

Konferans ve Panel Özetleri

K-1a

TAŞ DEVRİNDEN GÜNÜMÜZE BESLENME ALIŞKANLIKLARI VE METABOLİK SENDROM

Güler BUĞDAYCI

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bolu

Modern hayat ile beslenme ve uyku alışkanlıkları değişen, stres oranı artan insan doğal yaşamdan uzaklaşmıştır. Yiyecek ve içecekler, uzun süre raflarda bulunabilsin diye koruyucular ve endokrin bozucular içermektedir. Sebze ve meyveler sık hasat nedeniyle eskisi kadar çok mineral ve vitamin içermemektedir. Bu değişikliklerin sonucu; sodyumdan zengin, potasyumdan fakir, sature yağ asidi artan, omega 3/ omega 6 yağ asidi oranı her geçen gün daha azalan, aşırı früktoza maruz kalınan inflamatuvar süreçleri tetikleyen beslenme tarzı yaygınlaşmıştır (1).

Diyet kalite değerlendirilmesinde en çok bilinen indeks olan Sağlıklı Yeme İndeksi (Healthy Eating Index; HEI-2015) Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından hazırlanan Beslenme Rehberi ve orijinal besin piramidi önerilerine uyup uymadığını ölçmek için geliştirilmiştir. HEI-2015, bireye özgü kalori hesabının ardından, onüç bileşenden olan parametrelerle toplam 100 hedef puan skorlanarak ölçülmektedir (2). Farklı dernek ve kuruluşların önerdiği beslenmenin kalitesinin değerlendirildiği başka indeksler mevcuttur (3).

Beslenme ilişkili başlıca hastalıklar; kardiyovasküler hastalık ve risk faktörleri (inme, hipertansiyon, hiperkolesteremi), diyabet, kanser (özellikle meme ve kolorektal kanser), osteoporozdur. Bu hastalıkların artışı ile hekimler hastalarına hem bu hastalıkları için hem de farklı hastalıklar için sürdürülebilir beslenme önerileri yapmaları gerekmektedir. Yüksek tansiyon hastalarına önerilen sodyumu azaltılmış modifiye akdeniz diyeti olan DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) yeme planı Amerikan Ulusal Kalp, Akciğer ve Kan Enstitüsü tarafından önerilmektedir (4). Benzer olarak MIND diyet (Mediterranean-DASH-diet Intervention for Neurodegenerative Delay) nörodejeneratif hastalıktan korunmak için önerilen diğer yeme planıdır (5). Özellikle irritable barsak hastalıklarında başarısı kanıtlanmış, ilk olarak Monash Üniversitesi tarafından tanımlanan düşük FODMAP diyeti (fermente olabilen oligo, di,monosakkarit ve polioller) en yaygın kullanılan eliminasyon diyetlerdendir. Sızıntılı barsak sendromu sonucu oluşan olgularda ise uygulanan düşük FODMAP yanısıra glutensiz beslenme ve ketojenik diyetlerin mikrobiyotayı değiştirdiği gösterilmiştir (6,7).

Metabolik sendrom

Metabolik sendrom (MS), kalp hastalığı ve diyabet ve inme gibi diğer sağlık sorunları için risk artıran bir grup risk faktörünü içerir. Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü Klavuzuna göre, aşağıdaki listelenen beş maddeden üç veya daha fazlasına sahip olan bireyleri MS tanımı içine alır;

1. Bel çevresi; kadınlarda 89 cm (35 inç) , erkeklerde 102 cm (40 inç) üzerinde olması
2. Yüksek trigliserit düzeyi; trigliserit 150 mg/dL (1.7 mmol /L) üzerinde olması
3. Azalmış HDL-kolesterol düzeyi; kadınlarda 50 mg/dL (1.3 mmol/L) ve erkeklerde 40 mg/dL (1.04 mmol/L) altında olması
4. Yüksek kan basıncı; 130 / 85 mm/Hg üzerinde olması
5. Açlık kan şekerinin yükselmesi; 100 mg/dL (5.6 mmol/L) üzerinde olması (8).

Açlığın Önemi

Beslenmede bugüne değin besinlerin bileşenleri ve kalori miktarı ile ilgili kuralların olduğu diyetler geliştirilmiştir. Yemeklerin porsiyonlarının ayarlanması ve sıklığından ziyade uzun açlığın hastalığın başlamasını engellemek ve yaşlanmayı geciktirmek gibi faydaları kanıtlanmıştır. Açlığın altında yatan fizyolojik süreçler, metabolik yakıt kaynaklarının kullanımı, onarım mekanizmalarının desteklenmesi ve hücrel sağlık için enerji kullanımının dengelenmesini içerir. Araştırılan açlık modelleri; kalori kısıtlama, zaman kısıtlı beslenme, aralıklı veya periyodik açlık, açlığı taklit eden diyetlerdir. Beslenme ile ilgili planlanan araştırmalar daha çok kontrollü yemek, oruç şekilleri ve açlık süreleri ile dengeli besleyici diyetin entegrasyonuna yönelik olacaktır (9).

Kaynaklar

1. <https://www.cnpp.usda.gov/healthyeatingindex> <https://www.choosemyplate.gov/MyPlatePlan>
2. Hashemian M, Farvid MS, Potstchi H et al. The application of six dietary scores to a Middle Eastern population: a comparative analysis of mortality in a prospective study. *Eur J Epidemiol* 2019 18. [Epub ahead of print]
3. Yang ZQ, Yang Z, Duan ML. Dietary approach to stop hypertension diet and risk of coronary artery disease: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Food Sci Nutr*. 2019;27:1-7.
4. Adjibade M, Assmann KE, Julia C, Galan P, Hercberg S, Kesse-Guyot E. Prospective association between adherence to the MIND diet and subjective memory complaints in the French NutriNet-Santé cohort. *J Neurol*. 2019;266(4):942-952.
5. Staudacher HM, Whelan K. The low FODMAP diet: recent advances in understanding its mechanisms and efficacy in IBS. *Gut*. 2017;66(8):1517-1527.
6. <https://www.monashfodmap.com/ibs-central/i-have-ibs/get-the-app/>
7. <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/metabolic-syndrome>
8. Di Francesco A, Di Germano C, Bernier M, De Cabo R. A time to fast. *Science* 2018;16; 362 (6416): 770-775.

K-1b

ARALIKLI BESLENME VE KETOJENİK DİYET

Fehime Benli AKSUNGAR

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

Son yıllarda yapılan çalışmalar, beslenmenin organizma sağlığı ve yaşam süresi üzerinde ciddi etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Günümüzde birçok değişik sağlıklı beslenme modeli bulunmaktadır. Gerek hayvan gerek insan deneylerinde günlük beslenme sırasında kalori kısıtlamasının metabolik sendrom, diyabet ve prediyabet gibi bir çok kronik hastalığın prognozunu iyi yönde etkilediği bilinmektedir. Yine son yıllarda hayvan deneylerinde alternatif beslenme biçimi olarak, kalori kısıtlaması olmaksızın uzun süreli aralıklarla (12-24 saat) beslenmenin beyin fonksiyonları ve yaşlanma üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda uzun süreli açlık modeli 12 saatin üzerinde yiyecek alınmaması ile tanımlanmaktadır. Bu modelin enflamasyonu ve kronik hastalıkların şiddetini azaltabildiği, yaşlanmayı geciktirebildiği ve sağlıklı olma sürecini arttırabildiği gösterilmiştir. Altta yatan en önemli mekanizmanın normal beslenme sırasında vücutta çok az miktarda bulunan keton cisimciklerinin uzamış açlık modelinde dolaşımında fazlaca bulunması ve açlık stresi altında bulunan beyin dokusu ve diğer dokuların bu cisimcikleri çok verimli şekilde kullanması olduğu düşünülmektedir. Daha önce yaptığımız insan çalışmalarında kalori kısıtlaması modeli ve uzamış açlık modeli karşılaştırılmış ve iki modelin sinyal iletim mekanizmalarında farklılıklar olabileceği düşünülmüştür. Uzun süren açlıklarda yağ katabolizması artışı, keton cisimciklerinin üretilmesi ve açlık stresinin hücre enerji metabolizmasına ayrıca hücrenin stres altında korunma mekanizmalarından biri olan otofajiye neden olduğu düşünülmektedir. Uzun süreli açlık modelinde elde edilen ketojenik ortam, son yıllarda “ketojenik diyet” ile simüle edilmeye çalışılmaktadır. Ketojenik diyet çok uzun yıllardır, değişik şekillerde, özellikle tedaviye dirençli epilepsi hastalarında kullanılan bir tedavi yöntemidir ancak halen tam olarak etki mekanizması ortaya konamamıştır. Yapılan bir çalışmada, ketojenik diyet komponentlerinden dekaenolik asidin nöron hücrelerinde mitokondrial sitrat sentaz enziminin ve kompleks I aktivitesinin artışına neden olduğu gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise ketojenik diyetin nöron ve periferik hücrelerde lipid ve enerji metabolizmasını regüle eden, tip II nükleer transkripsiyon faktörü PPAR aktivasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. TÜBİTAK tarafından desteklenen, nöron hücre kültürlerinde uzamış açlık modelinin simüle edildiği çalışmamızda keton eklenen medyumlarda mitokondri fonksiyonlarında istatistiksel olarak anlamlı pozitif değişiklikler saptanmıştır.

Kaynaklar

1. Adam L., Hartman M.D. 2012. “Neuroprotection in metabolism-based therapy”, *Epilepsy Res.* July; 100(3): 286–294. doi:10.1016/j.epilepsyres.2011.04.016.
2. Aksungar F.B., Sarıkaya M., Coskun A., Serteser M., Unsal I. 2016. “Comparison of Intermittent Fasting and Caloric Restriction according to the GH/IGF-1 Axis and Insulin Resistance in obese subjects: A Two Year Follow-up.” *Journal of Nutrition Health Aging* doi:10.1007/s12603-016-0786-y
3. Hughes S.D., Kanabus M., Anderson G., Hargreaves I.P., Rutherford T., Donnell M.O., Cross H., Rahman S., Eaton S., Heales S.J.R. 2014. “The ketogenic diet component decaenoic acid increases mitochondrial citrate synthase and complex I activity in neuronal cells”, *International Society for Neurochemistry, J. Neurochem.* 129, 426—433.
4. Jeong J.H., Yu K.S., Bak D.H., Lee J.H., Lee N.S., Jeong Y.G., Kim D.K., Kim J.J., Han S.Y. 2016 “Intermittent fasting is neuroprotective in focal cerebral ischemia by minimizing autophagic flux disturbance and inhibiting apoptosis”. *Exp Therapeut Med* 12: 3021-3028.

K-2a

BİPOLAR BOZUKLUĞUN NÖROBİYOLOJİSİ VE BİYOBELİRTEÇ ARAYIŞINDA OKSİDATİF DNA HASAR VE ONARIM DÜZENEKLERİ

Ayşegül ÖZERDEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri AD, İzmir
Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sinirbilimler AD, İzmir
Department of Psychiatry and Psychology, Mayo Clinic, Rochester MN, USA
aysegul.ozerdem@deu.edu.tr; ozerdem.aysegul@mayo.edu

Bipolar Bozukluk manik ve depresif doğadaki hastalık dönemleri ile aradaki iyilik dönemlerinin (ötimi) birbirini izlediği döngülenen, genetik, kalıtlılabilir ve yaşam boyu süren bir beyin hastalığıdır. Çocukluk çağından yaşlılığa kadar geniş bir yaş yelpazesinde ortaya çıkabilir. Tanıda gecikme, başta majör depresif bozukluk olmak üzere diğer psikiyatrik hastalıklarla karışması nedeniyle yanlış tanı sık karşılaşılan bir durumdur. Klinik muayene ve öykü dışında tanı koyduracak bir araç bulunmayan hastalıkta erken tanı ve tedavi izlemi için biyobelirteçlere ciddi bir gereksinim duyulmaktadır. Nörobiyolojisinde oksidatif DNA hasarı, ve enflamatuar süreçlerin rolüne ilişkin veri giderek artmaktadır.

Bipolar bozukluk tanılı hasta ve sağlıklı kontrollerin katılımıyla gerçekleşmiş, DNA hasar belirteçlerinin ve baz çıkartma onarım düzeneğinde yer alan OGG1 enzim aktivitesinin perifer kan örneklerinde çalışıldığı üç farklı çalışmanın verileri birarada sunulacaktır.

Hasta grupta ötimik ya da manik/depresif dönemlerde oksidatif DNA hasarının varlığına ilişkin bulgular tutarsızlık göstermekte, veriler farklı DNA hasar parametrelerinin birarada çalışılması gerektiğine işaret etmektedir. OGG1 enziminin ekspresyon ve plazma protein düzeyleri hasta grupta sağlıklılardan farklılık göstermekte olup, bipolar bozuklukta baz çıkartma onarım düzeneğindeki olası soruna işaret etmektedir. Bulgular özellikle kadın cinsiyette daha baskın biçimde ortaya çıkmaktadır.

206*

Bipolar bozukluk için biyobelirteç arayışında DNA hasar ve onarım düzeneklerinin beyin dokusu, ve büyük örneklerde çalışılması, tedavi ile gösterdiği değişikliklerin belirlenmesi gerekmektedir.

K-2b

PSİKİYATRİK HASTALIKLARDA BİYOBELİRTEÇLERİN YERİ

Özlem GÜRSOY ÇALAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

Psikiyatrik hastalıklar düşünce, davranış ve duygu değişiklikleri ile kendini gösteren bozukluklardır. Bunlar; depresyon, bipolar bozukluk, şizofreni, yaygın anksiyete bozukluğu, obsesif kompulsif bozukluk, alkol ve madde bağımlılığı, panik bozukluk, sosyal fobi, cinsel işlev bozuklukları vb. oldukça geniş bir yelpazede incelenmektedir. Toplumda görülme sıklıkları hastalıktan hastalığa değişmekle birlikte %0.5-15 civarındadır. Bu hastalıklar mesleki ve sosyal fonksiyonlarında azalmaya, zamanla kognitif işlevlerde bozulmaya neden olmakla birlikte uygun tedavi edilmediği durumlarda ölüm ile de sonuçlanabilmektedir. Örneğin depresyonda intihar ile ölüm oranı yaklaşık %15 olarak belirlenmiş olup bu hastalıklar toplum için sosyal ve ekonomik problem olmanın yanı sıra ölümcül de olabilen ciddi sağlık sorunlarıdır. Bu nedenle erken ve doğru tanı, etkin tedavi ve tedaviye yanıtın takibi oldukça önemlidir.

Psikiyatrik hastalıkların tanısı; kişilerin kendi bildirimlerine ve hekim gözlemine dayandırılmakta olup, biyolojik objektif kanıtlarla desteklenemediğinden zaman zaman eksik ya da yanlış tanı konulabilmekte ve tedavi süreci olumsuz etkilenebilmektedir. Tam bu sebeple biyobelirteç ihtiyacı daha da önem kazanmıştır. Tanı, tedaviye yanıt veya hastalığın prognozunu gösteren ölçülebilir özellikte biyobelirteçlerin ortaya konması bu sorunların giderilmesi açısından önemlidir.

Nöropsikiyatrik hastalıkların patofizyolojisini anlamaya ve aynı zamanda biyobelirteç keşfine yönelik araştırmalarda; oksidatif stres, inflamasyon, nörotrofik faktörler ve genetik üzerinde durulmuş, altta yatan moleküler yollar anlaşılmaya çalışılmıştır. Bu kapsamda ‘OMİK’ denilen ve ilişkili oldukları moleküllerin yapı ve fonksiyonlarını ortaya koymaya çalışan genomik, transkriptomik, proteomik, lipidomik, metabolomik, farmakogenomik vb. pekçok alan ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalarda üretilen aşırı bilgi miktarına ayak uydurma ve bilginin doğru işlenmesi ve anlaşılır biçimde değerlendirilmesi açısından da biyoinformatik alanı ayrı bir önem kazanmıştır.

Son yıllarda; alışılmışın dışında orjinleri ve farklı fonksiyonları nedeniyle ‘nörosteroidler’(NS) olarak isimlendirilen (Pregnenolon, Pregnenolon sülfat, Progesteron, Dehidroepiandrosteron, Dehidroepiandrosteron sülfat, Allopregnanolon vb.) nöroaktif steroidlerin disregülasyonunun çeşitli psikiyatrik bozuklukların patofizyolojisinde kritik rol oynadığı sıkça vurgulanmıştır. NS’lerin konsantrasyonlarındaki veya oranlarındaki değişikliklerin bu hastalıklarda gösterilmesi ile bunların antipsikotik tedavi için terapötik hedef olabilecekleri akla gelmiş ve bu alanda yeni bir ufuk açılmıştır.

NS sentezi hipokampus ve neokorteks gibi pekçok beyin bölgesinde hem glia hem de nöronlarda kolesterolden “*de novo*” olarak gerçekleşmektedir. Steroid hormonlar hücre içi reseptörlere bağlanarak gen ekspresyonunun modülasyonu ile biyolojik etkilerini gösterirken, NS’ler ise genel olarak nörotransmitter reseptör aracılı non-genomik etki gösterirler. Gama amino bütirik asit (GABA-_A), N-metil D-aspartat (NMDA), sigma 1 gibi çeşitli reseptörleri ve bir çok ligand-kapılı, voltaj bağımlı iyon kanallarını modüle ederek sinyal iletimini saniye veya milisaniye içinde gerçekleştirirler.

NS’lerin yukarıdaki etki mekanizmaları da göz önünde bulundurulduğunda; beyindeki düzey değişimlerinin bipolar bozukluk, duygudurum bozuklukları, anksiyete bozuklukları, premenstrel disforik bozukluk ve postpartum depresyon vb. hastalıkların oluşumunda ve tedavisinde etkili olması son günlerde yoğun bir şekilde gündeme gelmelerine neden olmuştur.

Sonuç olarak; bu sunumda sık görülen psikiyatrik hastalıklarda NS’lerin fizyopatolojideki ve tedavideki yeri vurgulanacaktır.

K-3

Matthias ORTH

Chefarzt des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Vinzenz von Paul Kliniken Marienhospital Stuttgart, Germany

Healthcare - unlike to trade - is regulated on a national level. However, the wellbeing of patients or even of whole mankind should be defined universally. Open country boundaries and the advantages of free migration within the European Union pose a certain challenge to Laboratory Medicine: unlike to other medical disciplines except teleradiology and anatomical pathology, the physical presence of a specialized physician at a certain location is of only little importance since samples can be transported easily even to laboratories in other countries. To maintain patient safety and to monitor the financial resources spent for Laboratory Medicine, complicated and very heterogeneous national systems are in place to guarantee the integrity of patients and the financial resources spent for laboratory testing. These systems cover many aspects of Laboratory Medicine such as the minimum and maximum size of a certain laboratory, the scope of testing (in particular whether microbiology and immunohematology is covered) and the different roles of Laboratory Medicine physicians, non-medical scientists, pharmacists and technicians. Critical is the philosophy and self-image of Laboratory Medicine: in some European countries, Laboratory Medicine is derived from Internal Medicine and covers all aspects from giving the indication of a certain test and declining unnecessary testing up to interpretation of the testing results with therapeutic recommendations (please compare to the definition of the "Medical Act"). In other countries, the work is the mere testing process only and giving the indication for a certain test and interpreting the test results is performed by other medics outside the medical laboratory.

Current challenges of Laboratory Medicine arise with the advent of direct to consumer testing. This testing challenges the restrictions of healthcare and might revolutionize (and even destroy) the whole in vitro testing. Direct to consumer testing poses a very high risk of damaging Laboratory Medicine as a whole as has been observed with the biggest scam in a Silicon valley company in history (Theranos).

The UEMS, the European Union of Medical Specialists, is in charge of giving European standards for the content of postgraduate training of physicians. Therefore, the UEMS Section Laboratory Medicine/Medical Biopathology has developed a curriculum for the postgraduate training (the so called "Blue Book"). This Blue Book can be used as a template for the national curricula of postgraduate training. At the current point in time, however, the postgraduate training of Laboratory Medicine is so heterogeneous among European countries that --unlike to other medical disciplines such as Anesthesia or Ophthalmology - a centralized European examination is out of reach for postgraduates of Laboratory Medicine.

K-4a

NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARDA BİYOBELİRTEÇLER VE TANIDA ÖNEMİ

Demet ADAPINAR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, Eskişehir

Nörodejeneratif hastalıklar gelecek dönemde milyonlarca insanın yaşamını etkileyecek toplum için ise artan maliyetlerle il bir halk sağlığı sorunu olacaktır. Hastalıkların kalıtsal bir temeli olabileceği gibi yaşlılıkla birlikte ortaya çıkma sıklıkları da yüksektir. Hastalığın ilerlemesini durdurabilecek veya geciktirebilecek etkili tedavilerin olmaması çok büyük bir sorun yaratmaktadır. Bu nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi ve tedavisi, günümüzde araştırmaların önemli bir hedefini oluşturmaktadır.

Nörodejeneratif hastalıklar, nöron ve nöron uzantılarının bilinen veya bilinmeyen etyolojiler ile hasar görek sonrasında semptomlara ve fonksiyon bozukluklarına yol açtığı durumlardır. Hastalıkların temelinde hem genetik hem de epigenetik faktörlerin bulunması moleküler oluşum mekanizmalarında farklılıklar yaratır. Son yıllarda Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif bozuklukların bilgisi, semptomların tanımlanmasından moleküler düzeyde bir hastalık mekanizması anlayışına geçmiştir. Bu hastalıklarda çoğu artık bilinen moleküler olayların, nöronal işlev bozukluğu, hücre ölümü, beyin hasarı ve hastalık semptomlarına yol açan çözünabilir protein agregatlarının protein yanlış çözülmesi ve yayılması olduğuna inanılmaktadır. Nörodejeneratif hastalıklar, kendine özgü isimlendirilmiş ve tanımlanmış proteinler ile karakterize edilir. Alzheimer hastalığının ayırt edici özelliği, protein amiloid-beta, tau ve yeni bir çok protein iken, alfa-sinüklein ise Parkinson hastalığının en önemli proteini özelliğini korumaktadır. Alzheimer içlerinde en bilinen hastalık olma özelliğini hala korumaktadır. Ne yazık ki en belirgin semptomu unutkanlık olup çoğu kez yaş faktöründen ötürü teşhis oldukça geç olmakta ve bu aşama geri döndürülemez bir dönemi yaratmaktadır. Tedav de ise semptomların düzeyini azaltmaktan başka yapılabilecek fazla bir şey kalmamaktadır. Alzheimer hastalığının moleküler mekanizmasına ilişkin pek çok genetik etmen aydınlatılmış olmasına rağmen bu hastaların sadece küçük bir yüzdesindeki mekanizmayı açıklayabilmekte, geri kalan çoğunluk için hastalığın ortaya çıkış mekanizması hala bilinmemektedir. Bu da doğal olarak ilaç geliştirilmesi ihtimalini oldukça düşük kılmaktadır.

Diğer bir nörodejeneratif hastalık olan Parkinson hastalığında ise dopamin salan sinir hücrelerinin kaybı söz konusudur. Hücre kaybına paralel seviyesi düşen dopamin, kişilerde hareketlerde yavaşlamaya yol açar. Alzheimer'a göre beynin çok daha özgün anatomisindeki bir nöron türüne has bir hastalık olmasına rağmen, Parkinson'un da moleküler mekanizması ancak hastaların çok küçük bir yüzdesinde tanımlanabilmiştir. Benzer şekilde bu hastalığın yol açtığı sorunlarda dopamini arttırmaya yönelik ilaçlar ile mümkündür.

Bu ve benzer hastalıkların erken tanı ve tedavisinde ve yeni geliştirilen ilaçların etkinlik analizinde hastalıklara ait moleküler ve hücresel belirteçleri ölçmenin önemi giderek artmaktadır. Biyobelirteç adını da alan bu parametreler bu toplantıda yeniden gözden geçirilecek ve ayrıntıları ile dinleyiciye sunulacaktır.

Referanslar

1. Yilmaz R, Hopfner F, van Eimeren T, Berg D. Biomarkers of Parkinson's disease: 20 years later. J Neural Transm (Vienna). 2019 Apr 4
2. Zetterberg H, Burnham SC. Blood-based molecular biomarkers for Alzheimer's disease. Mol Brain. 2019 Mar 28;12(1):26
3. Cerebrospinal fluid biomarkers for understanding multiple aspects of Alzheimer's disease pathogenesis. Dhiman K, Blennow K, Zetterberg H, Martins RN, Gupta VB. Cell Mol Life Sci. 2019 Feb
4. Amino acid profiling as a method of discovering biomarkers for diagnosis of neurodegenerative diseases. Socha E, Koba M, Kośliński P. Amino Acids. 2019 Mar;51(3):367-371.

K-4b

NÖROLOJİK HASTALIKLAR ve LABORATUVAR

Pınar AKAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

Çoğu nörolojik hastalığın tanı ve tedavisinin takibinde radyolojik tanı ile birlikte klinik laboratuvar analizleri önemli bir dayanak noktasını oluşturur. Tıptaki birçok uzmanlık alanında olduğu gibi nörolojik hastalıkların tanısında da, laboratuvar analizlerin yorumlanması klinik biyokimya uzmanları ve nörologların yakın bir iletişimini gerektirir. Nörolojik hastalıklarla ilişkili laboratuvar tıbbında beyin omurilik sıvısı (BOS) analizlerinin temel bir yeri vardır. BOS analizinin rutin kullanımı hakkında bir kılavuzun son zamanlarda yayımlandığı Avrupa'da analiz metodlarının özellikleri, kullanım alanları ve sonuçların değerlendirilmesi uzun süredir devam eden bir geleneğe sahiptir. Ülkemiz koşullarında da BOS analizlerinin gerçekleştirilmesinde ve değerlendirmesinde belirli standart koşulların sağlanması bir gereklilik olarak ortaya çıkmaktadır. Ancak nörolojide laboratuvar tanı BOS analizleri ile sınırlı değildir.

Kan ve İdrar Tarama Testleri: Kan ve idrar tarama testleri, nörolojik hastalığın teşhisine yardımcı olmak, hastalık sürecini daha iyi anlamak ve terapötik ilaçların seviyelerini izlemek için kullanılır. Nörolojik hastalıkların laboratuvar tanısında hekim tarafından muayenenin bir parçası olarak istenen belirli testler genel bilgi sağlarken, diğerleri belirli sağlık sorunlarını tanımlamak için kullanılır. Örneğin beyin ve / veya omurilik enfeksiyonu, kemik iliği tutulumu, kanama, vasküler hasar, sinir sistemini etkileyen toksinler ve otoimmün bir hastalığın varlığını işaret eden anti nöronal antikorlarının varlığı tespit edilebilir. BOS analizi analizi ile birlikte kan analizleri ile menenjit, akut ve kronik inflamasyon, nadir enfeksiyonlar ve multipl skleroz uzun süreli olguları tespit edebilir. İdrar metabolit analizleri ile idrarda mukopolisakkaridler gibi anormal maddelerin tespiti ile bazı metabolik nörolojik hastalıkların varlığı ortaya konabilir.

Beyin omurilik sıvısının (BOS) analizi, klinik nörolojide paha biçilmez bir teşhis yardımcısıdır ve lomber ponksiyonla göreceli olarak kolaylıkla elde edilebilir. BOS analizi, hematoloji, sitokimya, klinik kimya, mikrobiyoloji ve virolojide uygulanan çeşitli teknolojilere uygundur. Beyin, omurilik ve meninksleri tutan enfeksiyöz veya enfeksiyöz olmayan enflamatuvar durumların değerlendirilmesinde, BT - negatif subaraknoid kanamada ve leptomeningeal metastazlarda tanısal bir yardımcı olarak paha biçilmezdir.

Rutin tanı çalışmaları sırasında ölçülen çok fazla bileşen yoktur, bununla birlikte bu değişkenlerin kombinasyonu, genellikle belirli nörolojik hastalıklar için tipik olan çeşitli paternler verir. BOS'da değerlendirilen parametreler ;**Total protein ve albümin** , **Kantitatif intratekal immünoglobulin sentezi**, **Kalitatif (oligoklonal) intratekal IgG sentezi**, **BOS glikoz konsantrasyonu**, **BOS / serum glukoz oranı ve laktat**, **Sitolojik inceleme**, **Enfeksiyöz BOS incelemeleri** şeklinde başlıklar halinde özetlenebilir.

Avrupa BOS tanı kılavuzuna göre BOS beyaz kan hücresi sayımı ve mikroskopik değerlendirilmesi, BOS / serum albümin katsayısı, BOS / serum glukoz oranı, immünoglobulinlerin intratekal fraksiyonu veya sitolojik inceleme gibi rutin parametrelerin “**entegre bir BOS raporu**” elde etmek için kullanılması önerilmektedir. Artan BOS / serum albümin katsayısı (Qalb) ve artan total BOS protein konsantrasyonlarının leptomeningeal metastazın yanı sıra bakteriyel, kriptokokal ve tüberküloz menenjiti desteklediğine dair Sınıf I düzeyinde kanıtlar vardır. Qalb veya protein değerlerinin, diğer BOS değişkenleriyle kombinasyonu, Gullain - Barré sendromundaki albumino sitolojik ayrışma gibi tanı koyma özelliğini artırır. BOS yeni biyobelirteçlerin araştırılması için düşük “*background*” avantajına sahiptir. Bununla birlikte BOS bileşenlerin göreceli düşük konsantrasyonları belli bir metodolojik zorluğa neden olması nedeniyle ile **BOS tanısında kalite güvencesi klinik biyokimya uzmanlarının** üzerinde ayrıca durması gereken bir konudur.

K-5a

ANALİZ ÖNCESİ DÖNEMDE KALİTE

Burcu BARUTÇUOĞLU

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Bilim Dalı, İzmir

Özet

Laboratuvar tıbbında kalite, toplam test sürecinde her basamağın doğru olarak yapılması garantisi olarak tanımlanır. Analiz öncesi evre (pre-analitik evre) laboratuvar hatalarının en önemli kaynağıdır. Analiz öncesi evrede laboratuvar dışında gerçekleşen pre-pre-analitik evre olarak adlandırılan; örnek/hasta tanımı, hasta hazırlığı, örnek toplama, transport ve saklanma basamakları en sık hata kaynaklarıdır. Pre-preanalitik evre toplam test sürecinde laboratuvar dışında çalışan sağlık personeli tarafından gerçekleştirilen ancak laboratuvarların sorumluluğunda olan bir evredir. Bu nedenle kalite göstergeleri test isteminden örnek saklanmasına kadar olan analiz öncesi tüm işlemlerin izlenmesini ve iyileştirilmesini sağlamalıdır. Uluslararası çalışma grupları, toplam test sürecinin en önemli evresi olan analiz öncesi evrede kaliteyi geliştirmek üzere önemli projeler yürütmektedir.

Summary

Quality in laboratory medicine is defined as the guarantee of each step of total testing process. Pre-analytical phase is the major source of laboratory errors. The most frequent errors arise outside the laboratory during patient/sample identification, patient preparation, sample collection, transport and storage which are part of pre-preanalytical phase. The most error prone steps outside the laboratory, performed by healthcare personnel is the pre-preanalytical phase and is directly in the responsibility of the clinical laboratory. Quality indicators should monitor and improve all the steps of pre-analytical phase from test requesting to sample storage. International working groups run many projects to improve the quality in the most important part of total testing process, preanalytical phase.

Laboratuvar tıbbında kalite, toplam test sürecinde, her basamağın ve tüm işlemin doğru yapılmasının garantilenmesi olarak tanımlanır (1). Kalite; doğru hastadan, doğru testin, yeterli analitik performans ile doğru olarak, zamanında, doğru yorumlanarak sunulmasıdır. Laboratuvar tıbbında toplam test sürecinde sağlanan kalite sayesinde doğru tıbbi kararlar, efektif hasta bakımı ve tedavisi sağlanır.

Lundberg 1981 yılında açıkladığı beyinden beyine döngü (brain to brain loop) ile toplam test sürecini tanımlamaktadır. Lundberg döngüsü 9 basamaklı bir döngüdür. Bu basamaklar; klinisyenin aklında bir soru oluşması, test istemi, örnek alma, hasta ve örnek tanımlama, laboratuvara transportu kapsayan pre-pre analitik evre, örneğin laboratuvara girmesi ve örnek hazırlığını kapsayan pre-analitik evre, tüm analiz süreçlerini kapsayan analitik evre, test sonuçlarının yorumlanmasını kapsayan post-analitik evre ve son olarak da test sonuçlarının yorumlanmasını kapsayan post-post analitik evredir (2). Toplam test süreci olarak da adlandırılan bu süreç, hastası için tetkik isteyen klinisyenin kafasında bir soru ile başlar ve test sonuçlarının doğru yorumlanması ve hasta yararına kullanımı ile tamamlanır. Klinisyen, test sonucunun hastası ile ilgili sorduğu soruyu yanıtlamasını ve karar verme aşamasına yardımcı olmasını bekler. Hasta yararına tanı ve klinik kararın belirlenmesinde en önemli katkıyı laboratuvar testleri sağlar. Laboratuvar tıbbının temel ürünü, performansına dayalı test sonuç bilgisidir. Laboratuvar işleyişini planlamak, organize etmek ve kontrol etmek için eski yıllarda testler odak noktası iken, günümüzde artık 'hasta' odak noktasıdır.

Kısa bir süre önceye kadar, kalite yönetimi denildiğinde, toplam test sürecinin bir parçası olan analitik faz için yapılan kalite çalışmaları akla gelmekteydi. Ancak, 1989 – 2007 yıllarında yapılan yoğun araştırmalar sonrasında aslında analitik hataların toplam hataların % 12'sini oluşturduğu, hata kaynaklarının yaklaşık % 68'inin pre-analitik evrede, %20'sinin post-analitik evrede olduğu görüldü (3). Analiz evresi dışındaki tüm hataların (ekstra-analitik evre hataları) hastaların %25'inde tedavilerin yanlış yönlendirilmesine ve gereksiz ek tanı ve tedavi yöntemlerine yönelmeye neden olmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda toplam test sürecinin her basamağını kapsayacak kalite yönetimi gerekliliği ortaya konuldu (4).

Laboratuvar testlerine, hasta-odaklı yaklaşımda klinik laboratuvarın kontrolünde olan süreçleri ve işleyişi kontrol etmek yeterli olmayıp toplam test süreci döngüsünün ilk ve en son basamakları olan pre-pre-analitik ve post-post-analitik evrelerde incelenmeli, kontrol edilmeli, değerlendirilmeli ve geliştirilmelidir. ISO/TS 22367:2008'da laboratuvar hatası; test isteminden sonuçların raporlanmasına, doğru yorumlanmasına ve harekete geçilmesine kadar olan laboratuvar döngüsünün herhangi bir aşamasında planlanan bir hareketin hedeflendiği gibi tamamlanamaması

veya hedefe ulaşmak için yanlış bir yöntemin seçilmesi olarak tanımlanır. ISO/TS 22367:2008'e göre, laboratuvarlarda toplam kalite için toplam test sürecinin tüm basamakları ele alınmalıdır. Klinik laboratuvarlar; hasta güvenliği için yüksek riskli süreçleri ve bu süreçlerdeki olası hataları belirlemeli, standart süreçlerin dışındaki olayları tespit edebilmeli, hasta güvenliği ile ilişkili riskleri tahmin etmeli, kontrol etmeli ve değerlendirmeli ve alınan tedbirlerin etkinliğini izlemelidir (5).

Pre-analitik evre hataları, laboratuvar hatalarının yaklaşık %70'ini oluşturur (6). Raporlanan en sık hatalar: kayıp örnek ve/veya test isteği, yanlış / eksik örnek tanımı / hasta kimliği, infüzyon hattından bulaş, hemolizli, pıhtılı ve yetersiz örnekler, uygunsuz kaplar, uygunsuz kan antikoagulan oranı, uygunsuz transport ve saklama koşullarıdır (7,8).

Amerikan Tıp Enstitüsü (American Institution of Medicine) 2000 yılında '*Hatasız kul olmaz*' diyerek, laboratuvar süreçlerinde hataları azaltmak için kalite yönetim sistemi gerekliliği olduğunu yayınladı. Enstitü'ye göre, güvenilir kalite göstergelerinin tanımlanması sağlıkta kalitenin ölçülebilmesinde çok önemli olup; kalite göstergeleri enstitü tarafından belirlenen altı önemli kritik noktayı (Hasta güvenliği, Etkinlik, Eşitlik, Hasta odaklı, Vaktinde, Verimlilik) objektif olarak ölçmelidir (9).

ISO 15189:2012'ye göre kalite göstergeleri; tüm işleyiş süreçlerindeki kalitenin ve gerekliliklerin en üst düzeyde karşılandığını ölçen araçlardır. Klinik laboratuvarlar toplam test sürecinde kritik noktaları belirlemeli, hataları tespit etme ve izlemi için kalite göstergeleri kullanmalı, toplam test sürecindeki hata riskinin azalmasını sağlamalı ve hasta güvenliğini sağlayabilmek için hata riskini belirli bir düzeyde tutmalıdır. Toplam hata oranının azalması ve hata raporlama oranının artması iyi kalite göstergesidir (10). Tüm test sürecini kapsayan kalite göstergelerinin belirlenmesi ve kullanımı uluslararası standardizasyon ve akreditasyon için de bir zorunluluk haline gelmiştir.

ISO 15189:2012 göre kalite göstergelerinin etkin kullanımı için klinik laboratuvarlarda, kalite göstergelerinin kullanım amacı, adlandırılması ve tanımı yapılmalıdır. Standard ve sistematik veri toplama yöntemlerinin tanımı için metod belirlenmelidir. Kalite göstergelerini değerlendirme ve elde edilen verileri yorumlama, kalite iyileştirme stratejilerine entegrasyonu gerekmektedir. Elde edilen veriler iyileştirme planlarının oluşturulmasında kullanılmalıdır. Tüm bu izlem ve iyileştirme süreçleri için zaman yönetimi ve takvim oluşturulmalıdır (10). Kalite göstergesi ölçümleri yüzde (%) veya milyonda hata veya 6 sigma skalasına göre ifade edilebilir. Etkin kalite gösterge yönetimi için laboratuvarlarda, kalite göstergeleri tanımlanmalı, her gösterge için doküman, standart işleyiş prosedürü hazırlanmalı, istenmeyen tüm olayların kaydı tercihen bilgisayar ortamında tutulmalı, kalite gösterge verilerinin kaydı ve izlemi yapılmalı ve mümkünse bir bilgisayar programı kullanılmalıdır. Etkin kalite gösterge yönetimi için ayrıca laboratuvarlar arası standardizasyon için bilişim programları geliştirilmektedir. Bu programlar sayesinde laboratuvarlar tarafından kullanılan kalite gösterge kayıtları için veri havuzu oluşturmak ve verilerin standard bir şekilde toplanmasını sağlamak amaçlanmaktadır (11).

Uluslararası kuruluşların çalışma grupları kalite göstergeleri için standardizasyon çalışmaları yürütmektedir. Avrupa Laboratuvar Tıbbı Federasyonu Pre-analitik Evre Çalışma Grubu (EFLM WG-PRE), pre-analitik evre ilke ve uygulamalarının standardizasyonu için en kritik ve en acil sekiz alan belirlemiştir. Bunlar; test istemi, hasta tanımlanması, hasta hazırlığı, örnek alınması, pediatrik ve neonatal örnek alınması, örnek transportu ve saklanması, uygunsuz örneklerin yönetimi ve kalite göstergeleridir. EFLM WG-PRE Bu sekiz kritik alanın standardizasyonunu sağlayarak, tüm Avrupa'da hasta güvenliğinin artırılmasını amaçlamaktadır (12).

Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu Laboratuvar Hataları ve Hasta Güvenliği-Çalışma Grubu (IFCC WG-LEPS)'nin kuruluş amacı (2008), laboratuvar tıbbındaki hatalara yönelik çalışmaları arttırmak, veri toplamak, hasta güvenliğini arttırmaya yönelik stratejiler ve yöntemler önermektir. Bu çalışma grubunun temel hedefi toplam test sürecinin tüm basamaklarını değerlendirebilmek için güvenilir kalite göstergeleri belirlemektir (13). Kalite göstergesi kalitatif veya kantitatif bir veri olup ve zaman içerisinde değişimi ölçülebilmesi ve tanımlanmış kalite hedeflerini doğrulamalıdır. IFCC WG-LEPS, çok uluslu Kalite Gösterge Modelleri (MQI) projesini yürütmektedir. Bu çalışmanın amacı, toplam test sürecini inceleyen MQI'nin belirlenmesi ve kalite göstergelerinin kullanımının artırılmasıdır. MQI projesinde, pre-analitik hataların tanımlanması, hataların saptanması, hataların kaydedilmesi, veri analizi, hata oranlarını azaltmaya yönelik girişimler için etkin yöntemler geliştirilmektedir. Öncelikle, 2008-2013 arasında 5 yıllık dönemde MQI proje ön çalışması yapıldı ve 2013'de Padova-İtalya'da ilk konsensus konferansı olan "Kalite göstergelerinin harmonizasyonu: nasıl ve ne zaman (Harmonization of quality indicators: why, how and when?)" verildi. Daha sonra 2014-2015 ve 2016 (ilk 6 ay)'daki veriler incelendi ve 2016 yılında aynı yerde ikinci konsensus konferansı olan "Laboratuvar tıbbında kalite göstergelerinin Harmonizasyonu: 2 yıl sonra (Harmonization of quality indicators in laboratory medicine: 2 years later)" düzenlendi. 2016 konsensus konferansı sonucunda kalite göstergeleri hasta yararına hasta odaklı olması, ISO 15189:2012 uluslararası standardizasyon gerekliliklerine uygun olması ve ISO/TS 22367: 2008 göre total test sürecini kapsamaları konularına yönelik kararlar verildi (14).

2016'daki konsensus konferansına göre MQI'de pre-analitik evrede, 11 kalite göstergesi ve 25 değerlendirme ölçütü belirlendi. Belirlenen kalite göstergeleri önemine göre 1'den 4'e kadar derecelendirildi. En önemliler (1 öncelik derecesine sahip olanlar) Tablo I' de görülmektedir (14).

Tablo I: Pre-analitik evre kalite göstergeleri

Table I: Quality indicators in pre-analytical phase

Kalite Göstergesi	Kodu	Hesaplama Yöntemi
Tanımlama hataları	Pre-MisR	(Yanlış tanımlı istek sayısı/Toplam istek sayısı) x 100
	Pre-MisS	(Yanlış tanımlı örnek sayısı/Toplam örnek sayısı) x 100
Transkripsiyon hataları	Pre-LabTDE	(Laboratuvar personeli tarafından yanlış data girilerek yapılan test istekleri/Toplam laboratuvar personeli tarafından girilen test istekleri) x 100
	Pre-OffTDE	(Laboratuvar dışı personel tarafından yanlış data girilerek yapılan test istekleri/Toplam laboratuvar dışı girilen test istekleri) x 100
Hatalı örnek tipi	Pre-WroTy	(Hatalı veya uygunsuz matriksli örnek sayısı-örnek: tam kan yerine plazma/Toplam örnek sayısı) x 100
	Pre-WroCo	(Hatalı tüp-kaba alınmış örnek sayısı/Toplam örnek sayısı) x 100
Hatalı doldurma düzeyi	Pre-InsV	(Yetersiz örnek hacmine sahip örnek sayısı/Toplam örnek sayısı) x 100
	Pre-SaAnt	(Uygunsuz örnek-antikoagülan oranı olan örnek sayısı/Toplam antikoagülanlı örnek sayısı) x 100
Pıhtılı örnekler	Pre-Clot	(Pıhtılı örnek sayısı/Toplam antikoagülanlı örnek sayısı) x 100
Transport için uygunsuz örnekler ve depolama problemleri	Pre-NotRec	(Laboratuvara gelmeyen örnek sayısı/Toplam örnek sayısı) x 100
	Pre-NotSt	(Uygun saklanmayan örnek sayısı/ Toplam örnek sayısı) x 100
	Pre-DamS	(Transport sırasında zarar gören örnek sayısı/ Toplam transport edilen örnek sayısı) x 100
	Pre-InTem	(Uygunsuz sıcaklıkta transport edilen örnek sayısı/ Toplam örnek sayısı) x 100
	Pre-ExcTim	(Transport süresini aşmış olan örnek sayısı/ Toplam örnek sayısı) x 100
Kontamine örnekler	Pre-MicCon	(Red edilen mikrobiyolojik kontamine örnek sayısı / Toplam mikrobiyolojik örnek sayısı) x 100
	Pre-Cont	(Red edilen kontamine örnek sayısı / Toplam mikrobiyolojik olmayan örnek sayısı) x 100
Hemolizli örnekler	Pre-HemV	(Gözle incelemede >0.5 g/L serbest hemoglobin içeren örnekler/Hemoliz kontrol edilen tüm örnekler) x 100
	Pre-HemI	(Otomatik hemoliz indeksi >0.5 g/L serbest hemoglobin içeren örnekler/Hemoliz kontrol edilen tüm örnekler) x 100
	Pre-HemR	(Red edilen hemolizli örnekler/Hemoliz kontrol edilen tüm örnekler) x 100

Kaynak 14'ten uyarlanmıştır.

Kalite göstergesi performans değerlendirmesinde laboratuvarlar tarafından kullanılmak üzere 25. 50. ve 75. persentillerdeki değerler hesaplanıp 3 performans derecesi belirlendi (14).

- Yüksek performans: <25. persentil değeri, en iyi performans
- Orta performans: 50. persentil değeri, daha sık performans
- Düşük performans: >75. persentil değeri, en kötü performans olarak kabul edildi.

Kalite göstergeleri performansın değerlendirilmesinde hedef seçiminde, hasta ve örnek tanımlama hataları gibi bazı çok riskli hatalarda, hedef değer sıfır hata olmalıdır. Bunlar dışında kabul edilebilir hata hedefleri laboratuvarlar tarafından belirlenmelidir. Tablo II' de örnek performanslar görülmektedir (14).

Tablo II: Pre-analitik kalite göstergeleri performans özellikleri

Table II: Performance specifications of pre-analytical phase

Pre-analitik Evre Kalite Göstergesi	Yüksek performans (25.persentil)	Orta performans (50.persentil)	Düşük performans (75.persentil)
Tanımlama hataları	0	0-0.056	>0.056
Hatalı örnek tipi	0	0-0.03	>0.03
Hatalı doldurma düzeyi	<0.014	0.014-0.092	>0.092
Pıhtılı örnekler	<0.11	0.11-0.43	>0.43

Kaynak 14'ten uyarlanmıştır.

Hedeflenen performans altında kalındığı durumlarda problem tanımlanmalı ve çözüm planı oluşturulmalıdır. Laboratuvar hatalarını belirleme ve çözüm geliştirmede en yaygın kullanılan yöntem, kök neden analizi (Root Cause Analysis)'dir. Kök-neden analizi ile hatanın/problemin esas sebebine yani köküne ulaşılmaya çalışılır. Problemi tanımlama, veri toplama, olası faktörleri belirleme, kök nedeni belirleme, çözüm ya da çözüm önerisi oluşturma basamaklarından oluşur. Bunun dışında sıkça kullanılanlar: PDSA-Plan, Do, Study, Act (Planla, Yap, Çalış, Geliştir) ve DMAIC-Define, Measure, Analyse, Improve, Control (Tanımla, Ölç, Analiz et, Geliştir, Kontrol et) yöntemleridir. DMAIC daha çok yüksek riskleri iyileştirmek için uygundur (lean ve altı-sigma konseptleri) (15).

Laboratuvar kaynaklı tanınan hatalar, bilişsel ve sistem-ilişkili şeklinde sınıflandırılan iki çeşit hata grubu nedeniyle olabilir ve tüm pre-analitik, pre-preanalitik, postanalitik ve post-postanalitik evre hataları ile ilişkilidir. Bilişsel hatalar en sık test istemi, sonuçların yorumu ve kullanımı; sistem-ilişkili hatalar ise örnek alımı, saklama, transfer, rapor onaylarının gecikmesi hatalarıdır. Bu durumda kalite göstergeleri hem bilişsel hataları hem de sistem-ilişkili hataları tanımalı ve bu sayede dökümanite edilebilmelidir. Klinik laboratuvarlarda kalite göstergeleri ile saptanan hatalar için kök neden analizleri ile hataların doğası ve nedenleri belirlenmeli ve uygun düzeltici önleyici faaliyetlerin uygulanması teşvik edilmelidir. Klinik laboratuvarlarda sistem-ilişkili hatalar genellikle standart işletim prosedürleri ile yetersiz düzenlemelerden yetersiz uyuma kadar geniş bir yelpazede olabilir. Bu hatalarda, düzeltici önleyici faaliyetler kalite sistemlerinin geliştirmek, sağlık bilişim teknolojilerinin geliştirmek amaçlı olmalıdır. Hatalı test istemi gibi pre-analitik bilişsel hatalara karşı alınacak düzeltici önleyici faaliyetler bilgiyi ve tecrübeyi arttırmaya yönelik eğitimler, check list kullanımı gibi kontrol listeleri ile giderilmelidir. Kalite göstergeleri bilişsel ve sistem-ilişkili hatalar olarak sınıflandırılarak alınacak önlemlere karar verilmelidir (16,17).

Kalite göstergeleri ve performans izleminde izlenecek yolda öncelikle klinik laboratuvarlarda ISO 15189 çerçevesinde kalite göstergesi tanımları yapılmalıdır. Kalite göstergelerinin veri analizleri, izlemi, karşılaştırması ve hedefe göre performans değerlendirmeleri sonucunda alınacak stratejilere karar verilmelidir. Örneğin düşük performansı olan bir kalite göstergesi mevcutsa; problemin ana kaynağına inebilmek için kök neden analizi ve/veya PDSA analizi yapılır. Buna göre düzeltici-önleyici faaliyet planlanır. Eğer kalite göstergeleri performansında iyileşme sağlanamaz ise bu basamaklar tekrarlanır (16).

Sonuç olarak; klinik laboratuvarlarda yapılandırılmış bir kalite yönetimi olmaması günümüzde düşünülemez. Toplam test sürecinde hataların en fazla olduğu pre-preanalitik, pre-analitik evre hatalarını fark etmek ve yakalamak daha zor olup, birçoğu laboratuvar dışında meydana gelmektedir. Tüm zorluklara rağmen bu evrelerin etkin yönetimi laboratuvar tıbbı kapsamında ve laboratuvar uzmanlarının sorumluluğundadır. Bu evrelerde mümkün olduğu kadar çok basamağın izlenmesi ve değerlendirilmesinde kalite göstergelerinin etkin kullanımı önemlidir. Pre-analitik evrede kullanılan kalite göstergeleri ve planlanan düzeltici önleyici faaliyetler ile klinik laboratuvarlarda toplam kalite artırarak daha kaliteli bir sağlık hizmeti sunulmaktadır.

Kaynaklar

1. Plebani M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. Clin Biochem Rev. 2012;33:85-8.
2. Lundberg GD. Acting on significant laboratory results. JAMA. 1981;245(17):1762-3.

3. Lippi G, Mattiuzzi C, Bovo C. Are we getting better at the preanalytical phase or just better at measuring it? *J Lab Precis Med* 2018;3:11.doi: 10.21037/jlpm.2018.01.03.
4. Plebani M, Sciacovelli L, Aita A, Padoan A, Chiozza ML. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory medicine. *Clinica Chimica Acta*. 2014;432:44-8.
5. ISO/TS 22367:2008. Medical laboratories- reduction of error through risk management and continual improvement. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2008.
6. Plebani M. Errors in Clinical laboratories or errors in laboratory medicine? *Clin Chem Lab Med* 2006;44:750-9.
7. Kemp GM, Bird CE, Barth JH. Short term interventions on wards fail to reduce preanalytical errors: results of two prospective controlled trials. *Ann Clin Biochem* 2012;49:166-9.
8. Lippi G, Chance JJ, Church S, Dazzi P, Fontana R, Giavarina D. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. *Clin Chem Lab Med*. 2011; 49:1113-26 doi: 10.1515/CCLM.2011.600.
9. Institute of Medicine Committee on Quality of health Care in America. *To Err is Human: Building a Safer Health System*. Washington DC: National Academies Press;2000.
10. International Organization of Standardization. ISO 15189:2012: medical laboratories:particular requirements for quality and competence. Geneva, Switzerland: International Organization of Standardization;2012
11. Lippi G, Simundic AM, Plebani M. Innovative software for recording preanalytical errors in accord with the IFCC quality indicators. *Clin Chem Lab Med* 2017;55(3): e51–e53.
12. Lippi G, Simundic AM. EFLM strategy for harmonization of preanalytical phase. *Clin Chem Lab Med*. 2018 Sep 25;56(10):1660-1666. doi: 10.1515/cclm-2017-0277.
13. Plebani M, Sciacovelli L, Aita A. Quality indicators for the total testing process. *Clin Lab Med* 2017;37:187-205.
14. Sciacovelli L, Panteghini M, Lippi G, Sumarac Z, Cadamuro J, César Alex De Olivera Galoro et al. Defining a roadmap for harmonizing quality indicators in Laboratory Medicine: a consensus statement on behalf of the IFCC Working Group “Laboratory Error and Patient Safety” and EFLM Task and Finish Group “Performance specifications for the extra-analytical phases” *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(10):1478-88.
15. Clark DM, Silvester K, Knowles S. Lean management systems: creating a culture of continuous quality improvement. *J Clin Pathol* 2013;66:638-43.
16. Plebani M. Performance specifications for the extra-analytical phases of laboratory testing: Why and how, *Clin Biochem* 2017;50:550-4.
17. Zwaan L, Schiff GD, Singh H. Advancing the research agenda for diagnostic error reduction, *BMJ Qual. Saf.* 2013;(22):ii52–ii57.

K-5b

ANALİZ SONRASI DÖNEMDE KALİTE

Yeşim ÖZARDA

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bursa

Klinik laboratuvarlarda analiz sonrası dönem olarak adlandırılan post-analitik faz, laboratuvar sonuçlarının onaylanması, laboratuvar raporlarının oluşturulması, düzenlenmesi, sunulması ve daha sonraki kullanımlar için saklanması, değerlendirilmesi, yorumlanması ve klinik izlemde gerekli eylemlerin yapılabilmesi için laboratuvarın çeşitli yönlendirmelerde bulunmasını içeren dönemdir. Laboratuvar raporları analiz sonrası dönemde klinisyen-laboratuvar hekimi arasında önemli bir bağlantı oluşturmaktadır ve post-analitik kalitenin iyileştirilmesi ve geliştirilmesi için laboratuvar raporlarının formatı, içeriği, yetkili kişi tarafından onaylanması ve raporlara eklenen yorumlar özellikle son yıllarda üzerinde durulan ve çalışılan konulardır. Referans aralıklar ve klinik karar sınırları laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan klinik değeri yüksek olan araçlardır. Populasyona, yaşa ve cinsiyete uygun ve doğru referans aralıklarının kullanımı ve gerektiğinde referans aralıklar yerine klinik karar sınırlarının tercih edilmesi hasta akibetinin iyileştirilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu nedenlerle, klinik laboratuvarın en uygun karşılaştırma aracını laboratuvar raporunda sunmuş olması gerekmektedir. Sonuçların izleminde laboratuvar tarafından yapılabilecek belli başlı eylemler I) hasta sonucunun beklenen değerlerin dışında olup, olmadığının değerlendirilmesi ve belirtilmesi II) validasyon/otvalidasyon III) hastanın sonuçlarına göre otomatik (refleks) veya manuel (reflektif) olarak başka test istemlerinin yapılması IV) kritik değer bildiriminin yapılması V) laboratuvar sonuçlarının klinik bilgi ile birleştirilmesi ve gerektiğinde uyarıcı veya açıklayıcı yorum yapılmasıdır. Post-analitik dönemde görülebilen hatalar, uygunsuz bilgi girişi, hatalı validasyon, uygunsuz ya da yanlış referans aralıkları, testlerin sonuçlanmaması veya gecikmesi, uzamış test sonuçlanma süreleri, kritik değer bildiriminin gecikmesi ya da yapılamaması, hasta sonucunun raporlanmasının gecikmesi veya yapılamaması, test sonucunun yanlış yorumlanması, hasta için uygunsuz izleme planının oluşturulması ve uygun konsültasyon isteminin oluşturulamamasıdır. Post-analitik kalitenin geliştirilmesi klinik karar verme mekanizmalarında yer alarak ve hasta akibetinin geliştirilmesi ve iyileştirilmesini destekleyerek klinik laboratuvarların etkin olmaları gerektiğini göstermektedir.

K-6

KOAGÜLASYON TESTLERİNDE BİR GEZİNTİ

Murat ÖRMEN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D., İzmir

Koagülasyon testleri gerek preanalitik evre, gerekse analitik süreçte hatalara çok açık olan testlerdir. Bu testlere yaklaşım dikkat ve özen gerektirmektedir. Test sonuçlarının yorumları ve buna karşılık çalışılacak refleks testler, hastanın kliniği ile birlikte değerlendirilmeli ve yorumlanmalıdır. Sonuçların doğru değerlendirilmesi için kullanılan kitlerin nitelikleri, tanısal yeterliliği de önem teşkil etmektedir. Bu bilgilerin öğrenilmesi, sonuçların yorumlanmasında göz önünde bulundurulması, gerektiğinde şartnamelere eklenmesi, klinik biyokimyacıların görevlerindendir. Bu amaçla bazı olgulardan yola çıkarak preanalitik ve analitik süreçlerde dikkat edilmesi gereken noktalar paylaşılacaktır.

İlk olgu; elli altı yaşında erkek hasta, baş ağrısı, gece terlemesi, banyo sonrası kaşıntı şikayetleri ile doktora başvuruyor. Muayenede splenomegali dışında önemli bir bulgusu olmayan hastanın, hemoglobin, hematokrit, trombosit ve aPTT değerleri yüksektir. Gerek laboratuvar, gerekse klinik bulgular Polisitemia Vera tanısını düşündürmektedir. aPTT testi kanama bozukluğu, trombofli varlığının taranmasında ya da heparin tedavi izleminde kullanılan bir testtir. Hastanın özgeçmiş ve soygeçmişinde kanama hikayesinin olmaması, öyküde herhangi bir antikoagülan ilaç kullanımının bulunmaması nedeniyle klinik açıdan uyumsuz olan sonuç laboratuvar ile paylaşılmıştır. Laboratuvar uzmanı, hasta sonuçlarını incelediğinde hematokritinin %60 olduğunu fark etmiştir.

“Hematokrit > %55” olan örneklerin alındığı tüpün sitrat konsantrasyonunun hesaplanarak düzeltilmesi gerekmektedir (1). Düzeltme hematokriti < %25 olan örnekler için gerekli değildir (2). aPTT intrinsek yolun nasıl çalıştığını gösterir. Kit içinde faktör XII’yi aktive edecek silika, kaolin gibi yüzey aktive edici madde bulunmaktadır. Testin çalışabilmesi yani pıhtılaşmanın olabilmesi için; hasta plazmasına ek olarak, yeterli fosfolipid ve kalsiyuma ihtiyaç vardır. Ancak tüp içindeki sitrat, hasta kanındaki kalsiyumu yakaladığından dolayı pıhtılaşma gerçekleşemez. Doğru seviyede doldurulan bir koagülasyon tüpünde, plazmadaki sitrat standart konsantrasyondadır. Test çalışırken eklenen kalsiyum, plazmadaki sitratın antikoagülan etkisini geri çevirecek ve pıhtılaşmayı başlatacaktır. Bu nedenle plazmadaki sitrat konsantrasyonu testin doğru sonuçlandırılması açısından önemlidir. Tüpe önerilenden daha az miktarda kan alınması ($\pm$ %10) ya da hastanın hematokritinin >%55 olması durumunda, çalışma sırasında eklenen kalsiyum, sitratın antikoagülan etkisini tamamen ortadan kaldıramayacak, hatalı yüksek sonuç elde edilecektir. Bu nedenle örneğin alınacağı tüpün sitrat miktarı azaltılmalıdır. Bu da $[0,00185 \times \text{eklenen kan hacmi (mL)}] \times [100 - \text{HCT} (\%)]$ formülü ile hesaplanmaktadır (1). Tüp 3mL ise formülde geçen “eklenen kan hacmi” 2,7 mL olarak hesaba dahil edilmelidir. Normal şartlarda bu tüpteki sitrat miktarı hematokritin %40 olduğu varsayılarak hesaplandığından 0,3mL sitrat bulunur. Olgumuzda olması gereken sitrat miktarı ise 0,2mL’dir. Buna göre tüpten yaklaşık 0,1mL çekildikten sonra kan alınmalıdır. Hasta sonucu onaylanırken gerekçe ve yapılan işlem mutlaka not edilmedir. Bu durum hem bilgilendirme açısından, hem de daha sonra hatalı örnek alımı nedeniyle ortaya çıkabilecek itirazların cevaplandırılmasına katkı sağlayacaktır.

İkinci olgu; seksen iki yaşında erkek hasta, kolunda büyüyen hematoma şikayeti ile acil servise başvurmuştur. Hastanın daha önce prostat kanseri nedeniyle lokal radyoterapi gördüğü, öncesinde yapılan prostat biyopsisinden sonra herhangi bir kanama problemi yaşamadığı öğrenilmiştir. Laboratuvar sonuçlarında aPTT testinde uzama ve D-Dimer düzeylerinde artma gözlenmiştir. Heparin tedavisi almayan hastanın özgeçmiş ve soy geçmişi hematoma oluşumunu açıklayacak bulguların olmaması ancak aPTT’de uzamanın olması nedeniyle “karıştırma testi” yapılmasına karar verilmiştir.

aPTT; heparin tedavisi, intrinsek yolun faktör eksiklikleri ve inhibitör varlığının değerlendirilmesinde kullanılan bir tarama testidir. Piyasada bulunan aPTT kitlerinin bu üç durumu değerlendirebilme kapasiteleri farklıdır. Örneğin bir tanesi faktör eksikliğini yakalayabilme özelliği orta düzeyde iken heparine olan duyarlılığı düşük seviyededir. Ancak bu üç durum için de yüksek duyarlılığa sahip aPTT kitleri de vardır. Firmalar bu özellikleri kendi

dokümanlarında tanımlamaktadır. Ancak biz klinik biyokimyacıların bu konuda farkındalığının yüksek olması gerekmektedir.

aPTT'nin beklenen değer aralığından 5 saniye yüksek olması aPTT'de uzama olarak değerlendirilir(3). Tek başına uzamanın nedenini araştırmak için "karıştırma testi" yapılır. aPTT'si normal yirmi örnekten plazma havuzu hazırlanır(2). Araştırdığımız hasta plazması ile eşit oranda karıştırılır (iki adet). İlk örnek sıfıncı saat hemen test çalışılır. Diğer örnek ağzı kapalı olarak 37°C'de iki saat inkübe edildikten sonra aPTT çalışılır. Sıfır ve ikinci saatlerde aPTT normale dönerse, plazma havuzundaki eksik faktörler hastanın eksik faktörünü/lerini tamamladığından test sonucu normale dönmüştür. Yorum olarak faktör eksikliği düşünülür ve intrinsek yola ait faktörlerin ölçülmesine geçilir. Sıfır ve ikinci saatlerde testte herhangi bir düzelme olmazsa hemen etki gösteren inhibitörden şüphelenilir, lupus antikoagülan tarama ve doğrulama testleri çalışılması uygun olur. Pıhtı oluşumu için koagülasyon faktörlerinin yanı sıra fosfolipidlere de ihtiyaç vardır. Hastada fosfolipidlere karşı gelişmiş olan antikorlar, plazma havuzundaki fosfolipidleri de engelleyeceğinden her iki zamanda da test uzamış çıkacaktır. Bazen sıfıncı saat sonucu normale dönerken ikinci saat sonucu tekrar yüksek çıkar. Bu durumda zamana bağlı yavaş inhibitör olduğu düşünülür. Hastamızda olduğu gibi genelde nedeni tam belli olmayan, solid tümörler ya da kollajen doku hastalıklarında da görülebilen edinsel faktör VIII inhibitör varlığında inhibitör karşıdaki faktör VIII'i hemen engelleyemediğinden, sıfıncı saat aPTT sonucu normal çıkar. Ancak sıcaklık ve iki saatlik bekleme sonucunda inhibitör etkisini gösterecek ve aPTT yine uzun çıkacaktır. Bu durumda faktör VIII düzeyi ve inhibitör titresi saptanmalıdır.

Olgu üç; kırkbeş yaşında kadın hasta, hemoptizi şikayeti ile acil servise başvuruyor. İkinci doğumu sonrasında (32yaş) derin ven trombozu atağı geçiriyor. O sırada kumadin tedavisi başlanmış ancak geldiğinde tedavi almıyordu. Soy geçmişinde; baba yirmi yedi yaşında pulmoner emboli geçiriyor, otuz iki yaşında ex. Kuzeni altmış üç yaşında emboli nedeniyle sol bacak dizden ampute. Hastanın tam kan sayımı ve rutin koagülasyon testleri normal değer aralığında.

Ailede tromboz eğilimi olanlar ve ilk venöz tromboemboli atağını 40 yaş altında geçirenlerde kalıtsal trombofili taranmalıdır (4). Kalıtsal trombofilinin en sık nedeni olan faktör V Leiden mutasyonun tespiti için; APC-R testi yapılmalı, fonksiyonel modifiye yöntem tercih edilmelidir. Birinci nesil yöntemde; artmış faktör VIII düzeylerinin yüksek olduğu akut faz yanıtında, lupus antikoagülan varlığında, protein S eksikliğinde hatalı olarak pozitif sonuçlar elde edilebileceğinden, ikinci nesil yöntem tercih edilmelidir(5). Ayrıca İlk tercih genetik analiz olmamalıdır. Çünkü mutasyon olmayan APC inhibitörü olan yaklaşık %5 olgu bu sayede atlanabilir. Tarama için; protein S, protein C ve antitrombin III testleri de çalışılmalı, yöntem olarak fonksiyonel yöntem tercih edilmelidir(6). Bu testlerde bir patoloji saptanırsa sınıflama için daha sonra antijenik yöntemle geçilmelidir.

Sonuç olarak; olgular ile tartışarak vurgulamaya çalıştığımız koagülasyon testlerinin gerek preanalitik gerekse analitik yönleri biz klinik biyokimyacılar tarafından iyi bilinmelidir. Bilginin laboratuvar çalışanları ve klinisyenler ile paylaşımı, gerekiyorsa buna göre iş akışlarının düzenlenmesi, kitlerin uygun şekilde seçimi yine bizlerin görevidir.

Kaynaklar

- 1- Adcock DM, Hoefner DM, Marchant KK, Marlar RA, Szamosi DI, Warunek DJ. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; CLSI Approved Guideline—Fifth Edition H21-A5 Vol. 28 No.5 Wayne, PA 19087 USA 2008, ISBN 1-56238-657-3
- 2- Siegel JE, Swami VK, Glenn P, Peterson P. Effect (or Lack of It) of Severe Anemia on PT and APTT Results. Am.J.Clin.Pathol. 1998;110:106-110
- 3- Marlar RA, Cook J, Johnston M, Kitchen S, Machin SJ, Shafer D, Worfolk L. One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; CLSI Approved Guideline—Second Edition H47-A2 Vol. 28 No. 20 Wayne, PA 19087 USA 2008, ISBN 1-56238-672-7
- 4- Türk Hemotoloji Derneği Kalıtsal Trombofili Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2011 Bölüm V. 75-98
- 5- When to Suspect Hypercoagulability and How to Investigate It. Marques MB., Triplett DA. Annals of Diagnostic Pathology, 2001; 5 (3): 177-183
- 6- The Coagulation Consult, A Case-Based Guide Lichtin A, Bartholomew J. Laboratory Analysis of Coagulation, ISBN 978-1-4614-9559-8; 2014

K-7

K VİTAMİNİNDEN YENİ BEKLENTİLER

Sebahat ÖZDEM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Antalya

K vitamini, 2-metil-1,4 naftokinon çekirdeği ile değişken bir poliiizoprenoid yan zincirden oluşan ve yüksek lipofilik özellik gösteren bir vitamin grubudur. K vitamininin doğada; tek bir bitkisel kaynaklı (fillokinon veya K1 vitamini) ve bir seri bakteri kaynaklı (menakinon veya vitamin K2) formu bulunmaktadır. Menakinonlar (MK), doymamış yan zincirlerinin uzunluğuna göre sınıflandırılmaktadırlar. MK-4'ten MK-15'e kadar 12 farklı menakinon tipi tanımlanmıştır. İnsan vücudunda fillokinon veya başka menakinonlardaki yan zincirin bölünmesi ile menakinon-4 olduğu gösterilmiştir. Bir diğer K vitamini formu ise alifatik R grubu içermeyen basit bir yapıya sahip sentetik olarak üretilen menadion (Vit K3)'dur.

Yaklaşık kırk yıl önce bazı pıhtılaşma proteinlerinin gama karboksilasyonu için K vitamininin gerekli olduğunun keşfedilmesi ile birlikte, uzun yıllar boyunca K vitamininin tek fonksiyonunun hemostazdaki görevi olduğu düşünülmüştür. K Vitamininin en bilinen fonksiyonu glutamat gama-karboksilaz enziminin koenzimi olarak K vitamini bağımlı proteinlerin glutamik asit rezidülerinin gama- karbonuna, karboksil grubu eklenmesine yardımcı olmasıdır.

K vitaminlerinin, kemik dokusu, kalp, kan damarları, böbrekler, beyin ve kıkırdak gibi bazı ekstrahepatik organlarda önemli biyolojik fonksiyonları vardır ve bunların bir kısmı hala keşfedilmektedir. Bu etkilerin büyük bir bölümünün Gla içeren proteinler üzerinden gerçekleştiği bilinmektedir.

Günümüzde K-vitamini bağımlı 17 protein tanımlanmıştır. Protrombin (faktör II), faktör VI, faktör IX ve faktör X gibi koagülasyon faktörleri, yanında matris Gla proteini (MGP), growth arrest-specific protein 6 (büyümeyi durduran spesifik protein 6 (Gas6), antikoagulan proteinler C, S ve Z, osteokalsin, Gla-rich protein (GRP), periostin (isoformları 1–4), periostin-like-factor (PLF), proline-rich Gla protein (PRGP) 1, PRGP2, transmembrane Gla protein (TMG) 3 ve TMG4 proteinleri de K vitamini bağımlı proteinlerdir.

Son on yıl içerisinde K vitamininin kardiyovasküler mineralizasyon, vasküler bütünlük, enerji metabolizması, immün yanıt ve beyin metabolizması üzerinde de etkileri olduğu keşfedilmiştir. Aşağıda çok kısa olarak K vitamininin bu yeni fonksiyonları özetlenmiştir.

Vasküler kalsifikasyon, dünyadaki en önemli ölüm sebebi olan kardiyovasküler hastalıkların oluşumuna katkıda bulunan önemli bir süreçtir. Son yıllarda K2 vitaminine bağımlı bazı proteinlerin vasküler kalsifikasyon gelişimini önlediği pekçok klinik ve deneysel çalışma ile gösterilmiştir.

K2 vitamininin kemik kalitesini arttırdığı ve kırık riskini azalttığını gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar da hem yaşlı hem de çocuklar değerlendirilmiş ve K vitamini takviyelerinin kemikler üzerinde önemli katkıları olduğu gösterilmiştir.

Osteokalsin eksikliği bulunan farelerde hiperglisemi ve hipoinsülinemisinin görülmesi, kemik dokusu ile sistemik metabolizma arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmüştü ve bu bulgulara ek olarak yapılan diğer çalışmalar uzun süreli K2 vitamini takviyesinin insülin resistansını / diyabet gelişim riskini azalttığını göstermiştir. Bu etkinin mekanizması tam olarak çözülmemiş olsa da K2 Vitamininin, pankreas beta hücrelerinin proliferasyonunu, aynı zamanda insülin üretimini ve CyclinD1'in ekspresyonunu artırarak ve/veya osteokalsin üzerinden bu etkiyi gerçekleştirdiği düşünülmektedir.

Kanser tedavisinde K vitamin desteğinin yararlı olup olmadığı ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcut olup özellikle in vitro çalışmalarda, çoklu kanser hücre hatlarının büyümesini ve metastazını önlemek için K2 vitamin uygulamasının yararlı olabileceğini göstermiştir. K2 vitamininin protein kinaz A, protein kinaz C, nükleer faktör kappa B, steroid-ksenobiyotik reseptörü gibi çeşitli yollar üzerinde etki gösterip kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve kanserlerin metastazını inhibe edebileceği ifade edilmiştir. Önceki raporlar, K1, K2 ve K3'ün, başlıca hepatoselüler karsinom, lösemi, kolorektal kanser, over kanseri, pankreas kanseri ve akciğer dahil olmak üzere kanser hücrelerinin apoptoz ve hücre döngüsünün durdurulmasını indükleyerek farklı seviyelerde birkaç neoplastik hücre hattını inhibe edebileceğini göstermiştir.

Yapılan çalışmalar, K2 vitamininin için daha önce bilinmeyen bir immünomodülatör rolü olduğunu ortaya koymuştur. İlk çalışmalarda MK-7'nin TNF- α , IL-1 α ve IL-1 β ekspresyonunu modüle ettiği gösterilmiştir. Daha

sonraki çalışmalar K2 vitamininin proliferasyonun yanı sıra aktive T-hücrelerinin sayısını da azalttığını göstermiştir. Bu nedenle, birikmiş kanıtlar vitamin K2'nin immünoşüpresif bir ajan olarak yeni bir rolü olabileceğine işaret etmektedir.

K2 vitamininin beyinde yüksek oranda bulunduğu ve in-vitro çalışmalarda nöronlar üzerinde koruyucu etki yaptığı da yakın zamanda gösterilmiştir.

K vitamin, uzun yıllar gözardı edilmiş ve fonksiyonları, sadece koagülasyon proteinlerine karboksil grubu eklenmesi olayında yardımcı olmak olarak sınırlandırılmıştı. Ancak son dekatta bu vitaminin pekçok metabolik olayda rol aldığı keşfedildi. Tüm bu çalışmalara rağmen K vitamininin henüz tüm görevleri keşfedilmiş değildir ve önümüzdeki günlerde yapılacak çalışmalar ile bu vitaminin pek çok farklı metabolik süreçte rol aldığını görmemiz muhtemeldir.

Kaynaklar

1. Plaza SM, Lamson DW. Vitamin K2 in bone metabolism and osteoporosis. *Altern Med Rev* 2005;10(1):24-35.
2. Frandsen NE, Gordeladze JO. Vitamin K2 and Bone Health. March 22nd 2017. DOI: 10.5772/64876.
3. Booth, S.L. Roles for vitamin K beyond coagulation. *Annu. Rev. Nutr.* 2009, 29, 89–110.
4. Ferland, G. The discovery of vitamin K and its clinical applications. *Ann. Nutr. Metab.* 2012, 61, 213–218.
5. Beulens, J.W.; Booth, S.L.; van den Heuvel, E.G.; Stoecklin, E.; Baka, A.; Vermeer, C. The role of menaquinones (vitamin K2) in human health. *Br. J. Nutr.* 2013, 110, 1357–1368.
6. Ferron, M.; Lacombe, J. Regulation of energy metabolism by the skeleton: Osteocalcin and beyond. *Arch. Biochem. Biophys.* 2014, 561, 137–146. Xv, F.; Chen, J.; Duan, L.; Li, S. Research progress on the anticancer effects of vitamin K2 (Review). *Oncol. Lett.* 2018, 15, 8926–8934.
7. Wen, L.; Chen, J.; Duan, L.; Li, S. Vitamin K-dependent proteins involved in bone and cardiovascular health (Review). *Mol. Med. Rep.* 2018, 18, 3–15.
8. Barrett, H.; O'Keeffe, M.; Kavanagh, E.; Walsh, M.; O'Connor, E. Is Matrix Gla Protein Associated with Vascular Calcification? A Systematic Review. *Nutrients* 2018, 10, 415.

Panel-1a

MADDE ANALİZLERİNDE LABORATUVARLARIMIZDAKİ GÜNCEL GELİŞMELER

Nilgün KARA UZUN

Bahçelievler Medicana Hastanesi, İstanbul

Sağlık Bakanlığı'nın 08.01.2016 tarihinde yayımlanan "Doğrulama Laboratuvarlarının Yetkilendirilmesi Hakkında Planlama İlanı" çerçevesinde Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri, Akdeniz Üniversitesi Rektörlüğü Sağlık, Araştırma ve Uygulama Merkezi (Hastane), İstanbul 3 No'lu Halk Sağlığı Laboratuvarı ile Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarları Doğrulama Laboratuvarı olarak yetkilendirilmiş; çalışılan testlerin listesi de bakanlık sayfasında yayınlanmıştır.

Bu laboratuvarlarda LC/MS/MS ile kantitatif olarak, valide edilmiş metodlarla madde testleri çalışılmaya başlanmıştır.

Bu güzel gelişmelere rağmen, 2019 yılı Sağlık Uygulama Tebliği'nde semikantitatif testler için güncelleme yapılmadığı gibi, doğrulama testleri için de ücretlendirme tanımlanmamıştır. Bu sebeple doğrulama laboratuvarlarına test gönderimi çok sınırlı kalmaktadır.

Ayrıca, Sağlık Bakanlığı immunoassay ile çalışılan semikantitatif madde testlerine ait eşik değerleri bildirmesine rağmen, doğrulama testlerine ait eşik değerler konusunda bir fikir birliği sağlanamamıştır.

Doğrulama Laboratuvarlarının test profilleri de henüz yeterli değildir:

Sağlık personellerinde Fentanyl ve Aldolan gibi opioid analjeziklerin kötüye kullanımlarında bu testlerin doğrulaması, -özel ve Adli laboratuvarlar hariç- yalnızca İstanbul'daki doğrulama laboratuvarında çalışılabilmektedir.

Uçucu madde bağımlılığı gençlerde oldukça yaygın görülmesine rağmen, uçucu madde metabolitleri henüz -Özel Laboratuvarlar, Meslek Hastalıkları Hastanesi ve Adli Tıp Laboratuvarları dışında- madde laboratuvarlarında çalışılamamaktadır.

Pek çok ülkede ter, saç, nefes gibi alternatif numunelerde madde testleri geliştirilmiş ve uygulamaya alınmış olmasına rağmen, bizde çalışmalar idrarla sınırlı kalmıştır.

Sonuç olarak, gelişmeler sevindirici olmakla birlikte, madde testlerinin analizlerinde eksiklerimiz oldukça fazladır ve geliştirilmesi gerekmektedir.

Panel-1b

MADDE BAĞIMLILIĞI İZLEMİNDE LABORATUVAR MEVZUATINDA GELİŞMELER

“TIBBİ LABORATUVARDA ADLİ VAKAYA YAKLAŞIM”

Hakan KALAFAT

Ordu Devlet Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Ordu

Dünya genelinde madde kullanım oranı Türkiye’den fazladır. Ancak yıllara göre kullanım artışı nüfusa oranla Ülkemizde daha hızlıdır. Türkiye’de en sık karşılaşılan vakalar sırasıyla esrar, sentetik kannabinoidler, opiyatlar, amfetaminler ve kokaindir. 2010 yılında görülmeye başlanan sentetik maddelerin kullanım artışı diğerlerinden çok daha yüksek olmuştur.

Türkiye’de madde kullanımı ile ilgili mücadelede Türk Ceza Kanunu, Türk Medeni Kanunu, Uyuşturucu Maddelerle İlgili Kanun ve çeşitli yönetmelikler mevcut olsa da bunların yeterli olmadığı görülmüştür. Bu hassas sürece hızlı ve multidisipliner bir yaklaşım sergilemek amacıyla ilk olarak Temmuz 2014’te beş bakanlık bir araya gelmiş ve sonrasında Başbakan Yardımcısı Başkanlığında *Uyuşturucu İle Mücadele Yüksek Kurulu* ve alt kurullar oluşturulmuştur. Ardından yapılan çeşitli toplantılar sonucu 12 maddelik *2015 Yılı Uyuşturucu ile Mücadele Acil Eylem Planı* oluşturulmuştur. Bu planın “Tanı ve Laboratuvar Hizmetleri” başlıklı 12. Maddesi Tıbbi Laboratuvarları ilgilendirmekte olup uyuşturucu ile etkin mücadele yapılabilmesi için tanı ve laboratuvar hizmetlerini geliştirmek amaç edinilmiştir. Bu amaç dahilinde Sağlık Bakanlığı Tetkik ve Teşhis Hizmetleri Daire Başkanlığının da gayretleriyle Temmuz 2014’te *Madde Analizi Yapan Tıbbi Laboratuvarların Çalışma Usul ve Esasları Hakkında Genelge*, Mart 2015’te *Madde Analizi Yapan Doğrulama Laboratuvarlarının Çalışma Usul ve Esasları Hakkında Genelge*, Aralık 2016’da *Madde Analizi Yapan Tıbbi Laboratuvarların İşleyiş Esasları* ve Temmuz 2017’de *Kan Numunelerinde Etanol Analizi İşlemlerinin Usul ve Esasları* yayınlanmıştır. Bu sayede ilk olarak Aralık 2009’da yayınlanan *Denetimli Serbestlik Tedbirleri Uygulanan Kişilerin Tedavileri* hakkında genelge ile uyuşturucu madde analizi çalışmaya başlayan tıbbi laboratuvarların mevzuat eksikliği nedeniyle başlangıçta yaşadığı sorunlar büyük oranda çözülmüştür.

Ancak Eylem planları içinde yer alan *Kara, hava, deniz ve Ulaşım araçları sürücülerinde tanı mekanizmasının oluşturulması, Adli tıp ve kriminoloji laboratuvarları ile işbirliğinin yapılması, Uyuşturucu madde ve öncül maddelerin tespitinde kullanılacak araç, gereç ve kit benzeri ürünlerin ülkemizde üretilmesinin kamu alımları yoluyla teşvik edilmesi, Tarama ve Sağlık Bakanlığı tarafınca Yetkilendirilmesi yapılan doğrulama laboratuvarlarında yapılan analizlerin SUT’ta kodlarının belirlenerek finansmanının sağlanması* işlemleri henüz gerçekleştirilememiştir. Mayıs-2018’de yayınlanan *Uyuşturucu ile Mücadele Ulusal Strateji Belgesi ve Eylem Planı 2018-2023* içerisinde ise uyuşturucu madde analizlerinin SUT’ta kodlarının belirlenmesi dışında başka bir faaliyet görülmemektedir.

Bir çalışmada Türkiye’de uyuşturucu ile mücadelenin çok başlı yürütüldüğü, yani konuyla ilgili planların ulusal düzeyde olmakla beraber farklı kurumlar tarafından müstakil şekilde hazırlandığına dikkat çekilmiştir. Madde analizi yapan laboratuvarlar, mevzuat ve bilgi eksikliği nedeniyle kurumlar arası iletişimde sorunlar yaşamaktadır.

Bu sunumda madde analizi yapan laboratuvarların mevzuat çerçevesinde karşılaştığı sorunlar ele alınarak bağımlılıkla mücadelede daha fazla etkin ve verimli olabilmenin yolları tartışılacaktır.

Panel-1c

ETANOL ANALİZLERİ

Aliye ÇELİKKOL

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Tekirdağ

Özet: Alkolün yararlı etkileri olduğu söylene de her yıl dünyada yaklaşık 3,5 milyon insan alkol nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Yararlı etkileri ancak düşük doz etanol alındığında görülmektedir. Etanol alımının kanıtlanması hem adli ve idari hem de tıbbi yönden önem taşır. Bu nedenle güvenilir kan etanol sonuçları elde etmek amaçlı yapılan laboratuvar çalışmalarında preanalitik, analitik ve postanalitik evredeki önemli noktalar ile yasal mevzuat değerlendirilmiştir. Son dönemdeki etanol analizleri ile ilgili yayınlardan bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: etanol analizi, kan alkol analizi, şahit kan numuneleri

Abstract: Although alcohol is known to have some beneficial effects, approximately 3.5 million people in the world are losing their lives every year because of alcohol. Beneficial effects are observed only when low dose of ethanol is taken. The demonstration and proof of ethanol intake is important both in judicial and administrative and in medical terms. In this paper, important points and legal assessments were made in the preanalytical, analytical and postanalytical phases in order to achieve reliable ethanol results in laboratory studies. In addition, it is aimed to provide information about recent publications related to ethanol analysis.

Key words: ethanol analysis, blood alcohol analysis, witness blood samples

Neredeyse insanlık tarihinin başından beri alkol kullanımı olduğu birçok tarihi kalıntılarda gösterilmiştir. (1,3) Alkolün yararlı etkileri olduğu söylene de her yıl dünyada yaklaşık 3,5 milyon insan alkol nedeniyle hayatını kaybetmektedir. 2018 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün(DSÖ) yaptığı 30 ülkedeki çalışmaya göre cinayetlerin %85'i, kadına şiddet olaylarının 70'i, trafik kazalarının %60'ı alkol sebebiyle olduğu gösterilmiştir. Ülkemizde alkol kullanım oranlarına bakıldığında yıllık kişi başı tüketim 2 L civarındayken, Rusya'da kişi başı 11,7 L yi bulmakta.(2) Bu gerçeklere karşılık alkolün yararlı etkileri arasında uzamış yaşam süresi, koroner arter hastalığı, inme, diyabet, artrit, kanser gibi hastalık risklerini azaltması sayılmaktadır. Kalp hastalıkları riskinin azalması, HDL kolesterolün artışı, LDL kolesterolün, fibrinojenin, pıhtılaşmanın azalmasına bağlanmaktadır(1,3). Farelerde iskemik inme açısından yapılan araştırmalarda düşük doz etanol ile E-selectin, bazal hücreler arası adezyon molekülü(ICAM1) ve matrix metaloproteinaz(MMP9)'ın azaldığı, bazal vasküler hücre adezyon molekülü(VCAM1) ve İnterleukin27(IL27) ile doku inhibitör metaloproteinaz 1(TIMPI)'in artışı gösterilmiştir. Bu nedenle etanolün düşük dozda antienflamatuar etkisi, nöroprotektif etkisinin mikrogial aktivasyonda azalma sebebiyle olduğu ve IL27 nin ateroskleroza inhibe etmesine bağlı iskemik inmeyi azalttığı gösterilmiştir. Yüksek dozda etanol ise proenflamatuar sitokinleri ve kemokinleri artırıp, vasküler inflamasyona eğilim yaratmaktadır. Kısaca söyleyecek olursak hafif ve orta derecede alkol tüketimi iskemik inme riskini azaltırken, ağır alkol tüketimi tüm inmelerde özellikle hemorajik inmelerde artan risk yaratmaktadır(4,5,6). Yine fare deneylerinde gösterilmiş ki alkol alan babaların erkek çocuklarında alkol alma davranışı negatif etkilenmektedir(7). Alkolün hipotalamohipofizer aksı akut dönemde stimüle ettiği ama bağımlılık düzeyinde nöroendokrin bozukluklara sebep olduğu gösterilmiştir(8). Alkol ile tansiyon ilişkisinin ise 1990-2012 arasında metaanaliz sonuçlarında vazodilatör etkisine rağmen, düşük dozlarda kan basıncı üzerinde tutarlı bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Hatta her iki cinsiyette de ağır alkol tüketiminin artmış hipertansiyon riski yarattığı ortaya konmuştur(9,10). Amerika'da alkol gerçekleri ülkemize göre çok daha tehlikeli boyutlardadır. Her gün alkollü sürücü trafik kazalarında 29 kişi hayatını kaybetmektedir. Amerikan Ulusal Bilim, Mühendislik ve Tıp Akademileri(NASEM) bu sebeple yasal kan alkol konsantrasyonunu (BAC) sınırını 0,08 promilden 0,05 promile düşürmek için eyalet yasalarında değişiklik yapılmasını önermektedir (11).

Alkol emilimi boş midede 45dk'da, dolu midede 2s içinde olur. Etanol yüksüz ve molekül ağırlığı düşük, suyla her oranda karışabilen biyolojik membranları kolayca geçebilen bir maddedir. Etanol plazma proteinlerine bağlanmadan total vücut suyunda dağılır. Bu nedenle vücut suyu içeriğine göre farklı etkiler gelişir. Alkol yolağının hız kısıtlayıcı basamağı Alkol Dehidrojenaz(ADH)'dir. Mikrozomal Etanol Okside Edici Sistem (MEOS) ağır içicilerde CYP2E1 genini indükler. Katalaz da enzim sisteminde peroksizomda oluşan H₂O₂ i suya indirger. Alkol metabolizması karaciğer hücre içinde aşırı NADH birikimine sebep olarak hücreye yalancı bir "enerjiye ihtiyacım yok" sinyali oluşturur. Bu da glikojenden glukoz oluşumunu azaltarak hipoglisemi gelişmesine sebep olur. Mikrozomal CYP2E1

aktif içicilerde çeşitli ilaçlara karşı artan hassasiyete sebep olarak yüksek doz oluşumuna yol açar ve alınan ilaçların yarı ömrü uzar. Sirtuin(SIRT1), egzersiz açlık kalori kısıtlaması gibi durumlarda NAD seviyelerinin artışıyla yükselir. Mitokondriyal yağ oksidasyonu, kolesterolün safra asitlerine dönüşümünü, yağ depolarının mobilizasyonunu sağlayan bir maddedir. Kronik alkol kullanımında NADH seviyelerindeki artış, SIRT1 aktivitesinde azalmaya o da mitokondriyal yağ asidi oksidasyonunda azalma ile lipojenik enzimlere ait gen ifadelerinde artış ile karaciğer yağlanması sebep olur. Alkol aynı zamanda miRNA 212 ekspresyonunda artış ile Zonula okludens1 (ZO1) seviyelerini artırır ve barsak geçirgenliği artışı sonucunda endotoksinlerin dolaşıma geçmesi ve karaciğer hasarına sebep olan etkenlerden sayılabilir. Kadınların erkeklere oranla; vücut ağırlıkları daha düşük, yağ oranları daha fazladır. Dolayısıyla alkolün dağılabileceği su hacmi kadınlarda daha azdır. Bu nedenle aynı miktarda alkol alan kadınlarda kan-alkol konsantrasyonu erkeklere oranla daha yüksek olur. Genel olarak erkeklerin vücut ağırlığının %68'i, kadınların da %55'i alkol dağılımı için kullanılır. Etanolün % 90'dan fazlası metabolizma ile elimine olur. Kalanı idrar, solunum, tükürük, ter ile atılır(1,3,12). Adli tıp kurallarına göre etanol düzeyinin saatte 15 mg/dL azaldığı kabul edilmektedir(13).

Etanol kullanımı göstergeleri olarak kan fosfotidil etanol, Glukuronit, Etil glukuronit(EtG), Etil sülfat(EtS) ve 5OH triptofol/5HIAA, karbonhidrat deficient transferrin, GGT, ALT, AST, MCV gibi testler kullanılmaktadır. Alkol kullanımının klinik ve adli amaçlarla belirlenmesinde sadece etanol ölçümü tek biyogösterge olarak yeterli olmadığında birkaç gösterge birleştirilerek adli tıpta kullanılmaktadır. Etanolün idrarda belirmesi sadece 10 dk alır. Bu yüzden iki sıvı arasındaki oran olayların zaman süreci hakkında fikir verir. Aynı zamanda kan alkol sonuçlarını doğrulamak için kullanılabilir. Etanol miktarı 15.000 mg/dL'nin üzerinde olan her örnek kontamine varsayılır.(16)

Etanol Analiz Yöntemleri

Head space gaz kromatografisi(HS-GC), en kolay, en spesifik, altın standart ama pahalı bir yöntem olduğundan rutinde kullanımı sınırlıdır. **Enzimatik yöntemler** rutinde en çok kullanılan yöntemlerdir ve 2 enzim analizde kullanılır. Alkol oksidaz (AO) hastabaşı yöntemlerde kullanılır. O₂ tüketimine ve peroksit oluşumu prensibine dayanır. Alkol Dehidrojenaz(ADH)'in solüsyon stabilitesi daha iyidir ve etanolün asetaldehide oksidasyonunu temel alır. ADH yöntemleri arasında, ADH kaynağı, substrat, kofaktör, enzim konsantrasyonu, NAD kaynağı kontaminasyonu, NAD veya analoglarının kullanılması, inkübasyon süreleri, kör kullanımı, dalga boyları sebebiyle değişkenlikler olur. Enzimatik ölçümde laktat-LDH interferansı görülür. LDH artışı görülen durumlarda, hemoliz, laktatlı ringer verilen hastalarda yanlış yüksek etanol sonuçlarına sebep olabilir. Postmortem örneklerde enzimatik yöntem ile çalışma bu nedenlerden dolayı uygun değildir. (2,12,16,17,18)

Kanda Etanol Analizi Çalışma Basamaklarında Önemli Noktalar

Prenanalitik evre: numunenin hangi sebeple alındığına bakılmaksızın numune alımında, kimliklendirme, numune alma ve transfer formu, numune alım saati ve alan kişinin ve transfer eden kişinin adı, soyadı, kimlik bilgisi, imzası çok önemlidir. Etanol içermeyen dezenfeksiyon ve vakumlu teknik ile(hava ile teması minimize etmek amaçlı) 3 tüp NaF+EDTA'lı numune alınmalıdır. Serum analizde kullanılabilir ama hemoliz ve şahit numune olarak adli amaçlı kullanıma çok uygun olmaması ve hava ile temasın fazla olması dezavantajlarıdır. Her numune adli numune haline gelebileceği için preanalitik hatalara dikkat edilmelidir. Hemoliz olmaması için tüpler dik bir şekilde saklanmalı, düşük devirde santrifüj edilmeli ve 4 saat içinde analiz yapılmalıdır.(13,14)

Analitik evre: İç kalite kontrol analizden hemen önce yapılmalı ve tercihen 1SD aralığında kabul edilmelidir. Her laboratuvar etanol analizi için kendi ölçüm belirsizliğini hesaplamalıdır. Tüpler analiz için laboratuvara geldiğinde 4 saat içinde (kapağı kapalı ve dik bir şekilde oda ısısında bekleyebilir) analiz edilmeli yoksa +4 derecede bekletilmelidir. Cihaza yerleştirmeden hemen önce tüplerin kapağı açılmalı ve cihaza yüklenmelidir. Numune pipetlenince cihazdan tüp hemen alınıp tüp kapağı kapatılmalıdır. Eğer tekrar gerekli olursa 2. numune ile çalışılabilir. Mutlaka bir dış kalite kontrol programı ile çalışılmalıdır. (13,14)

Postanalitik evre: Sonuç raporunda bulunması gereken özellikler kan numunelerinde etanol analizi işlemlerinin usul ve esasları ve Akılcı laboratuvar Tıbbi laboratuvar tetkik sonuç rapor standardizasyon açıklamalarında belirtildiği gibi düzenlenmelidir. Numunenin tam kan, plazma veya serum olduğu raporda mutlaka belirtilmelidir. Birim hem "mg/dl" hem "promil" cinsinden verilmelidir. Birimler sonuçlarda çok önem taşır. g/L'i (promil) mg/dL'ye çevirmek için sonucu 100 ile çarpmak yeterlidir.(1 promil=100mg/dl dir.) Yasal sınırlar ve metodun sınırlılıkları açıklama kısmında belirtildiğinde adli makamlar için daha açıklayıcı ve yönlendirici olabilmektedir. Okuma aralığı dışındaki değerler ">" ya da "<" işaretiyle belirtilmelidir. Sonuç onayı görevli laboratuvar çalışanı tarafından acil laboratuvarlarda yapılsa da uzman tarafından kontrol onayı mutlaka gerçekleştirilmelidir. (13,14)

Şahit numunelerin düzenlenmesi: 3 tüp numune alınmasının avantajı Adli Tıp numune kabul prosedüründe 2 numune (NaF+EDTA) istenmektedir. Tüm numuneler şahit numune olarak listeye kaydedilerek, kilitli ve sorumlusu belirlenmiş, -20 derece derin dondurucuda, en az 6 ay, kapakları kapalı ve dik bir şekilde saklanmalıdır. Numuneler imha edilirken adli makamlara bildirilmek üzere idareye bilgi verilirse uygun olur. Şahit numuneler adli tıp için istendiğinde tutanak ile mühürlenmiş bir şekilde kolluk kuvvetinin imzası alınarak idare tarafından soğuk zincir şartlarında teslim edilir. (13,14)

Adli tıp kurumunun alkol birimi kan örneği kesin kabul koşulları incelendiğinde; 2 önemli madde dikkat çekicidir. (1)“Canlı kişilerden alkol incelemesi için kan alınırken, olayı müteakip en geç 2 saat içinde gri kapaklı, iki adet tüpe kan alınmasına dikkat edilmelidir” ve bu koşulların başında ve sonunda “örneğin çalışılmamasından doğan yasal sorumluluğun numuneyi alan ve teslim eden kişiye ait olacağını unutmayınız” denir. (2)“Mutlaka üç tüp kan alınmalı (en az 2’şer ml); iki tanesi analiz için Adli Tıp Kurumuna gönderilecek, bir tanesi kanı alan kurumda şahit numune olarak raporumuz ilgili Cumhuriyet Savcılığına ulaşana dek saklanmalıdır.” (13)

Alkollü araç kullanmanın cezası yürürlükteki en ağır yaptırımlı trafik cezasıdır. Yasal sınır bilindiği gibi; ticari araçlar için 0.20 promil, diğer araçlar için 0,50 promildir. 1 promil üzerinde alkol tespit edilirse kişiye dava açılır. Yasal sınır üzerinde alkol kullanarak kazaya karışanlar, TCK Madde 179’a göre yargılanır ve 3 aydan 2 yıla kadar hapis cezası vardır. Alkolmetreyi üfleme reddetmenin cezası 2019 yılında 2.869 TL’dir. 1. defa da 6 ay ehliyet el konur 2. defada 2 yıl ve kişinin sürücü davranışları geliştirme eğitimine katılması gerekir. 3 ve daha fazla alkollü araç kullananlarda her seferinde 5’er yıl ehliyet el konur ve psikoteknik testi uygulanarak psikiyatriste sevk edilir. Eski yasadan farklı olarak yeni yasada, araç sahibi farklı ise tescil plakasına da cezai işlem uygulanır. Bu nedenle ve sigorta şirketlerinin de hasarı karşılamamasından dolayı sonuçlara itirazlar oldukça fazladır. (19)

Damar bölgesinin dezenfeksiyonunda uygun uygulama ile alkolün dezenfektan olarak kullanımının analizi etkilemeyeceği gösterilmiştir(20). Postmortem numuneler ile ilgili bir vaka sunumunda 55 yaşında MI sonrası ölen kişinin ilk alkol düzeyi 0,18 promil iken, 3 gün sonra 0,85promile yükselince alınan kültürde, E.coli, Enterococcus fecalis ve Candida parapsilosis üretilmiştir. İn vivo ya da in vitro etanol oluşumunun postmortem numunelerde düşünüldenden daha yaygın olabileceğine işaret edilmektedir(21). Saklama koşulları ile ilgili farklı yayınlarda mevcut. Tüp kapağı açık numunelerde 2 saatten sonra önemli düşüşler gösterilmiştir. Uzun süre 13-39 ay depolanıp kapalı şekilde saklanan hiç açılmamış tüplerde, ilk sonuçlara göre ortalama 10 mg/dl kayıp, açılmış tüplerde 15 mg/dl kayıp olduğu gösterilmiştir(22). +4 derecede 12 ay saklanan örneklerin kademeli olarak yaklaşık 11 mg/dl etanol düzeylerinin azaldığı ve bunun 14-28 günlük depolamadan sonra analitik öneme sahip olduğu belirtilmiştir(22,23). -20 derecede depolama ile ilgili yapılan çalışmada plazma etanolünün en fazla 3-4 aya kadar saklanabileceği, kapağının sıkıca kapatılması ve numunelerin üzerinde hava kalmayacak kadar dolu olması önerilmiştir(24,25). Başka bir çalışmada ise -80 derecede aylarca etanolün değişmeden saklanabileceği gösterilmiştir(25,26). Plazma, serum ve tam kan arasındaki farklar konusunda serum düzeylerinin tam kana göre yaklaşık %15-20 yüksek olduğu gösterilmiştir(26,27). Alkolmetre sonuçları ile kan sonuçları Finlandiya’da 3 ay süren bir çalışma ile değerlendirilmiş ve alkolmetre sonuçlarının kan alkol düzeylerinden %15 daha düşük olduğu gösterilmiştir(28). Ölçüm belirsizliği headspace gaz kromatografisi ile %95 güven aralığında +/-4,8 bulunmuştur(29). Enzimatik yöntemde ise %95 güven aralığında ölçüm belirsizliği %14,2 tespit edilmiş ve kişilerin %1,76 sının sonuçlardan etkilendiği belirtilmiştir(30).

Son söz olarak etanol ile ilgili yeni yayınlar değerlendirildiğinde farklı ve çelişkili sonuçlar olmasına rağmen, Kan Numunelerinde Etanol Analizi İşlemlerinin Usul Ve Esasları Genelgesinde ve Adli Tıp Kurumu Alkol Birimi Kan Örneği Kabul Koşulları ile uygulanması istenen koşullara dikkat edilerek çalışılması, kişilerin gereksiz zarar görmesini engelleme açısından önem taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Arıkan Z, Alkol Kullanım Bozukluğu, Madde Bağımlılığı Tanı Ve Tedavi Kılavuzu El Kitabı, Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, yayın no:879, Ankara, Pozitif matbaa,2011.p.105-123.
2. Global status report on alcohol and health 2018, https://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/Erişim tarihi: 01.03.2019
3. Turhan T, Otoanalizörler ve nefes havasında alkol analizörleriyle yapılan kan alkol analizlerinde problemler, Turhan T, Pınar A, Küme T, editör. Toksikoloji ve Terapötik İlaç İzleminde Hatalı Sonuç Değerlendirmesi Kapsamlı Kılavuz,1. Baskı. Ankara: Palme Yayınevi; p.121-139
4. Xu G, Li C, et al, Dose-Dependent Influences of Ethanol on Ischemic Stroke:Role of Inflammation. Front Cell Neurosci. 2019;12;13:6.

5. Larsson S.C. et al, Differing association of alcohol consumption with different stroke types: a systematic review and meta-analysis, *BMC Medicine*, 2016; 14:178
6. Reynolds K, et al, Alcohol Consumption and Risk of Stroke: A Meta-analysis, *JAMA*, 2003; 28: 5
7. Beeler, E., et al; Paternal Preconception Every-Other-Day Ethanol Drinking Alters Behavior and Ethanol Consumption in Offspring *Brain Sci.* 2019, 9(3), 56
8. Richardson H.N., et al, Alcohol self-administration acutely stimulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, but alcohol dependence leads to a dampened neuroendocrine state, *Eur J Neurosci.* 2008; 28(8): 1641–1653
9. Messerli, F.H. et al, The alcohol blood pressure paradox, *European Heart Journal*, Volume 40, Issue 9, 01 March 2019, Pages 707–710, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz038>
10. Leong, D.P., Are the cardiac effects of alcohol good, bad, or neither? *European Heart Journal*, 2019 40- 9, 712–714,
11. Morain S, et al, Ethical Acceptability of Reducing the Legal Blood Alcohol Concentration Limit to 0.05, *Am J Public Health.* 2019:1-5.
12. Turhan T, Uçucu Alkoller: Etanol, Metanol, İsoopropanol, İlhan N. editör. *Klinik Toksikoloji Laboratuvarı Zehirlenme Değerlendirmesinin Çağdaş Uygulaması*, 1. Baskı Elazığ, Güler matbaacılık, 2017. p.57-78.
13. Adli Tıp Kurumu Alkol Birimi Kan Örneği Kabul Koşulları, <https://www.atk.gov.tr/kan-ornegi-kabul.html> Erişim tarihi: 01.02.2019
14. Kan Numunelerinde Etanol Analizi İşlemlerinin Usul Ve Esasları, Sağlık Bakanlığı, Genelge 2017/12, <https://dosyamerkez.saglik.gov.tr/Eklenti/11278,kan-numunelerinde-etanol-analizi-islemlerinin-usulpdf.pdf?0> Erişim tarihi: 01.03.2019
15. Mehmet Aşirdizer, ark, Vücut sıvılarında antemortem ve postmortem etil alkol düzeyinin belirlenmesinde biyobelirteçler, *Journal of Forensic Medicine*, 2016;30(2);153-161
16. Turhan T, Otoanalizör ile alkol analizi problemler ve güçlükler, Turhan T, editör. *Tıbbi Laboratuvarlarda Doğru Sonuç Hataların tespiti ve düzeltilmesi için rehber*, 1. Baskı Ankara: Palme yayıncılık; 2015. p.247-269
17. Powers RH, Dean DE. Evaluation of potential lactate/lactate dehydrogenase with an enzymatic alcohol analysis. *J Anal. Toxicol* 2009;33:561-3.
18. 2918 sayılı Karayolları Trafik Kanunu, Madde 48: Alkol, uyuşturucu veya uyarıcı maddelerin etkisi altında araç sürme yasağı
19. Lippi G, et al, The Alcohol used for cleansing the venipuncture site does not jeopardize blood and plasma alcohol measurement with head-space gas chromatography and an enzymatic assay, *Biochem Med (Zagreb).* 2017; 27(2): 398–403.
20. José Quintas et al, Postmortem in vitro ethanol production-It could be more common than we think, *Forensic Science International*, 2017;274:113-116
21. Saracevic A, et al, The stability of ethanol in unstoppered tubes, *Clinical Biochemistry*, 2014;47-1, 92-95
22. Jones A.W. et al, Decreases in blood ethanol concentrations during storage at 4 °C for 12 months were the same for specimens kept in glass or plastic tubes, *Practical Laboratory Medicine* 2016;4: 76–81
23. Koçak E, et al, Ethanol stability in different storage periods, *Biochemia Medica* 2015;25(1):57–63
24. Erdoğan S, et al, Optimal Storage Conditions for Blood Samples, for Later Analysis in Criminal Prosecution Proceedings, *J Immunol Clin Microbiol.* 2018;3(4):60-67
25. Penetar D.M. et al, Comparison among plasma, serum, and whole blood ethanol concentrations: impact of storage conditions and collection tubes, *Journal of Analytical Toxicology*, 2008;32:505-510
26. Langman L. et al, Clinical Toxicology page: 1109-1188 in *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, Elsevier, St Louis Missouri. Fifth Ede. Burtis C, Ashwood ER, Bruns DE. 2012,
27. Xiaoqin S, et al, A study of blood alcohol stability in forensic antemortem blood samples, *Forensic Science International*, 2011;211(1-3):47-50
28. Krikkub P, et al, Comparison of breath-alcohol screening test results with venous blood alcohol concentration in suspected drunken drivers, *Forensic Science International*, 2014;239:57-61
29. Hwang RJ, et al, Measurement of uncertainty for blood alcohol concentration by headspace gas chromatography, *Canadian Society of Forensic Science Journal*, 2017;50(3) 114-124
30. Çatak Z, Koçdemir E, Serum etanol düzeyi ölçümünde belirsizliğin değerlendirilmesi, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2017; 15(2): 75-79

Panel-2a

ENDOTEL DİSFONKSİYONUNDA YENİ BİYOBELİRTEÇLER

Köksal DEVECİ

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D., Tokat

Endotel fonksiyonu vasküler homeostazda merkezi bir rol oynar. Vasküler hastalıkların prognozu hakkında fikir verebilmesi açısından vasküler endotel fonksiyonunun biyolojik belirteçlerini ölçmek yararlı olmaktadır. Endotel disfonksiyonu, semptomatik hastaların koroner arterlerinde klinik olarak gösterilmiştir, o nedenle endotel disfonksiyonunun spesifik ve ölçülebilir belirteçlerine ihtiyaç vardır. Bu amaçla iki yaklaşım önerilmiştir. Birinci yaklaşım, uyarana cevaben fiziksel olarak vazodilatasyonu değerlendirmektir. Bu teknik endotelin NO salgılayabilme kabiliyetini yansıtır. İkinci yaklaşım biyolojik belirteçleri ölçmektir. Endotel disfonksiyonunun biyobelirteçleri tipik olarak endotel fonksiyonunun yönleri ile ilişkili ayrı moleküler yollardan türetilir ve NO biyoyararlanımını, oksidatif stres seviyesini veya NO katabolizmasını, pıhtılaşma durumunu veya endotelial enflamasyonu yansıtabilir. NO'nun kendisi kısa ömürlü bir serbest radikal olduğu için, NO yerine nitrit (NO₂-), nitrat (NO₃-) ve nitrosotiyoller dahil NO'nun oksidatif bozunma ürünlerinin plazma seviyeleri kullanılmıştır. Bununla birlikte bu ürünlerin diyetten etkilenmeleri ve inflamatuvar bozukluklarda endotel kaynaklı olmayan İNOS aktivitesi artışı nedeniyle endotelial NO üretimini her zaman doğru olarak yansıtmayabilir. NO'nun ölçümlerine benzer şekilde, 6-keto-PGF 1 α gibi prostasiklin metabolitlerinin seviyeleri de endotel fonksiyonunu yansıtabilir. Reaktif oksijen ürünleri (O₂-), lipid peroksit radikalleri NO ile reaksiyona girer ve NO inaktivasyonu kaynağı olabilirler. Bu nedenle reaktif oksijen türlerinin (ROS) incelenmesi, endotel disfonksiyonunun bir biyobelirteçleri olarak da düşünülmüştür, ancak bu, tüm hücre tiplerinin ROS üretme yeteneğine sahip olduğu için spesifik değildir. Plazma oksidatif stres ölçümleri, peroksinitrit oluşumunun bir endeksi olan lipid peroksidasyon indekslerini (F2-isoprostanlar ve tiyobarbitürik asit reaktif maddeler) ve nitro tirozin seviyelerini içerir. Hem NO'yu inaktive edebilen hem de arginin transportunu inhibe edebilen ürik asit plazma seviyeleri de azalmış NO mevcudiyetinin göstergesi olabilir.

Enflamasyona yanıt olarak yükselen plazmada bulunan bir protein olan C-reaktif protein, anormal endotelial fonksiyonun ve kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin bağımsız bir belirleyicisidir. Ek olarak dolaşımdaki enflamasyon belirteçleri arasında çözünür CD40L ve interlökin (IL) -6 ve tümör nekroz faktörü (TNF) - α gibi dolaşımdaki sitokinler bulunur.

Pro-coagulative duruma geçiş, genellikle endotel disfonksiyonunun bir özelliğidir ve bu nedenle pıhtılaşma endeksleri, endotel durumunun biyobelirteçleri olarak düşünülebilir. PAI-1, P-selektin ve fibrinojen endotel disfonksiyonunda artan pro-coagulative durumu gösteren parametrelerdendir. Plazma vWF düzeylerinin hipertansiyon veya vasküler hastalıkta arttığı ve kardiyovasküler olayları öngörebileceği gösterilmiştir. Trombomodulinün plazmadaki soluble formunda endotel fonksiyonunun fonksiyonel ölçümleriyle ve endotel disfonksiyonunun diğer biyokimyasal biyobelirteçleri ile korele olarak da bulunabilir.

Selektinler (E-, P-, L-) sistemik inflamatuvar bozukluklar ve sepsis içeren birçok insan hastalığında inflamatuvar süreç boyunca önemli adezyon moleküllerini temsil eder. Soluble selektinler doğrudan proenflamatuvar mediatörlerin sekresyonu ile bağlantılıdır ve inflamasyonda endotelial cevabı oluştururlar. ICAM-1'i (sICAM-1), endotel hasarının en iyi göstergesi olarak bilinmekte ve kardiyovasküler klinik bulgusu olmayan bireylerde farklı kardiyovasküler risk faktörleri ile en güçlü korelasyona sahip olduğu görülmüştür. Yüksek sICAM-1'in anjiyoplasti sonrası erken restenoz ve miyokard enfarktüsü için bir risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür. KAH'lı hastalarda kardiyovasküler ölümü öngördüğü gösterilen yüksek sVCAM-1 düzeylerinin, günümüzde plak instabilitesinin önemli bir göstergesi olarak tanındığı belirtilmiştir. sE-selektin sadece endotelden kaynaklanır ve enzimatik cleavage ya da hasarlanmış endotel hücrelerinden dökülme yoluyla dolaşıma salınır. sE-selektin düzeyleri çeşitli kardiyovasküler risk faktörleri ile de ilişkilidir. Ayrıca, karotid arterlerde aterosklerotik lezyonlar ve kararlı ve kararsız anjina ile birlikte bunların anjiyografik şiddeti ile de ilişkili olduğu aynı zamanda kardiyovasküler ölüm riskini de öngördüğünü ortaya koymaktadır. Kardiyovasküler hastalıklarda, özellikle de koroner arter hastalığında sICAM-1, sVCAM-1 veya sE-selektinin klinik yararlılığı saptanmış olsa da halen tartışmalı bir durum olduğunda belirtilmektedir.

Bugüne kadar, endotel disfonksiyonunun biyolojik belirteçlerinin çoğunluğu biyokimyasal veya protein bazı belirteçleri dolaşmaktadır. Bununla birlikte, ortaya çıkan bulgular, mikropartiküller, dolaşan endotel hücreleri ve endotel progenitör hücreleri de dahil olmak üzere endotel fonksiyon / işlev bozukluğunun hücresel belirteçlerinin endotel disfonksiyonunun güçlü biyolojik belirteçleri olabileceğini düşündürmektedir. Endotelial Mikropartiküller

(EMP) hasar, aktivasyon veya apoptoz üzerine endotel hücreleri tarafından plazma membranından dökülen anükleer küçük partiküllerdir (100 nm ila 1 µm). Bu mikroparçacıklar, endotel hücre yüzey antijenleriyle kaplıdır ve spesifik akış sitometri belirteçlerini kullanarak hem kantifikasyonu hemde üretimleri için muhtemel atta yatan süreçlerin tanımlaması yapılmaktadır. İmmünoassay, fonksiyonel testler ve mikroskopi tabanlı yaklaşımları içeren mikropartikül ölçümü için ilave yöntemler doğada daha sınırlı olabilir ve daha az yaygın olarak kullanılır. Bugüne kadar EMP ölçümünde standart bir yöntem bulunmamakla birlikte koroner arter hastalığı ve hipertansiyonda yükselmiş EMP bulunmuştur.

MikroRNAlar (miRNAlar) küçük, tek-iplikçikli RNA molekülleridir. Genellikle 18-22 nukleotid uzunluğunda olan ve kodlama yapmayan bu RNAlar, gen anlatımını transkripsiyon sonrası seviyede düzenleyen önemli regülatör moleküller olarak görev yaparlar. MiRNAlar pek çok önemli biyolojik fonksiyon ve hücreyel olayda görev alırlar. Endotelde Dicer eksikliği, endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) reseptörü 2, interlökin-8, Tie-1 ve Tie-2 dahil olmak üzere endotel fonksiyonunun temel regülatörlerinin değişmesine neden olur. Endotelin işlevindeki değişiklikler, hipertansiyon, ateroskleroz ve bozulmuş anjiyogenez dahil olmak üzere çeşitli kardiyovasküler bozukluklarda rol oynar. İki bağımsız araştırma grubu 2008 yılında miR-126'nın vasküler bütünlüğün ana düzenleyicisi olduğunu belirlemiştir. miR-126 vasküler gelişim ve homeostazın modüle edilmesinde önemli bir rol oynar. Vasküler bütünlüğün korunmasındaki asıl işlevini doğrulayan, miR-126'nın sayısız hedefi VCAM-1'dir. Bu miR, bu hücrelerde bolluğundan dolayı EC'nin tespiti ve saflaştırılmasında etkili bir marker olarak tanımlanmıştır. Akut miyokard enfarktüsü ve anjinası olan hastalarda dolaşımdaki miR-126'da anlamlı bir artış tespit edilirken, diyabet, kalp yetmezliği veya kanserli hastalardan alınan plazmada miR-126 azalma rapor edilmiştir. Endotel fonksiyonu, EC tarafından genel olarak ifade edilmeyen miR'ler tarafından da düzenlenebilir. Bu durumun en iyi örneklerinden biri, kolesterol homeostazının kritik bir düzenleyicisi olan miR-223 tarafından verilir. MiR-223'ün HDL'den EC'ye aktarılması, HDL'nin anti-enflamatuar özelliklerinin altında yatan potansiyel bir mekanizma olabilir.

Endotel fonksiyonlarını değerlendirmek ve endotel disfonksiyonunu belirlemek için bir çok biyobelirteç kullanılmaktadır. Bu biyobelirteçler tek başına kullanımının klinik yararlılığı yetersiz olduğundan kombine kullanımları önerilmektedir. Dünyada sık görülen ve ve ölümlere neden olan kardiyovasküler hastalıklar, sepsis, DM gibi hastalıkların önemi dikkate alındığında bu konuda yeni geliştirilecek biyobelirteçlere ihtiyaç olduğu ise kuşkusuzdur.

Panel-2b

KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLARIN TANISINDA KLİNİK LABORATUVARLARDA YENİ BİYOBELİRTEÇLER

Tevfik NOYAN

Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ordu

Kardiyovasküler hastalıklar dünyada en önemli ölüm sebepleri arasında yer almakta ve prevalansı hızla artmaya devam etmektedir. Kardiyak hastalıkların tanı ve izleminde günümüzde kullanılan klasik belirteçlere her geçen gün hızla yenileri eklenmektedir. İdeal bir kardiyak belirteçte olması gereken özellikleri şu şekilde sıralayabiliriz; myokarda özgül olmalı, myokard hasarından sonra kana hızlı salınmalı, yüksek hassasiyet ve özgüllüğe sahip olmalı, tespit edilebilmesi için birkaç gün kanda kalmalı, kan düzeyleri myokard hasarı ve prognoz ile korelasyon göstermeli ve trombolitik tedavi sonrası reperfüzyonun başarısı izlenebilmelidir.

Kardiyovasküler hastalık tanısında kullanılan biyobelirteçleri için farklı sınıflandırmalar kullanılmaktadır. Hastalık özgüllüğüne göre; örneğin, kalp yetmezliği tanısında (beyin natriüretik peptid (BNP), N-terminal proBNP (NT-proBNP), atriyal natriüretik peptid (ANP), ST-2 vb.), aterosklerotik koroner hastalık tanısında (troponin T veya I), ya da kullanımlarına göre, örneğin; kronik hastalıkların akut ataklarını tespit ve prognozu tahmin etmek için (copeptin, hsTroponin, galektin-3, ST2). Bu amaçla kullanılması öngörülen yeni biyobelirteçlere ait özellikleri kısaca özetleyecek olursak;

ST2; interleukin-1 (IL-1) reseptör ailesinin bir üyesidir. ST2 geni ST2 ligand (ST2L)- transmembran form ve soluble ST2 (sST2) insan plazma dolaşımında çözünür form olmak üzere iki izoform kodlar. sST2; kardiyovasküler sistem için daha özgüldür. sST2'nin mekanik stres, myokard hasarı, inflamasyon ve yeniden şekillenme (fibrozis, hipertrofi) durumlara ilişkin hsCRP'den daha fazla bilgi verdiği ileri sürülmektedir. sST2 sadece kalp yetmezliğinin patogenezinde değil, aynı zamanda aterosklerozun patogenezinde de rol oynar. Ek olarak, çeşitli hastalıklarda sST2'nin kanda konsantrasyonunda artışlar bildirilmiştir. sST2 konsantrasyonu erkek cinsiyet hariç yaş ve diğer geleneksel risk faktörleriyle ilişkili değildir sST2'nin kardiyovasküler ve bütün ölüm mortalitesini belirlemede hsCRP'den daha iyi bir indikatör olduğu bildirilmektedir.

İskemi modifiye albümin (IMA), iskemi veya iskemi/reperfüzyon sürecinde gelişen fizyopatolojik olaylar albümin N-terminal bölgesinde konformasyon değişikliğine neden olur. Bu değişim sonucunda kobaltın albumine bağlanmasında azalma vardır. N-terminal bölgesindeki yapısal modifikasyon nedeniyle geçiş metal iyonlarını bağlama kapasitesi azalan bu albümin varyantı IMA olarak adlandırılır. Serumda kobaltın bilinen miktarı eklenerek bağlanmayan kobalt, ditiotritol (DTT) ile bağlanarak kolorimetrik olarak ölçülür ve sonuç absorpsiyon ünitesi (ABSU) veya U/mL olarak rapor edilir. Albumine bağlı Co⁺² miktarı ve renk oluşumu arasında ters ilişki vardır. İMA iskemisinin başlangıcından hemen sonra dakikalar içinde yükselir, 6-12 saat yüksek kalır ve 24 saat içinde normale döner. Yapılan bir çalışmada iskemi teşhisinde İMA duyarlılığı %80, özgüllüğü %31, negatif prediktif değeri (NPD) %92 olarak saptanmıştır. Pulmoner embolizm hastalarında cut-off 0.25 ABSU'da, İMA'nın duyarlılığı %93, özgüllüğü %75, PPD'si %79.4 ve NPD'si %78.6 olarak bulunmuştur.

Gebelik ilişkili plazma protein A (PAPP-A), metalloproteinaz süper ailesinden bir çinko metalloproteinazdır. PAPP-A, insülin benzeri büyüme faktörü I'in spesifik aktivatörüdür. Bu etkiyi insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 4 ve 5'i parçalayarak, insülin benzeri büyüme faktörü I'in serbest kalmasını sağlayarak yapar. PAPP-A kanda iki farklı biçimde bulunabilir: bir heterotetramerik kompleks (htPAPP-A) ve bir homodimerik kompleks (dPAPP-A). Bunlardan, dimerik form kalp hastalıkları ile ilişkili formdur. Kandaki dPAPP-A seviyesinin, kararsız angina veya akut miyokard enfarktüsü hastalarında, stabil angina ve kontrol denekleri ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yükseldiği gösterilmiştir. Ayrıca, dPAPP-A'nın akut koroner sendromlu hastalar için güçlü ve bağımsız bir risk sınıflandırma belirteci olduğu gösterilmiştir. Prospektif bir çalışmada PAPP-A seviyesi ile kardiyovasküler ölüm ve tekrarlayan iskemik atak arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. PAPP-A'nın artmış koroner arter fibroaterom kalınlığının ve plak yırtılmasını tahmin etmede umut verici önemli bir biyobelirteç olabileceği iddia edilmektedir.

Myeloperoksidaz (MPO), inflamasyon reaksiyonu sırasında aktive lökositler (nötrofiller) tarafından bolca salgılanan bir peroksidaz enzimidir. Hassas plaklarda yüksek düzeyde aktive olmuş lökositler tarafından salgılanır. İnflamasyonun diğer belirteçlerinden bağımsız olarak kardiyak riski belirler. Akut koroner sendromun ilk birinci saatinde yüksek düzeyleri tanıya yardımcı olur. Negatif troponin düzeylerini takip eden altı ayda kardiyovasküler riskin belirlenmesinde faydalıdır. MPO'nun myokard enfarktüsü için risk altındaki hastaları tanımlamadaki rolü

sınırlıdır. Troponinler, CK-MB ve CRP'nin aksine MPO'nun, myokard nekrozu olmadığı durumlarda kardiyak olaylar için risk altında olan hastaların tanımlanmasını kolaylaştırdığını gösteren çalışmalar olmasına rağmen, MPO'nun myokard infarktüsütanısı için gerçek rolünü araştıran çalışmalara hala ihtiyaç duyulmaktadır ve bu biyolojik belirleyicinin rutin ölçümü herhangi bir klinik ortamda önerilmemektedir.

Yağ asidi bağlayıcı proteinler (FABP), aktif yağ asidi metabolizması bulunan dokularda bol miktarda bulunan küçük bir stoplazmik protein grubudur. H-FABP, diğer bir erken AMI markeri olan myoglobinden önemli ölçüde daha kalbe spesifiktir. Yapılan son çalışmalar H-FABP'nin akut koroner sendromun erken dönemde tanısında troponinlere göre hem daha üstün olduğunu hem de ek faydalar sağladığını göstermektedir. Ayrıca, H-FABP düzeyi daha fazla sayıda kardiyovasküler risk faktörü ile birlikte artış gösterir ve tüm nedenlerle kardiyovasküler ölüm için bağımsız bir risk faktörüdür. H-FABP'nin genel popülasyondaki yüksek riskli hastaların erken teşhisi için yararlı bir gösterge olabileceği düşünülmektedir.

Prokalsitonin (PCT) sepsis tanısı için yerleşik bir biyobelirteçtir. Koroner arter hastalığı olan hastalarda PCT konsantrasyonunun ateroskleroz ve prognozun derecesi ile korele olduğuna dair kanıtlar artmaktadır. PCT'nin, koroner arter hastalarında gelecekteki kardiyovasküler ölüm ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.

Glikojen fosforilaz izoenzimi BB (GPBB), glikojen dönüşümünde önemli bir rol oynar. BB izoformu, kalp ve beyin dokuları tarafından sentezlenir. Kan beyin bariyerinden geçememesi nedeniyle, GPBB kalp kasına özgüdür. GPBB, miyokard hücre ölümünün erken bir belirteci olarak kabul edilir ve salınım kinetiği, miyoglobin ve FABP'ninkine çok benzemektedir. GPBB, akut koroner sendrom ve kararsız angina tanısında yararlı bir belirteç olabilir. Miyokard infarktüsü ve unstabil anjina sonrası kan seviyesinde hızlı artış meydana gelir. İskemiden sonraki 1-3 saatlerde GPBB kanda tespit edilecek seviyede yükselir. Akut koroner sendromda erken teşhisi sağlar ve yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir

Arjinin vazopressin (AVP) ilişkili glikopeptit olarak da tanınan copeptin hormonu AVP prekürsörünün C-terminal parçasıdır ve 39 aminoasit uzunluğunda glikozile, lösinden zengin çekirdek bölümü bulunan bir peptittir. Copeptin stabil ve AVP'nin tersine uzun yarılanma zamanına sahiptir. Bu nedenle copeptin AVP'nin yerine ölüm riskinin belirlenmesi ve kalp hastalıklarının tanısında güvenilir bir biyobelirteç olabileceği ileri sürülmektedir.

Panel-2c

AKUT VE KRONİK BÖBREK HASARINDA YENİ BİYOBELİRTEÇLER

Süleyman Caner KARAHAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon
scaner61@yahoo.com

Böbrekler abdominal bölgede retroperitoneal olarak yerleşim gösteren ve iyi kanlanan dokulardır. Her böbrekte bulunan yaklaşık 1 milyon adet nefron ile su, elektrolitler ve asit-baz dengesi sağlanırken üretilen idrara metabolik artıkların boşaltılması sağlanır. Böbrekler ayrıca eritropoietin ve renin salgısı, vitamin D aktivasyonu, glikojen sentezi, hormon ve ilaç nötralizasyonu yapar.

Dünya genelinde akut ve kronik böbrek hastalıklarının sıklığı ve buna bağlı morbidite ve mortalite oranları da gittikçe artmaktadır. Akut böbrek hasarı (ABH), travma, inflamasyon, enfeksiyon, dolaşım bozuklukları ve toksisite etkisiyle böbrekte oluşan ani fonksiyon kaybına bağlı olarak üre ve kreatinin gibi azotlu ürünlerin birikmesi, hücre dışı sıvı hacmi ve elektrolit içeriğinin bozulması sonucu ağırlaşan veya kronikleşen bir hastalık tablosudur. Son yıllarda gelişen bütün tanı, tedavi ve destek sistemlerine rağmen ABH'na bağlı morbidite ve mortalite(%5-90) oranları yüksektir.

Böbrek hastalıklarının teşhisi, tedavinin planlanması ve takip edilmesi amacıyla laboratuvar testlerinden yararlanılır. Bu amaçla; akut ve kronik böbrek hasarının değerlendirilmesinde kılavuzların(KDIGO 2012) göre kreatinin ve idrar çıkışı veya glomerüler filtrasyon hızı ölçümü gibi geleneksel testler kullanılmaktadır. Bunlara ilave olarak; üre, amonyak, idrar proteini, fraksiyone sodyum atılımı ve diğer idrar analizleri de amaca yönelik olarak kullanılmaktadır. Ancak, sayılan testlerin hepsi böbrek fonksiyonlarındaki bozulmayı tespit etmeye yönelik olup, her birinin ölçüm metodolojisi ve/veya metabolik özellikleriyle ilgili handikapları nedeniyle böbreklerin yapısal hasarını ve bozukluğunu belirleyebilme güçleri sınırlıdır. Çünkü böbreğin yapısal hasarı bir eşik düzeye ulaştıktan sonra ancak kan kreatinin, üre ve amonyak düzeyleri artmakta, GFH ve idrar çıkışı ise azalmaktadır. Bu nedenle son 15 yıl içinde, böbrek hasarını erkenden tespit edebilen, ABH'da risk derecelendirmesi, prognozun belirlenmesi, tedavi planlamasının hızla yapılması ve takip edilmesine olanak sağlayacak yeni biyobelirteçlerin tanımlanmasına yönelik çalışmalar hızlanmıştır.

Akut ve kronik böbrek hasarını belirlemeye yönelik başlıca yeni biyobelirteçler:

1. Akut Böbrek Hasarı Belirteçleri: NGAL, KIM-1, IL-18, NAG, (α , π) GST, Sistatin C, L-FABP, IGFBP-7 ve TIMP-2, Netrin-1, NHE-3.
2. Kronik Böbrek Hasarı Belirteçleri:NGAL, Sistatin C, L-FABP, MCP-1, FGF-23, CTGF, TGF- β 1, Kollagen IV, PCX, Nefrin ve ADMA.

Günümüzde kullanıma uygun olduğu ileri sürülen biyobelirteçler NGAL, KIM-1, Sistatin C, IL-18, L-FABP, IGFBP-7 ve TIMP-2dir. Ancak bu belirteçlerden NGAL gibi bir kısmı böbrek hasarını erken tespitini sağlarken, spesifitesinin düşüklüğü gücünü sınırlamaktadır. KIM-1, IGFBP-7 ve TIMP-2 testlerinin böbreğe spesifitlikleri yüksek iken hassasiyetleri düşüktür.

Çalışma sonuçları böbreklerdeki hem yapısal hem de fonksiyonel hasarı ortaya koyacak ideal bir markör olmadığını işaret etmektedir. Bu nedenle Akut Diyaliz Kalite Girişimi (ADQI) grubu tarafından yapılan değerlendirmelerin neticesinde böbreğin kreatinin ve idrar çıkışı gibi fonksiyonel belirteçleri ile yapısal hasar belirteçlerinin kombine olarak kullanılmasının daha uygun olacağı önerilmiştir.

Kaynaklar

1. Beker BM et al. Novel acute kidney injury biomarkers: their characteristics, utility and concerns. *Int Urol and Nephrol* 2018; 50: 705-713.
2. Malhotra R, Siew ED. Biomarkers for the early detection and prognosis of acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol* 2017; 12: 149-173.
3. Wauson ME et al. Biomarkers of renal function, which and when?. *Clinica Chimica Acta* 2015; 438: 350-357

K-8

THE UEMS LABORATORY MEDICINE BOARD-WHAT IS IT USEFUL FOR?

Augusto MACHADO

UNILABS-Portugal Porto's medical laboratory, Portugal

Decades ago, several UEMS Specialist Sections decided to create their educational board. Similarly to them, the UEMS Laboratory Medicine/Medical Biopathology Specialist Section (UEMS LM/MB-SS) created the European Board for Laboratory Medicine (EBLM), having as its major objective the Laboratory Medicine medical specialty educational aspects.

Recently, some said that both the Board and the Section objectives and actions are completely overlapping and the reason for the existence of the Board has been questioned. Once the question was raised, a clarification is urgently needed.

Recalling the EBLM's actions already achieved, it's past and actual governance models, the UEMS Statutes as well as the Rules of Procedures, a personal position coming from a long acting EBLM officer and its simultaneously deeply committed testimony will be made as a contribution to such debate and a better understanding of both the Laboratory Medicine Specialist Section and its European Board.

Panel-3a

TIBBİ BİYOKİMYA UZMANLIK EĞİTİMİNDEKİ GELİŞMELER

Beyhan ÖMER

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

Özet

Tıpta uzmanlık eğitimi: Sağlık alanına özgü, özel yetenek ve yetki kazandırmaya yönelik, nitelikli insan yetiştirmeyi amaçlayan eğitimidir. Uzmanlık eğitimi çok sayıda ve farklı kurumlarda verilmektedir. Bu nedenle uzmanlık eğitiminin standardizasyonu sağlanmalıdır.

Avrupada Tıp eğitimi ve uygulamaları ile ilgili standardizasyonun sağlanması ve tıpta uzmanlık eğitimi ve uygulama alanının organize edilmesi için 1958 yılında Avrupa Tıp Uzmanları Birliği (ATUB) kurulmuştur. ATUB'un temel amaçları; Tıpta uzmanlık eğitimi ve uygulaması standartlarının yükseltilerek topluma daha nitelikli uzmanlık ve tıp hizmeti sunulması ve uzman hekimlerin statü ve toplumsal rollerinin korunması ve geliştirilmesidir.

Türk Tabipler Birliği (TTB) ATUB'a üyelik için başvurmuş ve 29.10.1993 yılında başvuru oy birliği ile yardımcı üye olarak kabul edilmiştir. ATUB yapısına paralel olarak TTB üzere 01.11.1994 Türk Tabipler Birliği- Uzmanlık Dernekleri Koordinasyon Kurulu (TTB-UDKK) nu kurmuştur. Başlıca amacı: Uzman hekimlik hizmetinin mümkün olduğunca en yüksek düzeye çıkarılması ve sürdürülmesini sağlamak için çalışmak, uzmanlık dernekleri aracılığıyla Tıpta Uzmanlık eğitiminin çağdaş bir düzeye ulaştırılması için standartların oluşturulması, denetlenmesi, değerlendirilmesi ve korunması ile ilgili Ulusal hedef ve koşulları saptamaktır.

Tıpta Uzmanlık Kurulu, uzmanlık dallarının eğitim müfredatları ve bu müfredatlara göre uzmanlık dallarının temel uygulama alanları ile görev ve yetkilerinin çerçevesini belirlemek üzere bir sistem oluşturmuştur. Tıpta Uzmanlık Kurulu Müfredat Oluşturma ve Standart Belirleme Sistemi (TUKMOS) ve komisyon oluşturulmuştur. Ocak 2010 yılında başlayan çekirdek eğitim müfredat çalışmaları halen devam etmektedir.

Tıbbi Biyokimya uzmanlık eğitimi; çekirdek eğitim programının uygulanmasının yanı sıra belirli dallarda rotasyonların ve uzmanlık tezinin yapılmasını içeren dört yıllık eğitim sürecidir. Uzmanlık eğitimi rehberlik ve gözetim altında uygulamaya dayalı olmalı, sağlık hizmeti verirken öğrenmeyi sağlamalıdır.

Türkiye'de uzmanlık eğitimi ile ilgili çalışmalar; 14.04.1928 tarih ve 1219 sayılı "Tababet ve şüabâtı sanatlarının tarzi icrasına dair kanun" ve 29.06.1929 tarih 8034 nolu kararname ile "Tababet ve ihtisas vesikaları hakkında nizamname" ye bağlı olarak başlamıştır (1). Bu nizamnamede (tüzük) uzmanlık dalları: seririyat ihtisas şubeleri (klinik uzmanlık alanları) ve laboratuvar ihtisas şubeleri (laboratuvar uzmanlık alanları) olmak üzere iki grupta tanımlanmıştır. Klinik uzmanlık dalları: Emrazi Dahiliye, Hariciye, Akliye ve Asabiye, Enfiye Üzniye ve Hançeriye, Ayniye, Cildiye ve Zühreviye, Etfal, Vilade ve Emrazi Nisaiye ve Bevliye olmak üzere 9 uzmanlık dalından oluşmuştur. Laboratuvar uzmanlık dalları da; Bakterioloji, Teşrihi Marazi, Kimyayı Tıbbi, Tababeti Ruhiye ve Adliye, Radyoloji ve Hikemi Tedavi olmak üzere 6 uzmanlık dalından oluşmuştur. Uzmanlık alanımız yıllar içinde; Kimyayı Tıbbi (1929), Hayati Kimya (1947), Hayati ve Tıbbi ve Gıdai Kimya (1949), Hayati ve Tıbbi Kimya (1955), Tıbbi Biyokimya (1961), Biyokimya (1962), Biyokimya ve Klinik Biyokimya (1983), Tıbbi Biyokimya (2002) olarak adlandırılmıştır(1,2).

Avrupa'da Tıp eğitimi ve uygulamaları ile ilgili standardizasyonun sağlanması ve tıpta uzmanlık eğitimi ve uygulama alanının organize edilmesi için 1958 yılında Avrupa Tıp Uzmanları Birliği (ATUB) kurulmuştur. ATUB'un temel amaçları; Tıpta uzmanlık eğitimi ve uygulaması standartlarının yükseltilerek topluma daha nitelikli uzmanlık ve tıp hizmeti sunulması ve uzman hekimlerin statü ve toplumsal rollerinin korunması ve geliştirilmesidir. ATUB'un kurulması ile Avrupa ülkelerinde tıpta uzmanlık alanında kurulan devlet dışı toplum kuruluşları, tabip odaları/birlikleri ve Tıpta Uzmanlık Dernekleri bu kuruluş bünyesinde kendi alanlarında birleşerek organize olmuşlar ve Avrupa ülkeleri arasında eğitim ve uygulamaların standardizasyonu için çaba harcamaya başlamışlardır.

Türk Tabipler Birliği (TTB) 26.01.1993'de ATUB'a üyelik için başvurmuş ve 29.10.1993 yılında başvuru oy birliği ile kabul edilmiştir. Ancak Türkiye Avrupa Birliği (AB) üyesi olmadığı için TTB yardımcı üye olarak kabul edilmiştir. ATUB yapısına paralel olarak TTB 01.11.1994'de Türk Tabipler Birliği- Uzmanlık Dernekleri Koordinasyon Kurulu (TTB-UDKK) nu kurmuştur. Başlıca amacı: Uzman hekimlik hizmetinin mümkün olduğunca en yüksek düzeye çıkarılması ve sürdürülmesini sağlamak için çalışmak, uzmanlık dernekleri aracılığıyla Tıpta

Uzmanlık eğitiminin çağdaş bir düzeye ulaştırılması için standartların oluşturulması, denetlenmesi, değerlendirilmesi ve korunması ile ilgili Ulusal hedef ve koşulları saptamaktır.

Tıpta uzmanlık eğitimi: Sağlık alanına özgü, özel yetenek ve yetki kazandırmaya yönelik, nitelikli insan yetiştirmeyi amaçlayan eğitimidir. Uzmanlık eğitimi çok sayıda ve farklı kurumlarda verilmektedir. Bu nedenle uzmanlık eğitiminin standardizasyonu sağlanmalıdır. Tıpta uzmanlık eğitiminde standardizasyon, altyapının incelendiği kurum ziyaret programları, çekirdek müfredatın belirlenmesi, asistan karnelerinin kullanımı ve denetimi, yeterlik sınavlarının uygulanması, standartların belirlenmesi ve akreditasyon süreçlerinin kullanılması ile sağlanır. Belirlenecek standartlar gereksinimleri karşılamalı, sağlık uygulamaları ve sağlık hizmetleriyle uyumlu olmalı, toplum yararına sonuç vermelidir.

Uzmanlık eğitiminin standardizasyonu 4 basamağı kapsamalıdır. Uzmanlık eğitimi veren kurumların niteliği, eğiticilerin nitelikleri, uzmanlık eğitim programı ve eğitimin denetlenmesi, uzmanlık eğitimi alanlar.

Eğitim veren kurumlar; yeterli mekana (ana branşlar ve 24 saat laboratuvar hizmeti), güncel tekniğe sahip yeterli sayıda cihaza ve güçlü bir bilimsel yayın desteğine (kütüphane, internet..) optimal düzeyde eşdeğer şartlarda sahip olmalıdır. Eğiticiler yeterli sayıda ve ulusal düzeyde uzmanlık eğitiminden sorumlu kurum veya kuruluşlar tarafından verilmiş eğiticilik yetkisine ve araştırma deneyimine sahip olmalıdır. Uzmanlık eğitim programı asgari standartlarda nitelikli eğitim olmalıdır. Uzmanlık eğitimi alanlar için gereklilikler; eğitici danışmanlığında eğitim etkinliklerine öncelik, yeterli sayıda ve çeşitlilikte uygulama ile uzmanlık alanında deneyim kazanmalı, düzenli sistematik olarak performansın değerlendirilmesi (asistan karnesi, ara sınav uygulaması) sağlanmalıdır (3).

Tıbbi Biyokimya anadal uzmanlık eğitimine yönelik ilk çekirdek müfredat çalışmaları, 2002 yılında yayınlanan Tıpta Uzmanlık Tüzüğü'ne göre kurulan Eğitim Müfredat Komisyonu ile başlamıştır(4) İlk çekirdek eğitim müfredatında: Genel özellikler (Alanın tanımı, temel ilkeler, amaç), eğitim kurumlarının özellikleri, eğiticilerin özellikleri, asistanların izlenmesi ve değerlendirilmesi, eğitim programının içeriği ve rotasyonlar yer almıştır. Bu dönemde Avrupa Tıp Uzmanları Birliği Kimyasal Biyopatoloji (Klinik Biyokimya) bölümü ve Amerikan Patoloji Board'un Klinik Kimya bölümü müfredatlarından yararlanılmıştır 2003 yılı Kasım ayında tamamlanan müfredatı pek çok eğitim kurumu uzun yıllar kullanmıştır.

Uzmanlık eğitimi takip sistemi (UETS) 18 Temmuz 2009 tarihinde yayımlanarak yürürlüğe giren Tıpta ve Dış Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliği (TUEY) hükümleri gereğince oluşturulması gereken ve elektronik ağ ortamında (İnternet) çalışması ön görülen bir yazılımdır. Tıpta Uzmanlık Kurulu Müfredat Oluşturma Sistemi (TUKMOS), Tıpta Uzmanlık Kurulu (TUK)'un TUEY'de belirtilen 94 adet uzmanlık alanının çekirdek müfredatlarını belirleyebilmek için oluşturduğu komisyonların çalışmalarını sanal ortamda yürütebilmeleri için geliştirilmiş olan bir yazılımdır. Ocak 2010 yılında başlayan çekirdek eğitim müfredat çalışmaları halen devam etmektedir. Bu çerçevede: 2010 yılında I. Dönem TUKMOS komisyonları oluşturulmuştur. Bu komisyon 2010-2012 yılları arasında görev yaparak "Tıbbi Biyokimya Uzmanlık Eğitimi Müfredatı v 1.0" 'ı hazırlamıştır. 2012-2013 yıllarında görev yapan 2. Dönem komisyonu "Tıbbi Biyokimya Uzmanlık Eğitimi Müfredatı v 2.0" 'ı oluşturmuştur. 2014 yılında oluşturulan 3.Dönem TUKMOS Komisyonu ise şu anda mevcut taslağı hazırlamıştır. Bu taslağın öncekilerden en önemli farkı standartların ve rotasyon hedeflerinin tanımlanmasıdır.

Çekirdek eğitim müfredatı: Uzmanlık eğitimi ihtiyaçlarının değerlendirme sonuçlarına dayanır. Belirlenen ihtiyaçları karşılayacak amaç ve hedefler ile bunları gerçekleştirecek asgari bilgi, beceri ve tutum kazandırmaya yönelik eğitim etkinliklerini içerir. Uzmanlık eğitimi sırasında edinilmesi gereken minimum gereksinimlerin belirlenmesi, uzmanlık eğitiminin yöntemi, uzmanlık eğitiminin süresi, ülke gereksinimleri ve özelliklerinin belirlenmesi, insan gücü özellikleri ile paydaşların gereksinim ve önerileri; Çekirdek yetkinliklerin, hekimlerin, alanlarında sahip olmaları gereken en az yetkinlik için, uygulamada neler yapması gerektiği belirlenir (5).

Müfredatların klavuzlarda belirlenen özellikler çerçevesinde hazırlanması bildirilmiş ve çeşitli tanımlar yapılmıştır. Yetkinlik, bir uzmanın bir iş ya da işlemin gerektiği gibi yapılabilmesi için kritik değer taşıyan, eğitim ve öğretim yoluyla kazanılıp iyileştirilebilen, gözlenip ölçülebilen, özellikleri daha önceden tarif edilmiş olan, bilgi, beceri, tutum ve davranışların toplamıdır. TUKMOS'un yeterlilik üçgeni 7 temel alanda toplanmıştır. Yönetici, Ekip Üyesi, Sağlık Koruyucusu, İletişim Kuran, Değer ve Sorumluluk Sahibi, Öğrenen ve Öğreten, Hizmet Sunucusu. Her bir temel yetkinlik alanı, uzmanın ayrı bir rolünü temsil eder. Yedinci temel alan olan hizmet sunucusu alanına ait yetkinlikler; klinik yetkinlikler ve girişimsel yetkinlikler olarak ikiye ayrılırlar. Bir uzmanlık dalındaki eğitim sürecinde kazanılan bu 7 temel alana ait yetkinlikler uyumlu bir şekilde kullanılabildiğinde yeterlilikten bahsedilebilir. Bu temel yetkinlik alanları aşağıda listelenmiştir

Hizmet sunucusu temel yetkinlik alanındaki yetkinlikler, kullanılış yerlerine göre iki türdür: Klinik Yetkinlik: Bilgiyi, kişisel, sosyal ve/veya metodolojik becerileri tıbbi kararlar konusunda kullanabilme yeteneğidir; Girişimsel Yetkinlik: Bilgiyi, kişisel, sosyal ve/veya metodolojik becerileri tıbbi girişimler konusunda kullanabilme yeteneğidir (6,7).

Tıbbi biyokimya uzmanlığı, sağlık ve hastalıktaki biyokimyasal mekanizmaları, hastalıkların önlenmesi, tanı, ayırıcı tanı, prognoz ve tedavinin izlenmesindeki testleri, sonuçların tıbbi yorumlarını, konsültasyonu ve laboratuvar tanıyı içeren, tıbbi ve kliniğe özgün laboratuvar uzmanlık alanıdır. Tıbbi Biyokimya uzmanlık eğitimi; çekirdek eğitim programının uygulanmasının yanı sıra belirli dallarda rotasyonların ve uzmanlık tezinin yapılmasını içeren dört yıllık eğitim sürecidir. Uzmanlık eğitimi rehberlik ve gözetim altında uygulamaya dayalı olmalı, sağlık hizmeti verirken öğrenmeyi sağlamalıdır.

Kaynaklar

- 1-TC Resmi Gazete. 29.06.1929, sayı:1228
- 2- TC Resmi Gazete. 09.08.1947, sayı:6680.
- 3- TC Resmi Gazete.Tıptave Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitim Yönetmeliği .26.04.2014, sayı:28983
- 4- TC Resmi Gazete.Tıpta Uzmanlık Tüzüğü. 19.06.2002, sayı:24790
- 5- Tıpta Uzmanlık Kurulu Karar Tutanağı. 22.12.2016. Toplantı:74. Karar No:795.
- 6-TUKMOS. Tıbbi Biyokimya Çekirdek Eğitim Müfredatı.30.09.2016
- 7- TUKMOS. Tıbbi Biyokimya Çekirdek Eğitim Müfredatı.12.10.2017

Panel-3b

TIBBİ BİYOKİMYA UZMANLIK EĞİTİMİ AKREDİTASYONU YETERLİK SINAVLARI

Tülay KÖKEN

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD., Afyonkarahisar

Akreditasyon, standartlara uygun planlanmış uzmanlık eğitiminin onaylanması sürecidir. Bu süreçte eğitimin, eğiticinin ve eğitilenin, tanımlanmış olan yetkinlik ölçütlerini karşılayıp karşılamadığını değerlendirir. Bugün ülkemizde uzmanlık eğitiminin akreditasyonu ilgili alanda faaliyet gösteren derneklerin “*Yeterlik Kurulları*” tarafından yapılmaktadır. Akredite olmak isteyen kurumlar, akademik kalitenin iyileştirilmesini hedeflemiş, saydamlık ve hesap verme sorumluluğunun bilincinde olan eğitim kurumlarıdır. Gönüllülük esasına dayanan akreditasyon süreci, kurumun belirlenmiş standartlara sahip olduğunu, güvenilirliğini ve tanınmasını belgeler. Bu belgenin sürekliliği için periyodik olarak iç ve dış değerlendirmeler gerekli olup, bu yolla kalitenin sürekli geliştirilmesi sağlanır.

Akreditasyon için istenen standartların başlıkları:

1. Amaç ve hedeflerin tanımlanması
2. Eğitim kadrosunun kalitesine yönelik standartlar.
3. Eğitim alt yapı ve olanaklarına yönelik standartlar
4. Eğitim Programına ait standartlar
5. Ölçme ve değerlendirmeye ait standartlar
6. Uzmanlık öğrencileri konusunda standartlar
7. Eğitim programının değerlendirilmesi ve geliştirilmesi konusunda standartlar
8. Yönetim ve yürütme standartları
9. Sürekli yenilenme standartları

Tıbbi Biyokimya uzmanlarının yetkinliğinin değerlendirildiği “Yeterlik Sınavları”nın amacı Tıbbi Biyokimya uzmanlarının, mesleki bilgi ve becerilerini objektif yöntemlerle değerlendirerek kendi yeterlikleri konusunda bilgi sahibi olmalarını sağlamak, bilimsel niteliklerini en üst düzeyde tutmalarını teşvik etmek ve kalite konusunda uluslararası standardizasyonu sağlayacak kriterleri geliştirmektir. ABD’de yeterlik sınavları ilk kez 1916 yılında Oftalmoloji alanında yapılırken ülkemizde 2000 yılında Genel Cerrahi alanında yapılmıştır. Alanımızdaki ilk sınav da 21 Mayıs 2017 tarihinde Türk Klinik Biyokimya Derneği Yeterlik Kurulu tarafından yapılmıştır. Sınav yazılı ve Nesnel Örgün Klinik Sınav (NÖKS) olmak üzere iki aşamalıdır. Bu güne kadar bu sınavları başarı ile geçip sertifika almaya hak kazanmış 6 uzmanımız mevcuttur.

Nitelikli bir Tıbbi Biyokimya eğitiminin sürdürülebilmesi için eğitim kurumlarımızın akredite olması, uzmanlarımızın da sertifikalandırılması günümüzün bir gerekliliği olarak karşımıza çıkmaktadır.

Panel-3c

TIBBİ BİYOKİMYADA UZMANLIK EĞİTİMİ

Ece KARACA

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, İstanbul

Araştırmalar için bütçe

Biyokimyada bir sürü bakir araştırma alanı varken bütçe yokluğundan dolayı istediğimiz çalışmaları yapamamamız gerçekten üzücü. Klinisyenlerin bu açıdan biden çok daha şanslı olduğu ilaç firmalarının örneğin mali destekleri ile bizle ilgili çalışmalara dahi yönelme şansını onlara sağlıyor. Bizler içinde fon firma yabancı üniversite AB fonları vb. desteklere erişim için derneğimizin daha aktif davranması gereğine inanıyorum.

Mecburi hizmet

Sırf biyokimya olarak değil, Türkiye'deki bütün uzmanlık eğitimlerinde ve beraberinde uzman sayılarında eksiklikler var. Öncelikle bunu belirtelim. Bu toplumsal eksiğin kapatılması için devlet politikası olarak uygulanan mecburi hizmetin, zorunlu çalışmanın insan hakları bakımından, mesleki faydalarının, kalıcı ve isteğe bağlı çalışmanın memnuniyet ve karşılıklılığın kazanımlarından sağlık hizmetlerini yoksun kıldığına, kalitenin teşkiline engel olduğuna inancım tamdır.

Sürekli değişen yönetmelikler ve bunlara hakimiyet

Sistemdeki rolümüz daha ziyade birer idareci olmamızı gerektirmekte. Bu da bizleri kurumsal bir yapının başhekimliklerin birer uzantısı yapmakta, mevzuat ve yasaları bilimden dahi öncelikli biliciler olmaya zorlamakta, eğitim sırasında asgari seviyede layıgınca bir teknik şartname çıkarabilecek, yasal yükümlülükleri yapabilecek, personel idaresi ile baş edebilecek seviyelere gelmemizi zorunlu kılmaktadır. Birde bunun üzerine sürekli değişen maliyet doktrinleri, mevzuat ve yasaların işleri iyileştirmekte mi daha karışık bir halemi getirmekte mi olduğunu sorguluyorum şahsım adına. Daha stabil bir yasal atmosferin daha mı faydalı olacağını düşünmekte naçizane fayda görüyorum.

Panel-3d

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOKİMYA UZMANLIK EĞİTİMİ SÜRECİ

Elif FIRAT

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Denizli
Viranşehir Devlet Hastanesi, Şanlıurfa

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı araştırma görevlilerine uzmanlık eğitimleri sürecinde çekirdek eğitim müfredatındaki Yönetici, Ekip Üyesi, Sağlık Koruyucusu, İletişim Kuran, Değer ve Sorumluluk Sahibi, Öğrenen ve Öğreten ve sonuçta yetkin bir Hizmet Sunucusu özelliklerini kazandırılmaya çalışılmaktadır. Hizmet Sunucusu temel yetkinlik alınındaki yetkinliklerden biri olan Girişimsel (İşlemsel) Yetkinlikler; tıpta uzmanlık öğrencisinin bilgilerini, Tıbbi Biyokimya laboratuvar ortamında, laboratuvar yöntemleri ile insana ait biyolojik örnekleri inceleyerek gerçekleştirdiği tüm klinik tanı işlemleri ve laboratuvar yönetimini içeren yetkinliklerdir (1). Bu nedenle, girişimsel yetkinlikler laboratuvara uyarlandığında, işlemsel yetkinlikler olarak tanımlanması daha doğru olacaktır.

Bu anlamda anabilim dalındaki araştırma görevlilerinin gerekli girişimsel yetkinliğe ulaşmak adına biyokimya laboratuvarının rutin işleyişinde her basamakta sorumlulukları vardır. Merkez laboratuvarı bünyesindeki biyokimya laboratuvarı anabilim dalı öğretim üyelerinin sorumluluğunda olduğu için asistanlar eğitimleri boyunca merkez laboratuvarında aktif olarak görev almaktadır. Laboratuvara gelen örneklerin kabulünden sonuçların onaylanmasına kadar geçen süreçte aktif rol almaktadırlar. Bu süreçte laboratuvarında görev alan teknik eleman, personel, klinisyen doktor da dahil olmak üzere tüm personel ile iletişim kurup sorunları çözüp laboratuvar sonuçlarının doğru şekilde onaylanmasında büyük rol oynamaktadırlar. Temel laboratuvar uygulamaları, laboratuvar güvenliği, örnek yönetimi, analitik yöntemler, analitik evrenin yönetimi ve performans değerlendirmeleri, kalite kontrol ve kalite güvencesi, hasta başı testlerin yönetilmesi, preanalitik evre yönetimi, postanalitik evre yönetimi, laboratuvar bilgi ve veri sistemi yönetimi, klinik danışmanlık konularındaki faaliyetlere bire bir katılmakta ve sürecin uygulanmasında bizzat sorumluluk almaktadırlar. Bu süreç hakkındaki değerlendirmeler özellikle periyodik değerlendirmelerde göz önüne alınarak eğitimciler tarafından ara raporlarda belirtilmektedir. Bununla birlikte çekirdek müfredatta belirtilen ve Düzey 4 (Karmaşık olsun veya olmasın, her durum /örnek için, kendi başına yetkin bir şekilde baştan sona işlemi gerçekleştirebilmeyi ifade eder) yetkinlik düzeyine ulaşılması gereken analitik yöntemlerden olan elektroforetik yöntemler bölümü bünyesinde rutin uygulanmadığından pratik eğitimi sağlanamamaktadır. Laboratuvar yönetimi konusunda aktif rol almakla birlikte finans yönetiminde, özellikle teknik şartnameler ve malzeme temininde ihale süreçlerine sorumlu hekim kadar dahil olamamaktadırlar. Laboratuvar bilgi sistemi ve veri yönetimi alanında temel laboratuvar istatistiklerinin kullanımı ve hastane laboratuvar bilgi sistemi eğitimi aktif olarak sürdürülmekte iken, merkez laboratuvarında referans aralık belirleme çalışmaları aktif olarak yapılmadığından bu konudaki eğitim faaliyetleri yetersiz kalmaktadır.

Eğitim programı temel biyokimya konuları, analitik ölçüm yöntemleri, klinik biyokimya konu başlıkları, klinik laboratuvar kalite yönetimi, hastalıkların biyokimyasal mekanizmalarını içerecek şekilde anabilim dalı öğretim üyeleri tarafından oluşturulmuştur (2). Asistanlar mezuniyet sonrası kurulan programı içindeki zorunlu kurslara da katılmaktadır. Uzmanlık eğitimi süresi içinde kurs, sempozyum ve bilimsel toplantılara katılımları da teşvik edilmekte ve asistan çalışma karnelerine katıldıkları bilimsel aktiviteleri de kayıt etmektedirler. Eğitimleri süresi içinde tıp fakültesi ders programındaki uygulama derslerine aktif olarak katılarak hazırlık ve uygulama aşamalarında görev almaktadırlar. Anabilim dalı bünyesinde bulunan araştırma laboratuvarında yapılan araştırma projelerinde de dönüşümlü olarak rol alarak analitik aşamalara katkı sağlamaktadırlar.

Anabilim dalındaki araştırma görevlilerinin öğretim üyesi danışmanlığında her yarı yılda bir seminer ve 2 adet makale sunma zorunluluğu vardır. Ayrıca merkez laboratuvarında görevli öğretim üyeleri tarafından yapılan laboratuvar viziti ve eğitim toplantılarına da katılmaktadırlar. Araştırma görevlileri gerçekleştirdikleri teorik ve pratik tüm eğitim faaliyetlerini asistan çalışma karnelerine kayıt ederek danışman öğretim üyesine paraflatmaktadırlar (3).

Sayılarının az olması nedeni ile araştırma görevlileri nöbet tutmamaktadırlar. Nöbetçi teknisyenler ile sürekli iletişim halinde oldukları için gece çıkan sorunların da çözümüne katkıda bulunmaktadırlar.

TUKMOS tarafından önerilen eğitim standartlarındaki; Eğitici Standartları ve Mekan ve Donanım Standartları anabilim dalı tarafından sağlanmaktadır. Önerilen standart olan eğitimcilerin eğitici eğitimi almış olmaları anabilim dalı bir kısım öğretim üyeleri tarafından da karşılanmaktadır. TUKMOS tarafından araştırma görevlilerinin belirlenen hedeflere ulaşmasının değerlendirilmesinde eğitimcilerin uygun gördüğü ölçme değerlendirme yöntemlerini uygulayabilecekleri belirtilmiştir. Araştırma görevlilerinin yetkinliklerinin değerlendirilmesi çoklu sınav tekniklerinin kullanıldığı prensipte eğitim sürecinin değerlendirilmesi şeklinde yapılmaktadır.

Rotasyonlar ilgili kliniğin gereklilik ve şartlarına göre kişinin görevlendirilmesi şeklinde yapılmaktadır. Rotasyon sürecinde ilgili kliniğin işleyişi ve biyokimyasal testleri yorumlamalarıyla ilgili gözlem yapma ve laboratuvar klinik ilişkisinin iyileştirilmesi adına fikir alışverişleri yapma imkanı oluşmaktadır. Laboratuvar-klinik iletişimi kolaylaşıp hızlanmaktadır. Klinisyen ile iletişim halinde olup tanı ve tedavi süreçlerine katılım sağlanmaktadır.

Asistanlar laboratuvar yönetimi konusunda aktif rol almakla birlikte uzmanlık hayatında sahada personel ilişkisi ve yönetimi, finans yönetimi, ihale süreçleri, teknik şartnameler, firmalar ile iletişim, yöneticilerle ilişkiler konularında sıkıntılar yaşamaktadır.

Uzmanlık sırasında karşılaşılan en önemli zorluk laboratuvar yönetimi ve imkansızlıklar olmaktadır. Personel yönetimi konusunda; iletişim, personel sayısı kısıtlılığı (özellikle mesleki tecrübesi olan) mesleki eğitim eksiklikleri, kurum içi eğitim düzenlenmesi gibi başlıklarda zorluklarla karşılaşmaktadır. Uzmanlığa başladıktan sonra ihale süreçlerindeki rol bilincini netleştirebilmek önemlidir. Teknik şartname hazırlama, finans yönetimi, malzeme temini, yöneticilerle ilişkiler, il bazlı ihalelerde söz sahibi olabilme gibi alanlarda yetkin olmak zor bir süreci oluşturur. Tıbbi biyokimya uzmanlık eğitimi kapsamında olmayan birimlerin sorumluluğunun verilmesi uzmanları zor duruma sokmaktadır. Uzmanlardan sertifikalı eğitim programlarına katılım ile kan merkezi yönetimi, transfüzyon merkezi yönetimi, yeri geldiğinde mikrobiyoloji ya da patoloji laboratuvarı yönetimi sorumluluğunu almaları, biyokimya dışında tüm laboratuvar alanlarında yetkin olmaları beklenmektedir.

Laboratuvardaki fiziksel eksiklikler, temel eğitiminin alındığı analizlerin dış laboratuvara gönderilmesi ile sonuçların gecikmesi, hastane ve laboratuvar bilgi sistemi yetkililerinin yeterli yetkinlikte olmaması, firma yetkililerinin yeterli yetkinlikte olmaması, adli vakalarda ciddi sorumluluk yüklenen örneklerin toplanması ve transportunda güvenliği tam olarak sağlanmayan prosedürlerin dayatılması, aile hekimliklerinden gelen kanlarda preanalitik faktörlerin kontrol edilememesi, gereksiz test istemi gibi sorunlar da uzmanların karşılaştığı başlıca sorunları oluşturmaktadır.

Tıbbi biyokimya uzmanı, asistanlıktan farklı olarak tıp doktoru kimliğinin yanında laboratuvar yöneticisi pozisyonunda hizmet vermekte ancak karşılaşılan sorunlar ve yönetmesi beklenen süreçler tamamen uzman olduktan sonraki kişisel tecrübeleri ve ilişkilerine bağlı sonuçlanmaktadır. Bu anlamda uzmanlık eğitimi sırasında mali işleri yönetmek, personel ve yönetim ilişkilerini dengede tutmak, firma yetkilileri ile iletişimi sağlayarak laboratuvar gerekliliklerini temin etmeye çalışmak gibi yönetici roller kapsamındaki eğitimlere verilen önem artırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. <https://dosyamerkez.saglik.gov.tr/Eklenti/29609,tibbibiyokimyamufredatv23pdf.pdf?0>
2. Aybek H. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ad Uzmanlık Eğitim Müfredatı. Tıp Eğitimi Dünyası 2018;52:70-5<http://www.pau.edu.tr/mse/default.aspx/sayfa/calisma-karneleri>
3. <http://www.pau.edu.tr/mse/default.aspx/sayfa/calisma-karneleri>

K-9a

ÜREME SAĞLIĞINDA LABORATUVARIN ROLÜ

Meltem DEMİR

İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD., İstanbul

Günümüzde infertil hastaların tedavi ve takibinde önemli gelişmeler elde edilmiştir. Özellikle yardımcı üreme tekniklerinin gelişmesiyle infertilite tedavisindeki başarı oranı artmış ve daha çok infertil çiftin çocuk sahibi olabilmesi sağlanmıştır. Tedavinin başarısı, hastaların uygun olarak değerlendirilmesine, uygun tedavinin planlanmasına, uygun tekniklerin ve testlerin kullanılmasına ve hasta uyumuna bağlıdır. β

Tüm bu aşamalarda hastaların bazal olarak doğru değerlendirilmesi erkeklerde semen kalitesi ve kadınlarda over rezervinin saptanması çok önemlidir. Over rezervi oosit sayısı ve kalitesiyle ilgilidir ve kadının reproduktif potansiyelini gösterir.

Ovarian rezerv, oositlerin kalite ve sayısını yansıtan ve overin fonksiyonel potansiyelini tanımlamak için kullanılan bir terimdir. İyi bir overyan rezerv testi;

- Tedavi ile veya tedavi yapılmaksızın konsepsiyon olasılığını tespit edebilmeli,
- Canlı doğum şansını belirleyebilmeli
- Ölçülen bu aktivitenin overyan yaşlanma gerçekleşmeden ne kadar süre aynı düzeyde devam edebileceğini öngörebilmeli
- Planlanan overyan stimülasyon protokolünde optimal dozu belirlemede ve bireysel prognozu öngörmede yol gösterici olmalıdır.

Rutin uygulamada sık istenen testler;FSH, LH, Estradiol, Progesteron, Prolaktin, SHBG, Testosteron, DHEA-S, AFP, Total βHCG olarak görülmektedir.

Halen over rezervinin tayininde daha iyi belirleyiciler bulmak için çalışmalar devam etmektedir. Bunlara örnek olarak; aktivin, folistatin, inhibin B sayılabilir. Son yıllarda ise AMH'un over rezervinini belirlemedeki önemi gittikçe daha fazla anlaşılmaya başlanmıştır

K-9b

ÜREME SAĞLIĞINDA LABORATUVARIN ROLÜ

Mete İŞİKOĞLU

Gelecek ÜYTE Merkezi, Antalya

Doğal gebelik veya üremeye yardımcı tedavi yöntemlerinden önce yapılması önerilen prekonsepsiyonel değerlendirme testleri, her ülkenin kendi dinamikleri gözetilerek yani prevalans ve maliyet etkinlik çalışmaları sonucunda belirlenmelidir.

Bu bağlamda ülkemizde de Türk Jinekoloji Obstetrik Derneği, Üreme Endokrinolojisi ve İnfertilite Derneği ve Üreme Tıbbı ve Cerrahisi Derneklerinin kılavuzları doğrultusunda semen analizi, hormon profili paneli, serolojik ve bazı biyokimyasal testler istenmektedir.

Üreme alanında son yılların en popüler testi Anti Mülleriye Hormon (AMH)'dir. Her ne kadar AMH'nin son yıllardaki popüleritesi ve uygulama sıklığında sürekli bir artış gözlenmiş olsa da, matürasyon sürecinin hala devam ettiği unutulmamalı ve ülkelerin hatta bölgelerin kendi yerel koşulları da dikkate alınarak, ulaşılabilirlik, maliyet etkinlik, test doğruluğu ve standardizasyon sorunları gibi hususlar da gözetilerek test seçimi yapılmalıdır.

Günümüzde klinik uygulamalar mümkün giderek daha çok literatür verilerine dayandırılmakta ve kanıta dayalı tıp çerçevesine alınmaya çalışılmaktadır. Cerrahi tıp branşlarında göreceli olarak kanıta dayalı uygulamaların yüzdesel oranı, dahili tıp disiplinlerine göre daha düşük olup, Jinekoloji ve Obstetrik de cerrahi branşlar içinde göreceli olarak kanıta dayalı uygulamaların daha az olduğu bir alandır. Buna paralel olarak da sadece girişimsel uygulamalarda değil, yardımcı laboratuvar tetkiklerinin seçiminde de çok fazla görüş birliği olmayıp, uygulamaların azımsanmayacak bir kısmı deneyim, gözlem ve klinik deneyimlerle yönetilmektedir.

Sonuç olarak, Avrupa'da en çok üremeye yardımcı tedavi uygulayan ikinci ülke olmamız da dikkate alınarak ilk yapılması gerekenler prevalans ve maliyet analiz çalışmalarının gerçekleştirilmesi ve akabinde ulusal uygulama kılavuzlarının oluşturularak bu kılavuzların bakanlık ve hukuk nezdinde de yönlendirme ve başvuru kaynağı olmasını sağlamaktır.

K-11

CRITICAL APPROACH TO LABORATORY TESTS IN ENDOCRINOLOGY

Vesna KUSEC

Clinical Institute of Laboratory Diagnosis, University Hospital Centre Zagreb, Croatia

Laboratory tests in endocrinology provide quick results, and modern technology is easy to use with reasonable costs. Availability and widespread use of hormone tests has also recognized analytical problems, differences between results of laboratories and manufacturers, affecting comparison of test results and impairing quality of health care. International professional societies and work groups undertake activities to harmonize measurement methods and recommend referent methods, define hormone forms of diagnostic importance, reference (standard) material for calibration and traits for referent populations for reference intervals. Mass spectrometry is mostly the reference method, and immunoassays need to be calibrated according to reference material and reference method. Calibration against reference method should improve performance of automated immunoassays. The most common problems and limitations of immunoassays for hormone measurement will be discussed which may cause unexpected results or incongruence with clinical presentation. Some of these problems can be solved by the laboratory professional. Future for laboratory endocrinology seems to be better with possibilities of availability and cost-effectiveness of mass spectrometry, providing a more accurate and precise result in hormone measurement. Another interesting option in hormone measurement is point-of-care technology for diagnosis in doctors' office, field work and during surgery for confirmation of successful operation. Awareness of limitations of routine measurement methods has introduced "assay problem" as differential diagnosis.

Immunoassay In this review the most common problems encountered in measurement of some hormones will be presented and discussed. In clinical setting of an unexpected or discordant result with regard to clinical presentation, analytical or laboratory error should be considered in differential diagnosis.

K-12a

KLİNİĞE DEĞER KATAN ETKİN LABORATUVAR YARATMAK

Özlem GÖRÜROĞLU ÖZTÜRK

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana

Biyokimya uzmanları arasında klinik konsültasyonun, hasta sonuçlarına değer katmasının yanı sıra klinik biyokimya alanının başarılı gelişimi ve geleceği için hem fırsat hem de ön koşul olduğu konusunda geniş bir görüş birliği bulunmaktadır. Kanıta dayalı tıbbın, bireysel tıba evrilmesiyle birlikte klinik laboratuvarların sadece doğru sonuç vermelerine değil, hastaların fizyolojik, patolojik, ve biyokimyasal durumlarını yansıtan daha kompleks testlere daha da önemlisi test sonuçlarının analizi, özetlenmesi, entegrasyonu ve yorumlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu şekilde gerçekleştirilen analiz ve yorumlama, klinisyenlere klinik karar aşamasında açık ve doğrudan destek sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar uzman ve pratisyen hekimlerin ve hastaların laboratuvar testleriyle ilgili değerlendirme desteği ve daha ileri bilgilendirme istediklerini göstermiştir. Ne yazık ki günümüzde laboratuvar tıbbi uygulamaları genel olarak bu tip hizmetleri yeteri kadar yerine getirememektedir.

Yetersiz ve hatalı laboratuvar test sonuç raporları, laboratuvar testlerinin doğruluğunu, etkinliğini ve klinik yararlılığını önemli derecede riske atmaktadır. Yapılan çalışmalar, acil laboratuvar sonuçlarının %45 kadarının uygunsuz raporlandığını veya yorumlandığını, yaklaşık %25-60 anormal laboratuvar sonucunun ise klinisyenler tarafından test ile ya da testin yorumlanmasıyla ilgili yeterli bilgiyi içermediği gerekçesiyle ihmal edildiğini göstermiştir. Özellikle raporlara klinik yorumların eklenmesinin laboratuvar hizmetlerine değer katan bir araç olduğu ve laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesi ve yararlılığının geliştirilmesinde etkili olduğu savunulmuştur. Bununla birlikte laboratuvar raporlarına klinik yorumların eklenmesi, standardizasyonun henüz sağlanamamış olmasından dolayı ülkeler arasında hatta aynı ülke içindeki farklı laboratuvarlarda bile değişkenlik göstermektedir. Laboratuvar raporlarına açıklayıcı yorumların eklenmesiyle ilgili sorulması gereken en önemli sorular: Klinik olarak yararlı yorumların sağlanabilmesi için gerekli eğitimin nasıl olması gerektiği, bu koşulların kalite güvencesinin nasıl sağlanacağı ve nasıl denetleneceği sorularıdır.

Günümüzde laboratuvar tıbbının gelmiş olduğu noktada klinik yorumlamanın devamlılığı ve genişletilmesi gerekliliği bazı faktörler tarafından desteklenmektedir. Bu faktörler; yeni ve kompleks testlerin kullanıma girmesi, klinisyenlerin memnuniyetini ve klinik yorumların hasta sonuçlarına etkilerini gösteren verilerin bulunması, klinik kılavuzlar, elektronik verilerin artması, klinik laboratuvarlar arası rekabet, yorumlayıcı algoritmaların kullanımlarının artması ve hasta bakım kalitesinde iyileştirme sağlanmasına duyulan ihtiyaç olarak sıralanabilir. Sonuç raporlarına eklenen açıklayıcı yorumların yanı sıra bazı durumlarda laboratuvar sonuçlarının anlaşılması ve değerlendirilmesi laboratuvar uzmanı tarafından uygun görülen testlerin eklenmesiyle (reflektif test) oldukça kolaylaşmaktadır. Laboratuvar uzmanlarının uygun eğitim ve öğretimden geçmesi laboratuvar sonuçlarına değer katacak tüm faaliyetlerin kalite ve güvenliğini sağlayan ana bileşendir. Ek olarak kalite güvencesi programları ve uygun klinik denetimler bu aktivitenin değerlendirilmesi ve geliştirilmesi için gereklidir.

K-12b

KLİNİĞE DEĞER KATAN ETKİN LABORATUVAR SONUCU ÜRETMEK

Tamer Cevat İNAL

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana

Laboratuvar tıbbında sonuçların yorumlanması ve konsültasyon konusu uzun zamandır gündemde olan ve tartışılan bir konudur. Bu konunun laboratuvar uzmanları tarafından benimsenmesi hem hasta sağaltımının iyileştirilmesi hem de uzmanlık alanımızın pozisyonunun güçlendirilmesi açısından son derece önemlidir. Test sonuçlarının tam ve doğru olarak yorumlanması bazı durumlarda laboratuvar uzmanının test eklemesi (yansıma test/reflective testing) ile sağlanabilir. Yansıma testler hastanın yatış/taburcu sürecini hızlandırmakla kalmaz, aynı zamanda tanı etkinliğini de artırır. Sonuçlara yorum katmak son derece emek gerektiren bir işlemdir. Ayrıca, uygun ve doğru yorumların yapılması için uzmanlar arasında da harmonizasyonun sağlanması gereklidir. Günümüzde çok yoğun iş yükü altında çalışan laboratuvarlarımızda yorum yazılması gereken uygun hastaların seçilmesi ve zaman ayrılarak bu hasta sonuçlarının yorumlanmasını kolaylaştırmak için teknolojiden yararlanılan çeşitli yollar mevcuttur. Özellikle uygun algoritmalar kullanılarak hazırlanan onay destek sistemlerinin kullanılması, yüzlerce hasta sonucunun büyük bir kısmını onaydan geçirecek, geriye kalan az sayıdaki sonucun da uzman tarafından detaylı incelenmesine olanak tanıyacaktır. Son 30-40 yılda giderek artan test sayıları ve neredeyse her testin otomatize olması, kalite kontrolü, preanalitik/analitik problemlerle boğuşması laboratuvar uzmanlarını laboratuvara hapsetmiş ve kliniklerle olan ilişkisinden iyice uzaklaştırmıştır. Halbuki laboratuvarlar bir takım rakam ve işaretler üreten fabrikalar değildir. Klinik biyokimyanın temel kitaplarından biri olan *Tietz*'in Laboratuvar Tıbbı kitabının önsözünde “Laboratuvar tıbbı, hastalıkların tanı, prognoz, tedavi ve takibinde bütünleştirici rol oynar” şeklinde uzmanlığın tanımı çok güzel ortaya konmuştur. Ülkemizde ve tüm dünyada “hasta-odaklı sağlık bakım sistemlerine doğru ilerlerken, laboratuvar uzmanlığı olarak ta hasta-odaklı anlayışa yönelme gerekmektedir. Yansıma testler dışında; test raporlarının altına kısa, hastaya özgü ve hasta sağaltımına katkıda bulunacak net bilgilerin yazılması da önem taşımaktadır. Ancak bu tür yorumları yazarken de kavram kargaşasına ve yanlış anlaşılmalara neden olmamak önem taşımaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda laboratuvar uzmanları tarafından yapılan yorumların bazılarının son derece uygun olduğunu, bazı yorumlarda ise tutarsızlık olduğu ve hatta bazı yorumların tamamen yanlış yönlendirici olduğu gösterilmiştir. Bu konuda uygulanan tıbbi biyokimya uzmanlık eğitimlerinde bir standart olmaması ülkemizde bu işin belirli bir standartta yapılmasını iyice zorlaştırmaktadır. Ayrıca, test eklemelerin de doğru yapılabilmesi için doğru test algoritmalarının kullanılması gerekmektedir. Bu algoritmaların kullanımında ulusal ve uluslararası rehberlerin klinisyenler ile birlikte değerlendirilmesi ve kullanılacak algoritmalar için bir uzlaşma sağlanması gereklidir.

Panel-4a

KALITSAL METABOLİK HASTALIKLARIN TANI VE İZLEMİNDE LABORATUVAR: METABOLİTLERİN ANALİZİ

Canan ÇOKER

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD; Merkez Lab Metabolizma Birimi, İzmir

Kalıtsal metabolik hastalıkların tanısında metabolitlerin kalitatif ve kantitatif analizi çok merkezi bir yer tutmaktadır. Biyokimyasal yolların hemen hepsi ile ilgili çok sayıda kalıtsal metabolik hastalığın tanımlanmış olduğu dikkate alınır ise bu hastalıkların tanısına yönelik metabolitlerin çeşitliliği anlaşılabilir.

Günümüzde, yenidoğanda kalıtsal metabolik hastalıkların taranması amacıyla kuru kan damlası örneğinde Tandem Kütle Spektrometri (MS/MS) yöntemi ile amino asitler ve açıl karnitinlerin analizi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu analiz, metabolik hastalık şüphesi durumunda birinci basamak test olarak da kullanılmaktadır.

Kütle spektrometri, analitleri moleküler kütleleri ve yüklerine göre tanımlayan ve kantitasyonunu yapan bir tekniktir. Ardışık iki kütle analizörü ve aralarındaki bir çarpışma odacığından oluşan MS/MS yönteminde ise, kütle analizinin ilk aşamasında seçilen belirli m/z oranına sahip prekürsör iyonlar ikinci aşamada yeniden fragmente edilmekte ve böylece analitlerin daha doğru tanımlanması mümkün olmaktadır.

Bu analizi yapar iken, kuru kan damlası örneğinin gerek kan gerekse filtre kağıdından kaynaklanan etkilere açık olduğunu, geri kazanım değişkenliğinin yüksek olduğunu dikkate almak gerekir. Ekstraksiyon solventi seçimi ve türevlendirme koşulları da analiz sonuçlarını etkiler. Yanı sıra, kütle spektrumundaki olağan dışı özellikler; ilaç interferansları ve dış kontaminasyon açısından kontrol edilmelidir. Sonuçların yorumlanmasında eşik değerlerin seçimi kritik önem taşır. Bunun ötesinde, referans aralıklarının yaş gruplarına göre değişmesi de yorumu oldukça güçleştirmektedir.

Bu yöntem ile primer aminoasidemiler, üre döngü bozuklukları, organik asidemiler ve yağ asidi oksidasyon bozukluklarını içeren birçok kalıtsal metabolik hastalık tanınabilmekte ancak plazma ve idrar örneklerinde ilgili metabolitlerin analizi ile doğrulanması gerekmektedir. Özellikle idrarda organik asit, plazma ve idrarda amino asitler, plazmada açıl karnitin profili, serbest ve total karnitin testleri ilk basamak testleri olarak tek bir laboratuvarla gerçekleştirilebilmeli ve sonuçlar entegre edilerek yorumlanmalıdır. Bu analizlerin giderek yaygınlaştığı ve rutin laboratuvarların bir işi haline geldiği günümüzde, ilgili teknik standartların ve kılavuzların (örn: ACMG, CLSI CLIA, CDC) izlenmesi önem kazanmıştır.

Organik asitler, idrar örneklerinde GC-MS (Gaz Kromatografi Kütle Spektrometri) ile analiz edilmekte, ortaya çıkan profil etkilenen biyokimyasal yolak ve ilişkili metabolik hastalık açısından değerlendirilmektedir. Amino asitlerin, yağ asitlerinin, karbonhidratların, nörotransmitterlerin, vitaminlerin, sterollerin, pürin ve pirimidinlerin metabolizması ve enerji metabolizması ile ilgili olarak ortaya çıkan organik asidürilerin analizi kalitatif ve kantitatif olarak gerçekleştirilebilir. Uygun kullanıldığında, 150 ayrı metabolik hastalığa tanı koymak mümkündür. Klasik organik asidürilerde tanısal bileşikler sıklıkla belirgin yükseklik gösterirler ve kalitatif yöntem tanı için yeterlidir. Ancak bazı bozukluklarda, özellikle klinik açıdan hastanın stabil olduğu dönemlerde tanısal bileşikler normal düzeylerde olabilir, bu nedenle kromatogramların dikkatle incelenmesi gerekir. Kantitatif analizler ise özellikle önceden tanı almış hastaların izleminde yararlıdır.

Preanalitik aşamada; idrar örneğinin kreatinin konsantrasyonu, örnek hacminin ve internal standart miktarının ayarlanması açısından göz önüne alınmalıdır. İdrarın lubrikantlar veya sabunlar ya da bakterilerle kontaminasyonu kromatogramı etkileyecektir. Kromatogramın yorumlanmasında hastanın diyeti, aldığı ilaçlar ve örnek alım zamanındaki klinik durumunun da bilinmesinde yarar vardır.

Analitik aşamada, kalibrasyon ve kantitasyon için en az bir internal standart kullanımı zorunludur. En yaygın kullanılan internal standartlar ise; heptadekonik asit, 2-fenilbüterik asit, dimetilmalonik asiddir. Kalibrasyon için referans standartların kullanımı önerilir; ancak referans standart mevcut değil ise internal standart ile kıyaslama yapıp oransal bir konsantrasyon elde edilebilir. Organik asit analizinde ön işlemler, geleneksel protokollerde asidifikasyon ve dietil eter ya da etil asetat ile ekstraksiyon şeklinde gerçekleşir; bunların öncesinde bir oksimasyon basamağı ile pirüvik asit, alfa-ketoglutarik asit, süksinil aseton ve dallı-zincirli amino asit metabolizmasının bazı ara ürünlerinin saptanması kolaylaştırılabilir. Türevlendirme basamağından önce eklenecek ikinci bir internal standart, örn: tetrakosan, cihaz fonksiyonunu değerlendirmek açısından değer taşır. Gaz kromatografik analiz için,

BSTFA/TMCS ile organik asidlerin uçucu nitelikte trimetilsilile türevleri oluşturulur. Kromatografik ayırım kapiller bir kolonda gerçekleştirilir ve “electron impact ionisation” ile kuadrupol bir filtre veya iyon trap kütle spektrometresi ile kütle spektrumları elde edilir. Organik asidürilerin tanısında, kromatogramların analizi çok kritiktir ve ilgili bileşiklerin retansiyon zamanları ve kütle spektrumlarına göre tanınmasına dayanır. Ticari kütüphaneler mevcut olmakla birlikte, laboratuvarların deneyim kazandıkça bunları modifiye etmeleri ve kendi kütüphanelerini oluşturmaları önerilir. Kromatogramı değerlendirir iken bir algoritma oluşturarak öncelikle normal örüntüde bulunması gereken piklerin varlığını teyid etmek, sonra olası kritik girişimleri kontrol etmek, ardından düşük miktarda bulundukları zaman bile klinik açıdan önem taşıyan pikleri aramak (örn: n-heksonoilglisin, süberilglisin, etilmalonat, orotik asid, 4 hidroksibütirat, 3-hidroksiglutarat, süksinilaseton, 2-metilsitrik asid gibi) uygun olur. İç kalite kontrol açısından; sistem performansının rutin değerlendirmesi için prosedürler geliştirmek ve belgelemek gereklidir. Bileşiklerin retansiyon zamanlarını alkanlar ile hizalamak ve kontrol etmek, internal standartların pik alanlarını izlemek ve bunlar için kabul edilebilir sınırları belirlemek vb.yollar izlenebilir. Dış kalite kontrol için hem analitik hem de yorum becerisi/tanısal etkinliği değerlendirebilen CAP ve ERNDIM programları kullanılabilir. Yanısıra laboratuvarlar arası örnek alış veriş ve sıra dışı verilerin paylaşımı çok değerli eğitsel kaynaklar olarak kabul edilmektedir.

Amino asidlerin plazma ve idrarda ölçümü için iyon değiş tokuş prensibi ile sıvı kromatografik ayırım ve ninhidrin ile türevlendirmenin ardından fotometrik ölçüm halen referans yöntem olarak kabul edilse de LC-MS/MS (Sıvı Kromatografi Tandem Kütle Spektrometri) sağladığı hız avantajı ile yaygınlık kazanmaktadır. Plazma amino asidlerinin gün içi varyasyonlarının oldukça yüksek olduğu, hemolizin özellikle glutamat, aspartat, taurin, arjinin ve ornitini etkilediği, bazı ilaçların metodolojik , bazı ilaçlarını ise fizyolojik olarak interferanslara yol açtığı ve referans aralıklarının yaşa bağlı olarak değiştiği göz önüne alınmalıdır.

Bu temel analizlerin yanısıra; LC-MS/MS ile pürin ve pirimidinler, safra asidleri, steroidler gibi birçok metabolitin analizi gerçekleştirilmektedir. GC-MS ile yağ asidlerinin analizi peroksizomal bozuklukların, safra asidlerinin analizi safra asidi metabolizması bozukluklarının tanısında yararlıdır. Yanısıra; HPLC ile oksalat ve sitratın, glikozile proteinlerin ölçümü, spektrofotometri ile biyotinidaz enzim aktivitesi, siyalik asid ölçümü, elektroforez ile mukopolisakkaridlerin ve ince tabaka kromatografi ile oligosakkaridlerin ayırımı metabolizma laboratuvarlarında gerçekleştirilen analizlerdir.

Panel-4b

KALITSAL METABOLİK HASTALIKLARIN TANI VE İZLEMİNDE LABORATUVAR: MOLEKÜLER ANALİZLER

Asuman GEDİKBAŞI

İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler, Tıbbi Genetik BD, İstanbul

Son yıllarda, genetik analiz teknolojilerindeki hızlı gelişmeler, moleküler tanı testlerinin yaygın kullanımına neden olmaktadır. Kalıtsal metabolik hastalıkların (KMH) büyük çoğunluğu tek gen hastalıkları olup otozomal resesif kalıtım özelliğindedir. Akraba evliliğinin sık görüldüğü ülkemizde çok sayıda KMH görülmektedir. Yeni nesil DNA dizileme teknolojilerindeki hızlı gelişmeler, bu hastalıkların hızlı tanısı, taşıyıcıların belirlenmesi, gelecek kuşaklar için risklerin bilinmesi ve önlemlerin alınması açısından oldukça umut vericidir.

Tarihçeye baktığımızda; Biyokimya bilimi, bu alandaki ilk DNA dizileme tekniğine öncülük etmiş olup, 1977 yılında Frederick Sanger isimli bir biyokimyacı tarafından geliştirilen “Sanger Dizileme Yöntemi” Nobel ödülüne layık görülmüştür. Ardından gelen en önemli teknolojik yenilik, yine bir biyokimyacı Karl Mullis’den gelmiş ve sonradan Polimeraz Zincir Reaksiyonu adı verilen bu teknik (PCR) Biyokimya bilimine yeni bir Nobel ödülü getirmiştir. Her iki teknik de, İnsan Genom Projesi için hayati öneme sahip olmuştur. Sanger dizileme yöntemi günümüzde “altın standart” olarak doğrulama amacıyla kullanılmaktadır. Ancak DNA dizileme konusundaki teknolojik yarış, artık yeni nesil teknikler kullanan cihazlar arasında gerçekleşmektedir. Yeni nesil DNA dizileme (Nex Generation Sequencing, NGS) yöntemleri biyokimyasal mekanizmalar bazında değişkenlik gösterse de temelde hepsi aynı işlemi gerçekleştirmeye çalışmaktadır. Ancak bu teknoloji ile elde edilen data, biyoinformatik araçların ve veritabanlarının kullanımı ile oldukça emek yoğun işlemlerden sonra tanısıl olabilmektedir. Bu nedenle her alanda olduğu gibi, testi isteyen klinisyen ile sıkı bir işbirliği içinde elde edilen varyantların yorumlanması, elzemdir. Mümkünse aile çalışmaları ile patojenitenin doğrulanması ve/veya fonksiyon çalışmaları ile kesinleştirilmesi önemlidir.

Moleküler analizler ile genetik tanı zorluğu, genomda, herhangi bir zararlı etkisi olmayan, aranan hastalıkla ilişkisi kesin olmayan veya önemi bilinmeyen milyonlarca varyant bulunması ve bu bulunan varyantların yorumlanmasındaki güçlüklerdir. Ancak KMH için konuşacak olursak, kütle spektrometrik yöntemlerle elde edilen metabolomik verinin, genomik veri ile entegrasyonu ve yolak analizleri yapılarak patojenik varyantları belirlemek ümit vadeden sistematik yaklaşımlardır. Her iki teknolojinin çıktılarının entegre kullanımı; doğumda asemptomatik olan bebeklerde bir çok KMH için riskin belirlenmesi ve böylece taramanın mümkün olduğu hastalıklar yelpazesinin genişlemesi anlamına gelmektedir. Moleküler testlerin, yenidoğan dönemindeki beslenme, ilaç kullanımı veya anneye bağlı interferanslardan kaynaklanan tanısıl zorluğun aşılması ve bu sayede tedavinin erken başlaması gibi faydaları çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

Sonuç olarak, kullanılan teknolojiler her ne kadar biyokimyasal temellere dayalı olursa olsun, klinik bilgi ve biyoinformatik incelemeler olmadan elde edilen çıktılarının tanısıl değeri sınırlı olacaktır. Kalıtsal metabolik hastalıkların tarama ve erken tanısında, genom üzerindeki patojen varyantların doğru bir şekilde saptanabilmesi için, yeni nesil genom dizileme sistemlerinden elde edilen büyük çaptaki veriyi anlamlandıran bilgi teknolojilerini kullanmak ve kendi popülasyonumuza özgü veri tabanlarını oluşturmak amacıyla multidisipliner ekiplerde yer almamız önemlidir.

Panel-4c

KALITSAL METABOLİK HASTALIKLARIN TANI VE İZLEMİNDE LABORATUVAR: GENEL YAKLAŞIM VE ENZİM ANALİZLERİ

Gürsel BİBEROĞLU

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Beslenme ve Metabolizma BD, Ankara

Kalıtsal metabolik hastalıklar çok sayıda, spesifik veya nonspesifik bulgularla ortaya çıkabilen karmaşık patogenezi bir hastalık grubudur. Genellikle yenidoğan döneminde veya çocukluk yaş grubunda görülen bu hastalıklar ağır klinik tablolarla ortaya çıkmakta, kalıcı mental retardasyon, fiziksel kusurlar ve ölüme yol açabilmektedir. Erken tanı tedavide başarı sağlanması ve kalıcı sekellerin önlenmesi açısından önemlidir. Yenidoğan tarama programları ile bu hastalıkların birçoğu taranmaktadır. Kalıtsal metabolik hastalıklar da erken belirti ve bulguların bu hastalıklara özgün olmaması tanıdaki en büyük zorluktur. Kalıtsal metabolik hastalıklarda metabolitler özellikle atak anında birikmektedir, bu aşamada tanıdaki en önemli basamak yapılabilecek acil tetkiklerin yapılması, yapılamayan tetkikler için atak anında numune alınarak uygun bir şekilde saklanıp ilgili merkezlere gönderilmesidir.

Kalıtsal metabolik hastalık düşünülen durumlarda tam kan sayımı, biyokimyasal rutin tetkikler, kan gazı ve elektrolitler, laktat, piruvat, amonyak düzeylerinin ölçümü, idrarda koku, renk, redüktan madde, ketoasit, FeCl₃, nitroprussiyat testi gibi acil yapılabilen birinci aşama testler tanısal öneme sahiptir.

Tanının spesifikleştirilmesi için ileri tetkikler gereklidir. Bu amaçla kan idrar ve BOS da kantitatif amino asit analizi, biyojenik aminler, karbonhidrat bozuk transferrin, pürin, pirimidin bazları, NMR spektroskopisi, LC-MS/MS, GC-MS gibi yöntemler ile metabolitlerin saptanması, karnitin, açilkarnitinler ve amino asitlerin ölçümü, organik asit analizi, çok uzun zincirli yağ asitlerinin tayini, safra asitlerinin analizi, enzim analizleri, metabolomik gibi birçok ileri tetkik yapılmalıdır.

Metabolit analizleri bazı durumlarda birçok grup hastalığı düşündürebilir, bu nedenle spesifik enzimin tayin edilmesi tanının kesinleşmesi açısından önemlidir. Karaciğer, kas gibi doku örneklerinde ve fibroblast kültürü, lökosit, lenfosit, eritrositlerde enzim analizleri ve DNA örneklerinde moleküler genetik analizler ile kalıtsal metabolik hastalıkların kesin tanısı konulmalıdır.

Günümüzde teknolojiye yenilikler sayesinde bu hastalıkların tanı yöntemlerinde önemli gelişmeler sağlanmıştır. Metabolomik, proteomik ve yeni jenerasyon DNA dizileme teknikleri gibi ileri analizler kalıtsal metabolik hastalıkların tanısında kullanılan güncel yöntemlerdir. Sonuç olarak erken tanı tedavinin başarılı olması için en önemli basamaktır. Kaçırılmış tanı hayat boyu kalıcı sekellere yol açabileceği gibi ölüme de yol açabilir.

Panel-5a

DİZİ ANALİZİ YÖNTEMİ İLE ÇALIŞILAN AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ OLGULARININ LABORATUVAR SONUÇLARINA DEĞERLENDİRİLMESİ

Metin KILINÇ

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş

Moleküler yöntemlerin bazı hastalıkların tanısında ve klinik açıdan değerlendirilmesinde kullanılması günümüzde oldukça yaygın hale gelmiştir. Üzerinde çalıştığımız Ailevi Akdeniz Ateşi hastalığı (AAA), [Familial Mediterranean Fever (FMF)] konusunda ülkemizde birçok çalışma yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Yapacağımız değerlendirme moleküler yöntemlerin, sonuçları ve klinik yaklaşım arasında olacaktır. Bilindiği kadarı ile hastalığın tarihçesi ikinci yüzyıla kadar gitmekle birlikte Janeway ve Mosenthal 1908 yılında ilk kez hastalığı tanımlamışlardır. Daha sonra 1945 yılında AAA hastalığı “Benign paroksizmal peritonit” olarak sonrasında da 1951 yılında ailesel olduğu ortaya konmuştur. En son Heller ve Sohar tarafından 1961 yılında hastalık Familial Mediterranean Fever olarak tanımlanmıştır. 1997 yılında uluslararası ve Fransız FMF Kurulları tarafından gen dizini (MEFV) (16p13.3) ortaya konmuştur. AAA otozomal resesif geçiş gösteren periyodik dönemlerle gelen ateş ile birlikte karın, eklem, göğüs ağrıları ve döküntülerle seyreden bir hastalıktır. MEFV geni 10 ekzon ve 3507 nükleotid içermektedir. Bu gen 781 amino asitlik pirin proteinini kodlamaktadır. Bu protein anti inflamatuvar özelliği ise Caspase ile birleşerek IL-1 β 'nın inhibe edilmesi ve böylece pirin proteinin apoptosis-associated speck-like proteine (ASC) bağlanması ile inflamasyonun zayıflatılması sağlanmaktadır. Şimdiye kadar değişik ekzonlarda 342 mutasyonun varlığı ortaya konmuştur. Bunların çoğunluğu polimorfizm olarak tanımlansa da bunlarla ilgili genotip ve fenotip çalışmaları henüz devam etmektedir. Ancak yapılan çalışmalar sonucunda 14 farklı mutasyonların (M964V, V726A, M680I, M964I, R761H, A744S, E167D, T267I, I692del, K695R, E148Q, P369S, F479L ve I591T) patolojik olduğundan bahsedilmiştir. Bu mutasyonların varlığının ne şekilde olduğu önem taşımaktadır. Heterozigot veya homozigot olması, diğer mutasyonlarla kombine veya kompleks olarak bulunmaları pirin protein üretimine dolayısıyla kliniğe etki edebilecek unsurları oluşturmaktadır. Ülkemizde en sık görülen patolojik mutasyon M694V olarak görülmektedir ve klinik açıdan önemli belirtiler görülmektedir. Ancak sıklıkla birden çok patolojik mutasyonun veya patolojik olan ile polimorfizm olarak tanımlanan mutasyonların birlikteliği gözlenmektedir. Bunların birlikteliğinde daha farklı klinik belirtilerin ortaya konduğu çalışmalarda belirtilmiştir. Ülkemizde en sık görülen polimorfizm olarak tanımlanan R202Q mutasyonunun klinik belirti vermediği belirtilmişse de sağlıklı olarak tanımladığımız herhangi bir yakınması olmayan kişilerde yaptığımız çalışmalarda yüksek oranda R202Q taşıyıcılığına rastlanmıştır. Diğer yapılan bir çalışmada ise pirin ekspresyonunun bu olgularda oldukça düşük olduğu bulunmuştur. Belki tek başına klinik belirti vermeyeceği söylenmesine rağmen diğer patolojik heterozigot mutasyonlarla birlikteliğinin klinik belirtileri artırıcı yönde etkisinin varlığından bahsedilmektedir. Yöntemsel olarak önceki yapılan çalışmalarda en sık görülen mutasyonların tek olarak PCR-RFLP veya Arms gibi yöntemlerle uygulanmak suretiyle jel elektroforezinde görüntülenmek suretiyle mutasyonun varlığı, ne şekilde olduğu ortaya konmaya çalışılmaktadır. Farklı mutasyonlar için bu uygulamaların tekrar edilmesi gerekmektedir. Laboratuvar çalışmasının bu şekilde olması zahmetli bir iş olmakla birlikte sık görülen mutasyonların tek olarak analizinde (M694V, V724A, M680I ve E148Q) bu yöntem kullanılmaktadır. Belirtilen mutasyonlar en sık görülenleri olduğu için olası mutasyonların %70-80'inin bu şekilde ortaya konacağı şeklinde bir görüş ileri de sürülmekteydi. Daha sonra belirli mutasyonların standart olarak bir arada tarandığı strip assay yöntemi ile çalışılmak suretiyle mutasyonlarla ilgili sonuçlar bildirilmiştir. Bazı çalışmaların sonuçlarında tekrarlarında sorunların olduğu ve standart mutasyonları taraması nedeniyle bu yöntem de sınırlı çalışma ortamı bulmuştur. Son yıllarda güvenilir bir yöntem olarak DNA dizi analizi yöntemleri daha sık olarak kullanılmaya başlanmıştır. En yaygın kullanılan teknik ise Sanger dizi analizidir. Bu yöntemle kandaki lökositlerden elde edilen DNA'nın PCR ile amplifiye edilmesi sonrasındaki DNA parçaları analiz edilmektedir. Böylece DNA molekülündeki bazlarda olan değişiklikler izlenebilmektedir. Sanger yönteminde tek zincirli kalıp DNA, primer, DNA polimeraz, radyoaktif ya da floresan boya ile işaretlenmiş nükleotidler, DNA uzamasını durdurmak amacıyla ddNTPs gerekmektedir. Farklı renkte meydana gelen bazların dizilimi cihazda kromatogram olarak belirlenmektedir ve böylece dizi analizinde, gende meydana gelen baz değişikliklerinin durumları detaylı olarak incelenebilmektedir. Son yıllarda bu şekilde

Çalışmaların yapılması sonucunda çok sayıda polimorfizm rapor edilmiştir. Fakat bu polimorfizmlerin fenotipe etkisinin varlığının incelenmesi ile de daha ayrıntılı bilgilerin ortaya konabileceğı düşünölmektedir. Bu moleköler çalışmalar sonucunda elde edilen bilgilere rağmen AAA'da klinik tanı Tel Hashomer, Livneh veya Yalçinkaya ve Özen'in ocuk hastalarda kullanılmasını önerdikleri klinik kriterlerin varlığı ile konmaktadır. Çünkü kişinin patojen mutasyona sahip olması onun hasta olduğı anlamını taşımamaktadır. Ancak klinik belirtilerin ortaya çıkmasıyla tanı konabilecektir. Yapılan aile taramalarında kardeşlerde aynı patolojik mutasyon olmasına rağmen bazılarında klinik belirti görölmekte iken bazılarında görölmemektedir. Bu da o genin ne derece (Penetrans) ve nelerden etkilendiğı ile bazı soruların yanıtlanması gerektiğini ortaya koymaktadır. Örneğın otoinflamatuar hastalıklar mutasyon taşıyan kişilerde klinik belirtilerin artmasına neden olabilmektedir. Heterozigot veya homozigot olması, farklı mutasyonların bir arada bulunması gibi durumlar klinik belirtilerin artmasına neden olan etkenlerdir. Klinik belirtilerin artması ise tanı konmasını sağlamaktadır ve o kişinin tedavi altına alınmasını sağlamaktadır. AAA'nın en önemli komplikasyonlarından birisi amiloidoz olup bunun da erken dönemde kolşisin kullanımı ile önüne geçilebilmektedir. Dolayısıyla komplikasyonların önüne geçilebilmesi açısından erken dönemlerde tanı konmasının önemli olduğı düşünölmektedir. Sonuç olarak bu konuda yeni mutasyonları da içeren genotip-fenotip çalışmalarının sonuçlarıyla tanıya yönelik yeni değerdendirmelerin ortaya konması gerektiğı düşünölmektedir.

Panel-5b

KALITSAL KAN HASTALIKLARININ MOLEKÜLER TANISI

ABDULLAH ARPACI

Hatay Namık Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D., Hatay

Özet

Kalıtıl kan hastalıkları bilindiği üzere Dünya'da en yaygın kalıtsal hastalıklardır. Ülkemizde 1.3000.000 taşıyıcı ve 4.500 hasta bulunabileceği düşünülürse önemli bir sağlık sorunudur. Talasemi taşıyıcılığı yaklaşık % 2 olup, bazı bölgelerimizde % 10'lara ulaşmaktadır. Diğer yüksek sıklıkta olan anormal hemoglobinlerden Sickle Cell Anemi Çukurova (Hatay, Adana, Mersin) illerinde ve Antalya gibi ülkemizin güney bölgesinde % 3'leri aşan sıklıkta gözlenmektedir. Otozomal resesif kalıtılan bu hastalıkların moleküler ve prenatal tanısı çok önemlidir.

Ülkemizde uzun yıllardır yapılan moleküler tanıda klasik PCR'den sequencing'e kadar çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. İlk başlarda thermocycler dahi kullanılmadan su banyoları ile amplifikasyon yapıp sonrasında jel elektroforezi ve manuel sekanslama ile moleküler tanı uygulanmıştır. Bugün birçok merkezimizde olduğu gibi Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi(HMKÜ) otomatize moleküler yöntemleri kullanarak rutin hizmet vermekteyiz.

DNA izolasyonu, önceleri Poncz ve ark. kullandığı manuel yöntemle yapılırken şimdi rutin kitlerle, periferik kandan DNA elde edilmektedir. Thermocycler yardımı ile amplifiye edilen β ve/veya α globin genlerini otomatize sekanslama ile mutasyon varsa saptayabilmekteyiz. Bulduğumuz bölgede sık rastlanılan mutasyonlar biliniyorsa ve bunlarda çok çeşitli değilse Amplification Mutation Refractory System (ARMS) gibi diagnostik PCR ile daha hızlı ve ucuz yöntemle moleküler tanı yapmak mümkündür. Hasta bebek doğumunu engellemek için taşıyıcı riskli ailelerin ayırd edilmesi ve moleküler tanısı için HPLC ile minör hemoglobinlerden HbA₂ düzeyini saptamak ve tanımlanan algoritmalarla faydalanmak oldukça yararlı olur.

Orak hücreli anemide HbS aslında elektroforez ile tanınır. Diğer anormal hemoglobinleri saptamadada alkali ve gerekirse asit elektroforez yapılarak anormal hemoglobin tanısı kullanılmaktadır. Ancak laboratuvarlarımızda pratik ve standart olan kapiller elektroforez ya da HPLC ile anormal hemoglobinlerin tanısını yapabilmekteyiz. Hatta burada saptanan Hb F düzeyleri hastalığın klinik gidişatının yönetilmesinde katkı vermektedir. Taşıyıcı riskli ailelerde anormal hemoglobin tanısı ile birlikte fetusta moleküler yöntemlerle tanı konularak sağlıklı nesil yetiştirilmesine katkı yapılabilir.

Talasemide, β^+ , β^0 ve α talasemi delesyon ya da nokta mutasyonlarının belirlenmesi klinik prognozun yönetimine katkı sağlamaktadır. Talasemi ve anormal hemoglobin birlikteliği (çifte heterozigot) de bölgemizde rastlanılmaktadır. Diğer anormal hemoglobinlerden HbE, HbD (Penjab, Los Angeles), HbC de görülmektedir. Hatta fetusda HbE homozigotluğu saptayarak kliniğin diğer anormal hemoglobinelere oranla daha iyi olduğunu aileye anlatılabilir. İlimizde β^0 talasemili %41,5, β^+ %38,94 ve β^+ olmasına rağmen ağır klinik tablo ile seyreden ülkemizde de en sık gözlenen IVS 1-110 mutasyonu tek başına % 19,5 yoğunluktadır. α talasemide de Türkiye de görülen -3.7, -4.2 ve 20.5 mutasyonları sıklıkla gözlenmektedir.

Sonuç olarak, Talasemi ve anormal hemoglobin tanısı için laboratuvarımızda rutin olarak PCR ve sekans teknikleri kullanılmaktadır. Talasemi mutasyon tipleri ve anormal hemoglobin düzeyleri ve HbF miktarı ile genotip- fenotip korelasyonunu yorumlanarak klinisyenlere önerilerimiz iletilmektedir.

Hemoglobinopatiler; Dünya'da ve ülkemizde en sık görülen otozomal resesif kalıtılan kalıtsal kan hastalıkları arasında yer almakta olup ülkemizin özellikle güney ve batısında önemli bir sağlık sorunudur. Kalıtsal kan hastalıklarını talasemiler ve anormal hemoglobinler olarak iki başlık altında inceleyebiliriz. Çünkü talasemilerde öne çıkan moleküler patoloji genellikle yetersiz ya da olmayan gen sentezi iken anormal hemoglobinlerde nokta mutasyonları sonucu normalde görülmeyen bir hemoglobin varyantının gelişmesidir(1-3).

Talasemi, α , β , γ , δ olarak tanımlanan hemoglobin zincirinin veya zincirlerinin az üretilmesi veya hiç üretilmemesi ile oluşur. Klinik şiddeti, alfa/non alfa globin proteinlerinin oranına göre değişir(2). Alfa talasemi klinik olarak çeşitli fenotiplerle kendini gösterebilir, asemptomatikten letale kadar uzanabilen bu durumda aneminin şiddeti fonksiyonel olmayan α -globin gen kopyalarının sayısına bağlıdır(3). Dört α -globin geninden üçü delesyon veya

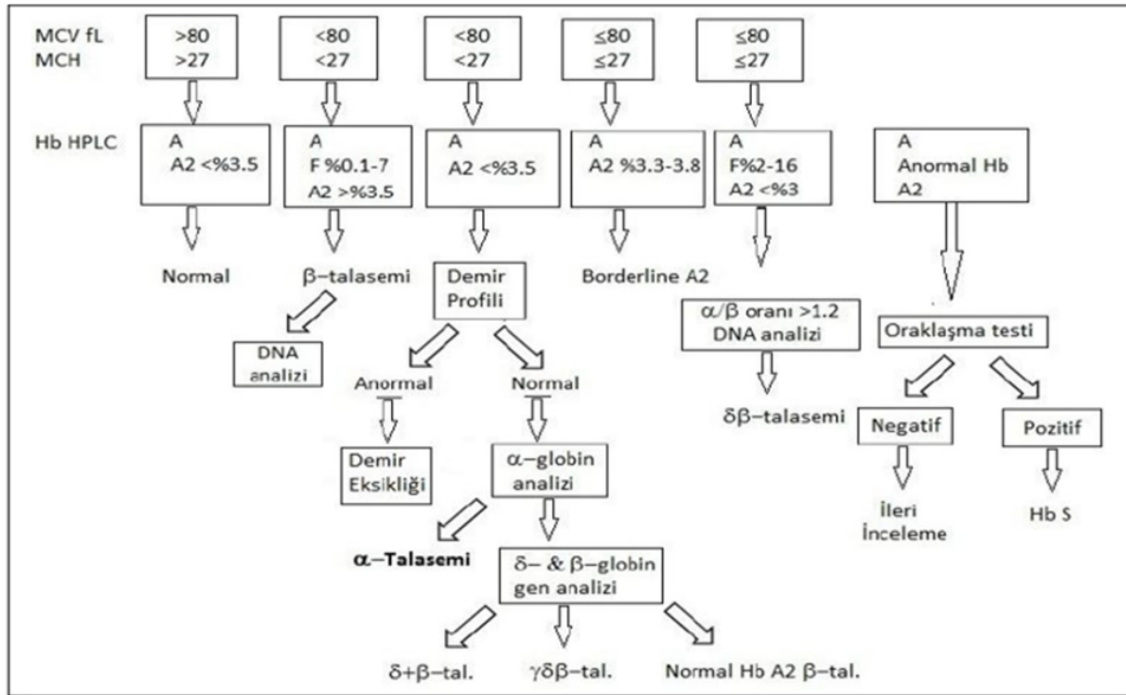
nokta mutasyonu nedeni ile inaktive olduğunda fazla sayıdaki β zincirleri hemoglobin H (HbH) adı verilen β_4 tetramerlerini oluşturur(4). HbH hastalığı orta düzeyden ciddiye kadar değişen anemi, hemoliz, splenomegali ve demir birikimi ile ilişkilidir. Bu hastalara sıklıkla splenektomi önerilir. Tüm bu dört α -globin geninin delesyonu durumunda hastalığın en ağır formu ortaya çıkar ve etkilenen embriyonun in-utero ex'ine neden olan hidrops fetalis ile sonuçlanır.

β -talasemi dünya genelinde yıllık 1:100.000 insidans ile en sık karşılaşılan konjenital anemilerden biridir(5). Bu hastalık β -globin geninde veya promoterinde gerçekleşen ve β -globin zincirlerinin hatalı yapımıyla sonuçlanan (yüzlercesi tanımlanmış) mutasyon nedeniyle ortaya çıkar(6). Genellikle; gen kodlayıcı bölgeleri ile ekson intron sınırındaki evrim boyunca korunmuş bölgeleri hedef alan mutasyonlar β^0 talasemiye, promotor bölgesinde, intronların iç kısmındaki mutasyonlar β^+ talasemiye neden olurlar. Azalmış veya olmayan β -globin sentezi klinik şiddeti, asemptomatik taşıyıcılardan ağır anemisi olan transfüzyon bağımlı hastalara kadar farklı derecelerde gelişir. Talasemi majör hastaları yaşamın erken yıllarında ağır anemi, hepatosplenomegali ve gelişme geriliği ile tanı alırlar. Bu hastaların hayatta kalabilmek için kronik eritrosit transfüzyonuna ve demir birikimini sınırlandırmak veya önlemek için demir şelasyon tedavisine ihtiyaçları vardır. Hastalığın daha hafif hali talasemi intermedia (TI) olarak adlandırılır ve yaşamın daha ileriki yıllarında fark edilir, transfüzyon bağımlı değildir. Son olarak β -talasemi taşıyıcısı olan hastalar ise hafif bir anemiyle kendini gösterebilir ve hiçbir tedaviye ihtiyaç duymayabilir (7).

Türkiye'de beta talasemi taşıyıcı sıklığı %2,1 olup yaklaşık 1.300.000 taşıyıcı ve 4500 civarında hasta bulunmaktadır. Taşıyıcı sıklığı göz önünde bulundurulduğunda, her yıl 300-500 hasta çocuğun dünyaya gelmesi beklenmekte olup bu durum aileleri ve toplumu maddi-manevi zarara uğratmaktadır (1).

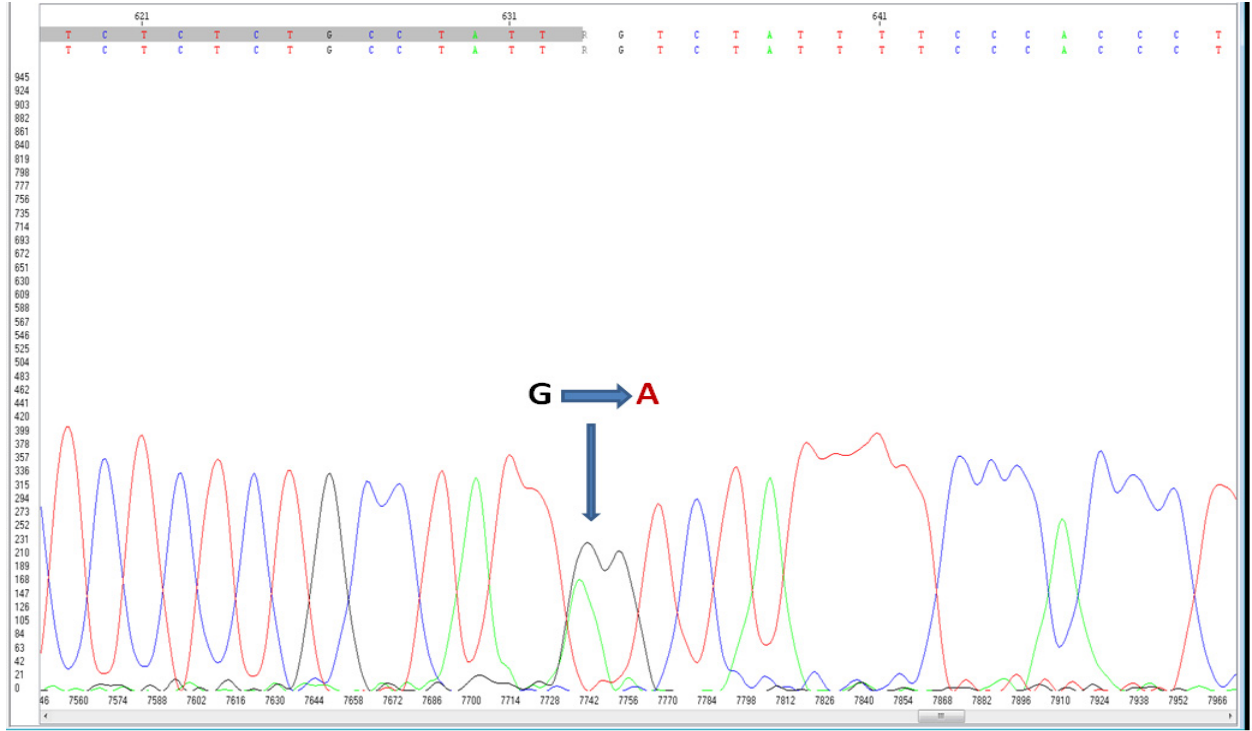
Anormal hemoglobinler ise, ülkemizde en sık görülen eritrositlerin orak şeklini aldığı sickle cell anemi(Hb S) denilen orak hücre anemisinin de içeren anormal hemoglobin varyantlarının oluşturan kalıtsal kan hastalığıdır. Burada patoloji globin gen eksikliğinden ziyade nokta mutasyonu sonucu eritrositte şekil bozukluğu ve fragilite artması ile karakterize anormal hemoglobinlerdir. Sayıları 700'ü geçen anormal hemoglobinlerden (<http://globin.cse.psu.edu>) hemoglobin C (Hb C), Hemoglobin E (Hb E)' de ülkemizde sık görülmektedir.

Gelişen teknolojilerle birlikte günümüzde, hemoglobinopatilerde tanı oldukça kolaylaşmıştır. Hemoglobinopatilerde, tanı için öncelikle şekil'de görüldüğü üzere periferik kandan tam kan sayımı ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile moleküler tanı yapılacak örnekler (Şekil 1) belirlenmelidir (2). ü



Şekil-1: Talasemi Taşıyıcılığında Algoritma

Moleküler tanı için öncelikle ticari olarak rahatlıkla temin edilebilen kitler yardımı ile periferik kandan DNA izolasyonu yapılmaktadır. Daha sonra amplification mutation refractory system (ARMS), restriction mutation system (RFLP) veya DNA sekanslama tekniklerinin birlikte ya da ayrı ayrı kullanımı ile genetik yapı belirlenebilir. Laboratuvarımızda öncelikle tam sayımı ve HPLC yardımı ile çoğu kez anormal hemoglobinlerin tanısı konulabilmekte ve talasemi çıkması kuvvetle muhtemel örnekler belirlenebilmektedir (Şekil 1). DNA izolasyonu sonrası Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PCR) ile amacımıza uygun DNA bölgesi çoğaltılmakta ve bu PCR materyali kullanılarak DNA sekanslama ile α , β talasemi ve anormal hemoglobinlerin moleküler tanısı konulmaktadır. Türkiye'de en sık rastlanılan IVS 1-110 mutasyonuna ait bir sekanslama sonucumuz Şekil 2'de görülmektedir.



Şekil 2: IVS 1-110 G\A Heterozigot Mutasyon

Hatay ilimiz ülkemizin güneyinde sıcak iklim ve kalıtsal kan hastalıklarının Türkiye ortalamasının üzerinde olduğu bir şehrimizdir. Ayrıca şehrimizde Suriye göçmen kampları yoğun olup, yaklaşık 300.000 üzerinde göçmen sağlıksız koşullarda yaşamaktadır. Göçmenler arasında da kalıtsal kan hastalığı saptamaktayız. Dolayısı ile, burada etkin ve doğru bir şekilde hemoglobinopati tanı yöntemlerinin yapılması oldukça önemlidir. Bu amaçla laboratuvarımız öncelikle ilimiz ve göçmenlere hizmet vermekte olup Türkiye'nin çeşitli merkezlerinden gelen hastalara da rastlanılmaktadır. Son iki yıllık talasemi mutasyon sonuçlarımız Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo-1: α- Talasemi ve β- Talasemi Mutasyonları				
α- Talasemi	β- Talasemi			
Mutasyon Tipi	Mutasyon Tipi			
	UTR	PROMOTOR	CODON	IVS
3.7 kb Het. (n=125)	5'UTR +26 T>C Het. (n=8)	-30 T>A Het. (n=11)-	Cd 5 -CT Het. (n=10)	IVS 1-110 G>A Het. (n=47)
3.7 kb Het. (n=7)	5' UTR +20 C>T Het. (n=5)	-101 C>T. Het. (n=8)	Cd 26 GAG>AAG Het. (n=9)	IVS 1-6 T>C Het. (n=20)
20.5 kb Het. (n=3)	5' UTR +22 G>A Het. (n=4)	-88 C>A Het. (n=5)	Cd 121 GAA>AAA Het. (n=7)	IVS 1-1 G>A Het. (n=18)
	Diğer (5' UTR +1 A>C, 3'UTR +1536 A>G, 3'UTR +1520 C>G, 3'UTR +1475 G>A, 5' UTR +22 G>A) (n=6)	-31 C>T Het. (n=3)	Cd 126 GTG>GGG Het. (n=5)	IVS 2-1 G>A Het. (n=11)
		Diğer (-101 C>T, -29 A>G) (n=2)	Cd 8 –AA Het. (n=4)	IVS 1-5 G>C Het. (n=8)
			Cd 39 CAG>TAG Het. (n=4)	IVS 2-848 C>A Het. (n=4)
			Cd 75 CTG>-TG Het. (n=3)	IVS2-745 C>A Het. (n=3)
			Diğer(Cd 27, Cd 37, Cd 22A, Cd 40, Cd42, Cd 44, Cd 65, Cd 69, Cd 72,Cd 97, Cd 105, Cd123, Cd 15, Cd 16, Cd 17, Cd 19, Cd 22, Cd7+A (n=24)	Diğer (IVS 1-6 T>C,IVS 1-130 G>C, IVS 2-348 A>T, IVS 2-625 G>A, IVS 2-705 T>A, IVS2-726 A>G, IVS1-91 C>T,IVS 2-848 C>A,IVS 2-1 G>A (n=11)

KAYNAKLAR

- 1- Ghazi O. Tadmouri, A. Nazlı Başak, B-thalassemia in Turkey; A review of the clinical epidemiological molecular and evolutionary aspects, Hemoglobin 25/2, (2001) 227-239.
- 2- Hemoglobinopati tanı rehberi. Sağlık bakanlığı yayınları, 2016.Higgs DR, Engel JD, Stamatoyannopoulos G. Thalassaemia. Lancet 2012;379:373–83.
- 3- Piel FB, Weatherall DJ. The alpha-thalassemias. N Engl J Med 2014;371:1908–16.
- 4- Chui DHK, Fucharoen S, Chan V, Hemoglobin H. Disease: not necessarily a benign disorder. Blood 2003;101:791–800.
- 5- Crielard BJ, Rivella S. beta-Thalassemia and polycythemia vera: targeting chronic stress erythropoiesis. Int J Biochem Cell Biol 2014;51:89–92.
- 6- Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassaemia syndromes. Fourth Edition Oxford, UK: Blackwell Science Ltd; 2001. p. 733–821.
- 7- Guimaraes JS, Cominal JG, Silva-Pinto AC, Olbina G, Ginzburg YZ, Nandi V, et al. Altered erythropoiesis and iron metabolism in carriers of thalassemia. Eur JHaematol 2015;94:511–8.

Panel-5c

HİBRİDİZASYON YÖNTEMLERİYLE MOLEKÜLER TEST ANALİZLERİ: DOKU TİPLEME TESTLERİ ÖRNEĞİ

Gürbüz POLAT

Moleküler tanı analizlerini yapan laboratuvarlar, birçok hastalıkla ilişkili genlerin belirlenmesi, haritalanması ve dizilenmesi yanında, bu genlerin moleküler incelemesinde etkin yöntemlerin uygulamaya girmesiyle giderek daha çok gelişmektedirler. Moleküler tanı, başta insan hastalıklarının tanısı, kimliklendirilmesi, adli tıp olgularının aydınlatılması, HLA belirlemeyle doku tiplmesi incelemeleri olmak üzere oldukça geniş bir alanda kullanılmaktadır. Moleküler tanı uygulaması yapan laboratuvarların hedefledikleri gen düzeyindeki çalışmalarında mutasyonlara ilişkin adlandırma, referans diziler, amino asit pozisyon numaraları, nükleotid pozisyon numaraları, aile ağacı bilgileri konusunda da dikkat ve özen sahibi olmaları bir gerekliliktir. İnceleme yapılacak hastaya ilişkin aile öyküsü ve klinik verilerin değeri olduğundan bilgi alımı önem taşımaktadır. Nükleik asit dizilemesi altın standart olarak kabul edilmekle birlikte, bilinen gen mutasyonlarının daha erken belirlenmesi ve birden çok mutasyonun aynı zaman diliminde incelenebilmesi nedeniyle diğer yöntemler daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Gendeki kusurun niteliğine göre uygulanabilir yöntemlerde çeşitlilikler ortaya çıkabilmektedir. Moleküler tanı alanındaki hızlı ilerlemeler hasta odaklı klinik laboratuvarlar için giderek genişleyen bir test listesine yol açmıştır. Moleküler tanı teknolojileri günümüzde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)-temelli teknikler, hibridizasyon, floresan-işaretli teknikler, elektrokimyasal DNA tespiti, biyoçipler, nanoteknolojiler ve proteomik teknolojilerden oluşmaktadır.

Organ nakillerinde uygulanan doku tipleme testleri, doku uyumunu değerlendirmek üzere Büyük Doku Uyumu Kompleksi (MHC) ile ilgili olarak uygulanan incelemelerdir. Bağışıklık sisteminde kendinden olmayanı tanımak üzere doku antijenleri gereklidir ve *MHC* gen bölgesi bu antijenleri kodlamaktadır. Bu bölge 6. kromozomun kısa kolunda yerleşmiştir ve ilk olarak beyaz kan hücrelerinde gösterildiğinden, İnsan Lökosit Antijenleri (Human Leukocyte Antigens, HLA) bölgesi olarak da adlandırılır. Naklin başarılı sonuçları tam HLA uyumlu donörler ile sağlanır. Her hasta için tam uyumlu donör bulmak HLA sisteminin oldukça polimorfik olması nedeniyle zordur. HLA uyumunun olması yüksek greft ömrü, yüksek organ fonksiyonu ve immüsupresyon tedavisinin azaltılma avantajlarını sağlar. Son yıllarda HLA tipinin belirlenmesi çok duyarlı yöntemlerle yapılabilmektedir ve HLA tiplerini tanımlarken kullanılan terminoloji de kullanılan yöntemlerle ilişkilidir. Moleküler yöntemlerin giderek diğer yöntemlerin yerini alması nedeni ile güncel olarak kullanılan isimlendirme alelleri tanımlayan terminolojidir. Moleküler yöntemler yeni alellerin tanımlanmasına olanak sağlaması, istenen duyarlılıkta çalışma yapabilecek seçenekler sağlaması, canlı hücre gerektirmemesi, eş zamanlı çok sayıda örnek çalışılabilmesi, HLA genlerindeki tüm çeşitlilikleri gösterebilmesi, serolojik olarak tanımlanamayan alellerin tanınabilmesini sağlaması nedeniyle giderek daha çok kullanılmaktadır. Moleküler yöntem olarak SSP gibi klasik PCR temelli amplifikasyon yöntemlerinden çok SSO gibi hibridizasyon temelli yöntemler ve yüksek çözünürlüklü sonuçlar elde etmek için de dizi analizi kullanılmaktadır. Hibridizasyon teknikleri olarak strip ve boncuk yöntemlerini esas alan Luminex uygulamalarının kullanımı yaygındır.

Panel-6a

ŞEHİR HASTANESİ DENEYİMİ

Selçuk MATYAR

Adana Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya, Adana

Şehir hastaneleri Kamu - Özel ortaklığı şeklinde kurulmakta, inşaatı özel sektör tarafından yapılmakta ve Sağlık Bakanlığı'na kiralanmaktadır. İşletilmesi ise Kamu - Özel ortaklığı şeklindedir. Şu anda bu şekilde çalışan Türkiye'de 9 adet şehir hastanesi bulunmaktadır. Sırası ile Yozgat, Isparta, Mersin, Adana, Elazığ, Kayseri, Manisa, Eskişehir ve Bilkent Şehir Hastanesi olarak hizmete girmiştir. Türkiye de Sağlık Bakanlığı 2020'ye kadar tüm devlet ve araştırma hastanelerinin şehir hastanelerine dönüşümünü planlamaktadır. Adana Şehir hastanesi (AŞH) 1550 yataklı olup 17 Eylül 2017'de hizmete girmiştir. Dünya standartlarındaki en ileri teknolojiye sahip medikal ekipmanları ile donatılmış ve görkemli bir mimari yapıya sahiptir. Genel hastane (5 blok), FTR merkezi ve YGAP 'tan oluşmaktadır. Kamu - Özel ortaklığında hastanemizde firma (üst yüklenici) 25 yıl işletme hakkına sahip. Ayrıca Firma hastanede başta laboratuvar ve görüntüleme olmak üzere; yazılım, temizlik, güvenlik, sterilizasyon, yemekhane, yönlendirme dahil toplam 19 kalemde Alt Yüklenicilerden hizmet alarak Sağlık Bakanlığına hizmet sunmaktadır.

Açılış Süreci: Öngörülen tarihte açılan tek şehir hastanesidir. Hızlı bir taşınma süreci yaşadık. Başlangıçta Ağustos 2017 tarihinden itibaren açılışa kadar, simülasyonlar ve ön kabul yapıldı. Ancak taşındıktan sonraki Pratik-Teorikle uymadı.

Hastane İçerisinde ulaşım en büyük sorun oldu. Bloklar arası erişim sorunu mevcut, hastane içerisinde bir yerden başka bir yere ulaşmak ciddi sorun ve zaman kaybına yol açıyor. Hekimler, polikliniklerde dahi yeterli sekreter olmadığı için; kısmen sekreterlikte yapıyor. Kan Alma Birimi: Sayı çok fazla (16'sı aktif toplam 25 adet), laboratuvara uzak ve sekreteryaya elemanı yetersiz, transfer süreleri uzuyor.

Pnömatik Sistem: Sistem büyük çaplı ve en son teknolojik mikroçipli. Ancak Personel eğitimi yetersizdi. Teknik arızalar da meydana geldi. Manuel taşımaya dönüldü ve sonuçta test sonuçları çok gecikti. Ancak alan çok büyük olduğu için aslında düzenli çalıştığı sürece pnömatik sistemin avantaj olduğu görüldü.

Merkez Laboratuvar: Teknik alanlar oldukça iyi planlanmış (Biyokimya, Hormon, Hematoloji, Eliza, Akış Sitometri aynı, Mikrobiyoloji, İdrar, GS-MS, depo, soğuk oda ise ayrı bölümler halinde planlanmış). Ayrıca Acil Laboratuvarı yok. Ancak uzman odaları ve lavabolar yetersiz.

Açılış Sürecinde Laboratuvar: HBYS'de testlerin SUT kodları girilmemişti ve cihaz bağlantıları yoktu, bazı testler sistemde tanımlanmamıştı. Testlerin referans aralıkları yoktu. Preamolitik sistem çalışmadı. Laboratuvar ilk gün sonuç veremedi.

Sorunlarımız

1. **Merkez laboratuvarında devlet teknisyenleri çalışmamaktadır.**
 2. **Alt yükleniciye karşı yaptırım gücümüz yetersiz.**
 3. **Test isteminde maalesef kısıtlama yok.** Her türlü test 7/24 istenebiliyor.
 4. **Biyokimya ve Mikrobiyoloji uzmanları olarak açılış gününden itibaren yoğun onay nöbetlerimiz mevcut.**
 5. **Uzman kadro planlaması (PDC) doğru yapılmıyor.**
 6. **Hastanenin yazılım programında aksaklıklar mevcut.** Otomasyondan alınan aylık istatistiki veriler sağlıklı değil. HBYS'de gerek hekim performansının hesaplanmasında, gerek poliklinik hizmetlerinde yapılacak işlemlerde, gerekse laboratuvar test sayılarının hesaplanmasında sıkıntılar yaşandı.
 7. **Aylık firmaya yapılacak ödemeler.** Aylık firmanın kuruma keseceği faturanın hak edişe esas test sayılarını tespit etme ve hazırlamasının laboratuvar uzmanları tarafından yapılmaktadır.
 8. **Eğitimin sürdürülmesinde sıkıntılar var.** Projeler ve Asistan Tezlerine kaynak bulmak zorlaştı.
 9. **Liyakat:** Eğitim kadroları dağılımı adil değil.
 10. **5555 Çağrı merkezi (Merkezi Yardım Masası-MYM):** Tüm şikayetler buraya yapılıyor.
- Olumlu Tarafından Bakacak Olursak:**
1. **Onay Destek Sistemi:** Literatür Bilgisi ve Sağlık Bakanlığının ODS prosedürüne göre kurallarımızı yazdık ve Mart 2019'da uzman onayını başlattık.
 2. **AŞH 6. seviye dijital hastane sertifikası kazandı.** Bilgi teknolojilerinin, sağlık hizmetlerinin sunumunda ve geliştirilmesinde en uygun ölçüde kullanımını sağlamayı hedefler.

Panel-6b

AFİLİYE HASTANELERDEKİ TIBBİ BİYOKİMYA ALANINDA GÜNCEL DÜZENLEMELER VE UZMANLARIMIZ

Hüseyin KAYADİBİ

Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Çorum mdkayadibi@yahoo.com

Kurumlar arası işbirliği manasına gelen afiliasyondaki amaç sağlık ve eğitim hizmetlerinin daha verimli ve etkin sunulabilmesi için sağlık tesislerinin birlikte kullanılmasıdır.

Afiliasyon hakkındaki ilk yönetmelik 18 Şubat 2011 tarihli ve 27850 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan ‘Sağlık Bakanlığına Bağlı Sağlık Tesisleri ve Üniversitelere Ait İlgili Birimlerin Birlikte Kullanımı ve İşbirliği Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik’ tir. Ardından sırasıyla 3 Mayıs 2014 tarihli ve 28989 sayılı, 16 Haziran 2016 tarihli ve 29744 sayılı, 16 Haziran 2017 tarihli ve 30098 sayılı ve 8 Mayıs 2018 tarihli ve 30415 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan yönetmelikler yürürlüğe girmiştir (1-5).

Tüm bu yönetmeliklerde geçen *birlikte kullanım* ifadesi ‘Sağlık Bakanlığına bağlı sağlık tesisleri ile üniversitelerin tıp ve diş hekimliği alanında lisans ve uzmanlık eğitimi veren kurumlarının eğitim, araştırma ve sağlık hizmet sunumu için insan gücü, mali kaynak, fiziki donanım, bina, tıbbi cihaz ve diğer kaynaklarının imzalanacak protokol çerçevesinde birlikte kullanılması’ manasına gelirken, *işbirliği* ifadesi ‘Sağlık Bakanlığına bağlı sağlık tesisleri ile üniversitelerin ilgili birimlerinin görev ve hizmetlerinin etkin ve verimli yürütülmesi, ortak gaye ve menfaatlerinin gerçekleştirilmesi için döner sermayeleri ayrı olmak üzere sağlık hizmet sunumu, eğitim, araştırma, halk sağlığını geliştirme ve kurumların diğer faaliyet alanlarında imzalanacak protokol çerçevesinde tarafların birlikte hareket etmesi, yardımlaşması ve çalışması’ manasına gelir.

En son çıkan yönetmeliğe göre önemli güncel düzenlemeler şöyledir;

1. Planlama esasları: Büyükşehir olan iller dışındaki illerde eğitim, araştırma ve uygulama hizmetleri, Bakanlık eğitim ve araştırma hastanesi veya üniversite sağlık uygulama ve araştırma merkezlerinden yalnızca biri tarafından verilebilir.

2. Protokol esasları: Birlikte kullanım protokolü Bakanlığın ve YÖK’ün uygun görüşü alınarak il sağlık müdürü ve rektör tarafından imzalanır. Birlikte kullanım protokolünün imzalanmasından itibaren en geç altı ay içerisinde fiilen birlikte kullanıma geçilir. Bu süre içerisinde fiilen birlikte kullanıma geçilmemesi halinde protokol kendiliğinden sona erer. Döner sermaye hesaplarının birleştirildiği tarih, fiilen birlikte kullanıma geçildiği tarihtir. Sürenin bitiminden 6 ay önce taraflardan biri yazılı olarak sona erdirmeyi bildirim yapılmadıkça protokol aynı süreyle uzatılmış sayılır. Tarafların mutabakatı ile bir yıl önceden yazılı olarak bildirmek şartıyla protokol sona erdirilebilir. Fesih ya da protokolü sona erdirmeyi kararı alındığında, protokoller, içinde bulunulan mali yılın sonunda sona erdirilir.

3. Eğitim faaliyetleri: Tıp ve diş hekimliğinde lisans ve uzmanlık eğitimleri, birlikte kullanımdaki sağlık tesislerinde ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde dekanın yetki ve sorumluluğunda yürütülür. Dekan ve başhekim, eğitim, araştırma ve sağlık hizmetlerini aksatmayacak şekilde işbirliği içinde çalışarak gerekli tedbirlerin alınmasından ve planlamaların yapılmasından sorumludur. Birlikte kullanılan sağlık tesisinde bulunan profesör, doçent, eğitim görevlileri ve başasistanlar ile sağlık tesisinde görevlendirilen öğretim üyeleri tıpta uzmanlık eğitimi yetki ve sorumluluğunu taşırlar. Ancak, dekan tarafından ihtiyaç duyulması halinde birlikte kullanılan sağlık tesisinde bulunan eğitim görevlileri ve başasistanlara lisans eğitiminde de sorumluluk verilebilir. Birlikte kullanımdaki tesislerde dekan tarafından başhekimin de görüşü alınarak her uzmanlık eğitimi programı yürütülen birim için uzmanlık eğitimi mevzuatındaki şartları haiz bir program yöneticisi ile bir idari sorumlu görevlendirilir. Program yöneticisine aynı zamanda idari sorumluluk görevi de verilebilir. Program yöneticisi, müfredata uygun olarak ilgili mevzuat çerçevesinde tıpta ve diş hekimliğinde uzmanlık eğitimlerinin planlanması, yürütülmesi ve denetiminden sorumludur. Program yöneticisi, programa dâhil olan tüm eğiticilerle birlikte eğitim programını hazırlayarak, hastane yöneticisinin uygun görüşü ile birlikte ana dallarda ilgili anabilim dalı başkanı, yan dallarda ise bilim dalı başkanı aracılığıyla dekana sunarak eğitim programını onaylatır. Eğitim programında değişiklik olması halinde hastane yöneticisine bilgi verilir. Program yöneticisi ve idari sorumlunun farklı kişiler olması halinde bunlar işbirliği ve uyum içerisinde çalışır.

4. İdari hususlar: Birlikte kullanıma geçilen sağlık tesisleri, Bakanlık tarafından bu Yönetmelik hükümleri saklı kalmak kaydıyla, Bakanlığın tâbi olduğu mevzuat uyarınca işletilir. Birlikte kullanılan sağlık tesisinin başhekim,

üniversitenin görüşü alınarak ilgili mevzuat uyarınca atanır ve işlemler Bakanlığın tabi olduğu mevzuat çerçevesinde yürütülür. Sağlık tesisindeki her türlü sağlık ve destek hizmeti, üniversite personelinin sağlık hizmeti sunumu da dâhil olmak üzere başhekimin sorumluluğundadır. Birlikte kullanılan sağlık tesisleri ve ilgili birimlerde görevli personeller, öğretim elemanları ile eğitim görevlileri dâhil tüm tabipler tam zamanlı görev yapar ve eğitim ve araştırma faaliyetlerinin yanında, ilgili mevzuatında öngörülen nöbetler dâhil, sağlık hizmetlerinin aksatılmadan sürekli bir şekilde yürütülmesine yönelik çalışmaları yerine getirmekle yükümlüdürler. İdari sorumlu, ilgili klinik ve laboratuvarında sunulan sağlık hizmetinin yirmi dört saat esasına göre kesintisiz olarak yürütülmesi ve verimlilik ölçütlerinin gerektirdiği yönetsel önlemlerin alınması, mevcut kaynakların müşterek ve verimli bir şekilde kullanılması ile diğer birimler ve hastane yönetimiyle olan ilişkileri yürütmekle görevli olup; bu görevlerin yürütülmesinden hastane yöneticisine karşı sorumludur.

5. Mali hususlar: Birlikte kullanımdaki sağlık tesislerinde Ek Ödeme Yönetmeliğinin uygulanmasında; Ek Ödeme Yönetmeliğine göre gelir getirici faaliyeti ve tıbbi işlemler puanı üretme imkânı bulunmayan personelin kadro-ünvan katsayıları; profesörler için 1,5, doçentler için 1,2, yardımcı doçentler için 1,0 ve tıpta uzmanlık mevzuatına tabi olmaksızın atanan araştırma görevlileri için 0,4 olarak uygulanır. Ek Ödeme Yönetmeliğine göre puan üretme imkânı bulunan üniversite kadrosundaki profesör ve doçentler için eğitim görevlisi kadro-ünvan katsayısı, yardımcı doçentler için başasistan kadro-ünvan katsayısı kullanılır. Üniversite kadrosunda bulunan personelden yan dal uzmanlık eğitimi tamamlamış olan ve bu alanda çalışanlar için, Ek Ödeme Yönetmeliğinde yan dal unvanları için öngörülen kadro-ünvan katsayıları uygulanır.

6. Disiplin ve özlük işlemleri: Birlikte kullanılan sağlık tesisinde görev yapan personel disiplin ve tüm özlük işlemleri ile sosyal güvenlik mevzuatı bakımından kadrosunun bulunduğu kurumun ilgili mevzuatına tabidir. Sağlık tesisinde hizmet veren üniversite personeliyle ilgili hasta hakları başvuruları Hastane Hasta Hakları Kurulu tarafından değerlendirilir. Hasta hakları başvurusu ile ilgili ihlal kararı verilmesi durumunda başvuru hakkında işlem yapılabilmesi için ilgili rektörlüğe gönderilir. Disiplin ve ceza hükümlerinin uygulanması bakımından personelin kadrosunun bulunduğu kurumun tabi olduğu mevzuat hükümleri geçerlidir. Birlikte kullanım protokolü imzalanan sağlık tesisinde görevli, öğretim elemanları ve uzmanlık öğrencileri ile eğitimde görev alan bakanlığa bağlı personel ve doğrudan kliniklere/laboratuvarlara bağlı olarak çalışan sağlık personelinin izin, kongre ve benzeri özlük işlemleri sırasıyla klinik/laboratuvar idari sorumlusu, program yöneticisi ve hastane başhekiminin uygun görüşü alınmak kaydıyla kadrosunun bulunduğu kurumun mevzuatına göre yürütülür. Diğer personel bakımından ise çalıştığı birim amirinin onayı alındıktan sonra kadrosunun bulunduğu kurumun mevzuatına göre yürütülür.

Afiliasyon yönetmeliğinde belirtilen ve kurumlar arasında yapılan protokolde uygulama esasları belirlenen hususların başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için aynı tıbbi biyokimya servisinde görev yapan öğretim üyesi olan-olmayan tüm uzmanların eğitim, idari hususlar ve hizmet açısından eşit görev dağılımlarının başhekimlikçe onaylı olarak yapılmış olması ile herkesin üzerine düşen görev ve sorumlulukları zamanında ve eksiksiz bir şekilde yerine getirmesi gerekir.

Kaynaklar

1. 18/2/2011 tarihli ve 27850 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Sağlık Bakanlığına Bağlı Sağlık Tesisleri ve Üniversitelere Ait İlgili Birimlerin Birlikte Kullanımı ve İşbirliği Usul Ve Esasları Hakkında Yönetmelik.
2. 3/5/2014 tarihli ve 28989 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Sağlık Bakanlığı ve Bağlı Kuruluşlarına Ait Sağlık Tesisleri ve Üniversitelere Ait İlgili Birimlerin Birlikte Kullanımı ve İşbirliği Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik.
3. 16/6/2016 tarihli ve 29744 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Sağlık Bakanlığı ve Bağlı Kuruluşlarına Ait Sağlık Tesisleri ve Üniversitelere Ait İlgili Birimlerin Birlikte Kullanımı ve İşbirliği Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik.
4. 16/6/2017 tarihli ve 30098 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Sağlık Bakanlığı ve Bağlı Kuruluşlarına Ait Kurum ve Kuruluşlar ile Devlet Üniversitelerinin İlgili Birimlerinin Birlikte Kullanımı ile İşbirliği Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik.
5. 8/5/2018 tarihli ve 30415 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Sağlık Bakanlığı ve Bağlı Kuruluşlarına Ait Kurum ve Kuruluşlar ile Devlet Üniversitelerinin İlgili Birimlerinin Birlikte Kullanımı ile İşbirliği Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik.

Panel-6c

TIBBİ BİYOKİMYA ALANINDAKİ GÜNCEL DÜZENLEMELER VE ÖZEL TIBBİ BİYOKİMYA LABORATUVARLARI

Güngör YILDIRIM

Özel İzmir Ege Laboratuvarları, İzmir

Tıbbi Laboratuvarlar Yönetmeliği'ndeki tanıma göre,

Özel tıbbi laboratuvarlar;

***Özel müstakil** tıbbi laboratuvarlar ve

***Özel sağlık kuruluşu bünyesindeki** tıbbi laboratuvarlardan oluşmaktadır

Özel müstakil tıbbi laboratuvarlar gerçek veya tüzel kişiler tarafından müstakil olarak açılan ve işletilen tıbbi laboratuvarlardır.

Özel sağlık kuruluşu bünyesindeki tıbbi laboratuvarlar ise özel hastane, tıp merkezi ve poliklinik bünyesinde faaliyet göstermek amacıyla açılan tıbbi laboratuvarlardır.

Bu iki laboratuvar alt grubundan özel müstakil laboratuvarlar işleyiş açısından daha çok sorunun yaşanmakta olduğu laboratuvarlardır. Çünkü müstakil olmak test sürecinin preanalitik, analitik veya postanalitik her safhasında kontrolün zor olmasını ve bu da klinik-laboratuvar uyumsuzluğunu beraberinde getirmektedir.

Ayakta Teşhis ve Tedavi Yapılan Özel Sağlık Kuruluşları Hakkında Yönetmelik ile birlikte önceki yıllarda sadece gerçek kişi olan uzman üzerinde olan ruhsat hakkı tüzel kişilere de verilmeye başlanmıştır. Buna paralel olarak 2011 Tıbbi Laboratuvar Yönetmeliği ile birlikte tüm biyokimya laboratuvar kadroları mevcut haliyle dondurulmuş ve yeni açılacak laboratuvarlara planlama kapsamında kadro verilmeye başlanmıştır. Özel müstakil tıp laboratuvarlarının açılmasının planlama hükümlerine tabi kılınması, bu alanda sunulan sağlık hizmetinin niteliğini arttırmamakta, aksine bu laboratuvarların açılmasını olanaksız hale getirerek hem toplumun bu alanda özel sağlık hizmetine ulaşma olanağını güçleştirmekte hem de tıbbi biyokimya uzmanlarının müstakilen meslek icra etme haklarını ellerinden almaktadır.

Panel-6d

TIBBİ BİYOKİMYA ALANINDA GÜNCEL DÜZENLEMELER VE UZMANLARIMIZ

Ceyhun GÖZÜKARA

Sakarya Halk Sağlığı Laboratuvarı, Sakarya

Halk sağlığı laboratuvarları altında hizmet veren iki alt laboratuvardan biri klinik laboratuvarlardır. Klinik laboratuvarlar ise tıbbi biyokimya ve tıbbi mikrobiyoloji alt birimlerinden oluşmaktadır. Ülkemizde 83 halk sağlığı laboratuvarında toplam 71 tıbbi biyokimya uzmanı ile hizmet verilmektedir. Günümüz çalışma şartlarında 18 yaş altı bebek-çocuk-ergen izlemleri, evlilik öncesi taramaları ve ücretsiz check-up uygulamaları gibi koruyucu sağlık hizmetlerinin klinik laboratuvar ayağının yürütülmesi ve birinci basamakta hizmet veren aile sağlığı merkezleri, verem savaş birimleri, çalışan sağlığı birimleri ve toplum sağlığı merkezlerine klinik laboratuvar hizmeti sunulması halk sağlığı laboratuvarları tarafından sağlanmaktadır.

Çıkarılan yönetmelikler ve akılcı laboratuvar uygulamaları ile laboratuvarların fiziksel ve faaliyetler alanlarında bir şekilde standart yakalanmış olsa da maalesef özlük haklarında özellikle de iş yükü ve döner sermaye paylarının dağılımında herhangi bir standart yakalanamamıştır. Personelin sosyal ve ekonomik ihtiyaçlarının karşılanamamasına bağlı olarak iş motivasyonunun düşmesi ve döner sermayeden pay alacakları yere geçmek istemeleri sonucu personelin sürekliliğinin sağlanamaması günümüz halk sağlığı laboratuvarlarının en büyük sorunudur.

K-14a

KLİNİK LABORATUVARDA VERİ VE VERİ MADENCİLİĞİ

Deniz İlhan TOPCU

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD, Ankara

Çeşitli veri kaynaklarından farklı analiz yöntemleri kullanarak yeni bilgiler çıkarma işlemi, veri madenciliği olarak adlandırılmaktadır. Veri madenciliğinde temel amaç, yığınlar halinde bulunan veriden anlamlı bilgiler ortaya koymaktır.

Veri madenciliği ile ilişkili kavramlar daha uzun süredir bilinmekle beraber, “Veri Madenciliği” terimi ilk olarak 80’li yılların sonlarında kullanılmaya başlanmıştır. Son yirmi yılda bilgisayarların artan işlem gücü ve veri depolama kapasiteleri ile azalan veri depolama maliyetleri sayesinde veri madenciliği uygulamaları yaygınlaşmış ve özellikle son on yılda kullanımı giderek artmıştır. Veri madenciliğinde farklı disiplinden gelen birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu disiplinler arasında istatistik, olasılık, makine öğrenmesi, örüntü tanıma, doğal dil işleme gibi yapay zekâ uygulamaları sayılabilir. Genel olarak veri madenciliği modelleri, tanımlayıcı ve prediktif olarak ikiye ayrılabilir. Tanımlayıcı modellerde mevcut verilerden belirli ilişkiler ortaya konulurken, prediktif modellerde ise mevcut veriler kullanılarak ileriye yönelik tahminler yapılır. Kişisel bilgisayarlar ile birçok veri analizi gerçekleştirilmekte ve Rapidminer, R, Weka, vb. veri madenciliği uygulamalarının yapılabileceği araçlar giderek yaygınlaşmaktadır. Bu sayede sadece bilgisayar ve istatistik bilimciler değil, ilgili alan bilgisine sahip uzmanların da farklı veri madenciliği uygulamaları gerçekleştirmesi mümkün olabilmektedir.

Günümüzde veri madenciliği ile üretilen bilgiler kullanılarak neredeyse tüm sektörlerde daha iyi hizmet ve ürün sunulabilmektedir. Örneğin finans, bankacılık, turizm, eğlence, perakende, üretim sanayi gibi birçok farklı alanda veri madenciliği uygulamaları yaygın olarak kullanılmaktadır.

Sağlık hizmetlerinin veri üretimi açısından en yoğun alanlardan biri olduğu bilinmektedir. Sağlık hizmeti kapsamında tıbbi kayıtlar, idari raporlar ve diğer değerlendirme raporları dahil olmak üzere büyük miktarda veri üretilmektedir ve üretilen veriler çoğunlukla elektronik kayıt olarak hastane bilgi yönetim sistemleri (HBYS) ve laboratuvar bilgi yönetim sistemlerinde (LBYS) saklanmaktadır. Bu özellikleri ile sağlık sektörü, çok çeşitli veri madenciliği uygulamalarına olanak sağlamaktadır. Yeni tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinden kalite ve risk yönetimine, verimli hastane yönetiminden yüksek standartta hasta bakımına veri madenciliği ile elde edilen bilgiler kullanılabilmektedir.

Klinik kararlar üzerinde önemli etkiye sahip olan ve hastanın yatışı, taburcu edilmesi, çeşitli tedavilerin uygulanması gibi önemli kararlar için yol gösterici olan klinik laboratuvarlar tarafından üretilen veriler de bu kapsamdadır. Klinik laboratuvarlarda her gün LBYS’ler aracılığıyla büyük miktarlarda veri akışı olmaktadır. Test istemi, örnek takibi, kalite kontrol takibi, test sonuçlarının üretilmesi ve sonuçların onaylanarak klinisyene ulaştırılması olarak özetlenen toplam test sürecine ilave olarak yönetsel ve operasyonel süreçlerde de üretilen verilerden birçok veri madenciliği uygulaması ile çıkarımlar sağlamak mümkündür. Bu çıkarımlar ile sonuç verme sürelerinde kısalma, daha verimli kalite kontrol uygulamaları, cihaz kullanım etkinliğinin artırılması, test maliyetlerinin düşürülmesi mümkün olabilmektedir.

Hem laboratuvar yönetimi, hem araştırma, hem de klinik karar verme konularında yol gösterici olabilecek veri madenciliği uygulamaları, günümüzde ve gelecekte laboratuvar tıbbından ayrı düşünülemez bir araçtır. Uzmanlık eğitiminde ve sürekli mesleki gelişim eğitimlerinde veri madenciliğine önem verilmesi gerekmektedir.

K-14b

KLİNİK LABORATUVARDA VERİ GÜVENLİĞİ VE VERİ MAHREMİYETİ

Merve Sibel GÜNGÖREN

Düzen Laboratuvarlar Grubu, Ankara

Dijitalleşen dünyada günlük veri trafiği gün geçtikçe artarken, verilerin güvenliğinin sağlanması yeni bir sorumluluk alanı haline gelmiştir. Kişisel kullanılan e-posta hesaplarından banka hesaplarına, şirketlerin kurumsal verilerinden devlet kurumlarının verilerine tüm alanlarda verilerin yetkisiz kişiler tarafından erişiminin engellenmesi, kişilere ait verilerin mahremiyetinin korunması, izinsiz veri işlenmesinin engellenmesi gibi konular günümüzde veri yönetiminin öncelikleri haline gelmiştir. Neredeyse tüm kayıtların ve işlemlerin dijitalleştiği sağlık hizmetlerinde de veri güvenliğinin sağlanması, sağlık hizmetleri sunucuları için önemli bir görev haline gelmiştir. Sağlıkta hizmet kalitesi için belirlenen hedefler arasında da artık yer almaya başlayan veri güvenliği ve veri mahremiyeti, deontolojik bağlamda hasta mahremiyetinin yeni bir boyutu olarak da değerlendirilmektedir.

Hastane Bilgi Yönetim Sistemleri (HBYS) ve Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemleri (LBYS), bütünsel olarak sağlık verilerinin saklanması için kullanılmaktadır. HBYS ve LBYS'lerin hasta verilerinin güvenliğini sağlayabilecek düzeyde olması gerekmektedir. Sağlık Bakanlığı Sağlık Bilgi Sistemleri Genel Müdürlüğü tarafından sağlık bilgi sistemlerinde veri güvenliği ve veri bütünlüğünün sağlanabilmesi için HBYS ve LBYS kriterleri belirlenmektedir. Ayrıca, Türkiye genelinde sağlık kuruluşlarında kullanılan HBYS ve LBYS'lerin üreticilerinin TSE ISO/IEC 27001-Bilgi Güvenliği Yönetim Sistemi, TS ISO/IEC 15408-Ortak Kriterler, TS ISO/IEC 15504-Spice ya da CMMI Level 3 gibi belli sertifikasyonlara sahip olması beklenmektedir.

Ülkemizde 6698 sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu (KVKK) ve Kişisel Verileri Koruma Kurumu gibi yenilikler, kişisel verilerin korunması konusunda gereken düzenlemelerin sağlanması amacıyla ortaya çıkmıştır. Bir tür kişisel veri olan sağlık verilerinin korunması konusunda da güncel yasal düzenlemeler ve gelişmeler mevcuttur. Kişisel Sağlık Verilerinin İşlenmesi ve Mahremiyetinin Sağlanması Hakkında Yönetmelik ve Sağlık Bakanlığı KVKK Koordinatörlüğü, bu gelişmelere örnek olarak verilebilir.

Günümüzde klinik laboratuvar süreçleri, test isteminden sonuç raporlarına erişime kadar elektronik sağlık bilgi sistemleri üzerinden yürütülmektedir. Laboratuvar verisinin üretilmesinde büyük payı olan laboratuvar uzmanlarının, ülkemizde henüz çok yeni bir konu olan veri güvenliği ve veri mahremiyetinin klinik laboratuvarlarda nasıl sağlanacağı konusunda daha fazla söz sahibi olması gerekmektedir. Konunun laboratuvar tıbbı camiasında daha iyi anlaşılması ve her tür kuruluşta çalışan uzmanların görüşlerinin alınması, gereken düzenlemelerin daha hızlı benimsenmesini sağlayacaktır.

K-15

İDRAR ANALİZİNDE TAM OTOMATİK YÖNTEMLER

Ferhat DEMİRCİ

SBÜ Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi, İzmir

İdrar numuneleri, vücuttan alınmış sıvı doku biyopsileri olarak değerlendirilirler. Diğer materyallere göre daha fazla bilgi vermesi anlamında diğer spesmenlerden ayrılırlar. Tıbbi biyokimya laboratuvarlarında idrar analizlerinin ana hedefi, maliyet ve kabul-sonuç sürelerini azaltırken test kalitesini ve verimliliği en yükseğe çıkarmaktır.

İdrarın analiz edilmesinden anlaşılan fiziksel, kimyasal ve mikroskopik özelliklerinin ortaya konulmasıdır. Tüm bu süreci yönetirken her basamağın standardize hale getirilmesi sonuçların globalleşen dünyada tutarlı ve geçerli olmasını sağlayacaktır. Standardize etmekten kasıt, günümüz teknolojilerini kullanarak idrarın analize hazırlanmasından sonuç raporlanmasına kadar olan süreçtir.

1950’li yılların başlarında idrar kimyasal incelemesi için kuru kimya tekniklerinden yararlanılarak idrar strip testleri geliştirilmeye başlandı. Striplerin geliştirilmesi kimyasal analiz süresini önemli ölçüde kısaltmıştır. Fakat daha sonraki aşama, striplerdeki renk değişikliğini yorumlamadaki insan faktörünü ortadan kaldırmak oldu. Bu sebeple striplerdeki değişikliği yorumlayan okuyucu cihazlar geliştirildi. Bu cihazlara yapılan eklerle idrarın fiziksel özellikleri de ortaya konmaya ve standardize edilmeye başlandı.

1980’li yıllarda ise ilgi odağı idrarın mikroskopik özelliklerinin değerlendirmesine doğru kaydı. Yellow IRIS : International Remote Imaging System geliştirilmesiyle artık mikroskopik özelliklerde otomatize edilebilir olmuştur.

Daha sonraları üreticilerin işbirlikleriyle tam otomatize idrar sistemleri için geliştirmeler hız kazanmıştır. Fiziksel, kimyasal ve mikroskobik analizörlerinin konsolide olmasıyla tam otomatik idrar sistemleri oluşmaya başlamıştır.

İdrarın fiziksel özelliklerinden renk ve bulanıklık fotometrik yöntemlerle değerlendirirken otomatik sistemlerde dansite reflaktometre ile değerlendirilmektedir. Bu yöntemler yukarıda da bahsedildiği gibi daha çok kimyasal kısmı analiz eden bölüm ile entegre edilirler. Kimyasal analizde ise idrar stripindeki pedlere idrar emdirilir. Buraya daha sonra belli açıdan gönderilen ışık destek tabakasının üstündeki yansıtıcı tabakadan yansıtılarak ilgili reseptöre ulaşır ve değerlendirilmek üzere mikroişlemci tarafından işlenir. Bu yöntem ise “reflektans fotometre” adı verilir. Otomatik ya da yarı otomatik olsun hemen hemen bütün kimyasal analizörde bu yöntem kullanılmaktadır.

Tam otomatik idrar sistemleri idrarın mikroskopik incelenmesinde kullanılan yöntemler ile birbirinden ayrılırlar. Başlıca 3 yöntem vardır: 1. Dijital akış mikroskobisi 2. Akış sitometrisi ve 3. Küvet tabanlı dijital mikroskobisi. Dijital akış mikroskobisinde idrar orta hatta kendisiyle karışmayan bir sıvı arasından akarken kamera tarafından görüntülenir. Bu görüntülerdeki hücre/kristaller daha sonra özelliklerine göre ayrıştırılarak gruplandırılır. Yapay zeka teknolojisiyle işlenen görüntüler sınıflandırılır. Sınıflandırılmayan parçacıklar ise kullanıcıya görüntü şeklinde sunulur ve alt tiplendirmesi istenir. Akış sitometrisinde ise idrar partikülleri ileri saçılım, floresans ve adaptif küme analizine dayalı olarak tanımlanır ve kategorilere ayrılır. Günümüzde idrar yolları enfeksiyonlarının erken tanı ve tedavi uygulamaları için TİT daha önemli hale gelmiştir. Bu sebeple özellikle akış sitometrisinde bakterileri tespit etmek için ayrı bir akış sistemi kullanılır. Bu sistemler; kullanılan floresans maddeler ile bakterinin hücre duvarı hakkında bilgi alınabildiği için gram pozitif ya da negatif ayrımının yapılmasına olanak sağlarlar. Küvet tabanlı dijital mikroskobide ise mikroskopik görüntü almak için idrar bir küvet ya da lam sistemine aktarılır. Otomatik fokus özellikli mikroskop görüş alanındaki görüntüleri olduğu gibi ekrana getirir ve özel yazılımlarla bileşenleri tanımlayıp gruplandırır. Küvet ya da lam sistemindeki numune bekleme-çökme ya da santrifüj edilerek çökme işleminden sonra görüntülenir. Bazı üreticiler akış sitometresiyle hücre tiplerinin ayırt edilmesini sağladıktan sonra kristal ya da silendirlerdeki tiplendirmeyi daha başarılı yapmak için sitometrinin peşine dijital mikroskobiyi kullanabilir.

Tüm bu geliştirilen yöntem ve teknolojilerde asıl amaç maliyet-etkin bir şekilde standardize edilmiş yöntemlerle hasta sonucu vermektir. Daha önceden değinildiği gibi hastadan tam idrar tetkiki isteme endikasyonları nasıl tanımlanmışsa, hasta güvenliği için analitik ve post analitik fazlar da standart olmalıdır. Tam otomatik idrar analiz sistemlerinin birbirlerinden ayrılan özellikleri olmasına rağmen hasta ve maliyet çıktıları ortaktır.

K-16

LABORATUVAR TIBBİNDA HASTA BAŞI TESTLER

Arzu ORAN

Manisa Şehir Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, Manisa

ISO 22870'e göre Hasta başı test (HBT); hastanın bulunduğu yerde veya hastanın yakınında yapılan ve hastaya verilecek bakımda değişikliğe neden olabilecek testler olarak tanımlanmıştır. Merkez laboratuvarı dışında yapılan bu testler, Hastane Kalite Standartları kriterleri ve Tıbbi Laboratuvar Yönetmeliği ile laboratuvar uzmanının kontrolünde olmasına rağmen, laboratuvar bilgisinden uzak kişiler tarafından yürütülmektedir. Bu sebeple verilecek sonucun doğruluğu için yapılan kalite kontrol, kalibrasyon çalışmaları ve hasta sonuçlarının takibi önem kazanmaktadır.

1957 yılında idrar dipstick testi ilk HBT olarak gerçekleştirilmiştir. Ardından artan gereksinimler doğrultusunda daha hızlı sonuç alınması ve daha az numune kullanımı gibi avantajları sebebi ile önemli gelişim gösteren HBT cihazları laboratuvardaki kompleks cihazların yerini almaktan ziyade destekleyici olarak görülmektedir. Günümüzde acil servis, yoğun bakım, ameliyathane birimlerinde kritik hastalarda acil değerlendirme, tedavi kararı ve izlemde HBT analizleri sık kullanılmaktadır.

Gelişmekte olan HBT cihazları ile fazla sayıda analit çalışılabilmektedir. Bunlardan en sık kullanılanları;

- ✓ Kan gazı
- ✓ Kan glukoza
- ✓ Otomatize olmayan idrar analizleri (strip veya tablet ile bilirubin, glukoz, hemoglobin, ketonlar, nitrit, pH, protein, dansite, ürobilinojen ölçümleri)
- ✓ Gaitada gizli kan
- ✓ Kardiyak testler (Troponin I ve T, Myoglobin, CK-MB, D-Dimer, NT-ProBNP)
- ✓ Koagülasyon testleri
- ✓ Lipid ve laktat
- ✓ İdrarda gebelik testi
- ✓ Ovülasyon testleri
- ✓ Hemoglobin ve hematokrit
- ✓ Eritrosit sedimentasyon hızı

HBT cihazlarında otomatize edilen ölçüm yöntemleri çoğu nitel olarak ölçüm yapan immünölçümler, enzimatik ölçümlerdir. Mikro teknolojinin ilerlemesiyle elektrotlar, biyosensörler ve mikrobilgisayarlar gibi araçların kullanımı HBT cihazlarında gelişmeyi sağlamıştır. En yaygın kullanılmakta olan ölçüm teknolojisi reflektans spektrofotometredir. Noninvaziv sistemler ise doğruluk açısından yüksek düzeyde olmamakla birlikte fizyolojik durumun izlenmesinde kolaylık ve hastayı yoran tekrarlı parmak ucu kan alımlarını azalttığı için tercih edilmektedir. Noninvaziv sistemlerde yeni teknolojiler arasında infrared spektroskopisi, fotoakustik teknolojiler sayılmaktadır.

Hasta, klinisyen, kurum yönetimi ve bazı durumlarda laboratuvar için daha hızlı sonuç verme, daha az miktarda numune, basit cihaz ve hazır kitler kullanımı gibi çeşitli avantajları olan HBT'lerinin sayısı gün geçtikçe artmakta ve benimsenmektedir. Fakat halen standardizasyonları yapılabilmemiş değildir. Ancak bu cihazların metodoloji, analitik teknoloji, kalibrasyon, kalite kontrol ve hasta sonuçlarının geçerliliği konusunda da eğitimi bulunmayan kullanıcılar tarafından kullanılması, laboratuvar uzman onayının olmaması, verilerin tamamının kaydedilememesi, takip edilememesi, zayıf analitik performans ve otomatik sisteme göre daha pahalı olması önemli dezavantajlarıdır.

Günümüzde entegrasyon sistemleri ile LIS/HIS'e bağlanabilen HBT cihazlarına laboratuvarından hızlı erişim ve müdahale imkanı sağlanmakta ve testlere ait kalite kontrol, kalibrasyon değerlerinin, hasta sonuçlarının, sistem kullanıcıları ve cihazdaki malzemelerinin durumunun kontrol altında tutulması sağlanmaktadır. Ayrıca cihaza eklenen barkod okuyucu veri aktarımında kolaylık sağlamaktadır. Bu şekilde yaptığı analizlere ve sağladığı kolaylıklara göre yasaların öngördüğü laboratuvar standartlarına (hasta sonuçlarının saklanması, kalite kontrol / kalite güvence kayıtları, bakım kayıtları gibi) uymakta ve laboratuvar uzmanı tarafından takip mümkün hale

gelebilmektedir. Bu sistemin belirli bir maliyeti vardır ancak hastane idaresi tarafından konunun önemi her zaman anlaşılamamaktadır.

Hastanelerde HBT için komisyon kurularak laboratuvar uzmanı yönetiminde; birimlerde sorumlular belirlenmeli, cihaz envanterleri tutulmalı ve belirli süreler ile hizmet içi eğitim verilerek cihaz kullanımı ve temizliği gibi bilgiler sürekli tazelenmeli, konunun önemi anlatılmalıdır.

HBT cihazları gelişerek laboratuvarlara alternatif analiz alanları yaratacak gibi görünmektedir. Fakat laboratuvarlarda veya dışında nerede yapılırsa yapılsın tüm tıbbi analizlerde sonuçların geçerliliği ve güvenilirliği sürekli kanıtlanmak zorundadır. Bunun için de özel eğitim gerekliliği vurgulanmalı ve yasalarla güvence altına alınmalıdır.

Kaynaklar

1. Aslan D., M. H. Köseoğlu: Klinik Laboratuvarlarda Otomasyon / Denizli 1999
2. Augustine J. John M. Hickner and Fasika Alem Use of Point-of-Care Tests (POCTs) by US Primary Care Physicians: J Am Board Fam Med May 2016, 29 (3) 371-376
3. Liu J, Geng Z, Fan Z, Liu J, Chen H. Point-of-care testing based on smartphone: The current state-of-the-art (2017-2018): Biosens Bioelectron. 2019 Feb;132:17-37
4. Crocker B, Lewandrowski EL, Lewandrowski N, Gregory K, Lewandrowski K. Patient satisfaction with point-of-care laboratory testing: report of a quality improvement program in an ambulatory practice of an academic medical center: Clin Chim Acta. 2013 Sep 23;424:8-11.
5. Cantero M, Redondo M, Martín E, Callejón G, Hortas ML. Use of quality indicators to compare point-of-care testing errors in a neonatal unit and errors in a STAT central laboratory: Clin Chem Lab Med. 2015 ;53(2):239-47.

K-17a

SAĞLIKTA KALİTE STANDARTLARI VE LABORATUVAR AKREDİTASYONU

A. Erkin BOZDEMİR

Sağlık Bakanlığı İzmir İl Sağlık Müdürlüğü Çiğli Bölge Eğitim Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı, İzmir

Her ne kadar biz Biyokimya Uzmanları olarak uzmanlığımız ve dolayısı ile yaptığımız işler gereği, kalite çalışmalarına fazlasıyla aşina olsak da, TC Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Sağlıkta Verimlilik, Kalite ve Akreditasyon Daire Başkanlığı tarafından geliştirilen Sağlıkta Kalite Standartları (SKS) ve özellikle SKS-Hastane setinde Biyokimya Laboratuvarı ile ilgili yer alan standartlar, zaten yapmakta olduğumuz işleri daha sistematik, geriye dönük olarak takip edilebilir ve belgelenebilir bir düzeye getirmeyi hedeflemektedir. Türkiye Sağlıkta Kalite Sisteminin amacı, hasta ve çalışan güvenliği ve memnuniyetinin, kaliteli hizmet sunumu ile birlikte verimlilik ve klinik etkinliğin sağlanması olarak tanımlanmakta olup, SKS, Biyokimya Laboratuvarı için karşılanması istenen standartlar yanı sıra, temel hedefler kapsamına alınabilecek tüm faaliyetler için farklı bölümlerde yer alan ilişkili standartların da yerine getirilmesini istemektedir.

K-17b

SAĞLIKTA KALİTE STANDARTLARI VE LABORATUVAR AKREDİTASYONU: DIN EN ISO 15189

Serdar ÖZTEZCAN

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

International Organization for Standardization “Tıbbi laboratuvar hizmetleri, hastaların tedavisi için temel bir gereksinimdir ve bu nedenle hastaların ve onların tedavilerinden sorumlu klinik personelin tüm ihtiyaçlarını karşılayacak düzeyde olmalıdır. Bu hizmetler; istem, hastayı hazırlama, hasta tanımı, örnek alınması, taşıma, depolama, klinik örneklerin işlenmesi ve incelenmesi, onaylama, yorumlama, raporlama, tavsiye ve ayrıca laboratuvar çalışmalarında güvenlik ve etik konularını kapsamalıdır” demektedir ve bu amaca hizmet etmek için “DIN EN ISO 15189 Tıbbi laboratuvarlara özgü kalite ve yeterlilik gereksinimleri” standardını tanımlamıştır. Bu standart ; -Hasta güvenliğinin artırılmasına ve risklerin azaltılmasına odaklanmıştır. Diğer standartlardan farkı, kalite yönetim sistemi ile birlikte tıbbi laboratuvarların **teknik yeterliliğini** de sorgulamasıdır. 15189 sağlık sisteminde sadece bir bölüme özgü tek akreditasyon standardıdır.

Niye 15189?

Laboratuvar hizmetlerinin hasta bakımındaki rolü tartışılmazdır. Dolayısıyla hatalı bir raporun önemli tıbbi zararlara yol açması olasılığını gayet iyi bilinmektedir. Ancak laboratuvarlarda kontrol edilebilen veya edilemeyen hata kaynaklarının sayısı oldukça çoktur. Her geçen gün test sayısının artması ve bu testlerin yapılışındaki teknik ve teknolojinin karmaşıklaşması, hatalar konusunda çok daha duyarlı, kapsamlı ve sistematik incelemeler yapmamız gerektiğini ortaya koymaktadır. Hastanede yatan hastalar başta olmak üzere pek çok hastanın laboratuvarını seçme özgürlüğü yoktur. Ayrıca hastalar veya kurumlar çoğunlukla bu testler için oldukça yüksek bedeller ödemektedirler ve sonuçlarını bir kerede doğru ve kesin olarak almak istemektedirler. Bir başka önemli husus hekimlerin veya diğer sağlık personelinin açıklayamadığı test sonuçlarını laboratuvarları suçlayarak aşma eğilimleridir.

Dolayısıyla yüksek nitelikte hizmet veren klinik laboratuvarlar, kendi yeterliliklerini, bir inceleme ve değerlendirme süreci içinde uygun standartlarla karşılaştırarak kanıtlamaya ve kendi durumlarının standartlara uygunluğunu topluma duyurmaya ilgi göstermektedir.

Laboratuvar uzmanına diğer yararları

Hastaneler veya bağımsız laboratuvar kuruluşlarının yukarıdaki genel yaklaşımları dışında, laboratuvar uzmanları açısından bu akreditasyonun yararları ve sunduğu başlıca fırsatlar şu şekilde sıralanabilir;

- Kendimizi dünyadaki veya ülkemizdeki başka laboratuvarlarla işleyiş açısından karşılaştırma
- Laboratuvar yönetimde yeni bilgileri daha hızlı edinme
- Özellikle ülkemizdeki yaygın anlayış olan kuruluştaki en iyisini hedefleyip, ilerleyen süreçte bakım vs konularında duyarlılık göstermeme ezberini bozma, devamlılığı sağlama
- Yönetimleri, firmaları, hastaları, hekimleri, hemşireleri, hizmet satın alan sigorta vb kuruluşları iyi laboratuvar uygulamaları açısından koşullara uymaya zorlama
- Laboratuvar personelini dokümantasyona alıştırma
- Kalitemizi sadece günlük izlemek yerine daha uzun dönemlerle izleme

Standartın içeriği

Standart beş bölüm ve dört ekten meydana gelmektedir;

- Kapsamı
- Standartlara Atıflar
- Kavramlar
- Yönetimin yerine getirmesi gerekenler (Kalite Yönetimi)
 - Kalite el kitabı
 - Denetim bölümü
- Teknik Gereklilikler
 - Personel

- Mekânlar ve Çevre şartları
- Laboratuvar Ekipmanı
- Analiz Öncesi İşlemler
- Analiz İşlemleri
- Analiz İşlemleri Kalite Güvencesi
- Analiz Sonrası İşlemler
- Sonuçların Raporlanması

Süreç

Standart içeriği ilk karşılaştığında (özellikle Sağlık Bakanlığı Kalite Standartları uygulamaya konmadan önceki dönemlerde) bir hukuk metni gibi algılanabilir. Özellikle daha önce herhangi bir standarta yönelik kalite çalışması yapılmadıysa, terminolojinin anlaşılması veya herhangi bir maddenin laboratuvarda karşılanması gereken uygulamasının ne olduğunun anlaşılması standardın defalarca okunup, anlaşılmasını gerektirir.

Daha sonra gereken belgelerin yazılması için; özellikle İstemi yapan doktor, banko görevlisi, İstem sayfasını düzenleyen yazılım görevlisi, İstemi gören hemşire, örnek taşıma elemanı veya pnömotik teknik servisi, örnek kabul sekreteri (acil, rutin), örnek işleme elemanı gibi çalışanlarla yaptıkları görevler açısından empati yapmak işleri nispeten kolaylaştırır. Özellikle 5. madde olan teknik gereklilikler ayrıntılarıyla gözden geçirilerek gereksinimler gerçekleştirilmelidir.

Laboratuvarı uzmanı ve kalite birimi bu akreditasyon sürecinde başrolü oynayacaktır. Ancak bu konudaki başarı; %10 hastane ve bağımsız laboratuvar yönetiminin konuya inanmasına, %15 mevcut fiziksel şartlara, % 10 kurumun kalite geçmişine (Standartlar/Kişiler) ve % 75 oranında laboratuvar personelinin çalışmasına bağlıdır. Konuya inanmış bir teknik ekibiniz yoksa işiniz çok zor olacaktır.

Gerçekten kaliteli çalıştığına inanan laboratuvar, bir grup bilinmeyeni geçtikten sonra süreci tamamlamakta çok zorlanmayacaktır. Akreditasyon zorlu, ancak laboratuvara ve laboratuvar uzmanına katma değeri yüksek olan bir çabadır.

KLİNİK UYGULAMADA KOAGÜLASYON TESTLERİ VE FAKTÖR ANALİZ YÖNTEMLERİ

Sema GENÇ

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

Abstract

The appropriate function of the hemostasis is provided with the balance between anticoagulant and procouplant activity which includes primary hemostasis, secondary hemostasis and fibrinolytic phases.

In the laboratory evaluation of coagulation, the first- stage screening tests including prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT) and fibrinogen are recommended. While prothrombin time (PT) provides the evaluation of extrinsic and common pathways, aPTT is used to investigate the intrinsic and common pathways. International normalization ratio (INR) is used for the standardization of PT results. Fibrinogen plays a crucial roles in establishing hemostasis and wound healing and is measured by modified Clauss, PT derived methods and dry system.

Factor activities are measured by three different methodologies in the clinical laboratory: one-stage clotting assay, two-stage clotting assay, and chromogenic assay.

Özet

Organizmada hemostaz, anti-trombotik ve protrombotik mekanizmalar arasında mevcut olan hassas denge ile sağlanır. Birbirleriyle etkileşim içinde olan ve hassas şekilde kontrol edilen primer hemostaz, sekonder hemostaz ve koagülasyonun kontrolünü sağlayan fibrinoliz hemostazın protrombotik aşamasını oluşturur.

Koagülasyonun laboratuvar incelemesi ilk aşama tarama testleri olan protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ve fibrinojen ölçümü ile yapılır. PT, koagülasyonun ekstresek ve ortak yolunun değerlendirilmesini sağlarken, aPTT ile intrinsek yol ve ortak yol değerlendirilir. PT sonuçlarının standardize edilmesinde uluslararası normalizasyon oranı (INR) kullanılır. Fibrinojen düzeyi pıhtı oluşumu için esas protein olup koagülasyon sonunda fibrine dönüşür ve Clauss metodu, PT bazlı yöntem veya kuru sistemle ölçülebilir.

Klinik laboratuvarlarda fonksiyonel faktör ölçüm yöntemleri ise tek aşamalı, iki aşamalı ve kromojenik yöntemlerle gerçekleştirilir.

HEMOSTAZ

Organizmada hemostaz, anti-trombotik ve protrombotik mekanizmalar arasında mevcut olan hassas denge ile sağlanır. Birbirleriyle etkileşim içinde olan ve hassas şekilde kontrol edilen primer hemostaz, sekonder hemostaz ve koagülasyonun kontrolünü sağlayan fibrinoliz hemostazın protrombotik aşamasını oluşturur (1). Primer hemostaz, endotel hasarını takiben vazokonstriksiyon, trombosit adhezyonu, agregasyonu trombosit tıkaçının oluşumuna kadar geçen aşamadır. Buna karşılık sekonder hemostaz, yaralanmayı takiben koagülasyonla ilişkili proteinlerin aktivasyonu gerçekleşen koagülasyon kaskadıyla fibrin pıhtının oluşumuna kadar geçen olayları kapsar. Oluşan pıhtının kontrolü ise fibrinoliz ile sağlanır. Koagülasyonun laboratuvar değerlendirilmesinde öncelikle protrombin zamanı(PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ve fibrinojenden oluşan ilk aşama tarama testlerinin yapılması önerilir. Kanama hikayesi ile gelen hastada, anamnez ve fizik muayenenin tanısal etkinliğinin zayıf olması, koagülopatilerin tanı ve tedavi takibinde, hasta yakınların taranmasında güvenilir laboratuvar uygulamasının önemini ortaya çıkarmaktadır (1).

Koagülasyon testlerinin klinik uygulamada kullanım amacı:

- Major veya yüksek-riskli cerrahi müdahaleye girecek hastanın pre-operatif hemostatik taranması
- Kanama eğilimi hikayesi olan hastanın araştırılması
- Hemostatik abnormalite saptanmış olan hastanın tanısı
- Antihemorajik tedavi alan hastanın takibi

Tablo 1. İlk aşama tarama ve ikinci aşama koagülasyon testleri (2)

	Birinci aşama (tarama) testler	İkinci aşama (spesifik) testler
Primer Hemostaz	Trombosit sayımı Trombosit fonksiyon testleri	Trombosit agregasyonu Trombosit nükleotidleri Trombosit faktör 3 (PF3) Von Willebrand faktör (antijen ve fonksiyon testleri)
Sekonder Hemostaz	Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) Protrombin zamanı (PT) Fibrinojen (fonksiyonel)	Intrinsik yol faktörleri Faktör VII Fibrinojen (immünolojik) Faktör XIII Trombin ve/veya reptilaz zamanı α 2-antiplazmin Plazminojen aktivatör -1
Alternatif testler	Trombin generation testler, Clot wave form analizleri	

Protrombin zamanı (PT)

Protrombin zamanı, sitratlı plazma örneğine doku faktörü ve fosfolipid'ten oluşan tromboplastin ve kalsiyum ilavesini takiben pıhtı oluşumu için gereken (saniye) süredir. Plazma örneği kaolin, silika veya ellagik asit gibi yüzey kontakt faktörleri ile kontrollü olarak inkübe edilerek CaCl₂ ilave edilir. PT, koagülasyon kaskadının ekstresek ve ortak yollarının birlikte değerlendirilmesini sağlar. Ekstresek yol ve ortak yol koagülasyon faktör yetersizliklerinde (FVII, FX, FV, FII ve fibrinojen) PT uzar. PT reaktiflerinin farklı koagülasyon faktörlerine sensitiviteleri farklıdır (3).

Protrombin zamanı değerlendirilmesinde doku tromboplastinlerin standardize olmayan ve farklı kaynaklardan elde edilmeleri, rekombinan yapım, manuel veya otomatize yöntem farklılıkları (mekanik, optik pıhtı tesbiti, kuru sistem, kromojenik), farklı materyallerle kalibrasyon (taze, donmuş, liofilize) sonuçlarda farklılıkların oluşmasına sebep olabilir (3).

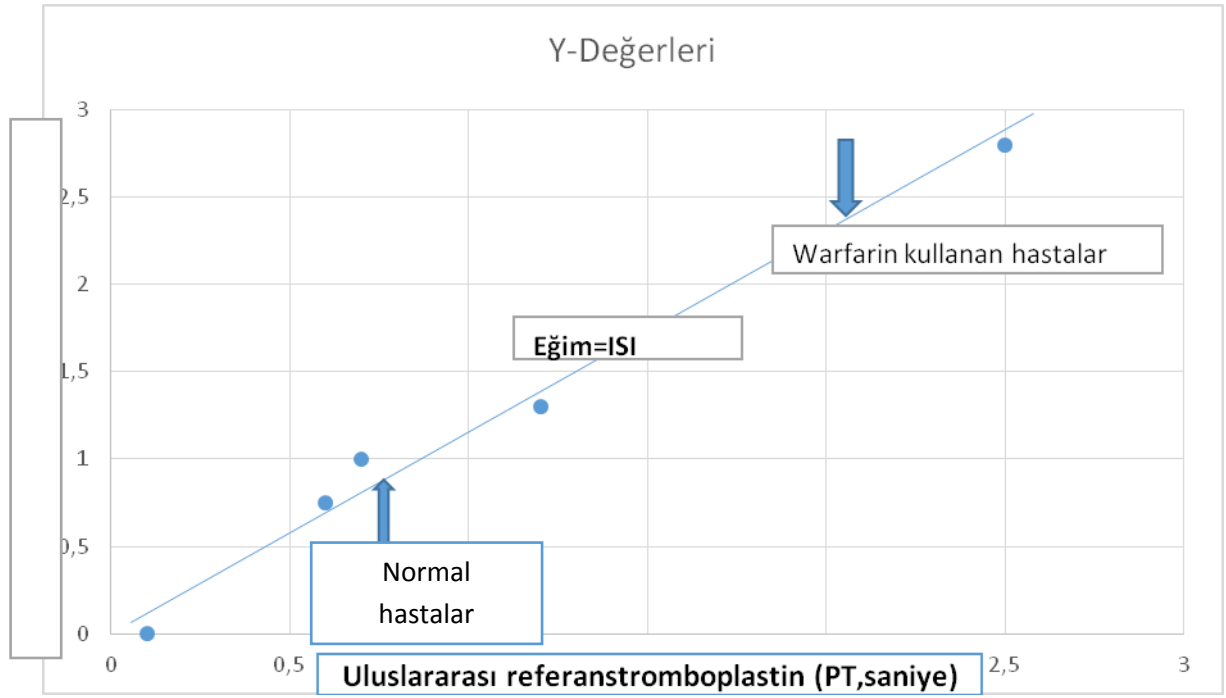
Bu nedenle, PT sonuçlarını standardize etmek için uluslararası normalizasyon oranı (INR) kullanılmaktadır.

Uluslararası normalizasyon oranı (INR)

INR, PT sonuçlarını standardize etmek için kullanılan bir yöntemdir. INR, 1985'de protrombin zamanı raporlanmasında Uluslararası Hematoloji Standardization Komitesi (ISCH) ve Uluslararası Tromboz ve Hemostaz Standardizasyon Komitesi (ICTH) tarafından bir yöntem olarak uygulanması tavsiye edilmiştir(4).

$$INR = \left(\frac{PT_{test}}{PT_{normal}} \right)^{ISI}$$

İlk defa Kirk-wood ve ark, 20 sağlıklı birey ve en az 60 stabilize oral antikoagülan kullanan hasta örneğinde uluslararası tromboplastin standardı kullanarak PT değerlerinin ölçülmesi ve tromboplastinin kalibre edilmesi ile gerçekleştirilen prosedür uygulamıştır. WHO standardının ISI değeri 1.0 (primer standart) olup, diğer tromboplastinler bu primer standarda göre kalibre edilir (sekonder standart). Normal ISI değeri 0.94 - 1.1 arasındadır (5).



Şekil 1. Ulusal referans tromboplastine karşı çalışma tromboplastin ile normal ve warfarin kullanan hastaların çift çalışması ve elde edilen eğrinin eğimi ISI değerini verir.

Aktive Parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT)

Sitratlı hasta örneğine fosfolipitten oluşan doku faktörü içermeyen tromboplastinin (parsiyel) ilave edilmesiyle gerçekleştirilir. aPTT ölçümü intrinsek ve ortak yolun birlikte değerlendirilmesini sağlar. Plazma örneğinin kaolin, silika veya ellagik asit gibi yüzey kontakt faktörleri ile kontrollü olarak inkübasyonu takiben $CaCl_2$ ilave edilir ve pıhtı oluşumu için geçen zaman saniye olarak saptanır.

Intrinsek yol (HMWK, FXII, FXI, FIX, FVIII) ve ortak yol (FV, FII ve fibrinojen) faktör eksikliklerinde aPTT süresi uzar. PT reaktiflerinde olduğu gibi, aPTT reaktiflerinde farklı faktör yetersizliklerine duyarlılığı farklıdır.

PT ve APTT sonuçlarını etkileyen faktörler: Interferans

Genel olarak otomatize koagülasyon sistemlerde elektromekanik ve foto-optik yöntemler kullanılır. Hemoliz, lipemi ve ikter klinik laboratuvarlarda oldukça sık rastlanan durumlardır ve foto-optik yöntemlerde interferans, interfere edici maddelerin (Hemoglobin, bilirubin, lipemi) absorbans gösterdiği dalga boylarının foto-optik yöntemle analiz yapan koagülasyon analizörlerinde kullanılmasından kaynaklanır. (6).

Analitik interferansın yanı sıra interfere edici maddelerin direkt olarak hemostazla etkileşebildiği de bilinmektedir. Hemolize kırmızı hücre fosfolipid membranları phospholipiten zengin yüzey sağlayarak koagülasyon reaksiyonunu hızlandırabilirler. Mekanik ve elektromekanik yöntemle çalışan analizörlerde bu tip interferansların bir kısmı engellenmiş olur. Plazma örneğinin visual inspeksiyonu bu interfere edici ajanların saptanması için bir yol olmakla birlikte, son yıllarda serum indekslerini değerlendiren unitlerin rutin kimya veya koagülasyon analizörlerine eklenmesi gözle ayırt edilmesi zor olan interfere edici maddelerin saptanmasını sağlamaktadır (6).

Yapılan çalışmalar, PT ve fibrinojen üzerinde hemoliz, ikter ve lipeminin belirli interfere edici etkisi gösterilemezken, uzaması beklenen aPTT sonuçlarının bazı reaktiflerle normal aralıkta olduğu saptanmıştır. Sonuçta hemolizli örneklerin koagülasyon testlerinde red edilmesi önerilmektedir.

Hemoliz, ikter ve lipeminin yapabileceği biasın laboratuvar uzmanları tarafından bilinerek sonuçların değerlendirilmesi önemlidir (6).

Fibrinojen ölçümü

Plazmada çözünmüş halde bulunan fibrinojen, pıhtı oluşturmak üzere fibrine yıkılan bir proteindir. Hemostazda ve yara iyileşiminde önemli rol oynar. Yüksek konsantrasyonda fibrinojenin kardiyovasküler hastalıklar, trombozla ilişki olduğuna dair çalışmalar vardır.

Fibrinojen ölçümünde çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte en çok kullanılan modifiye Clauss metodu ve PT-kaynaklı yöntemdir. Ayrıca kuru sistemle de fibrinojen ölçümü çalışılmaktadır. Clauss metodu; dilue edilmiş plazma örneğinde yüksek miktarda trombin varlığında oluşan fibrinojen düzeyini ölçerken, PT-kaynaklı fibrinojen ölçümü; otomatize koagülometrede doku tromboplastinle uyarılmış pıhtılaşma mekanizması esnasında fibrinojen konsantrasyonunun değerlendirilmesini sağlar. Kuru sistemle fibrinojen ölçümü ise tam kan veya plazma örneklerinin bovin trombin aktivatör ve paramagnetik demir oksid partikülleri içeren disposable kartlara uygulanmasıyla gerçekleştirilir ve bu partiküller yukarı ve aşağı hareket halinde olup, pıhtı oluşumu ile hareketleri azalır.

İnterferans

Yapılan çalışmalar, Clauss yöntemiyle elde edilen sonuçların PT-bazlı ölçüm yöntemine göre daha düşük olduğunu, disfibrinojenemide ise fibrinojen antijen düzeylerinin Clauss yöntemiyle elde edilen sonuçlara göre daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır.

Fibrinojen ölçümünde kolloidler bazı analizörlerle yalancı olarak çok yüksek sonuçların elde edilemesine, yüksek konsantrasyonda heparin kullanımı ise daha düşük fibrinojen seviyeleri elde edilmesine yol açmaktadır. Kuru hematoloji sistemlerinin (≤ 6 U/L) yüksek konsantrasyondan etkilenmediği buna karşı PT- bazlı ölçümlerin etkilendiği bildirilmektedir. Kuru sistemle elde edilen sonuçların ise diğer konvansiyonel yöntemlerle anlamlı farklılık göstermediği kolloidler ve heparinden etkilenmediği gösterilmiştir.

Trombin zamanı

İlk aşama testleri ile tanıya ulaşamayan, laboratuvar araştırmanın genişletilmesi düşünülen durumlarda ikinci aşama testler olarak bilinen trombin zamanı, reptilaz zamanı, PAI-1 ve faktör XIII analizlerinin yapılması planlanır.

Trombin zamanı (TT) trombinin fibrinojeni fibrin pıhtıya dönüşümünü değerlendiren bir testtir, maligniteler ölçülemeyecek kadar uzun TT sebebi olabilir. Trombin zamanı ekstresek veya intrensek yoldaki defektleri göstermez.

Uzamış trombin zamanı, heparin kullanımı, trombine karşı antikor varlığı, afibrinojenemi, bazı malignitelerde ve açıklanamayan uzamış pıhtılaşma zamanı olan hastalarda, reptilaz zamanı ile birlikte kanamanın heparin veya diğer heparin benzeri antikoagülanlara bağlı olup olmadığının ayırt edilmesinde kullanılır. Nadir olarak cerrahi müdahallerde sirkulatuar volüm artırıcı olarak kullanılan dekstran gibi kolloidal sıvılar trombin zamanını kısa bulmamıza sebep olabilir. Trombin zamanı trombozlu hastada altta yatan hiperkoagülopatinin sebeplerinin araştırılması sırasında panel testleri içerisinde yer alır.

İnterferans

Disfibrinojenemi, yüksek fibrin yıkım ürünleri (FDP) ve D-dimer düzeyleri uzamış TT sebep olabilir. Paraproteinler ve amiloidoz fibrin polimerizasyonunu interfere ederek interferansa sebep olabilirler. Yüksek fibrinojen düzeylerinin >14 g/L, fibrin birleşimini etkileyerek, hipalbuminemisinin ise (3g/dL) ise fibrin polimerizasyonunu etkileyerek TT zamanı sonuçları değiştirdiği düşünülmektedir.

Reptilaz zamanı

Reptilaz zamanı trombin zamanının modifiye edilmiş şekli olup, pıhtılaşmanın snake venom enzimi «Bothrops atrox» uyarımı iki test arasındaki farklılığı oluşturur. Reptilaz zamanı heparine ve diğer trombin inhibitörü antikoagülan ilaçlara duyarlı değildir ve aynı zamanda Fibrin yıkım ürünlerinin reptilaz üzerine etkisi minimaldir.

Fraksiyone olmayan heparin veya direkt trombin inhibitörleri ile TT etkiler ancak reptilaz zamanı değiştirmez. Reptilaz zamanı ve trombin zamanı disfibrinojenemi tanısında kullanılır. Ancak disfibrinojenemi tanısında doğrulayıcı test: fibrinojen pıhtılaşma aktivitesi /antijen tayinidir.

D-Dimer

D-dimer molekül ağırlığı 180 kDa olan fibrin yıkımının son ürünüdür .Pıhtılaşma kaskadını son aşamasında, fibrinojen fibrine dönüşür ve oluşan fibrin monomerler öncü trombosit tıkaçındaki fibrillerin ucuca yanayana gelmesiyle spontan olarak aggrege olarak güçlenir. Daha sonra trombin etkisiyle aktive olan Faktör XIII, kovalan çapraz bağların oluşmasını fibrin monomerlerin polimerize olarak, stabil, insolubl stabil fibrin pıhtı oluşumuna sebep olur. Stabilize edici çapraz bağlar, aynı zamanda komşu fibrin monomerlerinin dış tarafta bulunan D domain ve santral E domainleri arasında da oluşur ve komşu dimerik D domainler, D-dimer olarak tanımlanır. .

Fibrin yıkım ürünlerinin klinikte kullanımı 1970 yıllarda Stafilokoksik kümelenme, lateks fiksasyonu ve aglütinasyonu, hemaglutinin inhibisyon, immunelektroforez, immundiffuzyon gibi tekniklerle değerlendirilmeye başlanmıştır. Ölçüm sensitivitesi ve spesifitesinin gelişmesi, 1980 'li yıllarda FDP'lerde bulunmayan spesifik D-dimer epitoplarına karşı geliştirilen monoklonal antikorların ölçüm yöntemlerine girmesiyle gerçekleşmiştir. İlk yıllarda monoklonal antikorlarla kaplanan lateks mikropartiküllerinin aglütinasyonu visual olarak değerlendirilirken, günümüzde kalitatif değerlendirilen testler yerini kantitatif ELISA testlerine bırakmıştır. Refererans yöntem ELISA yöntemidir. Ancak bugün klinik laboratuvarlarda, immunofloresan, lateks ile güçlendirilmiş immunoinhibisyon , immunoturbidimetrik veya kemiluminesan yöntemler ile sensitivitesi ve spesifitesi yüksek kantitatif analiz yöntemleri de kullanılmaktadır.

D-dimer düzeyi sağlıklı erişkinde <0.5 µg/ml olup artmış D-dimer düzeyleri; pulmoner embolizm (PE), derin ven trombozu (DVT), ateroskleroz, myokard infarktüsü, akut iskemik atak, unstable angina gibi kardiyovasküler hastalıklarda, benign ve malign hastalıklar görülebilir. Günümüzde FDP ölçümü yerini daha hassas, ticari D- dimer yöntemlerine bırakmıştır.

Kanamalı hastalıklarda faktör analiz yöntemleri

Faktör (F) düzeyi ölçümü genellikle faktör yetersizliği düşünülen hastada APTT ve/ veya PT uzaması sonucu planlanan 2.aşama koagülasyon testleridir.

Ölçüm yöntemleri

Fonksiyonel faktör ölçüm yöntemleri benzerdir. Test plazmasının, ölçülecek spesifik pıhtılaşma faktörü eksik olan pıhtılaşma sistemine eklenmesini takiben pıhtılaşma süresinin ölçülmesidir. Ölçüm, dilüe referans plazmaya karşı kalibre edilir. Pıhtılaşma zamanındaki düzelleme derecesi, test plazmasındaki faktör aktivitesi ile direkt olarak ilişkilidir. Pıhtılaşma faktörü spesifik olarak eksik olan plazma, pıhtılaşma sistemine eklendiğinde ölçümde değeri %100 olduğu kabul edilen ticari referans plazma standartları kullanılır (100 IU/dl, 1.00 IU/ml).

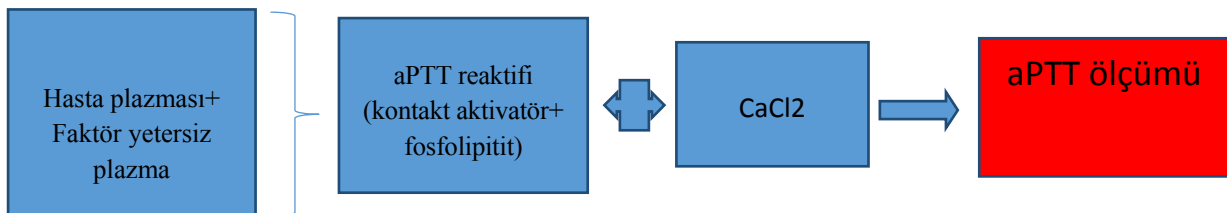
Faktör düzeyi ölçümleri; Tek aşamalı, 2 aşamalı ve kromojenik yöntemlerle ölçülebilmektedir.

a-Tek-Aşamalı faktör ölçümleri

Tek aşamalı PT-bazlı yöntem, Faktor V, VII, X ve II (prothrombin) aktiviteleri ölçümleri için kullanılır. Referans plazmanın spesifik olarak faktör eksikliği olan plazmaya eklenmesi ile PT süresindeki düzelleme, hasta örneğindeki yetersiz faktör düzeyi ile direkt olarak ilişkilidir ve eksik faktör düzeyinin saptanmasını sağlar (7).

Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) ve CAP test plazmasının en az 3 farklı dilüsyonda ve faktör yetersiz plazmanın test edilmesi gerekliliğini şart koşmaktadır(8,9).Faktör düzeyinin analitik ölçüm sınırları dışında olması halinde ilave dilüsyonlar yapılarak değerlendirilir (7-9).

Tek aşamalı aPTT bazlı faktör ölçümleri FVIII, IX, XI ve XII faktör aktiviteleri ölçümü için kullanılır. Faktör eksikliklerinin tanısının yanısıra replasman tedavisinin izlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Hasta plazmasının, faktör yetersiz plazmanın (hemofili A'lı hastadan elde edilen plazma veya VWF antijen düzeyi ve aktivitesi yeterli, immünolojik olarak faktör VIII düzeyi baskılanmış plazma) aPTT'sini kısaltmasını değerlendirir.



Tek aşamalı Faktör aktivitesi ölçümünün avantajları: basit ve otomatize uygulanabilirliği, faktör aktivitesinin ≤ 0.1 gibi olgularda, ayrı bir kalibrasyon ve örnek dilüsyonu ile çalışılabilmesi ,düşük FVIII aktiviteli örneklerde (~ 0.5) tekrarlanabilirliğinin (%CV düşük ~ 18), kromojenik (~ 27 CV) yöntemle göre daha düşük olması başlıca avantajlarını oluşturmaktadır.

Tek aşamalı ölçümle Faktör düzeyi ölçümülerinde laboratuvarlar arasında büyük farklılıklar olması; çeşitli aPTT reaktiflerinin kullanımına; fosfolipit kaynağının tipi (bitkisel veya hayvansal kaynaklı) ve konsatrasyonuna ,yüzey aktivatör tipine (ellagik asit, silika, kaolin, polifenoller), faktör yetersiz plazma elde edilme şekline, mekanik veya optik kullanılan analizör ve yöntem farklılığına, kalibrasyon materyali bağlı olarak değişebilir (7).

b-Faktör ölçümünde İki-aşamalı ölçüm yöntemi

İki-aşamalı test, öncelikle modifiye tromboplastin dilüsyon testi olarak geliştirilmiştir. Ölçümün ilk aşamasında aktif FX oluşur ve reaksiyon karışımında yüksek konsantrasyonda fosfolipit, kalsiyum, ve FV vardır. Ortama FIX ve FX kaynağı olarak pıhtılaşmış insan serumu eklenir. Alüminyum hidroksit protrombin ve diğer aktive K vitaminine bağlı faktörleri absorbe ederek pıhtılaşmayı önler. Örnekteki fonksiyonel FVIII miktarı, aFX oluşumunda hız sınırlayıcı basamaktır. İkinci aşamada; normal plazma eklenerek protrombin ve fibrinojen reaksiyon karışımına eklenmiş olur ve trombin ve fibrin oluşur ve pıhtılaşma zamanı saptanır.

İki aşamalı Faktör aktivitesi ölçümünün avantajları; tek-aşamalı faktör ölçüm yöntemine göre daha komplike olup klinik laboratuvarlarda daha az kullanılır. Reaktifte bağlı farklılıklar daha az görülür ve alüminyum hidroksit ilavesi nedeniyle aktiflenmiş FVIII'e bağlı yalancı yüksek sonuçlar görülmez(7).

c-Kromojenik Yöntem

Kromojenik yöntem iki aşamalı faktör ölçüm yöntemine benzer prensibe dayanır. Bu yöntemde, ilk aşamada; bilinmeyen miktarda fonksiyonel FVIII içeren hasta plazması, trombin veya protrombin, aFIX, FX , Ca ve fosfolipid içeren reaksiyon karışımına ilave edilir. aFVIII hemen oluşur , FIX ile birlikte aFVIII FX'ü aktive eder. Reaksiyon durdurulduğunda aFX yapımının örnekteki fonksiyonel FVIII orantılı olduğu düşünülür. Reaksiyonun 2. aşamasında FX'a spesifik bir peptid olan nitroanilid substratının ayrılmasıyla aFX ölçülür. P- nitroanilin yapımı esnasında fotometrik olarak 405 nm absorbans veren bir renk oluşur ve oluşan renk direkt olarak örnekteki fonksiyonel FVIII ile ilişkilidir (7,10).

İnterferans

Tek-aşamalı yöntemler; Lipemi, heparin, direkt trombin inhibitörleri veya direkt aktif FX inhibitörleri gibi antikoagülan tedavi, iki-aşamalı ve kromojenik yöntemlere göre tek aşamalı yöntemi daha fazla etkiler. Örnek toplanması sırasında FVIII aktive olabilir ve mevcut FVIII orantılı yalancı olarak yüksek bulunur.

İki aşamalı yöntemde ise; reaksiyon ortamına eklenen alüminyum hidroksid, ölçüm reaksiyonu öncesi aktiflenmiş faktörü uzaklaştırarak yalancı yüksek sonuçları önlenmesini sağlar.

Kromojenik yöntemde; Trombin eklenmesi maksimum FVIII aktivasyonu sağlarken, trombin inhibitörü ilavesiyle de kromojenik substrattan trombinin ayrılması engellenir. Kromojenik yöntem kullanımında heparin ve direkt trombin inhibitörlerinin oluşturduğu interferans tek-aşamalı ölçüme göre daha azdır. Direkt aktif FX inhibitörlerinden etkilenebilir, yalancı olarak daha düşük FVIII aktivitesi sonuçları alınır. (10).

Kromojenik yöntemin dezavantajı daha pahalı olması, ticari olarak az sayıda kit olmasıdır.

Hafif hemofili olgularında tek aşamalı ve iki-aşamalı yöntemler ve tek aşamalı yöntemle kromojenik yöntem arasında ölçümler arasında tutarsızlık saptanmıştır. Bu olguların bazılarında sonuçlar arasındaki farklılıkların klinik defekten ziyade polimorfizme bağlı olduğu ortaya konmuştur. Çoğu stabil olmayan aktif FVIII A2 bölgesine bulunduran bir alt grup hemofili hastasında (% 20-30) kromojenik yöntemle daha düşük ($1.5-2x$) aktivite elde edilmektedir. Aynı şekilde lupus antikoagülan varlığında da tek aşamalı yöntemle FVIII yetersizliği veya spesifik FVIII inhibitörü taklit eden bir interferans görülebilir. Ancak kromojenik yöntem kullanımında lupus antikoagülan interfere etmez. Tek aşamalı testle yalancı olarak düşük bulunan FVIII aktivitesi, kromojenik yöntemle normal bulunur.Hafif kanamalı hastalarda tek-aşamalı ve kromojenik yöntemlerin birlikte kullanılması önerilmektedir.

Kaynaklar

1. O'Donnells JS, O'Sullivan JM, Preston RJS. Advances in understanding the molecular mechanisms that maintain normal haemostasis. *Br J Haematol* 2019; doi: 10.1111/bjh.15872
2. Lippi G, Franchini M, Guidi GC. Diagnostic approach to inherited bleeding diseases. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:2-12.
3. Thiruvankatarajan V, Pruet A, Adhikary SD. Coagulation testing in the perioperative period. *Indian J Anaesthesia*. 2014; 58: 565-572.
4. Poller L, Ibrahim S, Jespersen J, Pattison A. Coagulometer international sensitivity index (ISI) derivation, a rapid method using the prothrombin time/international normalized ratio (PT/INR) Line: a multicenter study. *J Thromb Haemost* 2012;10:1379-1384.
5. WHO Expert Committee on Biological Standardisation. 33rd Report. *WHO Tech Rep Ser* 1983; 687: 81– 105.
6. Junker R, Kase M, Schulte H, et al. Interferences in coagulation tests--evaluation of the 570-nm method on the Dade Behring BCS analyser. *Clin Chem Lab Med* 1005; 43. 244-252.
7. Moser KA, Funk DM. Chromogenic factor VIII activity assay. *Am J Hematol* 89: 781-782, 2014.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards (USA). *Determination of Factor Coagulant Activities: Approved Guideline*. NCCLS, 1997. H48 -A, 17 number 4.
9. Kitchen S, McCraw A, Echenagucia M. *Diagnosis of Haemophilia and Other Bleeding Disorders: A Laboratory Manual* (2nd edn). Montreal, QC: World Federation of Haemophilia, 2010.
10. Kitchen S, Gray E, Merten K. Monitoring of modified FVIII and IX products. *Haemophilia* 20 (Suppl.4):36-42, 2014.

KOAGÜLASYON KARIŞIM TESTLERİ ve KLİNİK KULLANIMI

COAGULATION MIXING TESTS AND CLINICAL USE

Güneş AK

gunesak@yahoo.com; gunes.basol@ege.edu.tr

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Bilim Dalı, İzmir

ÖZET

Karışım testleri, sıklıkla aktive parsiyel tromboplastin zamanındaki (APTZ) ve nadiren protrombin zamanındaki (PZ) uzamaların araştırılmasında ilk basamakta kullanılan testlerdir. Karışım testlerini uygulamanın amacı faktör eksikliklerini, pıhtılaşma reaksiyonlarını inhibe eden antikorlar olan lupus antikoagülanları ve spesifik faktör inhibitörleri gibi dolaşımdaki inhibitörlerden ayırt etmek ve ileri tetkiklere yön vermektir. Karışım testlerinde temel prensip hasta plazmasının, normal plazma havuzu ile 1:1 oranında karıştırılması sonrasında uzamış olan tarama testinin (APTZ/PZ) tekrarlanmasıdır. Karışım testi sonucunda hasta plazmasında uzamış olan APTZ/PZ düzeliyorsa pıhtılaşma faktörü eksikliği; APTZ/PZ düzelmiyorsa inhibitör varlığı düşünülür. Karışım testlerinin doğru uygulanması ve yorumlanması, takip testlerinin belirlenmesinde ve tanısal etkinliğin artırılmasında çok önemlidir.

Anahtar kelimeler: Protrombin zamanı; Aktive parsiyel tromboplastin zamanı; Karışım testleri; Faktör eksikliği; İnhibitör

ABSTRACT

Mixing tests are used as a first step tool to evaluate prolongations of the activated partial thromboplastin time (APTT) and less commonly the prothrombin time (PT). Mixing tests are useful in making the distinction between a clotting factor deficiency and a factor inhibitor. The primary purpose of a mixing study is to guide further investigations. In the mixing test, the patient's plasma is mixed with normal pooled plasma in a 1:1 ratio, and the clotting time test (APTT/PT) is repeated. Correction of the clotting time implies a clotting factor deficiency where as an inhibition of the clotting time implies an inhibitor. The appropriate performance and interpretation of mixing tests is very important in determining the follow-up tests and in aiding the most accurate diagnosis for the patients.

Key words: Prothrombin time; Activated partial thromboplastin time; Mixing tests; Factor deficiency; Inhibitor

GİRİŞ

Protrombin zamanı (PZ) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTZ) hemostazın değerlendirilmesinde en sık başvuru tarama testleridir. Bu testler için en sık kullanılan endikasyonlar arasında, hemorajik semptomların değerlendirilmesi, antikoagülan tedavi izlemi ve rutin preoperatif tarama yer alır. PZ ekstresek ve ortak koagülasyon yollarının bütünlüğünü ölçerken; APTZ koagülasyon kaskadının intrinsek ve ortak yollarının bütünlüğünü ölçer. Koagülasyon kaskadında yer alan pıhtılaşma faktörlerinin eksikliği veya faktör inhibitörleri PZ ve/veya APTZ'nin uzamasına neden olabilir. PZ ve/veya APTZ'nin uzun bulunması halinde, bu duruma yol açan nedenlerin mutlaka araştırılması ve PZ ve/veya APTZ'deki uzamanın artifisyel, ilaçla ilişkili veya hemostatik bir bozukluğa bağlı olup olmadığının belirlenmesi gerekir (1).

Karışım testleri, sıklıkla APTZ ve nadiren PZ'deki uzamaların araştırılmasında ilk basamakta kullanılan testlerdir. Karışım testlerini uygulamanın amacı faktör eksikliklerini, pıhtılaşma reaksiyonlarını inhibe eden antikorlar olan lupus antikoagülanları ve spesifik faktör inhibitörleri gibi dolaşımdaki inhibitörlerden ayırt etmek ve ileri tetkiklere yön vermektir (1-4). Karışım testlerinde temel prensip hasta plazmasının, tüm pıhtılaşma faktör düzeylerinin %100 olduğu düşünülen normal plazma havuzu ile 1:1 oranında karıştırılması sonrasında uzamış olan tarama testinin (APTZ/PZ) tekrarlanmasıdır. Böylece karışımdaki pıhtılaşma faktörleri en az %50 düzeyinde olacaktır. Karışım testi sonucunda hasta plazmasında uzamış olan APTZ/PZ düzeliyorsa pıhtılaşma faktörü eksikliği; APTZ/PZ düzelmiyorsa spesifik (ör. Faktör VIII veya Faktör V inhibitörü) veya non-spesifik inhibitörlerin (lupus

antikoagülanı gibi) varlığı düşünülür. Bu ayrımın yapılması ileri tetkiklere yön verilmesi açısından çok önemlidir (1-3). Ayrıca hastanın klinik hikâyesinin ve kullandığı ilaçların bilinmesi de ileri tetkiklere karar aşamasında gereklidir. Örneğin kanama semptomları olan bir hastada eksikliği düşünülen pıhtılaşma faktörlerinin düzeylerinin ölçülmesi, ayrıca spesifik faktör inhibitörü varlığı da düşünülüyorsa faktör inhibitör tarama ve doğrulama testlerinin de uygulanması gerekir. Asemptomatik ya da tromboz hikayesi olan bir hastada ise lupus antikoagülan testlerinin yapılması uygun olur. Lupus antikoagülanları protein-fosfolipid komplekslerine karşı gelişen antikorlar olup, daha çok APTZ'de uzamaya yol açar. Lupus antikoagülanlarının varlığı tromboembolizm için bir risk faktörüdür (1, 2, 4). Uygulanacak ileri tetkiklerin basit tarama testlerine göre daha pahalı ve zaman alıcı olması nedeni ile karışım testlerinin performansının iyi olması ve test sonuçlarının doğru bir şekilde yorumlanması çok önemlidir (2).

Karışım Testi Sonuçlarını Etkileyen Faktörler

Karışım testleri oldukça kolay uygulanabilir testler olmakla birlikte, karışım testi sonuçlarını etkileyen bazı faktörler vardır. Faktör eksikliğinin derecesi, inhibitörün türü ve etki gücü hasta kaynaklı faktörler iken; normal plazma havuzunun hazırlanışı, kullanılan PZ ve APTZ kitlerinin faktör ve inhibitör duyarlılık düzeyleri ve sonuçların yorumlanma yöntemi ise laboratuvar kaynaklı faktörler arasında yer alır (2).

KARIŞIM TESTLERİNDE PREANALİTİK EVRE

PZ ve APTZ Sonuçlarını Etkileyen Preanalitik Değişkenler: PZ ya da APTZ'deki uzamayı araştırmaya başlamadan önce preanalitik süreci etkileyen değişkenlerin gözden geçirilmesi ve örnek ya da hasta ile ilişkili interferans kaynaklarının dışlanması gerekir. PZ ve APTZ'yi etkileyen preanalitik interferans kaynakları arasında, hatalı antikoagülan içeren örnekler (heparin ya da EDTA kontaminasyonu gibi), uygunsuz antikoagülan/kan oranı, hasta hematokrit düzeyinde aşırı yükseklik, hemolizli örnek, pıhtılı örnek, hastada antivitamin K, trombin inhibitörleri veya trombolitik ajan kullanımı vb. yer almaktadır (1, 2, 5, 6). APTZ'nin uzamış olduğu durumlarda öncelikle örnekteki heparin varlığının dışlanması gerekir. Hasta plazmasında heparine çok duyarlı olan trombin zamanı testi uzamış, reptilaz zamanı testi normal olarak tespit edilirse, örnek heparin içeriyor demektir. Örneğin heparin içermediği tespit edildikten sonra karışım testi uygulanmalıdır (1, 3, 4).

Test Seçimi: Seçilen karışım testi, uzamış pıhtılaşma süresini tespit etmek için kullanılan test ile aynı prensibe dayanmalıdır. Hastanın sadece PZ'si uzamış ise PZ karışım testi; sadece APTZ'si uzamış ise APTZ karışım testi istenmelidir. Hastanın PZ ve APTZ'si birlikte uzamış ise, PZ ve APTZ karışım testi birlikte istenmelidir.

Normal Plazma Havuzunun Hazırlanışı (7, 8): Normal plazma havuzları ticari olarak elde edilebileceği gibi, laboratuvarlarda da hazırlanabilir.

- Pıhtılaşma faktörleri ve koagülasyon reaksiyonları ile etkileşen ilaç kullanmayan, PZ ve APTZ sonucu normal olan en az 20 sağlıklı donör seçilir. Donörlerin kanları %3.2 trisodyum sitrat içeren tüplere alınmalıdır.
- Donörler eşit sayıda kadın ve erkek içermeli ve yaşları 20-50 arasında olmalıdır.
- Trombositten fakir plazma (trombosit sayısı < 10.000/ μ L) elde edebilmek için her bir donörün sitratlı plazması 1500 g'de 15 dakika çift-santrifüje tabi tutulur.
- Santrifüj sonrasında her bir donörün plazmasından eşit hacimde alınarak, bir başka tüpte birbiri ile karıştırılır. Hazırlanan karışımda PZ ve APTZ ölçülerek, sonuçların referans aralık içinde olduğu kontrol edilir.
- Hazırlanmış olan normal plazma havuzu 500 μ L'lik viyallere porsiyonlanarak, hızlıca derin dondurucuya kaldırılır (-80°C / -20°C). Normal plazma havuzu, -80°C'de >6 ay; -20°C'de 1 ay stabildir.
- Normal plazma havuzu, karışım çalışması öncesinde 37°C'lik su banyosunda hızlıca çözülür.

KARIŞIM TESTLERİNDE ANALİTİK EVRE

Kullanılan PZ ve APTZ Kitlerinin Duyarlılık Düzeyleri: Kullanılan fosfolipidlerin kökeni (tavşan beyini, soya, bitki...), konsantrasyonu ve aktivatörler (silika, kaolin, ellagic acid...) APTZ kitleri arasında; kullanılan tromboplastin kaynakları da PZ kitleri arasında farklılıklar gösterir. Bu farklılıklar kitlerin faktör eksikliğine, lupus antikoagülanlarına ve diğer inhibitörlere olan duyarlılık düzeylerini belirler. PZ/APTZ'deki uzamaların ve karışım testi sonuçlarının doğru yorumlanabilmesi için PZ/APTZ'deki uzamaları araştırmaya ve karışım testi çalışmalarına başlamadan önce laboratuvarda kullanılmakta olan PZ ve APTZ kitlerinin faktör eksikliğine, lupus antikoagülanlarına ve diğer inhibitörlere olan duyarlılık düzeylerinin bilinmesi gereklidir (2, 6, 7).

1:1 Karışım Testlerinin Uygulanışı (1, 7)

- Hastanın PZ'si uzamış ise PZ karışım testi; APTZ'si uzamış ise APTZ karışım testi; her ikisi birden uzamış ise PZ ve APTZ karışım testi birlikte uygulanır.
- Öncelikle karışım testi istenen plazmada uzamış olan pıhtılaşma testi (PZ/APTZ) ölçülür.
- Normal plazma havuzunda PZ ve APTZ çalışılarak not edilir (normal çıkması gerekir).
- 200 µL PZ/APTZ'si uzamış olan hasta plazması, 200 µL normal plazma havuzu ile karıştırılarak, bu karışımda hemen PZ/APTZ ölçümü yapılır (inkübasyonsuz karışım testi).
- Bazı inhibitörler geç inhibitör etki gösterdiğinden, ölçüm sonrasında karışımın olduğu tüpün kapağı kapatılarak, karışım 37°C'de 1-2 saat inkübe edilir.
- 1-2 saatin sonunda karışımda tekrar PZ/APTZ ölçülür (inkübasyonlu karışım testi).

KARIŞIM TESTLERİNDE POSTANALİTİK EVRE

APTZ Karışım Testi Sonuçlarının Yorumlanması

APTZ'si uzamış, PZ'si normal olan bir hastanın APTZ karışım testi sonucu yorumlanırken üç olasılıktan biri mümkündür:

1. APTZ, hem inkübasyonsuz hem de inkübasyonlu karışım testinde düzelir (referans aralık içine girer). Bu durum intrinsek yol faktör eksikliğini düşündürür. Spesifik faktör eksikliğini belirlemek için Faktör VIII, IX, XI ve XII düzeylerinin ölçülmesi gerekir. APTZ ile birlikte PZ de uzamış ise ortak yol faktör eksikliği olabileceğinden fibrinojen, Faktör II, V, X düzeylerinin ölçülmesi uygun olur (1, 2, 4).
2. APTZ, inkübasyonsuz karışım testinde düzelirken (referans aralığın içine girer ya da hastanın orijinal pıhtılaşma zamanından belirgin olarak kısılır), inkübasyonlu karışım testinde uzamış olarak saptanır. Bu sonuçlar, gecikmiş tipte spesifik bir faktör inhibitörünün (sıklıkla faktör VIII inhibitörü) varlığına işaret eder. Bu durumu aydınlatmak için öncelikle Faktör VIII ölçümünün yapılması gerekir. Faktör VIII düzeylerinin düşük olduğu tespit edilirse, Faktör VIII inhibitör testinin (Bethesda testi) yapılması gerekir (1, 2, 4).
3. APTZ, hem inkübasyonsuz hem de inkübasyonlu karışım testinde uzamış olarak saptanır. Bu durum lupus antikoagülanı gibi spesifik olmayan bir inhibitör varlığına ya da heparin veya direkt trombin inhibitörü gibi antikoagülan ilaç kullanımına işaret eder. Hastada antikoagülan kullanımı yoksa lupus antikoagülan tarama testinin yapılması uygun olur (1, 2, 4). Pıhtılaşma zamanındaki uzamanın antikoagülan kullanımına bağlı olup olmadığının ayırımında alternatif olarak trombin zamanı ve reptilaz zamanı ölçümü de kullanılabilir. Heparin ve direkt trombin inhibitörü kullanan kişilerde trombin zamanı uzamış, reptilaz zamanı ise normal olarak tespit edilir (2, 3, 9).

PZ Karışım Testi Sonuçlarının Yorumlanması

PZ'si uzamış, APTZ'si normal olan bir hastanın PZ karışım testi sonucu yorumlanırken üç olasılıktan biri mümkündür:

1. PZ, hem inkübasyonsuz hem de inkübasyonlu karışım testinde düzelir (referans aralık içine girer). Bu durum extrinsek yol faktör eksikliğini ya da ortak yol faktörlerinin hafif-orta derecede eksikliğini düşündürür. Spesifik faktör eksikliğini belirlemek için Faktör VII, fibrinojen, Faktör II, V, X ölçümü yapılması gerekir (1, 2, 4).
2. PZ, inkübasyonsuz karışım testinde düzelirken (referans aralığın içine girer ya da hastanın orijinal pıhtılaşma zamanından belirgin olarak kısılır), inkübasyonlu karışım testinde uzamış olarak saptanır. Bu sonuçlar, Faktör V inhibitörü gibi gecikmiş tipte spesifik bir faktör inhibitörünü düşündürür. Ancak APTZ'yi etkilemeden sadece PZ'yi etkileyen inhibitörler çok nadirdir (1, 2, 4).
3. PZ, hem inkübasyonsuz hem de inkübasyonlu karışım testinde uzamış olarak saptanır. Bu durum lupus antikoagülanı gibi spesifik olmayan bir inhibitör varlığına işaret eder. Ancak APTZ'yi etkilemeden sadece PZ'yi etkileyen bu inhibitörler çok nadirdir (1, 2, 4).

SONUÇ

PZ ve APTZ'de uzamaya yol açan faktör eksiklikleri ve spesifik faktör inhibitörleri kanama riskini artırırken, lupus antikoagülanlarının varlığı tromboz riskini artırır. Karışım testleri, faktör eksikliklerini, dolaşımdaki inhibitörlerden ayırt etmekte ilk basamakta kullanılan testler olduğundan, bu testlerin doğru uygulanması ve yorumlanması, takip testlerinin belirlenmesinde ve tanısal etkinliğin artırılmasında çok önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Kamal AH, Tefferi A, Pruthi RK. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. *Mayo Clin Proc.* 2007; 82(7):864-873.
2. Kershaw G, Orellana D. Mixing Tests: Diagnostic Aides in the Investigation of Prolonged Prothrombin Times and Activated Partial Thromboplastin Times. *Semin Thromb Hemost* 2013; 39:283–290.
3. Kitchen S and Makris M. Laboratory Tests of Hemostasis. In: Key N, Makris M, O'Shaughnessy D, Lillicrap D, eds. *Practical Hemostasis and Thrombosis*. 2nd ed. Chichester: Blackwell Publishing Ltd; 2009. p. 7-16.
4. Van Cott EM, Laposata M. Coagulation, Fibrinolysis and Hypercoagulation. In: Henry JB, ed. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 20th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 642-659.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline-Fifth Edition*, CLSI document H21-A5 (ISBN 1-56238-657-3). USA, 2008.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline-Second Edition*. CLSI document H47-A2 (ISBN 1-56238-672-7). USA, 2008.
7. Kershaw G. Performance and Interpretation of Mixing Tests in Coagulation. In: Favaloro EJ, Lippi G, eds. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. New York: Springer Nature; 2017. p. 85-90.
8. Kitchen S, McCraw A, Echenagucia M. Preparation and Calibration of Pooled Normal Plasma (PNP). In: Members of the World Federation of Hemophilia Laboratory Sciences Committee eds. *Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders, A Laboratory Manual*. 2nd ed. Quebec: World Federation of Hemophilia; 2010. p. 22-23.
9. Zehnder JL. Clinical use of coagulation tests. www.uptodate.com. ©2018 UpToDate.