

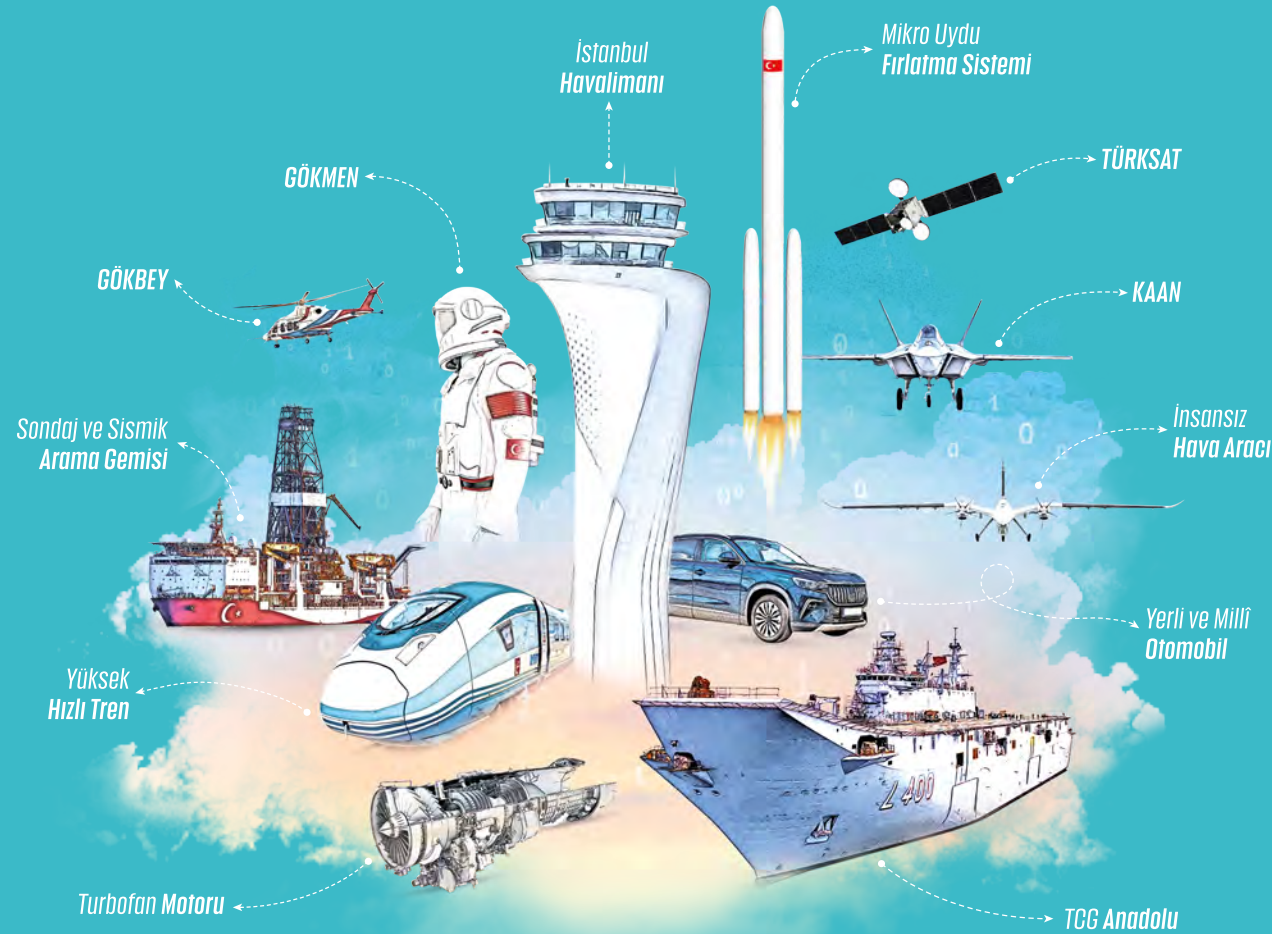
Bu kitaba sığmayan daha neler var!

eba
www.eba.gov.tr



Karekodu okut, bu kitapla
ilgili EBA içeriklerine ulaş!

Teknoloji Yolculuğumuz



**BU DERS KİTABI MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞINCA
ÜCRETSİZ OLARAK VERİLMİŞTİR.
PARA İLE SATILAMAZ.**

ISBN: 978-975-11-6618-0

Bandrol Uygulamasına İlişkin Usul ve Esaslar Hakkında Yönetmeliğin Beşinci Maddesinin
İkinci Fıkrası Çerçevesinde Bandrol Taşınması Zorunlu Değildir.

LABORATUVAR HİZMETLERİ ALANI

HAYVAN SAĞLIĞI LABORATUVARI 11

DERS MATERYALİ

MESLEKİ VE TEKNİK ANADOLU LİSESİ
LABORATUVAR HİZMETLERİ ALANI

HAYVAN SAĞLIĞI LABORATUVARI



11
DERS MATERYALİ



MESLEKİ VE TEKNİK ANADOLU LİSESİ

LABORATUVAR HİZMETLERİ

HAYVAN SAĞLIĞI LABORATUVARI 11

DERS MATERYALİ

YAZARLAR

Abbas YAŞAR
Ali SÖNMEZ



MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI YAYINLARI: 8407
YARDIMCI VE KAYNAK KİTAPLAR DİZİSİ: 2299

Her hakkı saklıdır ve Millî Eğitim Bakanlığına aittir. Ders materyalinin metin, soru ve şekilleri kısmen de olsa hiçbir surette alınıp yayımlanamaz.

HAZIRLAYANLAR

Dil Uzmanı	Hülya BAŞTÜRK
Grafik Tasarım Uzmanı	Cihan İNCEBEL
Görsel Tasarım Uzmanı	Seyfullah YENİ

ISBN: 978-975-11-6618-0

Millî Eğitim Bakanlığının 24.12.2020 gün ve 18433886 sayılı oluru ile
Meslekî ve Teknik Eğitim Genel Müdürlüğünce ders materyali olarak hazırlanmıştır.



İSTİKLÂL MARŞI

Korkma, sönmez bu şafaklarda yüzen al sancak;
Sönmeden yurdumun üstünde tüten en son ocak.
O benim milletimin yıldızıdır, parlayacak;
O benimdir, o benim milletimindir ancak.

Çatma, kurban olayım, çehreni ey nazlı hilâl!
Kahraman ırkıma bir gül! Ne bu şiddet, bu celâl?
Sana olmaz dökülen kanlarımız sonra helâl.
Hakkıdır Hakk'a tapan milletimin istiklâl.

Ben ezelden beridir hür yaşadım, hür yaşarım.
Hangi çılgın bana zincir vuracakmış? Şaşarım!
Kükremiş sel gibiyim, bendimi çiğner, aşarım.
Yırtarım dağları, enginlere sığmam, taşarım.

Garbın âfâkını sarmışsa çelik zırhlı duvar,
Benim iman dolu göğsüm gibi serhaddim var.
Ulusun, korkma! Nasıl böyle bir imanı boğar,
Medeniyet dediğin tek dişi kalmış canavar?

Arkadaş, yurduma alçakları uğratma sakın;
Siper et gövdeni, dursun bu hayâsızca akın.
Doğacaktır sana va'dettiği günler Hakk'ın;
Kim bilir, belki yarın, belki yarından da yakın.

Bastığın yerleri toprak diyerek geçme, tanı:
Düşün altındaki binlerce kefensiz yatanı.
Sen şehit oğlusun, incitme, yazıktır, atanı:
Verme, dünyaları alsan da bu cennet vatanı.

Kim bu cennet vatanın uğruna olmaz ki feda?
Şüheda fışkıracak toprağı sıksan, şüheda!
Cânı, cânânı, bütün varımı alsın da Huda,
Etmesin tek vatanımdan beni dünyada cüda.

Ruhumun senden İlâhî, şudur ancak emeli:
Değmesin mabedimin göğsüne nâmahrem eli.
Bu ezanlar -ki şehadetleri dinin temeli-
Ebedî yurdumun üstünde benim inlemeli.

O zaman vecd ile bin secde eder -varsa- taşım,
Her cerîhamdan İlâhî, boşanıp kanlı yaşım,
Fışkırır ruh-ı mücerret gibi yerden na'sım;
O zaman yükselerek arşa değer belki başım.

Dalgalan sen de şafaklar gibi ey şanlı hilâl!
Olsun artık dökülen kanlarımın hepsi helâl.
Ebediyyen sana yok, ırkıma yok izmihlâl;
Hakkıdır hür yaşamış bayrağımın hürriyyet;
Hakkıdır Hakk'a tapan milletimin istiklâl!

Mehmet Âkif Ersoy

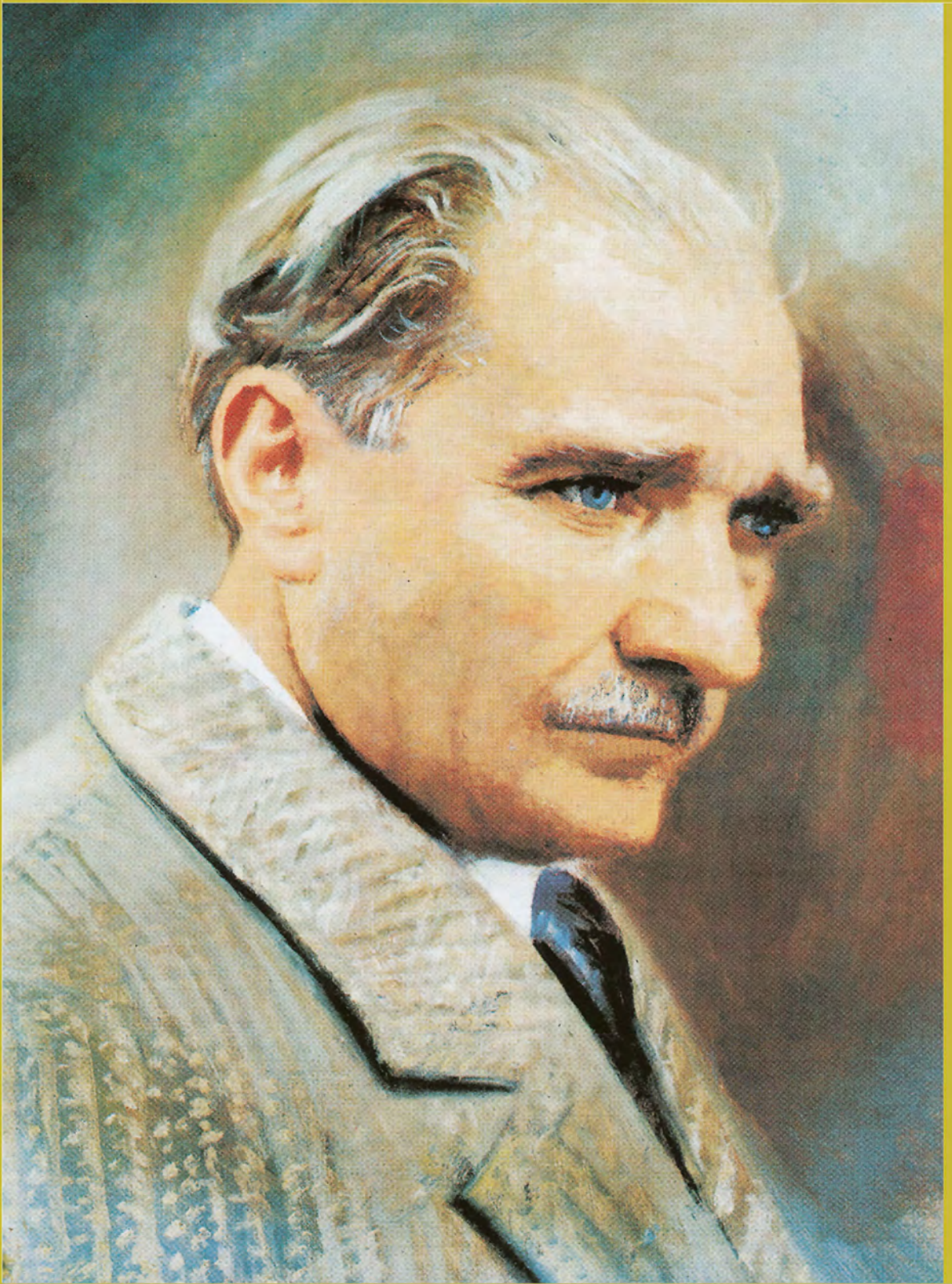
GENÇLİĞE HİTABE

Ey Türk gençliği! Birinci vazifen, Türk istiklâlini, Türk Cumhuriyetini, ilelebet muhafaza ve müdafaa etmektir.

Mevcudiyetinin ve istikbalinin yegâne temeli budur. Bu temel, senin en kıymetli hazinendir. İstikbalde dahi, seni bu hazineden mahrum etmek isteyecek dâhilî ve hâricî bedhahların olacaktır. Bir gün, istiklâl ve cumhuriyeti müdafaa mecburiyetine düşersen, vazifeye atılmak için, içinde bulunacağın vaziyetin imkân ve şeraitini düşünmeyeceksin! Bu imkân ve şerait, çok namüsaît bir mahiyette tezahür edebilir. İstiklâl ve cumhuriyetine kastedecek düşmanlar, bütün dünyada emsali görülmemiş bir galibiyetin mümessili olabilirler. Cebren ve hile ile aziz vatanın bütün kaleleri zapt edilmiş, bütün tersanelerine girilmiş, bütün orduları dağıtılmış ve memleketin her köşesi bilfiil işgal edilmiş olabilir. Bütün bu şeraitten daha elîm ve daha vahim olmak üzere, memleketin dâhilinde iktidara sahip olanlar gaflet ve dalâlet ve hattâ hıyanet içinde bulunabilirler. Hattâ bu iktidar sahipleri şahsî menfaatlerini, müstevlîlerin siyasî emelleriyle tevhit edebilirler. Millet, fakr u zaruret içinde harap ve bîtap düşmüş olabilir.

Ey Türk istikbalinin evlâdı! İşte, bu ahval ve şerait içinde dahi vazifen, Türk istiklâl ve cumhuriyetini kurtarmaktır. Muhtaç olduğun kudret, damarlarındaki asil kanda mevcuttur.

Mustafa Kemal Atatürk



MUSTAFA KEMAL ATATÜRK

DERS MATERYALİNİN TANITIMI 14

1. KAN ANALİZLERİ ÖNCESİ HAZIRLIK 17

1.1.	KAPİLLER KAN ALMA	18
1.1. UYGULAMA	KAPİLLER KAN ALMA	19
1.2.	VENÖZ KAN ALMA	20
1.2. UYGULAMA	VENÖZ KAN ALMA	24
1.3.	KAN SERUMU ELDE ETME	25
1.3. UYGULAMA	KAN SERUMU ELDE ETME	26
	ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	27

2. KANIN ÖZELLİKLERİ 29

2.1.	KAN HÜCRELERİ SAYIMI	30
2.1.1.	Thoma Lamında Eritrosit ve Lökosit Sayımı	30
2.1. UYGULAMA	THOMA LAMI İLE KAN SAYIMI	33
2.2.	KANDA HEMOGLOBİN TAYİNİ	34
2.2.1.	Kalibrasyon Eğrisi	35
2.2. UYGULAMA	SAHLİ YÖNTEMİ İLE KANDA HEMOGLOBİN TAYİNİ	36
2.3. UYGULAMA	SİYANMETHEMOGLOBİN YÖNTEMİ İLE KANDA HEMOGLOBİN TAYİNİ YAPMA	38
2.3.	KANDA HEMATOKRİT DEĞER TAYİNİ	39
2.4. UYGULAMA	MİKROHEMATOKRİT METODU İLE KANDA HEMATOKRİT DEĞER TAYİNİ YAPMA	40
2.4.	KANDA SEDİMENTASYON TAYİNİ	41
2.4.1.	Westergreen Pipeti ile Kanda Sedimentasyon Tayini	41
2.5. UYGULAMA	WESTERGREEN PİPETİ İLE KANDA SEDİMENTASYON TAYİNİ YAPMA	42
2.6. UYGULAMA	ESR/VSG METODU İLE KANDA SEDİMENTASYON TAYİNİ YAPMA	43
2.7. UYGULAMA	FRİMBERGER MİKROSEDİMENTASYON METODU İLE KANDA SEDİMENTASYON TAYİNİ YAPMA	44
2.4.2.	Kan Sayım Cihazları ile Kan Sayımı	45
2.4.3.	Kan Sayımı Cihazlarının Kontrolü ve Kalibrasyonu	46
2.8. UYGULAMA	KAN SAYIM CİHAZI İLE KAN SAYIMI YAPMA	47
	ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	48

3. KANDA BİYOKİMYASAL TESTLER 49

3.1.	KANDA GLİKOZ, LİPİT, PROTEİN VE TOPLAM BİLİRUBİN TAYİNİ	50
3.1.1.	Kanda Glukoz, Lipit, Protein ve Toplam Bilirubin Tayininin Önemi	50
3.1.2.	Glukoz Tayini	53
3.1.3.	Lipit Tayini	54
3.1.4.	Bilirubin Tayini	54
3.1.5.	Protein Tayini	55
3.1. UYGULAMA	SEKTRİYOTOMETRE İLE KANDA KANDA GLİKOZ TAYİNİ YAPMA	56
3.2. UYGULAMA	SEKTRİYOTOMETRE İLE KANDA TOPLAM LİPİT TAYİNİ YAPMA	57

1. ÖĞRENME
BİRİMİ2. ÖĞRENME
BİRİMİ3. ÖĞRENME
BİRİMİ

3.

ÖĞRENME BİRİMİ

3.3. UYGULAMA	SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA BİLÜRİBİN TAYİNİ YAPMA	58
3.4. UYGULAMA	SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA TOPLAM PROTEİN TAYİNİ YAPMA	59
3.2.	KANDA ENZİM AKTİVİTELERİNİN ÖLÇÜLMESİ	60
3.5. UYGULAMA	SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA	
	ASPARTAT AMİNOTRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİNİ YAPMA	65
3.6. UYGULAMA	SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA ALANIN	
	AMİNOTRANSFERAZ (ALT/SGPT) AKTİVİTESİNİN TAYİNİNİ YAPMA	66
3.3.	KANDA SODYUM VE POTASYUM TAYİNİ	67
3.3.1.	Mineral Maddelerin Önemi	67
3.3.2.	Kanda Sodyum ve Potasyum	67
3.3.3.	Sodyum Analizi	68
3.3.4.	Potasyum Analizi	69
3.7. UYGULAMA	ALEV FOTOMETRESİ İLE KANDA SODYUM MİKTAR TAYİNİ YAPMA	70
3.8. UYGULAMA	ALEV FOTOMETRESİ İLE KANDA POTASYUM MİKTAR TAYİNİ YAPMA	71
3.4.	KANDA KALSİYUM VE FOSFOR TAYİNİ	72
3.4.1.	Kanda Kalsiyum ve Fosfor Tayininin Önemi	72
3.4.2.	Kalsiyum Analizi	73
3.4.3.	Fosfor Analizi	73
3.9. UYGULAMA	SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA KALSİYUM TAYİNİ YAPMA	75
3.10. UYGULAMA	SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA İNORGANİK SERUM FOSFOR TAYİNİ YAPMA	76
3.5.	OTOANALİZÖRLE BİYOKİMYASAL TESTLER	77
3.5.1.	Otoanalizörler	77
3.5.2.	Otoanalizörlerin Kalibrasyonu	78
3.11. UYGULAMA	OTOANALİZÖRLE ÇALIŞMA ÖNCESİNDE	
	YAPILMASI GEREKEN ÖN İŞLEMLERİ UYGULAMA	80
3.12. UYGULAMA	OTOANALİZÖRDE KALİBRASYON YAPMA	81
3.13. UYGULAMA	OTOANALİZÖR İLE BİYOKİMYASAL TESTLERİ YAPMA	82
	ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	83

4.

ÖĞRENME BİRİMİ

4.	İDRAR VE GAITA ANALİZLERİ	85
4.1.	İDRARDA RENK VE BULANIKLIK TESTLERİ	86
4.1.1.	İdrarda Renk Tayini	86
4.1.2.	İdrarda Bulanıklık Tayini	86
4.1. UYGULAMA	İDRARIN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ	89
4.2. UYGULAMA	İDRARIN ÖZGÜL AĞIRLIK (DANSİTESİ) TAYİNİNİ YAPMA	90
4.3. UYGULAMA	İDRARIN PH DEĞERİNİ ÖLÇME	91
4.2.	İDRARDA MİKROSKOBİK İNCELEME	92
4.2.1.	İdrar Sedimentinin Mikroskopik İnceleme İçin Hazırlanması	92
4.2.2.	Mikroskopik Muayenede Organik Sedimentler	92
4.4. UYGULAMA	İDRARDA MİKROSKOBİK İNCELEME	97

4.3.	İDRARDA STRİPLE YAPILAN BİYOKİMYASAL TESTLER	98
4.3.1.	Strip Kâğıdı ile İdrar Örneğinde Biyokimyasal Analizler Yapma	98
4.5. UYGULAMA	TEST ÇUBUKLARI (STRİP) İLE İDRAR TAYİNİ YAPMA	99
4.3.2.	İdrarda Ürobilinojen Analizi	100
4.3.3.	İdrarda Hippurik Asit Tayini	100
4.6. UYGULAMA	EHRİCH YÖNTEMİ İLE İDRARDA ÜROBİLİNOJEN ANALİZİ YAPMA	101
4.7. UYGULAMA	İDRARDA HİPPURİK ASİT TAYİNİ YAPMA	102
4.3.4.	Benedict Yöntemi ile İdrarda Glikoz (Şeker) Analizi Yapma	103
4.3.5.	İdrarda Tanret Yöntemi ile Protein Araması Yapma	103
4.8. UYGULAMA	BENEDİCT YÖNTEMİ İLE İDRARDA GLİKOZ (ŞEKER) ANALİZİ YAPMA	105
4.9. UYGULAMA	İDRARDA TANRET YÖNTEMİ İLE PROTEİN ARAMASI YAPMA	106
4.3.6.	İdrarda Bilirubin Analizini Fouchet (Fuşe) Testi ile Yapma	107
4.3.7.	İdrarda Kan Varlığını O-Toluidin Testi ile Tespit Etme	107
4.3.8.	Legal Yöntem ile İdrarda Aseton Arama Testi Yapma	108
4.10. UYGULAMA	İDRARDA BİLİRUBİN ANALİZİNİ FOUCHET TESTİ İLE YAPMA	109
4.11. UYGULAMA	İDRARDA KAN VARLIĞINI O-TOLUIDİN TESTİ İLE TESPİT ETME	110
4.12. UYGULAMA	LEGAL YÖNTEM İLE İDRARDA ASETON ARAMA TESTİ YAPMA	111
4.13. UYGULAMA	İDRARDA ÜRİK ASİTTEN KAYNAKLANAN BULANIKLIĞI TESPİT ETME	112
4.14. UYGULAMA	İDRARDA İLTİHAPTAN KAYNAKLANAN BULANIKLIĞI TESPİT ETME	113
4.15. UYGULAMA	İDRARDA OKSALATTAN KAYNAKLANAN BULANIKLIĞI TESPİT ETME	114
4.16. UYGULAMA	İDRARDA YAĞDAN KAYNAKLANAN BULANIKLIĞI TESPİT ETME	115
4.4.	GAİTADA GİZLİ KAN TAYİNİ	116
4.17. UYGULAMA	GAİTADA GİZLİ KAN (GİK) TAYİNİ	117
4.5.	GAİTADA STERKOBİLİNOJEN TAYİNİ	118
4.18. UYGULAMA	GAİTADA STERKOBİLİNOJEN TAYİNİ	119
	ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	120

5.	HİSTOLOJİK İNCELEMELER İÇİN HAZIRLIK	121
5.1.	DOKU NUMUNELERİNİN TESPİTİ	122
5.1.1.	Hücre	122
5.1.2.	Doku ve Doku Çeşitleri	123
5.1.3.	Patoloji Laboratuvarında Güvenlik Tedbirleri ve Uyulması Gereken Kurallar	125
5.1. UYGULAMA	İMMERSİYON (DALDIRMA) YÖNTEMİ İLE TESPİT İŞLEMİ YAPMA	131
5.2.	KEMİKLERİN DEKALSİFİKASYONU	133
5.2.1.	Dekalsifikasyon Metotları	133
5.2. UYGULAMA	KEMİKLERDE DEKALSİFİKASYON İŞLEMİ YAPMA	135
	ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	136

6.

ÖĞRENME BİRİMİ

6.	DOKU PREPARATI	137
6.1.	DOKU NUMUNELERİNİN TAKİBİ	138
6.1.1.	Dokuların Alınması	138
6.1.2.	Doku Takibinde Kullanılan Çözelti Serileri	138
6.1.3.	Doku Takip Yöntemleri	140
6.1. UYGULAMA	DOKU TAKİP CİHAZINDA DOKU TAKİP UYGULAMASI	142
6.2.	DOKULARI PARAFİNE GÖMME	144
6.2.1.	Doku Gömme Maddeleri	144
6.2.2.	Dokuları Gömme Yöntemleri	144
6.2. UYGULAMA	DOKU GÖMME CİHAZINDA BLOKLAMA İŞLEMİ	147
6.3.	DOKULARDAN KESİT ALMA	150
6.3.1.	Mikrotom Çeşitleri ve Özellikleri	150
6.3.2.	Rotary Mikrotom ile Kesit Alma İşlemleri	150
6.3.3.	Taze Dokulardan Dondurma Mikrotomu ile Kesit Alma	151
6.3.4.	Dokuların Dondurulması	151
6.3. UYGULAMA	KESİT ALMA İŞLEMİ	152
6.4.	DOKU PREPARATINI BOYAMA	155
6.4.1.	Doku Preparatından Parafinin Uzaklaştırılması	155
6.4.2.	Preparatın Boyanması	156
6.4.3.	Preparatın Kapatılması	156
6.4. UYGULAMA	HEMATOKSİLEN-EOZİN BOYAMA YÖNTEMİ İLE BOYAMA	158
	ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	162

7.

ÖĞRENME BİRİMİ

7.	GAİTADA PARAZİTOLOJİK İNCELEME	163
7.1.	NATİF METOT İLE GAİTADA PARAZİT İNCELEME	164
7.1.1.	Parazitlerin Sınıflandırılması	164
7.1.2.	Parazitlerin Genel Özellikleri	167
7.1.3.	Parazitlerin Yaşam Şekilleri	168
7.1.4.	Parazit ve Konakçı İlişkisi	169
7.1.5.	Gaitanın Makroskopik Olarak İncelenmesi	169
7.1.6.	Dışkı Örneklerinin Alınması ve Laboratuvara Gönderilme Aşamaları	169
7.1.7.	Natif Metot ile Gaitada Parazit İnceleme Tekniği	171
7.1. UYGULAMA	NATİF METOT İLE GAİTADA PARAZİT İNCELEME TEKNİĞİ	172
7.2.	YÜZDÜRME METODU İLE GAİTADA PARAZİT İNCELEMESİ	175
7.2.1.	Doymuş Tuzlu Su ile Yüzdürme	175
7.2.2.	Doymuş Şekerli Su ile Yüzdürme	175
7.2.3.	Doymuş Çinko Sülfat ile Yüzdürme	175
7.2. UYGULAMA	DOYMUŞ TUZLU SU İLE YÜZDÜRME (FLOTASYON)	176
7.3. UYGULAMA	DOYMUŞ ŞEKERLİ SU İLE YÜZDÜRME	179
7.4. UYGULAMA	DOYMUŞ ÇİNKO SÜLFAT İLE YÜZDÜRME	182

7.3.	ÇÖKTÜRME METODU İLE GAITADA PARAZİT İNCELEMESİ	185
7.3.1.	İşlem Öncesi Hazırlıklar ve Çözelti Hazırlama	185
7.3.2.	Süspansiyon Hazırlama ve Süzünü Eldesi	185
7.3.3.	Çöktürme ve Tortu Aldırma	186
7.3.4.	Boyama ve İnceleme	187
7.5. UYGULAMA	MODİFİYE BENEDEK TEKNİĞİ İLE ÇÖKTÜRME	188
7.6. UYGULAMA	BASİT SANTRİFÜJ YOLU İLE ÇÖKTÜRME	191
7.7. UYGULAMA	TELEMANN METODU İLE ÇÖKTÜRME	194
7.4.	GÖÇ ETTİRME METODU İLE PARAZİT İNCELEMESİ	196
7.8. UYGULAMA	BAERMANN-WETZEL METODU İLE PARAZİT İNCELEMESİ	197
7.9. UYGULAMA	HARADA VE MORİNİN DENEY TÜPÜNE EKME METODU	200
7.5.	PARAZİT YUMURTA SAYIMI	203
7.5.1.	Parazit Yumurtası Sayım Metotları ve Önemi	203
7.5.2.	Master Metoduyla Parazit Yumurtaları Sayımı	204
7.10. UYGULAMA	MASTER METODUYLA PARAZİT YUMURTALARI SAYIMI	205
	ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	209

8.	DOKU VE ORGANLARDA PARAZİTOLOJİK İNCELEME	211
8.1.	KANDA NATİF METOT İLE PARAZİT ARANMASI	212
8.1.1.	Önemli Parazitler ve Yaptıkları Hastalıklar	212
8.1.2.	Kan Parazitlerinin Tanı Yöntemleri	216
8.1. UYGULAMA	KANDA NATİF METOT İLE PARAZİT ARANMASI	217
8.2.	KANDAN GİEMSA BOYAMA METODU İLE PARAZİT ARANMASI	219
8.2.1.	İnce Yayma Kan Preparatı (Froti) Hazırlama	219
8.2.2.	Kalın Damla Kan Preparatı Hazırlama	220
8.2.3.	Wright Boyama	220
8.2.4.	May Grünwald Boyama	220
8.2.5.	Delafield Hematoksilen Boyama	220
8.2. UYGULAMA	KANDA GİEMSA BOYAMA METODU İLE PARAZİT ARAMA	221
8.3.	DERİ KAZINTISINDA UYUZ ETKENİ ARANMASI	225
8.3.1.	Uyuz Etkenlerinin Sınıflandırılması	225
8.3.2.	Uyuz Etkenlerinin Aranması	227
8.3. UYGULAMA	DERİ KAZINTISINDA ÇÖKTÜRME METODU İLE UYUZ ETKENLERİNİ ARAMA	228
8.4. UYGULAMA	DERİ KAZINTISINDA YÜZDÜRME METODU İLE UYUZ ETKENLERİNİ ARAMA	230
8.4.	KARACİĞER, AKCİĞER VE BAĞIRSAKLARDA PARAZİT ARANMASI	232
8.4.1.	Karaciğerde Bulunan Parazitler	232
8.4.2.	Akciğerde Bulunan Parazitler	233
8.4.3.	Bağırsaklarda Bulunan Parazitler	234
8.5. UYGULAMA	DOKU VE ORGANLARDA PARAZİTER İNCELEME	236
	ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	238

KAYNAKÇA	239
-----------------	-----

CEVAP ANAHTARI	241
-----------------------	-----

DERS MATERYALİNİN TANITIMI

Öğrenme birimi görselini içerir.

Öğrenme biriminin adını içerir.

Etkileşimli kitap, video, ses, animasyon, uygulama, oyun, soru vb. ilave kaynaklara ulaşılabilir tıklanabilir, taranabilir karekodu ve linkini gösterir.

HAYVAN SAĞLIĞI LA BORA TUVARI

KAN ANALİZLERİ ÖNCESİ HAZIRLIK

ÖĞRENME BİRİMİ

<http://kitap.eba.gov.tr/KodSor.php?KOD=14788>

KONULAR

- 1.1. KAPİLLER KAN ALMA
- 1.2. VENÖZ KAN ALMA
- 1.3. KAN SERUMU ELDE ETME

Neler Öğreneceksiniz

- Hayvanlardan tekniğine uygun kapiller kan alma
- Enjektör ile kan alma
- Santrifüj yardımıyla kan serumu elde etme

Temel Kavramlar

kapiller kan, venöz kan, kan serumu santrifüj, pipet, mikropipet, kan tüpü

Hazırlık Çalışmaları

1. Hayvan haklarına riayet etme, kan alma işlemi sırasında hayvana eziyet etmeme, hayvan haklarını savunma, hayvan refahını sağlamada ilkeli hareket etme konularını araştırınız ve elde ettiğiniz bilgileri okul panosuna asınız.

17

Öğrenme biriminin numarasını gösterir.

Öğrenme biriminin hazırlık çalışmalarını içerir.

Öğrenme birimi kazanımlarını içerir.

Öğrenme birimi konularını içerir.

DERS MATERYALİNİN TANITIMI

Öğrenme biriminin konu başlığını içerir.

Konu anlatımını içerir.

Ders materyalinin adını içerir.

HAYVAN SAĞLIĞI LABORATUVARI
Kan Analizleri Öncesi Hazırlık

1.3. KAN SERUMU ELDE ETME

Kan plazması, kanın sıvı kısmıdır. Pıhtılaşmayı önleyen bir antikoagulan madde üzerine alınan kan santrifüj edilirse şekilli elemanlar çöker ve plazma üst faz olarak elde edilir. Pıhtılaşmış kanın santrifüj edilmesiyle elde edilen sıvı, üst faz serumdur. Serumun plazmadan farkı fibrinojen ve diğer bazı pıhtılaşma faktörlerini içermemesidir.

Plazma veya serumda çeşitli biyokimyasal maddeler suda çözünmüş olarak bulunur. Kan plazmasının %90'ını su ve %10'unu suda çözünmüş katı maddeler oluşturur (Görsel 1.5).

Serum; kanın, fibrinojen ve şekilli elemanlarından (eritrosit, lökosit, trombosit) ayrılmış hâlidir.

Kullanılan Araç Gereç

Eldiven, antiseptik solüsyon, enjektör, turnike, jelli tüp, pamuk, santrifüj kullanılır.

İşlemin Yapılışı

Hayvandan alınan en az 5 ml kan, içinde jel bulunan tüpe aktarılır. Kanın, tüpün çepesinde bulunan silika partikülleri ile temas etmesi için tüp 5-6 kez altüst edilmeli ke-



Görsel 1.5: Kan serumu

BİLGİ KÖŞESİ

Santrifüj, genellikle elektrikli bir motor yardımıyla sabit eksenli, dairesel dönme hareketi gerçekleştiren bir laboratuvar aletidir.

Santrifüj aletinin yüksek devir sayısı, içine yerleştirilen karışımların cökeltme tren-

Öğrenme biriminin adını içerir.

Konu anlatımını destekleyen görselleri gösterir.

Konu anlatımını destekleyen bilgileri (bilgi köşesi) veya etkinlikleri (söz sizde) içerir.

PUANLAMA

Uygulama değerlendirme ölçeğinde listelenen ölçütleri gözlediğiniz başarı oranına uygun olarak "X" işareti koyunuz. Ölçeğin toplam puanı hesaplayarak öğrencinin uygulama düzeyini değerlendiriniz. Öğrencinin uygulama puanı, ölçek puanı 100'lük puanlama üzerinden hesaplanacaktır.

- Uygulamadan alınabilecek en yüksek puan 100 en düşük puan ise 25'tir.
- Ölçekteki her bir kriterden alınabilecek en yüksek puan 25, en düşük 5 puandır.
- Ölçekte 5'ten fazla madde yer aldığında 100'lük puanlama formülü (Öğrenci Puanı = Toplam Puan x Ölçek Puanı) ile dönüştürülerek öğrenci puanı hesaplanır.

DEĞERLENDİRME

Öğrenci puanı şu ölçütlere göre değerlendirilecektir:

• (85-100) ÇOK İYİ : İşlem basamakları çok iyi bir şekilde uygulandı.	GEÇER
• (70-84) İYİ : İşlem basamakları iyi bir şekilde uygulandı.	
• (50-69) YETERLİ : İşlem basamaklarında tekrar yapılması gereken adımlar bulunmaktadır.	
• (0-49) UYGULAMA TEKRARI: Uygulama beklenen seviyenin altındadır. Uygulama tekrar edilmelidir.	KALIR

DERS MATERYALİNİN TANITIMI

Uygulamanın işlem basamaklarını içerir.

Ders materyalinin adını içerir.

Uygulamanın adını içerir.

HAYVAN SAĞLIĞI LABORATUVARI

6.1. UYGULAMA | DOKU TAKİP CİHAZINDA DOKU TAKİP UYGULAMASI

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında doku takip cihazında doku takip uygulaması yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak doku takip cihazında doku takibi yapmanız beklenmektedir.

- ▲ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ▲ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği'nde verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

Kullanılacak Araç Gereçler

- Doku takip cihazı
- Alkol, ksilen, parafin ve yıkama solüsyonları
- Doku sepetleri

İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
2. Cihazın kimyasal solüsyonlarını (alkol, ksilen, parafin, yıkama ve solüsyonları), seviyelerini ve alkol derecelerini kontrol ediniz. Eksik olan sıvıları tamamlama çizgilerine kadar tamamlayınız. Kirlü kimyasalları yenileyerek cihaza yükleyiniz.
3. Cihaza flush programı uygulanıp uygulanmadığını kontrol ediniz. Cihaza flush işlemini her doku takibi bitiminde yapınız.
4. Doku sepetleri hazırlayınız.
5. Reaksiyon haznesinin kapağını açınız.
6. Doku sepetlerinin reaksiyon haznesine yüklemesini yapınız.



Süre: 2 Ders Saati

142

Uygulama Sayfası

Doku Preparatı

Sayfa numarasını gösterir.

Öğrenme biriminin uygulama süresini içerir.

Öğrenme birimi adını içerir.

Uygulamanın işlem basamaklarını destekleyen görselleri içerir.

* Bu ders materyalinde ölçü birimlerinin uluslararası kısaltmaları kullanılmıştır.

KAN ANALİZLERİ ÖNCESİ HAZIRLIK

ÖĞRENME BİRİMİ

https://www.eba.gov.tr/c?q=U55090_fd432cef



KONULAR

1.1. KAPİLLER KAN ALMA

1.2. VENÖZ KAN ALMA

1.3. KAN SERUMU ELDE ETME



Neler Öğreneceksiniz

- ▶ Hayvanlardan tekniğine uygun kapiller kan alma
- ▶ Enjektör ile kan alma
- ▶ Santrifüj yardımıyla kan serumu elde etme



Temel Kavramlar

kapiller kan, venöz kan, kan serumu santrifüj, pipet, mikropipet, kan tüpü



Hazırlık Çalışmaları

1. Hayvan haklarına riayet etme, kan alma işlemi sırasında hayvana eziyet etmeme, hayvan haklarını savunma, hayvan refahını sağlamada ilkeli hareket etme konularını araştırınız ve elde ettiğiniz bilgileri okul panosuna asınız.

1.1. KAPİLLER KAN ALMA

Kapiller kan; periferik yayma, kanama zamanı belirleme, pıhtılaşma zamanı belirleme, alyuvar ve akyuvar sayımı, hemoglobin ölçümü, kan grubu tayini ve kan şekeri ölçümü gibi testler için alınır. Az miktarda kan örneğine ihtiyaç duyulan test ve analizler için tercih edilen kan alma yöntemidir.

Sığır, at domuz, koyun, keçi, köpek, kedi ve tavşan gibi büyük hayvanlarda kulak ucu ya da kenarından alınır. Kobay, fare gibi küçük laboratuvar hayvanlarında kuyruk ucundan alınırken kanatlılarda ibik ucu makasla kesilerek kan alınır. Maymunda kulak kepçesi ya da parmaktan kan alınır. İnsanlardan ise yüzük parmağından (Görsel 1.1), orta parmak-tan, topuktan ve kulak memesinden alınır.



Görsel 1.1: Kapiller kan alma

Kullanılan Araç Gereç

Alkol, pamuk, steril lanset, yapılacak analize uygun pipet ya da mikropipet ve eldiven kullanılır.

İşlem Basamakları

Hayvandan kan alınacak bölge belirlenir. Belirlenen bölge gerekiyorsa tıraş edilir. Kan alınacak yer antiseptik solüsyon veya 70°lik alkolle silinir. Temizlenen bölgeye küçük bir kesi atılarak ilk gelen kan akıtılır. Kan alınacak alan temiz ve steril bir bezle silindikten sonra gerekli miktar kan alınır. İşlemler esnasında hayvanın hareket etmemesi sağlanır.

1.1. UYGULAMA | KAPİLLER KAN ALMA

Bu uygulamanın amacı hayvanlarda kapiller kan alma yöntemi ile kan almaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak kapiller kan alma yöntemi ile kan almanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 1'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🩺 Kullanılacak Araç Gereç

- Steril lanset
- Eldiven
- Pamuk
- Antiseptik solüsyon
- Pipet ve mikro pipet

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
2. Kan alacağınız yeri belirleyiniz.
Bölgenin tıraş edilmesi gerekiyorsa bölgeyi tıraş ediniz.
3. Kan alacağınız bölgeyi antiseptik solüsyonla temizleyiniz.
Antiseptik solüsyonun kurumasını bekleyiniz. Hayvanın hareket etmesine engel olunuz.
4. Kan alacağınız bölgeye lansetle küçük bir kesi atınız.
İlk gelen kanı akıtınız. Akan kanı temiz bir bezle siliniz.
5. Pipet veya mikropipet yardımıyla gerekli kanı alınız.
Kan aldığınız bölgeye kuru pamuk ile 30-40 saniye bastırınız.

Değerlendirme Ölçeği 1: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Kan alacağı bölgeyi belirledi ve gerekiyorsa kan alacağı bölgeyi tıraş etti.				
3. Kan alacağı bölgeyi antiseptik solüsyonla temizledi.				
4. Kan alacağı bölgeye küçük bir kesi attı.				
5. Pipet veya mikro pipet yardımıyla gerekli kanı aldı.				
TOPLAM PUAN				



1.2. VENÖZ KAN ALMA

Kanın bileşenlerinde meydana gelen değişimler ve hastalıkların tanısında kan analizleri, doktor ve veteriner hekimlerin hastalıkları teşhis etmesine ve uygulanacak tedavinin belirlenmesine yardımcı olan önemli faktörlerdir.

İğne veya kanül yardımı ile istenen miktardaki kanın tekniğine uygun şekilde vücut dışına akıtılması işlemine **kan alma** denir.

Hematolojik muayeneler için kan, sabahleyin aç karnına ya da sindirim sürelerinin dışında bedensel ve ruhsal tam bir dinlenmeden sonra alınır. Bazı hayvanlardan kan alma bölgeleri Tablo 1.1'de verilmiştir.

Tablo 1.1. Bazı Hayvanlardan Kan Alma Bölgeleri

At	V. Jugularis (Vena jugularis),
Sığır	V. Jugularis, Meme
Koyun ve Keçi	V. Jugularis,
Köpek	V. Cephalica Antebrachii (Vena sepelika antibraşi), V. Saphena (Vena sapena)
Kedi	V. Vephalica Antebrachii (Vena vepelika antibraşi), V. Jugularis,

Kan alma işleminde dikkat edilecek hususlar şunlardır:

- Hayvanı strese sokmayacak şekilde sakin ve sabırlı davranılmalıdır.
- Ödemli, morarmış ve vazokonstrüksiyon (damar cidarlarındaki kas yapıların kasılması sonucu damar çapının azalması, ilgili damarın beslediği bölgeye giden kan akımının azalması) nedeniyle rengi solmuş yerden kan alınmamalıdır.
- Kan alınacak bölgenin incitilmemesine ve sıkılmamasına dikkat edilmelidir. Eğer kan alınacak bölge sıkılırsa kan, hücreler arası suyu ile sulanır ve hücrelerin normal biçim ve yapıları da bozulur.
- Kan alınan yerde meydana gelen yangı nedeniyle kan tablosu değişeceğinden, özellikle küçük hayvanlarda, daha önceden kan alınan bölgeden kısa bir süre sonra tekrar kan alınmamalıdır.
- Bazen dokulara yapılan kesitlerden tıkanma sonu kan akmazsa damarları genişleterek kan çıkmasını sağlamak için bölge xylol ile silinmeli ve gazlı bezle kurulanmalıdır.
- Kanın hemoliz olmamasına dikkat edilmelidir. Hemoliz, eritrositlerin parçalanması sonucunda eritrosit içindeki hemoglobinin seruma geçmesidir. Hemolize olmuş kandan elde edilen kan serumu, hemoglobin varlığından dolayı pembe renkli görülür. Serumda hemoglobin konsantrasyonu 20 mg/dL'nin üzerinde olursa hemoliz olduğu gözle anlaşılır. Hemoliz olması durumunda birçok kan testi yapılmamalıdır.

Hemolize engel olmak için dikkat edilmesi gereken noktalar şunlardır:

- Kan alma sırasında sert hareketlerden kaçınılmalıdır.
- Enjektör ve iğne tamamen kuru olmalıdır.
- Enjektördeki iğne çıkartılıp kan, tüplere boşaltılmalıdır.
- Kanın konulacağı tüpün kuru ve temiz olmasına dikkat edilmelidir.
- Kan iğneden fışkırtılmamalı, tüp kenarından sızdırılarak istenen hacimde dikkatli bir şekilde aktarılmalı ve kanın köpürmesine engel olunmalıdır.
- Tüplerin ağzı kapaklı ise kapağı kapatılmalı ya da parafilm ile kapatılmalıdır.
- Tüp, oda ısısında kendi hâlinde (en az 20-30 dakika) pıhtılaşmaya bırakılmalı ve sallanmamalıdır.
- Tüplerin içinde katkı maddesi veya antikoagülan madde varsa tüpler yavaşça 5-10 kez alt üst edilerek özenle karıştırılmalıdır.
- Tüpler hiçbir zaman çalkalanmamalıdır.
- Kanın bekletilmesi gerekiyorsa tüpün ağzı kapalı serin bir yerde bekletilmeli asla dondurulmamalıdır.
- Vacutainer ile kan alındığında tüpteki antikoagülan madde ile kan dikkatli bir şekilde alt üst edilerek özenle karıştırılmalıdır.

Venöz kan alımında kullanılan tüplerin kapakları yapılacak analize ve içinde koruyucu madde bulunup bulunmadığına göre renklendirilmiştir (Görsel 1.2). Kan alımında kullanılan tüpler Tablo 1.2'de verilmiştir.

Tablo 1. 2. Kapak Renklerine Göre Kan Alma Tüpleri

KAPAK RENGİ	İÇERİĞİ	KULLANILAN TESTLER
Kırmızı-Sarı	Boş, Pıhtı Aktivatör ve Jel Separatör	Biyokimya, Hormon Testleri
Mor	EDTA	Hemogram, Hemoglobin, D Vitamini
Mavi	Sodyum Sitrat	Koagülasyon Testleri
Siyah	Sitratlı	Sedimentasyon Analizi
Gri	Sodyum EDTA+Sodyumflorür, Sitrat	Etanol Analizi
Yeşil	Heparinli	Kan Gazları



Görsel 1.2: Kan alma tüpleri

Kan alımında ve enjeksiyonda kullanılan enjektörlerdeki iğnelerin çap ve boyları kullanım alanlarına göre renklendirilmiştir (Görsel 1.3).



Görsel 1.3: Bazı enjektör uçları

Bu iğnelerin kullanım alanları renklerine bakılarak belirlenir. Tablo 1.3'te iğnelerin çapları ve renkleri verilmiştir. İğnelere verilen numara küçüldükçe iğnenin ucu büyümektedir.

Tablo 1.3: İğne Çapları ve Boyları

İĞNENİN RENGİ	ÇAPI	BOYU	KULLANIM ALANI
Açık Yeşil	14G	1 5/8"	Kan alma- Veteriner
Pembe	18G	1 1/2"	Kan alma- Veteriner
Fildişi	19G	1 1/2"	Kan alma- Veteriner
Sarı	20G	1 1/2"	Damar-Kalça
Yeşil	21G	1 1/2"	Damar-Kalça
Siyah	22G	1 1/2"	Damar-Kalça
Mavi	23G	1 1/4"	Damar-Kalça
Portakal Rengi	25G	1 5/8"	Diş Hekimliği
Kahverengi	26G	3/8"	İnsülin
Gri	27G	3/4"	Çocuk-Aşı
Sabit İğneli	29G	3/8"	İnsülin-Aşı

Kullanılan Araç Gereç

Enjektör (Hayvanın türüne göre belirlenir.), eldiven, vakumlu tüp (İstenen analizlere göre kapakları renklendirilmiş.), turnike, antiseptik solüsyon ve pamuk kullanılır.

İşlem Basamakları

Kan alınacak hayvan öncelikle sakinleştirilir ve hayvanın hareket etmesi önlenir. Kan alınacak bölge antiseptik solüsyonlu pamukla silinir. Kan alınacak damarın kalbe giden kısmına turnike bağlanarak damar belirginleştirilir. İğne veya kanül ile damara girilir. Turnike gevşetilerek gerekli miktarda kan tüplere aktarılır (Görsel 1.4). Kan alma işlemi bittiğinde kan alınan bölgeye kuru pamuk ile 30-40 saniye bastırılır.



Görsel 1.4: Hayvanlardan venöz kan alma

1.2. UYGULAMA | VENÖZ KAN ALMA

Bu uygulamanın amacı hayvanlarda venöz kan alma yöntemi ile kan almaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak venöz kan alma yöntemi ile kan almanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 2'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Enjektör veya kanül
- Eldiven
- Pamuk
- Kan alma tüpü
- Antiseptik solüsyon
- Turnike

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.
2. Kan alacağınız hayvanı sakinleştirerek uygun pozisyonda tutunuz, sabırlı ve kararlı olunuz.
Hayvandan kan alacağınız bölgeyi antiseptik solüsyonla temizleyiniz.
3. Enjektörü veya kanülü damara düzgün yerleştiriniz.
Turnikeyi gevşetiniz. Gerekli miktar kanı tüplere aktarınız.
4. Gerekli kanı aldıktan sonra kan alınan damara 30-40 saniye basınç uygulayınız.
Kananamanın durduğundan emin olunuz. Kan örneklerini uygun şartlarda ve en kısa zamanda laboratuvara gönderiniz.

Değerlendirme Ölçeği 2: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Kan alacağı bölgeyi belirledi ve gerekiyorsa kan alacağı bölgeyi tıraş etti.				
3. Kan alacağı bölgeyi antiseptik solüsyonla temizledi.				
4. Kan alacağı bölgeyi belirleyerek damarın belirginleşmesi için turnike bağladı.				
5. Enjektör veya kanül ile gerekli miktarda kanı aldı.				
TOPLAM PUAN				



1.3. KAN SERUMU ELDE ETME

Kan plazması, kanın sıvı kısmıdır. Pıhtılaşmayı önleyen bir antikoagulan madde üzerine alınan kan santrifüj edilirse şekilli elemanlar çöker ve plazma üst faz olarak elde edilir. Pıhtılaşmış kanın santrifüj edilmesiyle elde edilen sıvı, üst faz serumdur. Serumun plazmadan farkı fibrinojen ve diğer bazı pıhtılaşma faktörlerini içermemesidir.

Plazma veya serumda çeşitli biyokimyasal maddeler suda çözünmüş olarak bulunur. Kan plazmasının %90'ını su ve %10'unu suda çözünmüş katı maddeler oluşturur (Görsel 1.5).

Serum; kanın, fibrinojen ve şekilli elemanlarından (eritrosit, lökosit, trombosit) ayrılmış hâlidir.



Görsel 1.5: Kan serumu

Kullanılan Araç Gereç

Eldiven, antiseptik solüsyon, enjektör, turnike, jelli tüp, pamuk, santrifüj kullanılır.

İşlemin Yapılışı

Hayvandan alınan en az 5 ml kan, içinde jel bulunan tüpe aktarılır. Kanın, tüpün çepesinde bulunan silika partikülleri ile temas etmesi için tüp 5-6 kez altüst edilmeli kesinlikle çalkalanmamalıdır. Tüp içindeki kanın pıhtılaşması için en az 30 dakika, en fazla 1 saat beklenmelidir. Tüp içinde pıhtılaşan kan santrifüje yerleştirilerek 1.500-2.000 devirde 10 dakika santrifüjlenir. Tüp içinde bulunan jel, serum ile kan hücrelerini birbirinden ayırır. Ayrılan serum daha önce hazırlanmış ve üzerinde gerekli bilgilerin yazılı olduğu bir tüpe aktarılır. Hemolizli veya bulanık serumlar birçok tetkik için uygun değildir, yeniden örnek alınmalıdır.

BİLGİ KÖŞESİ

Santrifüj, genellikle elektrikli bir motor yardımıyla sabit eksenli, dairesel dönme hareketi gerçekleştiren bir laboratuvar aletidir.

Santrifüj aletinin yüksek devir sayısı, içine yerleştirilen karışımların çökeltme prensibine göre ayrılmasını sağlar. Ağır parçalar merkezkaç kuvveti yardımıyla tüpün alt kısmında toplanırken hafif parçalar tüpün üst kısmına doğru hareket eder (Dairesel hareketin merkezine doğru yol alır.). Süspansiyonlar veya emülsiyonlar bu şekilde kolaylıkla ayrılabilir. Örneğin kan; en üst kısmında serum, orta kısımda yağ, alt kısımda ise pıhtı kalacak şekilde ayrıştırılabilir.

1.3. UYGULAMA | KAN SERUMU ELDE ETME

Bu uygulamanın amacı hayvanlardan kan serumu elde etmektir. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak kan serumu elde etmeniz beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 3'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Eldiven
- Antiseptik solüsyon
- Enjektör
- Turnike
- Jelli tüp
- Pamuk
- Santrifüj

1 2 3 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.
2. Hayvandan aldığınız kanı jelli tüpe aktarınız.
Tüpü 5-6 kez altüst ediniz, kesinlikle çalkamayınız.
3. Tüpte bulunan kanın pıhtılaşmasını bekleyiniz.
Pıhtılaşma süresine uyunuz.
4. Pıhtılaşan kanı 1.500-2.000 devirde 10 dakika santrifüjleyiniz.
Santrifüj kullanma talimatlarına uyunuz.
5. Ayrılan serumu yeni bir tüpe aktarınız.
Aktarma işlemini dikkatli yapınız.

Değerlendirme Ölçeği 3: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Yeterli miktarda kanı alıp jelli tüpe aktardı.				
3. Tüpü 5-6 kez yavaşça altüst etti.				
4. Santrifüj kullanma talimatlarına uydu.				
5. Elde edilen serumu yeni bir tüpe aktardı.				
TOPLAM PUAN				



ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A) Aşağıdaki cümleleri dikkatli bir şekilde okuyarak doğru olanların başına (D) yanlış olanların başına (Y) koyunuz.

1. () Gri kapaklı kan alma tüpünde EDTA bulunur.
2. () Enjektör uçlarının numarası büyüdükçe enjektörün çapı küçülür.
3. () Fare, kobay gibi laboratuvar hayvanlarından kapiller kan kuyruk ucundan alınır.
4. () Hematolojik muayeneler için kan herhangi bir zamanda alınır.
5. () Kan plazmasının %90'ı sudur.
6. () Portakal rengindeki iğne ucu dişçilikte kullanılır.
7. () Kapiller kan alımında iğne veya kanül kullanılır.
8. () Hemolizli ve bulanık serumlar tetkiklerde kullanılabilir.

B) Aşağıdaki cümlelerde boş bırakılan yerlere doğru sözcükleri yazınız.

9. az miktarda kana gereksinim duyulan testler için tercih edilir.
10. Kanatlılarda kapiller kan ucundan alınır.
11. İğne veya kanül ile damara girilerek ihtiyaç duyulan miktarda alınması işlemine denir.
12. Toplar damardan alınan kana kan alma denir.
13. Kanın santrifüj edilmesiyle elde edilen sıvıya adı verilir.
14. Kanın şekilli elemanları eritrositler, ... ve trombositlerdir.

C) Aşağıdaki verilen çoktan seçmeli sorularda doğru seçeneği işaretleyiniz.

15.

KAN ALMA TÜPÜNÜN RENGİ	İÇİNDE BULUNAN ÇÖZELTİ
1. Kırmızı	• Boş
2. Gri	• Sitratlı
3. Mavi	• Sodyum EDTA+Sodyumflorür, Sitratl
4. Yeşil	• Heparinli
5. Mor	• EDTA

Yukarıda verilen eşleştirmelerden hangisi veya hangileri yanlıştır?

- A) Yalnız 2
- B) 1-4
- C) 2-3
- D) 3-4-5
- E) 1-2-5

16.

ENJEKTÖR UCUNUN RENGİ	KULLANIM ALANI
1. Pembe	• Kan Alma-Veterinerlik
2. Gri	• Çocuk-Aşı
3. Mavi	• Diş Hekimliği
4. Açık Yeşil	• Damar-Kalça
5. Siyah	• Damar-Kalça

Yukarıdaki eşleştirmelerden hangisi veya hangileri doğru olarak verilmiştir?

- A) 1-3
- B) 1-2-4
- C) 2-3
- D) 3-4-5
- E) 1-2-5



KANIN ÖZELLİKLERİ

ÖĞRENME BİRİMİ



https://www.eba.gov.tr/c?q=U55092_f2b0dc0f



KONULAR

- 2.1. KAN HÜCRELERİ SAYIMI
- 2.2. KANDA HEMOGLOBİN TAYİNİ
- 2.3. KANDA HEMATOKRİT DEĞER TAYİNİ
- 2.4. KANDA SEDİMENTASYON TAYİNİ
- 2.5. KAN SAYIM CİHAZI İLE KAN SAYIMI

Neler Öğreneceksiniz

- ▶ Thoma lamı ile kan sayımı yapma
- ▶ Sahli yöntemi ile hemoglobin tayini yapma
- ▶ Mikrohematokrit metodu ile kanda hematokrit tayini yapma
- ▶ Westergreen pipeti ile kanda sedimentasyon tayini yapma
- ▶ Kan sayım cihazı ile kan sayımı yapma

Temel Kavramlar

eritrosit, lökosit, trombosit, thoma lamı, sulandırma pipetleri, mikroskop, hemoglobin, hematokrit, sedimentasyon, kan sayım cihazı

Hazırlık Çalışmaları

1. Kan analizlerinin önemini açıklayınız.
2. Teknolojik gelişmelerin kan analizleri üzerine etkilerini araştırınız.

2.1. KAN HÜCRELERİ SAYIMI

Kan; plazma ve şekilli elemanlar (eritrosit, lökosit ve trombosit) olmak üzere iki kısımdan meydana gelir. Kanın yaklaşık %90'ını plazma oluşturur. Kan analizlerinin amacı hayvanlarda ve insanlarda meydana gelen veya gelebilecek metabolik rahatsızlıkları belirlemek ve tedavinin planlamasını sağlamaktır. Metodun prensibi 1 mm³ kanda bulunan eritrosit ve lökosit sayısını belirlemektir.

2.1.1. Thoma Lamında Eritrosit ve Lökosit Sayımı

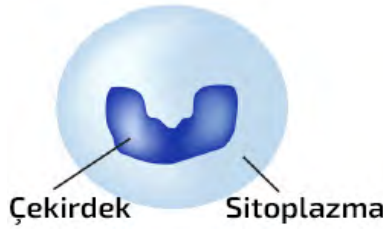
Eritrositler [Alyuvarlar (RBC)]: Kana rengini veren yapılardır. Dokulara besin ve oksijen taşır, dokularda oluşan karbondioksiti de akciğerlere taşır. Genel olarak kemik iliğinde üretilir (Görsel 2.1).

Lökositler [Akyuvarlar (WBC)]: Vücudun savunma hücreleridir. Vücutta meydana gelen enfeksiyonlara karşı vücudu korur (Görsel 2.2).

Trombositler (PLT): Kesik ve yaralardaki kanın pıhtılaşmasını sağlayan hücrelerdir (Görsel 2.3).



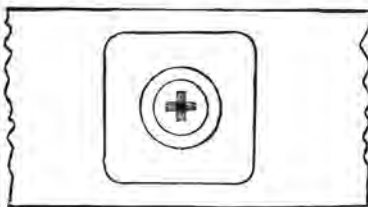
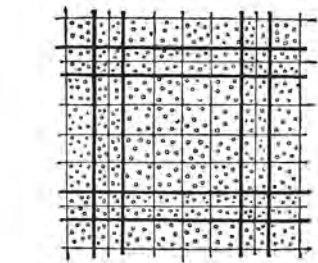
Görsel 2.1: Eritrositler



Görsel 2.2: Lökositler



Görsel 2.3: Trombositler



Görsel 2.4: Thoma lamının görünümü

Thoma Lamı: Thoma lamı; özel olarak hazırlanmış, üzerinde mikroskopik olarak görülebilen enine ve boyuna çizgilerin sınırladığı alanlar bulunan bir lamdır. Thoma lamının üzerine lamel kapatılarak yandan bakılacak olursa lam ile lamel arasında bir boşluk kaldığı görülür. Lam ile lamel arasındaki bu boşluğun kalınlığı 1/10 mm'dir. Thoma lamı üzerinde her biri 1 mm² olan iki adet sayım alanı vardır. En büyük karenin alanı 1 mm² dir. Bu alan, enine ve boyuna çizilmiş çizgilerle 4 x 4 = 16 eşit kareye bölünmüştür. Bu 16 karenin her birine büyük kare adı verilir. Bu karelerin kenar uzunlukları, üçlü çizgilerden dışarıda bulunanlar esas alınarak hesaplanır. 16 büyük kareden her birinin kenar uzunluğu 1/5 mm'dir. Bu 16 büyük kare de tekli çizgilerle tekrar 4 x 4 = 16 eşit küçük kareye ayrılır ve her bir küçük karenin kenar uzunluğu 1/5/4 = 1/20 mm'dir (Görsel 2.4). Bu küçük karelerin kenar uzunluğu, üçlü çizgilerin kalınlığı ile aynıdır.

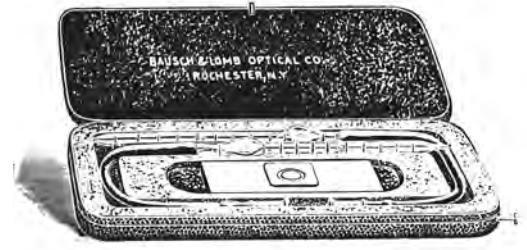
Sulandırma Pipetleri: Kanın sulandırılması amacıyla kullanılan pipetlerdir. Pipetler; kılcal boru, balon ve emme kısmından oluşur.

Alyuvar (eritrosit) pipetlerinde kılcal boru üzerinde 0,5 ve 1 taksimatları (bölmeleri) balon da ise 101 taksimatı vardır. Ayrıca balonun içinde kırmızı renkli boncuk vardır. Boncuk bulunmasının nedeni pipetin hangi amaçla kullanılacağını belirlemek ve kanın sulandırma çözeltileri ile homojen bir şekilde karışmasını sağlamaktır.

Akyuvar (lökosit) pipetlerinde ise kılcal boruda 0,5 ve 1 taksimatı, balonda ise 11 taksimatı ve beyaz renkli boncuk vardır. Boncuğun amacı hangi amaçla kullanılacağını belirlemek ve kanı homojen bir şekilde karışmasını sağlamaktır (Görsel 2.5).

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Eritrosit (alyuvar) sayımında; thoma lamı, lamel, kırmızı boncuklu ve üzerinde 0,5,1 ve 101 işaretleri olan eritrosit sayma pipeti ve kırmızı hortumu, hayem solüsyonu, saat camı, lanset, alkol, pamuk, eldiven ve mikroskop kullanılır.



Görsel 2.5: Sulandırma pipetleri

İşlemin Yapılışı

Kan alınacak bölge antiseptik solüsyonla iyice temizlenir ve temizlenen bölgeye lanset yardımıyla küçük bir kesi atılır. Kesiden akan ilk kan akıtılır ve pamukla silinir. Kırmızı boncuklu pipet kesiye yatay bir şekilde yerleştirilerek 0,5 çizgisine kadar kan çekilir. Çekilen kanın üzerine 101 çizgisine kadar hayem solüsyon çözeltisi çekilerek pipetin her iki ucu kapatılır ve kanın solüsyonla iyice karışması için pipet birkaç kere sağa sola hafifçe çevrilir. Homojen hâle gelen kanın ilk birkaç damlası boşa akıtılır. Daha sonra thoma laminin kenarından küçük bir damla kan akıtılır. Kanın, lamin üstüne çıkmamasına özen gösterilir. Thoma lamına aktarılan kanın üzeri lamel ile kapatılır. Mikroskop yardımıyla köşelerdeki 4 büyük kare ve ortadan da 1 büyük kare seçilerek toplamda 5 adet büyük karede yani 80 adet küçük karede görülen eritrositler sayılır.

- **Eritrosit Sayım Sonucunun Hesaplanması** 1 mm^3 kandaki eritrosit sayısı = sayılan eritrosit sayısı x hacim katsayısı x sulandırma katsayısı

Hacim Katsayısı

Küçük karelerden her birinin kenarları = $1/20 \text{ mm}$

Lam ile lamel arasındaki yükseklik = $1/10 \text{ mm}$

Küçük karelerden her birinin hacmi = $1/20 \times 1/20 \times 1/10 = 1/4000 \text{ mm}^3$

80 adet küçük kare sayıldığına göre = $y/4000 \text{ mm}^3 = 0,02 \text{ mm}^3$

1 mm^3 teki eritrosit sayısını bulma

$0,02 \text{ mm}^3$ te x adet eritrosit varsa

1 mm^3 te kaç x adet eritrosit vardır?

$x = 1/0,02 = 50 = \text{hacim katsayısı}$

Sulandırma Katsayısı

Eritrosit pipetinde kan 0,5 ml çizgisine kadar çekilir ve 101 ml çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanırsa 200 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 200'dür.

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki eritrosit sayısı} = \text{sayılan eritrosit sayısı} \times 50 \times 200$$

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki eritrosit sayısı} = \text{sayılan eritrosit sayısı} \times 10000$$

Lökosit (akyuvar) sayımında; thoma lamı, lamel, beyaz boncuklu ve üzerinde 0.5, 1 ve 11 işaretleri olan lökosit sayma pipeti ve beyaz hortumu, Türk solüsyonu, saat camı, lanset, alkol, pamuk, eldiven ve mikroskop kullanılır.

Kan alınacak bölge antiseptik solüsyonla iyice temizlenir ve temizlenen bölgeye lanset yardımıyla küçük bir kesi atılır. Kesiden akan ilk kan akıtılır ve pamukla silinir. Beyaz boncuklu pipet kesiye yatay bir şekilde yerleştirilerek 0,5 çizgisine kadar kan çekilir. Çekilen kanın üzerine 11 çizgisine kadar Türk solüsyon çözeltisi çekilerek pipetin her iki ucu kapatılır ve kanın solüsyonla iyice karışması için pipet birkaç kere sağa sola hafifçe çevrilir. Homojen hâle gelen kanın ilk birkaç damlası boşa akıtılır, daha sonra thoma lamının kenarından küçük bir damla kan akıtılır. Kanın lamın üstüne çıkmamasına özen gösterilir. Thoma lamına aktarılan kanın üzeri lamel ile kapatılır. Mikroskop yardımıyla 1 mm^2 'lik tüm alandaki lökositler sayılır.

-
- **Lökosit Sayım Sonucunun Hesaplanması** 1 mm^3 kandaki lökosit sayısı = sayılan eritrosit sayısı x hacim katsayısı x sulandırma katsayısı
-

Hacim Katsayısı

En büyük karenin her bir kenarı = 1 mm Lam ile lamel arasındaki yükseklik = $1/10 \text{ mm}$

En büyük karenin hacmi = $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 1/10 \text{ mm} = 1/10 \text{ mm}^3 = 0,1 \text{ mm}^3$

1 mm^3 teki lökosit sayısını bulma

$0,1 \text{ mm}^3$ te x adet lökosit varsa

1 mm^3 te kaç kaç x adet lökosit vardır?

$x = 1/0,1 = 10 = \text{Hacim katsayısı}$

Sulandırma Katsayısı

Lökosit pipetinde kan 0,5 ml çizgisine kadar çekilir, 11 ml çizgisine kadar sayım solüsyonu ile tamamlanırsa 20 defa sulandırma yapıldığı için sulandırma katsayısı 20'dir.

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki lökosit sayısı} = \text{sayılan lökosit sayısı} \times 10 \times 20$$

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki lökosit sayısı} = \text{sayılan lökosit sayısı} \times 200$$

2.1. UYGULAMA | THOMA LAMİ İLE KAN SAYIMI

Bu uygulamanın amacı hayvanlarda thoma lamı ile kan sayımı yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak thoma lamı ile kan sayımı yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği'nde verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Lanse
- Pamuk
- Thoma lamı
- Eldiven
- Eritrosit pipeti
- Hayem solüsyonu
- Antiseptik solüsyon
- Lökosit pipeti
- Türk solüsyonu

☰ İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız
2. Kan alacağınız hayvanı sakinleştirerek uygun pozisyonda tutunuz.
Hayvandan kan alacağınız bölgeyi anti-septik solüsyonla temizleyiniz.
3. Lanset ile küçük bir kesi atınız.
İlk gelen kanı pamukla temizleyiniz.
4. Pipetin 0,5 çizgisine kadar kan çekiniz, ölçülü olunuz
5. Pipeti kesiye paralel tutunuz.
6. Eritrosit için pipete 101 çizgisine kadar hayem solüsyonu çekiniz. Lökosit için pipete 11 çizgisine kadar Türk solüsyonu çekiniz.
Kanın solüsyonlarla karışması için hafifçe sağa sola çeviriniz.
7. Pipetteki kandan thoma lamına bir damla kan boşaltınız.
Kanı thoma lamına dikkatli boşaltınız.
8. Thoma lamını lamelle kapatınız.
Lam ile lamel arasında 1 mm boşluk kaldığından emin olunuz.
9. Mikroskop yardımıyla sayım yapınız.
Eritrosit sayımı için köşedeki bütün kareleri ve ortadaki karelerden birini sayınız. Lökosit için ise lamın tamamını sayınız. Sayım sonuçlarını not ediniz.

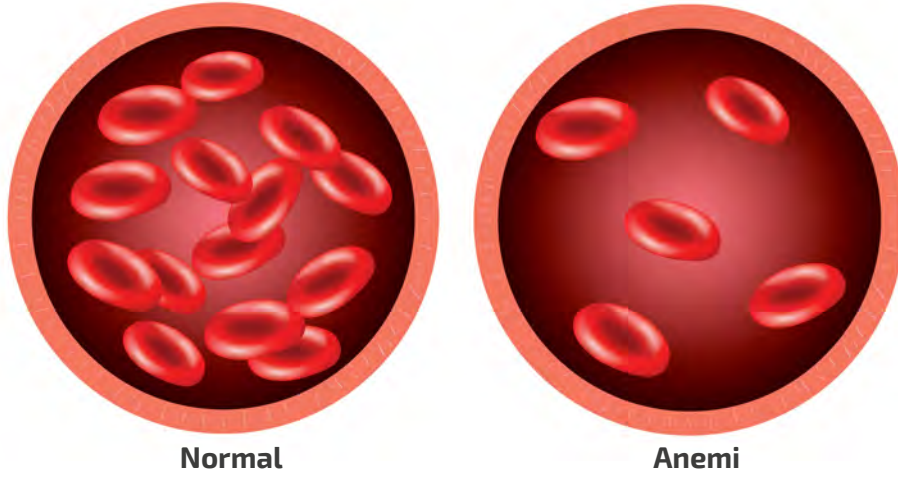
Değerlendirme Ölçeği 1: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Kan alacağı bölgeyi belirledi ve gerekiyorsa kan alacağı bölgeyi tıraş etti.				
3. Kan alacağı bölgeyi antiseptik solüsyonla temizledi.				
4. Kan alacağı bölgeyi belirleyerek damarın belirginleşmesi için turnike bağladı.				
5. Enjektör veya kanül ile gerekli miktarda kanı aldı.				
TOPLAM PUAN				



2.2. KANDA HEMOGLOBİN TAYİNİ

Hemoglobin, eritrositlere bağlı olan bir proteindir. Dokulara oksijen taşıyan ve dokularda oluşan karbondioksiti, akciğerlere taşır. Hemoglobin ayrıca kana kırmızı rengini verir. Hemoglobinin normal değerlerden düşük olması anemiyi (Görsel 2.6), yüksek olması ise polisitemiyi (eritrositoz) düşündürür. Omurgalı canlılarda hemoglobin miktarı; türe, cinsiyete, yaşa göre değişiklik gösterir.



Görsel 2.6: Hemoglobin

Hemoglobin tayini laboratuvarında, siyanmethemoglobine ve kolorometrik yöntemlerle yapılabilmektedir.

Siyanmethemoglobine Metodunun Prensibi: Hemoglobin ferrisiyanürle methemoglobine oksitlenir ve methemoglobin, kan ilavesiyle dayanıklı siyanmethemoglobine çevrilir.

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Spektrofotometre, hemoglobin pipeti, 5 ml'lik pipet, test tüpleri ve tüp sporu, alkol, pamuk, lanset kullanılır.

► Drapkin Çözeltisi

1 gram sodyum bikarbonat (NaHCO_3), 0,05 gram potasyum siyanit (KCN), 0,2 gram potasyum ferri siyanit ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) distile suda çözündürülerek hacmi litreye tamamlanır.

İşlemin Yapılışı

Temiz bir tüp içine 5 ml drapkin çözeltisi konur. Kapiller kan alma kurallarına uyarak hemoglobin pipeti ile 0,02 ml kan çekilir. Pipetteki kanı içinde drapkin çözeltisi bulunan tüpe aktarılır. Pipette kan kalmaması için tüpteki çözelti ile birkaç kere çekip boşaltılır ve tüp döndürülerek yavaşça karıştırılır. 10-15 dakika beklenir. Spektrofotometre 10-15 dakika önce çalıştırılarak ısınması sağlanır. Dilüe edilmiş köre (drapkin solüsyonuna) karşı 540 nm ayarlanarak spektrofotometrenin sıfır ayarı drapkin çözeltisi ile yapılır.

2.2.1. Kalibrasyon Eğrisi

Hemoglobin ölçümü amacıyla spektrofotometreleri ayarlamak için içinde 60 mg siyan-methemoglobin/100 ml hemoglobin içeren hazır preparatlar kullanılır. Kullanılan kan örneğinin sulandırma katsayısı 1/251'dir.

60 mg'lık standart $60 \times 251/100 = 15,06$ gr hemoglobin/100 ml tam kan değerine karşılık gelir. Kalibrasyon eğrisi üzerinde diğer noktaları belirlemek için standardın doğru dilüsyonları (Tablo 2.1) yapılır

Tablo 2.1: Standart Dilüsyon Serileri

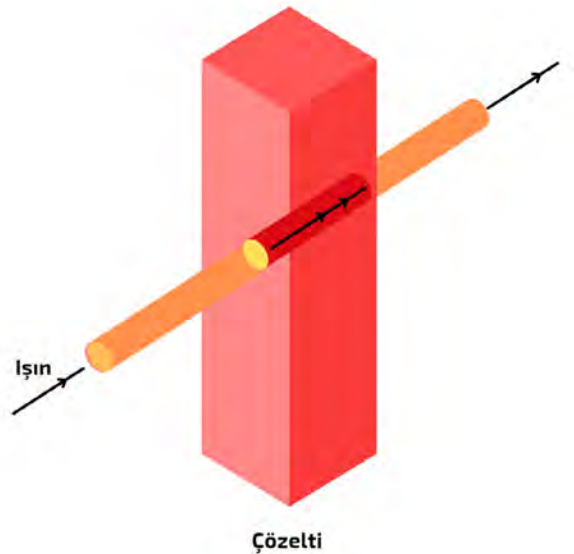
TÜP NO	TÜP İÇERİĞİ	GRAM Hb/100 ml kan
1 (kör)	6 ml dilüent (drapkin)	0,0
2	1 ml standart + 5 ml dilüent	2,5
3	2 ml standart + 4 ml dilüent	5,0
4	4 ml standart + 2 ml dilüent	10
5	6 ml standart	15

Dilüsyon serilerinin okumaları spektrofotometrede okunarak absorbens değerleri yatay eksene 100 ml/g, Hb değerleri dikey eksene yazılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulur.

• BİLGİ KÖŞESİ

Spektrofotometrelerin temel çalışma prensibi, hazırlanan çözeltiden belirli dalga boyunda ışın geçirilmesi ve bu ışının ne kadarını çözeltinin tuttuğunun bulunması esasına dayanır (Görsel 2.7).

Çözeltinin içindeki madde miktarı ne kadar fazla ise çözelti tarafından tutulan ışın miktarı da o kadar fazla olur. Çözelti içindeki bütün maddeler, ışının bir dalga boyunu tutarken diğerlerini yansıtır ya da geçirir. Maddenin belli bir dalga boyundaki ışını tutması, onun diğer fiziksel ve kimyasal özellikleri (kaynama noktası, donma noktası, yoğunluk vb.) gibi sabit bir özelliğidir. Maksimum hassasiyet veya en büyük absorptivite, ışığın maksimum absorplandığı dalga boylarında gerçekleşir. Bu nedenle yapılan ölçümlerde en büyük absorbens değerini veren dalga boyu seçilir.



Görsel 2.7: Spektrofotometrelerde ışının geçişi

2.2. UYGULAMA | SAHLİ YÖNTEMİ İLE KANDA HEMOGLOBİN TAYİNİ

Bu uygulamanın amacı sahlî yöntemi ile kanda hemoglobin tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak sahlî yöntemi ile kanda hemoglobin tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 2'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Lanset
- Eldiven
- Antiseptik solüsyon
- Pamuk
- Sahli hemometresi
- 0,1 N HCl

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.
2. Hemometre setinin içindeki dereceli tüpün en alt çizgisine kadar 0,1 N HCl koyunuz.
Çizgiye dikkat ediniz.
3. Kan alacağınız hayvanı sakinleştirerek uygun pozisyonunda tutunuz.
Hayvandan kan alacağınız bölgeyi antiseptik solüsyonla temizleyiniz.
4. Lanset ile küçük bir kesi atınız.
İlk gelen kanı pamukla temizleyiniz.
5. Hemoglobin pipetinin ucunu yeni oluşan kan damlasının içine yatay olarak daldırınız.
Pipeti kesiye paralel tutunuz.
6. Pipetin, alkolle sildiğiniz emici kısmını ağızınıza alıp 0,02 ml çizgisine kadar kan çekiniz.
Kanın solüsyonlarla karışması için hafifçe sağa sola çeviriniz.



7. Pipetin ucunu kandan uzaklaştırırken emici kısmı da ağızınızdan çıkarınız ve pipeti yatay olarak tutunuz. Pipetin dış kısmına bulaşan kanı siliniz.
8. Pipeti dereceli tüpün içindeki HCl solüsyonuna daldırınız ve hafifçe üfleyiniz. Pipetteki kanın pıhtılaşmaması için seri olunuz. Pipette kan kalmaması için solüsyonu birkaç kere dikkatli bir şekilde geri çekip üfleyiniz. Asit hematinin oluşması yani kırmızı rengin kahverengiye dönüşmesi için 2-3 dakika bekleyiniz
9. Temiz bir damlalıkla yandaki standart renklerle aynı rengi elde edinceye kadar yavaş yavaş distile su ilave edip cam bagetle karıştırınız. Renk eşitliğini sağladığınız zaman tüpün üzerindeki seviyeyi her iki yüzde de okuyunuz ve kaydediniz.

Değerlendirme Ölçeği 2: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereçi hazırladı.				
2. Hemogloblin tayini için hemometredeki dereceli tüpe gerekli olan 0,1 N HCl miktarını aktardı.				
3. Hemogloblin pipetine 0,02 ml kan çekti.				
4. Pipeti, içinde HCl bulunan tüpe boşalttı.				
5. Standart renk elde edene kadar distile su ilavesi yaptı ve sonucu okuyarak kaydetti.				
TOPLAM PUAN				



2.3. UYGULAMA

SIYANMETHEMOGLOBİN YÖNTEMİ İLE KANDA HEMOGLOBİN TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı Siyanmethemoglobin yöntemi ile kanda hemoglobin tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak Siyanmethemoglobin yöntemi ile kanda hemoglobin tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 3'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Lanset
- Pamuk
- Test tüpleri ve tüp sporu
- Eldiven
- Hemoglobin pipeti
- 5 ml'lik pipet
- Antiseptik solüsyon
- Spektrofotometre
- Drapkin çözeltisi

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.
2. Temiz bir tüp içerisine 5 ml drapkin çözeltisi koyunuz.
Aktarma işlemi dikkatli yapınız.
3. Kapiller kan alma kurallarına uyarak hemoglobin pipeti ile 0,02 ml kan çekiniz.
Pipetin dışına bulaşan kanı pamukla siliniz.
4. Pipetteki kanı içinde drapkin çözeltisi bulunan tüpe aktarınız.
Pipette kan kalmaması için tüpteki çözelti ile birkaç kere çekip boşaltınız ve tüpü döndürerek yavaşça karıştırınız. 10-15 dk. bekleyiniz.
5. Spektrofotometreyi 10-15 dk. önce çalıştırarak ısınmasını sağlayınız. Dilüe edilmiş köre (drapkin solüsyonuna) karşı 540 nm ayarlayınız.
Spektrofotometrenin sıfır ayarını drapkin çözeltisi ile yapınız.
6. Kalibrasyon eğrisi üzerinde diğer noktaları belirlemek için standart dilüsyonları hazırlayınız.
Hazırladığınız dilüsyonları spektrofotometrede okutarak okuma değerlerini not alınız.
7. Kalibrasyon eğrisini çiziniz.
Spektrofotometrede okunan absorbans değerlerini yatay eksene yazınız.
8. Kalibrasyon eğrisinden yararlanarak hemoglobin miktarını hesaplayınız.
Hesaplamaları dikkatli yapınız.

Değerlendirme Ölçeği 3: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Tüpe 5 ml drapkin çözeltisi koydu.				
3. Hemoglobin pipeti ile 0,02 ml kan çekti.				
4. Spektrofotometrede okumaları yaptı.				
5. Kalibrasyon eğrisini oluşturdu.				
TOPLAM PUAN				



2.3. KANDA HEMATOKRİT DEĞER TAYİNİ

Kandaki şekilli elemanların plazmaya oranına **hematokrit (Hct)** denir. Hematokrit değeri genel olarak hemoglobin ve eritrositlerin değerleriyle paralellik gösterir. Hematokrit değerlerinde tür, yaş, cinsiyet ve yaşanan bölgenin rakımı etkilidir.

Kullanılan Araç Gereç

Ucu genellikle kırmızı işaretli heparinli kapiller tüp, hematokrit santrifüj aleti, hematokrit okuma kartı (eşel), lanset, antiseptik solüsyon, pamuk, bunzen beki ve eldiven kullanılır.

İşlemin Yapılışı

Kan alınacak bölge antiseptik solüsyonla temizlenir. Lanset ile küçük bir kesi atılır. İlk gelen kan pamukla silinir. Daha sonra heparinli kapiller tüpün $\frac{3}{4}$ kadar kan alınarak heparinli kapiller tüpün plastik ucu bunzen beki alevinde eritilerek kapatılır. Ucu kapatılan tüpler hematokrit santrifüjüne (Görsel 2.8) yerleştirilir ve santrifüjün kapağı sıkıca kapatıldıktan sonra 10.000 devirde 5 dk. santrifüj edilir. Santrifüjden alınan tüpler eşele (Görsel 2.9) yerleştirilerek % hematokrit değeri bulunur.

Görsel 2.8: Hematokrit santrifüjü

Görsel 2.9: Hematokrit eşeli

2.4. UYGULAMA | MİKROHEMATOKRİT METODU İLE KANDA HEMATOKRİT DEĞER TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı mikrohematokrit metodu ile kanda hematokrit değer tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden aşağıdaki işlem basamaklarını uygulayarak mikrohematokrit metodu ile kanda hematokrit değer tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Santrifüj kullanma talimatlarına uyunuz.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 4'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🩺 Kullanılacak Araç Gereç

- Lanset
- Pamuk
- Okuma tablosu (eşel)
- Eldiven
- Hematokrit santrifüjü
- Heparinli kapiller tüp
- Antiseptik solüsyon
- Bunzen beki

1 2 3 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Gerekli araç gereci hazırlayınız.
2. Kan alınacak bölgeyi antiseptik solüsyonla temizleyiniz.
Bölgeyi gerekiyorsa tıraş ediniz.
3. Lanset yardımıyla kan alacağınız yere küçük bir kesi atınız.
İlk gelen kanı pamukla siliniz.
4. Heparinli kapiller tüpün ¾'ü kadar kan alınız.
İşlemleri yaparken dikkatli olunuz.
5. Heparinli kapiller tüpün boş kısmını bunzen bekinde ısıtarak kapatınız.
Tüpün iyice kapattığınızdan emin olunuz.
6. Ucu kapatılan tüpleri hemotokrit santrifüjüne yerleştiriniz.
Tüpleri karşılıklı yerleştiriniz ve santrifüjün kapağını sıkıca kapatınız.
7. 10.000 devirde 5 dk. santrifüj ediniz.
Santrifüj hızını ve süreyi kontrol ediniz.
8. Santrifüjden alınan tüpleri eşele yerleştirerek % hemotokrit değerini bulunuz.
Okuma kartına (eşele) doğru yerleştiriniz.

Değerlendirme Ölçeği 4: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Tüpe 5 ml drapkin çözeltisi kodu.				
3. Hemogloblin pipeti ile 0,02 ml kan çekti.				
4. Spektrofotometrede okumaları yaptı.				
5. Kalibrasyon eğrisini oluşturdu.				
TOPLAM PUAN				



2.4. KANDA SEDİMENTASYON TAYİNİ

Kanda sedimentasyon analizleri farklı yöntemlerle yapılabilmektedir. Sedimentasyon tayininde: westergreen pipeti ile kanda sedimentasyon tayini, ESR/VSG metodu ile kanda sedimentasyon tayini ve frimberger sedimentasyon yöntemleri kullanılır. Sedimentasyon tayininde kullanılacak yöntem belirlenirken kan alınacak hayvanın türü ve kanın çökme hızı dikkate alınır.

2.4.1. Westergreen Pipeti ile Kanda Sedimentasyon Tayini

Kanda sedimentasyon (Görsel 2.10) hızı plazmada bulunan eritrositlerin belirli zaman (30 dakika, 1 saat, 24 saat) dilimlerinde dibe çökmesi ile belirlenir. Genel olarak bir saatteki çökme hızı baz alınır. Bazı hastalıklarda sedimentasyon hızlı bir şekilde (tüberküloz, akut romatizmal hastalıklar, akut ve kronik infeksiyonlar, miyokart infarktüsü, anemiler gibi hastalıklarda) çökmektedir. Akut kalp yetmezliği, polisitemiler gibi hastalıklarda daha yavaş çökmektedir.



Görsel 2.10: Sedimentasyon tayini

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Sedimentasyon tayininde westergreen pipeti (30 cm uzunluğunda olup 200 mm'ye kadar işaretlenmiştir, iç çapı 2,5 mm'dir, 1 ml kan alır.), eldiven, enjektör, pamuk, antiseptik solüsyon, tüp, tüp sehпасı, westergreen pipeti askısı, çalar saat ve %3,8'lik steril sodyum sitrat çözeltisi kullanılır.

İşlemin Yapılışı

2 ml'lik bir enjektöre 0,4 ml sodyum sitrat alınır, üzerine 2 ml çizgisine kadar venöz kan alınarak enjektör birkaç defa alt üst edilip kan ile sodyum sitratın homojen şekilde karışması sağlanır. Alınan kan westergreen pipetine aktarılacak için steril bir tüpe boşaltılır. Westergreen pipetinin 0 (sıfır) çizgisine kadar kan çekilir, kanın akmaması için pipetin üst kısmı parmakla kapatılarak westergreen askısına asılır. Çalar saat 30 ve 60 dakikaya ayarlanarak pipetten eritrositlerin çökme hızları, plazma ile kesiştikleri nokta mm/dk. olarak belirlenir.

2.5. UYGULAMA | WESTERGREEN PİPETİ İLE KANDA SEDİMENTASYON TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı westergreen pipeti ile kanda sedimentasyon tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak westergreen pipeti ile kanda sedimentasyon tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 5'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Enjektör
- Antiseptik solüsyon
- Tüp ve sehpası
- Eldiven
- Pamuk
- Çalar saat
- Westergreen pipeti
- Westergreen askısı
- % 3,8'lik sodyum sitrat

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Gerekli araç gereci hazırlayınız.
2. 2 ml'lik enjektöre 0,4 ml sodyum sitrat çözeltisi çekiniz.
İşlemi dikkatli yapınız.
3. Kan alınacak bölgeyi antiseptik solüsyonla temizleyiniz.
Venöz kan alma kurallarına uyunuz.
4. Sodyum sitratın üzerine 2 ml'lik enjektörle 2 ml'ye kadar venöz kan çekiniz.
Enjektörü birkaç kez alt üst ederek karışımın homojen olmasını sağlayınız.
5. Enjektördeki kanı westergreen pipetine çekmek için steril bir tüpe aktarınız.
Aktarma işlemini dikkatli yapınız.
6. Westergreen pipetinin sıfır (0) çizgisine kadar kan çekiniz.
Kanın akmasını önlemek amacıyla pipetin üst ucunu parmağınızla kapatın. Pipetin dışına bulaşan kanı pamukla siliniz.
7. Westergreen pipetini askıya asınız.
Pipetin dik olmasına dikkat ediniz.
8. 30 ve 60. dakikalarda meydana gelen çökmeleri kontrol ediniz.
Sonucu mm/ saat olarak raporlayınız.

Değerlendirme Ölçeği 5: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Enjektöre 0,4 ml sodyum sitrat çekti.				
3. Sodyum sitratın üzerine venöz kan çekti.				
4. Westergreen pipetine kan çekti.				
5. 30 ve 60. dakikada oluşan çökmeleri tespit etti.				
TOPLAM PUAN				



2.6. UYGULAMA | ESR/VSG METODU İLE KANDA SEDİMENTASYON TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı ESR/VSG metodu ile kanda sedimentasyon tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak ESR/VSG metodu ile kanda sedimentasyon tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 6'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Enjektör
- Antiseptik solüsyon
- Sedimentasyon tüpü
- Eldiven
- Pamuk
- Çalar saat
- Sedimentasyon pipeti
- Sedimentasyon sehpası
- Sodyum sitrat

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Gerekli araç gereci hazırlayınız.
2. Sedimentasyon tüplerini sedimentasyon sehpasına yerleştiriniz.
Tüpleri sehpa düzgün yerleştiriniz.
3. Enjektör ile 2 ml venöz kan alınız.
Venöz kan alma kurallarına uyunuz.
4. Aldığınız kanı içinde sodyum sitrat bulunan tüplere işaret çizgisine kadar boşaltınız.
İşaret çizgisini geçmemeye özen gösteriniz.
5. Sedimentasyon tüpünü 5-6 kez alt üst ederek kan ile sodyum sitratın karışmasını sağlayınız.
Homojen şekilde karışmasına özen gösteriniz.
6. Sedimentasyon pipetinin boş olan ucunu delinebilir kapağı dikkatlice iterek tüpün içerisine yerleştiriniz.
Pipetin ucunun test tüpünün tabanına temas etmesini sağlayınız.
7. Pipetin plastik kısmının altındaki beyaz kalın çizgiyle işaretlenmiş olan sıfır noktasına kadar kanla dolmasını sağlayınız.
Hava kabarcığı oluşmamasına dikkat ediniz.
8. Çalar saati bir saat sonra çalması için kurunuz.
Bir saatin sonunda plazmayla eritrositlerin kesiştiği noktadaki değeri eritrosit sedimentasyon hızı mm/saat olarak kaydediniz.

Değerlendirme Ölçeği 6: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Enjektörle 2 ml venöz kan aldı.				
3. Sodyum sitrat bulunan tüpün işaret çizgisine kadar boşalttı.				
4. Pipetin boş ucunu tüpün içine iterek yerleştirdi.				
5. Okumaları yaptı.				
TOPLAM PUAN				



2.7. UYGULAMA | FRIMBERGER MİKROSEDİMENTASYON METODU İLE KANDA SEDİMENTASYON TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı frimberger mikrosedimentasyon metodu ile kanda sedimentasyon tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak frimberger mikrosedimentasyon metodu ile kanda sedimentasyon tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 7'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Tentürdiyot
- Antiseptik solüsyon
- İp, makas
- Eldiven
- Frimberger mikrosedimentasyon seti
- Kurutma kâğıdı
- Pamuk
- Eter
- Tavuk kanı

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Gerekli araç gereci hazırlayınız.
2. Kan alınacak tavuğun ayaklarını ve kanatlarını ip ile bağlayınız.
Hayvanı hareketsiz hâle getiriniz.
3. İbik ucunu alkol ve eterle silip steril bir makasla küçük bir parça kesiniz.
İbikten alınan kanı lastik kap içinde toplayınız. İbiki tentürdiyotlu pamukla siliniz.
4. Setin tel halkasını antikoagülanlı bir eriyiğe batırıp lastik kabın içine sokunuz.
Lastik kabın içindeki kanı antikoagülatlı tel ile karıştırınız.
5. Baş ve orta parmağınızla sedimentasyon pipetinin ortasından tutunuz.
İşaret parmağıyla da pipetin üst ucuna yerleştirilen kurutma kâğıdını tutunuz.
6. Sedimentasyon pipetinin alt ucunu lastik kaba döndürerek yerleştiriniz.
Pipet içinde yükselen kanın fazlası kurutma kâğıdı tarafından emdirilir.
7. Pipetteki kanı sıfır (0) çizgisine ayarlayınız.
Pipeti özel sehпасına yerleştirerek 45° eğiniz.
8. 15, 30 ve 60 dakikalık çökme hızlarını kontrol ediniz.
Okuduğunuz değerleri not ederek standartlarla karşılaştırınız.

Değerlendirme Ölçeği 7: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. İbikten alınan kanı lastik kap içinde topladı.				
3. Pipetini döndürerek lastik kaba yerleştirdi.				
4. Pipeti sıfır (0) çizgisine ayarladı.				
5. Pipeti 45° eğik yerleştirdi ve sonuçları okudu.				
TOPLAM PUAN				



2.5. KAN SAYIM CİHAZLARI İLE KAN SAYIMI

Kan sayımı teknolojik gelişmelere paralel olarak günümüzde genellikle çabuk, güvenilir ve daha kısa sürede sonuç vermesinden dolayı kan sayım cihazı (Görsel 2.11) ile yapılmaktadır. Kan sayım cihazlarında kanın şekilli elemanları (eritrosit, lökosit ve trombosit) incelenir.



Görsel 2.11: Kan sayım cihazı.

Hematoloji laboratuvarında eritrosit ve trombosit indekslerini hesaplayan; retikülosit ve nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil, bazofil sayabilen, lökosit formülü veren cihazlar geliştirilmiştir. Gelişmiş kan sayım cihazlarında lökosit formülü 5 parametre ile (nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil ve bazofil) ölçülür. Kan sayım cihazı; ekran, dilüsyon ve ölçüm bölümlerinden oluşur. Kan sayım cihazı, birçok parametrede ölçüm yapar ve histogramlar şeklinde sonuç verir. Kan sayım cihazlarında ölçüm parametreleri Tablo 2.2' de verilmiştir.

Tablo 2.2: Kan Sayım Cihazlarının Ölçüm Parametreleri

Eritrosit Sayısı (RBC)	Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)
Hemoglobin (HGB)	Eritrosit Dağılım Genişliği (RDW)
Hematokrit (HCT)	Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH)
Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC)	Retikülosit Sayısı (Retic)
Trombosit Sayısı (Platelet, PLT)	Lökosit Sayısı WBC (White Blood Cell)

2.5.1. Kan Sayım Cihazlarının Temizliği ve Kontrolleri

Kan sayım cihazlarındaki sensörler zamanla kirlenebilmekte bu nedenle okuma işlemini doğru bir şekilde yapamamaktadırlar. Bu nedenle kan sayım cihazlarının sensörleri düzenli olarak kontrol edilerek temizliği yapılmalıdır. Kan sayım cihazlarının temizliği özel olarak üretilmiş solüsyonlarla yapılır. Bu özel solüsyonlar dışında alkollü pamuk ve bezle de yapılabilir. Ayrıca cihaz bağlantılarının periyodik kontrolleri yetkili servis veya teknik eleman tarafından yapılır.

2.5.2. Kan Sayımı Cihazlarının Kalibrasyonu

Kan sayımı cihazlarında impedans, radyo dalgaları ve optik laser scatter olmak üzere üç temel teknoloji kullanılmaktadır. Cihazlarda bu teknolojiler tek kullanılabildikleri gibi beraber de kullanılabilmektedir.

Kan sayımı cihazlarının kalibrasyonları, üretim aşamasından sonra yapılmıştır. Kurulum aşamasında yetkili personel tarafından kontrolleri yapılır ve gerekiyorsa ayarlanırlar. Parça değişimini gerektiren tamirlerde veya reaktif değişikliğinde cihazın kalibrasyonu yeniden yapılmalıdır. İç ve dış kalite kontrolleri düzenli olarak takip edilmeli ve bu kontrollerde sorun olmadıkça üretici firmanın önerdiği aralıklarla cihazların kalibrasyonu (ayarları) kontrol edilip yapılmalıdır.

► İç Kalite Kontrolü

Çalışmaya başlamadan önce üç farklı (normal, düşük ve yüksek değerlere sahip) iç kalite kontrolü ile cihazın doğru çalıştığı gösterilmelidir.

► Dış Kalite Kontrolü

Sağlık Bakanlığı'nın yayımladığı "Hastane Hizmet Kalite Standartları" gereği laboratuvarlar bir dış kalite kontrolü programını takip etmelidir.

🔧 Kullanılan Araç Gereç

Kan sayım cihazı, hemogram kan tüpü, tüp sallama cihazı kullanılır.

📋 İşlemin Yapılışı

Ölçümü yapılacak parametreler belirlenerek cihaza girişi yapılır. Numune bilgileri girilir. Numune-hemogram tüpü altüst edilerek homojen hâle getirilir. Numune, raka yerleştirilir; rak ise cihaza yerleştirilip okuma yapılması sağlanır. Sonuçlar kaydedilir. Cihazın temizlik ve otokontrol yapması için beklenir.

❓ ARAŞTIRMA SORUSU

Kan sayım cihazlarının tarihçesini araştırınız.

2.8. UYGULAMA | KAN SAYIM CİHAZI İLE KAN SAYIMI YAPMA

Bu uygulamanın amacı kan sayım cihazı ile kan sayımı yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak kan sayım cihazı ile kan sayımı yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 8'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Kan sayım cihazı
- Hemogram kan tüpü
- Tüp sallama cihazı

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Gerekli araç gereci hazırlayınız.
2. Ölçümü yapılacak parametreleri belirleyerek cihaza girişini yapınız.
Parametrelerin girişini dikkatli yapınız.
3. Numune bigilerini giriniz.
Numune bilgilerini dikkatli giriniz.
4. Numune-hemogram tüpünü altüst ederek homojen hâle getiriniz.
Numunenin homojenliğini kontrol ediniz.
5. Numuneyi raka,rakı ise cihaza yerleştirilip okutunuz.
Tüpleri raka düzgün yerleştiriniz.
6. Sonuçları kaydediniz.
Anormal sonuçları kontrol ediniz.
7. Cihazın otokontrol ve temizlik yapması için bekleyiniz.
İşiniz bittiğinde cihazı kapatmayı unutmayınız.

Değerlendirme Ölçeği 8: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Okunacak parametrelerin cihaza girişini yaptı.				
3. Numune bilgilerini girdi.				
4. Numuneleri raka yerleştirdi.				
5. Okuma sonuçlarını kaydetti.				
TOPLAM PUAN				



ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A) Aşağıdaki cümleleri dikkatli bir şekilde okuyarak doğru olanların başına (D) yanlış olanların başına (Y) koyunuz.

1. () Thoma lamı enine ve boyuna çizilmiş çizgilerle 16 eşit kareye bölünmüştür.
2. () Eritrosit pipetinde bulunan boncuğun rengi beyazdır.
3. () Hemoglobinin normal değerlerden düşük olması polisitemiye neden olur.
4. () Eritrositlerin belirli bir zaman diliminde dibe çökmesi sedimantasyon hızını belirler.
5. () Kan sayım cihazları daha çabuk, hızlı ve güvenilir sonuçlar verir.

B) Aşağıdaki cümlelerde boş bırakılan yerlere doğru sözcükleri yazınız.

6. Vücudu enfeksiyonlara karşı koruyan hücrelere adı verilir.
7. kesik ve yaralarda kanın pıhtılaşmasını sağlar.
8. Hemoglobin bağlı bir proteindir.
9. kandaki şekilli elemanların plazmaya oranıdır.
10. Frimberger sedimantasyon tayini özellikle çökme hızı olan kanlarda tercih edilir.
11. Kan sayım cihazları bir çok ölçüm yapar.

C) Aşağıdaki verilen çoktan seçmeli sorularda doğru seçeneği işaretleyiniz.

12. Bazı hastalıklarda sedimentasyon hızlı bir şekilde çökerken bazı hastalıklarda ise yavaş çökmektedir.
Aşağıda verilen hastalıkların hangisinde sedimantasyon hızı yavaştır?
 - A) Tüberküloz
 - B) Akut romatizmal hastalıkla
 - C) Akut ve kronik enfeksiyonlar
 - D) Miyokart infarktüsü
 - E) Akut kalp yetmezliği
13. **Thoma lamında eritrosit sayımı yaparken hangi kareler sayılır?**
 - A) Köşelerdeki dört kare ile ortadaki karelerden biri sayılır.
 - B) Köşelerdeki dört kare ile ortadaki iki kare sayılır.
 - C) Sağ ve sol üst köşelerdeki kareler sayılır.
 - D) Ortadaki kareler sayılır.
 - E) Thoma lamının tamamı sayılır.

KANDA BİYOKİMYASAL TESTLER

ÖĞRENME BİRİMİ



KONULAR

- 3.1. KANDA GLİKOZ, LİPİT, PROTEİN VE TOPLAM BİLLİRUBİN TAYİNİ
- 3.2. KANDA ENZİM AKTİVİTELERİNİN ÖLÇÜLMESİ
- 3.3. KANDA SODYUM VE POTASYUM TAYİNİ
- 3.4. KANDA KALSİYUM VE FOSFOR TAYİNİ
- 3.5. OTANİLAZATÖR İLE BİYOKİMYASAL TESTLER



Neler Öğreneceksiniz

- ▶ Spektrofotometre ile kanda glikoz, lipit, bilirubin ve protein tayini yapma
- ▶ Spektrofotometre ile AST ve ALT tayini yapma
- ▶ Alev fotometresi ile kanda sodyum ve potasyum tayini yapma
- ▶ Spektrofotometre ile kanda kalsiyum ve fosfor tayini yapma
- ▶ Otoanalizörler ile kanda biyokimyasal testler yapma



Temel Kavramlar

spektrofotometre, glikoz, lipit, bilirubin, protein, ALT, AST, sodyum, potasyum, alev fotometresi, kalsiyum fosfor, otoanalizör



Hazırlık Çalışmaları

1. Otomasyon yaşantımıza ne gibi kolaylıklar sağlamıştır, araştırınız.
2. Sizce kan analizleri hangi amaçlarla yapılmaktadır? Kısaca açıklayınız

3.1. KANDA GLİKOZ, LİPİT, PROTEİN VE TOPLAM BİLİRUBİN TAYİNİ

Kanda glikoz, lipid, protein ve bilirubin miktarlarının bilinmesi özellikle kompleks yapıya sahip canlılarda sağlıklı büyüme ve gelişmenin yanında çeşitli hastalıkların belirlenmesinde önemli bir kriterdir.

3.1.1. Kanda Glikoz, Lipit, Protein ve Toplam Bilirubin Tayininin Önemi

Kanda bulunan glikoz, lipid, protein ve bilirubin miktarlarının bilinmesi hastalıkların teşhisinde ve tedavinin belirlenmesinde çok büyük bir öneme sahiptir. Teknolojik gelişmelere paralel olarak kandaki miktarları çok çabuk tesbit edilmekte ve tedavinin etkinliği artmaktadır.

▼ Glikoz

Kompleks yapılu hayvanlar ve insanlar dışardan aldıkları besinlerle enerji ihtiyaçlarını karşılar. Dışardan alınan bu besinler, vücutta meydana gelen çeşitli biyokimyasal olaylar sonucunda glikoza dönüştürülerek vücudun ihtiyacı olan enerjiyi sağlar. Kan vasıtasıyla vücudun ve organların ihtiyacı olan enerji taşınır. İnsanların ve kompleks yapıdaki hayvanların glikoz düzeyleri genellikle kandan ölçülür. Bu amaçla tam kan, serum veya plazma kullanılır. Ölçüm, serum veya plazmada yapılacaksa kanın şekilli elemanları hızla uzaklaştırılmalıdır. Böylece eritrositlerin içindeki glikolitik enzimlerin kan glikoz değerini etkilememesi sağlanır.

Glikoz tayinleri genellikle 8-12 saatlik bir açlık süresini takiben sabah alınan kan örneklerinde yapılır. Vücut içinde dolaşan kan şeketine **glisemi** (glikoz) adı verilir. Normal sınırlardaki glisemiye **normoglisemi**; normal sınırlar altındaki glisemiye **hipoglisemi**; normal sınırlar üzerindeki glisemiye **hiperglisemi** adı verilir. Kan glikoz değeri; türe, beslenmeye ve hormon durumuna göre değişkenlik gösterir.

- **Metodun Prensibi** Glukoz oksidaz enzimi, suda erimiş moleküler oksijeni kullanarak glukozdan glukonik asit ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturur. Oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2), fenol ve amperon gibi maddelerle peroksidaz enzimi varlığında reaksiyona girer ve renksiz olan kromojen oksitlenip renkli bir bileşiğe dönüşür. Ortamdaki glikoz miktarına eşit olan oksitlenmiş kromojen miktarı spektrofotometrik (Görsel 3.1) olarak ölçülür.



Görsel 3.1: Spektrofotometre

▼ Lipitler

Lipitler; bitkilerden ve hayvansal dokulardan organik çözücüler ile ekstrakte edilebilen, suda çözünmeyen, düşük molekül ağırlıklı organik bileşiktir. Trigliseritler, fosfolipitler, sfingolipitler, glikolipitler ve steroidler gibi alt gruplara ayrılarak incelenir. Dokularda lipit analizi yapmak için analizi yapılacak dokudan lipitlerin izole edilmesi gerekir. Bu amaçla organik çözücüler kullanılır. Kullanılacak organik çözücüler elde edilmek istenen lipite ve doku kaynağına göre değişir. Örneğin trigliserit ve steroid gibi polar olmayan lipitler için kloroform, aseton, eter gibi polar olmayan çözücüler kullanılırken fosfolipit ve glikolipit gibi polar lipitler için hekzan-izopropanol karışımı gibi çözücüler kullanılır. Biyokimya laboratuvarlarında lipoproteinler ile ilgili değerlendirmeler; serumda total kolesterol, trigliserit, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeyleri ölçülerek yapılır. Ayrıca serumun buzdolabında bir gece bekletildikten sonra incelenmesi ve serum lipoprotein elektroforezi de hiperlipoproteinemi türlerinin belirlenmesinde önem taşır.

Serum lipitleri incelenecek kişi, analiz için kan alınmasının 2-3 gün öncesinden başlayarak normal bir diyetle beslenmeli ve normal fiziksel aktivite dışına çıkmamalıdır. Örnek alımı 10-12 saat açlıktan sonra olmalıdır. Deneyler aynı gün yapılmayacaksa EDTA lı plazma tercih edilmelidir. Lipoproteinleri incelenecek serum +4 °C'de kısa süre, -70 °C'de uzun süre saklanabilir. Lipit oranları türe, yaşa ve cinsiyete göre değişkenlik gösterir.

- ▶ **Metodun Prensibi** Serum, yüksek konsantrasyonlu tuz çözeltisi ile hazırlanan %1 fenol çözeltisi ile reaksiyona sokulduğunda serum lipitleri çöker ve bulanıklık meydana gelir. Bulanıklık spektrofotometre ile ölçülür. Meydana gelen bulanıklık serumdaki toplam lipit konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

▼ Bilirubin

Normal insan vücudunda her gün eritrositlerin retiküloendotelial sistemde (RES) parçalanmasıyla yaklaşık 6,5-7 g kadar hemoglobin ortaya çıkar. Eritrositlerin parçalanmasıyla ortaya çıkan hemoglobin retiküloendotelial sistemde (RES) yani başlıca karaciğer, dalak ve kemik iliğinde yıkılır ve hem kısmından bilirubin oluşur.

Hemoglobinin hem kısmının bilirubine dönüşümü yaklaşık 2-3 saatte gerçekleşir. Hemoglobinin yıkılmasıyla serbestleşen Fe^{2+} ya retiküloendotelial sistemde depo edilir veya tekrar hemoglobin sentezine katılmak üzere transferrinle kemik iliğine iletilir. Vücutta demir Fe^{3+} şeklinde depolanmakta veya taşınmaktadır. Hemoglobinin yıkılmasıyla serbestleşen globin, protein depolarına katılır. Hemoglobinin yıkılmasıyla serbestleşen bilirubin ise safra ile atılır.

Plazmadaki serbest hemoglobin için böbrek eşik değeri %70 mg'dır. Plazmadaki serbest hemoglobin düzeyi %70 mg'dan yüksek olursa hemoglobin, oksihemoglobin veya

methemoglobin şeklinde albümine veya -globuline bağlı olarak idrarla atılır. İdrarda hemoglobin bulunması **hemoglobinüri** olarak tanımlanır. Hemolitik anemilerde ve kongenital ahaptoglobinemide hemoglobinüri görülebilir.

Bilirubin, hemoglobinin hem kısmının yıkılmasıyla oluşmaktadır. İlk oluşan bilirubin, indirekt bilirubin (ankonjuge bilirubin) olarak bilinir. İndirekt bilirubinin özellikleri şunlardır:

- İndirekt bilirubin Van den Bergh reaksiyonunda diazo reaktifi ile direkt reaksiyon vermez ancak %50 etanol, kafein veya üre ile işleminden sonra reaksiyon verir.
- İndirekt bilirubin suda çözünmez, idrara geçmez ve safra ile atılmaz.
- İndirekt bilirubin liposolubldur, membranlardan kolaylıkla geçerek dokulara diffüze olabilir.

İndirekt bilirubinin karaciğerde glukuronik asitle konjugasyonu veya çok az oranda sülfatlanmasıyla direkt bilirubin (konjuge bilirubin) oluşur. Direkt bilirubinin özellikleri şunlardır:

- Direkt bilirubin Van den Bergh reaksiyonunda diazo reaktifi ile direkt reaksiyon verir.
- Direkt bilirubin suda çözünür ve safra ile atılır.
- Direkt bilirubin liposolubl olmadığından lipid membranlardan geçemez ve kern-ikterus oluşmasında etkili olmaz.

► **Metodun Prensibi** Bilirubinin diazo reaktifi ile kırmızı renkli azobilirubin bileşiği oluşturması prensibine dayanır.

▼ Proteinler

Serumda en büyük grubu proteinler oluşturur. Serumda total protein miktarı 6,0-8,3 g/dl dir. Serum protinlerinin büyük bir kısmını (3,4-5,4 g/dl) albümin, geriye kalanı globülin sınıfına ait proteinlerdir. Globülin miktarı total protein miktarından albümin miktarı çıkarılarak hesaplanabilir. Bazı özel durumlarda spesifik proteinlerin tayini özel yöntemlerle yapılabilir. Klinik Biyokimya laboratuvarlarında proteinlerle ilgili yapılan tayinler şunlardır:

- Serumda total protein miktar belirtimi
- Serumda albümin miktar belirtimi
- Serum protein elektroforezi
- İdrarda proteinlerin kalitatif ve kantitatif değerlendirilmesi.

Serum proteinlerinin vücuttaki fonksiyonları; lipidler, hormonlar, vitaminler ve mineraller için taşıyıcı görevi yapar. Ozmotik basıncın sağlanmasına yardımcı olur. Hücre aktivitesinin düzenlenmesi enfeksiyonlara karşı savunmada önemli rol oynar.

- **Metodun Prensihi** Peptid bağlarının alkali çözeltide bakır tuzları ile menekşe renkli kompleks oluşturmaya dayanan bir reaksiyondur. Yönteme adını veren biüret molekülü, iki üre molekülünün ısıtılarak kondanse olmasıyla meydana gelir. Alkali ortamlarda biüret moleküllerinin amid grupları Cu^{++} ile mavi-mor renkli bir kompleks meydana getirirler. Rengin şiddeti, peptid bağlarının sayısı ve protein miktarıyla doğru orantılıdır.

3.1.2. Glikoz Tayini

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Spektrofotometre, spektrofotometre küveti, deney tüpü, pipet, santrifüj, hassas terazi, spatül, tartım kabı, su banyosu, huni, distile su kullanılır.

- **1 M Sodyum Hidroksit (NaOH)** 40 g NaOH litrelik balon jodede saf su ile çözündürülür ve hacmi litreye tamamlanır.
- **0,5 M Çinko Sülfat (ZnSO_4)** 8,05 g ZnSO_4 hassas terazide tartılarak litrelik balon jodaye aktarılır. Bir miktar distile su ile çözündürülür ve hacmi distile su ile litreye tamamlanır.
- **Enzim- renk ayırıcı (glikoz oksidaz enzimi)**
- **Glikoz standardı (%100 mg)**

İşlemin Yapılışı

İki tüp alınır ve içlerine 3-6 ml distile su konur. Tüplerin birine 0,4 ml kan veya serum konur. Diğer tüpe standart çözeltisi konularak karıştırılır. Üzerlerine sırasıyla 0,5 ml 1 M NaOH ve 0,5 ml 0,5 M ZnSO_4 konularak karıştırılır. 2.000-3.000 rpm'de santrifüjde 5 dakika santrifüj edilir. Üç temiz tüp alınır; test, standart ve kör olarak işaretlenir. Test tüpüne 0,1 ml süpernatant (kan veya serumdan elde edilen berrak kısım) konur. Standart tüpe 0,1 ml standarttan, kör tüpe de 0,1 ml distile su konur. Tüplere beşer ml enzim ayırıcı ilave edilir. 37 °C'lik su banyosuna konur ve 15 dakika bekletilir. Su banyosundan alınan tüpler 5-10 dakika bekletilerek oda ısısına gelmesi beklenir. Spektrofotometre 415 nm'ye ayarlanır. Spektrofotometrenin sıfır ayarı kör çözelti ile yapılarak test ve standart tüplerin optik dansitelerini okunup not edilir. Sonuçlar şu formülle hesaplanır:

$$\text{mg/dl glikoz} = \frac{\text{Testin optik dansitesi}}{\text{Standartın optik dansitesi}} \times 100$$

3.1.3. Lipit Tayini

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Spektrofotometre, spektrofotometre küveti, deney tüpü, pipet, hassas terazi, spatül, tartım kabı, huni, lamel kullanılır.

- | | |
|------------------------|---|
| ▶ Fenol Ayırıcı | 1 g fenol ve 12 g NaCl tartılarak 100 ml'lik bir balon jöjeye konur. Bir miktar distile su ile çözündürülür ve hacmi distile suyla 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti buzdolabında saklanmalıdır. |
|------------------------|---|

İşlemin Yapılışı

Test ve kör (blank) için iki adet spektrofotometre küveti alınarak işaretlenir. Test işaretli spektrofotometre küvetine 3,6 ml fenol ayırıcı ve 0,2 ml serum konur. Lamel kapatılır ve alt üst edilerek karıştırılır. Kör işaretli küvete 3,8 ml fenol ayırıcı konur. Spektrofotometre küvetleri laboratuvar sıcaklığında 30 dakika bekletilir. Spektrofotometre 650 nm'ye ayarlanarak sıfır ayarı kör çözelti ile yapılır. Spektrofotometrede okunan değerler not edilir.

Hesaplamalar, timol bulanıklık testi için hazırlanmış grafikten optik dansitenin karşılığı bulanıklık ünitesi bulunur. Toplam lipit cinsinden ifade etmek için bulanıklık ünitesi 16,6 ile çarpılarak üzerine 267 eklenir.

$$(\text{mg/dl}) \text{ toplam lipit} = (\text{bulanıklık ünitesi} \times 16,6) + 267$$

3.1.4. Bilirubin Tayini

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Spektrofotometre, spektrofotometre küveti, deney tüpü, pipet, distile su, metil alkol (metanol), hassas terazi, spatül, tartım kabı, huni kullanılır.

- | | |
|---|--|
| ▶ Diazo A Ayırıcı | 1 g sülfonilik asit üzerine 15 ml yoğun HCl eklenir. Daha sonra süzülür ve distile su ile litreye tamamlanır. Uzun zaman dayanıklıdır. |
| ▶ Diazo B Ayırıcı | 0,5 g NaNO ₄ suda çözünerek distile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Işıktan korunmalı ve renk sarıya dönünce atılmalıdır. |
| ▶ Diazo Ayırıcı | Analizden hemen önce 10 ml diazo A ve 0,3 ml diazo B karıştırılarak taze hazırlanır. |
| ▶ %1,5'lik Hidroklorik Asit (HCl) | 15 ml yoğun HCl distile su ile bir litreye tamamlanır. Ayıraç uzun süre dayanıklıdır. |
| ▶ Bilirubin Stok Standart Çözeltisi | 10 mg bilirubin 100 ml'lik balon içerisinde bir miktar kloroform ile çözülür ve kloroform ile 100 ml'ye tamamlanır. Koyu renkli şişede ve buzdolabında saklanır. |
| ▶ Bilirubin Çalışma Standart Çözeltisi | 10 ml stok çözeltiden alınarak metil alkol ile 100 ml'ye tamamlanır. Bunun 1 ml'sinde 0,01 mg (ya da 1 mg/dl) bilirubin vardır. |

▼ Standart Eğrinin Çizilmesi

Metil alkol kullanılarak bilirubin stok standart çözeltisinden (%10 mg) %0,1 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2 mg ve 3 mg'lık standart çözeltiler hazırlanır. Bu standart çözeltilerden 9 ml ve kör için 9 ml metanol alınır. Üzerlerine birer ml diazo ayırıcı eklenir ve oda ısısında 30 dakika bekletilir. Sürenin sonunda 540 nm'de spektrofotometrede optik dansite-ler okunur. Sonuçlar bilirubin konsantrasyonları ile birlikte milimetrik kâğıda işlenir ve standart eğri çizilir. Test sonuçları % mg (ya da mg/dl) olarak bu eğriden hesaplanır.

☰ İşlemin Yapılışı

Taze ve hemolizsiz serumdan 1 ml alınarak distile su ile 10 kez sulandırılır. İki deney tüpü alınarak kör ve test olarak işaretlenir. Kör işaretli tüpe 5 ml metanol ve 1 ml %1,5 HCl; test işaretli tüpe 5 ml metanol ve 1 ml diazo ayırıcı konularak karıştırılır. Tüplerin her ikisine dörder ml sulandırılmış serum eklenerek karıştırılır ve oda ısısında 15 dakika bekletilir. Spektrofotometre 540 nm'ye ayarlanarak köre karşı testin absorbanşı okunur.

3.1.5. Protein Tayini

🔧 Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Spektrofotometre, spektrofotometre küveti, deney tüpü, pipet, su banyosu hassas te-razi, spatül, tartım kabı, huni kullanılır.

► Biüret Reaktifi

400 ml taze hazırlanmış karbonatsız 0,2 N NaOH içinde 9 g sodyum potasyum tartarat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) ve 3 g CuSO_4 eritilir, 0,2 N NaOH ile litreye tamamlanır. Karanlıkta ve polietilen şişede saklanır.

► %0,85'lik Fizyolojik Tuzlu Su

8,5 g NaCl balon jojeye aktarılarak bir miktar distile suda çözündürülür ve hacmi litreye tamamlanır.

► 0,2 N Sodyum Hidroksit (NaOH)

8 g NaOH balon jojeye aktarılarak distile su ile çö-zündürülür ve hacmi litreye tamamlanır.

☰ İşlemin Yapılışı

Üç deney tüpü alınarak test, standart ve blank (kör) olarak işaretlenir. Test tüpüne, 4,9 ml %0,85'lik NaCl çözeltisi ve üzerine 0,1 ml serum konur. Standart tüpüne, 4,9 ml %0,85'lik NaCl çözeltisi ve üzerine 0,1 ml standart eklenir. Blank işaretli tüpe, 5 ml %0,85 NaCl çözeltisi konur. Her üç tüpe beşer ml biüret reaktifi ilave edilerek karıştırılır. 30-35 °C'de su banyosunda 30 dakika bekletilir. Spektrofotometre 555 nm'ye ayarlana-rak blank ile sıfır ayarı yapıldıktan sonra test ve standart spektrofotometrede okunur ve okunan değerler kaydedilir. Hesaplamalar aşağıdaki formülle yapılır.

$$\text{g/dl protein} = \frac{\text{Testin optik dansitesi}}{\text{Standartın optik dansitesi}} \times \text{Standartın konsanstasyon}$$

3.1. UYGULAMA

SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA KANDA GLİKOZ TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı spektrofotometre ile kanda glikoz tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak spektrofotometre ile kanda glikoz tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 1'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

🔧 Kullanılacak Araç Gereç

- Spektrofotometre
- Tartım Kabi
- Santrifüj
- Pipet
- 0,1 M NaOH
- Spektrofotometre küveti
- Spatül
- Deney tüpü
- Distile su
- Enzim-renk ayırıcı
- Hassas terazi
- Huni
- Su banyosu
- 0,5 M $ZnSO_4$
- Glikoz standartı

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini almayı unutmayınız.
2. İki adet tüp alarak içine 3-6 ml distile su koyunuz.
Tüpleri numaralandırınız.
3. Tüplerin birine 0,4 ml kan veya serum koyunuz. Diğerine 0,4 ml standart çözelti koyunuz.
Ekleme işlemlerini dikkatli yapınız.
4. Tüplerin üzerine 0,5 ml 1 M NaOH ve 0,5 ml 0,5 M $ZnSO_4$ ilave ederek 5 dakika santrifüjleyiniz.
Santrifüj kullanma talimatlarına uyunuz.
5. Üç adet temiz ve kuru tüp alarak test, standart ve kör olarak işaretleyiniz.
Test tüpüne 0,1 ml süpernatant (kan veya serumdan elde edilen berrak kısım); standart tüpe 0,1 ml standarttan; kör tüpe de 0,1 ml distile su koyunuz.
6. Tüplere 5 ml enzim ilave ederek 37 °C su banyosunda 15 dakika bekletiniz.
Su banyosu kullanım talimatlarına uyunuz.
7. Su banyosundan aldığınız tüpleri oda sıcaklığı kadar soğuması için bekleyiniz.
Tüplerin soğuması için 5-10 dakika bekleyiniz.
8. Spektrofotometreyi 415 nm'ye ayarlayarak kör ile sıfır ayarını yapınız.
Test ve standart tüplerin dansitelerini okuyarak not ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 1: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Test ve standart tüplerini hazırladı.				
3. Hazırladığı tüpleri santrifüje düzgün yerleştirdi.				
4. Tüplere gerekli çözeltileri ekleyerek su banyosuna yerleştirdi.				
5. Spektrofotometrenin absorbansını doğru ayarlayarak okumaları yaptı.				
TOPLAM PUAN				



3.2. UYGULAMA | SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA TOPLAM LİPİT TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı spektrofotometre ile kanda toplam lipit tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak spektrofotometre ile kanda toplam lipit tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 2'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Spektrofotometre
- Tartım Kabı
- Lamel
- Spektrofotometre küveti
- Spatül
- Deney tüpü
- Hassas terazi
- Huni
- Fenol ayırıcı

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.
2. 2 adet Spektrofotometre küveti olarak işaretleyiniz
Küvetleri test ve kör (blank) olarak işaretleyiniz.
3. Test küvetine 3,6 ml fenol ayırıcı ve 0,2 ml serum koyunuz.
Küveti lamelle kapatıp alt üst ederek karıştırınız.
4. Kör işaretli küvete 3,8 ml fenol ayırıcı koyunuz.
Küvetleri oda sıcaklığında 30 dakika bekletiniz.
5. Spektrofotometre 650 nm'ye ayarlayarak çalıştırınız.
Spektrofotometrenin sıfır ayarını kör çözelti ile yapınız.
Spektrofotometrede okumaları yapınız.
Okunan değerleri not ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 2: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Spektrofotometre küvetlerini hazırlayarak işaretledi.				
3. Test ve kör küvetine konulacak maddeleri koydu.				
4. Spektrofotometrenin sıfır ayarını yaptı.				
5. Spektrofotometrede okumaları yaptı ve not etti.				
TOPLAM PUAN				



3.3. UYGULAMA | SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA BİLURİBİN TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı spektrofotometre ile kanda bilirubin tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak spektrofotometre ile kanda bilirubin tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 3'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.

🔧 Kullanılacak Araç Gereç

- Spektrofotometre
- Tartım kabı
- Diazo ayırıcı
- Spektrofotometre küveti
- Spatül
- Metil alkol (metanol)
- Hassas terazi
- Deney tüpü
- %1,5 HCl çözeltisi

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.
2. Taze ve hemolizsiz serumdan 1 ml alınız.
Aldığınız serumu distile su ile on katına kadar sulandırınız.
3. İki adet deney tüpü alınız.
Tüpleri test ve kör olarak işaretleyiniz.
4. Test işaretli tüpe 5 ml metanol ve 1 ml diazo çözeltisi koyunuz.
Kör işaretli tüpe 5 ml metanol ve 1 ml %1,5 HCl ekleyiniz.
5. Tüplerin her iksine de 4 ml seyreltilmiş serumdan ekleyiniz.
Tüpleri çalkalayarak oda sıcaklığında 30 dakika bekletiniz, zamana riayet ediniz.
Kalibrasyon eğrisi üzerinde diğer noktaları belirlemek için standart dilüsyonları hazırlayınız.
Hazırladığınız dilüsyonları spektrofotometrede okutunuz ve okuma değerlerini not alınız.
6. Spektrofotometrede okumaları yapınız.
Okuduğunuz değerleri kalibrasyon eğrisine yerleştiriniz.
7. Kalibrasyon eğrisinden yararlanarak bilirubin miktarını hesaplayınız.
Hesaplamaları dikkatli yapınız.

Değerlendirme Ölçeği 3: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Taze ve hemolizsiz serumdan 1 ml alarak on katına kadar distile su ile seyreltti.				
3. Tüplere gereken miktarda gerekli çözeltileri ekledi.				
4. Spektrofotometrede okumaları yaptı.				
5. Kalibrasyon eğrisinden yararlanarak bilirubin miktarını hesapladı.				
TOPLAM PUAN				



3.4. UYGULAMA | SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA TOPLAM PROTEİN TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı spektrofotometre ile kanda toplam protein tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak spektrofotometre ile kanda toplam protein tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 4'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Spektrofotometre
- Tartım kabı
- Pipet
- %0,85 fizyolojik tuzlu su
- Spektrofotometre küveti
- Spatül
- Deney tüpü
- 0,2 N NaOH
- Hassas terazi
- Huni
- Su banyosu
- Biüret reaktifi

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini almayı unutmayınız. Araç gereci hazırlayınız.
2. Üç adet deney tüpü alınız.
Tüpleri test, standart ve kör olarak işaretleyiniz.
3. Test tüpüne %0,85'lik 4,9 ml NaCl çözeltisi ve 0,1 ml serum koyunuz. Standart tüpe %0,85'lik 4,9 ml NaCl çözeltisi ve 0,1 ml standart çözelti koyunuz. Kör tüpe %0,85'lik 5 ml NaCl çözeltisi koyunuz.
Tüplerin hepsine 5 ml biüret reaktifi ekleyerek karıştırınız.
4. 30-35 °C'lik su banyosunda 30 dakika bekletiniz.
Su banyosu kullanım talimatlarına uyunuz.
5. Spektrofotometreyi 555 nm'ye ayarlayınız.
Spektrofotometrenin sıfır ayarını kör çözelti ile yapınız.
6. Spektrofotometrede test tüpünü ve standart tüpün okumasını yapınız.
Okuduğunuz değerleri not ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 4: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Test, standart ve kör için tüpleri hazırladı.				
3. Tüplere gerekli miktardaki çözeltileri koydu.				
4. Su banyosunun sıcaklığını ve süresini ayarladı.				
5. Spektrofotometrede okumaları yaptı.				
TOPLAM PUAN				



3.2. KANDA ENZİM AKTİVİTELERİNİN ÖLÇÜLMESİ

Enzimler vücutta meydana gelen biyokimyasal olaylarda katalizör görevi gören yapılardır. Enzim aktivitelerinin belirlenmesi vücutta meydana gelen biyokimyasal olayların fizyolojik yapıya uygun bir şekilde gerçekleşip gerçekleşmediğinin belirlenmesinde önemli bir faktördür.

▼ Enzimler

Biyolojik koşullarda hücreler tarafından sentezlenen, biyokimyasal olaylarda katalizör görevi gören protein yapısındaki maddelerdir. Enzimler bu kimyasal olaylarda herhangi bir değişikliğe uğramadan veya parçalanmadan kimyasal reaksiyonu katalizler. Küçük bir grup katalitik RNA moleküllerinin (ribozim) haricinde tüm enzimler protein yapısındadırlar.

Enzimlerin katalizleme gücü diğer kimyasal katalizörlere göre oldukça fazladır. Tepkime hızını 10⁶-10¹⁶ defa artırabilirler. Enzimler tarafından katalizlenen tepkimelerde yan ürün meydana gelmez ve tepkime verimi %100'dür.

Enzimler etki ettikleri reaksiyonlara göre altı gruba ayrılır. Bu gruplar şunlardır:

▶ Oksidoredüktazlar	Oksidasyon-redüksiyon, yani yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. Bu enzim grubuna örnek olarak laktat dehidrogenaz, katalaz, polifenol oksidaz enzimleri verilebilir. Katalaz bilinen en aktif enzimlerden biri olup turnover sayısı 4×10^7 dir.
▶ Transferazlar	Bir molekülden diğerine fonksiyonel bir grubu aktaran enzimlerdir. Örneğin glutamik pirüvik transaminaz, fosforilaz vb.
▶ Hidrolazlar	Bağlara su katılarak bağların koparılmasını (hidroliz) katalizleyen enzim grubudur. Örneğin amilaz, proteazlar, karbonhidrazlar, lipazlar vb.
▶ Liyazlar	Bağları oksidasyon ya da hidrolizden başka yollarla koparan veya oluşturan enzimlerdir. Örneğin pirüvat dekarboksilaz, sitrat sentaz, adenilat siklaz vb.
▶ İzomerazlar	Molekül içinde değişiklik yapan enzimlerdir. Örneğin triozofosfat izomeraz, glukoz-6-fosfat izomeraz vb.
▶ Ligazlar (Sentetazlar)	Enerji kullanarak iki molekülün birbirine bağlanmasını sağlayan enzimlerdir. Örneğin DNA ligaz vb.

▼ Enzimatik Ölçümler

Kandan, beyin omurilik sıvısından (BOS), amniyon sıvısından, idrardan, seminal sıvıdan, eritrositlerden, lökositlerden, doku biyopsi örneklerinden ve doku hücre kültürlerinden alınan biyolojik sıvılarla yapılmaktadır. Enzimatik ölçümlerde en çok kan serumu kullanılmaktadır.

▼ Kan Enzimlerinin Aktivite Tayinlerinde Dikkat Edilecek Hususlar

- ❖ Enzim aktivitesi tayini yapılacak kan, antikoagülsiz tüpe (düz tüp) alınmalıdır.
- ❖ Kan genellikle venden alınır. Venden kan alınamadığı durumlarda kapiller kan alınabilir.
- ❖ Kan alırken hemolizden kaçınmalıdır.
- ❖ Serum için alınan kan, pıhtılaşmasından hemen sonra santrifüj edilerek serum ayrılmalıdır.
- ❖ Enzim tayinlerinde günlük taze kan kullanılması en iyisidir. Çünkü enzimlerin aktiviteleri zamanla azalır. Bazı enzimlerin aktivitelerinde +4 °C'de 1-2 gün büyük bir kayıp olmadığı hâlde bazı enzimler oda sıcaklığında birkaç saat içinde inaktive olurlar.

▼ Aspartat Transaminaz (AST, EC 2.6.1.1)

AST, aspartat aminotransferaz, glutamat oksaloasetat transaminaz (GOT) olarak da bilinir. Aspartik asidin amino grubunun α -ketoglutarik aside transferini katalize ederek glutamik asit ve oksaloasetik asit oluşturur ve koenzimi piridoksal fosfattır.

AST; kalp, karaciğer, iskelet kasları, böbrek ve eritrositlerde çok yüksek miktarlarda bulunur. En çok kalpte bulunur. Karaciğerde mitokondriyal bir yerleşim gösterirken diğer dokularda sitozolik yerleşim gösterir.

Yetişkinler için AST referans aralığı 30 °C'de piridoksal fosfat eklenmeden 8-20 U/L ve piridoksal fosfat eklendikten sonra 10-30 U/L olarak belirlenmiştir.

Serum AST (SGOT) düzeyi yeni doğanda, erişkindekinin yaklaşık 1,5 misli olabilir. Fiziksel aktivite ve ağır bedensel çalışmalar serum AST düzeyini başlangıca göre %50 artırabilir. Bu artışlar fizyolojik artıştır.

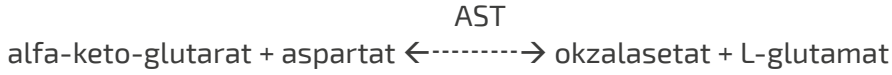
▼ Serum AST Düzeyinde Patolojik Artışlar

Miyokard enfarktüsünde (MI), viral hepatitte, toksik karaciğer nekrozunda, şok ve hipoksi ile birlikte olan dolaşım yetersizliğinde, serum AST düzeyinde normalin 10-100 misli artış saptanabilir. Miyokard enfarktüsünde serum AST düzeyi ilk 4-8 saatte yükselmeye başlar, 18-24 saatte maksimum değere erişir ve 3 ve 4. günlerde normale döner.

Kronik hepatit ve sirozda, kolestatik sarılıkta, karaciğerin malign infiltrasyonunda, iskelet kası hastalıklarında, travma ve cerrahi girişimlerden sonra, şiddetli hemolitik

anemilerde, enfeksiyöz mononükleozda, perikardit ve miyokardit durumlarında, taşikardi durumlarında, akciğer embolisinde, akut batin hastalıklarında, mide ve duodenum ülserlerinde serum AST düzeyinde orta derecede artış saptanabilir.

- **Metodun Prensibi** Oluşan okzalasetat, alkali ortamda 2,4 dinitrofenilhidrazin ile raksiyona girer. Oluşan fenilhidrazonların renk şiddeti AST aktivitesi ile doğru orantılıdır.



▼ Alanin Transaminaz (ALT, EC 6.2.1.2)

ALT; alanin aminotransferaz, glutamat pirüvat transaminaz (GPT) olarak da bilinir. Alaninin amino grubunun α -ketoglutarik aside transferini katalize ederek glutamik asit ve pirüvik asit oluşturur, koenzimi piridoksal fosfattır.

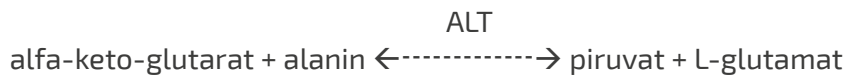
ALT; karaciğer, kalp, iskelet kası ve böbrekte yüksek konsantrasyonlarda bulunur. En çok karaciğerde bulunur ve sitozolik bir enzimdir.

Yetişkinler için ALT referans aralığı 37 °C'de piridoksal fosfat eklendikten sonra 10-40 U/L olarak belirlenmiştir.

- **Serum ALT Düzeyinde Patolojik Artışlar** ALT, karaciğer enflamasyonlarında ve parankim hasarında serumda en çok artan karaciğer spesifik bir enzim olarak bilinir. Viral hepatit, toksik karaciğer nekrozu, şok ve hipoksi ile birlikte olan dolaşım yetmezliği serum ALT düzeyinin belirgin derecede yüksek olduğu hâllerdir.

Siroz, kolestatik sarılık, kalp yetmezliği, sekonder karaciğer konjesyonu, enfeksiyöz mononükleoz, geniş travma ve kas hastalıkları serum ALT düzeyinde orta derecede artışın olduğu hâllerdir. Enflamasyon durumlarında da serum ALT (SGPT) düzeyi artar.

- **Metodun Prensibi** ALT etkisiyle alanin α -ketoglutarik asitle reaksiyona girer ve piruvat ile L- glutamatı verir. Oluşan piruvat, alkali ortamda 2,4 dinitrofenilhidrazin ile reaksiyona girer. Oluşan fenilhidrazonların renk şiddeti ALT aktivitesi ile doğru orantılıdır.



📁 Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Spektrofotmetre, spektrofotometre küveti, distile su, deney tüpü, santrifüj, santrifüj tüpü, tüp sporu, pipet kullanılır.

- ▶ **AST (SGOT) Reaktif İçeriği (pH 7.85)**
 - ▶ 2- oksoglutarat
 - ▶ L-aspartat
 - ▶ Malat dehidrogenaz (MDH)
 - ▶ LDH
 - ▶ NADH
- ▶ **ALT (SGPT) Reaktif İçeriği (pH 7.65)**
 - ▶ 2- oksoglutarat
 - ▶ L- alanin
 - ▶ NADH
 - ▶ LDH
 - ▶ Tristampon

▼ Reaktifin Hazırlanması

Kit içinde hazır olarak bulunan reaktiflerle prospektüste belirtilen sulandırma oranına göre çalışma reaktifi hazırlanır.

▼ Reaktifin Depolanması

Reaktifler 2-8 °C'de saklandığında son kullanma tarihine kadar kullanılır.

☰ İşlemin Yapılışı

Analiz için yeterli miktarda venöz kan alınır ve hemolizsiz serum elde edilir. Alınan kan santrifüjlenerek şekilli elemanların dibe çökmesi sağlanır. AST (SGOT)-ALT (SGPT) analizinde kullanılacak reaktifler hazırlanır. Numune ve kör tüpleri spora, numaralandırılarak yerleştirilir. AST için numune tüpüne 1 ml AST (SGOT) çalışma reaktifi ve 0,1 ml serum eklenerek karıştırılır. ALT (SGPT) için numune tüpüne 1 ml ALT (SGPT) çalışma reaktifi ve 0,1 ml serum eklenerek karıştırılır. Numune tüpüne serum alırken dibe çöken şekilli elemanların ve fibrinojenin oluşturduğu pıhtı karıştırılmadan hemolizsiz serum almaya dikkat edilmelidir (Hemolizli kan alındığında enzimlerin yüksek değerde çıkmasına neden olur.). Kör için AST ve ALT çalışma reaktiflerinden ayrı ayrı tüplere 1 ml çalışma reaktifi alınır. 340 nanometre dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrenin sıfır ayarı distile su ile yapılır. Hazırlanan karışımlar bekletilmeden spektrofotometrede okuması yapılarak numune absorbansı dakika arası ölçüm yapılır. Dakika arası (kinetik) ölçümünde ilk okunan karışımın ΔA_1 absorbans değeri ölçülür. Bir dakika arayla ΔA_2 , ΔA_3 , ΔA_4 üç okuma gerçekleştirilerek absorbansı ölçülür. Okunan değerler aşağıdaki formüllere yerleştirilerek hesaplanır.

$$\text{AST (U/L)} = \frac{\Delta \text{Abs/dak} \times F}{F \text{ (Faktör)}} = 1768 \text{ alınır}$$

$$\text{ALT (U/L)} = \frac{\Delta \text{Abs/dak} \times F}{F \text{ (Faktör)}} = 1768 \text{ alınır}$$

Örnek Soru: Bir kan örneğinde gerekli işlemler yapıldıktan sonra Spektrofotometre ile okuması yapılmış ve AST (SGOT) için; A1 0.278, A2 0.284, A3 0.291 ve A4 0.299 okunduğuna göre bu numunenin AST değerini hesaplayınız (Faktörü 1768 alınız.).

Çözüm

$$\Delta A1 = A2 - A1 = 0.284 - 0.278 = 0.006$$

$$\Delta A2 = A3 - A2 = 0.291 - 0.284 = 0.007$$

$$\Delta A3 = A4 - A3 = 0.299 - 0.291 = 0.008$$

$$\Delta A/\text{dakika} = \frac{\Delta A1 + \Delta A2 + \Delta A3}{3} \times 1768 = \frac{0.006 + 0.007 + 0.008}{3} \times 1768 = \frac{0.021}{3} \times 1768$$

$$\Delta A/\text{dakika} = 0.007 \times 1768 = 12.376 \text{ U/l}$$

Örnek Soru: Bir kan örneğinde gerekli işlemler yapıldıktan sonra Spektrofotometre ile okuması yapılmış ve ALT (SGPT) için; A1 0.354, A2 0.345, A3 0.336 ve A4 0.327 okunduğuna göre bu numunenin ALT değerini hesaplayınız (Faktörü 1768 alınız.).

Çözüm

$$\Delta A1 = A2 - A1 = 0.354 - 0.345 = - 0.009$$

$$\Delta A2 = A3 - A2 = 0.336 - 0.345 = - 0.009$$

$$\Delta A3 = A4 - A3 = 0.327 - 0.336 = - 0.009$$

$$\Delta A/\text{dakika} = \frac{\Delta A1 + \Delta A2 + \Delta A3}{3} \times 1768 = \frac{- 0.009 - 0.009 - 0.009}{3} \times 1768 = \frac{- 0.027}{3} \times 1768$$

$$\Delta A/\text{dakika} = - 0.009 \times 1768 = - 15,912 \text{ U/l}$$

Not: $\Delta A/\text{dakika}$ negatif olduğundan bulunan değer mutlak değeri alınır. $\Delta A/\text{dakika} = 15,912 \text{ U/l}$ şeklinde yazılır.

3.5. UYGULAMA

SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA ASPARTAT AMİNOTRANSFERAZ AKTİVİTESİNİN TAYİNİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı spektrofotometre ile kanda aspartat aminotransferaz aktivitesinin tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak spektrofotometre ile kanda aspartat aminotransferaz aktivitesinin yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 5'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Spektrofotometre
- Santrifüj tüpü
- Pipet
- Spektrofotometre küveti
- Deney tüpü
- Distile su
- Santrifüj
- Tüp sporu
- AST (SGOT) reaktifi

☰ İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Araç gereci hazırlayınız.
2. Venden gerekli miktarda kan alınız.
Kanın hemoliz olmamasına dikkat ediniz.
3. Aldığınız kanı santrifüjleyerek serum ve şekilli elemanların ayrılmasını sağlayınız.
Santrifüj kullanma talimatlarına uyunuz.
4. AST (SGOT) için kullanılacak reaktifleri hazırlayınız.
Kullanacağınız kadar reaktif hazırlayınız.
5. Numune tüpüne 1 ml AST (SGOT) çalışma reaktifi ve 0,1 ml serum ekleyerek karıştırınız.
Kör için deney tüpüne 1 ml çalışma reaktifi koyunuz.
Serum ilavesini, hemolizsiz serumdan yapmaya özen gösteriniz.
6. 340 nm ayarlanmış spektrofotometrede dakika arası numunenin okumasını yapınız.
Aynı numuneyi birer dakika ara ile dört defa okuyarak sonuçları not ediniz.
7. Gerekli hesaplamaları formül yardımıyla yapınız.
Hesaplamaları dikkatli yapınız.

Değerlendirme Ölçeği 5: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Venden gereken miktarda kan aldı.				
3. Aldığı kanı santrifüjledi.				
4. AST için çalışma reaktifini hazırladı.				
5. Spektrofotometrede okumaları bir dakika ara ile yaptı.				
TOPLAM PUAN				



3.6. UYGULAMA | SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA ALANİN AMİNOTRANSFERAZ (ALT/SGPT) AKTİVİTESİNİN TAYİNİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı spektrofotometre ile kanda alanin aminotransferaz (ALT/SGPT) aktivitesinin tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak spektrofotometre ile kanda alanin aminotransferaz (ALT/SGPT) aktivitesinin tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 6'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

🔧 Kullanılacak Araç Gereç

- Spektrofotometre
- Santrifüj tüpü
- Pipet
- Spektrofotometre küveti
- Deney tüpü
- Distile su
- Santrifüj
- Tüp sporu
- ALT (SGPT) reaktifi

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Araç gereci hazırlayınız.
2. Venden gerekli miktarda kan alınız.
Kanın hemoliz olmamasına dikkat ediniz.
3. Aldığınız kanı santrifüjleyerek serum ve şekilli elemanların ayrılmasını sağlayınız.
Santrifüj kullanma talimatlarına uyunuz.
4. ALT (SGPT) için kullanılacak reaktifleri hazırlayınız.
Kullanacağınız kadar reaktif hazırlayınız.
5. Numune tüpüne 1 ml ASLT (SGPT) çalışma reaktifi ve 0,1 ml serum ekleyerek karıştırınız.
Kör için deney tüpüne 1 ml çalışma reaktifi koyunuz.
Serum ilavesini, hemolizsiz serumdan yapmaya özen gösteriniz.
6. 340 nm ayarlanmış spektrofotometrede dakika arası numunenin okumasını yapınız.
Aynı numuneyi birer dakika ara ile dört defa okuyarak sonuçları not ediniz.
7. Gerekli hesaplamaları formül yardımıyla yapınız.
Hesaplamaları dikkatli yapınız.

Değerlendirme Ölçeği 6: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Venden gereken miktarda kan aldı.				
3. Aldığı kanı santrifüjledi.				
4. ALT için çalışma reaktifini hazırladı.				
5. Spektrofotometrede okumaları bir dakika ara ile yaptı.				
TOPLAM PUAN				



3.3. KANDA SODYUM VE POTASYUM TAYİNİ

Sodyum ve potasyum kanın elektrolit dengesini sağlayan minerallerdir. Vücudun elektrolit dengesinin bozulması durumunda vücut fonksiyonlarının çalışmasını olumsuz etkilemektedir.

3.3.1. Mineral Maddelerin Önemi

Canlı organizmanın sağlıklı bir şekilde büyüyüp gelişebilmesi için mutlaka minerallere ihtiyaç vardır. Mineraller vücutta üretilemediğinden ihtiyaç duyulan mineraller, besin maddeleri ve su ile dışardan alınır. Canlı organizmada mineraller çok az miktarda olsa da minerallerin vücuttaki fonksiyonları çok önemlidir.

Mineraller genel olarak besin maddeleri ve su ile alındıklarından eksikliklerine pek rastlanmaz. Canlıların yapısında 27 element bulunur. Bu elementlerin 11 tanesi makro elementlerdir. Bunlar; karbon (C), oksijen (O), hidrojen (H), azot (N), sodyum (Na), potasyum (K), kalsiyum (Ca), fosfor (P), kükürt (S), klor (Cl) ve magnezyumdur (Mg). Mikro (iz) elementler ise demir (Fe), çinko (Zn), molibden (Mo), krom (Cr), bakır (Cu), flor (F), mangan (Mn), kobalt (Co), iyot (I), vanadyum (V), kalay (Sn), brom (Br), selenyum (Se), silisyum (Si) ve nikel (Ni). Elementlerin makro veya mikro olarak ayrılmasının nedeni organizmada bulunma miktarlarından ileri gelmektedir. Mikro elementler canlı organizmasında çok az bulunur ama yaşamsal görevleri vardır.

3.3.2. Kanda Sodyum ve Potasyum

Sodyum iyonu, canlı organizmasında genellikle klorür tuzu hâlinde bulunur. Sodyum ve klor vücuda genellikle sodyum klorür (NaCl) şeklinde alınır. Klor, hücreler arası sıvı ve kan plazmasının başlıca anyonudur. Bu nedenle sodyum ve klor metabolizması birbirleriyle bağlantılıdır. Kimyasal olarak NaCl ve hidroklorik asit (HCl) şeklinde bulunur. Mide asidi içinde HCl şeklindedir.

Kandaki sodyum derişiminin normal değerlerin altına düşmesine **hiponatremi**; normal sınırların üzerine çıkmasına **hipernatremi** denir.

- Vücut sıvılarında bulunan sodyum vücutta fazla su kaybından korur.
- Osmotik basıncın ve asit-baz düzeylerinin dengesini sağlar.
- Kasların çalışmasını etkiler.
- Klorür anyonunda, asit-baz dengesinin ve osmotik basıncın ayarlanmasında görev almaktadır.

Ağır sportif hareketler ve fazla terleme vücudun tuz oranını azaltır. Bunun sonucunda baş ağrısı, mide bulantısı, ishal, bacak ve kolların kaslarında kramplar görülebilir. Alev fotometresi (Görsel 3.2) ile sodyum analizinin



Görsel 3.2: Alev fotometresi

prensibi, metal iyonları alevde yakıldığında iyonların enerji vermesi ve karakteristik bir ışık yayması esasına dayanır.

Potasyum, canlı organizmanın beslenmesinde ve gelişiminde son derece önemli bir mineral maddedir. Vücuttaki fonksiyonları şunlardır:

- Potasyum dokularda ve hücrelerde asit-baz dengesini sağlar.
- Kasların düzeli çalışmasını sağlar. Özellikle kalp kasının ritmik çalışmasını sağlar.
- Sinir iletimlerinde görev alır.
- Hücre içi osmotik basıncın ayarlanmasında rol alır.

Potasyum yetersizliğinin işareti olarak tüm kaslarda ve ayaklarda zayıflık, kalp yetersizliği, bağırsak hareketlerinde gerileme ve solunum kaslarında zayıflık görülür. Alev fotometresi ile potasyum analizinin prensibi metal iyonları alevde yakıldığında iyonların enerji vermesi ve karakteristik bir ışık yayması esasına dayanır.

3.3.3. Sodyum Analizi

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Alev fotometresi, hassas terazi, spatül, tartım kabı, balon joje, deney tüpü, tüp sporu kullanılır.

Serum Örneğinin Hazırlanması: Serum örneği 100 defa sulandırılır. Bunun için 0,1 ml serum 9,9 ml deiyonize su ile karıştırılır.

%50 mg Sodyum (Na) Standartı: Etüvde 110 °C'de kurutulmuş 0,635 g NaCl hassas terazide tartılarak 500 ml'lik balon jojeye aktarılır. Bir miktar deiyonize suyla çözündürüldükten sonra hacmi deiyonize su ile tamamlanır. Bu çözeltinin 100 ml'sinde 50 mg çözünmüş sodyum (Na) bulunur. Bu standart çözeltiden Tablo 3.1'de verildiği şekilde çözelti serileri hazırlanır.

Tablo: 3.1: Sodyum (Na) Çözelti Serilerinin Hazırlanması

	%1 mg	%2 mg	%3 mg	%4 mg	%5 mg
Deiyonize Su	9,8 ml	9,6 ml	9,4 ml	9,2 ml	9 ml
Na Standart Çözeltisi	0,2 ml	0,4 ml	0,6 ml	0,8 ml	1 ml

İşlemin Yapılışı

Alev fotometresi çalıştırılarak kullanma kılavuzunda belirtildiği şekilde alev ayarı yapılır. Alev ayarı yapıldıktan sonra alev fotometresindeki düğme Na konumuna getirilir. Alev fotometresinin sıfır (0) ayarı deiyonize su ve yüz (100) ayarı konsantrasyonu en yüksek çözelti (%5 mg) ile yapılır. Alev fotometresinde standart çözelti serilerinin okuması yapılarak not edilir. Standart çözelti serilerinin konsantrasyonları yatay eksene, alev fotometresinde okunan değerler dikey eksene yazılarak kalibrasyon grafiği çizilir. Serum örneği de alev fotometresinde okunarak kalibrasyon grafiği yardımıyla Na değeri bulunur. Bulunan değer 100 ile (100 defa sulandırıldığı için) çarpılarak %Na mg şeklinde kaydedilir.

3.3.4. Potasyum Analizi

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Alev fotometresi, hassas terazi, spatül, tartım kabı, balon joje, deney tüpü, tüp sporu kullanılır.

Serum Örneğinin Hazırlanması: Serum örneği on defa sulandırılır. Bunun için 1 ml serum 9 ml deiyonize su ile karıştırılır.

%50 mg Potasyum (K) Standartı: Etüvde 110 °C'de kurutulmuş 0,477 g KCl hassas terazide tartılarak 500 ml'lik balon jojeye aktarılır. Bir miktar deiyonize suyla çözündürüldükten sonra hacmi deiyonize su ile tamamlanır. Bu çözeltinin 100 ml'sinde 50 mg çözünmüş potasyum (K) bulunur. Bu standart çözeltiden Tablo 3.2'de verildiği şekilde çözelti serileri hazırlanır.

Tablo 3.2: Potasyum (K) Çözelti Serilerinin Hazırlanması

	%1 mg	%1,5 mg	%2 mg	%3 mg
Deiyonize Su	9,8 ml	9,7 ml	9,6 ml	9,4 ml
K Standart Çözeltisi	0,2 ml	0,3 ml	0,4 ml	0,6 ml

İşlemin Yapılışı

Alev fotometresi çalıştırılarak kullanma kılavuzunda belirtildiği şekilde alev ayarı yapılır. Alev ayarı yapıldıktan sonra alev fotometresindeki düğme K konumuna getirilir. Alev fotometresinin sıfır (0) ayarı deiyonize su ve yüz (100) ayarı konsantrasyonu en fazla olan (%3 mg) ile yapılır. Alev fotometresinde standart çözelti serilerinin okuması yapılarak not edilir. Standart çözelti serilerinin konsantrasyonları yatay eksene, alev fotometresinde okunan değerler dikey eksene yazılarak kalibrasyon grafiği çizilir. Serum örneği de alev fotometresinde okunarak kalibrasyon grafiği yardımıyla K değeri bulunur. Bulunan değer 10 ile (10 defa sulandırıldığı için) çarpılarak %K mg şeklinde kaydedilir.

BİLGİ KÖŞESİ

Alev Fotometresi (Flame Fotometre): Alev fotometresi ile analiz için alev üzerine çözelti çok küçük damlacıklar hâlinde (sis şeklinde) püskürtülür. Alevin ısı etkisiyle çözeltideki madde atomlarının elektronları uyarılır ve bu şekilde daha üst bir enerji seviyesine çıkan ve stabil olmayan elektronlar eski enerji düzeylerine dönerken aradaki enerji farkını ışık olarak dışarı salar. Bu ışık, çözeltideki madde konsantrasyonu ile orantılıdır ve alev fotometresinde ölçülür. Rutin laboratuvarlarda bu metod sodyum (Na) ve potasyum (K) tayininde kullanılır.

Alev fotometresinde alev için yakıt olarak genelde metan, bütan, propan, asetilen gibi gazlar kullanılır. Alev fotometresinde yanma sonucu lityum kırmızı, sodyum sarı, potasyum menekşe renk verir.

3.7. UYGULAMA | ALEV FOTOMETRESİ İLE KANDA SODYUM MİKTAR TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı alev fotometresi ile kanda sodyum miktar tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak alev fotometresi ile kanda sodyum miktar tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 7'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

🛠 Kullanılacak Araç Gereç

- Alev fotometresi
- Hassas terazi
- Deney tüpü
- Tartım kabı
- Tüp sporu
- Balon joje
- Pipet
- Serum örneği
- Na standart çözeltisi

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Araç gereci hazırlayınız.
2. Na standart çözeltisinden Na çözelti serilerini hazırlayınız.
Çözelti serilerini numaralandırınız.
3. Kan serumundan 0,1 ml alarak 9,9 ml deiyonize su ile karıştırınız.
Karışımı homojen hâle getiriniz.
4. Alev fotometresini çalıştırarak alev ayarını yapınız.
Alev ayarını kullanma kılavuzunda belirtildiği şekilde yapınız.
5. Alev fotometresinin sıfır (0) ve yüz (100) ayarını yapınız.
Sıfır (0) ve yüz (100) ayarını birkaç kez kontrol ediniz.
6. Na standart çözelti serilerinin alev fotometresinde okumasını yapınız.
Okuduğunuz değerleri not ederek kalibrasyon grafiğini çiziniz.
7. Numune çözeltisini alev fotometresinde okutunuz.
Okuduğunuz değeri kalibrasyon grafiği yardımıyla numunenin sodyum (Na) miktarını hesaplayınız.

Değerlendirme Ölçeği 7: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Sodyum (Na) standartı için gerekli Na miktarını hesapladı.				
3. Alev fotometresinin sıfır (0) ve yüz (100) ayarını yaptı.				
4. Standart serilerin okumasını yaparak kalibrasyon grafiğini oluşturdu.				
5. Numuneyi alev fotometresinde okutarak kalibrasyon grafiği yardımıyla sodyum (Na) miktarını hesapladı.				
TOPLAM PUAN				



3.8. UYGULAMA | ALEV FOTOMETRESİ İLE KANDA POTASYUM MİKTAR TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı alev fotometresi ile kanda potasyum miktar tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak alev fotometresi ile kanda potasyum miktar tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 8'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Alev fotometresi
- Hassas terazi
- Deney tüpü
- Tartım kabı
- Tüp sporu
- Balon joje
- Pipet
- Serum örneği
- K standart çözeltisi

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Araç gereci hazırlayınız.
2. K standart çözeltisinden K çözelti serilerini hazırlayınız.
Çözelti serilerini numaralandırınız.
3. Kan serumundan 1 ml alarak 9 ml deiyonize su ile karıştırınız.
Karışımı homojen hâle getiriniz.
4. Alev fotometresini çalıştırarak alev ayarını yapınız.
Alev ayarını kullanma kılavuzunda belirtildiği şekilde yapınız.
5. Alev fotometresinin sıfır (0) ve yüz (100) ayarını yapınız.
Sıfır (0) ve yüz (100) ayarını birkaç kez kontrol ediniz.
6. K standart çözelti serilerinin alev fotometresinde okumasını yapınız.
Okuduğunuz değerleri not ederek kalibrasyon grafiğini çiziniz.
7. Numune çözeltisini alev fotometresinde okutunuz.
Okuduğunuz değeri kalibrasyon grafiği yardımıyla numunenin potasyum (K) miktarını hesaplayınız.

Değerlendirme Ölçeği 8: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. K standartı için gerekli K miktarını hesapladı.				
3. Alev fotometresinin sıfır (0) ve yüz (100) ayarını yaptı.				
4. Standart serilerin okumasını yaparak kalibrasyon grafiğini oluşturdu.				
5. Numuneyi alev fotometresinde okutarak kalibrasyon grafiği yardımıyla potasyum (K) miktarını hesapladı.				
TOPLAM PUAN				



3.4. KANDA KALSİYUM VE FOSFOR TAYİNİ

Kalsiyum ve fosfor iskelet sisteminin ve dişlerin yapısında bulunan maddelerdir. Bu maddelerin eksikliği veya azlığında iskelet sisteminin ve dişlerin gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir

3.4.1. Kanda Kalsiyum ve Fosfor Tayininin Önemi

▼ Kalsiyum (Ca)

Kemiklerdeki kristal hidroksi-apatitin önemli bir iyonudur. Sinirsel uyarının geçişi, kasların kasılması, hücre-içi haberleşmenin sağlanması, D vitamininin sentezlenmesi ve kanın pıhtılaşmasında rol oynar. Kalsiyum ayrıca sodyum ve potasyumla beraber kalp kasının çalışma ritmini düzenler. Vücutta bulunan kalsiyumun (Ca) %99'a yakını kemiklerde ve dişlerde bulunur.

Kalsiyum eksikliğinde görülen sonuçlar şunlardır:

- Kalsiyum ve fosfor metabolizmasının bozulması veya artan ihtiyacın (büyüme, sağım gibi) karşılanamaması durumunda oluşan noksanlık hâllerinde süt hayvanlarında doğum humması; gençlerde raşitizm; yaşlılarda osteomalazi diye bilinen hastalıklar gelişir.
- Kanın pıhtılaşması ve sinirsel uyarının iletilmesi bozulur.

► Metodun Prensibi

Kalsiyum (Ca^{++}) iyonları alkalik ve metanol ihtiva eden çözeltide glyoxal-bis (2 hidroksianil) ile kırmızı renkli bir kompleks oluşturur. 520 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede okunması esasına dayanır. Serum proteinleri uzaklaştırılmadan uygulanabilir.

▼ Fosfor (P)

Lipid ve proteinlerle ester bileşikler yapar. Bu maddeler birçok enzim sisteminde görev yapar. Özellikle ATP kanalıyla olmak üzere biyolojik enerjinin taşınmasında ve vücudun tampon sistemlerinde görev yaparlar.

Fosfor eksikliğinin sonuçları şunlardır:

- Özellikle kümes hayvanlarında iştahsızlık ile kendini gösterir.
- Kalsiyumla beraber kemiklerin yapısında bulunmasından dolayı kemiklerin kalifikasyonuna ve kolay kırılmasına neden olur.

► Metodun Prensibi

Serumda bulunan inorganik fosfatın, sülfomolibdat ile reaksiyona girmesi sonucunda sarı renkli molibdat kompleksi oluşur. Bu kompleksin indirgen bir madde olan askorbik asit ile tepkimeye girmesi sonucunda inorganik fosfat miktarı ile orantılı koyulukta molibden mavisi oluşması esasına dayanır.

3.4.2. Kalsiyum Analizi

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Hassas terazi, tartım kabı, pipet, puar, spatül ve balon joje kullanılır.

- | | |
|-------------------------------|--|
| ▶ Glyoxal Bis | 100 mg glyoxal bis (2 hidroksianil), 100 ml etanol içinde çözündürülür. Çözelti kapaklı kahverengi şişede saklanır ve haftada bir yenilenir. |
| ▶ 2 N Sodyum Hidroksit (NaOH) | 8 g NaOH 100 ml'lik balon jojeye aktarılır bir miktar bidistile su ile çözündürülür. Hacmi bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. |

İşlemin Yapılışı

Test ve kör (blank) için 2 tüp alınarak üzerleri yazılır. Test tüpüne 0,01 ml serum, 0,5 ml bidistile su 0,5 ml glyoxal bis ilave edilir. Kör tüpe 0,51 ml bidistile su ve 0,5 ml glyoxal bis ilave edilir. Tüplerin ağzı kapatılarak 30 saniye çalkalanır. 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra her iki tüpe 0,05 ml NaOH ilave edilerek 30 saniye çalkalanır. NaOH ilavesinden tam 10 dakika sonra sıfır ayarı yapılmış 520 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede test ve körün okuması yapılarak aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$\text{mg/dl Ca veya \%mg Ca} = E_{\text{test}} - E_{\text{reaktif körü}} \times 26$$

3.4.3. Fosfor Analizi

Kullanılacak Araç Gereç ve Çözeltiler

Hassas terazi, tartım kabı, balon joje, spektrofotometre, spektrofotometre küveti, pipet, puar, erlen ve fosforsuz filtre kâğıdı kullanılır.

- | | |
|--|---|
| ▶ %10'luk Triklor Asetik Asit [C ₂ HCl ₃ O ₂ (TCA)] | 10 g triklor asetik asit distile suda çözülerek 100 ml'ye tamamlanır. |
| ▶ Sülfomolibdat | Eşit hacimde 10 N H ₂ SO ₄ ve %7,8'lik sodyum molibdat çözeltileri karıştırılarak hazırlanır. |
| ▶ Stok Kalay II Klorür (SnCl ₂) Çözeltisi | 10 g SnCl ₂ 25 ml yoğun HCl içinde çözülür. |
| ▶ Dilüe kalay II klorür çözeltisi | 1 ml stok SnCl ₂ çözeltisi alınır ve distile su ile 200 ml'ye tamamlanır. |

► Stok Standart Fosfat Çözeltisi

0,4393 g potasyum fosfat (KH_2PO_4) litrelik balon jojede bir miktar distile suda çözülür, hacmi distile su ile litreye tamamlanır. Muhafazası için birkaç damla kloroform ilave edilir.

► Standart Fosfat Çözeltisi

10 ml stok fosfat çözeltisinden alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözeltinin 1 ml'si 0,01 mg P içerir.

Fosfor analizi için öncelikle standart kalibrasyon eğrisinin çizilmesi amacıyla altı adet erlen alınır. Erlenlere Tablo 3.3'teki gibi fosfor çözelti serileri hazırlanır.

Tablo 3.3: Fosfor Çözelti Serileri

	%0 mg P	%2,5 mg P	%5,0 mg P	%7,5 mg P	%10 mg P	%15 mg P
Standart P Çözeltisi	0 ml	0,5 ml	1 ml	1,5 ml	2 ml	3 ml
Distile Su	14 ml	13,5 ml	13 ml	12,5 ml	12 ml	11 ml
Sülfomolibdat Çözeltisi	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml
Dilüe Kalay II Klorür Çözeltisi	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml

Hazırlanan çözelti serileri karıştırılarak karanlıkta 15 dakika bekletilir. Çözelti serileri spektrofotometre kuvvetlerine pipet yardımıyla aktarılır ve 520 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrenin sıfır (0) ayarı destile su ve yüz (100) ayarı konsantrasyonu en yüksek çözelti ile yapılır. Daha sonra çözelti serileri spektrofotometrede okunarak değerleri kaydedilir. Kaydedilen değerlerle kalibrasyon grafiği oluşturulur.

1. İşlemin Yapılışı

1 ml serum üzerine 4 ml %10'luk TCA eklenir ve karıştırılır. İki dakika sonra fosforsuz filtre kâğıdından süzülür. Süzüntüden 1 ml alınır, üzerine 13 ml distile su ve 4 ml sülfomolibdik asit ile 2 ml dilüe SnCl_2 çözeltisi eklenir ve hemen karıştırılır. 15 dakika sonra, spektrofotometre kuvetine aktarılan numune çözeltisinde oluşan rengin absorbansı 520 nm'de blanka karşı spektrofotometrede okunur. Okunan değer kalibrasyon grafiğine yerleştirilerek numunenin fosfor miktarı %mg olarak belirlenir.

3.9. UYGULAMA

SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA KALSİYUM TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı spektrofotometre ile kanda kalsiyum tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak spektrofotometre ile kanda kalsiyum tayini yapmanız beklenmektedir.

Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 9'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

- ⚠️ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠️ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Hassas terazi
- Tartım kabı
- Glyoxal bis
- Spatül
- Pipet
- 2 N NaOH
- Balon joje
- Spektrofotometre
- Metanol

☰ İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Araç gereci hazırlayınız.
2. Test tüpüne 0;01 ml serum; 0;5 ml bidistile su 0;5 ml glyoxal bis ilave ediniz.
Serumu tüpün kenarından sızdırarak ilave ediniz.
3. Kör tüpe 0;51 ml bidistile su ve 0;5 ml glyoxal bis ilave ediniz.
Tüplerin ağzını kapatarak 30 saniye çalkalayınız.
4. 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra her iki tüpe 0;05 ml NaOH ilave ediniz.
Tüplerin ağzını kapatarak tekrar 30 saniye çalkalayınız.
5. Spektrofotometreyi 520 nm'ye ayarlayarak sıfır (0) ayarını bidistile su ile yapınız.
Sıfır ayarını yaparken bu işlemi birkaç kez tekrarlayınız.
6. NaOH ilavesinden sonra tüpleri tam 10 dakika oda sıcaklığında bekletiniz.
Süreye uyunuz.
Sabırlı olunuz.
7. Spektrofotometrede okuduğunuz değerleri not ederek gerekli hesaplamaları yapınız.
Hesaplamaları dikkatli yapınız.

Değerlendirme Ölçeği 9: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Test ve kör tüplerine çözeltileri doğru ilave etti.				
3. Tüplere 2 N NaOH ilave etti.				
4. Spektrofotometrenin sıfır (0) ayarını yaptı.				
5. Test ve kör tüpleri okuyarak gerekli hesaplamaları yaptı.				
TOPLAM PUAN				



3.10. UYGULAMA | SPEKTROFOTOMETRE İLE KANDA İNORGANİK SERUM FOSFOR TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı spektrofotometre ile kanda inorganik serum fosfor tayini yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak spektrofotometre ile kanda inorganik serum fosfor tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 10'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Spektrofotometre ve küveti
- Tartım kabı
- Pipet
- Sülfomolibdat çözeltisi
- Hassas terazi
- Erlen
- Puar
- Dilüe SnCl_2 çözeltisi
- Balon joje
- %10'luk TCA ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$)
- Standart P çözeltisi
- Filtre kâğıdı

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Araç gereci hazırlayınız.
2. 1 ml serum üzerine 4 ml %10'luk TCA ekleyerek karıştırınız.
İki dakika sonra fosforsuz filtre kâğıdıyla süzünüz.
3. Süzüntüden 1 ml alıp üzerine 13 ml distile su ve 4 ml sülfomolibdik asit ile 2 ml dilüe SnCl_2 çözeltisi ekleyerek karıştırınız.
Karışımı 15 dakika karanlıkta bekletin.
4. Spektrofotometreyi 520 nm'ye ayarlayarak çalıştırınız.
Spektrofotometrenin sıfır (0) ayarını distile su ve yüz (100) ayarını konsantrasyonu en fazla olan standart çözelti ile yapınız.
5. Standart çözelti serilerinin absorpsiyonunu spektrofotometrede okuyunuz.
Okuduğunuz değerleri not ederek kalibrasyon eğrisini çizin.
6. Numune çözeltisinin blanka karşı spektrofotometrede okumasını yapınız.
Okuduğunuz değerleri not ederek kalibrasyon grafiğine yerleştiriniz.
7. Kalibrasyon grafiğinden yararlanarak numunenin P konsantrasyonunu bulunuz.
Bulduğunuz değeri standartlarla karşılaştırınız.

Değerlendirme Ölçeği 10: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. 1 ml serum üzerine 4 ml %10'luk TCA ekleyerek karıştırdı.				
3. Süzüntüden 1 ml alıp üzerine 13 ml distile su ve 4 ml sülfomolibdik asit ile 2 ml dilüe SnCl_2 çözeltisi ekledi ve karıştırdı.				
4. Standart serilerin spektrofotometrede okumasını yaparak kalibrasyon grafiğini oluşturdu.				
5. Kalibrasyon grafiğinden yararlanarak numunenin fosfor (P) konsantrasyonunu hesapladı.				
TOPLAM PUAN				



3.5. OTOANALİZÖRLE BİYOKİMYASAL TESTLER

Otoanalizörlerin gelişimiyle kanda bulunan maddelerin tesbiti daha çabuk ve daha doğru yapılmaktadır. Bu nedenle hastalıkların teşhisi ve tedavisi daha çabuk ve daha doğru yapılabilmektedir.

3.5.1. Otoanalizörler

Kan, serum, plazma, idrar gibi biyolojik maddelerin içinde bulunan organik ve inorganik maddeleri çeşitli parametreler kullanarak otomatik olarak analiz eden cihazlara **otoanalizör** denir (Görsel 3.3).



Görsel 3.3: Tam otomatik biyokimya otoanalizörü

Otoanalizörler, mikroişlemciler vasıtasıyla tek bir numuneden istenilen testlerin analizini yapar. Otoanalizörde biyokimyasal olaylar reaktiflerin katkısı ile vücut sıcaklığına yakın havuzlarda olmakta ve analizler bu havuzda gerçekleşmektedir. Otoanalizörler hızlı ve güvenilir sonuç vermelerinden dolayı hastalıkların teşhisinde ve tedavinin uygulanmasında kritik öneme sahiptirler. Ayrıca verilerin depolanabilmesi ve sonuçların daha önceki sonuçlarla karşılaştırılabilmesi açısından büyük bir öneme sahiptir. Laboratuvarda kullanılan otoanalizörler şu özelliklere sahip olmalıdır:

- Küvetler ve godeler tek kullanımlık olmalı veya özel camdan yapılmış olup cihaz tarafından yıkanabilir olmalıdır.
- Proplar reaktif ve serum seviyesine karşı sensörlü olmalıdır.

- Pıhtı ve köpüğe karşı dedektörlü olmalıdır.
- Otomatik dilüsyonlu olmalıdır.
- Reaktif bölmesi ile kontrol ve kalibratörlerin bölmesi soğutmalı olmalıdır.
- Bazı önemli uyarıları sesli mesaj şeklinde bildirmelidir.
- Kapsamlı bir kalite kontrol programına sahip olmalıdır.
- Acil numune girişi olmalıdır.
- İkterik (sarılık), lipemik (bulanık) ve hemolizli serumlara karşı duyarlı olmalıdır.

Otoanalizörler; sistem kontrol merkezi, numune yükleme sistemi, işlem modülü olmak üzere üç kısımdan oluşur. Otoanalizörlerin; kuru sistem otoanalizörler ve sulu sistem otoanalizörler olmak üzere iki farklı çalışma sistemi vardır. Her iki sistemin birbirine göre avantajları ve dezavantajları vardır.

Otoanalizörle çalışma öncesinde alınacak önlemler şunlardır:

- Reaktif pipetleme probunu ve reaktif çözeltileri kontrol edilir.
- Mikrobilgisayar üzerinde bulunan disketlerin, sürücüde sistem ve veri olarak yerleştirilmiş olup olmadığı kontrol edilir.
- Pipetörlerden sızma olup olmadığı kontrol edilir.
- Reaktif 1 (R1) ve Reaktif 2 (R2) disklerindeki reaktiflerin miktarları kontrol edilip gerekiyorsa tamamlanır.
- Otoanalizörün atık kabı kontrol edilip doluysa boşaltılır.
- Reaksiyon diski yıkama çözeltisi kontrol edilip boş ise doldurulur.
- Yazıcı ve kâğıt miktarı kontrol edilir.
- Deiyonize su cihazı açılır.
- Cihazın ana düğmesi açılarak çalıştırılır. Analize hazır hâle gelmesi için 10 dakika beklenir.

Kullanılacak Araç Gereç ve Çözeltiler

Kalibrasyon işleminde otoanalizör kitleri, kontrol solüsyonları ve raklar kullanılır.

3.5.2. Otoanalizörlerin Kalibrasyonu

Kalibrasyon işlemi için cihaz uygun pozisyona getirilir. Kalibrasyon için otoanalizörün kitleri, kontrol solüsyonları tamamlanır. Kontrol serumları raklara sırasıyla yerleştirilerek cihazın alması sağlanır ve cihaz çalıştırılır. Cihazda, üretici tarafından kaydedilmiş parametrelerle yeni okunan parametrelerin uyumu kontrol edilir. Kontrol parametreleri ile kaydedilmiş parametreler arasındaki sapma $\pm 2 SD$ 'yi (standart deviation/ standart sapma) aşmamalıdır. Kontrol serumlarıyla yapılan kontrollerde herhangi bir uyumsuzluk yoksa cihaz çalıştırılarak numune analizleri yapılır.

**Uyarılar**

- Kontrol sonuçlarında ± 2 SD aşan testler var ise bu testler için kalibrasyon yapılmalıdır.
- Ayrıca testler için kullanılan kitler değiştirildiğinde kalibrasyon yapılmalıdır. Çünkü değişen her kit farklı özelliklere sahip olduğu için o kitin özelliğine uygun olarak cihazın kalibrasyonu tanınması gerekir.
- Cihazdaki kirlilik, kullanılan kitlerdeki bozulmadan veya kontrol serumlarından kaynaklanan hatadan dolayı doğru kontrol değerlerine ulaşılmayabilir. Bu durumda ticari olarak satışa sunulan kalibrasyon serumları kullanılır.

**ARAŞTIRMA SORUSU**

Otoanalizör çeşitlerini ve çalışma prensiplerini araştırınız. Araştırmanızda elde ettiğiniz bilgileri rapor hâline getiriniz.

Otoanalizörle çalışırken alınacak önlemler şunlardır:

- Kan veya serum içeren örnekler, reaktifler, kontrol ve kalibratörler gibi sıvı atıklar bulaşıcı kabul edilir.
- Sıvı atıklar atık kabına atılmadan önce atık kabına dezenfaktan eklenmesi mikro-organizmaların bulaş riskini azaltacaktır.
- HBV, HCV ve HIV gibi organizmaları etkisiz hâle getirmek için sodyum hipoklorat ve glutaralid solüsyonları kullanılır. Bu maddeleri kullanırken eldiven, önlük, gerektiğinde gözlük, maske ve bone kullanılmalıdır.
- Çalışma bitiminde tek kullanımlık kirli araç gereç tıbbi atık kutusunda toplanarak imha edilmek üzere ilgili birimlere gönderilir.



3.11. UYGULAMA | OTOANALİZÖRLE ÇALIŞMA ÖNCESİNDE YAPILMASI GEREKEN ÖN İŞLEMLERİ UYGULAMA

Bu uygulamanın amacı otoanalizörle çalışma öncesinde yapılması gerekli ön işlemleri yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak otoanalizörle çalışma öncesinde yapılması gereken ön işlemleri uygulamanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 11'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

İşlem Basamakları

1. İşlemler öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.
2. Reaktif pipetleme probunu ve reaktif çözeltilerini kontrol ediniz.
Kontrolleri dikkatli yapınız.
3. Mikrobilgisayar üzerinde bulunan disketlerin, sürücüde sistem ve veri olarak yerleştirilmiş olup olmadığını kontrol ediniz.
Sistemi kontrol ediniz.
4. Pipetörlerden sızma olup olmadığını kontrol ediniz.
Sızma varsa teknik ekibe haber veriniz
5. Reaktif 1 (R1) ve Reaktif 2 (R2) disklerindeki reaktiflerin miktarlarını kontrol ediniz.
Gerekliyse tamamlayınız.
6. Otoanalizörün atık kabını kontrol ediniz.
Doluysa boşaltınız.
7. Reaksiyon diski yıkama çözeltilisini kontrol ediniz.
Eksikse tamamlayınız.
8. Yazıcıyı ve kâğıt miktarını kontrol ediniz.
Eksik malzemeleri tamamlayınız.
9. Deiyonize su cihazını çalıştırınız.
Bağlantıları kontrol etmeyi unutmayınız.
10. Cihazın ana düğmesini açarak çalıştırınız.
Cihazın ısınması için 10 dakika bekleyiniz.

Değerlendirme Ölçeği 11: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlemler öncesinde hazırlıklarını yaptı.				
2. Reaktif çözeltilerini kontrol etti.				
3. Pipetörlerden sızma olup olmadığını kontrol etti.				
4. Reaksiyon yıkama çözeltilisini kontrol etti.				
5. Yazıcıyı ve kâğıt miktarını kontrol etti.				
TOPLAM PUAN				



3.12. UYGULAMA | OTOANALİZÖRDE KALİBRASYON YAPMA

Bu uygulamanın amacı otoanalizörde kalibrasyon yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak otoanalizörde kalibrasyon yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 12'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

🛠 Kullanılacak Araç Gereç

- Kontrol solüsyonları
- Otoanalizör kitleri
- Rak

☰ İşlem Basamakları

1. İşlemler öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız. Araç gereci hazırlayınız.
2. Cihazı stabil konuma getiriniz.
Cihazda çalışılacak parametreleri giriniz.
3. Kontrol solüsyonlarını raklara sırasıyla yerleştiriniz.
Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.
4. Rakları cihaza yerleştiriniz.
Rakları düzgün yerleştirdiğinizden emin olunuz.
5. Okunan değerleri kontrol ediniz.
Standartlara uygun olup olmadığını kontrol ediniz.
6. Standartlara uygun değilse gerekli önlemleri alarak işlemi tekrar ediniz.
Bu işlemi standartlarla uyumlu olana kadar tekrarlayınız.

Değerlendirme Ölçeği 12: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi hazırlıklarını yaptı.				
2. Cihazı stabil konuma getirdi.				
3. Kontrol solüsyonlarını raklara yerleştirdi.				
4. Rakları cihaza yerleştirdi.				
5. Okumaları standartlarla karşılaştırdı.				
TOPLAM PUAN				



3.13. UYGULAMA | OTOANALİZÖR İLE BİYOKİMYASAL TESTLERİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı otoanalizör ile biyokimyasal testleri yapmaktır. Verilen işlem basamaklarını uygulayarak otoanalizör ile biyokimyasal testleri yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 13'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.
- ⚠ Yaptığınız uygulamada iş sağlığı ve güvenliği kurallarına uyunuz.
- ⚠ Cihaz kullanma talimatlarına uyunuz.

İşlem Basamakları

1. İşlem öncesi hazırlıkları yapınız.
Kişisel güvenlik önlemlerini alınız.
2. Numune çözeltilerinin parametrelerini cihaza giriniz.
Parametrelerin girişini dikkatli yapınız.
3. Numune çözeltilerini raklara yerleştiriniz.
Çözeltilerin raklara düzgün yerleştirdiğinizden emin olunuz.
4. Rakları sırasıyla cihaza yerleştiriniz.
Sıralamayı karıştırmayınız.
5. Cihaz okumalarını kaydederek yazıcıya gönderiniz.
Yazıcıdan çıktı alınız.
6. Cihazın temizlik ve otokontrol yapmasını bekleyiniz.
Temizlik ve otokontrol işlemleri bittikten sonra cihazı kapatınız.
7. Tek kullanımlık malzemeleri tıbbi atık kutusuna atınız.
Kişisel temizlik ve hijyen kurallarına uyunuz.

Değerlendirme Ölçeği 13: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi hazırlıklarını yaptı.				
2. Analiz parametrelerini cihaza girdi.				
3. Numune çözeltilerini sırasıyla raklara yerleştirdi.				
4. Rakları cihaza düzgün yerleştirdi.				
5. Sonuçları kaydetti.				
TOPLAM PUAN				



ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A) Aşağıdaki cümleleri dikkatli bir şekilde okuyarak doğru olanların başına (D) yanlış olanların başına (Y) koyunuz.

1. () Kan şeker düzeyine **glisemi** adı verilir.
2. () Fosfolipit ve glikolipitler için çözücü olarak aseton, eter ve kloroform kullanılır.
3. () Serum proteinleri ozmotik basıncın sağlanmasına yardımcı olur.
4. () Biyokimyasal olaylarda katalizör görevi gören protein yapısındaki maddelere **enzim** denir.
5. () Mineraller vücut tarafından sentezlenir.
6. () Kalsiyum eksikliği süt hayvanlarında süt hummasına; gençlerde osteomalaziye neden olur.
7. () Biyolojik maddelerin içinde bulunan organik ve inorganik maddeleri çeşitli parametreler kullanarak otomatik olarak analiz eden cihazlara **otoanalizör** denir.

B) Aşağıdaki cümlelerde boş bırakılan yerlere doğru sözcükleri yazınız.

8. Hayvanlar ve insanlar dışarıdan aldıkları besinleri dönüştürerek enerji ihtiyaçlarını karşılarlar.
9. suda çözünmezler, ancak organik çözücülerle çözünebilen düşük molekül ağırlıklı maddelerdir.
10. idrarda hemoglobin bulunmasına denir.
11. Globülin miktarı total protinden miktarının çıkarılması ile bulunur.
12. molekül içinde değişiklik yapan enzimlerdir.
13. Kanda sodyum ve potasyum analizleri ile yapılır.
14. Kalsiyum ve fosfor ve dişlerin yapısında bulunur.
15. eksikliği özellikle kümes hayvanlarında iştahsızlıkla kendini gösterir.
16. Otoanalizörler; sistem kontrol merkezi, ... yükleme sistemi, işlem modülü olmak üzere üç kısımdan oluşur.
17. Otoanalizörün kalibrasyonu için kontrol sırasıyla raklara yerleştirilerek cihazın alması sağlanır.

C) Aşağıdaki verilen çoktan seçmeli sorularda doğru seçeneği işaretleyiniz.

18. Bir kan örneğinde gerekli işlemler yapıldıktan sonra Spektrofotometre ile okuması yapılmış ve AST (SGOT) için; A1 0.263, A2 0.268, A3 0.275 ve A4 0.281 okunduğuna göre bu numunenin AST değeri aşağıdaki seçeneklerden hangisidir (Faktörü 1768 alınız.)?
- A) 10.608
B) 10.618
C) 10.628
D) 10.638
E) 10.648
19. Bir kan örneğinde gerekli işlemler yapıldıktan sonra Spektrofotometre ile okuması yapılmış ve ALT (SGPT) için; A1 0.348, A2 0.339, A3 0.334 ve A4 0.327 okunduğuna göre bu numunenin ALT değeri aşağıdaki seçeneklerden hangisidir (Faktörü 1768 alınız.)?
- A) 12.346
B) 12.356
C) 12.366
D) 12.376
E) 12.386

İDRAR VE GAITA ANALİZLERİ

ÖĞRENME BİRİMİ

https://www.eba.gov.tr/c?q=U55089_bf4f351d



KONULAR

- 4.1. İDRARDA RENK VE BULANIKLIK TESTLERİ
- 4.2. İDRARDA MİKROSKOBİK İNCELEME
- 4.3. İDRARDA STRİPLE YAPILAN
- 4.4. BİYOKİMYASAL TESTLER
- 4.5. GAITADA GİZLİ KAN TAYİNİ
- 4.6. GAITADA STERKOBİLİNOJEN TAYİNİ



Neler Öğreneceksiniz

- ▶ İdrarın fiziksel özellikleri
- ▶ İdrarın dansitesini dansimetre ile ölçme
- ▶ İdrarın pH'sını ölçme
- ▶ İdrarda mikroskopik inceleme
- ▶ Strip ile idrar analizi yapma
- ▶ Ehrlich yöntemi ile idrarda ürobilinojen analizi yapma
- ▶ Benedict yöntemi ile idrarda glikoz tayini yapma
- ▶ Tanret yöntemi ile protein tayini yapma
- ▶ Fouchet testi ile bilirubin tayini yapma
- ▶ O-toludin testi ile idrarda kan tayini yapma
- ▶ İdrarda ürik asitten, iltihaptan, oksalattan ve yağdan kaynaklanan bulanıklık tayinlerini yapma
- ▶ Gaitada gizli kan ve sterkobilinojen tayini yapma



Temel Kavramlar

İdrar, pH metre, mikroskop, test çubukları, dansimetre, gaita



Hazırlık Çalışmaları

1. Mikroskopların keşfi ve gelişimi sonucunda insan yaşamında ne gibi değişiklikler olmuştur, araştırınız.
2. Sizce idrar ve gaita analizlerinin yapılış amacı neler olabilir, açıklayınız.

4.1. İDRARDA RENK VE BULANIKLIK TESTLERİ

İnsanlarda ve hayvanlarda oluşan vücut atıkları böbrekler vasıtasıyla idrar şeklinde vücuttan atılır. İdrar kompleks bir yapıya sahip olup içinde bulunan organik ve inorganik maddelerin incelenmesi ile birçok hastalığın tanısında ucuz ve çabuk sonuçlar elde edilmesinden dolayı son derece önemlidir. İdrarın fiziksel özellikleri (rengi, kokusu, pH'ı, dansitesi, kıvamı ve bulanıklığı) patolojik durumlarda değişebilmektedir. İdrar testleri; özellikle böbrek enfeksiyonları, idrar yolları (üreter) ve idrar kesesi (mesane) hastalıkları, çeşitli enfeksiyon ve karaciğer hastalıkları, en önemlisi de şeker hastalığı (diabetes mellitus) tanısında en sık başvuru testleridir. Böbrek taşları için de idrar örneklerinin mikroskopik incelemesi yapılır.

4.1.1. İdrarda Renk Tayini

▼ İdrarda Renk

Hayvanlarda ve insanlarda idrarın rengi açık sarıdan koyu sarıya kadar değişiklik gösterir. İnsan ve hayvan idrarına rengi veren ürokrom ve ürobilin denilen maddelerdir. İdrar bekletildiğinde ürobilinojenin oksidasyonu sonucu koyulaşır. Özellikle sıvı tüketimi çok olan bireylerde idrarın rengi açık sarıyken su tüketimi az veya terleme yoluyla çok su kaybeden bireylerde bu renk koyulaşmaktadır. İdrarın rengi; tüketilen gıdalar, kullanılan ilaçlar veya enfeksiyon sebebiyle değişebilir. İdrarın rengindeki değişimlere dikkat edilmeli ve bunların nedenleri mutlaka araştırılmalıdır.

▶ İdrar Renginin İncelenmesi	İdrar örneği temiz ve renksiz bir cam kaba konur ve idrarın rengi gözle incelenir.
------------------------------	--

4.1.2. İdrarda Bulanıklık Tayini

Taze ve hafif asit olan idrar normalde berraktır. Üreme organlarından karışan salgılarla mesane ve idrar yolları duvarının yüzeylerinden karışan çok az miktarda musin türünden bazı maddeler bekletildiğinde dalgalar şeklinde ayrılabilir ve dibe doğru çökerek nubekula denen çökeltiyi oluşturur. İdrarda bulanıklık üratlar, fosfatlar, okzalatlara, hücresel elemanlar ve bakterilerden ileri gelebilir.

▶ Üratlardan İleri Gelen Bulanıklık	Alkali idrarlarda, amonyum ürat; asidik idrarlarda ise diğer üratlar çökerek bulanıklık yaparlar. Genellikle soğukta oluşur ve ısıtma ve asetik asit etkisiyle kaybolur.
▶ Fosfatlardan İleri Gelen Bulanıklık	Alkali idrarda oluşur; ısıtma ile belirginleşir; asetik asit etkisiyle kaybolur.
▶ Okzalatlardan İleri Gelen Bulanıklık	Hafif asit ve hafif alkali idrarda oluşur. Asetik asit etkisiyle kaybolmaz; HCl etkisiyle kaybolur.

► Hücresel Elemanlardan İleri Gelen Bulanıklık	İdrarın 1 mm ³ ünde 200'den fazla lökosit veya 500'den fazla eritrosit varsa idrar bulanıklaşır. İdrara %10'luk NaOH çözeltisi damlatıldığında idrar jelatinel bir saydamlığa dönüşür. Jelatinel saydamlık santrifüj ile giderilir.
► Bakterilerden İleri Gelen Bulanıklık	Bakteriler idrara beyazımsı mat bir görünüm verir. Küçük sülfamid kristalleri idrarda süspansiyon hâlinde olduğundan idrarda bulanıklık oluşturur. Bu bulanıklık; ısıtma, asitlendirme ve alkalileendirme ile kaybolmaz. Bulanıklığı ancak aseton giderebilir.

▼ İdrarda pH

İdrarın pH değeri; beslenmeye, metabolizma durumuna, kullanılan ilaçlara ve değişik hastalıklara bağlı olarak değişmektedir. Etobur hayvanların idrarları asidiktir (pH 5,5-7). Otobur hayvanların idrar pH'ı 6-8 arasında değişir. İnsanların idrar pH'ı ise 4,8-8 aralığındadır.

İdrarın pH'ı; turnusol kâğıtları, idrar test çubukları ile basit ve hızlı bir şekilde ölçülebilmektedir. Daha hassas ölçümler için pH metre kullanılır. İdrara batırılan turnusol kâğıdında oluşan renk, birkaç saniye sonra turnusol kâğıdındaki renk skalasıyla karşılaştırılarak idrarın pH değeri belirlenir.

İdrar test çubuklarının hepsi pH indikatörü içerir. İndikatör olarak genellikle metil kırmızısı ve brom-timol mavisi kullanılır. Bu indikatörler, pH 5-9 arasındaki pH değerlerini ölçer. İdrar çubuklarına 1-2 damla idrar damlatılarak birkaç saniye sonra oluşan renk, skalada bulunan renklerle karşılaştırılıp idrarın pH değeri +/- 0,5 hassasiyetle belirlenir.

İdrar, pH metre ile temiz ve kuru bir behere aktarılır. Daha önceden kalibrasyonu yapılmış pH metrenin elektrodları, idrarın bulunduğu behere daldırılır ve pH metrede okunur.

▼ İdrarda Koku

Her idrar kendine has özel bir kokuya sahiptir. İdrarın kokusu, alınan besinler ve kullanılan ilaçlardan etkilenebilir. Meyve esansı veya asetonlu gibi kokan idrar; asitoz, ketoz ve ileri derecede diyabetes mellitusta olabilir. Amonyak kokusu, beklemiş ve kokuşmuş idrarda olabilir. Sıçan gibi kokan idrar, fenil ketonüride olabilir. Karamela gibi kokan idrar, akçaağaç şurubu idrar hastalığında olabilir.

▼ İdrarda Özgül Ağırlık (Dansite)

Dansite, idrar içinde erimiş hâlde bulunan tuz ve üre gibi maddelerin miktarına bağlıdır. Erimiş hâlde bulunan bu maddelerin miktarı idrar miktarıyla doğrudan ilişkilidir. Ot yiyen hayvanların idrar dansitesi, et yiyen hayvanlara göre daha yüksektir. İnsanlarda idrar dansitesi 1.015-1.025 aralığında değişmektedir. İdrar dansitesi; kullanılan ilaçlara,

beslenmeye, alınan sıvı miktarına ve fizyolojik duruma bağlı olarak değişir. İdrar dansitesinin devamlı olarak 1.007'den düşük olması **hipostenüri** olarak tanımlanır; 1.010 civarında olması **izostenüri** olarak tanımlanır; 1.030'dan yüksek olması **hiperstenüri** olarak tanımlanır.

- | | |
|----------------|---|
| ► Hipostenüri | Normalde idrar ile atılan maddelerin atılamadığı böbrek hastalıklarında ve diyabetes insipitusta görülür. |
| ► İzostenüri | Kronik glomerülonefritin terminal döneminde görülür. |
| ► Hiperstenüri | Diyabetes mellitusta ve dehidratasyonda görülür. |

İdrarda dansite tayini, ürinometre (dansitometre) veya idrar test çubuklarıyla yapılır (Görsel 4.1).

Ürinometre ile dansite tayini için 100 ml'lik temiz ve kuru bir silindire yaklaşık $\frac{3}{4}$ kadar idrar boşaltılır. Ürinometre dikkatli bir şekilde idrara sarkıtılır. Ürinometrenin salınımı durduktan sonra ürinometreden idrarın dansitesi okunur. Ürinometreler 15 °C'ye göre ayarlandıklarından dolayı ölçümü yapılan idrarın sıcaklığının da ölçülmesi gereklidir. İdrarın sıcaklığı 15 °C'den yüksek ise ürinometrede okunan değere, her 3 °C için 0,001 eklenir. Eğer idrarın sıcaklığı 15 °C'den düşük ise ürinometrede okunan değerden, her 3 °C için 0,001 çıkarılır.

Örneğin laboratuvara gelen bir idrar örneğinin dansitesi 1,017 ve sıcaklığı 18 °C ise bu idrarın gerçek dansitesi $1,017 + 0,001 = 1,018$ 'dir.



Görsel 4.1: Dansitometre (ürinometre)

4.1. UYGULAMA

İDRARIN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ

Bu uygulamanın amacı idrarın fiziksel (renk, koku, bulanıklık) özelliklerini incelemektir. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarın fiziksel özelliklerini incelemeniz beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 1'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🛠 Kullanılacak Araç Gereç

- Cam Tüp
- Eldiven
- İdrar örneği

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. İdrarı temiz ve şeffaf cam tüpe aktarınız. Arkadaşlarınızla işbirliği yapınız.
Aktarma işlemini dikkatli yapınız.
3. İdrarın rengini ve bulanıklığını kontrol ediniz.
Gördüğünüz rengi ve bulanıklığı rapor ediniz.
4. Koku testi için idrarın kapağını açar açmaz gelen kokuyu kontrol ediniz.
Amonyak kokusu, meyve esansı kokusu vb. kokular alırsanız rapor ediniz.
5. Sonuçları kaydederek ilgili birimlere iletiniz.
Kullandığınız araç gereci temizleyiniz.

Değerlendirme Ölçeği 1: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. İdrarı temiz ve şeffaf cam tüpe aktardı.				
3. İdrarın rengini ve bulanıklığını göz ile kontrol etti.				
4. İdrarın kokusunu kontrol etti.				
5. Gözlemlerini raporlayarak ilgili birimlere ilettili.				
TOPLAM PUAN				



4.2. UYGULAMA

İDRARIN ÖZGÜL AĞIRLIK (DANSİTESİ) TAYİNİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı idrarın özgül ağırlığı (dansitesi) tayinini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarın özgül ağırlığı (dansitesi) tayinini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 2'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🛠 Kullanılacak Araç Gereç

- Ürinometre
- Eldiven
- Silindir (mezür)

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. 100 ml'lik silindirin $\frac{3}{4}$ 'üne kadar idrar aktarınız.
Aktarma işlemini dikkatli yapınız.
3. Ürinometreyi silindire yavaşça bırakınız.
Ürinometrenin temiz ve kuru olduğundan emin olunuz.
4. İdrarın sıcaklığını derece ile ölçünüz.
İdrarın sıcaklığı 15 °C'den farklı ise düzeltme yapınız.
5. Ürinometrenin salınımı durunca ürinometredeki değeri okuyarak sonucu raporlayınız.
Kullandığınız araç gereci temizleyiniz.

Değerlendirme Ölçeği 2: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. İdrarı, silindirin $\frac{3}{4}$ 'üne kadar boşalttı.				
3. İdrarın sıcaklığını derece ile ölçtü.				
4. Ürinometreyi yavaşça idrara daldırdı.				
5. Ürinometrenin salınımı durunca okumayı yaptı ve sonucu raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.3. UYGULAMA | İDRARIN PH DEĞERİNİ ÖLÇME

Bu uygulamanın amacı idrarın pH değerini ölçmektir. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarın pH değerini ölçmeniz beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 3'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Test çubukları (strip)
- Eldiven
- Test çubukları skalası

☰ İşlem Basamakları

- Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.**
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
- İdrarı uygun bir kaba aktarınız.**
Aktarma işlemini dikkatli yapınız.
- Test çubuğunu idrara 1-2 saniye batırınız.**
Renk oluşumu için 10-15 saniye bekleyiniz.
- Oluşan rengi, renk skalasıyla karşılaştırınız.**
Renk skalasından pH değerini tesbit ediniz.
- Sonucunuzu raporlayınız.**
Test çubuğunu uygun atık kutusuna atınız.

Değerlendirme Ölçeği 3: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. İdrarı uygun bir kaba boşalttı.				
3. Test çubuğunu idrara batırdı.				
4. Oluşan rengi, renk skalasıyla karşılaştırdı.				
5. pH değerini raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.2. İDRARDA MİKROSKOBİK İNCELEME

İdrar sedimentinin mikroskopik incelemesi, fiziksel ve kimyasal analizlerin tamamlayıcısı olmasından dolayı büyük önem arz etmektedir. Fiziksel ve kimyasal analizlerle belirlenemeyen organik ve inorganik bileşiklerin belirlenmesi amacıyla idrar sedimentinde mikroskopik muayene yapılır. Mikroskopik inceleme genellikle sabah alınmış taze idrarda yapılır.

4.2.1. İdrar Sedimentinin Mikroskopik İnceleme İçin Hazırlanması

Taze idrar bir santrifüj tüpüne konularak 1.500 devirde 5 dakika santrifüjlenir. Üstte bulunan berrak kısım dikkatli bir şekilde başka bir tüpe aktarılır. Tüpün dibinde kalan tortu homojen hâle getirilerek pipet veya damlalık yardımıyla lam üzerine bir damla damlatılır. Bazı durumlarda lügol çözeltisi veya metilen boyası kullanılır.

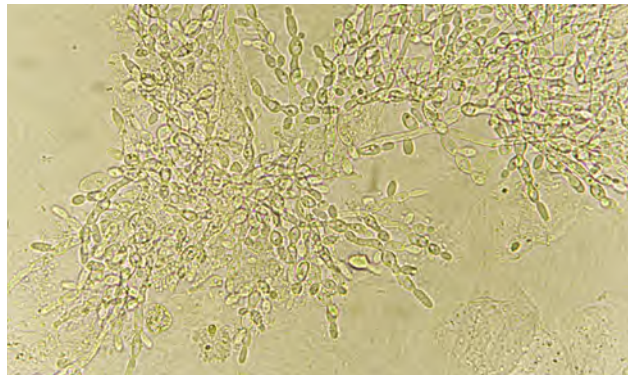
Lügol Çözeltisi: 5 g iyot ve 10 g potasyum iyodür distile su ile çözündürülerek hacmi 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

4.2.2. Mikroskopik Muayenede Organik Sedimentler

▼ Epiteller

İdrarda bulunan epitel hücrelerinin kaynağını belirlemek amacıyla mikroskopik inceleme yapılır (Görsel 4.2).

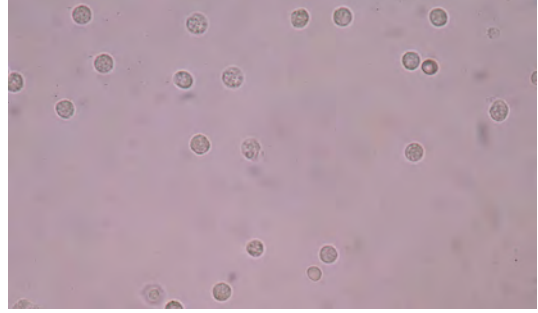
- ▶ **Böbrek Epitel Hücreleri** Şekilleri yuvarlak veya köşelidir. Lökositlerden büyüktür ve ortasında oval şekilde çekirdek vardır. Normal idrarda bulunmaz. Bu hücreler böbrek hastalıklarının akut safhasında idrarda bulunur. Bazen hücreler bir araya gelip silindirik şekli alır.
- ▶ **Yassı Epitel Hücreler** Yassı (squamöz) epitel hücrelerin kenarları düzensiz ve yassıdır. Orta kısımlarında, büyüklüğü hücre büyüklüğüne göre değişen çekirdekleri vardır. Dişilerde, vagina ve vulvadan; erkeklerde ise üretradan gelir. Lökositlerle beraber görüldüklerinde yangıya sebep olur.
- ▶ **Kuyruklu Epitel Hücreleri** Çok farklı şekil ve büyüklükte görülebilir. Genellikle armut veya iğ şeklindedir. Çekirdekleri, böbrek epitel hücrelerinin çekirdeklerinden daha küçüktür. Kökeni; böbrek pelvisinden üreter, idrar kesesi, prostat, vesicula seminalis ve epididimis olabilir.



Görsel 4.2: Epiteller

▼ Lökositler

Yuvarlak yapıları ve bir veya birkaç çekirdekli oluşları ile kolayca tanınırlar. Asidik idrarda, alkali idrara göre tanımı daha kolaydır. Her sahada 2-3 lökosit görülmesi normaldir. Ancak idrarda yoğun lökosit görülmesi böbrek ve idrar iltihaplarını akla getirmelidir. Lökositler, beklemiş idrarda çabuk bozulmaktadır. Bu nedenle mikroskopla incelendiğinde fosfat sedimenti ile karıştırılabilmektedir (Görsel 4.3).



Görsel 4.3: Lökositler

▼ Eritrositler

Normal idrarda eritrosit bulunmaz. İdrarda eritrosit bulunması patolojik nedenlerle olur. Eritrositler, lökositlerden daha küçük olup diskler hâlinde görülür. Eritrositler, özgül ağırlığı yüksek olan idrarda büzülür; özgül ağırlığı düşük idrarda ise şişerek daha büyük görünür. Eritrositleri lökositlerden ayırmak için idrara birkaç damla asetik asit damlatılır. Bu işlem sonucunda lökositler daha belirgin hâle gelirken eritrositler erir. Eritrositler bazen yağ molekülleri ile de karıştırılabilir. Bu durumu önlemek için sedimente birkaç damla eter veya kloroform ilave edilir.

Akut glomerulonefrit, böbrek tüberkülozu, kötü huylu tümörler ve sistitis idrarda eritrositlerin görülmesine neden olur. Ayrıca böbrek taşları ve parazitler de idrarda eritrosit görülmesine sebep olur.

▼ Silendirler

Tubuluslara gelen proteinlerin suyunun geri emilmesi, asiditenin artması, yüzey geriliminin azalması gibi fiziksel ve kimyasal olaylar sonucunda proteinler pıhtılaşarak sertleşerek silendirleri oluşturur. Silendirler, içinde oluştukları tubulusun şeklini alır. Silendirler, gerçek ve yalancı silendir olmak üzere iki kısma ayrılır. Yalancı silendirlerin patolojik bir anlamı yoktur.

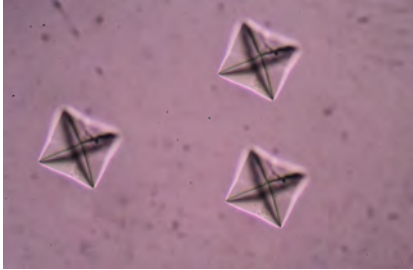
- **Hyalin Silendirleri** İdrarda en fazla görülen silendirlerdir. Klinik açıdan önem taşıyabilmesi için idrar sedimentinde lökosit, eritrosit ve epitel hücrelerinin de bulunması gerekir. Hyalin silendirler; uçları yuvarlak, uzun kenarları birbirine paralel, düz ve bazen birkaç kıvrım gösteren şeffaf yapıdır.
- **Granüler Silendirler** Kaba ve ince granüllü silendirler olarak ikiye ayrılır. Şekilleri hyalin silendirine benzemektedir. Granülasyon göstermelerinden dolayı hyalin silendirlerinden ayrılır. Ancak ince granülasyon gösterenleri seçebilmek için büyük objektifle ve dikkatli bakmak gerekir. Özellikle nefretiste görülür.

- **Mum Silindirler** Sınırları belli ve homojendir. Sarımtırak bir renk gösterir. Mum silindirlere akut ve diffüz glomerulonefritlerin başlangıcında ve böbreklerin amiloid dejenerasyonunda rastlanır.
- **Epitel Silindirleri** Akut nefritisin işaretidir.
- **Eritrosit Silindirleri** Yeni kanamalarda sarı-kırmızı görünseler de içerdikleri hemoglobini kaybetmelerinden dolayı renksizdir. Hemoglobünürilerde görülen eritrosit silindirlerin rengi taşıdıkları hemoglobinden dolayı genellikle kahverengimsidir. Akut nefritisi gösterir.
- **Lökosit Silindirleri** Normal veya parçalanmış lökositleri içerir. Böbreklerdeki piyelonefrit, nefritis purulenta gibi yangısal bozuklukları akla getirir.
- **Yağ Silindirleri** Yağ silindirleri genellikle böbreğin parankim dokusunun ağır hasarında ortaya çıkar. İdrarda yağ silindirleri görülmesi ciddi glomerulonefrit işaretidir. Yağ silindirleri eterle erimesi özelliğinden dolayı diğer silindirlerden ayırt edilir.
- **Yalancı Silindirler** Ürat, fosfat, kalsiyum okzalit vb. maddelerin lifleri etrafında toplanarak silindirlere benzeyen yapılar oluşturur. Klinik olarak bir önemi yoktur.

▼ İnorganik Sedimentler

Organik sedimentlere göre klinik değerleri daha azdır. İnorganik sedimentler şunlardır:

► Kalsiyum Okzalit Kristalleri



Görsel 4.4: Kalsiyum okzalit kristalleri

İspanak, çilek gibi okzalik asiti zengin besinlerle beslenildiğinde idrardaki kalsiyum okzalit kristallerinin miktarı artar. Patolojik değildir. Daha çok asidik idrarda görülür (Görsel 4.4).

► Ürat Kristalleri



Görsel 4.5: Ürat kristalleri

Üratlar; amonyum, sodyum, kalsiyum, magnezyum ve potasyum üratların karışımıdır. Bunlar tek tek de bulunabilir (Görsel 4.5). Kalsiyum, magnezyum, sodyum ve potasyum daha çok asidik idrarda bulunurken amonyum daha çok alkali idrarda görülür.

► Amorf Ürat Kristalleri:

Kalsiyum, magnezyum, potasyum ve sodyum üratlardır. Bunlar daha çok soğukta ve kuvvetli asit reaksiyonlarda idrarda çöker.

► Ürik Asit Kristalleri:



Görsel 4.6: Ürik asit kristalleri

Çok çeşitli şekillerde görülebilir. Tek başına görülüklerinde klinik bir önemi yoktur. Ancak taze idrarda organik sedimentlerle birlikte görülmesi taş tanısı bakımından önem taşır. İdrarda patolojik olarak gut hastalığında, akut ateşli hastalıklarda, kronik interstisyel nefritte vb. durumlarda görülür (Görsel 4.6).

► Löysin ve Tirozin Kristalleri

Kloroform, karbon tetraklorür ve fosfor zehirlenmelerinden kaynaklanan ağır karaciğer hastalıklarında görülür. Sarı, kırmızı veya kahverengi küre veya iğne demeti şeklindedir.

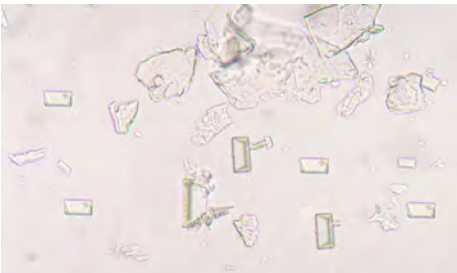
► Sistin Kristalleri

Köpeklerde kalıtsal bir bozukluk sonucu görülür. Kristaller, hekzagonal levhalar şeklindedir. Genellikle asidik idrarda görülür.

► Sülfonamid Kristalleri

Alkali idrarda erimesinden dolayı yalnızca asidik idrarda görülür.

► Amonyum-Magnezyum Fosfat (Triple Fosfat-Strüvit) Kristalleri



Görsel 4.7: Triple fosfat kristalleri

Vücut içinde veya vücut dışında fermentasyona uğramış idrarda görülür. İdrarın, idrar yollarının aşağı kısımlarında durgunlaşması durumlarında kronik sistitis, prostat büyümesi ve kronik piyelitte görülür (Görsel 4.7).

► Kalsiyum Fosfat Kristalleri

Klinik önemleri triple fosfat kristallerinki gibidir.

Bunlardan başka idrarda nadir olarak kolesterol kristalleri, hippurik asit kristalleri ve bilirubin kristalleri görülebilir. İdrarda taş bulunduğu tedavi yöntemini belirlemek için sedimentte bulunan kristallerin tipini belirlemek önem kazanır.

 BİLGİ KÖŞESİ

Mikroskop (Modern Yunanca: μ mikrós, "küçük"; π skopeîn, "görüntü"), çıplak gözle görülemeyecek kadar küçük cisimlerin birkaç çeşit mercek yardımıyla büyütülerek görüntüsünün incelenmesini sağlayan bir alettir. Mikroskop, öncelikle mikro yani çok küçük hücrelerin incelenmesinin yanı sıra sanayi, tıbbat, genetik, jeoloji, arkeoloji ve kriminalistik alanında da kullanılmaktadır. Mikroskobu, ilk önce Hollandalı Zacharias Janssen'in 1590'lı yıllarda bir teleskobu tadil ederken icat ettiği kabul edilmektedir. Ancak aynı dönemde Hollandalı, Alman, İngiliz ve İtalyan bilginleri de mercek sistemi tersine çevrilmiş bir teleskobun, cisimleri büyütme için kullanılabileceğinin farkına varmışlardır. Nitekim dünyanın güneş etrafında döndüğünü açıkladığı için engizisyon işkencesine tâbi tutulan ve dünyanın güneş etrafında döndüğünü iddia etmekten vazgeçmesi şartıyla Papa tarafından serbest bırakılan meşhur İtalyan bilgini Galilei Galileo (1564-1642) iki mercek kullanarak bazı tecrübelerde bulunmuştur. Bugünkü mikroskobun ana prensiplerini ise 17. asırda Hollandalı Anton van Leeuwenhoek ve İngiliz Robert Hooke bulmuşlardır. İnsan gözü doğal bir mikroskoptur. Uzaktaki cisimler ufak gözüktürler. Cisimler yaklaştıkça teferruatı daha iyi seçilmeye başlanır. Göz, sonsuz bir uyum özelliğine sahip olmadığı için mikroskoba ihtiyaç duyulmaktadır. Genel olarak mikroskop, mekanik kısım ve optik kısım olmak üzere iki büyük kısımda incelenir.

 ARAŞTIRMA SORUSU

Mikroskop çeşitlerini ve kullanım alanlarını araştırınız.

4.4. UYGULAMA

İDRARDA MİKROSKOBİK İNCELEME

Bu uygulamanın amacı idrarda mikroskopik inceleme yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarda mikroskopik inceleme yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 4'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

Kullanılacak Araç Gereç

- Santrifüj
- Eldiven
- Lügol çözeltisi
- Lam-lamel
- Mikroskop
- İdrar örneği

İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. İdrarı santrifüj tüpüne aktarınız.
Aktarma işlemini dikkatli yapınız.
3. İdrarı 1.500 devirde 5 dakika santrifüjleyiniz.
Santrifüj kullanma talimatlarına uyunuz.
4. Tüpün üstündeki berrak kısmı başka bir tüpe aktarınız.
Tüpün dibinde kalan sedimenti homojen hâle getiriniz.
5. Sedimentten lama bir damla damlatarak üzerini lamelle kapatınız.
Lamı mikroskoba yerleştiriniz.
6. Mikroskopta önce 10x ile inceleyeceğiniz sahayı belirledikten sonra 40x ile inceleyiniz.
İdrarda gördüklerinizi raporlayınız.

Değerlendirme Ölçeği 4: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. İdrarı santrifüj tüpüne aktararak santrifüjledi.				
3. Sedimentini homojen hâle getirdi.				
4. Sedimentten lama bir damla damlattı ve lamelle kapattı.				
5. Mikroskopta inceleme yaptı ve sonuçları raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.3. İDRARDA STRİPLE YAPILAN BİYOKİMYASAL TESTLER

Stripler idrarda hızlı, ucuz ve kolay kullanımlarından dolayı tercih edilmektedir. Kalitatif olarak sonuç vermektedir.

4.3.1. Strip Kâğıdı ile İdrar Örneğinde Biyokimyasal Analizler Yapma

İdrar analizleri, bilinen kimyasal analizlerle tek tek yapılabildiği gibi kalitatif olarak birden çok analizin yapılmasına imkan veren test çubukları (strip) yardımıyla da yapılabilir.

Geleneksel yöntemlerle idrarda kimyasal analiz yapabilmek için idrarın santrifüjlenmesi veya filtre kâğıdıyla süzülmesi gerekirken test çubuklarıyla yapılan analizlerde santrifüjlemeye veya filtre kâğıdıyla süzülmesine gerek yoktur.

Test çubukları ile idrarda şeker, protein, keton cisimleri, bilirubin, ürobilinojen, hemoglobin ve eritrosit aranır. Bazı test çubuklarında bunların yanında askorbik asit, nitrit ve lökosit kısımları da vardır. Bu testlerin her biri için reaksiyon bölgeleri ayrı ayrıdır. İdrar test çubuklarında taşıyıcı şerit üzerine yerleştirilmiş reaksiyon prensiplerine uygun kimyasal maddelerin yüklendiği ayıraç kâğıtları ve bunların altında filtre kâğıdı bulunmaktadır. Kirlenmeleri ve yırtılmaları önlemek için bunların üzeri ince bir plastik tabaka ile kaplanmıştır (Görsel 4.8).



Görsel 4.8: İdrar test çubukları (strip)

İşlemin Yapılışı

Analizi yapılacak idrar, uygun bir kaba aktarılır. Kutudan çıkarılan test çubuğu bir saniye süre ile idrara daldırılır ve reaksiyon bölgesi üste gelecek şekilde fazla idrarın akması için kabın kenarına sıyrılarak alınır. İdrar test çubuklarında renk değişimi için otuz ile altmış saniye beklenir. Bu süre idrarda kan aranmasında bazen iki dakikayı bulabilir. Stripte oluşan renkler, ambalajındaki renklerle ve açıklamalarla görülebilir. Test çubukları tek kullanımlıktır. İşlem sonunda uygun atık kabına atılır.

4.5. UYGULAMA

TEST ÇUBUKLARI (STRİP) İLE İDRAR TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı test çubukları (strip) ile idrar tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak test çubukları (strip) ile idrar tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 5'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Test çubukları
- Eldiven
- İdrar örneği

☰ İşlem Basamakları

- Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
- Test çubuğunu idrar kabına bir saniye süre ile daldırınız.
Süreyi aşmamaya özen gösteriniz.
- Test çubuğunu reaksiyon bölgesi üste gelecek şekilde idrar kabının kenarına sıyırarak alınız.
Renk oluşumu için 30-60 saniye bekleyiniz.
- Oluşan rengi, ambalajdaki renklerle ve açıklamalarla karşılaştırınız.
Sonuçları rapor ediniz.
- Kullanılmayan stripleri ambalajına koyarak ağzını kapatınız.
Kullandığınız stripleri uygun atık kutusuna atınız.

Değerlendirme Ölçeği 5: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Test çubuğunu idrara bir saniye süreyle daldırdı.				
3. Test çubuğunu idrardan kabın kenarına sıyırarak çekti.				
4. Renk oluşumu için 30-60 saniye bekledi.				
5. Oluşan rengi, ambalajdaki renk ve açıklamalarla karşılaştırdı.				
TOPLAM PUAN				



4.3.2. İdrarda Ürobilinojen Analizi

Ehrlich yönteminde benzaldehit reaksiyonunda kullanılan diazo tuzu p-dimetilaminobenzaldehit ürobilinojen ile reaksiyona girdiğinde kahverengi- kırmızı bir renk verir. Rengin koyuluğu ürobilinojen miktarı ile doğru orantılıdır.

Kullanılan Araç Gereç ve Kimyasallar

Deney tüpü ve taze idrar kullanılır.

► Ehrlich Ayıracı	2 g para dimetilaminobenzaldehit 100 ml %20'lik HCl içinde çözündürülür.
-------------------	--

Analizin Yapılışı

Bir deney tüpüne 5 ml taze idrar alınır. Deney tüpündeki idrarın üzerine birkaç damla erlich ayıracı eklenir ve çalkalanır. Renk oluşumu için 10 dakika beklenir. Tüp, beyaz bir zemin üzerine koyularak tüpün üst kısmından dibe doğru bakılır ve oluşan renk gözlemlenir.

İdrarda ürobilinojen varsa pembe- kırmızı arasında bir renk görülür. Renk şiddeti, 1'den 4'e kadar yarı kantitatif olarak değerlendirilir. Yeşil bir renk oluşumu bilirubin bilverdin oksidasyonu ile ilgilidir ve sarılıklı hayvanlarda görülür.

4.3.3. İdrarda Hippurik Asit Tayini

Hippurik asit, asit ortamda kompleks oluşturur. Isıtılarak çözündürülür ve alkali ile titre edilerek hippurik asit miktarı hesaplanır.

Kullanılan Araç Gereç ve Kimyasallar

Deney tüpü, süzgeç kâğıdı, beher, huni, büret, spor, damlalık, yoğun hidroklorik asit (HCl) ve doymuş magnezyum sülfat ($MgSO_4$) kullanılır.

► %0,1'lik Fenolftalein İndikatörü	0,1 g fenolftalein 100 ml'lik balon jofeye aktarılır. Bir miktar etil alkolle çözündürülerek balon jofenin hacmi etil alkolle tamamlanır.
► 0,5 N Sodyum Hidroksit (NaOH) Çözeltisi	20 g NaOH tartılarak 1000 ml'lik balon jofeye aktarılır. Bir miktar distile su ile çözündürülerek balon jofenin hacmi distile su ile tamamlanır.

Analizin Yapılışı

Bir deney tüpüne 5 ml idrar alınarak üzerine 3-4 damla HCl damlatıldıktan sonra 3-4 damla da $MgSO_4$ damlatılıp karıştırılır. Karışım süzgeç kâğıdıyla süzülür ve süzüntü uygun bir alana dökülür. Süzgeç kâğıdı, içinde sıcak saf su (çok sıcak olmayan) bulunan beherde birkaç dakika bekletilir. Süzgeç kâğıdı beherden alınarak beherde 2-3 damla fenolftalein indikatörü damlatılır ve 0,5 N NaOH çözeltisi, pembe renk elde edilinceye kadar titre edilir. Titrasyonda harcanan NaOH miktarı büretten okunarak not edilir. Hesaplama şu şekilde yapılır: Her 1 ml 0,5 N NaOH, 0,09 g hippurik asite eşittir.

4.6. UYGULAMA

EHRlich YÖNTEMİ İLE İDRARDA ÜROBİLİNOJEN ANALİZİ YAPMA

Bu uygulamanın ehrlich yöntemi ile idrarda ürobilinojen tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak ehrlich yöntemi ile idrarda ürobilinojen tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 6'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Ehrlich ayırıcı
- Eldiven
- Deney tüpü

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. Deney tüpüne 5 ml taze idrar alınız.
İdrarın taze olmasına dikkat ediniz.
3. Deney tüpündeki idrarın üzerine 4-5 damla ehrlich ayırıcı ilave ediniz.
Tüpü karıştırınız.
4. Renk oluşumu için 10 dakika bekleyiniz.
Bekleme süresine uyunuz.
5. Tüpü beyaz zemin üzerine yerleştirerek yukarıdan aşağıya doğru oluşan rengi gözlemleyiniz.
Sonucu rapor ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 6: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Deney tüpüne 5 ml taze idrar aldı.				
3. Deney tüpüne 4-5 damla ehrlich ayırıcı ekledi.				
4. Renk oluşumu için 10 dakika bekledi.				
5. Oluşan rengi gözlemledi ve raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.7. UYGULAMA

İDRARDA HİPPURİK ASİT TAYİNİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı idrarda hippurik asit tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarda hippurik asit tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 7'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Titrasyon düzeneği
- Süzgeç kâğıdı
- Yoğun HCl
- Doymuş $MgSO_4$
- 0,5 N NaOH
- % 0,1'lik fenolftalein

1 2 3 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. Deney tüpüne 5 ml idrar alarak üzerine 3-4 damla HCl ve 3-4 damla $MgSO_4$ ilave ediniz.
Tüpü çalkalayarak karıştırınız.
3. Deney tüpünü süzgeç kâğıdıyla süzünüz.
Süzüntüyü uygun bir yere boşaltınız.
4. Süzgeç kâğıdını, içinde sıcak saf su bulunan behere koyunuz.
Beherde birkaç dakika bekletiniz.
5. Süzgeç kâğıdını alarak 2-3 damla fenolftalein damlatınız.
Fazla indikatör ilavesinden kaçınınız.
6. Beherdeki çözeltiyi 0,5 N NaOH ile pembe renk oluşana kadar titre ediniz.
Renk dönüşümüne dikkat ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 7: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Test çubuğunu idrara bir saniye süreyle daldırdı.				
3. Test çubuğunu idrardan kabın kenarına sıyrarak çekti.				
4. Renk oluşumu için 30-60 saniye bekledi.				
5. Oluşan rengi, ambalajdaki renk ve açıklamalarla karşılaştırdı.				
TOPLAM PUAN				



4.3.4. Benedict Yöntemi ile İdrarda Glikoz (Şeker) Analizi Yapma

▼ Yöntemin Prensibi

Serbest yarı asetal hidroksili içeren şekerler, indirgeyici özellikleriyle Cu^{2+} ı Cu^+ 'e indirgerler.

☰ Kullanılan Araç Gereç ve Kimyasallar

Pipet, deney tüpleri ve bunzen beki kullanılır.

► Benedict Reaktifi

173 g sodyum sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$) ve 100 g susuz sodyum karbonat (Na_2CO_3), 500-600 ml distile suda çözülür. Bu karışıma 17,3 g kristalize bakır sülfatın (Cu_2SO_4) 100 ml distile sudaki çözeltisi yavaş yavaş eklenir ve karıştırılır. Hacim, distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

☰ Analizin Yapılışı

Bir deney tüpüne 5 ml Benedict reaktifi konur ve üzerine 0,5 ml idrar eklenir. Tüp, bunzen beki alevinde 1-2 dakika kaynatılır. Kaynatılan tüp oda sıcaklığında soğumaya bırakılır. Soğuyan tüpteki karışımda renk değişimi ve çökelti olup olmadığına bakılır ve gözlenenlere göre sonuç rapor edilir.

- Kırmızı renkli bir çökelti oluştuysa idrarda şeker (++++) pozitif olur.
- Turuncu renkli bir çökelti oluştuysa idrarda şeker (+++) pozitif olur.
- Sarı renkli bir çökelti oluştuysa idrarda şeker (++) pozitif olur.
- Açık yeşil renkli bir çökelti oluştuysa idrarda şeker (+) pozitif olur.
- Çökelti oluşması gözlenmezse idrarda şeker (-) olur.

Not: İdrarda serbest yarı asetal hidroksili içermeyen bir şeker varlığında, Cu^{2+} indirgenemez. Benedict testi (-) sonuç verir.

4.3.5. İdrarda Tanret Yöntemi ile Protein Araması Yapma

▼ Yöntemin Prensibi

Isı, proteinleri denatüre ederek çözünürlüklerinin azalmasına neden olur. Tanret reaktifi de proteinlerin denatürasyonunu artırır fakat suda çözünmeyen kalsiyum fosfat ve kalsiyum karbonatı suda çözünen şekillere dönüştürür.

☰ Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Deney tüpü, pipet ve bunzen beki kullanılır.

► Tanret Reaktifi

36 g potasyum iyodür (KI) ve 13,55 g civa klorür (HgCl_2) bir miktar distile suda çözüldükten sonra hacim 1.000 ml'ye tamamlanır. Bu çözeltinin 100 ml'si 20 ml glasiyal asetik asit ile karıştırılarak kullanılır.

İşlemin Yapılışı

Bir deney tüpünün 2/3'üne kadar berrak idrar konur. Deney tüpündeki berrak idrar üstten ısıtılır. Isıtılan kısımda bir bulanıklık veya çökelti oluşup oluşmadığına bakılır. Isıtılan bölgede bulanıklık veya çökelti oluşursa idrara 1-2 damla Tanret reaktifi damlatılarak bulanıklığın değişimi gözlenir. Isıtma esnasında ısıtılan bölgede bulanıklık gözlenmezse idrarda protein negatiftir. Isıtma esnasında ısıtılan bölgede bulanıklık oluşur ve Tanret reaktifi damlatılması ile bulanıklık artarsa idrarda protein pozitifdir.

İdrarı ısıtma esnasında ısıtılan bölgede bulanıklık oluşması fosfat ve karbonatlardan ileri gelebilir. Bunu önlemek için fosfat ve karbonatlardan meydana gelen bulanıklık, idrara asetik asit damlatılarak giderilir.



4.8. UYGULAMA

BENEDICT YÖNTEMİ İLE İDRARDA GLİKOZ (ŞEKER) ANALİZİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı Benedict yöntemi ile glikoz (şeker) tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak Benedict yöntemi ile glikoz (şeker) tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 8'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Pipet
- Bunzen beki
- Benedict reaktifi

☰ İşlem Basamakları

- Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
- Deney tüpüne 5 ml Benedict reaktifi ve üzerine 0,5 ml idrar koyunuz.
Hassas çalışınız.
- Deney tüpünü bunzen beki alevinde 1-2 dakika kaynatınız.
Bunzen beki kullanma talimatlarına uyunuz.
- Kaynatmış idrarı soğutunuz.
Soğutma işlemini oda sıcaklığında yapınız.
- Soğuyan tüplerde oluşan rengi gözlemleyiniz.
Sonuçları raporlayınız.

Değerlendirme Ölçeği 8: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Deney tüpüne 5 ml Benedict reaktifi ve 0,5 ml idrar ilave etti.				
3. Deney tüpünü bunzen bekinde 1-2 dakika kaynattı.				
4. Deney tüpünü oda sıcaklığında soğuttu.				
5. Deney tüpünde oluşan rengi gözlemledi ve sonucu rapor etti.				
TOPLAM PUAN				



4.9. UYGULAMA

İDRARDA TANRET YÖNTEMİ İLE PROTEİN ARAMASI YAPMA

Bu uygulamanın amacı idrarda Tanret yöntemi ile protein araması yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarda Tanret yöntemi ile protein araması yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 9'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Pipet
- Bunzen beki
- Tanret reaktifi

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven ve maske vb. giyerek kişisel güvenlik önlemlerini almayı unutmayınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. Deney tüpünün 2/3' üne kadar idrar koyunuz.
İdrar ilavesini dikkatli yapınız.
3. İdrar koyduğunuz deney tüpünü bunzen beki alevinde üstten ısıtınız.
Bunzen beki kullanma talimatlarına uyunuz.
4. Isıttığınız bölgede bulanıklık veya çökelti oluşup oluşmadığını kontrol ediniz.
Dikkatli olunuz.
5. Bulanıklık oluştuysa 1-2 damla Tanret reaktifi damlatınız.
Tanret reaktifi ilavesiyle bulanıklığın artıp artmadığını kontrol ediniz.
Sonuçları raporlayınız.

Değerlendirme Ölçeği 9: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Deney tüpünün 2/3'üne kadar idrar aldı.				
3. Deney tüpünü bunzen beki alevinde üstten ısıttı.				
4. Bulanıklık ve çökeltiyi kontrol etti.				
5. Tanret reaktifinden 1-2 damla damlattı ve oluşan bulanıklığı gözlemledi.				
TOPLAM PUAN				



4.3.6. İdrarda Bilirubin Analizini Fouchet (Fuşe) Testi ile Yapma

Bilirubinin, demir klorür (FeCl_3) ve triklorasetik asit (TCA) ile oksitlenerek yeşil renkli biliverdin ve biliverdin oksidasyon ürünleri oluşturması esasına dayanır. BaCl_2 idrardaki sülfat iyonlarını bağlayarak BaSO_4 şeklinde çöktürür. İdrarda bilirubin varlığında BaSO_4 idrardaki bilirubini absorbe ederek beraberinde çöktürür.

Kullanılan Araç Gereç ve Kimyasallar

Deney tüpü, huni, pipet ve filtre kâğıdı kullanılır.

▶ %10'luk Baryum Klorür (BaCl_2) Çözeltisi	10 g baryum klorür 100 ml'lik balon jöjeye aktarılarak bir miktar distile su ile çözündürülür. Balon jöje distile su ile hacim çizgisine tamamlanır.
▶ %10'luk Demir Klorür (FeCl_3) Çözeltisi	10 g demir klorür 100 ml'lik balon jöjeye aktarılarak bir miktar distile su ile çözündürülür. Balon jöje distile su ile hacim çizgisine tamamlanır.
▶ Fouchet Reaktifi	10 ml suda 2,5 g TCA çözülür ve bu çözeltiye %10'luk taze FeCl_3 çözeltisinden 1 ml eklenip karıştırılır.

İşlemin Yapılışı

Deney tüpüne 10 ml idrar konur. Tüpteki idrarın üzerine 5 ml %10'luk BaCl_2 çözeltisi eklenir ve karıştırılır. Tüpde bir çökelti oluşur. Oluşan çökelti, filtre kâğıdının üzerine süzülerek alınır. Üzerinde çökelti olan filtre kâğıdı, kuru bir filtre kâğıdının üzerine konur. Filtre kâğıdı üzerindeki çökelti üzerine 1-2 damla Fouchet reaktifi damlatılır ve Fouchet reaktifi damlatılan yerde yeşil renk oluşup oluşmadığına bakılarak sonuç rapor edilir. Filtre kâğıdı üzerindeki çökeltide (Fouchet reaktifi damlatılan yerde) yeşil renk oluştuğu gözlenmezse idrarda bilirubin negatiftir. Filtre kâğıdı üzerindeki çökeltide (Fouchet reaktifi damlatılan yerde) yeşil renk oluştuğu gözlenirse idrarda bilirubin pozitifdir.

4.3.7. İdrarda Kan Varlığını O-Toluidin Testi ile Tespit Etme

Metodun prensibi hidrojen peroksit (H_2O_2) varlığında hemoglobinin hem kısmının o-toluidin ile mavi renk vermesi esasına dayanır.

Kullanılan Araç Gereç

Deney tüpü, o-toluidin ayırıcı ve damlalık kullanılır.

▶ O-Toluidin Ayırıcı	5 gr tiyoüreye 90 ml o-toluidin ilave edilerek kahverengi şişede saklanan buzlu asetik asit ile 1 litreye seyreltilen reaktif buzdolabında saklanır.
----------------------	--

Analizin Yapılışı

Deney tüpüne 5 ml idrar konur. Üzerine iki damla o-toluidin ve iki damla hidrojen peroksit çözeltisi damlatılır, birkaç saniye içinde mavi veya yeşil-mavi rengin oluşması deneyin pozitif olduğunu gösterir.

4.3.8. Legal Yöntem ile İdrarda Aseton Arama Testi Yapma

Asetonun, alkali ortamda sodyum nitroprussiyat ile kiraz kırmızısı renk oluşturması esasına dayanır.

Kullanılan Araç Gereç ve Kimyasallar

Deney tüpü, asetik asit ve pipet kullanılır.

- | | |
|---|--|
| <p>► %5'lik Sodyum Nitroprussiyat ($C_5FeN_6Na_2.2H_2O$) Çözeltisi</p> | <p>5 g sodyum nitroprussiyat tartılarak 100 ml'lik balon jojeye aktarılır ve bir miktar distile su ile çözündürülerek hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti taze hazırlanır.</p> |
| <p>► %10'luk Sodyum Hidroksit (NaOH) Çözeltisi</p> | <p>10 g sodyum hidroksit tartılarak balon jojeye aktarılır, bir miktar distile su ile çözündürülür ve hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.</p> |

İşlemin Yapılışı

Bir deney tüpüne 10 ml idrar, 1 ml sodyum nitroprussiyat çözeltisi ve 2 ml %10'luk NaOH çözeltisi konarak karıştırılır. Karışım kırmızı renk alır. Tüpteki kırmızı renkli karışıma 2 ml asetik asit eklenip karıştırılır ve tüpteki renk gözlenir. Tüpte bulunan karışımın rengi açılırsa aseton negatiftir. Tüpte bulunan karışımın rengi kiraz kırmızısı veya vişneçürüğü rengine dönerse aseton pozitifdir.

4.10. UYGULAMA

İDRARDA BİLİRUBİN ANALİZİNİ FOUCHET TESTİ İLE YAPMA

Bu uygulamanın amacı idrarda bilirubin analizini Fouchet testi ile yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarda bilirubin analizini Fouchet testi ile yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 10'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Huni
- Pipet
- % 10'luk $BaCl_2$
- Filtre kâğıdı
- Fouchet reaktifi.

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. Deney tüpüne, 10 ml idrar ve 5 ml % 10'luk $BaCl_2$ koyarak karıştırınız.
Karıştırma işlemi dikkatli yapınız.
3. Tüp içeriğini filtre kâğıdıyla süzünüz.
Süzme işlemi yaparken filtre kâğıdının yırtılmamasına dikkat ediniz.
4. Süzme işlemi yaptığınız filtre kâğıdını temiz ve kuru filtre kâğıdının üzerine koyunuz.
Süzüntünün dökülmemesine dikkat ediniz.
5. Süzüntünün üzerine 1-2 damla Fouchet reaktifi damlatarak renk değişimini gözlemleyiniz.
Sonuçları raporlayınız.

Değerlendirme Ölçeği 10: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Deney tüpüne 10 ml idrar ve 5 ml %10'luk $BaCl_2$ koydu.				
3. Tüp içeriğini filtre kâğıdıyla süzdü.				
4. Süzüntüyü, kuru filtre kâğıdının üzerine koydu.				
5. Süzüntünün üzerine 1-2 damla Fouchet reaktifi damlattı. Sonuçları raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.11. UYGULAMA

İDRARDA KAN VARLIĞINI O-TOLUIDİN TESTİ İLE TESPİT ETME

Bu uygulamanın amacı idrarda kan varlığını o- toluidin testi ile yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarda kan varlığını o-toluidin testi ile yapmanız beklenmektedir.

⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.

⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 11'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Damlalık
- O-toluidin ayırıcı

☰ İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. Deney tüpüne 5 ml idrar koyunuz.
Deney tüpünün kuru ve temiz olmasına dikkat ediniz.
3. İdrar koyduğunuz tüpün üzerine iki damla o-toluidin ve iki damla H_2O_2 damlatınız.
Damlatma işlemini özenli yapınız.
4. Tüpte oluşan rengi gözlemleyiniz.
Sonuçları rapor ediniz.
5. Kullandığınız malzemeleri temizleyiniz.
Laboratuvarı bir sonraki çalışma için hazır hâlde bırakınız.

Değerlendirme Ölçeği 11: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Deney tüpüne 5 ml idrar koydu.				
3. Deney tüpünün üzerine iki damla o-toluidin ve iki damla H_2O_2 damlattı.				
4. Renk oluşumunu gözlemledi.				
5. Sonuçları raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.12. UYGULAMA

LEGAL YÖNTEM İLE İDRARDA ASETON ARAMA TESTİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı legal yöntem ile idrarda aseton arama testi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak legal yöntem ile idrarda aseton arama testi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 12'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Damlalık
- Asetik asit
- %5'lik sodyum nitroprusiyat
- %10'luk NaOH

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. Deney tüpüne 10 ml idrar alarak üzerine 1 ml sodyum nitroprusiyat ve 2 ml NaOH ekleyiniz.
Tüpü çalkalayarak karıştırınız.
3. Tüpte oluşan kırmızı rengin üzerine 2 ml asetik asit ilave ediniz.
Asit ilavesini dikkatli yapınız.
4. Asetik asit ilavesinden sonra tüpte meydana gelen renk değişimini gözlemleyiniz.
Gözlemlerinizin sonucunu rapor ediniz.
5. Kullandığınız malzemeleri temizleyiniz.
Laboratuvarı bir sonraki çalışma için hazır hâle getiriniz.

Değerlendirme Ölçeği 12: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Deney tüpüne 10 ml idrar alarak üzerine 1 ml sodyum nitroprusiyat ve 2 ml NaOH ekledi.				
3. Tüpte oluşan kırmızı rengin üzerine 2 ml asetik asit ilave etti.				
4. Tüpte meydana gelen renk değişimini gözlemledi.				
5. Sonuçları raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.13. UYGULAMA

İDRARDA ÜRİK ASİTTEN KAYNAKLANAN BULANIKLIĞI TESPİT ETME

Bu uygulamanın amacı idrarda ürik asitten kaynaklanan bulanıklığı tespit etmektir. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarda ürik asitten kaynaklanan bulanıklığı tespit etmeniz beklenmektedir.

⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.

⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 13'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Bunzen beki
- Eldiven
- Deney tüpü

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. Bulanık idrardan, deney tüpüne 5 ml idrar alınız.
İdrarı deney tüpüne dikkatli alınız.
3. Deney tüpündeki idrarı bunzen bekinde ısıtınız.
Bunzen beki kullanma talimatlarına uyunuz.
4. Isıtma ile bulanıklığın kaybolup kaybolmadığını kontrol ediniz.
Sonuçları rapor ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 13: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Deney tüpüne bulanık idrardan 5 ml aktardı.				
3. Deney tüpünü bunzen bekinde ısıttı.				
4. Bulanıklığın kaybolup kaybolmadığını kontrol etti.				
5. Sonuçları raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.14. UYGULAMA

İDRARDA İLTİHAPTAN KAYNAKLANAN BULANIKLIĞI TESPİT ETME

Bu uygulamanın amacı idrarda iltihaptan kaynaklanan bulanıklığı tespit etmektir. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarda iltihaptan kaynaklanan bulanıklığı tespit etmeniz beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 14'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Eldiven
- Aseton

☰ İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. Deney tüpüne 5 ml bulanık idrar alınız.
Dikkatli olunuz.
3. Deney tüpündeki idrara 4-5 damla aseton ilave ediniz.
Asetonu dikkatli ilave ediniz.
4. Aseton ilavesinden sonra bulanıklığı kontrol ediniz.
Sonuçları rapor ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 14: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Deney tüpüne 5 ml idrar aldı.				
3. Deney tüpündeki idrara 4-5 damla aseton ilave etti.				
4. Aseton ilavesinden sonra bulanıklığı kontrol etti.				
5. Sonuçları raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.15. UYGULAMA

İDRARDA OKSALATTAN KAYNAKLANAN BULANIKLIĞI TESPİT ETME

Bu uygulamanın amacı idrarda oksalattan kaynaklanan bulanıklığı tespit etmektir. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarda oksalattan kaynaklanan bulanıklığı tespit etmeniz beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 15'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Hidroklorik asit (HCl)
- Pipet

☰ İşlem Basamakları

- Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.**
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
- Deney tüpüne 5 ml bulanık idrar alınız.**
Dikkatli olunuz.
- Bulanık idrar üzerine 3-4 damla HCl damlatınız.**
HCl ilavesinde gerekli önlemleri alınız.
- Bulanıklığı gözlemleyiniz.**
Sonuçları rapor ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 15: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Bulanık idrardan deney tüpüne 5 ml aldı.				
3. Deney tüpündeki idrara 3-4 damla HCl ilave etti.				
4. Bulanıklığı gözlemledi.				
5. Sonuçları raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.16. UYGULAMA

İDRARDA YAĞDAN KAYNAKLANAN BULANIKLIĞI TESPİT ETME

Bu uygulamanın amacı idrarda yağdan kaynaklanan bulanıklığı tespit etmektir. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak idrarda yağdan kaynaklanan bulanıklığı tespit etmeniz beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 16'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🩺 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Eldiven
- Eter

☰ İşlem Basamakları

- Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.**
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
- Deney tüpüne 5 ml bulanık idrar alınız.**
İdrarı dikkatli alınız.
- Deney tüpündeki idrara 4-5 damla eter ilave ediniz.**
Eteri ve buharını solumayınız, maske kullanınız.
- Bulanıklığı kontrol ediniz.**
Sonuçları rapor ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 16: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Deney tüpüne 5 ml bulanık idrar aldı.				
3. Deney tüpündeki idrara 4-5 damla eter damlattı.				
4. Bulanıklığı kontrol etti.				
5. Sonucu raporladı.				
TOPLAM PUAN				



4.4. GAITADA GİZLİ KAN TAYİNİ

Dışkı, insanların ve hayvanların aldıkları besinlerin vücut tarafından sindirimi sonucunda sindirilmeyen veya sindirim sonucunda atık olan maddelerin anüs yoluyla vücut dışına atılmasıdır (Görsel 4.9). Gaitanın fiziksel özellikleri ve dışkılama miktarı türe ve beslenme şekline göre değişkenlik gösterir.



Görsel 4.9. İnek dışkısı.

Gaita analizleri, hastalıkların tanısında ve tedavisinde önemli bir yere sahiptir. Gaita incelemesi, sindirim olayının seyrinde herhangi bir anormallik olup olmadığını göstermesi bakımından önemlidir. Özellikle gaitada gizli kan aranması mide ve bağırsak ülserlerinin ve kanserlerinin erken tanısı ve tedavisinde önemlidir. Dışkıda kan kolon kanseri, rektum kanseri, dizanteri, mide ülseri vb. vakalarda görülür. Gaitada kan, hemoroit (basur) hastalıklarında görülür.

Gaitada gizli kan tayini çeşitli yöntemlerle yapılabilmektedir. Gaitada gizli kan analizleri direk benzidin deneyi, kaynatılmış süspansiyonda benzidin deneyi ve o-toluidin testi deneyleri ile yapılabilmektedir. Normal dışkıda kan bulunması bireyin belirli bir besin rejiminde olması, et ve et türevlerini almamış olması, demir preparatı almamış olması durumlarında önemlidir. Gaita analizlerinin sağlıklı bir şekilde yapılabilmesi için gaita direkt rektumdan alınmalıdır. Bu durum mümkün olmuyorsa taze yapılmış dışkının yere değmeyen kısmından alınmalıdır. Dışkı miktarı türe göre değişmekle beraber 5-10 g kadar olması yeterlidir. Gaita numuneleri, sızdırmayan kapaklı cam veya naylon kaba konur. Kapların üzeri etiketlenerek laboratuvara gönderilir.

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Direkt benzidin deneyinde kullanılan araç gereç ve çözeltiler şunlardır: Deney tüpü, baget, pipet, damlalık, filtre kâğıdı, %50'lik asetik asit (CH_3COOH), benzidin eriyiği ve hidrojen peroksit (H_2O_2)

Analizin Yapılışı

Bir deney tüpüne fasulye büyüklüğünde gaita konur. Gaitanın üzerine %50'lik asetik asitten bir miktar ilave edilir ve kuvvetlice çalkalanıp süspansiyon hâline getirilerek filtre kâğıdıyla başka bir tüpe süzülür. Başka bir tüpe taze hazırlanmış benzidin eriyiğinden 2 ml alınır. Üzerine taze hazırlanmış hidrojen peroksitten aynı miktar koyulur. Dışkı ekstresinden, benzidin eriyiği ve hidrojen peroksit bulunan tüpe 4-5 damla damlatılır. Tüpte yeşil veya mavi bir rengin oluşması gaitada kan bulunduğu anlamına gelir.

4.17. UYGULAMA

GAİTADA GİZLİ KAN (GİK) TAYİNİ

Bu uygulamanın amacı gaitada gizli kan tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak gaitada gizli kan tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 17'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Eldiven
- Baget
- Damlalık
- Pipet
- Benzidin eriyiği
- Hidrojen peroksit
- Asetik asit
- Filtre kâğıdı

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
2. Deney tüpüne fasulye büyüklüğünde gaita alınız. Üzerine asetik asit ilave ediniz.
Gaitayı çalkalayarak süspansiyon hâline getiriniz.
3. Süspansiyon hâlindeki gaitayı filtre kâğıdı ile süzünüz.
Süzme işlemini dikkatli yapınız.
4. Başka bir tüpe 2 ml benzidin eriyiği ve üzerine 2 ml H_2O_2 ilave ediniz.
Özenli çalışınız.
5. Benzidin eriyiği ve H_2O_2 ilave ettiğiniz tüpün üzerine 4-5 damla gaita ekstresi ilave ediniz.
Mavi yeşil renk oluşup oluşmadığını gözlemleyerek sonucu rapor ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 17: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Gaita örneğinden fasulye büyüklüğünde numune aldı.				
3. Deney tüpündeki numuneyi asetik asit ile süspansiyon hâline getirerek filtre kâğıdıyla süzdü.				
4. Başka bir tüpe 2 ml benzidin eriyiği ve 2 ml H_2O_2 ekledi.				
5. Tüpün üzerine gaita ekstresinden 4-5 damla damlattı ve renk oluşumunu gözlemledi.				
TOPLAM PUAN				



4.5. GAİTADA STERKOBİLİNOJEN TAYİNİ

Yaşam döngüsünü (120 gün) tamamlayan eritrositlerin parçalanması sonucu serbest hâle geçen hemoglobin yıkıma uğrayarak hem ve globine ayrılır. Hem kısmından demirin ayrılması ile önce safra pigmenti olan biliverdin sonra da bilirubin meydana gelir. Bilirubin glukoronik asit ile esterleşerek safra kanalları aracılığıyla bağırsaklara taşınır. Bilirubin, bağırsakta glukoronik asitten ayrılarak bakteriler tarafından ürobilinojene ve sterkobilinojene çevrilir. Sterkobilinojenin bir kısmı dışkı ile atılır. Sterkobilinojen bulunmayan gaitanın rengi gri veya cam macunu rengine olur.

Karaciğerin içinde ve dışında bulunan safra kanallarındaki gelişim bozukluğu nedeniyle ortaya çıkan safra yolu tıkanıklığı olasılığının araştırılmasında kullanılır. Safra yolu tıkanıklığı, bilirubin bağırsaklara geçişini engellemesinden dolayı hepatosellüler sarılık oluşur. Bu durum bağırsaklarda sterkobilinojen oluşumunu engellediği için gaitada sterkobilinojen bulunmaz. Gaitada sterkobilinojenin bulunması normal; bulunmaması anormaldir. Sterkobilinojen tayini Ehrlich metodu ile yapılır.

Kullanılan Araç Gereç ve Çözeltiler

Deney tüpü, baget, pipet, beher, lügol reaktifi, etil alkol ve %1,5 hidroklorik asit (HCL) kullanılır.

► Ehrlich Reaktifi

0,7 g P-dimetilamino benzaldehit tartılır ve distile suyla 100 ml'ye tamamlanır. Ayrı bir kaba koyularak üzerine 150 ml konsantre hidroklorik asit (HCL) ilave edilir ve karıştırılır. Karışım renkli şişelerde saklanır.

► Lugol Reaktifi

5 g iyot, 10 g potasyum iyodür tartıldıktan sonra beraberce havanda ezilir. Azar azar ilave edilen 100 ml distile su ile tamamen eritilir. Distile su ile 1.000 ml'ye tamamlanır.

Analizin Yapılışı

Bir deney tüpüne fındık büyüklüğünde gaita konur. Üzerine 10 ml etil alkol ilave edilir. Bir baget yardımıyla ezilir. Üzerine 1-2 damla %1,5'lik HCL damlatılarak ortamın reaksiyonu asit yapılır. 5 dakika bekletilir. Karışımın üzerine 8-10 damla Ehrlich reaktifi damlatılır. Sonuç, tüpte oluşan menekşe rengin şiddetine göre (+ + + +), (+ + +), (+ +), (+) pozitif şeklinde rapora yazılır.

4.18. UYGULAMA | GAITADA STERKOBİLİNOJEN TAYİNİ

Bu uygulamanın amacı gaitada sterkobilinojen tayini yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak gaitada sterkobilinojen tayini yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 18'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Deney tüpü
- Beher
- Baget
- Damlalık
- Ehrlich reaktifi
- %1,5'lik HCL
- Etil alkol
- Pipet

📋 İşlem Basamakları

- Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.
- Deney tüpüne fındık büyüklüğünde gaita alınız. Üzerine 10 ml etil alkol ilave ediniz.
Baget yardımıyla eziniz.
- Üzerine 1-2 damla %1,5'lik HCL damlatınız.
Asit ilavesini dikkatli yapınız.
- Asit ilavesinden sonra 5 dakika bekleyiniz.
Sabırlı olunuz.
- Karışımın üzerine 8-10 damla Ehrlich reaktifi damlatınız.
Oluşan rengi gözlemleyerek sonucu rapor ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 18: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Kullanılacak araç gereci hazırladı.				
2. Gaita örneğinden fındık büyüklüğünde numune aldı.				
3. Deney tüpündeki numuneye 10 ml etil alkol ilave etti.				
4. 1-2 damla %1,5'lik HCL ekledi.				
5. Karışım üzerine 7-8 damla erlich reaktifi ekledi ve sonucu rapor etti.				
TOPLAM PUAN				



ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A) Aşağıdaki cümleleri dikkatli bir şekilde okuyarak doğru olanların başına (D) yanlış olanların başına (Y) koyunuz.

1. () İdrar analizleri, böbrek enfeksiyonları ve şeker hastalığı gibi hastalıkların tanısında önemli bir parametredir.
2. () İdrarın rengi ürokrom ve ürobilin denilen maddelerden ileri gelir.
3. () Çok sıvı alan bireylerin idrarları koyu renklidir.
4. () Beklemiş ve kokuşmuş idrarda amonyak kokusu oluşur.
5. () Ürinometre ile dansite tayininde idrar sıcaklığının bir önemi yoktur.
6. () Eritrositler özgül ağırlığı düşük idrarda büzülürler.
7. () İdrar test çubuklarıyla birçok analiz, kantitatif olarak yapılır.
8. () Gaitada sterkobilinojen bulunmaması anormaldir.

B) Aşağıdaki cümlelerde boş bırakılan yerlere doğru sözcükleri yazınız.

9. İdrar dansitesinin devamlı olarak 1007'den düşük olması olarak tanımlanır.
10. inceleme fiziksel ve kimyasal analizlerin tamamlayıcısıdır.
11. epitel hücreleri, yuvarlak veya köşeli şekilli, böbrek hastalıklarının akut safhasında idrarda bulunur.
12. İdrarda yağ silendirleri görülmesi ciddi işaretidir.
13. kristalleri taze idrarda organik sedimentlerle birlikte görülmesi taş tanısı bakımından önem taşır.
14. Test çubuklarıyla yapılan analizlerde idrarı veya filtre kâğıdıyla süzmeye gerek yoktur.
15. Kolon kanseri, rektum kanseri, dizanteri, mide ülseri vb. vakalarda kan görülür.
16. Bilirubin, bağırsakta glukoronik asitten ayrılarak bakteriler tarafından ürobilinojene ve çevrilir.

C) Aşağıdaki verilen çoktan seçmeli sorularda doğru seçeneği işaretleyiniz.

17. **Sedimentler organik ve inorganik sedimentler olarak ayrılırlar. Aşağıda verilen seçeneklerden hangisi organik sedimentlere örnektir?**

- A) Ürik asit kristalleri B) Lökositler C) Kalsiyum okzalat kristalleri
D) Sistin kristalleri E) Ürat kristalleri

18. **İdrar test çubuklarıyla birçok analiz kalitatif olarak yapılmaktadır. Aşağıdaki analizlerden hangisi idrar test çubuklarıyla yapılamamaktadır?**

- A) Şeker B) Protein C) Hippurik asit D) Bilirubin E) Hemogloblin

HISTOLOJİK İNCELEMELER İÇİN HAZIRLIK

ÖĞRENME BİRİMİ



https://www.eba.gov.tr/c?q=U55088_a5fa3eae



KONULAR

5.1. DOKU NUMUNELERİNİN TESPİTİ

5.2. KEMİKLERİN DEKALSİFİKASYONU



Neler Öğreneceksiniz

- ▶ İş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alarak yumuşak özellikteki doku örneğinin otolize olmadan fiksatifler kullanarak tespitini yapma
- ▶ Kemikten alınan doku örneğini solüsyonlar kullanarak doku preparatı hazırlanması için uygun hâle getirme



Temel Kavramlar

doku, hücre, tespit, solüsyon, immersiyon, dekalsifikasyon, otoliz, hijyen, parazitler



Hazırlık Çalışmaları

1. Patoloji laboratuvarlarına gelen materyal çeşitlerini, kontrol ve kabulünü gözlemleyiniz. Gözlemlerinizi arkadaşlarınızla paylaşınız.
2. Patoloji laboratuvarının, diğer laboratuvarlardan farklılıklarını tartışınız.
3. Histopatoloji ve sitopatoloji arasındaki farkları araştırınız.
4. Bir patoloji laboratuvarına giderek dekalsifikasyon incelemesini izleyiniz.

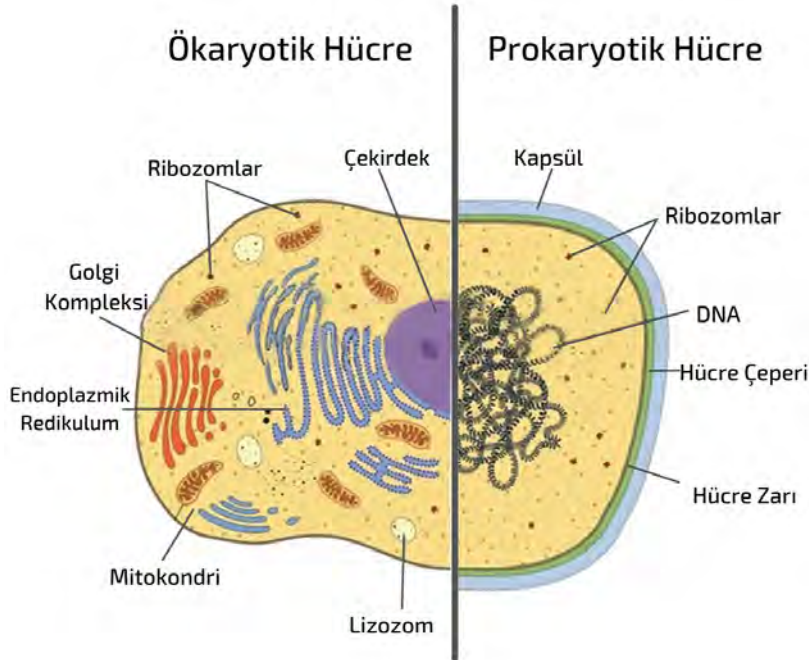
5.1. DOKU NUMUNELERİNİN TESPİTİ

Bu öğrenme biriminin amacı, patoloji laboratuvarındaki uygulamalara öğrencinin önceden hazırlanıp bilinçli olarak laboratuvara gelmesini sağlamaktır. Ezberlemeden, uygulama yaparak, görerek öğrenmek ve tecrübe kazanmak daha kolay hâle gelecektir. Verilen bilgi ve becerilerle doku örneğinin (otolize olmadan fiksatifler kullanılarak) tespiti yapılabilecektir.

5.1.1. Hücre

Hücreler, çok hücreli organizmaların temel birimlerini oluşturmakla kalmaz aynı zamanda yaşamın devamı için gerekli bütün aktivitelerin yürütülmesinde de görev yapar. Şekil olarak 200'den fazla farklı hücre türü olsa da pek çok hücre ortak özelliklere sahiptir (Görsel 5.1).

Hücrelerin; yassı, yuvarlak, prizmatik, ipliksi, kübik, yıldız ve piramit şeklinde olanları vardır. Organizmayı oluşturan hücrelerin çoğunluğu ortalama 15-10 mikron çapındadır. Hücrenin yapısında proteinler, lipidler, karbonhidratlar, enzimler, vitaminler, hormonlar ve pigmentler gibi organik maddeler ile su, potasyum, sodyum, kalsiyum, fosfor ve demir gibi inorganik maddeler vardır. Ökaryotik hücreler nükleus ile nükleosuda içeren sitoplazma bölümlerinden oluşur.



Görsel 5.1: Ökaryotik-prokaryotik hücre yapısı

Hücre zarı sitoplazmayı çevreleyerek hücreye şekil verir ve dağılmasını engeller. Hücre zarı ile çekirdek zarı arasında kalan hücre bölümüne **sitoplazma** denir. Büyük oranda sudan ibaret olduğu hâde ne sıvı ne de katı özellik gösterir yani kolloidal yapıdadır. Sitoplazma, çözünmüş ve dağılmış tanecikler içerir. Bu çözünen taneciklerin miktarı hü-

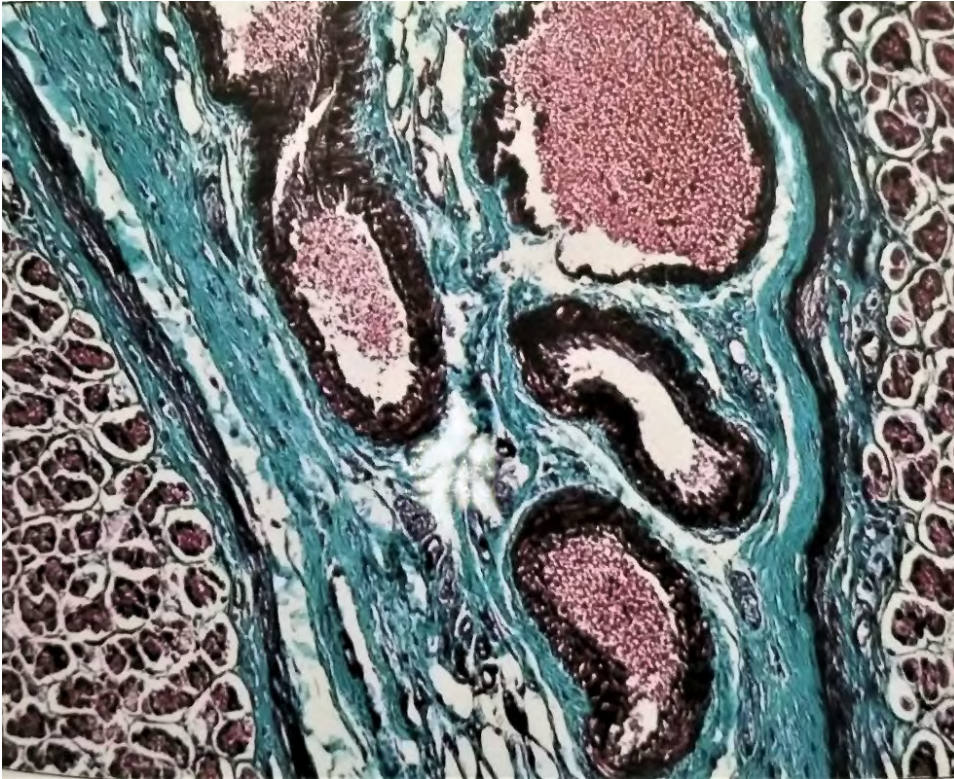
re türüne göre değişiklik gösterir. İçinde bulunan genel organeller şunlardır: Endoplazmik retikulum, ribozom, mitokondri, lizozom, golgi aygıtı, sentrozom, mikrotubulus, mikrofibriller, silialar

Hücre çekirdeği (nükleus); çekirdek zarı, nükleoplazma, kromozom ve çekirdekçikten oluşur. Çekirdek zarı iki tabaka hâlinde ve çok gözenekli bir yapıya sahiptir. Nükleoplazma ise çekirdeğin özü olup özellikle protein ve tuzlar içerir. İşlevi hücrenin yaşamını sürdürmek ve çalışmasını düzenlemektir. Çekirdek ölecek olursa hücre de ölür. Çekirdek ayrıca hücre ana maddesi içindeki birçok küçük organelin birbirleriyle uyumlu olarak çalışmasını sağlar. Çekirdek hücre bölünmesinde rol üstlenir.

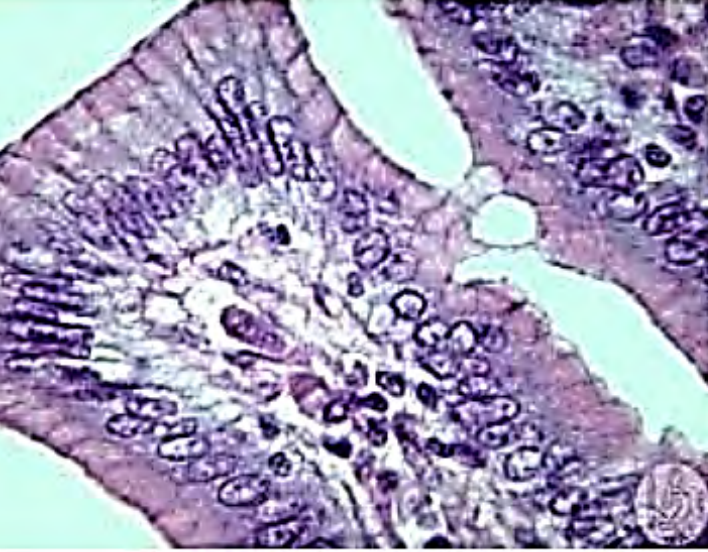
5.1.2. Doku ve Doku Çeşitleri

Çok hücreli canlılarda, yapı ve işlev yönünden birbirine benzeyen hücreler ile hücreler arası maddeden oluşan yapıya doku (Görsel 5.2) denir. Bütün doku ve organlar, embriyonun üç germ tabakasından (ektoderm, endoderm ve mezoderm) meydana gelir.

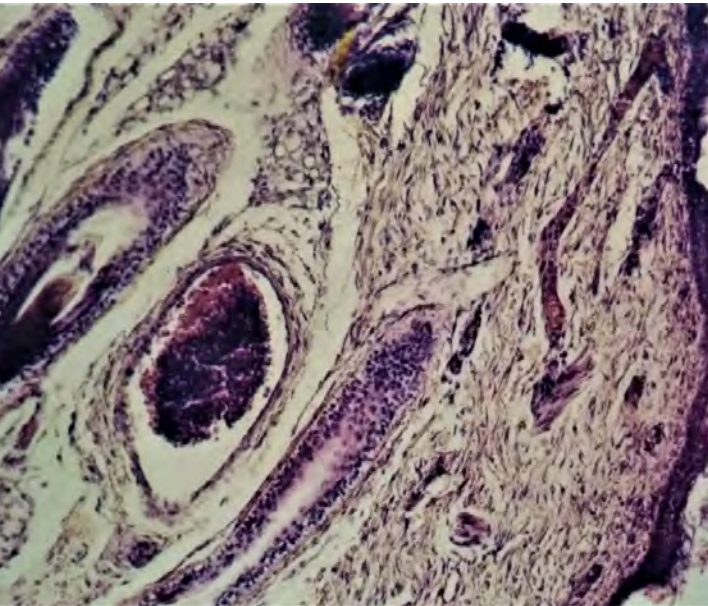
Dokuları oluşturan hücrelerin etrafı, yine bu hücreler tarafından sentezlenip salgılanan bir ara madde ile çevrilmiştir. Bu ara madde, yine dokuların özelliklerine göre değişik kıvamlarda bulunur. Örneğin kan dokusunda sıvı hâlde; kıkırdak dokuda jelimsi hâlde; kemik dokusunda sert bir madde hâlinde bulunur. Ara madde; organik ve inorganik maddelerden meydana gelmiştir. Ayrıca ara maddede doku hücrelerince sentezlenen dokunun destek ve dayanıklılığını artıran fibriller yer alır.



Görsel 5.2: Mide mukozası (gevşek bağ doku)



Görsel 5.3: Prizmatik barsak epitel hücresi



Görsel 5.4: Deri bağ dokusu

▼ Epitel Doku

Epitel doku (Görsel 5.3), embriyonik hayatın gelişimi sırasında ektoderm ve mezoderm tabakasından köken alır. Vücudun içindeki ve dışındaki boşluklara bakan yüzeyleri sarar ve salgı bezlerinin esas kısmını oluşturur. Dört tür epitel dokusu vardır. Bu türler şunlardır:

- Örtü epiteli
- Salgı epiteli (bez epiteli)
- Duyu epiteli
- Kassel epitel

▼ Destek Dokular

Destek dokular (Görsel 5.4) çeşitli yapıları birbirine bağlar; destek sağlar; yağ depolar; kan hücrelerini üretir; enfeksiyonlara karşı vücudu korur; doku hasarlarında onarıma yardımcı olur. Kafada bulunan bazı destek dokular hariç tüm destek dokular embriyonik mezoderm tabakasından gelişir. Tüm destek dokularda, hücreler arası boşluğu dolduran zemin maddesi (matriks) doku hücreleri ve fibriller bulunur. Destek dokuları dört kısma ayrılır. Bu kısımlar şunlardır:

- Bağ doku
- Kan dokusu
- Kıkırdak doku
- Kemik doku

▼ Kas Doku

Kas, kimyasal enerjiyi kasılma ve gevşeme vasıtasıyla mekanik işe dönüştüren özelleşmiş bir dokudur. Kas hücrelerine miyosit adı verilir. Bu hücrelerin içinde; kasılıp gevşeme özelliği gösteren, ince ipliksi, stoplazmik proteinler yer alır.

▼ Sinir Dokusu

Sinir hücrelerine **nöron** denir. Nöron gövdesine perikaryon adı verilir. Perikaryondan çıkan kısa uzantılara dendrit; uzun uzantılara akson denir. Nöronlar uyarıları dendritleri aracılığıyla alırlar. Alınan sinir uyarısı, hücrenin aksonlarıyla diğer sinir hücrelerine, kas hücrelerine veya salgı bezlerine iletilir. Uyarımların, sinir hücresinden başka hücrelere iletildikleri noktalara da **sinaps** denir.

5.1.3. Patoloji Laboratuvarında Güvenlik Tedbirleri ve Uyulması Gereken Kurallar

- ✓ Patoloji laboratuvarı güvenlik rehberine uyulmalıdır.
- ✓ İşin gereğine uygun kişisel koruyucu ekipman ve güvenlik ekipmanı kullanılmalıdır.
- ✓ Makine, cihaz, araç gereç, tehlikeli madde, taşıma aracı ve diğer laboratuvar malzemeleri talimatlara uygun ve doğru şekilde kullanılmalıdır.
- ✓ Üzerinde içerik bilgisi olmayan kimyasal maddeler uygun yollar ile imha edilmelidir.
- ✓ Çalışma sırasında ortaya çıkan her türlü kaza ve hastalık, laboratuvar güvenliğini sağlamakla yükümlü personele bildirilmelidir.
- ✓ Çanta, palto, mont gibi malzemeler mümkün olduğunca laboratuvara getirilmemelidir; getirildiği takdirde laboratuvar sorumluları tarafından belirlenen yerlerde muhafaza edilmelidir.
- ✓ Uzun saçlar toplanmalı ya da topuz yapılmalıdır.
- ✓ Laboratuvarda giyilecek ayakkabıların burun kısmı açık olmamalıdır.
- ✓ Eldivensiz olarak numunelere dokunulmamalı, zoonoz hastalık şüphelerinde çift kat eldiven kullanılmalıdır.
- ✓ Laboratuvarda kesinlikle laboratuvar önlüğü ile çalışılmalı ve önlük; yanmayan kumaştan, uygun bedende ve uzunlukta olmalıdır.
- ✓ Laboratuvarda herhangi bir şey yenilip içilmemelidir.
- ✓ Laboratuvarda çalışırken eller, yüze kesinlikle sürülmemelidir.
- ✓ Laboratuvarda kullanılan her türlü eşya, alet veya cihaz, yöntemine uygun biçimde temizlenmelidir.
- ✓ Laboratuvarda kesinlikle sigara içilmemelidir.
- ✓ Laboratuvarın faaliyet gösterdiği konulara göre ortaya çıkan atıklar, yöntemine uygun bir şekilde toplanmalı, daha sonra görevliler tarafından uygun bir şekilde imha edilmelidir.
- ✓ Laboratuvarda oluşan katı atık maddelerden; tıbbi atık olanlar kırmızı renk poşetli atık kovaşına; evsel atık olanlar siyah renk poşetli atık kovaşına; kâğıt atık olanlar ise mavi renk poşetli atık kovaşına atılmalıdır.

- ✓ Çalışma yapılmayan zamanlarda laboratuvardaki; çeşmeler, gaz muslukları ve elektrik düğmeleri kesinlikle kapalı tutulmalıdır.
- ✓ Laboratuvarda çalışırken dikkat ve itina ön planda tutulmalıdır.
- ✓ Laboratuvarda başkalarının da çalıştığı düşünülerek gürültü yapılmamalıdır.
- ✓ Laboratuvar sorumlularının izni olmadan hiçbir madde ve malzeme laboratuvarından dışarı çıkarılmamalıdır.
- ✓ Laboratuvarda kullanılan katı hâldeki maddeler, şişelerden daima temiz bir spatül veya kaşıkla alınmalıdır. Aynı kaşık başka bir madde içine asla sokulmamalıdır. Olası bir kontaminasyonun önlenmesi için, şişe kapakları hiçbir zaman alt tarafları masa üzerine gelecek şekilde konulmamalıdır.
- ✓ Kapaklı ve tıpa ile kapatılmış kaplardaki maddeler kesinlikle ısıtılmamalı; üzerinde ateşe dayanıklı işareti taşımayan kaplarda ısıtma ve kaynatma asla yapılmamalıdır.
- ✓ Makroskopi laboratuvarından çalışma bittikten hemen sonra çıkılmalı; fazla doz ksilol ve formalin solunmasından kaçınılmalıdır.
- ✓ Rutin laboratuvarında kesit işlemi yaparken bıçak değiştirme esnasında çok dikkatli olunmalı; cihaz kilidinin kapalı olup olmadığı kontrol edilmelidir.
- ✓ Rutin laboratuvarında boyama işlemi yaparken kullanılan kit, boya ve kimyasallarla yüzeysel temas ve solunumdan kaçınılmalıdır.
- ✓ Tüm laboratuvarların düzenli aralıklarla havalandırılmasına özen gösterilmelidir.
- ✓ Laboratuvarlardaki tüm cihazların bakım onarım ve kalite kontrol çalışmaları düzenli olarak yapılmalı; kit, boya, solüsyon ve kimyasal eksikleri belli aralıklarla tamamlanmalıdır.
- ✓ Laboratuvar çalışanlarının tümü çalışmaları süresince hijyen ve temizlik kurallarına uymalıdır.

▼ Tespit (Fikzasyon)

Tespit, doku numunelerinin bozulmasını (otoliz) önlemek ve canlı organizmadaki hâline en yakın şekliyle kalmasını sağlamak amacıyla yapılan koruma işlemidir.

Doğru bir histopatolojik değerlendirme için dikkatli ve iyi bir tespit işleminin yapılması önemlidir. Fikzasyon işlemi fiziksel veya kimyasal olarak yapılabilir. Fiziksel olarak; kaynatma, kurutma ve dondurma yöntemleri kullanılmaktadır. Yıkıcı etkisi olması nedeniyle günümüzde kaynatma ile tespit pek kullanılmamaktadır. Kurutma ile tespit, kan ve kemik iliği yaymaları için kullanılır.

Dondurma ile tespit; çözünür maddelerin (lipid, enzim) kaybını, hücresel yapıların yer değiştirmesini, kimyasal değişiklikleri, protein yıkımlanmasını en aza indirir. Diğer taraftan dondurma ile tespit, hücresel yapıların histolojik değerlendirmesi çok düzgün olmamakla birlikte hızlı tanıda kullanılır.

Kimyasal tespit ise en çok kullanılan metottur. Bu yöntemle alınan örnekler doğrudan tespit solüsyonu içine konulur.

Kimyasal tespit solüsyonları (Görsel 5.5) şunlardır:

- Aldehitler (formaldehit, glutaraldehit, glioksal)
- Okside ediciler (osmium tetroksit, potasyum permanganat, potasyum dikromat)
- Protein yıkımlayanlar ve pıhtılaştırıcılar (asetik asit, metil alkol, etil alkol)
- Diğer çapraz bağ oluşturanlar (karbodiimidler)
- Diğer (civa klorid, pikrik asit, aldehit içermeyenler)



Görsel 5.5: Bazı tespit solüsyonları

▼ En çok kullanılan tespit solüsyonları (Fikzatifler)

Histolojik teknikler içinde tespit aşaması en çok zaman alan kısımdır. Bu nedenle kullanılan maddeler çok farklıdır. Bunlar; aseton, etil alkol, asetik asit gibi ya tek başlarına ya da bir kaçı birlikte olmak üzere hazırlanan tespit solüsyonlarının içine katılır.

▶ Aseton

Hızlı tanı için kullanılır. Suyu çeker, hücreyi büzer. Daha çok diğer tespit solüsyonlarının bileşimine katılır.

▶ Etil Alkol (Etenol)

Etkisini, aseton gibi hücredeki suyu çekerek gösterir. Proteinlerin yapısını bozmaz. Özellikle karbonhidratlar için uygundur. Lipidler üzerine eritici etkisi vardır. Saf olarak kullanıldığında numuneler en fazla 5 mm kalınlığında olmalıdır.

► Asetik Asit

Ender kullanılır ve iyi sonuç vermez. Diğer tespit solüsyonlarıyla birlikte kullanılır.

► Formalin

Tek başına kullanılabildiği gibi diğer tespit solüsyonlarının içine katılır. Bir kısım stok formalin (%37-40) 9 kısım su ile karıştırılır. Genel amaçlar için en çok kullanılan tespit solüsyonudur. Tespit süresi oda sıcaklığında numunenin yapı ve boyutuna göre değişmekle birlikte 24 saattir.

Birkaç kimyasal içeren ve çok kullanılan tespit solüsyonları şunlardır: Nötral Buffer Formalin (%37-40 formaldehit 100 ml + distile su 900 ml + sodyum dihidrojen fosfat monohidrat 4 g + disodyum hidrojen fosfat anhidroz 6,5 g) ideal ve en çok kullanılan bir tespit solüsyonudur.

▼ Sitopatolojide Tespit

Hazırlanan yayma ve tuşe preparatlarda tespit ıslak ya da kuru olabilir. Islak tespit için hazırlanan preparat, çoğunlukla içinde %96'lık etil alkol bulunan doku kaplarında (Görsel 5.6) 10 dakika bırakılarak yapılır. Bu tür tespitte antijenik yapılar iyi korunur. Ayrıca metanol ve aseton da tespitte kullanılabilir. Kuru tespitte hazırlanan preparat havada bırakılır ya da elle sallayarak veya fön makinası kullanarak sıcak hava ile tespit hızlandırılır. Kuru tespitte dikkat edilmesi gereken nokta, hazırlanan preparatın her tarafının aynı kalınlıkta olmasıdır. Eğer preparat aynı kalınlıkta olmazsa kalın taraf kolay kurumayacak; kolay kuruyan ince tarafta ise yapılarda artefaktlar oluşacaktır.



Görsel 5.6: Doku saklama kapları

Tespitte uygun koşullar çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler şunlardır:

- | | |
|--|---|
| ► Tespit Solüsyonunun Amaca Göre Seçimi | Bütün dokular ya da hücreler için ideal bir tespit solüsyonu hemen hemen yoktur. Doku ve hücrelerin yapılarına en ideal şekilde tespitin, birinci derecede osmium tetroksitle; ikinci derecede de ise formalinle olduğu bilinmelidir. Bu iki tespit solüsyonu, proteinlerin yapısını değiştirmeden çok az bir çökelmeye sebep olması bakımından iyi bir koruyucu nitelik taşıdığını göstermektedir. |
| ► Tespit Solüsyonunun Miktarı | Tespit solüsyonu ile bu solüsyon içine atılacak doku örneklerinin oranı çok önemlidir. Bir tespit solüsyonu içine çok fazla hacimde numune bırakılırsa solüsyon içindeki kimyasallar yeterli derecede ve ideal bir doku tespiti gerçekleşmez. 1:15-1:25 oranı ile de uygun sonuç alınabileceği bilinmelidir. Osmium tetroksitin %1 ve %2'lik solüsyonu için oran 1:5'tir. |
| ► Tespit Solüsyonunun pH'ı | Çoğunlukla hücre çekirdeği ve sitoplazması birbirine karşı zıt pH'a sahip olduğundan tespit işlemini pozitif yönde etkiler. pH alkali olduğunda sitoplazma çekirdeğe göre; asit olduğunda çekirdek sitoplazmaya göre daha iyi korunur. |
| ► Tespit Süresi | Tespit solüsyonu içinde doku örneklerinin bulundurulma süresini etkileyen çeşitli faktörler vardır. Bunlar: |
- **Örneğin Büyüklüğü:** Uygun büyüklükte alınan örnekler her yönden tespit solüsyonuna maruz kaldığı için tespit solüsyonu doku numunesinin en iç kısımlarına kadar otoliz oluşmadan ulaşabilir.
 - **Tespit Solüsyonunun Derine İnme (Difüzyon) Gücü:** Tespit solüsyonlarının difüzyon yetenekleri farklıdır. Osmik ve pikrik asitler, çok sınırlı yayılma gösterir. Buna karşın asetik asit, trikloroasetik asit ve formalin oldukça hızlı bir biçimde doku derinliğine ulaşır. Örneğin karaciğer örneklerinde %1'lik osmium tetroksit 4 saatte 0,5-1 mm derinliğe etkilerken %10'luk formalin solüsyonu aynı sürede 4-5 mm derinliğe kadar ulaşır. Tespit solüsyonunun difüzyon gücü sadece solüsyonla değil tespit edilen organ ve doku numunesinin fonksiyonel ve yapısal özelliği ile de ilişkilidir. Örneğin bağ doku yapıları tespit solüsyonunun etkisinin derinlere inmesini engeller.
 - **Ortamın Isısı:** Ortam ısısı düşük olduğunda tespit süresi uzar. Bu sürenin uzaması düşük ısıda difüzyon gücünün zayıflamasına bağlıdır. Çoğunlukla oda sıcaklığında (20-25 °C) çalışılırken histokimyasal amaçlı çalışmalarda ortam sıcaklığı için 0-4 °C derece aralığı seçilir.
 - **Amaç:** Sürenin belirlenmesinde amaç önemlidir. Hızlı tanı için numuneyi aseptonda olabildiğince kısa süre tutmak söz konusu iken örneğin sinir dokusunu nötral buffer formalinde uzun süre bulundurmak daha etkili sonuç verir.

- **Doku Örneğinin (Görsel 5.7) Yapısı:** Embriyonal dokular ve yumuşak dokular daha hızlı tespit edilirken organ kapsülleri veya sert dokular yavaş tespit edilir. Tespit süresi uzun olduğunda ise doku örnekleri parçalanır ve kötü boyanır. Doku örneklerinin uzun süre saklanmaları gerektiğinde formalin, ideal tespit solüsyonudur.



Görsel 5.7: Doku örnekleri

▼ Tespit Uygulama Teknikleri

Tespit işleminde immersiyon (daldırma) ve perfüzyon (damara sıvı enjeksiyonu) olmak üzere iki farklı yöntem kullanılır.

► İmmersiyon (Daldırma)

Geniş çaplı ve ağzı iyi kapanan kaplar içinde tespit işleminin yapılmasıdır. Tespit edilecek organ ve doku numunelerinin tüm yüzeylerinin solüsyonla doğrudan teması olmalıdır. Bu amaçla tespit kabının tabanına numunenin tabana yapışmasını engelleyecek filtre kâğıdı, pamuk gibi malzemeler konulmalıdır. Ayrıca tespit süresince belirli aralıklarla kapların hafif bir şekilde çalkalanması ya da karıştırılması tespit işleminin daha iyi olmasını sağlar.

► Perfüzyon (Damara Sıvı Enjeksiyonu)

Deneyisel çalışmalarda, anestezi altında hayvanın kanı boşaltılıp hangi organdan numune gerekli ise o organın arter sisteminden, vücut ısısında düşük basınç altında izotonik solüsyon verilerek damar sistemi yıkanır. Daha sonra tespit solüsyonu aynı arter yolu ile verilip organ çıkarılır ve tespit solüsyonuna konulur.

5.1. UYGULAMA

İMMERSİYON (DALDIRMA) YÖNTEMİ İLE TESPİT İŞLEMİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında immersiyon (daldırma) yöntemi ile tespit uygulaması yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak daldırma yöntemi ile tespit işlemi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 1'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

Kullanılan araç gereç Görsel 5.8'de gösterilmiştir.



Görsel 5.8: Tespit işleminde kullanılan araç gereç

🩺 Kullanılacak Araç Gereç

- Geniş ağızlı kap
- Doku örneği
- Tespit solüsyonu

📋 İşlem Basamakları

1. İşlem öncesi hazırlıkları yapınız.

İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

Gelen örneğin inceleme için yeterli olup olmadığını kontrol ediniz.

Analiz araç gerecini hazırlayınız.

Tespit solüsyonunun seçimini yapınız ve hazırlayınız.

Dokunun özelliğine uygun solüsyon seçiniz. Tespitte kullanılacak kimyasalın taze olmasına dikkat ediniz.

2. Doku numunesini mümkün olduğunca ince ve küçük boyutlarda hazırlayınız.

Doku parçacıkları ne kadar ince olursa solüsyonun dokuya nüfuz etmesi o kadar kolay olur, unutmayınız.

3. Doku parçacığının yaklaşık 10 katı kadar solüsyonu kap içine koyunuz.

Kap içine önce doku konursa kaba yapışır ve yapışma yerinden solüsyon işlemez. Bu nedenle kabın içine önce solüsyon koyunuz.

4. Doku parçacığını kap içine daldırınız.

İçi boş organları tespit solüsyonu ile doldurulduktan sonra kaba koyunuz. Böylelikle solüsyon dokuya daha iyi işler ve iç yüzeyinin de bütünlüğü bozulmamış olur.

5. Tespit solüsyonunun dokuya işlemesi için bekleyiniz

Genellikle doku 24 saatten fazla solüsyon içinde bekletilmemelidir. Kullanılan solüsyonun dokulara işleme hızını öğreniniz ve ona göre bekleyiniz. Örneğin;

5 mm kalınlığındaki doku alkol içinde 2-4 saat,

5 mm kalınlığındaki doku aseton içinde 2 saat,

5 mm kalınlığındaki doku formalin içinde +4 °C'de 5 saat bekletilmelidir.

Değerlendirme Ölçeği 1: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,83 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Tespit solüsyonunun seçimini yaptı ve hazırladı.				
3. Doku numunesini mümkün olduğunca ince ve küçük parçalar hâlinde hazırladı.				
4. Doku parçacığının yaklaşık 10 katı kadar solüsyonu kap içine koydu.				
5. Doku parçacığını kap içine daldırdı.				
6. Tespit solüsyonunun dokuya işlemesi için yeterli süre bekledi.				
TOPLAM PUAN				



5.2. KEMİKLERİN DEKALSİFİKASYONU

Kıkırdak ve kemik gibi sert dokuların tespit işlemleri, yumuşak dokularda kullanılan yöntemlerden daha farklı uygulamalar gerektirir. İlk olarak bu sert dokulardaki kalsiyumun uzaklaştırılarak dokunun yumuşatılması gerekir. Bu işleme **dekalsifikasyon (kalsiyum uzaklaştırma, kalsiyumsuzlaştırma)** adı verilir.

Patoloji laboratuvarına gelen kemik dokuları, mikrotomda kesit alınamayacak derecede serttir. Bu dokuların, mikrotomda kesit yapılacak duruma getirilmeleri gerekir. Bu amaçla büyük kemikler, kemik testeresi (Görsel 5.9) ile küçük parçalara ayrılır ve bu parçalar asitler içinde bekletilerek dokudaki kalsiyum uzaklaştırılır ve doku kesit için uygun hâle getirilir (yumuşatılır).



Görsel 5.9: Kemik kesme testeresi

5.2.1. Dekalsifikasyon Metotları

Uygun büyüklüğe getirilen kemik veya kıkırdak doku laboratuvardaki genel tespit solüsyonları ile tespit yapıldıktan sonra amaca yönelik olarak farklı dekalsifikasyon solüsyonlarına aktarılır. Dekalsifikasyon yapılacak solüsyonun seçimi; işlemin sonucunun hızlı istenip istenmediği, kapsadığı kalsiyum düzeyi ve istenen boyanma özelliği dikkate alınarak yapılır.

Hayvanın; türü (köpek, tavuk), yaşı (genç, ergin) gibi değişkenler dekalsifikasyon solüsyonunun seçilmesinde etkilidir. Dokuların boyanma özellikleri, kullanılan dekalsifikasyon solüsyonlarının içerdiği asite ve dekalsifikasyonun hızlı ya da yavaş oluşuna göre değişmektedir.

Dekalsifikasyon esnasında karıştırıcı kullanılması kalsifikasyon süresini azalttığı gibi solüsyonun her yöne eşit olarak dağılmasını da sağlar. Eğer karıştırıcı yoksa mümkün olan kısa aralıklarla solüsyon değiştirilmelidir. Dekalsifikasyonun durdurulması için dokunun kontrolü; dokunun esnekliğine bakılarak ya da dokuya toplu iğne batırılarak yapılır. İğne kolaylıkla dokuya batıyorsa dekalsifikasyon gerçekleşmiştir. Şartlar elverişli ise röntgen çekilerek kontrol yapılabilir.

Dekalsifikasyon solüsyonu içinde numunenin uzun süre kalması boyanma özelliklerini etkilediği için kontrollü şekilde yapılan dekalsifikasyon işlemi hızla sonlandırılmalıdır. Sonlandırma ise %5'lik sodyum sülfatta 2-3 saat süreyle tutularak yapılır. Daha sonra dokular suda yıkanarak normal işleme geçilir.

▼ Güçlü İnorganik Asitler (Hidroklorik Asit, Nitrik Asit)

%5 ve %10'luk yoğunlukta önerilen basit sulu solüsyonları kullanılır. Hızlı dekalsifikasyon oluşturlarsa doku şişkinliğine ve 24-48 saatten uzun süre solüsyonda kalırlarsa dokuda ciddi yıkıma neden olur. Zayıf ve kötü histolojik boyanmaya sebep olur. Histokimyasal ve immunolojik boyamalar için uygun değildir.

Dekalsifikasyon solüsyonları etkilerini iki yolla gerçekleştirirler. Birincisi, çözülebilir kalsiyum tuzları oluşturan asitlerle; ikincisi ise özellikle kalsiyum ve magnezyum iyonlarını bağlayan kimyasallar ile (etilendiamintetraasetik asit=EDTA) yapılır.

- | | |
|-------------------------------------|---|
| ▶ Nitrik Asit I Metodu | %5 ve % 10'luk yoğunlukta önerilen basit sulu solüsyonları kullanılır. Hızlı dekalsifikasyon oluşturlarsa doku şişkinliğine ve 24-48 saatten uzun süre solüsyonda kalırlarsa dokuda ciddi yıkıma neden olur. Histokimyasal ve immunolojik boyamalar için uygun değildir.

Sulu nitrik asit %5-10 (Clayden 1952); (nitrik asit 5-10 ml + distile su = toplam 100 ml) |
| ▶ Nitrik Asit II Metodu | Aynı zamanda fiksasyon da yaptığı için dokuyu daha iyi korur.

Perenyi'nin solüsyonu (Perenyl 1882); (%10 nitrik asit 40 ml + saf etil alkol 30 ml + %0,5 kromik asit 30 ml) en sık kullanılanlarıdır. |
| ▶ Formik Asit-Sodyum Sitrata Metodu | Formik asit en sık kullanılanıdır. Asetik ve pikrik asitler doku şişmesine neden olur. Hızlı ve küçük kireçlenmeler için uygundur. Sulu formik asit (%90 stok formik asit 5-10 ml+distile su = toplamı 100 ml)-Buffer formik asit (Evans&Krajian 1930); (%20 sulu sodyum sitrat 65 ml + %90 stok formik asit 35 ml) en bilinen dekalsifikasyon solüsyonlarıdır. |
| ▶ Versenate (EDTA) Metodu | Yavaş işlem hızına sahiptir. Zaman uygun ise mükemmel bir dekalsifikasyon solüsyonudur. Doku yıkımı ve boyanma üzerine olumsuz etkisi yoktur.

Formalin EDTA (Hilleman & Lee 1953); (EDTA disodyum tuzu 5,5 g + distile su 90ml + %35-40 stok formaldehit 10 ml) en bilinenidir. |

▼ Kimyasal Metot

- Materyal tespit edilir. Tespitsiz materyal, dekalsifikasyon asitine alınmaz.
- Tespit işleminden sonra belirlenen uygun solüsyon (solüsyonlar %10'luk nitrik asit veya %10'luk Formik asit) içine alınır.
- Dekalsifikasyon sıvısı, dokudan 50-100 kat fazla hacimde olmalıdır.
- Dekalsifikasyon solüsyonu, doku yumuşayınca kadar günlük değiştirilir.
- Kap belirli aralıklarla karıştırılır.
- Bistüri ucu ile dokunun kontrolü yapılır. Dekalsifikasyon işlemi, doku bistüri ile kesilecek kıvama gelinceye kadar sürdürülür.
- Yumuşamış kemik dokusundan örnekler alınarak doku takip kasetine yerleştirilir ve doku takibe alınır. Kalan doku, tekrar formaldehit içinde saklanır.

5.2. UYGULAMA

KEMİKLERDE DEKALSİFİKASYON İŞLEMİ YAPMA

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında kemiklerde dekalsifikasyon işlemi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak dekalsifikasyon işlemi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 2'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Kemik testeresi
- Dekalsifikasyon solüsyonları
- Kap
- Kemik

📋 İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız
2. Kemikleri küçük parçalar hâlinde kesiniz.
Dekalsifikasyon ön hazırlıklarını yapınız.
3. Dekalsifikasyon solüsyonlarını hazırlayınız.
Solüsyonu tartım kurallarına ve yüzde oranlarına göre hazırlayınız.
4. Kemik parçalarını dekalsifikasyon solüsyonu içine koyarak 24 saat bekletiniz.
Doku materyalinin dekalsifikasyon solüsyonu içinde yeterli süre kalmasına dikkat ediniz.
5. Dekalsifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol ediniz.
Uygun kontrolleri yapınız.
6. Dekalsifikasyon tamamlanmadıysa solüsyonu yenileyerek tekrar bekletiniz.
Dekalsifikasyon tamamlanmamışsa uygulamayı tekrar ediniz.
7. Dekalsifikasyon gerçekleşinceye kadar 4 ve 5. basamakları tekrarlayınız. Tıbbi atık kurallarına riayet ediniz.
Dekalsifikasyonun gerçekleşmesi için gerekli özeni gösteriniz.

Değerlendirme Ölçeği 2: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Kemikleri küçük parçalar hâlinde kesti.				
3. Dekalsifikasyon solüsyonlarını hazırladı.				
4. Kemik parçalarını, dekalsifikasyon solüsyonu içine koyarak 24 saat bekletti.				
5. Dekalsifikasyon tamamlandıktan sonra solüsyonu yenileyerek tekrar bekletti.				
TOPLAM PUAN				



ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A) Aşağıda verilmiş olan cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise (D), yanlış ise (Y) yazınız.

1. () Hücrenin yapısında; proteinler, lipidler, karbonhidratlar, enzimler, vitaminler, hormonlar ve pigmentler gibi organik maddeler vardır.
2. () Epitel doku, embriyonik hayatın gelişimi sırasında ektoderm ve mezoderm tabakasından köken alır
3. () Tespit, doku numunelerinin bozulmasını (otoliz) önlemek ve canlı organizmadaki hâline en yakın şekliyle kalmasını sağlamak amacıyla yapılan koruma işlemidir.
4. () Dekalsifikasyonda %10 ve %20'lik yoğunlukta basit sulu nitrik asit solüsyonları kullanılır.

B) Aşağıda verilen cümlelerde boş bırakılan yerleri doğru ifadeyle tamamlayınız.

5. Tespit işlemi fiziksel veya olarak yapılabilir.
6. Tespit edilecek doku numunesi mümkün olduğunca şekilde hazırlanır.
7. Doku parçacığının yaklaşık kadar tespit solüsyonu tespit işleminin yapılacağı kap içine konur.
8. Dekalsifikasyon solüsyonu doku kadar günlük değiştirilir.

C) Aşağıda verilen çoktan seçmeli sorularda doğru seçeneği işaretleyiniz.

9. Aşağıdakilerden hangisi, en sık kullanılan ideal tespit solüsyonudur?
 - A) Nötral buffer formalin (%10)
 - B) Formalin (%37-40)
 - C) Bouin solüsyonu
 - D) Formik Asit
 - E) Zenker solüsyonu
10. Aşağıdakilerden seçeneklerden hangisi destek dokusu değildir?
 - A) Bağ doku
 - B) Sinir doku
 - C) Kıkırdak doku
 - D) Kemik doku
 - E) Kan dokusu
11. Aşağıdakilerden hangisi dekalsifikasyon metotlarından biri değildir?
 - A) Versenate (EDTA) metodu
 - B) Nitrik asit I metodu
 - C) HCL metodu
 - D) Formik asit-sodyum sitrat metodu
 - E) Nitrik asit II metodu
12. Aşağıdaki seçeneklerin hangisi dekal-sifikasyon sıvısının doku miktarına oranını göstermektedir?
 - A) 5-10 kat fazla
 - B) 20-25 kat fazla
 - C) 30-60 kat fazla
 - D) 50-100 kat fazla
 - E) 100-150 kat fazla

DOKU PREPARATI

ÖĞRENME BİRİMİ

https://www.eba.gov.tr/c?q=U55085_24ed04f3

KONULAR

- 6.1. DOKU NUMUNELERİNİN TAKİBİ
- 6.2. DOKULARI PARAFİNE GÖMME
- 6.3. DOKULARDAN KESİT ALMA
- 6.4. DOKU PREPARATINI BOYAMA



Neler Öğreneceksiniz

- ▶ Tekniğine uygun doku numunelerinin takip işlemini yapma
- ▶ Dokuları özel kalıplar içerisinde parafine gömme
- ▶ Doku örneğinden mikrotomla istenilen kalınlıkta kesit alma
- ▶ Doku kesitinden parafini uzaklaştırdıktan sonra istenilen boyama tekniğine uygun preparat hazırlama



Temel Kavramlar

doku takibi, bloklama, preparat, numune, mikrotom, saydamlaştırma, dehidrasyon, infiltrasyon, çözelti, otomatik cihaz, gömme, base mould, parafin, kaset, kesit alma, etüv, deparafinizasyon, boyama, kapama.



Hazırlık Çalışmaları

1. Bulunduğunuz yerde histoloji/patoloji laboratuvarları varsa oraya giderek doku takip işlemlerini gözlemleyiniz.
2. Patoloji laboratuvarında kullanılan kimyasal maddelerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini araştırınız.
3. Doku bloklamasında kullanılan maddeleri araştırınız.
4. Bulunduğunuz yerde patoloji laboratuvarları varsa oraya giderek parafin bloklardan mikrotomla kesit alma işlemini gözlemleyiniz.
5. Kesitlerden elde edilen preparatların boyama tekniklerini inceleyiniz.

6.1. DOKU NUMUNELERİNİN TAKİBİ

Histolojik çalışmalar, genel olarak çeşitli organlardan doku kesitleri alınarak bu örneklerin histo-patolojik yönden değerlendirilmesini kapsamaktadır. Doku numuneleri, mikroskopik incelemeye hazır hâle getirilmesi tespit olmuş numuneden trimleme ile başlayan ve gömme ile sona eren işlemler dizisine tabi tutulur. Fikse olmuş (tespit edilmiş) dokunun dehidrasyon, saydamlaştırma ve infiltrasyon işlemleriyle blok aşamasına hazır hâle getirilmesine **doku takibi** denir.

6.1.1. Dokuların Alınması



Görsel 6.1: Örnek alma işlemi

Mikroskopik incelemeler için numune alma işleminin canlı ölümden veya otopsi işlemlerinden hemen sonra mümkün olan en kısa sürede yapılması gerekir. Laboratuvara nakledilen büyük doku veya organ parçalarının çok keskin bir bisturi ile tespit işlemlerine uygun parçalara ayrılması gerekir (Görsel 6.1). Bisturinin keskin olmaması elde edilecek doku parçalarında ezilme ve büzülmelere; buna bağlı olarak da yapısal değişikliklere neden olabilir. Doku parçaları ne kadar küçük/ince olursa tespit solüsyonunun nüfuz etme özelliği o kadar fazla olur. Elde edilecek dokunun kalınlığı ortalama 5 mm olmalıdır.

Tespit işleminden sonra, tespit sırasında kullanılan kimyasalların tortu ve çökeltilerini uzaklaştırmak amacıyla tespit olmuş dokular yıkanır. Yıkama işlemi doku türü ve tespit solüsyonu çeşidine göre değişiklik gösterir. Küçük parçalar hâlinde kesilen dokular yıkama kasetlerine konarak bir küvete yerleştirilir (Görsel 6.2) ve en az 3-4 saat orta şiddette akarsu ile yıkanır.



Görsel 6.2: Dokuların yıkama kasetlerine konması

6.1.2. Doku Takibinde Kullanılan Çözeltiler Serileri

Doku takibinde kullanılan kimyasal serileri üç gruba ayrılır. Bu gruplar şunlardır:

- Alkol serileri
- Ksilol serileri
- Parafin serileri

Fikse olmuş dokuların mikrotomda 3-6 μ (ortalama 5 μ) kalınlığında kesitler yapılacak sertliğe (dirence) getirilmesi gerekir. Dokulara bu sertlik genellikle parafin infiltre edilerek sağlanır. Fikse dokular direkt parafinle infiltre olmaz çünkü parafin suda erimeyen bir maddedir.

Fikse edilmiş dokunun parafinden infiltre hâle getirilmesi için yapılması gereken işlemler şunlardır:

- Dehidrasyon (doku suyunun uzaklaştırılması)
- Saydamlaştırma (clearing)
- Sertleştirme (infiltrasyon)

► Dehidrasyon

Tespitten çıkarılan dokular genellikle yıkanır (Görsel 6.3). Yıkama işleminden sonra doku örnekleri fazla miktarda su içerir. Bu sebeple örneklerdeki suyun uzaklaştırılması gerekir. Bu amaçla yapılan işleme dehidrasyon (dehidratasyon) denir. Dehidrasyonda genellikle alkol ve aseton kullanılır. Ardından %30-50'lik etil alkolle başlayarak %60-70-80-96-100'lük etil alkolden birer saat geçirilir. Böylelikle dokular büzülmeden sudan kurtarılır. Dehidrasyonda etil alkol, metanol, aseton gibi maddeler kullanılır. Dehidrasyon sonunda doku ve hücrelerde su kalmaması gerekir. Dehidrasyon süresi örneğin büyüklüğüne ve alındığı organa göre değişiklik gösterir. Örnekler, düşük dereceli alkollerde daha uzun süre, bırakılabilir. Ancak sertleşmemesi için örnekleri yüksek dereceli alkollerde göreceli daha az tutmalıdır.

► Saydamlaştırma

Saydamlaştırma (clearing), dokudaki dehidrasyon maddesini uzaklaştırma işlemidir. Saydamlaştırıcı madde, dokudaki alkolle yer değiştirir. Böylece alkol ve sudan yoksun hâle gelen doku, parafinin nüfuz etmesine elverişli hâle gelir. Saydamlaştırmada kullanılan maddeler; ksilol, toluen, benzen, kloroform, limonendir. Saydamlaştırma işleminde genellikle göreceli olarak daha az uçucu olan ksilol kullanılır.

► Sertleştirme/Parafin Infiltrasyonu

Amaç, yarı sert ve kolayca kesilen materyalin ısıyla sıvı hâle getirildikten sonra dokulara nüfuz etmesini sağlamak (infiltrasyon) ve saydamlaştırıcı ajanı dokudan uzaklaştırmaktır. Saydam hâle gelmiş dokulara parafin, selloidin ya da plastik madde emdirilir. Bunların içinde en yaygın kullanılanı parafindir. Bu aşamada dokular 58-60 °C sıcaklıktaki parafin serileri içinde 4 saat bekletilir. Böylece dokulardaki ksilol yerine parafin geçirilir. Sonuçta dokular kesilebilir sertlikte ve saydam hâle gelir.



Görsel 6.3: Doku örneklerinin yıkanması

6.1.3. Doku Takip Yöntemleri

Doku takip işlemleri, manuel (el takibi) ya da ototeknikon (doku takip cihazı) ile otomatik olarak yapılır.

▼ Elle Doku Takibi

Doku, diffüze olan kimyasal bir sonraki basamakta yer alan solüsyon kabına taşır. Bunun sonucunda takip basamaklarındaki ilk kimyasallar, bir önceki basamakta kullanılan kimyasallarla fazla kirlenir. Bu nedenle doku takibinde kullanılan dehidratasyon (alkol), saydamlaştırma (ksilen) ve sertleştirme (parafin) solüsyonları en az iki kapta hazırlanır. Basamaklardaki son kimyasalların, küçük miktarda bile bulaşı olmayacak şekilde temiz olması gerekir. Dokular, solüsyonlar arası geçişlerinde iyi bir şekilde süzdürüldükten sonra bir sonraki solüsyona nakledilmelidir. Büyük dokular hacimleriyle orantılı olarak yapılarında daha fazla kimyasal bulundurur. Bu dokular nakledildiği yeni kimyasalları daha fazla kirletir. Küçük dokularda, basamaklarda iki ksilen iki parafin solüsyonu yeterli görülürken büyük doku takiplerinde bu solüsyon sayısı daha fazla olmalıdır.

Manuel doku takibinde işlem basakları şunlardır:

1. Kimyasal solüsyonlar hazırlanır.

- Dehidrasyon işlemi için %70'lik, %80'lik, %90'lık, %96'lık ve %100'lük alkol serileri hazırlanır. Hassas dokular için daha düşük konsantrasyonlu alkol hazırlanır (Görsel 6.4). Takip işleminde ısı uygulamasına karar verilmişse etüvde ısınmaya bırakılır.
- Saydamlaştırma işlemi için ksilen serileri hazırlanır. En az iki ksilen kabında planlanır, doku büyüklüğüne göre bu sayı daha fazla olmalıdır. Takip işleminde ısı uygulamasına karar verilmişse etüvde ısınmaya bırakılır.

2. Sertleştirme işlemi için kararlaştırılan miktar kadar katı parafin uygun bir kaba konarak etüvde erimesi için bırakılır.

- Parafin serileri için 3 kap hazırlanır. İlk ikisine %50 + %50 olacak şekilde ksilol + parafin konur. Üçüncü kaba saf parafin konarak kaplar 58-60 °C'ye ayarlanmış etüve yerleştirilir.



Görsel 6.4: Kimyasal solüsyonlar

- Parafin eriyince doku kasetleri birinci kaba konur; birer saat arayla ikinci kaba ve üçüncü kaba aktarılır. Üçüncü saatin sonunda, etüvden çıkarılan sıvı parafin içinde yer alan kasetlerdeki dokular bloklama işlemine hazırdır.

▼ Doku Takip Cihazı ile Doku Takibi

- ▶ **Yarı Kapalı Sistem Doku Takip Cihazları** Sepet içindeki dokuların kimyasal solüsyon kaplarına otomatik transferi ile yapılır (Görsel 6.5). Bu cihazlarda genellikle 9-10 kimyasal solüsyon kabı ile 2-3 parafin kabı bulunur. Cihaz, doku kasetlerini istenen sürelerde bu solüsyonlar içinde bekleterek takip işlemi gerçekleştirir. Bu takip sisteminde çalkalama hareketi dikey veya daireseldir. Bazı modellerinde parafin kaplarına istenirse vakum ünitesi eklenebilir.
- ▶ **Kapalı Sistem Otomatik Doku Takip Cihazları** Doku takibi, cihazın reaksiyon haznesinde gerçekleşir (Görsel 6.6). Doku kasetleri cihazın sepetine dizilerek bu hazneye yerleştirilir. Dokular bu haznede sabit kalır. Cihazın kimyasal saklama haznesinde 10-12 takip solüsyon kabı, 3-4 parafin kabı bulunmaktadır. Cihaz otomatik olarak kimyasal sıvıları reaksiyon haznesine transfer ederek doku takibini gerçekleştirir. Çalkalama hareketi gel git şeklindedir.



Görsel 6.5: Yarı kapalı sistem doku takip cihazı



Görsel 6.6: Kapalı sistem doku takip cihazı

6.1. UYGULAMA

DOKU TAKİP CİHAZINDA DOKU TAKİP UYGULAMASI

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında doku takip cihazında doku takip uygulaması yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak doku takip cihazında doku takibi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 1'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🔧 Kullanılacak Araç Gereç

- Doku takip cihazı
- Alkol, ksilen, parafin ve yıkama solüsyonları
- Doku sepetleri

📋 İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Cihazın kimyasal solüsyonlarını (alkol, ksilen, parafin, yıkama ve solüsyonları), seviyelerini ve alkol derecelerini kontrol ediniz. Eksik olan sıvıları tamamlama çizgilerine kadar tamamlayınız. Kirli kimyasalları yenileyerek cihaza yükleyiniz.



3. Cihaza flush programı uygulanıp uygulanmadığını kontrol ediniz. Cihaza flush işlemini her doku takibi bitiminde yapınız.

4. Doku sepetleri hazırlayınız.



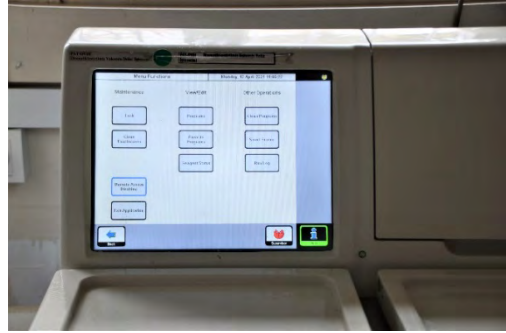
5. Reaksiyon haznesinin kapağını açınız.

6. Doku sepetlerinin reaksiyon haznesine yüklemesini yapınız.



7. Reaksiyon haznesinin kapağı kapatınız.
8. Monitörden fonksiyon butonlarıyla program girişi yapınız ve cihazı çalıştırınız.
9. Cihaz çalışmaya başladığında reaksiyon haznesini kontrol ediniz.
10. Doku takip süresi dolduğunda cihaz reaksiyon haznesinin kapağını açınız.
11. Doku kaset sepetlerini çıkararak bloklama bölümüne alınız.

12. Cihaza flush programını uygulayınız.



Değerlendirme Ölçeği 1: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,714 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Cihazın kimyasal solüsyonlarını hazırladı.				
3. Doku sepetlerini hazırladı.				
4. Doku sepetlerini reaksiyon haznesine yükledi.				
5. Monitörden fonksiyon butonlarıyla program girişi yaptı ve cihazı çalıştırdı.				
6. Doku takip süresi dolduktan sonra doku kaset sepetlerini çıkararak blokama bölümüne aldı.				
7. Cihaza flush programını uyguladı.				
TOPLAM PUAN				

6.2. DOKULARI PARAFİNE GÖMME

Dokuların parafine gömülmesi gömme ya da bloklama olarak adlandırılır. Dokuların, infiltrasyon ortamı ile kaplanmasıdır. Parafin, doku içine infiltre olduktan sonra blok yapılmaya başka bir deyişle parafin içine gömülmeye hazırdır. Bloklama işlemleri laboratuvar olanaklarına göre elle veya doku bloklama cihazında gerçekleştirilir.

6.2.1. Doku Gömme Maddeleri

Mumlar, epoksi reçineler, selloidin, histoplast, parafin vb. maddeler, doku bloklamasında kullanılan maddelerdir ancak doku bloklamasında en çok parafin kullanılır. Parafinler; kolay kullanılabilmesi, dokuya az zarar vermesi, kısa sürede bloklanabilmesi ve doku özel işlemlerinin yapılmasına olanak sağlaması nedeniyle tercih edilir. Mikrotomda doku kesiti sırasında performansı iyileştirmek için bloklamada kullanılan parafine; bal mumu, kauçuk, plastik vb. ticari maddeler katılabilir. Bu maddeler, donmuş parafin bloka şu özellikleri kazandırır:

- Bal mumu; sertlik ve kesit slaytlarının birbirine yapışkanlığını artırarak uzun kesit şeridi elde etme özelliğini artırır.
- Kauçuk; kırılabilirliği azaltır ve kolay seri kesit yapar.
- Plastikler; blokun sertliğini ve desteğini artırır. Parafinin özellikleri, erime noktasına göre değişir. Erime noktası arttıkça parafin sertleşmektedir. Bu durumda özellikle küçük dokularda seri kesit alınmasını zorlaştırmaktadır.

6.2.2. Dokuları Gömme Yöntemleri

Doku bloklama, dokuların infiltrasyon maddesi (parafin vb.) ile kaplanmasıdır. Parafin doku içine girdikten sonra blok yapılmaya başka bir deyişle parafin içine gömülmeye hazırdır. Parafin bloklama işlemleri, laboratuvar olanaklarına göre elle veya doku bloklama cihazında gerçekleştirilir.

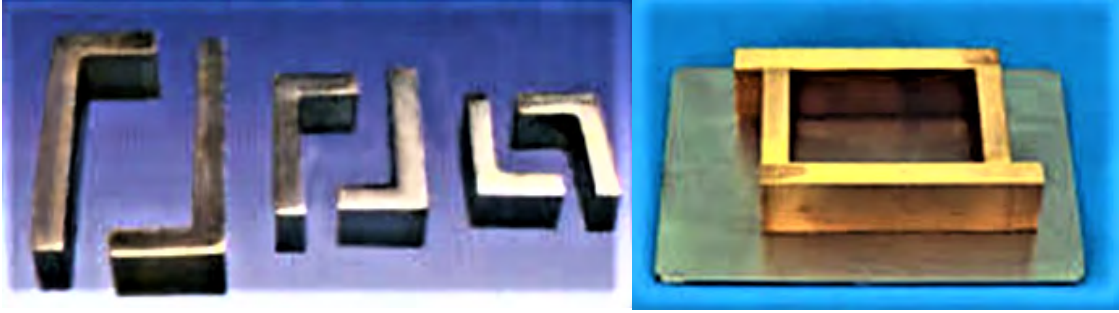


Görsel 6.7: Dispenser

▼ Elle (Manuel) Bloklama Uygulaması

56-58 °C'lerde sıvı, bunun altındaki sıcaklıklarda katı hâlde bulunan parafin, musluklu benmari özelliğindeki dispensere doldurulur (Görsel 6.7). Dispenserin sıcaklığı parafinin erime sıcaklığının biraz üzerine (örneğin 60 °C) ayarlanarak çalıştırılır ve erimesi beklenir.

Eskiden bloklama için kalıp olarak kullanılan L demirleri (Görsel 6.8) yerine günümüzde "base mould" adı verilen kalıplar kullanılmaktadır. Bunlar farklı şekil ve boyutlardadır. Metalden yapılmış olanların yanında plastikten yapılmış tek kullanımlık olanları da mevcuttur.



Görsel 6.8: Blok L demirleri

Etüvden alınan ve içinde doku kasetleri bulunan sıvı parafin kapları, donmayı engellemek için yaklaşık 60 °C'ye ayarlı sıcak plaka üzerine veya benmariye yerleştirilir. Dokular, kasetlerin kapakları açılarak sıvı parafinin içine boşaltılır.

Base mould, dispenserin musluğu altına yerleştirilir. Musluk açılarak yarıya kadar sıvı parafinle doldurulur. Bir pens yardımıyla benmarideki sıvı parafin kabında bulunan doku parçası alınarak yarıya kadar parafinle doldurulmuş base mouldun orta tabanına yerleştirilir (Görsel 6.9).



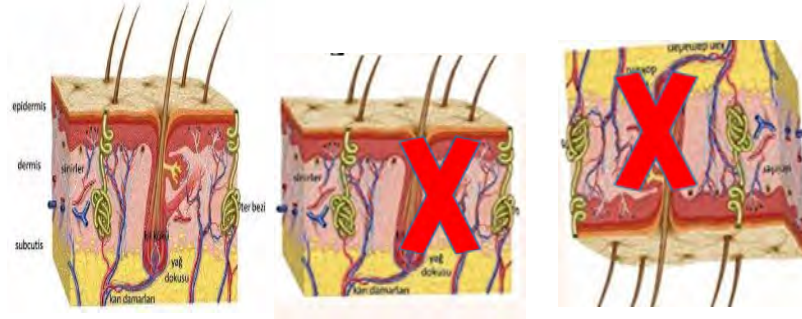
Görsel 6.9: Base mould

Bu yerleştirme esnasında dokunun gömme yüzeyine (mikrotomda kesit alınacak yüzey) karar verilir.

Genellikle büyük ve düz parçaların bloklanmasında pek sorun ile karşılaşılmazken küçük ve çok katmanlı dokuların gömülmesinde sorunlar oluşur.

Dokunun gömme yüzeyi şu özelliklerine göre kararlaştırılır:

- Tek katmanlı parçanın geniş kesit yüzeyi alta gelmelidir.
- Çok katmanlı dokular, tüm katmanları kesitte gözükecek şekilde (örneğin deri numunesinde epidermis ve deri altı dokusu kesitlerde gözükecek şekilde) yatay olarak konulmalıdır (Görsel 6.10).



Görsel 6.10: Dokunun base moulda konması

Aynı bloka gömülecek küçük biyopsi örnekleri blok ortasında birbirine yakın şekilde olmalıdır.

Çini mürekkebi ile işaretli yüzeyi altta olacak şekilde tüm dokular pensle blok boşluğu ortasına yerleştirilmelidir.

Tüp yapısındaki bir lümene sahip dokular dikey [iç boşluğu kesitte gözükecek şekilde (örneğin damar biyopsileri)] şekilde olmalıdır.

Dokulara pensle pozisyon verilir, doku pozisyonu bozulmayacak şekilde üzeri parafinle doldurulur.

Son olarak base mouldun üst kısmına blok tutucu olarak kapakları çıkarılmış kaset kapatılır. Doku numunesine ait bilgiler kurşun kalemle ya kapatılan kasete yazılır ya da bir etikete yazılarak parafin henüz katılaşmadan kasete yapıştırılır. Eğer soğutucu plaka yoksa bloklar hemen buzdolabının buzuğuna kaldırılarak katılaşana kadar bekletilmelidir.

▼ Doku Gömme Cihazı ile Parafine Gömme



Görsel 6.11: Doku bloklama cihazı

Doku bloklama cihazı (Görsel 6.11), bloklama için gerekli (sıcak parafin, bloklama alanı, blok soğutma alanı vb.) bileşenleri bünyesinde bulundurur ve doku gömme işleminin etkin şekilde yapılmasını sağlar.

6.2. UYGULAMA

DOKU GÖMME CİHAZINDA BLOKLAMA İŞLEMİ

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında doku gömme cihazında bloklama uygulaması yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak doku gömme cihazında bloklama işlemi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 2'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Doku gömme cihazı
- Parafin
- Base mould
- Pens
- Doku kasetleri

📋 İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Cihazı döküm işlemine hazırlayınız.

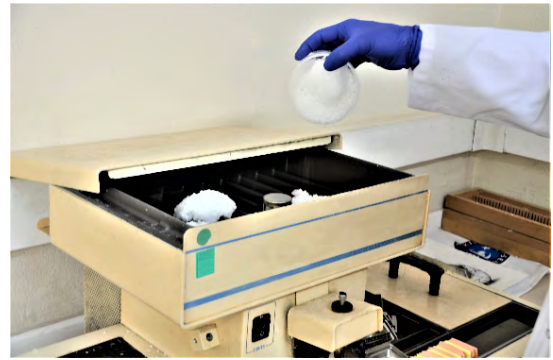
Cihazın genel temizliğini yapınız. Soğuk plaka, sıcak plaka vb. kısımlardaki parafin kalıntılarını temizleyiniz.

Cihazı çalıştırınız.

Doku tankı, sıcak plaka ve base mould bölümlerinin sıcaklıklarını ayarlayınız.

3. Parafin tankını parafinle doldurunuz.

Tank içindeki parafin seviyesinin kasetleri kapatacak düzeyde olmasına dikkat ediniz.



4. Çalışacağınız kasetleri doku depo tankı içine yerleştiriniz.

5. Doku depo tankından bir kasete bir doku taşıyınız.
Kaseti, doku depo tankı önündeki çalışma alanına getiriniz.
Blok tutucu olarak kaseti kullanacaksanız kasete blok numarası yazınız.

6. Bloklanacak dokuya uygun ebatlarda bir base mould seçiniz.
Base mouldu sıcak plaka üzerine koyunuz. Base mouldu belli bir seviyeye kadar parafinle doldurunuz.



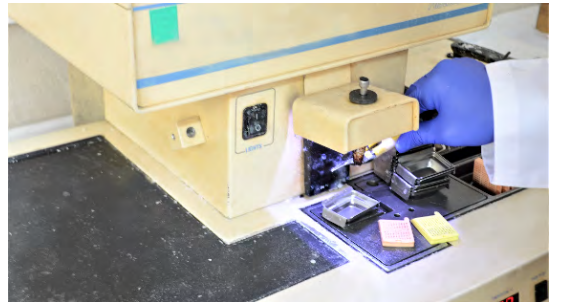
7. Pensle/forsepsle doku kasetinden doku örneği alınız.

8. Doku örneğinin gömme yüzeyine karar veriniz ve bu yüzey base mouldun tabanına bakacak şekilde yerleştiriniz.



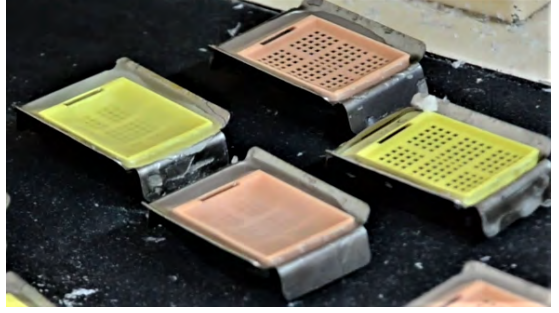
9. Base mouldu sıcak plakadan soğuk plakaya kaydırınız.
Parafinin taban kısmında biraz katılaşması için birkaç saniye bekletiniz.

10. Blok numarası ve kodu yazılmış kaseti base mould üstüne yerleştiriniz.
Base mouldu parafinle doldurunuz.



11. Base mouldu, hızlıca soğuması için soğuk plakasının arkasına kaydırınız.

Bu alanda blokların katılaşmasını bekleyiniz (Katılaşmış parafin bloklar base mouldtan ayrılır.).



Değerlendirme Ölçeği 2: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,625 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Cihazı döküm işlemine hazırladı.				
3. Parafin tankını parafinle doldurdu.				
4. Doku depo tankından bir kasete bir doku taşıdı.				
5. Bloklanacak dokuya uygun ebatlarda bir base mould seçti.				
6. Doku örneğini base moulda yerleştirdi.				
7. Base mouldu sıcak plakadan soğuk plakaya kaydırıldı.				
8. Blok numarası ve kodu yazılmış kaseti base mould üstüne yerleştirdi.				
TOPLAM PUAN				

6.3. DOKULARDAN KESİT ALMA

Işık mikroskopunda incelenecek preparatların hazırlanması için doku bloklarından 3-6 μ (ort. 5 μ) arası kalınlıkta doku kesitlerinin alınması gerekir. Bu amaçla, parafin bloklardan ince doku kesitlerinin alınmasını sağlayan mikrotom denilen cihaz kullanılır. Kesit işleminde mikrotomun yanında sıcak su banyosu, lam, parafin artıklarını temizleyecek yumuşak el fırçası, resim boyama fırçası, kurşun kalem vb. araç gerece ihtiyaç duyulur.

6.3.1. Mikrotom Çeşitleri ve Özellikleri

► Kızaklı Mikrotom	Sahip olduğu ray sistemi sayesinde bıçak tutucunun blok tutucu üzerinde ileri geri hareket ederek ince kesitler alınmasını sağlayan cihazlardır. Rotary mikrotomdan farklı olarak kızaklı mikrotomda, blok sabit; bıçak hareketlidir.
► Kriyostat (Dondurma Mikrotomu)	Acil cerrahi biyopsilerde ve özel boyama tekniklerinde kullanılır. Soğuk alan içine yerleştirilmiş bir çeşit rotary mikrotom yapısındadır. İnce ve seri kesit alınabilmesi ve otomatik sterilizasyon sistemi içermesi cihazın en büyük avantajlarıdır.
► Rotary Mikrotom	Bugün için birçok patoloji laboratuvarında kızaklı mikrotomun yerini almış durumdadır (Görsel 6.12). Bu mikrotomun avantajı ışık mikroskobu için parafin dokudan ince ve seri kesit (0,5-60 μ) alınabilmesidir. Rotary mikrotomda, blok hareketli; bıçak sabittir. Rotary mikrotomda doku örneği, geniş bir el çarkı yardımıyla blok tutucu olukta düşey düzlemde aşağı yukarı hareket eden çelik taşıyıcıya monte edilmiştir. Çarkın her dönüşünde blok, düşey hareketle (ayarlanan kesit kalınlığında) yatay yerleştirilmiş sabit bıçak üzerine ilerler ve bir kesit alınır.

6.3.2. Rotary Mikrotom ile Kesit Alma İşlemleri

Doku kesit alma işlemleri birbirini takip eden işlemlerdir. Mikrotomda bloklardan alınan kesitler; ışık geçirgenliğine sahip, saydam ve bir hücre katmanı kalınlığında olmalıdır. İdeal kesit kalınlığı 3-6 μ arasında (ort. 5 μ) olmalıdır [mikrometre (μ m) = 0.001mm = 0.000 001m (10⁻⁶ m)]. Doku kesit alma işlemleri şunlardır:

- Bloklar soğuk ortamdan buz kalıpları üzerine konularak kesit masasına getirilir.
- Cihazın tüm kilitleme kolları kapatılır. Bıçak yatağında ve civarında parafin veya diğer parçacıkların olmamasına dikkat edilerek disposable (tek kullanımlık) bıçak yerleştirilir. Bıçak, bıçak sıkma koluyla sıkıştırılır.



Görsel 6.12: Mikrotom cihazı

- Bloklar, mikrotomun blok tutucusuna yerleştirilir. Blok, blok tutucuda oynamayacak şekilde sıkıştırılır.
- Blok kaba besleme kolu çevrilerek mikrotom bıçağına yaklaştırılır.
- Bıçak açısı ayar yapılır. Blok ve bıçak arasındaki açı 5-10 derece arasında olmalıdır.
- Mikrotomun kesit ayar kolu yükseltilerek doku tıraşlaması yapılır. Doku tıraşlaması, dokunun tüm katmanları kesitte görülünceye ve en geniş yüzey elde edilinceye kadar yapılır. Tıraşlama işleminde mikrotom mikron ayarı 20-30 mikrona getirilerek zamandan kazanıldığı gibi bıçağın çabuk körelmesi de önlenir. Daha yüksek mikron ayarında tıraşlama yapılması parafin bloğun kırılmasına neden olur. Mikrotom bıçağında ve çevresinde tıraşlama sırasında oluşan kalıntılar gazlı bezle veya bir sulu boya fırçasıyla silinerek uzaklaştırılır.
- Kesit alınacak yüzeye karar verildiğinde kesit kalınlık kontrol düğmesi ile mikron ayarı yapılır.
- Kesit alma kolu seri hareketlerle çevrilir. 4-5 slayttan oluşan kesit şeridi elde edilinceye kadar kesite devam edilir. Oluşan kesit şeridinin uç kısmı, ıslatılmış ince uçlu fırça ya da pens yardımıyla bıçaktan kurtarılarak alınır. Oluşan kesit şeridinin serbest kısmı su banyosundaki 35-40 °C'deki suya değdirilir, el hızla hareket ettirilerek kesit su yüzeyine serilir. Bir süre beklenerek doku kıvrımlarının düzgün şekilde açılması sağlanır. Buna rağmen su yüzeyindeki kesitlerde kırışıklıklar varsa uygun bir sulu boya fırçası ile düzeltilmeye çalışılır.

6.3.3. Taze Dokulardan Dondurma Mikrotomu ile Kesit Alma

Cerrahi uygulamalar sırasında, deneysel çalışmalarda ötanazi uygulanmadan hemen önce veya agoni durumundaki hayvanlardan alınan doku örneklerinden kriostat adı verilen aletle dondurma kesiti alınır. Bu tip kesit alma; hızlı sonuç istenen olgularda, immunohistokimyasal çalışmalarda, enzim çalışmalarında ve özellikle rutin doku işlenmesi esnasında kaybolan lipid ile bazı karbonhidratların saptanmasında kullanılır. Kullanılan aletin içi -300 °C gibi çok düşük sıcaklıklarda olup devamlı soğuk ortam söz konusudur.

6.3.4. Dokuların Dondurulması

Kesit alınacak doku örneği aletin doku taşıyıcısı üzerine özel sıvı damlatılarak yapıştırılır ve bu amaç için ayrılmış bölümde (-50/-55 °C) bekletilerek doku örneği dondurulur. Bu şekilde doku örneği aynı zamanda tespit edildiğinden ayrıca bir histolojik işleme gerek kalmamaktadır. Aynı aletin içinde bir mikrotom da vardır ve mikrotomun kolu aletin dışındadır. Kesit alma işlemi diğer doku mikrotomlarında olduğu gibi elle veya otomatik de olabilir. Kesit kalınlığını ve alet içindeki bölümlerin farklı derecelerde soğutulmasını sağlayan sistemleri ve elektronik göstergeleri vardır. Dondurularak tespit edilen örneğin içindeki su donacak ve örnek, kesit almak için uygun sertliğe ulaşmış olacaktır.

6.3. UYGULAMA

KESİT ALMA İŞLEMİ

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında doku bloklarından kesit almaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak doku bloklarından kesit almanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 3'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikrotom cihazı
- Mikrotom bıçağı
- Sıcak su banyosu
- Blokların soğukta tutulmasını sağlayacak zemin
- Mikrotomdaki parafin artıklarını temizlemeye uygun el fırçası
- Resim boyama fırçası
- Kurşun kalem
- Lam konulması için uygun kap
- Lam

📋 İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Kesit alınacak blokların dış kısımlarındaki (eğer varsa) parafin kalıntılarını temizleyiniz.

Blokları soğuk zeminde bekleterek parafinin sertleşmesini sağlayınız. Soğuk zemin yok ise buzlukta 15-20 dakika bekletmeniz yeterlidir.



3. Parafin bloku mikrotom cihazına yerleştiriniz ve kesit kalınlığını 20-40 mikrona ayarlayarak tıraşlama işlemi yapınız.

4. Parafin blokun yüzeyini düz hâle getirdikten sonra keskin mikrotom bıçağı ile 4-6 mikron aralıklarındaki kalınlıklarda kesit alınız.



5. Alınan kesiti 37-40 °C'deki su banyosuna fırça yardımıyla koyunuz.



6. Doku kesitinde kırışıklıklar varsa gideriniz ve 30 saniye kadar bekleyiniz. Aradaki hava kabarcıklarının uzaklaşmasını bekleyiniz.

7. Lam üzerine blokun numarasını yazınız.

8. Su banyosu içinde lam ile kesit şeridinin altına 45° lik açıyla giriniz. Kesit ucunun lamların traşlı kısmının biraz önüne tutunmasını sağladıktan sonra yavaşça yukarı doğru çekerek tamamen lam üzerine alınmasını sağlayınız.
Lamların alt yüzünü gazlı bezle silerek kurulaştırınız.



9. Doku kesiti alınan lamları, lam sepetine dik yerleştiriniz.

10. Her blokun kesiti tamamlandıktan sonra su banyosundaki suyun yüzeyinde kalan kesit kalıntıları gazlı bez/ kâğıt şeritle temizleyiniz. Bu işlemi, her blok kesiti tamamlandıktan sonra yapınız.

11. İçinde doku kesit lamları bulunan sepeti alarak etüve koyunuz .

Etüvü 60 °C sıcaklıkta 40-60 dakika süre ile bekletiniz (Burada lam üzerindeki parafinlerin erimesi sağlanır. Lam üzerinde sadece doku kesiti kalır.).





12. Preparatları, tüm parafini temizlemek ve dokuyu saydamlaştırmak için 20 dakika ksilolde tutunuz.

13. Daha sonra absolu alkolde ve %96'lık alkolde beşer dakika tutunuz.

14. Bundan sonra gerekli boya yöntemlerini uygulayınız.

Değerlendirme Ölçeği 3: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,5 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı,				
2. Parafin bloku mikrotom cihazına yerleştirdi ve mikrotom bıçağının bir kenarı ile 10-20 mikron kalınlığında tıraşlama işlemi yaptı.				
3. Parafin blokun yüzeyini düz hâle getirdi sonra keskin mikrotom bıçağı ile 4-6 mikron aralıklarındaki kalınlıklarda kesit aldı.				
4. Alınan kesiti 37-40 °C'deki su banyosuna fırça yardımıyla koydu.				
5. Lam üzerine blokun numarasını yazdı.				
6. Kesitin lam üzerine alınmasını sağladı.				
7. Lamları, lam sepetine dik yerleştirdi.				
8. İçinde doku kesit lamları bulunan sepeti alarak etüve koydu.				
9. Preparatları 20 dakika ksilolde tuttu.				
10. Preparatları, absolu alkolde ve %96'lık alkolde beşer dakika tuttu.				
TOPLAM PUAN				



6.4. DOKU PREPARATINI BOYAMA

Genel amaçlı boyama tekniğinin esası; ışığı geçiremeyecek kadar kalın olan dokulardan ışığı geçirebilecek incelikte kesitler almak ve canlıda renksiz olan doku unsurlarını boyayarak mikroskop altında görülebilir hâle getirmektir. Materyal, canlıdan anestezi altında ya da biyopsi ile elde edilir. Doku örnekleri doku türüne göre değişmekle birlikte 1 cm³ ebatlarından büyük olmamalıdır.

Organizmadan ayrılan doku ve organ parçalarının mikroskopla incelenebilecek duruma getirilmesi için uygulanan işlemlerin tümü **histoloji tekniği** olarak adlandırılır. Histoloji tekniği uygulanan dokular genel olarak cansız, bazı dokular ise vital boyalarla canlı olarak incelenir.

6.4.1. Doku Preparatından Parafinin Uzaklaştırılması

Dondurma mikrotomu ya da kriyostat ile elde edilen kesitler direkt boya eriyiğine konabilir fakat özellikle parafin kesitleri, parafinin suyla uyumsuzluğu (suda erimez) nedeniyle boyanamaz. Bunların öncelikle suyla uyuşabilir duruma gelmesi gerekir. Bunun için de önce parafin giderilir. Lam üzerine alınan doku kesitinin boyanabilmesi için öncelikle parafinden kurtarılması işlemine **deparafinizasyon** denir.

▼ Parafin Giderme İşlemi

- Doku taşıma sepetine yerleştirilmiş lam-lar-doku kesitleri 35-40 °C'lik etüvde 15 dakika bekletilir (Görsel 6.13) . Bu işlemle doku kesitlerinin kuruması ve lama daha iyi tutunması sağlanır. Isı, doku çevresindeki blok parafininin ve dokuya infiltre olmuş parafinin de eriyerek uzaklaşmasını ve ksilolde daha kolay uzaklaştırılmasını sağlar.
- Doku kesitleri ısı işleminden sonra iki ayrı kaptaki ksilolde 5-10 dakika bekletilir. Bu işlem sonunda lamdaki ve dokulardaki parafinler uzaklaştırılır, dokular aynı zamanda saydamlaştırılmış olur.
- Ksilolun giderilmesi amacıyla da dokular; sırasıyla dereceli alkollerde (%96-90-80-70 etil alkolde) her birinde üçer dakika bekletilir.
- Doku kesitleri distile suda 10 dakika bekletilerek dokuların kaybettiği su tekrar kazandırılır.



Görsel 6.13: Taşıma sepetlerinin etüve yerleştirilmesi



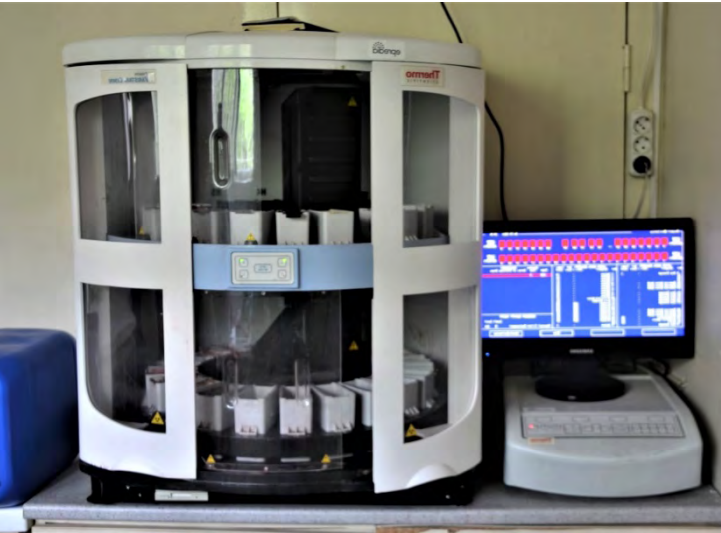
Görsel 6.14: Otomatik lam kapama cihazı

6.4.2. Preparatın Boyanması

Kesit alma işlemi sonrasında yarı saydam hâldeki dokuların mikroskopta incelenebilmesi için dokuların belirgin ve rahat ayırt edilebilir olması gereklidir. Bu nedenle doku kesitleri boyanmalıdır. Hayvansal dokuların histolojik incelemesinde kullanılan tekniklerin sınıflandırılmasında genel doku boyama yöntemleri temel alınır. Boya, doku elemanlarının tümünü boyuyorsa genel boya; doku elemanlarının özel yapılarını boyuyorsa seçici (özel) boya olarak ifade edilir. Boyaların çoğu suda hazırlanır, bazıları ise alkol veya asetonla eritilerek hazırlanır.

Boyalar genel olarak iki yol ile tepki gösterirler. Doğrudan doku ile birleşebilir ya da dokulara sıkıca bağlanabilen bir madde yardımı ile birleşir. Boyamalar on veya yirmi kesitten oluşan gruplarla şaleler içinde klasik yöntemle yapılmaktadır.

Elle boyama dışında istasyon süresi sabit lineer boyama cihazı, carousel tipi boyama cihazları, istasyon süreleri değiştirilebilen kapalı sistem tam otomatik boyama cihazı gibi otomatize boyama cihazları da geliştirilmiştir (Görsel 6.14).



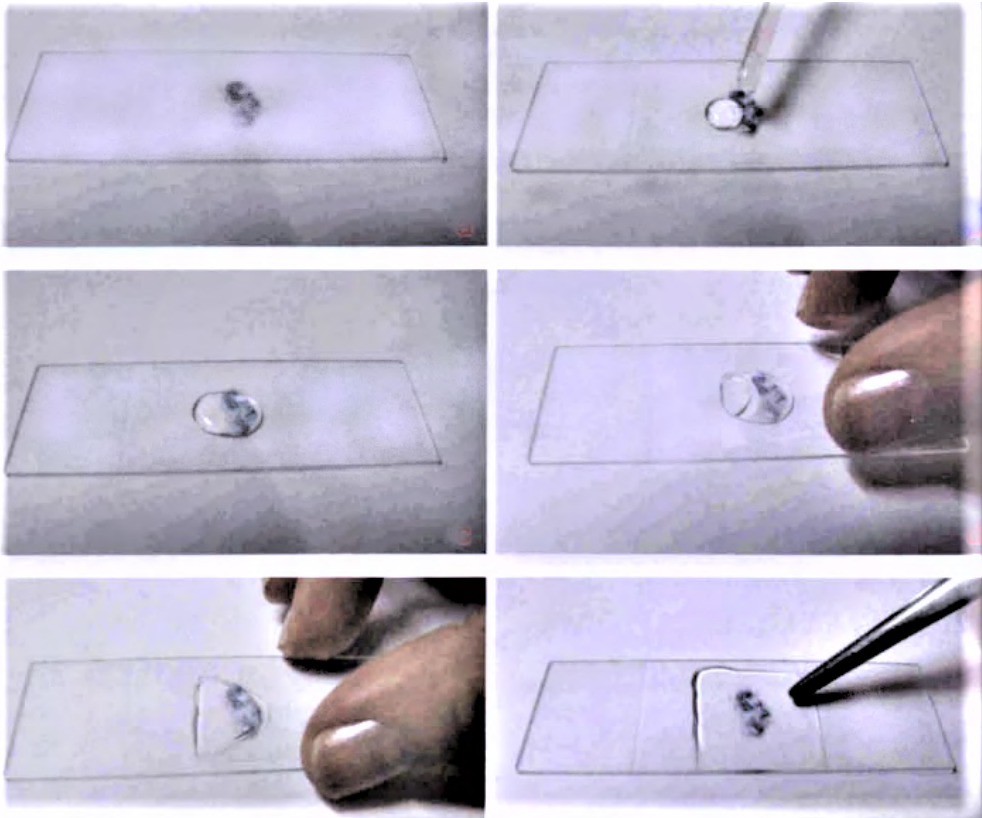
Görsel 6.15: Otomatik boyama cihazı

6.4.3. Preparatın Kapatılması

Kalıcı ve dayanıklı kesitler elde edebilmek için optik sisteme uygun bir yapıştırıcı kullanarak boyanmış preparatı lamelle kapatmak gerekir. Kanada balsamı ve entellan, kapatıcı maddeler olarak kullanılır. Kapatma işlemi elle veya otomatik cihazla yapılabilir (Görsel 6.15).

▼ Elle kapama işlemi

- Boyamadan sonra preparatlar, kuruması için 5-10 dakika etüvde ya da daha uzun süre oda ısısında bekletilir. Rutin boyama yöntemlerinde boya serilerinin sonuna kilol serileri eklendiği için beklemeye gerek duymaksızın direkt lamelle kapatma işlemine geçilebilir.
- Preparatlar, kuruduktan sonra en az 15 dakika ksilolde tutulur.
- Sonra ksilolden alınarak kurumaları için bekletilir.
- Boyanan kesitlerin üzerine bir damla Kanada balsamı damlatılır ve balsam üzerine lamel kapatılarak kurumaya bırakılır. Bir pens yardımıyla hafifçe lamel üzerine baskı uygulanarak hava kabarcığı çıkartılır.
- Lamel, çerçeveleyici, kesit ve lamdan oluşan preparat çerçevelenip kapatıldıktan sonra yapışmanın tam olarak sağlanabilmesi için 24 saat 40 °C ısıdaki etüvde bekletilir.
- Kapatıcı maddeler hem mikroskopta kolay incelenmeyi sağlar hem de boyanmış kesitlerin yıllarca korunmasını sağlar. Balsam, kullanırken açık kapta katılaşacağı için farklı bir kaba azar azar ilave edilerek kullanılmalı işlem bittikten sonra kabın ağzı kapatılarak yerine bırakılmalıdır (Görsel 6.15).



Görsel 6.16: Elle kapama işlemi

6.4. UYGULAMA

HEMATOKSİLEN-EOZİN BOYAMA YÖNTEMİ İLE BOYAMA

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi ile boyama yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi ile boyama işlemi yapmanız beklenmektedir (Görsel 6.17).

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 4'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
XYLOL	XYLOL	ETİL ALKOL (%100)	ETİL ALKOL (%100)	ETİL ALKOL (%95)	AKAN ÇEŞME SUYU	ASİT HEMATOKSİ- SİLEN
2 dak.	2 dak.	1 dak.	1 dak.	1 dak.	2 dak.	10 dak.
8.	9.	13.	14.	15.	16.	17.
ÇEŞME SUYU	ASİT ALKOL (%0.5)	AKAN ÇEŞME SUYU	NH ₄ OH SOLÜSYONU (%1)	AKAN ÇEŞME SUYU	ALKOLİK EOZİN	ETİL ALKOL (%95)
2 dak.	Daldırıp çıkar	2 dak.	***Çalkalayarak durula	5 dak.	5 dak.	1 dak.
18.	19.	20.	21.	22.	23.	
ETİL ALKOL (%95)	ETİL ALKOL (%100)	ETİL ALKOL (%100)	KARBOL XYLOL	XYLOL	XYLOL	YAPIŞTIR
1 dak.	1 dak.	1 dak.	1 dak.	1 dak.	1 dak.	

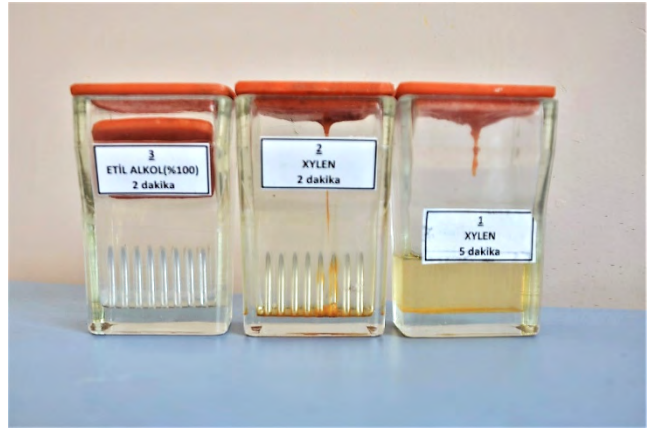
Görsel 6.17 : Rutin Harris Hematoksilen ve Eozin Boyama Yöntemi

İşlem Basamakları

- İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

- Doku preparatını ksilol serilerinden geçiriniz.

En az üç farklı ksilol serisinden üçer dakika daldırarak parafinlerin uzaklaşmasını sağlayınız.



3. Doku preparatını alkol serilerinden geçiriniz. Saf alkol, %96'lık alkol , %70'lik alkol serilerinden her birine en az üçer dakika daldırınız. Verilen sürelerle uyunuz. Seri hareket ediniz.



4. Akan çeşme suyu altında preparatı yıkayınız. Lamaları çeşme suyuunda 1-2 dakika iyice yıkayınız.

5. Preparatı hematoksilin boyası ile boyayınız. Tortulaşmış hemotoksilen boyasını, süzdükten sonra kullanınız. Suyu iyi süzülmemiş lam sepetlerini boya solüsyonuna sokmayınız. Asit hematokslende doku kesitlerini on dakika süreyle boyayınız.



6. Preparatı çeşme suyuunda yıkayınız. Lamaları çeşme suyuunda 1-2 dakika iyice yıkayınız.

7. Preparatı % 1 asit alkolden geçiriniz. Asit alkolü, 10 cc HCL + 1000 cc %70'lik alkol karışımı ile hazırlayınız. Asit-alkole 1-2 kez daldırıp çıkartmalısınız.



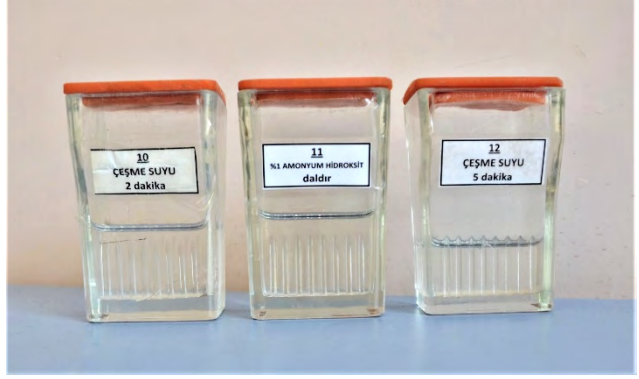
8. Preparatı akan çeşme suyunda yıkayınız.

Preparatların düzgün bir şekilde en az iki dakika yıkandığından emin olmalısınız.

9. Preparatı %1 amonyum hidroksit solüsyonundan geçiriniz.

Preparatı amonyum hidroksit solüsyonunu suda 10 cc amonyak + 1.000 cc distile su hazırlayabilirsiniz.

Preparatı amonyum hidroksit solüsyonuna 2-3 kez daldırıp çıkarmalısınız (doku mavileşinceye kadar).



10. Preparatı akan çeşme suyunda yıkayınız.

Preparatların düzgün bir şekilde yıkandığından emin olmalısınız.

11. Preparatı eozin boyası ile boyayınız.

Doku kesitlerini 5 dakika boya solüsyonunda tutunuz.



12. Preparatı artan konsantrasyonlardaki alkol serilerinden geçiriniz.

Son alkol solüsyonunun çok fazla eozin boyasıyla kirli olmamasına dikkat ediniz.

13. Preparatı ksilol serilerinden geçiriniz.

Ksilol serilerinden geçirme işlemine dikkat ediniz.



14. Doku üzerine 1 damla Kanada balsamı / entellan damlatınız.

Doku üzerine yeteri kadar Kanada balsamı/entellan damlatmalısınız.

15. Lameli ksilole daldırınız.

16. Hava kabarcığı oluşturmada lameli kapatınız.

Dokuya uygun boyutta lamel seçiniz.

Lamel üzerindeki ksilölü damlatmadan lameli entellan üzerine kapatınız.

Değerlendirme Ölçeği 4: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,45 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Doku preparatını ksilol serilerinden geçirdi.				
3. Doku preparatını alkol serilerinden geçirdi.				
4. Akan çeşme suyu altında preparatı yıkadı.				
5. Preparatı hematoksilen boyası ile boyadı.				
6. Preparatı asit alkolden geçirdi.				
7. Preparatı amonyum hidroksit solüsyonundan geçirdi.				
8. Preparatı eozin boyası ile boyadı.				
9. Preparatı ksilol serilerinden geçirdi.				
10. Lamel üzerindeki ksilölü damlatmadan lameli entellan üzerine kapattı.				
11. Bir süre bekledikten sonra lamel etrafındaki fazlalığı aldı ve preparatı kuruttu.				
TOPLAM PUAN				



ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A) Aşağıda verilmiş olan cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise (D), yanlış ise (Y) yazınız.

- () Fikse olmuş dokunun dehidrasyon, saydamlaştırma ve infiltrasyon işlemleriyle bloklaşmaya hazır hâle getirilmesine doku takibi denir.
- () Saydamlaştırmada işleminde genellikle formalin kullanılır
- () Dokulardaki suyun uzaklaştırılması amacıyla yapılan işleme **dehidrasyon** denir.
- () Parafin, kolay kullanılabilen, dokuya zarar vermeyen ve fikzasyon işlemlerinin yapılmasında kullanılan bir maddedir.
- () Kalıcı ve dayanıklı kesitler elde edebilmek için optik sisteme uygun bir yapıştırıcı kullanarak boyanmış preparatı lamelle kapatmak gerekir.

B) Aşağıda verilen cümlelerde boş bırakılan yerleri doğru ifadeyle tamamlayınız.

- Sertleştirmede amaç, dokuları yarı sert ve kolayca kesilen materyal içine yerleştirmek ve dokudan uzaklaştırmaktır.
- Sertleştirme işlemi için kararlaştırılan miktar kadar uygun bir kaba konarak etüvde erimesi için bırakılır.
- Mikrotom cihazında kesit alındıktan sonra °C'deki su banyosuna fırça yardımıyla koyulur.
- Doku kesit lamaları etüvde sıcaklıkta dakika süre ile bekletilir.
- Boyama işleminde preparatlar, kuruduktan sonra en az ksilolde tutulur.

C) Aşağıda verilen çoktan seçmeli sorularda doğru seçeneği işaretleyiniz.

11. Aşağıdakilerden hangisi doku takip çözeltilerinden biri değildir?

- Alkol
- Aseton
- HCL
- Ksilol
- Parafin

12. Aşağıdakilerden hangisi doku gömme cihazında doku yerleştirilmesinde kullanılan blok kabıdır?

- Dispenser
- Base mould
- Forseps
- L demir
- Doku depo tankı

13. Aşağıdakilerden hangisi deparafinizasyon işleminde kullanılır?

- Ksilol
- Asit
- Formol
- Metilen mavisi
- Kloroform

14. Aşağıdakilerden hangisinde doku takip işlemi doğru sıralanmıştır?

- Dehidrasyon-Saydamlaştırma-Sertleştirme
- Saydamlaştırma-Sertleştirme-Dehidrasyon
- Dehidrasyon-Sertleştirme-Saydamlaştırma
- Sertleştirme-Saydamlaştırma-Dehidrasyon
- Sertleştirme-Dehidrasyon-Saydamlaştırma

GAİTADA PARAZİTOLOJİK İNCELEME

ÖĞRENME BİRİMİ

https://www.eba.gov.tr/c?q=U55087_5bae614e**KONULAR**

- 7.1. NATİF METOT İLE GAİTADA PARAZİT İNCELEME
- 7.2. YÜZDÜRME METODU İLE GAİTADA PARAZİT İNCELEMESİ
- 7.3. ÇÖKTÜRME METODU İLE GAİTADA PARAZİT İNCELEMESİ
- 7.4. GÖÇ ETTİRME METODU İLE GAİTADA PARAZİT İNCELEMESİ
- 7.5. PARAZİT YUMURTASI SAYIMI

? Neler Öğreneceksiniz

- ▶ Natif yöntemle gaitada parazit incelemesi yapma
- ▶ Yüzdürme yöntemi ile gaitada parazitolojik inceleme yapma
- ▶ Çöktürme yöntemi ile gaitada parazitolojik inceleme yapma
- ▶ Göç ettirme yöntemi ile gaitada parazitolojik inceleme yapma
- ▶ Gaita numunesinden hazırladığı preparattan McMaster lamı ile mikroskop altında parazit yumurtalarını sayma

🧪 Temel Kavramlar

natif metot, yüzdürme, çöktürme, göç ettirme, yumurta sayımı, parazit, konak, metazoa, protozoa, helmint, artropod, simbiyozis, gaita, mikroskop, santrifüj.

💬 Hazırlık Çalışmaları

1. Başka bir canlının üzerinden yaşamını sürdüren makro ve mikroorganizmalar hakkında fikirlerinizi arkadaşlarınızla paylaşınız.
2. Bir parazitoloji laboratuvarına giderek parazit muayene yöntemleri hakkında bilgi edininiz.
3. Bir maddenin bir sıvıda yüzebilmesi için hangi özelliklere sahip olması gerektiği konusunda fikir üreterek arkadaşlarınıza paylaşınız.
4. Çöktürme yöntemiyle preparat hazırlanışını inceleyiniz.
5. Parazitoloji laboratuvarından ve İnternet ortamından göç ettirme yöntemi hakkında bilgi edininiz.
6. Laboratuvarıda parazit yumurtası sayım yöntemlerini gözlemleyiniz ve edindiğiniz bilgileri arkadaşlarınızla paylaşınız.

7.1. NATİF METOT İLE GAITADA PARAZİT İNCELEME

Parazitler, yaşamlarını sürdürürebilmek için besin ve barınak ihtiyaçlarını giderirken diğer organizmalardan farklı olarak üzerinde veya içinde yaşayacağı başka bir canlıya ihtiyaç duyarlar. Dolayısıyla ihtiyaç duyduğu canlı ile ortak bir yaşam sürerler. Parazitler, yaşamları boyunca doğada bulunan diğer mikroorganizmalar gibi canlılarda hastalığa neden olur.

Gaitada natif metod ile parazit incelemesi nispeten daha kolay ve çabuk olmasından dolayı sık tercih edilen bir yöntemdir.

Canlı bir organizmanın içinde veya üzerinde, bütün yaşamı boyunca veya yaşamının bir döneminde, besin ve yer bulabilen bu canlılara **parazit** adı verilir. Parazit [parasi-tos (başkasının masasında yemek yiyen)] Yunanca bir terimdir. "Para" yanında; "sitos" besin anlamında iki kelimenin bir araya gelmesi sonucu oluşur ve "yanında beslenen" anlamındadır.

Parazitleri yaşamlarının bir döneminde veya bütününde barındıran ve onun yaşaması için gerekli besin ortamını sağlayan canlıya ise **konak** denir.

Parazitlerin yaptığı hastalıkları ve parazit-konak ilişkilerini inceleyen bilim dalına **parazitoloji** adı verilir.

7.1.1. Parazitlerin Sınıflandırılması



Görsel 7.1: Hayvansal parazitlerin sınıflandırılması

Veteriner parazitoloji; hayvanlarda bulunan parazitleri inceleyen bilim dalıdır. Parazitler genel olarak iki gruba, bunlar da alt gruplara ayrılır (Görsel 7.1). Ancak insan ve hayvanlarda yaptıkları hastalıklardan dolayı daha çok protozoa, helmintler ve artropodalar üzerinde durulmaktadır.

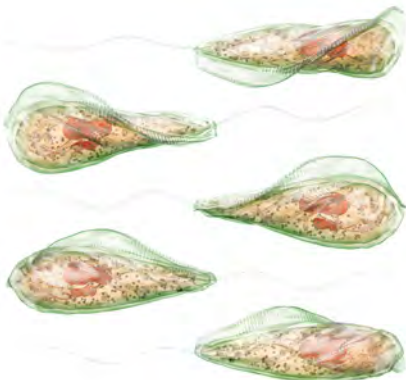
Zooparazitler de **protozoa** (tek hücreliler) ve **metazoa** (çok hücreliler) olarak gruplandırılır. Metazoalar; fitoparazitler (bitkisel parazitler) ve **artiozoa** (vücut bölümlü parazitler) şeklinde sınıflandırılır. Artiozoalar da **helmintler** ve **arthropodalar** (eklembacaklılar) olarak gruplandırılmaktadır.

▼ Protozoonlar

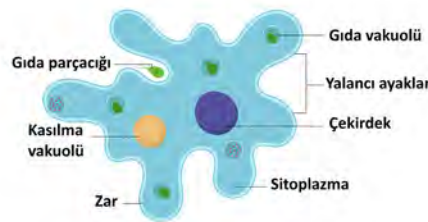
Protozoalar çoğu mikroskopik, tek hücreli canlılardır. Sabit bir şekilleri yoktur. Yuvarlak, oval, çomak, mekik, armut gibi çok değişik şekillerde olabilmektedir. Tek hücreli bir yapıda olmalarına rağmen yaşamaları için gerekli birçok görevi yapma özelliğine sahiptir. Sitoplazma, hücrenin yaşaması için gerekli görevleri; çekirdek ise üreme ve çoğalma ile ilgili görevleri yapar. Hareket, besin alınması ve vücudun korunması ile ilgili görevleri de sitoplazma yapar.

Protozoalarda üreme, eşeyli ve eşeysiz olarak ikiye bölünme, çok sayıda bölünme ve tomurcuklanmaşeklide görülmektedir (Görsel 7.2).

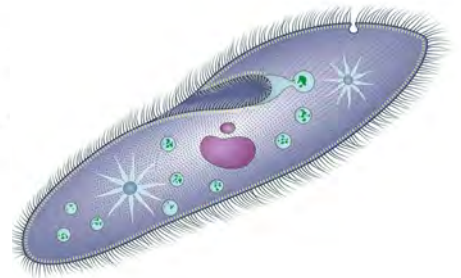
- ▶ **Kamçılı Protozoalar (Mastigophoralar)** Flagellata olarak da adlandırılır. Vücutları oval, küre veya uzun olur. Vücut yüzeyi pelikula (tek hücreli canlılarda hücre zarının altında organik liflerden oluşan çadırımsı yapılar) ile örtülü olduğundan şekilleri daima belirlidir. Bazı formlar jelatin veya selülozdan kabuk veya zırh meydana getirir.
- ▶ **Amipler (Kökayaklılar)** Vücut yüzeylerinde mastigophoralardan farklı olarak belirgin şekilleri yoktur. Besin ve hareketini pseuodopod (psöydopod) adı verilen yalancı ayaklarla sağlar (Görsel 7.3).
- ▶ **Sporozoa** Hücre içi veya hücreler arasında yaşayan parazitlerdir. Her türü belli bir konakta bulunur. Vegetatif (üreyip çoğalabilen) şekilleri oval veya yuvarlaktır. Büyük bir kısmında hareket organeli bulunmaz. Bazı formlar amiboid veya kayma şeklinde hareket yapabilir.
- ▶ **Kirpikli Protozoalar (Ciliatalar)** Bazıları, gözle görülebilecek kadar büyük olan küre, silindir, vazoya benzer vücutlu; kabuk ya da iskeletleri bulunmayan; üzerleri harekete yarayan kirpiklerle kaplı; biri büyük (makronukleus), biri küçük (mikronukleus) olmak üzere iki çekirdekleri bulunan; tatlı sularda ve denizlerde yaşayan protozoalardır (Görsel 7.4).



Görsel 7.2: Kamçılı protozoalar



Görsel 7.3: Amip



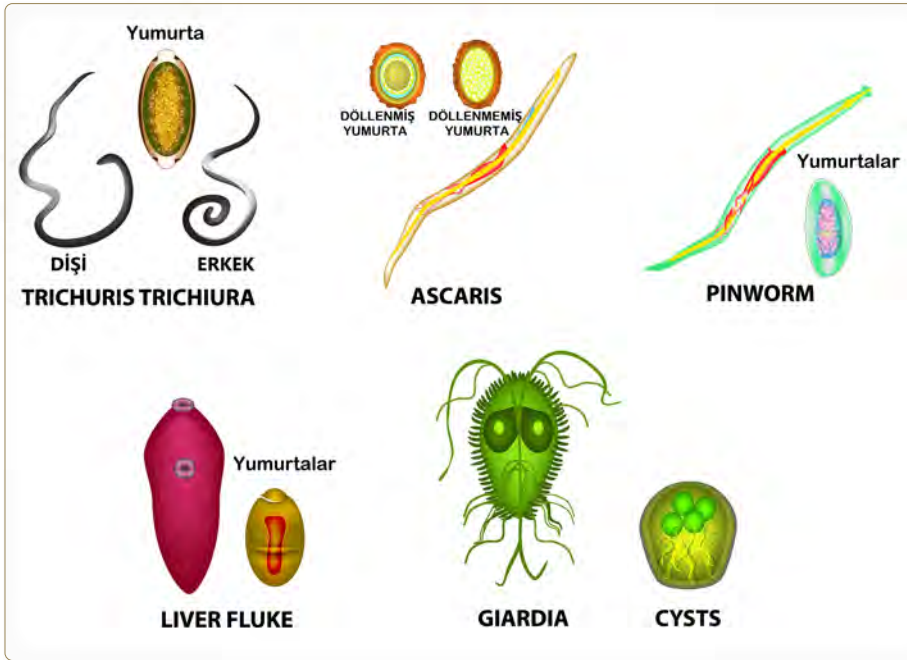
Görsel 7.4: Ciliata

▼ Helmintler

Halk arasında solucan, kurt veya şerit adı verilir. Vücutları omurgasız, iki tarafı simetrik, hücreleri sindirim, dolaşım, boşaltım, hareket, üreme gibi fonksiyonları yerine getiren organlara sahip canlılardır. Vücut yapıları, parazitlik özelliklerine göre değişir. Boyları birkaç milimetre ile birkaç metre arasında olabilir.

Helmintler, hermafroditizm (erkek ve dişi üreme organlarının aynı birey üzerinde bulunması), erkek ve dişinin çiftleşmesi ve pedogenezis (parazitin larva ve genç dönemlerinin döl meydana getirmesi) yollarından biri ile çoğalmaktadır (Görsel 7.5).

- | | |
|---------------|--|
| ► Trematodlar | Vücutları ince ve kütikula ile örtülü, emici ağızları ve çekmenleri bulunan yassı solucan türüdür. Sindirim sistemleri anüsü olmayan kör bir bağırsaktan oluşur. Hem eşeyli hem eşeysiz ürer. |
| ► Cestodlar | Vücutları yassı halkalara ayrılmış, sindirim sistemleri bulunmayan, besinlerini ozmozla temin eden, erişkin şekillerinde kirpik ve dikenlere sahip olmayan, hermaphrodit ve endoparazit yapıya sahip parazitlerdir. 3-5 mm kadar ufak olabildikleri gibi 8-10 metre uzunluğunda olanları da mevcuttur. |
| ► Nematodlar | Vücutları iki uçlarına doğru gittikçe incelen, kıl veya iplik gibi tek bir parçadan yapılmış helmintlerdir (Görsel 7.6). |



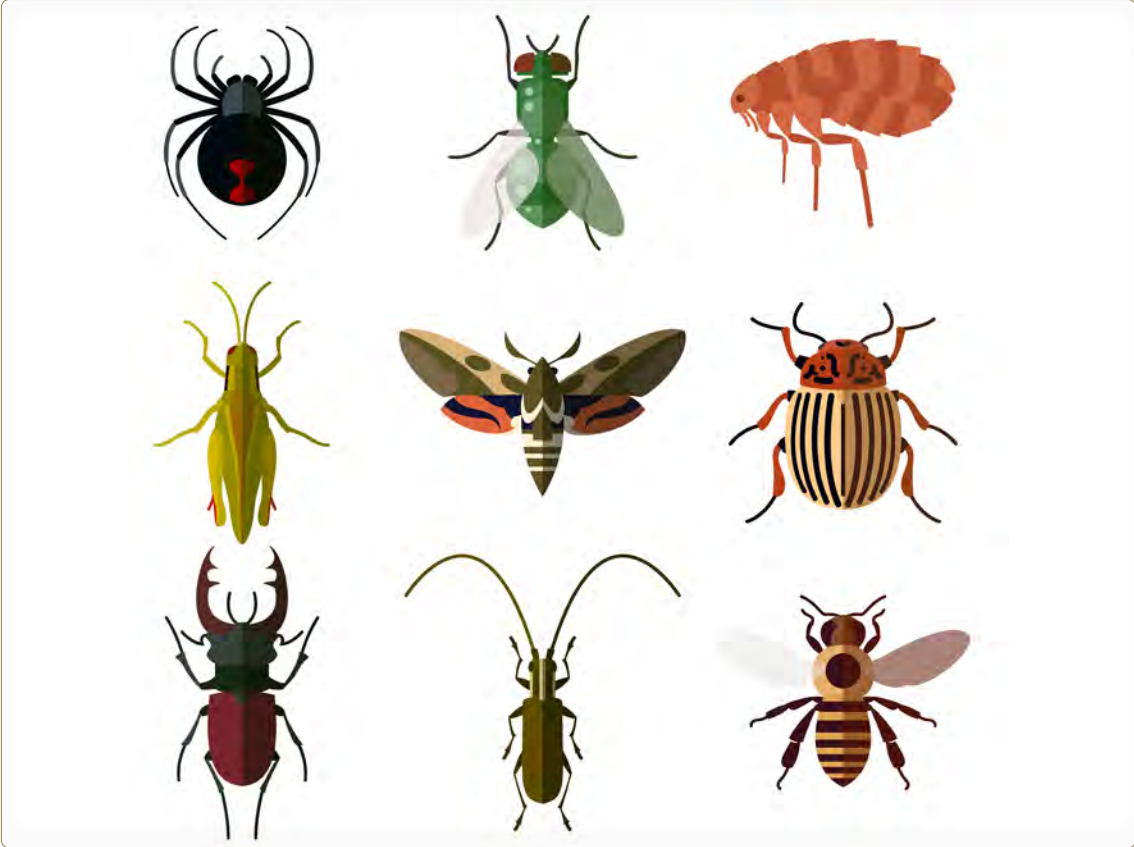
Görsel 7.5: Helmintler



Görsel 7.6: Nematod

▼ Artropodlar

Arthropodlara, eklembacaklılar da denir. Vücutları sert bir kitin tabakası ile örtülü olup, ayakları eklemlidir. İki yanlı simetrik ve omurgasız canlılardır. Dünyadaki hayvan gruplarının içinde en kalabalık olanlarıdır. Bir milyonun üstünde türü vardır. Bu türlerden karasinek, kene, tahtakurusu, sivrisinek, bit ve pire parazit olarak insana ve hayvana zarar verir (Görsel 7.7).



Görsel 7.7: Artropodlar

SÖZ SİZDE

Birlikte yaşayan canlılardan biri diğerinin zararına olacak şekilde fayda sağlamazsa bu canlı, parazit olarak değerlendirilebilir mi?

7.1.2. Parazitlerin Genel Özellikleri

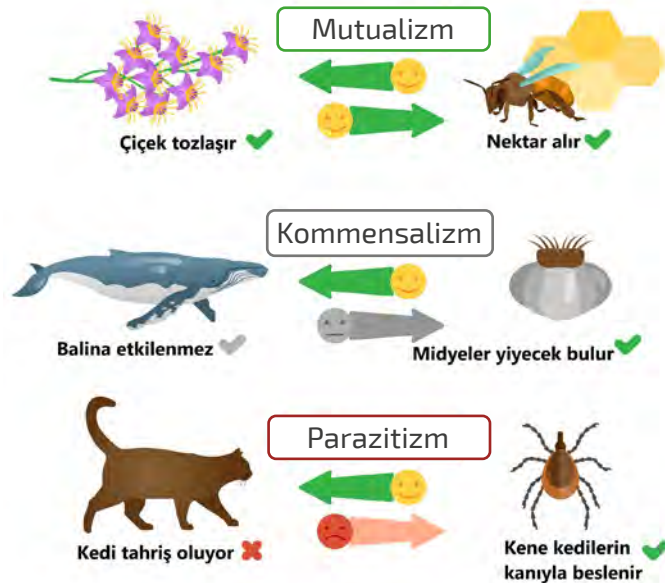
Metabolizma bakımından yetersiz olduklarından yaşayabilmek için başka bir canlıya ihtiyaç duyarlar. Konaklarında patolojik bozukluklara neden olarak hastalanmalarına hatta ölümlerine neden olabilirler. Çoğu kronik seyirli hastalıklara neden olduğundan hayvanlarda uzun süre devam eder ve bu durum et, süt, yapağı vb. veriminde düşüşlere neden olur. Üzerinde yaşadıkları konaklardan daha yüksek bir üreme potansiyeline sahiptirler. Birkaç istisna hariç genellikle parazitler konaklarından küçüktür.

7.1.3. Parazitlerin Yaşam Şekilleri

▼ Simbiyozis (Birlikte Yaşam)

Birbirinden farklı iki canlı arasındaki ortak yaşam ilişkidir. Serbest yaşayanların aksine, bir canlının kendisinden daha büyük olan bir canlının üzerinde veya içinde, birbirleriyle karşılıklı veya tek taraflı bağımlılık ilişkisi kurmasıdır. İki canlı arasındaki ilişki, işkinin şekline göre farklı isimler alır. Simbiyoz kavramı içinde sığıntılık, yardımlaşma ve asalaklık olmak üzere üç temel yaşam şekli vardır (Görsel 7.8).

- **Parazitizm (Asalaklık)** İki canlıdan birinin diğerinin zararına yaşamasıdır. Parazit ile konak birbirlerini sürekli olarak etkilediklerinden ilişkileri değişkendir. Bazen konak ve parazitin varlığı dış çevre koşulları nedeniyle tehlikeye girebilir. İnsan bağırsağında parazitlerin yaşaması parazitizme örnek verilebilir.
- **Kommensalizm (Sığıntılık)** Sofra arkadaşlığı olarak da adlandırılan bu yaşam biçiminde, sığıntım olarak adlandırılan canlının, üzerinde veya içinde yaşadığı canlıya hiçbir zararı veya yararı yoktur. Sığıntı bulunduğu canlıdan barınma, beslenme, taşınma gibi yararlar sağlar.
- **Mutualizm (Ortaklık, Yardımlaşma)** Birlikte yaşayan iki canlının mutlaka birbirine bağlı olarak ve karşılıklı birbirlerine yarar sağlayarak yaşamasıdır. Ancak buradaki ilişki zorunlu bir ortaklığı ifade eder. Kırpıklılar (ciliatlar), sığırların işkembesinde karşılıklı yarar sağlayarak yaşamlarını sürdürür. Çok hızlı üreme yeteneğine sahip olan bu protozoalar ikiye bölünerek çoğalırlar ve 24 saatte ölürler. Sığırlarda bu protozoonları sindirerek protein yapıtaşı olan azot ihtiyacının beşte birini bu yolla karşılar. Burada ciliatlar kendilerine uygun bir yaşam ortamı, ruminantlar ise besin sağlamış olurlar.



Görsel 7.8: Simbiyozis

7.1.4. Parazit ve Konakçı İlişkisi

Parazit ve konağın birlikte oldukları ortamlarda hem parazit hem de konak karşılıklı olarak birbirleri ile çeşitli şekillerde etkileşim halinde olurlar. Protozoalar, trofozoit ve kistlerinin alınmasıyla bulaşır. Helmintler, erişkin, yumurta ve larva şekillerinin alınmasıyla bulaşır. Bazı sivrisinek, tatarcık gibi eklembacaklılar da kan emmek için canlı organizmaya gelir.

Parazitlerin gelişmelerindeki rollerine göre son (kesin) konak (bir parazitin erişkin ya da eşeyli üreyen şeklini barındıran konak), ara konak (bir parazitin larva ya da eşeysiz üreyen şeklini barındıran konak), transport konak (bir parazitin bir yerden bir yere taşınmasına yardımcı olan konak), rastlansal konak (belli bir konakta bulunan parazitin rastlantı sonucu başka bir konakta bulunması hâli) ve rezervuar konak (parazitin varlığı ve başka bir konağı enfekte etmesi için doğada kaynak rolü oynayan konak) gibi değişik konak tipleri vardır.

Canlı hayvanda bulunan parazit ya da parazitlerin varlığı değişik teknikler kullanılarak tespit edilir. Bu da parazitin kendisinin görülmesi, gelişme dönemlerinin görülmesi, parazitin oluşturduğu antijen ve buna karşı konakta oluşan antikorun tespit edilmesiyle mümkün olur. Canlı hayvanlarda paraziter tanı amacıyla başta dışkı olmak üzere kan, idrar, balgam, burun akıntısı, deri döküntüsü, deri kazıntısı çeşitli yöntemlerle incelenir.

7.1.5. Gaitanın Makroskopik Olarak İncelenmesi

Dışkının çıplak gözle muayene edilmesidir. Dışkının rengine, kokusuna, dışkıda kan veya mukus olup olmasına, kıvamına (sulu, yumuşak, şekilli), içinde gözle görülebilen parazitin kendisine (kedi, köpek ve atlarda askaritler) ya da halkaların (kedi, köpek, koyun gibi hayvanlarda şerit parçalarının) varlığına bakılır. Kanama sindirim kanalının üst kısmındaysa kan ve dışkı koyu renkli, alt kısımlarındaysa kan açık renklidir.

7.1.6. Dışkı Örneklerinin Alınması ve Laboratuvara Gönderilme Aşamaları

Parazitolojik incelemelerde, kullanılacak dışkı mutlaka taze ve dış ortam ile temas etmemiş olmalıdır. Direkt hayvanların rektumundan alınması en doğru olanıdır.

▼ Dışkı Örneklerinin Alınması

Dışkı, ağız vida kapaklı 30-50 ml'lik plastik kapaklı kaplar içine toplanır ve kapakları iyice kapatılır. Bu sırada idrar, toprak saman gibi maddeler ile bulaşması engellenir. Dışkı örnekleri konağa herhangi bir ilaç veya madde verilmeden önce alınır.

Bir grup hayvan için enfeksiyon derecesi ve yoğunluğu belirlenecekse grubun en az %10'undan veya her çiftlikten en az 10 hayvandan dışkı alınmalıdır.

Dışkı örneklerinin miktarı önemlidir ve hayvan türüne göre değişir (Tablo 7.1).

Tablo 7.1: Hayvan Başına Alınması Gereken Dışkı Miktarı

HAYVAN TÜRÜ	GENÇ HAYVANLAR	YAŞLI HAYVANLAR
Sığır, At	5-10 g	10-20 g
Koyun, Keçi, Domuz	3-5 g	5-10 g
Kedi, Köpek, Tavşan	2-3 g	3-5 g
Kanatlı	0,5-1 g	1-2 g



Görsel 7.9: Sığırdan dışkı örneği alma

Sığır ve at gibi büyük hayvanlardan rektal yolla elle alınır. Büyük hayvanlarda rektal yolla dışkı alınırken önce eldivenler takılır (Görsel 7.9). Hayvanın iyi bir şekilde tutulduğundan emin olunarak hayvana yaklaşılr. Bir elle kuyruğundan tutulur. Diğer elle parmak uçlarını birleştirip konik bir hâle getirerek hayvanın rektumundan içeri girilir ve dışkı örneği alınır. Bu işlem yapılırken sert hareketlerden kaçınılarak rektum mukozasına zarar verilmemesi sağlanır.

Koyun ve keçi gibi küçük hayvanlarda ise rektal yolla parmak ucu ile alınır. Köpek ve kedilerden rektal yolla bağıet ucu ile alınır veya dışkının yapılması beklenir. Kanatlılardan "kloaka"dan ya da kafes dibinden, zeminden alınır.

Hayvanlarda rectumdan dışkı alınamaması durumunda, yerden yeni yapılmış dışkının yerle temas etmeyen kısmından alınır. Alınan numunenin veya numune kabının üzerine hayvan sahibinin adı, adresi, telefonu vb. gibi bilgiler, hayvanla ilgili özellikler (yaşı, cinsi, ırkı, vb.), şüphelenilen hastalıklar ve dışkıya herhangi bir işlem yapıp yapılmadığı yazılmalıdır.

SÖZ SİZDE

Bir canlıda laboratuvar incelemeleri dışında hangi yollarla parazit araştırması yapılabilir?

▼ Laboratuvara Gönderilmesi

Dışkı örneği kapaklı kap (Görsel 7.10), plastik kutu sızma, akma yapmayan naylon torba ile soğutucu içinde laboratuvara gönderilir.

Dışkı örneği laboratuvara geç ulaşacaksa %10'luk formol, glasiyal asetik asit solüsyonu, alkollü gliserin solüsyonu, poli vinil alkol (PVA) gibi koruyucu solüsyon içine konmalı ve dışkı kabının kapağı iyice kapatılmalıdır.

Dışkı örneği hemen incelenmeyecekse 4 °C'de buzdolabında saklanır. Parazitlerin kendileri veya gelişme şekilleri zarar göreceğinden dolayı dışkı; buzlukta, derin dondurucu ve inkübatörde saklanmamalıdır.



Görsel 7.10: Numune kabı

7.1.7. Natif Metot ile Gaitada Parazit İnceleme Tekniği

Natif metot; dışkıdaki parazitlerin görülmesi için yeterli olmasa da kolay ve çabuk yapılması, fazla laboratuvar donanımına ihtiyaç duyulmaması ve diğer tanı yöntemleri için yönlendirmesi nedeniyle sıklıkla uygulanan bir yöntemdir.

Bu yöntemde yayma, mümkün olduğunca ince olmalıdır. İncelenen dışkı miktarının azlığı ve çoğunlukla hayvanın enfekte olmasına karşın negatif sonuçlar vermesi nedeniyle tanıda tek başına güvenilir değildir. Sonuçların güvenilirliğini artırmak ve hayvanda parazit yoktur diyebilmek için işlemin birkaç gün aralıklarla en az beş kez tekrarlanması gerekir.

Parazitlerin yumurta, ookist, larva ve trofozoit gibi genelde gözle görülmeyen formları natif yöntemle hazırlanan gaita preparatlarının mikroskopik incelemesi ile kolaylıkla teşhis edilir.

Şekli dışkıda parazitlerin daha çok kistik formları bulunurken sıvı (sulu) dışkı kıvamına doğru gidildikçe kistik form azalır ancak hareketli trofozoit formları daha çok görülür.

Natif yöntemle incelenen helminthler; *Taenia saginata* (Tenya sacinata), *Taenia solium* (Tenya solyum), *Hymenolepis nana* (Hiymenolepis nana), *Enterobius vermicularis* (Enterobiyus vermikularis) ve *Strongyloides stercoralis*'dir (Sronciloyides sterkoralis). Helmintler için çoğu kez yapılması yararsız olabilen bir yöntemdir.

Özellikle protozoonların vejetatif formlarını ve hareketlerini incelemek için dışkı taze ve henüz soğumamış olmalıdır. Ancak tür düzeyinde tanı zordur ve güvenilir değildir. Bu nedenle bununla birlikte boyama yöntemlerine de başvurmak mümkündür. Protozoonların tanımını kolaylaştırmak için taze direkt baki preparatları geçici boyalarla boyanabilir.

7.1. UYGULAMA

NATİF METOT İLE GAITADA PARAZİT İNCELEME TEKNİĞİ

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında natif metot (taze bakı) ile gaitada parazit muayenesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak natif metot ile parazit incelemesi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 1'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Lam, Lamel
- Dışkı örneği
- Serum fizyolojik
- Öze (cam çubuk veya kürdan)

Kullanılan araç gereç Görsel 7.11'de gösterilmiştir.



Görsel 7.11: Natif metot ile gaita incelemesinde kullanılan araç gereç

📋 İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

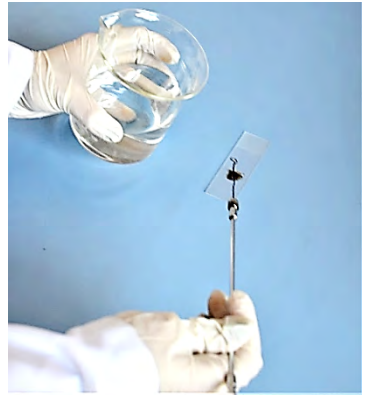
2. İşlem öncesi hazırlıkları yapınız.
Gelen örneğin inceleme için yeterli olup olmadığını kontrol ediniz.
Analiz araç gerecini hazırlayınız.



3. Kanlı veya mukuslu yerlerinden pirinç tanesi büyüklüğünde dışkı alıp lam üzerine koyunuz.
Lamın temiz olmasına dikkat ediniz.



4. Dışkı sert kıvamlı ise bir iki damla su veya tuzlu su ile sulandırınız. Lamelin sivri kenar ucuyla dışkı örneği lam üzerinde dairesel hareketlerle yayınız.
%0,9'luk fizyolojik tuzlu su kullanınız.
Fizyolojik tuzlu su yerine lugol da kullanılabilirsiniz.
Bir baget ya da lamelin kenarıyla serum fizyolojik ile gaitayı dairesel hareketlerle yayınız.
Kaba partikülleri, lamelin ucuyla bir kenara toplayınız.



5. Üzerine lamel kapatarak mikroskopikmuayeneye hazır hâle getiriniz .
Lameli hafifçe bastırarak alttan yazı okunacak şekilde ince yayınız.



6. Preparatı mikroskoba yerleştirerek parazit yumurtalarını araştırınız.
Önce 10'luk (10X) büyütme ile saha bulunuz. Sonra 40'luk (40X) büyütme ile incelemeye devam ediniz ve en az 10-15 saha tarayınız.
Parazit yumurtalarını dikkatlice inceleyiniz.
Kuruma riskinden dolayı kısa süre (10-15 dk.) içinde muayeneyi bitiriniz.
Sonucu rapor ediniz.
Sonuçların güvenilirliğini artırmak ve hayvanda parazit yoktur diyebilmek için işlemi en az beş kez tekrarlayınız.
Preparatların kurummasını önlemek ve birkaç saat dayandırabilmek için lamelin kenarlarına tırnak cilası (oje) sürünüz.

Değerlendirme Ölçeği 1: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,625 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Uygulama için gerekli araç gereci hazırladı.				
3. Usulüne uygun olarak numuneden pirinç tanesi kadar alarak lamin üzerine koydu.				
4. Lam üzerine bir iki damla tuzlu su koyarak öze yardımıyla karıştırdı.				
5. Lameli lamin üzerine kapattı.				
6. Mikroskop ayarını yaptı.				
7. Preparatın kurumasını önlemek için bir işlem yaptı.				
8. Önce 10X sonra 40X objektifle paraziti araması yaptı.				
TOPLAM PUAN				

➡ BİLGİ NOTU

Lugollü İyot Solüsyonu Hazırlama

1. 10 g potasyum iyodür 100 ml distile suda çözündürülür.
2. Solüsyon doyuncaya kadar 5 g iyot kristali eklenir (Bir miktar iyot çözünmemiş olarak kalır.).
3. Solüsyon kahve renkli cam kapaklı bir şişeye süzülür. Kırmızımsı-kahve rengi renk solunca (3-4 haftada bir) taze solüsyon hazırlanmalıdır. Bu solüsyon stok lugol solüsyonudur ve direkt bakıda kullanılmaz.

Stok lugol solüsyonundan 1 kısım alınır ve 5 kısım distile suyla sulandırılarak kullanılır. Bu solüsyon ise her hafta yenilenmelidir.

➡ BİLGİ NOTU

Bir diğer natif muayene şekli "selofan bant yöntemi"dir. Bu yöntemde direkt dışkı kullanılsa da yine sindirim sisteminde özellikle kalın bağırsaklarda (rektumda) yaşayan bazı nematodların (Oxyuridae familyası) yumurtalarının tanısı amaçlanır. İki lam uzunluğunda kesilen bir selofan bant parçası anüsün üzerini kaplayacak şekilde yapıştırılır ve yapıştığı yerden tekrar uzaklaştırılarak uzunlamasına bir lam üzerine yapıştırılır ve bu şekilde mikroskopta muayene hazır hâle gelir.



7.2. YÜZDÜRME METODU İLE GAITADA PARAZİT İNCELEMESİ

Yüzdürme yöntemi (**zenginleştirme, çoklaştırma**), yoğunluğu yüksek, doymuş sıvılar kullanılarak yumurta, kist veya larva gibi parazitin gelişim formlarının sıvı yüzeyinde toplanması esasına dayanır. Bu sıvılar, organizmalardan daha yüksek özgül ağırlığa sahip oldukları için parazitler yapılar yüzer, yukarı çıkar, dışkı kalıntıları ise dibe çöker. Bu şekilde sıvı üzerinde toplanan parazitler formlar lam üzerine alınarak mikroskop altında incelenir.

Parazitleri sıvı içinde yüzdürmek için genellikle tuzlu su, şekerli su, çinko sülfat ve çinko klorür kullanılır. Parazitlerin dibe çökmesini sağlamak için de özgül ağırlığı daha düşük sıvılar kullanılır. Her iki yöntemde de amaç, dışkıda az sayıda bulunan yumurta, kist veya larvaları, çeşitli yöntemlerle küçük bir alanda toplayarak daha kolay görülmelelerini sağlamaktır.

Aynı amaçla sodyum nitrat solüsyonu ve gliserin de kullanılır. Yüzdürme yöntemiyle incelenen helminthler; *Ancylostoma duodenale* (Ensilostome duodonale), *Necator americanus* (Nekeytor amerikanus), *Ascaris lubricoides* (Askaris lubrikoyides) ve *Dicrocoelium dendriticum*'dur (Dikrokoelyum dendritikum).

7.2.1. Doymuş Tuzlu Su ile Yüzdürme

Bu eriyiği hazırlamak için 1 litre suda 360 g sofratuzu (NaCl) eritilir. Temiz çeşme suyu kaynatıldıktan sonra içine temiz mutfak tuzu konulur. Kaynatmaya devam edilir ve dip-te erimemiş tuz kalınca işleme son verilir. Soğutulur ve süzgeç kâğıdıyla cam şişelere süzülür. Özgül ağırlığı 1,2'dir. Doymuş tuzlu su solüsyonu, ucuz olması ve kolay hazırlanması nedeniyle Türkiye'de yaygın olarak kullanılır.

7.2.2. Doymuş Şekerli Su ile Yüzdürme

Doymuş şekerli su solüsyonu, iyi yüzdürücü olmakla birlikte pahalı da olduğundan özel amaçlı kullanılır. Bunun için 640 ml suda 1 kg şeker eritilir. Solüsyon %40-45 şeker içerir. Şeker çabuk kristalleştiğinden kristalleşmeyi önlemek için %2-5 fenol katılır. Özgül ağırlığı 1,2'dir. Birçok trematod ve sestod yumurtasını yüzdürmez. Giardia için çinko sülfattan daha az duyarlıdır.

7.2.3. Doymuş Çinko Sülfat ile Yüzdürme

Yedi sulu çinko sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) solüsyonundan 703 g veya susuz çinko sülfattan 331 -336 g alınır ve 1 litre distile su içinde çözdürülerek solüsyon hazırlanır. Özgül ağırlığı 1,3'tür. Birçok trematod, sestod ve nematod yumurtasını yüzdürmez fakat Giardia ve akciğer kıl kurtları larvaları için kullanılması uygundur. Diğer yüzdürme yöntemlerine göre doymuş çinko sülfat ile yüzdürme yöntemi daha çok kullanılır.

7.2. UYGULAMA

DOYMUŞ TUZLU SU İLE YÜZDÜRME (FLOTASYON)

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında doymuş tuzlu suda yüzdürme metodu ile gaitada parazit incelemesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak doymuş tuzlu suda yüzdürme metodu ile parazit incelemesi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 2'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Süzgeç, Pens
- Cam baget veya plastik çubuk
- Doymuş tuzlu su solüsyonu
- Dışkı örneği
- Lam-lamel
- Beher

Kullanılan araç gereç Görsel 7.12'de gösterilmiştir.



Görsel 7.12: Doymuş tuzlu su ile yüzdürmede kullanılan araç gereç

📋 İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Dışkı örneğinden 3-5 g alıp küçük bir beher/havan içine koyunuz.



3. Az miktarda doymuş tuzlu su ilave edip bagetle karıştırarak gaitayı eziniz .
Dışkıyı iyice parçalayarak eziniz.



4. Elde edilen süspansiyonu bir süzgeçle başka bir behere süzünüz .
Karışım homojen hâle gelince bir miktar daha tuzlu su ilave ederek karıştırınız.



5. Süzüntünün bulunduğu beher içine tekrar doymuş tuzlu su ilave ediniz.
Üzerine, üstten 0,5 cm mesafe kalana kadar aynı süzgeçten doymuş tuzlu su ilave ediniz.

6. Sıvı üzerine, yüzeye paralel olacak şekilde iki adet lamel yerleştiriniz.
Sıvı yüzeyine lamelleri dikkatli bir şekilde yerleştiriniz .



7. 15-20 dakika bekleyiniz.
Süreye uyunuz.

8. Bir pens ile lamel sıvıya batırmadan çıkarınız.
Pensin iki kolu lamelin orta kenarlarına gelecek şekilde lamelleri sıvıya batırmadan tutup kaldırınız.

9. Temiz bir lam üzerine yerleştiriniz .



10. Lamel altındaki sıvının dökülmemesine dikkat ediniz.

11. Mikroskopta incelemeye hazır hâle getiriniz.

Değerlendirme Ölçeği 2: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,625 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Usulüne uygun olarak 3-5 gr dışkı örneği alarak havan içinde bagetle karıştırdı.				
3. Süspansiyonu süzdü.				
4. Süzüntüye tuzlu su ekledi.				
5. Sıvı yüzeyine paralel olacak şekilde iki adet lamel yerleştirdi.				
6. 15-20 dakika bekledi.				
7. Lamı pens yardımıyla suya batırmadan çıkardı.				
8. Mikroskopta parazit araması yaptı.				
TOPLAM PUAN				

• BİLGİ NOTU

İçinde enfeksiyon etkeni bulunan kaplar işi bittikten sonra, tek kullanımlık ise atılmalı (atık sistemine uygun olarak); yıkanabilir özellikte ise ilgili yerlere konmalıdır. Bu tür kaplar hiçbir zaman yatık vaziyette bırakılmamalı veya cepte taşınmamalıdır.

• SÖZ SİZDE

Paraziter incelemelerde yüzdürme ve çöktürme yöntemlerinden hangisinin daha avantajlı olabileceği hakkındaki düşüncelerinizi arkadaşlarınızla paylaşınız.



7.3. UYGULAMA | DOYMUŞ ŞEKERLİ SU İLE YÜZDÜRME

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında doymuş şekerli suda yüzdürme metodu ile gaitada parazit incelemesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak doymuş şekerli suda yüzdürme metodu ile parazit incelesi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 3'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Süzgeç, Pens
- Cam baget veya plastik çubuk
- Doymuş tuzlu su solüsyonu
- Dışkı örneği
- Lam-lamel
- Beher
- Doymuş şekerli su solüsyonu

Kullanılan araç gereç Görsel 7.13'te gösterilmiştir.



Görsel 7.13: Doymuş şekerli su ile yüzdürmede kullanılan araç gereç

☰ İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Fındık büyüklüğünde dışkı alınır, temiz bir kaba koyunuz .



⌚ Süre: 2 Ders
Saati



3. Üzerine bir miktar fizyolojik tuzlu su ilave edip karıştırarak süspansiyon hâline getiriniz .
Karışım homojen hâle gelince bir miktar daha tuzlu su ilave ederek iyice karıştırınız.



4. Süspansiyon çay süzgecinden başka bir kaba süzünüz.
Etrafa sıçratmamaya dikkat ediniz.



5. Bir santrifüj tüpüne süzüntüden koyunuz.

6. Tüpe, içinde bulunan süzüntü kadar doymuş şeker solüsyonu ekleyiniz.

7. Tüpün ağzına küçük bir karton parçası kapatıpparmakla batırarak tüpü altüst ediniz ve dışkı süspansiyonu ile şekerli suyun karışmasını sağlayınız.
Ağzı düz tüp kullanınız.

8. Tekrar ağzına kadar dolacak şekilde şekerli su ilave ediniz.

9. 2.000 devirde 5 dakika santrifüj ediniz.
Santrifüjün arızası hâlinde tüpü, oda ısısında bir saat bekletiniz.

10. Tüp içindeki berrak sıvı kısmı döküp tekrar doymuş şeker solüsyonu koyunuz.



11. Sıvı üzerine, yüzeye paralel olacak şekilde iki adet lamel yerleştiriniz .
Sıvı yüzeyine lamelleri özenle yerleştiriniz.



12. 15 dakika bekleyiniz.

Verilen süreye uyunuz.

13. Bir pens ile lameli tutup sıvıya batırmadan kaldırınız.

14. Temiz bir lam üzerine yerleştiriniz.

Lamelin lam üzerine alınmasından sonra kısa bir süre (2-3 dk.) içinde muayenenin yapılması gerekir, aksi hâlde lamel kenarında tuz kristalleri oluşmaya başlar bu da paraziter tanıyı güçleştirir.

15. Mikroskopta incelemeye hazır hâle getiriniz

Değerlendirme Ölçeği 3: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,5 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Uygulama için gerekli araç gereci hazırladı.				
3. Usulüne uygun olarak numuneden alarak temiz bir kaba koyup üzerine tuzlu su ekledi.				
4. Süspansiyonu çay süzgeciyle süzdü.				
5. Süzüntünün bulunduğu tüpe süzüntü kadar doymuş şekerli su ekledi.				
6. Karışımın üzerine ağzına kadar dolacak şekilde şekerli su ekledi.				
7. Karışımı 2.000 devirde 5 dakika santrifüj etti.				
8. Tüp içindeki çöküntüye şekerli su ekledi.				
9. Sıvı yüzeyine lamel yerleştirdi.				
10. 15 dakika bekledikten sonra bir pensle lameli alarak incelemeye hazır hâle getirdi.				
TOPLAM PUAN				



7.4. UYGULAMA

DOYMUŞ ÇİNKO SÜLFAT İLE YÜZDÜRME

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında doymuş çinko sülfat çözeltisinde yüzdürme metodu ile gaitada parazit incelemesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak çinko sülfat çözeltisi içinde yüzdürme metodu ile parazit incelemesi yapmanız beklenmektedir.

⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.

⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 4'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Santrifüj tüpü
- Plastik çubuk veya cam baget
- İki adet cam karıştırma kabı
- Doymuş çinko sülfat çözeltisi
- Lam-lamel
- Serum fizyolojik
- Pens
- Santrifüj
- Süzgeç

Kullanılan araç gereç Görsel 7.14'de gösterilmiştir.



Görsel 7.14: Doymuş çinko sülfat ile yüzdürmede kullanılan araç gereç

📋 İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Temiz bir kaba fındık büyüklüğünde dışkı ve 3-4 cc serum fizyolojik koyunuz.
Dışkı eriyinceye kadar karıştırma işlemini sürdürünüz.



3. Plastik çubukla eriyinceye kadar karıştırıp süspansiyon hâline getiriniz.



4. Sıvıyı, başka bir kaba süzünüz.
Dışkı eriyinceye kadar karıştırma işlemini sürdürünüz.

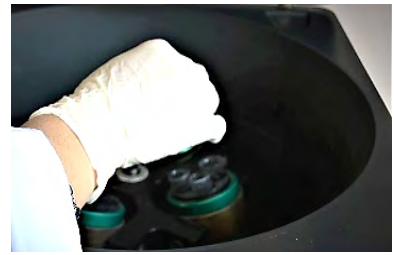


5. Süzüntüden 4 cc alıp bir santrifüj tüpüne koyunuz.
Ağız düz tüp kullanınız.



6. Tüpü, ağız kısmında 1 cm boşluk kalacak şekilde doymuş çinko sülfat eriyiğiyle doldurunuz.
Tüpü veya tüpleri santrifüje yerleştirirken karşılıklı gelecek şekilde ve eşit miktarda doldurulmasına dikkat ederek yuvalarına yerleştiriniz.

7. 5 dakika süreyle 2.000 devirde santrifüj ediniz Santrifüj devrini ve süresini doğru ayarlayınız.



8. Tüp içindeki berrak sıvı kısmı döküp tekrar doymuş çinko sülfat eriyiği koyunuz.
Doymuş çinko sülfat eriyiğini dikkatli doldurunuz.

9. Plastik çubukla karıştırırken tüpü tamamen çinko sülfat eriyiği ile doldurunuz.
Lameli hafifçe bastırarak alttan yazı okunacak şekilde ince yayınız.



10. Tüpün üzerine bir lamel kapatıp ve 2-3 dakika bekleyiniz.
Bekleme süresine uyunuz.



11. Lameli pensle alıp lam üzerine koyunuz.
12. Mikroskopta incelemeye hazır hâle getiriniz.

Değerlendirme Ölçeği 4: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,35 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Uygulama için gerekli araç gereci hazırladı.				
3. Numuneden fındık büyüklüğünde alarak temiz bir havan içine koydu.				
4. Numunenin üzerine fizyolojik tuzlu su ilave edip bagetle karıştırdı.				
5. Süspansiyonu çay süzgeciyle başka bir kaba süzdü.				
6. Santrifüj tüpüne süzüntüden 4 cc koydu.				
7. Tüpü, ağız kısmında 1cm boşluk kalacak şekilde doymuş çinko sülfat eriyiğiyle doldurdu.				
8. Süzüntüyü 2.000 devirde 5 dakika santrifüj etti.				
9. Tüp içindeki berrak sıvı kısmı döktü.				
10. Üzerine çinko sülfat eriyiği ile doldurdu.				
11. Tüpün üzerine bir lamel kapattı.				
12. 2-3 dakika bekledi.				
13. Daha sonra lameli pens yardımıyla alarak lamın üzerine koydu.				
14. Mikroskopta incelemeye hazır hâle getirdi.				
TOPLAM PUAN				

🗨 SÖZ SİZDE

Çözeltiliye giren maddelerin özgül ağırlıklarının önemi hakkındaki düşüncelerinizi arkadaşlarınızla paylaşınız.

🔗 BİLGİ NOTU

Laboratuvar çalışması bitince tüm kirli malzemeler, dayanıklı özel kaplar (çelik küvet veya kova gibi) içinde toplanmalıdır. Enfeksiyon etkenleri ile bulaşık malzemeler otoklavda steril hâle getirildikten sonra yıkanmalıdır.



7.3. ÇÖKTÜRME METODU İLE GAITADA PARAZİT İNCELEMESİ

Çöktürme (Sedimentasyon) yönteminde, özgül ağırlığı parazit gelişim formlarından daha düşük olan solüsyonlar kullanılır. Böylece bu organizmalar sedimentin içinde yoğunlaştırılmış olurlar. Sedimentasyon tekniği, genelde kullanımı ve hazırlanışı kolay olduğu için çok kullanılır. Teknik hata yapma ihtimali çok azdır.

Çöktürme yöntemiyle incelenen helminthler; *Fasciola hepatica* (Fasiyola hepatika), *Trichirus trichiura* (Trikirus triküra), *Diphyllbothrium latum* (Difiylobotriyum latum) ve *Dipylidium caninum*'dur (Dipilidyum kaninum).

7.3.1. İşlem Öncesi Hazırlıklar ve Çözelti Hazırlama

Çöktürme amaçlı (bekleterek, santrifüj yolu, kimyasallarla, Vajda yöntemi, Telemann yöntemi, modifiye benedek sedimentasyon yöntemi) birçok farklı yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin hepsinde çöktürme olmakla beraber bazılarında helmint yumurtası, larva bazılarında ise ookistlerin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Eğer amaç dışkıda helmint yumurtası aramaksa teleman yöntemi, nematod larvası aramaksa Baerman Wetzel veya Vajda yöntemi gibi metotlar kullanılmaktadır.

İş kıyafeti, eldiven, maske vb. giyilerek kişisel güvenlik önlemlerinin alınması unutulmamalıdır. Örneğin inceleme için yeterliliği kontrol edilip sonra analiz araç gereci hazırlanmalıdır.

Çöktürme yönteminde mikroskop, santrifüj, santrifüj tüpü, lam, lamel, huni, cam baget, ve ya plastik çubuk, çift katlı gazlı bez, fizyolojik tuzlu su, dışkı örneği, eter sülfür, hidroklorik asit (HCl) gibi araç gereç kullanılmaktadır.

Genellikle 3-5 g veya 3-5 pirinç tanesi büyüklüğünde dışkı, uygun bir sıvıda [Fizyolojik tuzlu su, HCl (hidroklorik asit), eter sülfirik] ezilerek süspansiyon hazırlanır.

7.3.2. Süspansiyon Hazırlama ve Süzüntü Eldesi

Çöktürme yöntemi mikroskopik bir yöntem olduğu için dışkı numunesinin mikroskopta incelenebilir hâle getirilmesi gerekmektedir. Numune öncelikle sıvı bir madde ile homojenize edilerek süspansiyon hâline getirilmektedir.

Tekniğine uygun olarak yaklaşık 3 g koyun, keçi veya 5 g sığır dışkısı alınarak uygun bir kap (tercihen havan) içine konur. Üzerine az miktarda dinlendirilmiş çeşme suyu eklenerek dışkının yumuşaması sağlanır. Sonra bir lam, baget veya havaneliyle iyice ezilir ve üzerine biraz daha su konularak iyice homojen hâle getirilerek sık gözlü bir çay süzgeciyle 250 ml'lik bir behere süzülür. Üzerine dinlendirilmiş ve içine yüzey gerilimini azaltmak için 1-2 damla sıvı deterjan damlatılmış çeşme suyu eklenir. Yaklaşık 15-20 dakika beklenir.

7.3.3. Çöktürme ve Tortu Aldırma

Acil olmayan durumlarda süspansiyonu kendi hâlinde bekletmek zaman kazandırdığından ve kullanım kolaylığından dolayı santrifüj yardımıyla çöktürme işlemi yapılabilir (Görsel 7.15).

Bekleterek çöktürme süresi süspansiyon hazırlandıktan sonra yaklaşık 15-20 dakika kadardır. Bekletme sonunda yumurta veya ookistler yer çekiminin etkisiyle dibe çökerler. Sonra dipteki tortu oynatılmadan ve dipte 1 cm yükseklikte sıvı kalacak şekilde, üsteki sıvı kısım dökülür. Üzerine tekrar su konur ve aynı işlemler üsteki sıvı kısım tamamen berrak hâle gelinceye kadar tekrarlanır. En sonunda dipteki tortu oynatılmaksızın üsteki sıvı kısım dökülür ve dipteki tortu çalkalanarak küçük bir petriye (10 x 1 cm) boşaltılır.

Eğer santrifüj yardımı ile çöktürülecekse süspansiyon, santrifüj tüpüne aktarılır. Tüpler santrifüjdeki yuvalarına karşılıklı olarak yerleştirilir. Süspansiyon, dakikada 500-1.000 devirle 2-3 dakika santrifüj edilir. *Cryptosporidium* ookistleri gibi küçük yapıları çöktürmek için dakikada 1.500-2.000 devirle 5 dakika santrifüj etmek daha yararlıdır. Üsteki sıvı (iki tabaka) bir pipetle çekilerek atılır. Dipteki sedimentten bir öze yardımıyla bir damla alınarak lamın üzerine konur.

7.3.4. Boyama ve İnceleme

Protozoonların tanımını kolaylaştırmak için taze direkt bakı preparatları geçici boyalarla boyanabilir. Bu amaçla en çok kullanılan boyalar lügol solüsyonu gibi iyotlu bo-

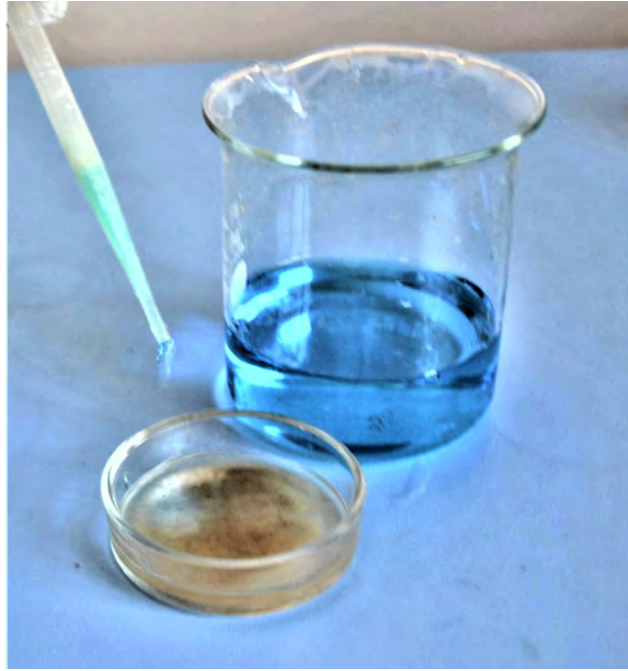
Görsel 7.15

Santrifüj yardımıyla çöktürme işlemi



yalar, MİF (Mertiolat-İyot-Formol) solüsyonu ve tamponlanmış metilen mavisidir (Görsel 7.16).

D'antoni'nin Modifiye İyot Solüsyonunu Hazırlama; 1,0 g potasyum iyodür 100 ml distile suda eritilir. Solüsyona 1,5 g iyot kristali ekleyip kırmızımsı kahverengi renk alınca ve iyot kristalleri çözünmez hâle gelinceye kadar çalkalanır (Bazı iyot kristalleri çözünmez hâlde kalır). Solüsyon kahverenkli, cam kapaklı bir şişeye süzülür ve kullanılıncaya kadar saklanır. Ancak solüsyon çabuk bozulduğundan her 10-14 günde bir hazırlanmalıdır.



Görsel 7.16: Metilen mavis

Lugol'un İyot Solüsyonunu Hazırlama; Kullanılacak maddeler (potasyum iyodür, toz hâlinde iyot kristalleri) 10 g potasyum iyodür 100 ml distile suda çözündürülür. Solüsyon doyuncaya kadar 5 g iyot kristali eklenir (Bir miktar iyot çözünmemiş olarak kalır). Solüsyon kahverengi cam kapaklı bir şişeye süzülür. Kırmızımsı-kahverengi renk olunca (3-4 haftada bir) taze solüsyon hazırlanmalıdır. Bu solüsyon stok lugol solüsyonudur ve direkt bakıda kullanılmaz. Stok lugol solüsyonundan 1 kısım alınır ve 5 kısım distile suyla sulandırılarak kullanılır. Bu solüsyon ise her hafta yenilenmelidir.

Çöktürme işlemi tamamlandıktan sonra altta biriken tortu oynatılmaksızın üst kısımda biriken sıvı dökülür veya bir pastör pipeti yardımıyla alınarak lam üzerine damlatılır.

Modifiye benedek tekniğinde dipteki tortu çalkalanarak küçük bir petriye (10 x 1 cm) boşaltılır. Üzerine birkaç damla %1'lik metilen mavis damlatılır (Yumurtalar kendi doğal renklerinde kalırken bitki parçaları maviye boyanır) ve alttan aydınlatmalı stereo mikroskopta veya şaryosu çıkarılmış ışık mikroskobunda 4X objektifle incelenir. Gerekirse petriden bir pipetle birkaç damla alınarak preparat yapılarak da incelenebilir.

Teleman yönteminde dipteki tortudan 1-2 damla alınarak lam lamel arası preparat yapılır ve mikroskopta incelenir.

SÖZ SİZDE

Paraziter organizmaların teşhisinde kullanılan materyaller hakkındaki düşüncelerinizi arkadaşlarınızla paylaşınız.

7.5. UYGULAMA

MODİFİYE BENEDEK TEKNIĞİ İLE ÇÖKTÜRME

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında Modifiye Benedek çöktürme metodu ile gaitada parazit incelemesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak Modifiye Benedek çöktürme metodu ile parazit incelemesi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 5'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Cam baget ve ya plastik çubuk
- Fizyolojik tuzlu su
- Çift katlı gazlı bez ya da çay süzgeci
- Lam-lamel
- Huni
- Dışkı örneği

Kullanılan araç gereç Görsel 7.17'de gösterilmiştir.



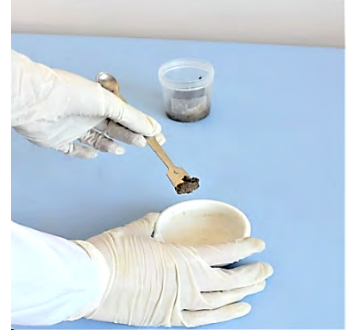
Görsel 7.17: Modifiye benedek çöktürme yönteminin araç gereci



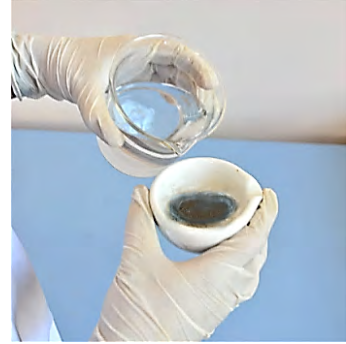
İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Dışkı örneğinden 3-5 g kadar alarak bir kaba koyunuz .
Dinlendirilmiş çeşme suyu koyunuz. Dışkı sert ise yumuşaması için suda bekletiniz.



3. Üzerine az miktarda çeşme suyu koyunuz ve bir cam baget veya plastik çubukla karıştırılarak eziniz .
İçerisinde dışkının ezilmesine uygun bir kap (tercihen havan) alınız.



4. Sık gözlü bir çay süzgeciyle 250 ml'lik bir behere süzünüz .



5. Üzerine dinlendirilmiş çeşme suyu ekleyiniz.
Yüzey gerilimini azaltmak için 1-2 damla sıvı deterjan damlatılmış çeşme suyu ekleyiniz.

6. Yaklaşık 15-20 dakika bekleyiniz.
Verilen süreye uyarak yumurta veya ookistlerin dibe çökmesini sağlayınız.

7. Üstteki sıvı kısmı dökünüz ve üzerine tekrar dinlendirilmiş çeşme suyu koyunuz.
Dipteki tortuyu oynatmadan ve dipte 1 cm yükseklikte sıvı kalacak şekilde üstteki sıvı kısmı dökünüz.
Su koyma işlemini üstteki sıvı kısım tamamen berrak hâle gelinceye kadar tekrarlayınız.



8. Dipte kalan tortuyu petri kutusuna aktarınız .

Dipte kalan tortuyu çalkalayarak küçük bir petri kutusuna (10 x 1 cm) boşaltınız.



9. Petri kutusuna birkaç damla %1'lik metilen mavisi çözeltisinden damlatınız .



10. Mikroskopta incelemeye hazır hâle getiriniz .

Alttan aydınlatmalı stereo mikroskopta veya şaryosu çıkarılmış ışık mikroskobunda 4X objektifle inceleyiniz.



Değerlendirme Ölçeği 5: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,625 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Usulüne uygun olarak 3-5 g dışkı örneği alarak havan içinde bagetle karıştırdı.				
3. Süspansiyonu süzdü.				
4. Süzüntüye dinlendirilmiş çeşme suyu su ekledi.				
5. 15 dakika bekledi.				
6. Dipte kalan tortuyu petri kutusuna koydu.				
7. Petri kutusuna birkaç damla %1'lik metilen mavisi çözeltisinden damlattı.				
8. Mikroskopta parazit araması yaptı.				
TOPLAM PUAN				



7.6. UYGULAMA

BASİT SANTRİFÜJ YOLU İLE ÇÖKTÜRME

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında basit santrifüj yoluyla çöktürme metodu ile gaitada parazit incelemesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak basit santrifüj yoluyla çöktürme yaparak parazit incelemesi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 6'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Santrifüj tüpü
- Çift katlı gazlı bez
- Fizyolojik tuzlu su
- Cam baget ve ya plastik çubuk
- Santrifüj
- Lam-lamel
- Huni
- Dışkı örneği

Kullanılan araç gereç Görsel 7.18'de gösterilmiştir.



Görsel 7.18: Basit santrifüj yoluyla çöktürme işleminde gerekli araç gereç

İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Gaita örneğinden bezelye büyüklüğü kadar alarak bir tüpe koyunuz. Preparat hazırlamak için yeterli miktarda gaita alınız.



3. Üzerine bir miktar fizyolojik tuzlu su ekleyip bir cam baget veya plastik çubukla karıştırarak eziniz.



4. Çift katlı gazlı bezden huni yardımıyla bir santrifüj tüpüne süzünüz.



5. 1.500-2.000 devirde 1-2 dakika santrifüj ediniz. Santrifüj devrini ve süresini doğru ayarlayınız.

6. Üstte kalan sıvıyı yavaşça dökünüz. Altta kalan tortuyu oynatmamaya dikkat ederek sıvıyı dökünüz.



7. Tüpün dibinde kalan sedimentten bir damla alınız.



8. Temiz bir lam üzerine koyunuz ve üstüne lamel kapatınız.



9. Mikroskopta incelemeye hazır hâle getiriniz.

Değerlendirme Ölçeği 6: Uygulama Değerlendirme Ölçeği

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Gaita örneği alarak havan içinde bagetle karıştırdı.				
3. Süspansiyonu santrifüj tüpüne süzdü.				
4. Süspansiyonu santrifüj etti.				
5. Tüpün dibinde kalan sedimentten bir damla alarak lam üzerine koydu.				
TOPLAM PUAN				

⌚ Süre: 2 Ders
Saati



7.7. UYGULAMA

TELEMANN METODU İLE ÇÖKTÜRME

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında Telemann çöktürme metodu ile gaitada parazit incelemesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak Telemann çöktürme metodu ile parazit incelesi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 7'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Santrifüj tüpü
- Hidroklorik asit (HCl)
- Santrifüj
- Lam-lamel
- Eter sülfür
- Dışkı örneği
- Cam baget veya plastik çubuk

Kullanılan araç gereç Görsel 7.19'da gösterilmiştir.



Görsel 7.19: Telemann metodu ile çöktürmede kullanılan araç gereç

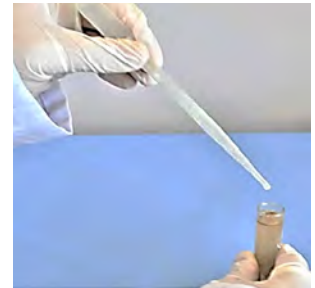
📋 İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Muayenesi yapılacak dışkının beş değişik yerinden birer piring tanesi büyüklüğünde dışkı alınız, santrifüj tüpüne koyunuz.



3. Üzerine dışkı miktarı kadar çeşme suyu koyarak homojen hâle gelinceye kadar karıştırınız.



4. Bunun üzerine, su miktarı kadar hidroklorik (HCL) asit ekleyiniz. Üzerine aynı miktarda eter sülfür ilave ediniz.



5. İyice karıştırıp bir başka santrifüj tüpüne süzünüz.

6. 2 dakika 1.500-2.000 devirde santrifüj ediniz .

Santrifüj sonunda tüpte üç tabaka görüldüğünü; en üstte yağları eritmiş olan eter tabakası, ortada albüminleri eritmiş olan hidroklorik asit tabakası, en altta da erimeyen dışkı parçaları, yumurta ve ookistlerin olduğunu unutmayınız.



7. Üsteki iki tabakayı bir pipetle çekerek atınız ve dipteki sedimentten bir damla alarak lam lamel arası preparat yapınız.
8. Mikroskopta incelemeye hazır hâle getiriniz.

Değerlendirme Ölçeği 7: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,5 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Gaita örneği alarak santrifüj tüpüne koydu.				
3. Üzerine dışkı miktarı kadar çeşme suyu koydu.				
4. Homojen hâle gelinceye kadar karıştırdı.				
5. Üzerine, su miktarı kadar hidroklorik (HCL) asit ekledi.				
6. İyice karıştırıp bir başka santrifüj tüpüne süzdü.				
7. Karışımı santrifüj etti.				
8. Üsteki iki tabakayı bir pipetle çekerek attı.				
9. Tüpün dibinde kalan sedimentten bir damla alarak lam üzerine koydu.				
10. Mikroskopta incelemeye hazır hâle getirdi.				
TOPLAM PUAN				



7.4. GÖÇ ETTİRME METODU İLE PARAZİT İNCELEMESİ

Hareketli bazı parazit larvalarını teşhis etmek diğer yöntemlerle zor olabilir. Göç ettirme yöntemi parazit larvalarının dışkıdan bulunduğu ortamdan başka bir ortama geçişinin sağlanması ve o ortamda çöken tortudan alınan numunenin incelenmesi prensibine dayanır. Suya geçen nematod larvaları değişik tekniklerle bir araya toplanır. Bu yöntemler akciğer kıl kurtlarının larvaları ve dışkı kültürü ile elde edilen larvaların dışkıdan ayrılmasında da kullanılır.

Filaroides osleri (filaroyides ozleri) ve *filarioides hirtinin* (filaroyides hirti) birinci dönem larvaları uyuşuk olduğundan dışkıdan suya göçmez ve larvalar bu teknikle görülemez. Bu nedenle bu larvalardan şüphelenildiğinde, çinko sülfatla yüzdürme yöntemi yapılmalıdır.



7.8. UYGULAMA

BAERMANN-WETZEL METODU İLE PARAZİT İNCELEMESİ

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında Bearmann Wetzel göç ettirme metodu ile gaitada parazit incelemesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak Bearmann-Wetzel metodu yoluyla parazit incelemesi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 8'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🧰 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- 12-15 cm çapında cam huni
- Sehpa veya huni tutucu
- Kauçuk veya plastik hortum
- Dışkı örneği
- Tüp
- Lam-lamel
- Gazlı bez

Kullanılan araç gereç Görsel 7.20'de gösterilmiştir.



Görsel 7.20: Bearmann Wetzel metodu araç gereci

İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Bu yöntemde önce bir düzenek hazırlayınız.



3. Bu amaçla hunilerin konabileceği bir sehpa veya huni tutucuya 12-15 cm çapında cam huni veya huniler yerleştiriniz.

Kauçuk veya plastik hortumun ucuna uyabilen küçük tüplerden takınız.

4. Bunların ucuna uygun 5-10 cm uzunluğunda kauçuk veya plastik hortum takınız. Bunların da ucuna, uygun küçük birer tüp takınız.



5. Sonra içleri tercihen ılık (25-27 °C) çeşme suyu ile $\frac{3}{4}$ oranında doldurunuz.



6. Sonra şüpheli dışkıdan 5 gram veya ceviz büyüklüğünde alıp bir gazlı bez içine koyarak çıkın hâline getiriniz.

7. Dışkı çıkını tamamı su içinde kalacak şekilde huniye yerleştiriniz .
Suyun sıcaklığının 25-27 °C'yi geçmemesine dikkat ediniz.



8. Suyun sıcaklığına göre 12 (8-24) saat süreyle bekleyiniz. Suyun ısısı düştükçe bekleme süresi uzayacağından suyun ısısına dikkat ediniz ve gerektiğinde süreyi artırırsınız
9. Sürenin bitiminde, dışkı çıkını atıldıktan sonra kauçuk hortumun ortasından tutarak üst kısımdaki sıvıyı dökünüz ve tüpü çıkarınız.

10. Tüpün üst kısmındaki sıvının $\frac{3}{4}$ 'ünü boşaltınız.



11. Dipteki tortudan bir damla alarak lam lamel arası preparat yapınız.



12. 10X büyütmeli objektifle parazit larvaları arayınız.

Değerlendirme Ölçeği 8: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,416 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Uygulama için gerekli araç gereci hazırladı.				
3. Sehpaya huni tutucu ve tüp tutucu taktı.				
4. Cam huninin ucuna hortum takarak hortumun ucuna da bir tüp taktı.				
5. Hazırlanan düzeneği sehpadaki tutucuya yerleştirdi.				
6. İçlerine $\frac{3}{4}$ oranında ılık su ile doldurdu.				
7. Gaitayı gazlı bez içine koyarak çıkın hâline getirdi.				
8. Dışkı çıkını tamamı su içinde kalacak şekilde huniye yerleştirdi.				
9. Dışkı çıkını tamamı su içinde kalacak şekilde huniye yerleştirdi.				
10. Dışkı çıkını attıktan sonra kauçuk hortumun ortasından tutarak üst kısımdaki sıvıyı döküp tüpü çıkardı.				
11. Dipteki tortudan bir damla alarak lam lamel arası preparat yaptı.				
12. 10X büyütmeli objektifle mikroskopta parazit larvaları aradı.				
TOPLAM PUAN				



7.9. UYGULAMA

HARADA VE MORİNİN DENEY TÜPÜNE EKME METODU

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında göç ettirme metodu ile gaitada parazit incelemesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak Harada Morinin deney tüpüne ekim yaparak parazit incelesi yapmanız beklenmektedir.

⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.

⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 9'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Süzgeç kâğıdı
- Deney tüpü (20 x 200 mm)
- Dışkı örneği
- Lam-lamel
- Selofan
- Terazi

Kullanılan araç gereç Görsel 7.21'de gösterilmiştir.



Görsel 7.21: Harada ve Morinin metodunda kullanılan araç gereç



İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. Bir deney tüpüne 5 ml kaynamış çeşme suyu koyunuz. Dışkının taze olmasına dikkat ediniz.

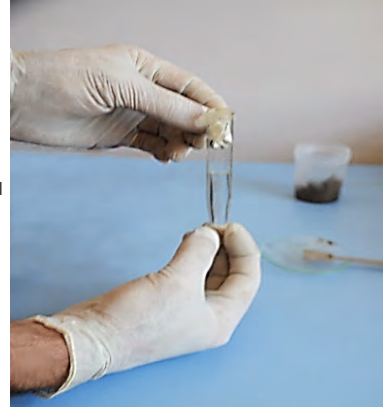


3. Süzgeç kâğıdını 2 cm çapında kesiniz. Taze dışkı buzdolabına konmamış ve serbest nematodlarla kontamine olmamış olmasına dikkat ediniz.

4. Taze dışkıdan (buzdolabına konmamış ve serbest nematodlarla kontamine olmamış.) 0,5 g tartarak süzgeç kâğıdının üzerine sürünüz.



5. Dışkı sürülen süzgeç kâğıdı, su sütunuyla arada mesafe bırakarak dışkı suyla temas etmeyecek şekilde tüpe yerleştiriniz.



6. Tüpün ağzını selafonla kapatınız. Çevre temizliğine dikkat ediniz.

7. Tüpü, 25-28 °C'de 7-10 gün inkübe ediniz.

8. Tüpün dibindeki sıvıdan 1 damla lam üzerine koyunuz.

9. Lamel ile kapatınız .



10. Mikroskopta parazit larvaları arayınız.
Sonucu rapor ediniz.

Değerlendirme Ölçeği 9: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,625 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Deney tüpüne kaynamış çeşme suyu koydu.				
2. Süzgeç kâğıdını 2 cm çapında kesti.				
3. Dışkıdan süzgeç kâğıdının üzerine sürdü.				
4. Süzgeç kâğıdını usulüne uygun bir şekilde tüpe yerleştirdi.				
5. Tüpün ağzını telefon bantla kapattı.				
6. Tüpü inkübatöre yerleştirdi.				
7. İnkübasyon süresi sonunda tüpün dibindeki sıvıdan bir damla lam üzerine koydu.				
8. Mikroskopta parazit larvaları aradı.				
TOPLAM PUAN				



7.5. PARAZİT YUMURTA SAYIMI

Dışkı (gaita, feçes), metabolizma atık ürünü olup bağırsak enfeksiyonlarının teşhisinde en çok kullanılan örneklerden biridir

Dışkıda parazit yumurtaları veya larvaların varlığının saptanması, bir hayvanın parazitlerle enfekte olduğunu gösterir. Dışkıda parazit yumurtaları sayımı, bir kantitatif flotasyon metodudur. Günümüzde kantitatif metotların geliştirilmesinde önemli bir ilerleme olmuştur ancak dışkı yumurta sayımlarından yararlanılarak hayvanlardaki parazit miktarı tam olarak belirlenememektedir.

Bunun yanında; deneysel çalışmalarda ve araştırmalarda, daha önce durumu bilinen hayvanların dışkılarında bir seri sayımlar veya sayım karşılaştırmaları yapılarak hayvanlardaki parazit miktarı ya da konakçının parazitlere karşı reaksiyonu hakkında önemli oranda bilgi verir. Ayrıca, parazit yumurta sayımı sonucuyla helmintiasis (solucan enfestasyonundan ileri gelen herhangi bir hastalık) tanısı da konabilir. Yalnız burada, gaitada çok sayıda yumurta ya da larva görülmesi bir tanıyı doğrulasa da yumurta ya da larvanın az sayıda olması veya yokluğu da hastalık olmaması anlamına gelmez.

7.5.1. Parazit Yumurtası Sayım Metotları ve Önemi

Dışkıda yumurta sayımı, klinik araştırmalar bakımından önemlidir; ilaç kullanımlarından önce ve sonra yapılarak ilaç kullanımlarının başarısını değerlendirmede veya ilaca dirençli organizmaların tespitinde önemli rol oynar.

Stoll yumurta sayım metodu, Modifiye Wiskonsin Yumurta Sayım Metodu, McMaster Yumurta Sayım Metodu ve Moredun Yumurta Sayım Metodu vb. metotlar ile parazit yumurta sayımı yapılır. Ancak en yaygın kullanılan metot, McMaster Yumurta Sayım Metodu'dur.

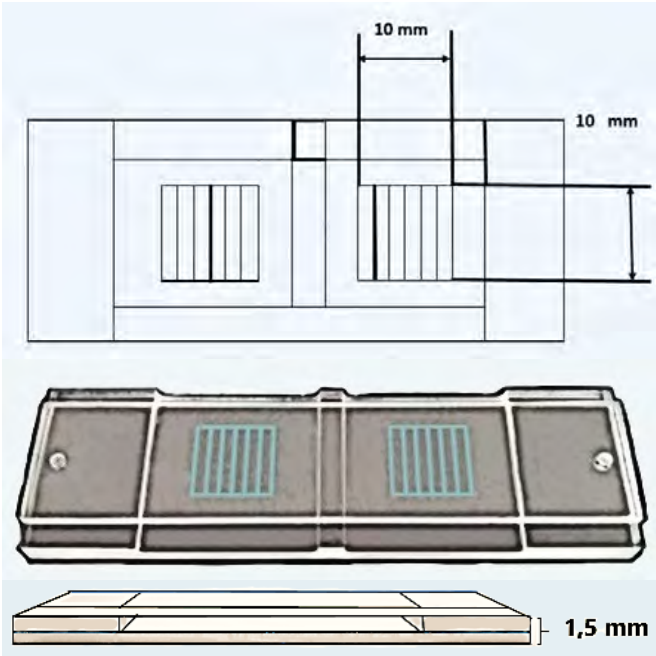
Dışkı örneği alınırken uyulması gereken noktalar şunlardır:

- Dışkı örneği at, sığır gibi büyük hayvanlarda eldiven giyilmiş ve kayganlaştırılmış bir elle direkt rektumdan alınır. Koyun, keçi gibi hayvanlarda da yine eldivenle fakat işaret parmağı ile rektumdan alınır. Kedi, köpek ve kanatlı gibi küçük hayvanlarda ise ucu yuvarlak bir cam bağıtle dışkı alınır.
- Alınacak dışkı, sığırlarda 50 gram, koyunlarda 10 gram, diğer küçük hayvanlarda ise 5 gramdan az olmamalıdır. Sürü muayenelerinde ise sürüyü teşkil edecek şekilde örnekleme yöntemine başvurulur. Dışkı alırken hayvanlara yaklaşılmıyorsa veya dışkı alınamıyorsa hayvan barınağından toprak ve idrarla bulaşmamış taze örneklerin alınmasına özen gösterilir.
- Dışkı almadan önce hayvanların beslenme biçimi, ilaç (antibiyotik, ishal kesici ilaçlar gibi) kullanılıp kullanılmadığı gibi konular araştırılır. İlaç alınması durumunda parazitik organizmalar bir veya birkaç hafta saptanamaz ve şekilleri son derece bozuk bir hâlde görülebilir.
- Dışkı örneği; vidalı kapaklı kap, plastik kutu, cam şişe, cam kavanoz veya naylon torba ile soğutucu içerisinde laboratuvara getirilir. Alınan numunenin veya numune kabının üzerine hayvan sahibinin adı, adresi, telefon; hayvanın yaş, cins, ırk gibi özellikleri, şüphelenilen hastalıklar ve dışkıya herhangi bir işlem yapıp yapılmadığı yazılır.

- Dışkı örneklerinin incelenmesinde zaman önemli bir faktördür. Sulu dışkıları, dışkılamadan sonraki ilk 30 dakika içinde incelenir. Şekli dışkıları, daha uzun süre içinde incelenir. Dışkı örneği, hemen incelenemeyecekse %10'luk formol, glasiyal asetik asit solüsyonu, alkollü gliserin solüsyonu, poli vinil alkol (PVA) gibi koruyucu solüsyon içinde ve dışkı kabının kapağı iyice kapatılarak 4 °C'de buzdolabında saklanır.
- Parazitlerin kendileri veya gelişme şekilleri zarar göreceğinden dışkı buzlukta, derin dondurucu ve inkübatörde saklanmaz.

7.5.2. Master Metoduyla Parazit Yumurtaları Sayımı

Pek çok yumurta ve larva bazı tuz solüsyonlarında yüzer fakat dışkı parçacıkları genelde yüzeye çıkamaz. Bu teknik, dışkı örneğinin tuzlu sudaki süspansiyonuyla doldurulmuş özel McMaster sayım kamerası kullanılarak yapılır. Dışkı parçacıkları bu sayım kamerasının tabanına çökerken yumurtalar üst camın hemen altında yüzer ve yüzen bu yumurtalar incelenir.



McMaster lamı birine paralel iki lamdan oluşur (Görsel 7.22). Üzerinde, her birinin derinliği (veya yüksekliği) 1,5 mm olan iki kuyucuk (göz, oda) bulunur. Her kuyucuğun üst kısmında 10 x 10 mm boyutlarında lama kazınmış bir kare bulunur. Bu nedenle her bir işaretli kuyucuğun içinde 0,15 cm³'lük bir hacim vardır. Yani işaretli kısımda 0,15 ml sıvı vardır. Sayım lamı kullanılırken incelenecek dışkı süspansiyonu, kuyucuklar dolana kadar aktarılır. Mikroskobun küçük objektifi ile her bir karenin tamamında görülen yumurtalar sayılır.

Görsel 7.22: McMaster laminanın üstten ve yandan görünüşleri

➡ BİLGİ NOTU

Doymuş Tuzlu Su Çözeltisi: 1 litre çeşme suyu alınır. 377 gram sofratuzu tartılır. Su ısıtılır, kaynama derecesine gelmeden içine tartılmış sofratuzunun 1/4'ü konur. Kaynamaya başlayınca, ikinci 1/4'i konur. Birkaç dakika sonra üçüncü 1/4'i eklenir. Nihayet 1-2 dakika sonra da son kalan 1/4'ü ilave edilir. Her seferinde bir cam bagetle karıştırılır. Tuz moleküllerinin artık erimediği ve çöktüğü görülür. Kabin dibindeki erimemiş tuzun tamamen çökmesi için 24 saat bekletilir. Süzgeç kâğıdından temiz bir şişeye süzülür. Daha önceden hazırlanmış ve bekletilmiş çözeltileri kullanmak iyi sonuç verir.

7.10. UYGULAMA

MASTER METODUYLA PARAZİT YUMURTALARI SAYIMI

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında master metodu ile yumurta sayımı yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak Master metodu ile yumurta sayımı yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 10'da verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🔧 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Cam kavanoz
- Cam boncuk
- Pastör pipeti
- McMaster lamı
- Beher
- Süzgeç (0,15 mm)
- Dışkı örneği

Kullanılan araç gereç Görsel 7.23'te gösterilmiştir.



Görsel 7.23: Master metodu yumurta sayımı araç gereci

☰ İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

2. 3 gram dışkı örneği alınıp bir kaba koyunuz. Üzerine 42 ml doymuş tuzlu su ilave ediniz.



⌚ Süre: 2 Ders
Saati



3. Bu karışımı, içinde 15 adet büyük 15 adet küçük cam boncuk bulunan 100 ml'lik bir kavanoza koyunuz.



4. Kavanozun ağzını sıkıca kapatıp dışkı homojenize olana kadar çalkalayarak karıştırınız.



5. Karışım, sık gözlü bir çay süzgeç ya da elekten (250-300 μ m) bir behere süzünüz. Süzgeçte kalan atıkları atınız (Cam boncuk temizlenip tekrar kullanılabilir.).



6. Süzüntü iyice karıştırıp 10-15 ml'sini alarak bir santrifüj tüpüne, tüpün üstünde 1 cm'lik bir boşluk kalacak şekilde aktarınız.



7. Tüpü, 1.500 devirde 2 dakika santrifüj ediniz.



8. Santrifüjün sonunda dipteki tortuyu oynatmadan üsteki sıvı kısmı döküp tortuyu vorteks veya ince bir tel yardımıyla oynatınız.



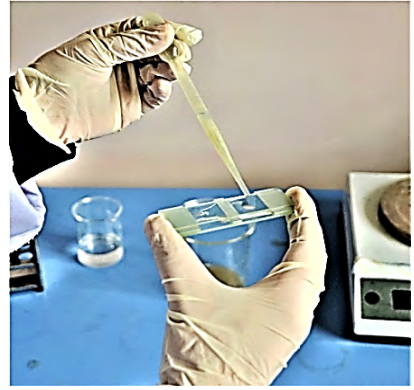
9. Sediment üstüne, önce az miktarda sonra 15 ml'ye tamamlayıncaya kadar doymuş tuzlu su ekleyiniz.



10. Tüpü, baş ve orta parmak arasına alıp beş altı kez alt üst ederek karıştırınız.



11. Hemen pastör pipeti ile çekiniz. McMaster sayım lamininin kuyucuklarına doldurunuz (Her bir kuyucuk yaklaşık 0,2 ml alır.).

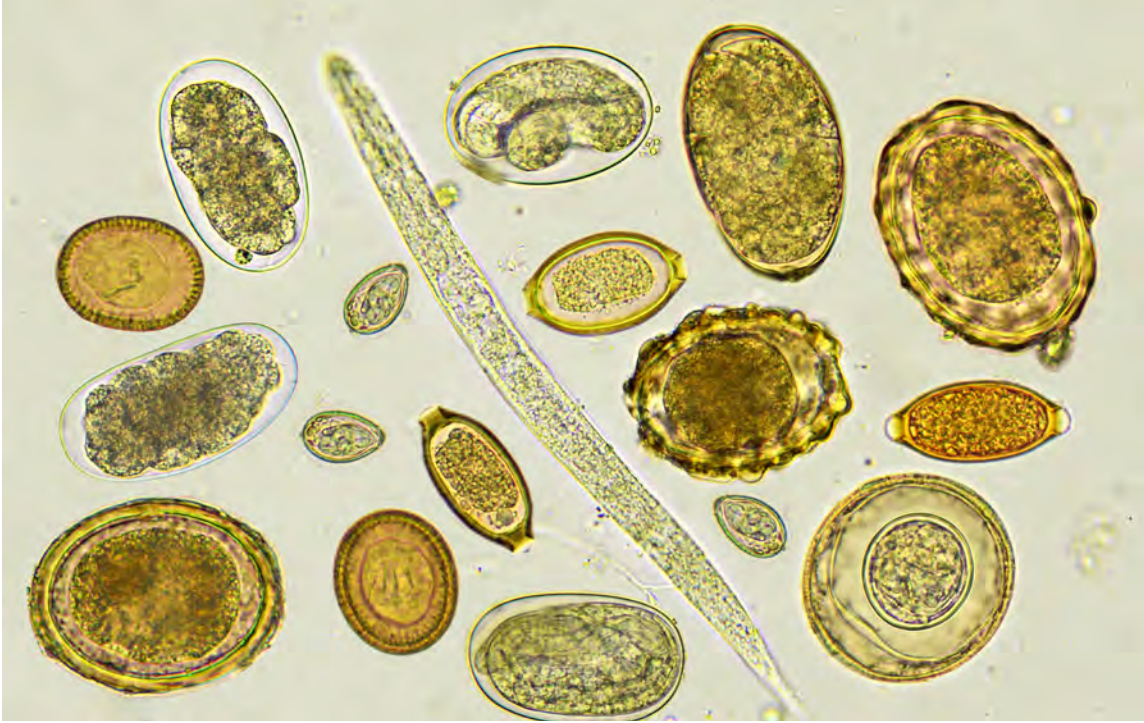


12. McMaster lamı, mikroskop altına yerleştiriniz ve 2-3 dakika yumurtaların solüsyon yüzeyine çıkması için bekleyiniz. Bu teknikte dışkı suyla ön yıkama işlemine tabi tutulduğundan görüntünün daha berrak olmasına dikkat ediniz.

13. Her iki gözde (kuyucukta) kare içinde bulunan tüm yumurtaları veya ookistleri 10X büyütme objektifle sayınız.

14. İki karedeki yumurtaların toplam sayısını 50 ile çarparak 1 gram dışkıdaki yumurta sayısını (e.p.g.) belirleyiniz. Sonucu rapor ediniz.

Bazı parazitlerin yumurtaları Görsel 7.24'te verilmiştir.



Görsel 7.24: Bazı parazit yumurtaları

Değerlendirme Ölçeği 10: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,45 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. Dışkı örneğini alınıp bir kaba koydu.				
2. Sulandırılan dışkıyı içinde cam boncuk bulunan bir kavanoza koydu.				
3. Kavanozu çalkalayarak dışkıyı karıştırdı.				
4. Karışımı çay süzgeci ile bir behere süzdü.				
5. Süzüntüyü santrifüj tüpüne aktardı.				
6. Tüpü santrifüj etti.				
7. Tüpün dibindeki tortuyu oynatmadan üstteki sıvıyı döktü.				
8. Tüpün üstüne tuzlu su ekleyerek alt üst yaptı.				
9. Elde edilen sıvıdan pastör pipeti ile çekip mcmaster laminin çukurlarına doldurdu.				
10. Lami mikroskop altına yerleştirip parazit yumurtası saydı.				
11. Sayılan yumurta sayısını 50 ile çarparak 1 g dışkıdaki yumurta sayısını hesapladı.				
TOPLAM PUAN				



ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A) Aşağıda verilmiş olan cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise (D), yanlış ise (Y) yazınız.

1. (.....) Canlı bir organizmanın içinde veya üzerinde, bütün yaşamı boyunca veya yaşamının bir döneminde besin ve yer bulabilen bu canlılara **konak** adı verilir.
2. (.....) Parazitleri, yaşamlarının bir döneminde veya bütününde onların yaşaması için gerekli besin ortamını sağlayan canlıya ise **metazoa** denir.
3. (.....) Protozoalar, tek hücreli bir yapıda olmalarına rağmen yaşamları için gerekli birçok görevi yapma özelliğine sahiptir.
4. (.....) Bir canlının, kendisinden daha büyük olan bir canlının üzerinde veya içinde, birbirleriyle karşılıklı veya tek taraflı bağımlılık ilişkisi kurması simbiyotik bir ilişki değildir.
5. (.....) Bir parazitin erişkin ya da eşeyli üreyen şeklini barındıran konağa **son konak** denir.

B) Aşağıda verilen cümlelerde boş bırakılan yerleri doğru ifadeyle tamamlayınız.

6. Vücut yüzeyleri pelikula adı verilen çadırımsı yapılar ile örtülü protozoonlar olarak adlandırılır.
7. Helmintler, ... (erkek ve dişi üreme organlarının aynı birey üzerinde bulunması), erkek ve dişinin çiftleşmesi ve pedogenezis yollarından biri ile çoğalmaktadır.
8. Vücutları sert bir kitin tabakası ile örtülü dünyadaki en kalabalık hayvan gruplarının içinde yer alırlar.
9. Birlikte yaşayan iki canlının birbirine bağlı olarak ve karşılıklı birbirlerine yarar sağlayarak yaşamasına denir.
10. Parazitolojik incelemelerde, kullanılacak dışkı mutlaka taze ve dış ortam ile temas etmemiş olmalı ve mümkünse hayvanın alınması en doğru olanıdır.
11. Dışkı örneği; kapaklı kap, plastik kutu veya sızmayacak, akmayacak naylon torba ile soğutucu içinde gönderilir.
12. Dışkı örneği hemen incelemeyecekse saklanır.
13. Flotasyon yöntemi ile parazit aranması yoğunluğu yüksek, doymuş sıvılar kullanılarak yumurta, kist veya larva gibi parazitin gelişim formlarının toplanması esasına dayanır.

C) Aşağıda verilen çoktan seçmeli sorularda doğru seçeneği işaretleyiniz.

14. Aşağıdakilerden hangisi yüzdürme yöntemi ile parazit incelemelerinden biridir?

- A) Doymuş tuzlu su ile
- B) Modifiye Benedek yöntemi
- C) Teleman yöntemi
- D) Basit santrifüj yöntemi
- E) Bearmann-Wetzel yöntemi

15. Aşağıdakilerden hangisi göç ettirme yöntemi ile parazit incelemelerinden biridir?

- A) Teleman yöntemi
- B) Modifiye Benedek
- C) Basit santrifüj yöntemi
- D) Doymuş çinko sülfat çözeltisi ile
- E) Bearmann-Wetzel yöntemi

16. Aşağıdakilerden hangisi yumurta sayımında kullanılan lamdır?

- A) Thoma lamı
- B) McMaster lamı
- C) Nagette lamı
- D) Rodajlı lam
- E) Howard lamı

17. Aşağıdaki seçeneklerden hangisi genç bir sığırdan alınması gereken gaita numunesi miktarıdır?

- A) 3-5 g
- B) 5-10 g
- C) 15-20 g
- D) 25-30 g
- E) 20-35 g

DOKU VE ORGANLARDA PARAZİTOLOJİK İNCELEME

ÖĞRENME BİRİMİ



https://www.eba.gov.tr/c?q=U55086_e36851e8

KONULAR

- 8.1. KANDA NATİF METOT İLE PARAZİT ARANMASI
- 8.2. KANDAN GİEMSA BOYAMA METODU İLE PARAZİT ARANMASI
- 8.3. DERİ KAZINTISINDA UYUZ ETKENİ ARANMASI
- 8.4. KARACİĞER, AKCİĞER VE BAĞIRSAKLARDA PARAZİT ARANMASI

Neler Öğreneceksiniz

- ▶ Kan dokusunda natif yöntemle kan parazitlerini arama
- ▶ Kan dokusundan giemsa boyama yöntemiyle hazırladığı preparatta parazitolojik inceleme yapma
- ▶ Deri kazıntısından flotasyon, sedimentasyon ve vajda yöntemleriyle preparat hazırlayarak uyuz etkenlerini arama
- ▶ Karaciğer, akciğer ve bağırsaklarda makroskobik olarak parazitin olgun şeklini veya larvasını arama

Temel Kavramlar

giemsa, kan parazitleri, taze bakı, fizyolojik tuzlu su, vazelin, froti, ince yayma, kalın yayma, distile su, lam, lamel, uyuz, deri kazıntısı, iç parazitler

Hazırlık Çalışmaları

1. Kanın genel yapısı ve önemi hakkındaki fikirlerinizi arkadaşlarınızla paylaşınız.
2. Bir parazitoloji laboratuvarına giderek kan parazitleri ve kanda parazit arama yöntemleri hakkında bilgi edininiz.
3. Parazitoloji laboratuvarına giderek yayma preparat hazırlama ve Giemsa ile boyama tekniklerini izleyiniz.
4. Parazitoloji laboratuvarına giderek uyuz hastalığı ve etkeni hakkında bilgi edininiz.
5. Parazitolojik inceleme için karaciğer, akciğer ve bağırsaklarda görülen parazitler hakkında kaynak kitap, dergi ve genel ağ sitelerini inceleyiniz.

8.1. KANDA NATİF METOT İLE PARAZİT ARANMASI

Kan, damar ağı içinde yaşamsal faaliyetler için gerekli olan besin öğeleri, atık maddeler ve oksijen gibi unsurları taşıyan kırmızı renkli hayati bir sıvıdır. Kan dolaşımındaki herhangi bir aksama performans düşüklüğü yanında ölüme kadar giden sonuçlara sebebiyet verebilir.

Kan parazitleri, doku ve organlarda ciddi hasar ve hastalıklara neden olabilirler. Doku ve dokulara yerleşen parazitlerin tanısında kan örneğinin doğru toplanması ve analiz edilmesi önemlidir. Bu parazitlerin incelenmesinde kan örneklerinin yanı sıra beyin omurilik sıvısı, peritonal sıvı, doku ve organlardan alınan sıvı ve biyopsi ile alınan örnekler kullanılır. Paraziter yönden kan muayenesi parazitler etkenlerin kendilerini görerek ve kanda antijen veya antikor saptanmasıyla iki şekilde yapılır.

8.1.1. Önemli Parazitler ve Yaptıkları Hastalıklar

Parazitlerden bazıları kan hücrelerine yerleşerek hastalıklara neden olurken bazıları da kan damarlarını yol olarak kullanıp uygun doku veya organı seçerek orada hastalık meydana getirebilmektedir. Tablo 8.1'de bazı parazit türleri ve yaptıkları hastalıklar görülmektedir.

Tablo: 8.1 : Kan ve Dokulara Yerleşmiş Olan Parazitlerden Bazıları ve Yaptıkları Hastalıklar

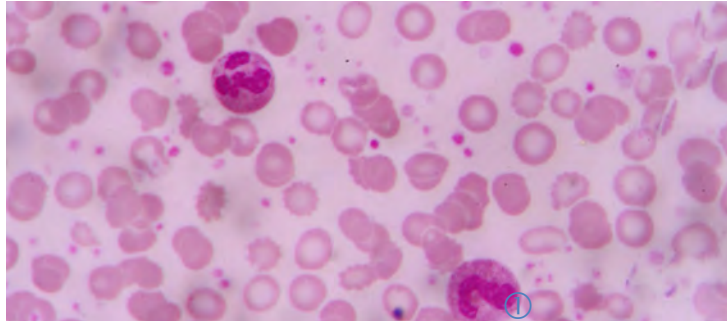
PARAZİT TÜRLERİ	YAPTIKLARI HASTALIKLAR
Plasmodium (Plazmodyum) Türleri	Malaria-Malariasis (Sıtma)
Trypanosoma (Tripanozoma) Türleri	Trypanosomiasis
Babesia (Babezya) Türleri	Babesiosis (Hayvan Sıtması)
Theileria (Taylerya) Türleri	Theileriosis
Toxoplasma Gondii	Toxoplasmosis
Leishmania (Leysmany) Türleri	Leishmaniasis
Wuchereria (Vukererya) Türleri	Elephantiasis (Fil Hastalığı, İnsanlarda Görülür)
Schistosoma (Skistozoma) Türleri	Schistosomiasis (İnsanlarda Görülür)

▼ Plasmodium

Plasmodium türleri, eritrositler içinde yaşayan *Apicomplexa* (apikompleksa) şubesine ait tek hücreli zorunlu hücre içi parazittir. İnsanlarda meydana getirdiği paraziter hastalığa malaria (sıtma) adı verilir.

Sıtma, çok eski yıllardan beri görülen bir hastalıktır; epidemilere (salgınlara), kitlesel ölümlere ve hatta medeniyetlerin yok olmasına neden olmuştur. Sıtma eradike edilmeye (kökünden kazımaya) çalışılmışsa da günümüzde yeniden görülmeye başlanmıştır. Plasmodium cinsinde insanda hastalık yapan *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malaria*, *Plasmodium ovale* ve *Plasmodium vivax* olmak üzere dört tür vardır.

Plasmodium Vivax : İnsanlarda tertiana (tersiyana) adı verilen sıtmaya neden olur. Türkiye'de genel olarak *Plasmodium vivax*'ın (Görsel 8.1) yaptığı sıtma hastalığı görülür. Kan emerek beslenen Anofel cinsi dişi sivrisinek, Plasmodium'ları biyolojik olarak bulaştırır. Erkek sivrisinekler ise kan ile beslenmez, bitki özümüyle beslenir. Plasmodium'ların plasenta yoluyla bulaşması da mümkündür. Plasmodium'lar hamile anneden fetüse geçer; fetüs ölümlerine, düşüklere, erken doğuma ve yeni doğan sıtmasına neden olur. Plasmodium'ları taşıyanlardan yapılan kan transfüzyonuyla ve kullanılan kirli enjektörle de etken bulaşır. Etkenin vücuda girmesinden, ilk hastalık belirtilerinin görüldüğü zamana kadar geçen süre yani kuluçka süresi Plasmodium türlerine göre farklıdır. *Plasmodium vivax*'ta bu süre 12-14 gündür.



Görsel 8.1: Plasmodium vivax

- **Konakları** Plasmodium'ların kesin konağı Anofel cinsi sivrisinek, arakonakçıları ise insan ve omurgalı hayvanlardır.
- **Laboratuvar Teşhisi** Sıtmada tanı için periferik kandan ince ve kalın damla preparatı hazırlanır ve boyanır. Boyalı preparatın mikroskopik inceleme-sinde Plasmodiumun değişik formlarının görülmesiyle tanı konur.

▼ Babesia

Plasmodiumlar gibi protozoaların Sporozoa grubundandır. Babesiaların birçok türü vardır ve bunlar sığır, kemirici, koyun, keçi, domuz, köpek, kuş vb. hayvanlarda görülür. *Babesia microti*, *Babesia bovis* ve *Babesia divergens* gibi türleri vardır. Yaptığı hastalığa *babesiosis* (babesioz, piroplazmoz) adı verilir. Babesialar, hayvan sıtmasına neden olur, insanlarda da görülür. Sığır ve kemiricilerden insanlara sert kenelerle bulaşır. Babesialar, Plasmodiumlardan sonra kan transfüzyonuyla insanlara en sık bulaşan parazittir.

- **Konakları** Kesin konağı keneler, arakonakçıları ise insan ve hayvanlardır.
- **Laboratuvar Teşhisi** Plasmodiumlar gibi kan yaymalarının mikroskopik inceleme-siyle tanı konur. Preparat, Giemsayla boyandığında sıtma parazitlerinden sıtma pigmentinin (hemozoin) olmaması ile ayrılır. Hayvanlarda görülen babesiosisin laboratuvar teşhisi aynı şekilde konur.

▼ Theileria

Hayvanlarda yaşayan bir kan protozoonudur. *Theileria annulata*, *Theileria equi*, *Theileria hirci*, *Theileria ovis* gibi türleri vardır. Theileria sığır, koyun, keçi, at, eşek, katır, kemiriciler ve zebra gibi hayvanlarda hastalık oluşturur. Theileria'nın neden olduğu hastalığa **theileriosis** adı verilir.

Tropikal theileriosiste etken, zorunlu intrasellüler (hücre içi) protozoer bir parazit olan *Theileria annulata*, özellikle sığırlarda yaşar. Kan ve lenf dokularında hastalık yapar ve sığırlarda ciddi kayıplara neden olur.

► Konakları	Sığır, koyun, keçi, at, eşek, katır ve zebra gibi hayvanlar son konak, keneler ara konaktır.
► Laboratuvar Teşhisi	Akut enfeksiyona neden olan etkenle ve yapılan kan frotilerinde görülmesiyle tanı konur. ELISA, IFAT vb. serolojik testlerle de tanıya gidilir.

▼ Toxoplasma

Toxoplasma'nın tek türü vardır. O da *Toxoplasma gondii*'dir. Zorunlu hücre içi paraziti olan *Toxoplasma gondii* (Görsel 8.2), tüm dünyada yaygın olarak görülen bir protozondur. Bu parazit tüm omurgalı canlıları ve nükleusu bulunan hemen hemen tüm hücreleri enfekte eder. Gebeliğin erken döneminde enfeksiyon oluşursa genellikle gebelik abortusla (düşük) sonuçlanır. İnsan ve hayvanlarda meydana getirdiği paraziter hastalığa *toxoplazmoz* veya *toxoplasmosis* adı verilir. Parazitin; takizoit, doku kisti (bradizoit) ve ookist olmak üzere üç ayrı formu vardır.

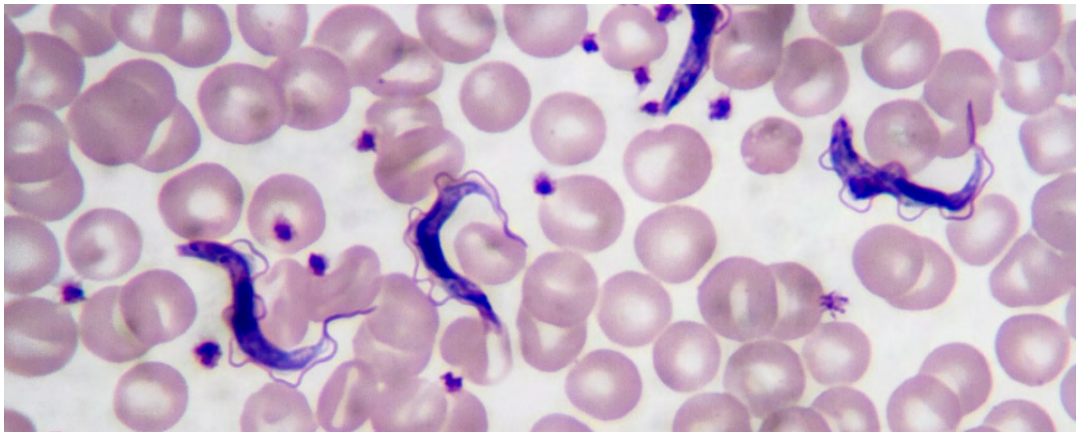


Görsel 8.2: *Toxoplasma gondii*

1. Takizoit	Ortalama 3-7 mikron uzunlukta, 2-4 mikron enindedir. Giemsa veya Wright boyası ile son derece iyi boyanmaktadır.
2. Doku Kistleri	İçlerinde 100'e yakın bradizoit bulundurur. Büyüklükleri ortalama 20-40 mikron kadardır. Wright-Giemsa, Gomori'nin methamine silver ve immunoperoksidaz boyaları ile iyi boyanırlar.
3. Ookistler	Kesin konak olan kedilerin, vaşakların ve bazı kedigillerin dışkı-sında bulunur. Oval, 11-14 mikron x 9-11 mikron büyüklüğünde olup iki katlı bir duvarla çevrilidir.
► Konakları	Kesin konak kedi ve kedigillerdir. Arakonakçısı 200 kadar kuş türü ve içinde insanın da bulunduğu memelilerdir.
► Laboratuvar Teşhisi	Direkt ve indirekt teşhis metotları kullanılmaktadır. • Direkt Metotlar: Taze ve boyalı preparatların incelenmesiyle yapılır. Bu yöntem için kan, BOS, vaginal akıntı veya balgam örneği kullanılır. Giemsa boyasıyla hazırlanan yayma preparatların incelenmesi sonucu çeşitli formların görülmesiyle etken teşhis edilir. • İndirekt Metotlar: En iyi sonuç veren metotlardır. Sabin-Feldman boya testi en çok kullanılan metottur. Bundan başka kompleman birleşmesi testi, hemaglutinasyon, presipitasyon, floresan antikor tekniği ve deri testleri kullanılmaktadır.

▼ Trypanosomiasis

Bu hastalık kamçılılardan *Trypanosoma* (tripanozoma) türlerinin neden olduğu parazitozudur. *Trypanosoma* türleri omurgalılarda yaşar. *Trypanosoma cruzi* neden olduğu *Chagas hastalığı* (Amerikan trypanosomiasis) Güney ve Orta Amerika'da görülür. Oldukça sık rastlanılan *Trypanosoma brucei gambiense* [batı (Görsel 8.3)] ve *Trypanosoma b. rhodesiense* (doğu) neden olduğu **Afrika uyku hastalığı** (Afrika Trypanosomiasisi) Batı ve Doğu Afrika'da görülür.



Görsel 8.3: *Trypanosoma gambiense*

► Konakları

Trypanosoma cruzi kesin konak insan ve kedi, köpek gibi diğer omurgalılarıdır. Arakonakçısı tahtakurularıdır. *Trypanosoma b. gambiense* ve *Trypanosoma b. rhodesiense* türlerinde kesin konak insan; arakonakçısı çeçe sineğidir.

► Laboratuvar Teşhisi

Akut enfeksiyona neden olan etkenler, yapılan kan frotilerinde görülerek tanı konur. Ayrıca lenf aspirasyonu, kemik iliği ve BOS'tan (Beyin omurilik sıvısı) da (ilk 10 dakikada santrifüj edilerek elde edilen sedimentten) frotiler yapılır. Giemsa ve Wright boyalarıyla boyanarak incelenir serolojik testlerle de tanıya gidilir.

↔ BİLGİ NOTU

Natif yöntemle yani direkt bakı kan preparatı hazırlayarak (boyamadan) bazı kan parazitlerini incelemek mümkündür.

8.3.1. Kan Parazitlerinin Tanı Yöntemleri

Kan parazitlerinin tanısında, çoğunlukla insanlarda parmak ucundan, hayvanlar için kuyruk veya kulak ucundan kesit açılarak kapiller yöntemle kan örnekleri alınıp kullanılır. Venöz kan alma yöntemiyle alınan kan örnekleri, filaryalar ve trypanosomiasis tanısında testlerde kullanılır. Bazılarında ise antikoagülanlı kan örnekleri kullanılmaz. Örneğin, Plasmodiumların morfolojilerinde ve boyanma özelliklerinde değişikliğe neden olduğu için pek tercih edilmez.

Kanda yaşayan *Trypanosoma* ve *mikrofilarya* gibi parazitler, hareketli olduklarından boyanmadan direkt incelenir. Yine kanda yaşayan *Plasmodium falciparum*'un gametositleri de boyamadan kanda görülebilir. Bunun için direkt kan preparatı hazırlanır.

Direkt kan preparatı hazırlanması için ruminant ve tek tırnaklılarda vena jugularisten; köpek ve kedilerde vena cephalica antibrachiiden veya vena sephena externadan antikoagülanlı (heparinli veya EDTA'lı) tüplere kan alınır.

8.1. UYGULAMA

KANDA NATİF METOT İLE PARAZİT ARAMASI

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında natif metot (taze bakı) ile kanda parazit muayenesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak natif metot ile kanda parazit incelemesi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 1'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

🩺 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Kan örneği
- Fizyolojik tuzlu su
- Lam, Lamel
- Vazelin

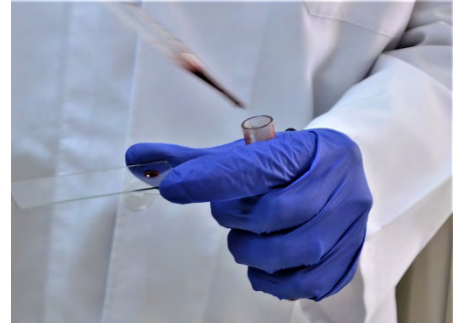
Kullanılan araç gereç Görsel 8.4'te gösterilmiştir. İşlem Basamakları



Görsel 8.4: Natif metod uygulama araç gereci

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız. Gelen örneğin inceleme için yeterli olup olmadığını kontrol ediniz. Analiz araç gerecini hazırlayınız.

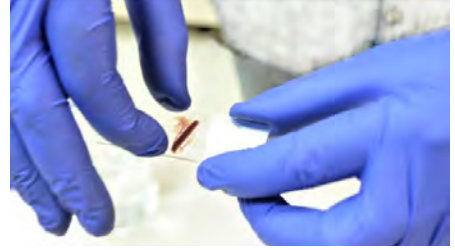
2. Bir lamin kısa kenarından yaklaşık 1,5 cm uzağına bir damla kan koyunuz. Lamin temiz olmasına dikkat ediniz. Kanın antikoagülanlı (pıhtılaşması engellenmiş) olmasına dikkat ediniz.



3. Üzerine bir damla fizyolojik tuzlu su damlatınız.
Bir damladan fazla fizyolojik tuzlu su kullanmayınız.



4. Üzerine lamel kapatarak muayeneye hazır hâle getiriniz.
Lamelin kenarlarını vazelinle kapatarak içteki kanın kurumasını önleyiniz.



5. Preparatı mikroskoba yerleştirerek kan parazitlerinin varlığını araştırınız.
Mikroskopta incelemeyi 100X objektif ile yapınız. Sonucu rapor ediniz.



Değerlendirme Ölçeği 1: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,55 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Analiz öncesi hazırlıkları yaptı.				
3. Bir lamin kısa kenarından yaklaşık 1,5 cm uzağına bir damla kan koydu.				
4. Lamin zerine bir damla fizyolojik tuzlu sudamlattı .				
5. Lameli lamin üzerine kapattı.				
6. Mikroskop ayarını yaptı.				
7. Preparatın kurumasını önlemek için lamelin kenarlarını vazelinle kapladı.				
8. Lamin üstüne sedir yağı damlattı.				
9. 100X objektifle parazit araması yaptı.				
TOPLAM PUAN				

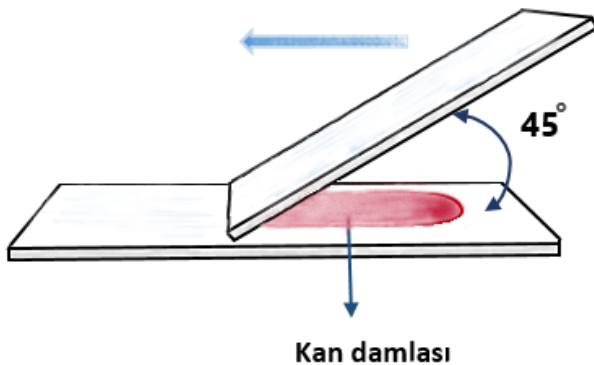


8.4. KANDAN GİEMSA BOYAMA METODU İLE PARAZİT ARANMASI

Paraziter incelemeler için genellikle tam kan kullanılır. Kesin teşhis konulması, kan örneklerinden ince yayma ya da kalın damla şeklinde hazırlanan kalıcı boyalı preparatlarla mümkün olur. Kan preparatlarında boyama için genellikle Giemsa boyası kullanılır. Ayrıca Wright boyası ve May-Grunwald boyası ile hazırlanan preparatlarda da kan dokuda yerleşen parazitler tespit edilir. Kan preparatlarının boyanmasında kullanılan bir diğer yöntem ise mikrofilyaların boyanmasında kullanılan Delafield hematoksilen boyasıdır.

8.4.1. İnce Yayma Kan Preparatı (Froti) Hazırlama

1. Temiz bir lamin uç kısmına kısa kenarından yaklaşık 1,5 cm uzağına, steril şartlarda kulak ya da kuyruk ucundan alınan küçük bir damla kan konur.
2. Lam, sol elin baş ve işaret parmakları arasında yatay bir şekilde tutulur.
3. Diğer taraftan sağ elin baş ve işaret parmakları arasına alınan diğer bir lam, kandamlasının önüne, lamla 30-45° açı yapacak şekilde konur. Açının 45 dereceden büyük olmaması gerekir. Açının büyümesi kanın kalın yayılmasına neden olur ve; preparat iyi boyanmaz, eritrositler üst üste gelerek rulo oluşturur.
4. Lam kandamlasına değecek şekilde, hafif geriye çekilip kanın lamin kenarı boyunca iki köşesine yayılması beklenir. Sonra aynı açı ile yayıcı lamı ileri doğru hareket ettirerek kan ince bir tabaka hâlinde yayılır (Görsel 8.5). Bu işlem hızlı ve bir kerede yapılmalıdır.
5. Preparat yatay şekilde havada kurutulur.
6. Boyamaya hazır hâle gelen preparat 1-2 gün bu şekilde bekletilir. Uzun süre sonra boyanacaksa tespit edilip bekletilir.



Görsel 8.5: İnce yayma preparatının hazırlanışı

BİLGİ NOTU

Froti için gevişenler, tek tırnaklılar, karnivorlar, tavşan ve kobay gibi hayvanların kulak ucundan, fare, sıçan gibi hayvanlarda kuyruk ucundan kanatlılarda ise kanat altı venasından veya ibikten kan alınır. Parazitolojik yönden alınacak kanın ilk damlasında parazitlerin bulunma olasılığı daha yüksek olduğu için ilk damla daha önemlidir.

Sıtma, *elephantiasis*, *trypanosomiasis* ve *leishmaniasis* gibi kanda yaşayan parazitlerin oluşturduğu hastalıkların tanısında kullanılan en iyi yöntem lam üzerinde ince yayma (froti) ve kalın damla preparatı hazırlamadır. Kan preparatları hazırlanır, kurutulur ve son olarak boyanarak mikroskopta incelemeye hazır hâle getirilir.

Kalın damla kan preparatı, parazit sayısının az olduğu durumlarda başvuru bir yoldur. Özellikle leishmaniasiste tercih edilir. Kalın yayma sırasında eritrositler parçalanır ve parazitler açığa çıkar. Eritrositleri çekirdekli olan kanatlı kanında, kalın damla preparatı hazırlanmaz. Kan örnekleri alındıktan sonra bir saat içinde yayma preparatı hazırlanmalıdır.

8.4.2. Kalın Damla Kan Preparatı Hazırlama

Parazit sayısının az olduğu durumlarda başvurulmuş bir çeşit zenginleştirme yöntemidir. Özellikle leishmania'da tercih edilir.

Hazırlanışı

- Temiz bir lamın üzerine bir damla kan konur.
- Damla, bir toplu iğnenin ucu veya başka bir lamın kenarı ile 1-1,5 cm çapında ve dairesel şekilde yayılır.
- Hazırlanan preparat, yatay şekilde havada kurutularak boyamaya hazır hâle getirilir.

8.4.3. Wright Boyama

Hazırlanan ince yayma preparat üzerine Wright boyası damlatılarak 1-2 dakika bekletilir. Süre bitiminde, boyanın üzerine aynı oranda distile su ilave edilerek 2-3 dakika daha beklenir. Süre sonunda preparat hafif akan çeşme suyunda yıkanıp havada kurutulur. Preparat, mikroskopta incelemeye hazır hâle getirilmiş olur.

8.4.4. May Grünwald Boyama

Hazırlanan ince yayma preparat üzerine May Grünwald boyası damlatılarak 2-3 dakika bekletilir. Süre bitiminde, boya dökülmeden üzerine 20-30 damla distile su ilave edilerek bir pipetle su ve boya karıştırılır ve 10 dakika beklenir. Süre sonunda preparat hafif akan çeşme suyunda yıkanıp havada kurutulur. Preparat, mikroskopta incelemeye hazır hâle getirilmiş olur. Ticari-toz ya da sıvı olarak satılan May Grünwald boyası, fiksatif (metanol) ve boyayı içerdiğinden bir defada boyama işlemi yapılır.

8.4.5. Delafield Hematoksilen Boyama

Kan örneğinden bir tüpe 1 ml alınıp 10 ml %2'lik formalin ile karıştırıldıktan sonra 1.000 devirde 5 dakika santrifüj edilir. Üstteki sıvı dökülür. Kapiller pipetle sediment alınıp lamlara konarak ince yayma ve kalın damla preparatları hazırlanır. Alkol-eter karışımı ile tespit edilir, alkol-eter döküldükten sonra preparat, Delafield Hematoksilen boyası ile 40-60 dakika boyanır. Boya dökülür, preparat %0-05'lik hidroklorik asit içine daldırılıp çıkarılır. Preparat, hızlıca çeşme suyunda yıkanarak havada kurutulur ve mikroskopta mikrofilaryalar incelenir.

8.2. UYGULAMA

KANDA GİEMSA BOYAMA METODU İLE PARAZİT ARAMA

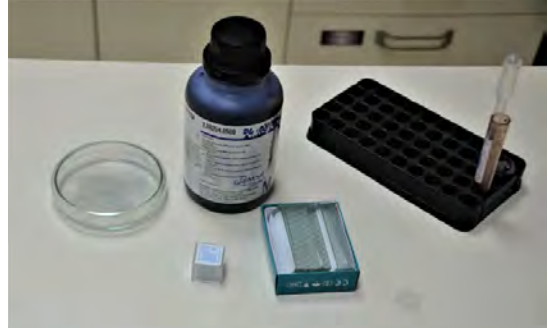
Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında Giemsa boyama metodu ile kanda parazit muayenesi yapmaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak Giemsa boyama metodu ile kanda parazit incelemesi yapmanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 2'de verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Boyama sehpası
- Metil alkol
- Stok Giemsa boyası
- Pens/penset
- Distile su
- Çalar saat

Kullanılan araç gereç Görsel 8.6'da gösterilmiştir.



Görsel 8.6: Giemsa boyama metodunda kullanılan bazı araç gereç

☰ İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.

İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.

Temiz, yağsız, çiziksiz ya da kutusundan yeni çıkarılan lam kullanınız.

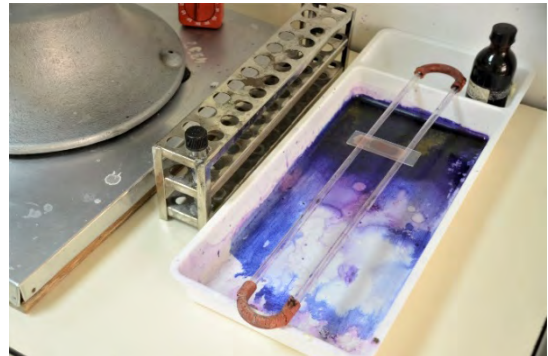
2. Froti hazırlayınız.

İnce yaymanın mümkün olduğunca ince olmasına, dalgalanma olmamasına dikkat ediniz. İnce yaymada, tüm hücrelerin incelemesinin mümkün olduğunu unutmayınız.



3. Frotiyi boya sehpasına yerleştiriniz.

Yayılan kanın üste gelmesine özen gösteriniz.



⌚ Süre: 2 Ders
Saati

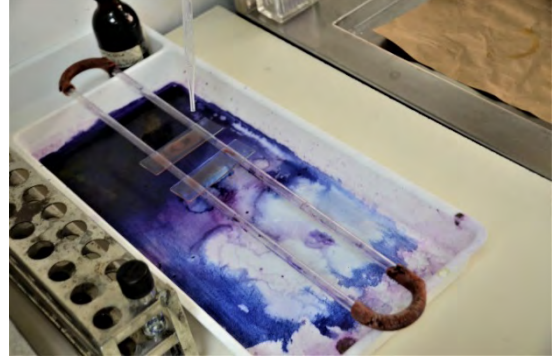


4. Frotinin kuruması için bekletiniz.

Yeteri kadar ince olan frotilerin 1-2 dakikada kuruyabileceğine dikkat ediniz.

5. Lamin yüzeyini tamamen kaplayacak şekilde metil alkol ile 2-3 dakika tespit ediniz.

Verilen süreye uyunuz.



6. Süre sonunda metil alkolü dökerek preparatı havada kurutunuz.

Lamin kenarından pens ile tutarak üzerinde kalan metil alkol iyice akıtınız. Preparatı oda ısısında kurumaya bırakınız. Preparat kurumadan boyama işlemine başlamayınız.

7. %10'luk Giemsa boya solüsyonunu pipete çekerek preparatın yüzeyini boya solüsyonu ile kaplayınız.

Yayma üzerine 5 ml kadar boya koyunuz.



8. 30 dakika bekletiniz.

Süreye mutlaka uyunuz. Yayma preparat malarya veya Kala azar teşhisi amacı ile yapılırsa boyama için 50-60 dakika bekleyiniz.



9. Preparatın üzerindeki boyayı dökünüz.
Boyayı iyice akıtınız.



10. Preparatı musluk suyunda yıkayınız.
Preparatı, hafif akan musluk suyu altında yıkayınız. Son damla berrak oluncaya kadar yayma preparatı su ile yıkayınız.



11. Preparatı havada kurutunuz.
Preparatı sallamadan oda ısısında kuruma-ya bırakınız. Preparatı toz vb. partiküllerden koruyunuz.



12. Mikroskopta immersiyon objektifi ile kan parazitleri-
nin varlığını araştırınız.
Preparata sedir yağı damlatmayı unutma-
yınız. Mikroskopta diyaframı sonuna kadar
açarak inceleme yapınız. Preparatın özel-
likle uç kısımlarını inceleyerek parazitleri
arayınız.



13. Sonucu kaydedip raporlayınız.

Değerlendirme Ölçeği 2: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,45 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Uygulama için gerekli araç gereci hazırladı.				
3. Froti hazırladı.				
4. Frotiyi boya sehпасına yerleştirdi.				
5. Lamin yüzeyini tamamen kaplayacak şekilde metil alkol döktü.				
6. Preparatı havada kuruttu.				
7. Giemsa boya solüsyonunu pipete çekerek preparatın yüzeyini kaplayacak şekilde lamin üstüne döktü.				
8. 30 dk. bekledi.				
9. Boyayı döktü ve preparatı yumuşak suda yıkadı.				
10. Preparatı havada kuruttu.				
11. Mikroskopta immersiyon objektifi ile kan parazitlerinin varlığını araştırdı.				
TOPLAM PUAN				

🔗 BİLGİ NOTU

Giemsa Boyasının Hazırlanması: 1 damla stok Giemsa boyası ile 1ml nötr distile su karıştırılarak hazırlanır. Her froti için 5 ml hesabıyla boya hazırlanır, her damladan sonra dairesel hareketlerle çalkalanarak iyice karışarak homojen hâle gelmesi sağlanır. Ağzı kapalı cam bir şişe ve balonda saklanmalıdır.



8.5. DERİ KAZINTISINDA UYUZ ETKENİ ARANMASI

Uyuz (scabies, mange); tüm hayvan türlerinde görülen, şiddetli kaşıntı ve kıl dökülme-leriyle karakterize, bulaşıcı ve insanlara da geçen bir deri hastalığıdır (Görsel 8.7).

Uyuz hastalığına özellikle kış aylarında ve ilkbahar başlangıcında daha sık rastlanır ve hastalık daha şiddetli seyreder. Kışın hayvanların kapalı yerlerde bir arada bulunmaları hastalığın bulaşmasını kolaylaştırır. Kışın hayvanların nemli bir ortamda kalmaları da hastalığın şiddetini etkiler. Yazın genellikle lezyonlar kaybolur ve göz çukurluğu, koltuk altı gibi güneş ışığından uzak, nemli yerlerde küçük odaklar hâlinde kalır. Yine kışın besi durumunun iyi olmaması hayvanın direncini kırarak enfeksiyonu şiddetlendirir.

Uyuz hastalığının etkeni değişik cins ve türde olan ve hayvanlarda hastalık yapabilen Arachnida (araknida) sınıfında Acari şubesinde yer alan çok küçük artropodlardır. Bu parazitler deri yüzeyine ve en çok da kulağa, boyuna, memelerin üst kısmına, boğaların cinsel organ bölgesine ve kuyruk sokumuna yerleşir.



Görsel 8.7: Kedilerde sarkoptik uyuz

Hayvanlarda belirti olarak sürekli bir kaşıntı, tüy dökülmesi, deride kalınlaşma, kıvrıntılı ve kuru kabuklar görülür. Meydana gelen lezyonların genişlemesi hayvanı yavaş yavaş zayıflatır, hatta ölüme kadar götürebilir. Zayıf, besi durumu iyi olmayan veya yaşlı olan hayvanlar uyuza daha kolay yakalanır. Bu durum bağışıklık sistemlerinin zayıf olmasına bağlıdır. Sağlıklı ve iyi bakımlı hayvanlar bu hastalığa karşı daha dayanıklıdır. İlaçla tedavisi mümkündür. Püskürtme veya banyo şeklindeki ilaçlarla hastalıkla mücadele edilir.

8.5.1. Uyuz Etkenlerinin Sınıflandırılması

Uyuz hastalığını Arachnida sınıfına bağlı akarlar meydana getirir. Bunlar arasında; en çok karşılaşılan Sarcoptes, Demodex, Notoedres, Psoroptes, Chorioptes, Otodectes ve Knemidectes cinslerine bağlı etkenlerdir.

Bazı parazitler, üzerinde yaşadıkları canlıların Latince isimlerine göre tür olarak isimlendirilir. Örneğin koyunda yerleşen *Sarcoptes* cinsi bir uyuz etkeni koyunda hastalık yaptığında *Sarcoptes ovis*; sığırdaki yerleşen *Sarcoptes* cinsi bir uyuz etkeni ise sığırdaki hastalık yaptığında *Sarcoptes bovis* ismini alır. Aynı şekilde *Psoroptes* cinsi bir parazit, koyunda hastalık yaptığında *Psoroptes ovis*; sığırdaki hastalık yaptığında *Psoroptes bovis* ismini alır.

▼ Sarcoptes

Sarcoptes türleri 200-500 mikron büyüklüğündedir (Görsel 8.8). Bu türün larvaları insanların ve hayvanların derisinin altına girer, 1 cm uzunluğunda tüneller açarak yerleşir ve ürer. Vücutta gelişim süresini yaklaşık 10-15 günde tamamlar. Birkaç ay içinde bir hayvan üzerinde bulunan uyuz etkenlerinin sayısı süratle artar. Kirli beyaz renkte, yarı saydam görünümdedir. Kuraklığa çok duyarlı olup konaktan ayrı birkaç günden fazla yaşayamaz. Yataktan, elbiseden veya deriden bulaşabilir. Toplu yaşam alanlarında çok kolay bulaşır.



Görsel 8.8: *Sarcoptes*

▼ Psoroptes

Psoroptes 0,75 mm büyüklüğündedir. Biyolojik çember yaklaşık 3 hafta sürer. Konaklarından ayrı olarak nemli deri kabuklarında 10-20 gün canlı kalır. *Psoroptes*ler deride önce küçük çaplı veziküllerin şekillenmesine yol açar. Daha sonra veziküllerin kuruması ile kabuklar şekillenir. Hayvanlarda şiddetli bir kaşıntı vardır.

▼ Chorioptes

Sığır, koyun, keçi ve atların derisinin yüzeyinde yaşar. Vücudun yan kısımlarına, bacaklara, ayaklara, kuyruk kısımlarına yerleşir ve epitel hücrelerle beslenir. Özellikle kol ve bacaklarda uyuz hastalığına neden olur. Tavşanlarda kulağa yerleşir. Belirti olarak kaşıntı, kepeklenme ve kıl dökülmeleri olur.

▼ Notoedres

Deride tünel açar ve içinde yaşar. Az tüylü bölgelerde görülür. Kulak üstünden başlar ve tüm vücuda yayılabilir. Kulak, burun ve kuyrukta yaygın olarak görülür. Burun üzerinde ve yüzde başlayan kaşıntı, kepeklenme, vezikül ve kalınlaşma olur.

▼ Otodectes

Karnivorların (etoburların) sıklıkla kulak kepçesine ve kulak yoluna yerleşir. Klinik belirtiler; kulakta akıntı, kaşıntı ve dış kulak yangısıdır. Kedi ve köpekler, başlarını sağa sola sallamaya ve kulaklarını arka ayakları ile vurarak kaşımaya çalışır ve kahverengi kulak akıntısı vardır.

▼ Demodex

Demodex 100-400µ büyüklüğündedir. Kıl folliküllerine ve yağ bezlerine yerleşip folliküler uyuza neden olur. Demodex türleri "folliküler uyuz etkenleri" olarak bilinir. Sağlam derilerde de bulunur. Bu parazit insanlara da bulaşır. Özellikle immun sistemi baskılanmış bireylerde göz kapağı kıl folliküllerine ve yağ bezlerine yerleşir.

▼ Knemidocoptes

Knemidocoptes, kanatlılarda ve kafes kuşlarında üst derinin içinde yaşar. Knemidocoptes türleri larvipardır. Dişi akarlar, deride açtıkları tünellere canlı ve hareketli larvalarını bırakır.

8.5.2. Uyuz Etkenlerinin Aranması

Deri kazıntısı örneği özellikle uyuz ve tanısında kullanılır. Derinin lezyonlu kısmı ile sağlam kısmının birleştiği yerde deride bir kıvrım yapılır. Keskin olmayan bir bistürinin ucu gliserinle veya bir sıvı yağ ile ıslatılır. Bistürinin deriye dik olarak tutulur ve kılların yönü doğrultusunda kazınır. Kazıntı birkaç farklı yerden alınmalı ve kanatacak kadar derin olmalıdır. Demodektik uyuzda lezyonlu bölge sıkılarak kıl folikülü alınır.

Kazıntı örnekleri, bir petri kutusuna alınıp ağzı kapatılarak ya da %70'lik etil alkol veya %5'lik formol içine konarak laboratuvara gönderilir. Direkt olarak uyuz etkeni incelenebilir. Petri kutusuna alınan kazıntı örneği alttan ısıtılarak ya da 37 °C'lik etüvde 5-10 dakika süreyle tutulduktan sonra stereo mikroskopta hareketli uyuz etkenleri incelenir. Alttan ısıtılan petri kutusu siyah bir zemin üzerine konulup dikkatlice çıplak gözle bakıldığında hareketli uyuz etkenleri görülür. Ancak bu yöntemler sadece etkenin var olup olmadığını anlamaya yarar. Tür tanısına gidilemez. Türleri tanımlamak için sedimentasyon, flotasyon ve Vajda yöntemiyle kazıntı örnekleri incelenir.

🔗 BİLGİ NOTU

Doymuş şekerli suyun hazırlanışı: 640 ml suya 1 kg şeker konulur ve eritilir. Şekerli su, %40-45 şeker içerir ve özgül ağırlığı 1.235'tir. İyi yüzdürücü olmakla birlikte pahalı olduğundan özel amaçlı kullanılır. Şeker çabuk kristalleştiğinden kristalleşmeyi önlemek için karşıma %2-5 fenol katılır.

8.3. UYGULAMA

DERİ KAZINTISINDA ÇÖKTÜRME METODU İLE UYUZ ETKENLERİNİ ARAMA

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında çöktürme (sedimentasyon) metodu ile deri kazıntısında uyuz etkeni aramaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak sedimentasyon metodu ile deri kazıntısında uyuz etkeni aramanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 3'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Santrifüj tüpü
- Deri kazıntısı örneği
- %10'luk KOH veya NaOH
- Lam-lamel
- Santrifüj
- Doymuş şekerli su
- Bek

📋 İşlem Basamakları

1. Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.
İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
Gelen örneği kontrol ediniz. Örneği bekletmeden işleme koyunuz
2. Derinin hiperemik veya veziküllü (içinde sıvı bulunan küçük deri kabarcığı) yerlerini tespit ediniz.
Kişisel güvenlik önlemlerini almayı unutmayınız.
3. Bistüri yardımı ile kanatmadan yavaş yavaş kazıyınız.
Bistüriyi dikkatli kullanınız.
4. Deri kazıntısını tüpe koyunuz.
Kazıntıyı lam üzerine dikkatlice koyunuz.
5. Üzerine %10'luk KOH ilave ediniz.
%10'luk potasyum hidroksiti kazıntı materyali seviyesine kadar koyunuz.
6. Tüpü hafifçe 1-2 dakika ısıtınız.
Materyali hafif kaynatmak için süreye mutlaka uyunuz. Saç ve kılların eriyip erimeğine dikkat ediniz. Isıtma imkânı yoksa materyal içeren tüpü oda ısısında 3-4 saat bekletiniz.
7. Santrifüj ediniz
Tüpü 2.000 devirde 1-2 dakika santrifüj ediniz. Elektrikğin kesildiği durumlarda kaynamayı takiben bir saat bekleyerek çökeltme işlemini yapınız.
8. Üst sıvıyı atınız.
Tüpteki çöküntüyü oynatmadan üstteki sıvıyı dökünüz.



9. Çökeltiden bir damla lam üzerine alınız.

10. Lamın üzerine lamel kapatınız.

11. Mikroskopta uyuz etkenlerinin varlığını araştırınız.

Değerlendirme Ölçeği 3: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,55 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Bistüri yardımı ile kanatmadan deriden kazıntı aldı ve tüpe koydu.				
3. Üzerine %10'luk KOH ilave etti.				
4. Tüpü ısıttı.				
5. Tüpü, 2.000 devirde 1-2 dakika santrifüj etti.				
6. Lameli lamın üzerine kapattı.				
7. Çökeltiden 1 damla alıp lam üzerine koydu.				
8. Lamın üzerine lamel kapattı.				
9. Mikroskopta uyuz etkenlerinin varlığını araştırdı.				
TOPLAM PUAN				

Süre: 2 Ders
Saati



8.4. UYGULAMA

DERİ KAZINTISINDA YÜZDÜRME METODU İLE UYUZ ETKENLERİNİ ARAMA

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında yüzdürme (flotasyon) metodu ile deri kazıntısında uyuz etkeni aramaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak flotasyon metodu ile deri kazıntısında uyuz etkeni aramanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 4'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Mikroskop
- Santrifüj tüpü
- Deri kazıntısı örneği
- %10'luk KOH veya NaOH
- Santrifüj
- Lam-lamel
- Bek
- Doymuş şekerli su

☰ İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız.
2. Deri kazıntısını santrifüj tüpüne koyunuz.
3. Üzerine %10'luk KOH ilave ederek homojen karışım elde edilinceye kadar çalkalayınız.
4. Tüpü 1-2 dakika hafifçe ısıtınız.
Süreye mutlaka uyunuz.
5. Santrifüj ediniz.
Tüpü, 2.000 devirde 1-2 dakika santrifüj ediniz.
Tüpteki çöküntüyü oynatmadan üstteki sıvıyı dökünüz.
6. Çökeltinin üzerine su ilave ederek tüpü yarıya kadar doldurunuz.
7. Üzerine ağzına kadar dolacak şekilde doymuş şekerli su ilave ediniz.
Şekerli su olmazsa yerine doymuş sodyum klorür (NaCl) kullanınız.
8. Karışımı santrifüj ediniz.
Karışımı, 2.000 devirde 1-2 dakika santrifüj ediniz.
9. Öze ile tüpteki sıvı yüzeyinden bir damla alarak lam üzerine koyunuz.
10. Üzerine lamel kapatınız.



11. Mikroskopta uyuz etkenlerinin varlığını araştırınız.

Değerlendirme Ölçeği 4: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,5 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Deri kazıntısını santrifüj tüpüne koydu.				
3. Üzerine %10'luk KOH ilave etti.				
4. Tüpü 1-2 dakika hafifçe ısıttı.				
5. Tüpü, 2.000 devirde 1-2 dakika santrifüj etti.				
6. Çökeltinin üzerine su ilave etti.				
7. Üzerine ağzına kadar dolacak şekilde doymuş şekerli su ilave etti.				
8. Karışımı, 2.000 devirde 1-2 dakika santrifüj etti.				
9. Öze ile tüpteki sıvı yüzeyinden bir damla alarak lam üzerine koydu.				
10. Üzerine lamel kapattı ve mikroskopta inceledi.				
TOPLAM PUAN				

BİLGİ NOTU

VAJDA YÖNTEMİ

- Deri kazıntısı cam kaba konur.
- Üzerine, materyalin birkaç misli kadar su ilave edilir ve karıştırılır.
- 50-60 °C'deki benmaride veya etüvde 30 dakika bekletilir.
- İyice karıştırdıktan sonra üç misli kadar gliserin ilave edilir.
- Bir saat kadar beklenir.
- Karışımın yüzeyinden bir damla alınarak lam üzerine konur.
- Üzerine lamel kapatılıp mikroskopta uyuz etkenlerinin varlığı araştırılır.



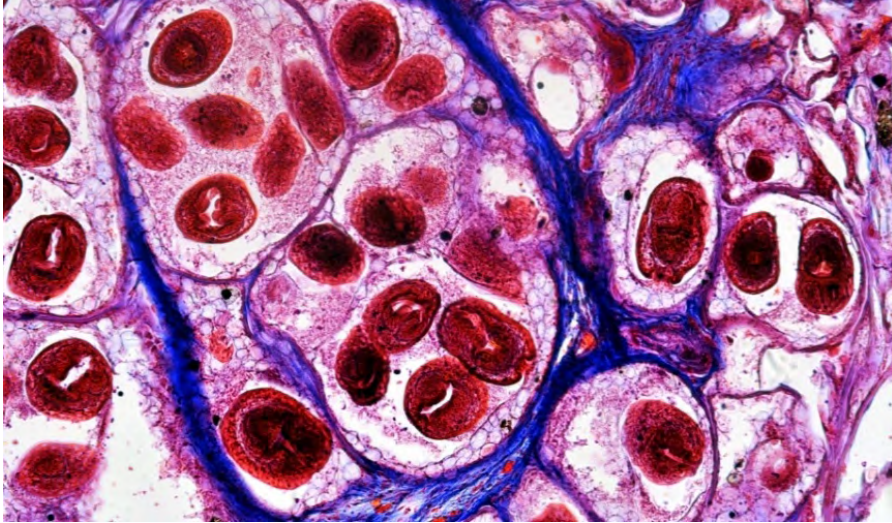
8.6. KARACİĞER, AKCİĞER VE BAĞIRSAKLARDA PARAZİT ARANMASI

İç parazitler verimi engelleyen, azaltan veya hayvan varlığımızı tehdit eden, çeşitli iç organlara yerleşen zararlılara verilen genel bir addır ve genellikle karaciğer, böbrek, akciğer, mide ve bağırsaklara yerleşir. Çok geniş bir yelpaze içinde yer alırlar. Veteriner hekimlikte ve tıp hekimliğinde problemlere sebep olan iç parazitleri sıralanırsa; nematod (yuvarlak solucanlar), cestod (şeritler, tenyalar) ve trematod (yassı yada yapraksı solucanlar, karaciğer kelekleri) sınıflarında yer alan türler önemlidir.

8.6.1. Karaciğerde Bulunan Parazitler

▼ Cyst Hydatid (Kist Hidatik)

Halk arasında kist hastalığı olarak bilinen bu hastalığın etkeni, *Echinococcus granulosus* adı verilen bir helminstir (Görsel 8.9). Kist hidatik, bu etkenin larva formuna verilen isimdir. Bu parazitin esas kaynağı köpek, kurt, tilki gibi et yiyen hayvanlardır. Ancak ülkemizde kist hidatiğin sebebi sıklıkla köpeklerdir. Dışkıyla atılan yumurtalar; hayvanların ayaklarıyla, arazi eğimi, rüzgârla ve yağmurun etkisi ile yayılırlar. İnsanlar bu yumurtaları, çiğ tüketilen gıdalardan ve kirli içme sularından alırlar. Koyun, keçi, sığır ve manda gibi otla beslenen hayvanlar da yumurtaları alarak hastalanırlar.



Görsel 8.9: Echinococcus granulosus

▼ Kelebek Hastalığı

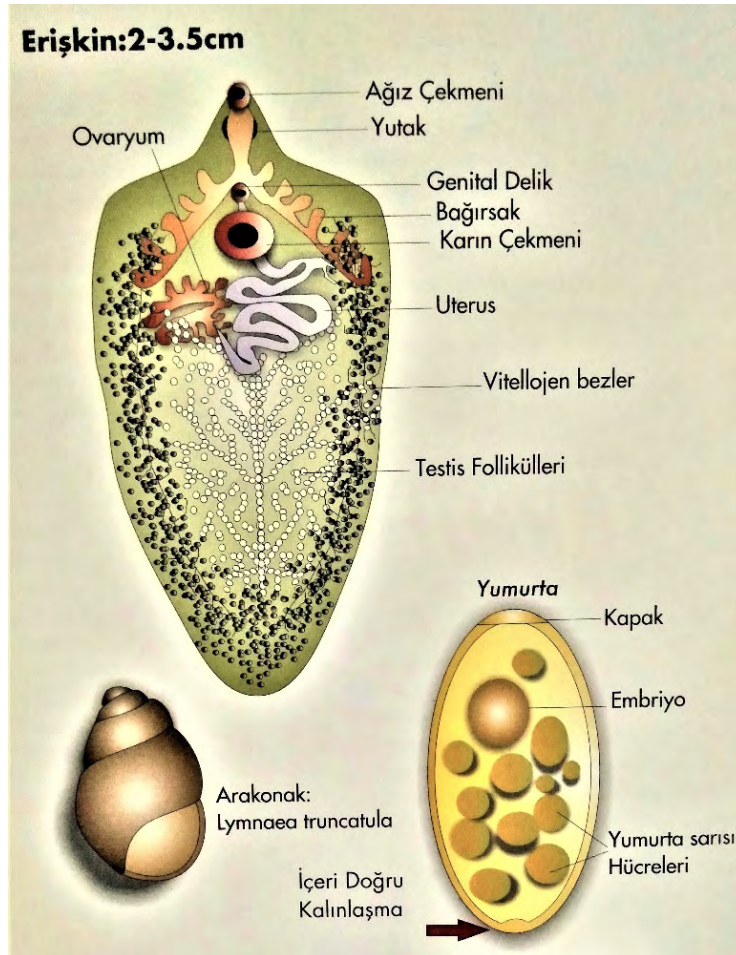
► *Paramphistomum* (İşkembe Kelebeği)

Genç erginleri bağırsaklarda, erginleri işkembede yaşarlar. İnce bağırsakta yaşayan genç erginler şiddetli ishale neden olurlar.

► *Dicrocoelium* *dentriticum* (Kum Kelebeği)

Karaciğer safra yollarında ve safra kesesinde yaşar.

- | | |
|---|--|
| ▶ <i>Fasciola hepatica</i>
(Yaprak Kelebeği) | Sığırların karaciğerinde çok sık görülür (Görsel 8.10). Bu kelebeğin gelişmesinde su sümüklüleri denilen sümüklü böcekler rol oynar. |
| ▶ <i>Fasciola gigantica</i>
(Yılan Kelebeği) | Karaciğerde yaşarlar. Karaciğerde ve safra yollarında göç ederek organın tahribatına yol açarlar. |



Görsel 8.10: Fasciola hepatica

8.6.2. Akciğerde Bulunan Parazitler

▼ Paragonimus Westermanii (Paragonimus Vestermani)

Parazit; ikişer ikişer, akciğer dokusunda oluşan ceplerde, kıvrılmış olarak yaşar. Hayat döngüsünde şu iki ara konak vardır:

- Salyangoz
- Yengeç, tatlısu istakozu

Son konak, enfekte ikinci ara konağı yediğinde etkeni alır.

Erişkin parazit; 7,5-12 mm x 4-6 mm'dir ve tegümenti dikenlidir. Ağız ve karın çekmenleri eşittir, ön ucu birdenbire yuvarlaklaşır. Arka ucu ise oldukça sivrilmiştir.

Paragonimus spp. yumurtası; oval bir görünümde, 80-118 µm uzunluğunda, 48-60 µm enindedir. Yassılaştırmış bir kapağa sahiptir. Kabuk, altın sarısı-kahverengidir.

▼ Akciğer Kıl Kurtları

Solunum yollarında yaşarlar (Görsel 8.11). Öksürüğe, zayıflamaya ve akciğer hastalıklarına yatkınlığa neden olurlar. Yumurtaları dışkı ile atılır. Bulaşık otlarla bulaşırlar.



Görsel 8.11: Akciğer kıl kurdu

8.6.3. Bağırsaklarda Bulunan Parazitler

▼ Dipylidiosis (Dipilidiozis)

Dipylidium caninum en yaygın görülen türdür. Bu parazit; insanın, kedi ve köpeğin ince bağırsağında yaşar. Kedi ve köpekler hastalıkta rezervuar durumundadır.

Parazitin ara konakçıları kedi ve köpek pireleri, köpek bitidir (*Trichodectes canis*). İnsanlar, kedi ve köpekler, ara konakçılarda bulunan cysticercoid adı verilen larvaları ağız yoluyla almak suretiyle enfekte olurlar.

▼ *Coenurus Cerebralis* (Sönurus Serebralis)

Multiceps Multiceps: Köpek, tilki ve çakalların ince bağırsaklarında yaşamaktadır. Bu cestodun larvası olan *Coenurus cerebralis*; koyun, keçi, sığır, at, deve, domuz ve insanların beyininde ve omuriliğinde gelişmektedir. Onkosferlerin sadece merkezi sinir sistemine ulaşanları gelişmekte, organizmanın diğer yerlerine gidenler ise kısa sürede ölmektedir.

▼ Mide Bağırsak Kıl Kurtları

Şirdende ve incebağırsakta yaşayan ince solucanlardır. Yumurtaları dışkı ile atılır. Yenilen otlardan bulaşır. Kan emerek beslenirler. Kansızlığa, zayıflamaya, sindirim bozukluğuna, şiddetli ishale, hastalıklara karşı direncin azalmasına ve vücutta ödemlere neden olur.

▼ Askaritler

Özellikle genç danalarda daha çok görülür. Ayrıca sütle de bu parazitler bulaşabilmektedir, anasını emen buzağılar askaritleri sütle almaktadır. Askaritleri alan hayvanlarda ishal ve zayıflama görülür. Askaritli hayvanlar ilaçla tedavi edilebilir.

▼ Cysticercus (Sistiserkus)

İnsanların bağırsağında yaşayan *tenia saginata* (Görsel 8.12) isimli şeridin yumurtaları, insanların dışkısı ve lağım suları ile meraya yayılabilir. Silahsız tenya da denilen ve halk arasında da abdest bozan adını alan bir parazittir. Sığırlar otlarken bu yumurtaları alır. Larvalar, bağırsak duvarını delerek kasların içine yerleşir ve içi berrak sıvı ile dolu fındık büyüklüğünde kistler (sistiserk) meydana getirir. Sığır eti, çiğ veya az pişmiş olarak yenirse insanların bağırsağında şerit meydana gelir. Sistiserk kisti, sığır için şerit, insan için zararlıdır.



Görsel 8.12: Taenia saginata

Otopside, paraziter yönden muayene edilen başlıca organ ve sistemler şunlardır:

- Sindirim sistemi [mide, ince bağırsak, kalın bağırsak (Görsel 8.13)]
- Karaciğer, safra kanalları ve safra kesesi
- Solunum sistemi (burun boşluğu, solunum borusu, akciğer)
- Dolaşım sistemi (kalp, kan damarları)
- Kas (trichinella yönünden), böbrek, baş ve göz



Görsel 8.13: Bazı İç Organlar

8.5. UYGULAMA | DOKU VE ORGANLARDA PARAZİTER İNCELEME

Bu uygulamanın amacı kazandığınız bilgiler ışığında çöktürme yoluyla doku ve organlarda parazit aramaktır. Bu doğrultuda sizden, verilen işlem basamaklarını uygulayarak çöktürme metodu ile doku ve organlarda parazit aramanız beklenmektedir.

- ⚠ Uygulamaya başlamadan önce iş sağlığı ve güvenliği tedbirlerini alınız.
- ⚠ Çalışmanız Değerlendirme Ölçeği 5'te verilen ölçütler dikkate alınarak değerlendirilecektir.

📦 Kullanılacak Araç Gereç

- Makas
- Petri kutusu
- Stereo mikroskop
- Koruyucu gözlük
- Bistirü
- Beher
- Küvet
- Maske
- Bıçak
- Pens
- Eldiven

📋 İşlem Basamakları

1. İş kıyafeti, eldiven, maske vb. koruyucu ekipmanları giyerek kişisel güvenlik önlemlerinizi alınız. İş elbisenizi her zaman temiz tutunuz.
2. Eldiven maske ve gözlük gibi koruyucu malzemeleri kullanınız. Zoonoz hastalıklara karşı tedbiri elden bırakmayınız.
3. Mideyi bir makasla uzunlamasına açınız ve takiben mide iç yüzeyini (mukoza) inceleyiniz.
4. İnceleme sırasında çıplak gözle görülen parazitleri toplayınız. Daha sonra akan su altında hafif ovma ile midayı yıkayınız ve içeriği bir küvete toplayınız.
5. Yıkama suyunu yüksek boylu kaplara alarak çökmesini bekleyiniz (20-30 dakika).
6. Dip tortusunu oynatılmadan üstteki fazla suyu dökünüz.
7. Son aşamadan sonra dipte kalan kısmı bir petri kabına koyarak stereo mikroskopta muayene ediniz.
8. İnce bağırsakları da mide gibi uzunlamasına bir makas yardımı ile açınız.



9. Bazı bölgelerden bir bıçağın kesici kenarıyla kazıntılar alınız ve stereo mikroskopta inceleyiniz.
10. Bağırsak içeriğini yıkayınız. Sıvıları bir küvete toplandıktan sonra mide içeriğinde olduğu gibi inceleyiniz. Bağırsak, parmaklar arasında sıkıştırılıp sıvazlanarak yıkanmalıdır.
11. Kalın bağırsaklarda içerik çok fazla olacağı için, içerik ayrı bir kap içine boşaltılıp inceleyiniz. Yıkama ve içerik incelemesi ince bağırsaklarda olduğu şekilde uygulanır.
12. Sindirim sistemindeki bu organların toplanan içeriklerini daha sonraki incelemeler için formalin ilavesi yaparak ayrı ayrı saklayınız. Formalin ilave edildikten sonraki yoğunluk %4 olmalıdır.

Değerlendirme Ölçeği 5: Uygulama Değerlendirme Ölçeği
(Aldığınız toplam puan 0,625 ile çarpılarak notunuz belirlenecektir).

PERFORMANS ÖLÇÜTLERİ	PUANLAMA			
	ÇOK İYİ (20)	İYİ (15)	ORTA (10)	TEKRAR (5)
1. İşlem öncesi kişisel güvenlik önlemlerini aldı.				
2. Gerekli olan malzemeleri hazırladı.				
3. Mideyi bir makasla açtı.				
4. Mideyi yıkadı ve içeriği bir küvete topladı.				
5. 20-30 dk. çökmesini bekledi.				
6. Dip tortusunu oynatılmadan üstteki fazla suyu döktü.				
7. Dipteki tortudan az bir miktar alarak petri kutusuna koydu.				
8. Stereo mikroskopta inceledi.				
TOPLAM PUAN				



ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

A) Aşağıda verilmiş olan cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise (D), yanlış ise (Y) yazınız.

1. (.....) Sıtma etkeni, eritrositler içinde yaşayan tek hücreli zorunlu hücre içi parazittir.
2. (.....) Theileria türlerinin kesin konağı keneler, ara konakçıları ise insan ve hayvanlardır.
3. (.....) *Toxoplasma gondii*, gebeliğin erken döneminde enfeksiyona neden olursa genellikle gebelik abortusla (düşük) sonuçlanır.
4. (.....) Sıtmada tanı için periferik kandan ince ve kalın damla preparatı hazırlanarak boyanır ve boyalı preparatın mikroskopik incelemesinde tanı konur.

B) Aşağıda verilen cümlelerde boş bırakılan yerleri doğru ifadeyle tamamlayınız.

5. *Toxoplasma gondii*'nin kesin konakları
6. Theileria da vb. serolojik testlerle de tanıya gidilir.
7. tüm hayvan türlerinde görülen, şiddetli kaşıntı ve kıl dökülmeleriyle karakterize, bulaşıcı ve insanlara da geçen bir deri hastalığıdır.
8. Halk arasında olarak bilinen ve sıklıkla köpekler tarafından bulaştırılan bu hastalığın etkeni, *Echinococcus granulosus* adı verilen bir helmittir.

C) Aşağıda verilen çoktan seçmeli sorularda doğru seçeneği işaretleyiniz.

9. Aşağıdakilerden hangisi *Toxoplasma gondii*'nin laboratuvar teşhisinde kullanılan örneklerden biri değildir?
 A) Kan
 B) BOS
 C) Vajinal akıntı
 D) Gaita
 E) Balgam
10. Aşağıdakilerden hangisi bağırsaklarda bulunan parazitlerden biri değildir?
 A) Askaritler
 B) *Fasciola hepatica*
 C) *Coenurus cerebralis*
 D) *Cysticercus*
 E) Kıl kurtları
11. Aşağıdakilerden hangisi halk arasında kelebek hastalığı denilen hastalıklardan biri değildir?
 A) Yaprak kelebeği
 B) Yılan kelebeği
 C) Kum kelebeği
 D) İşkembe kelebeği
 E) Ağaç kelebeği
12. Aşağıdaki seçeneklerden hangisi Giemsa boyama metodu ile parazit aramada kullanılan araç gereçten biri değildir?
 A) Boyama sehпасı
 B) Pens/penset
 C) Metil alkol
 D) Santrifüj
 E) Distile su

KAYNAKÇA



Yazılı Kaynaklar

- BAŞIMOĞLU KOCA, Yücel. *Histoloji Atlası*. İstanbul: Nobel Yayıncılık, 2012.
- ALKAN, Faruk, ARDA Oktay, ERTÜRKÖĞLU Şenel, SEÇKİN İsmail, TAŞYÜREKLİ Mustafa, KOYU-TÜRK Meral, MEYDANLI Elif Güzel. *Genel Histoloji Uygulama Kitabı*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 2016.
- Prof. Dr. KARAGÜL Hilal, Prof. Dr. ALTINTAŞ Arif, Doç. Dr. FİDANCI Ulvi Reha, Doç. Dr. SEL Tevhide. *Klinik Biyokimya* Medisan Yayıncılık, Kasım 2000. ISBN 975-7774-42-1
- Doç. Dr. Karakaş, M. (2010). *Hayvan Fizyolojisi Laboratuvar Kılavuzu*. Üçüncü Baskı, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Matbaası. Yayın No: 69, 240s.
- Doç.Dr. ALTINIŞIK Mustafa. *Organik Kimya Ve Biyokimya Uygulamaları*. T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Aydın 2007.
- Prof. Dr. GÜRDÖL Figen. *Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvar Uygulamaları*. T.C. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı İstanbul, 2014.
- Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Dolaşım Sistemi Ders Kurulu Kan Pratikleri Laboratuvar Föyü.
- Dr. Aykut Köroğlu, Dr. Yücel Tangün, Dr. Hale Ören, Dr. Özlem Tüfekçi. *Hematoloji Laboratuvarı Tam Kan Sayımı* Türk Hematoloji Derneği, 2014.
- Türk Biyokimya Derneği Preanalitik Evre Çalışma Grubu. *Tıbbi Laboratuvarlarda Kan Sayımı Kılavuzu* Türk Biyokimya Derneği, 2020-Ankara ISBN: 978-605-70111-0-7
- Prof. Dr. KARATAŞ Fikret. *Biyokimya Laboratuvar Deneyleri*. T. C. Fırat Üniv. Fen Fakültesi Kimya Bölümü Elazığ, 2012.
- AYDIN Levent, ÇIRAK Veli Yılgör, ŞENLİK Bayram. *Temel Veteriner Parazitoloji*. Açıköğretim fakültesi yayınları, ESKİŞEHİR, Ekim 2011.
- TOPARLAK M.,TÜZER E. *Paraziter Hastalıkların Tanısında Laboratuvar Teknikleri*. İstanbul, 1994.
- TOPARLAK Müfit, VURUŞANER Cem. *Veteriner Parazitolojiye Giriş*. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İstanbul, 2007.
- Prof.Dr. Şinasi UMUR. *Genel Parazitoloji*. Ondokuzmayıs Üniversitesi Yayınları, Samsun, 2011.
- ALABAY M., *Veteriner Helmintoloji Laboratuvar Teknikleri*, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı, 1997.
- Tüzer E.,TOPARLAK M. *Veteriner Protozooloji*. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, 1999.
- BAŞIMOĞLU KOCA Yücel. *Histoloji Atlası*, Nobel Yayıncılık, İstanbul, 2012.
- ALKAN Faruk, ARDA Oktay, ERTÜRKÖĞLU Şenel, SEÇKİN İsmail, TAŞYÜREKLİ Mustafa, KOYU-TÜRK Meral, MEYDANLI Elif Güzel. *Genel Histoloji Uygulama Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 2016.
- ÖZFİLİZ Nesrin, Hatice ERDOST, Levent ERGÜN, Asuman ÖZEN. *Temel Veteriner ve Embriyoloji*. T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No: 2322, Açık Öğretim Fakültesi Yayını No: 1319, Eskişehir, Eylül 2011.

AÇIKALIN Ergin, Cengiz BAYÇU, Firdevs GÜNER, Erinç ARAL. *Histoloji*. T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:894, Eskişehir, 1995.

AKAY M. Turan. *Genel Histoloji Atlası*, Palme Yayıncılık, Ankara, 2004.

KUMAR Vinay, Ramzi COTRAN, S. ROBBINS, L. STANLEY. *Temel Patoloji*, Nobel Yüce, İstanbul, 1994.

TEL Nilüfer, Ülkü ÖNER, Özgül PAŞAOĞLU. *Patoloji*. T. C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:495, Eskişehir, 1993.

DEMİR Ramazan, Selma YILMAZER, Melek ÖZTÜRK, İsmail ÜSTÜNEL, Necdet DEMİR, Emin TÜRKAY KORGUN, Gökhan AKKOYUNLU. *Histolojik Boyama Teknikleri*. Palme Yayıncılık, Ankara, 2001.



Görsel Kaynakçası



Ders materyalinin görsel kaynakçasına karekod aracılığı ile ulaşabilirsiniz.

<http://kitap.eba.gov.tr/karekod/Kaynak.php?KOD=1983>

CEVAP ANAHTARI

ÖĞRENME BİRİMİ

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	Yanlış	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Yanlış	Doğru
2	Doğru	Yanlış	Yanlış	Doğru	Doğru	Yanlış	Yanlış	Yanlış
3	Doğru	Yanlış	Doğru	Yanlış	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru
4	Yanlış	Doğru	Doğru	Doğru	Yanlış	Yanlış	Yanlış	Doğru
5	Doğru	Doğru	Yanlış	Yanlış	kimyasal	Doğru	Doğru	kedi ve kedigillerdir
6	Doğru	Lökosit	Yanlış	Yanlış	ince ve küçük boyutlarda	dehidrasyon maddesini	mastigophoralar	ELISA, IFAT
7	Yanlış	Trombositler	Doğru	Yanlış	10 katı	katı parafin	hermafroditizm	Uyuz (scabies, mange)
8	Yanlış	Eritrositlere	Glikoza	Doğru	yumuşayın-caya	35-40	arthropodlar	kist hidatik
9	Kapiller kan	Hematokrit	Lipitler	Hipostenüri	B	600 - 40 - 60	mutualizm	D
10	İbibik	Yavaş	Hemoglobi-nüri	Mikroskopik	B	5 - 10 dakika	rektumun-dan	B
11	Venöz	Parametrede	Albümin	Böbrek	C	C	laboratuvara	E
12	Venöz	E	İzomerazlar	Glomerulo-nefrit	D	B	4 °C'de buz-dolabında	D
13	Serum	A	Alev foto-metresi	Ürik asit		A	sıvı yüze-yinde	
14	Lökosit		Kemiklerin	Santrifüjle-meye		A	A	
15	C		Fosfor	Gaitada			E	
16	E		Numune	Sterkobili-nojen			B	
17			Serumları	B			B	
18			A	C				
19			D					

TEK NUMARADA BİRLEŞTİ!



Ülkemizde farklı acil yardım çağrılarını için kullanılan 7 kuruma ait acil çağrı numaralarının (İtfaiye: 110, Jandarma: 156, Polis: 155, Sağlık: 112, Orman: 177, Sahil Güvenlik: 158, AFAD: 122) tek numara (112) altında toplanması amacıyla geliştirilmiştir.