



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	1 / 16

İÇİNDEKİLER

- 1) LABORATUVAR TETKİKLERİ İLE İLGİLİ GENEL KURALLAR
- 2) TETKİK İSTEMLERİ
- 3) PREANALİTİK-ANALİTİK-POSTANALİTİK SÜREÇ
- 4) LABORATUVARDA ÇALIŞILAN TESTLER
- 5) TESTLERİN ÇALIŞMA ÖZELLİKLERİ
- 6) KISALTMALAR
- 7) LABORATUVAR TESTLERİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER
- 8) NUMUNE ALINMASI
- 9) ÖRNEĞİN LABORATUVARA TAŞINMASI
- 10) ÖRNEK REDDETME KRİTERLERİ
- 11) TESTLERİN ÇALIŞMA VE RAPORLAMA GÜNLERİ
- 12) PİRÜVİK ASİT TAYİNİ
- 13) KANTİTATİF BİOTİNİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ
- 14) METABOLİK HASTALIKLARIN TANISI İÇİN SPOT TESTLER
- 15) KANTİTATİF SİSTİN TAYİNİ
- 16) NaOH TESTİ TAYİNİ
- 17) TOTAL MUKOPOLİSAKKARİT TAYİNİ
- 18) KAĞIT KROMOTOGRAFİSİ İLE KAN VE İDRAR AMİNOASİTLERİNİN İNCELENMESİ
- 19) ŞEKER KROMOTOGRAFİSİ (İDRAR VE DIŞKIDA)
- 20) DIŞKIDA PH, REDÜKTAN MADDE VE STEOTOKRİT BAKILMASI
- 21) TER TESTİ
- 22) PANİK DEĞERLER
- 23) SONUÇLARIN RAPORLANMASI VE YORUMLANMASI
- 24) SONUÇLARIN ARŞİVLENMESİ
- 25) NUMUNE İMHASI



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	2 / 16

1) LABORATUVAR TETKİKLERİ İLE İLGİLİ GENEL KURALLAR

Laboratuvar sonuçlarını etkileyen en önemli faktörler tetkik isteminin doğru yapılması, uygun koşullarda örnek alınması ve taşınmasıdır. Laboratuvar test sonuçlarının güvenilirliğini belirleyen en önemli evre örneğin alınması ve taşınması ile ilgilidir. Laboratuvar testlerinin çalışılması sürecinde oluşabilen tüm hataların % 70'i bu evreye aittir. Laboratuvardan alınan hizmetin verimliliği ve kalitesi göstereceğiniz işbirliği ile doğru orantılıdır.

2) TETKİK İSTEMLERİ:

- Tetkik istemleri elektronik olarak ilgili hekim tarafından yapılmaktadır.
- Elektronik istemlerde **hasta adı, soyadı, dosya numarası, doktor bilgisi, geldiği bölüm,** bilgilerinin doğruluğu kontrol edilmelidir. Hastaya ait ön tanı ve klinik bilginin yazılması testlerin **doğru değerlendirilmesi** önemlidir.
- Gönderilen **her örnek için farklı örnek numarası üretilmelidir.** Çünkü, her örnek ayrı ayrı değerlendirilmektedir (Örneğin bir hastadan **idrar, gaita tetkikleri** aynı anda istendiğinde farklı örnekler olması nedeniyle **farklı örnek numaraları** gerekmektedir).

3) PREANALİTİK-ANALİTİK-POSTANALİTİK SÜREÇ

Tanı ve tedavinin takibinde laboratuvarlar sonuçları önemlidir. Bu nedenle klinikle laboratuvar çalışmaları arasında uyum ve iş birliği gereklidir. Hekim hastası için istediği testlerin sonuçlarını zamanında ve güvenilir olarak ister, laboratuvar görevlisi de zamana karşı yarışarak, kaliteli hizmet vermek için uğraşır. Test sonuçlarının güvenilirliği sadece laboratuvar çalışmasına bağlı değildir. Numune alınımından laboratuvara göndermeye kadar birçok basamaktan etkilenmektedir. Bunlar:

- 1) Analiz öncesi (Preanalitik)
- 2) Analiz sırasında (Analitik)
- 3) Analiz sonrasında (Postanalitik) basamaktır.

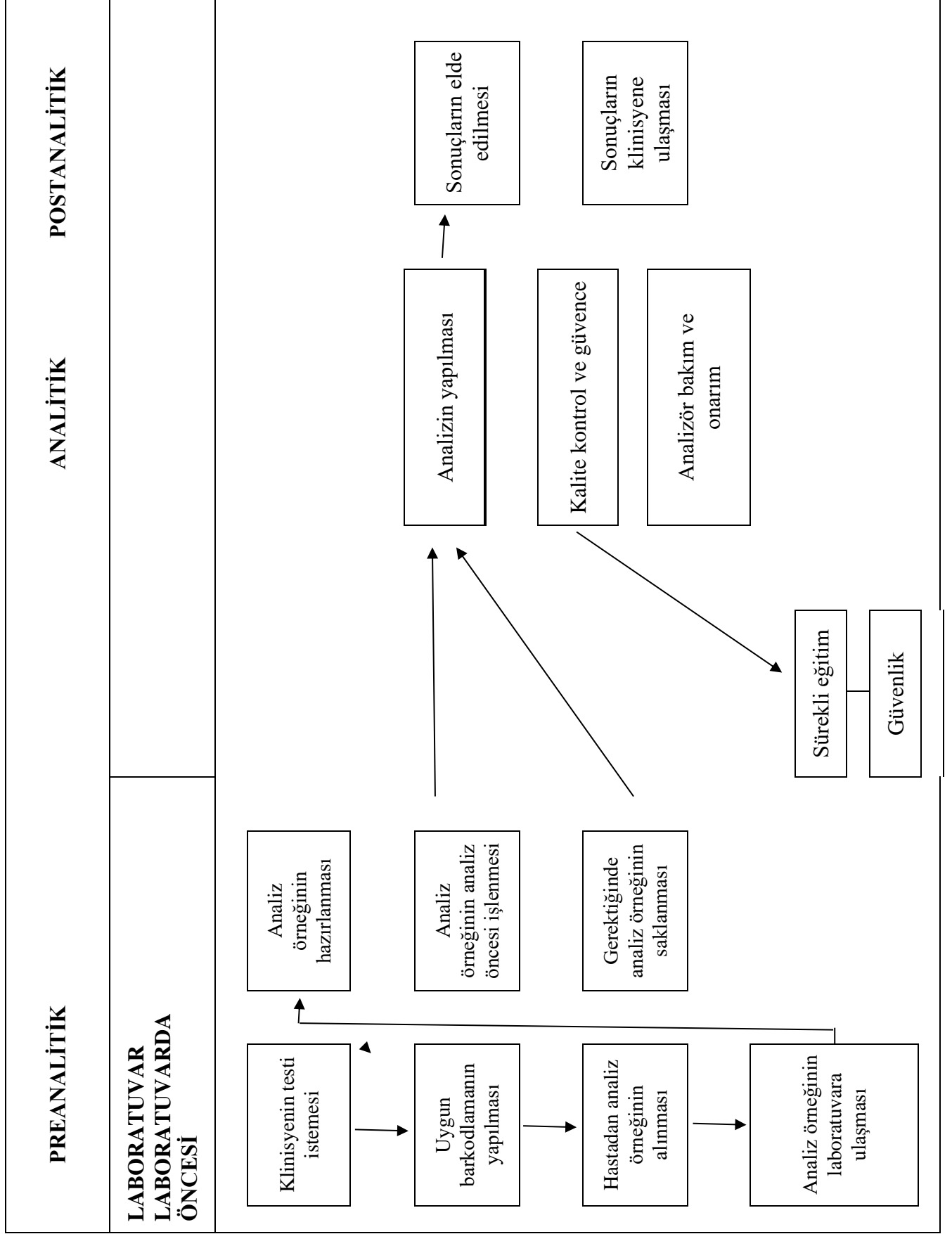
Analiz öncesi faktörleri kontrol altına almak klinikler ve laboratuvarların birlikte uğraşmasını gerektirir. Klinik personelinin bilgili, deneyimli, dikkatli ve sorumluluğun bilincinde olması gerekir. Bu faktörler bazen test sonuçlarını çok fazla etkileyebilir. Bunu Önlemek için en azından minimal düzeye indirmek için klinisyen ve laboratuvarcı, örnek alımı, laboratuvara ulaştırılması ve testin yapılmasına kadar olan hazırlama safhalarında azami dikkatli sarf etmelidir. Son yıllardaki teknolojik gelişmeler ve kalite kontrol sistemlerinin uygulanması, analitik dönemdeki hataları azaltmış ve özellikle, Preanalitik dönem hataları üzerine yoğunlaşmaya neden olmuştur.

Çocuk Metabolizma ve Araştırma Laboratuvarı olarak hazırladığımız bu rehberde hastanemizde çalışan tüm hekim ve hemşirelerimizle iyi bir uyum içinde çalışacağımıza ve hastalarımıza karşılıklı işbirliği içinde zamanında, güvenilir sonuçlar vereceğimize inanıyoruz.



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	3 / 16





ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	4 / 16

4) LABORATUVARDA ÇALIŞILAN TESTLER

4.1. KANDA ÇALIŞILAN TESTLER:

Piruvat

Biyotinidaz aktivitesi

Kan Aminoasitleri (Kromatografi yöntemle) Kağıt kromatografisi ile

4.2. İDRARDA ÇALIŞILAN TESTLER:

Klinik spot testler:

pH,

Redüktan Madde (RM),

FeCl₃ Testi

Sodyum Siyanid Nitroprüssiyad Testi,

Alfa ketoasitler,

Metil Melonik Asit,

Keton,

İdrar Aminoasitleri Kromotografisi,

NaOH,

Mukopolisakkarit,

Kantitatif sistin,

4.3. DIŞKIDA ÇALIŞILAN TESTLER:

❖ pH

❖ Redüktan Madde (RM)

❖ Steatokrit

❖ Şeker Kromotografisi

4.4. TER TESTİ

HASTANIN KOLUNA UYGULANIR (İDRAR KAN GİBİ HERHANGİ BİR
MATERYAL KULANILMAZ.



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	5 / 16

5) TESTLERİN ÇALIŞMA ÖZELLİKLERİ

Test Adı	Örnek Türü	Örnek Kabı	Örnek Miktarı	Yöntem	Testin Transfer Süresi	Testi Etkileyen Faktörler	Çalışma Günü	Sonuç Verme Zamanı
PİRÜVAT	KAN	Laboratuvarı ardan alınan NaFl bulunan özel tüp	2 ml	Manuel	15 dk	Pıhtılı, yetersiz örnek	Her gün	Aynı gün
BİYOTİNİDAZ	KAN	Kırmızı Kapaklı Küçük Tüp (Boş tüp)	2 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Pıhtılı, yetersiz örnek	Hafta içi 4 gün	16 saat sonra
KAN AMİNO ASİT KROMOTOGRAFİSİ	KAN	Kırmızı Kapaklı Küçük Tüp (Boş tüp)	2 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Pıhtılı, yetersiz örnek	SALI ve PERŞEMBE	ÇARŞAMBA ve CUMA
İDRAR AMİNO ASİT KROMOTOGRAFİSİ	İDRAR	İdrar Kabı	3 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	SALI ve PERŞEMBE	ÇARŞAMBA ve CUMA
MUKOPOLİSAKKARİT	İDRAR	İdrar Kabı	3 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	Her gün	Aynı gün
KANTİTATİF SİSTİN	İDRAR	İdrar Kabı	3 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	Her gün	Aynı gün
NaOH Testi	İDRAR	İdrar Kabı	2 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	Her gün	Aynı gün
pH	İDRAR	İdrar Kabı	2 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	Her gün	Aynı gün
REDÜKTAN MADDE	İDRAR	İdrar Kabı	2 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	Her gün	Aynı gün
FeCl ₃ TESTİ	İDRAR	İdrar Kabı	1 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	Her gün	Aynı gün
SODYUM SİYANİD NİTROPRÜSİYAT TESTİ	İDRAR	İdrar Kabı	1 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	Her gün	Aynı gün
2-4 DİNİTROFENİL HİDROZİN TESTİ	İDRAR	İdrar Kabı	2 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	Her gün	Aynı gün
METİL MALONİKASİT	İDRAR	İdrar Kabı	2 ml	Manuel	18-20°C, <30 dk	Gaita kontaminasyonu olmamalıdır.	Her gün	Aynı gün
DIŞKI PH REDÜKTAN MADDE	DIŞKI	Gaita Kabı	1 gr	Manuel	18-20°C, <30 dk	Hasta kaka yapınca ilk 30 dk içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır	Her gün	RM= + ise ÇARŞAMBA ve CUMA
STEATOKRİT	DIŞKI	Gaita Kabı	1 gr	Otomatize	18-20°C, <30 dk	Hasta kaka yapınca ilk 30 dk içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır	Her gün	Aynı gün
ŞEKER KROMOTOGRAFİSİ	DIŞKI	Gaita Kabı	1 gr	Manuel	18-20°C, <30 dk	Hasta kaka yapınca ilk 30 dk içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır	Her gün	RM= + ise ÇARŞAMBA ve CUMA



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	6 / 16

6) KISALTMALAR

RM: Redüktan Madde
İ.A.A: İdrar Aminoasitleri
K.A.A: Kan Aminoasitleri

7) LABORATUVAR TESTLERİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

7.1. Yaş

Yenidoğan dönemi kendi referans aralıklarına sahiptir. Çocukluk döneminde plazma proteinleri, Kas ve kemikle ilgili enzim düzeyleri artar. Ergenlik döneminde hormonal düzeyler değişir. Erişkinlerde serum üre, ürik asit, trigliserit ve kolesterol yükselir, enzim düzeyleri adolesan dönemden daha düşüktür. Yaşlılarda kreatinin klirensi azalır, idrar proteini artar. 50 yaş üzerinde erkeklerde serum testosteron azalır, kadınlarda FSH, LH artar, östrojen azalır.

7.2. Cinsiyet

Ergenlik öncesi iki cins arasında pek fark yoktur. Ergenlik sonrası erkeklerde serum ALP, ALT, AST, CK gibi enzimler yüksektir. Serum albumin, kalsiyum, magnezyum ve kolesterol erkeklerde daha yüksektir. Kadınlarda hemoglobin ve demir daha düşüktür. Menapoz sonrası kadınlarda ALP yüksek bulunur.

7.3. Gebelik

Ortalama kan hacmindeki artışa bağlı olarak test sonuçları değişebilir.

7.4. Mevsimsel değişiklikler

Laboratuvar test sonuçlarının bazıları yaz ve kış mevsimleri arasında değişiklikler gösterebilir. Örneğin, yazın D vitamini (1,25 dihidroksi kolekalsiferol) sentezi artar.

7.5. Beslenme

Bazı gıdalar kan ve idrarda test sonuçlarını etkilemektedir

Yüksek proteinli diyet sonrası üre, amonyak ve ürik asit düzeyleri yükselir.

Yağlı diyet sonrası serum lipid profili değişiklik gösterir.

Yemeklerden sonra kanda artan şilomikronlar serum veya plazmada bulanıklık yaparak ölçüm metodlarının yanlış sonuçlar vermesine neden olabilmektedir.

Kafein içeren içecekler katekolamin, glukoz, kortizol, yağ asitleri ve trigliserit düzeylerini yükseltir.

7.6. Sigara

Plazma ve idrar katekolaminleri artar. Kan glukozu, laktat, CEA, kolesterol, karboksihemoglobin yükselir.

7.7. Alkol

Trigliserid, glukoz, laktat ve kortizol artar. Kronik alkol alımında GGT, AST ve ALT düzeyleri yükselir.

7.8. Diurnal ritim

Diurnal (günlük) ritimler biyokimyasal parametreleri etkilemektedir. Serum kortizol, renin, sabah saatlerinde pik düzeylere ulaşır, öğleden sonra düşüktür.

7.9. Postür

Hastadan mümkünse her zaman aynı pozisyonda (ideal olarak oturur ve dik durumda) kan alınmalıdır.

Uzun süreli yatak istirahatinin test sonuçları üzerine olan etkileri göz önünde bulundurulmalıdır. İlk birkaç gün hematokrit artar. Uzun süreli yatak istirahatinde sıvı retansiyonuna bağlı albumin ve protein düzeyi azalır, kemik kalsiyum mobilizasyonu sonucu kan ve idrar kalsiyum düzeyi artar.



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	7 / 16

7.10. Egzersiz

Tetkikten bir gün önce sportif aktivite yapılmamalıdır. Laktat, CK, AST, LDH ve bazı hormonlar (T4, testosteron, androstendion, luteinizan hormon vb) egzersiz sonrası yükselebilmektedir.

7.11. İlaçlar

Birçok ilaç laboratuvar test sonuçlarını etkileyebilmektedir. Kullanılan ilaçların testler üzerindeki etkisi laboratuvar uzmanı veya doktordan öğrenilebilir. Sürekli kullanılan ilaçlar hakkında laboratuvar bilgilendirilmelidir.

7.12. Ateş

Bazı hormon düzeyleri, glukoz, lipidler, akut faz reaktanları, ürik asit gibi birçok parametre etkilenir.

7.13. Transfüzyon

Tam kan veya plazma verilmesi ile plazma protein konsantrasyonu artar.

8) NUMUNE ALINMASI

8.1. VENÖZ KAN ALMA

Laboratuvar analizleri için venöz. kapiller kullanılır. Genel olarak venöz kan tercih edilir. Kanı alacak olan kişi hastaya ismini doğrular ve tüp üzerine yapıştırılmış olan barkodla karşılaştırılır. Hasta rahat olacağı şekilde ya oturularak yada sırt üstü pozisyonda uzandırılır. Hastanın kol bileği yukarı bakacak şekilde yana açılır. Her iki koldan da kan alınabilir. Yeni kan alınmış yaygın yara ve hematom bulunan bir koldan kan almaktan kaçınılmalıdır. El üzerindeki venlerden ve topuk venlerinden de kan alınabilir. Glukoz yada elektrolit solüsyonları verilen koldan değil diğer koldan ya da infüzyon alanının altında kalan bir bölgeden kan alımı tercih edilmelidir.

Kan alımı yapılacak olan damarın belirlenmesi palpasyon ile yapılır. Kan alımı yapılacak bölge alkollü pamuk yada % 70'lik isopropanollü gazlı bezle temizlenir. Temizleme işi bir kerede dairesel hareketlerle merkezden başlayıp dışa doğru olmalıdır. Derinin alkolle silinmesinden sonra kuruması beklenir. Çünkü alkol kanla temas ederse hemolize ve istenmeyen test sonuçlarına neden olabilir. Deri temizlendikten sonra kan alma işlemi tamamlanana kadar deriye dokunulmamalıdır. Deri temizlendikten sonra kolun 10-15 cm üst kısmına kalbe venöz dolaşımını engellemek ve damarların kanla dolmasını sağlamak için turnike uygulanır.

Uygulanan turnike kolda 1 dakika fazla tutulmamalıdır. Ayrıca turnike kolda iken hastanın yumruğunu sıkması şeklinde kan pompalamasına izin verilmemelidir. Kan almadan önce, alacak olan kişi kaç hacim kan alacağını belirlemelidir. Ayrıca kullanacağı testle ilişkili olarak uygun tüp yada tüpleri hazırlamalıdır. Kan aldıktan sonra koldaki turnike gevşetilir ve iğne damardan çıkartılır. İğne çıkarıldıktan sonra, kuru bir gazlı bez veya pamukla kan alınan bölgeye bastırılarak hasta kolunu yukarıda tutmalıdır. Kanı alan kişi iğneyi enjektörden çıkardıktan sonra bu iş için ayrılmış özel bir kaba atmalıdır. Çocuklarda kan alma işlemi esnasındaki olası beklenmeyen hareketlerini önlemek amacıyla çocuk bir yardımcıyla uygun pozisyonda oturtulmalıdır. Kan alınımından önce yapılan yumruk sıkarak kan pompalama işlemi plazmanın laktat konsantrasyonlarında bir artışa neden olduğundan dolayı yapılmamalı ve işlemiden kaçınılmalıdır. Laktat birikimi kan pH'ını düşürürken plazma iyonize kalsiyum



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	8 / 16

seviyesini artırır. Bu durum turnike alındıktan sonra 10 dk içerisinde normale döner. Kan alma ile oluşan stres her yaşta hastayı etkileyebilir. Strese bağlı olarak kortizol ve büyüme hormonunun konsantrasyonu artabilir. Özellikle ajite çocuklarda kan alma, plazma işlemi, glukoz, konsantrasyonunda artışa neden olan adrenal uyarıya ve iskelet kaslarında serum enzim aktivitesinde artışa neden olabilir.

Enjektör ile kan alınması: Vakum tüplü enjektörler genellikle daha güvenilir ve ucuz olduklarından dolayı enjektörlere tercih edilmelerine rağmen, kan alımı güç olan hastalarda enjektörlerin kullanılması kaçınılmazdır. Eğer enjektör kullanılacaksa iğne enjektöre sıkıca yerletirilir ve iğnenin plastik koruyucusu çıkartılır. İğne enjektöre yerleştirilince damara girmek için deriyle 15 derecelik açı oluşturulur ve iğnenin uç kısmındaki oluk yukarı bakacak şekilde dikkatlice damara girilir.

Enjektörün pistonu geri çekilerek oluşturulan negatif basınçla kan enjektörün tüp kısmına dolmaya başlar. Nadiren de olsa enjektörün kapasitesi dolduğunda ikinci bir enjektöre ihtiyaç duyulur. Böyle bir durumda iğne damardan çıkartılmadan enjektör iğneden çıkartılır. İğnenin altına pamuk bir yastık konur ve 2 enjektör iğneye takılarak aynı işlem tekrarlanır. Kan alma işlemi tamamlanınca enjektörün iğnesi çıkartılır ve kan alınan testler için uygun olan tüp/tüplere aktarılır. Tüplerin ağzı kapatılır. Tüp yavaş hareketlerle 5-10 kere alt üst etme işlemi ile karıştırılır. Enjektör ile kanın hızla çekilmesinin veya tüpe hızla boşaltılmasının hemolize yol açacağı unutulmamalıdır. Bu durumu engellemek için iğneyi enjektörden çıkardıktan sonra kanı tüp/tüplere boşaltmak daha doğru yaklaşım olacaktır.

8.2.VAKUM TÜPLÜ ENJEKTÖRLERLE (HOLTER)KAN ALINMASI:

İğne holterdeki yerine vidalanır. Deri temizlendikten sonra iğne ile hastanın venöz damarına dikkatli şekilde girilir ve iğne ven içerisine yerleştirilir. Enjektörün arkasındaki yerine vakumlu tüp takıldığında kan tüpe dolmaya başlar. İğne yerinden oynatılmadan kanın tüpe dolması beklenir. Vakumu tükenene kadar tüpe kan dolar. Tüp dolduğunda iğne yerinden oynatılmadan tüp çıkarılır ve yeni bir tüp takılarak işleme devam edilir.

Vakum tüplü enjektör ile kan alınmasının tercih nedenlerinin başında, kullanımının kolay, daha güvenilir ve ucuz olması gelir. Ayrıca enjektörle kan almaya göre kontaminasyon riski çok azdır.

8.3.KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMA SIRASI:

8.3.1. PİRUVAT: Laboratuvarda bulunan ve hazırlanan özel tüpe 1,5 cc (çizgi hizasına kadar) venöz kan

8.3.2. CROSS TÜP: Kan aminoasitleri, biyotinidaz aktivitesi tayini, fenilalanin, tirozin, triptofan hemolize olmadan tüm tahliller için 2'şer cc kadar.

0-3 YAŞ ÇOCUKLAR İDRAR ÖRNEĞİ ALIMI:

Üretra etrafı önden arkaya doğru temizlenir. İdrar toplama torbalarından (ağzı yapışkan kağıt ile kapalı, tek kullanımlık, steril plastik torbalar) yapışkan bandı açılarak **üretra etrafına** düzgünce yapıştırılır. Torba yerinden oynatılmadan **çocuk bezi bağlanıp**, giysileri giydirilip



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	9 / 16

çocuğun kendini rahat hissetmesi temin edilir. Sık sık kontrol edilerek, her seferinde dolu torbadaki idrar yukarıda bahsedilen kurallar içinde temin edilen **saklama kabına eklenerek** yeni bir torba takılır. İdrar hacmi olarak 5-10 cc olmalıdır.

9) ÖRNEĞİN LABORATUVARA TAŞINMASI

Örneklerin laboratuvara hasta tarafından değil hastane personeli ile uygun koşullarda ve en kısa sürede ulaştırılması gereklidir.

Örneklerin hangi koşullarda ve ne kadar sürede taşınması gerektiği test rehberinde belirtilmiştir. Laboratuvar tarafından önerilen taşıma koşulları:

- 18- 20°C'de: Oda sıcaklığında, mümkünse transport çantası içinde taşınmalıdır. Kesinlikle avuç içi veya giysi cebinde taşınmamalıdır. Örnekler aşırı sıcak, aşırı soğuk ve güneş ışığından korunmalıdır.
- Buz içinde: Tüpler buz içeren bardak içinde +4 °C sağlanarak taşınmalıdır.

10) ÖRNEK REDDETME KRİTERLERİ

- 1) Hatalı (Yanlış tüpte gönderilen örnek)
- 2) Hatalı tanımlama (Barkodsuz ya da hatalı Barkodlu Numuneler)
- 3) Daha önce çalışılan barkodla gelen numuneler
- 4) Acil hariç saat 16:00 den sonra gelen numuneler
- 5) Kapağı açık örnekler
- 6) Hacmi belirtilmemiş idrar örnekleri
- 7) Buzda gönderilmeyen örnekler (Amonyak)
- 8) Boş tüp
- 9) Yetersiz örnek
- 10) Hemolizli örnek
- 11) Pıhtılaşmış örnek
- 12) Santrifüj sırasında tüpün kırılması
- 13) Kit veya malzemenin olmaması

11) TESTLERİN ÇALIŞMA VE RAPORLAMA GÜNLERİ

Pirüvat, pH, steatokrit, redüktan madde, mukopolisakkarit, kantitatif sistin ve NaOH aynı gün içerisinde

- Kan ve İdrar amino asitleri ile spot testler çarşamba, cuma günleri
- Biyotinidaz aktivitesi tayini 24 saat sonra

12) PİRÜVİK ASİT TAYİNİ

Labratuvarda bulunan içerisinde kuş gözü kadar (10-15mg) sodyum florür bulunan ve 1,5 cc lik çizgi çizerek hazırlanan tüplere kan örneği alınır, Gelen numune örneğinin uygunluğu ve doğru hastaya ait olduğu onaylanır. Vortekslenir ve santrifüj edilir. Hemen çalışılmayacaksa +4 °C buzdolabında saklanır.



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	10 / 16

12.1. GEREKLİ REAKTİFLER;

12.1.1. TRİKLORASETİK ASİT %15 LİK: 100cc distile su içine 15 gr ilave edilir ve çözündürülür.

12.1.2. 2-4 DİNİTROFENİL HİDRAZİN SOLÜSYONU: 100mg dinitrofenil hidrozin üzerine 85 cc distile su koyup karıştırılır. Üzerine 15 ml konsantre HCl (Hidroklorik asit) ilave edilir ve vortekslenir. 30 dakika sonra çökmesi beklendikten sonra süpernetan kullanılır.

12.1.3. SODYUM KARBONAT%10 LUK: 10gr toz üzerine 100 ml distile su ilave edilir. Bu solüsyon tamamen satüredir.

12.1.4. SODYUM HİDROKSİT(1,5 N): 6gr 100 cc distile suda çözündürülür.

12.1.5. PİRUVİK ASİT STANDARTI: 1mg/100ml:10gr pirüvik asit üzerine 1 litre N/10 H₂SO₄ ilave edilir.Bu solüsyondan 1 ml alınarak toz ile 1 litre olacak şekilde dilue edilir.

12.1.6. XYLOL:

	KONTROL	STANDART	NUMUNE
DİSTİLE SU	1 cc ml	0,5 ml	0,5 ml
STANDART	-	0,5 ml	-
NUMUNE	-	-	0,5 ml
T.C.A % (15 lik)	1 cc	1 cc	1 cc

Karıştırılır santrifüj edilir. Hepsinden yeni tüplere 1 cc alınır.

	K	S	N
2-4 Dinitrofenil	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
Xylo	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml

2-4 Dinitrofenil hidrazin konulduktan sonra 5 dk beklenir. Xylo sonra karıştırılır. Satrifüj edilir üst fazdan yeni tüplere hepsinden 1 ml alınır

	K	S	N
% 10 Na ₂ CO ₃	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml

Karıştırılır santrifüj edilir

Altaki sıvıdan 1 ml alınır.

	K	S	N
Altaki sıvıdan	1 ml	1 ml	1 ml
1,5 mg sodyum hidroksit	1 ml	1 ml	1 ml

10 dk sonra 440 nm de köre karşı okunur.

Numunenin Absorbansı

Standardın absorbansı x1 = mg pürivik asit/100 mg

(Normal Değer 0,5-1)

13) KANTİTATİF BİOTİNİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

2 ml serum ya da plazma hemen analiz edilemiyorsa – 70 °C tutulmalıdır.

REAKTİFLER:

- 1) TAMPON (A): 0,91 gram KH₂PO₄(Potasyum Hidrofosfat)
-1,52 gr K₂HPO₄.3H₂O Susuz 1,16gr



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	11 / 16

- 0,092 gr EDTA
- 26,3 mg Human Albumin
- 6 mg N-Biotinyl-Paba
- 100 cc distile su ile tamamlanır.

0-5°C tutulur.

B.Pabanın erimesini kolaylaştırmak için 0,1-0,2 ml NaHCO₃ kullanılabilir.

- 2) % 30 TCA: 30 gr thricloretik asit ile 100 cc distile su
- 3) % 0,1 NaNO₂ = 0,1gr sodyum nitrit 100 cc distile su içerisinde çözülür
- 4) Amonyum Sülfamat (%0,5) = 0,5 gr amonyum sülfamat 100 cc distile suda çözülür.
- 5) % 0,1 naftiletillen diamin = 0,1 gr naftiletillendiamin toz 100 cc de çözülür.

60 ml Tampon A + 10 ml serum 37 °C su banyosunda 16 saat bekletilir.

Ertesi Sabah 60 ml % 30 luk TCA İle çözdürülür.

- 60 ml NaNO₂ sodyum nitrit eklenir. 3 dakika beklenir.
- 60 ml amonyum sülfamat(% 0,5) eklenir. 3 dakika beklenir.
- 60 ml 1-naftil etilen diamin (% 0,1) eklenir.
- Pembe Renk = (+) NORMAL
- Beyaz Renk = (-) AKTİVİTE YOK

14) METABOLİK HASTALIKLARIN TANISI İÇİN SPOT TESTLER

1) **pH** : Stic ile bakılan tahlilde okunan değer yazılır.

2) **REDÜKTAN MADDE** = 2 ölçü benedik çözeltisi içine yada 1 ölçü (1cc/0,5cc) idrar dışkı numunesi eklenerek kısık bek alevinde 30 saniye içinde renk değişikliği gözlenir. Açık çimen yeşilden tuğla kırmızısı renk olana kadar değişiklikler ESER, +, ++, +++, +++++ değerlendirilir.

BENEDİK SOLÜSYONU: 17,3 gr sodyum sitrat; 10 gr sodyum karbonat (susuz) 60ml suda eritilir.1,73gr CuSO₄ 10 ml suda eritilir. Bu iki solüsyon karıştırılıp 100 cc distile su ile tamamlanır.

3) **DEMİR 3 KLORÜR TESTİ** = Bir deney tüpüne pastör pipeti ile 6 damla idrar konulur. Üzerine 3 damla % 10 luk FeCl₃ ilave edilir. Fenilketonüri hasta idrarında test sonucu yeşil renk oluşur. 2-3dk içinde renk kaybolur.

4) **SODYUM SİYANİD NİTROPRUSSİYAT TESTİ** = (Na₂(Fe(CN)SNO) 2.H₂O Paletlerin üzerine 5 damla idrar konulur. 1 damla sodyum siyanid eklenir. 1dk sonra 1 damla sodyumnitroprussiyat ilave edilir. İdrarda sülfir içeren aminoasit arttığında renk pembe olur. +(pozitif) kabul edilir.

SODYUM SİYANİD (NaCN % 10) = 10 gr NaCN 100 cc suda eritilir.

SODYUM NİTROPRUSSİYAT (% 1) = 1 gr Sodyumnitroprussiyat 100 cc distile suda çözülür.

5) **ALFA KETOASİTLER İÇİN 2-4 DİNİTROFENİL HİDROZİN TESTİ (C₆H₆H₄O₄)** = Deney tüpüne 2 damla idrar, 2 damla 2-4 Dinitrofenil hidrozin konulur. 5 dk sonra 2 damla



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	12 / 16

% 10 luk NaOH ilave edilir. En az 2 saat süre ile devam eden kalıcı kahverengi koyu kırmızı olan renk (+) pozitif kabul edilir.

2-4 DİNİTROFENİLHİDROZİN : 3 gr Dinitrofenilhidrozin 1 litre 1N HCl içinde çözülür.

SODYUM HİDROKSİT (% 10) = 10 gr NaOH 100 cc distile ile tamamlanır.

6) METİL MELONİK ASİT = 1 damla idrar 15 damla paranitroanilin, 5 damla NaNO₂ (%5 lik), 20 damla sodyumasetat tamponu ilave edilir. 100 °C sıcaklıktaki su banyosunda 1,5 dakika kaynatılır üzerine 5 damla 8 N NaOH ilave edilir. Yeşil renk oluşursa (+), kırmızı renk (-) olduğunu gösterir.

PARANİTROANİLİN = 1 gr P-nitroanilin 1 litreye 0,16 N HCOI ile tamamlanır.

SODYUM NİTRİT (%5) = 5 gr NaNO₂ 100 cc distile su ile tamamlanır.

1N SODYUM ASETAT TAMPONU (pH: 4.3) = 41 gr sodyum asetat 500 cc distile su ile tamamlanır. 28,7 cc glacial asetic 500 cc ye distile su ile tamamlanır. Bu iki çözelti karıştırılır. pH: 4,3 yapılır.

8N NaOH: 320 gr NaOH distile su ile 1 litreye tamamlanır.

PİCRİC ASİT: %55 lik Etanolde hazırlanan %1'lik pikrik asit

KOH (KREATİNİN) SOLÜSYONU: %80'lik Etanolde hazırlanan %5 lik KOH

15) KANTİTATİF SİSTİN TAYİNİ

SİYANİD-NİTROPRUSSİD MEDOTUYLA İDRAR SİSTİN KONSANTRASYONU TAYİNİ :

1-)GEREKLİ SOLÜSYONLAR:

1.1) **Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) pH=7,3 :**

K₂HPO₄ = 2,29 gr

KH₂PO₄ = 0,09 gr

KCL= 0,4 gr

NaCl =16 gr alıp 1 litre distile su içerisinde çözülür.

1.2) **% 10NaCN (w/v) Çözeltisi:** 10 gr NaCN Alıp 100cc distile su içerisinde çözülür.

1.3) **%20 sodyum nidroprussit çözeltisi:** 20 gr nidroprussit alıp 100cc distile suda çözülür.

1.4) **Stok kreatinin çözeltisi (1mg/ml):** 100 mg kreatinin alınıp 100cc distile suda çözülür.

1.5) **Sistin standart çözeltisi :**100 mg sistin bir miktar su içine konulur. İçerisine 1M HCl den 1 ml kadar konularak eridikten sonra 100 ml ye tamamlanır.

DENEYİN YAPILIŞI: Sistin ölçümü yapılacak numunenin kreatinin miktarı ölçülür. Stok kreatinin çözeltisi kullanılarak aynı konsantrasyonda bir Kreatinin körü hazırlanır.

	KÖR	NUMUNE	STANDART
KREATİNİN KÖRÜ	100	-	-
İDRAR	-	100	-
DİSTİLE SU	400	400	400
PBS	1000	1000	1000



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	13 / 16

% 10 NaCN	300	300	300
STOK SİSTİN STANDARTI	-	-	100

Tüpler vortekslenir ve 20 dakika oda sıcaklığında beklenir. Sonra % 20'lik sodyumnitroprussid çözeltisinden 100 µl eklenerek vortekslenir ve 1 dakika sonra 521 nm' de köre karşı okunur. Renk reaksiyonu zaman bağımlı olduğu için 1dakika sonunda hemen okunmalıdır.

Miktar Hesabı

Numunenin sistin miktarı (µgr/ml) = $A_{521nu} / A_{521Std} \times \text{std konsantrasyonu}$

(Bu durumda idrar ¼ dilüe olduğu için 4 ile çarpılır.)

Normal değer (15-100 mg/ml)

16) NaOH TESTİ TAYİNİ

2 cc idrar 1 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılmalıdır.

Alkaptonüri tanısı için idrarda bakılan bir testtir. 1ml idrar üzerine 1 ml 8N NaOH damlatılarak renk koyulaşması olup olmadığı gözlemlenir. 30sn lik renk koyulaşmasında numune siyah renge dönmüşse + (pozitif) siyah renk görünümü almazsa, açık kalırsa –(negatif) sonuç verir.

8N NaOH: 320gr NaOH tartılarak hacmi 1L ye Distile su ile tamamlanır

17) TOTAL MUKAPOLİSAKKARİT TAYİNİ

Kör,Standart ,Numune olarak 3 tüpte çalışılır.

KÖR	1ml distile su	0,25 ml tampon	4 ml asit albümin reagentı
STANDART	0,5 ml standart 0,5 ml distile su	0,25 ml tampon	4 ml asit albümin reagentı
NUMUNE	0,5 ml idrar 0,5 ml distile su	0,25 ml tampon	4 ml asit albümin reagentı

Tüpler vortekslenir.10 dk oda sıcaklığında bekletilir. Spektrofotometrede 600 nm köre karşı okunur.

$\frac{\text{NUMUNE OKUNAN DEĞER}}{\text{STANDART OKUNAN DEĞER}} \times 15 = \dots \text{ mg}/100 \text{ ml}$ formülü ile değer hesaplanır.

Bulunan değer %3 mg altında ise NORMAL

18) KAĞIT KROMATOĞRAFİSİ İLE KAN VE İDRAR AMİNOASİTLERİNİN İNCELENMESİ

TEK YÖNLÜ KAĞIT KROMATOĞRAFİSİNDE SERUM AMİNOASİT İNCELENMESİ KULLANILAN MALZEME VE SOLÜSYONLAR

-Kromotografi kağıdı ;3 mm whatman

-18 AA STANDARTI (2,5 mol/ml)



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	14 / 16

- Kromotografi çözeltisi:Butanol, Asetik Asit ,Distile su
- Boyama çözeltisi: Ninhidrinin asetondaki %2 lik çözeltisi

YÖNTEM:

Kuru tüp içerisine venöz damar yolundan min 1 cc oranında kan alınır. 5 dakika 2500-3000 devirde Santrifuj edilir. Ayrılan serumdan kapiller kırılarak mikro pipetle 5ml alınarak kromotografi kağıdına damlatılır.(28,5x46cm boyutlarındaki whatman 3 mm kromotografi kağıdına kurşun kalemle kenarından 3 mm yükseklikte enine çizgi çizilir. Bu çizgi üzerinden numunelerin damlatılacağı yerler 2cm aralıklarla belirlenir..Her kromotografi kağıdı başına Aminoasit standartı ve normal plazma damlatılır. Kağıdın iki ucu silindirik bir şekil almak üzere iğnelenerek ya zımbalanarak bekletilir. Rulo haline getirilen kromotografi kağıtları Butanol – Asetik asit ve distile su karışımı bulunan tank içine konur.

Tank içindeki solüsyonun yüksekliği 1,5- 2 cm olmalıdır. 16 saat süre ile tank içerisinde kalan kromotografiler bu süre sonunda çıkartılarak açık havada ya da kısa süre ile etüvde kurutulurlar. Ninhidrin bulunan Özel boyama tepsisinde batırılarak hiçbir noktası kuru kalmayacak şekilde boyanırlar.90-100 c⁰ derecede renkler belirinceye kadar kurutulur. Bu süre 5-10 dk arasındır.

DEĞERLENDİRME: Nagatoskopla incelenen kromotografi kâğıtlarında plazma Aminoasitlerinin görünüm ve değerleri Standartlar ve Normal plazma örneği ile karşılaştırılarak uzman kişi tarafından değerlendirilir.

glisin, glutamin, strulin, triptofan, fenilanin, tirozin, analin, losin, izolosin, kalevi aminoasitler, prolin, hidroksprolin, glutamik asit, vb

İDRAR KAN AMİNOASİT SOLÜSYONU:

- 600 cc Butanol
- 150 cc Asetik Asit
- 250 cc Distile su

TEK YÖNLÜ KROMOTOGRAFİ BOYASI:

- 1 gr Ninhidrin
- 500 cc Aceton

Haftada 2 kez yapılan Salı ve Perşembe günü hazırlanan kromotografi ve şeker kromotografisi Çarşamba ve Cuma günü değerlendirilir saat öğle 12 ye kadar sonuçlar otamasyon sistemde gösterilir.

19) ŞEKER KROMATOGRAFİSİ

Redüktan pozitif olan idrar ya da dışkıda şeker kromotografisi aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi Hazırlanan glikoz, galaktoz, laktoz, sukroz, ve fruktoz standartlarından 30 µl ve idrar örneklerinden kurutucu altında damlatılır. 16 saat süre ile 200 cc proponol, 50 cc distile su karışımından ibaret çözeltide yukarıdan aşağıya yürüyecek şekilde bırakılır. Sonra çıkartılarak kurutulur. Tırtıklı kısımlar kesilerek rulo haline getirilir. Özel boya ile boyanır.



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	15 / 16

ŞEKERİN BOYASI: 1gr difenil anil, 1 cc anilin, 100 cc aseton, 10 cc ortafosforik asit den oluşan karışım dikkatlice etüvde 10 İle 15 dakika kurutulur. Uzman tarafından standartlara karşı değerlendirilir.

REDÜKTAN MADDE	İDRAR MİKTARI
E	60
+	50
++	25
+++	15
++++	7

20) DIŞKIDA pH, REDÜKTAN MADDE VE STEATOKRİT BAKILMASI

Minimum miktarı, katı ise nohut tanesi büyüklüğünde sıvı ise 15-20 cc miktarında, dışkı 30 dk içinde numune kabı ile laboratuvara ulaştırılır. Kabulü uygun numuneler alınarak, çalışmak üzere çeker ocak altında sulandırılır. Daha sonra 5000 rpm de 10 dakika santrifüj edilir.

Dışkı, üst kısımda yüzük halkası şeklinde yağ, nişasta tabakası oluşursa, halkanın kalınlığına göre (+), (++) , (+++) pozitif olarak steatokrik değeri yazılır.

pH için Stik (pH kâğıdı) kullanılarak okunan değer yazılır.

REDÜKTAN MADDE VE ŞEKER KROMOTOGRAFİSİ: Santrifüj edilen dışkıdan, sıvı kısımdan 2 cc kadar alınarak benedik çözeltisi ile bek alevinde redüktan madde bakılır. 2 ölçek Benedik çözeltisi üzerine 1 ölçek dışkınum sulu kısmından karıştırılarak 30 saniye alevde ısıtılır. Açık yeşilden tuğla kırmızısına doğru renk değişimi eser (+), (++) , (+++) , (++++) diye değerlendirilir.

Redüktan maddesi pozitif çıkan dışkı numuneleri şeker kromotografisine konularak hangi şekerlerin olduğu araştırılır.

21) TER TESTİ

Kistik Fibrozis şüphesi olan yada yenidoğan taramasında şüpheli bulunan bebeklerde, hastalarda kol iç kısmından ya da bacak iç kısmından alınan terdeki NaCl oranının mEq/dl olarak ölçülmesidir. İşleme başlamadan önce hastanın hijyenine dikkat edilmeli hastanın kolu distile su ile temizlenmelidir. Hastaya yapılacak işlem ve ne kadar sürebileceği anlatılır. Normalde 15-20 dk arasında toplanan ter bazen max30-40 dk arasındada değişebiliyor.

1) AŞAMA: Laboratuvarda yada hasta başında yapılır. Kolun iç tarafına bir karış ara ile içinde jel bulunan elektrotlar bir damla distile su ile ıslatılarak, kırmızı renk üst kısma siyah renk kısım alt kısma gelecek şekilde uygulanır.

Kare pil yardımıyla 9V amper elektrik akımı ile hastanın ter bezleri 3-4 dk uyarılır. Cihazdaki kırmızı ışık söner ve sesli olarak uyarı verir. Bu arada hasta kolunu sabit tutmalı, takılan aparatları hareket ettirmemelidir.



ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI TEST REHBERİ

DOKÜMAN NO	BL.RH.08
YAYIN TARİHİ	04.04.2022
REVİZYON NO	00
REVİZYON TAR.	-
SAYFA	16 / 16

2) **AŞAMA:** Yeterli uyarı verildikten sonra elektrotlar çıkarılır. Kırmızı elektrotun yeri havlu peçete ile çok bastırmadan silinmelidir. İçerisinde kapiller bir hortum sarması bulunan yuvarlak saat şeklindeki aparat sıkıca tesbit edilmez.

İki tur ter toplanması cihazda aktif olarak okumamızı sağlıyor. Cihaz 15 günde bir kalibre edilerek her işlem sonrası distile su ile temizlenir iç kısmında başka hastaya ait ter dokusunun kalmaması dikkat edilir.

0-60 dl NORMAL
60-90 dl ŞÜPHELİ
90-... dl POZİTİF

22) PANİK DEĞERLER

Hasta kliniğine göre değiştiğinden uzman hekim değerlendirilmesine bırakılmıştır.

23) SONUÇLARIN RAPORLANMASI VE YORUMLANMASI

İdrar ve kan aminoasitleri Salı ve Perşembe günleri hazırlanıp 16 saat tankta bekletildikten sonra Çarşamba ve Cuma günü uzman hekim tarafından yorumlanıp raporlanmaktadır.

24) SONUÇLARIN ARŞİVLENME

Çalışılan laboratuvar sonuçları HBYS veri tabanında ve sonuç kayıt defterinde arşivlenmektedir.

25)GELEN NUMUNELER ÇALIŞILDIKTAN SONRA, 24 SAAT BEKLETİLİR VE ATILIR.

HAZIRLAYAN ÇOCUK METABOLİZMA LABORATUVARI SORUMLU HEKİMİ	KONTROL EDEN KALİTE YÖNETİM DİREKTÖRÜ	ONAYLAYAN BAŞHEKİM
---	--	-----------------------