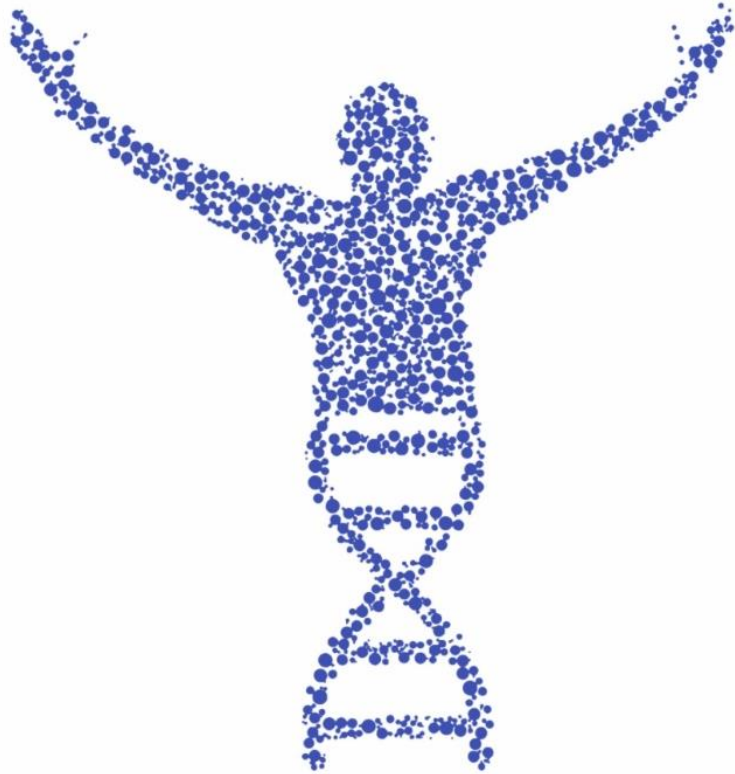




NUMUNE ALMA EL KİTABI



“Numune Alma El Kitabı”

BURGEN Genetik Hastalıklar Tanı Merkezinde yapılacak Test Listesinde yer alan testler için numunelerin doğru şekilde alınması ve hazırlanmasını sağlamak, böylelikle test sonucunu etkileyecek, numuneden kaynaklanabilecek olumsuz durumları ortadan kaldırmak amacıyla hazırlanmıştır.

BURGEN Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi test listesinde yer alan test adı, endikasyon, numune cinsi, miktarı, yöntem, çalışma günü, rapor zamanı, fiyat vb. bilgilere bu dokümanda yer verilmemiştir. Hastalara yapılacak tüm işlemler için bilgilendirilmiş onam alınması gerekmektedir. Anlaşmalı merkezlerimizin Test İstem Formu kullanarak test talebinde bulunmaları ve yapılacak test hakkında hastayı bilgilendirmeleri gerekmektedir.

NUMUNE GÖNDERİM FORMU DOLDURULMASI VE ÖRNEKLERİN TANIMLANMASI

Güvenilir bir laboratuvar sonucu için örneğin doğru tanımlanması kritik bir aşamadır. Unutulmamalıdır ki laboratuvar hatalarının en sık meydana geldiği dönem preanalitik evredir.

Numune gönderen kurumlardan istenen analizlerin ve gerekli bilgilerin yazılması için laboratuvarımız **Test İstem Formu** hazırlamıştır. Bu formda;

- Hastanın Adı Soyadı,
- TC. Kimlik numarası
- Doğum tarihi,
- Cinsiyeti,
- Numunenin gönderim tarihi ve saati,
- Klinik endikasyonlar,
- Hastanın şikayetleri,
- Aile öyküsü,
- Talep edilen analizler,
- Numunenin tipi ve gönderilen numune adedi, (Gönderilen materyalin amniyon sıvısı, CVS ve kordon kanı olması halinde gebelik haftası belirtiniz!)
- Formu gönderen kurum adı veya kaşesi

bilgilerinin tamamı eksiksiz bulunmalıdır.

Formun eksiksiz ve okunaklı doldurulması istemde bulunan kurum sorumlusunun dikkat etmesi gereken önemli bir husustur. Kurumlar tarafından gönderilen her Test İstem Formu bir anlaşma olarak kabul edilir ve işleme alınır.

ACİL NUMUNELER

Laboratuvarın Test Kataloğunda yer alan sonuç bildirme zamanı dışında acil numune istemi olduğu durumlarda, Test İstem Formu üzerine büyük harfle ve kırmızı kalemle **ACİL** yazılmalı ve laboratuvarımız bu konuda telefonla bilgilendirilerek numuneler gönderilmelidir.

ANALİZ SONUCUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Güvenilir ve tıbbi açıdan değerlendirilebilir sonuç elde edebilmek için sadece doğru transport ve doğru analiz yeterli değildir.

Analiz sonuçlarını etkileyen faktörler kısaca şu şekilde özetlenebilir.

Değişmeyen faktörler	Değişen faktörler
Cinsiyet	İlaç kullanımı
İrk	Kemik iliği transplantasyonu
Kalıtım	Gebelik

Laboratuvar, hasta ve örnek alım koşulları ile ilgili bilgilerin eksikliği durumunda analiz sonuçlarının doğruluğunu etkileyebilecek bu faktörlerin ancak çok kısıtlı bir bölümünü değerlendirebilir. Bu yüzden hasta ile ilgili klinik bilgilerin laboratuvara bildirilmesi, klinisyene yardımcı olabilecek yorum ve değerlendirmelerin yapılabilmesi için son derece önemlidir.

GENEL NUMUNE RED KRİTERLERİ

1. Numunenin üzerinde barkot veya kişisel bilgilerin olmaması: Numune invaziv olmayan bir işlem ile alınabiliyorsa (idrâr, balgam, boğaz sürüntüsü vb.) yeniden gönderilmelidir. İnvaziv bir işlemle alınan numune ise (iğne aspirasyonu, vücut sıvıları, dokular vb.), numuneyi alan ve gönderen sorumlu hekime durum bildirildikten ve hasta-numune eşlemesi yapıldıktan sonra işleme alınır, yeni barkot gönderilmesi istenir.
2. Numunenin üzerindeki kimlik bilgisi ve istem kâğıdı bilgilerinin farklı olması
3. Hastaya ait uygun bir istek formu düzenlenmemiş olması
4. Analize uygun numunesin gönderilmemesi (yanlış örnek kabında/ tüpünde gönderilmiş örnekler)
5. Numune miktarının yeterli olmaması: test rehberinde belirtilen numune miktarları gönderilmelidir.
6. Numune kabının uygun olmaması, (Ağzı pamuk veya flaster ile kapatılmış tüp veya enjektör içinde gönderilmiş örnekler)
7. Uygun taşınmamış veya taşıma kabı hasar gördüğü için kabın dışına sızmış, dökülmüş numuneler.
8. Numunelerin gönderilme ve taşıma koşullarına uygun olmadığı durumlarda,
9. Hemolizli veya lipemik serum numuneleri (hatalı sonuç verebilir)
10. Formalin veya benzeri bir fiksatif içine alınmış veya kurumuş doku biyopsi numuneleri
11. Abort ve CVS materyali gibi doku örneklerinin alkol veya formol içerisine alınmış olması
12. Amniyotik sıvıdan karyotipleme amacıyla alınan amniyon sıvısının aşırı dercede kanlı olması durumunda anne kanının getireceği kontaminasyon olasılığı nedeniyle bu numune ekstra test yapılması şartıyla kabul edilir.
13. Prenatal testlerde maternal kontaminasyonu ekarte etmek için anne kanı olmadan gönderilen numuneler.

ÖRNEK ALMA VE HAZIRLAMA PROSEDÜRÜ

I. AĞIZ MUKOZA SÜRÜNTÜSÜ

- Eküvyon çubuğu ile ağız içindeki beyaz yama tarzı plaklardan, mümkünse plaklar kaldırılarak, sürüntü örneği alınır.
- Alınan numune; 1-2 mL steril SF (Serum Fizyolojik) içeren tüpe konarak laboratuvara gönderilir. Transport kargo ile yapılacaksa SF eklenmeden numuneler gönderilmelidir.



II. DOKU BİYOPSİSİ

- Aseptik şartlarda, hekim tarafından alınır. En az 2-3 gr doku, 3-4 parça halinde alınmalıdır (kültür yapılacaksa en az 2 parça).
- Alınan numuneler serum fizyolojik içinde oda ısısında laboratuvara gönderilmelidir.

III. PARAFİN BLOK

- Moleküler testler ve FISH testleri için parafin blok örnekleri alınabilir. Parafin blok örnekleri en az 2 lam 2-5 µm inceliğinde kesit alınarak lam üzerine fikse edilmiş halde gönderilebilir veya tümörlü dokunun bulunduğu parafin blok şeklinde gönderilir.



IV. KAN ÖRNEKLERİ

a. VENÖZ KAN ALIMI

- Kan alımı esnasında hasta yatar veya oturur pozisyonda olmalıdır ve bu pozisyonda en az 20 dakika dinlendirilmelidir.
- Turnike kolda 30 sn'den fazla sıkılı kalmamalıdır.
- Turnike iğnenin başarılı bir şekilde damar yerleştirilmesinden sonra çözülmelidir.
- Enjektör ile kan alımı esnasında kanın tüpe kuvvetli aspirasyonundan kaçınılmalıdır.

Kan alımı şu sıra ile yapılmalıdır:

1. Kan kültürü
 2. EDTA'lı kan
 3. Kırmızı kapaklı tüp
 4. Koagülasyon tüpü
 5. Sedimantasyon tüpü
- Sitogenetik ve moleküler sitogenetik (FISH) testler için örneklerin heparinli (yeşil kapaklı) tüplere alınması gereklidir.
 - Moleküler genetik ve Array testleri için örneklerin EDTA'lı (mor kapaklı) tüplere alınması gereklidir.

1. EDTA'LI TAM KAN

- EDTA'lı tam kan, vakumlu plastik EDTA'lı, mor kapaklı tüpe alınan numunedir.
- Kan mutlaka tüpte bulunan çizgiye kadar alınmış olmalı ve pıhtılaşma olmadığına dikkat edilmelidir.
- Pıhtı oluşmaması için kan alındıktan sonra 5-6 kez yavaşça alt-üst edilir, asla çalkalama yapılmamalıdır.
- Kan alımından sonra 2000 devirde 15 dakika santrifüj edilmelidir.
- Numuneler 2-8 °C de saklanmalıdır.
- Antikoagülan olarak kullanılan Heparin, PCR için inhibitör özellikte olduğundan kullanılmamalıdır.

NOT: Hemolizi önlemek için;

1. Kan almak için alkolle silinen bölgenin kuruması beklenir.
2. Çok ince uçlu iğne kullanılmamalıdır.
3. Rezidüel alkol kullanılmamalıdır.
4. Alınan numune sıcak ve soğuğa uzun süre maruz kalmamalıdır.
5. Kan enjektöre hızlı çekilmemelidir.

2. HEPARİN'Lİ TAM KAN










- Kan örneği lityum heparin içeren yeşil kapaklı tüplere alınır.
- Kan örneğinin lityum heparin ile karışabilmesi için tüpler 5-6 kez çok yavaşça alt-üst edilerek kanın antikoagülan ile tam teması sağlanmalıdır.

3. SERUM

- Serum numuneleri için miktarın yaklaşık iki katı kan alınmalıdır, örneğin 2 ml serum için 4 -5 ml kan alınır.
- Kan özel serum tüpüne alınır ve içindeki pıhtılaşma faktörünün etkisini artırmak için yavaşça 5-6 defa alt üst edilir.
- Kanın pıhtılaşması için 10-20 dk. tüp dik pozisyonda bekletilir ve sonra 2000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilir.
- Eğer jelli tüp kullanılmamışsa ayrılmış serum transport tüplerine veya serumu düzgün etiketlenmiş ikinci bir serum tüpüne aktarılır.
- Numune etiketlenir.

Analizler için gönderilecek numunelerin koyulacağı tüpler Vakumlu Tüp Tablosun da renkleri ve alınacak kanın miktarını gösterecek şekilde aşağıda yer almaktadır.

Vakumlu Tüp Tablosu

Kapak rengi	Tüp içeriği/Antikoagulan içeriği	Örnek Miktarı	Kullanım amacı
 Kırmızı	<ul style="list-style-type: none"> Boş kuru tüpler Silikon kaplı tüpler 	5-6 mL	<ul style="list-style-type: none"> Serum eldesi (Serumda yapılan tüm testler için ve oto analizörlerde kullanılır)
 Sarı	<ul style="list-style-type: none"> Separatör jel içeren tüpler (SST) 	5-6 mL	<ul style="list-style-type: none"> Serum eldesi (serumda yapılan tüm testlerde, ve otoanalizörlerde kullanılır)
 Mor	<ul style="list-style-type: none"> 5.40 mg K₃EDTA K₃EDTA 	<ul style="list-style-type: none"> → 3.0 mL → 2.0 mL 	<ul style="list-style-type: none"> Tam kan/plazma eldesi CBC, retikülosit, kan yaymaları, Hb elektroforezi, NH₃, ACTH, ADH, G6PD, Renin, Vit-B1, B2, B6, Vit-D (25-OH), 1,25OH-Vit-D, HLA Testleri, PCR (HBVDNA, HCVRNA) vb
 Mavi	<ul style="list-style-type: none"> 0.109 M (%3,2) Na₃-Sitrat 	→ 3.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> Plazma eldesi PT, aPTT, TT, AT III, D-dimer, fibrinojen, protein C ve S, pıhtılaşma faktörleri, trombosit agregasyonu
 Siyah	<ul style="list-style-type: none"> 0.4 mL, 0.129mol /L Na₃-Sitrat 	1.6 mL	<ul style="list-style-type: none"> Tam kan eldesi ESR tayininde kullanılır
 Yeşil	<ul style="list-style-type: none"> Li / NH₄ Heparin 	4. mL	<ul style="list-style-type: none"> Tam kan/plazma eldesi Kan gazları, eritrosit analizleri, pH, bazı enzim ve hormon testleri, Vit-C, katekolaminler, BNP, Pro-BNP
 Gri	<ul style="list-style-type: none"> Sodium fluoride/Na₂ EDTA 	4.0 mL	<ul style="list-style-type: none"> Tam kan eldesi laktat, glukoz, glukoz tolerans testleri
 Koyu lacivert	<ul style="list-style-type: none"> K₂EDTA (plastik) 	6.0 mL	<ul style="list-style-type: none"> Tam kan eldesi eserelementler ve toksikoloji
 Sarı kapak	<ul style="list-style-type: none"> CPDA' li tüp 	8.5ml	<ul style="list-style-type: none"> Tam kan eldesi HLA testleri

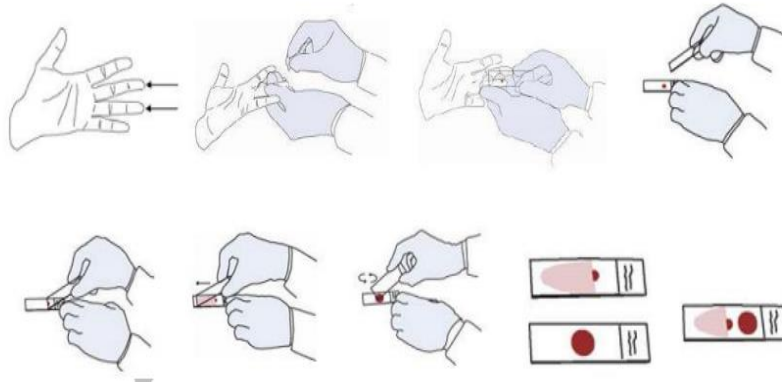
b. PERFERİK KAN ALIMI

1. KALIN DAMLA PREPARAT HAZIRLANMASI

- Bir elin orta ya da yüzük parmağının palmar bölgesi, çocuklarda ayak baş parmağı ya da topuk alkollü gazlı bez ile temizlenir.
- Alkol kuruduktan sonra, steril, bir lanset batırılır ve kanın serbest olarak çıkması sağlanır (sıkılmaz).
- Bir damla kan lamın ortasına damlatılır.
- Bu kan damlası bir toplu iğnenin başı ya da diğer bir lamın köşesi ile dairevi hareketlerle yaklaşık 1,5 cm çapında olacak şekilde yayılır.
- Havada kurutulur (min 30 dk).
- KALIN DAMLA PREPARAT ASLA TESPİT EDİLMEZ!

2. İNCE YAYMA PREPARAT HAZIRLANMASI

- Bir elin orta ya da yüzük parmağının palmar bölgesi, çocuklarda ayak baş parmağı ya da topuk alkollü gazlı bez ile temizlenir.
- Alkol kuruduktan sonra, steril, bir lanset batırılır ve kanın serbest olarak çıkması sağlanır (sıkılmaz).
- Bir damla kan lamın bir ucuna damlatılır. 4. 45°C eğimli diğer bir lam damlanın üzerine değdirilir.
- Kan tek bir hareketle lamın bir ucundan diğer ucuna yayılır.
- Yayma havada kurutulur.
- İNCE YAYMA PREPARAT SAF METANOLLE TESPİT EDİLİR.



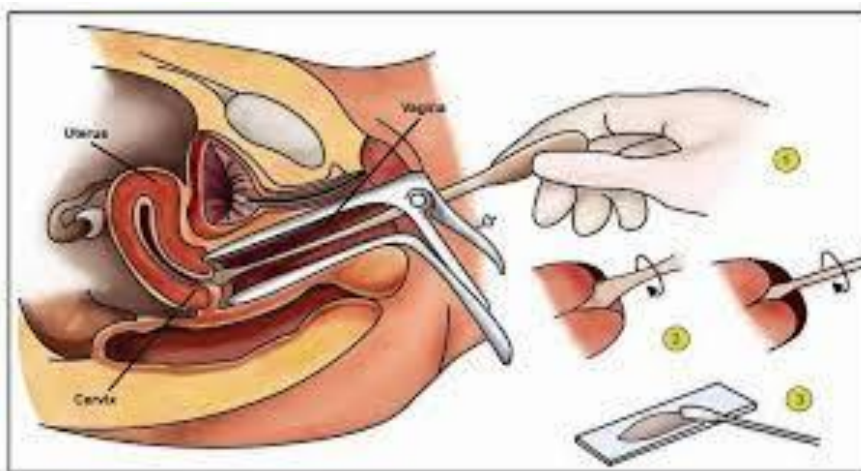
Preparatların Hazırlanması

V. KEMİK İLİĞİ

- Kemik iliği biyopsisi (kültür için): Aseptik koşullarda en az 0.5 mL alınmalıdır. Heparinize kemik iliğinin hasta yanında uygun kültür besiyerine ekilmesi idealdir. Besiyeri yoksa heparinli (0.2 mg/mL) veya SPS (0.25-0.50 mg/mL) içeren tüplere alınan örnek antikoagülanla homojen bir şekilde karışması için birkaç kez alt-üst edilmelidir.
- Kemik iliği ve kan örnekleri kesinlikle buzdolabına konulmaz. Örnek 30 dk içinde laboratuvara ulaşamayacaksa izolasyon şansını artırmak için lizis-santrifügasyon tüpüne alınması tercih edilir.
- Kemik iliği biyopsisi (mikroskopi için): Heparinli veya sodyum oksalatlı bir tüpe alınır.
- Parazitolojik inceleme için kemik iliği örneği herhangi bir koruyucu içermeyen boş steril tüpe alınarak soğuk zincir koşullarında laboratuvara gönderilmelidir.

VI. SERVİKAL SÜRÜNTÜ

- Serviks ağzında izlenen akıntı/mukus lokal anestezi kullanılmadan temizlenip uzaklaştırılır. İnce uçlu dakron veya kalsiyum alginatlı eküvyon ile serviksten girilir. Servikte eküvyon rotasyon yaptırılır ve vajen duvarına değdirilmeksizin geri çekilir.
- Kalsiyum alginatlı veya dakron uçlu eküvyon ile alınan örnek Stuart / kömürsüz Amies taşıma besiyerine konulur.
- Vajinal flora bakterileriyle bulaşı önlemek olanaksız olduğundan Bartolin bezi eksüdasından eküvyonla gönderilen örnekler işleme alınmaz.
- Pamuk uçlu eküvyon ile alınan örnekler reddedilir.



Servikal Sürüntü Alınımı

VII. VAJİNAL SÜRÜNTÜ

- Vajinal sürüntü örneği üst yan duvarlar veya forniksteki mukozal membranlardan steril dakron veya kalsiyum alginatlı eküvyon ile alınır.
- Kalsiyum alginatlı veya dakron uçlu eküvyon ile alınan örnek Stuart/kömürsüz Amies taşıma besiyerine konulur. Taşıma besiyerinin kapağı sıkıca kapatılarak üzerine hastaya ait kimlik bilgileri ile numunenin alınış tarihi yazılır ve oda ısısında laboratuvara gönderilir.
- Pamuk uçlu eküvyon ile alınan örnekler reddedilir.

NOT: Vulva-vajina kandidozu şüphesinde; Vajinal akıntıdan ve vajinal duvarındaki kalın beyaz yapışkan plaklardan steril eküvyon ile alınan örnekler, taşıma besiyeri ile laboratuvara gönderilmelidir.

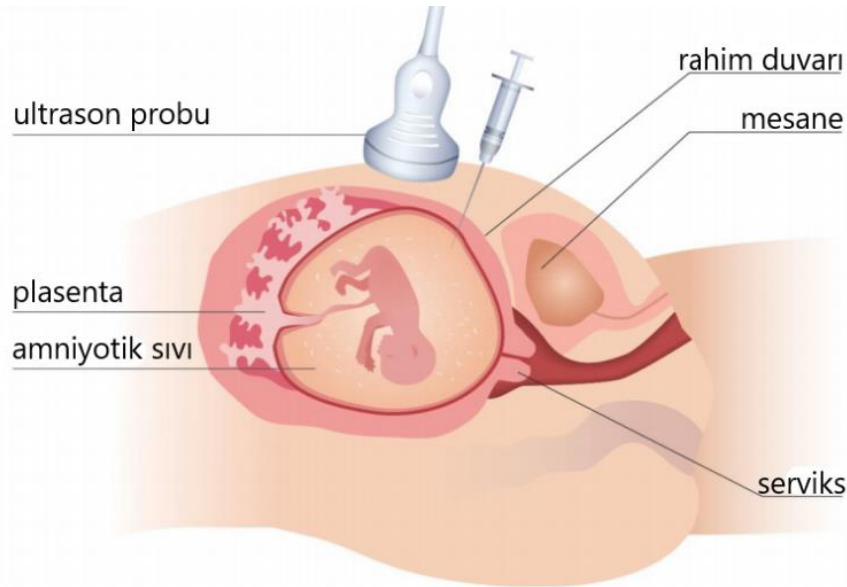
VIII. HPV DNA PCR ANALİZİ İÇİN ÖRNEK ALMA

- Smear fırçası servikse yerleştirilir ve saat yönünde 5-6 kez çevrilerek sürüntü alınır. Mümkün olduğunca fazla döküntü almaya çalışılmalıdır. Daha sonra smear çubuğunun fırçası özel solüsyonu içine bırakılmalı ve numune en kısa zamanda gönderilmelidir.
- Şüpheli lezyondan kuru (jelsiz) eküvyon çubuğu ile numune alınacak ise sürüntü örneği kuru olarak ya da eküvyon içerisine pamuklu kısım ıslanacak kadar serum fizyolojik eklenerek laboratuvara transfer edilmelidir.
- Biyopsi örneği alındıysa steril bir kapta serum fizyolojik içinde laboratuvara gönderilmelidir.
- Parafin blok ile alınmış örnekler doğrudan gönderilebilir.

NOT: Kan, serum ya da plazma örneklerinden HPV DNA analizi çalışılmamaktadır.

IX. AMNİYON SIVISI

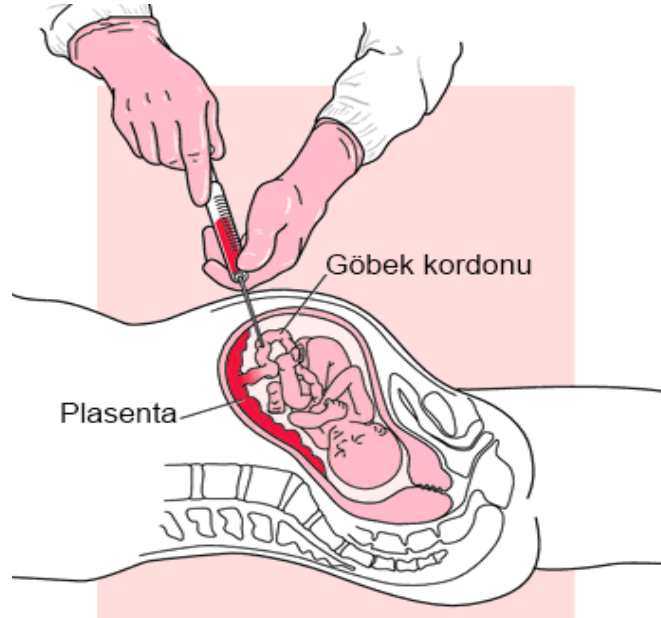
- Steril koşullarda contasız enjektör içinde, enjektör ucu bükülmeden kapağı ile kapatılıp tespit edilerek alınmalıdır. Amniyon sıvısı alınırken ilk 2 cc atılmalı, 10'ar cc iki ayrı enjektöre alınmalı, enjektörler alım sırasına göre numara ile belirtilmelidir. Numune steril transport medyumlu numune kabı (falcon tüpü)'na aktarılır.
- Erken amniyosentez 13. haftada yapılabileceği gibi, geç amniyosentez 21-22 haftaya kadar uygulanabilir. Genellikle uygulanan, 15-20 hafta arası amniyosentez uygulaması için en uygun haftalar olarak daha az risk taşımaktadır.
- Örnekteki sıvının kanlı pıhtılı olması, berrak sarı renkte olmaması, yetersiz miktarda gönderilmesi gönderilen sıvı maternal kaynaklı kontamine olduğunun tespiti durumunda, amniyon dışında (fetal idrar gibi) sıvı gönderilmesi durumunda numune kabul edilmez.



Amniyosentez

X. CVS MATERYALİ

- CVS bekle aynı genetik yapıya sahip olan plasentadan bir miktar doku alınması işlemidir.
- Numune steril transport medyumlu numune kabı (falcon tüpü)'na aktarılır.
- Sterilite şartlarını sağlamayan numuneler, transport süresi ve koşullarına uymayan numuneler, dondurulmuş, formol içine alınmış, alkol içerisine alınmış numuneler kabul edilmez.



Kordosentez