan sonra bütün daireler doluncaya kadar işlem tekrarlanır. Filtre kağıdı havada kurutulur. Pıhtılaşma olabileceğinden, kapiller tüplerde toplanmış kan filtre kağıdına aktarılmaz.

# Hayvanlarda Kan Örneklerinin Alınması

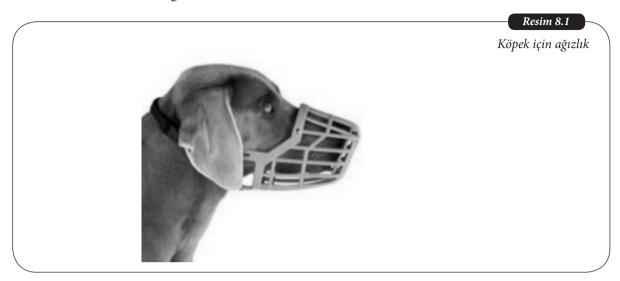
Veteriner hekimlikte sadece hayvan hastalıklarının teşhis ve tedavi aşamalarının takibinde değil, sağlıklı bir sürü idaresi amacıyla da periyodik olarak kan örnekleri alınır ve analizler gerçekleştirilir. Çiftlik hayvanlarında kan örnekleri genel olarak Vena jugularis'ten alınmaktadır. Sığırlarda Vena subcutanea abdominalis, koyun ve keçilerde Vena cephalica antebrachi ve Vena femoralis, domuzlarda Vena cava cranialis, Vena femoralis ve Vena earicularis venöz kan alınması için uygun venalardır. Kedi ve köpeklerde de Vena Jugularis, Vena cephalica antebrachi ve Vena saphena parva'dan kan alınabilir. Kanatlılarda kanat altı venasından venöz kan alınırken, fare, rat ve kobaylarda kuyruk venaları, tavşanlarda da kulak venaları sık olarak kullanılır. Laboratuvar hayvanlarında venöz kan alınamadığı durumlarda direkt olarak kalpten kan alma yoluna gidilebilir. Ancak bu işlem için çok iyi deneyim gereklidir.

SIRA SİZDE

Çiftlik hayvanlarda hangi kan örneği tercih edilmektedir? Açıklayınız.

Hayvanlardan kan örnekleri alınırken dikkat edilmesi gereken en önemli husus çiftlik yada ev hayvanlarının uygun şekilde tutulmasıdır. Zapt-ı rapt olarak da bilinen bu işlem kan alanı ısırılma, boynuz vurma ve tepme gibi olaylardan korur. Atların tutulmasında "yavaşa" denilen alet kullanılır. Yavaşa hayvanın kulağına veya üst dudağına takılarak sıkılır ve sıkıldıktan sonra usulüne uygun olarak tutulur. Sığırların eğer boynuzları varsa boynuzlarından tutulabilir. Ayrıca elin baş ve işaret parmaklarıyla septum nasi'den yakalanır ve sıkılır. Aynı amaç için parmak yerine muşet isimli alet de kullanılabilir. Sığırlar arka ayaklarıyla hem arkaya hem de öne doğru tekme savururlar. Özellikle sakinleştirilemeyen hayvanlarda muayene ve kan alma sırasında travayların kullanılması önerilir. Koyun ve keçilerden kan örneklerinin alınması nisbeten daha kolaydır. Kedi ve köpekler muayene masası üzerinde oturur veya yatar pozisyonda tutularak kan örnekleri alınabilir.

Köpeklerin ısırmaması için ağızları bir ağızlık (Şekil 8.1) ile kapatılır. Hayvanların sahipleri veya tanıdığı kişiler tarafından tutulmaları çok önemlidir ve hayvanların sakin olarak kalmalarını sağlar.



Kan alınacak olan hayvana güven vermesi için hayvanın göreceği açıdan yaklaşılmalı, kan alma işlemi öncesi sevilmeli ve sakinleşmesi için biraz beklenmelidir. Kan alınmadan önce bölgenin izopropil alkol veya etil alkol ile temizlenmesi gerekir. Venaların dolgunluğunun sağlanması açısından, venanın kalp tarafında bir basınç uygulanarak kan akımı bir süre bloke edilir. Kedi-köpek gibi hayvanlarda basınç uygulama işleminin en ideal şekli turnike kullanmaktır. Büyük baş hayvanlarda el ile basınç uygulaması yeterlidir. Hayvanlarda kan alma işleminde kullanılacak iğneler türlere göre değişiklik gösterir (Tablo 8.1).

Hayvan Türü	İğne Numarası (G)	İğne Çapı (inch)
At	16-19	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> - 2
Sığır	16-19	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> - 2
Koyun-Keçi	18-20	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> - 2
Domuz	20	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> - 4
Köpek	20-22	11/2
Kedi	22-25	1
Kanatlı	22-26	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> - 1
Tavşan	22-26	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> - 1
Kobay	22-26	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> - 1
Rat	23-27	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> - 1
Fare	23-27	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> - 1

Tablo 8.1 Hayvan türlerine göre kan alma iğnelerinin özellikleri.

# Laboratuvar Hayvanlarında Kan Örneklerinin Alınması

Türkiye'de, hayvanların deneylerde kullanımı ve bakımı ile bunlara ilişkin yöntemlerde asgari etik standartları sağlamak amacıyla, 1990'ların ikinci yarısından itibaren "Deney Hayvanı Etik Kurulları" oluşturulmaya başlanmıştır. 24 Haziran 2004

tarihinde 5199 sayılı **Hayvanları Koruma Kanunu'**u kabul edilerek yürürlüğe girmiştir. Kanuna göre "hayvanların rahat yaşamalarını ve hayvanlara en iyi ve uygun muamele edilmesini temin etmek, hayvanların acı, ıstırap ve eziyet çekmelerine karşı en iyi şekilde korunmalarını her türlü mağduriyetlerinin önlenmesini sağlamak" esastır. Hayvanları Koruma Kanunu'nun 9 uncu ve 17 nci maddelerine dayanılarak da **Hayvan Deneyleri Etik Kurularının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik** oluşturulmuştur. 6 Temmuz 2006 tarih ve 26220 sayılı Resmi Gazetede yayımlanarak uygulamaya başlanan yönetmeliğe göre " hayvan deneyi yapan kurum ve kuruluşlarda bu deneyin yapılmasına kendi bünyelerinde kurulmuş ve kurulacak etik kurullar yoluyla izin verilir" denilmektedir. Bu nedenle deneysel ve diğer bilimsel amaçlar için etik kurulların onayı alınmalı, kullanılan deney hayvanlarına etik kurallar çerçevesinde davranılmalıdır. Kısaca hayvanların haklarının olduğu bilinmeli, hayvanların korunmasına özen gösterilmelidir.

Laboratuvar hayvanlarında kan alınmasında etik kurul onayı alınmış olmalıdır. Laboratuvar hayvanlarında alınacak kanın miktarı ile kan alma yerinin ve yönteminin seçimi, amaca, kan alma süresine, sıklığına ve deneyin devam edip etmeyeceğine bağlı olarak değişiklik gösterir. Ancak hiçbir zaman dolaşımda bulunan kan miktarının %10'undan fazlası alınmaz. Buna göre kobaylarda 5 ml, ratlarda 2,5-5 ml ve farelerde ise 0,2-0,4 ml kadar kan alınabilir. Laboratuvar hayvanlarında da kan alınacak bölgesindeki kıllar kesilir, tıraşlanır veya tüyler yolunur. Alkolle temizlendikten sonra kurumaya bırakılır. Bazı yöntemlerde sedasyon ve anestezi gerekli olabilir.

INTERNET



Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu web sayfasına http://had-yek.ankara.edu.tr adresinden ulaşabilirsiniz.

#### Kuyruktan Kan Alma

Aralıklı kan almak için en uygun yöntemdir. Daha çok fare ve ratlarda kullanılır. Kuyrukta 2 lateral ve 1 dorsal olmak üzere üç tane ven, 1 tane de ventral arter vardır. Ponksiyon yeri kuyruğun vücuda yakın kısımlarındaki derinin pullu olmasından dolayı uç kısımlar olmalıdır. Hayvan anesteziye alınabileceği gibi anesteziye alınmadan da iyi bir tespit işlemi yapıldıktan sonra bu yöntemle 25-27 G kanül kullanılarak ortalama 0.2-0.3 ml kan alınabilir.

INTERNET



Laboratuvar hayvanlarından kan alma konusundaki detaylı bilgilere http://www.nc3rs.org.uk/bloodsamplingmicrosite/page.asp?id=313 web adresinden ulaşabilirsiniz.

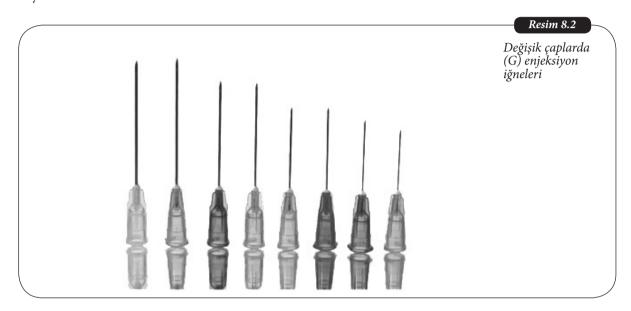
## Kulaktan Kan Alma

İri kobaylar ve tavşanlar için uygun olan bu yöntemle kobaylardan 0.1 ml ve tavşanlardan ise en fazla 10 ml/kg kan alınabilir. Bölgenin hazırlığı yapıldıktan sonra kulağın dış kısmında periferde bulunan marjinal vene, 21-33 G kanül ile girilir. Daha sonra kan yavaş bir şekilde enjektör içine çekilir. Çoğunlukla anestezi gerektirir. Tavşanda fazla miktarda kan örneği gerektiğinde genellikle kulağın ortasında seyreden arterden de kan alınabilir. Fakat damarda hasar şekillenirse kulağın dolaşımı ciddi şekilde etkilenir. Bu işlem için 20 G kanül yada 22 G branül kullanılabilir. Arteriyal yoldan kan toplanırken iğne ucundan direk tüp içine kanın akması yöntemi tercih edilir.

Gauge (G): Enjeksiyon ve kan alma iğnelerinin (kanüllerin) çapları için kullanılan ölçü birimidir. İğnenin çapını ifade eder. Genel olarak 10'dan 30'a kadar numaralar ile gösterilir. Rakamlar büyüdükçe çap küçülür. 10 G iğnenin çapı 3.4 mm iken 30 G iğnede bu 0.30 mm'dir. İğnelerin üretiminde G rakamlarını gösteren değişik renkler kullanılmaktadır.

## Kalpten Kan Alma

Fare, rat, kobay ve tavşanlarda kullanılan bu teknik genellikle çalışmanın sonlandırılması esnasında ve fazla miktarda kan alınması gerektiği durumlarda tercih edilir. Atriumdan kan alınması, perikarda kan sızması ve buna bağlı kalp durması ve ölüm riskinden dolayı sakıncalıdır. Kobaylarda 21-23 G ve tavşanlarda ise 19-21G kanüllerin kullanılması uygundur. Rat ve farelerde trombosit sayısı yüksek olduğu için ince çaplı kanüllerle kan alınırken pıhtılaşma olabilir. Bu nedenle 21 veya 23 G kanül tercih edilmeli ve hızlı davranılmalıdır.



# Laboratuvarda Kullanılan Kan Tipleri

Laboratuvarlarda kullanılan kan tipleri yapılacak analize göre farklılık gösterebilmektedir. Günümüzde en sık kullanılan kan örneği serum olup bunu tam kan ve plazma izlemektedir. Tam kan ve plazma eldesi için kan örnekleri pıhtılaşmayı engelleyen antikoagülanlı tüplere alınmaktadır. Serum elde edilmesi için ise katkısız veya jelli tüplere alım gerçekleştirilmektedir.

#### Tam Kan (Total Kan)

Serum veya plazması ayrılmamış kandır. Kan sayımı (hemogram) ve eritrosit sedimantasyon hızı (ESR) tayini, kan hücrelerinin (eritrosit, lökosit, trombosit) eldesi için gereklidir. Antikoagulanlı tüpe alınır

## Serum

Pıhtılaşmış kandan şekilli elemanlar (eritrosit, lökosit, trombosit) ayrıldıktan sonra geri kalan sıvı kısımdır. Birçok analiz için tercih edilir. Antikoagulansız tüpe alınan kandan elde edilir.

#### **Plazma**

Pıhtılaşması antikoagulanlarla önlenmiş kandan şekilli elemanlar (eritrosit, lökosit, trombosit) ayrıldıktan sonra geri kalan sıvı kısımdır. Bazı özel analizler için gereklidir.

Laboratuvarlarda kullanılan kan tipleri yapılacak analize göre farklılık gösterebilmektedir. En sık kullanılan kan örneği serum olup bunu tam kan ve plazma izlemektedir.



# Kan Alma Tüpleri

Sağladığı birçok avantaj ve kullanım kolaylığı nedeniyle sağlık kuruluşlarının çoğunda venöz kan örneği toplanmasında katkılı-katkısız vakumlu tüpler kullanılmaktadır. Ancak kan örneklerinin enjektörle alındığı durumlarda, serum veya plazmanın ayrılması ve saklanması için değişik hacimlerde ve farklı materyalden yapılmış kan tüpleri de kullanılabilir. Eppendorf yada son yıllarda daha yaygın kullanıldığı üzere mikrosantrifüj tüpleri özellikle örneklerin derin dondurucuda saklanmasına da hizmet eder. Tüplerin hacimleri genel olarak 0.5-2.0 ml arasındadır.

### Resim 8.3

Mikrosantrifüj tüpleri



## Vakumlu Kan Alma Tüpleri

Günümüzde venöz kan alımı vakumlu tüpler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Vakumlu tüplerde içeriklerine (antikoagülan, jelli, pıhtı aktivatörü, katkısız) göre farklı renkte kapak rengi bulunmaktadır. Tüplerin kapak rengi farklı olabildiği gibi boyutları da (2, 5, 7, 10 mL) birbirinden farklı olabilmektedir. Venöz kan alımı sırasında interferansı engellemek için National Committee For Clinical Laboratory Standards (NCCLS) serum tüplerinde kan alınmasının koagülasyon ölçümlerini etkilememesi için, mavi kapaklı sitratlı kan örneklerinin alındıktan sonra alınmasını önermektedir. Diğer katkılı tüplerin ise serum tüplerinden sonra alınması önerilir. Önerilen sıra şu şekildedir:

- Kan kültür tüpleri
- Sodyum sitratlı tüp (Mavi kapak)
- Serum tüpleri (jelli/jelsiz, pıhtı aktivatörlü/aktivatörsüz)
- Heparinli tüpler (Yeşil kapak)
- EDTA'lı tüpler (mor kapak)
- Glikolitik inhibitörlü tüpler (gri kapak)

## Resim 8.4

Değişik vakumlu tüpler



İstenilen testlere göre uygun olarak seçilen vakumlu kan tüpleri, tüp tutucusu (holder) ile birlikte kullanılır. Kan alma işleminde kullanılacak iğne ucu, holder olarak adlandırılan tüp tutucusuna adapte edilir.



Resim 8.5

Vakumlu tüp taşıyıcı ve iğneleri

İnsanlarda kan alımı için 20 (sarı), 21 (yeşil) veya 22 (siyah) iğne kullanılır. Eğer hastanın toplardamarları küçük ve hassas ise daha küçük çaplı iğne (22 G) kullanılmalıdır.



# Antikoagülanlar ve Ek maddeler

Antikoagülanlar kanın pıhtılaşmasını değişik şekillerde önleyen maddelerdir. Günlük laboratuvarlarda en çok kullanılan antikoagülanlar Etilendiamin tetra-asetik asit (EDTA), heparin, sitrat, sodyum floriddir. Antikoagülan içeren tüplere kan alındıktan sonra tüp yavaşça alt üst edilerek 5-6 kez özenle karıştırılmalıdır. Tüp kesinlikle çalkalanmamalıdır. EDTA tam kan ölçümleri ve hücre morfolojisi için tercih edilen antikoagülandır. Mor kapaklı tüplerde EDTA sıvı ve kuru formda dive tripotasyum tuzları şeklinde bulunur. K2EDTA mor kapaklı plastik tüplerde kuru formda bulunurken K<sub>3</sub>EDTA mor kapaklı cam tüplerde sıvı olarak bulunur. Sıvı formda olan K<sub>3</sub>EDTA örneklerin yaklaşık %1-2 oranında dilusyonuna neden olurken kuru formda olan K<sub>2</sub>EDTA'nın böyle bir etkisi olmaz. EDTA hemotolojik testler için en uygun olan antikoagülandır. Ancak Ca ve Mg'u bağlaması nedeniyle bu analitlerin analizinde ve Mg'un kofaktör olarak kullanıldığı ALP ve CK ölçümleri için uygun değildir. Koagülasyon testleri için açık mavi kapaklı tüpler tercih edilir. Bu tüpler % 3,2 veya % 3,8 oranında sodyum sitrat içerir ve labil koagülasyon faktörlerini koruduğu için uygundur. Siyah kapaklı tüpler de tamponlu sodyum sitrat içerir ve Westergren yöntemi ile sedimentasyon ölçümü için kullanılır. Açık mavi kapak ile siyah kapaklı tüpler arasındaki fark kan/antikoagülan oranıdır. Açık mavi kapaklı tüplerde bu oran 9:1 iken siyah kapaklı tüplerde 4:1'dir. Sitrat labil prokoagülanları stabilize etiği için pıhtılaşma testleri için tercih edilen ankoagülandır. Kalsiyumu bağlayıcı etkisi nedeniyle kalsiyum ve enzim analizleri için uygun değildir.

Heparin, birçok testin sonucunu etkilemeden küçük miktarlarda bile etki gösteren bir antikoagülandır. Heparin yeşil kapaklı tüplerde lityumheparin veya sodyumheparin şeklinde bulunur. Heparin trombini nötralize eden ve fibrin oluşumunu önleyen antitrombin III'ün etkisini hızlandırır. Heparin kalsiyum gibi iyonların ölçümlerini etkilemediği için EDTA'ya göre avantajlıdır. Heparin bazı immunokimyasal analizleri etkiler. Heparin koagülasyon ve hematoloji testlerinde kullanılmamalıdır. Lityum heparin, lityum ve folik asit ölçümleri hariç diğer ölçümlerde kullanılabilir. Sodyum heparin ise sodyum ölçümleri için uygun değildir ancak eser element, kurşun ve toksikoloji laboratuvarları için uygundur.

Gri kapaklı tüpler, sodyum florid ve lityum iodoasetat gibi antiglikolitik ajanlar içeren ve genellikle glukoz ölçümleri için kullanılan tüplerdir. Sodyum florid glikolizi 3 gün boyunca ve iodoasetat ise 24 saat boyunca inhibe eder. Bakteriyel septisemide floridin glikoliz üzerine olan etkisi yeterli olmamakta ve glukoz seviyeleri korunamamaktadır. Sodyum florid serum enzimlerinin potent bir inhibitörüdür. Ayrıca üreazı da inhibe ettiğinden kan üre ölçümlerinde kullanılmaz.

DİKKAT



Rutin (Günlük) laboratuvarlarda en çok kullanılan antikoagülanlar etilendiamin tetra-asetik asit (EDTA), heparin, sitrat, sodyum floriddir.

Kırmızı kapaklı tüpler hiçbir ek madde içermez veya pıhtı aktivatörü içerir. Kırmızı kapaklı tüpler rutin biyokimya, kan bankası ve immunolojik ölçümlerinde kullanılır. Jelli serum ayırım (seperatör) tüpleri (SST) tam kandan serum izolasyonu için uygundur. Santrifüj esnasında kan tüpün dibindeki jele doğru hareket eder. Santrifüj sonrasında serum üstte, jel ortada, kanın şekilsel elemanları ise en altta yer alır. Bir kısım jelli tüplerde yapılan ilaç düzeyi ölçümleri etkilenebilmektedir. Bu tüplerde yer alan jel ölçülen ilacı absorbe ederek yanlış düşük sonuçlara neden olmaktadır. Bu etkilenme bekleme süresi artıkça artmaktadır. Jel içeren tüpler kan bankası ve immunolojik ölçümlerde de jelin immunolojik reaksiyonları etkilemesi nedeniyle kullanılmamalıdır. Pıhtılaşma süresi jelli tüplerde yaklaşık 30 dakika, trombin gibi pıhtı aktivatörü içeren tüplerde 5 dakika olmaktadır. Hiçbir ek madde içermeyen düz kırmızı kapaklı tüplerde pıhtılaşma için yaklaşık 60 dakika beklemek gerekmektedir.

DİKKAT



Pıhtılaşma süresi jelli tüplerde yaklaşık 30 dakika, trombin gibi pıhtı aktivatörü içeren tüplerde 5 dakikadır. Hiçbir ek madde içermeyen düz kırmızı kapaklı tüplerde pıhtılaşma için yaklaşık 60 dakika beklemek gerekmektedir.

**Tablo 8.2** Laboratuvarlarda sık kullanılan tüpler

Kapak Rengi	Antikoagülan/İçerik	Etki Mekanizması	Örnek Tipi
Kırmızı	Yok	-	Serum
Kırmızı	Pıhtı aktivatörü	Pıhtı aktivasyonu	Serum
Mor (plastik)	K <sub>2</sub> EDTA	Kalsiyumu bağlar	Plazma
Mor (cam)	K <sub>3</sub> EDTA	Kalsiyumu bağlar	Plazma
Açık mavi	Sodyum sitrat	Kalsiyumu bağlar	Plazma
Siyah	Sodyum sitrat	Kalsiyumu bağlar	Plazma
Yeşil	Sodyum heparin, Lityum heparin	Trombin oluşumu inhibisyonu	Plazma
Gri	Sodyum florid Lityum iodoasetat	Glikoliz inhibisyonu	Plazma

## Kan Örneklerinin Saklaması

Genel kural, kan örneklerinin bekletilmeden çalışılmasıdır. Ancak kan örneklerinin belirli bir süre bekletilmesi gerekiyorsa, analize kadar soğukta tutulmalıdır. Plazma veya serum şekilli elemanlardan santrifüj edilerek ayrılır. Bu işlem, kan alındıktan sonra en geç 2 saat içerisinde yapılmış olmalıdır. Serum veya plazma elde edildikten sonra +4 °C'de ağzı kapalı olarak yaklaşık 1 gün saklanabilir. Ancak

bilirubin ve askorbik asit gibi ışığa ve havaya duyarlı maddeler hemen çalışılmalıdır. Örneğin bulunduğu ortamın sıcaklığının fazla olması numunede buharlaşmaya ve serumdaki analitlerin konsantrasyonunda rölatif artışa neden olabilir.

Santrifüj işlemi pıhtılaşma tamamlandıktan sonra mümkünse hemen veya kan alındıktan sonra en geç 2 saat içinde yapılmış olmalıdır.



24 saatten fazla bekletilen serum +4 °C'de saklanmış olsa dahi bakteri üremesi olabilir. Bu nedenle serumun dondurulması daha doğrudur. Bu şekilde serumdaki birçok analit bozulmadan aylarca saklanabilir. Dondurulmuş serum çalışılacağı zaman oda sıcaklığında kendi halinde çözünmesi sağlanmalıdır. Tam kanı dondurmak hemolize neden olur. Serum veya plazması ayrılmadan kan dondurulmaz.

**Analit:** Analizi yapılacak olan örnekteki aranan, ölçülmek istenen madde.

Bazı analitlerin (ACTH, parathormon, vitamin D, amonyak gibi) ölçümünde soğuk zincir istenebilmektedir. Gerekirse serum veya plazma ayırımı soğutmalı santrifüjde yapılır.

Bazı analitlerin (ACTH, parathormon, vitamin D, amonyak gibi) ölçümünde soğuk zincir gereklidir.



# **İDRAR ÖRNEKLERİ**

Laboratuvarlarda kullanılan idrar örneklerinde farklı analizler yapılabilmektedir. İnsan hekimliğinde en çok kullanılan idrar örnekleri tam idrar analizi, spot idrar ve 24 saatlik idrar örnekleridir.

İdrar analizleri ile detaylı bilgiler için "Unite 5 - Temel Laboratuvar Teknikleri ve Analizleri" konusunu okyunuz.



# Tam İdrar Analizi İçin İdrar Örneği

İdrar analizi için önerilen, sabah ikinci idrarın toplanmasıdır. Buradaki amaç, konsantre ve asidik bir örnek elde etmektir. Sabah ilk idrarda gece uzun süre mesanede bekleme nedeni ile idrar elemanlarında olabilecek parçalanma da ikinci idrarda görülmeyecektir.

Tam idrar analizi için hangi idrar örneği tercih edilir açıklayınız.



DİKKAT

## İdrar analizi için önerilen, sabah ikinci idrarın toplanmasıdır.

İdrar örneği alırken genital temizlik önemlidir. Kontaminasyonu en aza indirmek için ilk olarak eller yıkanmalı, dış genital organ temizliğinde hücre parçalanmasına yol açan dezenfektan maddeler kullanılmamalıdır. Dişilerde labiaların ayrılması, erkeklerde penis üzerindeki derinin biraz geri çekilmesi ve temizliğin su ile yapılması yeterli olacaktır.

Bebekler ve küçük çocukların idrarı özel torbalar içinde toplanır. Ticari olarak sağlanan bu torbalar, çocuğun genital organlarının etrafına yapıştırılır. Çocuk idrarını yaptıktan sonra bekletilmeden laboratuvara iletilir. Çok kritik hastalarda idrarın bakteriyolojik analizi için, idrar yollarının tıkandığı durumlarda idrar, mesaneden kateterle alınır. Bu tip idrar numuneleri, ilgili hekimler tarafından toplanır. Bazı durumlarda erkeklerde, idrardaki kan veya iltihabın nereden kaynaklandığını

anlamak için üç kap içine idrar toplanır. Bunun için, hasta bir defada boşalttığı idrarını 1.ve 3.tüpe az 2.tüpe ise daha fazla olmak üzere toplar. Her üç tüpte çıplak gözle bulanıklık, mikroskopta lökosit ve eritrosit aranır.

Kadınlarda menstruasyon döneminde idrar testi yapılması önerilmez. İdrar testi yapılacak kadın hastaların menstrual durumları mutlaka sorgulanmalıdır. İdrar örneği alındıktan sonra en ideali mümkün olan en kısa zamanda analizin gerçekleştirilmesidir. İdrarın pH ve ozmolalite durumuna göre hücreler kısa sürede parçalanabilmekte, bakteri üremesi analizleri etkileyebilmektedir. Örneğin lökositlerin bir saatten daha kısa sürede parçalanabileceği bildirilmiştir.

İdrar stripleri, birden fazla test için ayrı reaksiyon ortamları içeren ve yarı kantitatif ölçüm yapmaya imkan sağlayan şeritlerdir. Şeritin idrara daldırılmasından sonraki okuma aşaması gözle ya da otomatik strip okuyucular ile yapılabilmektedir. Strip okuyucular zamanlamayı kendileri ayarlar. Eğer okuma gözle yapılıyorsa, strip kutularının üzerinde belirtilen zamanlamaya mutlaka dikkat edilmelidir. Şeritlerin saklama koşulları önemlidir. İşığı geçirmeyen sıkı kapanan kaplarda, -kapağı mutlaka kapalı bir şekilde- serinde ve nemsiz ortamda tutulmalıdır (buzdolabında değil). İdrar, şerit daldırılmadan önce iyice karıştırılmalıdır. İdrar çalışma sırasında oda sıcaklığına getirilmeli, strip idrar içinde tutulmamalı, hemen çıkarılmalı ve idrarın aşırısı, stripin kenarı kaba değdirilerek alınmalıdır. İdrar şeritleri ile ölçülen parametreler: pH, Özgül ağırlık, Glukoz, Keton, Protein, Bilirubin, Ürobilinojen, Nitrit, Lökosit Eritrosit (Hemoglobin)'dir. Her bir test, ayrı kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan renklerin değerlendirilmesi ile ölçülür.

SIRA SİZDE



# İdrar şeritleri ile ölçülebilen parametreler hangileridir?

İdrarın mikroskopik incelenmesi kimyasal analizle birlikte böbrek ve idrar yolu hastalıklarının tespitinde kullanılır. İdrar mikroskopisinde en üstün teknoloji faz konstrast mikroskopidir. Ancak günümüzde yaygın olarak ışık mikroskopisi kullanılmaktadır. İdrar uzun süre oda sıcaklığında beklerse, hücreler ve silendir gibi elemanlar enzim veya bakteriler tarafından tahrip edilirler. Özellikle alkalik idrarda hücre ve silendirler hızla erirler. Bu nedenle idrar mümkün olduğu kadar erken incelenmelidir.

# Spot İdrar Örneklerinin Toplanması

Yapılacak analizin özelliğine göre idrar toplanır. Herhangi bir anda ve kantitatif analiz için idrar numunesinin sabah idrarı olması uygundur. Bu idrar daha konsantredir; nadiren çıkan maddeler kolayca tespit edilebilir.

## 24 Saatlik İdrar Örneklerinin Toplanması

24 saatlik idrar toplamak için kırılmayan, temiz ve tercihan renkli yaklaşık 4 L hacminde kap kullanılmalıdır. Renkli kap bulunamazsa idrar kabı karanlık bir yerde saklanmalıdır. Sabah ilk idrar dışarı yapıldıktan sonra gün boyunca ve gece yapılan diğer idrarların tamamı kaba konur. Ertesi gün sabah ilk idrar kaba konulduktan sonra toplama işi sonlandırılır. Toplanan idrar buzdolabında saklanır. Toplanan 24 saatlik idrar bekletilmeden laboratuvara ulaştırılır. Örnek kabulü yapılırken idrarın doğru toplanıp toplanmadığı mutlaka sorgulanmalıdır. 24 saatlık idrar örneği kabul edildikten sonra miktarı ölçülmeli ve kaydedilmelidir. Tavsiye edilen örnek karıştırıldıktan sonra analizler için 40 mL kadar idrar örneğinin alınmasıdır. Bazı analitler için idrar örneği toplanırken diyet gerekebilir. Örneğin idrarda

okzalat tayini için idrar toplamadan önce, 3 gün boyunca bazı yiyeceklerin ve ilaçların alınmaması gerekmektedir (Çay, kahve ve kakaolu içecekler, asitli içecekler, kakao içeren çikolata gibi yiyecekler, vanilyalı yiyecekler, turunçgiller (portakal, mandalina gibi), kivi, muz yenilmemesi, aspirin ve alfa metildopa içeren tansiyon düşürücü ilaçların doktorunuza danışarak kesilmesi gereklidir). Bu diyete uyularak analiz için asitli idrar toplama kabına 24 saatlik idrar toplanır.

24 saatlik idrar örneği nasıl toplanır? Açıklayınız.



Örnek kabulü yapılırken idrarın doğru toplanıp toplanmadığı mutlaka sorgulanmalıdır. 24 saatlik idrar örneği kabul edildikten sonra miktarı ölçülmeli ve kaydedilmelidir.



# Hayvanlarda İdrar Örneklerinin Alınması

Hayvanlar idrarını yaparken veya kateter yardımı ile idrar örnekleri alınabilir. Laboratuvar hayvanlarında metabolik kafesler kullanılarak gaita ve idrar ayrı ayrı toplanabilmektedir. Laboratuvar hayvanlarında ise idrar örnekleri idrar yapma sırasında, uretranın kateterizasyonu ile ve idrar kesesinin sistosentezi yoluyla alınmaktadır. Uretranın kateterizasyonu ile idrarın toplanması daha çok tavşanlarda uygundur. Sistosentezde idrar kesesi palpe edildikten sonra kanül ile idrar kesesine girilir.

## İdrar Örneklerinin Saklanması

İdrarın soğukta saklanması hemen her analiz için koruyucu nitelik sayılır. İdrarda kantitatif olarak tespit edilecek maddelerin sentezini, parçalanmasını veya yapı değiştirmesini önlemek için uygun koruyucunun eklenmesi gerekir. Bu koruyucular analizden analize farklıdır. En sık kullanılan koruyucu maddeler, glasiyel asetik asit ve derişik hidroklorik asittir. Ancak koruyucu madde seçiminin yapılacak analize göre özellik gösterebilir. En sık kullanılan koruyucu maddeler ve kullanıldıkları analitler özetle Tablo 8.3'de gösterilmiştir.

İdrar örnekleri saklanırken dikkat edilmesi gereken koşullar nelerdir? Açıklayınız.



Koruyucu madde	Yapılacak Test	
Koruyucu madde yok sadece buzdolabında bekletilir.	Aminoasidler, amilaz, klor, bakır, kreatinin, delta ALA, glukoz, ağır metaller (arsenik, kurşun, civa), histamin, immunelektroforez, Lizozim, metilmalonikasit, mikroalbum in, mukopolisakkaritler, porfobilinojen, porfirinler, potasyum, protein, protein elektroforezi, sodyum, üre, ürik asit, ksiloz tolerans	
10 g Borik asit	Aldesteron, kortizol	
10 mL 6N HCl	Kalsiyum, katekolaminler, sitrat, sistin, 5-HIAA, homovalinik asit, hidroksiprolin, magnezyum, metanefrinler, okzalat, fosfor, VMA	
0,5 g Sodyum florid	Glukoz	
Eşit miktarda % 50'lik alkol	Sitolojik inceleme	

Tablo 8.3 İdrar toplanırken sık kullanılan koruyucu maddeler

# **GAİTA ÖRNEKLERİ**

Gaitada gizli kan analizi, mide-barsak sistemi (gastrointestinal sistem) kanamaları ve malignite teşhis ve ayırıcı tanısında çok önemli bir testtir. Gizli kan analizi için az miktarda dışkı yeterlidir. Test, gastrointestinal sistemdeki bir kanamayı tespit etmek için yapılır. Kan gaitanın herhangi bir kısmında gizli kalabileceğinden, analiz belirli sürelerde tekrarlanmalıdır. Yalancı reaksiyonların önlenmesi için hasta üç gün süreyle proteinsiz diyete tabi tutulmalıdır (pancar, ıspanak vb. sebzeler, demir preperatları testi bozar).

Barsaktan emilimin tam olup olmadığını belirlemek maksadıyla 72 saatlik örnekte yağ analizi yapılır. Gaita sindirim testleri de rutin (günlük) kullanılmamakla birlikte barsak emiliminin yeterli olup olmadığını tespit amaçlı kullanılabilir (gaitada yağ, karbonhidrat, mineraller vb. aranır).

Gastroenterite neden olan etkenin tespiti, parazit veya yumurtasının aranması için de gaita numunesi alınır. Gaitada parazit ve yumurtalarının analizi mutlak taze dışkıda yapılmalıdır. Yine birkaç kez muayene edilmelidir.

Kemiriciler ve tavşanlar dışkılarını yediklerinden gaita örneklerinin toplanmasında metabolik kafeslerin kullanılması önerilmektedir. Dışkı örneklerini metabolik kafeste toplanabileceği gibi rektal sürüntü ile de alınabilir. Fare ve rat gibi küçük kemiriciler tespit edilirken ele alındığında genellikle idrar ve gaitasını yapabilir. Az miktarda kullanılacak numuneler için bu yöntem kullanılabilir. İdrar kesesi üzerine bir miktar baskı yapılarak idrar miktarı artırılabilir.

# **BEYIN OMURILIK SIVISI**

Beyin omurilik sıvısı (BOS) analizi enfeksiyon (bakteriyal, fungal, mikobakteriyel veya amebik menenjit), kanser, subaraknoid kanama, multipl skleroz veya demiyelizan hastalıkların ayırıcı tanısı için kullanılır. BOS, genellikle lomber bölgeden (en sık 3.-4. vertebral aralık) ponksiyonla alınır. Bazen ameliyat sırasında servikal bölgeden, beyindeki bir boşluktan veya ventrikülden sıvı alınır. Lomber ponksiyonun (LP) en önemli komplikasyonu kafa içi basıncı artmış hastalarda görülen serebeller tonsiller herniasyondur. Bu yüzden mümkün olduğunca yani BOS analizi sonuçları tanı ve tedaviyi etkilediği düşünülmedikçe LP'dan kaçınılmalıdır. Lomber bölgede deri enfeksiyonu, selülit veya epidural abse gibi durumlarda LP yapılmamalıdır.

Erişkinde bir kişiden 20 mL'ye kadar BOS alınabilir. Bizzat hekim tarafından ponksiyonla alınan sıvı üç ayrı tüpe bölünür: Birinci tüp biyokimyasal (glukoz, protein) ve serolojik testler, ikinci tüp mikrobiyolojik (kültür, gram boyama) testler, üçüncü tüp mikroskobi ve hematolojik hücre sayımı için kullanılır. Üçüncü BOS alımı sırasında kanamadan en az kontamine olan tüptür.

SIRA SİZDE

BOS 3 tüpe lomber ponksiyonla alınır. bu tüpler hangi analizler için kullanılır?

Hayvanlarda da serebrospinal sıvının ponksiyon yoluyla alınması için vücudun iki farklı yeri kullanılır. Birinci yer, serebromedüllar sisternanın kafatası ile ilk boyun vertebrası arasından ponksiyonu, ikinci yer ise son lumbal vertebra ile sakrum arasındaki lumbosakral boşluktur. Bu işlem yapılırken sedasyon veya lokal anestezi önerilir.

# **VÜCUT SIVILARI**

# **Sinovyal Sivi**

Sinovial sıvı eklem aralığında bulunan sıvıdır. Sinovyal sıvı diğer seröz sıvılardan farkı hyaluronik asit (müsin) içermesidir. Artrosentez ile alınır. Artrosentez için kullanılan şırınga sinoviyal sıvının mL'si başına 25 ünite sodyum heparin içerir. Okzalat, kuru EDTA ve lityum heparin kullanılmaz. Çünkü bunlar monosodyum ürat kristallerine benzer kristal yapı oluşmasına neden olur. Sinoviyal sıvı 3 tüpe alınır: 1. tüp steril, 2. tüp EDTA'lı veya heparinli, 3. tüp kırmızı kapaklı tüp olur. Her bir tüpe yaklaşık 5-10 mL sıvı eklenir. Steril tüp mikrobiyolojik inceleme, antikoagülanlı tüp hematolojik inceleme ve kırmızı kapaklı tüp santrifüj sonrası kimyasal analiz için kullanılır.

## Plevra ve Periton Sıvıları

Plevral sıvı plevral kavitede devamlı olarak sentezlenir. Bu kavitede normalde 1-10 mL plevral sıvı bulunur. Plevra sıvısı torasentezle alınır. Plevranın enflamatuar ve malign hastalıklarında teşhis için kullanılır.

Periton sıvısı abdominal parasentez işlemleriyle alınır. Normalde bu aralıkta 50 mL sıvı bulunur. Enfeksiyon hastalıkları, iyi veya kötü huylu tümörler, apandisit, siroz, pankreas, böbrek ve kalp hastalıkları gibi hastalıklar karın içinde sıvı toplanmasına (asit) neden olabilir. Mesane, mide, bağırsak ve özellikle apendiks delindiğinde veya içlerindeki sıvılar karın içi mesafeye sızdığında karın zarı iltihabı (peritonit) gelişir. Periton diyalizi de peritonite neden olabilir.

Parasentezle alınan periton sıvısı kimyasal, mikrobiyolojik ve sitolojik analiz için kullanılır. Çoğu analiz için periton sıvısına koruyucu madde eklemek gerekmez. Bakteriyolojik ve sitolojik inceleme için örnekler EDTA'lı veya sodyum heparinli tüplere alınır. Mikobakterium, anaerobik bakteri ve virusler için örneklerin özel koşullarda alınması gerekli olabilir.

Torasentez ile alınan sıvıda ilk adım transuda-eksuda ayırımını yapmak olmalıdır. Transuda pulmoner veya sistemik hidrostatik basınç artışı veya plazma onkotik basınç azalmasından kaynaklanan bir durumdur. Eksuda ise inflamatuar veya malign bir olayı ve plevral tutulumu gosterir. Transuda ve eksuda ayırımında Light kriterleri kullanılır. Light kriterlerine göre; plevral sıvı protein/serum protein oranı >0.5, plevral sıvı LDH/serum LDH oranı >0.6 ve plevral sıvı LDH > 200 U sonuçlarından herhangi birinin bulunması sıvının eksuda olduğunu gösterir. Transuda bu kriterlerden hiçbirisi göstermez.

Torasentez: Plevra boşluğundaki sıvının alınması işlemine torasentez denir. Tanı ve tedavi amaçlı olabilir.

Parasentez: Tanı veya tedavi amaçlı olarak, özel bir iğneyle karın duvarından girilerek karın içindeki sıvıdan örnek alınması veya sıvının boşaltılması işlemine abdominal parasentez denir.

# Özet



Laboratuvarlarda kullanılan başlıca örnekleri açıklamak

Laboratuvarlarda kullanılan örnekler bakımından çeşitlilik söz konusudur. Tam kan, plazma, serum yanında, idrar ve gaita örnekleri, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve vücut sıvıları (sinovial sıvı, periton ve plevral sıvılar), biyokimyasal analizlerin uygulandığı başlıca materyallerdir.



Rutin (Günlük) laboratuvarlarda kullanılan başlıca tüpleri tanımak.

Rutin (günlük) laboratuvarlarda en çok kullanılan antikoagülanlar Etilendiamin tetra-asetik asit (EDTA), heparin, sitrat, sodyum floriddir. Mor kapaklı tüplerde EDTA sıvı ve kuru formda di- ve tripotasyum tuzları şeklinde bulunur. Koagülasyon testleri için açık mavi kapaklı tüpler tercih edilir. Bu tüpler %3,2 veya %3,8 oranında sodyum sitrat içerir ve labil koagülasyon faktörlerini koruduğu için uygundur. Siyah kapaklı tüpler de tamponlu sodyum sitrat içerir ve Westergren yöntemi ile sedimentasyon ölçümü için kullanılır. Açık mavi kapak ile siyah kapaklı tüpler arasındaki fark kan/antikoagülan oranıdır. Heparin, birçok testin sonucunu etkilemeden küçük miktarlarda bile etki gösteren bir antikoagülandır. Heparin yeşil kapaklı tüplerde lityumheparin veya sodyumheparin şeklinde bulunur. Gri kapaklı tüpler, sodyum florid ve lityum iodoasetat gibi antiglikolitik ajanlar içeren ve genellikle glukoz ölçümleri için kullanılan tüplerdir. Kırmızı kapaklı tüpler hiçbir ek madde içermez veva pıhtı aktivatörü içerir. Kırmızı kapaklı tüpler rutin biyokimya, kan bankası ve immunolojik ölçümlerinde kullanılır. Jelli serum ayırım (seperatör) tüpleri (SST) tam kandan serum izolasyonu için uygundur.



Örneklerin saklama koşullarını açıklamak.

Genel kural olarak arzu edilen kan örneklerinin bekletilmeden çalışılmasıdır. Eğer bekletilecekse örnekler hastadan alındıktan sonra analize kadar soğukta tutulmasına dikkat edilmelidir. Plazma veya serum şekilli elemanlardan santrifüjla ayrılır. Bu işlem, kan alındıktan sonra en geç 2 saat içinde yapılmış olmalıdır. Serum veya plazma elde edildikten sonra en geç 4 saat içinde çalışılmayacaksa +4°C'de ağzı kapalı olarak yaklaşık 1 gün saklanabilir. 24 saatten fazla bekletilen serum +4 °C'de saklansa bile bakteri üremesi olabilir. Bu yüzden serumun dondurulması daha doğrudur ve bu sayede serumdaki birçok analit bozulmadan aylarca saklanabilir. Serum veya plazması ayrılmadan kanı dondurmamalıdır. İdrarın soğukta saklanması

hemen her analiz için koruyucu nitelik sayılır. İdrarda kantitatif olarak tespit edilecek maddelerin sentezini, parçalanmasını veya yapı değiştirmesini önlemek için uygun koruyucunun eklenmesi gerekir. Bu koruyucular analizden analize farklıdır. En sık kullanılan koruyucu maddeler, glasiyel asetik asit ve derişik hidroklorik asittir. Ancak koruyucu madde seçiminin yapılacak analize göre özellik gösterebilir.



24 saatlik idrar örneklerinin toplanmasını tartışmak.

24 saatlik idrar toplamak için kırılmayan, temiz ve tercihan renkli yaklaşık 4 L hacminde kap kullanılmalıdır. Renkli kap bulunamazsa idrar kabı karanlık bir yerde saklanmalıdır. Sabah ilk idrar dışarı yapıldıktan sonra gün boyunca ve gece yapılan diğer idrarların tamamı kaba konur. Ertesi gün sabah ilk idrar kaba konulduktan sonra toplama işi sonlandırılır. Toplanan idrar buzdolabında saklanır. Toplanan 24 saatlik idrar bekletilmeden laboratuvara ulaştırılır. Örnek kabulü yapılırken idrarın doğru toplanıp toplanmadığı mutlaka sorgulanmalıdır. 24 saatlik idrar örneği kabul edildikten sonra miktarı ölçülmeli ve kaydedilmelidir. Tavsiye edilen örnek karıştırıldıktan sonra analizler için 40 mL kadar idrar örneğinin alınmasıdır.



Kan ve idrar dışında kullanılan başlıca örneklerin neler olduğunu açıklamak.

Kan ve idrar dısında kullanılan baslıca örnekler gaita, BOS ve vücut sıvılarıdır. Gaita başlıca GGK (Gaitada Gizli Kan) analizi, sindirim testleri, parazit ve yumurtalarının analizi için kullanılır. BOS analizi enfeksiyon (bakteriyal, fungal, mikobakteriyel veya amebik menenjit), kanser, subaraknoid kanama, multipl skleroz veya demiyelizan hastalıkların ayırıcı tanısı için kullanılır. Vücut sıvılarından en çok sinovial sıvı, periton ve plevral sıvılar kullanılır. Sinovial sıvı eklem aralığında bulunan sıvıdır. Sinoviyal sıvı 3 tüpe alınır: 1. tüp steril, 2. tüp EDTA'lı veya heparinli, 3. tüp kırmızı kapaklı tüp olur. Steril tüp mikrobiyolojik inceleme, antikoagülanlı tüp hematolojik inceleme ve kırmızı kapaklı tüp santrifüj sonrası kimyasal analiz için kullanılır. Plevra sıvısı torasentezle AC ve plevranın enflamatuar ve malign hastalıklarında kullanılmak üzere alınır. Periton sıvısı parasentez işlemleriyle alınır. Parasentezle alınan periton sıvısı kimyasal, mikrobiyolojik ve sitolojik analiz için kullanılır.

# Kendimizi Sınayalım

- 1. Aşağıdaki önermelerden kangisi venöz kan alımı sırasında dikkat edilmesi gereken konulardandır?
  - a. Büyük yaralı veya hematomlu koldan, mastektomili kadınlarda memenin alındığı taraftaki koldan kan alınmamalıdır.
  - b. Kan alma bölgesinin 10-15 cm üzerinden turnike uygulanır.
  - c. Vene girilmeden önce yumruk açılıp kapatılmamalıdır.
  - d. Önce katkı maddesiz tüplere sonra katkı maddeli tüplere kan alınır.
  - e. Hepsi
- **2.** Aşağıdaki arterlerden hangisi arteriyel kan alımı için **kullanılmaz?** 
  - a. Bilekteki radial arter
  - b. Dirsekteki brakial arter
  - c. Dirsekteki ulnar arter
  - d. Kasıktaki femoral arter
  - e. Yeni doğanlarda umbilikal arter
- **3.** Kan alımı sırasında kan tüpleri belirli bir sıra ile alınmalıdır. Aşağıdaki numaralı tüplerden hangisi sıra-yı **bozmaktadır?**
- 1. Kan kültür tüpleri
- 2. Sodyum sitratlı tüp (Mavi kapak)
- Serum tüpleri (jelli/jelsiz, pıhtı aktivatörlü/aktivatörsüz)
- 4. Glikolitik inhibitörlü tüpler (gri kapak)
- 5. EDTA'lı tüpler (mor kapak)
  - a. Bir
  - b. İki
  - c. Üç
  - d. Dört
  - e. Beş
- **4.** Aşağıdakilerden hangisi rutin (günlük) laboratuvarlarda **en çok** kullanılan antikoagülanlardan **değildir?** 
  - a. Etilendiamin tetra-asetik asit (EDTA)
  - b. Heparin
  - c. Magnezyum
  - d. Sitrat
  - e. Sodyum florid

- **5.** Aşağıdakilerden hangisi idrar şeritleri ile ölçülen parametrelerdendir?
  - a. pH
  - b. Glukoz
  - c. Keton
  - d. Protein
  - e. Hepsi
- **6.** Aşağıdakilerden hangisi idrarın mikroskopik incelenmesi sonucu görülen elemanlardandır?
  - a. Hücreler
  - b. Silendirler
  - c. Kristaller
  - d. Organizmalar
  - e. Hepsi
- **7.** Aşağıdakilerden hangisi idrarın saklanmasında kullanılan koruyucu maddelerden biri **değildir?** 
  - a. Glasiyel asetik asit
  - b. Sülfirik asit
  - c. Hidroklorik asit
  - d. Borik asit
  - e. Alkol
- **8.** İdrarda okzalat tayini için idrar toplamadan önce, 3 gün boyunca bazı yiyeceklerin ve ilaçların **alınmaması** gerekmektedir. Aşağıdaki yiyeceklerden hangileri bu grupta yer alır?
  - a. Çay, kahve ve kakaolu içecekler
  - b. Asitli içecekler,
  - c. Vanilyalı yiyecekler
  - d. Turunçgiller
  - e. Hepsi
- **9.** BOS genellikle lomber bölgede **en sık** hangi vertebral aralıktan ponksiyonla alınır?
  - a. 1.-2. vertebral aralık
  - b. 2.-3. vertebral aralık
  - c. 3.-4. vertebral aralık
  - d. 4.-5. vertebral aralık
  - e. 5.-6. vertebral aralık
- **10.** BOS alımı sırasında kanamadan **en az** kontamine olan tüp hangisidir?
  - a. Bir
  - b. İki
  - c. Üç
  - d. Hepsi
  - e. Hiçbiri

# Kendimizi Sınayalım Yanıt Anahtarı

- 1. e Yanıtınız yanlış ise "Kan Örnekleri" bölümüne bakınız.
- 2. c Yanıtınız yanlış ise "Kan Örnekleri" bölümüne bakınız.
- 3. d Yanıtınız yanlış ise "Kan Alma Tüpleri" bölümüne bakınız.
- 4. c Yanıtınız yanlış ise "Kan Alma Tüpleri" bölümüne bakınız.
- 5. e Yanıtınız yanlış ise "İdrar Örnekleri" bölümüne bakınız.
- 6. e Yanıtınız yanlış ise "İdrar Örnekleri" bölümüne bakınız.
- 7. b Yanıtınız yanlış ise "İdrar Örnekleri" bölümüne bakınız.
- 8. e Yanıtınız yanlış ise "İdrar Örnekleri" bölümüne
- 9. c Yanıtınız yanlış ise "Beyin Omurilik Sıvısı" bölümüne bakınız.
- 10. c Yanıtınız yanlış ise "Beyin Omurilik Sıvısı" bölümüne bakınız.

## Sıra Sizde Yanıt Anahtarı

#### Sıra Sizde 1

Kan analizleri için ven, arter veya kapillerden kan alınır. Venöz kan, genel olarak tercih edilen kandır ve vene girilerek (flebotomi). Arteriyel kan, kan gazları analizi için alınır. Kapiller kan, periferik yayma (formül lökosit) yapmak için ve çocuklardan bazı analizler için alınır.

#### Sıra Sizde 2

Venöz kan alımı sırasında dikkat edilmesi gereken konular özetle şunlardır: Hastanın kolunu omuzdan bileğe kadar düz uzatması sağlanmalıdır. Büyük yaralı veya hematomlu koldan, mastektomili kadınlarda memenin alındığı taraftaki koldan kan alınmamalıdır. Hastadan ne kadar hacimde kan alınacağı belirlenmeli, istenen testler için uygun sayıda ve türde tüp ve uygun iğne seçilmelidir. En sık kullanılan iğneler 19-22 numaradır (numara büyüdükçe çap küçülür, normal erişkinde genellikle 20 numara iğne tercih edilir). Uygun ven seçiminde elle yoklama ven seçimini kolaylaştırır. İnfüzyon yapılıyorsa infüzyon 3 dakikalığına durdurulmalı ve sonra tercihan diğer koldan kan alınmalıdır.

Kan alma bölgesinin 10-15 cm üzerinden turnike uygulanır. Turnikenin uzun süre tutulması kanın bileşimini belirgin değiştirir. Vene girilmeden önce yumruk açılıp kapatılmamalıdır. Önce katkı maddesiz tüplere sonra katkı maddeli tüplere kan alınır.

#### Sıra Sizde 3

Arteriyel kan alınması el bileğindeki radial arterden, dirsekteki brakial arterden, kasıktaki femoral arterden, yeni doğanlarda umbilikal arterden (kateter ile) alınmaktadır. Uygun arter seçimi yapıldıktan sonra arter palpe edilir ve bölge %70'lik isoproponal ile temizlenir, arteryal kan alımı gerçeklestirilir.

#### Sıra Sizde 4

Kapiller kan çocuklarda özellikle yenidoğanlarda tercih edilir. Tekrarlayan venoponksiyonlarla büyük miktarda kan alınması başta prematüreler olmak üzere çocuklarda iatrojenik anemiye neden olur. Pediatrik hasta grubunda derin venlerden venoponksiyon kardiyak arrest, hemoraji, venokonstriksiyon sonucu ekstremitenin gangreni ve enfeksiyon gibi komplikasyonlara yol açabilir. Yenidoğan hasta grubunda venler parenteral tedaviye ayrılmalıdır. Kapiller kan erişkin hasta grubunda aşırı şişmanlarda, ciddi yanıklarda ve trombotik yatkınlığı olan kişilerde uygundur. Ayrıca kapiller kan geriatrik hasta grubu içinde derinin ince ve daha az elastik olması nedeniyle venoponksiyon sonrası oluşabilecek hematomların engellenmesi için uygun olabilir.

#### Sıra Sizde 5

Çiftlik hayvanlardında genel olarak venöz kan kullanılır ve Vena jugularis'ten alınmaktadır. Sığırlarda Vena subcutanea abdominalis, koyun ve keçilerde Vena cephalica antebrachi ve Vena femoralis, domuzlarda Vena cava cranialis, Vena femoralis ve Vena earicularis venöz kan alınması için uygun venalardır. Kedi ve köpeklerde de Vena Jugularis, Vena cephalica antebrachi ve Vena saphena parva'dan kan alınabilir.

#### Sıra Sizde 6

İdrar analizi için önerilen, sabah ikinci idrarın toplanmasıdır. Buradaki amaç, konsantre ve asidik bir örnek elde etmektir. Sabah ilk idrarda gece uzun süre mesanede bekleme nedeni ile idrar elemanlarında olabilecek parçalanma da ikinci idrarda görülmeyecektir.

#### Sıra Sizde 7

İdrar şeritleri ile ölçülen parametreler: pH, Özgül ağırlık, Glukoz, Keton, Protein, Bilirubin, Ürobilinojen, Nitrit, Lökosit Eritrosit (Hemoglobin)'dir. Her bir test, ayrı kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan renklerin değerlendirilmesi ile ölçülür.

#### Sıra Sizde 8

24 saatlik idrar toplamak için kırılmayan, temiz ve tercihan renkli yaklaşık 4 L hacminde kap kullanılmalıdır. Renkli kap bulunamazsa idrar kabı karanlık bir yerde saklanmalıdır. Sabah ilk idrar dışarı yapıldıktan sonra gün boyunca ve gece yapılan diğer idrarların tamamı kaba konur. Ertesi gün sabah ilk idrar kaba konulduktan sonra toplama işi sonlandırılır. Toplanan idrar buzdolabında saklanır. Toplanan 24 saatlik idrar bekletilmeden laboratuvara ulaştırılır.

#### Sıra Sizde 9

İdrarın soğukta saklanması hemen her analiz için koruyucu nitelik sayılır. İdrarda kantitatif olarak tespit edilecek maddelerin sentezini, parçalanmasını veya yapı değiştirmesini önlemek için uygun koruyucunun eklenmesi gerekir. Bu koruyucular analizden analize farklıdır. En sık kullanılan koruyucu maddeler, glasiyel asetik asit ve derişik hidroklorik asittir. Ancak koruyucu madde seçiminin yapılacak analize göre özellik gösterebilir.

#### Sıra Sizde 10

Erişkinde bir kişiden 20 mL'ye kadar BOS alınabilir. Bizzat hekim tarafından ponksiyonla alınan sıvı üç ayrı tüpe bölünür: Birinci tüp biyokimyasal (glukoz, protein) ve serolojik testler, ikinci tüp mikrobiyolojik (kültür, gram boyama) testler, üçüncü tüp mikroskobi ve hematolojik hücre sayımı için kullanılır. Üçüncü BOS alımı sırasında kanamadan en az kontamine olan tüptür.

# Yararlanılan ve Başvurulabilecek Kaynaklar

- Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) (2003): Prosedures for the collection for diagnostic blood specimens by venipuncture: Approved Standard. 5th ed. Document H3-A5. Wayne PA, NCCLS.
- Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) (2004). *Prosedures for the collection of arterial blood specimens: Approved Standard.* 4th ed. Document H11-A4. Wayne PA, NCCLS.
- Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) (2004): Prosedures and devices for the collection of diagnostic capillary blood specimens: Approved Standard. 5th ed. Document H4-A5. Wayne PA, NCCLS.
- İssi, M. (2008): Laboratuvar hayvanlarında kan alma teknikleri. *Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg.*, 30 (44): 23-26.
- Karagül, H., Altıntaş, A., Fidancı, U.R., Sel, T. (2000): *Klinik Biyokimya*. Medisan Yayınevi, Medisan Yayın Seri No 40, Ankara.
- Miller, H.B. & Lifshitz, M.S. (2007): Pre-Analysis. İçinde: R.A. McPherson & M.R. Pincus (Ed): *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 21th Ed. Philadelphia, WB Saunders.
- Parasuraman, S., Raveendran, R., Kesavan, R. (2010): Blood sample collection in small laboratory animals. *J Pharmacol Pharmacother*, 1:87-93
- Young, M.B. & Bermes, E.W. (2001): Specimen collection and other preanalytical variables. İçinde (Ed.) C.A. Burtis & E.R. Ashwood: *Tietz Tetbook of Clinical Chemistry*. (ss 30-54). 5th ed., Philadelphia, WB Saunders Company.