

Deney No : 1

Deney Adı: Venöz ve Kapiler Kan Alma

Deneyin Amacı: Venöz ve Kapiler Kan Alma Tekniklerinin Öğrenilmesi

Venöz Kan Alma

Çok miktarda kana ihtiyaç duyulan durumlarda, kapiller kan yerine venöz kan tercih edilir. Yetişkinlerde, antekubital fossada kalın ve derinin yüzeyine yakın vena, venöz kan alma için uygundur. Venöz kan, hasta rahat bir şekilde oturtularak ya da yatırılarak alınır. Hastadan kan almadan önce hasta ile konuşulup hangi tetkik yapılacağı hakkında bilgi verilmelidir. Çocuklardan kan almadan önce iletişim kurarak güven sağlanması önemlidir.

Venöz kan almada kullanılan malzemeler:

- Pamuk
- Alkol
- Steril enjektör veya Vacutainer adaptör ve iğneleri
- Turnike
- Kan tüpleri

Venöz kan alma tekniği:

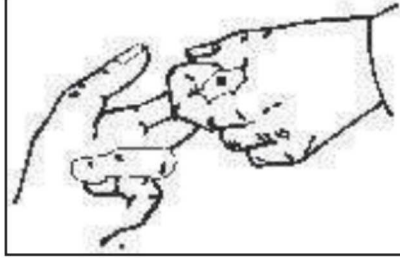
- ❖ Venöz kan almak için gerekli araç ve gereçler hazırlanır.
- ❖ Kan almaya başlamadan önce hastanın adı-soyadı sorulup istem kâğıdıyla karşılaştırılarak kimliği doğrulanır.
- ❖ Hastanın 10-12 saat aç olup olmadığı öğrenilir. Özellikle biyokimyasal analizlerde (kan şekeri, lipit, kolesterol tayinlerinde) hasta aç olmalıdır.
- ❖ Hastadan ne kadar hacimde kan alınacağı belirlenir, istenen testler için uygun sayı ve türde tüp ve uygun iğne seçilir. En sık kullanılan iğneler 19-22 numaradır (numara büyüdükçe çap küçülür, normal erişkinde genellikle 20 numara iğne tercih edilir).
- ❖ Hasta rahatça kan alma koltuğuna oturtulur ve kan alma süresince bu pozisyonda kalması sağlanır.
- ❖ Hastanın kolunu omuzdan bileğe kadar düz uzatması sağlanır.
- ❖ Uygun vena seçilir. Yetişkinlerde antekubital fossada kalın ve derinin yüzeyine yakın vena tercih edilir. Elle yoklama (palpe etme) vena seçimini kolaylaştırır.
- ❖ İnfüzyon (Damar içine sıvı verilmesi) yapılıyorsa infüzyon 3 dakikalığına durdurulur ve sonra tercihen diğer koldan kan alınır.
- ❖ Büyük yaralı veya hematomlu (sağlam deri altında kanın toplanması) koldan, mastektomili kadınlarda memenin alındığı taraftaki koldan kan alınmaz.
- ❖ Kan alma bölgesinin 10-15 cm üzerinden turnike uygulanır. Turnikenin uzun süre tutulması kanın bileşimini belirgin değiştirir.
- ❖ Kan alınacak bölgenin çevresi, %70'lik etilalkolle doymuş gazlı bezle, dairesel hareketlerle ve kan alma bölgesinden dışa doğru (merkezden çevreye doğru) temizlenir.

- ❖ Derinin kendi kendine kuruması beklenir.
- ❖ Vene girilmeden önce hastanın elini yumruk yapması söylenir; ancak vene girilmeden önce yumruk açılıp kapatılmamalıdır; bu hareket, plazma potasyum, fosfat ve laktat konsantrasyonlarını artırır.
- ❖ Sol el ile hastanın kan alınacak kolu dirsekten tutulup sol elin başparmağı ile hastanın kol derisi çekilerek kol ve damar tespit edilir. Böylece venin kayması önlenir.
- ❖ Venöz kan alma hazırlıkları tamamlandıktan sonra iğne, enjektörün ucuna sıkı bir şekilde yerleştirilir ve iğnenin üzerindeki kılıf çıkarılır. Enjektör sağ ele alınır.
- ❖ Enjektör ve iğne, kan alınacak vene paralel tutulur ve iğne deriye yaklaşık 15 derecelik bir açıyla aşağıdan yukarıya doğru venin içine itilir. Ven duvarı delinirken ilk anda hissedilen direnç ortadan kalktığı zaman, enjektördeki basınç gevşer ve piston yavaşça geri çekilirken enjektöre kan dolar.
- ❖ İkinci enjektöre kan alınacaksa iğne sabit tutularak takılı enjektör nazik fakat çabuk çekilir ve ikinci enjektör yerleştirilir ve kan almaya devam edilir.
- ❖ Antikoagülanlı tüpe, işaretli çizgiye kadar kan alınır. Kan, tüp üzerindeki çizgiye kadar alınmamış ve tüp içinde pıhtı oluşmuşsa yeniden örnek alınmalıdır.
- ❖ Enjektöre tetkikler için yeterli kan alındığında turnike çıkarılır.
- ❖ İğne damardan çıkartılır. İğne çıkartılırken kuru pamukla kan alınan bölgeye bası uygulanır.
- ❖ İğne çıkartılıp tıbbi atık kutusuna atılır.
- ❖ Enjektöre alınmış kanın **hemoliz** olmaması için iğne enjektörden uzaklaştırıldıktan sonra, hazırlanmış tüplere yavaşça ve tüp kenarından kaydırarak istenen hacimde dikkatli bir şekilde aktarılmalıdır. Kan alınan tüpler hiçbir zaman çalkalanmamalı; antikoagülanlı tüplere alınmış kan yavaşça alt-üst edilmelidir.
- ❖ Hastaya; işlemin bittiği, sonuç raporunu ne zaman ve nereden alacağı bildirilir.

Kapiller kan

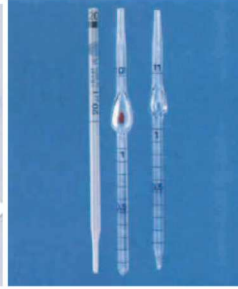
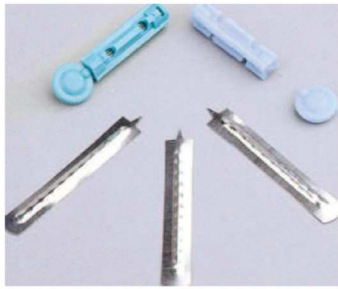
Kapiller Kan Alma Bölgeleri

- Elin 3. ve 4. parmak ucundan(orta ya da yüzük parmağı)
- Kulak memesinin alt kenarından
- Bebeklerde topuktan veya ayak başparmağından kapiller kan alınır.



Kapiller Kan Almada Kullanılan Araç-Gereçler

- Alkol
- Pamuk, gazlı bez
- Steril lanset
- Pipetler (mikropipet, kılcal pipet)



Kapiller Kan Alma Tekniği

- Kapiller kan almak için gerekli araç - gereç ve malzemeler hazırlanır.
- Kan alınacak hastanın adı-soyadı istem kağıdından kontrol edilir. Hastaya ad-soyadı sorularak doğruluğu teyit ettirilir.
- Kan alınacak bölge, %70 izopropil veya etil alkol içinde bekletilmiş pamuk /gazlı bezle temizlenir.
- Alkolün tamamen buharlaşması beklenir ya da steril kuru pamukla silinir.
- Kan alınacak parmak, iki parmak arasında sıkıca tutularak tespit edilir.
- Parmak, kan alınmasını kolaylaştıracak ve yer çekiminden yararlanılacak şekilde tutulmalıdır. Kan akışını uyarmak için parmağa masaj yapılmamalıdır.
- Ø Kanın ilk damlası silindikten sonra, ardından açığa çıkan damlalar, bastırılmadan nazik bir şekilde uygun tüplere alınır. Pıhtılaşmayı önlemek için tüp hızlı doldurulmalı, tüpün içine hava kabarcıklarının girmesi önlenmelidir.
- Kapiller kan alınan bölgeye aşırı basınç uygulanmamalıdır. Aşırı basınç, doku sıvısının kana geçmesine ve kanı sulandırmasına neden olur. Kanın dilüe olması (sulanması) sonuçları değiştirebilir.
- Hastanın kanayan parmak ucuna kuru bir pamuk ile tampon yapılır.
- Kullanılan pamuk parçaları ve lanset sızdırmayan bir atık kabına atılır.
- Hastaya, işlemin bittiği, sonuç raporunu ne zaman ve nereden alacağı bildirilir.

Deney No : 2

Deney Adı: Glukometre İle Kan Glukoz Düzeylerinin İzlemi

Deneyin Amacı: Şeker hastalığı (Diyabetes Mellitus) olan kişilerde kan glukoz (şeker) düzeyinin takibi önemlidir.

Kan glukoz düzeyinin takibinin önemi;

- Hipoglisemi (kan glukozu düşüklüğü) ve hiperglisemi (kan glukozu yüksekliği) ataklarının tespiti ve önlenmesi,
- Kan glukozundaki dalgalanmaların takip edilmesi,
- Tedavi etkinliğinin izlenmesi,
- Hastalığın uzun dönem komplikasyonlarının önlenmesi açısından önemlidir.

Diyabet hastalarında, hastalığın tipine ve tedavi planına göre, hastayı takip eden doktor tarafından belirlenen sıklıkta kan glukoz düzeyi ölçümü yapılmalıdır. Genel olarak, insülin tedavisi alan kişilerin günde 3 veya 4 kere kan glukoz takibi yapması gerekmekte olup, bu amaçla glukometre adı verilen kan glukoz ölçüm cihazları ve stripleri kullanılmaktadır.

Kullanılan araç, gereç ve cihazlar

- Glukometre
- Alkol, pamuk, lanset
- Glukometre stribi

Deneyin yapılışı

- Eller su ve sabunla yıkanıp, kurulanır veya kan örneği almak için delinecek parmak ucu alkollü pamuk ile temizlenir ve kurumaya bırakılır.
- Lanset adı verilen özel bir iğne ya da parmak delme cihazı ile parmak ucu delinir.
- Gelen kan damlası test stribinin ölçüm bölgesine emdirilir.
- Kullanılacak olan test stribi glukometreye yüklenir.
- Ekranda çıkan sonuç, tarih ve saat belirtilerek kayıt edilir.

Deneyde dikkat edilmesi gereken hususlar

Kan glukoz ölçümünün doğruluğu, tekniğin doğru uygulanmasına ve cihazın doğru çalışmasına bağlıdır.

- Striplerin son kullanım tarihi kontrol edilmeli ve son kullanım tarihi geçmiş olan stripler kullanılmamalıdır.
- Parmağın uygun derinlikte delinmesi önemli olup, delme işlemi sonrasında kan damlası gelmemesi halinde, parmak ucuna bası yapılması hatalı sonuçlara yol açacağından sakınılması gereken bir durumdur.
- Test stribine uygulanan kan damlası yeterli miktarda olmalıdır. Çok az veya çok fazla olan kan damlaları hatalı sonuçlara yol açabilir.
- İlk damla damlatıldıktan sonra stribin üzerine yeni bir damla damlatılmamalıdır.

- Cihazı kullanan kişiler, cihazlarını belli aralıklarla kalibrasyon stripleri ile kalibre etmeli, cihazın elektronik yapısını üretici firma tarafından kontrol ettirmelidir.
- Hastalar, doktorlarının belirlediği aralıklarla bir laboratuvar da kan glukoz ölçümü yaptırmalı, cihaz sonuçları ile laboratuvar sonuçları arasındaki farklılığı takip etmelidir.

Kan glukoz düzeyi referans düzeyleri

açlık kan glukoz değerinin 70-100 mg/ dl, tokluk kan glukoz değerinin ise 140 mg/ dl değerinin altında olması beklenir. Açlık ile kastedilen değer 8 saatlik açlık sonrası, tokluk ile kastedilen ise besin tüketiminden 2 saat sonra ölçülen kanda ölçülen glukoz değeridir.

Kan glukozunun arttığı ve azaldığı durumlar

Hiperглиsemiye yol açan durumlar

- Diyabet (şeker) hastaları
- İnsülin dozunu atlayan veya yetersiz insülin kullananlar
- Herhangi bir enfeksiyon sorunu yaşayanlar
- Kortizon kullananlar
- Pankreas kanseri hastaları
- Hemokromatozis (vücutta gereğinden fazla demir birikmesi) hastaları
- Kistik fibrozis hastaları
- Glukagonoma (bir tür pankreas tümörü) hastaları
- Cushing sendromu hastaları
- Akromegali hastaları
- Hipertiroidi hastaları
- Feokromositoma (böbrek üstü bezlerinde oluşan bir tür tümör) hastaları

Hipoglisemiye yol açan durumlar

- Gereğinden fazla insülin veya oral antidiyabetik kullanmak,
- Yemekleri ve ara öğünleri düzensiz saatlerde yemek
- Öğünlerde gereksinimden az karbonhidrat almak
- İlaçları yanlış zamanda kullanmak,
- Her zamankinden fazla egzersiz yapmak,
- Alkol kullanmak,
- Kadınlarda adet kanamasının başlaması,
- İnsülin enjeksiyonlarının yerini değiştirmek,
- Sindirim güçlüğü, mide boşalmasının gecikmesi,
- Soğuk/ılık ortamdan çok sıcak ortama geçmek.

Deney No : 3

Deney Adı: Hematokrit (Hct)

Deneyin Amacı: Hematokrit parametresinin ve Mikrohematokrit yöntemi ile hematokrit tayinin yapılmasının öğrenilmesi.

Hematokrit Tanımı

Eritrositlerin işgal ettiği hacmin total kan hacminin oranına **hematokrit** denir. 100 ml kanda süspansiyon hâlinde bulunan eritrositlerin hacmi, hematokrit (Hct) değeri olarak ifade edilir.

Hematokrit değeri, normalde hemoglobin miktarı ve eritrosit sayısı ile paralellik gösterir. Bu nedenle hematolojide ölçülmesi önemlidir.

Hematokrit Tayini

Hematokrit değerleri, elektronik kan sayım cihazlarıyla ve mikrohematokrit metodu ile tayin edilebilmektedir.

Mikrohematokrit Yöntemiyle Hematokrit Tayin Metodu

Kullanılan araç, gereç ve cihazlar

- Alkol, pamuk, lanset
- Heparinize kapiller tüp(1x70 mm)
- Cam macunu ya da bek alevi
- Mikro hematokrit santrifüjü
- Hematokrit okuma kartı

Hematokrit tayin tekniği

- Steril şartlarda delinen parmak ucundan akan veya antikoagülanlı venöz kan kapiller tüpün 2/3'ünü doldurana kadar alınır.
- Kapiller tüpün diğer ucu macunla veya bek alevinde ısıtılarak kapatılır. Tam kapatılamayan tüpün ucundan kan, santrifüj içine akar. Hem zaman kaybına hem de mikrosantrifüj cihazının kirlenmesine ve analizin tekrar edilmesine neden olur.
- Kapiller tüp, mikrosantrifüj cihazındaki oluğa kapalı ucu dışarı gelecek şekilde yerleştirilir.
- Karşısındaki oluğa başka bir hastadan alınan kan örneği yerleştirilir. Hangi oluğa hangi kanın yerleştirildiği not edilmelidir.
- Santrifüj kapağı sıkı bir şekilde kapatıldıktan sonra 12.000-15.000 rpm'de 2-5 dakika santrifüj edilir. Mikrohematokrit tüpüne alınan antikoagülanlı kan santrifüj edildiğinde eritrositler dibe çöker.
- Santrifüj bitiminde kapak açılır ve mikrokapiller tüp alınır.
- Mikrokapiller tüp mikrohematokrit okuma cihazına yerleştirilir, ayrılan eritrosit ve plazma sınırına (ayrıldığı yer) göre hematokrit değeri okunur.

- Eritrositlerin başlangıç yeri kartın '0' kısmına, plazmanın bittiği yer ise '100' işaretine getirilir. Eritrositlerin plazmadan ayrıldığı çizgide okunan değer, hematokrit değeridir.
- Okunan değer, % olarak rapor edilir.

Hematokritin Normal Değerleri

Hematokrit normal değerleri, yaş ve cinsiyete bağlı olarak değişir. Ayrıca deniz seviyesinden yüksek bölgelerde yaşayanlarda hematokrit daha yüksektir.

Sağlıklı bir erişkin kadında hematokrit değeri % 36-46, erkekte % 42-52'dir. Venöz kanla yapılan hematokrit değeri, kapiller kanla yapılandan biraz yüksek bulunur. Ayrıca mikrohematokrit metodu ile bulunan değer otomatik kan sayım cihazı ile bulunandan yüksektir.

Hematokritin azaldığı ve arttığı durumlar

Hematokrit miktarı, anemilerde düşer. Polisitemilerde, konjenital kalp hastalıklarında ve dehidratasyonda yükselir.

Deney No : 4

Deney Adı: Hemoglobin parametresi (Hgb)

Deneyin Amacı: Hemoglobin parametresinin ve Sahli Hemoglobin yöntemi ile Hgb tayini yapılmasının öğrenilmesi.

Teorik bilgi:

Hemoglobin, eritrositlerin yapısında bulunan, hem ve globinden oluşan kana kırmızı rengi veren bir pigmenttir. Hemoglobinin en önemli görevi, O₂ ve CO₂ taşımaktır.

Hgb: 100 ml kanda hemoglobinin gram cinsinden değeri.

Hemoglobin Tayin Metotları

Hemoglobin tayini, fotometrik ve kolorimetrik metotlarla yapılır.

1. Fotometrik Tayin Metodu

Bir maddenin belirli bir dalga boyunda ışığı absorbe etme (yutma) yeteneğine dayanarak renk şiddetini ölçen metottur.

Siyanmethemoglobin Yöntemi

Prensip: Drapkin solüsyonunda bulunan potasyum siyanit ve potasyum ferri siyanit ile hemoglobinin siyanmethemoglobine dönüşmesi ve oluşan rengin 540 nm'de spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanır.

2. Kolorimetrik Tayin Metodu

Renkli bir maddenin ışığı absorbe etme kabiliyetini ve konsantrasyonunu ölçerek bilinen (standart) bir solüsyonun absorbansı ile bilinmeyen (örnek) solüsyonun absorbansının renk kıyaslamasıdır.

Sahli Hemoglobin Yöntemi

Prensip: Hemoglobin, hidroklorik asit (0,1 N HCl) ile birleşince asit hematine dönüşür ve koyu kahverengi renk alır. Sonra standart renk ile aynı rengi bulana kadar distile su ilave ederek renk tayinine dayanır.

Hemoglobin + 0,1N HCl → Asit hematin

Kullanılan araç-gereç ve cihazlar

- Alkol, pamuk, lanset
- Hemoglobin pipeti
- 0,1 N HCl asit
- Distile su

- Sahli hemoglobinometre (hemometre)

Teknik

- Kapiller kan alma tekniğine uygun kişinin parmak ucu delinir ve ilk kandamlası kuru pamukla silinir.
- Sahli hemoglobinometre takımındaki taksimatlı tüpün 10 çizgisine kadar 0,1 N HCl asit konur.
- Hemoglobin pipetinin 0,02 ml işaretine kadar kan çekilir
- Taksimatlı tüp içindeki HCl asit içine pipetteki kan boşaltılır.
- Pipeti birkaç kere çekip boşaltmak sureyle karışması sağlanır.
- Karışım birkaç dakika bekletilir.
- Karışım üzerine damla damla distile su ilave ederken karışım cam bagetle karıştırılır.
- Karışımın rengi sahli cihazındaki standart renk ile aynı olana kadar distile su ile sulandırma işlemine devam edilir.
- Testin sonucu gram/desilitre olarak rapor edilir.

Testin değerlendirilmesi: Hemoglobinin asit hematine dönüşmesi ilk dakikalarda olur. Bu nedenle test uzun süre bekletilmeden tamamlanmalıdır. Gün ışığında ve göz hizasında, hemoglobin tüpündeki sıvının seviyesine göre okuma yapılır. Sonuç % g/dl olarak rapor edilir.

Hgb Normal Değerleri

Erişkin bayanlarda 12-16 g/dl

Erişkin erkeklerde 14-18 g/dl

Anemi, kan kaybı, polistemi (eritrosit sayısının normalden fazla olması) v.b. durumların değerlendirilmesinde kullanılır. Polistemi, egzersiz, sigara kullanımı, yüksek rakım gibi nedenler Hgb miktarını artırırken anemi ise Hgb değerini azaltır.

Deney No : 5

Deney Adı: Eritrosit sayımı (RBC)

Deneyin Amacı: RBC parametresinin ve Sayım karması ile RBC tayini yapılmasının öğrenilmesi.

ERİTROSİT SAYIMI (RBC TAYİNİ)

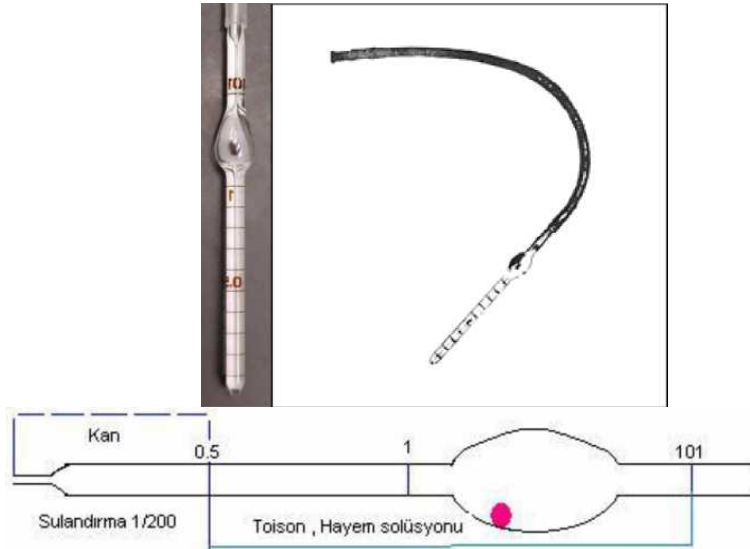
Eritrosit sayımı (RBC), bir milimetre küp periferik kandaki eritrositlerin sayısının bulunmasıdır. Anemi durumlarında, aneminin tipinin tayin edilmesi ve eritrosit indekslerinin hesaplanmasında yararlıdır. Günümüzde, eritrosit sayımı kan sayım cihazları ile yapılmaktadır.

Eritrosit Sayımında Kullanılan Malzemeler

- Alkollü pamuk
- Lanset ya da enjektör
- Eritrosit pipeti ve hortumu
- Sayım kamarası (Thoma veya Bright-Line sayım lamı)
- Eritrosit sayım solüsyonu
- Mikroskop

Eritrosit pipeti: Pipet uzunluğu yaklaşık 12 cm dir. Üst kısma yakın bir yerde içinde kırmızı boncuğu olan bir hazne bulunur. Pipet üzerinde, çekilen kan miktarını göstermek amacıyla 0,5 ve 1 çizgileri vardır. Haznenin üst kısmında dilüsyon hacmini gösteren 101 çizgisi bulunur.

Eritrosit pipeti, trombosit sayımında da kullanılır.

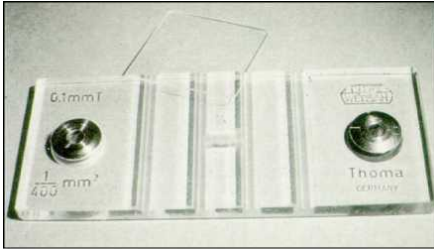


Eritrosit pipeti ve hortumu

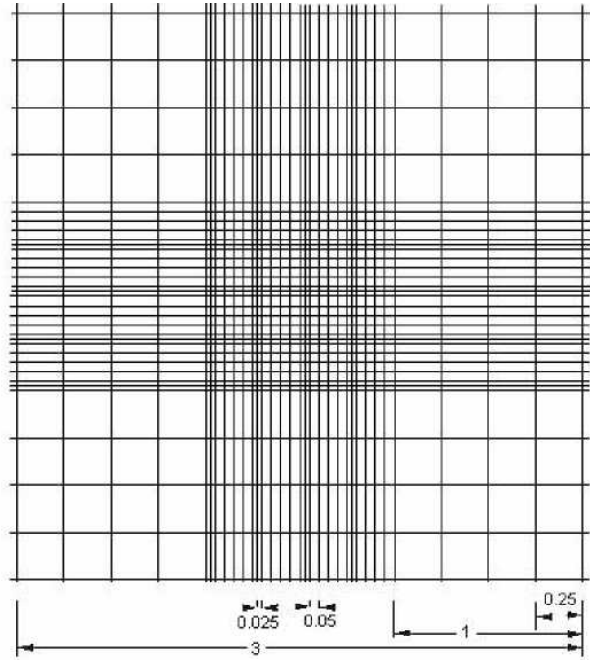
Sayım kamarası: Kan sayım lamı, hemositometre de denilen sayım kamaralarının Thoma, Bright-Line ve Neubauer lamı gibi değişik tipleri vardır.

1) Thoma sayım lamı; kenarları 1mm ve yüksekliği 0,1 mm olan bir odacıktan oluşur. Bu odacığın hacmi $1 \times 1 \times 0,1 \text{ mm}^3$, yani $0,1 \text{ mm}^3$ tür. Kenarları 1mm olan büyük kare enine ve boyuna üçlü çizgilerle 16 kareye bölünmüştür. (Üçlü çizgiler arasındaki hücreler sayılmaz.) Bu karelerden her birinin kenarı 0,2 mm.dir. Bu kareler de tekrar 16 küçük kareye ayrılmıştır. Bu karelerin her bir kenarı da 0,05 mm dir. En küçük karenin hacmi $0,05 \times 0,05 \times 0,1 \text{ mm}^3$, yani $0,00025 \text{ mm}^3$ tür.

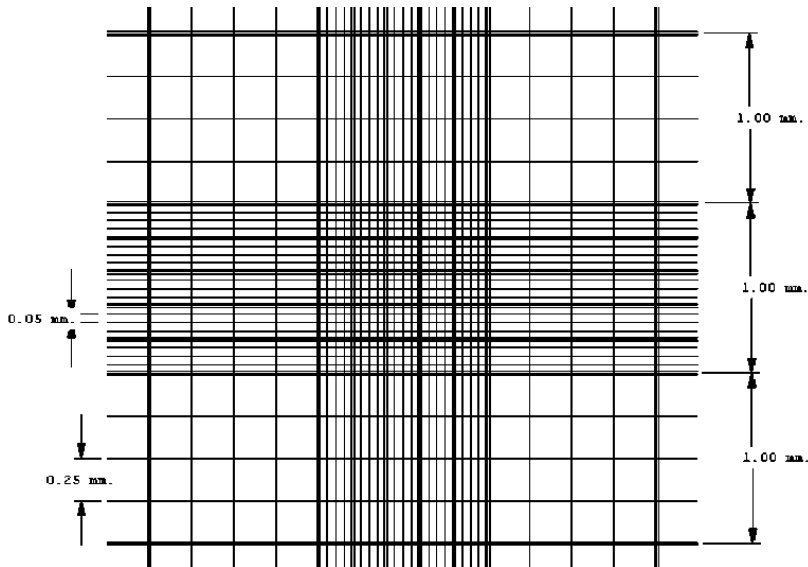
2) Bright-Line ya da Neubauer lamı: Ortada 25 küçük kare vardır. Bu karelerin her birinin kenarı 0,2 mm ve yüksekliği 0,1 mm' dir. Bir küçük karenin hacmi $0,2 \times 0,2 \times 0,1 \text{ mm}^3$, yani $0,004 \text{ mm}^3$ tür.



Thoma Lamı



Thoma Laminın mikroskopta görünümü



Bright-Line laminın mikroskopta görünümü

Eritrosit sayım solüsyonu: Kan hücrelerinin sayımında kullanılan solüsyonların izotonik olması, yani farklı iki eriyiğin osmotik basınçlarının eşit olması ve koagülasyonu önlemesi gerekir. Eritrosit sayımında bu özelliklere sahip şu çözeltilerden birisi kullanılır.

1) %0,9'luk serum fizyolojik (SF)

9 gram NaCl₂ bir miktar distile suda eritilerek 1000 ml'ye tamamlanır.

2) Hayem solüsyonu

Sodyum sülfat 2.5 gram Sodyum klorür 0,5 gram Civa klorür 0,25 gram tartılır ve distile suyla 100ml.ye tamamlanır.

3) Gower solüsyonu

Sodyum sülfat 12.5 gram, Asetik asit 33.3 ml, Distile suyla 200 ml'ye tamamlanır.

4) Toissin solüsyonu

Sodyum sülfat 8 gram Sodyum klorür 1 gram Metil violet 0,025 gram Gliserin neutre 30 ml Distile su 160 ml ile hazırlanır.

Sayım solüsyonları koyu renkli cam şişelere konup üzerine solüsyonun adı, hazırlanış tarihi yazılarak uygun ortamlarda saklanır.

Eritrosit Sayım Tekniği

Eritrosit sayımında antikoagülanlı venöz kan ya da kapiller kan kullanılır.

➤ Kapiller kan alma tekniğine uygun olarak parmak ucu alkollü pamukla temizlenir. Kuru pamukla kurulanır.

➤ Steril lansetle parmak ucu delinir.

➤ Çıkan ilk kan damlası kuru pamukla silinir.

➤ Eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekilir.

➤ Pipetin dış kısmına bulaşan kan silinir.

➤ Pipetin 101 işaretine kadar eritrosit sayım solüsyonu çekilir. Kan ve sayım solüsyonu çekerken hava kabarcığı olmamasına dikkat edilir.

➤ Pipetin her iki ucu kapatılarak 30 saniye yavaşça sallanır. Eğer otomatik sallayıcı var ise 3 dakika sallamaya bırakılır. Bu sırada pipetin haznesindeki boncuk serbestçe hareket etmelidir.

➤ Sayım kamarasının üzerine lamel kapatılır.

➤ Pipetteki karışımın 2-3 damlası dışarı atılır. Sonra sayım kamarasının sayma odacıklarına (lam ile lamel arasındaki boşluğa), dışarı taşmayacak şekilde karışım doldurulur. Hava kabarcığı olmamasına dikkat edilir.

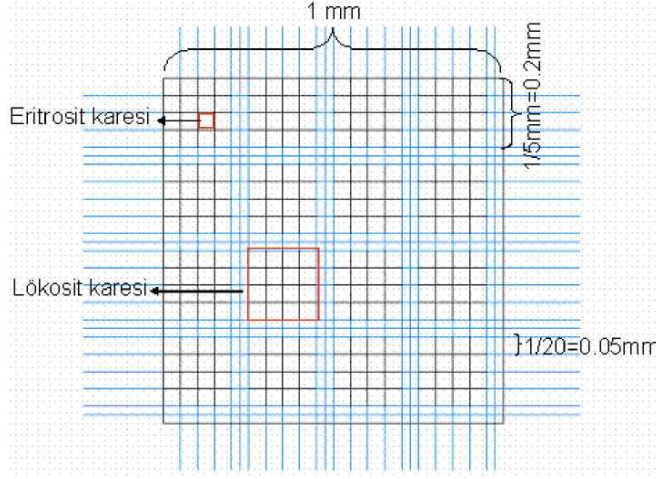
➤ Sayım kamarası mikroskobun tablasına yerleştirilir.

➤ Karışımın sayım kamarasına dağılımı için birkaç dakika beklenir.

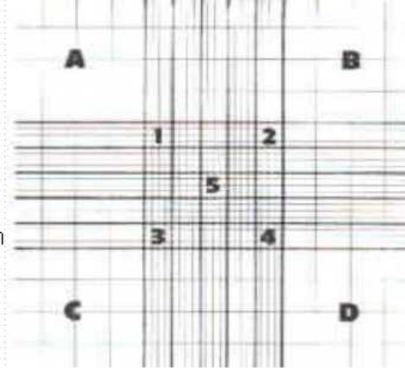
➤ Mikroskopta önce küçük büyütme (10x'luk) ile saha bulunur. Revolver çevrilerek 10'luk objektif sayım kamarasının ortasındaki karenin üzerine getirilir. Şaryo ve makro vida yavaş yavaş çevrilerek sayım yapılacak alan bulunur.

➤ 10'luk objektifle saha bulunduktan sonra revolver çevrilerek 40'luk objektif sayım kamarasının ortasındaki karenin üzerine getirilir. 40x'lık objektifle sayıma başlanır. Mikro vida yavaş çevrilerek sayım yapılacak alanda görüntü netleştirilir.

➤ Sayım prensibine uyarak tüm alandaki hücrelerin sayımı yapılır.



Mikroskopta thoma lamında eritrosit sayımı yapılacak kareler



Mikroskopta Bright-Line lamında eritrosit sayımı yapılacak

➤ Sayıma sol en üst kareden başlanır. Sağa doğru karelerdeki hücreler sayılır. Sonra alt sağ kareye geçilerek sola doğru, sonra sol kareden alt sol kareye geçilir ve sağa doğru sayıma devam edilir.

➤ Sayım kamarasındaki sol ve üst çizgilere isabet eden hücreler sayılır. Alt ve sağ çizgilere isabet eden hücreler sayılmaz.

➤ 40x'lık objektifle içlerinde 16'şar küçük kare bulunan birbirinden uzak 5 büyük karedeki eritrositler sayılır.

➤ Karenin içindeki, sol ve üst kenardaki eritrositler sayıma dahil edilir; böylece 80 küçük karedeki eritrositler sayılmış olur.

Eritrosit Sayım Sonucunun Hesaplanması

1 mm³ kandaki eritrosit sayısını bulmak için hacim ve sulandırma(dilüsyon) katsayısını hesaplamak gerekir.

Sulandırma katsayısı: Eritrosit pipetinde kan 0,5 çizgisine kadar çekilir ve 101 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanır. 200 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 200'dür. Eğer kan 1 çizgisine kadar çekilir ve 101 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanır. 100 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 100'dür.

Hacim katsayısı: 5 büyük karedeki (80 küçük kare) eritrosit sayımı yapıldığı için 5 büyük karenin hacmi hesaplanır.

$$V = a^2 \cdot h$$

$$V = 0,2 \times 0,2 \times 0,1 \quad V = 0,004 \text{ mm}^3$$

1 büyük karenin hacmi 0,004 mm³'tür. 5 büyük karenin hacmi ise 0,004 x 5 = 0,02 mm³'tür. 1 mm³ deki eritrosit sayısını bulmak için :

$$0,02. X = 1 X = 1: 0,02$$

X= 50 (Hacim katsayısı)

80 küçük karenin hacmi 0.02 mm^3 tür. Bir mm^3 için sayı 50 ile sonra kan 200 defa dilüe edildiğinden 200 ile çarpılır.

1 mm^3 kandaki eritrosit sayısı = Sayılan eritrosit sayısı x 50 x 200 1 mm^3 kandaki eritrosit sayısı = Sayılan eritrosit sayısı x10000

Örneğin; kan eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar çekilip 5 büyük karede 450 eritrosit sayılırsa;

1 mm^3 kandaki eritrosit sayısı = $450 \times 50 \times 200$ 1 mm^3 kandaki eritrosit sayısı = $4.500.000 / \text{mm}^3$ sonucu verilir.

Normal Değerler

- ❖ Erişkin erkekte : $4.500.000-6.000.000 / \text{mm}^3$ kan
- ❖ Erişkin kadında : $4.000.000-5.000.000 / \text{mm}^3$ kan
- ❖ Eritrosit sayısının normal değerlerin üzerinde olmasına polisitemi, eritrosit sayısının normal değerlerin altında olmasına anemi denir.

Eritrositlerin Arttığı ve Azaldığı Durumlar

- ❖ Eritrosit sayısı, çeşitli tip anemilerde azalır.
- ❖ Polisitemi, konjenital kalp hastalıklarında ve yüksek yerlerde yaşayanlarda artar.

Deney No : 6

Deney Adı: Eritrosit İndeksleri

Deneyin Amacı: Eritrosit İndeksleri (MCV, MCH ve MCHC) parametrelerini ve hesaplamasının öğrenilmesi.

Eritrosit İndeksleri, Eritrositlerin büyüklüğünü ve hemoglobin miktarını belirtir. Anemi tiplerinin ayırıcı tanısında yardımcıdır. Anemilerin; hipokrom, normokrom, mikrositer, makrositer ya da normositer tipte olup olmadığı eritrosit indekslerinin hesaplanması ile ortaya çıkarılır.

3 çeşit eritrosit indeksi vardır:

- ❖ Ortalama Eritrosit Hacmi / MCV (Mean Corpuscular Volüme)
- ❖ Ortalama Eritrosit Hemoglobini / MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin)
- ❖ Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu / MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration)

Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)

OEH, kanda mevcut eritrositlerin ortalama hacmini mikron küp (μ^3) olarak verir.

$$MCV = \frac{\text{hematokrit}(\%) \times 10}{\text{eritrosit sayısı (mm}^3\text{)}}$$

Sağlıklı bir erişkinde ortalama eritrosit volümü, $80-96 \mu^3$ kadardır.

Ortalama eritrosit hacmi; $< 80 \mu^3$ ise eritrositler normalden küçük (mikrosit),

Ortalama eritrosit hacmi; $> 94 \mu^3$ ise eritrositler normalden büyük (makrosit),

Ortalama eritrosit hacmi; $80-94 \mu^3$ aralığında ise eritrosit hacmi normal (normosit) demektir.

Ortalama eritrosit hacmi değerine göre hastadaki anemi; mikrositer, makrositer veya normositer olarak tanımlanır.

MCV, megaloblastik anemi gibi makrositer anemi durumlarında normalin üst sınırından yüksektir.

MCV, demir eksikliği anemisi gibi hipokrom mikrositer anemi durumlarında normalin alt sınırından düşüktür.

Ortalama eritrosit volümünün arttığı durumlar

Megaloblastik anemi, makrositik anemi, kronik amfizem ve kronik bronşit, hipotiroidizm, karaciğer hastalıkları ve ağır alkolizmde MCV artar. Eritrositler yeni doğanda makrosittir; altı hafta sonra erişkindeki gibi olur.

Ortalama eritrosit volümünün azaldığı durumlar

Demir eksikliği anemisi, idiopatik hipokrom anemi, kronik kanama anemileri ve gebelik anemisinde MCV düşer.

Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH)

Kanda mevcut eritrositlerin hemoglobin miktarını mikro mikrogram ya da picogram (pg) (10^{-12} gram) olarak verir.

$$\text{MCH} = \frac{\text{hemoglobin (g/dl)} \times 10}{\text{eritrosit sayımı (mm}^3\text{)}}$$

Sağlıklı bir erişkinde ortalama eritrosit hemoglobini, 27-31 pg kadardır. Ortalama eritrosit hemoglobini; < 28 pg ise hipokromi ve mikrositoz düşünülür, bu durumda genellikle hipokrom mikrositer anemi vardır.

Ortalama eritrosit hemoglobini; 28-32 pg arasında normokromi vardır.

Ortalama eritrosit hemoglobini; > 32 pg ise eritrositlerde demir miktarının normalden fazla olduğu anlaşılır. Bu durumda genellikle makrositoz vardır.

Ortalama eritrosit hemoglobinin arttığı durumlar

Pernisiyöz anemi ve makrositer gebelik anemisi gibi megalositer anemiler, protein eksikliği anemisi, sferositoz ve folik asit antagonistleri ile tedavi durumlarında MCH artar.

Ortalama eritrosit hemoglobinin azaldığı durumlar

Primer demir eksikliği anemisi, kanama anemileri, idiopatik hipokrom anemi ve gebelik anemisinde MCH azalır.

Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC)

Kanda mevcut eritrositlerin sahip olduğu hemoglobin konsantrasyonunu % olarak verir. Yani kanda ortalama değeri bilinen eritrositin kapsadığı hemoglobin değeridir.

$$\text{MCHC} = \frac{\text{hemoglobin (g/dl)}}{\text{hematokrit(\%)}} \times 100$$

Sağlıklı bir erişkinde ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, % 32-38 g'dır.

Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu; %32-38 g arasında ise normokromi,

Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu; < %32 g ise hipokromi düşünülür.

Genellikle % 38 g'dan yüksek değerlere rastlanmaz, yani hiperkromi yoktur. Çünkü hemoglobin miktarı arttıkça hücre hacmi de büyür ve dolayısıyla hematokrit değeri de büyür ve oran bozulmaz. Ancak ileri derecede sferositoz olan durumlarda MCHC normal değeri yüksek olabilir.

Ortalama eritrosit hemoglobinin konsantrasyonunun arttığı durumlar

Şiddetli ishal, durdurulamayan kusmalar gibi uzun süren dehidratasyon hâllerinde MCHC artar.

Ortalama eritrosit hemoglobinin konsantrasyonunun azaldığı durumlar

Demir eksikliği anemisi, konjenital hemolitik anemiler, kanama anemisi, gebelik hidremisi ve su zehirlenmesinde MCHC azalır.

Deney No : 7

Deney Adı: Lökosit sayımı (WBC)

Deneyin Amacı: WBC parametresinin ve Sayım karması ile WBC tayini yapılmasının öğrenilmesi.

Lökosit Sayımı (WBC Tayini); Bir milimetreküp periferik kandaki lökositlerin sayısının bulunmasıdır.

Lökositler, Eritrositlerden daha büyük, çekirdekli, pigmentleri olmayan ve renksiz hücrelerdir. Lökositler kemik iliğinde yapılmaktadır; ancak lenfositler kemik iliği ile beraber dalak ve lenf nodüllerinde de yapılmaktadır. Lökositler, periferik (dolaşım) kanda 6-7 saat kaldıktan sonra dokulara geçerler. Görevi; vücudu enfeksiyonlara vb. dış etkenlere karşı korumak, vücudun savunma mekanizmasında rol oynamaktır. Periferik kanın 1mm³ ünde 4.000-10.000 lökosit bulunur. Lökosit sayısının 1mm³ kandaki değerinin 4.000'in altına düşmesine lökopeni, 10.000'in üstünde olmasına lökositoz denir.

Lökosit Sayımında Kullanılan Malzemeler

- Alkollü pamuk
- Lanset ya da enjektör
- Lökosit pipeti ve hortumu
- Sayım kamarası (Thoma veya Bright-Line sayım lamı)
- **Lökosit sayım solüsyonu:** Lökosit sayımında Türk solüsyonu kullanılır. Glasiyal asetik asit 3 ml, Gentian violet 1ml konarak distile suyla 100 ml'ye tamamlanır.
- Mikroskop

Lökosit Sayım Tekniği

Lökosit sayımında antikoagülanlı venöz kan ya da kapiller kan kullanılır.

➤ Kapiller kan alma tekniğine uygun olarak parmak ucu alkollü pamukla temizlenir, kuru pamukla kurulanır.

➤ Steril lansetle parmak ucu delinir.

➤ Çıkan ilk kan damlası kuru pamukla silinir.

➤ Lökosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar kan çekilir.

➤ Pipetin dış kısmına bulaşan kan silinir.

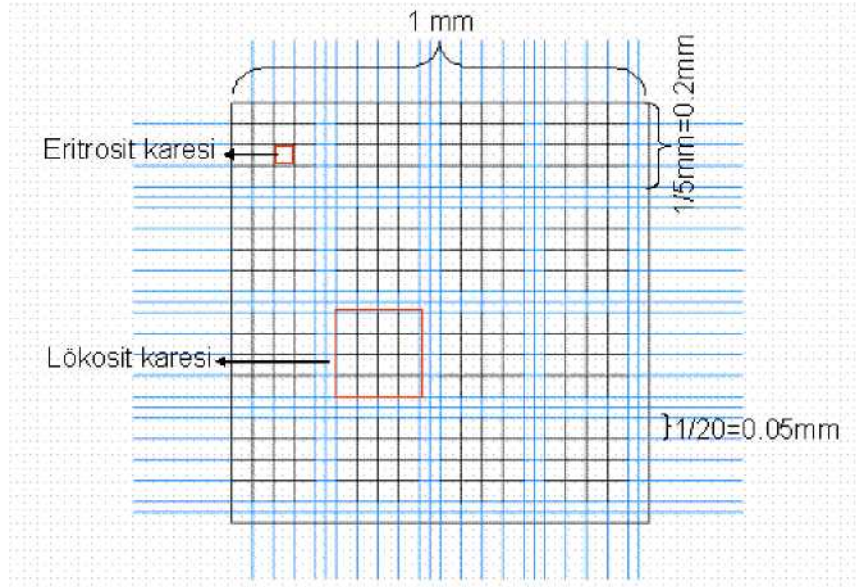
➤ Pipetin 11 işaretine kadar lökosit sayım solüsyonu çekilir. (Kan ve sayım solüsyonu çekerken hava kabarcığı olmamasına dikkat edilmelidir.)

➤ Pipetin her iki ucu kapatılarak 30 saniye yavaşça sallanır. Eğer otomatik sallayıcı var ise 3 dakika sallamaya bırakılır. Bu sırada pipetin haznesindeki boncuk serbestçe hareket etmelidir.

➤ Sayım kamarasının üzerine lamel kapatılır.

➤ Pipetteki 2-3 damla dışarı atılır. Sonra sayım kamarasının sayma odacıklarına (lam ile lamel arasındaki boşluğa) dışarı taşmayacak şekilde karışım doldurulur. Hava kabarcığı olmamasına dikkat edilmelidir.

- Sayım kamarasına karışımın dağılımı için birkaç dakika beklenir.
- Sayım kamarası mikroskobun tablasına yerleştirilir.
- Mikroskopta önce küçük büyütme (10x'luk) ile saha bulunur.
- Büyük büyütme (40x'lık) ile sayıma başlanır.
- Sayım prensibine uyarak tüm alandaki (thoma lamında 16 büyük karedeki) lökositlerin sayımı yapılır.



Şekil: Mikroskopta thoma lamında lökosit sayımı yapılacak kareler

Lökosit Sayım Sonucunun Hesaplanması

1 mm³ kandaki lökosit sayısını bulmak için hacim ve sulandırma(dilüsyon) katsayısını hesaplamak gerekir.

Sulandırma katsayısı: Lökosit pipetinde kan 0,5 çizgisine kadar çekilir ve 11 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanırsa 20 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 20'dir. Eğer kan 1 çizgisine kadar çekilir ve 11 çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanırsa 10 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 10'dur.

Hacim katsayısı: 16 büyük karedeki lökosit sayımı yapıldığı için 16 büyük karenin yani lamin tamamının hacmi hesaplanır.

- $V = a^2 \cdot h$ $V = 1 \times 1 \times 0,1$ $V = 0,1$ mm³
- 16 büyük karenin hacmi 0,1 mm³'tür.
- 1 mm³ deki lökosit sayısını bulmak için:

$$0,1 \times X = 1 \quad X = 1 : 0,1$$

- $X = 10$ (Hacim katsayısı)

- 16 büyük karenin hacmi $0,1 \text{ mm}^3$ tür. Bir mm^3 için sayı 10 ile ve sonra kan 20 defa dilüe edildiğinden 20 ile çarpılır.

1 mm^3 kandaki lökosit sayısı = Sayılan lökosit sayısı x hacim katsayısı x sulandırma katsayısı

1 mm^3 kandaki lökosit sayısı = Sayılan lökosit sayısı x 10×20 1 mm^3 kandaki lökosit sayısı = Sayılan lökosit sayısı x 200

- Örneğin; 16 büyük karede 45 lökosit sayılırsa;

$$45 \times 200 = 9000$$

Lökosit sayısını arttığı ve azaldığı durumlar

Apandisit, tonsillit, menenjit, apseler, romatizma, bakteriyel infeksiyonlarda, lösemide, gebelikte, ülserlerde ve yeni doğanlarda lökositoz görülür.

Kızamık, brucellozis, agranülositoz, hepatit, kemik iliği hastalıkları gibi durumlarda lökopeni görülür.

Deney No : 8

Deney Adı: Periferik Yayma (Lökosit Formülü)

Deneyin Amacı: Periferik yayma ile lökosit formülünün belirlenmesi.

PERİFERİK YAYMA/FORMÜL LÖKOSİT

Periferik yayma, kan veya kemik iliğinden alınan örneklerden Şekli elemanların morfolojik olarak incelenmesi ve lökositlerin % oranlarının belirlenmesi amacıyla yapılan bir işlemdir. Periferik yayma, anemi tiplerinin belirlenmesi ve birçok hastalıkların tanısında önemlidir. Amaç kanda veya kemik iliğinde bulunan hücreleri morfolojik olarak incelemek, lökositlerin % oranlarını ve boyama özelliklerini tespit etmektir.

Formül Lökosit İçin Preparat Hazırlama Yöntemi

Formül lökosit için preparat, lam ve lamel yöntemiyle hazırlanır.

Lâm Yöntemiyle Preparat Hazırlama

Araç ve Gereçler

- %70'lik alkol
- Pamuk
- Lanset
- Lâmb

Teknik

- Kişisel koruyucu güvenlik önlemleri alınır.
- Temiz iki lâmb alınır.
- Tekniğine uygun olarak kapiller veya EDTA'lı tüpe venöz kan alınır.
- Lâmbın uç kısmının yakın bölümüne bir damla kan konur. Kapiller kan alınırken lâmb cilde temas ettirilmemelidir.
- Lâmbın yan kenarından kan damlası üstte gelecek Şekilde ve damlanın olmadığı köşeden sol el baş ve işaret parmağı ile tutulur.
- Sol elin küçük parmağı ile lâmb alttan desteklenir.
- İkinci lâmb (yayıcı lâmb) sağ ele alınır, kan damlasının önüne 40 - 450 açı olacak biçimde tutulur.
- Yayıcı lam biraz geriye çekilerek kanın lâmbın uç kısmına dağılması sağlanır ve lâmb tek bir hareketle titretmeden ileriye doğru itilerek kanın yayılması sağlanır.
- Yayma, sabit lâmbın 2/3' üne kadar sürdürülür.
- Hastanın ismi veya protokol numarası, lâmbın boş kısmına yazılır.
- Yayma yapılan preparat, oda sıcaklığında yayma kısmı üstte olacak Şekilde temiz bir yerde kurumaya bırakılır.

Lâmel Yöntemi ile Preparat Hazırlama

Araç ve gereçler

- %70'lik alkol
- Pamuk
- Lanset
- Lâmel (22 x 22mm eninde ve 0,13 - 0,17 mm kalınlığında)

Teknik

- Kişisel koruyucu güvenlik önlemleri alınır.
- İki adet temiz lâmel alınır.
- Tekniğine uygun olarak kapiller veya EDTA'lı tüpe venöz kan alınır.
- Lâmelin iki köşesinden tutularak sol elin baş parmağı ile işaret parmağı arasına alınır.
- Lâmel üzerine (orta kısmına) bir damla kan konur. Kapiller kan kullanılacaksa cilde temas ettirmemeye dikkat edilir.
- Sağ elle ikinci bir lâmel alınır, işaret ve başparmağı ile köşelerinden tutulur.
- İkinci lâmel, kan damlasının üzerine gelecek şekilde lâmelin üzerine çapraz (sekiz köşe olacak şekilde) konur ve kanın, iki lamel arasında yayılması sağlanır.
- İki lâmel baskı yapmadan ve pıhtılaşma olmadan birbirini üzerinden kaydırılarak çekilir ve birbirinden ayrılır.
- Lâmeler, yayma yapılan tarafları yukarıya gelecek şekilde temiz bir kağıt üzerine konur ve kurumaya bırakılır.

Periferik Yayma Yaparken Dikkat Edilecek Noktalar

- ❖ Yayma yaparken kuru ve temiz lam - lameller kullanılır. Aksi halde yaymanın bozulmasına sebep olur.
- ❖ Kan yayması esnasında kanın, lâma eşit yayılmasını sağlamak için kullanılan lamaların kenarlarının düzgün olmasına dikkat edilir.
- ❖ Periferik yayma yaparken lâm veya lâmele konulan kan damlasının normalden büyük veya küçük olmamasına dikkat edilir. Kan damlası büyük olursa yayma kalın olur ve hücrelerin morfolojik incelenmesi mümkün olmaz. Kan damlası küçük ise yayma gereğinden fazla ince olur.
- ❖ Periferik yayma yaparken lâmlar birbirine kuvvetli sürtülmemelidir. Sürtme işlemi kuvvetli yapılırsa hücreler parçalanır ve yaymada artefakt (suni oluşum) oluşur.
- ❖ Kan damlası lâm ve lâmele alınır alınmaz yayma yapılması gerekir; aksi takdirde gecikirse kan hücrelerinin dağılımı değişir. Büyük lökositler yaymanın kenarında toplanır. Eritrositlerde rulo teşekkülü; trombositlerde kümeleşme görülür.
- ❖ Yayma yapılırken el titretilmemelidir. Titreşim kan hücrelerinin düzgün dağılımını engeller ve sayımda hatalı sonuçlara neden olur.
- ❖ Eritrositlerde Şekil bozukluğu oluşmasını önlemek için yaymanın kısa sürede kurutulması gerekir.
- ❖ Periferik yayma kurumadan boyama yapılmaması gerekir.

PERİFERİK YAYMA PREPARATINI BOYAMA

Periferik Yayma Preparatı Boyama Yöntemleri

1. Wright Boyama Tekniği

Araç – gereçler

- Boyama sehпасı
- Pens
- Metil alkol
- Stok Wright boyası

Teknik

- 1 ml distile suya 1-2 damla stok wright boyası konur ve karıştırılarak homojen hale getirilir.
- Tekniğine uygun olarak hazırlanan ve oda ısısında kurutulan yayma preparat, yayma yapılan kısım yukarıya gelecek şekilde boyama sehпасının ızgarası üzerine konur.
- Metil alkol yayma preparat üzerini kaplayacak şekilde dökülerek 5 dakika tespit edilir.
- Lamın kenarından pens ile tutulur ve üzerindeki metil alkol dökülür.
- Sulandırılmış Wright boyası yayma preparat üzerini kaplayacak şekilde konulur.
- Kan hücrelerinin boyanması için 15-30 dakika beklenir.
- Lam/lamelin kenarından pens ile tutulur ve üzerindeki boya dökülür.
- Boyama yapılan yayma preparat, son damlası berrak oluncaya kadar distile su ile yıkanır.
- Distile su ile yıkanan yayma preparat oda ısısında temiz bir zemin üzerinde kurumaya bırakılır.
- Boyanan yayma preparat mikroskopik inceleme için uzman hekime iletilir.

2. Giemsa Boyama Tekniği

Araç – Gereçler

- Boyama sehпасı
- Pens
- Tampon çözelti
- Metil alkol
- Stok Giemsa boyası
- Distile su
- Stok Giemsa boyası

Teknik

- Mezüre 10 ml tampon çözelti konur. Üzerine 12 damla Stok Giemsa boyası konarak homojen hale getirilir.
- Tekniğine uygun olarak hazırlanan ve oda ısısında kurutulmuş olan yayma preparat, yayma yapılan kısım yukarıya gelecek şekilde boyama sehпасı üzerine konur.
- Yayma preparatı kaplayacak şekilde metil alkol konur.

- Yayma preparatı tespit etmek için 5 dakika beklenir.
- Lam/lamelin kenarından pens ile tutularak yayma preparat üzerindeki metil alkol dökülür.
- Yayma preparat oda ısısında kurutulur.
- Yayma preparat üzerine yayma yapılan kısmı kaplayacak şekilde Giemsa boyası dökülür. 15-30 dakika beklenir. (yayma preparat malarya veya kalaazar teşhisi amacı ile yapılırsa boyama için 50-60 dakika beklenir.)
- Son damla berrak oluncaya kadar, yayma preparat distile su ile yıkanır
- Distile su ile yıkanan yayma preparat oda ısısında kurumaya bırakılır.
- Boyanan preparat mikroskopik inceleme için uzman hekime iletilir.

3. My - Grunwald – Giemsa Boyama Tekniği

Araç – Gereçler

- Boyama sehpası
- Pens
- Mezür
- Alkol
- Distile su
- My- Grunwald boyası
- Stok Giemsa boyası

Teknik

- Mezüre 10 ml tampon çözelti konur. Üzerine 12 damla stok Giemsa boyası konarak homojen hale getirilir.
- 1 ml distile suya 1-2 damla Giemsa boyası konarak homojen hale getirilir.
- Preparat, boyama sehpasına yerleştirilir.
- May-Grunwald boyası yayma preparatı kaplayacak şekilde damla damla dökülür.
- 3 dakika beklenerek preparat tespit edilir.
- Preparat üzerindeki boya dökülmeden ve taşırmayacak şekilde distile su eklenir. Lam üzerine hafifçe üflenerek karışması sağlanır. May-Grunwald boyası distile su ile sulandırıldıktan sonra kan hücrelerini boyama özelliği kazanır.
- 5 dakika beklenir.
- Lamın kenarından pens ile tutarak preparat üzerindeki boya dökülür.
- Preparat distile su ile yıkanır.
- Preparat üzerine sulandırılmış Giemsa boyası konur.
- Preparat, oda ısısında 20 dakika bekletilir.
- Preparat, son damlası berrak oluncaya kadar distile su ile yıkanır.
- Preparat, oda ısısında kurumaya bırakılır.
- Boyalı preparat, mikroskopta incelemek üzere uzmana gönderilir.

Periferik Yayma Preparatı Boyamada Dikkat Edilecek Noktalar

- ❖ Yayma preparatın boyanmasında kullanılan boyalar tekniğine uygun olarak hazırlanmalıdır.
- ❖ Boyamada kullanılan malzemeler, boya atıklarından temizlenmiş olmalıdır.
- ❖ Preparat kurumadan boyama işlemine başlanmamalıdır.
- ❖ Boya yeterli miktarda konulmalıdır. Az konursa kan hücreleri yeterince boyanmaz ve mikroskopik incelemede hücreler morfolojik görünüm olarak ayırt edilemez.
- ❖ Boya fazla konursa preparat üzerinde boya tabakası oluşur. Mikroskopik incelemede boya tabakası kalın olduğundan kan hücreleri morfolojik olarak ayırt edilemez.
- ❖ Boyamada zaman dilimine dikkat edilmelidir. Boyanın preparat üzerinde belirtilen süreden çok kalması hücrelerin fazla boyanmasına neden olur. Bu durum hücrelerin morfolojik görünümünü engeller ve lâm üzerinde kalan boya partikülleri trombosit görünümü alır. Boyanın belirtilen süreden az kalması hücrelerin az boyanmasına neden olur. Mikroskopik incelemede hücrelerin morfolojik görünümü ayırt edilemez.
- ❖ Preparat, tazyiksiz distile su ile boya artığı kalmayacak şekilde tekniğine uygun olarak yıkanmalıdır.
- ❖ Preparat, boyama işlemi bittikten sonra çıplak gözle pembe görünümde olmalıdır. Boyandıktan sonra koyu mavi renk almamış olmasına dikkat edilmelidir. Koyu mavi - mor renk almış olması, preparatın kalın yayılmasından, yetersiz yıkamadan veya uzun süreli boyamadan kaynaklanır.
- ❖ Preparatın mikroskopik incelemesinde; eritrositler pembe, lökositler mavi renkte ve trombositler mavi – mor renkte görülmelidir.

Formül Lökosit Sayımı

Boyanmış ve kurutulmuş yayma preparatı üzerine immersiyon yağı damlatılır. 100'lik objektif ile mikroskopta incelenir. Tekniğine uygun olarak hazırlanmış yayma preparatta kan hücreleri tek tek ve yeterli boya almış olarak görülür.

Preparat uzman hekim tarafından incelenir. 100 lökosit hücresi sayılarak % oranları belirlenip rapor edilir.

Normal Bir Yaymada Görülen Hücreler Ve Normal değerleri

Nötrofiller : % 50 – 70

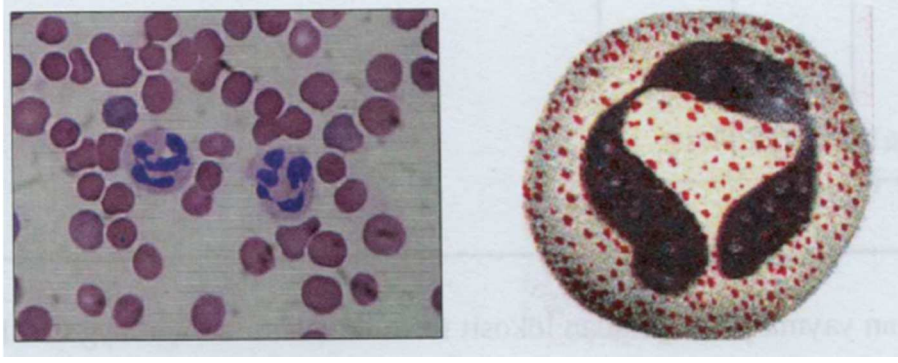
Lenfositler : % 20 – 40

Monositler : % 0 - 2

Bazofiller : % 0 - 1

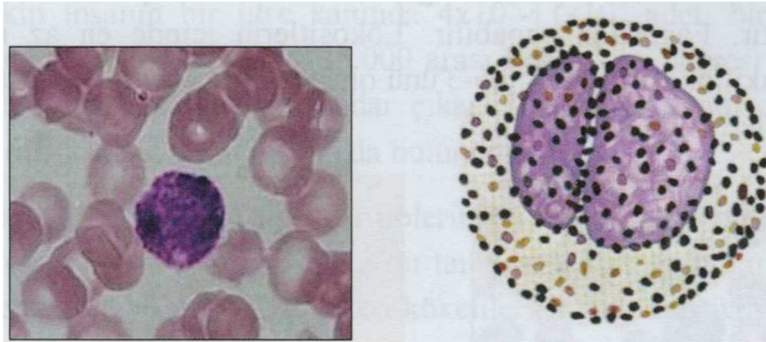
Eozinofiller : % 0 – 2

Nötrofiller : Özellikle bakteriyel ve mantar enfeksiyonlarla savaşta görevlidirler.



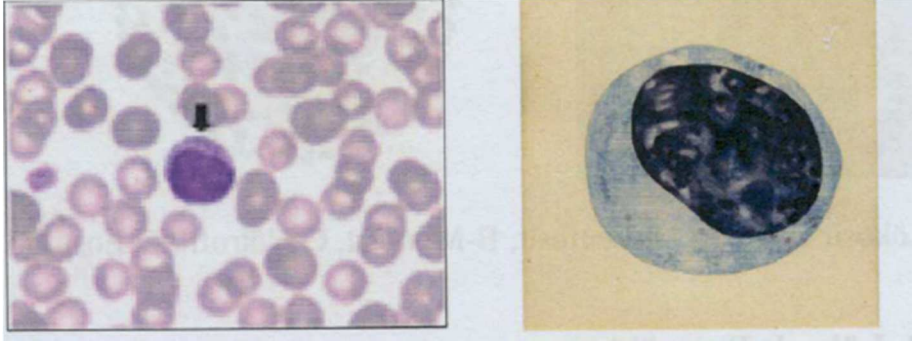
Nötrofillerin arttığı durumlar	Nötrofillerin azaldığı durumlar
• Osteomyelit • Otitis media • Üriner sistem enfeksiyonları • Miyokard enfarktüsü • Yanıklar • Karsinoma • Diyabetik asidoz • Tirotoksikoz • Akut hemoraji • Aşırı egzersiz • Akut romatizmal ateş • Romatoid artrit	• Brusella • Tifo • Kızamık • Kızamıkçık • Kabakulak • Hipersplenizm • Karaciğer hastalıkları • Lösemiler • Aplastik anemi • Megablastik anemi (folik asit, B12 vitamin eksikliği)

Bazofiller: İltihabın kontrolünde etkilidirler.



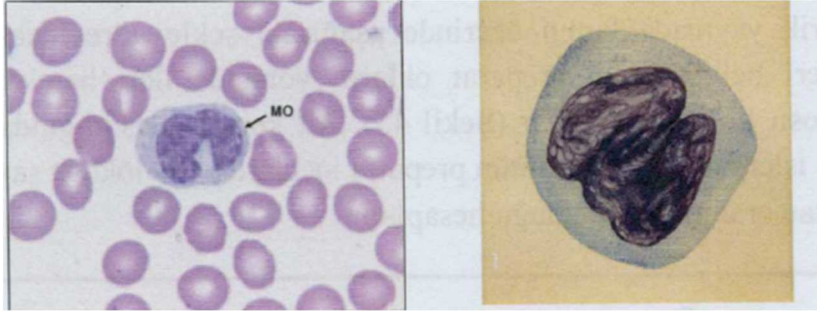
Bazofillerin arttığı durumlar	Bazofillerin azaldığı durumlar
• Lösemi • Hodgkin lenfoma • Polisitemia vera • Hemolitik anemi • Splenektomi sonrası	• Hipertiroidizm • Gebelik • Stres • Kortikosteroidler • Aşırı duyarlı reaksiyonlar

Lenfositler: Özellikle viral enfeksiyonlarda bağışıklık için yararlı hücrelerdir.



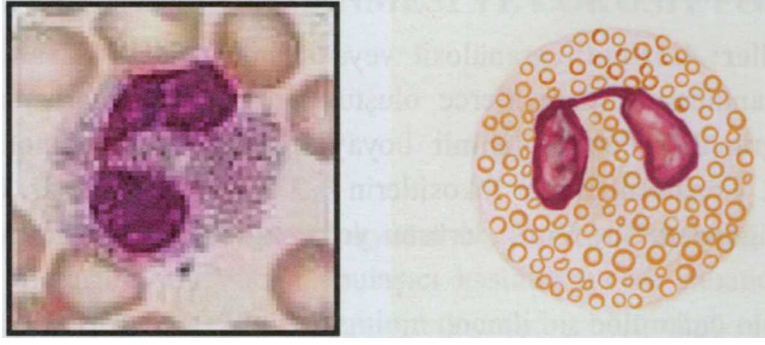
Lenfositlerin arttığı durumlar	Lenfositlerin azaldığı durumlar
• Boğmaca • Brucellozis • Sifiliz • Tüberküloz • Hepatit • Kabakulak • Kızamıkçık • Enfeksiyöz mononükleozis • Tirotoksikoz • Lösemi	• Pnömoni • Aplastik anemi • İmmün yetmezlik hastalıkları • Konjestif kalp yetmezliği • Böbrek yetmezliği • Steroid ilaç kullanımı

Monositler: Enfeksiyonlarla savaşta yararlıdır.



Monositlerin arttığı durumlar	Monositlerin azaldığı durumlar
• Tüberküloz • Brusellozis • Monositik lösemi • Tifo • Kollagen doku hastalıkları • Hodgkin hastalığı • Sıtma • Karsinoma • Subakut bakteriyel endokardit	• Aplastik anemi • Glukokortikoidler

Eozinofiller: Allerjik ve parazitik enfeksiyonlarda ve deri hastalıklarında artarlar.



Eozinofillerin arttığı durumlar	Eozinofillerin azaldığı durumlar
• Allerjik hastalıklar • Paraziter hastalıklar • Cilt hastalıkları (dermatit) • Radyasyon tedavisinde • Hodgkin lenfoma • Mide karsinomu • Kollajen vasküler hastalıklar	• Hiper adrenalizm • Şok • Cushing hastalığı • ACTH (adrenokortikotropik hormon) tedavisinde

Deney No : 9

Deney Adı: Sedimentasyon (ESR)

Deneyin Amacı: Sedimentasyonun Western Blot yöntemi ile ESR tayini yapılmasının öğrenilmesi.

Sedimentasyonun Tanımı

Antikoagülanlı ortama alınmış kan, standart bir pipet içinde belirli bir süre bekletildiğinde yer çekimi kuvveti esasına göre eritrositler, plazmadan ayrılarak pipetin tabanına çöker. Bu eritrositlerin birim zamanda çökme hızına **sedimentasyon** adı verilir. Bu çökme hızı eritrositlere, plazmaya, mekanik ve teknik faktörlere bağlıdır.

Eritrositlerin çökme hızı üç aşamada gerçekleşir. Bunlar:

1. İlk dakikalar, eritrositlerde küme oluşturma safhasıdır. Eritrositler bu safhada kendi ağırlıkları ile çöktükleri için çökme hızı yavaştır.
2. Eritrosit hücreleri hızla aglütinasyon (kümeleşme) oluşturur ve çökme hızlanır, aglütinasyon ne kadar büyükse çökme hızı da o kadar artar.
3. Sıkışma safhası, eritrosit hücrelerinin pipetin tabanında toplanması sonucu çökme hızının azaldığı safhadır.

Sedimentasyon tayininde birinci aşamada ilk ½ saatlik dönemde çökme hızı azdır. İkinci aşamadaki 1 saatlik dönemde çökme hızı fazladır. Bu dönemin klinikte önemi vardır. Bir saatten sonraki üçüncü aşamada ise çökme hızı azalır.

Sedimentasyona Etki Eden Faktörler

Sedimentasyona etki eden faktörler aşağıda verilmiştir.

Eritrositlere Bağlı Faktörler

- Eritrositlerin büyüklüğü ve ağırlığı etkendir. Makrositer (eritrositlerin normalden büyük yapıda olması) eritrositler sedimentasyon hızını artırır.
- Plazmada fibrinojen ve globulin miktarının artması, eritrositlerde rulo formasyona (rulo Şeklini alma) yol açarak eritrositlerin kitle olarak çökmesinden dolayı sedimentasyon hızının artmasına sebep olur.
- Eritrositlerin aglütinasyonu da kitle etkisi ile sedimentasyon hızını artırır.
- Ağır anemilerde kanda eritrosit konsantrasyonu azaldığından eritrositler kolayca pipetin tabanına çöker. Bu durum sedimentasyon hızını artırır.
- Şekil değişikliğine bağlı anemilerde (sferositoz ve orak hücreli anemi) ise eritrositlerde rulo formasyonu veya aglütinasyon olmadığından sedimentasyon hızı azalır.

Plazmaya Bağlı Faktörler

Plazma proteinlerinden fibrinojen, alfa1 globulin ve alfa2 globulinin arttığı durumlar, eritrositlerde aglütinasyon ve rulo formasyonu yaparak sedimentasyon hızını artırır.

Sedimentasyon çökme hızı, fibrinojen düzeyinden daha geri planda ise alfa2-, beta1, ve gamma globulin düzeyinden etkilenir. Bu asimetrik yapıdaki moleküllerin birbirinden ayrı durmaya

eğilimlerini azaltıcı etkileri diğer proteinlere göre daha fazladır. Bu durum, eritrositlerin negatif yükleri zeta potansiyeli (bir sıvı içindeki partikülün kendisiyle birleşmeye çalışan partiküllere gösterdiği direnç) nedeniyle. Zeta potansiyel azalınca eritrositler kümeleşmeye (rulo formasyonu) başlar. Küme hâlindeki eritrositler, tek tek bulunan eritrositlere göre daha hızlı çöker. Defibrinasyon (fibrinin bulunmaması) ile fibrinojenin uzaklaştırılması sedimantasyon çökme hızını yavaşlatır.

Mekanik ve Teknik Faktörler

➤ Oda sıcaklığı 22–27°C arasında olmalıdır. Oda sıcaklığı 22°C’den az olursa sedimantasyon hızı yavaşlar, 27 °C den yüksek olursa hız artar.

➤ Sedimantasyon pipetinin sehpaye dik ve düzgün şekilde yerleştirilmemesi sedimantasyon çökme hızını artırır.

➤ Antikoagülan miktarı olması gerekenden fazla ise sedimantasyon çökme hızı artar.

➤ Bir saatten fazla beklemiş kanın kullanılması sedimantasyon hızını azaltır.

➤ Test için kullanılan antikoagülan madde konsantrasyonunun fazla olması sedimantasyon çökme hızını azaltır.

➤ Pipet iç çapının 2 mm’den az olması sedimantasyon hızını azaltır.

Sedimantasyon Tayini

Sedimantasyon tayininin önemi ve amacı aşağıda anlatılmıştır.

Amacı

Vücudun genel durumu hakkında bilgi edinmektir. Başlıca enfeksiyon hastalıklarının kötü huylu tümörlerin, kollagen (bağ dokusu liflerinin yapısını oluşturan protein) doku hastalıklarının, aplastik ve megaloblastik anemilerin teşhisine yardımcı olmak amacı ile yapılan testtir.

Prensip

Tekniğine uygun olarak alınan kanın antikoagülan madde ile belirli bir oranda karıştırılıp standart bir pipet içinde belirli bir süre bekletilerek eritrositlerin çökme hızını tespit etmek amacı ile yapılan bir testtir.

Westergreen Metodu ile Sedimantasyon Tayini

Araç gereçler

• Westergreen pipeti (30 cm uzunluğunda, 2,5 mm çapında olup 200 mm’ye kadar işaretlenmiştir.)

• Westergreen pipet askısı

• Çalar saat

• Enjektör (2 cc’lik)

• Cam tüp

• Tüp sporu

• Sodyum sitrat % 3,8’lik (5 H₂O sodyum sitrat 3,8 g + 100 ml distile su)

Teknik

- Tüp sporuna yeterli miktarda cam tüp konur.
- Tekniğine uygun olarak venöz kan alınır.
- 2 ml'lik enjektöre 0,4 cc %3,8'lik sodyum sitrat çekilir. Üzerine 1,6 cc alınan venöz kandan çekilerek 2 cc'ye tamamlanır. Enjektöre kan alınırken hava kabarcığı olmamasına dikkat edilir. Ya da içerisinde sodyum sitrat bulunan hazır tüpe 1,6 ml kan ilave edilir.
- Enjektör yavaş hareketle alt üst edilerek antikoagülanla kanın homojen bir şekilde karışımı sağlanır.
- Alınan kan hemoliz olmayacak şekilde dikkatlice cam tüpe boşaltılır.
- Westergreen pipetinin üst tarafı yukarıya gelecek şekilde tutulur, sıfır işaretine kadar kan çekilir. Pipetin dış kısmındaki kan kuru pamukla silinir.
- Westergreen askısına sedimantasyon pipeti dik olarak (90°) yerleştirilir. Pipetin taban kısmından kanın akmamasına dikkat edilir.
- Çalar saat 30, 60 ya da 120 dakikaya ayarlanır.
- 30, 60 ya da 120 dakika sonra plazma ile şekilli elemanların kesiştiği noktalar sedimantasyon çökme hızı olarak rapor edilir.

Değerlendirme

Sedimantasyon çökme hızı yaşla birlikte giderek yükselir. Yaşlılarda ve kadınlarda sedimantasyon çökme hızı biraz fazla olmasına rağmen normal değerler arasında kabul edilir. Yeni doğan sağlıklı bir bebekte sedimantasyon çökme hızı genellikle düşüktür. Çocukluk çağı ve ergenlik döneminde erişkin bir insandaki normal değerlere rastlanır.

Çocuklarda	0 - 24 mm/saat
Erişkin erkeklerde	0 - 15 mm/saat
Erişkin kadında	0 - 24 mm/saat

Sedimantasyonun Arttığı ve Azaldığı Durumlar

➤ Sedimantasyonun arttığı durumlar

- Tüberküloz
- Brusella
- Romatoid artrit
- Akut romatizmal ateş
- Enfeksiyon hastalıkları
- İltihabi hastalıklar
- Bağ dokusu hastalıkları
- Malign tümörler

- Multiple myeloma
- Miyokart infarktüsü
- Hamilelik (3. aydan itibaren)
- Hipotroidi
- Hiper gammaglobulinemi
- Hiperfibrinojenemi

➤ **Sedimentasyonun azaldığı durumlar**

- Polisitemi
- Talasemi minör
- Akut kalp yetmezliği
- Mononükleoz
- Virüs hastalıkları

Deney No: 10

Deney Adı: KUAGÜLASYON TESTLERİ

1. PIHTILAŞMA ZAMANI

Testin Amacı: Koagülasyon sistemindeki faktörlerin fonksiyonu hakkında bilgi edinmektir. Tek başına hassas bir test değildir. Ancak ağır koagülasyon bozukluklarında, heparin tedavisinde protrombin zamanı uzun çıkar.

Testin Prensibi: Damar dışına alınan kanın cam tüp gibi yabancı bir yüzeyle karşılaşması sonucu pıhtı teşekkülü esasına dayanır.

Pıhtılaşma Zamanı Metodları

1. Lee White Metodu

Araç ve Gereçler

- Tüp
- Benmari
- Kronometre
- Enjektör
- Pamuk
- Alkol

Testin Yapılışı

- Üç adet tüp 1, 2, 3 olarak numaralandırılır.
- Hastadan 4 ml taze kan enjektöre alınır ve kan enjektöre alınmaz kronometre çalıştırılır. Alınan kan üç ayrı tüpe 1'er ml olacak şekilde konur.
- Alınan kan üzeri işaretlenmiş tüplere önce 3 numaralıya olmak üzere 1'er ml konur, kalan kan atılır.
- Tüpler 37°C'de benmaride 5 dakika tutulur.
- 5 dakika sonra 1 numaralı tüp 45° açı yapacak şekilde eğilerek pıhtılaşma olup olmadığına bakılır ve bu 30 saniyede bir tekrarlanır.
- 1 numaralı tüpte kan pıhtılaştıktan 30 saniye sonra ikinci tüpte aynı şekilde pıhtılaşma takip edilir.
- Son olarak üçüncü tüpte pıhtılaşma takip edilir. Bu tüpte pıhtılaşma zamanı esas süre olarak kabul edilir ki bu, normalde 5- 10 dakikadır.

2. Kapiller Tüp Metodu

- Parmak ucu alkolle temizlendikten sonra steril lanset ile delinir. Parmak ucu aşağıya gelecek biçimde, kol bilekten döndürülür.
- Heparinsiz iki tüp yatay tutularak parmağıdaki kan damlasının ortasına konur.
- Kapillarite özelliği ile tüpler kanla dolduktan sonra kronometre çalıştırılır.
- Tüpler masaya bırakılır.

- 1 dakika sonra, tüpün dolu ucunun 1 cm yukarısından cam testeresiyle çizildikten sonra baş ve işaret parmakları arasında tutulup çizginin altına doğru bükülerek kırılır.
- İki uç arasında fibrin ipliklerinin bulunup bulunmadığı araştırılır.
- Bu işlem, iplikçikler görülünceye kadar 30 saniyelik aralarla tekrar edilir.
- Kırılan tüpte tüpün iki ucu arasında 5 mm' lik bir fibrin lifinin görüldüğü an, pıhtılaşma olduğuna karar verilir.
- Tüp kırıldığı esnada fibrin telinin kopmamasına dikkat edilmelidir.
- İlk tüpte pıhtılaşma tespit edilince derhal ikinci tüp kırılarak kontrol edilmelidir. Bu süre normalde 2- 6 dakikadır.

3. Saat Camı Metodu

- Saat camının ortasına 1 damla kan konur.
- Kronometreyi çalıştırıp 30 saniye aralıklarla bir toplu iğnenin ucu ile bu damlaya temas edilir.
- Toplu iğnenin ucunda iplik gibi bir ağ görüldüğü an tespit edilir.
- Deneyi yaparken lamı güneşsiz yerde ve oda hareketinde bırakmak gerekir. Bu metodla pıhtılaşma zamanı normalde 2- 5 dakikadır.

Pıhtılaşma Zamanının Uzadığı Durumlar

- ✓ Ağır koagülasyon bozuklukları
- ✓ Afibrinojenemi, hipofibrinojenemi
- ✓ Hemofili
- ✓ Heparin tedavisinde ve aspirin kullananlarda
- ✓ Tıkanma sarılıklarında
- ✓ Kumarin türevlerinin kullanıldığı hallerde
- ✓ Faktör VII ve XIII hariç diğer koagülasyon faktörlerinin eksikliğinde (ciddi düzeyde ise)
- ✓ Lösemide
- ✓ Fosfor ve kloroform zehirlenmesinde(Karaciğer harabiyeti)
- ✓ Toksik dozda X-ray'e maruz kalmada.

Pıhtılaşma Zamanının Kısaldığı Durumlar

- ✓ Tifo, tifüs
- ✓ Kanama sonrası
- ✓ Anestezi sonrası
- ✓ Ağır metaller
- ✓ Oral kontraseptif kullanılması durumları

2. KANAMA ZAMANI

Trombosit işlevlerini ve kanın kendi kendine durma düzeyini ölçmeye yönelik inceleme yöntemine denir. Kanama zamanı; damar duvarı fonksiyonları, trombosit sayısı ve fonksiyonları ile ilişkilidir

Trombosit/damar duvarı etkileşmesi ve primer hemostatik plağın oluşma süreci; oluşturulan standart bir yarada hasar anı ile kanamanın durduğu an arasındaki sürenin saptanması ile ölçülür.

Amacı: Kanamanın durması için geçen zamanı ölçen bir testtir. Kapillerlerin fonksiyon bozuklukları, trombosit fonksiyon bozuklukları ve Von-Willebrand hastalığını ortaya çıkarmak amacıyla yapılır.

Prensibi: Parmak ucu, topuk ya da kulak memesinin lanset ile delindikten sonra kanamanın kendiliğinden durması için geçen süreyi tespit etmeye dayanır.

Kanama Zamanı Tayin Metodları

1. Duke metodu

Araç ve Gereçler

- Steril lanset
- Filtre kağıdı
- Kronometre
- Alkol

Testin Yapılışı

- Kulak memesi veya parmak ucu alkollü pamukla temizlendikten sonra steril lansetle delinir ve kronometre çalıştırılır.
- Filtre kağıdı kullanılarak kan her 30 saniyede bir emdirilir.
- Kanama durunca kronometre durdurulup kanama zamanı kaydedilir. Ortalama değer 1- 3 dakikadır; 6 dakikanın üzeri patolojik kabul edilir.

2. İvy Metodu

- Hastanın koluna dirsek üstünde tansiyon aleti bağlanır, basınç 40 mm Hg'ya çıkarılır.
- Tüm ölçüm süresince bu düzeyde tutulur.
- Ön kolda kolun ön yüzünde yüzeysel venlere rastlanmayacak bir bölge alkollü pamukla silinip kurutulur.
- Kolun alt kısmı sıkıca tutularak deri gerdirilir, temizlenmiş bölgede lansetle 3 mm derinliğinde iki delik açılır ve kronometre çalıştırılır.
- Filtre kağıdı kullanılarak yaraya dokunulmadan kan her 30 saniyede bir emdirilir.
- Kanama durunca kronometre durdurulup kanama zamanı kaydedilir. Ortalama değer 1- 7 dakikadır; >10 dakika patolojik kabul edilir.

Kanama Zamanı Tayinine Etki Eden Faktörler

- ❖ Derinin yapısı, ısısı, damarlanma özelliği
- ❖ İnsizyon yerinde keloid gelişme olasılığı
- ❖ Hastanın kullandığı ilaçlar
- ❖ Alkolün uçmasının beklenmemesi

- ❖ İnsizyon yeri çevresindeki deriyi çekme, germe
- ❖ Kesinin yeri, boyutları, kesicinin kalitesi
- ❖ Filtre kağıdını yara yüzeyine değdirilmesi

Kanama Zamanının Uzadığı Durumlar

- ✓ Trombositopeni
- ✓ Trombosit fonksiyon bozukluğu
- ✓ Won-Willebrand hastalığı
- ✓ Herediter afibrinogenemi
- ✓ K vitamin eksikliği
- ✓ Uzun süreli antikoagülan ve aspirin kullanımı
- ✓ Trombositopenik purpura
- ✓ Bazı enfeksiyon ve skorbüt hastalıkları
- ✓ Kronik böbrek yetmezliği
- ✓ Bazı bağ doku hastalıkları
- ✓ Safra yolları tıkanıklıkları

3. PROTROMBİN ZAMANI / PT

Test optimal konsantrasyonlarda doku tromboplastini varlığında plazmanın pıhtılaşma süresini ölçer. Pıhtılaşmanın ortak ve ekstrensik yolunu değerlendirmede kullanılan bir testtir. Bu testte plazmaya kalsiyum ve tromboplastin (doku faktörü) eklenerek ekstrensik yoldan fibrin pıhtısı oluşana dek geçen süre ölçülür.

Amacı: Koagülasyon sistemindeki ekstrensek ve ortak yoldaki faktörlerle ilgili bozuklukları tespit etmek için yapılır. PT, koagülasyonun 2. zamanını gösteren bir testtir.

Prensip: Antikoagülanlı kandaki sodyum sitrat/oksalat, kalsiyumu bağlayarak pıhtılaşmayı önler. Test tüpündeki plazmaya tromboplastin ve kalsiyum klorit ilave ederek fibrin oluşumunun süresini ölçme esasına dayanır.

Protrombin Zamanı Testi

Araç Gereç ve Cihazlar

- Pipet
- Tüp
- Kronometre
- Benmari

Reaktifler

- Tromboplastin
- Kalsiyum klorit

- Kontrol serumu
- Hasta serumu

Teknik

- Hastadan ve kontrolden 4,5 ml kan alınarak içinde 0,5 ml sodyum sitrat bulunan tüplere konur.
- Antikoagulanlı kan 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir ve plazma kısmı derhal ayrılıp ayrı bir tüpe konur. Bu, test yapılana kadar buzdolabında saklanabilir.
- Kontrol ve hasta olmak üzere iki adet deney tüpü benmariye konur.
- Kontrol plazmasından kontrol yazılı tüpe 0,1ml, hasta plazmasından hasta yazılı tüpe 0,1ml plazma konur.
- Her iki tüpe 0,1 ml tromboplastin ilave edilir.
- Kontrol tüpüne 0,1 ml CaCl_2 ilave edilir edilmez kronometre çalıştırılır.
- Tüp benmaride 8-9 saniye sallandıktan sonra dışarı çıkarılır. Fibrin ağı oluşur oluşmaz kronometre durdurulur ve süre kaydedilir.

Değerlendirme

Normal protrombin harcama zamanı 30 saniyenin üzerindedir, 20 saniye ve altında oluşursa patolojiktir.

Test Çalışırken Dikkat Edilecek Hususlar

Testin mutlaka kontrol serumu ile birlikte karşılaştırılarak yapılması gerekir. Değişik kaynaklı tromboplastinlerin aktivitelerinin farklılığından kaynaklanan farklı sonuçları ve değişik değerlendirme sistemlerinin yarattığı karışıklıkları ortadan kaldırmak, özellikle antikoagülan tedavide belirli standardı yakalamak için son yıllarda INR (uluslararası normleştirme oranı) kullanılmaktadır. INR; hasta protrombin zamanının, normal kontrol plazma protrombin zamanına oranıdır.

Protrombin Zamanının Uzadığı Durumlar

- ✓ Karaciğer hastalıkları
- ✓ Afibrinojenemi
- ✓ Antikoagülan (heparin) tedavisinde
- ✓ Konjenital faktör eksikliklerinde (Faktör I, II, VII, X)
- ✓ K vitamin eksikliğinde

Protrombin Zamanının Kısaldığı Durumlar

Yaygın damar içi pıhtılaşma esnasında

4. AKTİVE PARSİYEL TROMBOPLASTİN ZAMANI / APTT

APTT, intrinsik yolda ve/veya tüm koagülasyon zamanında yer alan faktörlerin kalıtsal veya edinsel eksikliklerini ve bu faktörlerin inhibitörlerini aramak için kullanılan bir testtir. Özellikle FIX ve FVIII

eksikliklerinde daha duyarlı olmakla birlikte, koagülasyonda fibrin oluşumuna kadar olan reaksiyonlarda yer alan tüm faktörlerin eksikliklerinde (FV, FX, protrombin ve fibrinojen) APTT uzar. APTT, pıhtılaşma zamanının heparin düzeyine orantılı olarak uzaması, heparin tedavisinin etkinliğinin izlenmesinde kullanılır. Faktör eksiklikleri dışında APTT'in uzaması Faktör VIII inhibitörü ve lupus antikoagülanı varlığında da görülür.

Bu test, kontakt faktörlerinin aktivasyonu sonrası plazmanın pıhtılaşma süresini ölçer.

Pıhtılaşma mekanizmasındaki instrensek ve ortak yolu gösterir. Test sitratlı kandan elde edilmiş trombositten fakir plazma, kalsiyum klorür APTT ayırıcı kullanılarak yapılan ölçümdür. Kullanılan yöntem, alet ve ayaraçlara bağılı olarak referans aralığı 28- 40 saniye arasındadır. Testin mutlaka kontrolle çalışılması gerekir.

Amaç: Faktör VII ve Faktör XIII hariç, diğer koagülasyon faktörü eksikliklerini ortaya çıkarmak için yapılan testtir.

Prensibi: Trombositten fakir plazmaya trombosit tromboplastini yerine sefalin ve CaCl_2 ilavesiyle fibrin oluşumu için geçen süreyi ölçmektir.

Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı Testi

Araç Gereç ve Cihazlar

- Pipet
- Deney tüpü
- Kronometre
- Benmari

Reaktifler

- Hasta kanı 4,5 ml
- % 3,8'lik sodyum sitrat 0,5 ml
- 0,0040M CaCl_2
- Sefalin
- Kontrol plazması

Teknik

- Kan santrifüj edilerek plazması ayrılır.
- Benmarideki deney tüpüne 0,1 ml hasta plazması ve 0,1 ml sefalin konarak 1- 2 dakika beklenir.
- Süre sonunda 0,1 ml CaCl_2 konur konmaz kronometre çalıştırılır. 4 saniye sonra tüp benmariden çıkarılır ve yavaşça eğerek pıhtının oluştuğu an tespit edilir.
- Test aynı şekilde kontrol plazmasından da çalışılmalıdır.

Değerlendirme

APTT'nin normal süresi 28- 32 saniye arasındadır. Ancak bu değerler laboratuvarın kullandığı kite göre değişir. Ayrıca testler mutlaka kontrolle birlikte çalışılmalıdır.

Test Çalışırken Dikkat Edilecek Hususlar

❖ Birçok rutin koagülasyon testi platelet –poor plazma kullanılarak yapılır. Bunun için örnek 2000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek elde edilir.

❖ Testlerin kan alımını takiben iki saat içerisinde çalışılması gerekmektedir.

❖ Vene giriş sırasında yapılan hatalar doku tromboplastininin salınmasına, pıhtılaşma mekanizmasının aktivasyonu ile sonuçların değişmesine neden olur.

❖ Antikoagülan kan oranlarına çok dikkat edilmeli, tüplerin çok iyi karıştırılması pıhtılı tüplerden çalışma yapılmaması çok önemlidir.

❖ Örneğin kısmen pıhtılaşmasına yol açacak şekilde yanlış toplanması; pıhtılaşma sürelerinin kısalmasına neden olabilir.

❖ Tüpün fazla veya az doldurulması, yüksek hematokrit; plazma ile antikoagülan arasında oranın bozulmasına yol açar.

❖ Uygun olmayan antikoagülan kullanılmamalıdır.

❖ Heparin ile bulaşmış bir ven hattından (kateter) örnek alınması (aPTT veTT uzar)

❖ Doğru olmayan pipet kullanımı

❖ Cihaz malfonksiyonu

❖ Yanlış kalibrasyon sıcaklığı

❖ Reaktiflerin hazırlanmasında ve saklanmasıındaki hatalar

APTT'nin Uzadığı Durumlar

- ✓ Konjenital ve kazanılmış pıhtılaşma faktör eksiklikleri
- ✓ Karaciğer sirozu
- ✓ Vitamin K eksikliği
- ✓ Lösemi
- ✓ DİK
- ✓ Heparin uygulanması
- ✓ Hipofibrinojenemi
- ✓ Von Willebrand hastalığı
- ✓ Hemofili

APTT'nin Kısaltığı Durumlar

- ✓ DİK'in erken dönemi
- ✓ Yaygın kanser