

KLİNİK  
BİYOKİMYA  
DENEYLERİ

HAZIRLAYAN  
Yrd. Doç. Dr. SİBEL AVUNDUK

## İÇİNDEKİLER

1. İDRARIN İNCELENMESİ.....	3
1.1 İdrar ve özellikleri .....	3
DENEY 1.2 İdrarın fiziksel özelliklerinin incelenmesi .....	3
1.2.1 İdrarın renginin incelenmesi.....	3
1.2.2 İdrarın transparan özelliğinin incelenmesi .....	4
1.2.3 İdrarın kokusunun incelenmesi .....	4
1.2.4 İdrarın kıvamının incelenmesi.....	4
1.2.5 İdrarın volümünün ölçülmesi .....	5
1.2.6 İdrarın pH'ının incelenmesi.....	5
DENEY 1.3 İdrar sedimentinin incelenmesi.....	6
DENEY 1.4 İdrar yolları taşlarının incelenmesi .....	8
1.4.1 Bir idrar yolu taşının ürat taşı olup olmadığının incelenmesi .....	8
(mürexid deneyi) .....	8
1.4.2 Bir idrar yolu taşının fosfat taşı olup olmadığının incelenmesi .....	9
1.4.3 Bir idrar yolu taşının oksalat taşı olup olmadığının incelenmesi .....	10
1.4.4 Wohlk deneyi ile idrarda laktoz aramak .....	10
2. KARACİĞER FONKSİYON TESTLERİ.....	10
DENEY2.1 İKTERUS İNDEKSİ TESTİ.....	10
DENEY 2.2 KANDA SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE BİLİRUBİN TAYİNİ .....	11
DENEY 2.3 Gmelin yöntemi ile bilirubini tanımlama deneyi.....	11
DENEY 2.4 TAKATA-ARA REAKSİYONU .....	12
DENEY 2.5 AST Tayini .....	12
DENEY 2.6 ALT Tayini .....	13
3. BÖBREK FONKSİYON TESTLERİ.....	13
DENEY 3.1 İDRARDA KREATİNİN TAYİNİ (JAFPE YÖNTEMİ) .....	13
DENEY 3.2 KANDA KREATİNİN TAYİNİ .....	14
DENEY 3.3 KANDA ÜRİK ASİT TAYİNİ .....	14
DENEY 3.4 KANDA ÜRE TAYİNİ .....	15
4. HEMOGLOBİN DENEYLERİ.....	16
DENEY 4.1 KANDA HEMOGLOBİN TAYİNİ .....	16
DENEY 4.2 İDRARDA HEMOGLOBİN TAYİNİ.....	16
DENEY 4.3 Demir/TIBC TAYİNİ .....	17
5.Kanda Kalsiyum tayini .....	19
DENEY 5.1 Clark-follip metodu .....	19
6. idrarda KALSİYUM tayini .....	20
DENEY 6. 1 Sulkowitch testi .....	20
DENEY 7. KANDA SODYUM TAYİNİ.....	21
DENEY 8. KANDA POTASYUM TAYİNİ .....	22
DENEY 9. KANDA MAGNEZYUM TAYİNİ.....	23
DENEY 10. idrarda inorganik fosfor tayini .....	24
DENEY 11. kanda inorganik fosfor tayini .....	25
12. idrarda nitel klorür tayini.....	26
DENEY 12. 1 FANTUS testi .....	26
13. AMİ BELİRTEÇLERİ .....	26
DENEY 13.1 CK Tayini .....	26
DENEY 13.2 TROPONİN I TAYİNİ .....	27
14. TÜMÖR BELİRTEÇLERİ .....	28
DENEY 14.1 KANDA ACP TAYİNİ .....	28
DENEY 14.2 KANDA ALP TAYİNİ.....	29

# 1. İDRARIN İNCELENMESİ

## 1.1 İdrar ve özellikleri

İdrar, böbreklerde oluşan ve idrar yolları ile atılan sıvıdır. İdrarın rengi, 24 saatlik volümü, transparan özelliği, kokusu, kıvamı, dansitesi, pH'ı gibi fiziksel özellikleri, çeşitli patolojik durumlarda değişebilmekte ve bunların incelenmesi, patolojik durumların saptanmasında yararlı olmaktadır.

İdrarda normal olarak %96 oranında *su* bulunur. İdrarda ayrıca *inorganik maddeler* olarak sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, klorür, fosfat, amonyak, sülfat ile az miktarda demir, bakır, nitrit, bikarbonat gibi maddeler bulunur; *azotlu organik maddeler* olarak üre, kreatinin, ürik asid, kreatin, hippürik asid, indikan, ürobilinojen, ürobilin ile az miktarda amino asitler, enzim, hormon ve vitaminler bulunur.

İdrarda azotsuz organik maddelerden glukoz, glukuronik asid, kolesterol, keton cisimleri, oksalatlar, organik tuzlar, organik asitler, kükürtlü bileşikler, enzimler, hormonlar, vitaminler genel olarak yok denecek kadar azdırlar.

## DENEY 1.2 İdrarın fiziksel özelliklerinin incelenmesi

### 1.2.1 İdrarın renginin incelenmesi

\* *Verilen idrar numunesinin rengini inceleyiniz, gözlemlerinizi not ediniz ve değişik renklerin nedenlerini tartışınız.*

İdrarın normal rengi, amber sarısıdır; bu renk, idrarda bulunan, ürokrom denen ve yapısı tam olarak bilinmeyen maddelerden ileri gelir.

Çok açık sarı, yeşilimsi sarı veya renksiz idrar; kronik interstisyel nefritte, diyabetes mellitusta, diyabetes insipitusta, demir metabolizması bozukluğunda ve anemilerde görülebilir.

Sarı idrar; ürobilinojen ve ürobilin artışında, bazı ilaçların alınması ve havuç yenmesi durumlarında görülür.

Çay rengi idrar; hepatitlerde idrarda bilirubin bulunması durumunda görülür, idrar çalkalanınca iki dakikadan uzun süre kalan sarı-yeşil renkli köpük oluşur.

Yeşil idrar; idrar yolları antiseptiği olarak metilen mavisi kullanılmasında, indikan fazlalığında, idrarda bilirubin bulunmasında, Psödomonas aeruginosa gibi bakterilerin varlığında görülür.

Kırmızı idrar; hematüri ve hemoglobüri durumlarında, bazı ilaçların ve kırmızı pancar gibi yiyeceklerin alınması durumlarında görülür.

Pembe-kahverengi idrar; porfiriyalarda görülür.

Siyah idrar; melanin bulunması durumunda, indikan artışında görülür. Alkaptonüride idrar beklemekle siyahlaşır.

Süt görünümü idrar; fosfat ve ürat artışında, idrarda yağ ve prostatik sekresyon bulunması durumunda görülür.

### 1.2.2 İdrarın transparan özelliğinin incelenmesi

\* Verilen idrar numunesinin transparan özelliğini inceleyiniz, gözlemlerinizi not ediniz ve idrarın bulanık olmasının nedenlerini tartışınız.

Taze ve hafif asid olan idrar normalde berraktır; üreme organlarından karışan salgılarıyla mesane ve idrar yolları duvarının yüzeylerinden karışan çok az miktarda musin türünden bazı maddeler, durmakla sigara dumanı dalgaları şeklinde ayrılabilir ve dibe doğru inerek *nubekula* denen çökelti oluştururlar.

İdrarda bulanıklık, üratlar, fosfatlar, oksalatlar, hücresel elemanlar ve bakterilerden ileri gelebilir.

Üratlardan ileri gelen bulanıklık, soğukta oluşur; ısıtma ve asetik asid etkisiyle kaybolur.

Fosfatlardan ileri gelen bulanıklık, alkalik idrarda oluşur; ısıtma ile belirginleşir, asetik asid etkisiyle kaybolur.

Oksalatlardan ileri gelen bulanıklık, hafif asid ve hafif alkalik idrarda oluşur; asetik asid etkisiyle kaybolmaz, HCl etkisiyle kaybolur.

Dejenere olmuş lökosit gibi iltihap cisimciklerinden ileri gelen bulanıklık, idrara %10'luk NaOH çözeltisi damlatıldığında jelatinsel bir saydamlığa dönüşür.

Bakterilerden ileri gelen bulanıklık, ısıtma, asidlendirme ve alkalilendirme ile kaybolmaz.

### 1.2.3 İdrarın kokusunun incelenmesi

\* Verilen idrar numunesinin kokusunu inceleyiniz, gözlemlerinizi not ediniz ve değişik kokuların nedenlerini tartışınız.

Her idrar kendine has özel bir kokuya sahiptir; idrarın kokusu, alınan ve idrarla atılan ilaçlardan etkilenebilir.

Meyve esansı veya asetonlu gibi kokan idrar; asidoz, ketoz ve ileri derecede diyabetes mellitusta olabilir.

Amonyak kokusu; beklemiş ve kokuşmuş idrarda olabilir.

Sıçan gibi kokan idrar; fenil ketonüride olabilir.

Karamela gibi kokan idrar; akçaağaç şurubu idrar hastalığında olabilir.

### 1.2.4 İdrarın kıvamının incelenmesi

\* Verilen idrar numunesinin kıvamını inceleyiniz, gözlemlerinizi not ediniz ve değişik kıvamların nedenlerini tartışınız.

İdrar, normalde akıcıdır ve çalkalamakla oluşan köpük çabuk kaybolur.

İltihaplı, albuminli, kanlı idrarlarda çalkalamakla oluşan köpük çabuk kaybolmaz.

### 1.2.5 İdrarın volümünün ölçülmesi

\* Verilen idrar numunesinin volümünü ölçünüz, bulduğunuz değeri not ediniz ve 24 saatlik idrar volümünde değişikliklerin nedenlerini tartışınız.

İdrar volümü, dereceli silindir(mezür) ile ölçülür. 24 saatte çıkarılan idrar miktarı ortalama olarak erkeklerde 1500 mL, kadınlarda 1200 mL kadardır. Alınan su miktarı, böbrek dışı yollardan su kaybı ve diyet, günlük idrar miktarını etkiler; proteinden zengin beslenmede ürenin diüretik etkisi nedeniyle idrar miktarı artar.

24 saatlik idrar miktarının devamlı olarak 400 mL'den az olması **oligüri** olarak tanımlanır; 50 mL'den az olması **anüri** olarak tanımlanır; 2000 mL'den fazla olması **poliüri** olarak tanımlanır.

Oligüri; akut renal yetmezlikte, obstrüktif üropatilerde, kronik renal yetmezliğin preterminal ve terminal döneminde, akut glomerülonefritte, yanıklarda, ağır dehidratasyonda, travmatik şokta, birçok ameliyattan sonra görülen aşağı nefroz sendromunda görülür.

Poliüri; diyabetes mellitusta, diyabetes insipitusta, kronik renal yetmezliğin başlangıç döneminde görülür.

### 1.2.6 İdrarın pH'ının incelenmesi

#### 1.2.6.1 Turnusol kağıdı ile idrar pH'ının incelenmesi

**Prensip:** Turnusol kağıdı, alkalik(bazik) ortamda mavi; asid ortamda kırmızıdır..

**Gerekenler:** 1) Mavi turnusol kağıdı. 2) Kırmızı turnusol kağıdı.

**Uygulama:** 1) Bir mavi turnusol kağıdı, idrar içine daldırılır; turnusol kağıdında renk değişimi olup olmadığına bakılır ve sonuç not edilir. 2) Bir kırmızı turnusol kağıdı, idrar içine daldırılır; turnusol kağıdında renk değişimi olup olmadığına bakılır ve sonuç not edilir.

**Açıklama:** Turnusol kağıtları, rengi pH'a göre değişen ve indikatör denen maddeleri içermektedirler. Turnusol kağıtlarındaki indikatörün rengi, alkalik ortamda mavidir, asid ortamda ise kırmızıdır.

İdrara daldırılan mavi turnusol kağıdının rengi değişmezse; idrar pH'ı 7'den büyüktür veya 7'dir; idrar, alkalik veya nötrdür. Mavi turnusol kağıdının rengi kırmızıya dönüşürse, idrar pH'ı 7'den küçüktür; idrar, asidiktir.

İdrara daldırılan kırmızı turnusol kağıdının rengi değişmezse; idrar pH'ı 7'den küçüktür veya 7'dir; idrar, asidik veya nötrdür. Kırmızı turnusol kağıdının rengi mavie dönüşürse, idrar pH'ı 7'den büyüktür; idrar, alkaliktir.

\*Nötr yani pH'ı 7 olan idrar, turnusol kağıtlarının rengini değiştirmez.

**Tartışma:** Beklenmeyen sonuçların nedenlerini tartışınız. İdrar pH değerini sayı olarak veren özel pH kağıtları da vardır; böyle bir idrar stripi ile idrar pH'ı ölçümü yaparak turnusol kağıdı ile bulduğunuz sonuçları kontrol ediniz ve tartışınız.

Karışık besin alan sağlıklı bir insanın idrarının pH'ı normalde 6,2 civarındadır; 4,8'e kadar inebilir veya 8,2'ye kadar çıkabilir.

Proteinden zengin beslenmede idrar pH'ı asid tarafa kayar. Meyve ve bitkisel besinlerden zengin beslenmede idrar pH'ı alkali tarafa kayar, ancak erik ve kıvılcık gibi benzoik asid içeren meyveler idrar pH'ını asid tarafa kaydırır.

$\text{NH}_4\text{Cl}$  alınması idrar pH'ını asid tarafa kaydırır; bikarbonat alınması da alkali tarafa kaydırır.

Kuvvetli hiperpne hallerinde idrar pH'ı alkali tarafa kayar; kuvvetli bir sindirim sırasında mideden fazla HCl salgılandığında da idrar alkalik olur.

Kassal çalışma idrar pH'ını asid tarafa kaydırır.

Potasyum yetmezliğinde ve hiperaldosteronizmde idrar alkalikdir.

Renal yetmezlik ve renal tübüler hastalıklar gibi durumlarda ortaya çıkan renal asidozda idrar alkalikdir.

Mesane ve idrar yolu iltihaplarında mikropların etkisiyle üre parçalanır ve idrar pH'ı alkali tarafa kayar.

### DENEY 1.3 İdrar sedimentinin incelenmesi

İdrar sedimentinin incelenmesi için, bir santrifüj tüpüne idrar numunesinden bir miktar konur. Bu santrifüj tüpü, bir başka tüple dengelenerek santrifüj aletine konur ve dakikada 1500-2000 devirde 3-5 dakika santrifüj edilir. İdrar tüpü santrifüjden alınır ve aşağıya doğru 45° eğilerek içindeki berrak idrar, başka analizler için başka tüplere alınır veya dökülür. Santrifüj tüpünün dibindeki çökelti yeniden çalkalanarak süspansiyon haline getirilir ve bu süspansiyondan 1 damla bir lam üzerine alınır. Lamdaki damla, kenarlardan taşmayacak ve hava kabarcığı da kalmayacak şekilde bir lamelle kapatılır. Böylece hazırlanan preparat, mikroskopta incelenir. Önce, mikroskopun küçük objektifi (10X) ile 100 defa büyütürük bütün alanlar kontrol edilir ve şekilli elemanların bol olduğu yerler büyük objektif (40X) ile 400 defa büyütürük incelenir. Direkt, fakat parlak olmayan ışıktaki şekilli elemanlar daha iyi görülür; genellikle kondensatör uzaklaştırılır veya diyafram kısılır.

İdrar sedimentini incelemenin sonucu, 400 defa büyütmede 20 mikroskopik alanda raslanan şekilli elemanların ortalamasına göre rapor edilir: 0-2 şekilli eleman, nadir; 2-4 şekilli eleman, tek tük; 5-20 şekilli eleman, sayısıyla; 50'den fazla şekilli eleman, bol olarak ifade edilir.

İdrar sedimentinde şekilli elemanlar, çeşitli özellikleriyle tanınırlar:

**İdrar sedimentinde eritrositler;** iyi korunmuşlarsa açık yeşilimtrak renkte ve yuvarlak görülürler; mikro-vida hafifçe oynatıldığında iç içe iki halka saptanabilir. Dikine duran eritrositler bisküvi şeklinde görülürler. Konsantre idrarda eritrositler büzüşmüş, orak şeklinde görülebilirler.

**İdrar sedimentinde lökositler;** eritrositlere göre daha büyük ve granüllüdürler; görünümleri, idrar pH'ına göre değişir. Lökositler, asid veya hafif alkalik idrarda granüllü bir sitoplazma ve belirgin renksiz bir çekirdek içeren yuvarlak, büyük hücrelerdir; alkalik idrarda ise şeffaf, sınırları kaybolmuş bir sitoplazma ve belirgin olmayan çekirdek içeren şişmiş, büyük hücrelerdir. İdrar sedimentindeki lökositler, % 3' lük asetik asidden 1 damla lamelin kenarına damlatıldığında daha belirgin olurlar; asetik asid, sitoplazmadaki küçük granüllerin yok olmasını, fakat lökosit çekirdeğinin belirgin görülmesini sağlar.

İdrar sedimentinde bol lökosit olması halinde, asid ve nötral idrarlarda beyaz bir çökelti gözlenir; alkalik idrarlarda bulanık bir boyanmış sediment görünümü gözlenir.

İdrar sedimentinde görülen lökositlerin biraraya gelerek küme oluşturup oluşturmadıkları da araştırılır ve lökosit kümeleri görülürse, bunlar da değerlendirme sonuç raporunda belirtilir.

**İdrar sedimentinde epitel hücreleri;** yassı epitel hücreleri , idrar yolları epiteli hücreleri, böbrek epiteli hücreleri olabilir. Yassı epitel hücreleri, küçük çekirdekli, yassı veya poligonal, idrar sedimentindeki en büyük hücrelerdir; genellikle kenarları katlanmış görünümündedirler. Bazen birbirine bağlı olarak birkaç hücre bir arada bulunabilir. İdrar yolları epiteli hücrelerinden üst kat hücreleri, küçük yassı epitel hücrelerine benzerler; orta kat hücreleri, genellikle armut veya iğ şeklinde görülürler; en alt tabaka hücreleri, yuvarlak, nispeten küçük çekirdekli hücrelerdir. Böbrek epiteli hücreleri, büyük bir damla şeklinde çekirdekleri olan yuvarlak veya poligonal hücrelerdir; genellikle yağ damlacıkları içeren bir sitoplazmaları vardır; bazen küme, bazen de zincir şeklinde sıralanan hücre toplulukları halinde görülürler.

**İdrar sedimentinde silindirler;** distal tubulus boşluğu içinde hücre ve proteinlerin birikmesiyle oluşmuş, çeşitli uzunlukta ve oluştuğu tubulusün çapına uygun kalınlıkta silindir şeklinde elemanlardır; keskin sınırlı, yuvarlak veya künt uçludurlar; düz veya eğri, nadiren köşeli veya spiral şekilli olabilirler. Özellikle lamelin kenarlarında ve küçük büyütme ile aranmalıdır. Hiyalin silindirler, homojen, şeffaf, jelatine benzer bir maddeden yapılmışlardır. Granüle silindirler, bazen büyük bazen küçük protein granülleri ve yağ damlalarından oluşmuşlardır. Epiteliyal silindirler, genellikle granül ve yağ damlacıkları içerirler; otoliz nedeniyle hücre ve çekirdek sınırları kısmen kaybolmuştur. Lökosit silindirleri, ya birbirine yapışmış lökositlerden ya da hiyalin silindir üzerine oturmuş lökositlerden oluşmuşlardır. Eritrosit silindirleri, ya birbirine yapışmış eritrositlerden ya da hiyalin silindir üzerine oturmuş eritrositlerden oluşmuşlardır. Mum silindirler, genellikle diğer silindirlerden daha büyük ve geniştirler; ana madde, homojen, ışığı şiddetle kırar ve açık sarımsı renktedir. Dev silindirler, kısmen hiyalin kısmen granüle karışık silindirlerdir. Yağ silindirleri, ışığı şiddetle kırarak silindir şeklinde elemanlardır.

**İdrar sedimentinde kristaller;** idrar pH'ına göre çeşitli olabilirler: **Asid idrarda görülebilen kristaller**, amorf ürat, ürik asid kristalleri, sistin kristalleri, lösin kristalleri, tirozin kristalleri olabilir. Amorf ürat, makroskopik olarak balçık renginde çökelti oluşturur; mikroskopta küçük tanecikler halinde ve genellikle küçük topluluklar oluşturmuş halde görülürler; silindir şeklinde de toplanabilirler ve bu durumda granüle silindirlerden güç ayırdedilirler. Ürik asid kristalleri, makroskopik olarak sarımsak kahverengi tanecikler şeklinde idrar toplama kabının kenarlarında tanınabilirler. mikroskopta sarımsak kahverengi veya kırmızı renkte, çeşitli boy ve şekillerde görülürler; bileği taşı, halter, fiçı şekilleri siktir ve rozet şeklinde toplanma eğilimi gösterirler. Sistin kristalleri, ürik asid kristallerine benzerler; ışığı fazla kırarak sekiz köşeli plaklar şeklindedirler ve genellikle birbirini örtmüş olarak bulunurlar. Lösin kristalleri, nadirdirler; küre şeklindedirler ve genellikle radyer veya konsantrik hatlara sahiptirler. Tirozin kristalleri, ince iğneler şeklindedirler. **Hafif asid, nötral veya hafif alkalik idrarda görülebilen kristaller**, kalsiyum oksalat kristalleri, tersiyer kalsiyum fosfat kristalleri, sulfonamidler olabilir. Kalsiyum oksalat kristalleri, ışığı şiddetle kırarak zarf, nadiren halter veya bisküvi şeklindedirler; büyüklükleri değişiktir; ikterik idrarda sarı renkli görülürler; sık görülen şekilli elemanlardır. Tersiyer kalsiyum fosfat kristalleri, renksiz, genellikle bir ucu kama şeklinde sivri iğneler şeklindedirler; sivri uçları biraraya toplanarak rozet şekli oluşturabilirler. Sulfonamidler, makroskopik olarak sarı bir çökelti oluştururlar; mikroskopta amorf veya sarı yeşil renkli iğne, halter, yıldız şekillerinde görülürler. **Nötral veya alkalik idrarda görülebilen kristaller**, magnezyum fosfat, kalsiyum karbonat kristalleri olabilir. Magnezyum fosfat kristalleri, makroskopik olarak bütün renkleri veren yanar döner ince pulcuklardır; ince bir yağ tabakasını hatırlatırlar. mikroskopta kenarları kırılmış lameller düzensiz dizilmiş görünümü verirler. Kalsiyum karbonat kristalleri, makroskopik olarak nadiren fosfatlar gibi bir çökelti oluştururlar; mikroskopta amorf tanecikler veya küre şeklinde görülürler; genellikle halter şeklinde birbirleri ile birleşmişlerdir. **Alkalik idrarda görülebilen**

**kristaller**, amorf fosfat, tripel fosfat(amonyum magnezyum fosfat), amonyum ürat olabilir. *Amorf fosfat*, makroskopik olarak bol bulunan lökositler gibi çökelti oluştururlar; mikroskopta ince taneli renksiz kitleler olarak görülürler. *Tripel fosfat(amonyum magnezyum fosfat)*, idrar çabuk soğumuşsa kar tanesine benzer, yavaş soğumuşsa tabuta benzer prizmalar şeklinde görülürler. *Amonyum ürat*, yer elması veya şalgama benzer şekillerde görülürler.

İdrar sedimentinin incelenmesinde çeşitli kaynaklı hatalar olabilir: Hızlı ve uzun süre santrifüj, silendirleri bozabilir. Santrifüjden sonra santrifüj tüpünün dibinde kalan sedimentin çalkalanarak süspansiyon haline getirilmesi iyi yapılmamış olabilir. Lamelin altında hava kabarcığı kalması ve lamelin dışına idrar taşması hatalı değerlendirmeye neden olabilir. *Eritrositler, mantar hücreleri, ürat kristalleri ve yağ damlaları ile karıştırılabilirler*; ayırıcı tanı şu şekilde yapılır. Lamelin kenarına %3'lük asetik asid damlatılmasıyla eritrositler erirler; mantar hücreleri genellikle zincir oluşturmuş halde görülürler ve asetik asidde erimezler; ürat kristalleri koyu kahverengi ve çeşitli büyüklükte dirler; yağ damlaları ışığı şiddetle kırarlar, çeşitli büyüklükte dirler ve genellikle ovaldirler. *Parçalanmış lökositler amorf fosfatlar ile karıştırılabilirler*; ayırıcı tanı şu şekilde yapılır. Lamelin kenarına %3'lük asetik asid damlatılmasıyla fosfatlar, eriyerek kaybolurlar. Silendirler, düşük dansiteli, alkalik ve uzun süre beklemekle bakteri üremiş idrar örneklerinde hızla bozulurlar; böbrek yetmezliğine bağlı olarak idrar konsantre ve asid olamıyorsa birkaç NaCl kristali veya birkaç damla konsantre HCl eklenmek suretiyle silendirler korunabilir. Silendiroidler ve psodosilendirler, silendir sanılabilirler; ayırıcı tanı şu şekilde yapılır. Silendiroidler musin veya epitel hücrelerinden oluşurlar, şerit şeklinde ve uçları pürtüklüdür; psodosilendirler asetik asidle eriyen fosfat veya ısıtmakla eriyen üratlardan oluşan şekilli elemanlardır. Normal idrarda da bir miktar bulunabilen ve durmakla çöken müküs, mikroskopta uzun ve saydam şeritler şeklinde görülür, kristalleri ve hatta hücreleri örtebilir.

## DENEY 1.4 İdrar yolları taşlarının incelenmesi

İdrarda bulunan kalsiyum fosfat, ürik asid gibi bazı maddeler, koruyucu kolloidlerin etkisiyle aşırı doymuş çözeltiler halinde çökmeden atılabilmektedirler. Ancak, idrarda koruyucu kolloidlerin azalması durumunda, normalde aşırı doymuş çözeltiler halinde atılan maddeler idrar yollarında çökerler ve idrar yolları taşlarını oluştururlar. İdrar yolları taşları, fosfat taşları, oksalat taşları, ürat taşları, miks taşlar olabilir.

*Fosfat taşları*, açık renkli toprak gibidirler; elle kolayca ezilirler. *Oksalat taşları*, pürtüklü yüzeyli, esmer renklidirler; çok serttirler. *Ürat taşları*, düzgün yüzeyli, esmer renkli, küçük taşlardır; serttirler. *Miks taşlar*, fosfat-oksalat veya oksalat-ürat karışımı taşlardır.

### 1.4.1 Bir idrar yolu taşının ürat taşı olup olmadığının incelenmesi (mürexid deneyi)

**Prensip:** Ürik asid ile nitrik asidin birlikte ısıtılması sonucunda purpurik asid oluşur.

**Gerekenler:** 1) İdrar yolu taşı. 2) Porselen havan ve havaneli. 3) Konsantre HNO<sub>3</sub> 4) % 20'lik NaOH çözeltisi. 5) Porselen kapsül. 6) Bunzen beki alevi. 7) Saçayak 8) Amyant tel kafes.

**Uygulama:** 1) İdrar yolu taşı havanda ezilerek toz haline getirilir ve bir porselen kapsüle bu tozdan bir miktar konur. 2) Kapsüldeki idrar yolu taşı üzerine 1-2 damla konsantre HNO<sub>3</sub> damlatılır. 3) Porselen kapsül, bir saçayak üzerinde, içindeki madde kuruyuncaya kadar ısıtılır



ve sonra soğutulur. 4) Soğuyan kapsüldeki leke üzerine 1 damla NaOH damlatılır; lekedeki renk değişimine göre sonuç rapor edilir:

Soğuyan kapsüldeki leke üzerine 1 damla NaOH damlatıldığında mavi-menekşe renk gözlenirse, idrar yolu taşının ürat taşı olduğu sonucuna varılır.

Soğuyan kapsüldeki leke üzerine 1 damla NaOH damlatıldığında mavi-menekşe renk gözlenmezse, idrar yolu taşı ürat taşı değildir.

**Açıklama:** İdrar yolu taşının ürat taşı olması durumunda, deney sırasında önce ürik asid ile nitrik asidin birlikte ısıtılması sonucunda purpurik asid oluşur, daha sonra da purpurik asidin NaOH ile reaksiyonlaşması ile mavi-menekşe renkli izopurpurik asid sodyum tuzu oluşur; gözlenen mavi-menekşe renk, oluşan izopurpurik asid sodyum tuzundan ileri gelmektedir.

**Tartışma:** Deneyde NaOH yerine amonyak çözeltisi kullanılsaydı, ürat taşı ile mavi-menekşe renk yerine mor renk oluştuğu gözlenirdi. Çünkü, purpurik asid ile amonyağın oluşturduğu izopurpurik asid amonyum tuzu, mavi-menekşe değil, mor renklidir. Bazen ısıtma sırasında porselen kapsüldeki idrar yolu taşında bulunan üreden amonyak oluşur ve bu, idrar yolu taşının ürat taşı olması durumunda lekenin kendiliğinden mor renk almasına neden olabilir. Deney sırasında beklenmeyen sonuçların nedenlerini de tartışınız.

#### 1.4.2 Bir idrar yolu taşının fosfat taşı olup olmadığının incelenmesi

**Prensip:** Fosfat, amonyum molibdat ile ısıtma sonucunda suda güç çözünen, sarı renkli amonyum fosfomolibdat oluşturur.

**Gerekenler:** 1) İdrar yolu taşı. 2) Porselen havan ve havaneli. 3) Konsantre  $HNO_3$  4) % 12,5'lik amonyum molibdat çözeltisi. 5) Pipet 6) Deney tüpleri. 7) Bunzen beki alevi.

**Uygulama:** 1) İdrar yolu taşı havanda ezilerek toz haline getirilir ve bir deney tüpüne bu tozdan bir miktar konur. 2) Deney tüpündeki idrar yolu taşı üzerine 1 mL konsantre  $HNO_3$  eklenerek karıştırılır ve taş tozu çözülür. 3) Tüpteki karışım üzerine 2 mL %12,5'lik amonyum molibdat çözeltisi eklenir ve karıştırılır. 4) Tüpteki son karışım, kaynama noktasına kadar ısıtılır; renk değişimine göre sonuç rapor edilir:

Kaynama noktasına kadar ısıtılan son karışımda limon sarısı bir renk ve çökelti oluşumu gözlenirse, idrar yolu taşının fosfat taşı olduğu sonucuna varılır. İstenirse lam-lamel arasına alınan çökelti mikroskopta incelenerek iğne demeti şeklinde fosfat kristalleri görülebilir.

Kaynama noktasına kadar ısıtılan son karışımda limon sarısı bir renk ve çökelti oluşumu gözlenmezse; idrar yolu taşı, fosfat taşı değildir.

**Açıklama:** İdrar yolu taşının fosfat taşı olması durumunda, deney sırasında fosfat ile amonyum molibdatın ısıtılması sonucunda amonyum fosfomolibdat oluşur; gözlenen limon sarısı renk ve çökelti, oluşan amonyum fosfomolibdattan ileri gelmektedir.

**Tartışma:** Deney sırasında beklenmeyen sonuçların nedenlerini de tartışınız.

### 1.4.3 Bir idrar yolu taşının oksalat taşı olup olmadığının incelenmesi

- Toz haline getirilmiş taştan bir deney tüpüne bir miktar konur
- 1/10 oranında sulandırılmış HCl'den 4 mL eklenerek kaynar dereceye kadar ısıtılır.
- Karışım sıcakken süzülür ve süzüntüye 1 mL %16 mg'lık KMnO<sub>4</sub> çözeltisi eklenir.
- Çözeltinin 10 dakika içinde renksizleşmesi taşın oksalat taşı olduğunu gösterir.

### 1.4.4 Wohlk deneyi ile idrarda laktoz aramak

bir deney tüpüne 5 mL idrar, 2-3 mL derişik amonyak ve 5 damla %10'luk KOH konup karıştırılır.

Karışım, 50-70°C'lik su banyosunda ısıtılır.

Karışımın ısıtılması sırasında birkaç dakika içinde kırmızı renk oluşumu gözlenmesi laktoz (+) olarak rapor edilir.

## 2. KARACİĞER FONKSİYON TESTLERİ

### DENEY2.1 İKTERUS İNDEKSİ TESTİ

Bu test safra pigmentlerine dayanan karaciğer fonksiyon testlerinden biridir. Bilirubin renklidir ve protein varlığında 460 nm'de maksimum absorbands verir. İşte bu absorbands ölçülerek serumdaki bilirubin miktarı kabaca da olsa ölçülmüş olacaktır. Standart olarak potasyum bikromat çözeltisi kullanılarak sonuçlar ikterus indeksi ünitesi olarak rapor edilir. Bazı bileşikler örneğin karotenler sarı renk vererek testi etkileyebilir. Bu etkiyi önlemek üzere serum asetonla ekstrakte edilir.

#### Malzemeler:

Aseton ayıracı: 78 ml aseton ile 100 ml saf su karıştırılır.

Stok standart: 0.61 g K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> ile içerisine 2-3 damla derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> katılmış 100 ml saf su

Çalışma standardı: 1 ml stok standart 1-2 damla derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içeren su ile 100 ml'ye tamamlanır. Bu standart 10 İkterus İndeksi Ünitesi'ne eşdeğerdir.

#### Yapılışı:

Deney tübüne 1 ml serum konur. 9 ml soğuk aseton çözeltisi katıp karıştırılır ve filtre edilir. Bu esnada asetonun uçmaması için üzeri bir saat camı ile örtülür. Süzüntü 450 nm'de okunur. Kör olarak (1 ml saf su + 9 ml aseton çözeltisi) karışımı kullanılır. Ayrıca çalışma standardı da aynı dalga boyunda okunur.

## DENEY 2.2 KANDA SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE BİLİRUBİN TAYİNİ

### Malzemeler:

Metil Alkol

Kör diazo çözeltisi: 15 ml derişik HCl saf su ile lt'ye tamamlanır.

Diazo ayıracı: Aşağıda belirtilen A ve B çözeltilerinden hazırlanır.

A çözeltisi: 985 ml saf suya 15 ml derişik HCl eklenir. Üzerine 1 g sülfanilik asit konur ve çözününceye kadar karıştırılır.

B çözeltisi: 0.5 g sodyum nitrit 100 ml balon jodede çözülür ve 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti buzdolabında bozulmadan birkaç ay saklanabilir.

Diazo reaktifini hazırlamak için 10 ml A çözeltisine 0.3 ml B çözeltisi eklenir ve karıştırılır.

### Yapılışı:

İki adet deney tüpünden birine 4.4 ml saf su, diğerine 0.1 ml serum konur. 1. tüpe 1 ml kör diazo reaktifi 2. tüpe ise 1 ml diazo reaktifi konur. Tüpler çalkalanarak karıştırılır. 1 dakika sonra tüpler 450 nm'de (540 nm) su körüne karşı spektrofotometrede okunurlar. Bu direkt bilirübindir.

Her iki tüpe 5. 5 ml metil alkol eklenir. Üç defa ters çevirilerek karıştırılır. 20 dakika kendi haline bırakılır. Tüplerin absorbanları 450 nm'de (540 nm) okunur. Bu da total bilirübindir. Total bilirübinden direkt bilirübünün çıkartılmasıyla da indirekt bilirubin bulunur.

## DENEY 2.3 Gmelin yöntemi ile bilirubini tanımlama deneyi

Bilirubin, nitrik asitle oksitlenerek yeşil renkli biliverdin oluşturur; biliverdinden de biliverdin oksidasyon ürünleri oluşur.

**Malzemeler:** 1) Bilirubinli sıvı (Safra). 2) Konsantre HNO<sub>3</sub> 3) Pipet 4) Deney tüpleri.

**Yapılışı:** 1) Bir deney tüpüne 1 mL konsantre HNO<sub>3</sub> konur. 2) Tüpteki konsantre HNO<sub>3</sub> üzerine 2 mL bilirubinli sıvı tabakalandırılır. 3) Tüpte sıvı tabakalarının temas yerinde aşağıdan yukarıya doğru sarı üzerinden kırmızı, mor, yeşil renk oluştuğu gözlenir.

Açıklama: Deneyde önce bilirubin, nitrik asitle oksitlenerek yeşil renkli biliverdin oluşturur; daha sonra biliverdin de oksitlenerek biliverdin oksidasyon ürünleri oluşur. Tüpte tabakaların temas yerinde gözlenen yeşil renk, oluşan biliverdinden ileri gelmektedir; diğer renkler de biliverdin oksidasyon ürünlerinden ileri gelmektedir.

## DENEY 2.4 TAKATA-ARA REAKSİYONU

**Malzemeler:** %0.9 sodyum klorür çözeltisi  
%10'luk sodyum karbonat çözeltisi  
%0.25 Civa klorür çözeltisi

**Yapılışı:** 8 adet tüp aşağıdaki şekilde pipetlenir.

Reaktifler	1	2	3	4	5	6	7	8
Serum	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
%0.9 NaCl	1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7
%10 Sodyum karbonat	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
%0.25 Civa klorür	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3
%mg Civa klorür konsantrasyonu	100	90	80	70	60	50	40	30

Çökelmeler gözlenir. Çökelmenin olduğu en küçük konsantrasyon belirlenir. Bu sınır konsantrasyonudur. Normal serumlar için sınır konsantrasyonu %100 mg'ın üzerinde olduğundan bu değer altındaki konsantrasyonlarda çökeltme gözlenmez.

## DENEY 2.5 AST Tayini

L-Aspartat+2-oksoglutarat  $\xrightarrow{\text{AST}}$  Oksalasetat+L-Glutamat

Oksalasetat + NADH + H<sup>+</sup>  $\xrightarrow{\text{MDH}}$  L-Malat + H<sub>2</sub>O + NAD<sup>+</sup>

Malzemeler:

Ayıraç R1: L-Aspartat, LDH, MDH

Ayıraç R2: 2-oksoglutarat, NADH

Yapılışı:

Ayıraç Hazırlama: 4 hacim R1, 1 hacim R2 ile karıştırılır.

Ölçülecek örnekten 100 µl, hazırlanmış ayıraçtan 1000 µl spektrofotometre küvetine konarak karıştırılır ve 1 dakika sonra 340 nm'de absorbanı ölçülür. Ölçüm 1 dakika, 2 dakika ve 3 dakika sonra tekrarlanır.

Hesaplama: Ölçülen absorbanların ortalaması x 1745 = AST aktivitesi (U/L)

## DENEY 2.6 ALT Tayini

L-Alanin + 2-oksoglutarat  $\xrightarrow{ALT}$  Piruvat + L-Glutamat

Piruvat + NADH + H<sup>+</sup>  $\xrightarrow{LDH}$  L-Laktat + H<sub>2</sub>O + NAD<sup>+</sup>

Malzemeler:

Ayıraç R1: L-Alanin, LDH, LDH

Ayıraç R2: 2-oksoglutarat, NADH

Yapılışı:

Ayıraç Hazırlama: 4 hacim R1, 1 hacim R2 ile karıştırılır.

Ölçülecek örnekten 100 µl, hazırlanmış ayıraçtan 1000 µl spektrofotometre küvetine konarak karıştırılır ve 1 dakika sonra 340 nm’de absorbanası ölçülür. Ölçüm 1 dakika, 2 dakika ve 3 dakika sonra tekrarlanır.

Hesaplama: Ölçülen absorbanların ortalaması x 1768 = AST aktivitesi (U/L)

## 3. BÖBREK FONKSİYON TESTLERİ

### DENEY 3.1 İDRARDA KREATİNİN TAYİNİ (JAFTE YÖNTEMİ)

Kreatinin alkale pikrat çözeltisi ile kırmızı bir renk verir. Bu rengin şiddeti 520nm’de okunur.

**Malzemeler:** Alkale pikrat çözeltisi: 5 hacim pikrik asit 1 hacim %10’luk NaOH çözeltisi ile karıştırılır.

Kreatinin standardı: 50 mg kreatinin, 1 ml derişik HCl’de çözülür ve saf su ile 1lt’ye tamamlanır (0.05mg/ml), buzdolabında saklanır.

1/20 oranında seyreltilmiş 24 saatlik idrar

**Yapılışı:** Deney tüpleri aşağıdaki gibi pipetlenir.

	Örnek	Standart 1	Standart 2	Standart 3	Kör
İdrar	1 ml	-		-	-
Standart	-	1 ml	2 ml	3 ml	-
Alkale pikrat	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml
Saf su	2 ml	2 ml	1 ml	-	3 ml

Tüpler karıştırılır. Kör ile aletin sıfır ayarı yapılır. Bunun ardından önce standartlar sonra numune okunur. Standart okumalara göre absorbanı karşılık konsantrasyon eğrisi çizilir. Nmunenin absorbanı değerinden grafikte işaretlenerek konsantrasyonu mg/ml cinsinden bulunur ve aşağıdaki formülle bu miktar hesaplanır:

Örneğin standart eğriden okunan absorbanı x 20 x 24 sa idrar hacmi  
 1000 = mg kreatinin/24 sa idrar

## DENEY 3.2 KANDA KREATİNİN TAYİNİ

**Malzemeler:** Pikrik asit çözeltisi (% 1.2)

%10'luk NaOH çözeltisi

Stok kreatinin standart çözeltisi: 100 ml'lik bir balon jöjeye 0.1 g kreatinin konur. Üzerine 10 ml 0.1 N HCl eklenir, çözülür ve saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

Standart Kreatinin çözeltisi: Litrelik bir balona 30 ml stok kreatinin çözeltisinden konur, üzerine 10 ml HCl eklenir ve saf su ile litreye tamamlanır.

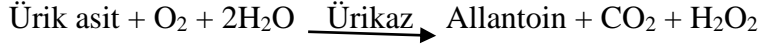
Alkale pikrat çözeltisi: 25 ml pikrik asit çözeltisi ve 5 ml %10'luk NaOH çözeltisi karıştırılır.

%10'luk TCA

**Yapılışı:** Serum üzerine eşit miktarda TCA çözeltisi konarak santrifüj edilir. Süzüntüden 2 ml alınıp bir tüpe konur. Diğer bir tüpe de standart kreatinin çözeltisinden 1 ml konur. Her iki tüp saf su ile 10 ml'ye tamamlanır. Her iki tüpe de 5 ml alkale pikrat çözeltisi konur. 3-10 dakika sonra 540 nm'de absorbanları okunur. Hesaplama şöyle yapılır:

$$\text{Litrede gram kreatinin} = \frac{\text{Standardın absorbanı}}{\text{Örneğin absorbanı}} \times 0.03$$

## DENEY 3.3 KANDA ÜRİK ASİT TAYİNİ



Malzemeler: Ürik asit ayırıcı: 4-Aminoantipirin, 3,5-diklor-2-hidroksibenzensülfonat (DHBS)

Ürik asit Standardı: (5 mg/dl)

Yapılışı:

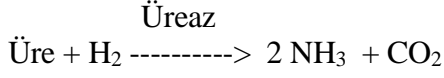
	KÖR	STANDART	ÖRNEK
Ürik asit ayırıcı	1 ml	1 ml	1ml
Bütün tüpler 37 <sup>0</sup> 'de 3 dakika inkübe edilir.			
Serum			25 µl
Bütün tüpler 37 <sup>0</sup> 'de 10 dakika inkübe edilir.			

İnkübasyondan sonra spektrofotometre 502 nm'de köre karşı kör ile sıfırlanır ve standart, örnek tüplerinin absorbanları ölçülür.

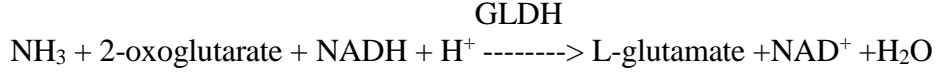
$$\text{Hesaplama: } \frac{\text{Örneğin absorbanı}}{\text{Standardın absorbanı}} \times 5$$

## DENEY 3.4 KANDA ÜRE TAYİNİ

Üre öncelikle üreaz varlığında amonyak ve karbondioksit vermek üzere hidrolize olur.



İkinci aşamada birinci reaksiyonda oluşan amonyak 2-oksoglutarat ve NADH ile glutamate dehidrojenaz (GLDH) varlığında L-glutamat ve NAD verir.



NADH'ın oksitlenmesi 340 nm'de absorbans azalışına neden olur ve kandaki üre miktarını verir.

**Malzemeler:** R1 ayıracı: glutamat dehidrojenaz, Üreaz,

R2 ayıracı: 2-okso glutarat, NADH,

Ayıracın hazırlanması: 4 hacim R1 ile 1 hacim R2 karıştırılır. (0.6 ml R2 + 2.4 ml R1)

Üre Standardı: **(42.8 mg/dl)**

	KÖR	STANDART	ÖRNEK
Ürik asit ayıracı	-	3 ml	3 ml
Saf su	3 ml (x 2)	-	-
Üre Standardı	-	10 µl	-
Serum	-	-	10 µl

### Hesaplama

$$\text{Üre (mg/dl)} = \frac{\text{Örneğin absorbansı}}{\text{Standardın absorbansı}} \times 42.8$$

## 4. HEMOGLOBİN DENEYLERİ

### DENEY 4.1 KANDA HEMOGLOBİN TAYİNİ

Ferrisiyanür hemoglobinindeki  $Fe^{+2}$ 'yi  $Fe^{+3}$ 'e çevirerek methemoglobin oluşturur. Bu bileşik potasyum siyanürle birleşerek dayanıklı bir pigment olan siyanmethemoglobini oluşturur.

**Malzemeler:** Drakbinçözeltisi: Çözelti berrak açık sarı renktedir. Bulanıklık oluşursa atılmalıdır. Çözeltinin hazırlanması için 1 g  $NaHCO_3$ , 0.05 g KCN, 2 g  $K_3Fe(CN)_6$  konulup 1 lt saf suda çözülür.  
Kapiller kan veya antikoagülanlı kan

**Yapılışı:** Dene tüpüne 5 ml drakbin çözeltisi konur. Hb pipeti ile 0.02 ml kan alınır ve çözelti içine konur, karıştırılır. En az 15 dakika beklenir, siyanhemoglobin oluşur. 540 nm dalga boyunda kör çözelti olarak drakbin çözeltisi kullanılarak absorpsiyon okunur. Ve aşağıdaki formülden hesaplanır.

$$\frac{\text{Örneğin ansorbansı}}{\text{Standardın ansorbansı}} \times \%g \text{ Hb}_{\text{standart}} = \% \dots\dots\dots g \text{ Hb}_{\text{örnek}}$$

### DENEY 4.2 İDRARDA HEMOGLOBİN TAYİNİ

Bu deney hemoglobinin Fe grubunun hidrojen peroksitle benzidin arasındaki oksidoreduksiyonu katalizlemesine dayanır. Böylece benzidin dehidrate olur, ve yeşil renkli bir madde verir, benzidin molekülünden ayrılan hidrojen ise hidrojen peroksit üzerine taşınır ve onu suya indirger.

**Malzemeler:** %3'lük  $H_2O_2$  çözeltisi  
Benzidinin derişik asetik asitteki %1'lik çözeltisi

**Yapılışı:** Benzidinin derişik asetik asitteki çözeltisinden 1 ml ve %3'lük  $H_2O_2$  çözeltisinden 1 ml karıştırılır. Bu karışım yeşil görünmemelidir. Damla damla idrar konur, yeşil veya mavi-yeşil bir renk görülürse, idrarda hemoglobin vardır.



## DENEY 4.3 Demir/TIBC TAYİNİ

Hidroksilamin içeren asidik tamponun eklenmesi ile serumdaki demir demir (III)-transferrin kompleksinden çözündürülür ve demir(III) demir(II)'ye indirgenir. Renkli bir bileşik olan Ferren serumdaki demir ile renkli demir(II)-kompleksi haline gelir. Bu rengin şiddeti 560 nm'de ölçülür.

Doymamış demir bağlama kapasitesi(UIBC) ise seruma demir(II) katılmasıyla ölçülür. Böylece transferindeki doymamış kısma katılan demir bağlanır. Ortamdaki demir(II) iyonlarının fazlası ise ferrozin ile renkli kompleks oluşturarak bu rengin şiddeti spektrofotometrede ölçülür. Eklenen demir(II) iyonları ile ölçülen demir(II) iyonları arasındaki fark bize doymamış demir bağlama kapasitesini verir. Total demir bağlama kapasitesi doymamış demir bağlama kapasitesine serum demir değerinin eklenmesi ile bulunur.

### Malzemeler

Demir tampon ayırıcı: hidroksilamin içeren asetat tamponu

UIBC tampon ayırıcı: tris tamponu ve soryum azit

Demir renk ayırıcı: hidroksilamin hidroklorür içinde çözülmüş ferrozin

Demir standardı (500 µg/dl) : hidroksilamin hidroklorürde çözülmüş 500 µg demir.

### Yapılışı:

	Örnek	Standart	Kör
Serum	0.5 ml	-	-
Standart	-	0.5 ml	-
Demir tampon ayırıcı	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml
Saf su	-	-	0.5 ml

Köre karşı kör ile 560 nm'de sıfırlama yapılır. Bütün tüplerin absorbanları ölçülür (A<sub>1</sub>).

	Örnek	Standart	Kör
Serum	-	-	-
Standart	-	-	-
Demir renk ayırıcı	0.05 ml	0.05 ml	0.05 ml
Saf su	-	-	-

Bütün tüpler karıştırılır ve 37<sup>0</sup>C'de 10 dakika su banyosunda tutulur. Köre karşı kör ile 560 nm'de sıfırlama yapılır. Bütün tüplerin absorbanları ölçülür (A<sub>2</sub>).

### Hesaplama

$$\frac{(A_{2\delta} - A_{1\delta})}{(A_{2std} - A_{1std})} \times C_{std} = \text{Total Demir } (\mu\text{g/dl})$$

## Doymamış demir kapasitesi (UIBC)

	Örnek	Standart	Kör
Serum	0.5 ml	-	-
Standart	0.5 ml	0.5 ml	-
UIBC tampon ayıracı	2.0 ml	2.0 ml	2.0 ml
Saf su	-	0.5 ml	0.5 ml

Köre karşı kör ile 560 nm'de sıfırlama yapılır. Bütün tüplerin absorbanları ölçülür ( $A_1$ ).

	Örnek	Standart	Kör
Serum	-	-	-
Standart	-	-	-
Demir renk ayıracı	0.05 ml	0.05 ml	0.05 ml
Saf su	-	-	-

Bütün tüpler karıştırılır ve 37<sup>0</sup>C'de 10 dakika su banyosunda tutulur. Köre karşı kör ile 560 nm'de sıfırlama yapılır. Bütün tüplerin absorbanları ölçülür ( $A_2$ ).

## Hesaplama

$$C_{\text{std}} - \frac{(A_{2\text{ö}} - A_{1\text{ö}})}{(A_{2\text{std}} - A_{1\text{std}})} \times C_{\text{std}} = \text{UIBC } (\mu\text{g/dl})$$

$$\text{TIBC } (\mu\text{g/dl}) = \text{Serum demir} + \text{UIBC}$$

## 5.Kanda Kalsiyum tayini

### DENEY 5.1Clark-follip metodu

Serumdaki kalsiyum amonyum oksalat eklenmesiyle kalsiyum oksalat şeklinde çöktürülür. Amonyum oksalat'ın fazlası seyreltik amonyum hidroksit ile yıkanarak uzaklaştırılır. Sülfürik asit eklenmesiyle kalsiyum oksalattan meydana gelen okzalik asit potasyum permanganat ile titre edilir ve buradan kalsiyum miktarına geçilir.

#### Malzemeler:

Serum

%4'lük amonyum oksalat

Sülfürik asit çözeltisi: 28 ml sülfürik asit 1 L'ye tamamlanır.

0.01 N potasyum permanganat: Önce 0.1 N potasyum permanganat hazırlanır. 1 litrelik balon jöjeye 3.2 g katı  $KMnO_4$  (Merck 1.05080) tartılır. Üzerine 700 mL saf su eklenerek kaynama sıcaklığının ( $70^\circ C$ ) altında 5 dakika ısıtılır. Daha sonra 1 litrelik balonjöje hacim çizgisine kadar saf su eklenerek tamamlanır. Ve çözelti bu sıcaklıkta yarım saat bekletilir.

İndirgenme neticesinde oluşan  $MnO_2$  süzülerek alınır. Süzme işlemi cam krozede yapılır.

Kullanılan malzemelerin çok temiz olmasına dikkat edilir. Hatta malzemeler kullanılmadan önce bir miktar permanganat çözeltisi ile çalkanarak çözelti atılır.

%2'lik amonyum hidroksit: 2 ml amonyum hidroksit saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

**Yapılışı:** 8-10 ml kan alınır. Pıhtılaşmaya bırakılır, santrifüj edilerek serum ayrılır. İki adet santrifüj tüpü alınır, 1.sine 2 ml saf su, 2 ml serum ve 1 ml %4'lük amonyum oksalat konur. 2. tüpe serum yerine saf su konup diğer reaktifler aynen eklenir. 1.tüp bilinmeyen, 2. tüp te kör deneydir. Tüpler iyice karıştırılır. 30 dakika beklenir. Bu süre içinde serumdaki kalsiyum kalsiyum oksalat halinde çöker. Tüpler 1500 devirde 5 dakika santrifüj edilir, üstteki berrak kısım alınıp atılır. Tüpler 2 dakika baş aşağı tutularak süzülmesi beklenir. Tüpün ağzında kalan süzgeç kağıdına emdirilir. 1 ml'lik bir pipet yardımıyla %2'lik amonyum hidroksit çözeltisi tüp dibindeki çökelek üzerine üflenerek çökelek parçalanır ve tüpün cidarı da aynı solüsyonla yıkanır. Bu amaçla kullanılacak olan amonyum hidroksit çözeltisi 5 ml'dir. Tüpler tekrar santrifüj edilir. Üstteki berrak sıvı alınıp, atılır. 2 dakika tüpler baş aşağı tutulur. Ağz kısmında kalan süzgeç kağıdına emdirilir. Tekrar 5 ml amonyum hidroksit çözeltisi ile yıkanır, tekrar santrifüj edilir. Üst kısım atılır, aynı şekilde ters çevrilerek kurutulur. Çökeleğin üzerine 2 ml sülfürik asit çözeltisi konur. Çökelek silkeleyerek parçalanır ve sülfürik asitte çözünmesi sağlandıktan sonra kaynar suda 1 dakika tutulur. Bu sürenin sonunda tüpler çıkarılır ve sıcak iken 0.01 N potasyum permanganat ile 1 dakika dayanan hafif pembe renk görülesiye kadar titre edilir. İlk önce kör tüp, sonra örnek tüp titre edilmelidir.

**Hesabı:** 1 ml 0.01 N potasyum permanganat 0.2 mg kalsiyum'a karşılık gelir. 2 ml serum Kullanıldığından her 100 ml serumda mg olarak kalsiyum

$$(X-b) \times 0.2 \times 50 = (X-b) \times 10$$

olur. X= serum için sarfedilen 0.01 N potasyum permanganat ml'si

b= kör için sarfedilen 0.01 N potasyum permanganat ml'sidir.

Normal değeri %9-11 mg'dır. Bu değer 4.5-5.5 mEq/L'ye eşdeğerdir.

## 6.idrarda KALSİYUM tayini

### DENEY 6. 1 Sulkowitch testi

İdrardaki kalsiyumun kalsiyum oksalat şeklinde çökmesi esasına dayanır.

**Malzemeler:**

**Sulkowitch ayıracı**

Okzalik asit 2.5 g

Amonyum okzalat 2.5 g

Glasiyal asetik asit 5 mL

Saf su ile 150 mL'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı: 5 ml idrar alınır ve sulkowitch ayıracı ile karıştırılır. Bulanıklık ve çökme olup olmadığı gözlenir.

Yorum: Çökme yok.....Normal değer altında kalsiyum atılımı

Hafif çökme.....Normal kalsiyum atılımı

Süt gibi görünüm.....Hiperkalsiüri

## DENEY 7. KANDA SODYUM TAYİNİ

### Malzemeler:

Filtrat Ayıracı: Uranil asetat ve Magnezyum asetat

Asit Ayıraç: Seyreltik asetik asit

Sodyum Renk Ayıracı: Potasyum ferrosiyaniür

Sodyum Standardı: 150mEq/L konsantrasyondaki sodyum çözeltisi

Deneyin Yapılışı: 3 tüp alınarak standart, kör ve örnek olarak kodlanır.

	Örnek	Standart	Kör
Serum	1 ml	-	-
Standart	-	1 ml	-
Filtrat Ayıraç	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml
Saf su	-	-	1 ml

Bütün tüpler 3 dakika kadar karıştırılır. Ardında 10 dakika 1500 devirde santrifüjlenir. Üstteki sıvılardan 0.05 ml alınarak aşağıdaki pipetlemeler yapılır:

	Örnek2	Standart2	Kör
Örnek1	1 ml	-	-
Standart1	-	1 ml	-
Asit Ayıracı	2 ml	2 ml	2 ml
Kör1	-	-	1 ml
Renk Ayıracı	1 ml	1 ml	1 ml

550 nm'de spektrofotometre saf su ile sıfırlanır. Bütün tüplerin 550 nm'de absorbansları okunur.

### Hesaplama

$$\frac{A_{Kör} - A_{Örnek}}{A_{Kör} - A_{Std}} \times C_{Std} = C_{Örnek}$$

## DENEY 8. KANDA POTASYUM TAYİNİ

Serumdaki potasyum miktarı sodyum tetrafenilbor ile koloidal süspansiyon oluşturularak saptanır. Oluşan bulanıklık örnekteki potasyum miktarı ile ilişkilidir.

### Malzemeler:

Potasyum Ayıracı: Sodyum tetrafenilbor

Potasyum Standardı: 4mEq/L konsantrasyondaki potasyum çözeltisi

Deneyin Yapılışı: 3 tüp alınarak standart, kör ve örnek olarak kodlanır.

	Örnek	Standart	Kör
Serum	0.02 ml	-	-
Standart	-	0.02 ml	-
Potasyum Ayıraç	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml
Saf su	-	-	0.02 ml

Bütün tüpler 3 dakika kadar oda sıcaklığında bekletilir. Ardından 500 nm’de köre karşı kör ile sıfırlama yapılır. Absorbanslar ölçülür.

Hesaplama

$$\frac{A_{\text{ö}}}{A_{\text{std}}} \times C_{\text{std}} = C_{\text{ö}} \text{ (mEq/L)}$$

## DENEY 9. KANDA MAGNEZYUM TAYİNİ

Serumdaki magnezyum miktarı alkali ortamda kalmajit (calmagite) ile oluşturduğu kırmızı renkli kompleks bileşiğin absorbansının 530 nm’de ölçülmesi ile bulunur.

### Malzemeler:

Magnezyum Tampon Ayıracağı: 2-Etilaminoetanol, potasyum siyanür, EDTA

Magnezyum Renk Ayıracağı: Kalmajit (Calmagite)

Magnezyum Standardı: 2 mEq/L konsantrasyondaki magnezyum çözeltisi

### Deneyin Yapılışı:

Ayıracağın Hazırlanışı: 10 hacim renk ayıracağı + 1 hacim tampon ayıracağı

3 tüp alınarak standart, kör ve örnek olarak kodlanır.

	Örnek	Standart	Kör
Ayıraç	1 ml	1 ml	1 ml
Serum	10 µl	-	-
Standart	-	10 µl	-

Bütün tüpler 5 dakika kadar oda sıcaklığında bekletilir. Ardından 530 nm’de köre karşı kör ile sıfırlama yapılır. Absorbanslar ölçülür.

Hesaplama

$$\frac{A_{\text{ö}}}{A_{\text{std}}} \times C_{\text{std}} = C_{\text{ö}} \text{ (mEq/L)}$$

## DENEY 10.İdrarda inorganik fosfor tayini

İdrarda bulunması olası proteinler triklorasetik asit ile çöktürülürler. Süzüntüye molibdik sülfürik asit ayırıcı eklendiğinde önce fosfomolibdat oluşur, üzerine indirgen özellikteki kalay klorür eklenmesiyle mavi bir renk ortaya çıkar.

### Malzemeler:

İdrar

%10'luk TCA çözeltisi

Standart fosfat stok çözeltisi: 1L'lik balon jöjeye 0.4394 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  konur, bir miktar suda çözülerek 1 L'ye tamamlanır, 1-2 damla kloroform eklenir. Seyreltik standart fosfor çözeltisi: 10 ml standart fosfat stok çözeltisi saf su ile 100 ml'ye tamamlanır. 1-2 damla kloroform eklenir.

%7.5'luk sodyum molibdat çözeltisi: 7.5 g sodyum molibdat bir miktar suda çözülür ve 100ml'ye tamamlanır.

Molibdik-sülfürik asit ayırıcı: 50 ml %7.5'luk sodyum molibdat çözeltisi ile 50 ml sülfürik asit karıştırılır.

Stok kalay klorür çözeltisi: 11 g kalay klorür 25 ml derişik HCl'de çözülür.

Seyreltik kalay klorür çözeltisi: 1.5 ml stok kalay klorür çözeltisi saf su ile 200 ml'ye tamamlanır.

**Yapılışı:** Bir tüpe 1/10 oranında seyreltilmiş idrardan konur. Üzerine 4 ml TCA eklenir, karıştırılır. 1-2 dakika bekleyip, süzülür. Bu süzüntüden 2 ml alınır. Bu çalışacağımız örnektir. 3 tüp alınarak aşağıdaki gibi pipetlenirler.

	Örnek tüpü	Standart tüpü	Kör tüpü
İdrar Süzüntüsü	2 ml	-	-
Std Fosfat Çözeltisi	-	2 ml	-
Saf su	5 ml	5 ml	5 ml
Molibdik- $\text{H}_2\text{SO}_4$	2 ml	2 ml	2 ml
Sey Kalay klorür	1 ml	1 ml	1 ml

15 dakika beklenir ve 460 nm'de okunur.

### Hesabı:

$$\frac{\text{Örneğin absorbansı}}{\text{Standardın absorbansı}} \times 5 = \% \dots \text{mg}/100 \text{ ml idrar}$$

Çocuklarda %4-6 mg, yetişkinlerde %2.5-4.5 mg'dır.



## DENEY 11.kanda inorganik fosfor tayini

Kanda bulunması olası proteinler triklorasetik asit ile çöktürülürler. Süzüntüye molibdik sülfürik asit ayırıcı eklendiğinde önce fosfomolibdat oluşur, üzerine indirgen özellikteki kalay klorür eklenmesiyle mavi bir renk ortaya çıkar.

### Malzemeler:

İdrar

%10'luk TCA çözeltisi

Standart fosfat stok çözeltisi: 1L'lik balon jöjeye 0.4394 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  konur, bir miktar suda çözülerek 1 L'ye tamamlanır, 1-2 damla kloroform eklenir.

Seyreltik standart fosfor çözeltisi: 10 ml standart fosfat stok çözeltisi saf su ile 100 ml'ye tamamlanır. 1-2 damla kloroform eklenir.

%7.5'luk sodyum molibdat çözeltisi: 7.5 g sodyum molibdat bir miktar suda çözülür ve 100ml'ye tamamlanır.

Molibdik-sülfürik asit ayırıcı: 50 ml %7.5'luk sodyum molibdat çözeltisi ile 50 ml sülfürik asit karıştırılır.

Stok kalay klorür çözeltisi: 11 g kalay klorür 25 ml derişik HCl'de çözülür.

Seyreltik kalay klorür çözeltisi: 1.5 ml stok kalay klorür çözeltisi saf su ile 200 ml'ye tamamlanır.

**Yapılışı:** 6 adet 50 ml'lik erlen numaralandırıldıktan sonra aşağıdaki tablodaki gibi pipetlenir:

Kullanılacak Ayraçlar	I	II	III	IV	V	VI
Std Fosfat Çözeltisi	0	0.5 ml	1 ml	1.5 ml	2 ml	3 ml
Saf su	14 ml	13.5 ml	13 ml	12.5ml	12 ml	11 ml
Molibdik- $\text{H}_2\text{SO}_4$	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml
Sey Kalay klorür	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml

Her erlen sırasıyla kanda %0; 2.5; 7.5; 10; 15 mg inorganik fosfor konsantrasyonlarını temsil etmektedir. Erlenler 15 dakika bekletilirler. Kör olarak saf su ile sıfırlama yapılır. Standart numunelerin 520 nm'de absorbanları okunur.

1 ml serum üzerine 4 ml TCA eklenir, karıştırılır. Birkaç dakika beklendikten sonra süzülür. Süzüntüden 1 ml alınarak 13 ml saf su, 4 ml sülfomolibdik asit ve 2 ml seyreltik kalay klorür çözeltisi konur. Karıştırılır, 15 dakika beklenir. 520 nm'de ölçülür.

**Hesabı:** Standart için ölçülen absorbanlara karşı konsantrasyon grafiği çizilir. Örnek için okunan absorban grafiğe işaretlenir. Ve buna karşılık gelen değer bulunur. Bu değer örneğin yaklaşık konsantrasyon değeridir.

Normalde yetişkinlerde serum inorganik fosfor düzeyi %2.5-4.5 mg'dır.

## 12.idrarda nitel klorür tayini

### DENEY 12. 1 FANTUS testi

İdrardaki klorürün gümüş nitrat ile gümüş klorür şeklinde çöktürülmesi esasına dayanır.Tepkimenin bitiş noktası potasyum kromat ile kırmızımsı gümüş kromat çökeleğinin oluşmaya başlaması ile saptanır.

#### Malzemeler:

%20'lik potasyum kromat çözeltisi

%2.9'luk gümüş nitrat çözeltisi

Deneyin yapılışı: Deney tüpüne 10 damla idrar ve 1 damla potasyum kromat çözeltisi indikatör olarak konur. Gümüş nitrat çözeltisinden esmer renk oluşuncaya kadar damlalar halinde katılarak damla sayısı belirlenir.

Yorum: Harcanan gümüş nitratın damla sayısı idrardaki klorür miktarını g/L olarak verir.

## 13. AMİ BELİRTEÇLERİ

### DENEY 13.1CK Tayini

kreatin fosfat +ADP   CK   Kreatin +ATP

ATP + D-Glikoz+   HK   Glikoz-6-P +ADP

Glikoz-6-P +NAD   G-6-P DH   6-P-Glukonat + NADH + H<sup>+</sup>

#### YAPILIŞI:

Ayıracın Hazırlanması: Viallerdeki içerik 3 ml saf su ile çözülür.

3ml ayıraç tüpe konularak 37<sup>0</sup>'de 4 dakika inkübe edilir.

Spektrofotometre 340 nm'de saf su ile sıfırlanır.100 µL serum konularak karıştırılır ve 2 dakika daha 37<sup>0</sup>'de inkübe edilir. 2 dakika sonra ölçüm yapılır. daha sonra örnek tekrar tüpe aktarılarak 37<sup>0</sup>'de inkübe edilip tekrar ölçüm yapılır. Bu işlem 3. dakika için de tekrarlanır. Elde edilen absorbanların fark ortalaması alınır 4984 sabiti ile çarpılır.

IU/L = ΔA/dak x 4984

## DENEY 13.2 TROPONİN I TAYİNİ

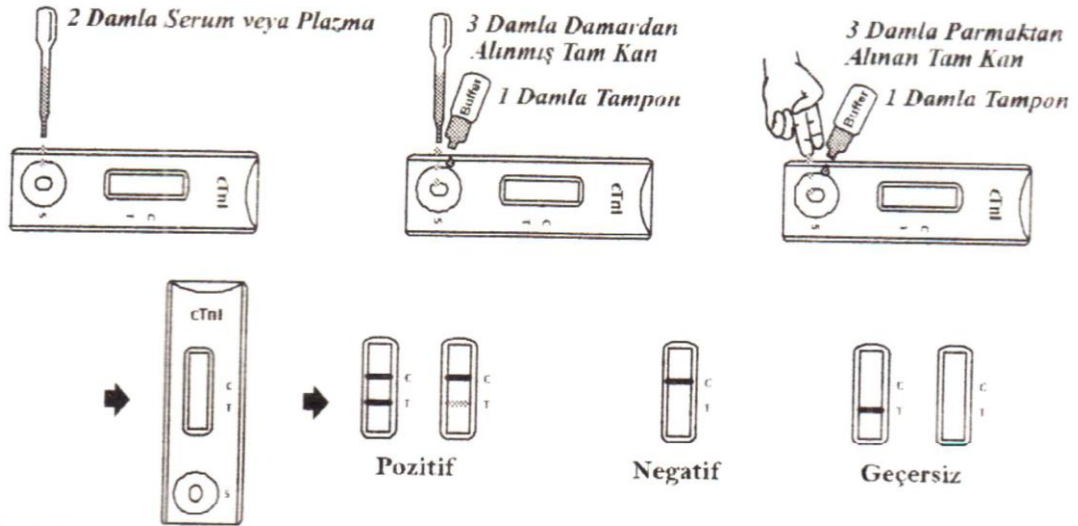
cTnI tek adımda troponin I test cihazı tam kan serum veya plazmada cTnI tespitine yönelik kalitatif membran bazlı immünolojik testtir. Membran testin test çizgisi bölgesinde yakalama reaktifi ile önceden kaplanmışır. Test sırasında tam kan serum veya plazma numunesi anti-ctnı antikorlarıyla kaplı partikülle tepkimeye girer. Karışım membran üzerindeki yakalama reaktifi ile tepkimeye girmek ve renkli bir çizgi oluşturmak için kromatografik olarak kılcal hareket vasıtasıyla membran üzerinde yukarı doğru taşınır. Test çizgisi bölgesinde böyle bir renkli çizgi olması pozitif bir sonuca işaret ederken olmaması negatif bir sonuca işaret eder. Kontrol çizgisi bölgesinde prosedür kontrolü olarak yeterli miktarda örnek uygulandığını ve membrandan geçişin gerçekleştiğini belirten renkli bir çizgi görünecektir.

**Malzemeler:** Test cihazı anti-ctnI antikorlu kaplı partikülleri ve membran üzerine kaplı yakalama reaktifini içerir.

### Yapılışı:

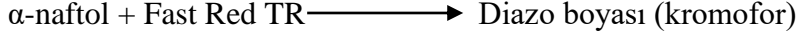
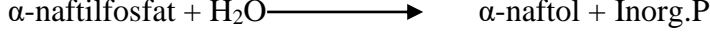
1. Test cihazını temiz ve düz bir yüzeye yerleştirin.
2. Serum ve plazma örnekleri için: damlalığı dik tutun ve test cihazının numune kuyucuğuna 2 damla serum veya plazma aktarın (yaklaşık 50µl) ve ardından süre ölçeri başlatın.
3. Damardan alınmış tam kan örnekleri için: damlalığı dik olarak tutun ve 3 damla tam kanı (yaklaşık 75µl) örnek kuyucuğuna aktarın ardından 1 damla tampon (yaklaşık 40µl) ekleyin süre ölçeri başlatın.
4. Parmaktan alınan tamkan örnekleri için: damlalığı dik olarak tutun ve 3 damla tam kanı (yaklaşık 75µl) örnek kuyucuğuna aktarın ardından 1 damla tampon (yaklaşık 40µl) ekleyin süre ölçeri başlatın.
5. **Şekil 1** 'e bakarak sonucu yorumlayın.

### ŞEKİL 1. TEST SONUCUNUN YORUMLANMASI



## 14.TÜMÖR BELİRTEÇLERİ

### DENEY 14.1 KANDA ACP TAYİNİ



#### MALZEMELER:

ACP AYIRACI:  $\alpha$ -naftilfosfat, SODYUM SİTRAT

L-TARTARAT AYIRACI: L-TARTARAT, SİTRİK ASİT, SODYUM SİTRAT

ASETAT TAMPONU:5M,PH:5

DURDURUCU SOLÜSYON: 5 N SODYUM HİDROKSİT

KALİBRATÖR

**AYIRIÇ HAZIRLAMA:** ACP ayıracağı üzerindeki etikette yazdığı miktarda saf su ile çözülür.

L-Tartarat ayıracağı 5 ml saf suda çözülür. Eğer çözülüyorsa biraz ısıtılır.

Kalibrasyon çözeltisi 5 ml saf su ile çözülür.

Asetat tamponu kullanıma hazırdır.

Durdurucu solüsyon kullanımdan önce 10 kez sulandırılmalıdır.

Yapılışı:

#### Total ACP tayini

3 tüp alınarak "Kör", "Standart", "Örnek" olarak etiketlenir.

Bütün tüplere 1'er ml ACP ayıracağı konur.

Spektrofotometre 405 nm'de saf su ile sıfırlanır. Örneğin ve standardın konulacağı

küvetler 37<sup>0</sup>'de inkübe edilir. 15-30 saniye sonra örnek tüpüne 100 µl örnek konur,

karıştırılır, 10 dakika 37<sup>0</sup>'de inkübe edilir. Daha sonra her tüpe 2'şer ml durdurucu

solüsyon eklenerek karıştırılır. 15-30 saniye sonra 405 nm'de örnek ve standart tüpleri

okutulur.

#### NON-PROSTATİK ACP TAYİNİ

3 tüp alınarak "Kör", "Standart", "Örnek" olarak etiketlenir.

Bütün tüplere 1'er ml ACP ayıracağı konur.

Bütün tüplere 10'ar µl L-Tartarat ayıracağı konur. Spektrofotometre 405 nm'de saf su ile

sıfırlanır. Örneğin ve standardın konulacağı küvetler 37<sup>0</sup>'de inkübe edilir. 15-30

saniye sonra örnek tüpüne 100 µl örnek konur, karıştırılır, 10 dakika 37<sup>0</sup>'de inkübe

edilir. Daha sonra her tüpe 2'şer ml durdurucu solüsyon eklenerek karıştırılır. 15-30

saniye sonra 405 nm'de örnek ve standart tüpleri okutulur.

#### PROSTATİK ACP TAYİNİ

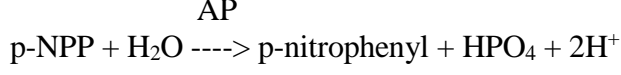
Total ACP değerinden non-prostatik ACP değeri çıkarılarak bulunur.

#### HESAPLAMA

$$\text{TOTAL ACP} = \frac{\text{örneğin absorbensı}}{\text{standartın absorbensı}} \times \text{standart konsantrasyonu}$$

$$\text{Non-prostatik ACP} = \frac{\text{örneğin absorbensı}}{\text{standartın absorbensı}} \times \text{standart konsantrasyonu}$$

## DENEY 14.2 KANDA ALP TAYİNİ



405 nm’de yapılan ölçüm serumdaki ALP aktivitesini verir.

5 hacim R1 ve 1 hacim R2’den oluşan ayırıcımızın içinde p-nitrofenil fosfat, magnezyum iyonları ve tampon çözelti vardır.

3 ml ayıraç 37<sup>0</sup>C’de inkübe edilir. Spektrofotometre su ile 405 nm’de sıfırlanır. 75µl örnek ayıraca eklenir, karıştırılır. 1 dakika sonra absorbansı ölçülür. İçerik tekrar tübe konarak 1 dakika daha 37<sup>0</sup>C’de inkübe edildikten sonra sonraki iki dakika için de absorbans ölçülür.

Dakika başı absorbans farkları ölçülür. (ΔA/dak) Bu değer 2187 sabiti ile çarpılır.

### Yararlanılan Kaynaklar:

Doç. Dr. Mustafa ALTINIŞIK, Organik Kimya ve Biyokimya Uygulamaları, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2007.

Biyokimya Pratik Ders Notları Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya A.B.D, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 2003.

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin SÜZEK, Klinik Biyokimya Uygulama Kitabı Muğla Üniversitesi, Muğla Sağlık Yüksekokulu, Muğla,2003.

Doç. Dr. Yılmaz DÜNDAR, Yrd. Doç. Dr. Recep ASLAN, Biyokimya-Fizyoloji Laboratuvarı, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları Yayın No:13, Afyon, 1998.