



Veteriner Klinik Laboratuvarlarında Pre-Analitik Süreç

Serkan SAYINER^{1,2}, Tanju BORATAŞ²

¹Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Lefkoşa-Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.

²Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Hastanesi Tanı Laboratuvarı, Lefkoşa-Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

Özet: “TS EN ISO 15189 Tıbbi laboratuvarlar: Kalite ve yeterlilik için şartlar” isimli standart içerisinde pre-analitik faz kronolojik sırayla; klinisyenin hastayı tanımlaması, muayenesi, yapılacak testin belirlenmesi, örnek alınması için hazırlık, örneklerin toplanması, laboratuvara ulaştırılması ve analiz öncesi örnek uygunluğunun istenen teste göre değerlendirilmesi sürecini kapsamaktadır. Veteriner Klinik Laboratuvarlarında pre-analitik fazı ilgilendiren süreçler daha çok kan ve idrar örneklerini içermekte, bu örneklerden çoğunlukla hematoloji, koagülasyon, biyokimya ve sitolojik test parametreleri talep edilmektedir. Bu derlemede veteriner klinik laboratuvarlarında pre-analitik sürece ait hata kaynakları ile ilgili en güncel bilgilerin aktarılması amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Kan alma, laboratuvar hatası, pre-analitik süreç, veteriner laboratuvarı

Pre-Analytical Phase in Veterinary Clinical Laboratories

Summary: According to “TS EN ISO 15189 Medical laboratories: Requirements for quality and competence”, pre-analytical phase includes clinician’s patient identification, examination and determination of the test to be done in preparation for the sampling, collection of samples, delivery to the laboratory and sample control prior to analyses for the evaluation of the desired test. In Veterinary Clinical Laboratories, pre-analytical phase mostly involves blood and urine samples, and these samples are generally used for haematology, coagulation, biochemistry and cytology test parameters. This review is aimed to convey the latest information about error sources in Veterinary Clinical Laboratories.

Key words: Blood collection, laboratory error, pre-analytical phase, veterinary laboratory

Giriş

Tıbbi tahlil laboratuvarlarında, kan örneklerinin alınması özel eğitimli personeller tarafından gerçekleştirilip, hastalar talep edilen testlere göre yönlendirilerek uygun koşullar altında örneklerin alınması sağlanmaktadır. Veteriner Klinik Laboratuvarlarında ise pre-analitik süreç daha sınırlı bir kapsama sahiptir. Özellikle kan alma süreci kliniklerde gerçekleştirildiği için pre-analitik sürecin bir kısmı tamamen laboratuvarın kontrolü dışındadır. Hayvanların hazırlanması, örnek alma ve laboratuvara ulaştırılması veteriner klinik laboratuvarlarının kontrolü dışında gelişir ve pre-analitik faz, örneğin laboratuvara ulaşması ile başlamaktadır. Pre-analitik hataların veteriner klinik laboratuvarlarında kantitatif önemini ortaya koyan çalışmalar kısıtlıdır. Hooijberg ve ark. (25) yaptığı çalışmada veteriner klinik laboratuvarlarında ortaya çıkan hataların 2/3’sinin pre-analitik süreç ile ilgili olduğunu bil-

dirmişlerdir.

Hayvanlardan örnek alınması veteriner hekimler veya veteriner teknikerleri tarafından yapılmaktadır. Örnek alımı sırasında hayvanların tok olup olmadıkları, yaptıkları seyahatten ötürü stres altında olmaları, yeni bir klinik ortamına getirilmelerinin gerginliğini taşıyabilecekleri göz önünde bulundurulmalıdır. Veteriner klinik laboratuvarlarının bu safhaları irdeleyerek, istenen test parametresine göre olası bir hatalı sonuca neden olabilecek veya test performansını etkileyebilecek bir örneğin reddedilebilmesi veya yeterli kalitede olmadığı yönünde muhakeme edebilmesi oldukça güçtür. Bununla beraber hatalı alınmış veya kalitesi düşük örnekler nedeniyle sonuçlarda hata, örneğin tekrar alınması, sonuçların hatalı değerlendirilmesi, personel ve finansal kaynakların verimsiz kullanılması gibi olumsuz getirileri de olacaktır.

Pre-analitik sürece ait hata kaynaklarını bilerek ve önlemeye yönelik çalışmalar yapmak veya analiz sonuçlarının değerlendirmesi sırasında hata kaynaklarını göz önünde bulundurmamak ge-

reklidir. Bu derlemede veteriner klinik laboratuvarlarında pre-analitik sürece ait hata kaynakları aktarılmaya çalışılarak klinisyen veteriner hekimler veya veteriner teknikerleri ile laboratuvar dallarında uzman veya bu sektörde çalışan teknik personelin (veteriner tekniker, laborant gibi) ulaşabileceği en güncel bilgilerin yer aldığı bir derleme oluşturulması amaçlanmıştır.

Pre-Analitik sürece etki eden teknik faktörler

Teknik faktörler, istenen test veya testlere göre örneğin uygun teknik ve materyal kullanılarak alınması, muhafazası ve laboratuvara iletilmesi gibi unsurları içermektedir. Bunlar, fark edilmesi daha kolay ve TS EN ISO 15189 gibi laboratuvar kalite standartlarına göre oluşturulacak prosedürlerle kontrol altında tutulabilen etkilidir.

Örnek toplanması

Doğru kan alma tüpünün seçimi: Genel öneriler özel makalelerde, bazı kitapların bölümlerinde, özel veya kamu laboratuvarlarının internet siteleri veya test kitapçıklarında ve bu alanda yayın yapan profesyonellerin hazırladığı internet sitelerinde bulunmaktadır (3,5,31,32,40,59,63).

Tam kan, plazma ve serum: Tam kan antikoagulan madde içeren tüplere alınan kandır ve başta tam kan sayımı (hemogram) olmak üzere çoğunlukla hematolojik testlerde (kan grubu tayini, kan frotisi, direkt coombs test, immünolojik testler gibi) kullanılmaktadır. Bu amaç için memeli hayvanlarda sıvı formda tripotasyumlu (K_3) veya dipotasyum (K_2) tuzu şeklinde kuru formda (tüp içerisine püskürtülmüş) etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) kullanılmaktadır (59). Günümüzde en çok plastik K_2 EDTA tüpleri kullanılmaktadır ve çoğunlukla ticari firmalar tarafından eflatun renkli kapağa sahip olarak kullanım amacına göre farklı hacimlerde (0.5 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 10 mL gibi) üretilmektedir. Bazı memelilerde, özellikle kedilerde, EDTA trombositlerin kümeleşmesine (agregasyon) neden olmaktadır ve bunu engellemek için ek maddeler kullanılması önerilmektedir (22).

Kuş, sürüngen ve diğer türlerde ise lityum heparin içeren kan alma tüpleri kullanılması önerilmektedir (61). Bu tüplerde EDTA tüplere benzer şekilde ticari olarak farklı hacimlerde (2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 10 mL gibi) üretilmektedir ve açık yeşil kapağa sahiptirler. Sınırlı kullanım alanı olan bir diğer heparinli tüp ise sodyum heparin içeren kan alma tüpüdür. Bu tüpler koyu yeşil kapaklı olup daha çok insan hekimliğinde lityum düzeyi ölçmek için tercih edilir.

Birçok kaynakta biyokimyasal analizler için se-

rum veya heparin kullanılarak elde edilen plazma kullanımı önerilmektedir. Serum elde etmek için kullanılan tüpler içerisinde pıhtılaşmayı engelleyecek herhangi bir antikoagulan madde bulunmamaktadır. Bu tüplerde farklı hacimlerde (0.5 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 10 mL gibi) üretilmekte olup, özelliğine göre farklı kapak renklerine sahiptirler. Günümüzde serum elde etmek için en çok kullanılan tüpler altın renk kapaklı ve içerisinde ayrışmayı kolaylaştıran ve kan hücresel elemanları ile serum arasında girerek tekrar karışmasını engelleyen jel (tikotropik jel) ve tüp çeperinde pıhtılaşma aktivatörleri bulunmaktadır. Bu tüplere aynı zamanda serum separatör tüpleri (SST) denmektedir. Serum elde etmek için kullanılan bir diğer tüp çeşidi ise içinde jel olmayan tüplerdir. Bu tüplere düz kuru tüp ismi de verilmekte ve kırmızı kapağa sahiptirler. Bu tüplerin de çeperinde pıhtılaşma aktivatörleri bulunmaktadır. Pıhtılaşma aktivatörleri partikül halinde suda çözünebilen polimerlerdir (31,59).

Biyokimyasal test parametrelerinde heparin kullanılarak elde edilen plazma ve serum için genellikle benzer sonuçlar elde edilir. Matematiksel olarak farklı sonuçlar gözlemlense de klinik değerlendirmedeki etkisi oldukça düşüktür. Fakat bazı test parametrelerinde plazma ve serum referans değerleri önemli derecede farklılık gösterebilmektedir (12,30,42,43).

Serum ve değişik plazmalar bazı biyokimyasal profillerde şaşırtıcı olabilir. Oluşan bir pıhtı bazı analitlerin konsantrasyonunda modifikasyonlara sebep olabilir. Örneğin, potasyum gibi hücre içi moleküller hücrelerden sızabilir. Ek olarak, pıhtı oluşumunda olan bir gecikme, çeşitli bozulmalara yol açar (peptid hormonlar, parathormon gibi). Bu gibi analitler, plazma örneklerinden proteaz inhibitörleriyle (aprotinin gibi) alınmalıdır (15).

Pıhtılaşma faktörlerinin analizinde ise içerisinde antikoagulan olarak sitrat bulunan tüpler kullanılmalıdır. Bu tüpler açık mavi renkli kapağa sahiptirler ve genellikle hacim çeşitliliği daha dardır (1.8 mL - 4.5 mL) (63).

Bu tüpler dışında daha farklı ve özel amaçlar için kullanılan tüpler de bulunmaktadır. Örneğin gri kapaklı sodyum florid/potasyum oksalat içeren tüpler glikoz ve keton madde analizinde tercih edilmektedir. Bu tüplere glikoz tüpü de denmektedir. Bunun yanında veteriner alanında pek kullanılmayan ama insan hekimliğinde kullanım alanı bulunan tüpler de bulunmaktadır. Eser

element analizleri için koyu mavi kapaklı kontamine edici metal içermeyen tüpler, bazı DNA testleri ve İnsan Lökosit Antijen (HLA) doku tiplendirme gibi testlerde kullanılan asit sitrat dekstroz içeren sarı/beyaz kapaklı tüpler, sedimentasyonda kullanılan siyah kapaklı tüpler örnek verilebilir (4,33).

Kan alma tüpleri cam veya plastik materyalden üretilmektedir. Günümüzde güvenlik nedenlerinden dolayı plastik tüpler daha çok kullanılmaktadır. Özellikle insanlarda plastik tüplerin kullanımına ilişkin olarak biyokimyasal ve hematolojik tetkikleri için uygun ve karşılaştırılabilir sonuçlar ortaya konulmuştur (35,60). Hayvanlarda ise böyle bir karşılaştırmanın eksikliği bulunmaktadır.

Kan örnekleri alınmadan önce tüp üzerindeki etiket bilgisi okunarak son kullanım tarihi kontrol edilmelidir ve süresi dolmuş tüpler kullanılmamalıdır. Ancak köpeklerde yapılan bir çalışmada son kullanma tarihi 11 ay geçmiş lityum heparinli tüplerin kullanılması sonucunda birçok analitin etkilenmediği tespit edilmiştir (17). Plastik antikoagülan tüplerde ise ayrıca kanın ne kadar alınması gerekliliğini belirten tüp üzerindeki işaret belirlenmelidir. Kan ve antikoagulanın birbirine oranı çok önemlidir ve doğru oranda karışması gereklidir. Örneğin kan olması gerekenden çok alınırsa istenmeyen pıhtılaşma şekillenebilir, hücrelerde bozunma olabilir. Son kullanım tarihi geçmiş ve/veya hatalı miktarda alınan kan, sonuçları etkileyecektir ve bu durum klinik laboratuvarlarda sıkça karşılaşılan pre-analitik hatalardan biridir (49).

Kan alma teknikleri ve yolları: Büyük hayvanlarda, genellikle rutin hematolojik ve biyokimyasal testler için farklı büyük damarlardan kan alınması arasında büyük fark yoktur, fakat kemirgenler ve kedilerde farklı damarlardan alınan kan örneklerinden elde edilecek sonuçların önemli derece farklılık gösterdiği bildirilmektedir. İneklerde kuyruk damarlarından toplanan kan örnekleri genellikle venöz ve arteryel kan, karışık alınabilir, ama bu da kan gazları ölçümünde karışıklığa yol açabilir. Kedi ve köpeklerde kulak arkasından alınan örnekler, geniş damarlardan alınanlara göre farklılık göstermektedir. Örneğin kedilerde hematokrit (HCT), plazma proteinleri ve köpeklerde plazma laktat düzeyleri farklılık göstermektedir (11). Deri temizleme genellikle hayvanlarda uygulanmaz ve bununla ilgili yayınlanmış bir rapor bulunmamaktadır. Örneğin; doğru teknik ve materyal kullanılmazsa, yanlış

venipunktür doku zedelenmesi, hematom oluşması, pıhtılaşma başlangıcının etkilenmesi, hemoliz ve enzim değerlerinde hatalı yükselişe sebep olabilir (10).

İdrar örneklerinin toplanması: Hayvanlardan idrar alınması genellikle urinasyon sırasında hayvan sahibinin temiz bir kap içine toplanması ile olur (free-catch sampling). Toplanan idrar "spot idrar" olarak isimlendirilir. Bu işlem sırasında mümkün olduğunca idrarın hayvanın herhangi bir vücut bölümüne temas etmemesine dikkat edilir. Örneğin alınacağı kap mutlaka steril idrar toplama kabı olmalıdır. Bunun yanında bakteriyolojik tetkikler uygulanacaksa katater veya sistosentez gibi aseptik teknikler kullanılmalıdır. Hayvanlarda spot idrar kolaylıkla toplanır, ancak 24 saatlik idrar toplanması oldukça zordur (7).

Tükürük örnekleri: Veteriner rutinde kullanımı yaygın değildir. İçeriğinde % 0.9 oranında anorganik madde ihtiva eder (32). Kortizol gibi bazı parametrelerin ölçümü ve kedilerin lösemi (FeLV) tanısında kana alternatif olabileceği bildirilmiştir (21,64).

Dışkı: Dışkının fiziksel ve kimyasal incelenmesi ile bazı metabolik ve patolojik durumlar saptanabilir. Bunlara örnek olarak gizli kan, hazım fermentleri ve vahşi hayvanlarda endokrin belirteçler (hormonlar) gösterilebilir. Dışkı örneği temiz bir kap içine alınıp taze halde laboratuvara gönderilmelidir (36,52,56).

Beyin-omurilik sıvısı (BOS): İçerik olarak organik ve anorganik maddeleri seruma göre daha düşüktür. Proteinlerden oldukça fakirdir. Kana göre glikoz yaklaşık % 60, Ca ise % 50 oranında daha düşüktür (32). Kedi ve köpeklerde BOS örneğinin alındığı bölge önem arz etmektedir. Lumbal bölgeden alınan BOS'da, atlanto-oksipital bölgeden alınan göre protein konsantrasyonu iki kat daha fazladır (8).

Sinoviyal sıvı: Sinoviyal örneklerin alındığı eklem bölgesine göre kimyasal ve hücresel bileşenlerde farklılıklar görülebilir. Hatalı alım tekniğine bağlı olarak iatrogenik hemoraji görülebilir (15).

Peritoneal sıvı: Atlarda, protein analizi ve hücre sayımı laparotomi veya kastrasyon sonrası yükselebilir (11).

Laboratuvar da örneklere uygulanan işlemler
Sıcaklık: Laboratuvar da ortam sıcaklığı + 18-26° C arası olmalı ve bunu muhafaza edecek şekilde yapılmalıdır. Genel olarak, örnekler oda sıcaklığında 2 saat dayanıklıdır ve analiz sonuçları en uygun düzeyde tespit edilebilir

(33). Kedilerde EDTA'lı tam kan örneğinin 48 saate kadar bekletildiğinde, yükselmiş MCV (ortalama eritrosit hacmi), HCT, retikulosit ve eozinofil sayım görülürken, MCHC (ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu) ve monosit sayımlarında düşüş tespit edilmiştir (23). Köpeklerde ise EDTA'lı tam kan 48 saat bekletildiğinde, MCV ve HCT sayımında artma, trombosit ve monosit sayımında azalma görülmüştür (9). Buna benzer olarak, birçok biyokimyasal analiz 24-48 saat oda sıcaklığında muhafaza edildiğinde nispeten kararlılığını devam ettirmektedir. Bunun yanında genellikle her laboratuvar da serum örneğinin saklanması gerekiyorsa -20 derecede dondurmak sureti ile bu işlem yapılmalıdır. Ayrıca bilirubin gibi ışığa duyarlı analizler için de örnek, karanlık ortamda muhafaza edilmelidir. Kateşolamin ve ACTH (adrenokortikotropik hormon) gibi dengesiz analizler veya başka peptidler ise kararsız olduğundan dolayı buzdolabı sıcaklığında (2-8°C) saklanmalıdırlar (31,67). Tam kan ile çalışılacak hematolojik testlerde örneklerin dondurulmaması gereklidir. Dondurma işlemi intra ve ekstrasellüler mikrokristallerin oluşmasına neden olarak hücresel hasarı şekillendirmektedir. Bu örnekleri dondurup çözündürme işlemi morfolojik değişiklikler ve sitoplazmik bileşenlerin hücre dışına çıkmasına neden olur. Serum ve plazma örnekleri uzun süreli muhafaza edilecek ise en iyi seçenek dondurmaktır. Burada dikkat edilmesi gereken nokta her bir test parametresinin dondurma işlemi ile ne kadar süre muhafaza edilebileceğinin bilinmesidir ve mutlaka bu dokümanite edilerek takip edilmelidir. Örneğin serumda albümin, -20° C' de 2 ay muhafaza edilebilirken, plazmada amonyak sadece 7 gün dayanıklıdır (18). İdrar ve dışkı örnekleri her zaman taze olarak laboratuvara ulaştırılmalı ve çalışmaya alınmalıdır. İdrar bakteriyolojik olarak incelenmek amacıyla gönderiliyorsa mutlaka aseptik şartlarda steril bir kapa alınmalıdır (7). Dondurulmuş olan serum ve/veya plazma örnekleri analize alınmadan önce dikkatli bir şekilde oda sıcaklığında çözündürülmeli ve mutlaka homojenize çözülmelidir. Bu örnekler için tekrar dondurma ve çözündürme döngüsünden kaçınılmalıdır. Bunun sebebi birçok analitin bozunuma uğrayacak ve dolayısı ile doğru sonuç alınamayacak olmasıdır. Buna rağmen köpeklerde ve ratlarda yapılan çalışmalarda bazı rutin biyokimya değerlerinin (köpeklerde Glikoz, Üre, Kreatinin, Total protein, Na, K, Cl, Ca, P, AST, ALT,

CK ve ALP; ratlarda Glikoz, Trigliseritler, Kolesterol, AST, ALT, ALP, Total Protein, Albümin, Üre, Ürik Asit, CK, Ca, P, Na, K, Cl) üç kere dondur-çözdür işleminden etkilenmediği görülmüştür (29,55). Benzer olarak insanlarda bazı analizlerin (ALT, AST, CK, GGT, Glikoz, Kreatinin, Kolesterol, Trigliseritler, Direkt Bilirubin) 10 kere dondur-işlemine rağmen stabilitelelerini koruduğu bildirilmiştir (16).

Santrifüj işlemi: Ağırlıkları önemli derecede farklı olan maddelerin yer çekimine bağlı olarak ayırım işlemi olup bu işlem için kullanılan aletlere santrifüj denir. Serum ve plazma ayırmak için santrifüj ekipmanı kullanılır, uygulanan kuvvet RCF (relatif santrifügal kuvvet) olarak ifade edilir ve yer çekimi kuvveti olan "g" nin çarpanları olarak verilir. Bu işlem ile kanın sıvı kısmı ve hücresel kısmı birbirinden ayrılır. Genellikle plazma ve serumun ayrılmasında önerilen santrifüj kuvveti ve süresi 1500-2000 g x 10 dakikadır. Ancak pratik uygulamada ticari olarak üretilen santrifüj cihazlarında sadece rpm (revolution per minute/devir:dakika) şeklinde bir hız ayarı bulunmaktadır ve rpm'in RCF ile ilgisi $RCF=1.118 \times 10^{-5} \times r \times rpm^2$ olarak ifade edilir. Buradaki "r" santrifüj rotorunun çapını ifade etmektedir. Dolayısı ile rotor çapına bağlı olarak aynı devirde aynı güç elde edilemeyeceği bilinmelidir. Serum ve plazma ayırmadan önce bu hususa dikkat edilmeli ve cihazın özelliklerine hakim olunması gereklidir (14,41).

Sitolojik örneklerde hücre konsantrasyonunu artırmak ve hücre morfolojisini korumak için daha düşük g kuvveti kullanılır. İdrarda ise hücre ve kristaller sayıları ile hız arasında ilişki olmadığından dolayı 400-3900 g x 5 dakika kullanılabilir (11).

Alınan ve laboratuvara ulaşan örneğin analiz öncesi son kontrolleri: Analizin sağlıklı bir şekilde sonuçlanması için örnek kalitesi önemlidir ve mutlaka kontrol edilmelidir. Örnek kontrolü, örneğin laboratuvara ulaşması ile başlar ve ilk önce transport koşulları değerlendirilir. Örnek, serum veya plazma şeklinde gönderilmişse standart olarak renk kontrolü yapılır. Eğer serum veya plazma ayrılmadan gönderilmişse bu işlem laboratuvar da gerçekleştirilir ve daha sonra renk kontrolü yapılır. Görsel yapılan değerlendirme genellikle tahminidir ve kesin gözlem için objektif teknikler kullanılmalıdır. Görsel değerlendirme sonucunda hemoliz, lipemi, ikterus gibi durumların varlığına bakılır (40).

Hemoliz, eritrositlerin hücre zarının parçalanma-

sı sonucu hemoglobin molekülünün dışarıya çıkması olayıdır ve derecesine göre serum rengi pembeden kırmızıya kadar renk değişikliği göstermektedir. İnsan ve veteriner laboratuvarlarında pre-analitik sürece ait en sık gözlemlenen hata hemolizdir. Serbest halde serumda bulunan hemoglobin ışık absorbandsını etkilemekte ve özellikle spektrofotometrik analizlerde hatalı sonuçlara neden olmaktadır. Etkime derecesi kullanılan yöntem ve analizöre göre değişiklik göstermektedir. İntrasellüler bileşenlerin (anyonlar, enzimler gibi) ölçümünde hemoliz nedeniyle sonuçlarda sapmalar görülür (2,65). Lipemi, serum veya plazmada lipitlerin normalin üstünde miktarlarda bulunması durumudur. Bu durum hiperlipidemili hastalarda veya tok karna örnek alınan hastalarda görülür. Lipemik serum ve plazmanın rengi beyazdan süt rengine kadar değişiklik göstermektedir. Lipemik örneklerle yapılan spektrofotometrik ölçümlerde hemolize benzer şekilde sapmalar meydana gelmektedir (46).

Hematolojik tetkikler için EDTA veya heparinli tüplere alınan kanlarda en sık görülen hata, pıhtı varlığıdır. Hemolizle birlikte laboratuvarlarda en çok görülen örnek ret nedenlerindedir. Pıhtılar gözle görülebilir düzeyde olabileceği gibi, dikkatli kontrol edildiğinde dahi gözden kaçabilen mikropıhtılar şeklinde de olabilir. Mikropıhtılar özellikle hücre sayımı ve pıhtılaşma faktörlerini etkileyebileceği cihaz problemlerini tıkayarak da zaman kaybı ve ek harcamalara neden olabilmektedir. Mikropıhtılar ve mikroskopik trombosit kümeleri/yığınları özellikle kedilere ait örneklerde sık görülür. Köpeklerde ise daha nadirdir (10,19,23).

Pre-analitik sürece etki eden biyolojik faktörler

Biyolojik faktörler teknik faktörlere göre daha kapsamlı unsurlar barındırır. Bunlar arasında aç/tokluk, stres, egzersiz, tür, bazen ırk, gebelik, cinsiyet, süt verimi, iklim, zaptı rapt ve çevresel koşullar gibi faktörler yer almaktadır. Biyolojik faktörlerin özellikle veteriner hekimliğinde kontrol altına alınması oldukça zordur. Bu nedenle laboratuvar sonuçlarının yorumlanması sırasında tüm mevcut etki eden faktörler dikkate alınmalıdır (31).

Beslenme: İnsan hekimliğinde genel olarak bir gece açlık (12 saat) önerilmektedir. Benzer uygulama hayvanlar için de geçerlidir. Özellikle postprandial lipeminin engellenmesi ile birçok analiz için klinik olarak değerlendirilmeye elveriş-

li sonuçlar alınabilir. Bu durum bazı monogastrik hayvanlarda (kedi ve köpek) uygulanabilmekte, ruminantlarda ise güç uygulanmakta veya uygulanamamaktadır. Sağlıklı köpeklerde açlık üre veya trigliserid konsantrasyonları tokluk düzeylerinden düşük çıkabilir. Postprandial etki ile kanda glikoz konsantrasyonu, pankreatik enzimler, safra asitleri, insülin gibi analitlerin düzeyleri değişiklik göstermektedir. Hayvanların besin içerikleri (mama veya rasyon) genel olarak rutin testleri etkilememektedir. Yeni doğanlarda, kolostrom nedeniyle serum total protein, immunoglobulin düzeyleri ile ALP ve GGT aktiviteleri yetişkinlere göre oldukça yüksektir (24,26,39,50,61).

Stres: Stres, akut durumlarda adrenomedullar veya subakut, kronik durumlarda kortikal hücreleri aktive etmek suretiyle ortaya çıkan bir durum olarak tanımlanabilir. Bireysel farklılıklar veya türlere bağlı olarak ulaşım, zaptı-rapt ve çevre gibi faktörler birer stres kaynağıdır. Kedilerde stresli bir kan alımı hiperglisemiye (450 mg/dl ye kadar) ve lenfositoya neden olabilir. Köpeklerde ulaşım stresine bağlı olarak ALP aktiviteleri artış gösterebilir, yine strese bağlı hiperglisemi görülebilir. Sığırlarda fiziksel yorgunluk, susuzluk, kötü beslenme gibi etkiler ulaşım ile birleşince ortaya çıkan stres nedeniyle glikokortikoid düzeyleri yükselir ve lökositoz görülür (47,48,53,54).

İlaç etkileri: İlaçlar veya metabolitleri, analitleri etkileyebilmektedir. Örneğin adrenokortikoid uyarıcılar ALP aktivitesinde yükselişe neden olurlar. Anestezi veya sedasyon uygulaması birçok vakada mecburi olabilmektedir. Bunların etkileri kullanılan etken maddenin ne olduğu ve dozuna bağlıdır (40). İnsanlarda anestezi sonrası vücut pozisyonu nedeniyle analiz konsantrasyonlarında değişiklik olmaktadır, ancak böyle bir etki hayvanlarda rapor edilmemiştir (66).

Hayvanlarda glikokortikoid ve nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçların etkileri araştırılmış ve hem hematolojik (örneğin lökositoz) hem de biyokimyasal değişimler (örneğin artan ALP aktivitesi) bildirilmiştir (20,37,38,44).

Organik fosforlu, karbamat ve delta aminolevulinate dehidratazların, kolinesterazları durdurması ve bunun da toksikasyonlara sebep olduğu bilinmekte, kanda ölçümü şüpheli durumlarda bilgi vermektedir (58).

Biyolojik ritimler: Üreme döngüleri de dâhil olmak üzere biyolojik ritimler veya hormonal sıklıslara bağlı olarak analitler değişkenlik gös-

terebilir. Yine belirli bir analitin sirkadyen ritimleri türlere göre farklılık gösterebilir. İnsan, maymun ve ratlarda kortizol düzeyleri sabah daha yüksek iken, çelişkili olarak bazı kaynaklarda köpeklerde neredeyse hiçbir değişiklik olmadığı, bazılarında ise özellikle gruplar halinde yaşayan köpeklerde değişimler olabileceği bildirilmektedir (34,51).

Yaş ve cinsiyet: Yaş ve cinsiyete bağlı fizyolojik varyasyonlar nedeniyle serum biyokimyasında değişimler gözlenebilir. Köpeklerde yapılan çalışmalarda bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin yaşa bağlı olarak önemli düzeyde değiştiği, cinsiyete bağlı olarak ise serum fosfor ve Ca/P oranının farklı olduğu bildirilmiştir (45,57).

Egzersiz: Fiziksel eforun tipine ve yoğunluğuna bağlı olarak farklı etkiler görülebilir. Özellikle düzenli olarak egzersiz yapılan yarış atları ve yarış köpeklerinde yapılan çalışmalarda yüksek hematokrit, c-reaktif protein (CRP), laktat ve potasyum ile amonyak konsantrasyonu gibi hematolojik ve biyokimyasal değişimler görülmüştür (1,27,62). Özellikle yoğun fiziksel aktivite sonrası örnek almadan önce hayvan dinlendirilmelidir.

Sonuç

Pre-analitik sürece etki eden birçok faktör bulunmakta ve laboratuvar analizlerini direkt olarak etkilemektedir. Bu faktörleri tamamen kontrol etmek imkânsız olsa da, iyi uygulanan, dokümanite edilmiş standart prosedürler ile kontrol altına alınarak en aza indirmek mümkündür.

Kaynaklar

1. Adamu AL, Adzahan NM, Rasedee A, Ahmad B. Responses of serum biochemical parameters, electrolytes and heart rate in an 80 km endurance race. *J Vet Adv* 2014; 4(1): 329-37.
2. Alleman AR. The effects of hemolysis and lipemia on biochemical constituents. *Veterinary Medicine* 1990; 85(12): 1272-84.
3. Anonim. BD Vacutainer venous blood collection, tube guide. http://www.bd.com/vacutainer/pdfs/plus_plastic_tubes_wall-chart_tubeguide_VS5229.pdf Erişim Tarihi: 20.01.2016.
4. Anonim. Blood Collection: routine venipuncture and specimen handling. University of Utah. <http://library.med.utah.edu/WebPath/TUTORIAL/PHLEB/PHLEB.html> Erişim tarihi: 20.01.2016.
5. Anonim. Eclinpath. Cornell University College of Veterinary Medicine. <http://www.eclinpath.com/test-basics/sample-collection-2/> Erişim Tarihi: 21.01.2016.
6. Anonim. TS EN ISO 15189 Tıbbi Laboratuvarlar - Kalite ve yeterlilik için genel şartlar. Türk Standartları Enstitüsü. 2014.
7. Archer J. Urine Analysis. Villiers E, Blackwood L. eds. In: BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology. Second Edition. Gloucester: BSAVA, 2007; pp. 149-68
8. Bienzle D, McDonnell JJ, Stanton JB. Analysis of cerebrospinal fluid from dogs and cats after 24 and 48 hours of storage. *J Am Vet Med Assoc* 2000; 216(11): 1761-4.
9. Bourges-Abella NH, Geffre A, Deshuillers PL, Braun JP, Trumel C. Changes in hematology measurements in healthy and diseased dog blood stored at room temperature for 24 and 48 hours using the XT-2000iV analyser. *Vet Clin Pathol* 2013; 43(1): 24-35.
10. Bowen RAR, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical assays. *Biochemia Medica* 2014; 24(1): 31-44.
11. Braun JP, Bourges-Abella N, Geffre A, Concordet D, Trumel C. The preanalytic phase in veterinary pathology. *Vet Clin Pathol* 2015; 44(1): 8-25.
12. Cerón JJ, Martínez-Subiela S, Hennemann C, Tecles F. The effects of different anticoagulants on routine canine plasma biochemistry. *Vet J* 2004; 167(3): 294-301.
13. Clements D. Arthrocentesis and synovial fluid analysis in dogs and cats. In *Practice* 2006; 28(5): 256-62.
14. Colville J. Blood Chemistry. Hendrix CM, eds. In: Laboratory procedures for veterinary technicians. Fourth Edition. Saint Louis: Mosby, 2002; pp. 75-103.
15. Connolly DJ, Hezzell MJ, Fuentes VL, Chang YM, Swan R, Syme HM. The effect of protease inhibition on the temporal stability of NT-proBNP in feline plasma at room temperature. *J Vet Cardiol* 2011; 13(1): 13-9.
16. Cuhadar C, Koseoglu M, Atay A, Dirican A. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. *Biochem Med* 2013; 23(1): 70-7.
17. Domingos MC, Médaille C, Concordet D, Briand-Marchal A. Is it possible to use expired tubes for routine biochemical analysis

- in dogs? *Vet Clin Pathol* 2012; 41(2): 266-71.
18. Erbil MK. Laboratuvar Testleri ve Klinik Kullanımı. GATA Komutanlığı Basımevi Müdürlüğü Etlik, Ankara, 2007; p. 16.
 19. Favalaro EJ, Funk DM, Lippi G. Pre-analytical Variables in Coagulation Testing Associated with Diagnostic Errors in Hemostasis. *Lab Medicine* 2012; 43(2): 1-10.
 20. Ginel PJ, Lucena R, Fernández M. Duration of increased serum alkaline phosphatase activity in dogs receiving different glucocorticoid doses. *Res Vet Sci* 2002; 72(3): 201-4.
 21. Gomes-Keller MA, Gönczi E, Tandon R, Riondato F, Hofmann-Lehmann R, Meli ML, Lutz H. Detection of feline leukemia virus RNA in saliva from naturally infected cats and correlation of PCR results with those of current diagnostic methods. *J Clin Microbiol* 2006; 44(3): 916-22.
 22. Granat F, Geffr'e A, Braun JP, Trumel C. Comparison of platelet clumping and complete blood count results with Sysmex XT-2000iV in feline blood sampled on EDTA or EDTA plus CTAD (Citrate, Theophylline, Adenosine, and Dipyridamole). *J Feline Med Surg* 2011; 13(12): 953-8.
 23. Granat F, Geffr'e A, Bourges-Abella N, Braun JP, Trumel C. Changes in haematology measurements with the Sysmex XT-2000iV during storage of feline blood sampled in EDTA or EDTA plus CTAD. *J Feline Med Surg* 2013; 15(6): 433-44.
 24. Gunn-Christie RG, Flatland B, Friedrichs KR, Szladovits B, Harr KE, Ruotsalo K, Knoll JS, Wamsley HL, Freeman KP. American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP). ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical, analytical, and postanalytical factors for urinalysis, cytology, and clinical chemistry in veterinary laboratories. *Vet Clin Pathol* 2012; 41(1): 18-26.
 25. Hooijberg E, Leidinger E, Freeman KP. An error management system in a veterinary clinical laboratory. *J Vet Diagn Invest* 2012; 24(3): 458-68.
 26. Humann-Ziehanck E, Ganter M. Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. *Animal* 2012; 6(7): 1115-23.
 27. Huntingford JL, Levine CB, Mustacich DJ, Corrigan D, Downey RL, Wakshlag JJ. The effects of low intensity endurance activity on various physiological parameters and exercise induced oxidative stress in dogs. *Open J Vet Med* 2014; 4(7): 134-44.
 28. Jacobs RM, Lumsden JH, Griff E. Effect of bilirubinemia, hemolysis, and lipemia on clinical chemistry analytes in bovine, canine, equine, and feline sera. *Can Vet J* 1992; 33(9): 605-8.
 29. Kale VP, Patel SG, Gunjal PS, Wakchaure SU, Sundar RS, Ranvir RK, Jain MR. Effect of repeated freezing and thawing on 18 clinical chemistry analytes in rat serum. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2012; 51(4): 475-8.
 30. Kamali H, Mohri M. Effects of heparin, citrate and EDTA on plasma biochemistry of cat: comparison with serum. *Revue Med Vet* 2015; 166(9-10): 275-9.
 31. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Sixth Edition. Amsterdam: Elsevier, Academic Press, 2008; pp. 99, 306, 351-378, 618.
 32. Karagul H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T. *Klinik Biyokimya*, Birinci Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, 2000; pp. 6-9
 33. Kiechle FL, Betsou F, Blakeney J, Calam RR, Catalasan IM, Raj P, Sadek W, Smith SA, Tang YW, Tomazic-Allen S. *Procedures for the handling and processing of blood specimens for common laboratory tests; Approved guideline. Fourth Edition (H18-A4)*. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standarts Institute, 2010; pp. 3-23
 34. Kolevska J, Brunclik V, Svoboda M. Circadian rhythm of cortisol secretion in dogs of different daily activities. *Acta Vet Brno* 2003; 72(4): 599-605.
 35. Kratz A, Stanganelli N, Van Cott EM. A comparison of glass and plastic blood collection tubes for routine and specialized coagulation assays: A comprehensive study. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130(1): 39-44.
 36. Kumar A, Mehrotra S, Dangi SS, Singh G, Chand S, Singh L, Mahla AS, Kumar S, Nehra K. Faecal steroid metabolites assay as a non-invasive monitoring of reproductive status in animals. *Vet World* 2013; 6(1): 59-63.
 37. Lobetti RG, Joubert KE. Effect of administration of nonsteroidal anti-inflammatory

- drugs before surgery on renal function in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 2000; 61(12): 1501-7.
38. Lowe AD, Campbell KL, Graves T. Glucocorticoids in the cat. *Vet Dermatol* 2008; 19(6): 340-7.
 39. Matsuzawa T, Sakazume M. Effects of fasting on haematology and clinical chemistry values in the rat and dog. *Comp Haematol Int* 1994; 4: 152-6.
 40. Meyer D, Harvey JW. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. Third Edition. St. Louis, Missouri: Saunders, 2004: pp. 3-26.
 41. Minder EI, Schibli A, Mahrer D, Nesic P, Plüer K. Effects of different centrifugation conditions on clinical chemistry and immunology test results. *BMC Clin Pathol* 2011; 11(6): 1-15.
 42. Mohri M, Allahyari L, Sardari K. Effects of common anticoagulants on routine plasma biochemistry of horse and comparison with serum. *J Equine Vet Sci* 2007; 27(7): 313-6.
 43. Mohri M, Rezapoor H. Effects of heparin, citrate, and EDTA on plasma biochemistry of sheep: comparison with serum. *Res Vet Sci* 2009; 86(1): 111-4.
 44. Moore GE, Mahaffey EA, Hoenig M. Hematologic and serum biochemical effects of long-term administration of anti-inflammatory doses of prednisone in dogs. *Am J Vet Res* 1992; 53(6): 1033-7.
 45. Mundim AV, Coelho AO, Hortencia AM, Guimaraes EC, Espindola FS. Influence of age and sex on the serum biochemical profile of Doberman dogs in the growth phase. *Comp Clin Pathol* 2007; 16(1): 41-6.
 46. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med (Zagreb)* 2014; 24(1): 57-67.
 47. Ochi T, Nishiura I, Tatsumi M, Hirano Y, Yahagi K, Sakurai Y, Sudo Y, Koyama H, Hagita Y, Fujimoto Y, Kitamura S, Hashimoto H, Nakamura T, Yamada A, Tanimoto M, Nishina N. Effects of transport stress on serum alkaline phosphatase activity in beagle dogs. *Exp Anim* 2013; 62(4): 329-32.
 48. Onasanya G, Oke FO, Sanni TM, Muhammad AI. Parameters influencing haematological, serum and bio-chemical references in livestock animals under different management systems. *Open J Vet Med* 2015; 5(8): 181-9.
 49. Özcan O, Güreşer AS. Analiz öncesi (preanalitik) hata kaynakları ve eğitimin hata önlemedeki rolü. *Dicle Tıp Derg* 2012; 39(4): 524-30.
 50. Pekcan M, Fidancı UR, Yüceer B, Özbeyaz C. Estimation of passive immunity in newborn calves with routine clinical chemistry measurements. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2013; 60: 85-8.
 51. Pessina P, Fernández-Foren A, Cueto E, Delucchi L, Castillo V, Meikle A. Cortisol secretion after adrenocorticotrophin (ACTH) and dexamethasone tests in healthy female and male dogs. *Acta Vet Scand* 2009; 51(1): 33.
 52. Piccione G, Fazio F, Giudice E, Grasso F, Caola G. Blood lipids, fecal fat and chymotrypsin excretion in the dog: influence of age, body weight and sex. *J Vet Med Sci* 2004; 66(1): 59-62.
 53. Rand JS, Kinnaird E, Baglioni A, Blackshaw J, Priest J. Acute stress hyperglycemia in cats is associated with struggling and increased concentrations of lactate and norepinephrine. *J Vet Intern Med* 2002; 16(2): 123-32.
 54. Rashid S, Shi ZQ, Niwa M, Mathoo JM, Vandelangeryt ML, Bilinski D, Lewis GF, Vranic M. Beta-blockade, but not normoglycemia or hyperinsulinemia, markedly diminishes stress-induced hyperglycemia in diabetic dogs. *Diabetes* 2000; 49(2): 253-62.
 55. Reynolds B, Taillade B, Médaille C, Palenché F, Trumel C, Lefebvre HP. Effect of repeated freeze-thaw cycles on routine plasma biochemical constituents in canine plasma. *Vet Clin Pathol* 2006; 35(3): 339-40.
 56. Rice JE, Ihle SL. Effects of diet on fecal occult blood testing in healthy dogs. *Can J Vet Res* 1994; 58: 134-7.
 57. Strasser A, Niedermüller H, Hofecker G, Laber G. The effect of aging on laboratory values in dogs. *Zentralbl Veterinarmed A* 1993; 40(9-10): 720-30.
 58. Tecles F, Panizo CG, Subiela SM, Ceron JJ. Effects of different variables on whole blood cholinesterase analysis in dogs. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14: 132-9.
 59. Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Second Edition. Philadelphia: Wiley-Blackwell, 2012; pp. 3-50.

60. Van Cott EM, Lewandrowski KB, Patel S, Grzybek DY, Patel HS, Fletcher SR, Kratz A. Comparison of glass K3EDTA versus plastic K2EDTA blood-drawing tubes for complete blood counts, reticulocyte counts, and white blood cell differentials. *Lab Hematol* 2003; 9(1): 10-4.
61. Vap LM, Harr KE, Arnold JE, Freeman KP, Getzy K, Lester S, Friedrichs KR. American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP). ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical and analytical factors for hematology for mammalian and nonmammalian species, hemostasis, and crossmatching in veterinary laboratories. *Vet Clin Pathol* 2012; 41(1): 8-17.
62. Wakshlag JJ, Stokol T, Geske SM, Greger CE, Angle CT, Gillette RL. Evaluation of exercise-induced changes in concentrations of C-reactive protein and serum biochemical values in sled dogs completing a long-distance endurance race. *Am J Vet Res* 2010; 71(10): 1207-13.
63. Weiss JW, Wardrop KJ. Schalm's Veterinary Hematology, Sixth Edition. Philadelphia: Wiley-Blackwell, 2010; pp. 1083-1100.
64. Wenger-Riggenbach B, Boretti FS, Quante S, Schellenberg S, Reusch CE, Sieber-Ruckstuhl NS. Salivary cortisol concentrations in healthy dogs and dogs with hypercortisolism. *J Vet Intern Med* 2010; 24(3): 551-6.
65. Yiğitbaş T, Şentürk BA, Baskın Y, Öney M, Üstüner F. Hemolizin rutin acil biyokimya testlerine etkisi. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2010; 8(3): 105-10.
66. Young DS. Preanalytical variables and biological variation. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DR. eds. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Fifth Edition. Philadelphia: Elsevier, 2010; pp. 119-44.
67. Young DS, Bernes EW, Haverstick DM. Specimen collection and other preanalytical variables. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. eds. In: *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, Sixth Edition. Philadelphia: Saunders-Elsevier. 2007; pp. 42-61.

Sorumlu yazar:

Dr. Serkan SAYINER
Yakın Doğu Üniversitesi
Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,
Yakın Doğu Bulvarı, Lefkoşa 99138
Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti
Tel: 0 392 675 10 00 / 3151
E-posta: serkan.sayiner@neu.edu.tr