

SAĞLIK BİLİMLERİ SERİSİ III

# Hematoloji Laboratuvarı Uygulama Kitabı

Zeynep Akıdağı

Editör: Prof. Dr. Türkan Patiroğlu



KAPADOKYA  
ÜNİVERSİTESİ  
YAYINLARI

Sağlık Bilimleri Serisi III

# Hematoloji Laboratuvarı Uygulama Kitabı

YAZAR

Zeynep Akidaęı

Editör: Prof. Dr. Türkan Patıroęlu



2019

Kapadokya Üniversitesi Yayınları: 11  
Sağlık Kitapları Serisi: 3  
ISBN: 978-605-80032-9-3 (basılı)  
ISBN: 978-605-80721-4-5 (elektronik)  
DOI: <https://dx.doi.org/10.35250/kun/9786058072145>  
URL: <https://hdl.handle.net/20.500.12695/326>  
© Ağustos 2019

**HEMATOLOJİ LABORATUVARI UYGULAMA KİTABI**  
**YAZAR: ZEYNEP AKİDAGI**

© Copyright, 2019, KAPADOKYA ÜNİVERSİTESİ YAYINLARI  
Sertifika No: 43348



Bu eser [Creative Commons "BY-NC-SA" \(Atıf-GayriTicari-AynıLisanslaPaylaş\) Lisansı](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/) ile lisanslanmıştır. Bu lisans, kullanıcıların eser sahibine atıf vermek koşuluyla eseri sadece ticari olmayan amaçlar için kullanmalarına ve uyarlamalarına izin verir. Buna ek olarak kullanıcıların eseri uyarlamaları halinde uyarlamayı aynı veya uyumlu bir lisans kapsamında başkalarıyla paylaşmaları koşulunu getirir.

Editör: Prof. Dr. Türkan Patıroglu  
Seri Editörü: Vesile Senol  
Redaktör: Nurten Bayraktar  
Kapak Tasarım: Nazile Arda Çakır  
Sayfa Tasarım: Evren Demiryürek

---

Akidagi, Zeynep. Patıroglu, Türkan, (editör). *Hematoloji Laboratuvarı Uygulama Kitabı*.  
Nevşehir: Kapadokya Üniversitesi Yayınları.  
105 s, 195x270 mm.  
ISBN: 978-605-80721-4-5 (elektronik)  
DOI: <https://dx.doi.org/10.35250/kun/9786058072145>  
Anahtar Kelimeler: 1. Hematoloji, 2. Hematoloji Laboratuvarı, 3. Hematoloji Uygulamaları

---



**KAPADOKYA**  
**ÜNİVERSİTESİ**

50420 Mustafapaşa, Ürgüp, Nevşehir  
yayinevi@kapadokya.edu.tr  
kapadokyayayinlari.kapadokya.edu.tr  
0(384) 353 5009  
www.kapadokya.edu.tr

**Öğrencinin**

**Adı - Soyadı:**

**Öğrenci No:**

**Lab Grubu:**

<b>Önsöz</b>	<b>7</b>
<b>Teşekkür</b>	<b>8</b>
<b>1 Hematolojiye Giriş</b>	<b>9</b>
Hematolojinin Tanımı . . . . .	9
Kan Hastalıkları . . . . .	9
Hematoloji Laboratuvarında Çalışırken Dikkat Edilecek Hususlar . . . . .	12
Hematoloji Laboratuvarında Bazı Malzemelerin Temizliği . . . . .	13
Kanın Morfolojik ve Fizyolojik Yapısı . . . . .	13
Tedavide Kullanılan Kan Ürünleri . . . . .	16
<b>2 Hematoloji Genel Bilgisi</b>	<b>17</b>
Hematopoetik Kök Hücre . . . . .	17
Hematolojik Analizler için Kan Örneklerinin Alınması . . . . .	17
Hematoloji Laboratuvarı Örnek Kabul ve Ret Kriterleri . . . . .	18
<b>3 Kan Alma Prensipleri</b>	<b>20</b>
Kan Analizleri Genel Bilgiler . . . . .	20
Kan Alırken Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar . . . . .	20
Venöz Kan Alma . . . . .	21
Uygulama: Venöz Kan Alma . . . . .	23
Uygulama: Enjektör ile Venöz Kan Alma . . . . .	24
Uygulama: Vakutainer ile Vakumlu Tüplere Venöz Kan Alma . . . . .	25
<b>4 Hemoliz</b>	<b>27</b>
Hemoliz Nedir? . . . . .	27
Hemolize Engel Olmak için Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar . . . . .	29
Tam Kandan Serum ve Plazma Elde Etme . . . . .	29
Uygulama: Enjektör ile Venöz Kan Alma . . . . .	31

<b>5 Kan Grubu Tayini</b>	<b>33</b>
Kan Grublama Yöntemleri . . . . .	35
Zayıf D Antijenleri (Du) . . . . .	35
Uygulama: AB0 Sistemine Göre Kan Gruplarının Tayini . . . . .	36
<b>6 Hücre Sayımı-1</b>	<b>41</b>
Eritrosit Sayımı . . . . .	41
Uygulama: Thoma Lamı veya Neubauer Lamı ile Eritrosit Sayımı . . . . .	45
<b>7 Hücre Sayımı-2</b>	<b>47</b>
Lökosit Sayımı . . . . .	47
Uygulama: Thoma Lamında Lökosit Sayımı . . . . .	50
Hemogram Parametreleri . . . . .	52
<b>8 Periferik Kan Yayması - Hücre Tanıma</b>	<b>56</b>
Periferik Kan Yayması . . . . .	56
Kan Hücreleri . . . . .	57
Hematolojik Maligniteler (Kan Hastalıkları) . . . . .	61
Uygulama: Periferik Kan Yayması- Hücre Tanıma . . . . .	63
<b>9 Periferik Kan Yayması - Formül Lökosit</b>	<b>65</b>
Periferik Kan Yayması ile Formül Lökosit Değerlendirmesi . . . . .	65
<b>10 Coomb's Testleri (İmmünohematolojik Testler)</b>	<b>68</b>
Antiglobulin Testler . . . . .	68
Coomb's Testleri . . . . .	68
Uygulama: Direkt Coomb's, İndirekt Coomb's ve İndirekt Coomb's Titrasyon Testleri . . . . .	70
Coomb's Serumunun Kontrolü . . . . .	76
Coomb's Testlerinde Yanlış Pozitiflik ve Yanlış Negatifliğin Nedenleri . . . . .	76
<b>11 Kanama Diyatezlerinde Kullanılan Testler</b>	<b>77</b>
Kanama Diyatezi . . . . .	77
Pıhtılaşma Mekanizmasında Görev Alan Faktörler . . . . .	79
Pıhtılaşma Faktörleri Eksiklikleri . . . . .	79
Kanama Zamanı . . . . .	81
Protrombin Zamanı/PTZ . . . . .	84
Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı/aPTT . . . . .	84
Koagülasyon Testleri Çalışırken Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar . . . . .	85
Uygulama: PTZ (Protrombin Zamanı) Ölçme . . . . .	87
Uygulama: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı / aPTT Ölçme . . . . .	90

<b>12 Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESR)</b>	<b>92</b>
Sedimentasyonun Tanımı . . . . .	92
Uygulama: Westergreen Yöntemi ile ESR Tayini . . . . .	94
<b>13 Cross Match (Çapraz Karşılaştırma)</b>	<b>97</b>
Cross Match Testinin Amacı . . . . .	97
Majör ve Minör Cross Match Testleri . . . . .	97
Cross Match Testi Yapılırken Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar . . . . .	98
Uygulama: Majör ve Minör Cross Match Testleri . . . . .	99
Uygulama: Acil Cross Match Testi . . . . .	102
<b>Kaynaklar</b>	<b>104</b>

**Sevgili Öğrenciler;**

Klinik laboratuvarlar, sağlık hizmetleri bütünlüğünün bölünmez unsurlarından biridir ve hastalığın teşhisinden tedavisine kadar tüm süreci büyük ölçüde etkilemektedir. Tıbbi laborantlar, tedavinin ilk basamağını oluşturan doğru tanı koymada hekimlere yol gösteren gizli kahramanlardır. Dolayısıyla laborantlar hastanın doğru bir tedavi görmesinde en önemli basamakta durmaktadırlar. Bu sebepten laborantlar klinik laboratuvarlarda uygulanan testleri bilmekle kalmayıp rutin testlere de hâkim olmalıdırlar. Hematoloji laboratuvar uygulamaları alanında yaşanan kaynak eksikliğinden doğan ihtiyaçla hazırladığımız bu kitap, rutin hematoloji laboratuvar uygulamalarını anlatan test protokollerini içermektedir. Hematoloji laboratuvarında yapılan testler hakkında bilgi sahibi olarak hematolojik testleri kolaylıkla uygulamanıza yarayacak “Hematoloji Laboratuvarı Uygulama Kitabı”, meslek hayatına atıldığınızda size yol gösteren kılavuz niteliğinde bir kitap olacaktır.

Gerek uygulama derslerinde gerekse meslek hayatınızda kullanacağınız bu kılavuzun faydalı olmasını umut eder, gelecekteki meslek hayatınızda başarılar dilerim.

Öğr. Gör. Zeynep Akıdağı

Nisan 2019

## TEŞEKKÜR

Hematoloji laboratuvarı uygulamalarının kitap hâline gelmesinde benden desteklerini esirgemeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Türkan Patıroğlu'na, başta Prof. Dr. Vesile Şenol ve Arş. Gör. Nurten Bayraktar olmak üzere emeği geçen Kapadokya Üniversitesi'nin değerli öğretim elemanlarına ve diğer mesai arkadaşlarıma, kitabı hazırlama süreci boyunca bana destek ve şevk veren canım aileme gönülden teşekkürlerimi sunarım...

Öğr. Gör. Zeynep Akıdağı

2019

## Hematolojinin Tanımı

**Hematoloji:** Hematoloji, kanın yapısını ve işleyişini inceleyen bilim dalıdır. Kanın normal işleyişinin incelenmesinin yanı sıra kan hücreleri ve kan hücrelerini üreten organlarda meydana gelen patolojiler de hematolojinin konuları arasındadır (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2016).

**Kan:** Kırmızı renkte, damarlarda akan ve hayati önem taşıyan kolloid sıvıdır. Hücreler ve plazma olmak üzere iki kısımdan oluşur (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2016).

Hematoloji bilimi aşağıdaki konuları inceler:

- Kan morfolojisi ve yapısının incelenmesi,
- Kan fizyolojisi ve incelenmesi,
- Kan hücrelerinin morfolojisi ve yapısı,
- Kandan kaynaklanan hastalıklar,
- Kan kaynaklı hastalıkların tanısında kullanılan yöntemler,
- Tedavide kan komponentlerinin hazırlanması.

## Kan Hastalıkları

Klinik laboratuvarlarda yapılan çeşitli hematolojik analizler sonucunda kan hücrelerinde ya da kan hücresi üreten organlarda ortaya çıkan patolojiler; lösemi, anemi ya da kanama diyatezleri gibi hematolojik hastaların ayırıcı tanısında hematologlara yol gösterici olur.

## Kan Hastalıkları Tanısında Kullanılan Yöntemler

### Eritrosit Analizleri

- Eritrosit indeksleri,
- Hemogloblin analizi,
- Hematokrit analizi,
- Fetal hemogloblin (Hb F) analizi,
- Hemogloblin elektroforezi testi,
- Oraklaşma testi (Sickling),
- Osmotik frajilite analizi,
- Sukroz hemoliz (şekerli su) testi,
- G6PD (Glikoz 6 fosfat Dehidrogenoz) tayini,
- Serumda demir analizi,
- Demir bağlama kapasitesinin ölçülmesi.

### Lökosit Analizleri

- Periferik kan yayması (formül lökosit),
- Kemik iliği yayma boyaması,
- Koagülasyon analizleri,
- Fibrinojen tayini,
- Faktör analizleri,
- Pıhtılaşma zamanı testi (PZ),
- Kanama zamanı testi (KZ),
- Protrombin zamanı (PTZ) ölçümü,
- Aktive Parsiyel Tromboplastin zamanı (aPTT) ölçümü,
- Protrombin Harcanma zamanı (PCT) ölçümü,
- Tromboplastin Jenerasyon testi (TGT) testi,

**Kan Merkezinde Yapılan Analizler**

- Kan grubu ve Rh faktörü analizleri,
- Direkt ve indirekt Coomb's testleri,
- Cross-Match (çapraz karşılaştırma) testi,
- Bağışçıdan kan alma,
- Kan komponentlerinin hazırlanması (eritrosit, trombosit süspansiyonu, plazma ve kriyopresipitat),
- Rh antikor titrasyonu,

**Hematoloji Laboratuvarlarında Kullanılan Malzemeler**

- Tüpler,
- Lam-lamel,
- Pipetler,
- Otomatik pipetler,
- Sayım kamaraları (Thoma, Neubauer, Bright Line Lamı),
- Kronometre,
- Turnike, Enjektör-Vacutainer,
- Lanset,
- Preparat boyama seti (ızgarası),
- Tüp sporu,
- Antikoagülanlı tüpler,
- Hücre sayım pipetleri (eritrosit ve lökosit pipeti).

**Kimyasal Maddeler**

- Tampon çözeltiler (PBS, SF, Tris vs.),
- Antikoagülan maddeler (EDTA, sitrat, heparin, Okzalit vs.),
- Periferik yayma için boyalar (Giemsa, Wright vs.),
- Ticari test kitleri,

- Coomb's serumu,
- İmmersiyon (sedir) yağı,

### **Cihaz ve Ekipmanlar**

- Mikroskop,
- Spektrofotometre,
- Etüv,
- pH metre,
- Santrifüj,
- Distile su cihazı,
- Terazi-Hassas terazi,
- Elektroforez cihazı (Hemoglobin için),
- Buzdolabı,
- Benmari,
- Otoanalizörler.

### **Hematoloji Laboratuvarında Çalışırken Dikkat Edilecek Hususlar**

- Laboratuvarda çalışanların güvenliği için alınması gereken başlıca tedbirlerden ilki, eldiven giymektir. Bunun yanında önlük kullanılmalı, gerektiğinde ise maske takılmalıdır.
- Analiz öncesi gerekli olan araç-gereç ve cihazlar hazırlanmalı.
- Laboratuvara gelen kan örneklerinde isim, soy isim, tarih ve protokol numarasının yer almasına ve istem kâğıdı ile uyumlu olmasına dikkat edilmelidir.
- Analiz için kullanılacak örneklerin uygun teknik ve yöntemlerle alınmasına ve uygun olmayan numunelerin (hemoliz, pıhtı vs.) alınmamasına özen gösterilmelidir.
- Analiz sırasında numunelerin bekleme sürelerinin takip edilmesi analiz sonuçlarının etkilenmemesi açısından önem taşımaktadır.

- Analiz sonunda tahlil sonuçlarının hasta kimliğiyle uyum sağlaması ve arşivlenmesi önemlidir.
- Analiz esnasında acilden gelen örneklerin öncelikli çalışılarak ilgili birime bildirilmesi zorunludur.
- Çalışanlar arasında nöbet devri esnasında gece yapılan işlemler bildirilmelidir.
- Nöbet usulü çalışmayan laboratuvarlarda ise çalışma bittikten sonra cam olan malzemeler yıkanmalı çalışma alanı temizlenmeli ve gerekli cihazlar kapatılmalıdır.

## Hematoloji Laboratuvarında Bazı Malzemelerin Temizliği

**Cam malzemelerin temizliği:** Lam ve lameller gibi cam malzemeler yaralama riski olduğundan kesici ve delici tıbbi atık kutusuna atılmalıdır.

**Mikropipetlerin temizliği:** Mikropipetler, hematoloji laboratuvarında sıkça kirlenen malzemelerden biridir. Tıkanan mikropipetler %1'lik NaOH (sodyum hidroksit) kullanılarak temizlenir.

Lökosit sayımında kullanılan pipetteki mor lekeyi gidermek için pipet alkolle temizlenir. Eritrosit sayımı için kullanılan pipetteki leke ise amonyak kullanılarak temizlenmelidir.

**Sayım kamarasının temizliği:** Sayım kamaralarını temizlemek için sırasıyla distile su, alkol ve aseton kullanılarak kan tortuları temizlenebilir. Kurulamak için genelde gazlı bez kullanılır. Sayım yapılan kareli bölgeye elle temas olmamalıdır.

## Kanın Morfolojik ve Fizyolojik Yapısı

Kan dokusu vücudumuzun %8'ini oluşturur. Vücuttaki toplam kan miktarı 4 ilâ 6 litre arasındadır. Kan, organizmada gerekli olan oksijen ve karbondioksit gibi gazları ve hücreler için gerekli olan besinleri taşıyan ve hücrel aktivite sonucu açığa çıkan atık maddelerin uzaklaştırılmasını sağlayan sıvıdır. Ayrıca vücut ısısının düzenlenmesinde, hormonların ve savunma hücrelerinin ilgili yerlere taşınmasında da görevlidir. Kan, proteinler, yağlar ve karbonhidratlar, antikorlar, enzimler ve hormonlar gibi çeşitli maddeleri içeren bir plazma kısmından ve eritrosit, lökosit ve trombositler gibi hücreleri kapsayan şekilli elemanlardan meydana gelir (Hoffbrand ve Moss, 2018).

## Kanın Görevleri:

- Kanın başlıca görevi taşımadır. Vücutta besinleri, atık maddeleri, oksijen ve karbondioksiti ilgili organlara taşır ve gereken yerlere ulaştırır.
- Kan, eritrositlerin taşıdığı Hemoglobin molekülüyle solunuma yardımcı olur. Hemoglobin sayesinde O<sub>2</sub> alışverişi sağlanmış olur.
- Kanın hücresel elemanlarından lökositler, bağışıklık sistemimizde rol alır. Vücudumuz enfeksiyonlarla, lökositler ve onların ürettiği antikorlar sayesinde savaşır.
- Kanda bulunan trombositler sayesinde ise akan kan pıhtılaşır ve hemostazı sağlanmış olur. Oluşan biyokimyasal olaylar sonucu gerekli tamponlar kullanılarak asit ve baz dengesi kan sayesinde dengede sabit tutulur (kan pH: 7.45). Kan aynı zamanda vücut ısısının düzenlenmesinde de görev alır (Hoffbrand ve Moss, 2018).

## Kanın yapısı

Kanın yarısı, sıvı olan bölümden yani plazmadan meydana gelir. Diğer yarısı ise kanın içinde çeşitli görevler üstlenmiş olan hücreler veya moleküllerdir. Kanın şekilli elemanları; eritrosit (alyuvar), lökosit (akyuvar) ve trombositler (kan pulcukları) olarak gruplandırılır. Şekilli elemanlar, tüm kanın %40-45'ini meydana getirir.

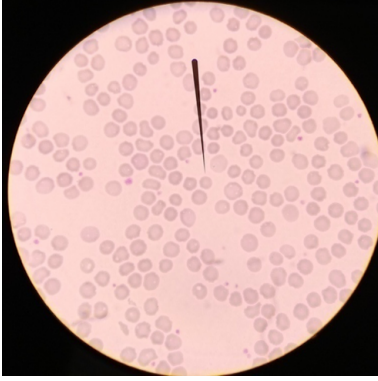
**Dikkat! Kan; plazma ve şekilli elemanlar olarak iki kısma ayrılır.**

**Kan Plazması:** Kanın %60'ını oluşturan; su, organik ve inorganik maddeleri içeren kısmıdır.

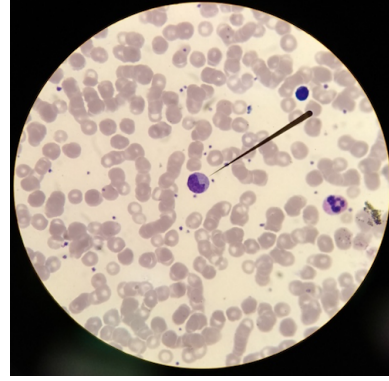
**Şekilli Elemanlar:** Kanın %40'ını oluşturan; eritrosit, lökosit ve trombositlerden meydana gelen kısmıdır.

## Kanın Hücresel Kısmı

**Eritrositler (alyuvarlar=kırmızı kan hücreleri):** Eritrositler kanda en çok bulunan hücrelerdir ve çekirdekleri yoktur. Bunun en önemli nedeni, kanın kırmızı renkte olmasını sağlayan Hemoglobin molekülünü bulundurmasıdır. 1 mm<sup>3</sup> kanda 4-5 milyon eritrosit vardır (**Resim 1**).



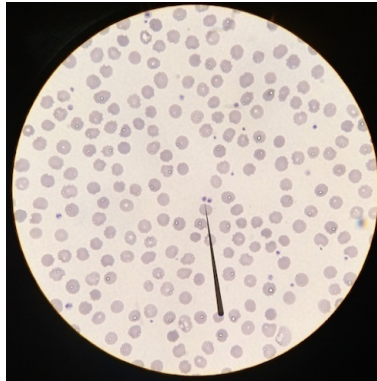
Resim 1: Eritrositler



Resim 2: Lökositler (monosit)

**Lökositler (akyuvarlar=beyaz kan hücreleri):** Lökositlerin birincil görevi, vücudumuzu hastalık etmenlerine karşı korumaktır. Sağlıklı insanlarda  $1\text{mm}^3$  kanda 4-10.000 kadar olan lökosit sayısı, enfeksiyonlarda artar. Enfeksiyonlarda olduğu gibi alerjik durumlarda da lökositlerin sayıları artar (**Resim 2**).

**Trombositler (platelet=kan pulcukları):** Trombositler, diğer adıyla *kan pulcukları* Hemostaz yani organizmanın iç dengesinden sorumlu olan hücrelerdir. Trombositler, bu iç dengeyi pıhtılaşma mekanizmalarını kontrol ederek yaparlar. Vücutta pıhtılaşmadan sorumlu olan trombositler, damarda akan kanın pıhtılaşmamasını, bir yaralanma olduğunda ise kanın pıhtılaşmasını sağlayan hücrelerdir. Kanda  $150\text{-}400\text{ bin/mm}^3$  kadar trombosit bulunur (**Resim 3**).



Resim 3: Trombositler

### Kanın Şekilsiz Kısmı: Plazma

Kanın hücre içermeyen, sarı renkli sıvı kısmıdır. Plazma kanın yaklaşık %60'ını kaplar. Su, plazma içeriğinde büyük bir orana (%90) sahiptir. Buna ek olarak, plazmada organik (%80) ve inorganik maddeler (%2) yer alır. Plazmanın büyük kısmını oluşturan proteinler arasında en fazla yer kaplayan albümindir. Ayrıca globulinler ve fibrinojen, plazma proteinlerini oluşturur. Proteinlerin dışında plazmada çeşitli metabolizma ürünleri de bulunur. Bunlar ürik asit, kreatinin, üre, aminoasitler,

yağlar ve glikoz gibi organik maddelerdir. Kanın içerdiği inorganik maddeler ise sodyum, potasyum, klor ve kalsiyum gibi çeşitli minerallerdir. Ayrıca pıhtılaşmada görevli faktörler, enzimler, hormonlar, kan gazları, antikorlar ve vitaminler de plazmanın içeriğinde yer alan maddelerdir (Lanzkowsky, 2016).

**DİKKAT! Plazma ve serum arasındaki tek fark, fibrinojendir. Serumda fibrinojen bulunmaz, ancak plazmada bulunur.**

Bunun sebebi, antikoagülanlı tüpler içinde bulunan EDTA ve sitrat gibi maddelerin kandaki kalsiyumu bağlayarak fibrinojenin fibrine dönüşmesini engellemesidir. Böylelikle, fibrinojen plazmada kalır. Fakat antikoagülan madde içermeyen tüplere alınan kanda, kalsiyumun etkisiyle fibrinojen fibrine dönüşeceğinden serumda bulunmaz.

Bilirubin, kolesterol ve kreatinin dışında birçok maddenin plazma ve serum konsantrasyonları farklılık gösterir (Tablo 1).

Plazmada Yüksek Olanlar	Serumda Yüksek Olanlar	Serum ve Plazmada Eşit Olanlar
Kalsiyum	Albümin	Bilirubin
Total Protein	Glikoz	Kolesterol
LDH	ALP	Kreatin
Klorür	Üre	
	Ürik asit	
	Sodyum	
	Potasyum	
	Fosfat	

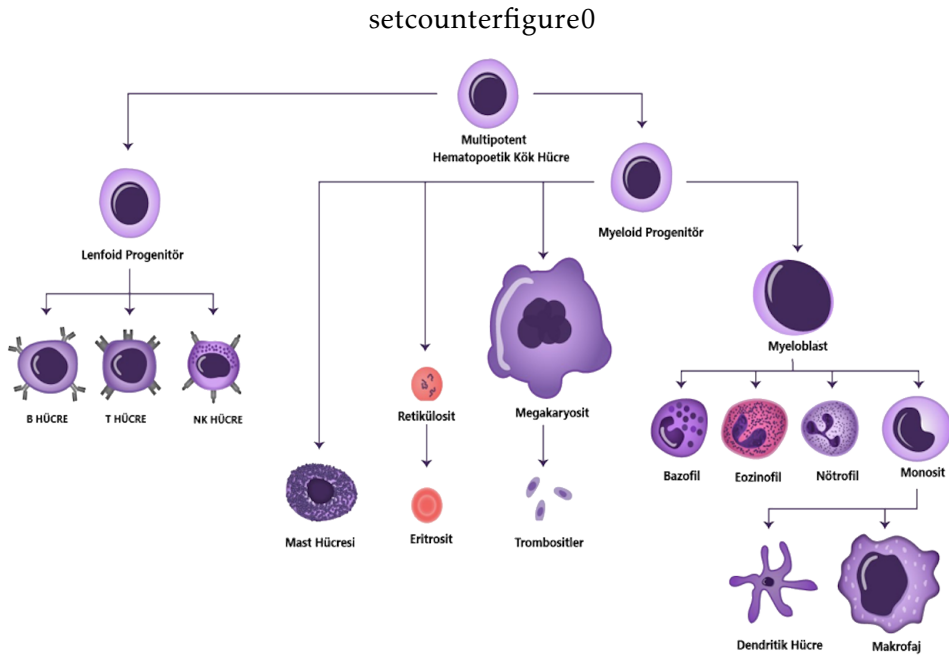
Tablo 1: Plazma ve serum içinde bulunan bazı maddelerin konsantrasyon farkları

## Tedavide Kullanılan Kan Ürünleri

Tıbbi tedavi amaçlı kullanılmak üzere bağışçılardan (donör) kan alınarak laboratuvar testleri yapılır. Kana ihtiyaç olduğunda ya da çeşitli kan hastalıklarının tedavisinde kullanmak için tam kan alınarak kan ürünleri (eritrosit, granülosit trombosit süspansiyonu, plazma ve plazmadan elde edilen faktörler, kriyopresipitat, albümin ve immünglobulin) hazırlanır. Kan ürünlerinin hazırlanması, muhafaza edilerek saklanması ve dağıtım işleri kan bankaları ya da kan merkezleri tarafından yapılır (T. C. Sağlık Bakanlığı, 2016).

## Hematopoetik Kök Hücre

Kök hücreler, kemik iliğinden gelişen çeşitli hücre tiplerine (kemik, kıkırdak, sinir vs.) dönüşebilme potansiyeline sahip farklılaşmamış hücrelerdir. Hematopoetik kök hücreler ise kan hücrelerini oluşturacak öncül hücrelerdir (Anak vd., 2011)(Şekil 1).



Şekil 1: Hematopoetik Kök Hücreden Kan Hücrelerinin Gelişimi (Kaynak: Shutterstock)

## Hematolojik Analizler için Kan Örneklerinin Alınması

Hematoloji laboratuvarında kullanılan temel klinik örnek kandır. Kan, yapılacak olan test türüne göre farklı örnek tüplerine alınır. Hematolojik analizlerde genellikle antikoagülanlı kan örneği tercih edilir. Antikoagülanlı kan örnekleri tüplerine alındıktan hemen sonra tüpler hafif şekilde alt üst edilerek antikoagülan ile karışımı

sağlanır. Serum elde edilmek isteniyorsa kuru tüplere, kan alımından sonra tüp çalkalanmadan dik bir şekilde en az 15 dakika kadar bekletilmesinin ardından santrifüj işlemi uygulanır (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2011a).

### Hematoloji Laboratuvarı Örnek Alım Tüpleri

**Mor veya pembe kapaklı EDTA'lı tüpler:** Mor ve pembe kapaklı tüplerde EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetikasit) denilen bir kimyasal bulunur. Bu kimyasal kan içindeki kalsiyumu tutarak pıhtılaşmaya engel olur. Bu sebepten tam kandan çalışılacak analizler EDTA'lı tüplerden çalışılır. EDTA ticari olarak potasyum (K2-EDTA) ve sodyum (Na-EDTA) tuzları hâlinde iki şekilde bulunur. EDTA'lı tüplerle; Hemogram, Retikülosit, Formül Lökosit, Kan Grubu, Crossmatch ve Coomb's testleri çalışılır (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2011a) (**Resim 4a**).

**Mavi kapaklı sitratlı tüpler:** Bu tüplerle genellikle Koagülasyon testleri çalışılmaktadır. Mavi kapaklı tüplerin içinde %3,8 kadar disodyum sitrat solüsyonu bulunur. Bu tüplerle PT, aPTT, Fibrinojen, D-Dimer, Koagülasyon Faktörleri (F1'den F13'e kadar), Kollajen-Epinefrin, Protein C, Protein S, Lupus Antikoagülanı ve Antifaktör Xa çalışılır (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2011a) (**Resim 4b**).

**Siyah kapaklı sitratlı tüpler:** Eritrosit sedimantasyon hızı ölçümü (ESR) için kullanılır (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2011a)(**Resim4c**).



Resim 4: EDTA'lı mor-pembe kapaklı tüp (a), Mavi kapaklı sitratlı tüp (b), Siyah kapaklı sitratlı tüp (c)

### Hematoloji Laboratuvarı Örnek Kabul ve Ret Kriterleri

#### Örnek kabul kriterleri:

- Testler için uygun vakumlu tüplere alınmış numuneler kabul edilmelidir.

- Hemolizli olmayan örnekler kabul edilmelidir.
- Pıhtı içermeyen örnekler kabul edilmelidir.
- Tüplerin üzerinde belirtilen seviyeye kadar alınmış örnekler kabul edilmelidir.
- Tüplerin üzerinde hasta barkodu bulunan örnekler kabul edilmelidir.
- Tüplere alınan ve barkodu yapııştırılan örnekler 30 dakikayı geçmeden kabul edilmelidir (Ayaz, 2012:54).

### **Örnek Ret Kriterleri:**

- Hasta isim ve bilgilerini içermeyen, numunenin türünün belirtilmediği örnekler kabul edilmez.
- Üzerinde barkod olmayan numuneler kabul edilmez.
- Tüp seviyelerinde yeteri kadar alınmamış örnekler kabul edilmez.
- Hemolizli kanlar kabul edilmez.
- Lipemik ve ikterik numunelerle çalışıldığında laboratuvar otomasyonu üzerinden numunenin durumu açıklanır.
- Pıhtılı örnekler kabul edilmez.
- Uygun transfer koşullarında getirilmeyen numuneler kabul edilmez.
- Fazla beklemiş örnekler kabul edilmez.
- Başka maddelerle kontamine olmuş örnekler kabul edilmez.
- Örnek üzerindeki barkodlar silik ve/veya yırtık ise kabul edilmez (Ayaz, 2012:54).

## Kan Analizleri Genel Bilgiler

Hematolojik analizlerin numunesi genellikle kandır. Kan analizleri için venden, arterden ve kapillerden kan alınır (Akbaş vd.,2000).

**Tam kan:** Serum ve plazmaya ayrılmamış, içerisinde hiçbir kimyasal madde bulunmayan ve hastadan direkt kuru tüplere alınan kandır.

**Serum:** Tam kan alındıktan bir süre sonra pıhtılaşıp ve dibe çöken şekilli elemanlardan ayrılan kanın sarı renkli üst kısmıdır.

**Plazma:** İçerisinde antikoagülan bulunan tüpe alınan ve fibrinojen içeren kanın şekilli elemanlarından ayrılmış sıvı kısmıdır.

## Kan Numunesi Alım Şekilleri

**Venöz kan alma:** Tıbbi laboratuvarında başta biyokimyasal analizler olmak üzere birçok analiz venöz kandan çalışılır. Erişkinlerde antekubital fossa veninden ya da derinin yüzeyine yakın venlerden, venöz kan alınabilir.

**Arteriyel kan alma:** Kan gazı testleri için alınır. Bu işlem için anatomik yapının iyi bilinmesi gerekmektedir. Bu sebeple, arteriyel kan alma işlemini hemşireler değil, doktorlar yapar.

**Kapiller kan alma:** Bazı analizler için çok az miktarda alınan kan yeterli olmaktadır. Bu durumlarda parmak ucundan ya da topuktan kan alma işlemi yapılabilir. Bunun için lansetle deri delinir ve kapiller tüplerle kan alınır. Kapiller kan; hematokrit tayini, eritrosit, lökosit ve trombosit sayımı, periferik yayma, kan grubu tayini ve yeni doğanlardan, bebek ve çocuklardan alınan bazı analizler için kullanılır.

## Kan Alırken Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

Kan alırken en başta dikkat edilecek husus, doğru tüpe doğru miktarda hemoliz etmeden kanın alınmasıdır. Eritrositlerin parçalanması sonucu oluşan hemoliz, kan

serumunun rengini kırmızıya çevirir. Bu kırmızılık ancak hemoglobinin serumdaki yoğunluğu 20 mg/dL'yi geçerse gözle görünür bir hâl alır (Akbaş vd., 2000).

**Pediyatrik tüpler:** İçinde EDTA bulunan diğer tüplere göre daha küçük olan, çocuklardan kan almak için kullanılan tüplerdir.

**Siyah kapaklı tüpler:** Sedimentasyon tüpleridir. Otomatik cihazlara yerleştirilerek ölçüm yapılır.

**Kırmızı ve sarı kapaklı tüpler:** Boş kuru tüplerdir. İçerisinde herhangi bir antikoagülan yoktur. Serum ile çalışılan testler için otoanalizörlerde kullanılır.

**Mavi kapaklı tüpler:** Genelde koagülasyon testleri mavi kapaklı tüplere alınan plazmadan çalışılır. İçinde %3,8 oranında sitrat bulunur.

**Mor kapaklı tüpler:** Bu tüpler en çok hemogram (CBC) tüpü olarak kullanılır. İçinde pıhtılaşmayı engelleyici EDTA denilen antikoagülan madde bulunur. Bu tüpteki kan, tam kandır.

## Venöz Kan Alma

### Venöz kan alma hazırlığı

- Venöz kan alma işlemi için gereken araç ve gereçler önceden hazırlanmalıdır.
- Kan alma işlemi gerçekleşmeden önce yapılması gereken ilk adım hastanın adının ve soyadının sorulması ve kimlik doğrulanmasının yapılmasıdır.
- Bazı biyokimyasal tahliller için açlık ve tokluk önemli olduğundan hastaya kan almadan önce durumu sorulmalıdır.
- Kullanılacak iğne ucu belirlenmelidir. Yetişkinlerde genellikle 19-20 numaralı iğne ucu kullanılır.
- Hasta, kanı kan alma koltuğunda vermelidir. Kan almadan önce hasta uygun pozisyonda olmalıdır.
- Kan almak için hastadan kolunu düz tutması istenmelidir.
- Hasta kolundaki uygun ven, palpasyon hareketiyle seçilir. Genellikle yüzeye yakın ve kalın olduğundan antekubital fossadaki ven tercih edilir. Hematom olan koldan veya kadınlarda mastektomi yapılmış koldan kan alınmamalıdır.
- Kan almak için turnike, kan alınacak bölgenin 10-15 cm yukarısına bağlanır. Turnike uzun süre bağlı kalmamalıdır. Aksi hâlde biyokimyasal sonuçlar etkilenebilir.
- Kan almadan önce mutlaka kan alınacak bölge %70'lik alkollü pamukla temizlenmeli ve kuruması beklenmelidir.

- Venden kan alma esnasında hastanın elini yumruk yapmasında sakınca yoktur fakat elini açıp kapatmamalıdır. Çünkü bu hareket kandaki bazı maddelerin (sodyum, potasyum, laktat) artmasına sebep olabilir.
- Hastanın kolu mümkün olduğunca sabitlenmeli, kan alma sırasında kol kıpırdatılmamalıdır.

## Uygulama: Venöz Kan Alma

### Amaç

Uygun teknikler kullanarak analizler için gerekli olan kanı toplardamardan (ven) alma.

### Araç - Gereçler:

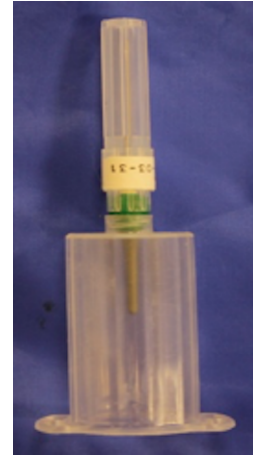
- Kan alma koltuğu,
- Alkollü pamuk,
- Vakumlu kan tüpleri (**Resim 5**),
- Turnike (**Resim 6**),
- Steril enjektör/Vacutainer ve iğneleri (**Resim 7**),
- Flaster ya da nokta bant,
- Kuru pamuk.



Resim 5: Kan Tüpleri



Resim 6: Turnike



Resim 7: Vacutainer iğnesi ve holdır

## Uygulama: Enjektör ile Venöz Kan Alma

	Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Venöz kan almadan önce gerekli malzemeler hazırlanır ve eldiven giyilir.	
2	Turnike bağlanarak palpasyonla kan alınacak damar seçilir. %70'lik alkolü pamukla temizlenir ve kuruması beklenir.	
3	Turnike, seçilen damarın 10-15 cm yukarisına bağlanır ve iğnenin kapağı çıkarılarak boş enjektöre hava çekilip itilir. Bu hareket, kanın daha kolay biçimde enjektöre akmasını sağlayacaktır.	
4	İğne, kan alınacak vene paralel bir şekilde tutulur ve 15 derecelik açıyla damar içine doğru itilir. İğnenin damara girdiği hissedildiğinde, daha fazla ileri doğru itilmez.	
5	Enjektör damara girdiği anda parmakla iğne sabitlenir ve diğer elle piston çekilir. Eğer iğne damarda ise enjektöre kan kolaylıkla gelir. Damarda değilse kan gelmeyecektir. Enjektöre istenilen miktarda kan çekildiğinde turnike açılır.	
6	Enjektöre istenilen miktarda kan çekildiğinde turnike açılır.	
7	Kuru pamukla kan alınan bölgeye baskı uygulayarak iğne yavaşça geri çekilir. Kuru pamuk altta kalacak şekilde flasterle kan alınan bölgenin kanaması engellenerek hastaya nokta bant verilir. Hastaya kan alınan bölgeye 5 dakika kadar bastırması ve sonrasında nokta bandı yapıştırması söylenir.	
8	Enjektörün iğnesi kesici delici tıbbi atık kutusuna atılır. Enjektördeki kan ise istenilen analiz tüplerine aktarılır. Birkaç tüpe aktarılacaksa kan, sırasıyla önce kırmızı kapaklı kuru tüp, mavi kapaklı sitratlı tüp, yeşil kapaklı heparinli tüp, mor kapaklı EDTA'lı tüp ve diğer tüplere tüp kenarından sızdırılarak boşaltılır. Enjektör ise standart tıbbi atık kutusuna atılır.	
9	Kan, tüplere aktarılırken hemolizi önlemek için tüp kenarından sızdırarak boşaltılmalı ve antikoagülanlı tüpler yavaşça alt üst edilerek karıştırılmalıdır. Kuru tüpleri ise karıştırmaya gerek yoktur.	

## Uygulama: Vakutainer ile Vakumlu Tüplere Venöz Kan Alma

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Venöz kan almadan önce gerekli malzemeler hazırlanır ve eldiven giyilir.
2	Turnike bağlanarak palpasyonla kan alınacak damar seçilir. %70'lik alkollü pamukla temizlenir ve kuruması beklenir.
3	Vakumlu kan alma iğnesi, kapağı açılmadan holdıra yerleştirilir. İğnenin sabitlendiğinden emin olunur.
4	Hasta barkodları önceden yapıştırılmış tüpler, kan alma sırasına göre hazırlanır.
5	Seçilen damara vakumlu iğne ile 15 derecelik açıyla paralel bir şekilde girilir. İlk sıradaki tüp iki parmak holdırı sabitleyecek biçimde yerleştirilir. Damara girdikten sonra açılı biraz düşürülerek ilerlenir. Eğer damara denk gelinmişse tüpe kan gelmeye başlayacaktır.
6	Kan, tüpe dolmaya başlayınca turnike gevşetilmelidir. Eğer kan alınacak tüp fazlaysa 2. 3. tüpten sonra turnike gevşetilebilir.
7	Tüpler içlerindeki vakum bitene kadar doldurulmalıdır. Aksi hâlde kan tüplerin istenilen seviyesine kadar dolmayacak ve bu durum analiz sonucunu etkileyecektir.
8	Vakumu biten tüp çıkarılıp diğer tüp takılırken parmaklarımız yardımıyla holdır sabitlenmelidir. Aksi hâlde iğne damardan çıkabilir.
9	Seviyesine kadar kanla dolan tüpler, alt üst edilerek spora konmalıdır.
10	Turnike açılır. Sol elle tutulan kuru pamuk, kan alınan bölgeye sabitlenir ve sağ eldeki iğne yavaşça çekilir. İğne, kesici delici tıbbi atık kutusuna atılmalıdır. Holdır, eğer hastayla kan teması olmamışsa, bir sonraki hasta için kullanılabilir.
11	Kuru pamukla kan alınan bölgeye bir baskı uygulayarak iğne yavaşça geri çekilir. Kuru pamuk altta kalacak şekilde flasterle kan alınan bölgenin kanaması engellenerek hastaya nokta bant verilir. Hastaya kan alınan bölgeye 5 dk dakika kadar bastırması, sonrasında ise nokta bandı yapıştırması söylenir.

**Uygulama: Venöz Kan Alma****Öğrenci Raporu:**

## Hemoliz Nedir?

Hemoliz, eritrositlerin parçalanması sonucunda içlerindeki hemogloblin molekülünün serbest kalması ve serum renginin kırmızıya dönmesiyle tanımlanır (Türkmen vd., 2007) (**Resim8b**). Normalde vücudumuzda yalnızca yaşlanan eritrositlerin parçalanmasından dolayı bir hemoliz gerçekleşir. Hemoliz bazı nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilir; kan transfüzyonlarında meydana gelen uyumsuzluklar, kan uyumsuzluğuna bağlı olan yeni doğan hemolitik anemisi gibi bazı durumlar, bazı ilaçlar, enfeksiyonlar ve genetik hastalıklarda hemoliz gözlemlenebilir.

## Hemolize Neden Olan Faktörler

Analizlerde hemolizi ancak santrifüj işleminden sonra kırmızı bir serum gördüğümüzde fark edebiliriz. Bu şekilde hemoliz kan alma sırasında oluşan bazı hatalardan kaynaklanmaktadır. Eğer kan tüplere aktarılırken iğne çıkarılmadan ve çok yavaş ya da çok hızlı bir şekilde aktarılmışsa ya da kanla dolu tüp çok kuvvetli bir şekilde çalkalanmışsa hemoliz meydana gelebilir. İğneyi çıkararak kanı boşaltmak, kuvvetlice çalkalamak yerine hafifçe alt üst etmek ve turnikeyi fazla uzun tutmamak hemolizi engelleyebilir. Ayrıca kan almadan önce uygulanan alkolün kurumasını beklememek de hemoliz sebebi olabilir. Bazı genetik sebeplerden dolayı eritrositlerin frajilitelerindeki bozulmadan ötürü hemoliz meydana gelebilir.

## Hemolizden Etkilenen Testler

Analiz sonuçlarını etkilemesi riskinden dolayı Hemolizli kanla çalışmamak çok önemlidir. Hemolizli bir kanda **LDH, AST, total protein, demir, fosfat, potasyum** ve **magnezyum** gibi maddelerin konsantrasyonu artar. Eritrositlerin parçalanmasının sonucunda serbest kalan hemogloblin, otoanalizörlerin spektrofotometreleri tarafından görünür hâle gelir ve ışığın büyük bölümünü absorbe eder. Sonucunda, **ko-  
lesterol, trigliserid, kreatin kinaz** ve **CK-MB** düzeyleri artar (Türkmen vd., 2007)

**İntravenöz sıvı kontaminasyonu:** İntravenöz sıvı kontaminasyonu analiz sonuçlarını, özellikle de kan sayım sonuçlarını büyük ölçüde etkiler. İntravenöz sıvı kontaminasyonu kateter takılı koldan kan alındığında gerçekleşir. İnfüzyon yapılan koldan en az yarım saat kan alınmaması gerekir.

### Uygulama: Enjektör ile Venöz Kan Alma

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Venöz kan almadan önce gerekli malzemeler hazırlanır ve eldiven giyilir.
2	Turnike bağlanarak palpasyonla kan alınacak damar seçilir. %70'lik alkollü pamukla temizlenir ve kuruması beklenir.
3	Vakumlu kan alma iğnesi, kapağı açılmadan holdıra yerleştirilir. İğnenin sabitlendiğinden emin olunur.
4	Hasta barkodları önceden yapıştırılmış tüpler, kan alma sırasına göre hazırlanır.
5	Seçilen damara vakumlu iğne ile 15 derecelik açıyla paralel bir şekilde girilir. İlk sıradaki tüp iki parmak holdırı sabitleyecek biçimde yerleştirilir. Damara girdikten sonra açılı biraz düşürülerek ilerlenir. Eğer damara denk gelmişse tüpe kan gelmeye başlayacaktır.
6	Kan, tüpe dolmaya başlayınca turnike gevşetilmelidir. Eğer kan alınacak tüp fazlaysa 2. 3. tüpten sonra turnike gevşetilebilir.
7	Tüpler içlerindeki vakum bitene kadar doldurulmalıdır. Aksi hâlde kan tüplerin istenilen seviyesine kadar dolmayacak ve bu durum analiz sonucunu etkileyecektir.
8	Vakumu biten tüp çıkarılıp diğer tüp takılırken parmaklarımız yardımıyla holdır sabitlenmelidir. Aksi hâlde iğne damardan çıkabilir.
9	Seviyesine kadar kanla dolan tüpler, alt üst edilerek spora konmalıdır.
10	Turnike açılır. Sol elle tutulan kuru pamuk, kan alınan bölgeye sabitlenir ve sağ eldeki iğne yavaşça çekilir. İğne, kesici delici tıbbi atık kutusuna atılmalıdır. Holdır, eğer hastayla kan teması olmamışsa, bir sonraki hasta için kullanılabilir.
11	Kuru pamukla kan alınan bölgeye bir baskı uygulayarak iğne yavaşça geri çekilir. Kuru pamuk altta kalacak şekilde flasterle kan alınan bölgenin kanaması engellenerek hastaya nokta bant verilir. Hastaya kan alınan bölgeye 5 dk kadar bastırması, sonrasında ise nokta bandı yapıştırması söylenir.

## Hemolize Engel Olmak için Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

- Enjektör ve iğne tamamen kuru olmalıdır.
- Enjektör iğnesi çıkartılarak kan tüplere boşaltılmalıdır.
- Kan tüp kenarından sızdırarak istenen hacimde aktarılmalı ve kanın köpürmemesine dikkat edilmelidir.
- Tüplerin içinde antikoagülan (kanın pıhtılaşmasını önleyen madde) varsa tüpler yavaşça 5-10 kez alt üst edilerek karıştırılmalıdır.
- Tüpler, hiçbir zaman çalkalanmamalıdır.
- Kanın beklemesi gerekirse +4 derecede buzdolabının alt tarafında bekletilmelidir ve asla dondurulmamalıdır.

## Tam Kandan Serum ve Plazma Elde Etme

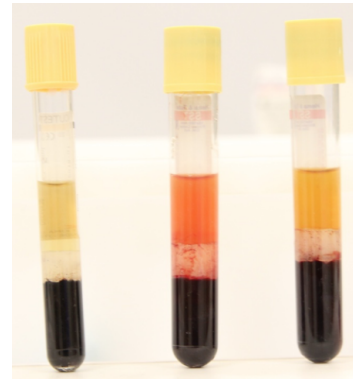
**Kanın Şekli Elemanları:** Kanın hücresel kısmının yaklaşık %45'ini kırmızı kan hücreleri (eritrositler-alyuvarlar), beyaz kan hücreleri (lökositler-akyuvarlar) ve trombositler (Eritrositler %99, Lökositler %1, Trombositler <%1) denilen kan hücreleri oluşturur.

**Serum:** Kanın pıhtılaşmasından sonra santrifüj edilince tüpün üstünde kalan sarı renkli sıvı, serumdur. **Serumun plazmadan farkı, serum içerisinde fibrinojenin bulunmamasıdır.** Biyokimyasal testler çoğunlukla serumdan çalışılır. Bazı hâllerde serum içinde bulunan bazı maddeler serum renginin değişmesine sebep olabilir. Bu durum farklı terimlerle açıklanır.

**Hemoliz:** Kanda bulunan eritrositlerin çeşitli nedenlerle parçalanarak hemoglobinin seruma geçmesi ve serum renginin kırmızıya dönmesidir (**Resim 8b**).

**Lipemik:** Kanda bulunan fazla yağların serumun rengini bulanık hâle getirerek değiştirmesidir.

**İkter:** Kanda bilirubin miktarının artmasından ötürü serum renginin yeşile dönmesidir (**Resim 8c**).



Resim 8: Normal (a), hemoliz (b) ve ikterik (c) serum

## **Plazma**

İçinde antikoagülan bulunan tüpteki kan santrifüj edildiğinde tüpün üstünde kalan sarı renkteki sıvıya plazma denir. Plazma; su, yağ, şeker, protein ve tuzların karışımından oluşur. Plazmanın içeriğinde ana besinler, atık ürünler, antikorlar, pıhtılaşma faktörleri, hormonlar, proteinler ve kan hücreleri bulunmaktadır.

### **Plazmanın Yapısı**

Plazmanın %90'ı su, %8'i protein içerir. Bu proteinin %60'ı albumin, %36'sı globulin ve %4'ü fibrinojendir. Plazma, ayrıca %0,9 oranında inorganik tuz içerir. Sodyum, potasyum, karbonat, fosfat ve diğer organik bileşikler inorganik tuzlardandır.

### **Plazma elde edilmesi**

Plazma, antikoagülan içeren tüplerin santrifüjünden sonra elde edilen tüpün üst kısmındaki sıvıdır. Serum ise kuru tüpe alınan kanın santrifüjünden sonra elde edilen tüpün üst kısmındaki sıvıdır.

## Uygulama: Enjektör ile Venöz Kan Alma

### Amaç

Venöz kan alma tekniği uygulanarak alınan kanlardan serum ve plazma elde edip aralarındaki farkı kavramak.

### Araç - Gereçler

- Alkollü pamuk,
- Steril enjektör ya da vakumlu iğne,
- Turnike Kan tüpleri/Vakumlu tüpler (kuru tüp ve antikoagülanlı tüp).

	Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Venöz kan almadan önce gerekli malzemeler hazırlanır ve eldiven giyilir.	
2	Turnike bağlanarak palpasyonla kan alınacak damar seçilir. %70'lik alkollü pamukla temizlenir ve kuruması beklenir.	
3	Turnike, seçilen damarın 10-15 cm yukarısına bağlanır ve iğnenin kapağı çıkarılarak boş enjektöre hava çekilip itilir. Bu hareket kanın daha kolay biçimde enjektöre akmasını sağlayacaktır.	
4	Hasta barkodları önceden yapıştırılmış tüpler kan alma sırasına göre hazırlanır.	
5	Seçilen damara vakumlu iğne ile 15 derecelik açıyla paralel bir şekilde girilir. İlk sıradaki tüp, iki parmak holdırı sabitleyecek biçimde yerleştirilir. Damara girdikten sonra açılı biraz düşürülerek ilerlenir. Eğer damara denk gelmişse tüpe kan gelmeye başlayacaktır.	
6	Kan, tüpe dolmaya başlayınca turnike gevşetilmelidir. Eğer kan alınacak tüp fazlaysa 2. veya 3. tüpten sonra turnike gevşetilebilir.	
7	Tüpler, içlerindeki vakum bitene kadar doldurulmalıdır. Aksi hâlde kan tüplerin istenilen seviyesine kadar dolmayacak ve bu durum analiz sonucunu etkileyecektir.	
8	Vakumu biten tüp çıkarılıp diğer tüp takılırken parmaklarımız yardımıyla holdırı sabitlenmelidir. Aksi hâlde iğne damardan çıkabilir.	
9	Seviyesine kadar kanla dolan tüpler alt üst edilerek spora konmalıdır.	
10	Turnike açılır. Sol elle kuru pamuk kan alınan bölgeye sabitlenir ve sağ elle iğne yavaşça çekilir. İğne, kesici delici tıbbi atık kutusuna atılmalıdır. Holdırı, eğer hastayla kan teması olmamışsa, bir sonraki hasta için kullanılabilir.	
11	Santrifüj sonrasında kırmızı kapaklı kuru tüpe aldığımız kanın üstündeki kısım serumdur. İçerisinde antikoagülan bulunan mor ya da mavi kapaklı tüpün üstünde kalan kısım ise plazmadır.	
12	100 mikrolitrelik otomatik pipetle ya da pastör pipetiyle serum veya plazma tüpten alınıp başka bir tüpe ya da godaye ayrılır.	

**Uygulama: Tam Kandan Serum ve Plazma Elde Edilmesi****Öğrenci Raporu:**

Kan grubu tayini kişinin kırmızı kan hücrelerinde, yani eritrositleri üzerinde taşıdığı antijenlerinin tespit edilmesi ve kişinin hangi kan grubunu taşıdığını belirlemek için yapılan bir testtir. Bu testte kan grupları bazı antijenlerin var olması, bazılarının ise var olmamasına göre belirlenir. Örneğin kişi, eritrositleri üzerinde A antijeni taşıyorsa A kan grubundandır, fakat A ya da B antijenlerinden hiçbirini taşımıyorsa 0 kan grubundandır diyebiliriz. Aynı mantık Rh antijeni için de geçerlidir; kişi Rh antijeni taşıyorsa Rh (+), taşımıyorsa Rh (-) demektir. Eritrositlerde taşınan antijenler kadar vücudumuzun bu doğal antijenlere karşı ürettiği antikorlar da bulunur. Kan grubu tayini hem antijenlere hem de antikorlara göre çalışılan bir testtir. Örneğin, birey eritrositlerinde A antijeni taşıyorsa serumunda Anti- B antikoru bulunur (**Tablo 2**). Bu sebepten B kan grubundan asla kan alamaz. Bu durumda 0 kan grubu hiçbir antijen taşımadığı fakat hem Anti- A hem de Anti- B antikorları taşıdığı için hiçbir gruptan kan alamaz. Aksi takdirde donörden gelen eritrositler üzerindeki antijenlerle 0 kan grubu olan alıcının serumundaki antikorlar birleşir ve ölümcül reaksiyonlara sebep olur. Bundan dolayıdır ki 0 kan grubu antijen içermediğinden *genel verici* olarak isimlendirilir. Fakat diğer gruplara karşı taşıdığı antikorlar nedeniyle pratikte kullanılmaz. AB kan grubu ise her iki grubun da antijenini taşıdığı ve antikoru bulunmadığı için tüm gruplardan kan alabilir. Dolayısıyla *genel alıcıdır*. Kan transfüzyonunda grup uyumu kadar Rh uyumu da gereklidir (**Tablo 3**).

**Antijen:** Organizmaya ait olmayan, kendine yabancı olan bakteri, virüs, vs. gibi maddelere antijen denir. Bazı antijenler immün sistemimizi uyarıp bir yanıt oluşturma yeteneğinde olabilirken bazıları immün sistemi uyaracak kadar güçlü olmayabilir.

**Antikor:** Organizmaya giren ve immün sistemi uyarmayı başarmış olan antijenlere karşı onları yok etmek için vücudumuz tarafından üretilen glikoprotein yapısındaki maddelerdir; immünglobulin olarak da bilinirler. Kan gruplarında eritrositler üzerinde bulunan doğal antijenlere karşı üretilen antikorlar IgM sınıfı antikorlardır.

Eritrositlerin yüzeyinde doğal olarak bulunan ve kan transfüzyonunda uyumunun tam olması gereken antijen ise Rh antijenidir. Rh faktörü de denilmektedir.

Eritrositler, yüzeylerinde Rh antijeni taşıyorsa Rh (+) (pozitif), içermiyorsa Rh (-) (negatif)'tir. Türkiye'de en sık A Rh (+) grubuna en az da AB Rh (-) kan grubuna rastlanır.

Kan Grubu	Antijen	Antikor
A Rh (+)	A ve Rh antijeni var.	Anti- B antikoru var.
A Rh (-)	A var ama Rh antijeni yok.	Anti- B antikoru var.
B Rh (+)	B ve Rh antijeni var.	Anti- A antikoru var.
B Rh (-)	B var ama Rh antijeni yok.	Anti- A antikoru var.
0 Rh (+)	A ve B antijeni yok Rh antijeni var.	Anti- A ve Anti-B antikoru var.
0 Rh (-)	A, B ve Rh antijeni yok.	Anti- A ve Anti-B antikoru var.
AB Rh (+)	A, B ve Rh antijeni var.	Anti- A ve Anti B antikoru yok.
AB Rh (-)	A, B antijeni var Rh antijeni yok.	Anti- A ve Anti B antikoru yok.

Tablo 2: Kan grupları antijen- antikor ilişkisi

Kan Grubu	Allel	Allel	Genotip	Fenotip
A Rh (+)	A-R	A-R	AA-RR	A Rh (+)
A Rh (+)	A-R	A-r	AA-Rr	A Rh (+)
A Rh (+)	A-R	0-R	A0-RR	A Rh (+)
A Rh (+)	0-r	A-R	A0-Rr	A Rh (+)
B Rh (+)	B-R	B-R	BB-RR	B Rh (+)
B Rh (+)	B-r	B-R	BB-Rr	B Rh (+)
B Rh (+)	B-R	0-R	B0-RR	B Rh (+)
B Rh (+)	0-r	B-R	B0-Rr	B Rh (+)
0 Rh (+)	0-R	0-R	00-RR	0 Rh (+)
AB Rh (+)	A-R	B-R	AB-RR	AB Rh (+)
0 RH (+)	0-R	0-r	00-Rr	0 RH (+)
AB RH (+)	A-R	B-r	AB-Rr	AB RH (+)
AB RH (+)	A-r	B-R	AB-Rr	AB RH (+)
A RH (-)	A-r	A-r	AA-rr	A RH (-)
A RH (-)	A-r	0-r	A0-rr	A RH (-)
B RH (-)	B-r	B-r	BB-rr	B RH (-)
B RH (-)	B-r	0-r	B0-rr	B RH (-)
0 RH (-)	0-r	0-r	00-rr	0 RH (-)
AB RH (-)	A-r	B-r	AB-rr	AB RH (-)
AB RH (-)	B-r	A-r	AB-rr	AB RH (-)

Tablo 3: Kan Grubu ve Genotip İlişkisi

Ayrıca kan grupları yalnızca AB0 gruplarından ibaret değildir. Bu grupların alt grupları mevcuttur. Bazen yapılan kan grubu tayinlerinde gruplar tam olarak saptanamaz. Bu durum, bu alt gruplardan kaynaklanır. Örneğin, AB0 grup sistemine göre A kan grubunun A1, A2, A1B, A2B, B3, BX gibi yaklaşık 100 adet alt grubu bulunmaktadır. Alt gruplarda olduğu gibi kan gruplama sistemleri, AB0 gruplama

sistemi dışında 30'a yakın subgrup antijeninden ibarettir. Örneğin; MNS, Lutheran, Kell, Lewis, Rh ve Duffy gibi antijenler bunlardan sadece birkaçını oluşturmaktadır (Zerrin vd., 2004).

**Hemaglutinasyon:** Eritrositlerin yüzeyindeki antijenlerin elektrolitli bir ortam kullanarak kendilerine özgü antikorlarla birleşmesi ve çökmesi olayına *hemaglutinasyon* denir. Bu terim, yalnızca eritrositlerin varlığında olan aglutinasyon olaylarında kullanılır. Başka bir deyişle, aglutinasyonun eritrositlerle gerçekleşmesidir.

**Aglutinasyon:** Bir antijenin kendine spesifik antikoruyla bağlandıktan sonra kompleksler hâlinde kümeleşmesi prensibine dayanan serolojik bir testtir.

## Kan Gruplama Yöntemleri

**Forward Gruplama:** AB0 gruplama sisteminde eritrositlerin yüzeyinde bulunan A veya B antijenlerinin varlığına göre yapılan gruplamadır. *Doğrudan (forward) gruplama* olarak da adlandırılır.

**Revers Gruplama:** Bu yöntem eritrositlerden değil serumdan çalışılır. Çünkü burada test anti-A veya anti-B antikorlarının varlığı veya yokluğuna göre yapılır. Serumdaki antikorlarla yapılan bu test ise *revers (dolaylı) gruplama* olarak adlandırılır.

**Jel Santrifüstasyon:** Bu yöntemde 6, bazen de 8 mikro kolondan oluşan plastik kartlar kullanılır. Bu kartlardaki mikro kolonlar içerisinde bulunan boncuk ya da anti-antikorlar eritrositlerle birleşmiş antikorların geçişine izin vermez. Dolayısıyla antikorla birleşmiş eritrositler yukarıda kalır. Birleşmeyenler ise dibeye çökerler. Dolayısıyla burada antijen antikor kompleksinin yukarıda kalması sonucun pozitif olduğunu; birleşmemiş eritrositlerin dibeye çökmesi ise sonucun negatif olduğunu gösterir.

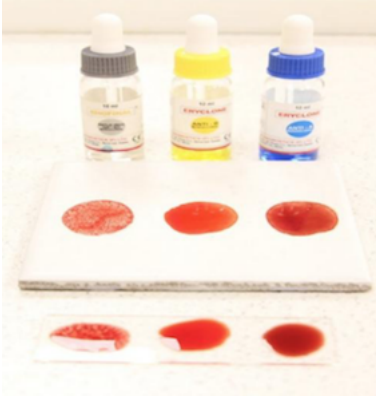
## Zayıf D Antijenleri (Du)

D antijeni en sık bulunan Rh antijenidir. Fakat bazı bireylerde Rh D antijeni tam bir aglutinasyon vermez; bu durumda bazı bireylerde D antijeni az miktarda bulunur ve bu *Du antijeni* olarak adlandırılır. Du eritrositler, D hücreleri kadar immünojenik değildir. Kan komponentleri hazırlanırken kişinin kan grubu Rh faktörünün negatifliğinde gerçek bir D antijeni negatifliğinden emin olunmalıdır. Dolayısıyla özellikle de donöre zayıf D (Du) testi yapılmalıdır. Du antijeni pozitif çıkan bir hastaya Rh negatif kan naklinde bir sakınca yoktur.

## Uygulama: AB0 Sistemine Göre Kan Gruplarının Tayini

### Amaç

Antijen ve antikor terimlerini öğrenerek farklı yöntemlerle kan grubu tayini yapabilmek.



Resim 9: Forward Lam (slayt aglütinasyon)

### Araç - Gereçler

- Kapiller ya da venöz kan,
- Anti-A, Anti-B ve Anti-D antikorları,
- Lam ya da temiz ve beyaz bir fayans,
- Serum fizyolojik (SF),
- Karıştırmak için tahta çubuk,
- Cam tüpler.

### Uygulama: Forward Gruplama

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Öncelikle temiz ve etiketli (anti-A yazılmış) beyaz fayansa sırasıyla bir damla anti-A, bir damla Anti-B, bir damla da Anti-D antikorları damlatılır.
2	Parmaktan ya da antikoagülanlı tüpe alınmış kandan sırasıyla Anti-A, Anti-B, Anti-D'ye birer damla kan damlatılır.
3	Her bir alana birer damla SF damlatılır.
4	Tahta bir çubuk yardımıyla ayrı ayrı karıştırılır.
5	Sırasıyla çökme olup olmadığına bakılır.
6	Sonuçlar çökme durumlarına göre değerlendirilir. Mikroskopta teyit edilir (Resim 9)

## **Uygulama: AB0 Sisteminde Kan Gruplarının Tayini: Forward Yöntemi**

**Öğrenci Raporu:**

## Uygulama: Revers Kan Grubu Tayini

### Amaç

Eritrositlerin yüzeyinde taşınmayan antijenlere karşı serumda bulunan antikorların gösterilmesi.

### Araç - Gereçler

- Cam deney tüpleri,
- Test edilecek serum ya da plazması,
- Test edilecek kandan elde edilecek eritrosit süspansiyonları.

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	2 adet cam tüpünden birinin üzerine cam kalemiyle A1; diğerine ise B yazılır.
2	Her iki tüpe kan grubu tayini yapılacak hastanın serumundan ya da plazmasından 2'şer damla damlatılır.
3	Üzerinde A1 yazan tüpe 1 damla A eritrosit süspansiyonu damlatılır.
4	Üzerinde B yazan tüpe 1 damla B eritrosit süspansiyonundan damlatılır.
5	Tüpler karıştırılır ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilir.
6	1000 rpm'de 1 dakika santrifüj uygulanır.
7	Aglütinasyon varlığı ya da yokluğu teyit edilir. Aglütinasyon varsa sonuç pozitifdir.

## Uygulama: Jel Santrifügasyon ile Kan Grubu Tayini

### Amaç

Eritrositlerin yüzeyinde taşınmayan antijenlere karşı serumda bulunan antikorların mikro kolon kullanarak jel santrifügasyon yöntemiyle gösterilmesi.

### Araç - Gereçler

- Test edilecek serum ya da plazması,
- Test edilecek kandan elde edilecek eritrosit süspansiyonları,
- Mikro kolon kartları (Şekil 10),
- Mikro pipet (100 mikro litrelik),
- Serum Fizyolojik (SF).

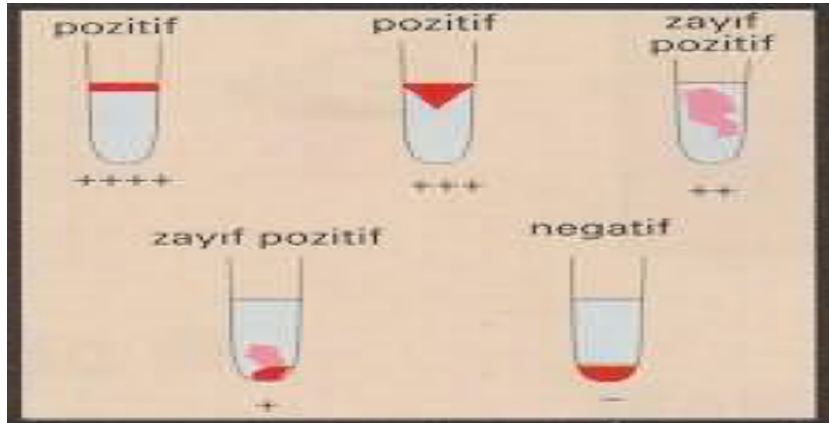
**Dikkat!**

**Eritrositlerle çalışılan antijen antikor testlerinde eritrositler yıkanmış olmalıdır (Bol SF ile 3 Kez 3000 devirde 3 dakika yıkanır).**

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Mikrokolon kartlar kullanılmadan önce 2000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir.
2	Hastadan tam kan alınır ve santrifüjlenerek serumu ayrılır.
3	Alta kalan eritrositlerden %2'lik ES hazırlanır.
4	En soldan başlayarak sırasıyla mavi, sarı ve gri renkte olan kolonlara 20 mikrolitre ES pipetlenir.
5	Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilir.
6	2000 rpm'de 15 dakika santrifüjden sonra kolonun üstünde oluşan aglütinasyon pozitif (+), kolonun dibine çöken eritrositler ise negatif (-) olarak değerlendirilir (Şekil 2).



Resim 10: Jel Santrifügasyon yöntemi (Kan Grubu: A Rh (+))



Şekil 2: Mikro kolon yönteminde sonuçların değerlendirilmesi.

**Uygulama: AB0 Sisteminde Kan Gruplarının Tayini: Revers ve Jel Santrifügasyon Yöntemi****Öğrenci Raporu:**

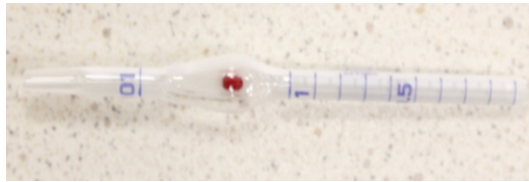
Hücre sayımı, özellikle eritrositlerin sayımını yapmak anemi durumlarında ya da eritrosit indekslerini hesaplamada kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde sayım kamarası olarak adlandırılan özel lamalar kullanılmaktadır. Bu lamalarla  $1\text{mm}^3$  periferik kandaki hücrelerin sayımı yapılmaktadır. Fakat günümüzde, sayım kamaraları yerine aynı görevi daha hızlı bir şekilde yapan otoanalizör denilen otomatik cihazlar geliştirilmektedir (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2011d).

## Eritrosit Sayımı

### Eritrosit Sayımı Yapmak için Kullanılan Malzemeler

- Alkolle ıslatılmış pamuk,
- Lanset ya da enjektör,
- Eritrosit pipeti ile hortumu,
- Thoma veya Neubauer lamı,
- Eritrosit sayma solüsyonu,
- Mikroskop.

**Eritrosit pipeti:**12 cm uzunluğunda orta tarafa doğru bir haznesi bulunan, içinde ise kırmızı bir boncuk olan bu pipetin üzerine çektiğimiz kanın miktarını göstermek ve sulandırma katsayısını hesaplamaya yardımcı olmak üzere 0,5 ve 1 gibi ölçüm sayıları vardır. En üst kısmında ise 101 çizgisi bulunur ki bu sayı dilüsyon hacmini gösterir. Bu pipet ayrıca trombositlerin sayımında da kullanılabilir (**Resim 11**).



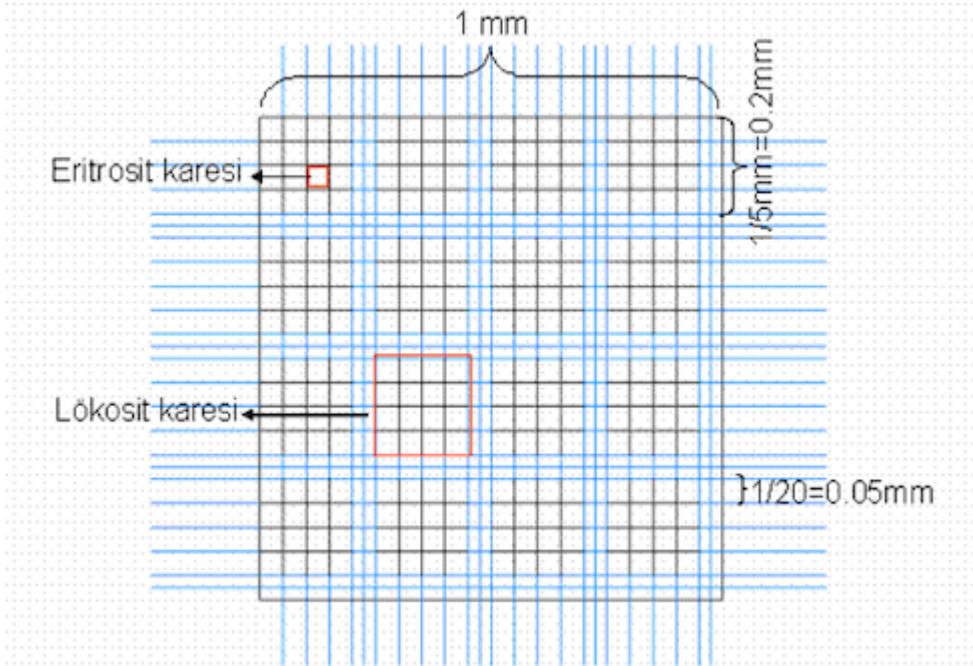
Resim 11: Eritrosit Pipeti

**Sayım kamarası:** Periferik kan hücrelerini saymak için kullanılır. Kan sayım lamı ya da hemositometre de denilen bu kamaralardan en çok kullanılanı Thoma lamı olup Neubauer, Brigh-Line gibi farklı türde olanları da mevcuttur (**Resim12**).

**Thoma Lamı:** Kenar uzunluğu 1 mm ve yüksekliği ise 0,1 mm olan boşluktan meydana gelir. Bu boşluğun hacmi (alan x yükseklik)  $0,1 \text{ mm}^3$ 'tür. Kenar uzunluğu 1 mm olan büyük kare üçlü yan yana olan çizgiler sayesinde 16 adet daha küçük kareye ayrılmıştır. Bu karelerin her birinin kenar uzunluğu 0,2 mm'dir. Bir kenarı 0,2 mm olan bu kareler tekrar daha küçük 16 eş kareye ayrılmıştır. Bu karelerin kenar uzunlukları ise 0,05 mm'dir. Dolayısıyla en küçük bir karenin hacmi  $0,00025 \text{ mm}^3$ 'tür (alan x yükseklik) (**Resim 12**) (**Şekil 3**).



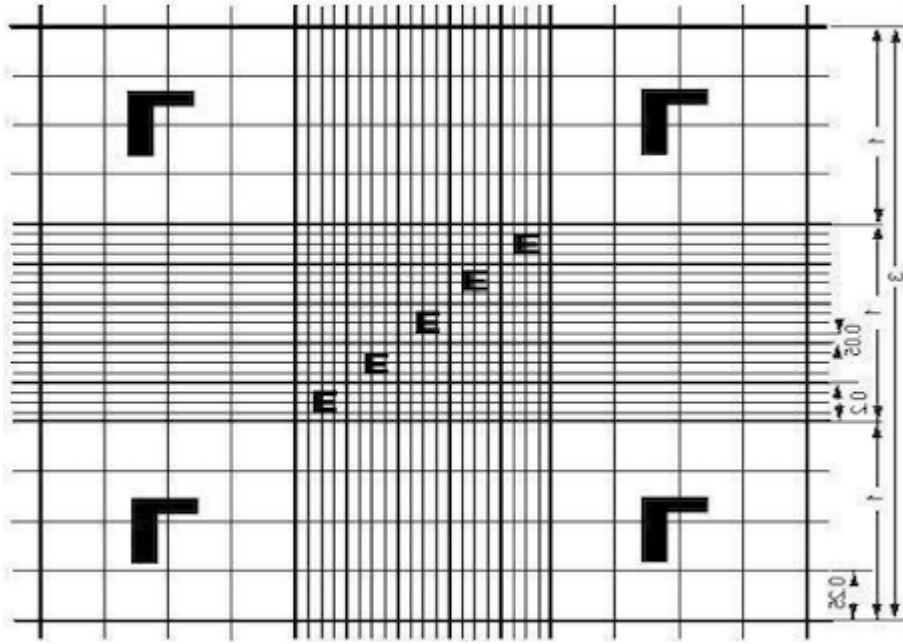
Resim 12: Thoma Lamı



Şekil 3: Thoma Lamı Sayım Kareleri

**Bright-Line ya da Neubauer lamı:** Bu tür sayım lamaları ise Thoma'dan farklı olarak 25 küçük kare içerirler. Bu karelerin her birinin kenar uzunluğu 0,2 mm iken yüksekliği ise 0,1 mm'dir. Bu lamda küçük bir karenin hacmi  $0,004 \text{ mm}^3$  olmaktadır

(alan x yükseklik). Dolayısıyla Neubauer lamının hacmi Thoma lamınınkinden 16 kat fazladır (Şekil 4).



Şekil 4: Neubauer Lamı sayım kareleri

**Eritrosit sayımsolüsyonu:**Kan hücrelerinin sayımı için izotonik solüsyonlar kullanılmalıdır çünkü hücrelerin osmotik basınçları dengede olmalı, aynı zamanda bu solüsyonlar pıhtılaşmayı engellemelidir. Eritrosit sayımında en çok SF ve Hayem solüsyonları kullanılır (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2011d).

**SF (Serum Fizyolojik):** 9 gram  $\text{NaCl}_2$  1000 ml distile suda eritilerek %0.09'luk SF olarak hazırlanır.

**Hayem Solüsyonu:** Sodyum sülfattan 2.5 gram, sodyum klorürden 0,5 gram civa klorürden ise 0,25 gram tartılır ve 100 ml distile suya tamamlanır.

**Eritrosit Sayısının Hesaplanması:** Sayım kamaralarında  $1 \text{ mm}^3$  kandaki eritrosit sayısını hesaplamak için öncelikle hacim ile sulandırma katsayısını bulmak gerekir.

**Sulandırma Katsayısının Hesaplanması:** Eritrosit pipetine öncelikle kan 0,5'i gösteren çizgiye kadar kan çekilir. Pipette bulunan 101 çizgisine kadar ise sayım solüsyonu çekilerek sulandırma yapılır. Bu oranlardaki sulandırmada 200 defa sulandırma yapılmış olur; dolayısıyla sulandırma katsayısı da 200 olacaktır. Eğer 0,5 çizgisi değil de 1 çizgisinin yazdığı noktaya kadar kan çekilip yine 101 noktasına kadar solüsyon çekilirse 100 defa sulandırmış olacağımızdan bu kez bu sulandırmanın katsayısı 100 olacaktır.

**Hacim katsayısı:** Neubauer lamı için büyük olan ve köşelerden 1'er tane, ortadan da 1 tane seçilerek toplamda büyük 5 karenin, bu kareler de içinde 16 küçük kareye ayrıldığından toplam 80 adet küçük karenin hacmi hesaplanmalıdır. Öncelikle bir

karenin hacmi hesaplanır, daha sonra bu hacim sonucu 5 ile çarpılarak tüm küçük karelerin hacmi hesaplanmış olur.

$$V = a^2 \cdot h \text{ (alan çarpı yükseklik)}$$

$$V = 0,2 \times 0,2 \times 0,1$$

$$V = 0,004 \text{ mm}^3$$

0,004 mm<sup>3</sup> büyük olan tek bir karenin hacmidir.

0,004 × 5 = 0,02 mm<sup>3</sup> ise 5 tane büyük karenin toplam hacmidir.

### 1 mm<sup>3</sup> periferik kandaki eritrosit sayısını hesaplamak için:

Yukarıda sadece küçük olan 80 karenin hacmi 0,02 mm<sup>3</sup>'tür. Fakat 1 mm<sup>3</sup> kandaki eritrositleri hesaplamak istendiğinde 1 mm<sup>3</sup>'ü 0,02 mm<sup>3</sup>'e bölmeliyiz. 1 mm<sup>3</sup>/0,02 mm<sup>3</sup> işleminden hacim katsayısını 50 olarak buluruz. Daha sonra sulandırma katsayısı ve sayılan eritrosit sayısı ile hacim katsayısı çarpıldığında 1 mm<sup>3</sup> kandaki toplam eritrosit sayısı bulunmuş olacaktır.

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki eritrosit sayısı} = \text{Toplam eritrosit sayısı} \\ \times \text{Sulandırma katsayısı} \times \text{Hacim katsayısı}$$

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

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

Örneğin; Eritrosit pipetinde 0,5 noktasına kadar kan çekilip büyük olan 5 karede toplam 60 eritrosit sayılırsa;

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki eritrosit sayısı} = 60 \times 200 \times 50$$

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kandaki eritrosit sayısı} = 6.000.000/\text{mm}^3 \text{ olarak bulunur.}$$

### Referans Değerler

**Yetişkin erkekte** ♂: 4.5 milyon-6 milyon/mm<sup>3</sup> kan

**Yetişkin kadında** ♀: 4.milyon-5.5 milyon/mm<sup>3</sup> kan

Eritrosit sayısının artması *polisitemi*, eritrosit sayısının azalması *anemi* olarak adlandırılır.

## Uygulama: Thoma Lamı veya Neubauer Lamı ile Eritrosit Sayımı

### Amaç

1 mm<sup>3</sup> kanda bulunan eritrosit sayısını hesaplamak.

### Araç - Gereçler

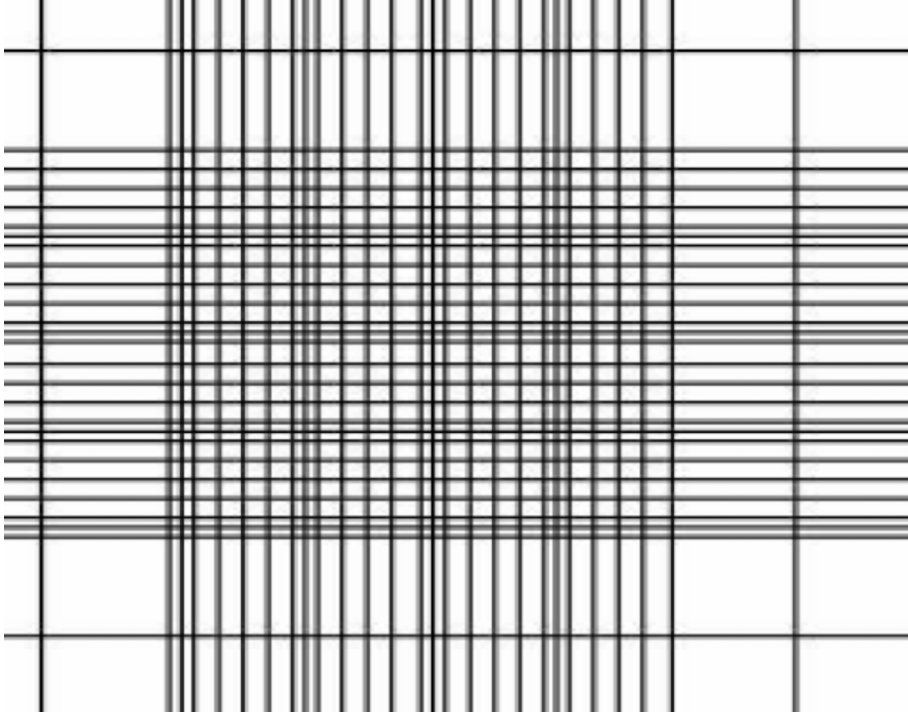
- Kapiller kan ya da EDTA'lı venöz tam kan,
- Thoma lamı ya da Neubauer lamı,
- Eritrosit sayım solüsyonu,
- Eritrosit pipeti.

## Uygulama: Thoma Lamı veya Neubauer Lamı ile Eritrosit Sayımı

	Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Eritrosit sayımı için antikoagülanlı venöz kan ya da kapiller kan kullanılabilir.	
2	Steril lansetle parmak ucu delinir ya da damardan venöz kan alınır.	
3	Lansetle delinen parmaktan ilk damla silinerek 2. damla alınır.	
4	Eritrosit pipetinde 0,5 noktasına kadar kan çekilir.	
5	Pipetin dışına bulaşan kan temizlenir.	
6	Pipetin 101 işaretine kadar eritrosit sayım solüsyonu çekilir.	
7	Karıştırmak için pipetin iki tarafı da parmaklar yardımıyla kapatılarak 15-20 saniye yavaşça alt üst edilir. Bu arada pipet haznesindeki kırmızı boncuk hareket edebilecek şekilde karıştırılmalıdır.	
8	Neubauer Lamının üzeri özel sayım lamelleri ile kapatılır.	
9	Pipetteki eritrosit karışımının birkaç damlası (haznedeki karışıma kadar), lam ve lamel arasına (pipetten 1 damla) bırakılır.	
10	Karışımın sayım lamına dağılımı için 1-2 dakika kadar beklenir.	
11	Sayım lamı mikroskoba yerleştirilir.	
12	Mikroskopta önce 10x'luk objektifle saha bulunduktan sonra kareler görünecek şekilde görüntü netleştirilir.	
13	10x'luk objektifle görüntü netleştirildikten sonra 40x'lık objektife geçilir, görüntü tekrar netleştirilir ve sayıma başlanır.	
14	Sayım prensibine uygun alanlardaki hücrelerin sayımı yapılır.	
15	40x'lık objektifle 5 büyük karedeki (köşelerden ve ortadan birer büyük kare) eritrositlerin sayımı yapılır. Karenin sol kenarı, sağ kenarı ve içindeki tüm eritrositler sayılarak büyük olan 5 karedeki eritrositler sayılmış olur.	

**Uygulama: Thoma Lamı veya Neubauer Lamı ile Eritrosit Sayımı**

Mikroskopta incelediğiniz alanları ve hücreleri aşağıdaki Thoma sayım karelerinin şekli üzerinde gösteriniz. Ardından hesaplama yaparak raporu yazınız



**Öğrenci Raporu:**

## Lökosit Sayımı

Lökositler, kemik iliğinde üretilen eritrositlerden büyük, bazılarında loblu çekirdekleri olan hücrelerdir. Vücudun savunmasında görev alırlar. Periferik kandan dokulara geçebilirler. Beyaz küre olarak da bilinirler. Lökositler çekirdeklerinin loblu olup olmamasına ve sitoplazmalarındaki granüllerin boyanma şekline göre ayrılırlar. Lökositlerin arttığı duruma *lökositoz*, azaldığı duruma ise *lökopeni* denir.

**Granülositler (Loblu=Parçalı lökositler):** Bu hücrelere polimorf *nüveli lökositler* de denir. PNL'ler kemik iliğinden türeyen miyeloid seri hücrelerden gelişirler.

**Granülositler (PNL):** Nötrofil, eozinofil ve bazofiller.

**Agranülositler (Mononükleer Lökositler):** Bu hücrelerin çekirdekleri loblu değildir.

**Agranülositler (MNL):** Lenfosit ve monosit.

## Lökosit Sayımının Amacı

Bazı numunelerde ya da kanda enfeksiyonun olup olmadığı hakkında fikir sahibi olmak için lökosit sayımı yapılmaktadır. Bunun için eğer kanda sayım yapılacaksa  $1 \text{ mm}^3$  periferik kandaki lökosit sayısı önemlidir.

## Lökosit Sayımında Kullanılan Malzemeler

Parmak ucundan kapiller kandan sayım yapılacaksa;

- Alkolle ıslatılmış pamuk,
- Lanset kullanılır, eğer tam kandan bakılacaksa venöz kan alınır; bunun için vakumlu EDTA'lı tüp kullanılmalıdır,
- Lökosit pipeti ile hortumu,
- Thoma lamı,

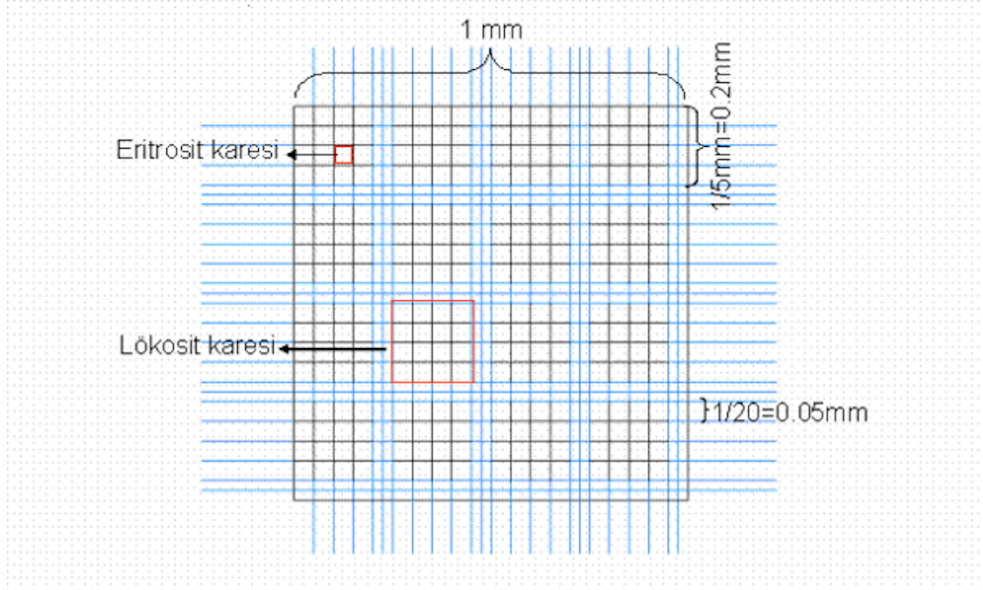
- Lökosit sayma solüsyonu,
- Mikroskop.

**Lökosit Pipeti:** Pipet yaklaşık olarak 12 cm uzunluğundadır. Ortaya yakın kısmında bir hazne ve içinde ise beyaz renkte bir boncuk ihtiva eder. Eritrosit pipetinde olduğu gibi üzerinde çekilen miktarları göstermeye yarayan 0,5 çizgisi eritrosit pipetinden farklı olarak 11 çizgisi bulunur (**Resim 13**).



Şekil 13: Lökosit Pipeti

**Lökosit Sayma Solüsyonu:** Lökosit sayımı için Turc solüsyonu kullanılır. Bu solüsyon 3 cc glasiyel asetik asite 1 cc Gentian violent eklenerek distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.



Şekil 5: Thoma Lamında Lökosit Sayım Alanı

### Toplam Lökosit Sayısının Hesaplanması

Eritrosit sayımında olduğu gibi burada da  $1 \text{ mm}^3$  kanda bulunan lökositlerin sayısını hesaplamak için öncelikle hacim ile sulandırma katsayısını bulmak gerekir.

**Sulandırma katsayısı:** Lökosit pipetine önce kan 0,5'i gösteren çizgiye kadar çekilir. Pipette bulunan 11 çizgisine kadar ise sayım solüsyonu çekilerek sulandırma yapılır. Bu oranlardaki sulandırmada 20 defa sulandırma yapılmış olur, dolayısıyla sulandırma katsayısı da 20 olacaktır. Eğer 0,5 çizgisi değil de 1 çizgisinin yazdığı noktaya kadar kan çekilip yine 11 noktasına kadar solüsyon çekilirse 10 defa sulandırmış olacağımızdan bu kez bu sulandırmanın katsayısı 10 olacaktır.

**Hacim katsayısı:** Büyük olan 16 karenin hacminin  $1\text{mm}^3$ 'e oranı bize hacim katsayısını verecektir. Büyük 16 karenin hacmi,

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

$$V = 1 \times 1 \times 0,1$$

$$V = 0,1 \text{ mm}^3 \text{ olarak bulunur.}$$

Bu sayıyı  $1 \text{ mm}^3$ 'e oranlarsak  $1 \text{ mm}^3$ 'ün hacim katsayısını 10 olarak buluruz.

$$X = 1 : 0,1 \quad X = 10 \text{ (Hacim katsayısı)}$$

$1 \text{ mm}^3$  bulunan lökosit sayısı, hacim katsayısı 10 ile 20 defa sulandırıldığından sulandırma katsayısı olan 20 ile çarpılır, çıkan sonuç ise Thomada sayılan toplam lökosit sayısı ile çarpılırsa  $1 \text{ mm}^3$  kanda bulunan lökosit sayısı hesaplanmış olur.

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kadaki lökosit sayısı} = \text{Sayılan toplam lökosit sayısı} \\ \times \text{Sulandırma katsayısı} \times \text{Hacim katsayısı}$$

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kadaki lökosit sayısı} = \text{Sayılan toplam lökosit sayısı} \times 20 \times 10$$

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kadaki lökosit sayısı} = \text{Sayılan toplam lökosit sayısı} \times 200$$

Örneğin; Lökosit pipetinin 0,5 noktasına kadar kan çekilerek büyük 16 karede toplam 60 lökosit sayılırsa;

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kadaki toplam lökosit sayısı} = 60 \times 20 \times 10$$

$$1 \text{ mm}^3 \text{ kadaki toplam lökosit sayısı} = 12 \text{ bin/mm}^3 \text{ sonucu verilir.}$$

Normalde Periferik kanda ( $1 \text{ mm}^3$ ) 4-10 bin lökosit bulunmaktadır. Lökosit sayısının 10 binin üzerinde olması *lökositoz* olarak, 4 binin altına düşmesi ise *lökopeni* olarak adlandırılır.

## Uygulama: Thoma Lamında Lökosit Sayımı

### Amaç

1 mm<sup>3</sup> kanda bulunan lökosit sayısını hesaplamak.

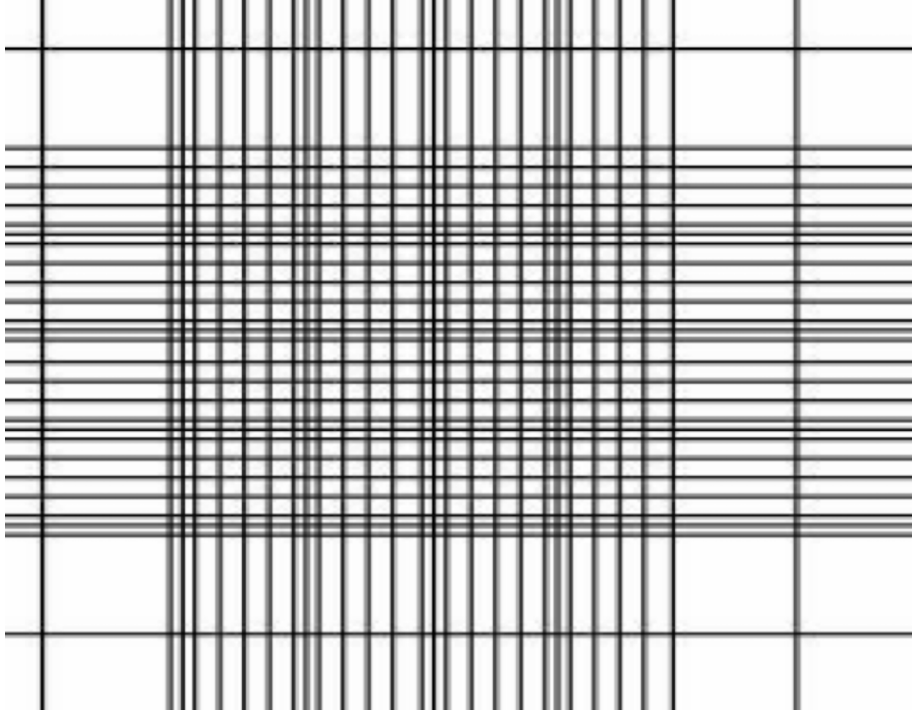
### Araç - Gereçler

- Kapiller kan ya da EDTA'lı venöz tam kan,
- Thoma lamı,
- Lökosit sayım solüsyonu,
- Lökosit pipeti.

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Kapiller kandan lökosit sayımı yapılacaksa parmak ucu, alkolle ıslatılmış pamukla temizlenir ve kurutulur. Venöz kandan sayım yapılacaksa EDTA'lı tamkan kullanılır.
2	Lanset yardımıyla parmak ucundan kan alınır. Tam kan bulunan EDTA'lı tüpten 0,5 noktasına kadar kan çekilir.
3	Pipetin dışına bulaşan kan temizlenir.
4	Pipet üzerindeki 11 noktasına kadar da lökosit sayma solüsyonu çekilir (hava kabarcığı olmamalıdır).
5	Karıştırmak için pipetin iki tarafı da parmaklar yardımıyla kapatılarak 15-20 saniye yavaşça alt üst edilir. Bu arada pipet haznesindeki beyaz boncuk hareket edebilecek şekilde karıştırılmalıdır.
6	Thoma lamının üzeri özel sayım lamelleri ile kapatılır.
7	Pipet haznesindeki karışımdan lam ve lamel arasına 1 damla bırakılır.
8	Karışımın sayım lamına dağılımı için biraz beklenir (1-2 dakika).
9	Sayım lamı mikroskoba yerleştirilir.
10	Mikroskopta önce 10x'luk objektifle saha bulunduktan sonra kareler görünecek şekilde görüntü netleştirilir.
11	10x'luk objektifle görüntü netleştirildikten sonra 40x'lik objektife geçilir, görüntü tekrar netleştirilir ve sayıma başlanır.
12	Sayım prensibine uygun alanlardaki hücrelerin sayımı yapılır.
13	40x'lik objektifle toplam büyük 16 karedeki lökositlerin sayımı yapılır. Sayım yaparken sınır çizgilerine denk gelen lökositler sayılmaz (Şekil 5).

**Uygulama: Thoma Lamında Lökosit Sayımı**

Mikroskofta incelediğiniz alanları ve hücreleri aşağıdaki Thoma sayım karelerinin şekli üzerinde gösteriniz. Ardından hesaplama yaparak raporu yazınız.



**Öğrenci Raporu:**

## Hemogram Parametreleri

**Eritrositlerin sayısı (RBC):** Kırmızı kan hücresi olan eritrositlerin sayısını belirten parametredir.

1 mm<sup>3</sup> kandaki eritrosit sayısının fizyolojik değeri:

- Yetişkin erkekte: 4,3-5,7 milyon
- Yetişkin kadında: 4.0-5,3 milyon

**Eritrositler**, oksijene ihtiyacın arttığı durumlarda, uzun süren egzersizlerde, heyecan ve korku durumlarında, çok sigara içen bireylerde artış gösterebilir.

**Hemoglobin (HGB):** Eritrositlerin içerisindeki demir, oksijen ve karbondioksit taşıyan proteindir. Ayrıca kana kırmızı rengini de hemoglobin verir.

- Yetişkin erkek: 13,5-17,5 g/dL
- Yetişkin kadın: 11,5-15,5 g/dL

**Hemoglobin**, demir eksikliğine bağlı anemiler başta olmak üzere bazı anemi türlerinde düşük seviyede bulunur. Polisitemia vera ve bazı kronik kalp hastalıkları ve karaciğer hastalıklarında ise artış gösterir.

Hemoglobinin;

- Erkeklerde <13 g/dL,
- Kadınlarda <11 g/dL,
- 6 ay ile 6 yaş arası çocuklarda <11 g/dL
- 6-14 yaş grubu çocuklarda <12 g/dL
- Gebelerde ise 2. trimesterden itibaren <10,5 g/dL'nin altına düşmesi anemi olarak kabul edilir.

**Hematokrit (Hct):** Hematokrit kandaki eritrositlerin tüm kana oranıdır. Hematokriti az olan birey için kansızlıktan söz edilebilir. Hemogramda bir kontrol ölçütü olarak da kullanılabilir, çünkü sonuçlarda hematokrit hemoglobinin yaklaşık 3 katı olmalıdır. Eritrositlerin ise yaklaşık 9 katı olmalıdır.

$$HCT = 3 \times HGB \text{ (g/dL)} \quad HCT = 9 \times RBC \text{ (Milyon)}$$

**Hematokrit;**

- Erkeklerde: %38-50
- Kadınlarda: %34-44
- Çocuklarda: %33-43 değerleri arasında olmalıdır.

**Ortalama Eritrosit Hacmi= Mean Corpuscular Volume (MCV):** Eritrositlerin ortalama hacimleridir ve eritrosit çapı hakkında fikir verir. MCV, makrositoz ya da mikrositozun göstergesidir. Anemileri sınıflandırmada dikkate alınması gereken bir parametredir.

Erişkinde: 80-94 fL değerleri arasında olmalıdır.

**Ortalama Eritrosit Hemoglobini= Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH):** Eritrositlerin içerdiği ortalama hemoglobin miktarının bir göstergesidir. Genelde MCH ve MCV değerleri birbirleriyle paraleldir.

Erişkinde: 28-32 pg değerleri arasında olmalıdır.

Hemoglobinin eritrosit sayısına oranınının 10 katı bize MCH değerini verir;

$$MCH = (HGB : RBC) \times 10$$

**Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu= Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC):** Eritrositlerin içerdiği hemoglobinin yüzde olarak belirtilmesidir. Ayrıca hücrede hidrasyon durumunu gösterir. Eritrositlerin çapı ne olursa olsun içerdikleri hemoglobin miktarı yüzde olarak 32-36 arasında bir değerdir. Lipemik ve ikterik kan numunelerinde yüksek çıkabildiği gibi herediter sferositozda da yüksek bulunabilir. Demir eksikliği anemisinde en son düşen parametre MCHC'dir. Ayrıca hemogram cihazlarında kontrol parametresi olarak da kullanılırlar. MCHC'nin hemoglobin ve hematokrit arasındaki bağlantısı şöyledir.

$$MCHC = (100 \times \%g Hb) : Htc$$

**Eritrosit Dağılım Genişliği= Red Cell Distribution Width (RDW):** Eritrosit büyüklüklerinin dağılım genişliği olarak da tanımlanır. Eritrositlerin çapları arasındaki farklılıkları gösterir. RDW yüksek çıktığında eritrositlerin çapları arasında orantısızlık olduğu anlaşılır. Dolayısıyla RDW, anizositozun bir göstergesidir. Genellikle B12 ve folat eksikliğinden dolayı yükselmektedir.

Yetişkin erkek: %11,8 - 15,6

Yetişkin kadın: %11,9 - 15,5 değerleri arasında olmalıdır.

**RDW-SD ve RDW-CV:** Bu parametreler eritrositlerin çaplarını ölçen parametrelerdir. RDW-SD gerçek bir ölçümken RDW-CV, RDW-SD sapmasını kullanarak yapılan hesaplamaları içermektedir. RDW-CV en büyük eritrosit hacmi ile en küçük eritrosit hacmi arasındaki farkı gösterir. RDW-SD yüksekliğinde eritrositlerin hacimleri birbirine yakın, RDW-SD düşüklüğünde eritrosit hacimleri birbirinden farklı anlamına gelir.

$$RDW - SD : 29 - 46 fl$$

$$RDW - CV : 11,8 - 15,6$$

**Trombosit (Platelet= PLT):** Periferik kanda  $1 \text{ mm}^3$ 'deki trombosit sayısını gösterir. Sağlıklı bir insanda  $1 \text{ mm}^3$  kanda 150-400 bin kadar trombosit bulunur. Fakat pıhtılı kanla çalışılması ya da kanın altüst edilmeden cihaza verilmesi yalnızca trombositopeniye sebep olur.

### Trombosit indeksleri

**Ortalama Platelet Volüm (MPV):** Periferik kandaki trombositlerin hacmini gösterir; eritrositler için kullanılan MCV değerinin trombositler için karşılığıdır.

**Erişkinlerde MPV:** 7,8-11 fL değer aralığında olmalıdır.

**Platelekrit (PCT):** Kandaki tüm trombositlerin toplam kana oranıdır. Eritrosit indekslerinde HCT parametresinin trombositler için karşılığıdır. Yeni başlamış bakteriyel enfeksiyonlarda artar.

$$PCT = PLT \times MPV \text{ ile hesaplanabilir.}$$

PCT: %0,1-0,3 değer aralıklarında olmalıdır.

**Platelet Distribution Width= Trombosit Dağılım Genişliği (PDW):** Kandaki trombositlerin çapları arasındaki oranı gösterir. PDW ne kadar yüksekse trombositlerin büyüklükleri birbirlerinden o kadar farklılık gösterir.

**PDW:** 0,9-14 fl değerleri arasında olmalıdır.

**Platelet Large Cell Ratio= Büyük Platelet Oranı (PLCR):** Kandaki büyük trombositlerin normal trombositlere oranını gösterir. Yalnız başına değerlendirilmemelidir.

**PLCR:** %13-43 değerleri arasındadır.

**Lökositler (WBC):**  $1 \text{ mm}^3$  periferik kandaki toplam lökosit sayısını gösterir. Nötrofil, monosit, eozinofil, bazofil, lenfosit olarak tanımlanan tüm beyaz kürelerin toplamını verir.

Sağlıklı yetişkinlerde:  $4 - 10 \times 10^3/\mu\text{L}$  değerleri arasında olmalıdır.

Üst referans değerinden yüksek olması lökositozaya, alt değerden düşük çıkması ise lökopeniye işaret eder.

Lökositlerin fizyolojik olarak artışı, egzersiz sonrası, güneşte uzun süre kalma, yüksek rakımda bulunma ve sigara kullanma gibi sebeplerden kaynaklanmaktadır.

Hemogram		Örnek: Tam Kan	
Test Adı	Sonuç	Birim	Referans Değer
WBC	8.11	$10^3/\text{uL}$	4.8-10.8
NE%	51.6	%	43.0-65.0
<b>LY%</b>	<b>39.7</b>	%	<b>5.5-20.5</b>
<b>MO%</b>	<b>4.2</b>	%	<b>5.5-11.7</b>
EO%	3.9	%	0.0-2.0
BA%	0.6	%	0.2-1.0
NE#	4.18	$10^3/\text{uL}$	2.2-4.8
LY#	3.22	$10^3/\text{uL}$	1.3-2.0
MO#	0.34	$10^3/\text{uL}$	0.3-0.8
EO#	0.32	$10^3/\text{uL}$	0.0-0.2
BA#	0.05	$10^3/\text{uL}$	0.0-0.1
<b>RBC</b>	<b>6.22</b>	<b><math>10^6/\text{uL}</math></b>	<b>4.70-6.00</b>
HGB	14.7	g/dL	14.0-18.0
<b>HCT</b>	<b>43.4</b>	%	<b>38.0-42.0</b>
MCV	81.0	fL	80.0-97.0
<b>MCH</b>	<b>23.6</b>	<b>pg</b>	<b>27.0-31.0</b>
<b>MCHC</b>	<b>29.2</b>	<b>g/dL</b>	<b>32.0-36.0</b>
RDW_CV	13.1	%	11.5-15.5
RDW_SD	38.8	fL	37.0-54.0
PLT	332	$10^3/\text{uL}$	130-400
MPV	9.6	fL	7.4-10.4
PCT	0.32	%	0.000-0.990
PDW	11.7	fL	0.00-99.9
PLCR	23.1	%	13.0-43.0

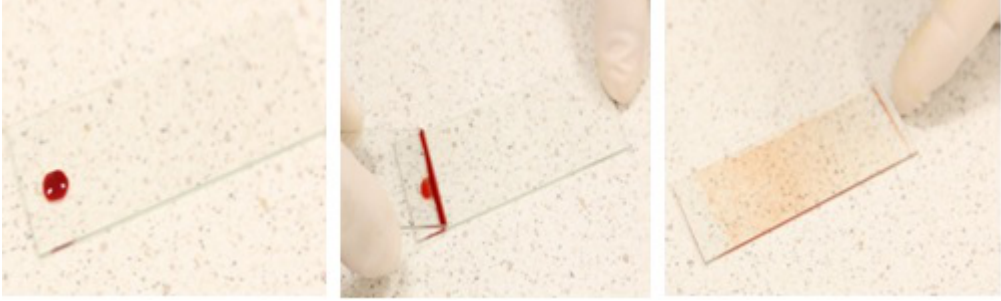
Tablo 4: Örnek Hemogram (CBC) Raporu

### Periferik Kan Yayması

Periferik yayma, periferik kanda bulunan hücrelerin morfolojilerinin incelenmesi suretiyle tanıya yardımcı olmak amacıyla yapılan hematolojik bir testtir. Bu test hastadan venöz alınan bir damla kanın lama belirli bir teknikle yayılarak boyanmasıyla uygulanır. Periferik yayma ile kan hücrelerinin morfolojileri ve sayıları değerlendirilerek lösemi, lenfoma ve anemi gibi çeşitli hematolojik hastalıkların tanısı konulabilir. Kemik iliği işlevi hakkında bilgi verebilir (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2011b).

### Periferik Yayma Yaparken Dikkat Edilecek Noktalar

- Yaymanın bozulmaması için lam ve lamellerin kuru olması gerekir.
- Yaymanın düzgün olması için lam kenarları pürüzsüz olmalıdır.
- Yaymanın çok kalın ya da çok ince olmaması için kan damlasının uygun büyüklükte olması gerekir.
- Periferik yayma sırasında lamlar birbirine sürtünmemelidir. Aksi hâlde hücreler parçalanabilir.
- Yayma için alınan kan damlası fazla bekletilmeden yayılmalıdır. Aksi hâlde lökositler lamın kenarına dağılırken eritrositlerde rulo formu oluşabilir. Trombositler ise kümeleşebilir.
- Yayma sırasında elin titrememesi gerekir. Boyamak için yaymanın tamamen kuruması gerekir (**Resim 14**).



Resim 14: Periferik Yayma Preparatı Hazırlama

## Kan Hücreleri

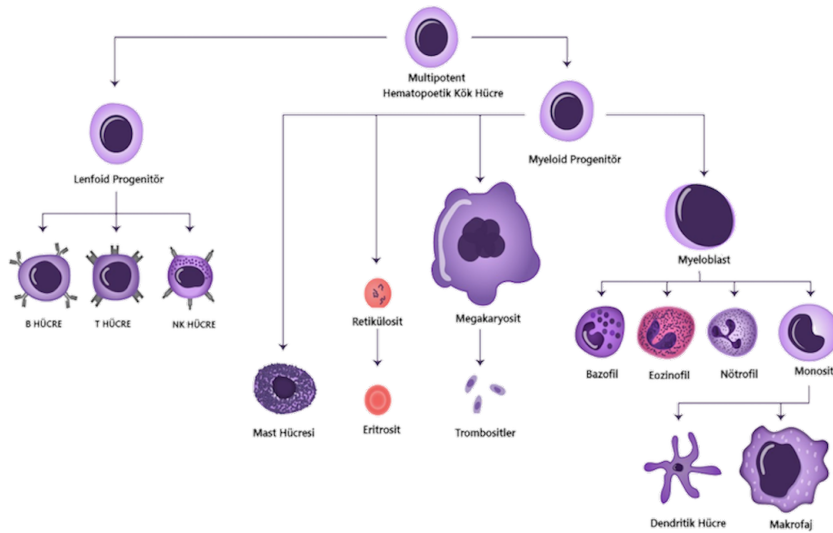
Kanın plazması dışında kalan şekilli elemanları, hücrelerdir (**Resim 15**). Kan hücreleri şunlardır (Arıkan vd., 2012):

**Eritrositler:** Kanda en fazla bulunan, hücelere oksijen ve karbondioksit taşıyan alyuvarlardır. İçerdiği hemoglobin kanın kırmızı olmasını sağlar. Eritrosit,  $1 \text{ mm}^3$  kanda 4 milyon ile 5,5 milyon arasında bulunur.

**Lökositler:** Vücudumuzun savunmasında görevli hücrelerdir. Vücutta oluşan enfeksiyonlarda önemli rolleri vardır. *Beaz küre* olarak da anılan lökositler akyuvarlar olarak da bilinirler. Lökosit,  $1 \text{ mm}^3$  kanda 4 bin ilâ 10 bin kadar bulunur.

**Trombositler:** Kanın pıhtılaşmasında görevli olan trombositler, hemostazı (iç denge) korurlar. Trombositlerin diğer adı platelettir. Trombosit,  $1 \text{ mm}^3$  kanda 150 bin ilâ 400 bin arasında bulunur.

## Kan Hücreleri Gelişimi



Şekil 6: Hematopoez (Kaynak: Shutterstock)

## Eritropoez

Kemik iliğinde meydana gelen eritrosit yapımına ve gelişmesine eritropoez denir (**Şekil 6**).

## Lökopoez

Kemik iliğinde lökositlerin yapımı ve gelişmesine lökopoez denir. Tüm hücreler gibi lökositler de kök hücreden türerler. Lökositleri oluşturan ilk ana hücreye miyeloblast adı verilir. Lenfositler ise bunların dışında farklı bir seri hücreden türer. Lenfositlere farklılaşan kök hücreler ise lenfoid hücrelerdir (**Şekil 6**).

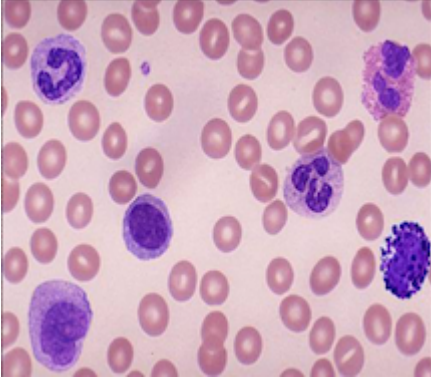
**Nötrofil:** Lökositler içinde kanda en fazla oranda bulunurlar (**Resim 19**). Bakteriye enfeksiyonlarda sayısı primer olarak artar. Sitoplazmalarında çeşitli sindirim enzimleri içeren granüller bulundurlar. Çekirdekleri lobludur. Çok iyi birer fagosittirler. Ömürleri 8-10 saattir. Kandaki nötrofil sayısının düşmesine *nötropeni*, artmasına ise *nötrofili* denir.

**Eozinofil:** Çekirdekleri 2 lobludur. Sitoplazması Giemsa ile turuncu-kırmızı bir renkte boyanır ve granüllüdür (**Resim 18**). Allerjik reaksiyonlarda ve parazitik enfeksiyonlarda sayıları artar. Kanda eozinofillerin sayısının yüksek olmasına *eozinofili*; düşük olmasına ise *eozinopeni* denir.

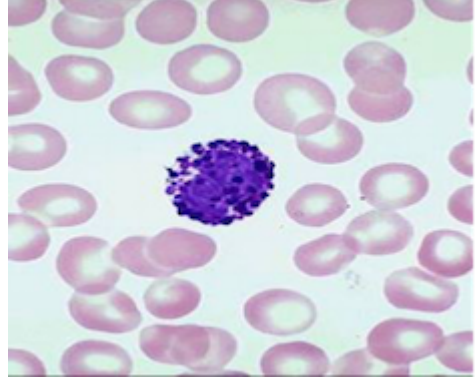
**Bazofil:** Periferik kanda bulunma oranı en az olan hücredir. Bundan dolayı yayma preparatlarda sağlıklı insanlarda zor görülür. Sitoplazmaları çekirdeği de kaplayan granülleri vardır (**Resim 16**). Granüllerin içeriğinde heparin, histamin gibi maddeler bulunur. Bazofiller de allerjik olaylarda görev alırlar.

**Monosit:** Monositler, periferik kanda bulunan lökositlerin en büyükleridir. Fasulye ya da at nalı şeklinde çekirdekleri vardır (**Resim 17**). Monositlerin dokulara göç etmiş hâlleri makrofajlardır. Buldukları organ ve dokulara göre farklı isimler alırlar.

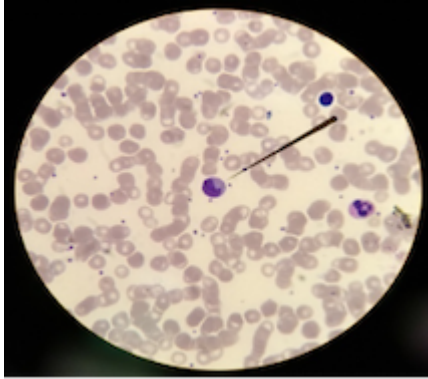
**Lenfositler:** Miyeloid seri lökositlerden farklı olarak lenfoid progenitör hücrelerden gelişirler. Lenf bezleri, dalak, timus ve peyer plaklarında bulunurlar. Öncül hücreleri lenfoblastlardır. Lenfositler, lökositlerin hacim olarak en küçük grubudur. Çekirdekleri sitoplazmalarının büyük bir kısmını kaplar ve koyu renkte boyanırlar (**Resim 20**).



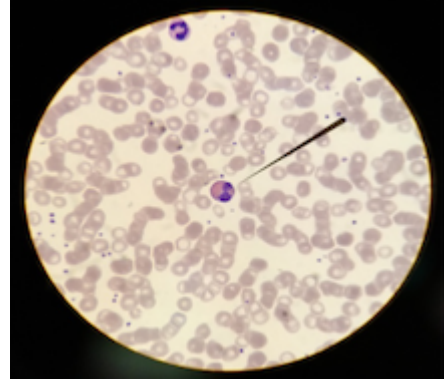
Resim 15: Normal eritrosit ve lökosit hücreleri (Kaynak: <http://www.tahlil.com>)



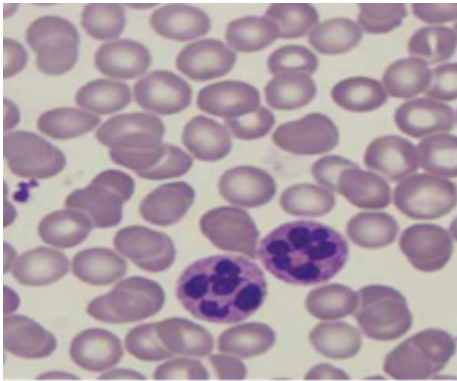
Resim 16: Bazofil



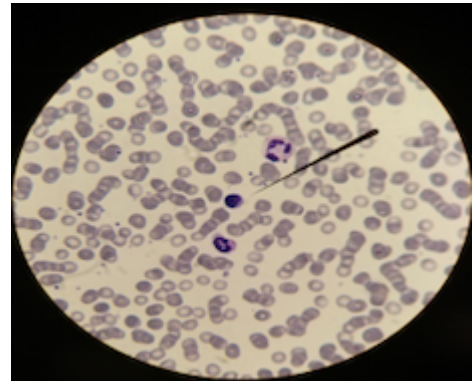
Resim 17: Monosit



Resim 18: Eozinofil



Resim 19: Nötrofiller



Resim 20: Lenfosit

## Eritrositlerin Sınıflandırılması

### Eritrositlerin Çaplarına Göre Sınıflandırılması

1. **Normosit:** Çapları ya da hacimleri normal sınırlarda olan eritrositlerdir.
2. **Mikrosit:** Çapları küçük olan (60 femto litrenin (fL) altında) eritrositlerdir.
3. **Makrosit:** Çapları büyük (90 femto litrenin (fL) üstünde) olan eritrositlerdir.
4. **Anizositoz:** Çapları birbirinden farklı eritrositlerin olmasıdır.
5. **Poikilositoz:** Şekilleri birbirinden farklı eritrositlerin olmasıdır.

### Eritrositlerin İçerdikleri Hemoglobin Miktarına Göre Sınıflandırılması

1. **Normokromi:** Eritrositlerin içerdikleri hemoglobin miktarının normal olmasıdır.
2. **Hipokromi:** Eritrositlerin içerdikleri hemoglobin miktarının düşük olmasıdır.
3. **Hiperkromi:** Eritrositlerin içerdikleri hemoglobin miktarının fazla olmasıdır.
4. **Anizokromi:** Eritrositlerin içerdikleri hemoglobin miktarının eşit olmamasıdır.

### Eritrositlerin Bazı Morfolojik Farklılıklarına Göre Sınıflandırılması

1. **Polikromazi:** Eritrositlerin bazik boya ile çok az boyanmasıdır.
2. **Eritroblastoz:** Kanda sürekli ve fazla miktarda olgunlaşmamış çekirdekli genç alyuvarların (normoblast) bulunmasıdır.
3. **Elipsoid:** Elips şeklindeki eritrositlerdir.
4. **Orak hücre:** Yarım ay veya orak şeklindeki eritrositlerdir.
5. **Rozet şekilli eritrositler:** Rozet şeklindeki eritrositlerdir.
6. **Target hücre:** Hemoglobin dağılımının bozukluğuna bağlı olarak eritrositlerin hedef tahtası şeklinde olmasıdır.
7. **Burr hücresi:** Aynı boyda çıkıntıları bulunan eritrositlerdir.
8. **Heinz cisimciği:** Eritrositlerdeki enzim eksikliği nedeniyle denatüre olan hemoglobinin çökmesiyle oluşan tanecikler içeren eritrositlerdir.
9. **Siderositik granüller:** Eritrositlerde demir içeren küçük partiküllerdir.
10. **Sferosit:** Merkezdeki solukluğu kaybolan ve buna bağlı olarak az hemoglobin taşıyan küre şeklindeki eritrositlerdir.

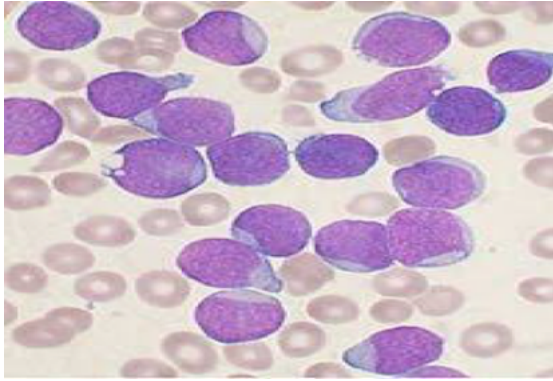
## Hematolojik Maligniteler (Kan Hastalıkları)

Kemik iliğinden kaynaklanan hücrelerin kontrolsüz çoğalması ya da hiç üretilmemesi gibi nedenlerden dolayı çeşitli hastalıklar gelişebilir. Bu hastalıkların tanısı kemik iliği yayması ya da periferik kan yayması yardımıyla konulabilir. Bazı kan hastalıkları şunlardır (Hillman vd., 2012):

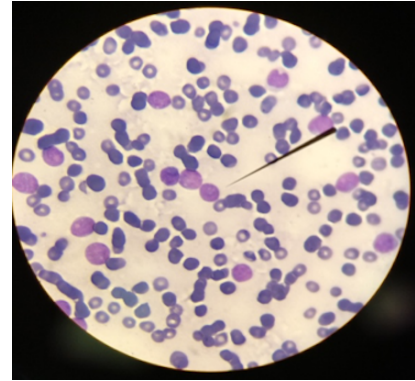
**Lösemi:** Kemik iliğinde kan hücrelerinin kontrolsüz şekilde çoğalmasıyla oluşan hematolojik bir malignitedir.

Çeşitli alt türleri vardır:

**Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL):** Kemik iliğinde lenfosit öncüllerinin (lenfoblast) aşırı artmasıyla karakterizedir. Genelde çocukluk çağı lösemilerin en sık görülen tipidir (**Resim 21**).



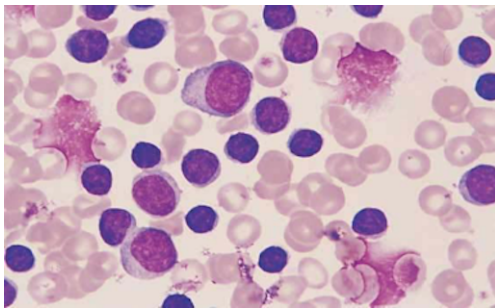
**Resim 21:** Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL) (Kaynak: www.hematolojiatlası.com)



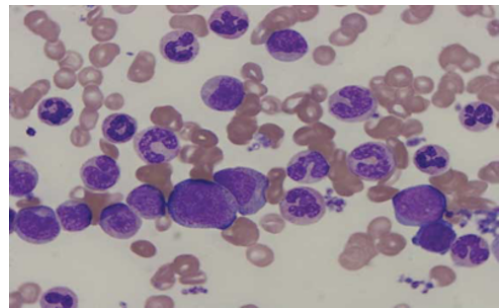
**Resim 22:** Akut Myeloblastik Lösemi (AML)

**Akut Myeloblastik Lösemi (AML):** Kemik iliğinde miyeloid seri öncüllerinin (miyeloblast) aşırı artmasıyla karakterizedir (**Resim 22**).

**Kronik Lenfositik Lösemi (KLL):** Kemik iliğinde olgunlaşmış lenfositlerin kontrolsüz çoğalmasıyla oluşan lösemi tipidir (**Resim 23**).



**Resim 23:** Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) (Kaynak: www.hematolojiatlası.com)



**Resim 24:** Kronik Myelositer Lösemi (KML) (Kaynak: www.hematolojiatlası.com)

**Kronik Myelositer Lösemi (KML):** Kemik iliğinde olgun miyeloid seri hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla oluşan lösemi tipidir (**Resim 24**).

**Lenfoma:** Lenfositlerin kemik iliği dışında lenf bezleri başta olmak üzere solid organlarda aşırı çoğalmasıyla meydana gelen kanser türüdür. Genel olarak lenf sisteminden kaynaklanır ve lenf kanseri olarak da bilinir. Hodgkin ve Non-Hodgkin Lenfoma olmak üzere iki tipi mevcuttur.

**Myelodisplastik Sendrom (MDS):** Kemik iliğinde olgunlaşmamış kan hücrelerinin aşırı çoğalmasıyla meydana gelmektedir.

## Uygulama: Periferik Kan Yayması- Hücre Tanıma

### Amaç

Periferik kandan lam üzerine yayma yapıp boyayarak, kan hücrelerin 1 mikro litredeki dağılımını yüzde olarak hesaplamak.

### Araç - Gereçler

Formül lökosit için preparat, lam yöntemiyle hazırlanır (**Resim 14**).

Lam yöntemiyle preparat hazırlama araç ve gereçleri:

- %70'lik alkol,
- Pamuk,
- Lanset,
- Lam,
- Giemsa boyası,
- İmmersiyon yağı.

	Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Eldiven giyilerek gerekli hazırlıklar yapılır.	
2	Temiz iki adet lam alınır.	
3	Parmak ucundan kapiller veya damardan EDTA'lı tüpe venöz kan alınır.	
4	Lamın sağ uç tarafına bir damla kan damlatılır. Fakat lam cilde değiştirilmemelidir.	
5	Yayma yapacak olan pürüzsüz bir lam daha seçilir ve damlaya temas ettirilir.	
6	Bu arada sol elimizin işaret ve başparmağıyla da alttaki lam sabitlenir.	
7	Yayma yapacak olan lam 45 <sup>0</sup> açıyla geriye doğru çekilerek kanın lamın kenarına yayılması sağlanır.	
8	Açı 30 <sup>0</sup> 'ye düşürülerek yayıcı lam hızlı bir şekilde el titremeden ileriye doğru itilir.	
9	Lamın boş olan ucuna hasta ismi ya da örnek numarası yazılır.	
10	Yayma yapıldıktan sonra kurumaya bırakılır.	
11	Hazırlanan yayma preparatı metil alkol ile 5-10 dakika tespit edilir.	
12	Alkol uçtuktan sonra uygun oranlarda hazırlanmış Giemsa boyası tüm lamı kaplayacak şekilde dökülür ve 15-30 dakika kadar bekletilir.	
13	Bekletilen süre sonunda yayma, bol distile su ile yıkanır.	
14	Mikroskopta 100x'lük objektifte immersiyon yağı damlatılarak bakılır.	

**Uygulama: Periferik Kan Yayması - Hücre Tanıma****Öğrenci Raporu:**

## BÖLÜM 9

# PERİFERİK KAN YAYMASI - FORMÜL LÖKOSİT

## Periferik Kan Yayması ile Formül Lökosit Değerlendirmesi

### Uygulama: Periferik Kan Yayması - Formül Lökosit

#### Amaç

Periferik kandan lam üzerine yayma yapıp boyayarak, kan hücrelerin 1 mikro litredeki dağılımını yüzde olarak hesaplamak.

#### Araç - Gereçler

Formül lökosit için preparat, lam yöntemiyle hazırlanır (**Resim 14**).

Lam yöntemiyle preparat hazırlama araç ve gereçleri:

- %70'lik alkol,
- Pamuk,
- Lanset,
- Lam,
- Giemsa boyası,
- İmmersiyon yağı.

#### Lökosit Formülü

%50 - 70 Nötrofil	1,7 - 7x 10 <sup>3</sup> /µL
%20 - 40 Lenfosit	0,9 - 2,9 x10 <sup>3</sup> /µL
%2 - 6 Monosit	0,3 - 0,9x 10 <sup>3</sup> /µL
%2 - 4 Eozinofil	0,05 - 0,5x 10 <sup>3</sup> /µL
%0 - 1 Bazofil	0 - 0,3x 10 <sup>3</sup> /µL

Uygulama Basamakları	Kontrol
1 Eldiven giyilerek gerekli hazırlıklar yapılır.	
2 Temiz iki adet lam alınır.	
3 Parmak ucundan kapiller veya damardan EDTA'lı tüpe venöz kan alınır.	
4 Lamın sağ uç tarafına bir damla kan damlatılır. Fakat lam cilde değiştirilmemelidir.	
5 Yayma yapacak olan pürüzsüz bir lam daha seçilir ve damlaya temas ettirilir.	
6 Bu arada sol elimizin işaret ve başparmağıyla da alttaki lam sabitlenir.	
7 Yayma yapacak olan lam 45 <sup>0</sup> açıyla geriye doğru çekilerek kanın lamın kenarına yayılması sağlanır.	
8 Açı 30 <sup>0</sup> 'ye düşürülerek yayıcı lam hızlı bir şekilde el titremeden ileriye doğru itilir.	
9 Lamın boş olan ucuna hasta ismi ya da örnek numarası yazılır.	
10 Yayma yapıldıktan sonra kurumaya bırakılır.	
11 Hazırlanan yayma preparatı metil alkol ile 5-10 dakika tespit edilir.	
12 Alkol uçtuktan sonra uygun oranlarda hazırlanmış Giemsa boyası tüm lamı kaplayacak şekilde dökülür ve 15-30 dakika kadar bekletilir.	
13 Bekletilen süre sonunda yayma, bol distile su ile yıkanır.	
14 Mikroskopta 100x'lük objektifte immersiyon yağı damlatılarak bakılır.	

## Uygulama: Periferik Kan Yayması- Formül Lökosit

Öğrenci Raporu:

## BÖLÜM 10

# COOMB'S TESTLERİ (İMMÜNOHEMATOLOJİK TESTLER)

### Antiglobulin Testler

“ANTI-Human Globulin” (AHG) antikorunu kullanılarak yapılan testlere Antiglobulin test veya *Coomb's Testleri* denilmektedir.

### Antikor Tarama Testleri

Antikor tarama testleri, kişide eritrositlerin yüzeyinde bulunan antijenlere karşı serumda antikor olup olmadığını saptamaya yarayan testlerdir. Antikor tanımlama testleri ise aranan antikorun eritrositin hangi antijenine karşı, hangi kan grubuyla ilgili olduğunu tespit etmek için yapılan testlerdir. Antikor tarama testleri daha çok kan nakli olacak hastalar arasında transfüzyon öncesi yapıldığı gibi kan uyuşmazlığı yaşayan gebelerde de gebeliğin 6. ayından itibaren bakılabilmektedir. Gebelerde bakılan antikor Rh antikorudur ve bu antikorların varlığı *İndirekt Coomb's Testi*'yle tespit edilir. Bu test, tüp yönteminin yanında mikropalak ve mikrokolon yöntemiyle de yapılabilir.

### Coomb's Testleri

Coomb's testleri insan antikorlarına karşı geliştirilen antikorlarla (AHG) yapılan testlerdir. Bu testlerde eritrositler üzerinde bulunan antijenlere karşı oluşmuş antikorlar ile serumda bulunan antikorlar tayin edilir. Kişinin eritrositlerinin üzerinde bulunmayan antijenlere karşı üretilmiş antikorlar *alloantikor* ya da *izoantikor* olarak adlandırılır. Kendi eritrositlerinin yüzeyinde bulunan antijenlere yönelik oluşan antikorlar ise *otoantikorlardır*. Tüm bu antikorların varlığını ortaya koymak için yapılan Coomb's testleri *Anti-Human Globülinler* (AHG) denilen yeşil renkli Coomb's serumlarıyla yapılır. Fakat bu testlerde dikkat edilmesi gereken husus kullanılacak eritrositlerin yıkanarak kendi serumlarından temizlenmeleridir.

### **Direkt Coomb's Testi (DAT)**

Direkt Coomb's testleri (DAT) eritrositlerin kendi antijenlerine yapışmış IgG yapısındaki yabancı (alloantikör) antikörlerin varlığını tespit etmek için yapılan testlerdir. Eritrosit yüzeyini kaplamış olan bu antikörler sıcak antikörlerdir. Otoimmün hemolitik anemi ve kan uyuşmazlığına bağlı yenidoğan hemolitik anemilerde, ilaçların sebep olduğu hemolitik anemilerde Direkt Coomb's testi pozitifdir. Ayrıca kan transfüzyonunda yararlanılan bir testtir. Bu test EDTA'lı tam kandan çalışılır ve inkübasyon gerektirmez. Eritrositlerin 3 kez yıkanması gerekir.

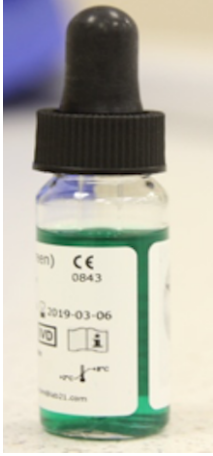
### **İndirekt Coomb's Testi (IAT)**

Kan uyuşmazlığı olan gebenin kanında, doğumdan önce eritrosit antijenlerine (A ve B antijenleri dışında) karşı üretilen ve serumda serbest bulunan antikörlerin varlığını saptamak için yapılan testtir. Ayrıca hemolitik anemilerin tanısında ve kan nakillerinde *cross match* (çapraz karşılaştırma) yapılırken bu test kullanılır. Bu testte hastanın serumunda eritrositlere yapışmamış olan inkomplet antikörler aranır. Bu antikörler IgG tipinde antikörlerdir. Plasentadan geçebilirler. Bu test, kuru tüplere alınan serum ile çalışılır.

## Uygulama: Direkt Coomb's, İndirekt Coomb's ve İndirekt Coomb's Titrasyon Testleri

### Amaç

Kişinin eritrositleri üzerindeki antijenlere yapışmış hâlde bulunan ve eritrositleri kaplayan antikorları (Direkt Coomb's testi), serumda serbest bulunan eritrosit antijenlerine karşı üretilmiş antikorları (İndirekt Coomb's testi) ve indirekt Coomb's testi pozitif çıkanlarda, serumdaki antikor titresini tespit etmek.



Resim 25: Coomb's Serumu

### Araç ve Gereçler

- EDTA'lı tam kan,
- Antikor aranacak serum,
- Cam tüpler,
- SF,
- Coomb's serumu (AHG) (**Resim 25**),
- Pastör pipetleri,
- Mikropipetler (100 mikro litrelik).

### Uygulama: Direkt Coomb's Testi

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	250-300 mikro litre tam kan alınır, bol SF'de üç kez yıkanır (3000 rpm-3 dk).
2	En son süpernatant atılır, dipte kalan eritrositlerden %5'lik eritrosit süspansiyonu hazırlanır (1 ml SF+50 mikro litre eritrosit).
3	Başka bir tüpe, hazırlanmış eritrosit süspansiyonundan 2 damla eklenir.
4	ES üzerine de 2 damla Coomb's serumu eklenir (Resim 25).
5	Tüpler karıştırılarak 1000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir.
6	Aglütinasyon varlığına bakılır. Aglütinasyon varsa sonuç pozitif olarak raporlanır.
7	Mikroskopta bakılarak sonuç teyit edilir.

## Uygulama: Direkt Coomb's Testi

Öğrenci Raporu:

## Uygulama: İndirekt Coomb's Testi

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Hastanın kanı alınarak santrifüjlenerek serumu ayrılır.
2	Herhangi bir 0 Rh (+) tam kan alınarak eritrositleri 3 kez bol SF ile yıkanarak 3000 rpm'de 3 dakika santrifüjlenir ve yıkanmış hâle getirilir. Yıkanmış bu eritrositlerden %5'lik ES hazırlanır.
3	Boş bir tüpe hastanın serumundan 2 damla damlatılır, üzerine hazırlanan eritrosit süspansiyonundan da 2 damla eklenerek karıştırılır.
4	37 <sup>0</sup> C'lik etüvde 60 dakika inkübasyona bırakılır.
5	Bol SF ile 3 kez yıkanır.
6	En son kalan pellet üzerine 1 damla Coomb's serumu ilâve edilir.
7	Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilir.
8	2000 devirde 1 dakika santrifüj edilir.
9	Aglütinasyon olup olmadığı mikroskopta bakılarak teyit edilir.
10	Aglütinasyon varsa sonuçlar (+, ++, +++, +++++) dereceli pozitif olarak değerlendirilir.
11	Pozitif çıkan serum titrasyona alınır.

## Uygulama: İndirekt Coomb's Testi

Öğrenci Raporu:

## Uygulama: İndirekt Coomb's Titrasyon Testi

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	5 adet cam tüp alınır ve üzerleri etiketlenir (sırasıyla 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32).
2	İlk tüpe 50 mikro litre, 2. tüpe 25 mikro litre serum konarak serum miktarları yarıya indirilir ve en son 5. tüpe 3.75 mikro litre serum konur.
3	Tüm tüplere 50'şer mikro litre %1'lik ES ilâve edilir.
4	Tüplere en son hacim 100 mikro litre olacak şekilde SF eklenir.
5	1 saat etüvde inkübe edilir.
6	İnkübasyondan sonra tüp içerikleri bol SF ile 3 kez 3000 rpm'de 3 dakika yıkanır.
7	Tüm tüplere 1'er damla Coomb's serumu eklenir. Oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir. 2000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir. Mikroskopta bakıldıktan sonra en son pozitifliğin görüldüğü titre sonuç olarak raporlanır (1/32 ve üzeri önemlidir).

**Not: İndirekt Coomb's titrasyon testinin 1/32 ve üzerinde çıkması önemlidir. Antikor yanıtının güçlü olduğunu gösterir.**

## Uygulama: İndirekt Coomb's Titrazyon Testi

Öğrenci Raporu:

## Coomb's Serumunun Kontrolü

Coomb's serumu, ancak antikorlarla kaplı yıkanmış eritrositlere bağlanarak aglütinasyon oluşturur. Fakat bazı durumlarda eritrositler iyi yıkanmış olduğu hâlde antikorlarla kaplı değilse aglütinasyon gözlenmez. Bunun için Coomb's serumunun aktivasyonunu belirlemek için *tüp titrasyon yöntemi* kullanılmaktadır.

## Coomb's Testlerinde Yanlış Pozitiflik ve Yanlış Negatifliğin Nedenleri

- Yanlış negatif sonuçların en büyük sebebi iyi yıkanmamış eritrositlerdir. Bu sebepten eritrositler 3 kez bol SF ile yıkanmalıdır.
- Çalışma sırasında ara verilmesi ve uzun süre beklenilmesidir.
- Coomb's serumunun optimum koşullarda muhafaza edilmemesidir.
- Coomb's serumunun teste ilâve edilmesinin unutulmasıdır.
- Santrifüj koşullarının uygun olmamasıdır (devir ve süre gibi).
- Eritrosit konsantrasyonlarının ayarlanamamasıdır.
- Eritrosit yıkamak için kullanılan SF gibi solüsyonların pH değerlerinin eritrositlerle örtüşmemesidir.

## Kanama Diyatezi

Bazı insanlar, kalıtsal ya da diğer etmenlerin etkisiyle kanamaya eğilimleri olarak tanımlanabilir.

**Hemostaz (pıhtılaşma):** Kendiliğinden oluşabilecek bir kanamayı engelleyen ya da başka bir nedenle dışarıdan olan yaralanmalar sonucu oluşabilecek kanamaları durdurmaya çalışan mekanizmaların tümü *Hemostaz* olarak bilinir (Haznedaroğlu, 2005).

**Fibrin:** Pıhtılaşmanın son aşamasında oluşan yaraya bir nevi tıkaç görevi gören bir proteindir.

**Tromboz:** Damarı tıkayan kan pıhtısıdır.

## Pıhtılaşma Mekanizması

Damarların içerden ya da dışarıdan bir nedenden dolayı bütünlüğün bozulmasıyla kanama meydana gelir. Fakat bu durumda vücutta bulunan bir seri mekanizmalar bu kanamayı durdurarak kontrol altına alır. Bu şekilde kanamanın durdurulması ve damar bütünlüğünün korunması olayı *hemostaz* olarak adlandırılır. Bu olaydaki mekanizma sırasıyla şöyle ilerlemektedir:

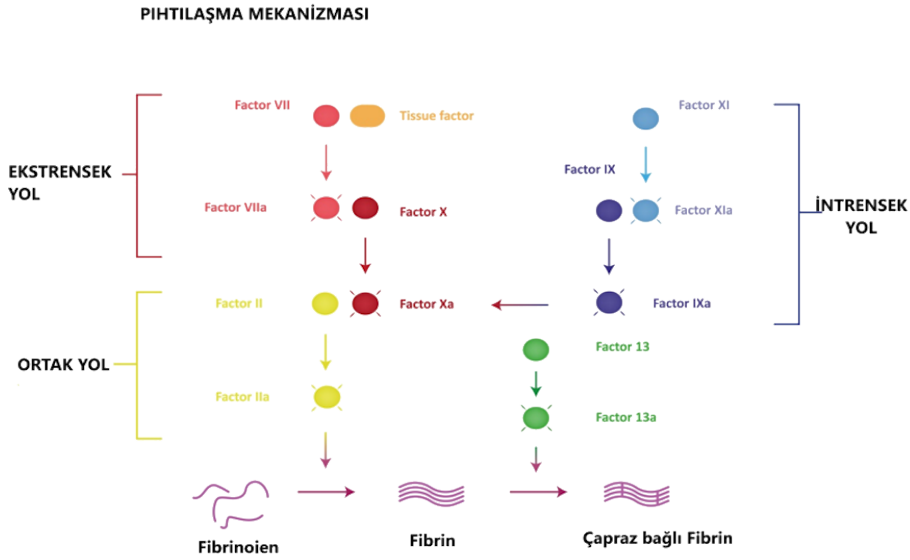
Damar bütünlüğünün bozulmasıyla trombositlerden vazokonstriktör olan serotonin salgılanmasıyla damarda büzülme oluşması, trombositlerin olay yerine gelip bir tıpa oluşturması, çeşitli pıhtılaşma faktörleri etkisiyle koagülasyonun gerçekleşmesi ve en nihayetinde fibrin yani pıhtının yaraya sabitlenmesiyle bu süreç tamamlanır. Bu süre zarfında pıhtılaşmaya yardımcı birçok protein görev almaktadır.

Kanamanın akabinde hemen devreye giren bu mekanizma oldukça karmaşıktır. Damarda oluşan kanama sonucu trombositler tromboplastin salgılar, bu madde koagülasyonu başlatır. Daha sonra tromboplastin aktifleşir ve karaciğerde K vitamini varlığında üretilen protrombini kalsiyum etkisiyle trombine çevirir. Trombin ise plazmada bulunan fibrinojeni fibrine çevirir. Bu fibrinler bir lif ağı olacak şekilde

yararın üzerini kapatarak pıhtı oluşumunu gerçekleştirirler. Sonunda kanamayı durdurmuş olurlar.

Trombositler → Tromboplastin → Protrombin → Trombin → Fibrinojen → Fibrin

Kaogülasyon olayında görev alan ve 1'den 13'e kadar *Faktör* adı verilen bazı proteinler görev alır. Bu proteinlerin birbirlerini aktive etmesiyle kaskad işlev görür. Pıhtılaşma iki yolla gerçekleşir; ekstrinsik (ekstresek) ve intrinsik (intrensek). Bu iki farklı yol, farklı faktörlerin aktifleşmesiyle başladığı hâlde faktör X'in aktif hâle gelmesinden sonra ortak ilerler ve fibrin oluşumu gerçekleşir (Arıkan vd., 2012).



Şekil 7: Pıhtılaşma mekanizması (Kaynak: Shutterstock)

### İntrensek Pıhtılaşma Mekanizması (Damar içi)

Bu pıhtılaşma mekanizması damar içindeki kanın damar çeperindeki kolajenle temasından yani damar içi bir kanamadan sonra Faktör XII'nin aktivasyonu ile başlar. Pıhtılaşma kaskadı Faktör XII'nin ise sırasıyla F XI, F IX, F VIII, F X, F V'i aktif hâle getirmesiyle devam eder. F X ve F V'in birlikte aktif olmaları protrombini trombine dönüştürür. Trombin ise fibrinojeni fibrin dönüştürdüğünde pıhtı tıkaçı oluşur ve F XIII'ün etkisiyle oluşan pıhtı sabit hâle gelir (Şekil 7).

### Ekstresek Pıhtılaşma Mekanizması (Dışarıdan kaynaklanan)

Bu pıhtılaşma mekanizmasında doku faktörü rol oynamaktadır. Burada damar içi değil, dışarıdan kaynaklanan yaralanmalar sonucu oluşan kanamalar bu mekanizma ile durdurulur. Doku faktörü olarak, burada doku tromboplastini görev alır. İstemde, kan dışındaki herhangi bir maddenin, yani doku faktörünün (doku tromboplastini)

etkisiyle pıhtılaşma olayı başlar. Kan ile doku tromboplastini temas ettiğinde Faktör VII inaktif durumdan aktif duruma (VII'ye) geçer. Kalsiyum iyonu ile birlikte F X'u aktifleştirir. Fibrinojenin fibrin hâline dönüşmesi ve F XIII'ün etkisi ile stabil fibrin oluşur (Şekil 7).

## Pıhtılaşma Mekanizmasında Görev Alan Faktörler

Plazmada bulunan ve pıhtılaşmanın oluşmasını sağlayan proteinlerdir. 1'den 13'e kadar faktör proteini bulunur ve her biri Romen rakamıyla gösterilir (Türk Hematoloji Derneği, 2017)

<b>F I</b>	Fibrinojen
<b>F II</b>	Protrombin
<b>F III</b>	Doku faktörü-Doku tromboplastini
<b>F IV</b>	Ca
<b>F V – VI</b>	Labil faktör – (Proakselerin – akselerin)
<b>F VII</b>	Stabil faktör (Prokonvertin)
<b>F VIII</b>	AHG-A (Anti Hemofilik Globulin A)
<b>F IX</b>	AHG-B (Anti Hemofilik Globulin – B) (Christmas Faktörü)
<b>F X</b>	Stuart – Prower Faktörü
<b>F XI</b>	AHG-C (Anti Hemofilik Globulin – C) Plazma tromboplastin antisedan
<b>F XII</b>	Hageman Faktörü
<b>F XIII</b>	FSF (Fibrini Stabilize Eden Faktör)

## Pıhtılaşma Faktörleri Eksiklikleri

### F I (Fibrinojen) Eksikliği

Karaciğerde sentezlenen pıhtılaşma faktörüdür. Fibrinojen trombinin etki etmesiyle fibrin hâline gelir ve pıhtıyı oluşturur. Fakat bazı durumlarda fibrinojen sentezi azalır ki bu durumlarda pıhtılaşma bozukluğu ortaya çıkar. Fibrinojen eksikliğinde, pıhtılaşma zamanı (PZ), Protrombin zamanı (PTZ) ve Aktive parsiyel Tromboplastin zamanı (aPTT) uzamıştır. Fakat Trombolastin Generation Testi (TGT) ve Protrombin Harcanma zamanı ise normaldir.

### F II (Protrombin) Eksikliği

Karaciğerde K vitamini varlığında sentezlenir. Protrombin kalsiyum iyonlarının ve trombokinas enziminin etkisiyle trombine çevrilir. Eksikliği otozomal resesiftir. Eksikliğinde durağan bir kanamadan ziyade bir travma sonrası uzayan kanamalar olur. aPTT ve PT uzamıştır.

### **F X Eksikliği (Stuart ve Prower)**

Karaciğerde sentezlenen ve ortak pıhtılaşma yollarında görev alan bir proteindir. F V ile birlikte protrombokinaz aktivitesi gösterir. Eksikliği otozomal resesiftir. Ayrıca K vitaminin eksikliğinde ve antikoagülan kullanımına bağlı olarak F X'un plazma miktarında azalma gözlemlenir. Böyle durumlarda PT ve aPTT uzamıştır. TT ise normaldir. Karaciğerde sentezlenir. Ortak yolda görev alır. Ayrıca faktör V ile birlikte protromkinazı aktifler. Kalıtsal faktör X eksikliği olan hastalarda PT ve aPTT uzamış, TT ise normaldir.

### **Hemofili**

Halk arasında *kanama hastalığı* olarak bilinen ve X kromozomuna bağlı kalıtıldığından yalnızca erkeklerin olduğu, kadınların ise taşıyıcı oldukları bu durum F VIII ve F IX'un eksikliği ya da yokluğunda görülür. Bu hastalıkta sağlam ve kuvvetli bir pıhtı oluşmamaktadır. Bu nedenle bu hastalarda kanamayı durdurmak için dışarıdan müdahale edilmesi gerekir. Hemofilide kanamanın süresi daha uzundur fakat kanama daha hızlı değildir.

### **Pıhtılaşma Zamanını Uzatan Faktörler**

- Pıhtılaşma bozuklukları,
- Hemofili,
- Antikoagülan ilaç kullanımı,
- Tıkanma sarılıkları,
- Faktör VII ve XIII hariç diğer koagülasyon faktörlerinin eksikliği,
- Lösemi,
- Karaciğer harabiyeti,
- Toksik dozda radyasyona maruz kalma.

### **Pıhtılaşma Zamanını Kısaltan Faktörler**

- Tifo ve tifüs hastalığı,
- Kanama sonrası,
- Anestezi alımından sonra,
- Ağır metaller,
- Oral kontraseptif (doğum kontrol hapları) kullanılması.

## Kanama Zamanı

Trombositlerin fonksiyonlarını ve kanın pıhtılaşma mekanizmalarını ölçmeye yarayan yöntemlerle kanama zamanı ölçülür. Bu test ile yaranın oluştuğu an ile kanamanın durduğu ana kadar geçen sürenin ölçümü yapılır. Kanama zamanı testi aynı zamanda damar duvarı işlevi, trombositlerin etkinlikleri ve sayıları ile ilişkilidir. Kanama zamanı ölçümüyle Won-Willbrand hastalığı gibi bazı hastalıklar ortaya çıkabilir

### Kanama Zamanı Ölçümünü Etkileyen Faktörler

- Derinin yapısı,
- İnsizyon yerinde keloid oluşma durumu,
- Kullanılan ilaçlar,
- Alkolün uçmasını beklememe,
- İnsizyon yapılan bölgede deriyi çekip germe,
- Kesinin yeri ve boyutu,
- Filtre kâğıdının yaraya temas etmesi.

### Kanama Zamanını Uzatan Faktörler

- Von-Willebrand hastalığı,
- Trombositopeni,
- Trombosit fonksiyon bozukluğu,
- Antiagregan veya aspirin kullanımı,
- Fibrinojen eksikliği.

## Uygulama: Duke Yöntemi ile Kanama ve Pıhtılaşma Zamanı Tayini

### Amaç

Kanama zamanını Duke yöntemi ile tespit etmek.

### Araç - Gereçler

- Lanset,
- Alkol,
- Kronometre,
- Filtre kâğıdı.

	Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Parmak ucu alkolle ıslatılmış pamukla birkaç saniye kuruması beklenir ve steril lanset ile parmak ucu delinir. Kronometreye basılır.	
2	Temiz bir lama bir damla kan damlatılır.	
3	Akan kan filtre kâğıdı yardımıyla emdirilir fakat yaraya değdirilmemesine özen gösterilir.	
4	Kanamanın zamanı kontrol edilirken bir taraftan da lama damlatılan kan pıhtılaşma zamanı için lansetin ucuyla kontrol edilir.	
5	Kanamanın durduğu anda kronometreye bakılır ve kanama zamanının dakikası kaydedilir. Bu değer 3 ilâ 6 dakika arasında olmalıdır. 6 dakikanın üstündeki değerler patolojik değerlendirilir.	
6	Pıhtılaşma zamanı içinse lanset ucuyla temas ettiğimiz kanda uzayan (iplikçikleri) fibrilleri gözlemlediğimiz an kronometre durdurulur, bu an pıhtılaşma zamanıdır. Sonuçlar dakika ve saniye cinsinden yazılarak kaydedilir.	
7	Pıhtılaşma zamanı 10 dakikaya kadar normaldir.	

**Uygulama: Duke Yöntemi ile Kanama ve Pıhtılaşma Zamanı Tayini**

**Öğrenci Raporu:**

## Protrombin Zamanı/PTZ

Bu test normal koşullarda tromboplastinin varlığında plazmanın koagülasyon süresini ölçer. Ekstresek yolda görev alan faktörlerin fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan testtir. Protrombin zamanı tayininde sitratlı plazmaya kalsiyum ve tromboplastin eklenerek 37<sup>0</sup>C'de fibrin oluşana dek ekstresek yolun işlevi ölçülmüş olur. Dolayısıyla, PT testi ile ekstresek yoldaki faktörlere bağlı olan bozukluklar yakalanabilir. Bu testler sitratlı/okzalatlü tüplere alınmış plazmalarla çalışılır. Burada antikoagülan madde olan sitrat plazmadaki kalsiyumu bağlar ve tüpteki kanın pıhtılaşmasını önler. Böylece plazmadaki fibrinojen fibrine dönüşmez ve plazmada kalır. Ancak test sırasında dışarıdan tromboplastin ve kalsiyum klorit ilâvesiyle fibrin oluşum süreci ölçülür.

**PTZ'nin Normal Değerleri: 10-14 saniye arasında olmalıdır.**

**INR (Uluslar Arası Normalleştirme Oranı):** Değişik ölçüm sistemlerinden kaynaklanan farklılıkları ortadan kaldırmak, aynı zamanda antikoagülan tedavisinde standardı yakalamak amacıyla INR parametresi kullanılmaktadır.

### **DİKKAT!**

**INR= Hasta Protrombin Zamanı/Normal Kontrol Protrombin zamanı INR, Normal sağlıklı bireylerde 0,8-1,1 değerleri arasında, antikoagülan ilaç tedavisi gören hastalarda ise 2.0-3.0 değerleri arasından olmalıdır.**

## Protrombin Zamanını Uzatan Etmenler

- Fibrinojen eksikliği,
- Karaciğer hastalıkları,
- Antikoagülan ilaç kullanımı,
- Konjenital bazı faktörlerin eksiklikleri (Faktör I, II, V, VII, X),
- K vitamini eksikliği.

## Protrombin Zamanını Kısaltan Etmenler

- Damar içinde meydana gelen pıhtılaşma durumu.

## Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı/aPTT

aPTT, PT'nin aksine intrinsek yolda ve ortak yolda koagülasyon zamanında görev alan pıhtılaşma faktörlerinin (F VII ve F XIII hariç) işlevselliklerini ölçen bir

koagülasyon testidir. Özellikle bu testte hemofili parametresi olan F VIII ve F IX faktörlerinin eksikliği bu testle tayin edilebilir. aPTT, ayrıca fibrin oluşumuna kadar geçen süreçte görev alan tüm faktörlerin eksikliklerinde uzama gösterir. Ayrıca antikoagülan tedavisinin etkinliğinin tayininde kullanılır. PT testinde olduğu gibi sitratlı tüplerden elde edilen plazmadan çalışılır. Sefaline  $\text{CaCl}_2$  ilâvesiyle test çalışılır.

**DİKKAT!**

aPTT'nin normal değerleri, 25-35 saniye arasında olmalıdır.

**aPTT Zamanını Uzatan Faktörler**

- Pıhtılaşma faktörlerinin eksikliği,
- Siroz,
- Hemofili,
- K vitamini eksikliği,
- Heparin uygulaması,
- Fibrinojen eksikliği,
- Von-Willebrand hastalığı.

**aPTT Zamanını Kısaltan Faktör**

- Kanser.

**Koagülasyon Testleri Çalışırken Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar**

- Koagülasyon testleri trombositten fakir plazmadan çalışıldığı için sitratlı kan örneği 2000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmelidir.
- Kanlar alındıktan sonra en geç iki saat içinde çalışılmalıdır.
- Kan alımındaki hatalar doku tromboplastinini aktive edeceğinden sonuçları etkileyebilir.
- Tüplerin içindeki antikoagülanın miktarı çok önemlidir. Ayrıca pıhtılı kandan bu testler çalışılmamalıdır.

- Tüplere eksik ya da fazla kan alınması ayrıca hastanın yüksek hematokriti olması antikoagülan madde ile plazma arasındaki oranı etkileyeceğinden tüpün seviyesinde kan alınmalıdır.
- Doğru antikoagülan madde (sitrat ya da okzalat) kullanılmalıdır.
- Cihaz sıcaklığı 37°C'de olmalıdır.
- Reaktifler uygun koşullarda saklanmalıdır.

## Uygulama: PTZ (Protrombin Zamanı) Ölçme

### Araç - Gereçler

- Kronometre,
- Pipet,
- Benmari,
- Tüp.

### Reaktifler

- Hasta plazması 50 mikro litre,
- Kontrol serumu,
- Hasta serumu,
- Tromboplastin,
- Kalsiyum klorit ( $\text{CaCl}_2$ ).

## Uygulama: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı/aPTT Ölçme

### Araç - Gereçler

- Kronometre,
- Pipet,
- Benmari,
- Tüp.

### Reaktifler

- Hasta plazması 50 mikro litre,
- %3.8'lik 0.5 ml sodyum sitrat,
- Sefalin,
- $\text{CaCl}_2$ ,
- Kontrol plazması.

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Hastadan 3 veya 4 ml sodyum sitratlı tüplere kan alınır.
2	2000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek plazması ayrılır.
3	İki adet cam tüp alınarak hasta ve kontrol olarak etiketlenir ve 37 <sup>0</sup> C'deki benmariye alınır.
4	Kontrol ve hasta plazmalarından 50'şer mikro litre alınarak tüplere aktarılır.
5	50'şer mikro litre plazma aktarılmış hasta ve kontrol tüplerine tromboplastin eklenir.
6	Kontrol tüpüne 100 mikro litre CaCl <sub>2</sub> ilâve edilir edilmez kronometre çalıştırılır. Hasta tüpüne de 100 mikro litre CaCl <sub>2</sub> ilâve edilir edilmez kronometredeki saniye tutulur.
7	Tüpler benmaride 8-9 saniye karıştırıldıktan sonra dışarı çıkarılır. Fibrin oluştuğu gözlemlendiği anda kronometre durdurulur ve okunan saniye raporlanır.
8	Normalde protrombin zamanı 12-14 saniye arasındadır.
9	Bu testte PTZ kadar INR sonucu da önemlidir. Özellikle doz ayarlamalarında INR'ye bakılarak karar verilir.

**INR (International Normalized Ratio):** Hasta protrombin zamanının, normal kontrol plazma protrombin zamanına oranıdır. Normal değeri 0.8 ilâ 1.1'e kadardır.

**ÖNEMLİ:** Antikoagülan ilaç kullananlar için **INR değeri** 2.0-3.0 arasında olmalıdır. Ayrıca pıhtı oluşma riski yüksek olan bazı hastalar için, **INR değeri** 2.5-3.5 gibi yüksek değerlerde olmalıdır.

## Uygulama: PTZ (Protrombin Zamanı ) Ölçme

Öğrenci Raporu:

## Uygulama: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı / aPTT Ölçme

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Hastadan 3 veya 4 ml sodyum sitratlı tüplere kan alınır.
2	2000 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek plazması ayrılır.
3	İki adet cam tüp alınarak hasta ve kontrol olarak etiketlenir ve 37 <sup>0</sup> C'deki benmariye alınır.
4	Kontrol ve hasta plazmalarından 50'şer mikro litre alınarak tüplere aktarılır.
5	Hem hasta hem de kontrol tüpüne 50 mikro litre sefalin konarak 3 dk dakika beklenir.
6	Kontrol tüpüne 100 mikro litre CaCl <sub>2</sub> ilâve edilir edilmez kronometre çalıştırılır.
7	Tüpler benmariden 5 saniye sonra çıkarılır ve karıştırılarak fibrin varlığına bakılır. Fibrinin oluştuğu an kronometre kapatılır. Okunan saniye raporlanır.
8	aPTT'nin normal aralığı 25-35 saniye arasındadır.

PT Sonucu	aPTT Sonucu	Mevcut Muhtemel Durumlar
Uzamış	Normal	Karaciğer hastalığı, K vitamini eksikliği, faktör VII eksikliği ya da bozukluğu.
Normal	Uzamış	Faktör VIII, IX ya da XI eksikliği, lupus anti-koagülan varlığı.
Uzamış	Uzamış	Faktör I, II, V ya da X eksikliği ya da Von-Willebrand hastalığı, karaciğer hastalığı, yaygın damar içi pıhtılaşma.
Normal	Normal	Trombosit fonksiyon bozukluğu, trombositopeni, Faktör XIII eksikliği.

Tablo 5: Kanama bozukluklarında hastalarda PT ve aPTT testlerinin yorumlanması.

**Uygulama: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı / aPTT Ölçme**

**Öğrenci Raporu:**

### Sedimentasyonun Tanımı

Antikoagülanlı bir tüpe alınan kan, bir süre bekletildikten sonra yerçekiminin etkisiyle çökmeye başlar. Eritrositlerin yarım saat ya da bir saatte yerçekiminin etkisiyle oluşan çökme hızlarına *Eritrosit Sedimentasyon Hızı* (ESR= Eritrosit Sedimentasyon Oranı) denir. ESR, eritrositlere, plazmaya ya da mekanik etkilere bağlı olarak değişebilir. Ayrıca ESR 3 safhada meydana gelir (T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri, 2011c):

- **Kümeleşme Evresi:** Bu aşamada eritrositler ilk dakikalar içinde bir araya gelerek kümeleşme görünür ve bu evrede çökme yavaştır. Bu evre ilk yarım saatlik çökme hızını verir.
- **Aglütinasyon Evresi:** Bu aşamada kümeleşmiş eritrositler hızla aglütinasyon oluşturmaya başlarlar. Aglütinasyon ne kadar büyükse çökme hızı o kadar hızlı olacaktır. Bu evre 1 saatlik çökme hızını verir. Klinik olarak anlamlı olan bu evredir.
- **Sıkışma Evresi:** Aglütine olmuş eritrositler tüpün dibinde toplanır, dolayısıyla bu evrede çökme hızı en yavaştır.

### ESR'yi Etkileyen Faktörler

#### Eritrositlerle İlgili Faktörler

- Eritrositlerin ağır ve büyük olması önemli bir etkidir. Dolayısıyla makrositik eritrositler daha hızlı çökme eğilimindedir ve ESR'yi artırır.
- Plazmada artan protein yoğunluğu eritrositlerin rulo formuna gelmesine neden olur. Bu durum eritrositlerin gruplar hâlinde çökmesine ve ESR'nin artmasına sebep olur.

- Eritrositlerin morfolojilerine bağlı anemiler ya da diğer ağır anemilerde eritrosit yoğunluğu kanda azaldığından kolayca dibe çökerler ve bu da sedimentasyon hızını arttırır.
- Pıhtı içeren tüpten sedimentasyon hızı yalancı bir yüksekliğe sebep olacağından pıhtılı kandan ESR çalışılmamalıdır.

### Plazmayla İlgili Faktörler

Plazma proteinlerinin çeşitli sebeplerden dolayı artması, eritrositlerin kolayca rulo formuna geçmesine sebep olacağından bu durumda plazmada artan protein yoğunluğu ESR'yi yükseltecektir.

ESR, plazma proteinlerinden fibrinojenden, alfa-2, beta-1 ve gamma globulin proteinlerinin plazmadaki düzeylerinden etkilenir. Fibrinojenin azalması ya da olmaması ESR hızını arttırır. Eritrositlerin birbirlerinden ayrı durmalarını sağlayan zeta potansiyeli plazmada protein yoğunluğundan etkilenir ve bu potansiyel bozulduğunda eritrositler birbirlerine yaklaşmaya başlar. Rulo formuna gelen eritrositler daha kolay çökme eğilimindedirler.

### Mekanik Olarak Etkileyen Faktörler

- ESR için en ideal sıcaklık, 22<sup>0</sup>C-27<sup>0</sup>C arasındaki oda sıcaklığıdır. 22<sup>0</sup>C'nin altında ESR düşer, 27<sup>0</sup>C'nin üstünde ise ESR yükselir.
- Sedimentasyon pipeti, kullanılırken sedimentasyon sehpasına dik olacak şekilde yerleştirilmelidir. Aksi hâlde ESR değerleri yükselir.
- Kullanılan antikoagülan maddenin miktarı olması gerekenden fazla ise ESR değeri yüksek bulunur.
- Sedimentasyon için alınan kanlar fazla bekletilmemelidir. Çok bekletilmiş kanın ESR değeri düşük çıkar.
- Sedimentasyon tüpünün hacminin 2 mm'den az olması da sedimentasyon hızını azaltır.

## Uygulama: Westergreen Yöntemi ile ESR Tayini

### Amaç

Westergreen yöntemiyle ESR'yi ölçmek (**Resim 26**).

### Prensip

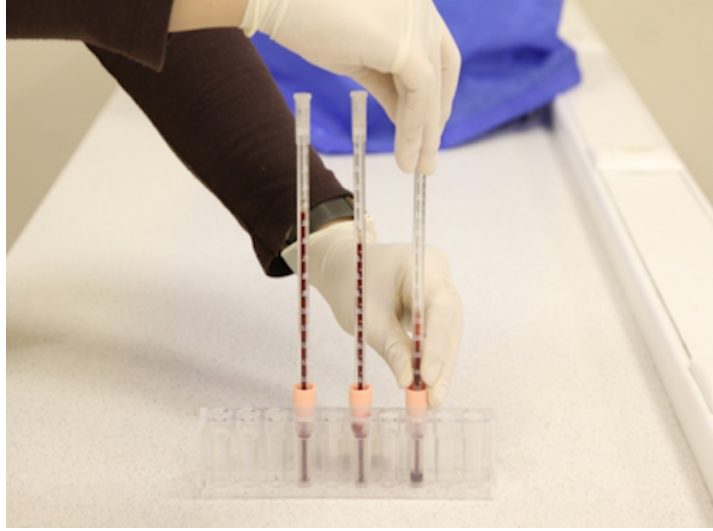
Venöz olarak alınan kanın belli oranlarda antikoagülan bir madde ile karışık bir sehpa yardımıyla dik bir vaziyette 1 saat süreyle bekletilmesiyle ölçülen eritrositlerin çökme hızını mm cinsinden tespit etmeye yarayan bir testtir.

### Araç - Gereçler

- 2,5 mm çapı ve 30 cm uzunluğu olan ve 200 mm'ye kadar işaretli Westergreen pipeti,
- Westergreen sehpası,
- Enjektör (5 cc'lik),
- Kan alma tüpü (EDTA, Sitrat),
- Westergreen kan tüpleri (2 ml'lik).

## Uygulama: Westergreen Metoduyla Sedimentasyon Tayini

Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Westergreen sehpasına 2 ml'lik kan tüpleri yerleştirilir.
2	Venöz kan vakumlu antikoagülanlı tüplere alınır.
3	Tüpteki kan antikoagülan madde ile karışması için birkaç kez alt üst edilerek karıştırılır.
4	Kan tüpünden 2 ml kan sehpaaya yerleştirilmiş 2 ml'lik tüplere hasta sırasına göre aktarılır.
5	Westergreen pipetleri sehpadaki tüplerin içine daldırılarak 200 mm noktasına kadar kan dolması sağlanır. Pipetlerin dik olduğundan emin olunur.
6	Kronometre 30 dk ve 60 dk için ayarlanır.
7	Ayarlanan sürelerin sonunda plazma ile eritrositlerin kesiştiği nokta ESR değeri olarak raporlanır. Örneğin: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 30 dk: 2 mm,</li> <li>• 60 dk: 4 mm gibi.</li> </ul>



Resim 26: Westergren Sedimentasyon Yöntemi

## Değerlendirme

Değerlendirmede ESR'yi etkileyen olası etkenler saf dışı bırakıldıktan sonra normal değer aralıklarına göre değerlendirme yapılır. Bu değerlendirmede yaşlıların sedimentasyon hızları biraz daha yüksek çıkar. Aynı şekilde, kadınların sedimentasyon hızları erkeklere göre biraz daha fazladır. Yeni doğanlarda ise ESR düşüktür.

## Sedimentasyon Referans Değerleri

- Yeni doğan: 0-2 mm/h,
- Erişkin erkek: 6-15 mm/h,
- Erişkin kadın: 11-20 mm/h,
- 50 yaş üstü erkek: 20 mm/h,
- 50 yaş üstü kadın: 30 mm/h.

## ESR'nin Azaldığı ve Arttığı Hâller

- ESR başta enfeksiyon hastalıklarında, malign tümörlerde, bağ dokusu harabiyetlerinde, gebelikte, antikor titresi arttığında, hipotirodi ve kalp krizlerinde artış gösterir.
- ESR, polisitemi, viral enfeksiyonlar, kalp yetmezliği ve talasemi gibi hastalıklarda ise azalma gösterir.

**Uygulama: Westerngreen Yöntemiyle ESR Tayini****Öğrenci Raporu:**

*Cross Match* denilen “Çapraz karşılaştırma testi” uygunluk testleri olarak adlandırılır ve bu testlerde antijen ve antikor etkileşimleri tayin edilir. Bu testler öncelikli olarak kan transfüzyonlarında hasta ve donör arasındaki kan uyumunun ne derecede olduğunu saptamaya yarayan testlerdir. Transfüzyon anında oluşabilecek komplikasyonları önlemek amacıyla önceden bu testin yapılması şarttır. Cross Match testi hastanın ve donörün kan gruplarının birbirine uyması durumunda yapılır. Kan uyumu olmayan hasta ve donör arasında çapraz karşılaştırma yapılmaz. Cross Match, Major ve Minör olmak üzere iki aşamada yapılmalıdır. Cross Match sonucu negatif çıkan bir test, “Donör ile hasta kanları uyumludur,” demektir ve kan transfüzyonu için bir engel yoktur. Sonuç pozitif ise hasta ile donör kanları uyumsuzdur ve transfüzyon katiyen yapılmamalıdır (Türk Hematoloji Derneği, 2017)(Resim 27).

### **Cross Match Testinin Amacı**

- Kan grubunun belirlenmesinin ardından antikor taramasının yapılması suretiyle AB0 uyumunun son kez test edilmesi.
- Etiketlemede ve kayıtlarda verici veya alıcının kimlik bilgilerinin kontrol edilmesi.
- Hasta ya da alıcı serumunda, donörün eritrositlerine karşı oluşmuş bir antikorun araştırılması (majör crossmatch).
- Donörün serumunda alıcının eritrositlere karşı gelişmiş bir antikorun varlığının araştırılması (minör crossmatch).

### **Majör ve Minör Cross Match Testleri**

#### **Majör Cross Match Testi**

Cross Match testinin temeli, majör cross match testidir. Hasta serumu ya da plazması ile donörün eritrositleri karıştırılır ve üzerine Coomb’s serumunun ilâve edilmesiyle

donörün eritrositlerine karşı alıcıda antikor olup olmadığı tespit edilmiş olur.

**Major Cross Match= Hasta plazması + Donör eritrositi + Coomb's serumu**

### Minör Cross Match Testi

Cross Match testinin 2. aşamasıdır. Majör testin tersidir. Burada, donörün plazmasında alıcının eritrositlerine karşı üretilmiş olabilen antikorlar araştırılır.

**Minör Cross Match= Hasta eritrositi + Donör plazması + Coomb's serumu**

### Cross Match Testi Yapılırken Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

- Alıcı ya da hastaya ve donöre ait tüpler ve süspansiyonlar etiketlenmeli ve karışmamasına dikkat edilmelidir.
- Coomb's serumu ile çalışılan testlerde serumdan gelebilecek diğer antikorların kontaminasyonunu önlemek için eritrositler bol SF ile yıkanmalıdır. Yıkanmış eritrositlerden eritrosit süspansiyonu hazırlanmalıdır.

## Uygulama: Majör ve Minör Cross Match Testleri

### Amaç

Majör ve Minör Cross Match testinin yapılışını öğrenmek ve prensibini kavrayabilmek.

### Araç - Gereçler

- Santrifüj,
- Etüv,
- Cam tüpler,
- Hasta plazması (majör) ve donör plazması (minör),
- SF (serum fizyolojik),
- Donör eritrosit süspansiyonu (majör) ve hasta eritrosit süspansiyonu (minör),
- Coomb's serumu,
- Şüphelenilen sonuçların mikroskopta değerlendirilmesi gerekir.

Uygulama Basamakları	Kontrol
1 Hasta (alıcı) ve donör eritrositleri yıkanarak %5'lik ES hazırlanır (1 ml SF + 50 mikro litre eritrosit). Tüpe, %5'lik vericinin eritrosit süspansiyonundan 1 damla konur.	
2 Cam tüpler etiketlenir (HP-DES, DP-HES, Majör ve Minör olarak). Hasta ve donörün plazmaları ayrılır. ES'ler de hazırlandıktan sonra majör teste geçilir.	
3 Majör yazan tüpe alıcının plazmasından 2 damla konur, üzerine donör eritrosit süspansiyonundan da 2 damla ilâve edilir.	
4 Minör yazan tüpe ise donör plazmasından 2 damla, hasta eritrosit süspansiyonundan da 2 damla konur.	
5 Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilir ve 1000 rpm'de 1 dakika çevrilir.	
6 Santrifüj sonrasında dipte aglütinasyon olup olmadığına bakılır. Aglütinasyon varsa sonuç pozitif olarak raporlanır fakat aglütinasyon yoksa 1 damla Coomb's serumu ilâve edilir.	
7 Etüvde 37 <sup>0</sup> C'de 30 dakika inkübe edilir.	
8 İnkübasyon sonrası 1000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir. Tüp hafifçe karıştırıldıktan sonra aglütinasyon varlığına bakılır. Daha kesin bir sonuç için mikroskopta bakılmalıdır.	
9 Mikroskopta aglütinasyon görünüyorsa sonuç pozitif olarak raporlanır ve "Cross Match uygun değil," şeklinde yorumlanır. Ancak herhangi bir aglütinasyon görünmüyor ve eritrositler ayrı ayrı ise sonuç negatif olarak raporlanır ve "Cross Match uygundur," denir.	



Resim 27: Jel Santrifügasyon Yöntemi ile Cross Match Testi

## **Uygulama: Majör ve Minör Cross Match Testleri**

**Öğrenci Raporu:**

## Uygulama: Acil Cross Match Testi

Acil Cross Match rutin bir test değildir ve ancak çok acil durumlarda yapılabilir. Bu testte alıcı serumu donörün eritrositleriyle karıştırılarak hemen santrifüj edilir ve aglütinasyon varlığı bakımından değerlendirilir.

### Araç - Gereçler

- Santrifüj,
- Etüv,
- Cam tüpler,
- Alıcı serumu,
- Coomb's serumu.

	Uygulama Basamakları	Kontrol
1	Her donör için bir tüp hazırlanır.	
2	Hazırlanan her tüpe 2 damla alıcı (hasta) serumu konur.	
3	%5'lik olarak hazırlanan donör eritrosit süspansiyonlarından 2 damla ait oldukları tüplerde alıcı serumları üzerine eklenir.	
4	Tüpler 1000 rpm'de 1 dk santrifüjlenir.	
5	Sonuçlar aglütinasyonun varlığına göre değerlendirilir.	

**Uygulama: Acil Cross Match ve Jel Santrifügasyon Yöntemi ile Cross Match Testi**

**Öğrenci Raporu:**

- Akbay, A., Öztaş, Y., and Bozdayı, G. (2000). *Klinik Laboratuvarında Temel Kavramlar*. Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Anak, S., Aydoğan, G., and M Çetin, v. (2011). *Pediyatrik Hematoloji*. Medikal, İstanbul, 3 edition.
- Arıkan, H., Tosunođlu, M., and Gül (2012). *Genel Hematoloji Ders Notlarıve Uygulama Kılavuzu*. Kriter, İstanbul.
- Haznedaroğlu, I. C. (2005). Hemostaz mekanizmaları. *Türkiye Klinikleri J Int MedSci*, 2(1):1–5.
- Hillman, R. S., Ault, K. A., Leporrier, M., and M H, R. (2012). *Klinik Uygulamada Hematoloji*. Güneş, Ankara, 5 edition.
- Hoffbrand, A. V. and Moss, A. H. (2018). *Hoffbrand'ın Temel Hematolojisi*. Ema, İstanbul, 1 edition.
- Kaya, Z. (2013). Tam kan sayım Āıktılarının yorumlanması. *Dicle Med J*, 3(40):521–528. doi: 10.5798/diclemedj.0921.2013.03.0326.
- Lanzkowsky, P. (2016). *Lanzkowsky's Manuel of Pediatric Hematology and Oncology*. Güneş, Ankara, 8 edition.
- T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri (2011a). Tıbbi laboratuvar biyokimyasal analizler Öncesi hazırlık. [http://www.megep.meb.gov.tr/mte\\_program\\_modul/moduller\\_pdf/Biyokimyasal%20Kan%20Analizleri%20%C3%96ncesi%20Haz%C4%B1rlama.pdf](http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Biyokimyasal%20Kan%20Analizleri%20%C3%96ncesi%20Haz%C4%B1rlama.pdf).
- T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri (2011b). Tıbbi laboratuvar hematolojik preparat hazırlama. [http://www.megep.meb.gov.tr/mte\\_program\\_modul/moduller\\_pdf/Hematolojik%20Preparat%20Haz%C4%B1rlama.pdf](http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Hematolojik%20Preparat%20Haz%C4%B1rlama.pdf).

- T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri (2011c). Tıbbi laboratuvar sedimentasyon tayini. [http://www.megep.meb.gov.tr/mte\\_program\\_modul/moduller\\_pdf/Sedimentasyon%20Tayini.pdf](http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Sedimentasyon%20Tayini.pdf).
- T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri (2011d). Tıbbi laboratuvar tam kan sayımı - 1. [http://www.megep.meb.gov.tr/mte\\_program\\_modul/moduller\\_pdf/Tam%20Kan%20Say%C4%B1m%C4%B1%20-1.pdf](http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Tam%20Kan%20Say%C4%B1m%C4%B1%20-1.pdf).
- T. C. MEB, Sağlık Hizmetleri (2016). Hematoloji laboratuvar Çalışmaları. <https://www.turkiyeklinikleri.com/article/en-hemostaz-mekanizmalari-36038.html>.
- T. C. Sağlık Bakanlığı (2012). Türkiye yüksek İhtisas hastanesi, hematoloji laboratuvarı laboratuvar test rehberi. <http://www.tyih.gov.tr/Eklenti/319, testrehberihematolojipdf.pdf?0>.
- T. C. Sağlık Bakanlığı (2016). Ulusal kan ve kan bileşenleri hazırlama kullanışim ve kalite gÃ¼vencesi rehberi. <https://sbu.saglikgov.tr/Ekutuphane/Yayin/523>.
- Türk Hematoloji Derneği (2017). *Transfüzyon Tıbbı ve Kan Bankacılığı, Ulusal Tanı ve Tedavi Kılavuzu*. Türk Hematoloji Derneği, Ankara.
- Türkmen, H. Y., Serdar, M. A., and Haşimi, A. (2007). Hemoliz ve lipeminin biyokimyasal testlere etkisi ve lipemik etkinin uzaklaştırılmasında kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması. *GÃ¼lhane Tıp Dergisi*, (49):5–10.
- Zerrin, M., Karakılçık, A. Z., and Nazlıgöl (2004). Şanlıurfa bölgesinde abo ve rh kan gruplarının dağılımı. *Harran Tıp Fak Der*, 3(1):7–15.