



DENEY HAYVANLARINDA KAN ve ÖRNEK ALMA TEKNİKLERİ

Vet. Hekim Sait ELMAS
ÇOMÜDAM Sorumlu Yönetici

Kan alma yönteminin seçimi

AMAÇ, HEDEF
METOD

- * **Ne tür** kan alınacak (arteriyel kan, venöz kan veya her ikisi)
- * Kan alma işlemi **ne zaman** yapılacak?
- * Kan alımı ile **deney sonlanacak mı?**
- * Deney devam edecekse **hangi sıklıkta** kan alınacak?
- * Çalışılacak parametre için **istenen miktar** nedir?
- * **Serum & plazma**
- * Maksimum kan alımı sonrası hayvan yaşatılacak mı?
- * Sıvı replasmanı gerekecek mi?
- * **Anestezi** gerekecek mi?

KAN ALMA / STRES

UYGULAMA ve ETİK

- * Travmatik tesbit ve anestezi stres oluşturur
- * Stres esnasında, stres hormonlarına bağı hematolojik ve biyokimyasal parametreler de değişim olur.
- * **Hemoglobin** ve **lökosit** sayısı artar
- * **Glikoz** (*stres durumunda normalin 2 katı kadar yükselebilir*) ve bazı hormonlar da değişebilir
- * Kan alma işlemi bittikten sonra deney devam edecekse hemostaz sağlanmalı
- * **Kan alma işlemi için uzuv kesisine gerek yoktur. (etik ihlal)**



UYGULAMA ve ETİK KAN ALMA / HACİM

- * Kan alındıktan sonra hayvanın yaşaması isteniyorsa dolaşımda bulunan **kan miktarının % 10'undan fazlasının** alınmaması gerekir. **Bu miktar 3-4 haftada organizma tarafından yenilenir.**
- * Bir seferde total kan hacminin **%20** si alındığı takdirde **hipovolemi ve kardiyovasküler** yetmezlik sonucu ölüme neden olabilir.
- * Bir kerede büyük volümlerde kan alınması gerekiyorsa alınan miktarı telafi etmek için i.v. olarak izotonik sıvılar yavaşça verilmelidir.

ÖRNEK HESAP KAN ALMA / HACİM

Haftalık

ÖRNEK: 20gr bir fareden 0.20ml,
200gr bir sıçandan 2ml,
30kg bir köpekten ise 300ml kan alınabilir.

Günlük

kan alımı yaklaşık **1 ml/kg/gün** olmalıdır.

ÖRNEK: 300gr sıçandan 0,3ml/gün

DENEY HAYVANLARINDA KAN HACİMLERİ

TABLO

Tür	Ergin vücut ağırlığı (g)	Ort. erişkin kan volümü (ml)	Haftalık alınabilecek miktar (ml/hf)	Alınabilecek en yüksek kan hacmi (ml)
Fare	25 – 40	2.5 – 3.5	0.25 – 0.35	1 – 1,5
Rat	200 – 400	18 – 25	2 – 4	10 - 15
Kobay	700 – 1200	50 - 70	6 - 8	30 - 50
Tavşan	2000 – 6000	200 - 300	30 - 60	120 - 180
Hamster	85 – 150	7 – 12	0.5 - 1	4 - 7

KAN ALMA

- Tekrarlayan kan alımları birkaç ay devam ederse **alyuvar sayısı, hematokrit değeri ve kan frotisi** yapılarak aneminin kontrol edilmesi gereklidir.
- Yine tekrarlayan kan alımları gerektiği zaman, her seferinde damarı delmek yerine **heparin/serum fizyolojik** içeren **kalıcı kanül** yerleştirilebilir.
- Anestezi uygulamadan yüzeysel venlere yerleştirilebileceği gibi anestezi altında derin venlere de sabitlenebilir. Bu durum hayvanlara sıkıntı vermeden kolayca kan almaya yardımcı olur.
- Ancak kalıcı katater yerleştirildiği zaman bazen ciddi kanamalara neden olabileceğinden 30–60 dakika aralıklarla kontrol edilmelidir.

Sağlıklı Sıçan Kan değerleri

HEMATOLOJİ BİYOKİMYA

Eritrosit sayısı ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6.6-9.0
Lökosit sayısı ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	7.3-12.66
Lenfosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5.07-9.07
Nötrofil polimorf ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.002 (Bands) 1.25-3.71 (Mature)
Monosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.05-0.44
Eozinofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.04-0.30
Bazofil ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0-0.03
Hemoglobin (g/dL)	13.8-16.4
Hematokrit (%)	41.1-51.1
Trombosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)*	0.84-1.24
Retikülosit (%RBC)	0-4.6
Mean Corpuscular volume (fl)	52.6-65.4
MCHC (%)	30.2-34.6
MCH (pg)	16.5-21.3
Trombin zamanı (sn)	32.6
Protombin zamanı (sn)	28.8
Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) (sn)	19.8
Fibrinasyon zamanı (sn)	20

Sodyum (mEq/L)	142-154
Potasyum (mEq/L)	3.6-9.2
Klor (mEq/L)	84-110
Kalsiyum (mg/dL)	9.1-15.1
Magnezyum (mg/dL)	1.6-4.4
İnorganik fosfor (mg/dL)	4.7-16
Bikarbonat (mEq/L)	12.6-32
Üre azotu (mg/dL)	11-23
Ürik asit (mg/dL)	1.2-7.5
Kreatinin (mg/dL)	0.4-1.4
Glukoz (mg/dL)	80-300
Kolesterol (mg/dL)	10-54
Albümin (g/dL)	2.9-5.9
Globulin (g/dL)	1.8-3.0
Total protein (mg/dL)	4.5-8.4
Total bilirubin (mg/dL)	0.0-0.64
Amilaz (Somogyi birimi/dL)	128-313
Alkalın fosfataz (IU/L)	56.8-128
Asit fosfataz (IU/L)	28.9-47.6
Alanin aminotransferaz (IU/L)	17.5-30.2
Aspartat aminotransferaz (IU/L)	45.7-80.8
Kreatin fosfataz (IU/L)	0.8-11.6
Laktik dehidrogenaz (IU/L)	61-121

Sağlıklı Sıçan Kan değerleri

HORMON

Triiodothyronine (ng/dL)	30-100
Thyroxine (µg/dL)	3-7
Thyroid-stimulating hormone (ng/mL)	400-600
Adrenocorticotrophic hormone (pg/dL)	15-23
	1-6
Parathormone (pg/mL)	70-700 (erkeklerde) 0-400 (dişilerde)
Kalsitonine (pg/mL)	200-500 (6-8 aylık erkeklerde) 450-1100 (6-8 aylık dişilerde) 400-900 (12-14 aylık erkeklerde) 700-1800 (12-14 aylık dişilerde)
1.25-dihydroxy-vitamin D (pg/mL)	72-86 (erkeklerde) 79-113 (dişilerde)

Bazı Hayvanlarda Kan değerleri

Laboratuvar hayvanlarının normal hematolojik değerleri

Türler	PCV (%)	Eritrosit ($10^{12}/l$)	Hb (g/dl)	Reticulocyte (% RBC)	Lökosit ($10^9/l$)	Pihtılaşma Zamanı (sn)
Fare	35-45	7.7-12.5	10-20	3.3-13.3	8.0	120-600
Rat	35-45	7.2-9.6	12-18	1.7-21.1	14.0	20
Kobay	35-42	4.5-7.0	11-17	1.8-6.1	10.0	-
Hamster	39-59	4.0-10.0	2-30	-	7.6	55
Ferret	35-51	11.3	12-17.4	-	2.5-15.4	-
Gerbil	48	7.0-10.0	12-17	-	4.3-21	-
Tavşan	30-50	4.5-7.0	8-15	2.9-8.0	9.0	60-360
Maymun	36-43	5.6-13.4	11-13	0.5-3.0	5.6-15.4	-

LABORATUAR HAYVANLARINDAN KAN ALMA YERLERİ

SIÇAN
TAVŞAN

FARE
KOBAY

◀ KUYRUK VENİ

◀ SAFENÖZ VEN

◀ FEMORAL VEN

◀ ORBİTAL PLEKSUS

◀ JUGULER VEN
KAROTİD ARTER

◀ KALP

◀ KULAK ARTER & VEN

◀ SUBMANDİBULAR VEN

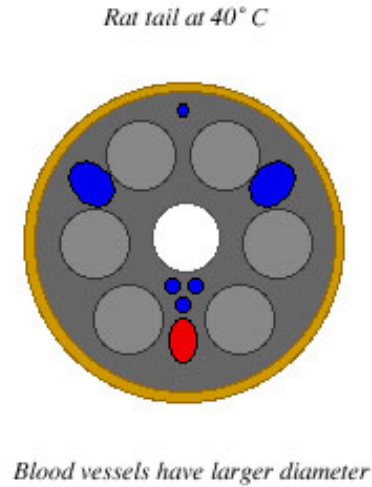
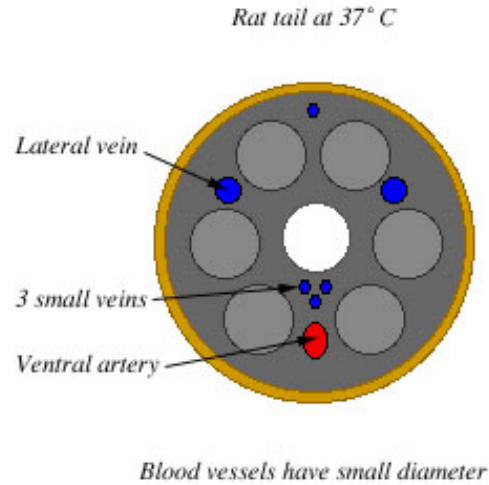
◀ DEKAPİTASYON

◀ VENA CAVA YOLUYLA

SIÇANDAN KAN ALMA

- * Kuyruk veni: Anestezi gerekmez
- * Kuyruk arteri: Anestezi gerekebilir.

Kelebek set veya intraket (sarı, mor) kullanılabilir.



KUYRUK VENİ



SIÇANDAN KAN ALMA

KUYRUK VENİ

DİLATASYON İÇİN

Sıcak ve Masaj
Damar Proksimaline Bası ??



İyi dilate edilirse
0,8 – 1,5 cc kan
alınabilir



SIÇANDAN KAN ALMA

KUYRUK VENİ



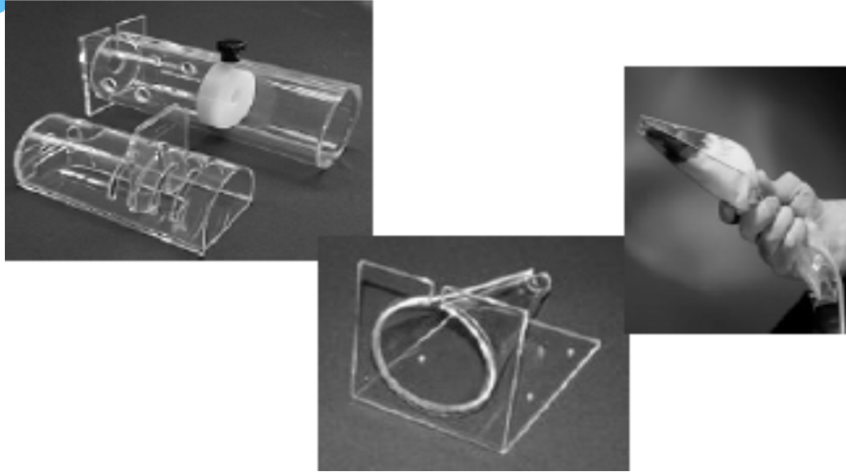
Kuyruk venine punksiyon

0.3 – 0.5 cc

SIÇANDAN KAN ALMA

TEKNİK

Commercial restraint devices



Ticari Kısıtlama Cihazları



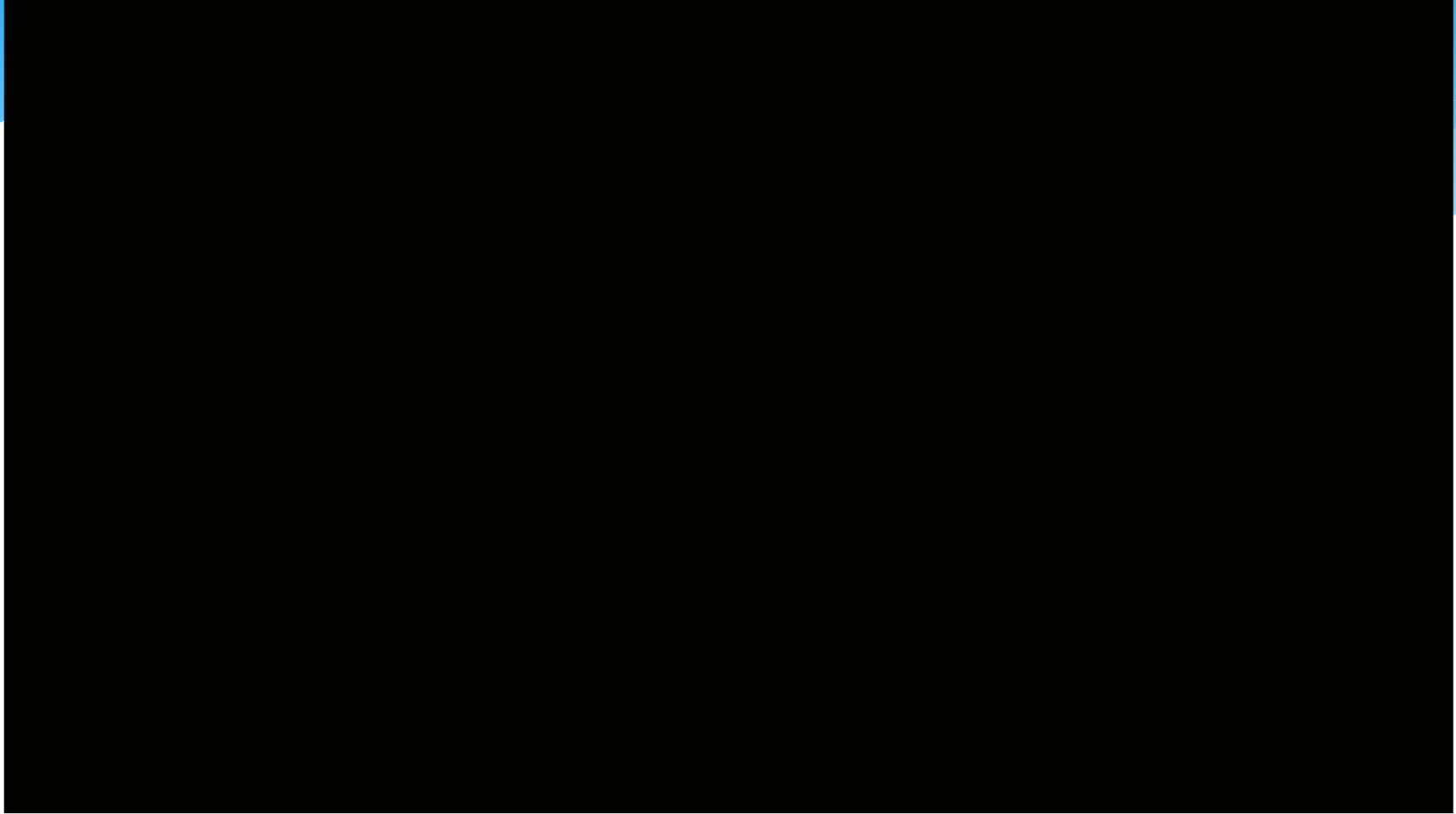
KUYRUK VENİ SIÇANDAN KAN ALMA



KUYRUK VENİ SIÇANDAN KAN ALMA



KUYRUK ARTERİ SIÇANDAN KAN ALMA



SIÇANDAN KAN ALMA

DORSAL PEDAL VEN



Hematokrit tüpleri veya küçük pipetler kullanılabilir

SIÇANDAN KAN ALMA

SAFENÖZ VEN

0.3 – 0.5 cc
kan alınabilir.



Ependorf
tüplere alınabilir



SIÇANDAN KAN ALMA

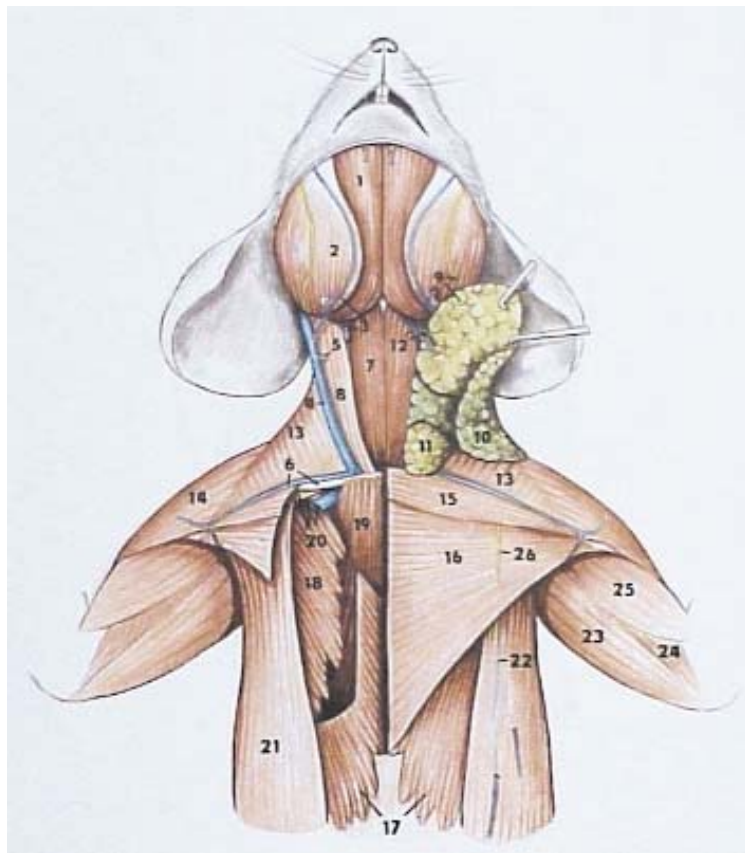
SAFENÖZ VEN



Saphenous Vein Blood Draw

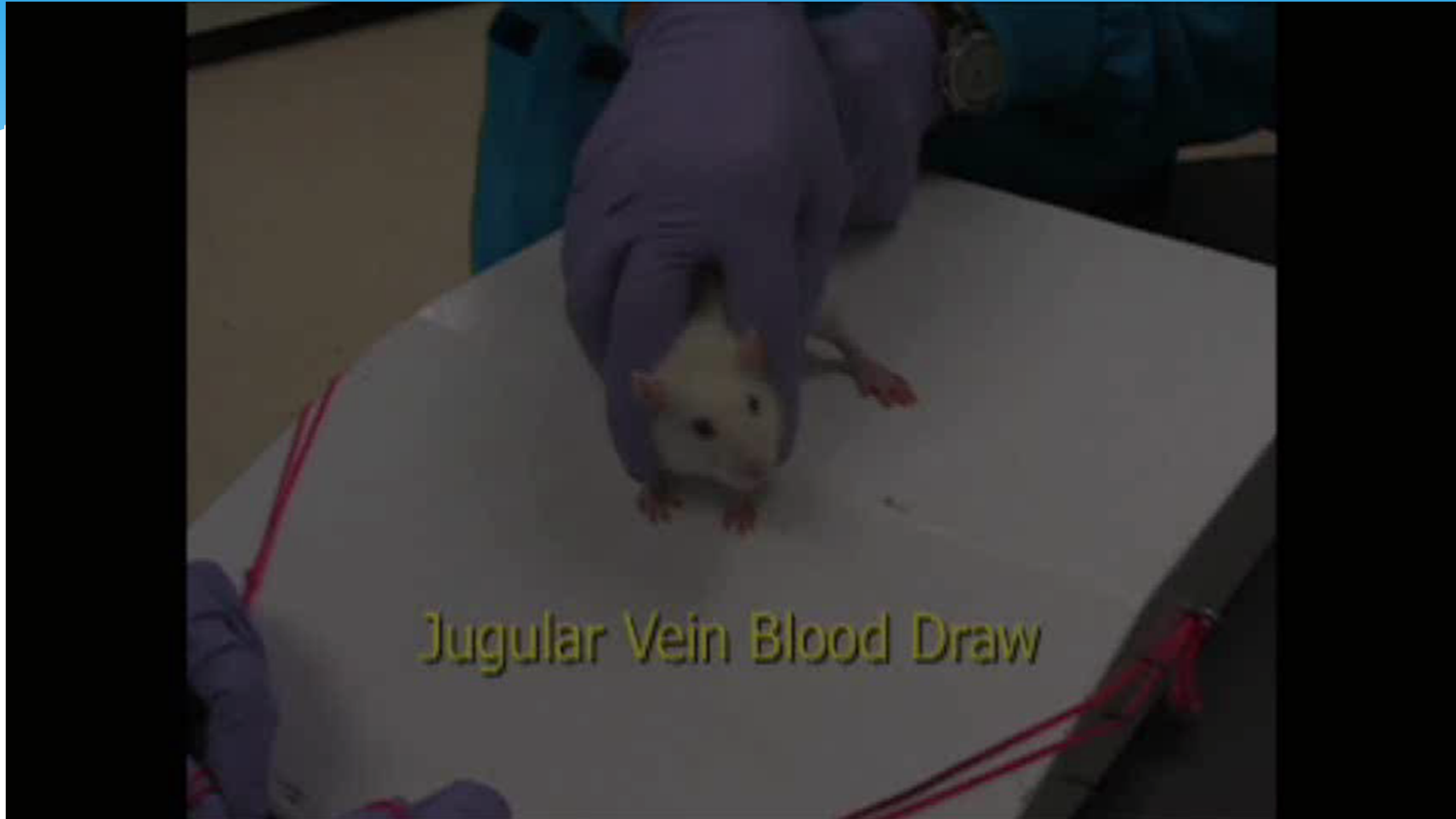
SIÇANDAN KAN ALMA

JUGULAR VEN



SIÇANDAN KAN ALMA

JUGULAR VEN



SIÇANDAN KAN ALMA

KAROTİD ARTER



SIÇANDAN KAN ALMA

KALP



xiphoid kartilago

İlk denemede **kalbe ulaşıldığı halde** kan alınmaz ise ikinci deneme mümkünse yapılmamalı

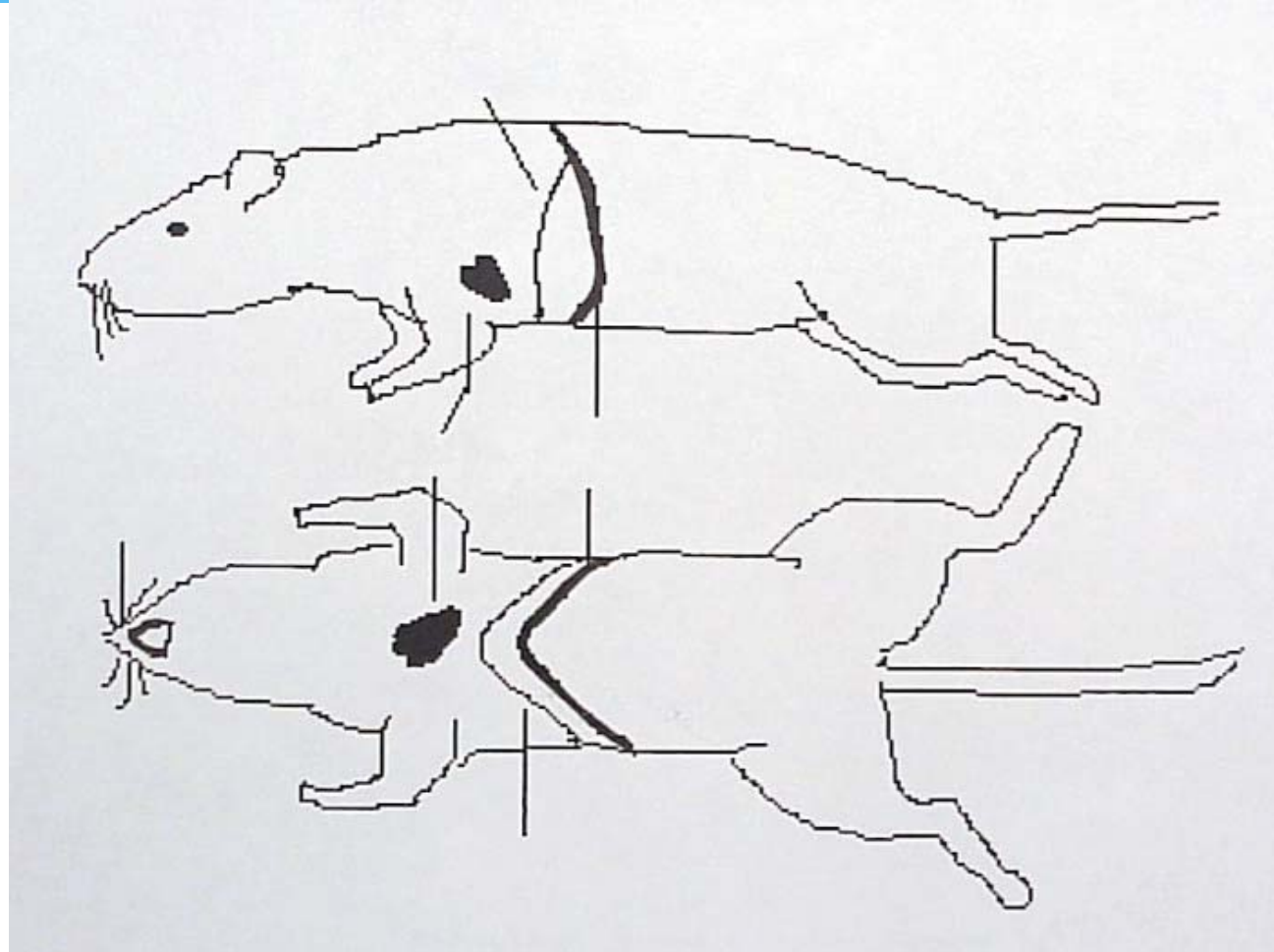
Kan, kalpten yavaş bir şekilde ve yaklaşık **10ml/dak.'lık** veya daha yavaş bir hızda çekilmelidir.

Tüm kanın % 20 kadarı çekilebilir.



SIÇANDAN KAN ALMA

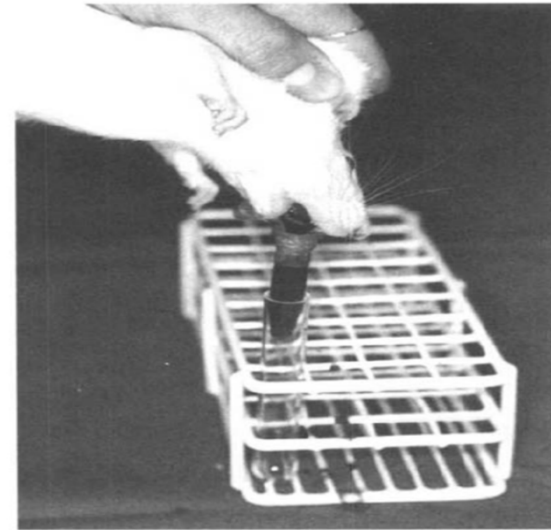
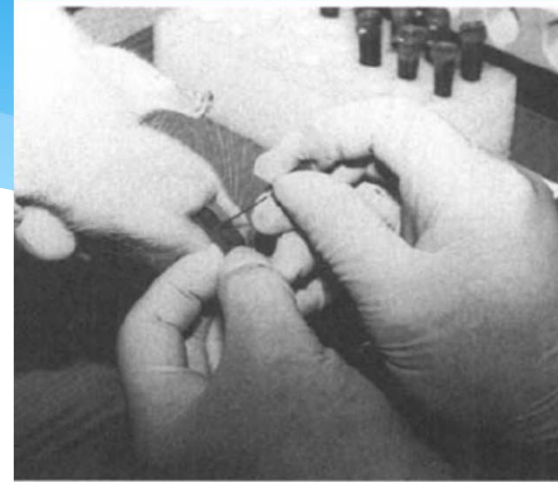
KALP



SIÇANDAN KAN ALMA

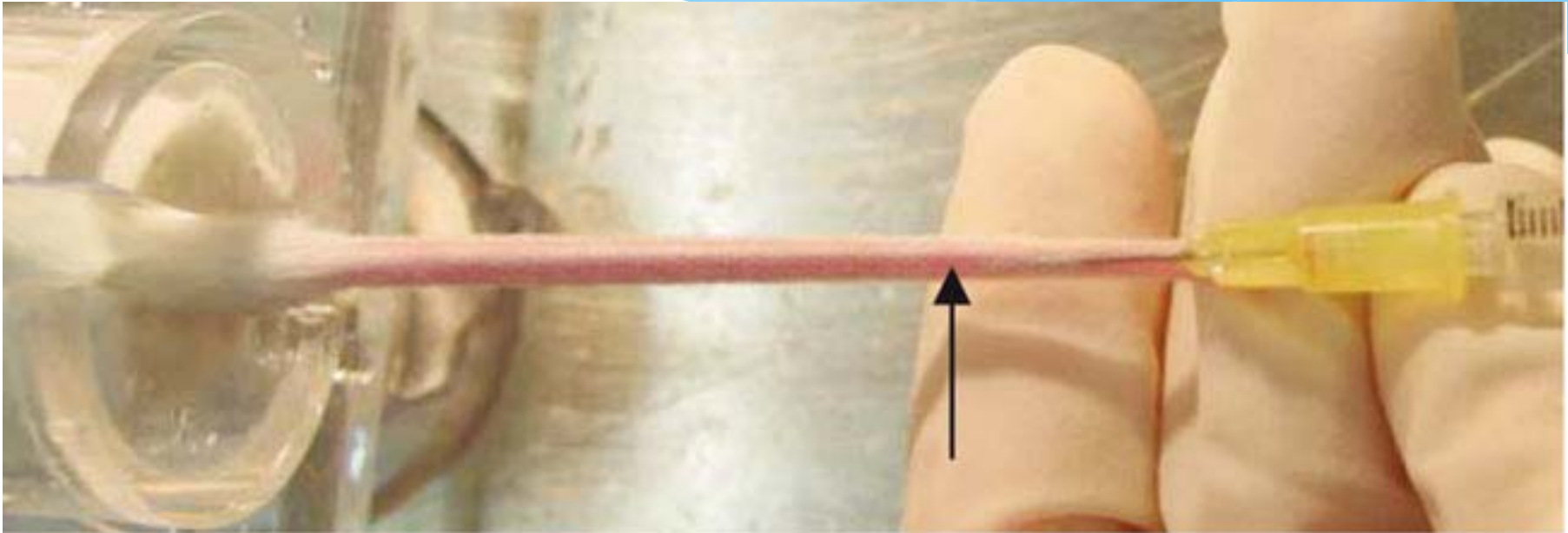
SUBLINGUAL VEN

- Genel anestezi altında sublingual venin punksiyonu son yıllarda bildirilmiştir.
- Ancak bu metodun hayvanların yem alımının azalmasına neden olabileceği belirtilmektedir.
- Hayvanın dilinin dışarı çeken bir kişi tarafından sublingual venin punksiyonu yapılır.
- Kan örneği tüpe aktarılır



FAREDEN KAN ALMA

KUYRUK VENİ



KUYRUK VENİ FAREDEN KAN ALMA



KUYRUK VENİ

FAREDEN KAN ALMA



FAREDEN KAN ALMA

SAFENÖZ VEN



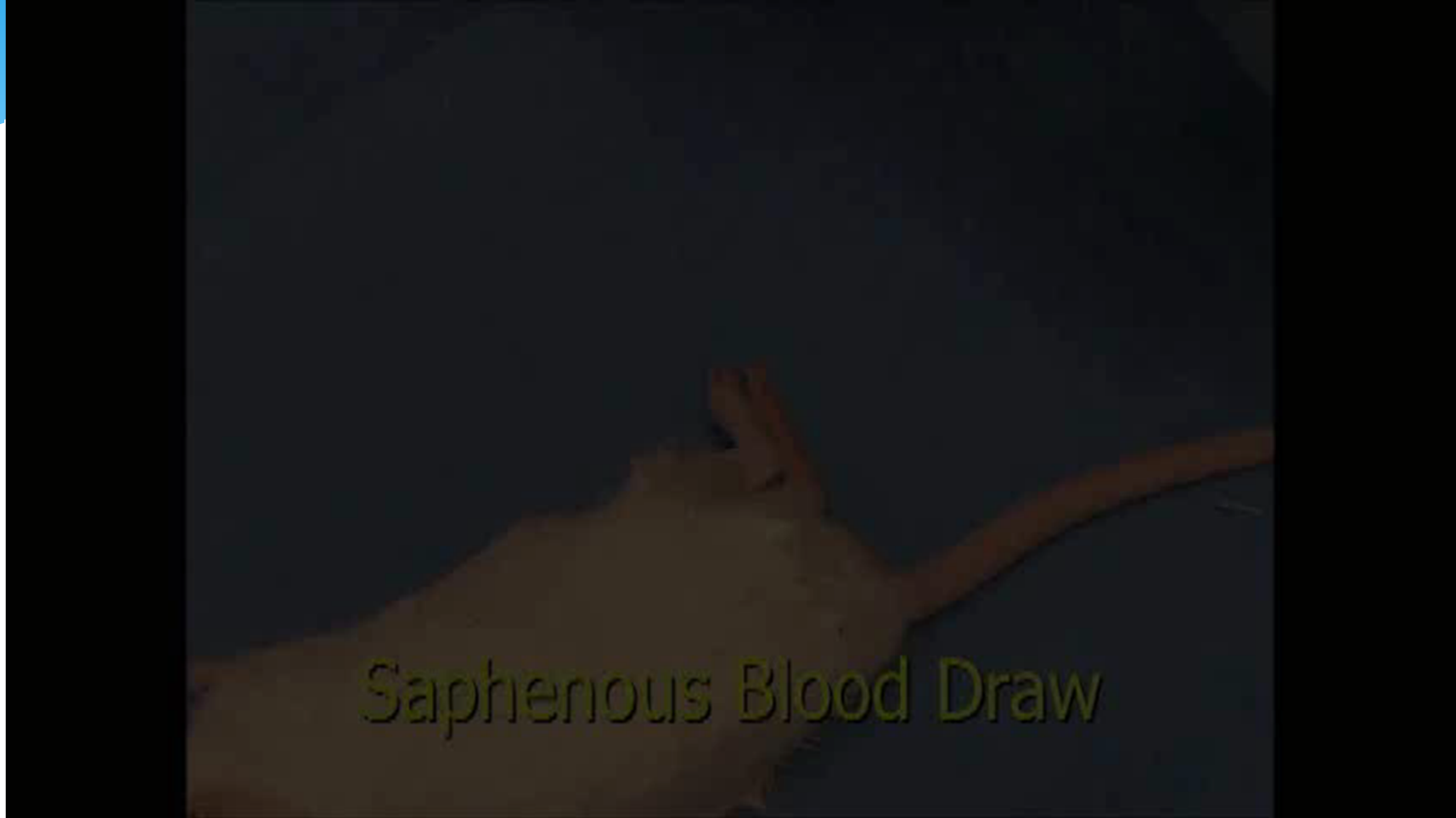
Anestezi gerekmez
0,1 - 0,2 ml kan alınabilir



Birden fazla örnek aynı yerden alınacağı
zaman yara kabuğu kaldırılır, günde
birkaç kez yapılabilir

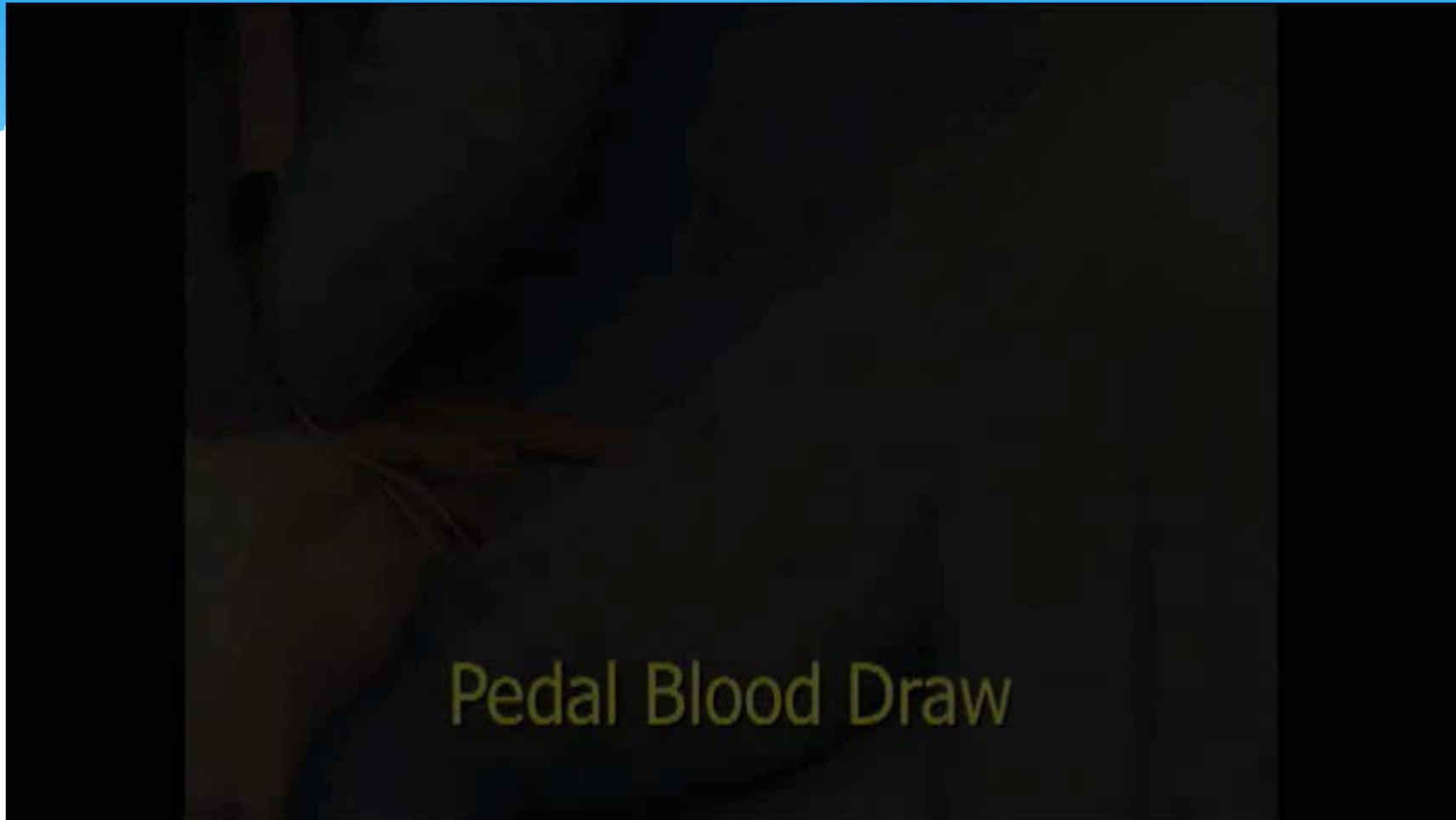
FAREDEN KAN ALMA

SAFENÖZ VEN



FAREDEN KAN ALMA

PEDAL VEN



FAREDEN KAN ALMA

JUGULAR VEN



FAREDEN KAN ALMA

KALP

2017/11/08 <0111111111>
1111 1111 1111111111

FAREDEN KAN ALMA

ORBİTAL PLEKSUS

- İşlem kaba yapılırsa retroorbital **hematom** oluşabilir. Oluşan hematomun basıncı nedeniyle **ağrı** hissedilir.
- Ayrıca **optik sinir** hasarlanabilir.
- İntraorbital yapıların hasarı sonucu **hemoraji**, **yangı** ve **körlük** oluşabilir.
- Bu nedenlerden dolayı pek çok ülkede orbital damarların punksiyonu uygun bir kan alma yöntemi olarak görülmemektedir.

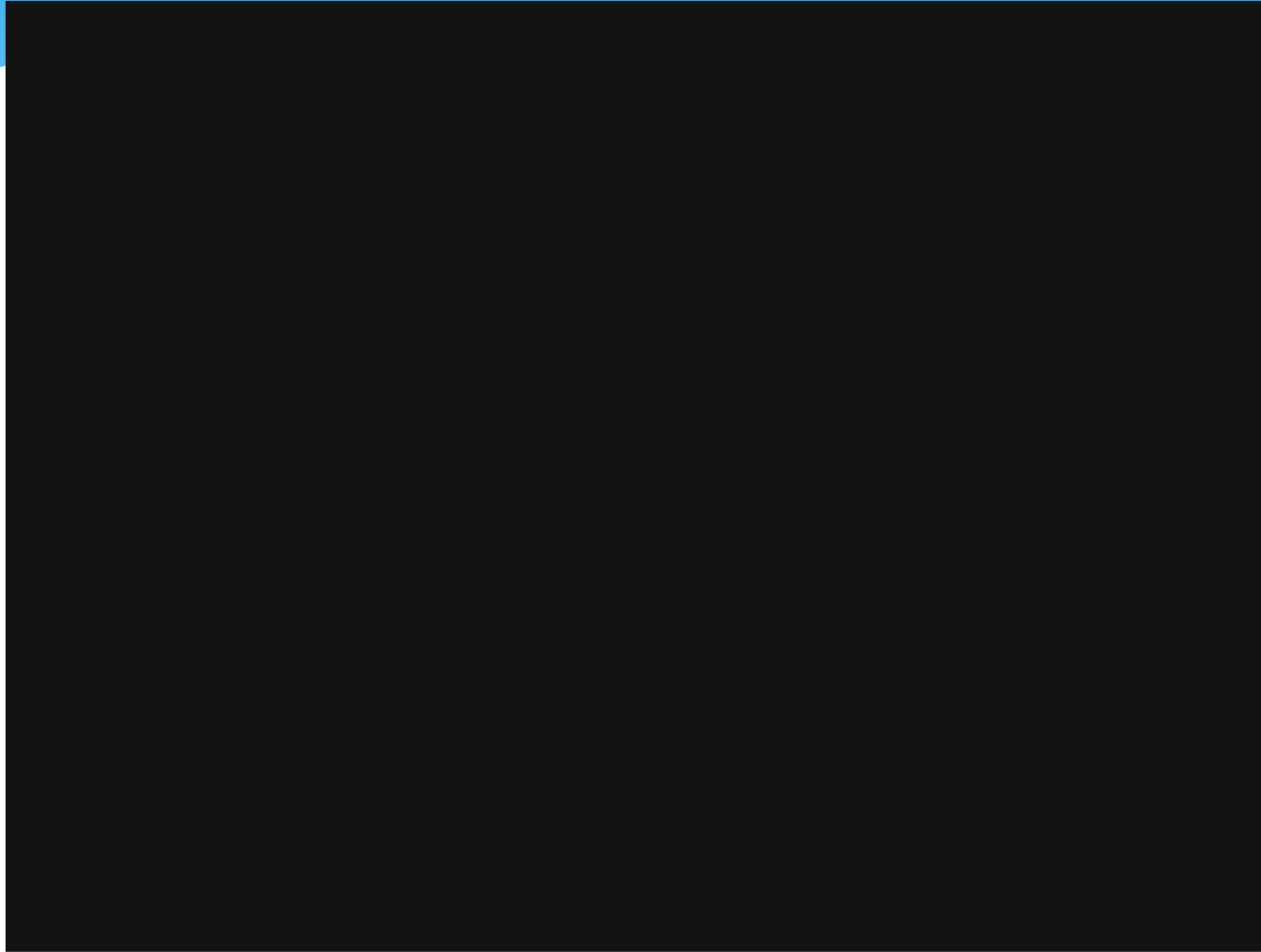
FAREDEN KAN ALMA

ORBİTAL PLEKSUS



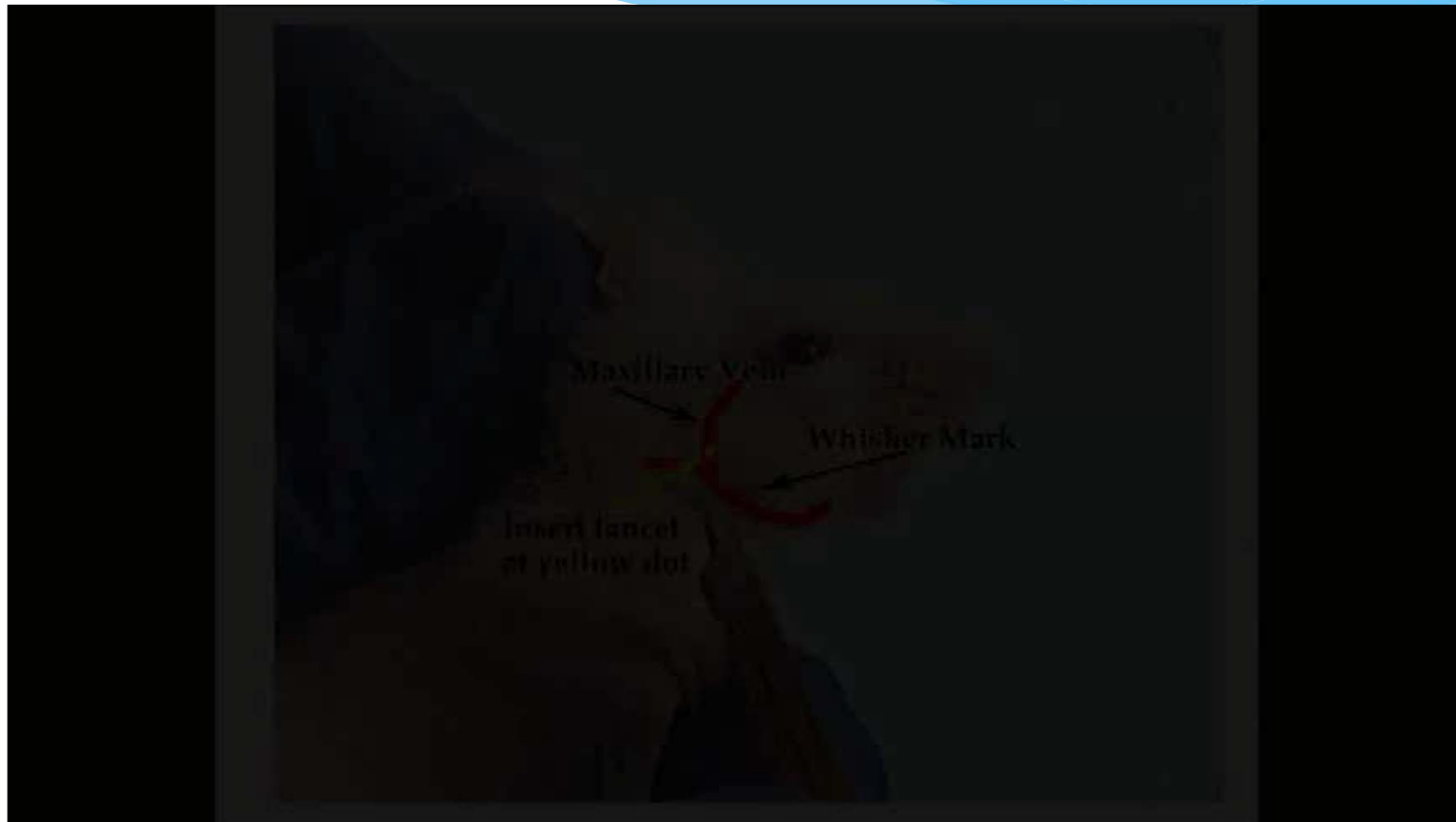
Anestezi önerilir. 0.2 – 0.5 cc kan kapiller tüpe alınabilir.

SUBMANDIBULAR VEN FAREDEN KAN ALMA



SUBMANDIBULAR VEN- MAXILLAR VEN

FAREDEN KAN ALMA



TAVŞANDAN KAN ALMA

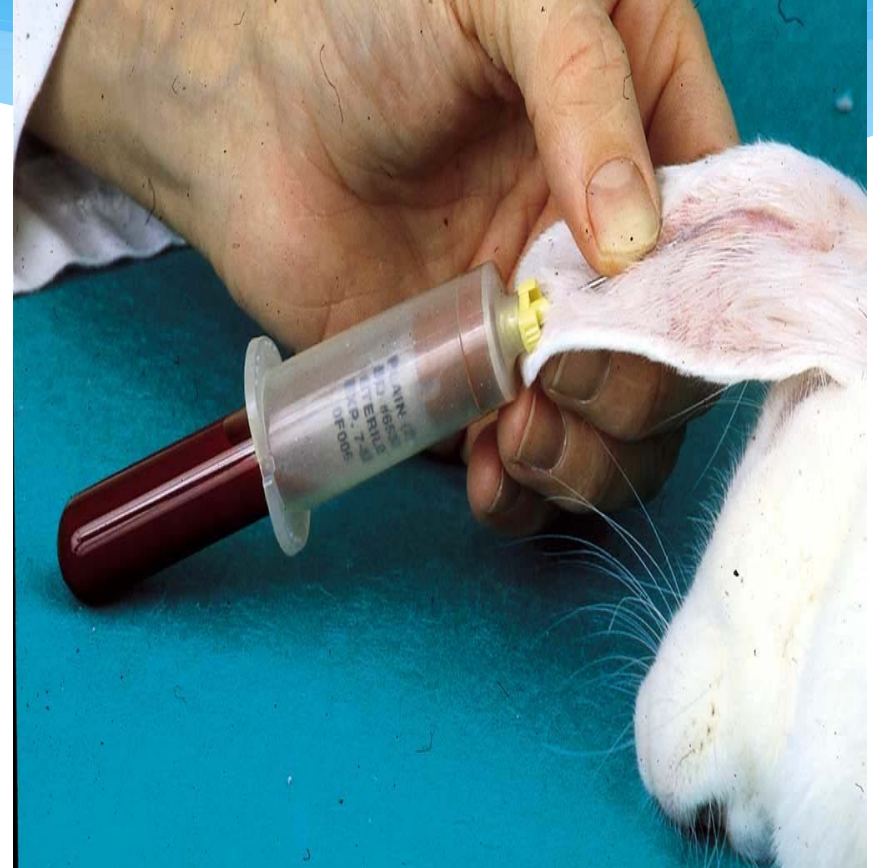
KULAK ARTERİ



TAVŞANDAN KAN ALMA



KULAK ARTERİ



TAVŞANDAN KAN ALMA

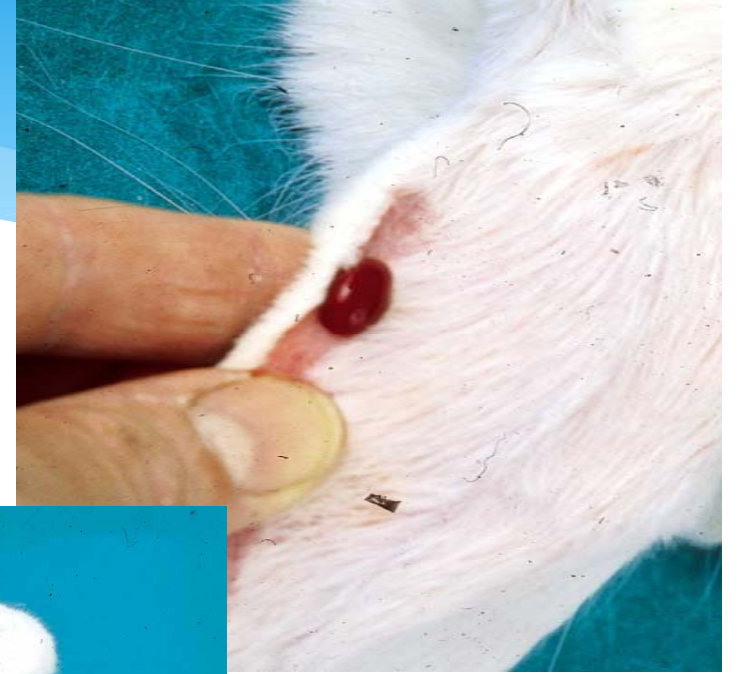
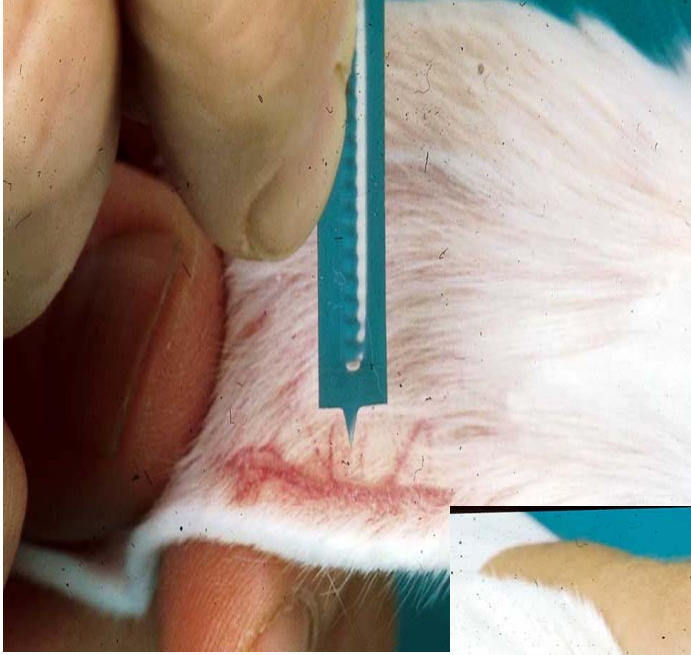
KULAK ARTERİ

A sedative with analgesic properties should be used



TAVŞANDAN KAN ALMA

KULAK VENİ



TAVŞANDAN KAN ALMA

KALP



TAVŞANDAN KAN ALMA

KALP



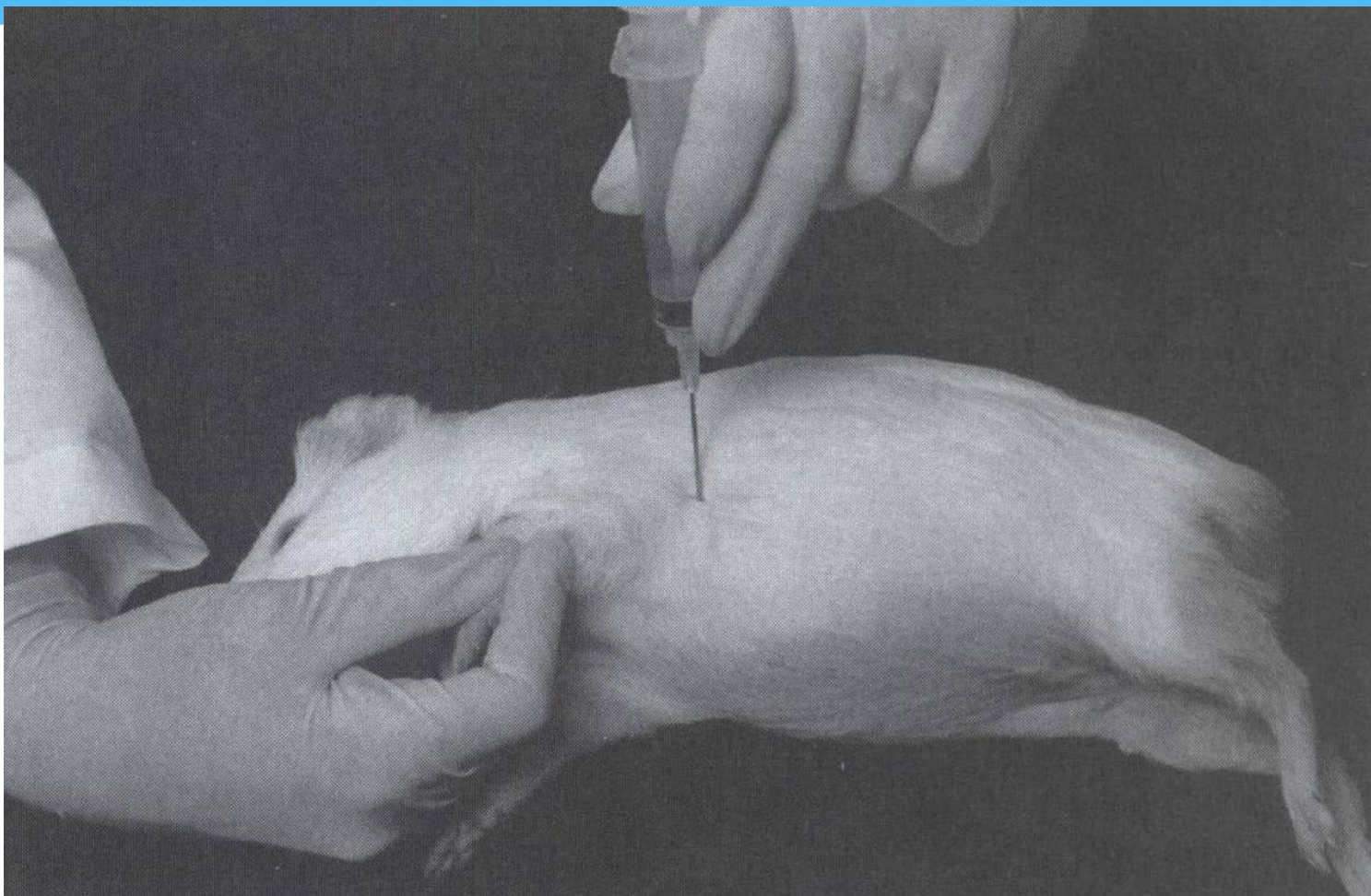
TAVŞANDAN KAN ALMA

KALP

This procedure must be performed
under full terminal anaesthesia

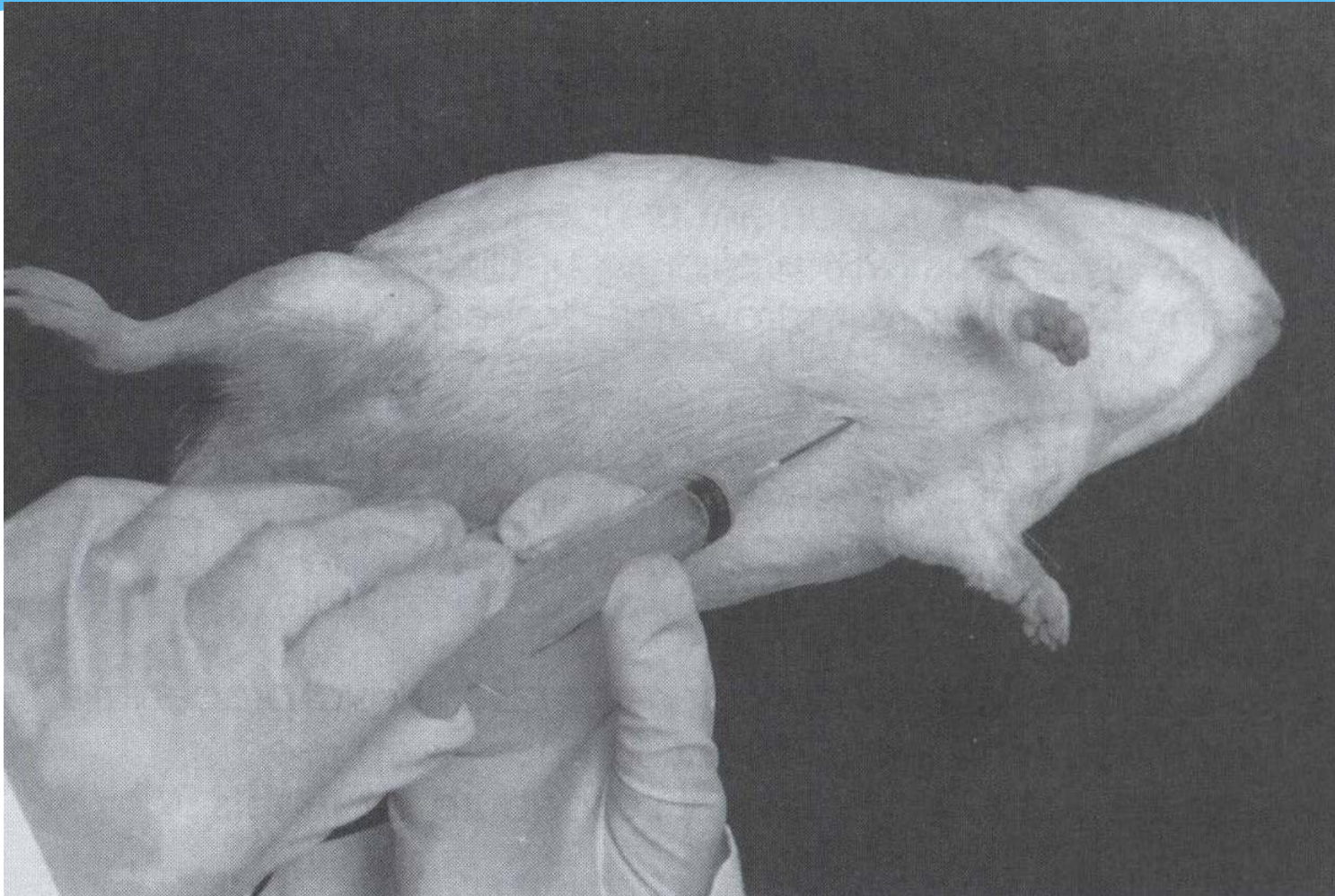
KOBAYDAN KAN ALMA

KALP



KOBAYDAN KAN ALMA

KALP



KOBAYDAN KAN ALMA

ORBİTAL PLEKSUS



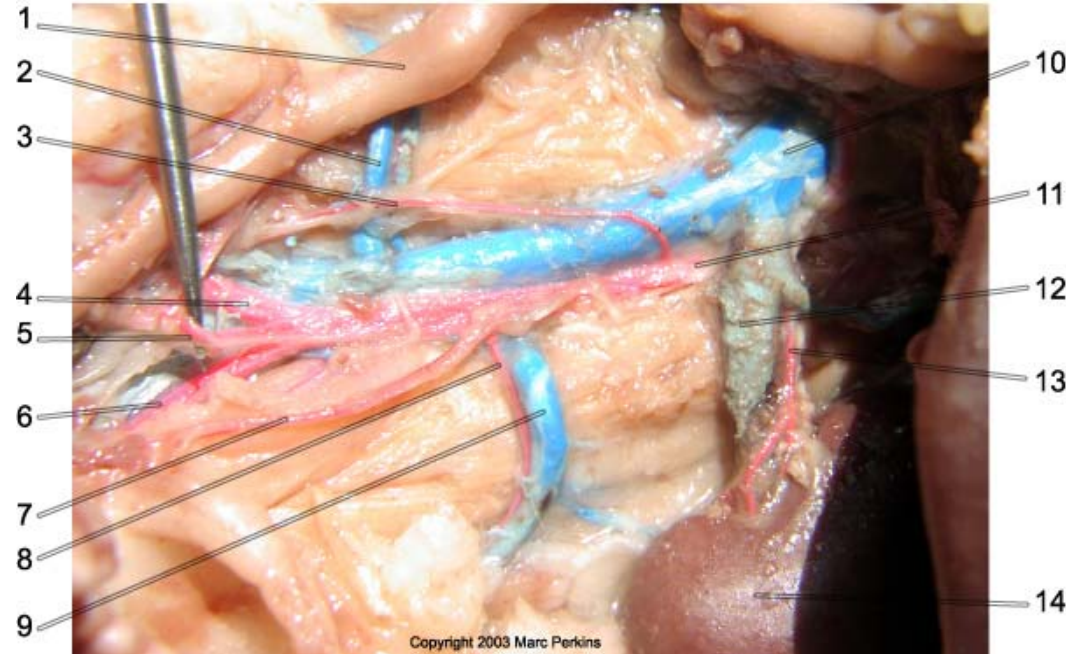
KOBAYDAN KAN ALMA

JUGULAR VEN



Abdominal aort, Vena cava

- 1 ml'den daha fazla kan alınacağı durumlarda (3-8 ml) bu teknik tercih edilir.
- Hayvan anestezi altında dorsal yatış pozisyonunda tutulur. Batın açıldıktan sonra sekum ve bağırsaklar kenara itilerek *vena cava* görülür. Üzerindeki yağlı doku sıyrıldıktan sonra tercihen intraket yardımıyla kan alınır.



GAİTA VE İDRAR ALMA

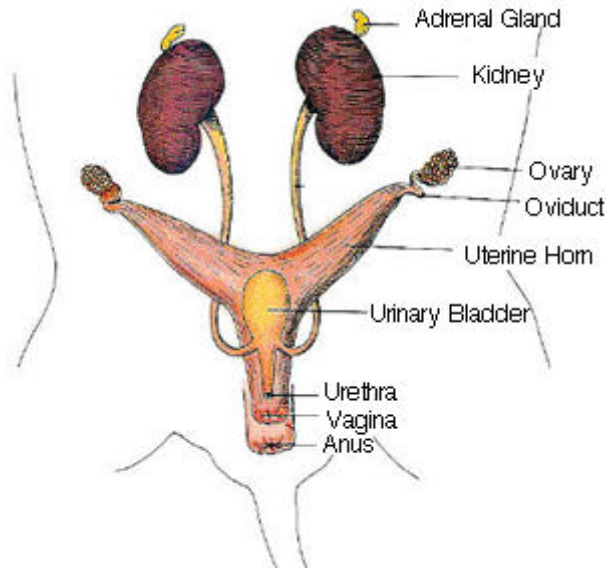
METABOLİK KAFES

Kemiriciler ve tavşanlar dışkılarını yediklerinden metabolik kafeslerin kullanılması önerilmektedir.

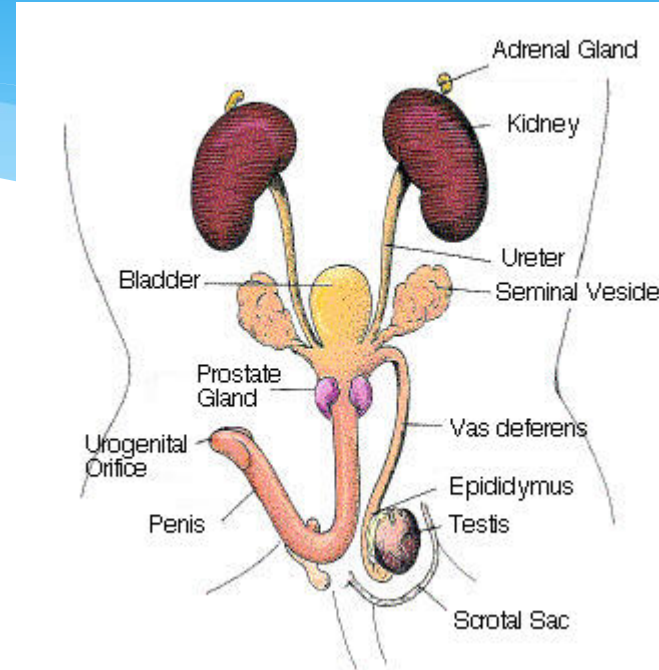


GAİTA VE İDRAR ALMA

Fare ve ratlar ele alındığında hemen daima idrar ve gaitasını yapabilir. Az miktarda kullanılacak numuneler için bu yöntem kullanılabilir. İdrar kesesi üzerine bir miktar baskı yapılarak idrar miktarı artırılabilir.



KATETERİZASYON PALPASYON



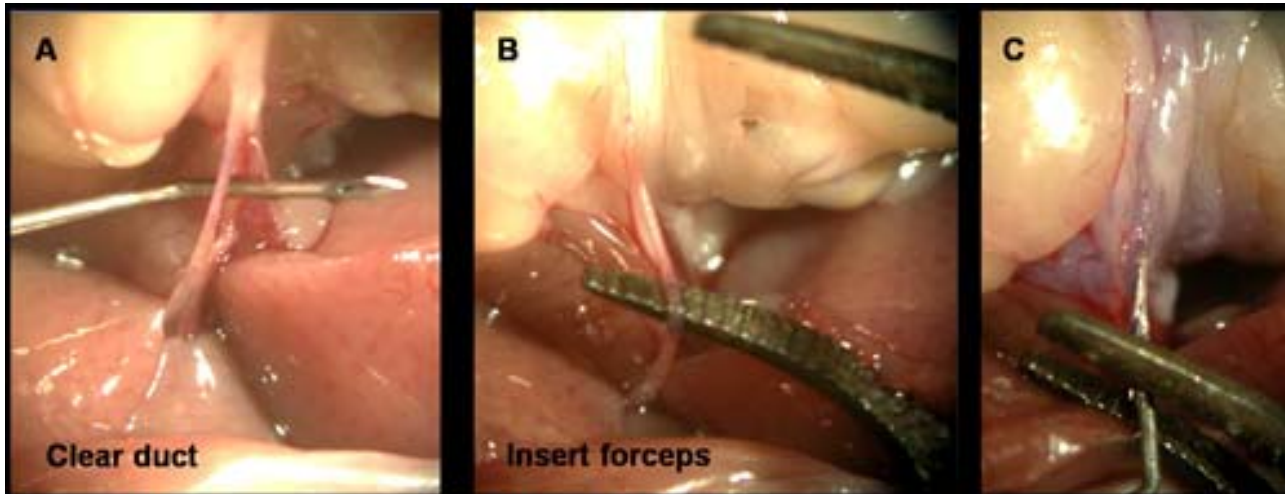
Uretranın kateterizasyonu ile idrarın toplanması daha çok tavşanlarda uygundur. Erkek hayvanların uretrası çok kıvrımlı olmasından dolayı zordur.

Sıçanlarda idrar değerleri

Günlük idrar miktarı (mL)	10-15
İdrar pH'sı	7.3-8.5
İdrar dansitesi	1040-1070
Günlük soydum atılımı (mEq/kg)	16.3
Günlük potasyum atılımı (mEq/kg)	8.3
İdrar osmolaritesi (mOsm/kg su)	1659
Glomerül filtrat hızı (mL/dk/kg)	10.1
İnsülin klirensi (mL/dk)	Sol: 1.23, Sağ: 1.24
Filtrasyon fraksiyonu	Sol: 0.46, Sağ: 0.47
Protein (mg/dl)	<30
Kreatinin (mg/kg/24 saat)	55
Potasyum (mEq/kg/24 saat)	21
17-ketosteroid (µg/kg/24 saat)	164

Safra toplanması

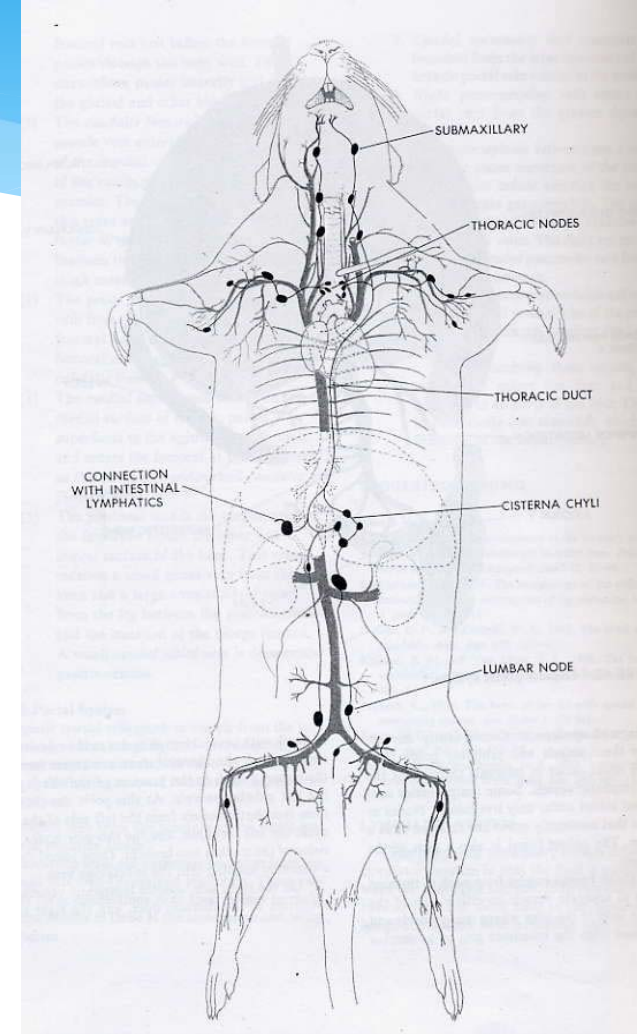
- Anestezi altındaki hayvanın karın boşluğu açılır ve safra kanalına (*ductus choledochus*) kanül yerleştirilir.
- **Sıçanlarda safra kesesi yoktur.**
- Kanül yerleştirildikten sonra **ince bağırsağa safra geçemez ve sindirim bozular.**
- **Safranın üretimi 24 saatte yaklaşık 10 – 15 mL'dir.** Eğer istenirse safra birkaç hafta toplanabilir.



Lenf toplanması

- Lenf sıvısının toplanması için *ductus thorasicus'un* kanüle edilmesi gerekir.
- Torasik kanal, aorta ile vertebralar arasında, vertebraların dizilişine paralel uzanacak şekilde bulunur.
- Lenf yolları çok şeffaf ve duvar yapıları incedir. Kanülasyon ancak büyüteç yardımıyla yada mikroskop büyütmesiyle yapılabilir.

İşleme başlamadan önce lenf sıvısını boyamak iyi bir yöntemdir. Bunun için karın açıldıktan sonra mezenteriyal lenf nodüllerinden birinin içine *evans blue veya trypan blue* gibi boya maddelerinden birinin %1 solüsyonundan 50-100 µL enjekte edilir.



Serebrospinal sıvı toplanması

- Serebrospinal sıvının punksiyon yoluyla alınması için vücudun iki farklı yeri kullanılır.
 - **Birinci yeri**, serebromedüller sisternanın kafatası ile ilk boyun vertebraı arasından punksiyonu,
 - **İkinci yeri ise** son lumbal vertebra ile sakrum arasındaki lumbosakral boşluğun punksiyonudur.
- Bu işlem yapılırken sedasyon veya lokal anestezi şarttır

TEŐEKKÜRLER

