

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

TIBBİ LABORATUVAR

**DİĞER VÜCUT SIVILARININ ANALİZİ
725TTT119**

Ankara, 2011

-
- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
 - Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
 - **PARA İLE SATILMAZ.**

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR	ii
GİRİŞ	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	3
1. BOS (BEYİN OMURLUK SIVISI) ANALİZİ	3
1.1. Diğer Vücut Sıvılarının Analizi	3
1.2. Transuda Ve Eksuda Sıvısının Klinik Önemi	3
1.3. Mide Suyunun Yapısı	7
1.4. Duodenum Suyunun Oluşumu	10
1.5. BOS'un Yapısı ve Klinik Önemi	11
1.5.1. BOS'un Fiziksel (Makroskobik) Analizi	12
1.5.2. BOS'un Kimyasal Analizi	13
1.5.3. BOS'da Glikozun Klinik Önemi	13
1.5.4. BOS'da Glikozun Kalitatif Analizi	13
1.5.5. BOS'da Glikozun Kantitatif Analizi	13
1.5.6. BOS'da Proteinin Klinik Önemi	14
1.5.7. BOS'da Proteinin Kalitatif Analizi	14
1.5.8. BOS'da Proteinin Kantitatif Analizi	15
1.5.9. BOS'un Mikroskopik İncelemesini Yapma	17
1.5.10. BOS'da Görülen Hücrelerin Klinik Önemi	17
1.5.11. BOS'da Hücre Sayım Tekniği	17
UYGULAMA FAALİYETİ	20
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	22
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	23
2. EJEKÜLAT SIVISI ANALİZİ	23
2.1. Ejekülat Sıvısının Fiziksel Analizi	24
2.2. Spermatozoon Sayımı	24
2.2.1. Thoma Sayım Kamarası ile Spermatozoon Sayımı	24
2.2.2. Otomatik Sperm Analiz Cihazı ile Spermatozoon Sayımı	25
UYGULAMA FAALİYETİ	30
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	32
MODÜL DEĞERLENDİRME	33
CEVAP ANAHTARLARI	34
KAYNAKÇA	35

AÇIKLAMALAR

KOD	725TTT119
ALAN	Tıbbi Laboratuvar
DAL/MESLEK	Tıbbi Laboratuvar Teknisyenliği
MODÜLÜN ADI	Diğer Vücut Sıvılarının Analizi
MODÜLÜN TANIMI	BOS, mide ve duodenum sıvısı, transuda ve eksuda sıvısı, ejakülat sıvısı hakkında bilgi ve becerileri içeren öğrenme materyalidir.
SÜRE	40/16
ÖNKOŞUL	Çözelti Hazırlama ve Kan Analizleri İçin Ön Hazırlık İşlemleri ve Ölçüme Hazırlama, Kan Glikoz Analizleri, Otoanalizörde Biyokimyasal Kan Analizleri, Kan Proteinleri Analizi modüllerini almış olmak
YETERLİK	Diğer vücut sıvılarının analizini yapmak.
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç: Diğer vücut sıvılarından BOS ve ejakülat sıvısı analizlerini yapabileceksiniz. Amaçlar 1. BOS sıvısı analizi yapabileceksiniz. 2. Ejakülat sıvısı analizi yapabileceksiniz.
EĞİTİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Donanım: Mikroskop, numune toplama kabı, mezür, beher, dansitometre, pH kağıdı, saat camı, idrar sribi, thoma lamı, lökosit pipeti, lam, lamel, pipet/otomatik pipet, deney tüpü, reaktifler, otoanalizör, spermogram cihazı, bilgisayar, projeksiyon cihazı vb. Ortam: Tıbbi biyokimya laboratuvarı
ÖLÇME DEĞERLENDİRME VE	Modülün içinde yer alan, her faaliyetten sonra verilen ölçme araçları ile kazandığınız bilgileri ölçerek kendi kendinizi değerlendireceksiniz. Öğretmen, modülün sonunda, ölçme aracı (test, çoktan seçmeli, doğru-yanlış vb.) kullanarak modül uygulamaları ile kazandığınız bilgi ve becerileri ölçerek sizi değerlendirecektir.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Bu modül ile tıbbi biyokimya laboratuvarında, vücut sıvılarından BOS, mide ve duodenum sıvısı, transuda ve eksuda sıvısı, ejakülat sıvısı hakkında genel bilgi sahibi olacaksınız. BOS ve ejakülat analizlerinin manuel ve otoanalizörde çalışma prensipleri ve teknikleri ile ilgili bilgi ve becerileri kazanacaksınız.



ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Beyin omurilik sıvısının biyokimyasal analizlerini yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Diğer vücut sıvıları hakkında bilgi edininiz.
- Beyin omurilik sıvısının alınışını gözlemleyiniz.
- Beyin omurilik sıvısı analizi hakkında araştırma yapınız.

1. BOS (BEYİN OMURİLİK SIVISI) ANALİZİ

Bos ve diğer vücut sıvılarının analizini kalitatif ve kantitatif yönünden değerlendirilerek sonuçlandırılması.

1.1. Diğer Vücut Sıvılarının Analizi

Otoanalizörde Biyokimyasal Kan Analizleri modülünde; vücut suyunun yapısı, önemi, dağılımı, görevleri ve vücut suyunun atılımı bilgilerini almıştık. Bu modülde diğer vücut sıvılarından BOS, transuda ve eksuda sıvısı, mide suyu, duodenum ve ejakülat sıvısı (sperm sıvısı) ile ilgili bilgileri alacağız.

1.2. Transuda Ve Eksuda Sıvısının Klinik Önemi

Organizmanın periton, plevra, perikard gibi boşluk ve aralıklarında kayganlığı ve ıslaklığı sağlayabilecek miktarda az sıvı bulunur. Bu sıvı, ponksiyonla alınamayacak kadar azdır.

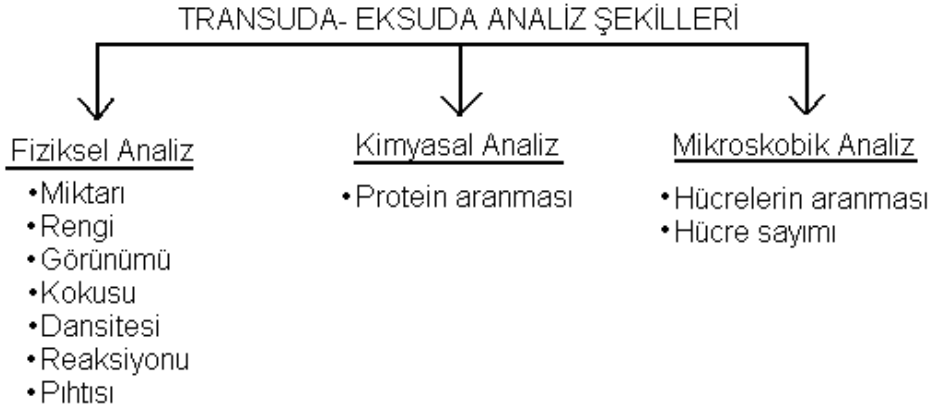
Karından alınan sıvıya, periton mayi veya parasentez mayi; göğüsten alınan sıvıya plevra mayi veya torasentez mayi; perikarddan alınan sıvıya ise perikard mayi adı verilir. Vücudun seröz boşluklarında toplanan bu sıvılara, seröz sıvıları adı verilir. Seröz sıvılar, transuda ve eksuda olmak üzere ikiye ayrılır.

Seröz sıvıların miktarı, bazı patolojik durumlarda (sağ kalp yetmezliği, kronik karaciğer hastalıkları, akut ve kronik böbrek hastalıkları) hem nitelik, hem de nicelikleri değişerek ponksiyonla alınabilecek derecede artar.

Dolaşım yetmezliğine bağlı olarak damar geçirgenliğinin artması sonucu kanın sıvı kısmı damar dışına çıkarak vücut boşluklarında birikir. Damar dışına çıkan ilk sıvı; berraktır, içinde kan hücreleri bulunmaz, dansitesi düşüktür az miktarda protein bulunur. Bu özelliklere sahip ilk sıvıya, **transuda** denir. Transuda iltihapla ilgisi olmayan bir sıvıdır.

Damar geçirgenliğinin ileri derecede artması sonucu damar içindeki kanın sıvı kısmı (plazma) ile birlikte kan hücreleri ve kan proteinlerin damar dışına çıkarak vücut boşluklarında birikir. Biriken sıvının yapısında su, protein ve hücre sayısı fazladır. Bu özelliklere sahip sıvıya, **eksuda** denir. Eksuda iltihapla ilgili bir sıvıdır.

Transuda ve eksuda özellikli sıvılar, vücut dışına alındıklarında, içerdikleri fibrinojenden dolayı pıhtılaşır. Pıhtılaşmayı önlemek için antikoagülanlı tüplere alınarak laboratuvara gönderilir.



Şema 2.1: Transuda ve eksuda analiz şekilleri

➤ **Transuda ve Eksudanın Fiziksel Analizi**

Transuda ve eksudanın fiziksel analizinde bakılan parametreler; miktar, renk, görünüm, koku, dansite, reaksiyon ve pıhtıdır.

- **Miktar:** Analiz için gelen vücut sıvısının miktarı ölçülür. Transuda ve eksuda miktarları, hastaların durumuna göre büyük farklılık gösterir. Laboratuvarında gerekli analizlerin yapılabilmesi için hastadan yeterli miktarda transuda ve eksuda alınması gerekir. Dansite tayini yapılacaksa en az 15-20 ml alınmalıdır.
- **Renk:** Transuda özellikli sıvılar, genellikle renksizdir. Eksuda özellikli sıvılar enfeksiyona bağlı olarak sarı, koyu sarı, kırmızı olabilir.
- **Görünüm:** Transudalar berrak ve seröz; eksudalar ise bulanık ve tortulu olabilir. Ayrıca seröz (sulu, akışkan), fibrinli, pürülan (cerahatlı), hemorajik (kanlı), şiloid (yağlı) veya bunların karışımı şeklinde görülebilir.
- **Koku:** Normal kişilerde kendine özgüdür. Transuda kokusuz, eksuda genellikle kokuludur. Patolojik durumlarda kötü kokar.
- **Dansite:** Rutin çalışmalarda dansite istenmedikçe ölçülmez. İstendiği takdirde ise ürinometre ve strip ile ölçülür. Transudalarda dansite 1.015'ten az, eksudalarda 1.015'ten yüksektir.

- **Reaksiyon:** Bilinen yöntemlerle sıvının pH'sı ölçülür. Seröz sıvıların pH'sı 6,8 ile 7,6 arasında değişir. pH'sı 7,3'ten yüksek alkali sıvı transudadır özelliği, pH'sı 7,3'ten düşük asit sıvı ise eksuda özelliğidir.
- **Pıhtı:** Transudalarda pıhtılaşma olmaz, eksudalarda pıhtılaşma olabilir. Alınan sıvının transuda ya da eksuda özelliği olup olmadığı bilinmediği için mutlaka antikoagülanlı tüplere alınmalıdır. Zira analize gelen sıvılar pıhtısız olması gerekir.

➤ **Transuda ve Eksudanın Kimyasal Analizi**

Transuda ve eksuda sıvılarının kimyasal analizinde, kalitatif ve kantitatif protein analizleri yapılır.

Transuda ve eksudanın kalitatif protein analizi; Rivalta , Morelli ve Luccherini deneyleri ile yapılır.

- **Rivalta Deneyi**
 - **Reaktif:** Glacial asetik asit (CH_3COOH)
 - **Teknik**

Bir deney tüpünün 3/4'üne distile su konur. Üzerine 1 damla glacial asetik asit damlatılır, karıştırılır. Üzerine 1 damla ponksiyon sıvısı damlatılır. Karıştırmadan değerlendirilir. Kuvvetli bulanıklık gözlenirse test müsbet, sıvı eksudadır. Bulanıklık görülmezse test negatif, sıvı transudadır. Mayı damlası aşağı inerken normal vücut sıvılarında bulanıklık meydana gelmez.

- **Morelli deneyi**
 - **Reaktif:** Doymuş civa-2 klorür
 - **Teknik**

Bir deney tüpüne 2 ml doymuş civa-2 klorür konur. Üzerine 3-4 damla incelenecek ponksiyon sıvısı damlatılır. Eğer halka şeklinde sarı bir pıhtı oluşursa, test müsbet, sıvı eksudadır. Hafif bir pıhtı oluşur, daha sonra tüpün dibine çökerse, test negatif, sıvı transudadır.

- **Luccherini deneyi**
 - **Reaktif:** %3 hidrojen peroksit (H_2O_2)
 - **Teknik**

Bir deney tüpüne 2 ml %3' lük H_2O_2 konur. Üzerine incelenecek ponksiyon sıvısından 1 damla ilave edilir. Mavi beyaz bulanıklık meydana gelirse, test müsbet, sıvı eksudadır. Bulanıklık oluşmamışsa, test negatif, sıvı transudadır.

Transuda ve eksudanın kantitatif protein analizi; serum protein analiz metotları ile tayin edilir. Transudalarda protein miktarı = % 2,5 gr'dan az, eksudalarda ise protein miktarı = % 2,5 gr'dan fazladır.

➤ **Transuda ve Eksudanın Mikroskopik Analizi**

Transuda ve eksuda sıvılarında mikroskopik analiz için direkt preparat hazırlanarak hücreler aranır. Hücre sayısı fazla ise boyalı preparat hazırlanır.

• **Direkt preparat hazırlanması**

○ **Araç - gereçler**

Santrifüj, Santrifüj tüpü, Lam- lamel, Mikroskop

○ **Teknik**

Sıvı santrifüj edilir. Tüpün dibindeki tortudan 1 damla lam üzerine alınarak lamel ile kapatılır. Mikroskopta 40'luk objektifle preparat incelenir. Görülen eritrosit, lökosit ve endotel hücreleri değerlendirilir. Hücre sayısı fazla ise boyalı preparat hazırlanır.

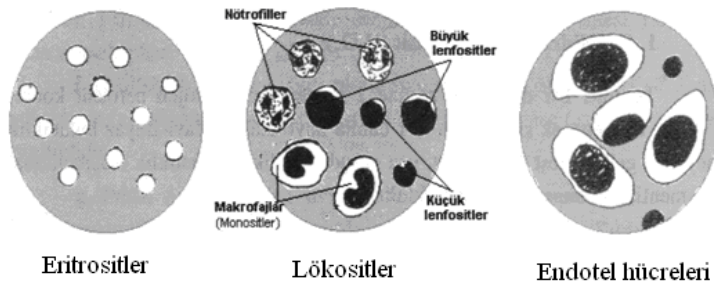
• **Boyalı preparat hazırlanması**

○ **Araç - gereçler**

Santrifüj, Santrifüj tüpü, Lam- lamel, Mikroskop, Çalar saat, Metil alkol, Giemsa, İmmersiyon yağı

○ **Teknik**

Sıvı santrifüj edilir. Tüpün dibindeki tortudan bir damla, lamın kenarına yakın bölgeye bırakılır. Temiz bir lam veya lamel ile tortu ince bir tabaka yapacak şekilde lam üzerine yayılır. Havada kuruması sağlanır. Lamın üzerini kaplayacak şekilde metil alkol konur. 5 dakika tesbit edilir. Lam üzerindeki metil alkol dökülür ve uçurulur. Üzerine daha önce hazırlanmış, giemsa boyasından lam üzerini kaplayacak şekilde konur. 20 dakika beklenir. Boya dökülür, çeşme suyunda yıkanır. Preparat kuruduktan sonra mikroskopta immersion (100 x) objektifi ile inceleme yapılır. Görülen eritrosit, lökosit ve endotel hücreleri değerlendirilir.



Resim 2.1: Transuda ve eksudada görülebilecek hücreler

- **Transuda ve eksuda sıvılarında hücre sayımı**

Ponksiyon sıvılarında hücre sayımı, rutin bir çalışma değildir. Hücre sayımı yapılacak sıvı antikoagülanlı tüplere alınır. Sayım sıvı alındıktan sonra geciktirilmeden yapılır.

- Ponksiyon sıvısında hücre sayısının az veya çok olduğunu anlamak için;

Lam üzerine bir damla ponksiyon sıvısı konur, üzerine lamel kapatılır. Mikroskopta, direkt olarak 40'lık objektifle incelenir. Hücre sayısı az ise sayım için thoma sayım kamarası kullanılır.

- Ponksiyon sıvısında thoma sayım kamarası ile lökosit sayımı için;

Thoma sayım kamarası üzerine 1 damla ponksiyon sıvısı konur. Lamel kapatılır. Mikroskopta lökositler tekniğine uygun sayılır. Bulunan hücre sayısı 10 ile çarpılır ve mm^3 teki toplam hücre sayısı bulunur.

Örneğin: Thoma lamında 26 hücre sayılmışsa sonuç = $260/\text{mm}^3$ bulunur.

Transudada pek hücre bulunmaz, eksudada ise bol miktarda hem lökosit hemde eritrosit bulunabilir. Allerjik eksudada fazla miktarda eozinofil, bakteriyel eksudada ise bol miktarda nötrofil bulunur. Eksuda yayma preparat yapılarak wright boyası ile boyanır.

DANSİTE (Yoğunluk)	TRANSUDA	EKSUDA
PROTEİN	1015'den az	1015'den fazla
RİVALTA DENEYİ	% 2.5 gr'dan az	% 2.5 gr'dan fazla
MORELLİ DENEYİ	Menfi	Müspet
LUCCHERİNİ DENEYİ	Menfi	Müspet
FİBRİNOJEN	Az	Çok
PIHTILAŞMA	Yavaş	Hızlı
LÖKOSİTLER	Yok	Var
İLTİHAP ÖZELLİĞİ	Yok	Var
MİKROSKOBİK İNCELEME	Eritrositler Küçük lenfositler Endotel hücreleri	Eritrositler (+++) Nötrofil lökositler Eosinofiller Endotel hücreleri

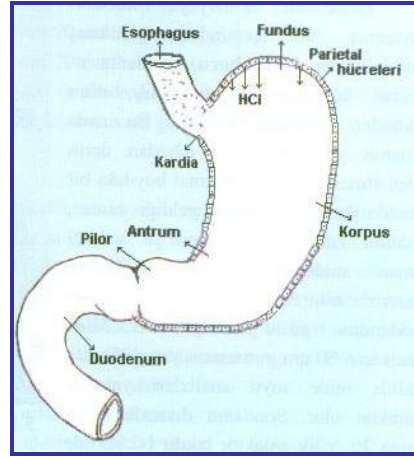
Tablo 2.1: Vücut sıvılarının transuda ve eksuda olma özellikleri

1.3. Mide Suyunun Yapısı

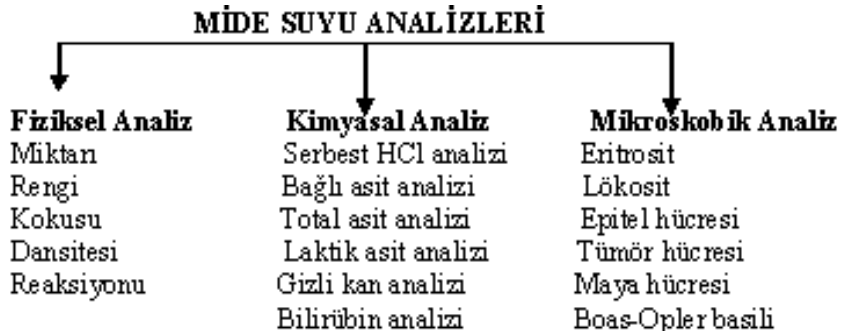
Mide özsuyu, mide mukozası bezleri hücrelerinin, mide boşluğuna salgıladıkları bir sıvıdır. Normalde boş midede az miktarda bir sıvı (açlık sıvısı) bulunur. Bu sıvıya residium adı verilir. Mideye besinlerin girmesiyle bu sıvıdan çok farklı yeni bir salgı meydana gelir. Bu salgının görevi, besinlerin parçalanmasını sağlamaktır. Tıbbi yönden incelenmesi gereken sıvı bu sıvı olup asıl mide özsuyu bu sıvıdır.

Mide suyunun yapısında; % 4-6 serbest hidroklorik asit bulunur. Hidroklorik asit midenin fundus ve yukarı parietal hücrelerinden salgılanır. % 45-60 total asit bulunur. Total asit; serbest hidroklorik asit, proteine bağlı hidroklorik asit, fosfat ve karbonatlardan oluşur. % 42-46 organik maddeler içerir. Organik madde olarak pepsin, rennin ve lipaz gibi enzimler bulunur. Ayrıca belirli miktarda mukus ve % 13-14 inorganik madde bulunur. Bunlar; Na^+ , Ca^{++} , Cl^- , H^+ , PO_4 ayrıca intrinstik faktör (Gastrik pariyetal hücrelerden salınan bir glikoproteindir, B12 vitamini emilimi için gereklidir.) bulunur.

Patolojik residiumlarda, kan, lökosit, mukus, gıda kalıntıları; doku ve tümör parçaları bulunabilir. Gıda kalıntılarının varlığı, boşalmadaki bir gecikmeyi gösterir. Yetişkin bir insanın midesi bir günde 1500-2000 ml mide suyu salgılar. Mide ve sindirim sistemini tutan hastalıkların teşhisi için mide suyu analizleri yapılır. Mide suyu analizi için hastadan mide tubajı tekniği ile materyal alınır.



Resim 3.1: Mide ve bölümleri



Şema 3.1: Mide suyu analizleri

➤ **Mide Suyunun Fiziksel Analizi**

Mide suyunun fiziksel analizinde bakılan parametreler; miktar, renk, koku, dansite ve reaksiyonudur.

- **Miktar:** Açlık mide suyu, genellikle 30-50 ml arasında değişir. Hipersekrezyonda, gastrik boşalmanın azalması, pilor tıkanması ve midenin hareketinin engellendiği ya da az hareket etmesine bağlı olarak 50 ml'den fazla olur.
- **Renk:** Sağlıklı kişilerin açlık mide suları genellikle renksizdir. Mide kanamalarında buna kan karıştığından kanamanın şekli ve süresine bağlı olarak parlak kırmızıdan koyu kahverengiye veya siyaha kadar renk değişikliği olur. Mide suyuna safra karışmışsa sarı veya yeşil renkli olur. İçerisinde fazla miktarda mukus ve sindirilmemiş besin artıkları bulunduğu zaman bulanıklık görülür.
- **Koku:** Açlık mide suyu kokusuz, ekşi veya kokmuş olabilir. Gastrit, kanser, kalın bağırsak basilli enfeksiyonlarda karakteristik ve kendine özel, keskin bir kokusu vardır.
- **Dansite:** Açlık mide suyunun dansitesi 1.006-1.009 arasında değişir.
- **Reaksiyon:** İçinde bulundurduğu HCL ve organik asitlere bağlı olarak asit olur.

➤ **Mide Suyunun Kimyasal Analizi**

Mide suyunun kimyasal analizinde bakılan parametreler; serbest, bağlı ve total HCL asit tayini, laktik asit analizi, gizli kan analizi, bilirubin analizidir.

➤ **Mide Suyunun Mikroskopik Analiz Yöntemleri**

- Mide suyundan, temiz bir lama, bir damla alınır. Üzeri lamelle kapatılır. Mikroskopta büyük ve küçük objektiflerle direkt olarak incelenir. Epitel hücreleri, lökosit, eritrosit ve sindirilmemiş besin artıklarının olup olmadığı gözlenir.
- Mide suyundan, temiz bir lama bir damla alınarak yayılır. Üzerine bir damla sudan III boyası konarak karıştırılır. Mide suyunda nötral yağ damlacıkları varsa sarı ya da kırmızı görülür.
- Mide suyundan temiz bir lama bir damla alınarak yayılır. Üzerine bir damla lugol solüsyonu konarak karıştırılır. Mide suyunda nişasta granülleri varsa leylak moru veya mavi siyah renkte görülür. Maya, sarı renkte görülür. Normal mide suyunda nişasta, maya ve az miktarda mukus bulunur.
- Mide suyundan temiz bir lama bir damla alınarak yayılır. Üzerine sulandırılmış karbolfuksin boyası ilave edilir. Preparat hazırlandıktan sonra mikroskopta immersion objektifi ile boas-oppler basili, stafilokok, sarcinea ve diğer mikroorganizmalar araştırılır.
- **Mikroskopik incelemede:** Daha önce alınmış gıdalar, pus, boas-oppler basili, sarsin, yağ damlacıkları, artmış mukus, protozoa, ve diğer parazitler ile doku parçaları anormal bulgulardır. Bunlar;
 - **Boas-oppler basili:** Çok az veya hiç HCL bulunmayan mide suyunda bulunur. Büyük, hareketsiz basiller olup zincirler halinde ve bol miktarda bulunur. Boas-oppler laktik asit bakterileridir.

- **Sarsinler:** Kok yapısında organizmalar olup üç boyutlu bölünürler. Böylece pamuk balyalarına benzer paketler yaparlar. Staz yapıcı hallerde ve gastrik ülser gibi yüksek asidite durumlarında midede bulunurlar.
- **Maya bakterileri:** Staz yapıcı hallerde ve gastrik ülser gibi yüksek asidite durumlarında midede bulunurlar.

1.4. Duodenum Suyunun Oluşumu

Duodenal öz su, safra ve pankreas öz suyunun yaklaşık eşit miktarda karışımıdır. Az miktarda duodenal salgı da karışımında bulunur.

Duodenum sıvısı analizi için hastanın, 12 saat aç kalarak gelmesi gerekir. Hastaya nazogastrik sonda uygulanır. Sonda, 50 cm ilerletildiğinde, mideden açlık mide suyu alınır. Daha sonra sonda, 75 cm'ye kadar yutturularak duodenuma girilir. Kendiliğinden akan, renksiz veya sarı, yapışkan ve alkalik bir sıvı duodenum suyu olduğunu gösterir. Alınan bu sıvı, laboratuvarında; fiziksel, kimyasal ve mikroskopik olarak analiz edilir.

➤ Duodenum Sıvısının Fiziksel Analizinde Bakılan Parametreler

- **Miktar:** 24 saatte 650-2000 ml kadardır.
- **Görünüm:** Normalde berraktır. Mide öz suyu duodenal öz suyuna karışmışsa sıvının görünümü süt gibi bulanık olur.
- **Vizkosite:** Su kıvamındadır.
- **Dansite:** 1007 - 1042
- **Reaksiyon:** 7 - 8,7 arasında değişir.

➤ Duodenum Sıvısının Kimyasal Analizinde Bakılan Parametreler

Duodenum sıvısının kimyasal analizde pankreatik enzimlerden tripsin, amilaz ve lipaz enzimlerine kalitatif olarak bakılabilir. Ancak günümüzde adı geçen enzimlerin kanda kantitatif olarak bakılması daha çok tercih edilmektedir.

➤ Duodenum Sıvısının Mikroskopik Analizi

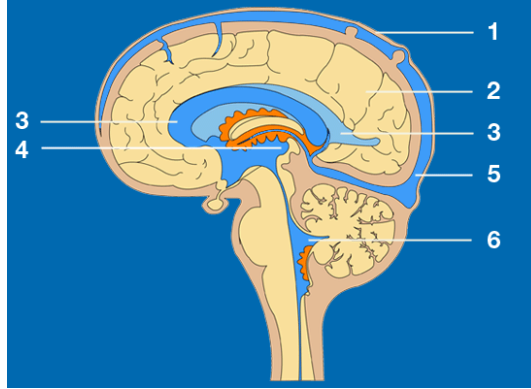
Duodenum öz suyunda ekseriya tripsin ve lipaz bulunduğundan kısa bir süre sonra organik elementler sindirilir. Dolayısıyla sıvı 30 dakika içinde incelenmelidir.

- Numune karıştırıldıktan sonra 15 dakika santrifüj edilir.
- Tüpün üst kısmındaki sıvı (süpernatant) dökülür.
- Sediment, temiz bir lam üzerine yayılır.
- Üzerine lamel kapatılır ve mikroskopta incelenir.
- İncelemede; epitel hücreleri, lökosit, artmış kolesterol kristalleri, nişasta granülleri, yağ asitleri, bakteriler, mukus flokülüleri (kar taneciklerini andıran beyaz parça) görülebilir. Görülen her çeşit oluşum, kaydedilir.

Normal duodenum öz suyu hücreden fakirdir. Yassı epitel ağız boşluğu veya yemek borusu kaynaklıdır, önemi yoktur. Az sayıda duodenum epitelleri de bulunabilir. Duodenal iltihap ve ülserde büyük yuvarlak veya kübik duodenal hücre toplulukları görülür. Normal duodenum öz suyunda lökositlere az sayıda rastlanır. Duodenum ve pankreas yollarının iltihabında çok fazla lökosit görülür. Safra ile boyanmış hücreler ve artmış kristal sayısı, staz olduğunu gösterir. Yağ asitlerinin görülmesi de midede hafif bir stazın varlığını gösterir.

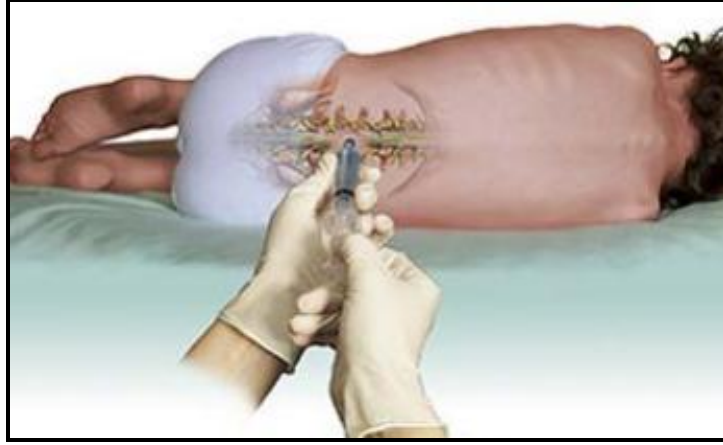
1.5. BOS'un Yapısı ve Klinik Önemi

Beyin omurilik sıvısı; subaraknoid aralığı ve beyin ventriküllerini dolduran berrak, renksiz, su gibi bir sıvıdır. Beyin ventriküllerinin koroid pleksusundaki hücrelerin süzücü ve sekretuar aktiviteleri neticesi oluşur. Az miktarda beyin damarı çevresinde de oluşabilir. BOS, plazmanın bir süzütüsüdür. Yapısında fibrinojen ve safra renkli maddeler bulunmaz, kolesterol ise çok az miktarda bulunur. BOS, beyin ventriküllerinden subaraknoid aralığa doğru dolaşım yapar. Normalde 120-180 ml kadardır. Bunun, 4/5'i beyin üzerinde 1/5'i omurilik etrafında bulunur. Normal hallerde basıncı, 100-200 mm su basıncına eşittir.



Resim 1.1: 1. Kafatası, 2. Beyin, 3. Lateral ventriküller, 4. Üçüncü ventrikül, 5. BOS, 6. Dördüncü ventrikül

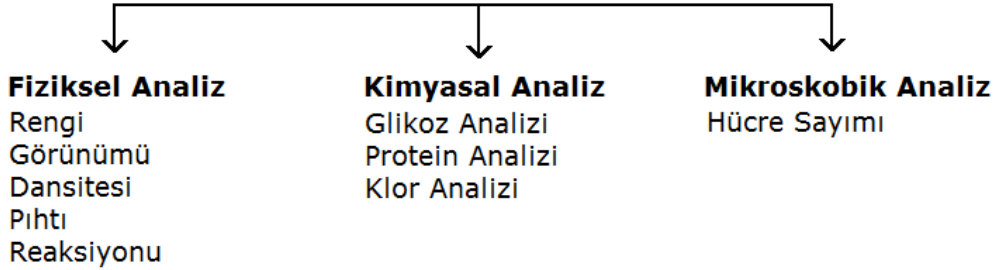
BOS'un hastadan alınmasına, lumbal ponksiyon denir. Lumbal ponksiyon işlemi özel enjektörler kullanılarak uzman hekim tarafından gerçekleştirilir. Hasta, sol tarafına yatırılır, dizler karın bölgesine doğru çekilir. 2'ci Ve 3'cü lumbal vertebra veya 4-5. lumbal vertebralar arasından ponksiyon yapılır. Alınan BOS üç ayrı tüpe bölünür. Birinci tüp biyokimyasal ve serolojik testler; ikinci tüp (steril olmalı) mikrobiyolojik testler; üçüncü tüp mikroskopik ve sitolojik muayene için kullanılır. Numune, tüplere belirtilen sıraya göre dağıtılır. Gerekli hallerde ameliyat sırasında da alınabilir. Erişkin bir kişiden 20 ml'ye kadar numune almak zarar vermez.



Resim 1.2: Lumbal ponksiyon uygulaması

Beyin omurilik sıvısı, biyokimya laboratuvarında fiziksel, kimyasal ve mikroskobik olmak üzere 3 şekilde analiz edilir.

BEYİN OMURİLİK SIVISI ANALİZ ŞEKİLLERİ



Şema 1.1: Beyin omurilik sıvısı analiz şekilleri

1.5.1. BOS'un Fiziksel (Makroskobik) Analizi

Beyin omurilik sıvısının fiziksel analizinde renk, görünüm, dansite, pıhtı ve reaksiyona bakılır.

- **Renk:** Normalde BOS, berrak ve renksizdir.
 - Pürülan (cerahatli) menenjitte gri renkte,
 - Pnömonokoksik, streptokoksik ve meningokoksik menenjitlerde sarı yeşil renkte olur.
 - Ksantokromiada (pigment artışı) yani bilirübin, hemogloblin türevleri veya beyin dokusu hasarından kaynaklanan lipit benzeri maddelerden dolayı sarı renkte görülür.
 - Ponksiyon sırasında bölgedeki venlerin yırtılması veya bölgesel kanamalarda kan bulunur ve renk, kırmızı olur.

- **Görünüm:** Normal BOS gözyaşı gibi berraktır. Bazı hallerde kanlı bir görünüm olur. Bu durumda BOS santrifüj edildiğinde üstte renksiz sıvı kalıyorsa kanın ponksiyon esnasında BOS'a karışmış olduğunu gösterir. Eğer üstteki sıvı esmer ise hastalık nedeniyle önceden bir kanama olduğunu gösterir. Menenjitlerde BOS içinde hücre sayısı arttığından BOS, sıvısı bulanık görülür.
- **Dansite:** Normalde BOS şeffaf, renksiz ve kristalsiz bir sıvı olduğu için dansitesi 1.006-1.008 arasındadır. Merkezi sinir sistemini tutan sifiliz ve menenjitlerde dansite yükselir. Strip kullanılarak dansite ölçümü yapılabilir.
- **Pıhtı:** BOS içerisinde normalde fibrinojen bulunmadığından pıhtılaşmaz, fakat kan karışması durumunda fibrinojende karışmış olacağından pıhtılaşabilir. Ayrıca tüberküloz menenjitte BOS, 24 saat bir deney tüpü içinde bekletilirse örümcek ağı gibi pıhtı oluşur.
- **Reaksiyon:** Normal hallerde BOS basıncı 100-200 mm su basıncına eşittir. BOS reaksiyonuna pH kâğıdıyla bakılır. BOS reaksiyonu genellikle alkalidir. pH 7,35- 7,70' dir. Tüberküloz menenjitte pH normal, pürülan menenjitlerde reaksiyon alkalidir. BOS içinde laktik asit ya da organik asitlerin bulunmasında reaksiyon asit olur. BOS içindeki glikozu parçalaması sonucu oluşacak karbondioksit reaksiyonu, asit yapar.

1.5.2. BOS'un Kimyasal Analizi

Beyin omurilik sıvısının kimyasal analizinde glikoz, protein ve klor analizi yapılır.

1.5.3. BOS'da Glikozun Klinik Önemi

Beyin omurilik sıvısındaki glikoz bekletilmeden çalışılmalıdır. Aksi halde, bakteriyel menenjitlerde BOS'ta bulunan bakteriler glikozu kullanarak gerçek değerden daha düşük sonuçlar çıkmasına sebep olur.

1.5.4. BOS'da Glikozun Kalitatif Analizi

Beyin omurilik sıvısındaki glikozun kalitatif ve yarı kantitatif analizi, idrar stripleri kullanılarak yapılabilir.

1.5.5. BOS'da Glikozun Kantitatif Analizi

Beyin omurilik sıvısının kantitatif analizi, kandaki glikoz analiz metotları kullanılarak yapılır.

BOS'da glikozun normal değeri % 50 –75 mg'dır. Genellikle kan glikoz seviyesi ile paralellik gösterir. Diabetli kişilerde, BOS'ta glikoz miktarı yüksek çıkar. Septik (bakteriyel) menenjitlerde, tüberküloz menenjitte ve hipoglisemide glikoz miktarı azalır. Aseptik menenjitte glikoz miktarı normal kalır.

1.5.6. BOS'da Proteinin Klinik Önemi

Beyin omurilik sıvısında protein (mikro protein) miktarı miligram seviyesinde olduğundan analizde hassas metotlar kullanılmalıdır. BOS proteini analizinde, fazla miktarda numune gerektirmeyen metotlar tercih edilmelidir. Çünkü BOS'un elde edilmesi zor olduğu gibi miktar olarak da fazla değildir. Özellikle aynı hastaya ait numune, birkaç laboratuvarında kullanılacaksa bu durum daha da önem kazanır. BOS'ta kan varsa protein tayini kesinlikle yapılmamalıdır. Çünkü kanda protein miktarı BOS'dakinden çok fazla olduğu için (yaklaşık 1000 katı) çok az bir kan karışımı bile büyük hatalara sebep olur. Santrifüj yolu ile kan hücrelerinin uzaklaştırılması da bu hatayı düzeltmez.

BOS'da protein normal değeri % 15–40 mg'dır. Bu proteinlerden albumin, globuline göre daha fazladır. Akut iltihabi hastalıklarda albumin, kronik iltihabi hastalıklarda globulin artış gösterir. Kanamalarda, hemoglobin ve plazma proteinlerine bağlı olarak BOS proteini çok yükselir. Tüberküloz menenjit, sifilitik menenjitte, ensefalite, polinöritte (periferik sinir iltihabı) BOS proteininde orta derecede bir artış görülür.

1.5.7. BOS'da Proteinin Kalitatif Analizi

BOS'da kalitatif protein analizi için Nonne-apelt metodu, Pandy reaksiyonu ve Rivalta metodları kullanılır.

➤ Nonne-Apelt Metodu

- **Prencip:** BOS'da bulunan proteinlerden globulin, yarı doymuş amonyum sülfat reaktifi ile çöktürülür. Oluşan bulanıklık derecesine göre değerlendirilir.
- **Reaktifler**
 - **Yarı doymuş amonyum sülfat reaktifi:** 85 gr amonyum sülfat, 100 ml sıcak distile suda eritilir. Bir gece kendi halinde bırakılır, süzülür, renkli şişede saklanır.
- **Teknik:** Bir deney tüpüne 1 ml BOS, 1 ml amonyum sülfat reaktifi konur, karıştırılır, 3 dakika sonra bulanıklık değerlendirilir.

Bulanıklık yoksa : (-) negatif
Hafif bulanıklık varsa : (+) müspet
Orta derecede bulanıklık varsa : (++) müspet
Şiddetli bulanıklık varsa : (+++) müspet olarak değerlendirilir.

➤ Pandy Reaksiyonu

- **Prencip:** BOS'da bulunan proteinlerden globulinler, pandy reaktifi ile bulanıklık meydana getirir. Meydana gelen bulanıklık derecesi değerlendirilir.

- **Reaktifler**
 - **Pandy Reaktifi:** 10 gr fenol 100 ml distile suda karıştırılarak eritilir. 37 °C’de etüvde 1-2 saat bekletilir, süzülür ve kullanılır.
- **Teknik:** Siyah bir zemin üzerine saat camı yerleştirilir. İçine 2 ml pandy reaktifi konur. Saat camının kenarından 1-2 damla BOS damlatılır. Saat camı üzerinde oluşan bulanıklık gözlenir.

Bulanıklık yoksa : (-) negatif
 Hafif bulanıklık varsa : (+) müspet
 Orta derecede bulanıklık varsa : (++) müspet
 Şiddetli bulanıklık varsa : (+++) müspet olarak değerlendirilir.

➤ **Rivalta Metodu**

- **Prensip:** BOS’da bulunan proteinler, glacial asetik asit ile reaksiyona girerek bulanıklık meydana getirir. Oluşan bulanıklık değerlendirilir.
- **Reaktifler:** Glacial asetik asit
- **Teknik:** Bir deney tüpünün 1/3’ne kadar distile su konur, 1 damla glacial asetik asit damlatılır ve karıştırılır. BOS’dan tüp içerisine 1-2 damla bırakılır. Sigara dumanı şeklinde bulanıklık görülmesi proteinin müspetliğini gösterir.

1.5.8. BOS’da Proteinin Kantitatif Analizi

BOS’da kantitatif protein miktarı, kan proteinlerinde olduğu gibi otoanalizörde de ölçülür. Ayrıca, ticari kitlerle fotometrik metotlarla ve nefelometre cihazı ile de miktarı ölçülebilir.

➤ **Modifiye Harding ve Haris Metodu**

- **Prensip:** BOS içindeki proteinler, triklorasetikasit ile reaksiyona girerek bir bulanıklık oluşturur. Oluşan bulanıklığın şiddeti fotometrede ölçülerek miktar bulunur.
- **Reaktifler**
 - % 3 T.C.A reaktifi,
 - Protein standart reaktifi (% 100 mg),
- **Teknik**
 - 3 adet deney tüpü alınır. Numune (N), standart (St), kör (K) olarak yazılır.
 - N tüpüne, 0,6 ml beyin omurilik sıvısı pipetlenir.
 - St tüpüne, 0,6 ml protein standart reaktifi pipetlenir.
 - K tüpüne, 0,6 ml distile su pipetlenir.
 - N, St, K tüplerine, 2,4’er ml T.C.A reaktifi pipetlenir.

- Tüpler oda ısısında 10 dakika bekletilir.
- Fotometrede 450 nm dalga boyunda köre karşı numune ve standardın absorbanları okunur.
Numunenin absorbanı
- Hesabı : ----- X 100 = %.....mg protein
Standardın absorbanı

➤ **Kingsbury, Clark, Williams ve Post Metodu**

- **Prensip:** BOS içindeki proteinin sülfosalisilik asitle reaksiyona girerek oluşturduğu bulanıklığın şiddetinin ölçülmesi esasına dayanır.
- **Reaktifler**
 - % 3 sülfosalisilik asit reaktifi
 - Protein standart reaktifi (% 200 mg)
- **Teknik**
 - 3 adet deney tüpü alınır. Numune (N), standart (St), kör (K) olarak yazılır.
 - N tüpüne 1 ml beyin omurilik sıvısı pipetlenir.
 - St tüpüne 1 ml protein standart reaktifi pipetlenir.
 - K tüpüne 1 ml distile su pipetlenir.
 - N, St, K tüplerine 3'er ml % 3 sülfosalisilik asit reaktifi pipetlenir.
 - Tüpler 5 dakika bekletilir.
 - Fotometrede 650 nm dalga boyunda köre karşı numune ve standardın absorbanları okunur.
Numunenin absorbanı
 - Hesabı : ----- X 200 = %.....mg protein
Standardın absorbanı

➤ **Otoanalizörde Mikroprotein Analizi (Bikromatik-End point metot)**

- **Prensip:** Pyrogallol ile sodyum molibdat reaksiyona girerek kırmızı bir kompleks meydana getirir. Bu kompleksin maksimum absorbanı cihaz tarafından 470 nm dalga boyunda okunur. Oluşan kırmızı renkli kompleks asit ortamda proteinle birleşerek mavi menekşe renkli protein kompleksi meydana getirir.

Pyrogallol red + Molibdat → Kırmızı bir kompleks
Kırmızı bir kompleks + Protein → PR-MO-protein kompleksi

- **Reaktifler**
 - Pyrogallol
 - Sodyum molibdat
- **Teknik:** Çalışma tekniği değişik firmaların otoanalizörlerinde farklılık gösterir. PR-MO-protein kompleksini cihaz, 600-700 nm dalga boyunda bikromatik (iki dalga boyunda) end point ölçüm yaparak % mg/dl olarak sonuç verir.

➤ **BOS'da Klor Analizi**

Biyokimya laboratuvarında, elektrolit analizörü, flame fotometre ve otoanalizörlerin ISE ünitesi kullanılarak beyin omurilik sıvısında klorun kantitatif analizi yapılır.

Beyin omurilik sıvısında klor normal değeri;

Çocuk: 110-130 mEq/L

Erişkin: 118-132 mEq/L

Beyin omurilik sıvısında klor, normalde plazmadaki miktarından yüksektir. BOS'ta klor azalması, piyojenik menenjitte görülür. Tüberküloz menenjitte de BOS'ta klor miktarı düşük olmakla birlikte, özellikle çocuklarda erken evrede miktarı değişmez.

1.5.9. BOS'un Mikroskopik İncelemesini Yapma

Beyin omurilik sıvısında hücre (lökosit) sayımı genellikle özel sayım kamaraları kullanılarak yapılır. Lökosit sayımı için fuchs-rosenthal ve thoma sayım kamarası kullanılır. BOS'da hücre sayımı bekletilmeden yapılmalıdır.

1.5.10. BOS'da Görülen Hücrelerin Klinik Önemi

BOS koruyucu göreve sahiptir ve sinir hücrelerinin metabolizma artıklarını taşır. BOS, serebrovasküler olaylar (beyin damar tıkanıklığı, beyin kanaması), menenjit, demyelinize edici hastalıklar (sinirlerin myelin kılıfının kaybı) veya kansere bağlı meninks (beyin zarı) tutulmasında teşhis amacıyla analiz edilir.

1.5.11. BOS'da Hücre Sayım Tekniği

➤ **Fuchs-Rosenthal Sayım Kamarası İle Hücre Sayımı**

Fuchs-rosenthal sayım kamarasında;

Lamın derinliği : 0,2 mm

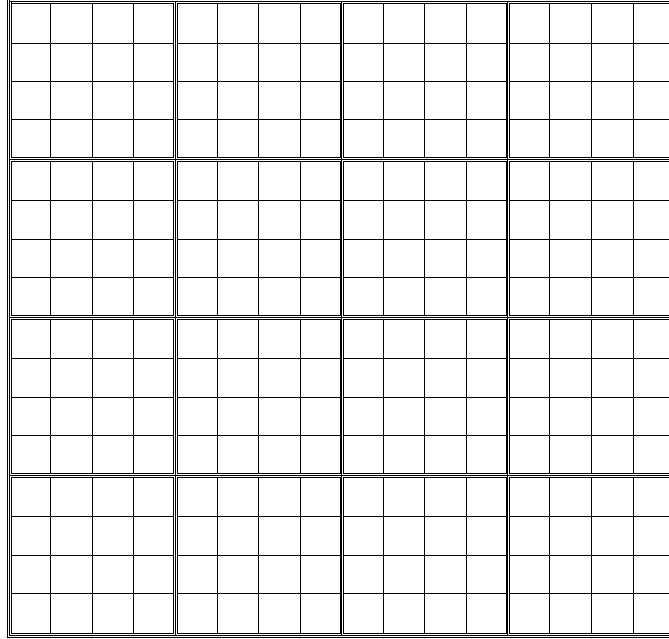
1 büyük karenin alanı : 1 mm²

5 büyük karede hücre sayımı yapılacağından alan: 1 x 5 = 5 mm²

5 karenin hacmi : 5 mm² x 0,2 mm = 1 mm³ olur.

- Fuchs-rosenthal sayım kamarasının üzerine 1 damla BOS direkt olarak konur.
- Üzerine lamel kapatılır.
- Mikroskopta 5 büyük karede (1 mm³) lökositler sayılır.
- Çıkan sayı, 1 mm³ BOS'daki lökosit sayısını verir.

Örnek: 5 büyük karede 23 hücre sayılmış ise sonuç $23/\text{mm}^3$ olur.



Şekil 1.1: Fuchs-rosenthal sayım kamarası

➤ **Thoma Sayım Kamarası İle Hücre Sayımı**

Thoma lamınının;

Alanı : 1 mm^2

Derinliği : $0,1 \text{ mm}$

Hacmi : $1 \times 0,1 = 0,1 \text{ mm}^3$

1mm^3 deki lökosit sayısı: $0,1 \times 10 = 1 \text{ mm}^3$

- Thoma sayım kamarası üzerine lamel kapatılır.
- Lam–lamel arasına 1 damla BOS direkt olarak konur, 5 dakika beklenir.
- Mikroskopta, 40’lık objektifle sayım kamarasının bütün kareli alanına (16 büyük kare) düşen lökositler sayılır.
- Sayıma sol üst kareden başlanır. Şekil: 1. 2’ de görüldüğü gibi sol alt karede sayım tamamlanır.
- 1 mm^3 teki lökosit sayısını bulmak için sayılan lökosit sayısı 10 ile çarpılır.

Örnek: Bütün kareli alanda sayılan lökosit sayısı 17 ise

$17 \times 10 = 170/\text{mm}^3$ lökosit bulunur.

BOS’ta normal lökosit sayısı: $0\text{--}5 \text{ mm}^3$ tür.

UYGULAMA FAALİYETİ

Beyin omurilik sıvısı analizlerini yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
A-Kalitatif protein analizi, Nonne-Apelt metodu	
<ul style="list-style-type: none">➤ Bir deney tüpüne 1 ml BOS koyunuz.➤ Üzerine 1 ml amonyum sülfat reaktifi koyup karıştırınız.➤ 3 dakika sonra tüpdeki bulanıklığı değerlendiriniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Süreye dikkat ediniz,➤ Değerlendirmeyi, bulanıklığa göre doğru ve dikkatlice yapınız.
B-Kalitatif protein analizi, Pandey reaksiyonu	
<ul style="list-style-type: none">➤ Siyah bir zemin üzerine saat camı yerleştiriniz.➤ Saat camına 2 ml pandey reaktifi koyunuz.➤ Saat camının kenarından 1-2 damla BOS damlatınız.➤ Saat camı üzerinde oluşan bulanıklığı gözleyiniz..	<ul style="list-style-type: none">➤ Saat camı üzerinde oluşan bulanıklığı dikkatlice gözleyiniz.
C-Kalitatif protein analizi, Rivalta metodu	
<ul style="list-style-type: none">➤ Bir deney tüpünün 1/3'ü ne kadar distile su koyunuz.➤ Üzerine 1 damla glacial asetik asit damlatıp karıştırınız.➤ BOS'tan tüp içerisine 1-2 damla damlatınız.➤ Tüp içerisinde oluşan bulanıklığı gözleyiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Distile suyu gerektiği kadar pisetle koyunuz➤ Değerlendirmeyi dikkatlice yapınız.
D-Kantitatif protein analizi, Modifiye Harding ve Haris metodu	
<ul style="list-style-type: none">➤ 3 adet deney tüpü alınız.➤ Numune (N), standart (St), kör (K) olarak yazınız.➤ Numune tüpüne 0,6 ml beyin omurilik sıvısı pipetleyiniz.➤ Standart tüpüne 0,6 ml protein standart reaktifi pipetleyiniz.➤ Kör tüpüne 0,6 ml distile su pipetleyiniz.➤ N, St, K tüplerine 2,4'er ml T.C.A reaktifi pipetleyiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Tüplerin kuru ve temiz olmasına dikkat ediniz.➤ Süreye dikkat ediniz,

➤ Tüpleri, oda ısısında, 10 dakika bekletiniz.	
➤ Fotometrede, 450 nm dalga boyunda köre karşı numune ve standardın absorbanlarını okuyunuz.	
E- Kantitatif protein analizi, Kingsbury, Clark, Williams ve post metodu	
➤ 3 adet deney tüpünü spora sıralayınız.	
➤ Numune (N), standart (St), kör (K) olarak yazınız.	
➤ Numune tüpüne 1 ml beyin omurilik sıvısı pipetleyiniz.	
➤ Standart tüpüne 1 ml protein standart reaktifi pipetleyiniz.	➤ Tüplerin kuru ve temiz olmasına dikkat ediniz.
➤ Kör tüpüne 1 ml distile su pipetleyiniz.	➤ Süreye dikkat ediniz,
➤ N, St, K tüplerine 3'er ml % 3 sulfosalisilik asit reaktifi pipetleyiniz.	➤ Spektronun dalga boyunu dikkatlice ayarlayınız
➤ Tüpleri 5 dakika bekletiniz.	
➤ Fotometrede 650 nm dalga boyunda köre karşı numune ve standardın absorbanlarını okuyunuz.	
F- Fuchs-rosenthal lamı ile hücre sayımı	
➤ Fuchs-rosenthal sayım kamarasının üzerine 1 damla BOS' koyunuz.	
➤ Üzerine lamel kapatınız.	➤ BOS' sıvısını sayım kamarasına dikkatlice koyunuz.
➤ Mikroskopta 5 büyük karedeki (1mm ³) lökositleri sayınız.	
G- Thoma lamı ile hücre sayımı	
➤ Thoma sayım kamarası üzerine lamel kapatınız.	➤ Süreye dikkat ediniz,
➤ Lam-lamel arasına 1 damla BOS'u direkt olarak koyunuz.	➤ Sayım kamarasının bütün kareli alanına düşen lökositleri doğru ve dikkatlice sayınız,
➤ 5 dakika bekleyiniz.	➤ Hesaplamayı doğru yapınız.
➤ Sayım kamarasının bütün kareli alanına düşen lökositleri sayınız.	

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdaki durumların hangisinde BOS analizi yapılır?
A) Beyin damar tıkanıklığında
B) Beyin kanamasında
C) Menenjitte
D) Kansere bağlı meninksde
E) Hepsi
2. Beyin omurilik sıvısının fiziksel analizinde aşağıdaki parametrelerden hangisine bakılmaz?
A) Glikoz
B) Dansite
C) Pıhtı
D) Reaksiyon
E) Görünümü
3. Beyin omurilik sıvısının dansitesi, aşağıdakilerden hangisidir?
A) 1.001-1.005
B) 1.006-1.008
C) 1.010-1.015
D) 1.015-1.020
E) 1.020-1.025
4. Aşağıdaki metotlardan hangisi ile beyin omurilik sıvısında **kalitatif** protein analizi yapılır?
A) Nonne-Apelt metodu
B) Modifiye harding ve haris metodu
C) Kingsbury, clark, Williams ve post metodu
D) Berthelot metodu
E) Jaffe metodu
5. Aşağıdakilerden hangisi, beyin omurilik sıvısının normal değeridir?
A) 10-20 ml
B) 30-50 ml
C) 120-180 ml
D) 60-80 ml
E) 80-100 ml

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Ejekülat sıvısının biyokimyasal analizlerini yapabileceksiniz.

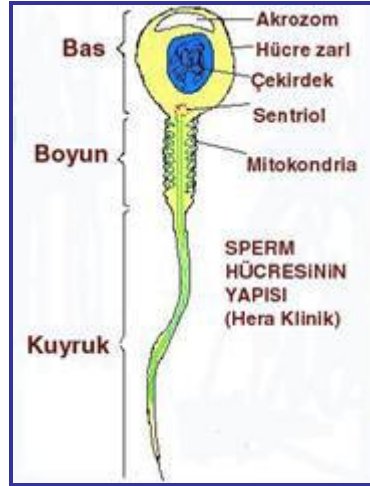
ARAŞTIRMA

- Sterility'nin önemini arkadaşlarınızla tartışınız.
- Sperm sayımı hakkında araştırma yapınız.

2. EJEKÜLAT SIVISI ANALİZİ

Erkeklerde, testislerin kontrolü ve kısırılık (sterility) olup olmadığını anlamak için sperm sıvısı (semen) analizi yapılır. Uzunluğu 0.05 mm olan sperm hücresi üç kısımdan meydana gelir. Baş, boyun (orta kısım) ve kuyruk. Baş kısmının iki önemli özelliği vardır; birincisi, spermin yumurta hücresi içerisine girmesini sağlayan eritici enzimlerin bulunduğu uç kısmındaki akrozom organelidir. Akrozomun içinde yer alan litik (eritici) enzimler yumurtanın dış zarını delerek döllenmeyi sağlarlar.

Baş kısmının ikinci özelliği ise çekirdek içinde yer alan X veya Y kromozomuna ait genetik materyalin saklanmasıdır. Yumurtanın, X kromozoma sahip spermle birleşmesi kız cinsiyeti, Y kromozoma sahip spermle birleşmesi erkek cinsiyeti oluşturur. Spermin boyun kısmında bulunan mitokondriolar sayesinde hareketlilik için gerekli enerji (ATP) temin edilir. Kuyruk kısmında bulunan mikrotübüller sayesinde de sperm hareketliliğini (motiliteyi) sağlar.



Şekil 2.1: Sperm hücresinin mikroskopik görünümü

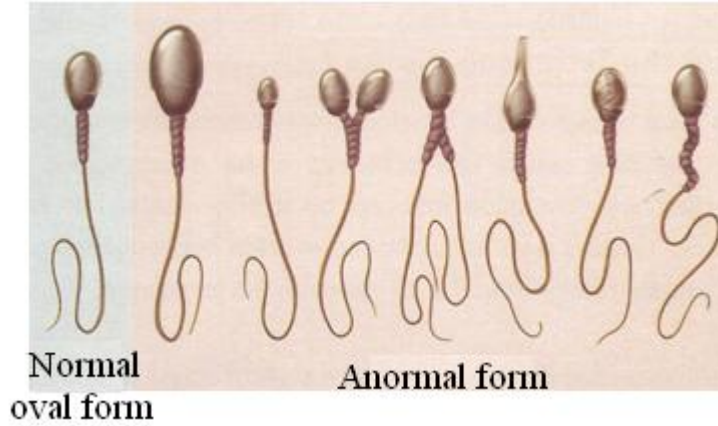
2.1. Ejekülat Sıvısının Fiziksel Analizi

Sperm sıvısının fiziksel analizinde bakılan parametreler; miktar, renk, kıvam, koku ve reaksiyonudur.

- **Miktarı:** Analiz için gelen ejakülat sıvısının miktarı ölçülür. Normal miktarı 2-6 ml arasındadır.
- **Kıvamı:** İlk alındığında yapışkandır. Bekletildiğinde jelatinimsi kıvamda, daha sonra akıcı olur.
- **Kokusu:** Normal kişilerde kendine özeldir.
- **Reaksiyonu:** Normal pH 7,2- 8,7 arasında değişir.

2.2. Spermatozoon Sayımı

Genel olarak semen örneği, geniş ağızlı ve temiz bir kap içerisinde toplanması gerekir. Yaklaşık 30 dakikada laboratuvara ulaştırılmalıdır. Örnek alımı sırasında kayganlaştırıcı madde veya sabun vb. kullanılan prezervatiflerde sperm öldürücü madde olmaması gerekir. Sperm analizi için örnek vermeden önce 2-4 gün boyunca ilişkiye girmemiş veya boşalmamış olmak gereklidir.



Resim 2.1: Sperm morfolojisi

2.2.1. Thoma Sayım Kamarası ile Spermatozoon Sayımı

Sayım için lökosit sayım pipeti ve thoma sayım kamarası kullanılır. Spermatozoon yoğunluğu denilince, 1 ml ejakülatındaki spermatozoon sayısı anlaşılır.

- **Reaktif**

Sodyum bikarbonat (NaHCO₃) reaktifi: 5 gr sodyum bikarbonat tartılır. 100 ml'lik balon joje içine konur. Üzerine 1 ml fenol ilave edilir. 100 ml'ye tamamlanır.

➤ **Teknik**

- İncelenmek için alınan ejakülat baget ile yavaş yavaş karıştırılarak homojen hale getirilir.
- Lökosit pipetinin 0,5 işaretine kadar karıştırılıp homojen hale getirilmiş sperm sıvısından alınır.
- 11 işaretine kadar sayım solüsyonu çekilir.
- 3 dakika yavaş yavaş karıştırılır.
- 3-4 damla dışarıya atılır, 1 damla thoma lamına konur.
- Mikroskopta lökosit sayım tekniğinde olduğu gibi spermatozoon sayılır.
- Bulunan sayı 200.000 ile çarpılarak 1 ml'deki spermatozoon sayısı bulunur.

$$\text{Spermatozoon yoğunluğu (sayı/ml)} = \frac{\text{1 mm}^2 \text{ de sayılan spermatozoon sayısı}}{\text{Sulandırma oranı (20)}} \times \text{Thoma lamının derinliği (10)} \times 1000 \text{ mm}^3$$

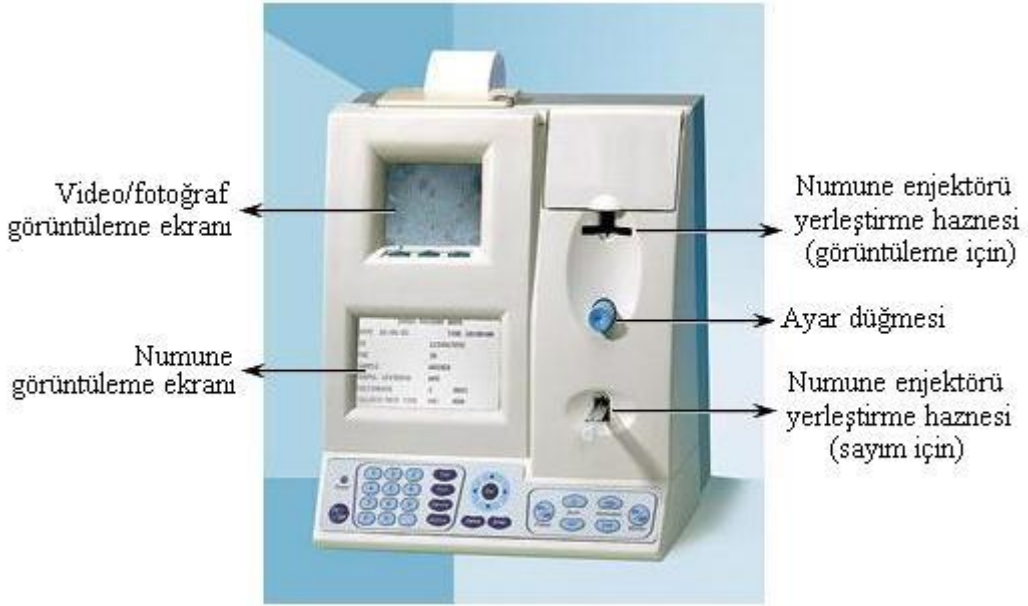
Örnek: Sayılan spermatozoon 213 ise $213 \times 20 \times 10 \times 1000 = 42.600.000/\text{ml}$ spermatozoon bulunur.

40.000.000–60.000.000/ml spermatozoon normaldir.

2.2.2. Otomatik Sperm Analiz Cihazı ile Spermatozoon Sayımı

Bu cihaz ile toplam sperm konsantrasyonu, % motilite (hareketlilik), progressive motilite (ileri hızlı hareketlilik), immotilite (hareketsizlik), normal morfoloji, motil sperm konsantrasyonu, fonksiyonel sperm konsantrasyonu, ortalama hız ve sperm motilite indeksi analiz edilir.

Numune dilisyonu gerektirmeden taze, dondurulmuş ve yıkanmış semen numunesi ile çalışır. Otomatik kalibrasyonlu olup tek kullanımlık kapiller enjektörle test işlemini gerçekleştirir. Bilgisayar programıyla verilerin bilgisayara aktarımı ve hareketliliğin video kaydını saklayabilme özelliğine sahiptir. 75 saniyede güvenilir sonuç verir.



Resim 2.2: Otomatik sperm analiz cihazı

- Cihaz açılır.
- Cihazın oto kalibrasyon yapması beklenir.
- Otomatik sperm analiz cihazı ile sperm sayımı için usulüne uygun numune alınır.



Resim 2.3: Numune toplama kabı

- Örneğin likefiye (erimiş) olup olmadığı kontrol edilir.
- Numune likefiye olmamış ise 30 dakika beklenir.
- 30 dakika sonunda da likefiye olmamış ise eritme kiti ile veya etüvde 10-15 dakika bekletilerek likefiye olması sağlanır.
- Hastaya ait bilgiler girilir.
 - Patient ID: Hasta barkod numarası
 - Birth data: Hasta doğum tarihi
 - Abstinence days: Cinsel perhiz süresi
 - Sample/Accession: Örnek numarası
 - Collected: Örneğin verildiği tarih ve saat
 - Received: Örneğin laboratuvara ulaştığı tarih ve saat

- Pastör pipeti ile numunenin miktarı ölçülür.
- Numunenin pH'ı ölçülür.
- Miktarı ve pH değerleri cihaza girilir.
- Tüm bilgileri girdikten sonra boş bir enjektör alınır.



Resim 2.4: Sperm sayımında kullanılan enjektör

- Numune çalkalanmadan, iyice karıştırılarak homojen hale getirilir.
- Numune, test enjektörüne enjektör üzerinde bulunan konsantrasyon ve motilite haznesi tam dolu olacak ve hiç hava kabarcığı olmayacak bir şekilde çekilir.



Resim 2.5: Numunenin pipete çekilişi

- Numune görüntüleme ekranına yerleştirilir.



Resim 2.6: Pipet numune görüntüleme ekranında

- Numune görüntüleme ekranında çok fazla sayıda sperm hücresi gözlemlenirse cihazda normal çalışma modu olan FRESH test çalışma yöntemi seçilir.



Resim 2.7: Numune görüntüleme ekranında sperm hücreleri

- Numune görüntüleme ekranında hareketli ya da hareketsiz hiç sperm hücresi görülmezse ya da 2 milyondan az sperm hücresi gözlemlenirse cihazda **POSTVASECTOMY** test çalışma yöntemi seçilir.



Resim 2.8: Numune görüntüleme ekranında sperm hücreleri

- Cihazın, çalışılan test sonucunu bilgisayar programına aktarması sağlanır.
- Enjektör, okuma yuvasından çıkarılır ve cihaz üzerinde bulunan video görüntüleme yuvasına takılır. Numunenin video kaydı alınır ve fotoğrafı çekilir.



Resim 2.9: Enjektör video görüntüleme yuvasında

-
- Bütün işlemler bittikten sonra yazıcıdan rapor çıkartılır.
 - İşi biten enjektör, tıbbi atık kutusuna atılır.
 - Cihazın günlük bakımı yapılır.

NOT; Otomatik sperm analiz cihazı ile spermatozoon sayımı için değişik firmalara ait farklı özellikleri olan cihazlar mevcuttur. Cihazların kullanım talimatları iyi okunmalı, zira çalışma esnasında cihaz, teknisyeni ne yapması gerektiği konusunda yönlendirmektedir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Spermatozoon sayımı yapınız.

İşlem Basamakları	Öneriler
Otomatik sperm analiz cihazı ile spermatozoon sayımı	
➤ Cihazı açıp, otomatik kalibrasyon yapmasını bekleyiniz.	➤ Cihaz otomatik kalibrasyon yaparken, cihaza müdahale etmeyiniz.
➤ Sperm sayımı için tekniğine uygun sperm alınız.	➤ Numuneyi, ağız geniş temiz bir kaba alınız. ➤ Örneğin likefiye olup olmadığını kontrol ediniz. ➤ Numune likefiye olmamış ise 30 dakika bekleyiniz, ya da eritme kiti ile veya etüvde 10-15 dakika bekletilerek likefiye olmasını sağlayınız.
➤ Spermi Enjektör haznesine kadar çekiniz.	➤ Numuneyi çalkalamadan, iyice karıştırarak homojen hale getiriniz. ➤ Enjektör üzerinde bulunan konsantrasyon ve motilite haznesi tam dolu olacak ve hiç hava kabarcığı olmayacak bir şekilde çekiniz. ➤ Enjektörün ucunu silerek iyice temizleyiniz.
➤ Hastaya ait bilgileri cihaza giriniz. <ul style="list-style-type: none">• Patient ID: Hastanın barkod numarasını yazınız.• Birth data: Hastanın doğum tarihini yazınız.• Abstinence days: Cinsel perhiz süresini yazınız.• Sample/Accession: örnek numarasını yazınız• Collected: Örneğin verildiği tarih ve saati yazınız.• Received: Örneğin laboratuvara ulaştığı tarih ve saati yazınız.	➤ Hastaya ait bilgileri cihaza dikkatli giriniz
➤ Numunenin miktarı ve pH değerlerini cihaza giriniz.	➤ İlgili verileri, cihaza dikkatli giriniz.
➤ Enjektörü, numune görüntüleme ekranına yerleştiriniz.	➤ Numune görüntüleme ekranında çok fazla sayıda sperm hücresi gözlemlenirse cihazda normal çalışma modu olan fresh test çalışma yöntemi seçilir.

	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Numune görüntüleme ekranında hareketli ya da hareketsiz hiç sperm hücresi görülmezse ya da 2 milyondan az sperm hücresi gözlemlenirse cihazda postvasectomy test çalışma yöntemi seçilir. ➤ Çalışılan test sonucunu, bilgisayar programına aktarmayı unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Enjektörü okuma yuvasından çıkarıp cihaz üzerinde bulunan video görüntüleme yuvasına takınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hekim istediği takdirde, numunenin video kaydını alıp ve fotoğrafını çekiniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Enjektörü yuvasından çıkarınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Enjektörü, tıbbi atık kutusuna atınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Printerdan (yazıcıdan) sonuçları alınız. 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Aldığımız sonuçları, ad veya soyad sırasına göre tasnif ediniz. 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sonuçları laboratuvar sorumlu hekimine onaylatınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sonuçlar hakkında hastaya yorum yapmayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cihazın günlük bakımını yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cihazın temizliğini özel solüsyonlarını kullanarak yapınız. ➤ Cihazın günlük temizliğini üretici firmaya ait prosedürüne uygun hareket ediniz.
Thoma sayım kamarası ile spermatozoon sayımı;	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Numuneyi homojen hale getiriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ejekülatı, baget ile yavaş yavaş karıştırmayı unutmayınız. ➤ Homojen hale geldiğinden emin olunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lökosit pipetinin 0,5 işaretine kadar homojenize numuneden çekiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pipetin ucunu silerek iyice temizleyiniz. ➤ Kesinlikle 0,5 çizgisinde olmasına dikkat ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ 11 işaretine kadar sayım solüsyonu çekiniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sayım solüsyonunun kullanılabilir olup olmadığına dikkat ediniz. ➤ 11 işaretine kadar çektiğinizden emin olunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Spermatozoon sıvısını 3 dakika alt üst ederek karıştırınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Yavaş yavaş alt üst ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ 3-4 damla dışarıya atıp 1 damla thoma lamına koyunuz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Thoma sayım kamarasının karelerinin üzerine dikkatlice koyunuz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mikroskopta 10'luk objektifle sahayı bulup 40'luk objektifle spermatozoonların sayımını yapınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lökosit sayım tekniğini hatırlayınız. ➤ Sayım işlemini itinayla yapınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bulunan sayıyı 200.000 ile çarparak sonucu veriniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Testin yapılışında verilen formülü hatırlayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sonucu, mutlaka laboratuvar defterine kayıt ediniz. 	
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Çıkan sonuçları laboratuvar sorumlu hekime onaylatınız. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sonuçlar hakkında hastaya yorum yapmayınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Ejekülat analizinin yapılış amacı, aşağıdakilerden hangisidir?
A) Erkeklerde testislerin kontrolü için
B) Kısırlık olup olmadığını anlamak için
C) Sperm hareketliliğini ölçmek için
D) Sperm sayısını bulmak için
E) Hepsi
2. Aşağıdakilerden hangisi, normal ejekülat miktarıdır?
A) 1-3 ml
B) 4-7 ml
C) 5-8 ml
D) 2-6 ml
E) 6-9 ml
3. Thoma lamı ile sperm sayımında bulunan sperm sayısı, aşağıdakilerden hangisiyle çarpılır?
A) 100.000
B) 200.000
C) 300.000
D) 400.000
E) 500.000
4. Normal sperm sayısı, aşağıdakilerden hangisidir?
A) 40.000.000-60.000.000
B) 60.000.000-80.000.000
C) 80.000.000-100.000.000
D) 90.000.000-110.000.000
E) 100.000.000-120.000.000
5. Otoanalizörle spermatozoon sayımında, hastaya ait hangi bilgiler girilir?
A) Hasta barkod numarası
B) Cinsel perhiz süresi
C) Örnek numarası
D) Örneğin verildiği tarih ve saat
E) Hepsi

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi, normal BOS'un görünümüdür?
A) Sarı
B) Bulanık
C) Puslu
D) Berrak
E) Gri
2. Aşağıdaki hastalıkların hangisinde, BOS bekletilirse glikoz değeri düşük çıkar?
A) Bakteriyel menenjit
B) Ensefalit
C) Alzheimer
D) Multiple skleroz
E) Anemi
3. Aşağıdakilerden hangisi, damar geçirgenliğinin ileri derecede artması, damar içindeki kanın sıvı kısmı ile birlikte kan hücreleri ve kan proteinlerinin damar dışına çıkarak vücut boşluklarına birikmesi ile oluşur?
A) Transuda
B) Eksuda
C) BOS
D) Parasentez
E) Torasentez
4. Transuda ve eksuda sıvıları hangi tüpe alınır?
A) Kuru tüp
B) Steril tüp
C) Antikoagülanlı tüp
D) Santritüj tüpü
E) Deney tüpü

Aşağıda verilen cümlelerdeki boşlukları **doğru** kelimelerle doldurunuz.

5. Genel olarak ejakülat örneği, geniş ağızlı vebir kap içerisinde toplanması gerekir?
6. BOS, tüberküloz menenjitte 24 saat bir deney tüpü içinde bekletilirse.....gibi pıhtı oluşur.
7. BOS'ta kan varsatayini kesinlikle yapılmaz.
8. Pandey reaksiyonu ile BOS'ta protein analizinde siyah bir zemin üzerineyerleştirilir.
9. Eksudalarda yayma preparat yapılarakboyası ile boyanır.
10. BOS'un hastadan alınmasına,.....denir.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ 1'İN CEVAP ANAHTARI

1	E
2	A
3	B
4	A
5	C

ÖĞRENME FAALİYETİ 2'NİN CEVAP ANAHTARI

1	E
2	D
3	B
4	A
5	E

MODÜL DEĞERLENDİRME CEVAP ANAHTARI

1	D
2	A
3	B
4	C
5	STERİL
6	ÖRÜMCEK AĞI
7	PROTEİN
8	SAAT CAMI
9	WRIGHT
10	LUMBAL PONSİYON

KAYNAKÇA

- ADAM Bahattin, **Klinik Biyokimya**, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2000.
- DEMİR Muammer, **Klinik Biyokimya**, MEB, Ankara, 2009.
- ERDEN Mine, **AÖF Hemşirelik Önlisans Eğitimi Biyokimya**, Eskişehir, 1993.
- İMREN A. H., O. Turan, **Klinik Tanıda Laboratuvar**, Beta Basım Yayım, İstanbul, 1985.
- MURRAY K. Robert, Peter A. MAYES, Darly K. GRANNER, Victor W. RODWELL, **Harper'ın Biyokimyası**, Barış Kitabevi, İstanbul, 1993.
- SARDOHAN İsmail, **Biyokimya Ders Notları**, Konya, 2007.
- YENSON Mutahhar, **Klinik Biyokimya Laboratuvar Çalışmaları**, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 1982.