



T. C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**HEMATOLOJİ ANALİZÖRLERİNDE YÖNTEM
KARŞILAŞTIRMASI, ÇIKAN CİHAZ UYARILARININ
PERİFERİK YAYMA İLE BİRLİKTE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Ahmad KADO

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Haziran 2024
İSTANBUL**



T. C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**HEMATOLOJİ ANALİZÖRLERİNDE YÖNTEM
KARŞILAŞTIRMASI, ÇIKAN CİHAZ UYARILARININ
PERİFERİK YAYMA İLE BİRLİKTE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Ahmad KADO

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa Baki ÇEKMEN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Haziran 2024
İSTANBUL

ONAY

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Uzmanlık öğrencisi olan Ahmad KADO'un hazırladığı ve jüri önünde savunduğu "HEMATOLOJİ ANALİZÖRLERİNDE YÖNTEM KARŞILAŞTIRMASI, ÇIKAN CİHAZ UYARILARININ PERİFERİK YAYMA İLE BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ" başlıklı tez başarılı kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

Prof. Dr. Ferruh Kemal İŞMAN
İstanbul Medeniyet Üniversitesi

İMZA

.....

Prof. Dr. Mustafa Baki ÇEKMEN
İstanbul Medeniyet Üniversitesi

.....

Öğr. Üyesi Dr. Hayriye ERMAN
İstanbul Medeniyet Üniversitesi

.....

Tez Savunma Tarihi: / 06 / 2024

YAZAR BİLDİRİMİ

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı bünyesinde hazırladığım bu Uzmanlık tezinin bizzat tarafımdan ve kendi sözcüklerimle yazılmış orijinal bir çalışma olduğunu ve bu tezde;

- Çeşitli yazarların çalışmalarından faydalandığımda bu çalışmaların ilgili bölümlerini doğru ve net biçimde göstererek yazarlara açık biçimde atıfta bulunduğumu;
- Yazdığım metinlerin tamamı ya da sadece bir kısmı, daha önce herhangi bir yerde yayımlanmışsa bunu da açıkça ifade ederek gösterdiğimi;
- Alıntılanan başkalarına ait tüm verileri (tablo, grafik, şekil vb. de dahil olmak üzere) atıflarla belirttiğimi;
- Başka yazarların kendi kelimeleriyle alıntıladığım metinlerini kaynak göstererek atıfta bulunduğum gibi, yine başka yazarlara ait olup fakat kendi sözcüklerimle ifade ettiğim hususları da istisnasız olarak kaynak göstererek belirttiğimi,

Beyan ve bu etik ilkeleri ihlal etmiş olmam halinde bütün sonuçlarına katlanacağımı kabul ederim.

Haziran, 2024

Dr. Ahmad KADO

İmza:

BİLGİLENDİRME

- Bu tez daha önce herhangi bir yerde yayınlanmamıştır.
- Bu tezin hazırlanmasında tez danışmanım Prof. Dr. Mustafa Baki ÇEKMEN katkıda bulunmuştur.
- Bu çalışmaya ait herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Dr. Ahmad KADO



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici, destek olan ve önerilerini göstermekten kaçınmayan değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Mustafa Baki ÇEKMEN başta olmak üzere Prof. Dr. Ferruh Kemal İŞMAN'a, Uzm. Dr. Ramazan Murat KOŞER'e, Doç. Dr. Fatih YEŞİLDAL'a ve İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Biyokimya Bölümü'ndeki bütün hocalara ve uzmanlara teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ONAY.....	i
YAZAR BİLDİRİMİ	ii
BİLGİLENDİRME	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
KISALTMALAR	vii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KAN HÜCRELERİN ANALİZİ	3
2.1.1. Kan hücrelerin analizine tarihsel bakış	3
2.1.2. Hematolojik tanıda tam kan sayım analizi (CBC)	4
2.1.3. Hemogram parametreleri	4
2.1.3.1. Eritrosit sayısı (RBC)	4
2.1.3.2. Hemoglobin konsantrasyonu	4
2.1.3.3. Hematokrit	5
2.1.3.4. Eritrositlerle ilişkili indeksler	5
2.1.3.5. Lökosit sayısı (WBC)	6
2.1.3.6. Trombosit sayısı (PLT).....	6
2.1.4. Otomatik tam kan sayımı analizi	6
2.2. HEMATOLOJİK TANIDA PERİFERİK KAN YAYMASININ ÖNEMİ	7
2.3. ANALİTİK PERFORMANS	9
2.3.1. Metot validasyon ve verifikasyonu	9
2.3.2. Metot verifikasyon parametreleri.....	10
2.3.2.1. Doğruluk (Accuracy).....	10
2.3.2.2. Doğrusallık (Linearite) – analitik ölçüm aralığı (AMİ).....	10
2.3.2.3. Analitik ölçüm limitleri	10
2.3.2.4. Tekrarlanabilirlik (Precision)	11
2.3.2.5. Analitik duyarlılık (analitik sensitivity)	12
2.3.2.6. Analitik özgüllük (analitik specificity).....	12
2.3.2.7. Geri kazanım (recovery).....	12

2.3.2.8. İnterferans	13
2.3.2.9. Taşıma (carry-over)	13
2.3.2.10. Matriks etkisi	14
2.3.2.11. Referans aralık doğrulama.....	14
2.3.2.12. Yöntem karşılaştırma.....	14
2.3.2.13. Bulguların istatistiksel değerlendirmesi	14
3. GEREÇ ve YÖNTEM	15
3.1. HASTA GRUPLARININ ÖZELLİKLERİ.....	15
3.2. ÖRNEK TOPLAMA VE ANALİZ EDİLME	16
3.3. GEREÇLER	16
3.4. UYGULANAN YÖNTEMLER.....	16
3.4.1. Mindray BC-6200 tam kan sayım analizörü	17
3.4.2. Edan H60 tam kan sayım analizörü	21
3.4.3. Mindray SC-120 otomatik periferik yayma ve boyama analizörü.....	23
3.4.4. Mindray MC-80 periferik yayma dijital optik okuma analizörü.....	25
3.5. METOT VERİFİKASYON PARAMETRELERİ	26
3.5.1. Doğrusallık.....	26
3.5.2. LOB/LOD (WBC, HGB, PLT parametreleri için).....	27
3.5.3. Tekrarlanabilirlik (precision)	28
3.5.4. Taşıma (Carry - Over).....	28
3.5.5. Üreticiye Ait Performans Özellikleri	28
4. BULGULAR.....	30
4.1. CİHAZ PERFORMANS ÇALIŞMASI	30
4.1.1. Doğrusallık (linearite)	30
4.1.2. LOB/LOD (WBC, HGB, PLT parametreleri için).....	32
4.1.3. Tekrarlanabilirlik (Precision).....	33
4.1.4. Taşıma (Carry - Over).....	40
4.2. MİNDRAY – EDAN VERİLERİN KARŞILAŞTIRMA SONUCU.....	42
4.3. FLAG PERFORMANSI	44
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	47
KAYNAKLAR	54
EKLER	57
EK 1: ETİK KURUL ONAY FORMU.....	57
EK 2: İNTİHAL FORMU	59

KISALTMALAR

AMI.....	Analitik Ölçüm Aralığı
BAS.....	Bazofil
CAA.....	Karşılaştırmalı Otomatize Analizör
CAP.....	Amerikan Patologlar Birliği
CBC	Tam Kan Sayımı
CL	Güven Sınırı
CLSI.....	Clinical and Laboratory Standarts Institute
CRI.....	Klinik Rapor Edilebilir Aralık
CV	Varyasyon Katsayısı
EDTA.....	Etilen Diamin Tetra Asetikasit
EOS.....	Eozinofil
G-CSF	Granulocyte – Colony Stimulating Factor
HCS.....	Yüksek Konsantrasyonlu Stok
HCT	Hematokrit
HGB	Hemoglobin
HPF	Yüksek Güç Alanı (High Power Field)
HTV	Yüksek Hedef Değer
ICSH	Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Komitesi
IMG (OG)	Olgunlaşmamış Granülosit
LCS	Düşük Konsantrasyonlu Stok
LOB	Limit of Blank
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantitation
LTV.....	Düşük Hedef Değer
LYM.....	Lenfosit
MCH	Ortalama Korpüsküler Hemoglobin
MCHC.....	Ortalama Korpüsküler Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	Ortalama korpüsküler Hacmi
MON	Monosit
NCCLS.....	Ulusal Klinik ve Laboratuvar Standartları Komitesi
NEU	Nötrofil
NRBC.....	Çekirdekli kırmızı kan hücresi

PBF/PY	Periferik Kan Yayması
PBS	Phosphate Buffer Saline
PCT	Plateletkrit
PLT.....	Trombosit
PMN.....	Polimorfonükleer
QC.....	Kalite Kontrol
RBC	Kırmızı Kan Hücresi
RDW-CV	Kırmızı Kan Hücresi Dağılım Genişliği-Varyasyon Katsayısı
RDW-SD.....	Kırmızı Kan Hücresi Dağılım Genişliği-Standart Sapma
RPM.....	Dakikada Devir Sayısı (Revolution Per Minute)
SD	Standart Deviasyon
TAA	Test edilen otomatize Analizör
WBC	Beyaz Kan Hücresi

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1.	Yöntem Karşılaştırma Çalışmasında Oluşturulan Gruplar	15
Tablo 3.2.	WBC ile İlgili Parametreler	19
Tablo 3.3.	RBC ve PLT ile ilgili parametreler	21
Tablo 3.4.	Mindray BC-6200 ve Edan H60 Analizörlerin Farkları	23
Tablo 3.5.	Mindray MC-80 Temel Fonksiyonları	25
Tablo 3.6.	RBC, HGB, HCT Havuz Hazırlama Şeması	26
Tablo 3.7.	WBC Havuz Hazırlama Şeması	27
Tablo 3.8.	PLT Havuz Hazırlama Şeması	27
Tablo 3.9.	Önerilen Carry Over Örnek Değerleri	28
Tablo 3.10.	Mindray BC6200 Üreticiye Ait Performans Verileri	29
Tablo 3.11.	Edan H60 Üreticiye Ait Performans Verileri	29
Tablo 4.1.	Mindray BC6200 WBC LOB – LOD Tablosu	32
Tablo 4.2.	Mindray BC6200 HGB LOB – LOD Tablosu	32
Tablo 4.3.	Mindray BC6200 PLT LOB – LOD Tablosu	33
Tablo 4.4.	Edan H60 WBC LOB – LOD Tablosu	33
Tablo 4.5.	Edan H60 HGB LOB – LOD Tablosu	33
Tablo 4.6.	Edan H60 PLT LOB – LOD Tablosu	33
Tablo 4.7.	Mindray – Edan WBC Tekrarlanabilirlik Tablosu	34
Tablo 4.8.	Mindray – Edan RBC Tekrarlanabilirlik Tablosu	35
Tablo 4.9.	Mindray – Edan PLT Tekrarlanabilirlik Tablosu	36
Tablo 4.10.	Mindray – Edan HGB Tekrarlanabilirlik Tablosu	37
Tablo 4.11.	Mindray – Edan HCT Tekrarlanabilirlik Tablosu	38
Tablo 4.12.	Mindray – Edan HGB Gün İçi Tekrarlanabilirlik Tablosu	39
Tablo 4.13.	Mindray – Edan WBC Gün İçi Tekrarlanabilirlik Tablosu	39
Tablo 4.14.	Mindray – Edan PLT Gün İçi Tekrarlanabilirlik Tablosu	40
Tablo 4.15.	Mindray – Edan Carryover Analiz Sonuç Tablosu	41
Tablo 4.16.	Mindray – Edan Verilerin Karşılaştırma Sonuç Tablosu	42
Tablo 4.17.	Mindray – Edan Flaglerin ROC Analiz Tablosu	45

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.	Normal Periferik Kan Hücrelerinin Görüntüleri	8
Şekil 2.2.	Anormal Periferik Kan Hücrelerinin Görüntüleri	8
Şekil 3.1.	SF Cube Hücre Analizi Teknolojisi (Mindray BC-6200).	18
Şekil 3.2.	DIFF ve WNB Dağılım Grafiği (Mindray BC-6200).....	18
Şekil 3.3.	HGB ölçümü (Mindray BC-6200).....	20
Şekil 3.4.	Sheath Fluid Empedans Yöntemi (Mindray BC-6200).	20
Şekil 3.5.	Lökositlerin Analiz ve Dağılım Grafiği (Edan H60).....	22
Şekil 3.6.	PLT ve RBC Histogram Grafiği (Edan H60).	22
Şekil 3.7.	PY Yayma Yöntemi (Mindray SC- 120).....	23
Şekil 3.8.	Kan Yaymasının Akış Şeması (Mindray SC-120)	24
Şekil 3.9.	Kan Yayması Boyamanın Akış Şeması (Mindray SC-120).....	25
Şekil 4.1.	Mindray – Edan WBC Linearite Grafikleri	30
Şekil 4.2.	Mindray – Edan RBC Linearite Grafikleri	31
Şekil 4.3.	Mindray – Edan HGB Linearite Grafikleri.....	31
Şekil 4.4.	Mindray – Edan HCT Linearite Grafikleri	31
Şekil 4.5.	Mindray – Edan PLT Linearite Grafikleri	32
Şekil 4.6.	Mindray – Edan WBC (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri ..	34
Şekil 4.7.	Mindray – Edan RBC (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri ...	35
Şekil 4.8.	Mindray – Edan PLT (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri	36
Şekil 4.9.	Mindray – Edan HGB (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri...	37
Şekil 4.10.	Mindray – Edan PLT (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri..	38
Şekil 4.11.	Mindray–Edan Gün İçi HGB (Orta Seviye) Tekrarlanabilirlik Grafikleri...	39
Şekil 4.12.	Mindray–Edan Gün İçi WBC (Orta Seviye) Tekrarlanabilirlik Grafikleri	40
Şekil 4.13.	Mindray – Edan Gün İçi PLT (Orta Seviye) Tekrarlanabilirlik Grafikleri	40
Şekil 4.14.	Carry over Analiz Sonuçları	41
Şekil 4.15.	Mindray – Edan WBC Regresyon Grafikleri	42
Şekil 4.16.	Mindray – Edan Nötrofil Regresyon Grafikleri	42
Şekil 4.17.	Mindray – Edan Lenfosit Regresyon Grafikleri	43
Şekil 4.18.	Mindray – Edan Monosit Regresyon Grafikleri	43
Şekil 4.19.	Mindray – Edan Eozinofil Regresyon Grafikleri	43
Şekil 4.20.	Mindray – Edan Bazofil Regresyon Grafikleri.....	43
Şekil 4.21.	Mindray – Edan HGB Regresyon Grafikleri.....	44

Şekil 4.22.	Mindray – Edan RBC Regresyon Grafikleri	44
Şekil 4.23.	Mindray – Edan PLT Regresyon Grafikleri	44
Şekil 4.24.	Olgunlaşmamış Granülosit Flag'ın ROC Analizi.....	45
Şekil 4.25.	Anormal Lenf – Blast Flag'ın ROC Analizi.....	45
Şekil 4.26.	Anormal PLT Histogramı Flag'ın ROC Analizi	46
Şekil 4.27.	PLT Kümesi Flag'ın ROC Analizi	46



ÖZET

HEMATOLOJİ ANALİZÖRLERİNDE YÖNTEM KARŞILAŞTIRMASI, ÇIKAN CİHAZ UYARILARININ PERİFERİK YAYMA İLE BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ

Farklı hematoloji analizörleri, hemogram testinde (tam kan sayımı) farklı yöntemler kullanmaktadır. Sayım sırasında anormal hücreler varlığında da flag uyarılar ekrana gelmektedir. Morfolojik olarak anormal hücreleri hızla tespit etmek büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmada önce Mindray BC-6200 ve Edan H60 hematoloji analizörlerinin analitik performanslarının ve her iki analizörün analiz sonuçlarını karşılaştırılarak değerlendirilmesi, daha sonra da bu analizörlerde tespit edilen flag'lerin, periferik kan yayması incelenerek doğrulanması amaçlanmıştır.

Bu çalışmadaki analizler, Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi'nin servislerinde yatarak tedavi gören ve acil servise başvuran 18 – 70 yaş arası erkek ve kadın hastalardan rastgele alınan toplam 900 adet tam kan numuneleri kullanılarak yapılmıştır. Tam kan sayımı analizlerinden önce Mindray BC-6200 ve Edan H60 hematoloji analizörlerinin analitik performans değerlendirmesi, CLSI H26-A2 prosedürüne uygun olarak yapılmıştır. Hastalardan alınan tam kan numuneleri önce Mindray BC6200 ve Edan H60 analizörlerinde analiz edilmiş; çalışma sırasında tespit edilen flag uyarısına sahip numunelerin, periferik kan yayması incelenerek çıkan sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Her iki hematoloji analizörün de iyi bir analitik performans gösterdiği saptanmıştır. İki cihazın tam kan sayım sonuçlarının WBC ve alt sınıfları, HGB, RBC ve PLT parametreleri açısından birbiriyle uyumlu bulunmuştur. Hemogram analizörlerinde ortaya çıkan flag'lerin cutoff değerleri Mindray BC-6200 ve Edan H60 cihazlarında sırasıyla OG: (>0 , >1), Anormal Lenf/Blast: (>0 , >0), Anormal PLT Histogramı: (>56 , >54), PLT Kümesi (Mindray BC-6200 >4) olarak saptanmıştır.

Mindray BC-6200 ve Edan H60 analizörlerinin hemogram sonuçları birbiriyle uyumlu olup, her iki cihaz için de görülen flag uyarılarının “periferik kan yayması uzman değerlendirmesi” ile doğrulanması uygundur.

Anahtar Kelimeler: CBC, Flag, Otomatik kan sayım analizörü, Performans çalışması, Periferik kan yayması.



ABSTRACT

METHOD COMPARISON OF HEMATOLOGY ANALYZERS, EVALUATION OF DEVICE ALERTS WITH PERIPHERAL SMEAR

Different hematology analyzers use different methods for CBC (complete blood count) test. Flags are also displayed in the presence of abnormal cells during the count. Detecting morphologically abnormal cells rapidly, is very important. The aim of this study is to evaluate the analytical performances of Mindray BC-6200 and Edan H60 hematology analyzers and to compare the analysis results of both analyzers, and then to verify flags detected in these analyzers by examining the peripheral blood smear.

900 whole blood samples taken randomly from male and female patients between the ages of 18 and 70 who were treated as inpatients and who applied to the emergency department of Goztepe Prof. Dr. Suleyman Yalcin City Hospital were included in this study. Before all blood count analyses, analytical performance evaluation of Mindray BC-6200 and Edan H60 hematology analyzers was performed in accordance with the CLSI H26-A2 procedure. Whole blood samples taken from the patients were analyzed with Mindray BC6200 and Edan H60 analyzers; The peripheral blood smears of the samples with the flags detected during the study were examined and the results were compared.

Both hematology analyzers have good analytical performance. The complete blood count results of the two devices were found to be compatible with each other, in terms of WBC and its subclasses, HGB, RBC and PLT parameters. The cut-off values of the flags are >0 and >1 for IMGs; >0 and >1 for abnormal Lymph/Blast; >56 and >54 for abnormal PLT Histogram; when Mindray BC-6200 is compared with Edan H60 respectively. PLT Cluster can only be detected by Mindray BC-6200 with a cut-off level of >4 .

The hemogram results of Mindray BC-6200 and Edan H60 analyzers are compatible with each other and it is appropriate to verify the flag warnings seen for both devices with "expert evaluation of peripheral blood smear".

Keywords: Automatic blood count analyzer, CBC, Flag, Performance study, Peripheral blood smear.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tam Kan sayımı gerek hematopoietik sistem, gerekse hematopoietik sistem dışındaki organ hastalıklarının tanısında, tedavi ve takibinde kullanılan, klinik laboratuvarlarda en sık istenen testlerden biridir. Bu nedenle tam kan sayımının doğru ve hızlı bir şekilde çalışılarak raporlanması, klinik anlamda çok önem arz etmektedir. Tam kan sayımı (CBC) analizinde; kırmızı kan hücreleri (RBC'ler), beyaz kan hücreleri (WBC'ler) ve trombositleri (PLT'ler) içeren dolaşımdaki kan hücreleri, otomatik kan sayımı analizörlerinde elektronik olarak sayılmakta ve boyutlandırılmaktadır. CBC analizi, ek olarak RBC'lerin boyutu, şekli ve içerdikleri hemoglobin konsantrasyonu açısından morfolojik olarak da tanımlanmasına yardım ederken, WBC'nin alt tipleri hakkında benzeri bilgileri sağlar (1). CBC analizi ile cihaza göre değişmekle birlikte ortalama 14 ile 30 arası değişen hematolojik parametre ölçülebilir.

Ancak analizörlerin morfolojik anormallikleri tanımlama yeteneği sınırlıdır, bu nedenle manuel mikroskopik inceleme gerektiren numunelerin yakalanması için bazı kuralların ve uyarıların (flagler) cihazlarda tanımlanması gerekmektedir. Periferik kan yayması incelemesi, tam kan sayımı (CBC) sonuçlarını desteklerken; miyelodisplastik sendrom, lösemi, lenfoma ve hemolitik anemi gibi belirli hematolojik ve bulaşıcı hastalık grupları için doğrudan teşhis olanağı sağlar. Mevcut gelişmiş otomatik hematoloji analizörleri, akış sitometrisi de dahil olmak üzere ileri teknolojiye dayalı çeşitli ölçüm sonuçları ve varsa uyarı flagleri raporlarlar (2). Kısacası, periferik yaymadan maksimum bilgiyi elde etmek için bu parametreler dikkate alınmalıdır. Örneğin; "Anizositozlu mikrositik hipokromik anemi" tanımı, hemoglobin (HGB), ortalama korpusküler hacim (MCV), ortalama korpusküler hemoglobin (MCH), ortalama korpusküler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) ve kırmızı kan hücresi dağılım genişliği (RDW) gibi CBC parametrelerine dayanarak, kan yaymaları incelenmeden de yapılabilir. Benzer şekilde, beyaz kan hücresi (WBC) sayısı, trombosit sayısı ve nötrofil yüzdesi gibi cihaz tarafından üretilen CBC parametrelerine dayanarak "nötrofili ile birlikte lökositöz" veya "trombositöz" değerlendirmeleri de yapılabilir. Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Konseyi'ne (ICSH) göre, RBC, WBC ve PLT anormalliklerinde, hematoloji analizörleri tarafından ölçülen parametrelerin yorumlanmasında, periferik yaymanın kullanılması ile daha doğru

sonuçlar oluşturmaktadır (3,4). Periferik kan yayması altın standart olarak kabul edilmekle beraber, gözlemciler arası değerlendirme farklılıkları, zaman alıcı olması ve iyi eğitilmiş profesyoneller gerektirmesi gibi çeşitli dezavantajlara sahiptir (5). Sonuç olarak, periferik yaymanın manuel mikroskopik incelenmesinin dezavantajlarını önlemek, klinik laboratuvarların iş yükünü iyileştirmek ve standartlaştırmak için, otomatik periferik kan yayması hazırlayıcı ve otomatik dijital hücre morfolojisi okuyucu sistemleri geliştirilmiştir.

Klinisyenler, genellikle hastaların klinik gidişine veya hastaların önceki tam kan sayımında görülen bir anormalliğe istinaden periferik yayma testi isteyebilir. Laboratuvar personeli de genellikle tam kan sayımındaki bir anormal sonuç sonrasında veya cihaz tarafından verilen uyarıya istinaden periferik yayma testi yapabilir. Yoğun emek gerektirdiği için nispeten pahalıdır. Uluslararası Laboratuvar Hematoloji Derneği, otomatik kan sayımı sonuçlarına dayanarak, kan yaymalarının laboratuvar tarafından yapılmasına gerek görülmesi ve incelenmesi için fikir birliği kriterleri yayınlamıştır (www.islh.org).

Laboratuvarlarda kan sayımı analizi her ne kadar firmalar tarafından tüm dünyada çalışılmak üzere piyasaya sürülen ve performansını ispatlamış otomatik sistemlerle gerçekleşse de, her laboratuvarın gelen cihazla ilk çalışmasında, o cihazın performansının o laboratuvarda da gerçekleştirmesi beklenir. Bu sürece verifikasyon denir. Verifiye edilmiş bir cihaz, laboratuvarda güvenle kullanılabilir. Özel laboratuvarlarda teknolojik gelişmelerle paralel olarak veya kamuda 1-3 yıl arası sürelerde yapılan ihalelerde, hizmet alınan firma ve dolayısıyla cihaz ve metot değişebilmekte olup, değişen cihazların da verifiye edilmesi gerekmektedir. Laboratuvarlar, verifikasyon yaparken eski cihazları ile yeni cihazlarını da kıyaslamak durumunda kalabilmektedir.

Bu çalışmada hematoloji analizörü olarak piyasaya yeni sürülen Edan marka H60 model cihazın performansını değerlendirmek için Göztepe Şehir Hastanesi laboratuvarında 5 yıldır aktif olarak kullanılan Mindray marka BC6200 model cihazı ile karşılaştırma çalışması yapılmıştır. Aynı zamanda anormal hücreler (immatür granülosit, blast, atipik lenfosit, vs...), anemi, demir eksikliği anemisi, çekirdekli kırmızı kan hücreleri, PLT kümeleşmesi gibi gereken durumlarda da flag (uyarı, bayrak) olarak nitel bir bilgi verebilmektedir. Bu çalışmada ayrıca her iki analizör tarafından verilen uyarıların doğruluğu Mindray SC-120 cihazı ile periferik yaymaları yapıp, Mindray MC-80 dijital optik okuyucu cihazı ile değerlendirmesi de yaparak, flag'lerin klinik hassasiyetin önemini tespit edilmiştir. Bütün bu çalışmalarla, Edan H60 cihazının laboratuvarımızda çalışmak açısından uygun olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KAN HÜCRELERİN ANALİZİ

2.1.1. Kan hücrelerin analizine tarihsel bakış

İnsan, hastalıkları anlamaya çalışırken, kan hücrelerinin inceleme şansını mikroskopun keşfi ile bulmuştur. İlk ölçümler, bir lam üzerinde preparat hazırlayarak ve bir optik mikroskop yardımıyla, görselleştirmeye ve manuel saymaya dayanmaktaydı. Her ne kadar günümüzde basitliği nedeniyle hala pratikte kullanılıyor olsa da hücrelerin manuel hesaplanması, yapan kişiden kaynaklanan farklardan dolayı standardizasyon açısından hatalara sahiptir. Hem zaman alıcı hem de zahmetli bir iş olduğundan, kan hücrelerini saymak için otomatik yöntemler bir gereklilik haline gelmiştir. Mühendislerin hematologlarla birlikte çalışması ile daha sonraki ölçüm teknikleri, hücreleri tek tek yakalayıp saymak için empedans ölçümleri ya da ışık saçılma-floresan teknikleri ile birleşen akış yöntemlerini içeren teknikler geliştirilmiştir. Mikroskopi tabanlı teknikler alanında çığır açan gelişmeler sonucunda, görüntüleme ve görüntü işleme özellikleri olan, otomatik hücre sayma analizörleri giderek gelişmektedir.

Kan Sayım Yöntemlerinde, Otomasyona Öncülük Eden Temel Gelişmelerin Kısa Tarihçesi (6):

- Mikroskop Vierordt - 1852
- Işık saçılım ve emiliminin göz ile ölçümü Oliver - 1896
- Işık saçılım ve emiliminin foto dedektörlerle ölçümü Marcandier - 1928
- Empedans ölçümü Coulter - 1953
- Empedans ölçümü ve elektrostatik hücre sınıflandırması ... Fulwyler - 1965
- Floresan akış sitometrisi Dittrich - 1968
- Akış sitometrisi ışık saçılması Groner - 1973

2.1.2. Hematolojik tanıda tam kan sayım analizi (CBC)

Hemogram testi, günümüzde giderek artarak yapılmaktadır. Bu artışın nedenleri arasında hemogram cihazının kolay kullanımı, çok kısa bir süre içinde sonuç alınabilmesi, hasta sayısında artış olmasıdır. Hemogram, kan dolaşımındaki hem normal hücrelerin sayıları, hem de anormal hücrelerin varlığı hakkında bilgi verir. Akut kanamalarda, hematolojik maligniteler, ciddi enfeksiyonlar gibi hayatı tehdit eden durumların tanısında ve tedavi takibinde hızlı sonuç çok önemlidir.

Otomatik tam kan sayım analizörleri, elektronik olarak kan dolaşımındaki WBC, RBC ve PLT hücrelerini sayar ve boyutlandırır. Elektronik sayaç sadece toplam hücre sayısını kaydetmekle kalmaz, aynı zamanda ortalama hücre hacmini, hücre büyüklüğünü ve içeriğinin multimodal değerlendirmesi yapabilir. Böylece nötrofiller, lenfositler, monositler, eozinofiller ve bazofiller (WBC 5 alt grubu) dahil olmak üzere çeşitli WBC kategorileri hakkında ek bilgi sağlar. Diğer iki parametre hemoglobin (HGB) ve hematokrit (HCT); genellikle birbirine paralel ölçüm değerleri sunarlar (7,8). HGB ölçümünde, belirli bir hacimdeki RBC parçalayarak açığa çıkan hemoglobini kimyasal olarak stabil bir pigmente dönüştürülür ve bir spektrofotometre ile ölçülür. HCT ölçümü ise, bir mikrohematokrit santrifüjü ile belirlenerek paketlenmiş RBC'ler tarafından işgal edilen tam kan hacminin yüzdesini temsil eder (9,10).

2.1.3. Hemogram parametreleri

2.1.3.1. Eritrosit sayısı (RBC)

Eritrositler kanda en fazla sayıda bulunan hücrelerdir. Görevleri dokularla akciğerler arasında oksijen ve karbondioksit transportunu sağlamaktır. Ülkemizde RBC ölçümünde kullanılan birim milyon/uL iken, önerilen uluslararası standart birimi ise $\times 10^{12}/L$ 'dir.

2.1.3.2. Hemoglobin konsantrasyonu

Tamamen satüre hale gelen 1 gram hemoglobin 1.34 mL oksijen taşıyabilir. Ortalama bir yetişkinde toplam 600 gram hemoglobin bulunur ve bu miktar hemoglobin aynı anda yaklaşık 800 mL oksijen taşıyabilir. Genelde birimi g/dL olarak kullanılsa da önerilen uluslararası birimi g/L'dir.

2.1.3.3. Hematokrit

Eritrositlerin tam kan hacmi içerisinde parsiyel hacmin ifadesidir. Geleneksel birimi "%" olarak kullanılsa da önerilen birimi hacim (L) fraksiyonudur (örnek: %45 = 0.45 L). Otomatik sistemlerde hematokrit değeri, MCV değerinin eritrosit sayısı ile çarpımı ($MCV \times \text{eritrosit sayısı}$) yolu ile hesaplanır. Hematokrit ölçümü amacıyla makrometod (Wintrobe) metodunun kullanımı; daha fazla numune kullanımını gerektirmesi, daha uzun zaman içinde sonuç vermesi ve daha fazla hatalı sonuç elde edilebilmesi nedeniyle tercih edilmez.

2.1.3.4. Eritrositlerle ilişkili indeksler

İlk kez Wintrobe tarafından tanımlanan, eritrositlerin büyüklüğü ve eritrosit içi hemoglobin konsantrasyonu hakkında bilgi sahibi olmayı hedefleyen indeks değerleri, daha çok anemilerin karakterinin ve dolayısıyla da sebebinin belirlenmesi amacıyla kullanılır. Otomatik hücre sayım cihazlarının kullanılmaya başlanmasından önce MCV, MCH ve MCHC parametreleri, eritrosit sayısı, hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit parametrelerine dayanılarak hesaplama yoluyla belirlenmekteydi. Günümüzde ise MCV, cihazlar tarafından doğrudan ölçülmekte; geleneksel manuel tekniklerle belirlenmesi mümkün olmayan RDW indeks değeri ise, RBC histogramından yararlanılarak hesaplanmaktadır.

a) MCV (Mean Cell Volume): Ortalama Eritrosit Hacmi, Hematokrit ve eritrosit sayısından yararlanılarak hesaplanabilir ($MCV = \text{Hematokrit} / \text{RBC sayısı}$). MCV "mikrometreküp" veya "femtolitire (fl)" birimi ile ifade edilir.

b) MCH (Mean Cell Hemoglobin): Ortalama Eritrosit Hemoglobini eritrosit hücresi başına düşen ortalama hemoglobin miktarını (ağırlık) gösterir. Hemoglobin konsantrasyonu ve eritrosit sayısından yararlanılarak hesaplanır ($MCH = \text{HGB} / \text{RBC}$). MCH birimi pikogram (pg) olarak ifade edilir

c) MCHC (Mean Cell Hemoglobin Concentration): Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu sıkıştırılmış eritrositlerin belirli bir hacminde bulunan hemoglobin miktarını gösterir. Hesaplanması için hematokrit ve hemoglobin değerleri kullanılır ($MCHC = \text{HGB} / \text{HCT}$). Sonuç, g/dL birimiyle ifade edilir.

d) RDW (Red cell Distribution Width): Kırmızı Hücre Dağılım Genişliği, eritrositlerin büyüklükçe birbirinden farkının yani anizositozun bir göstergesidir. Anemilerin RDW ve MCV değerlerine dayanılarak sınıflandırması sıkça kullanılmaktadır.

1) RDW-CV (RBC distribution width - Coefficient of Variation): MCV + SD ve MCV - SD değerlerinin arasındaki farkın, dağılım grafiğinin taban genişliğine oranı olarak ifade edilebilir. Dağılım tabanının genişliği, en büyük eritrositlerin hacmi ile en küçük eritrositlerin hacmi arasındaki farkı gösterir. Sonuç % birimi ile ifade edilir. $[RDW-CV = (MCV+SD)-(MCV-SD)/\text{Dağılım grafiğinin taban genişliği} \times 100]$.

2) RDW-SD (RBC distribution width - Standard Deviation): Eritrosit histogramında pik noktasının yüksekliği %100 frekans düzeyi olarak kabul edilip, bunun %20 frekans düzeyine uyan değerden çekilen yatay çizginin, histogramı kesme noktalarının karşılık geldiği hücre hacimleri arasındaki fark olarak ifade edilir.

2.1.3.5. Lökosit sayısı (WBC)

Vücudu enfeksiyon etkenlerine veya yabancı maddelere karşı koruyan, bağışıklık sisteminin en önemli hücresel komponentidir. Kan dolaşımı ve lenfatik sistem ile bütün vücudu dolaşan lökositler, kemik iliğinde üretilir. Lökositlerin toplam sayısı kadar lökosit formülü ile belirlenen alt gruplarının dağılım yüzdeleri de klinik değerlendirmede büyük önem taşır.

2.1.3.6. Trombosit sayısı (PLT)

Kemik iliğinde megakaryositlerin sitoplazmasından üretilen trombositler, hemostaz sürecinde çok önemli role sahiptir. Ortalama ömrü 5-9 gün arasında değişir.

2.1.4. Otomatik tam kan sayımı analizi

Otomatik kan sayım cihazlarının prototipleri ilk olarak 19. yüzyılın sonlarına doğru geliştirilmiş ve 20. yüzyıl boyunca hızlı ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu aletlerle, ya kan hücreleri tarafından dağıtılan ve emilen ışık miktarını ya da küçük, elektrik yüklü bir açıklıktan akan kan hücreleri tarafından indüklenen elektrik akımındaki değişiklikleri kullanarak ölçümler yaparlar (6).

Teknolojideki kayda değer ilerlemelerle birlikte kanın hücresel bileşenlerinin sayısının, boyutlarının ve özelliklerinin niceliksel ölçümleri ile geleneksel mikroskop yoluyla elde edilen niteliksel bilgileri, çok parametrelili bir şekilde sağlar. Elektronik sistemlerinde, akışkan sistemlerde, bilgisayar sistemlerinde ve lazer teknolojisindeki ilerlemelerle bir veya daha fazla üretici tarafından kullanılan bir dizi standart temel ölçüm ilkeleri ve teknikleri geliştirilmiştir. Bu tekniklerin bazıları ve kombinasyonları hematoloji analizörlerinde kullanılmaktadır. Ortak prensiplerinin arasında:

- Elektrik empedansı veya Coulter prensibi
- Tipik olarak bir lazer ışık kaynağı ile optik ışık saçılımı
- Tipik olarak retikülositleri, trombositleri, çekirdekli kırmızı kan hücreleri ve farklı lökosit sayımı floresan kullanımı bulunmaktadır (11).

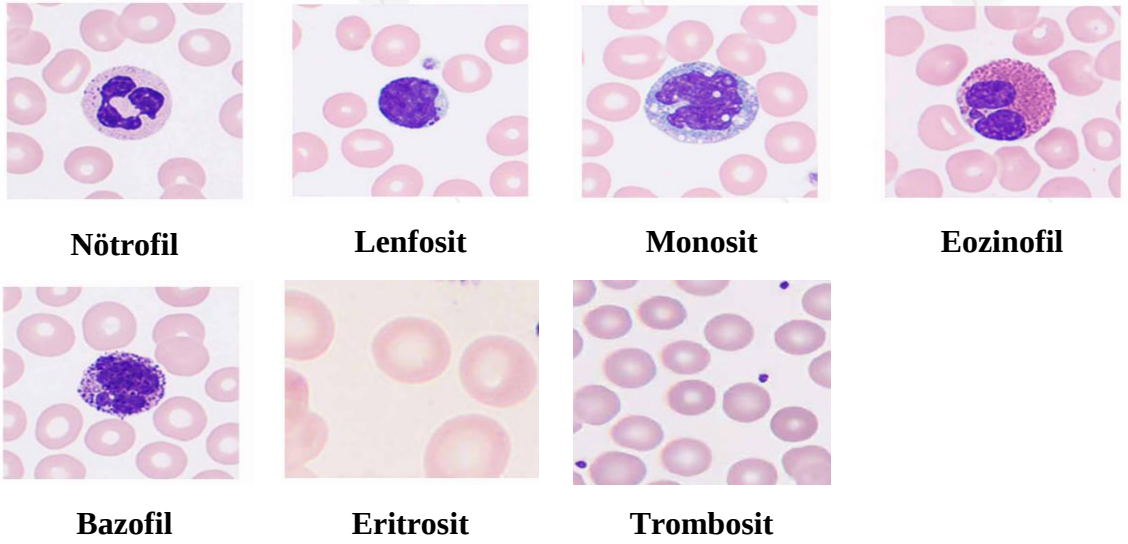
Klasik teknolojilerin birçoğu bugün hala kullanılmakta olup, ek olarak yeni üretilen cihazlara floresan prensibi ile çalışma özelliği eklenmiştir.

2.2. HEMATOLOJİK TANIDA PERİFERİK KAN YAYMASININ ÖNEMİ

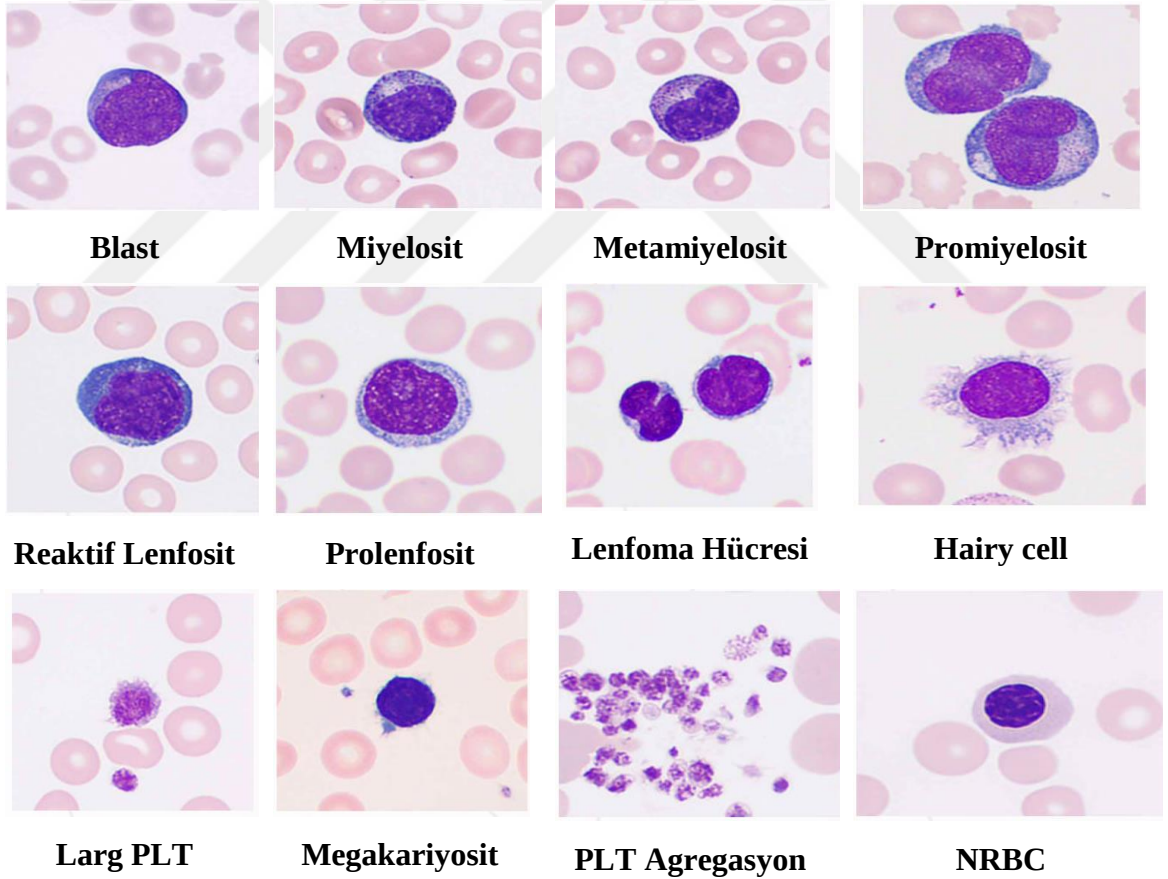
Periferik yayma analizi (manuel mikroskopik veya otomatik cihaz ile) kan dolaşımında var olan hücreler hakkında çeşitli bilgiler sağlamaktadır. Bazı hastalıklar bu hücrelerde anormal morfolojik değişikliklere neden olabilirken, bazı hastalıklarda da kemik iliğinde var olan kök hücrelerden periferik kan dolaşımına olgunlaşmamış hücreler geçebilir. Bu durumları otomatik tam kan sayım analizörleri saptayamayabilmekte ve altın standart olarak kabul edilen ''manuel mikroskopik periferik yayma'' incelemesine başvurulabilmektedir. Böylece birçok hematolojik hastalık ve malignite tanısı konabilmektedir. Bununla birlikte, gözlemciler arası değişkenlik, zaman alıcı olması ve periferik yayma incelemesi için iyi eğitilmiş profesyoneller gerektirmesi gibi dezavantajlara sahiptir (5).

Teknolojinin ilerlemesiyle, manuel periferik yayma hazırlanmasının dezavantajlarını önlemek, klinik laboratuvarların iş yükünü azaltmak ve periferik yaymanın incelenmesini standartlaştırmak için otomatik dijital hücre morfolojisi sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemler aracılığı ile otomatik bir şekilde periferik yayma yapılabilir.

Klinisyenin PY istemesindeki genel endikasyonlardan bazıları; Açıklanamayan sitopeniler, açıklanamayan lökositoz/lenfositoz veya monositoz, splenomegali, böbrek hastalığı/karaciğer gibi organ yetmezliği, şiddetli bakteriyel sepsis, paraziter enfeksiyonlar, hiperviskozite sendromunu, olası kemik iliği tutulumu olan maligniteler gibi nedenler sayılabilir (12,13).



Şekil 2.1. Normal Periferik Kan Hücrelerinin Görüntüleri



Şekil 2.2. Anormal Periferik Kan Hücrelerinin Görüntüleri

Bu tez çalışmasında; Mindray marka BC-6200 model ve Edan marka H60 model iki ayrı tam kan sayım analizörü kullanılmıştır. İlk olarak her iki hematoloji analizörünün performansları değerlendirilerek cihaz metotları karşılaştırılmıştır. İkinci olarak da analizörlerde ortaya çıkan uyarıların (flag) performansını değerlendirmek için Mindray marka SC-120 model analizöründe periferik kan yaymaları hazırlanmış ve yapay zekaya sahip olan Mindray marka MC-80 model analizöründeki dijital optik okuma ile hazır olan periferik kan yaymaları incelenerek raporlanmıştır.

2.3. ANALİTİK PERFORMANS

2.3.1. Metot validasyon ve verifikasyonu

Bir metodun veya ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğunun deneysel çalışmalarla elde edilen objektif delillerle doğrulanmasına validasyon denir (14). Doğruluğun belirlenip sürdürülmesi ciddi çaba, para ve yapılan testin karmaşıklığına bağlı olarak farklı yaklaşımlar gerektirir. Yeni bir testin uygulanmasından önce o testin uygun sonuç verme yetisini belirlemek gerekir. Yöntem değerlendirmesi, yeni yöntemlerin hasta sonuçlarını bildirmeden önce kabul edilebilirliğinin doğrulanmasında kullanılır. Yöntem uygulamaya konulduktan sonra laboratuvarın zaman içerisinde testin daimî olarak geçerli kalmasını kalite kontrol süreci ile sağlaması gerekir.

Geçerli kılma yani metot validasyonun amacı seçilen metodun istenen amaca uygun nitelikte (performansta, kalitede) sonuç verdiğini test etmek ve metodun rutin kullanımı sırasında istenen performansı sağlamasının koşullarını belirlemek ve kontrol altında tutmaktır. Bir metotla yapılan ölçümün sonuçları; laboratuvar koşulları, cihaz, kullanılan kimyasal madde, standart, operatör deneyimi gibi birçok faktöre bağlıdır. Bu nedenle metodun ölçüm sonucuna etki eden parametreleri tek tek değerlendirilerek ölçüm sonucuna etkileri belirlenmeli ve ölçülmelidir (15). Belli bir kalite sistemine uygun çalışan laboratuvarların kullandıkları metotları valide etmeleri gerekmektedir, ayrıca akredite laboratuvarlar için bu bir gerekliliktir. Kalite sisteminin yaygınlaşması laboratuvarlarda metot validasyonu çalışmaların yapılmasını zorunlu hale getirmiştir. Kimyasal analizlerde analiz metodunun uygulama performansını, çeşitli faktörler etkilemektedir. Bu sebeple ölçüm metodunun çok iyi tanımlanması gerekmektedir. Analiz edilen örneğe, analiz edilen bileşenlerin cinsine ve miktarına bağlı olarak farklı metot kullanmak gerekebilmektedir. Belli bir analiz için çok değişik metotlardan hangisinin uygulanacağı analiz edilen örnek cinsine, analiz edilecek bileşenlerin miktarına, günlük yapılacak analiz sayısına, istenen sonucun kalitesine, metodunun uygulama kolaylığına, analiz süresine, analiz maliyetine

bağlı olarak yapılacak bir değerlendirme sonucunda belirlenmelidir. Verifikasyon (doğrulama) ise testin, paket içeriğinde üreticinin belirttiği performans değerlerini gösterdiğinin değerlendirilmesi veya doğrulanmasıdır.

2.3.2. Metot verifikasyon parametreleri

2.3.2.1. Doğruluk (Accuracy)

Doğruluk elde edilen değer ile gerçek değer arasındaki yakınlığın ifadesidir. Ölçülen değerle gerçek değer arasındaki fark **sistemik hata (bias)** olarak tanımlanır (Ellison ve ark 2000). Doğruluğun göstergesi sistemik hatadır. Sistemik hata bir ölçüm metodunun gerçek sonucu verebilme kabiliyetini belirtir. Sistemik hatanın hesaplanabilmesi için doğru olduğu kabul edilen referans yani gerçek değer bilinmelidir. Gerçek değer sertifikalı referans materyallerden, valide edilmiş metodun ölçümü sonucu veya yeterlilik testleri sonucunda elde edilebilir. Bu üç yöntemde de ortak nokta gerçek değerlerin birçok laboratuvarında yapılmış ölçümlerin sonucunda elde edilmiş olmasıdır.

2.3.2.2. Doğrusallık (Linearity) – analitik ölçüm aralığı (AMI)

Yöntemin hiç düzeltme yapılmadan örnekteki analit konsantrasyonu ile doğru orantılı sonuçlar verme yeteneğidir. X eksenine beklenen değerler, Y eksenine ise elde edilen değerler girilerek kalibrasyon grafiği çizilir ve ortaya çıkan çizgi doğru ise yöntem lineerdir. Sonuçlar grafiksel olarak verilir ve “linear regresyon formülü” ile “korelasyon katsayısı” belirtilir. Bu şekilde çalışma aralığının doğrusal olup olmadığı tespit edilir.

Linearity kavramı, hematolojik hücre sayımı testleri (RBC, WBC, PLT) için değil, sadece konsantrasyona dayalı kolorimetrik transmisyon/absorbsiyon ile ilgili bir kimya testi olarak HGB'ye uygulanabilir. CAP'ın hematoloji biriminin yayınladığı dokümana göre, linearity çalışmalarının akreditasyon için son kullanıcı laboratuvarlarında gerekli olmadığını özellikle belirtmektedir.

2.3.2.3. Analitik ölçüm limitleri

1- Limit of Blank (LoB): Reaktif ve analit haricinde kör okumalarının belli bir olasılıkla karşılaşılabilecek en yüksek değerdir. LoB düzeyinin düşük olması daha doğru ve kesin ölçüm yapmaya izin verir.

Hematoloji için LoB, geleneksel olarak "arka plan" olarak adlandırılır. LoB veya arka plan "sayımları" (genellikle WBC, HGB ve PLT), analit içermeyen numuneden elde edilen

en yüksek değerdir. LoB için sayısal sonuçların istatistiksel değerlendirmeleri, CLSI belgesi EP17 A2'ye göre yapılır.

2- Limit of Dedection (LoD): Belirli şartlarda kalitatif olarak varlığı saptanabilen minimum analit konsantrasyonudur.

3- Limit of Quantitation (LoQ): Analitin kantitatif olarak güvenilir, doğru ölçümünün yapılabildiği en düşük konsantrasyonudur.

Hastaların düşük WBC konsantrasyonlarının doğru bir şekilde ölçülmesi, kemoterapi kararları ve kemik iliği nakli sonrası cevabın değerlendirilmesinde, düşük PLT konsantrasyonlarının doğru bir şekilde ölçülmesi de hemoraji ve PLT transfüzyon kararlarını öngörmede klinik açıdan önemlidir.

4- LoD ve LoQ CLSI dokümanı EP17; Tercihen birkaç numuneden elde edilmiş, en az 60 ölçüm önermektedir. 6 örnekten oluşan 10'ar kopya kullanılabilir. Böylece numuneden numuneye değişkenlik yakalanır (16). LoD ve LoQ değerleri tespit etmek için CLSI EP 17 A2 prosedüründeki aşamaları takip ederek gereken ölçümler yapılır ve hesaplanır.

US CLIA '88 tarafından tanımlanan istenilen imprecizyon limitleri; WBC: %15, PLT: %25

Üretici, LLoQ çalışmasında imprecizyon için kullandığı hedefi belirtmelidir. LLoQ ve LLoD ölçümleri diğer ölçütler (RBC, Hb, HCT) için gerekli değildir; çünkü neredeyse sıfıra yakın değerler yaşamla bağdaşmaz (16).

2.3.2.4. Tekrarlanabilirlik (Precision)

Bir yöntemde aynı örneğin ardı ardına çalışılmasıyla metodun aynı sonucu verebilme gücüdür ve yöntemin kesinliğinin göstergesidir. Ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığını belirlemek için yapılır. Laboratuvardaki tekrarlanabilirlik seri ölçüm yapılarak hesaplanır (17).

1-Taze Kan Kısa Vadeli İmprezisyon: Bu imprecizyon çalışması, laboratuvarın referans aralığını aşmayan normal taze tam kan kullanılarak yapılır. Aynı kan tüpünün 31 ardışık aspirasyonu kullanılır (17).

2-Çalışma-içi İmprezisyon: Taze kan veya ticari kontrollerin aynı numunenin tekrarlayan ölçümlerinin imprecizyonu SD ile tanımlanır.

3- Tıbbi Karar Seviyelerinde İmprezisyon: ICSH protokolü, imprecizyon çalışmaların patolojik aralıkları içermesi gerektiğini belirtmektedir. Anemi ve trombositopenide yapılan tıbbi transfüzyon kararları nedeniyle, HGB = 6 - 10 g/dL ve PLT = 0 - 50 × 10³/uL iki tip patolojik numune için ek imprecizyon çalışmaları yapılmalıdır.

Ayrıca, tıbbi terapötik kararlar ağır derecede lökopeni ve nötropeni varlığında yapıldığından, WBC = 0 - 2 × 10³ /uL aralıklarla bir imprecizyon çalışmaların yapılmasını önerilir.

Anemik numuneler için sadece RBC, HGB ve HCT analiz edilir, trombositopenik örnekler için yalnızca PLT analiz edilir, WBC konsantrasyonu ve yüzdesi ise lökopenik durumlarda değerlendirilir. Kan numunelerinin homojen hale getirmek için döner tarzda bir karıştırıcıda karıştırılır.

Normal, anemik ve trombositopenik örneklerle taze kan ölçümü ve kesinliği için % 95, % 97.5 ve % 99 üst CL'ler geliştirildi. Düşük hücresel konsantrasyonlarda % CV'nin giderek arttığı bilinmektedir. Bu, özellikle klinik olarak karşılaşılan düşük WBC ve PLT konsantrasyonları için geçerlidir. Bu hassas profiller güven aralıklarını içermelidir (17).

4-Ticari Kontroller Tekrarlanabilirlik ve Cihaz İçi İmprezisyon (Uzun Vadeli): Ticari kontroller her seviyede (düşük, normal, yüksek) iki tekrar olmak üzere, günde iki çalışma en az 25 gün boyunca test edilir (EP 5). EP 5A2 ye göre 20 gün boyunca, Gün içi çalışmalar arası 5 ila 12 saat arayla gerçekleştirilir. CLSI dökümanı EP 5 A2'e göre, ticari kontrol numuneleri ile tekrarlanabilirlik ve cihaz içi imprecizyon hesaplanabilir (17).

2.3.2.5. Analitik duyarlılık (analitik sensitivity)

Analitin konsantrasyonundaki değişime karşılık ölçüm sinyalinde meydana gelen değişikliklerdir. Yöntemin küçük konsantrasyonları belirleme yeteneğidir. Kalibrasyon eğrisinin eğimi, sensitivitenin göstergesidir.

2.3.2.6. Analitik özgüllük (analitik specificity)

Analitik özgüllük, bir metodun aranan analiti diğer analitlerin bulunduğu örnek içinde ayırt edebilme yeteneğine denir.

2.3.2.7. Geri kazanım (recovery)

Analitik yöntemin, ölçüm ortamına eklenen, konsantrasyonu bilinen miktarda doğru olarak belirleyebilme yeteneğidir. Geri kazanım, bir yöntemin doğruluğu hakkında bilgi verir.

2.3.2.8. İnterferans

Analitin ölçümünü etkileyebilecek çeşitli interferansların belirli konsantrasyonlarda ilavesi ile testin etkilenme düzeylerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Bu durumun varlığını tespit etmek için örneklerde analiz yapıldıktan sonra, interfere etkisi incelenecek maddeler örneklerle ilave edilir ve eklenen analitlerin ölçümü etkileyip etkilemediği hesaplanır (15).

2.3.2.9. Taşıma (carry-over)

Otomatize çalışan sistemler için, önceki numuneden sonraki numuneye herhangi bir aktarım olup olmadığını belirlemek için yapılır. Günümüzdeki teknik imkânlar taşıma hatalarını aza indirilmiştir. Çalışmanın yapılışı; yüksek ve düşük konsantrasyondaki numuneler belli bir sıra içinde yerleştirilerek ölçüm gerçekleştirilir. Yüksek değerlerden önce gelen düşük değerler ile bir grup oluşturulur. Diğer grup yüksek değerlerden sonra gelen düşük değerlerden oluşur. Belirlenen bu iki grubun ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanır. Grupların ortalamaları arasındaki farkın total izin verilen hatadan küçük olması durumunda taşıma hatasının olmadığı söylenebilir.

"Yüksek hedef değer" (high target value: HTV) konsantrasyonlarındaki taze tam kan örnekleri üçer kez okutur ve onu takiben "düşük hedef değer" (low target value: LTV) örnekleri üçlü çalışılır (ICSH) (21). Yerine ticari kontrolleri kullanılmaz. Carryover için test edilen parametreler WBC, RBC, HGB ve PLT'dir. Önerilen Carry – Over Örnek Değerleri Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Tabloda gösterilen patolojik olarak yüksek veya düşük konsantrasyonların üretilmesi için sağlıklı vericilerden taze tam kana ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte hem HTV hem LTV örnekleri WBC, RBC ve PLT içermelidir; başka bir deyişle, hücresiz plazma olmamalı, LTV örneği hava veya dilüent aspirasyondan oluşamazlar. Hücre konsantrasyonunun tespit edilememesi beklenen uygun bir matriks sağlamak için yüksek plazma hacmine az miktarda tam kan eklenebilir. Ticari kontroller, insanın taze tam kanın matriks etkilerini karşılayamadığı için insan taze tam kanının yerini alamaz.

Carry-over, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır:

$$\%Carryover = \frac{(LTV1 - LTV3)}{(HTV3 - LTV3)} \times 100$$

2.3.2.10. Matriks etkisi

Matriks etkisi, biyokimyasal analizlerinde standart solüsyon içindeki madde ile plazma gibi biyolojik matriksteki aynı analitin farklı yanıtlar vermesi olarak tanımlanır. Matriks etkisinin son derece değişken olması yöntemlerin doğruluk ve kesinliğinde önemli hatalara neden olmaktadır (15).

2.3.2.11. Referans aralık doğrulama

Referans aralık doğrulama çalışmasının yapılması pahalı ve zordur. Referans aralık doğrulama çalışması için ilgili yaş aralığında ve cinsiyete uygun en az 20 sağlıklı birey gerekmektedir. Değerlendirmede aralık dışına çıkanların sayısı %10'u geçmemelidir. Her laboratuvarın kendi referans aralığını belirleme şartı yoktur ama belirlenmiş referans aralığını teyit etmesi gerekir (15).

2.3.2.12. Yöntem karşılaştırma

Örnekler iki yöntemde ve aynı zamanda çalışılır, sonuçlar karşılaştırılır ve karşılaştırma için regresyon analizi yapılır. Rapor aralığı içinde en az 40 örnek hem test yöntemi hem de karşılaştırma yöntemi ile çalışılır. Sayı ne kadar çok olursa sonuç o kadar sağlıklıdır. İki metot ile elde edilen ölçüm sonuçları arasındaki farkın ortalamalarına karşı gösterdiği dağılım Bland-Altman grafiği ile değerlendirilir (15).

2.3.2.13. Bulguların istatistiksel değerlendirmesi

Tüm gruplarda incelenen parametrelere ait değerler $X \pm SD$ olarak verildi. Hemogram analizörlerinin performansının incelemesinde EP Evaluator Release 8 istatistik programı kullanıldı. Takibinde hemogram analizörlerin yöntem karşılaştırma çalışması iki grubun karşılaştırmasında normal dağılıma uyan parametrelere Bland & Altman plot ve Passing & Bablok regression analizi uygulandı. Çalışmadaki flag performansı değerlendirmek için periferik yaymadaki sayısal verileri ile karşılaştırmasında flag'lerin sensitivitesi, spesifitesi ve cut-off değeri ROC analizi ile elde edildi, analizler MedCalc® Statistical Software (MedCalc Software, Ostend, Belçika) istatistiksel paket programı ile yapıldı. Değerlendirmelerde istatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. HASTA GRUPLARININ ÖZELLİKLERİ

Bu çalışma S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Prof. Dr. Süleyman Yalçın Şehir Hastanesi Etik Kurulu'nun onayı alınarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya alınan tüm kan numuneleri, kliniklerden istenilen testleri raporlandıktan hemen sonra kullanılmıştır (analizi tamamlanmış olan örnekler). Çalışma grubu, hastanenin acil servis kliniğine başvuran hastalar ve hastanenin yatan hastaları tarafından oluşturulmuştur.

Hasta Grubu (n=900): Hastanenin acil servisi kliniğinden ve diğer kliniklerden hemogram testi istenmiş 900 hastaya ait EDTA'lı kan numunesi çalışmaya alınmıştır. Cihazların yöntem karşılaştırma çalışmasında her parametre için düşük değer, orta değer ve yüksek değer olmak üzere 3 grup oluşturulmuştur. Grupları, **Tablo 3.1** de gösterildiği gibi, çalışmada kullanılan her iki cihazın düşük, orta ve yüksek kontrol numunelerindeki hedef değerlerin ortalamasını dikkate alınarak tanımlanmıştır. Gruplar her parametre için 40 numune düşük değere, 40 numune orta değere ve 40 numune yüksek değere sahip 120 numune içermektedir. Çalışma sırasında hemogram cihazlarında toplam 330 adet numunede flag uyarısı alınmıştır. Flag performansını ölçmek için bu numunelerin periferik kan yayması literatüre uygun olarak 4 saat süre içinde yapılmış ve incelenmiştir (18).

Tablo 3.1. Yöntem Karşılaştırma Çalışmasında Oluşturulan Gruplar

PARAMETRE	DÜŞÜK DEĞER GRUBU (40 NUMUNE)	ORTA DEĞER GRUBU (40 NUMUNE)	YÜKSEK DEĞER GRUBU (40 NUMUNE)
WBC	<3,57	>3,57 ile <19,26	>19,26
NÖTROFİL	<1,9	>1,9 ile <11,43	>11,43
LENFOSİT	<1,07	>1,07 ile <4,76	>4,76
MONOSİT	<0,19	>0,19 ile <1,18	>1,18
EOZİNOFİL	<0,37	>0,37 ile <1,77	>1,77
BAZOFİL	<0,01	>0,01 ile <0,2	>0,2
RBC	<2,31	>2,31 ile <5,15	>5,15
HGB	<5,9	>5,9 ile <16,3	>16,3
PLT	<48	>48 ile <434,5	>434,5

3.2. ÖRNEK TOPLAMA VE ANALİZ EDİLME

Hastalardan EDTA antikoagülanlı mor kapaklı tüplere alınan kan numunelerinden klinisyenler tarafından istenilen hemogram testleri laboratuvarımızda analiz edilip raporlandıktan sonra tez çalışmasına alınmıştır. Bu tez çalışmasına 27.09.2023 tarih ve 2023/0636 numaralı etik kurul onayı alındıktan sonra başlanmıştır. Çalışmada numuneler ilk önce **Mindray BC-6200** hemogram cihazında daha sonra **Edan H60** hemogram cihazında analiz edilmiştir. Cihazların herhangi birinde veya her ikisinde flag uyarısı tespit edildiğinde Mindray SC-120 periferik yayma oluşturmaya cihazı ile ilgili numunenin periferik yayması yayılmıştır. Mindray MC-80 dijital optik yayma okuyucu cihazı ile periferik yaymalar incelenmiş ve uzman değerlendirmesi ile doğrulanmıştır. Hastadan kan alımından itibaren bütün işlemler en fazla 4 saat süre zarfında gerçekleştirilmiştir (18). Verileri bilgisayar ortamında bir araya getirildikten sonra; iki hemogram cihazın karşılaştırmasında hesaplamalı olan parametreler hariç tutulup yalnız ölçülebilen parametreler yöntem karşılaştırma çalışması için istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Hemogram cihazları çok sayıda flag tipi (Mindray: 24 tip, Edan: 14 tip) sunabilir, ancak çoğu flag uyarısı kural olarak cihaz sistemine kaydedilmiştir. Örnek olarak HGB < 9 g/dL olduğunda "anemi" veya WBC >18 ×10³/uL olduğu zaman "lökositoz" flag uyarısı sayılabilir. Bu sebepten dolayı tüm flag uyarıları istatistiksel olarak değerlendirilmemiştir.

3.3. GEREÇLER

1. Mindray BC-6200 Hematoloji Analizörü
2. EDAN H60 Hematoloji Analizörü
3. Mindray SC-120 Otomatik Periferik Yayma ve Boyama Cihazı
4. Mindray MC-80 Dijital Optik Periferik Yayma Okuyucu Cihazı
5. Lam, Mikropipetler

3.4. UYGULANAN YÖNTEMLER

Hemogram analizi için kan numunesi, hiçbir işleme tabi tutulmadan direkt olarak önce **Mindray BC-6200** hemogram cihazına, ardından **Edan H60** hemogram cihazına yüklenerek, tam kan numuneleri analiz edildi. Analiz sırasında flag uyarısına sahip bir kan numunesi tespit edildiğinde, ivedilikle, **Mindray SC-120** cihazına yüklenerek otomatik ve standart bir şekilde lam üzerine kan numunesini yayarak ve boyayarak incelemeye hazır periferik kan yaymasını oluşturuldu. Yaymanın incelenmesi ise yapay zekaya sahip

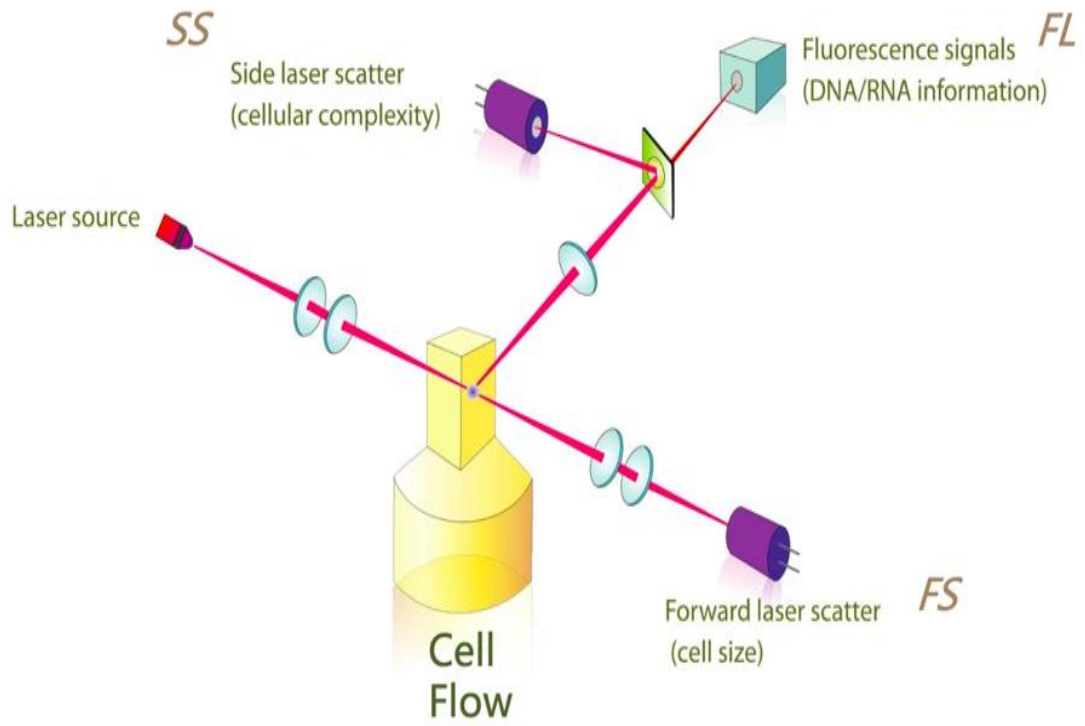
Mindray MC-80 cihazı kullanıldı. Bu cihaz ile, yapılan dijital optik okuma ile hem morfolojik hem de sayısal değerlendirmeler yapıldı.

3.4.1. Mindray BC-6200 tam kan sayım analizörü

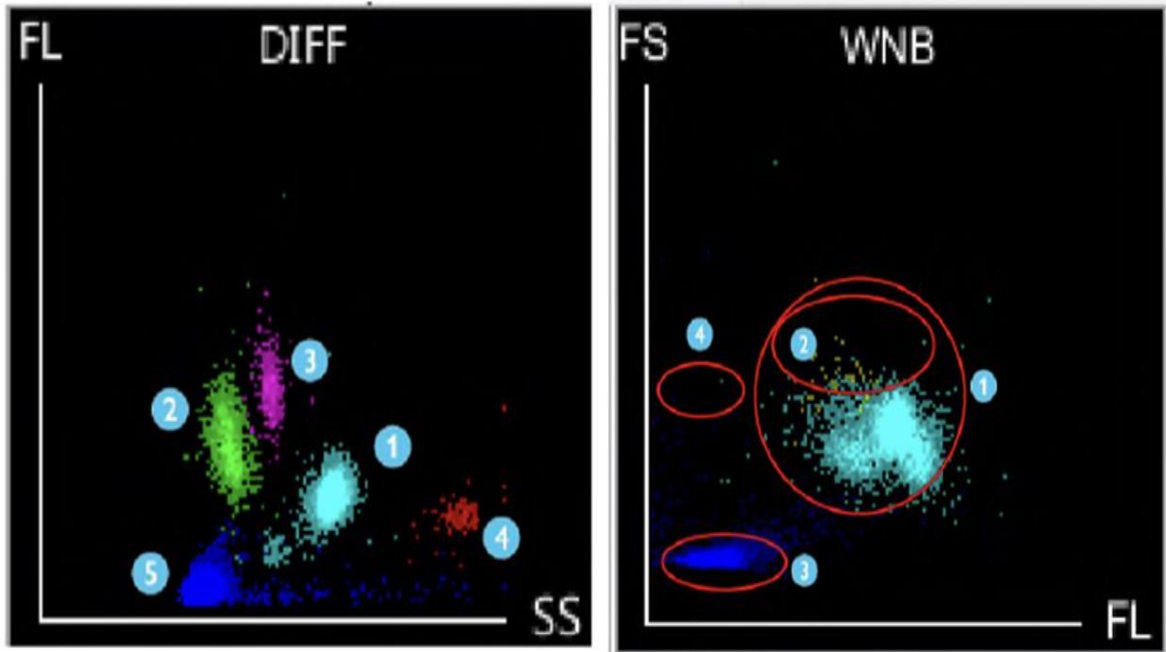
a) WBC Ölçümü:

1- SF Cube Hücre Analizi Teknolojisi: Normal periferik kanda WBC 5 alt gruba sınıflandırılabilir: lenfositler, monositler, nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller. Analizör, WBC'nin 5 farklı tipini tanımlamanın yanı sıra, kanda bulunabilecek olgunlaşmamış hücreleri doğru bir şekilde tanımak ve tespit etmek için SF Cube hücre analiz teknolojisini kullanır (**Şekil 3.1**) (19). Analizör, DIFF ve WNB kanallarında floresan boyama teknolojisini kullanır. RBC'ler parçalandıktan sonra, WBC tiplerinin ayrımı için WBC'lerdeki nükleik asit içeriği asimetrik siyanin floresan maddesiyle işaretlenir. Bu analiz sisteminde kullanılan düşük açılı ışık saçılımı hücre boyutunu, yüksek açılı ışık saçılımı ise hücre içi tanecikliği yansıtır. Floresan sinyalin yoğunluğu ise hücrenin boyanma derecesini yansıtır. DIFF kanalı, lizis ile işlenen hücrelerin, üç boyutlu sinyalleri algılanarak, WBC'lerin alt popülasyonlarını (lenfositler, monositler, nötrofil, eozinofil ve bazofil) sınıflandırır. Ayrıca olgunlaşmamış granülositler, anormal lenfositler ve blast hücreler gibi anormal hücreleri tanımlar. Bununla birlikte WNB kanalı, bazofilleri ve çekirdekli kırmızı kan hücrelerini ayrıştırır ve WBC'leri sayar. Hücrelerin dağılımı **Şekil 3.2**'de gösterilmiştir (19).

2- WBC ile İlgili Parametrelerin Türetilmesi: DIFF Dağılım Grafiği ve WNB Dağılım Grafiği ile yapılır, parametreler detaylı olarak **Tablo 3.2** de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. SF Cube Hücre Analizi Teknolojisi (Mindray BC-6200).



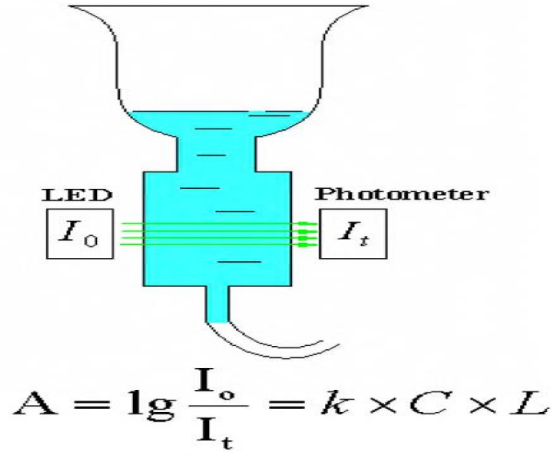
Şekil 3.2. DIFF ve WNB Dağılım Grafiği (Mindray BC-6200).

NOT: DIFF kanalı: 1-Nötrofil ve Bazofil 2-Lenfosit 3-Monosit 4-Eozinofil 5-Hayalet.
WNB kanalı: 1-WBC 2-Bazofil 3-Hayalet 4-NRBC.

Tablo 3.2. WBC ile İlgili Parametreler

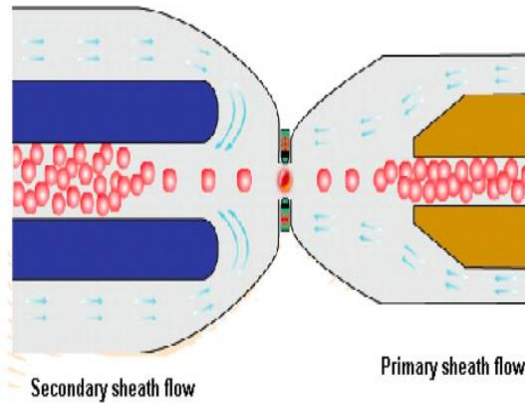
PARAMETRELER	AÇILIMI	FORMÜL/TEST YÖNTEMLERİ	BİRİM
WBC	Beyaz Kan Hücresi sayısı	WNB kanalındaki WBC bölgesindeki tüm parçacıkların toplamı	10 ³ /uL
BAS#	Bazofil sayısı	WNB kanalının Bazofil bölgesindeki tüm parçacıkların toplamı	10 ³ /uL
BAS%	Bazofil yüzdesi	$\frac{\text{Bas\#}}{\text{WBC}} \times 100$	%
LYM%	Lenfosit yüzdesi	$\frac{\text{DIFF kanalındaki Lym bölgesindeki parçacıklar}}{\text{Hayalet bölgedekiler hariç DIFF kanalındaki tüm parçacıkların toplamı}} \times 100$	%
NEU%	Nötrofil yüzdesi	$\frac{\text{DIFF kanalındaki Neu bölgesindeki parçacıklar}}{\text{Hayalet bölgedekiler hariç DIFF kanalındaki tüm parçacıkların toplamı}} \times 100$	%
MON%	Monosit yüzdesi	$\frac{\text{DIFF kanalındaki Mon bölgesindeki parçacıklar}}{\text{Hayalet bölgedekiler hariç DIFF kanalındaki tüm parçacıkların toplamı}} \times 100$	%
EOS%	Eozinofil yüzdesi	$\frac{\text{DIFF kanalındaki Eos bölgesindeki parçacıklar}}{\text{Hayalet bölgedekiler hariç DIFF kanalındaki tüm parçacıkların toplamı}} \times 100$	%
IMG%	Olgunlaşmamış Granülosit yüzdesi	$\frac{\text{DIFF kanalındaki IMG bölgesindeki parçacıklar}}{\text{Hayalet bölgedekiler hariç DIFF kanalındaki tüm parçacıkların toplamı}} \times 100$	%
LYM#	Lenfosit sayısı	$\text{Lym\#} = \text{WBC} \times \text{Lym\%}$	10 ³ /uL
NEU#	Nötrofil sayısı	$\text{Neu\#} = \text{WBC} \times \text{Neu\%}$	10 ³ /uL
MON#	Monosit sayısı	$\text{Mon\#} = \text{WBC} \times \text{Mon\%}$	10 ³ /uL
EOS#	Eozinofil sayısı	$\text{Eos\#} = \text{WBC} \times \text{Eos\%}$	10 ³ /uL
IMG#	Olgunlaşmamış Granülosit sayısı	$\text{IMG\#} = \text{WBC} \times \text{IMG\%}$	10 ³ /uL
NRBC%	Çekirdekli Kırmızı Kan Hücresi yüzdesi	$\frac{\text{WNB kanalının NRBC bölgesindeki parçacıklar}}{\text{WNB kanalının WBC bölgesindeki tüm parçacıkların toplamı}} \times 100$	%
NRBC#	Çekirdekli Kırmızı Kan Hücresi sayısı	WNB kanalının NRBC bölgesindeki tüm parçacıkların toplamı	10 ³ /uL

b) HGB Ölçümü: Kolorimetrik yöntemi kullanan bir test modelidir, Lambert-Beer Prensibine göre, monokromatik bir ışık demeti, iyi orantılı, saçılmayan, ışık soğuran bir çözeltiden geçtiğinde, absorbans A, kalınlığın ve konsantrasyonun C çarpımı ile orantılıdır (**Şekil 3.3**) (19). HGB kanalındaki numune, reaktifle işlendikten sonra ışık emici madde görevi görür, bu nedenle HGB konsantrasyonu, absorbans ölçülerek ölçülebilir. Hemoglobinin Konsantrasyonu (HGB) aşağıdaki denkleme göre hesaplanır ve g/dL olarak ifade edilir.



Şekil 3.3. HGB ölçümü (Mindray BC-6200).

c) RBC/PLT Ölçümü: Sheath Fluid Empedans Yöntemi: RBC'lerin ve PLT'lerin, sıvının "odaklanma" etkisi altındaki aralıktan tek tek geçmesini sağlamak için bir sensör tasarlanmıştır; bu sırada Coulter Prensibine göre voltaj darbeleri üretilir. Arka uç işlemci, darbeleri güçlendirir ve bunları RBC/PLT kanalının voltaj eşikleriyle karşılaştırır ve ardından RBC/PLT kanalındaki darbelerin sayısı hesaplanır (**Şekil 3.4**) (19). Yani toplanan darbeler farklı kanalların voltaj eşik değerlerine göre sıralanır, RBC/PLT kanal aralığına düşen darbe sayısı RBC/PLT sayısıdır. Her kanaldaki hücre sayısı hücrelerin hacim dağılımını tanımlar. Analizör, x koordinatı hücre hacmini (fL) ve y koordinatı hücre sayısını temsil eden RBC/PLT histogramını sunar. Ortak empedans yöntemiyle karşılaştırıldığında, Sheath Fluid empedans yöntemi daha yüksek verimlilik, daha iyi sinyal kalitesi, daha doğru analiz sonuçları ve daha düşük reaktif tüketimi ile öne çıkar. RBC ve PLT ile ilgili parametreler **Tablo 3.3** de detaylı olarak gösterilmiştir.



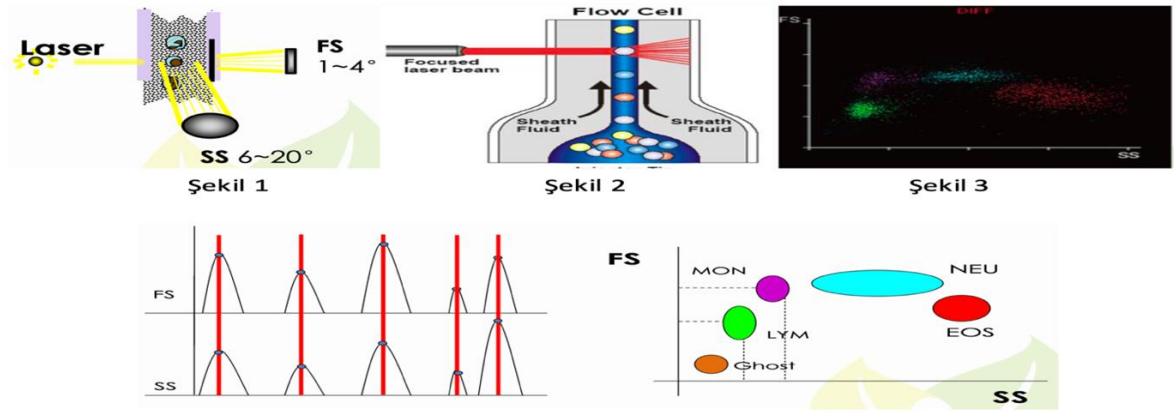
Şekil 3.4. Sheath Fluid Empedans Yöntemi (Mindray BC-6200).

Tablo 3.3. RBC ve PLT ile ilgili parametreler

PARAMETRELER	AÇILIMI	FORMÜL/TEST YÖNTEMLERİ	BİRİM
RBC	Kırmızı kan hücresi sayımı	Analizör, açıklıktan geçen kırmızı kan hücrelerini sayarak doğrudan kırmızı kan hücrelerinin (RBC) sayısını sağlar.	10 ⁶ /uL
MCV	Ortalama korpüsküler hacmi	Kırmızı kan hücresi histogramına göre hesaplanır	fL
HCT	Hematokrit	$HCT = \frac{RBC \times MCV}{10}$	%
MCH	Ortalama korpüsküler hemoglobin	$MCH = \frac{HGB}{RBC}$	pg
MCHC	Ortalama korpüsküler Hemoglobin Konsantrasyonu	$MCHC = \frac{HGB}{HCT} \times 100$	g/dL
RDW-CV	Kırmızı Kan Hücresi Dağılım Genişliği - Varyasyon Katsayısı	RBC Histogramı	%
RDW-SD	Kırmızı Kan Hücresi Dağılım Genişliği - Standart Sapma	Eritrosit boyut dağılımının standart sapmasına dayalı olarak türetilmiştir	fL
PLT	Trombosit sayımı	Trombosit sayısı (PLT), açıklıktan geçen trombositlerin sayılmasıyla doğrudan ölçülür.	10 ³ /uL
MPV	Ortalama trombosit hacmi	Ortalama Trombosit Hacmi (MPV), PLT histogramına göre hesaplanır	fL
PDW	Trombosit Dağılım Genişliği	Trombosit dağılım genişliği, trombosit histogramından elde edilir ve 10 geometrik standart sapma (10 GSD) olarak rapor edilir.	%
PCT	Plateletkrit	$PCT = \frac{PLT \times MPV}{10000}$	%
P-LCR	Trombosit-Dev Hücre Oranı	P-LCR, trombosit histogramından türetilir; boyutu 12fL'nin üzerinde olan trombosit sayısının toplam trombosit sayısına oranını temsil eder.	%
P-LCC	Trombosit-Dev Hücre Sayısı	$P-LCC = PLT \times P-LCR$	10 ³ /uL

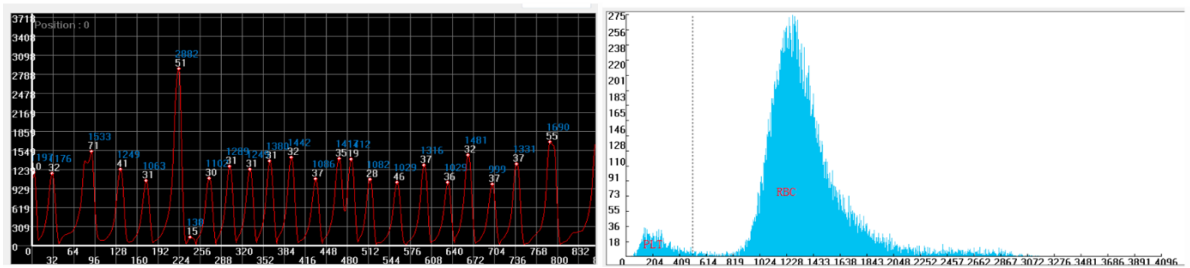
3.4.2. Edan H60 tam kan sayım analizörü

a) WBC ölçümü: Lazer ışığı saçılma yöntemi ile ölçüm yapılır. Diluent ve Lyse işleminden sonra, izole edilen lökositler, kanalın her iki tarafına belirli bir hızda kılıf sıvısı eklenmesi ile akış haznesinden teker teker akar hale gelir. Lazerdan geçerken hücrelerden saçılan ışık hücrenin boyutuyla ilgili olarak düşük (1~4°), hücrenin içindeki yapı ve partiküllerle ilgili olarak ise yüksek (6~20°) açılı olur. Akış hücresinin arkasında diyaframlar, düşük açılı alıcılar ve yüksek açılı alıcılar bulunmaktadır. Ön amplifikatör, dağılan ışık sinyallerini elektrik sinyallerine dönüştürür ve elektrik sinyallerinin boyutuna göre dağılım grafiğini çizilir. Işık yolu, lökositlerin tek tek akımı ve dağılım grafiği **Şekil 3.5 – 1,2 ve 3'te** gösterilmiştir (20).



Şekil 3.5. Lökositlerin Analiz ve Dağılım Grafiği (Edan H60).

b) RBC/PLT'nin Sayma Prensibi: Elektrik Empedans Yöntemi: Kan hücreleri zayıf bir elektrik iletkeni olup, seyreltilmiş kan hücreleri basınç altında sayma açıklığından geçtiğinde elektrotlar arasındaki empedans değişir. Gerilim (Volt) = Empedans (Ohm) x Akım (amper) formülüne göre gerilim, direnç değişimine bağlı olarak orantılı olarak değişir. Piklerin miktarı ve yoğunluğu tespit edilerek, sayma açıklığından geçen hücrelerin miktarı ve hacmi hesaplanabilir. Piklerin miktarı hücrelerin miktarını; yoğunluğu ise hücrelerin hacmini temsil eder. Şekil 3.6'da soldaki resimde orijinal pikler, sağdaki resimde ise tüm pikleri bir araya getiren histogram bulunmaktadır. Büyük tepe RBC, küçük tepe ise PLT'ye denk gelmektedir (20).



Şekil 3.6. PLT ve RBC Histogram Grafiği (Edan H60).

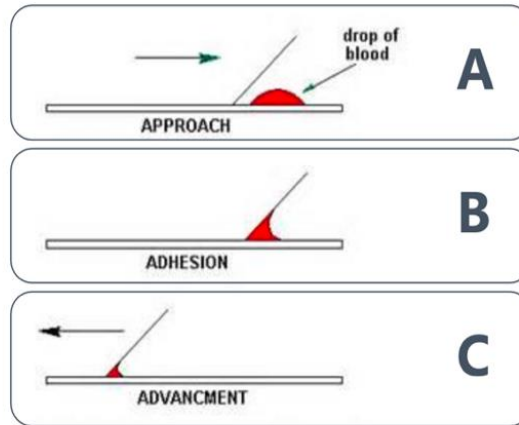
c) HGB Ölçme Prensibi: Kolorimetri yöntemi: Seyreltilmiş kan örneğine lizis ayırıcı eklenerek eritrositler parçalanır ve HGB'yi serbest kalır. HGB, çözeltideki non-siyanür reaktif ile birleşir ve HGB kompleks bir madde haline gelir. Küvetin bir ucunda ışık kaynağı, diğer ucunda ise ışık yoğunluğu sinyallerini alan ve amplifikatör aracılığıyla voltaj sinyallerine dönüştüren bir fototüp bulunur. İlk olarak seyreltici ile karıştırılmış numune küvete yerleştirilir ve arka planın voltajı ölçülür. Daha sonra reaksiyonun bitimini takiben numune küvete yerleştirilir ve yeni bir voltaj ölçümü yapılır. HGB konsantrasyonu ne kadar büyükse, çözeltinin saydamlığı o kadar zayıftır ve dönüştürülen voltaj o kadar düşüktür.

Tablo 3.4. Mindray BC-6200 ve Edan H60 Analizörlerin Farkları

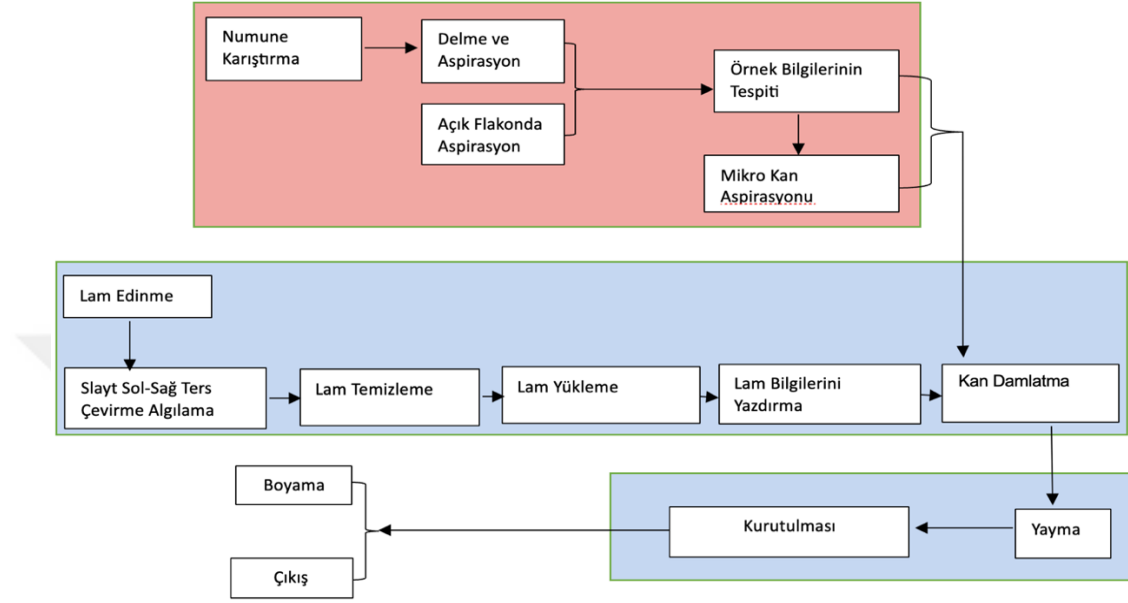
ÖZELLİK	MİNDRAY BC-6200	EDAN H60
Hız	200 numune/saat	60 numune/saat
Numune Hacmi	130 uL (mikro modda: 40 uL),	16 uL
Reaktif	4 adet (1 diluent, 3 lyse)	2 adet (1 diluent, 1 lyse)
Boya	3 adet (M-6FD, M-6FR, M-6FN)	YOK
Ölçüm Yöntemleri	SF Cube (Scatter + Fluorescence), Sheath Fluid Empedance, Kolorimetri	Yarı iletken lazer flow sitometrisi, Elektriksel Empedans, Kolorimetri
Histogram	2 adet (RBC, PLT)	2 adet (RBC, PLT)
Scattergram	3 adet 3D (DIFF, WNB, RET) ve 4 adet 2D (DIFF, WNB, RET, RET-EXT)	2 adet (DIFF, BASO)
Raporlanabilir Parametre	37 adet	25 adet
Araştırma Parametresi	42 adet	6 adet
Flag Tip Sayısı	WBC: 10 tip, RBC: 12 tip, PLT: 2 tip	WBC: 4 tip, RBC: 9 tip, PLT: 1 tip

3.4.3. Mindray SC-120 otomatik periferik yayma ve boyama analizörü

Dünya çapındaki laboratuvarların çoğu, periferik kan yaymasını hazırlamak ve boyamak için hâlen aynı manuel yöntemi kullanmaktadır. Teknolojinin ilerlemesi ile birlikte otomatik cihazların ortaya çıkmasıyla bütün hastalara ait periferik kan yaymaları standart bir şekilde hazırlanıp boyanabilmektedir, bu sayede manuel periferik kan yaymaları hazırlamanın getirdiği iş yükünü ve yaymaları hazırlayan tecrübeli veya tecrübesiz personel faktörü ortadan kaldırmaktadır. Bu analizörde kan yayması hazırlamak için kullanılan yöntem, manuel yayma hazırlarken kullanılan yöntemin aynısıdır (Şekil 3.7).

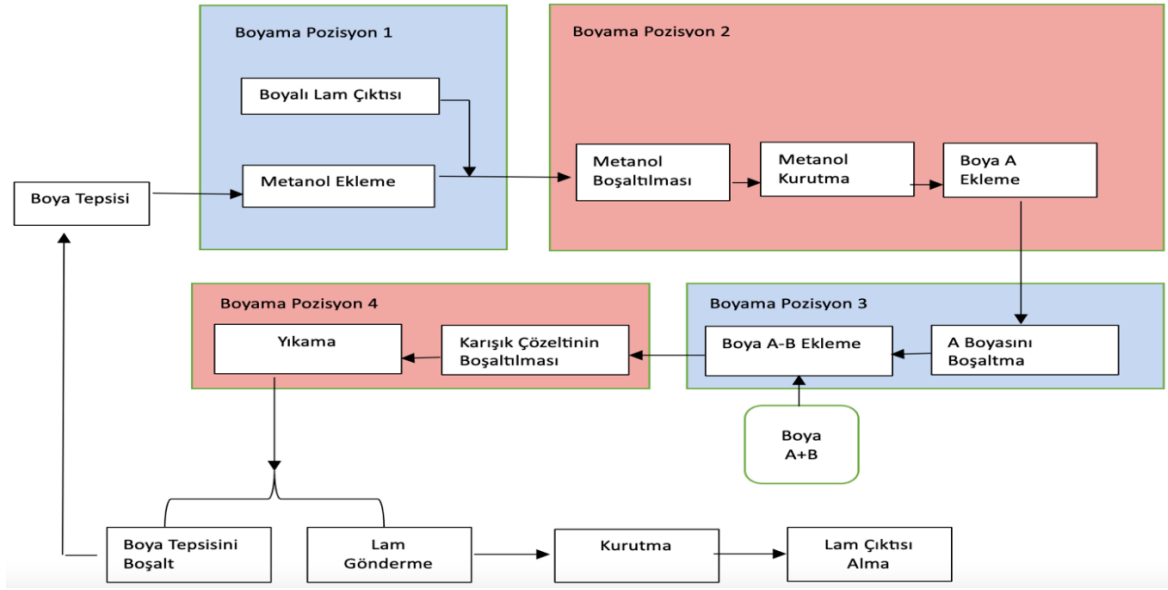
**Şekil 3.7. PY Yayma Yöntemi (Mindray SC- 120)**

Kan Yayma İşlemi: Analizör bir dilüent (M-68DS), yayma fiksasyonu için metanol, boya olarak Wright-Giemsa boyası, pH ortamını korumak için fosfat tamponu, lamaları temizlemek için deiyonize su kullanarak taze tam kan numunesinden 200 uL alır ve kısa bir süre içinde yayılmış boyanmış ve kurutulmuş bir periferik yayma hazırlanmış olur. Kan yayma işlemi, **Şekil 3.8** de detaylı olarak gösterilmektedir.



Şekil 3.8. Kan Yaymasının Akış Şeması (Mindray SC-120)

Kan Yaymasının Boyama İşlemi: Yayma sonrasındaki boyama işlemi ise **Şekil 3.9** de detaylı olarak gösterilmektedir. SC-120 tarafından kullanılan boyaların tümü Romanowsky boyalarıdır ve metilen mavisi ve/veya oksidatından (azure B) ve halofloreseinden (genellikle eosin B veya Y) oluşur. Boya, pH 6.4 - 7.0'da hücrelerin özel bileşenleriyle (çekirdek ve özel sitoplazma granülleri) etkileşime girer ve tipik renkler üretir. Ön fiksasyon için kullanılan metanol ise güçlü dehidrasyon gücüne sahiptir, bu da hücreleri belirli morfolojide sabitleyebilir.



Şekil 3.9. Kan Yayması Boyamanın Akış Şeması (Mindray SC-120)

3.4.4. Mindray MC-80 periferik yayma dijital optik okuma analizörü

Analizör periferik kan yaymalarında kan hücreleri otomatik olarak bulur, 16 mega pikselden (400 × 400) büyük bir WBC görüntü çözünürlüğü ve 400 mega pikselden (2400 × 1680) büyük bir RBC görüntü çözünürlüğü ile hücrelerinin fotoğraflarını çeker ve sunar. Her bir WBC hücresinin sunumu, sınıflandırılması, diferansiyel sayımı, kırmızı kan hücresi morfolojisinin karakterizasyonu ve trombosit değerlendirmesi için tasarlanmıştır. Bu analizörün temel fonksiyonları **Tablo 3.5** de gösterilmiştir.

Tablo 3.5. Mindray MC-80 Temel Fonksiyonları

ANALİZÖR MODU	PARAMETRELER
WBC Ön sınıflandırma (WBC Pre-classification)	Parçalı nötrofiller, Bant nötrofilleri, Lenfositler, Monositler, Eozinofiller, Bazofiller, Miyelositler, Metamyelositler, Promiyelositler, Blast hücreleri, Reaktif lenfositler (atipik lenfositler) ve Plazma hücreleri.
WBC Doğrulama Sınıflandırması (WBC Customized Classification)	Olgunlaşmamış bazofiller, Olgunlaşmamış eozinofiller, Büyük granüler lenfositler, Promonositler, Prolenfositler, Tüylü hücreler, Sézary hücreleri
WBC Olmayan Ön Sınıflandırma	Çekirdekli RBC'ler, Dev trombositler, Trombosit kümeleri, Leke hücreleri ve Artefaktlar
WBC Olmayan Özelleştirilmiş Sınıflandırma (Non-WBC Customized Classification)	Kullanıcı tarafından sınıflandırma
RBC Morfoloji Açıklaması	Anizositoz, Makrositler, Mikrositler, Hipokromik hücreler, Polikromazi ve Poikilositoz
PLT Değerlendirmesi	PLT genel bakış
PLT-Pro Modu	PLT küme algılama

Çalışma Prensipleri: Analizör, yüksek çözünürlüklü ve renkli kan hücreleri görüntülerini bulmak ve yakalamak için bir mikroskop fotoğraf sistemi kullanır ve WBC'lerin, RBC'lerin, PLT'lerin morfolojisini analiz eder. Analizör öncelikle yaymaları taramak, mikroskopik inceleme için uygun alanı bulmak ve belirlemek için düşük büyütme objektif merceği kullanır. Daha sonra analizör, hedef hücrelerin yerini tespit etmek ve tanımlamak için düşük büyütme objektif merceğinin altındaki alanın fotoğrafını çeker. Bundan sonra analizör, yüksek büyütme objektif merceğini kullanmaya geçer ve hedef hücrelerin veya alanların fotoğrafını çeker. Yapılan çeşitli çalışmalarda, Mindray MC-80 cihazına ait dijital periferik yayma sonuçlarının manuel değerlendirme ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir (32,33,34,35). Bu veriler baz alınarak, çalışmamızdaki flag'lerin performans değerlendirmesinde Mindray MC-80 cihazı referans olarak alınmıştır.

3.5. METOT VERİFİKASYON PARAMETRELERİ

3.5.1. Doğrusallık

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) H26-A2 protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada sağlıklı bir kişiden 2 adet 10 mL'lik EDTA'lı tüpe kan alındıktan sonra 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra oluşan iki fazdan üstteki plazma fazı LCS (Low Cell Stock) olarak (LCS için PBS'de kullanılabilir), alttaki hücrelerin bulunduğu faz ise HCS (High Cell Stock) olarak ayrılmıştır.

Aşağıdaki tabloya göre farklı konsantrasyonlarda 6 havuz oluşturulup 2'şer defa çalışılmıştır.

Tablo 3.6. RBC, HGB, HCT Havuz Hazırlama Şeması

RBC, HGB, HCT HAVUZ HAZIRLAMA ŞEMASI			
Tüp No	Konsantrasyon (%)	HCS (µl)	LCS (µl)
1	100	1000	0
2	95	950	50
3	80	800	200
4	10	100	900
5	5	50	950
6	0	0	1000 µl LCS'nin içine 1 damla tam

Doğrusallık (Linearite) çalışması WBC ve PLT için ayrı bir prosedür uygulanarak yapılmalıdır. WBC için doğrusallık çalışmasında kullanılan konsantrasyonlar aşağıdaki tabloya göre hazırlanmıştır.

Tablo 3.7. WBC Havuz Hazırlama Şeması

WBC HAVUZ HAZIRLAMA ŞEMASI			
Tüp No	Konsantrasyon (%)	HCS (µl)	LCS (µl)
1	100	1000	0
2	90	950	50
3	80	800	200
4	60	600	400
5	2,5	12,5	987,5
6	0	0	1000 µl LCS'nin içine 2 damla tam

PLT için doğrusallık çalışması; sağlıklı bir kişiden 2 adet 10 mL'lik EDTA'lı tüpe kan alınır, alınan bu kanlar 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra iki tüpten alınan plazmalar başka temiz boş bir tüpe aktarılır ve 4000 rpm'de 5 dk santrifüj edilir. Santrifüjden sonra oluşan iki plazma fazından üsteki plazma fazı yaklaşık 5 mL başka bir tüpe LCS (Low Cell Stock) olarak, alttaki plazma fazı ise HCS (High Stock Cell) olarak kullanmak için ayrılır. Cihaza okutulmadan PLT'ler tüp cidarına yapıştığından dolayı önce vorteks ile veya alt üst edilerek karıştırılmalıdır. Aşağıdaki tabloya göre farklı konantrasyonlarda 6 havuz oluşturulup 2'şer defa çalışılıp, veriler kaydedilmiştir.

Tablo 3.8. PLT Havuz Hazırlama Şeması

PLT HAVUZ HAZIRLAMA ŞEMASI			
Tüp No	Konsantrasyon (%)	HCS (µl)	LCS (µl)
1	100	1000	0
2	95	950	50
3	80	800	200
4	10	100	900
5	5	50	950
6	0	0	1000 µl LCS'nin içine bir damla tam

3.5.2. LOB/LOD (WBC, HGB, PLT parametreleri için)

NCCSL (National Committee for Clinical Laboratory Standards) EP 17 dökümanı, hedeflenen limitleri doğrulamak ve limitlerin doğru kullanımı ve yorumlanması için klinik laboratuvar yöntemlerinin tespit edilmesinin alt sınırını belirlemek için tavsiyeleri belirlemektedir. Mindary BC-6200 ve Edan H60 cihazları ayrı ayrı olarak, LOB (Limit of Blank) tespiti için her cihazın kendi dilüentinden 5 sample (örnek) hazırlanmıştır. LoD için ise cihazın düşük seviye kontrol solüsyonlarının en düşük olandan 5 örnek hazırlanıp, 3 gün boyunca 5 örnek her gün 4'er defa tekrarlanarak çalışılır. 3 gün boyunca çalışılacak kontroller aynı LOT numarasına sahip olmalıdır.

3.5.3. Tekrarlanabilirlik (precision)

CLSI EP5-A protokolüne uygun olarak tekrarlanabilirlik çalışması yapılmıştır. Mindray BC-6200 ve Edan H60 cihazları için ayrı ayrı olarak her cihazın kendine ait düşük seviye, normal seviye ve yüksek seviye kontrolleri kullanılmıştır. Cihazın kontrol numuneleri günlük sabah 2 ve akşam 2 kere olmak üzere 20 gün boyunca çalışılmıştır. 20 gün boyunca aynı lot numarasına sahip kontrol numuneleri kullanılmıştır. Gün İçi Tekrarlanabilirlik çalışması da CLSI EP5-A protokolüne uygun olarak yapılmıştır. Gün içi tekrarlanabilirlik için sağlıklı bir kişiden 10 mL'lik EDTA'lı tüpe kan alınarak art arda, araya herhangi bir farklı numune girmeden 31 defa cihazda çalışılmıştır.

3.5.4. Taşıma (Carry - Over)

CLSI EP10-A3 potokolüne uygun olarak Mindray BC-6200 ve Edan H60 analizörlerinde carry over çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada, sağlıklı bir kişiden EDTA'lı Mor kapaklı tüpe 3 defa sayım yapacak kadar kan alınmıştır. Kanın plazmasını, çökmesi beklenerek veya 1500 rpm'de 5 dk santrifüj ederek elde edilir ve aşağıdaki tabloya göre örnekler hazırlanır.

Tablo 3.9. Önerilen Carry Over Örnek Değerleri

ÖNERİLEN CARRY OVER ÖRNEK DEĞERLERİ		
Measurand	HTV ^h	LTV
WBC (x 10 ⁹ /L)	> 90	> 0 and < 3
RBC (x 10 ¹² /L)	> 6.20	> 0 and < 1.50
Hb (g/dL[g/L])	> 22.0 (220)	> 0 and < 5.0 (50)
PLT (x 10 ⁹ /L)	> 900	> 0 and < 30

*HTV(High Target Value): Yüksek Hedef Değer LTV(Low Target Value): Düşük Hedef Değer

3.5.5. Üreticiye Ait Performans Özellikleri

Hasta numunelerinin parametreleri ve tam kan sayımında kullanılan Mindray BC-6200 ve Edan H60 hematoloji analizörün ölçüm yöntemleri aşağıda gösterilmiştir.

1-Mindray BC6200:

- WBC, #Bas, #Lym, #Neu, #Mon, #Eos ve #NRBC: SF Cube yöntemi (laser flow cytometry + Fluorescence)
- %Bas, %Lym, %Mon, %Neu, %Eos, %IMG, %NRBC: Hesaplamalı
- Hemoglobin: Kolorimetrik Yöntem
- RBC, PLT: İmpedans Yöntem

- MCV, RDW-CV: Kırmızı kan hücresi histogramına göre hesaplanır
- RDW-SD: Eritrosit boyut dağılımının standart sapmasına dayalı olarak türetilir
- HCT, MCH, MCHC, PCT, PL-CC: Hesaplamalı
- MPV, P-LCR: PLT histogramına göre hesaplanır.
- PDW: Trombosit dağılım genişliği, trombosit histogramından elde edilir ve 10 geometrik standart sapma (10 GSD) olarak rapor edilir.

Tablo 3.10. Mindray BC6200 Üreticiye Ait Performans Verileri

PARAMETRE	DOĞRUSALLIK ARALIĞI	KESİNLİK
WBC	0.0-500×10 ³ /uL	≤2.5% (≥4×10 ³ /uL)
RBC	0.0-8.60×10 ⁶ /uL	≤1.5% (≥3.5×10 ⁶ /uL)
HGB	0-26 g/dL	≤1.0% (11-18 g/dL)
HCT	0-75%	≤1.5% (30%-50%)
PLT	0-5000×10 ³ /uL	≤4.0% (≥100×10 ³ /uL)

2-Edan H60:

- WBC, Bas, Lym, Neu, Mon ve Eos: Semiconductor laser flow cytometry
- Hemoglobin: Kolorimetrik Yöntem
- RBC, PLT: Elektriksel Empedans Yöntemi

Tablo 3.11. Edan H60 Üreticiye Ait Performans Verileri

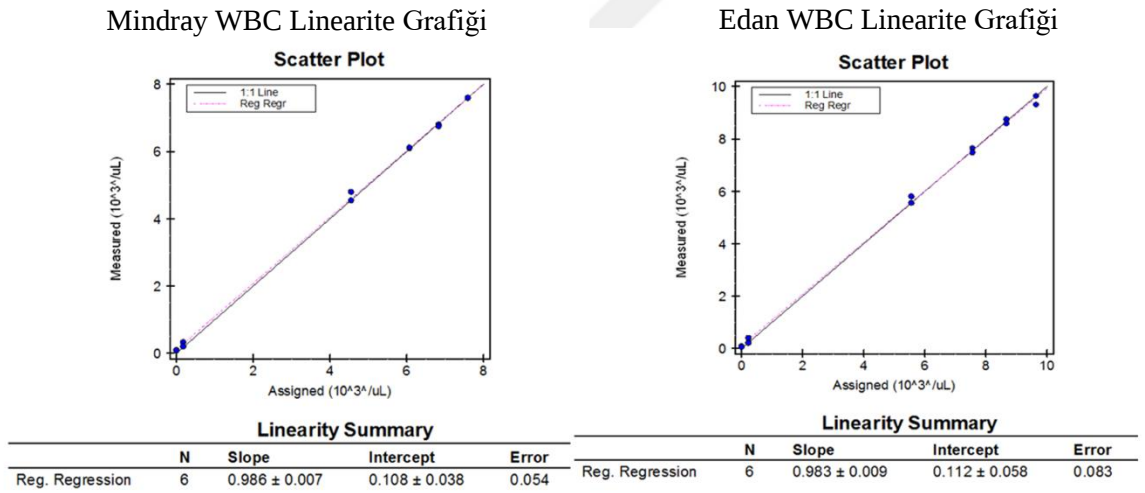
PARAMETRE	DOĞRUSALLIK ARALIĞI	KESİNLİK
WBC	0.0-500 ×10 ³ /uL	≤ 3.0% (3.50-7.00) ≤ 2.5% (7.01-15.00)
RBC	0.0-8.5 ×10 ⁶ /uL	≤ 1.5%
HGB	0-250 g/dL	≤ 1.5%
PLT	0-4000 ×10 ³ /uL	≤ 1.5%
MCV	70 – 120 fL	≤ 1.0%

4. BULGULAR

4.1. CİHAZ PERFORMANS ÇALIŞMASI

4.1.1. Doğrusallık (linearite)

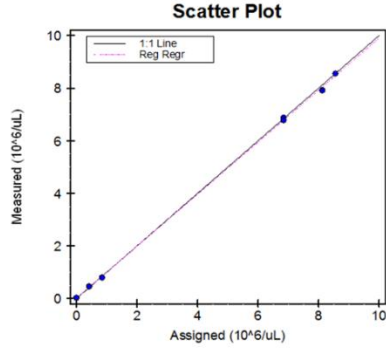
CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) H26-A2 protokolüne uygun olarak WBC, RBC, HGB, HCT ve PLT için gerçekleştirilen çalışmanın verileri EP Evaluator programında işlenerek elde edilen linearite sonuçları ve grafikleri aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Mindray – Edan WBC Linearite Grafikleri

***Measured:** ölçülen değer. **Assigned:** bilinen değer (ölçülmesi beklenen)

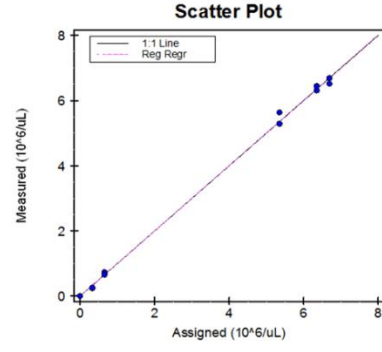
Mindray RBC Linearite Grafiği



Linearity Summary

	N	Slope	Intercept	Error
Reg. Regression	6	0.989 ± 0.009	0.017 ± 0.051	0.084

Edan RBC Linearite Grafiği



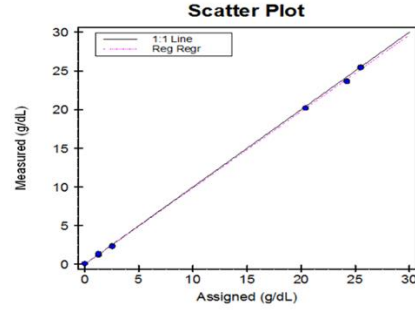
Linearity Summary

	N	Slope	Intercept	Error
Reg. Regression	6	1.003 ± 0.012	-0.0060 ± 0.0515	0.0848

Şekil 4.2. Mindray – Edan RBC Linearite Grafikleri

*Measured: ölçülen değer. Assigned: bilinen değer (ölçülmesi beklenen)

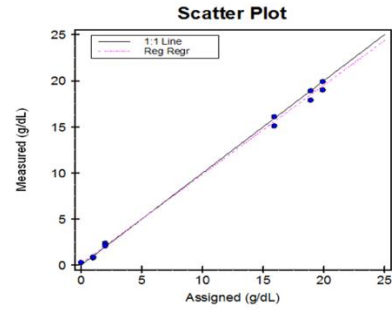
Mindray HGB Linearite Grafiği



Linearity Summary

	N	Slope	Intercept	Error
Reg. Regression	6	0.988 ± 0.008	-0.01 ± 0.13	0.22

Edan HGB Linearite Grafiği



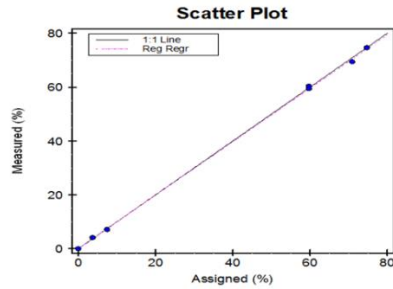
Linearity Summary

	N	Slope	Intercept	Error
Reg. Regression	6	0.968 ± 0.008	0.17 ± 0.11	0.18

Şekil 4.3. Mindray – Edan HGB Linearite Grafikleri

*Measured: ölçülen değer. Assigned: bilinen değer (ölçülmesi beklenen)

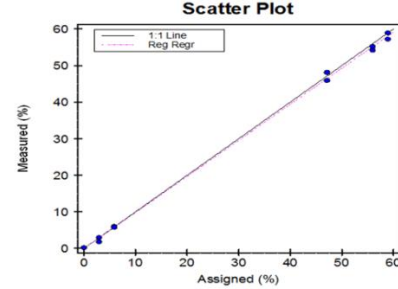
Mindray HCT Linearite Grafiği



Linearity Summary

	N	Slope	Intercept	Error
Reg. Regression	6	0.992 ± 0.009	0.09 ± 0.41	0.68

Edan HCT Linearite Grafiği



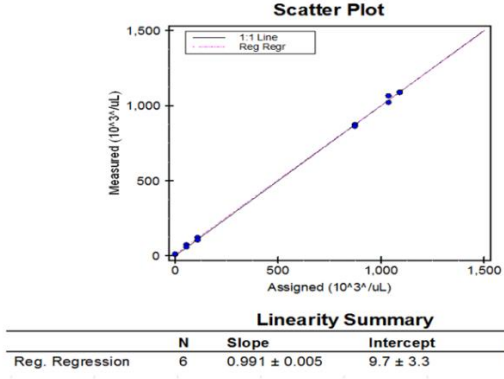
Linearity Summary

	N	Slope	Intercept	Error
Reg. Regression	6	0.986 ± 0.007	-0.04 ± 0.27	0.45

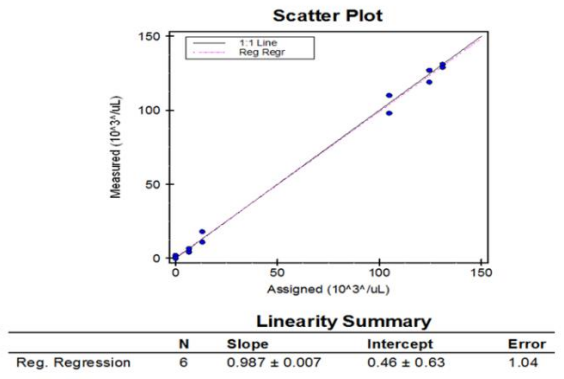
Şekil 4.4. Mindray – Edan HCT Linearite Grafikleri

*Measured: ölçülen değer. Assigned: bilinen değer (ölçülmesi beklenen)

Mindray PLT Linearite Grafiği



Edan PLT Linearite Grafiği



Şekil 4.5. Mindray – Edan PLT Linearite Grafikleri

*Measured: ölçülen değer. Assigned: bilinen değer (ölçülmesi beklenen)

4.1.2. LOB/LOD (WBC, HGB, PLT parametreleri için)

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP 17 dökümanında yer alan protoküle uygun olarak ölçülen ve elde edilen verileri aşağıdaki denklemler kullanarak hesaplanmıştır;

$$\sigma_B = SD/[1-(1/(n-1*4))]$$

$$\text{Limit Of Blank (LOB)} = \text{Mean}(\mu_B) + 1.645 \times \sigma_B$$

$$\text{Limit Of Detection (LOD)} = \text{LOB} + 1.645 \times \sigma_B$$

$$\text{Total Error (\%TE)} = (+) \% \text{Bias} + 2 \times \% \text{CV}$$

Tablo 4.1. Mindray BC6200 WBC LOB – LOD Tablosu

Ölçüm Kapasitesi				
	N	Mean	SD	Kör Limit (LoB)
Kör Numune	20	0.002	0.0022	0.005
	N	Mean	SD	Saptama Limiti (LoD)
Düşük Seviye Kontrol	20	3.56	0.026	0.05
Saptama Sınırı Total Hata (TE)	0.03			Saptama Limiti (LoD) = Ölçüm Limiti (LoQ)

Tablo 4.2. Mindray BC6200 HGB LOB – LOD Tablosu

Ölçüm Kapasitesi				
	N	Mean	SD	Kör Limit (LoB)
Kör Numune	20	0.01	0.023	0.05
	N	Mean	SD	Saptama Limiti (LoD)
Düşük Seviye Kontrol	20	5.79	0.027	0.1
Saptama Sınırı Total Hata (TE)	0.05			Saptama Limiti (LoD) = Ölçüm Limiti (LoQ)

Tablo 4.3. Mindray BC6200 PLT LOB – LOD Tablosu

Ölçüm Kapasitesi				
	N	Mean	SD	Kör Limit (LoB)
Kör Numune	20	0.18	0.425	0.89
	N	Mean	SD	Saptama Limiti (LoD)
Düşük Seviye Kontrol	20	53.35	1.576	3.52
Saptama Sınırı Total Hata (TE)	0.17			Saptama Limiti (LoD) = Ölçüm Limiti (LoQ)

Tablo 4.4. Edan H60 WBC LOB – LOD Tablosu

Ölçüm Kapasitesi				
	N	Mean	SD	Kör Limit (LoB)
Kör Numune	20	0	0.007	0.01
	N	Mean	SD	Saptama Limiti (LoD)
Düşük Seviye Kontrol	20	3.82	0.042	0.08
Saptama Sınırı Total Hata (TE)	0.07			Saptama Limiti (LoD) = Ölçüm Limiti (LoQ)

Tablo 4.5. Edan H60 HGB LOB – LOD Tablosu

Ölçüm Kapasitesi				
	N	Mean	SD	Kör Limit (LoB)
Kör Numune	20	0	0.07	0.13
	N	Mean	SD	Saptama Limiti (LoD)
Düşük Seviye Kontrol	20	6.15	0.03	0.18
Saptama Sınırı Total Hata (TE)	0.07			Saptama Limiti (LoD) = Ölçüm Limiti (LoQ)

Tablo 4.6. Edan H60 PLT LOB – LOD Tablosu

Ölçüm Kapasitesi				
	N	Mean	SD	Kör Limit (LoB)
Kör Numune	20	0.39	1.01	2.08
	N	Mean	SD	Saptama Limiti (LoD)
Düşük Seviye Kontrol	20	79.47	2.15	5.67
Saptama Sınırı Total Hata (TE)	0.1			Saptama Limiti (LoD) = Ölçüm Limiti (LoQ)

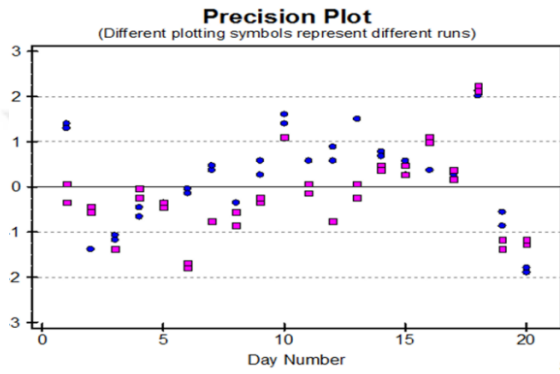
4.1.3. Tekrarlanabilirlik (Precision)

CLSI EP5-A protokülüne uygun olarak tekrarlanabilirlik çalışması yapıldı. Elde edilen veriler EP Evaluator programında işlenerek sonuçları ve grafikleri aşağıda gösterilmiştir.

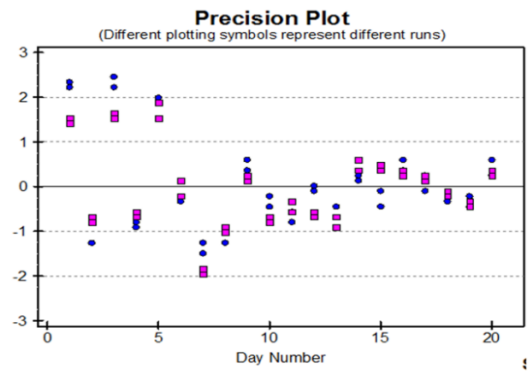
Tablo 4.7. Mindray – Edan WBC Tekrarlanabilirlik Tablosu

	Mindray BC-6200					Edan H60			
Düşük Kontr. WBC		Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total	Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total
	Std. Dev	0.010	0.014	0.083	0.085	0.017	0.011	0.083	0.085
	% CV	0.3	0.4	2.2	2.3	0.4	0.3	2.2	2.3
	Mean	3.71				3.76			
Orta K. WBC	Std. Dev	0.014	0.012	0.1	0.102	0.011	0.014	0.156	0.157
	% CV	0.2	0.2	1.4	1.4	0.1	0.2	2.1	2.1
	Mean	7.33				7.41			
Yüksek K WBC	Std. Dev	0.013	0.019	0.208	0.210	0.018	0.066	0.343	0.350
	% CV	0.1	0.1	1.0	1.0	0.1	0.4	2.1	2.2
	Mean	20.47				15.98			

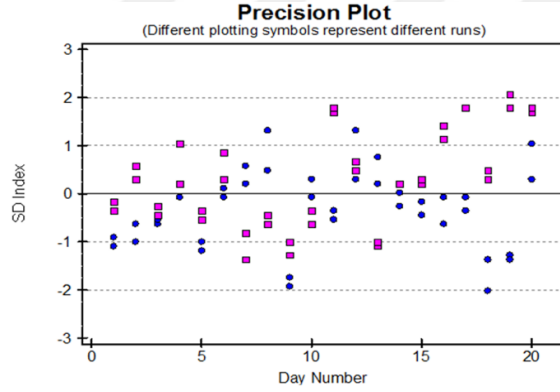
Mindray WBC Düşük Seviye Kontrol



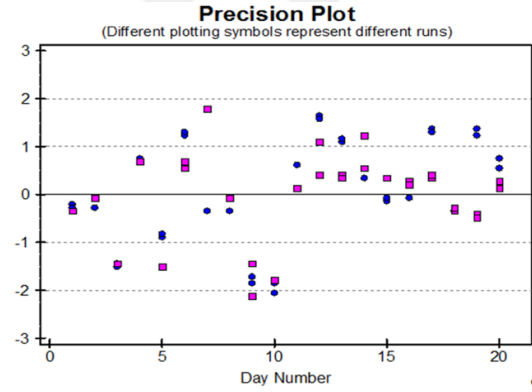
Edan WBC Düşük Seviye Kontrol



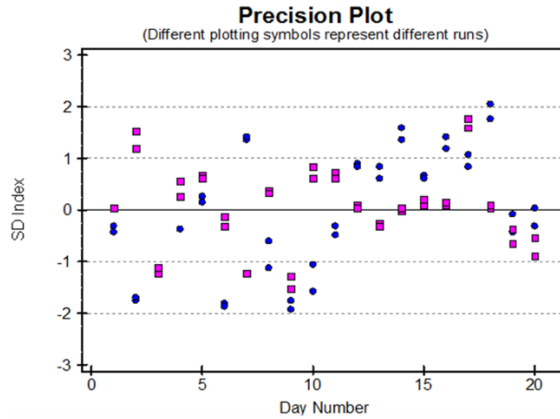
Mindray WBC Orta Seviye Kontrol



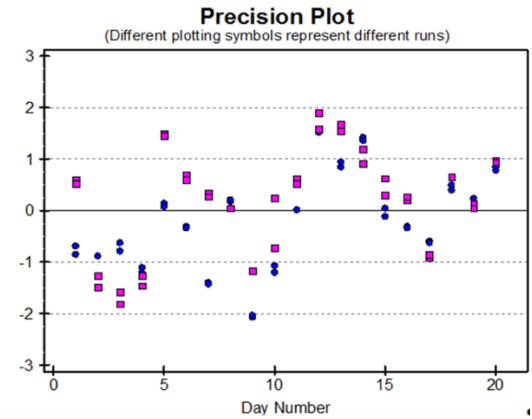
Edan WBC Orta Seviye Kontrol



Mindray WBC Yüksek Seviye Kontrol



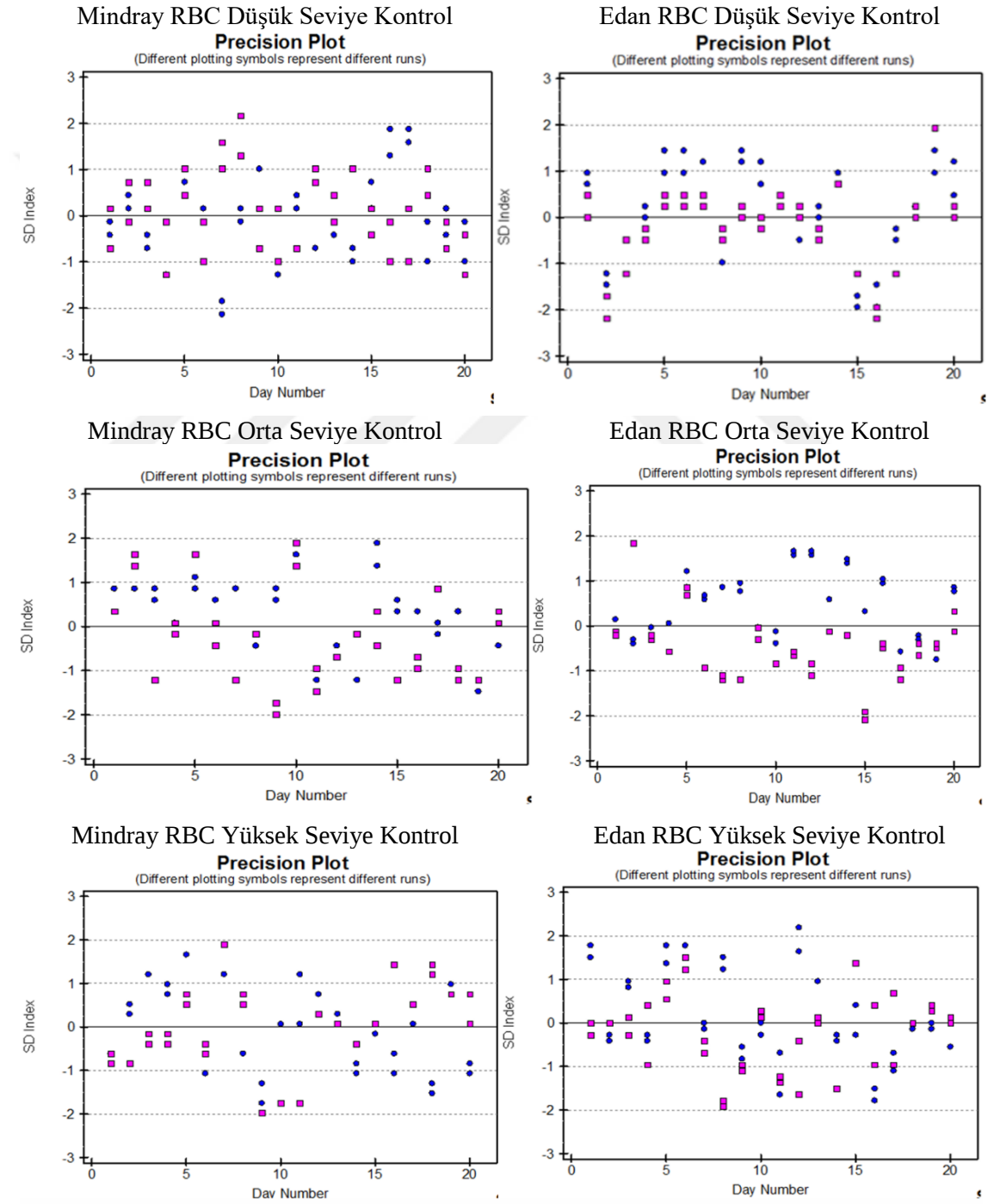
Edan WBC Yüksek Seviye Kontrol



Şekil 4.6. Mindray – Edan WBC (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri

Tablo 4.8. Mindray – Edan RBC Tekrarlanabilirlik Tablosu

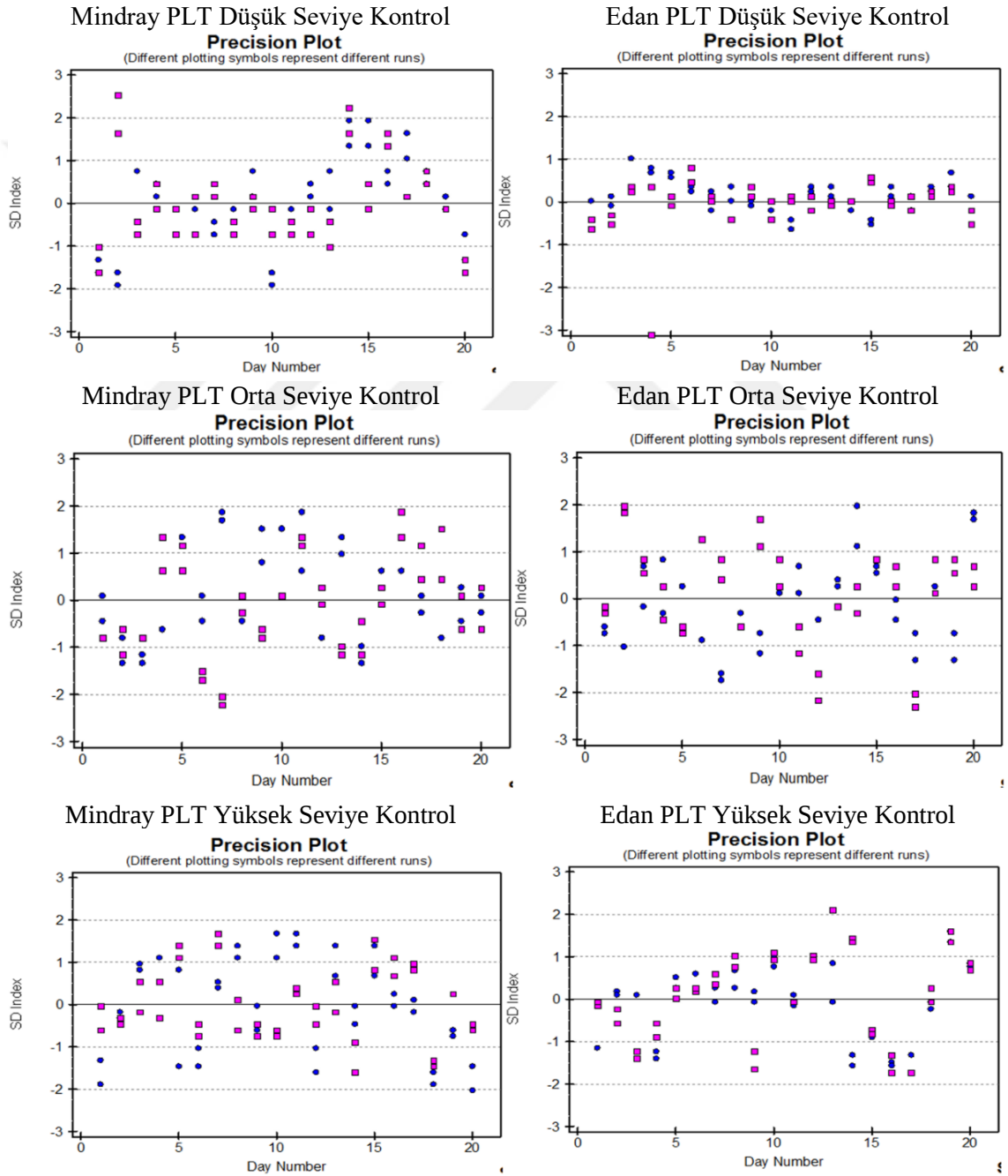
	Mindray BC-6200					Edan H60			
Düşük Kontr. RBC		Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total	Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total
	Std. Dev	0.08	0.08	0.03	0.60	0.012	0.011	0.043	0.046
	% CV	0.3	0.3	1.3	1.4	0.5	0.5	1.8	1.9
	Mean	2.35				2.38			
Orta K. RBC	Std. Dev	0.009	0.004	0.03	0.040	0.018	0.058	0.092	0.111
	% CV	0.2	0.1	0.9	1.0	0.4	1.3	2.1	2.6
	Mean	4.17				4.33			
Yüksek K. RBC	Std. Dev	0.008	0.005	0.038	0.039	0.011	0.017	0.081	0.083
	% CV	0.2	0.1	0.7	0.8	0.2	0.3	1.6	1.6
	Mean	5.15				5.15			



Şekil 4.7. Mindray – Edan RBC (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri

Tablo 4.9. Mindray – Edan PLT Tekrarlanabilirlik Tablosu

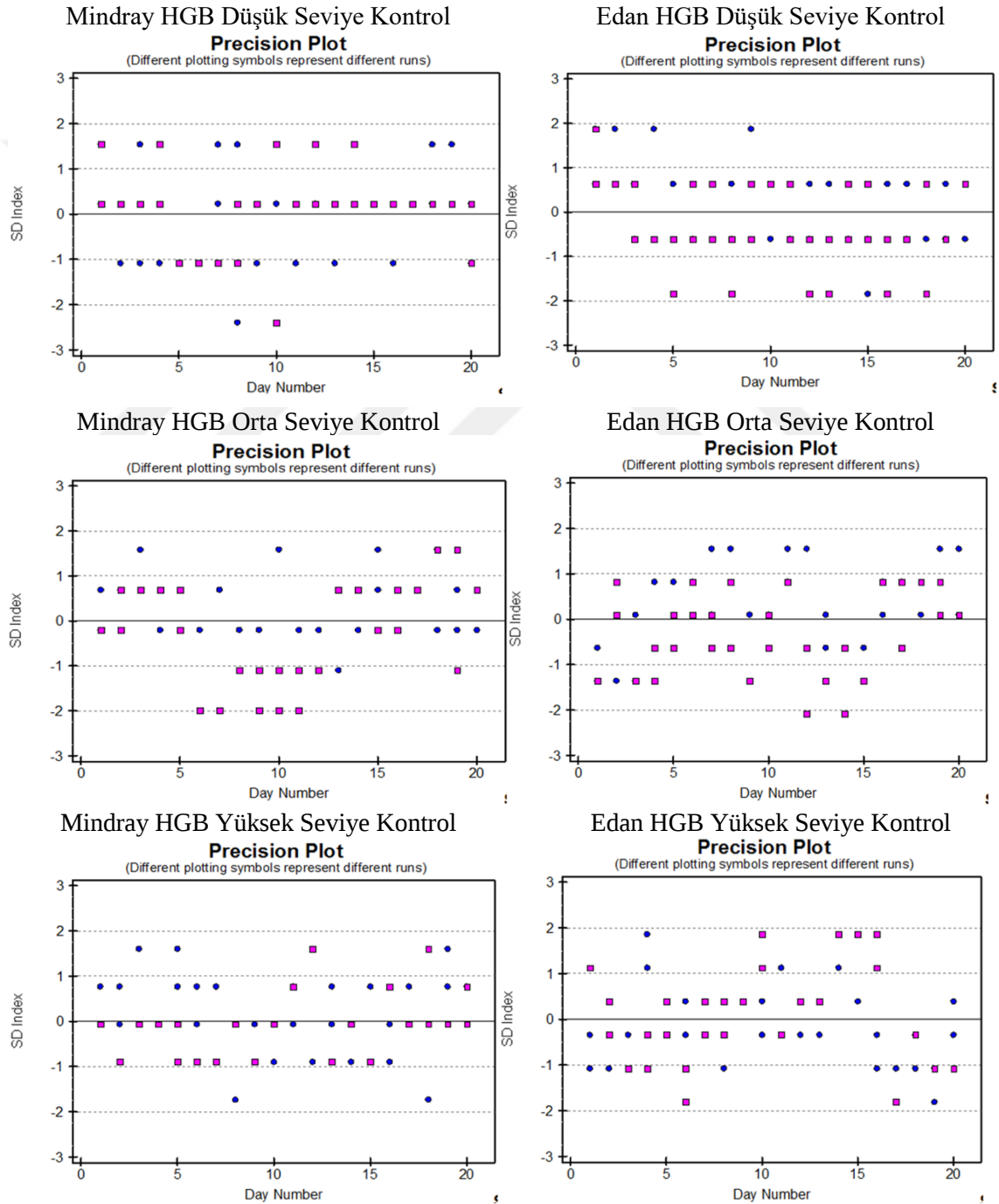
	Mindray BC-6200					Edan H60			
Düşük Kontr. PLT		Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total	Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total
	Std. Dev	1.2	1.1	4.6	4.9	1.8	1.8	3.4	4.2
	% CV	2.1	2.1	8.3	8.9	2.3	2.4	4.3	5.4
	Mean	55.2				77.9			
Orta K. PLT	Std. Dev	1.4	0.9	4.9	5.2	3.0	1.6	7.2	8.0
	% CV	0.7	0.4	2.5	2.6	1.3	0.7	3.2	3.5
	Mean	198.1				224.7			
Yüksek K PLT	Std. Dev	1.5	0.9	7.4	7.6	2.1	1.4	15.4	15.7
	% CV	0.4	0.2	1.9	1.9	0.5	0.3	3.4	3.4
	Mean	396.4				453.9			



Şekil 4.8. Mindray – Edan PLT (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri

Tablo 4.10. Mindray – Edan HGB Tekrarlanabilirlik Tablosu

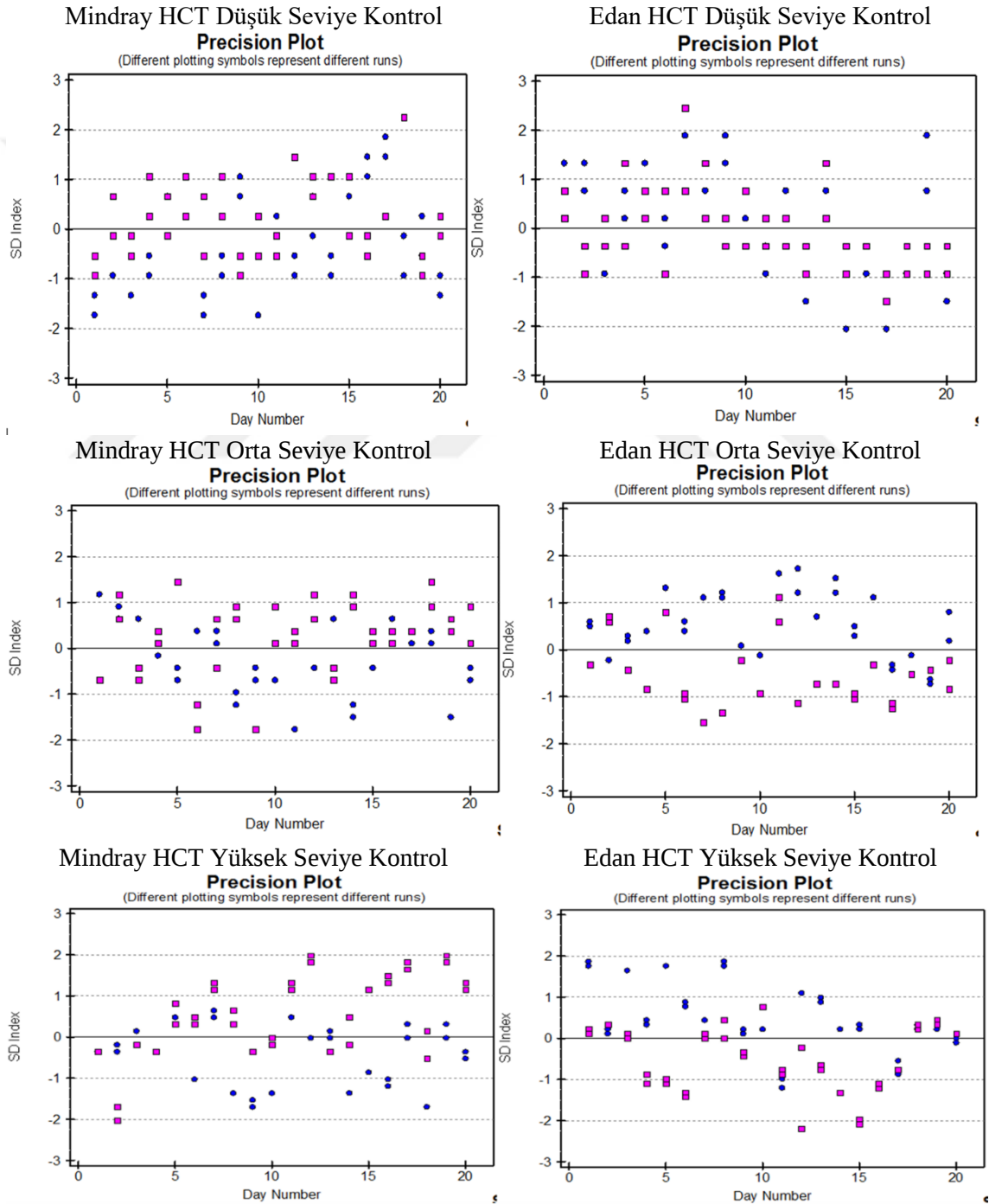
	Mindray BC-6200					Edan H60			
Düşük Kontr, HGB		Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total	Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total
	Std. Dev	0.05	0.07	0.12	0.15	0.06	0.08	0.13	0.14
	% CV	0.9	1.1	2.0	2.4	1.0	0.7	2.2	2.4
	Mean	6.02				6.12			
Orta K. HGB	Std. Dev	0.07	0.02	0.09	0.12	0.06	0.06	0.12	0.15
	% CV	0.6	0.1	0.8	1.0	0.5	0.5	1.0	1.2
	Mean	12.11				12.64			
Yüksek K HGB	Std. Dev	0.06	0.05	0.09	0.11	0.06	0.06	0.13	0.15
	% CV	0.4	0.3	0.5	0.7	0.4	0.4	0.8	1.0
	Mean	15.99				15.90			



Şekil 4.9. Mindray – Edan HGB (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri

Tablo 4.11. Mindray – Edan HCT Tekrarlanabilirlik Tablosu

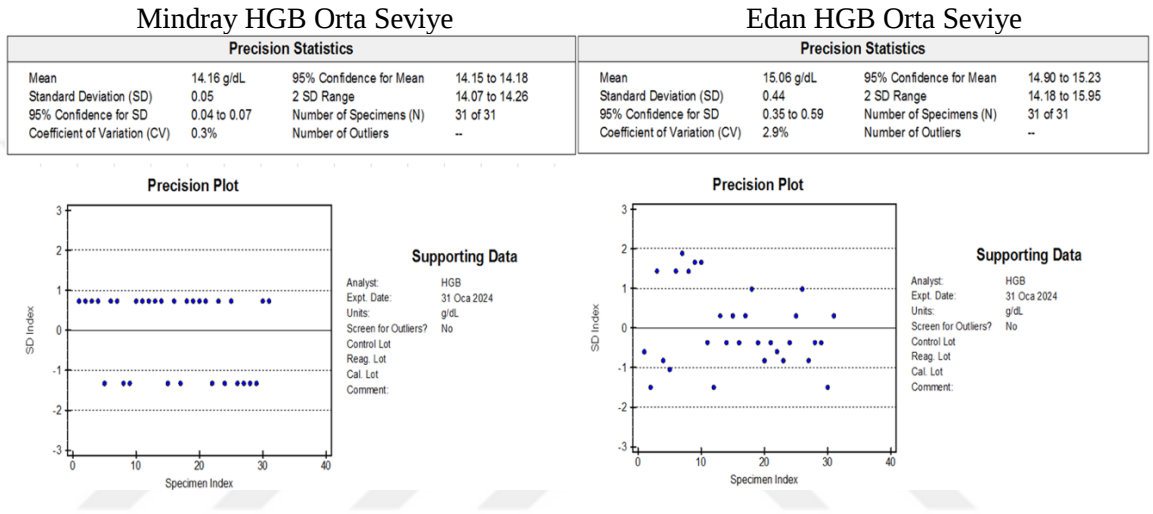
	Mindray BC-6200					Edan H60			
Düşük Kontr, HCT		Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total	Çalışma İçi	Çalışmalar Arası	Günler Arası	Total
	Std. Dev	0.08	0.05	0.23	0.25	0.14	0.09	0.23	0.27
	% CV	0.4	0.2	1.2	1.2	0.7	0.1	1.1	1.3
	Mean	20.12				20.20			
Orta K. HCT	Std. Dev	0.08	0.05	0.55	0.56	0.10	0.11	0.78	0.80
	% CV	0.2	0.1	1.4	1.4	0.2	0.3	1.9	1.9
	Mean	38.8				41.31			
Yüksek K HCT	Std. Dev	0.11	0.07	0.60	0.61	0.08	0.21	0.94	0.96
	% CV	0.2	0.1	1.2	1.2	0.2	0.4	1.8	1.9
	Mean	51.18				51.56			



Şekil 4.10. Mindray – Edan PLT (Düşük-Orta-Yüksek) Tekrarlanabilirlik Grafikleri

Tablo 4.12. Mindray – Edan HGB Gün İçi Tekrarlanabilirlik Tablosu

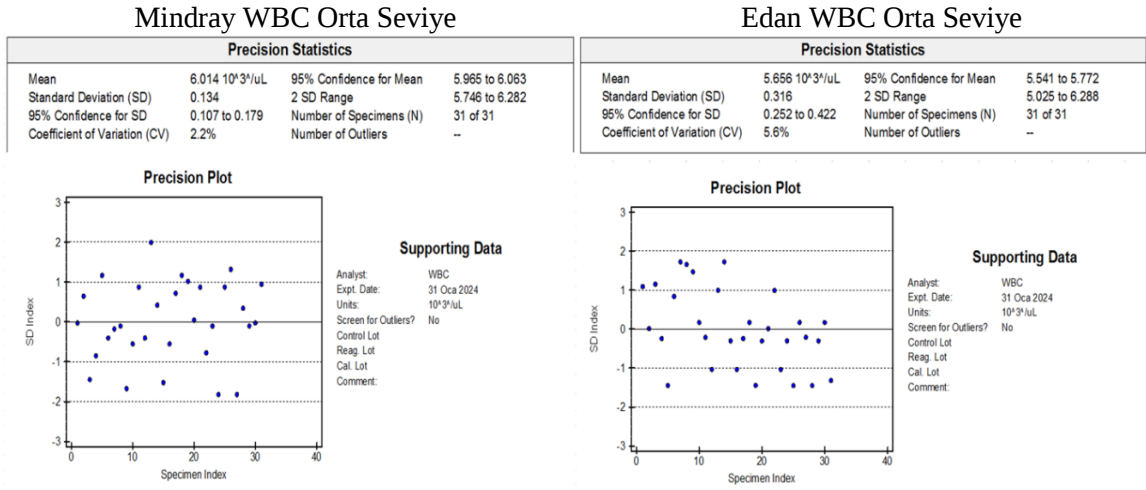
HGB Gün İçi Tekrarlanabilirlik		
Cihaz	Mindray BC-6200	Edan H60
Değer	Orta Değerler	Orta Değerler
Mean	14.16	15.06
SD	0.05	0.44
SD %95 Güven Aralığı	0.04 – 0.07	0.35 – 0.59
% CV	0.3 %	2.9 %



Şekil 4.11. Mindray–Edan Gün İçi HGB (Orta Seviye) Tekrarlanabilirlik Grafikleri

Tablo 4.13. Mindray – Edan WBC Gün İçi Tekrarlanabilirlik Tablosu

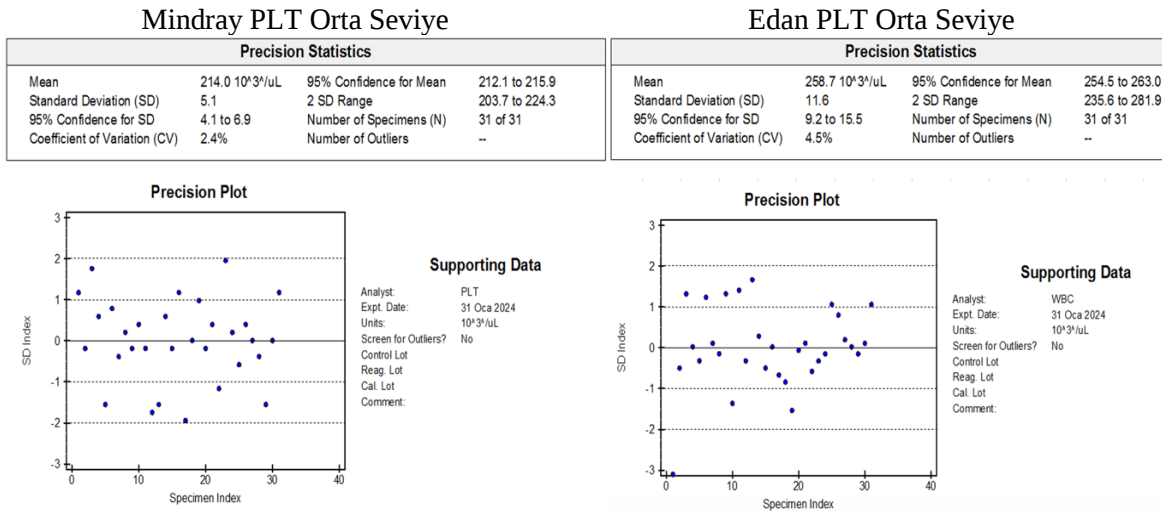
WBC Gün İçi Tekrarlanabilirlik		
Cihaz	Mindray BC-6200	Edan H60
Değer	Orta Değerler	Orta Değerler
Mean	6.014	5.656
SD	0.134	0.316
SD %95 Güven Aralığı	0.107 – 0.179	0.252 – 0.422
% CV	2.2 %	5.6 %



Şekil 4.12. Mindray–Edan Gün İçi WBC (Orta Seviye) Tekrarlanabilirlik Grafikleri

Tablo 4.14. Mindray – Edan PLT Gün İçi Tekrarlanabilirlik Tablosu

PLT Gün İçi Tekrarlanabilirlik		
Cihaz	Mindray BC-6200	Edan H60
Değer	Orta Değerler	Orta Değerler
Mean	214.0	258.7
SD	5.1	11.6
SD %95 Güven Aralığı	4.1 – 6.9	9.2 – 15.5
% CV	2.4 %	4.5 %



Şekil 4.13. Mindray – Edan Gün İçi PLT (Orta Seviye) Tekrarlanabilirlik Grafikleri

4.1.4. Taşıma (Carry - Over)

CLSI EP10-A3 potokolüne uygun olarak carry over çalışması yapılmıştır. Elde edilen veriler EP Evaluator programında işlenerek sonuçları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.15. Mindray – Edan Carryover Analiz Sonuç Tablosu

	%Carryover				Hata Limiti	
	Mindray		Edan		Mindray	Edan
WBC	0.024	✓	-0.021	✓	0.110	0.062
RBC	0.004	✓	0.010	✓	0.016	0.013
HGB	0.06	✓	-0.02	✓	0.13	0.16
PLT	-0.8	✓	1.8	✓	3.7	14.9

EP Evaluator

Clinical Lab – Kennett Community Hospital

WBC EP Evaluator

Clinical Lab – Kennett Community Hospital

RBC

Instrument: MINDRAY

Instrument: MINDRAY

Carryover

Carryover

Carryover Analysis			
High-Low Mean	0.574	Error Limit	0.110
Low-Low Mean	0.550	Passes?	Yes
Carryover	0.024		

Carryover Analysis			
High-Low Mean	0.190	Error Limit	0.016
Low-Low Mean	0.186	Passes?	Yes
Carryover	0.004		

EP Evaluator

Clinical Lab – Kennett Community Hospital

HGB

EP Evaluator

Clinical Lab – Kennett Community Hospital

PLT

Instrument: MINDRAY

Instrument: MINDRAY

Carryover

Carryover

Carryover Analysis			
High-Low Mean	0.68	Error Limit	0.13
Low-Low Mean	0.62	Passes?	Yes
Carryover	0.06		

Carryover Analysis			
High-Low Mean	11.2	Error Limit	3.7
Low-Low Mean	12.0	Passes?	Yes
Carryover	-0.8		

EP Evaluator

Clinical Lab – Kennett Community Hospital

WBC

EP Evaluator

Clinical Lab – Kennett Community Hospital

RBC

Instrument: EDAN

Instrument: EDAN

Carryover

Carryover

Carryover Analysis			
High-Low Mean	1.850	Error Limit	0.062
Low-Low Mean	1.874	Passes?	Yes
Carryover	-0.024		

Carryover Analysis			
High-Low Mean	0.022	Error Limit	0.013
Low-Low Mean	0.012	Passes?	Yes
Carryover	0.010		

EP Evaluator

Clinical Lab – Kennett Community Hospital

HGB

EP Evaluator

Clinical Lab – Kennett Community Hospital

PLT

Instrument: EDAN

Instrument: EDAN

Carryover

Carryover

Carryover Analysis			
High-Low Mean	0.12	Error Limit	0.16
Low-Low Mean	0.14	Passes?	Yes
Carryover	-0.02		

Carryover Analysis			
High-Low Mean	20.0	Error Limit	14.9
Low-Low Mean	18.2	Passes?	Yes
Carryover	1.8		

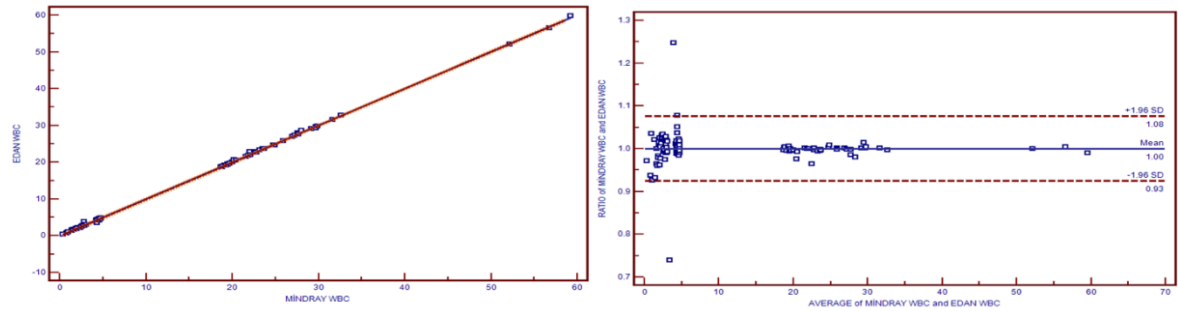
Şekil 4.14. Carry over Analiz Sonuçları

4.2. MİNDRAY – EDAN VERİLERİN KARŞILAŞTIRMA SONUCU

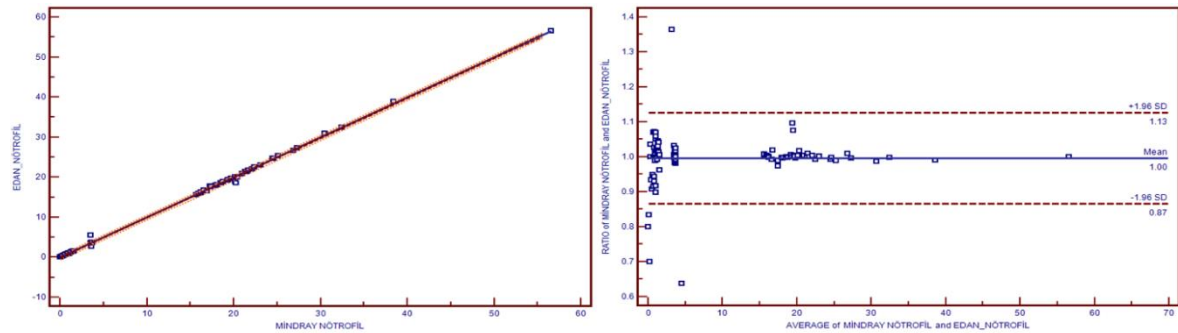
Hastalardan alınan kan örneklerinin tam kan sayımı analiz sonuçları Mindray BC-6200 ve Edan H60 cihazlarında birbiriyle karşılaştırıldı. Cihazlardaki ölçülebilen parametreleri istatistiksel olarak değerlendirildi, hesaplamalı olan parametreler ise istatistiksel değerlendirmenin dışında bırakıldı. Elde edilen veriler MedCalc® Statistical Software programında işlenerek elde edilen Passing Bablok ve Bland Altman regresyon sonuçları aşağıdaki tablolarda ve grafiklerde gösterildi.

Tablo 4.16. Mindray – Edan Verilerin Karşılaştırma Sonuç Tablosu

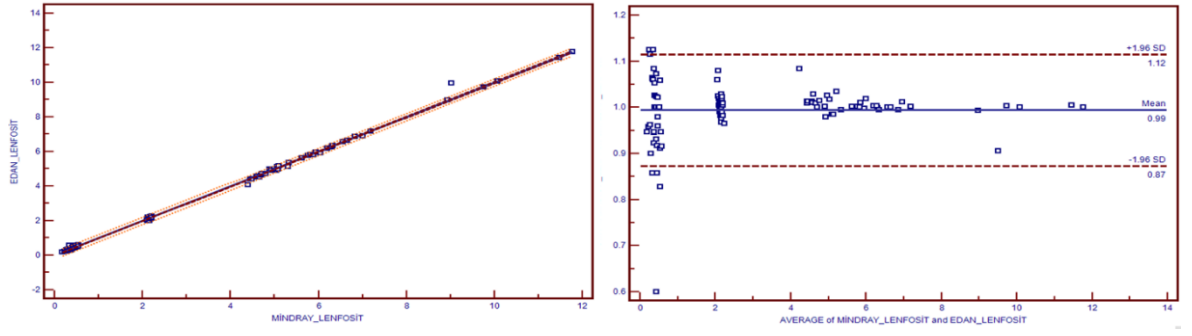
Parametre	Regresyon denklemi	Intercept A %95 Güven Ara.	Slope B %95 Güven Ara.	Regresyon Katsayısı R^2
WBC	$y = -0.0100 + 1.0000 x$	-0.0213 to 0.0024	0.9988 to 1.0019	0.9998
NEU	$y = 0.0000 + 1.0000 x$	-0.0083 to 0.0028	0.9992 to 1.0023	0.9991
LYM	$y = 0.0012 + 0.9976 x$	-0.0100 to 0.0121	0.9940 to 1.0000	0.9984
MON	$y = -0.0010 + 1.0000 x$	-0.0203 to -0.0073	0.9921 to 1.0077	0.9653
EOS	$y = -0.0027 + 1.0042 x$	-0.0183 to 0.0000	1.0000 to 1.0417	0.9924
BAS	$y = 0.0000 + 1.0000 x$	0.0000 to 0.0020	0.8000 to 1.0000	0.8220
HGB	$y = 0.0000 + 1.0000 x$	0.0000 to 0.0000	1.0000 to 1.0000	0.9983
RBC	$y = 0.0517 + 0.9847 x$	0.0299 to 0.0863	0.9766 to 0.9928	0.9936
PLT	$y = 1.8701 + 0.9879 x$	-1.0000 to 3.6314	0.9746 to 1.0000	0.9960



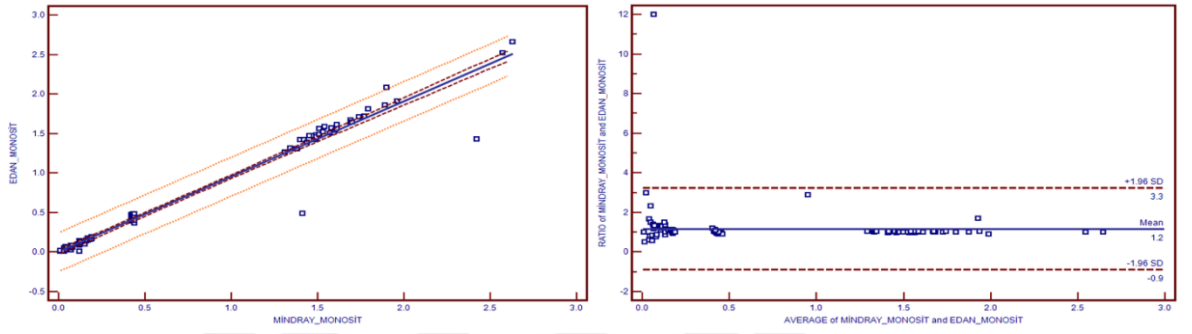
Şekil 4.15. Mindray – Edan WBC Passing Bablok – Bland Altman Grafikleri



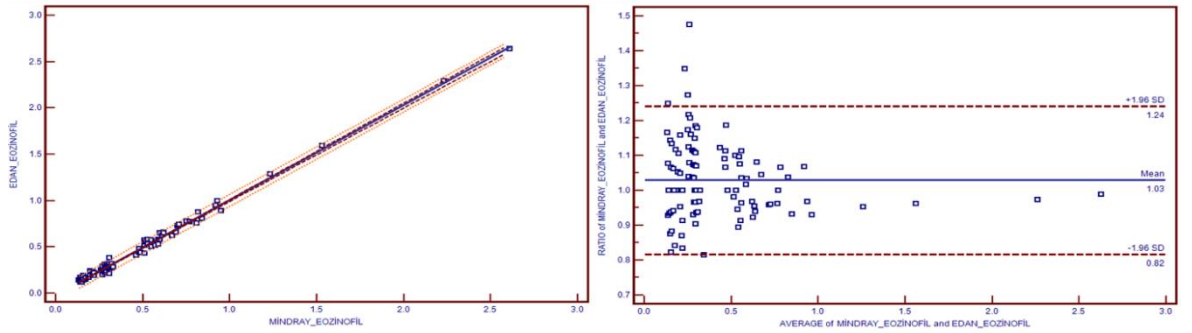
Şekil 4.16. Mindray – Edan Nötrofil Passing Bablok – Bland Altman Grafikleri



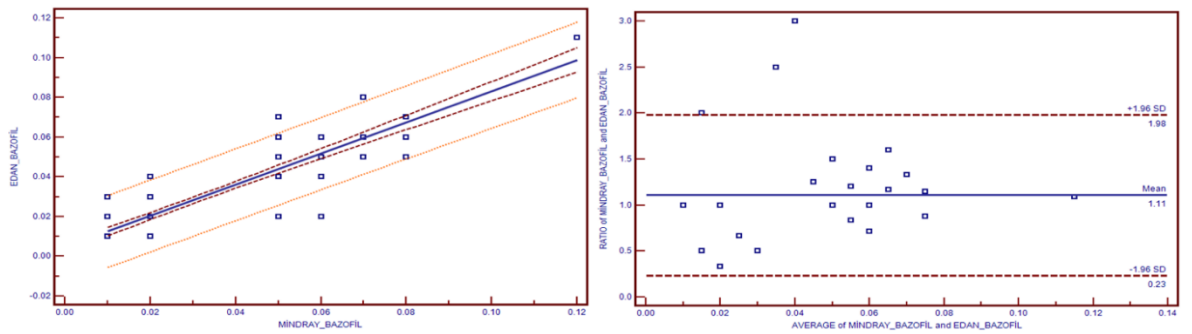
Şekil 4.17. Mindray – Edan Lenfosit Passing Bablok – Bland Altman Grafikleri



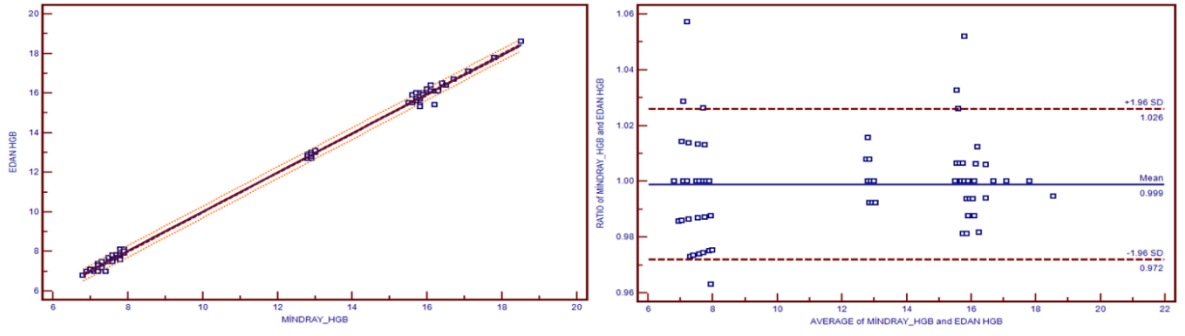
Şekil 4.18. Mindray – Edan Monosit Passing Bablok – Bland Altman Grafikleri



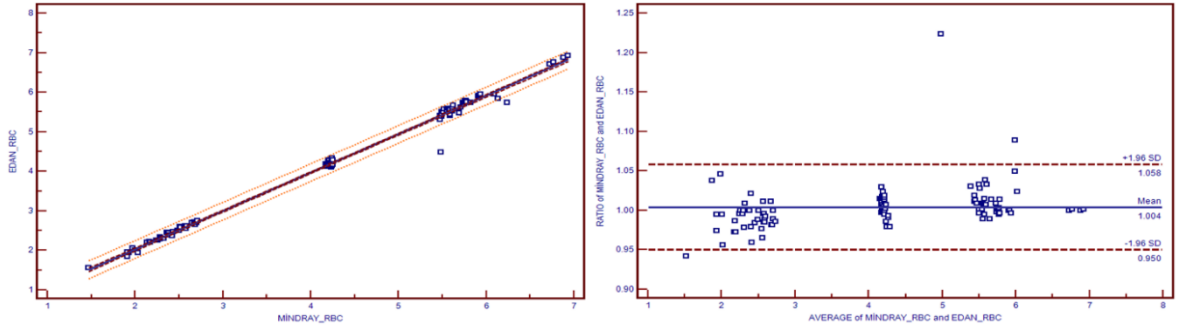
Şekil 4.19. Mindray – Edan Eozinofil Passing Bablok – Bland Altman Grafikleri



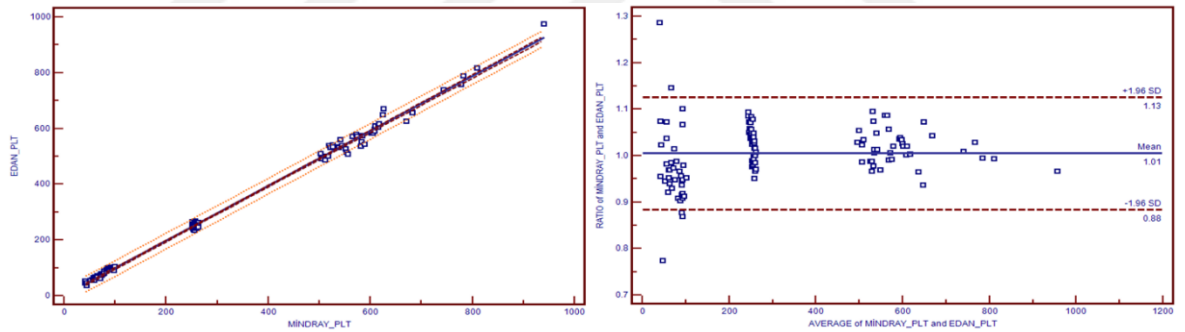
Şekil 4.20. Mindray – Edan Bazofil Passing Bablok – Bland Altman Grafikleri



Şekil 4.21. Mindray – Edan HGB Passing Bablok – Bland Altman Grafikleri



Şekil 4.22. Mindray – Edan RBC Passing Bablok – Bland Altman Grafikleri



Şekil 4.23. Mindray – Edan PLT Passing Bablok – Bland Altman Grafikleri

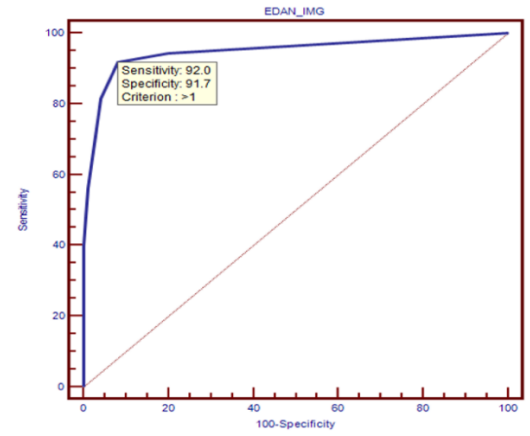
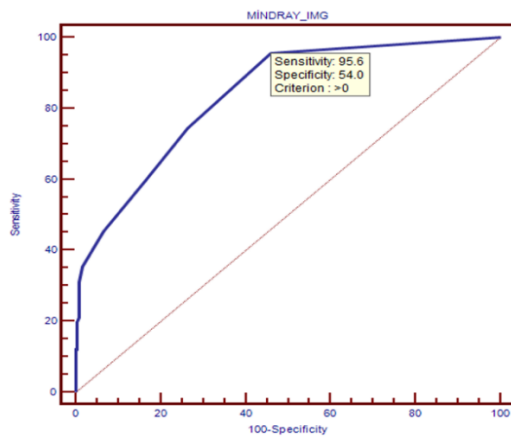
4.3. FLAG PERFORMANSI

Hastalardan alınan kan örnekleri Mindray BC-6200 ve Edan H60 hemogram cihazlarında analiz sırasında flag uyarılarına sahip kan örnekleri Mindray SC-120 cihazı aracılığı ile hazırlanan periferik yaymaları Mindray MC-80 cihazı ile değerlendirildi, elde edilen verileri MedCalc® istatistik programına işlenerek ROC analizi yapıldı, çalışma sonuçları ve grafikleri aşağıda gösterilmiştir.

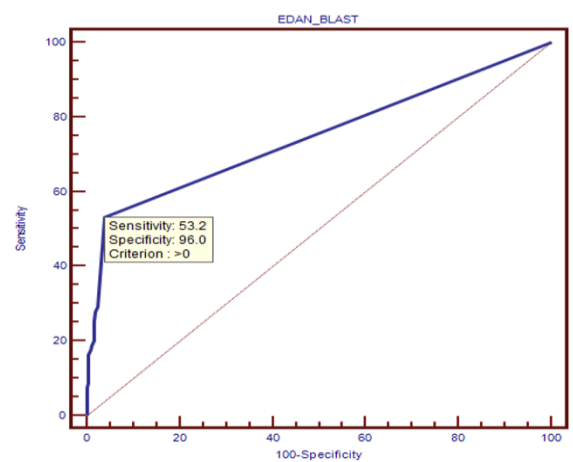
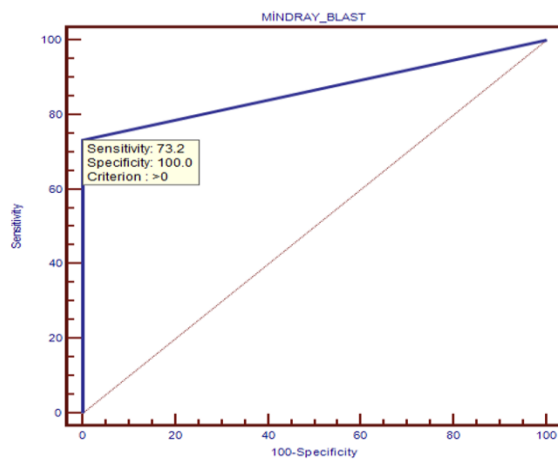
Tablo 4.17. Mindray – Edan Flaglerin ROC Analiz Tablosu

	Cut-off Değeri	Duyarlılık	Özgüllük	AUC*
Mindray OG	>0	95.56	53.97	0.837
Edan OG	>1	91.95	91.74	0.948
Mindray blast	>0	73.21	100	0.866
Edan blast	>0	53.16	96.0	0.747
Mindray abn. PLT Histogramı	>56	86.27	85.27	0.903
Edan abn. PLT Histogramı	>54	79.37	85.34	0.861
Mindray PLT Kümesi	>4	90.91	79.26	0.913

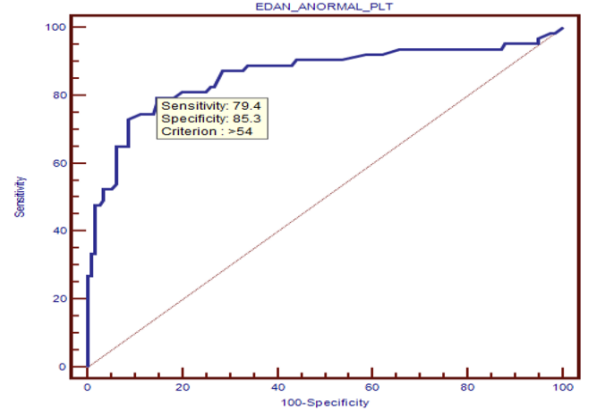
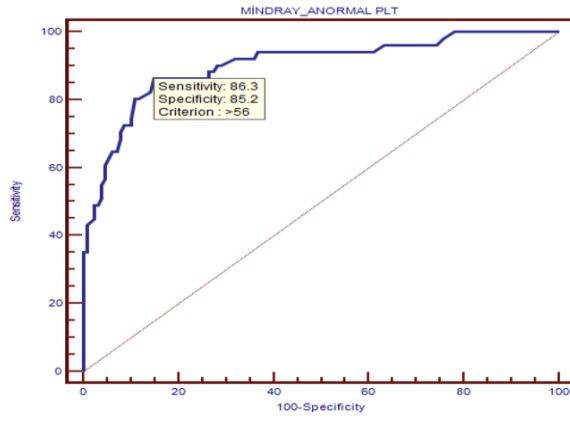
*AUC: Eğri Altındaki Alan



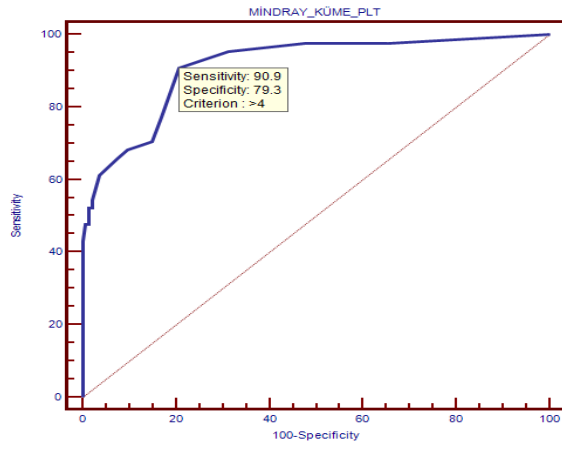
Şekil 4.24. Olgunlaşmamış Granülosit Flag'ın ROC Analizi



Şekil 4.25. Anormal Lenf – Blast Flag'ın ROC Analizi



Şekil 4.26. Anormal PLT Histogramı Flag'ın ROC Analizi



Şekil 4.27. PLT Kümesi Flag'ın ROC Analizi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tam kan sayımı analizi, gerek hematopoietik sistemin gerekse hematopoietik sistem dışındaki organ hastalıklarının tanı ve tedavisinde büyük bir öneme sahip olduğundan, klinik laboratuvarlardan istenen en sık testlerden biridir. Dolayısı ile laboratuvara düşen sorumluluk, tam kan sayımının doğru ve hızlı bir şekilde çalışılarak raporlanmasıdır. Teknolojinin gelişmesi ile birlikte firmalar tarafından tam kan sayım analizi yapan birçok metotlar ve cihazlar üretilmeye devam etmektedir. Özellikle kamu hastanelerinde, firmalar arasındaki rekabetin sağlanabilmesi için 1 ile 3 yıl arası periyotlarda laboratuvar sistemleri değişmekte olup, laboratuvar uzmanları daha önce çalışma tecrübeleri bulamadıkları cihazlarla da çalışmak durumunda kalmaktadır.

Kan sayımı da dahil olmak üzere laboratuvarda çalışılan ve performansına çalışma süresi boyunca takip edilerek güven duyulan eski cihaz ve metotlar, yerini yeni cihaz ve metotlara bırakırken; cihazlar arasında karşılaştırma yapmak kaçınılmaz hale gelmektedir.

Kan sayımının doğru olarak çalışılmasında cihaz kıyaslamaları, mevcutta kullanılan ve güvenilen cihazlar ile elde edilen verilerin yeni cihaz ve metotlarla da sağlanıp sağlanmayacağını ve varsa ek avantajlarını görmemizi sağlar. Kan sayımlarında yaşanan metot karşılaştırma süreçleri içinde, belki de en önemli noktalar; cihazlara ait sınırlar, kısıtlamalar ve uyarılardır. Alt ve üst okuma sınırları kan sayım cihaz performansları hakkında önemli bilgiler vermekte olup, "flag" olarak bahsi geçen ve normal dışı durumları belirten uyarılar da en az o kadar önemlidir.

Flag'ler daha çok, periferik kan analizinde gözlenen immatür yani olgunlaşmamış kan hücrelerinin varlığında görülmektedir. Bir kan sayımı cihazının her ne kadar matür hücreleri ve alt indekslerini doğru ölçmesi istenir ve beklenirse de, aynı şekilde immatür hücreleri de doğru bir şekilde tespit etmesi gerekmektedir.

Malign veya benign birçok hastalıklar, hematologlar, patologlar, genetik ve biyokimya branşlarındaki uzmanlar tarafından multidisipliner bakış açısı ile periferik yayma, klinik değerlendirme, akım sitometrisi, patolojik değerlendirme, genetik testler gibi yöntemler kullanarak tespit edilebilmekte; saptanan immatür hücrelere ait veriler, malign hematolojik hastalıkların tanı ve tedavisini şekillendirmektedir. Bu süreçler, emek yoğun ve

pahalı olup; pratik klinik uygulamada sürecin ilk basamağında genel bir periferik yayma değerlendirilmesi yer alır.

Flag'lerin uzman aracılı periferik yayma ile doğrulanması, kan sayımı analizörlerinin kıyaslanmasında kullanılan pratik uygulamalardan birisidir. Flag uyarısı olan bir kana ait kırmızı ve beyaz hücre morfolojisinde sağlıklı bir değerlendirmesinin yapılabilmesi için, EDTA kaynaklı değişikliklerin başlamasından önce, (yani numune tüpe alındıktan en fazla 4 saat içinde) morfolojik analiz için periferik kan yaymasının hazırlanması önerilmektedir (18).

Bu çalışmada Mindray BC-6200 ve Edan H60 hematoloji analizörlerinin tam kan örneklerinde lökosit, eritrosit ve trombosit hücrelerini sayma ve sınıflandırma performansları, her iki cihaza ait veriler karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca ortaya çıkan flag uyarıları da uzman aracılı periferik kan yayması ile teyit edilmiştir. Bu çalışma, piyasaya yeni sürülen Edan H60 hematoloji analizörünün literatürdeki ilk metot kıyaslama ve performans değerlendirme çalışması olup, Mindray BC-6200 hematoloji analizörü ile ilgili olarak, literatürde çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Tam kan sayım cihazları, kandaki hücrelerin artışı ya da azalışı ile bilgi vermekle beraber, malign veya benign birçok hematolojik hastalıkların tanısında, hücrelerin morfolojik özelliklerini de değerlendirebilmektedir. Bu nedenle tam kan sayım analizörlerinin LBYS (Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi) yazılımlarındaki gelişmelerle, flag uyarısına sahip olan kan numunesine, zaman kaybına uğramadan refleks (doğrulamalı kontrol) test olarak uzman aracılı periferik kan yaymasının yapılmasının eklenmesi ve yaymanın değerlendirilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmanın ilk amacı laboratuvar dünyasına yeni giren Edan H60 hemogram analizörü ile laboratuvarımızın rutininde uzun zamandır güvenle kullanılan Mindray BC-6200 hemogram analizörü arasında metot karşılaştırmasıdır. Çalışmayı yürütebilmek için ilk olarak analizörlerin yeterli performansa sahip olduklarının tespit edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle her iki analizörün birbirinden bağımsız olarak ve CLSI prosedürlerine uygun olarak verifikasyon çalışmaları yapılmıştır.

Performans analizin "Analitik Ölçüm Aralığı" (AMİ) çalışmasında Mindray BC6200 ve Edan H60 analizörleri için sırasıyla; WBC parametresi için LOB (0.005, 0.01) LOD (0.05, 0.08), HGB parametresi için LOB (0.05, 0.13) LOD (0.1, 0.18), PLT parametresi için LOB (0.89, 2.08) LOD (3.52, 5.67) olarak tespit edilmiştir. Total Hata (TE)'nin hesaplanması ile

birlikte WBC, HGB, ve PLT parametrelerin TE < LoD olarak tespit edilip LoQ = LoD şeklinde kabul edilmiştir (22).

Linearite çalışmalarında, Mindray BC-6200 ve Edan H60 analizörlerde, değerleri yaş ve cinsiyete uygun referans aralığı içinde ölçülen parametrelerin (WBC, RBC, HGB, HCT ve PLT) lineer olduğu tespit edilmiştir. Kulik ve arkadaşları tarafından Mindray BC-6200 analizörü performans çalışmasında benzer sonuçlar elde edilmiştir (27).

Prezisyon çalışmalarında Mindray BC6200 ve Edan H60 analizörlerin çalışma içi, çalışmalar arası ve günler arasında WBC, RBC, HGB, HCT ve PLT parametrelerin total %CV'leri, Edan H60 Orta Seviye RBC (%CV:%2.6) dışında tüm parametreler, hedeflenen Westgard spesifikasyon (Desirable specification) değerlerini karşılamıştır (23). Kulik ve arkadaşları Mindray BC-6200 analizörünün performans çalışmalarında, çalışma içi hassasiyet değerlendirmesinde, lenfosit (%CV:%39) hariç, belirlenen tüm parametreler için çok iyi sonuçlar elde edilmiştir (tamamının %CV<%5.0). Aynı çalışmada, çalışmalar arası hassasiyet değerlendirmesinde ise düşük seviye monosit (%CV:%15) dışında, belirlenen parametrelerin bütün seviyelerinde %CV<%5 olarak elde edilmiştir (27). Orta seviye değere sahip gün içi tekrarlanabilirlik çalışmasında HGB parametresi için sadece Mindray BC-6200 cihazında, PLT parametresi için ise hem Mindray BC-6200 hem de Edan H60 cihazında hedeflenen Westgard spesifikasyon değerleri karşılanmıştır (23). Orta seviye değere sahip gün içi tekrarlanabilirlik çalışmasında geri kalan parametreler (WBC parametresi için hem Mindray BC-6200 hem de Edan H60, HGB parametresi için Edan H60) ise hedeflenen değerlere ulaşamamıştır. Test edilen numunelerdeki ölçülen hücrelerinin sayısının artmasıyla % CV değerlerinin azaldığını fark edilmiştir. Bu durum, numunedeki hücre sayısının azalmasıyla %CV'nin arttığını öne süren diğer yazarların gözlemlerini doğrulamaktadır (28).

Bizim çalışmamızda carry over değerlendirilmesinde her iki analizörün WBC, RBC, HGB ve PLT parametreleri için taşıma riski olmadığını sonucunu elde edilmiştir. Kulik ve arkadaşları Mindray BC-6200 analizörün carry over çalışmasında minimal bir taşıma tespit ettiklerini bildirmişlerdir (27).

Her iki hemogram analizörünün analitik performans yeterliliği tespit edildikten sonra, Mindray BC-6200 ve Edan H60 cihazlarında analiz edilen hastaların tam kan analiz sonuçları karşılaştırılmıştır. İstatistiksel değerlendirmede regresyon çalışmasının R² Regresyon Katsayısı değerleri sırasıyla WBC (0.9998), Nötrofil (0.9991), Lenfosit (0.9984), Monosit (0.9653), Eozinofil (0.9924), Bazofil (0.8220), HGB (0.9983), RBC (0.9936), PLT

(0.9960) olarak tespit edilmiş olup her iki analizörün de birbiriyle uyumlu bir şekilde tam kan sayım analizi yapabildiği kanaatine varılmıştır.

NRBC parametresi, yoğun bakım ünitesine yatırılan kritik hastalarda daha yüksek bir ölüm oranıyla ilişkilendirilmiş olan (24), önemli bir parametredir. NRBC, Mindray BC-6200'de lazer saçılımı ve floresan ölçümü kullanılarak ayrı bir WNB kanalı ile sayılabilmekte, bu da NRBC'nin diğer yöntemlere göre diğer hücre popülasyonlarından çok daha iyi ayrılmasını sağlamaktadır (25). Bunun ile birlikte NRBC'nin doğru şekilde tanımlanması ve ölçülmesi için WBC seviyesinin de doğru şekilde analizi gerekmektedir (26). Ancak NRBC parametresi Edan H60 hemogram cihazında analiz edilmediği için, çalışmamızda, cihazların yöntem karşılaştırmasında kullanılamamıştır. Modern hematoloji analizörlerinde, kan morfolojisi parametrelerinin hassas ölçümü için, anormal beyaz kan hücreleri ve patolojik hücre içeriyorsa, daha ileri mikroskopik değerlendirme gerekmektedir.

Kan yayması ve bunun mikroskopik değerlendirmesi zaman ve emek gerektirir. Bu nedenle, yanlış negatif sonuç riskini en aza indirmek ve yapılan periferik kan yaymalarının sayısında gereksiz artışa yol açmadan, anormal hücrelerin varlığını tespit etmek için doğru algoritmalar kullanmak çok önemlidir. Bu nedenle, daha önce yapılan çalışmalarda da tespit edildiği gibi, her yeni analizörün rutin laboratuvar çalışmalarına dahil edilmeden önce, kan morfolojisi anormal parametrelerinin (flag) değerlendirilmesi, gerekli düzeltme ya da manuel uzman analizlerinin yapılması çok önemlidir. Bu şekilde, beklenen kriterleri karşılayıp karşılamadığı kontrol edilmiş olur (27).

Bu bağlamda çalışmanın ikinci amacı, metot karşılaştırma çalışmasını yürütürken kan numunelerinde ortaya çıkan flag uyarılarının doğruluğunu uzman aracılı periferik kan yayması ile tespit etmektir. Çalışmamızda periferik kan yaymasının değerlendirilmesinde dijital optik okuyucu olan Mindray MC-80 analizörü kullanılmıştır. Üretici firma tarafından yapılan çalışmalara göre, WBC sınıflandırma öncesi sonuçların uyum oranı; WBC ≥ 85 %, Nötrofiller ≥ 90 %, Lenfositler ≥ 90 %, Eozinofiller ≥ 80 %, Monositler ≥ 80 %, Bazofiller ≥ 70 %, Olgunlaşmamış granülositler ≥ 70 %, Blast hücreleri ve plazma hücreleri ≥ 70 %, Reaktif lenfositler ≥ 60 % olarak bulunmuştur. Merino ve arkadaşları MC-80, manuel mikroskop ile periferik yayma ve BC-6800Plus kullanılarak WBC diferansiyellerini karşılaştırdıkları çalışmada, bazofiller ve OG dışında hiçbir fark bulmadıklarını ve elde ettikleri sonuçların yüksek korelasyon değerleri (0.91-1) ile ölçülen OG de dahil olmak üzere normal WBC hücrelerin sınıflandırma öncesi ve sonrası arasında iyi bir uyum olduğunu gösterdiğini saptamışlardır. MC-80'in hem normal örnekler hem de hematolojik hastalıkları olan hastalarda WBC diferansiyelleri açısından yüksek performans gösterdiğini raporlamışlardır

(32). Zini ve arkadaşları MC-80 performans çalışmasında, kanda atipik olarak bulunan hücreleri (olgunlaşmamış veya kötü huylu) içeren kritik numuneler için hassasiyeti, olgunlaşmamış granülositler için %98,8, tüm neoplastik hücre türleri için %83,8, reaktif lenfositler için %93,6 ve çekirdekli kırmızı kan hücreleri için %97,5 olarak tespit etmiştir (33). Khongjaroensakun ve arkadaşları, MC-80'in hassasiyetinin, tüm hücre sınıfları için kabul edilebilir sınırın içinde olduğunu, hücre tanımlamanın özgüllüğünün tüm hücre sınıfları için %95'ten yüksek olduğunu, duyarlılığın ise, miyelositler için %94,9, metamiyelositler için %90,9, reaktif lenfositler için %89,7 ve plazma hücreleri için %60 olduğu, geri kalan hücreler için ise % 95'ten yüksek olduğunu tespit etmiştir (34). Ye ve arkadaşları ise; MC-80 ve Sysmex DI-60 cihazlarını manuel mikroskopik değerlendirme ile karşılaştırdıklarında, çoğu hücre sınıfı için MC-80'in çalışma içi varyasyon katsayısının (%CV) DI-60'tan daha düşük olduğunu, Mindray MC-80'in lökosit diferansiyellerinin tespitinde iyi bir performans gösterdiğini ve özellikle blast hücrelerin tanımlaması için Sysmex DI-60'a göre daha yüksek bir hassasiyet sergilediğini saptamışlardır (35).

Bu çalışmada Mindray SC-120 cihazı ile hazırlanan periferik kan yaymaları, Mindray MC-80 cihazının dijital optik okuyucu sistemi ile analiz edilerek, her iki hematoloji analizörlerinde ortaya çıkan flag uyarıları değerlendirildi. Periferik yaymadaki aranan ilgili anormal hücreleri (OG, Anorm. Lenf/Blast, Anorm. PLT) için cut-off değerleri tespit edilerek, cut-off değer üzerindeki değerlerde, hesaplanmış duyarlılık ve özgüllükte hematoloji analizörlerinde flag uyarısı saptanmıştır. Bu çalışmada tespit edilen cut-off değerleri; Olgunlaşmamış Granülosit flag'ı için Mindray BC6200 ve Edan H60 analizörlerinde sırasıyla (cutoff >0 , duyarlılık: 95.5 , özgüllük: 53.9) ile (cutoff >1 , duyarlılık: 91.9 , özgüllük: 91.7) değerleri bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer sonuçlar, Shen ve arkadaşları tarafından da Mindray BC-6000 için yüksek duyarlılık (%91.7), ancak düşük özgüllük (%65.6) şeklinde rapor edilmiştir (30). Kulik ve arkadaşları ise Mindray BC-6200 cihazında, olgunlaşmamış granülosit flag'ı için benzer bir duyarlılık (%94.4) elde ederken, çalışmamıza göre daha yüksek bir özgüllük (%75.5) tespit etmişlerdir (27).

Anormal Lenf-Blast uyarısı için Mindray BC6200 ve Edan H60 analizörleri sırasıyla (cutoff >0, duyarlılık: 73.2, özgüllük: 100) (cutoff >0, duyarlılık: 53.2, özgüllük: 96) değerleri tespit edilmiştir. Kulik ve arkadaşları Mindray BC-6200 analizörün Blast flag'ı için, bizim sonuçlarımızdan daha düşük bir duyarlılık (54.5) ve daha düşük bir özgüllük (82.7) elde etmişlerdi (27). Zini ve arkadaşları ise, Mindray BC-6200 analizörünün üst modeli olan Mindray BC-6800'in analizörünün yakın zamanda yayınlanan bir

değerlendirmesinde, blast hücreleri içeren numuneleri test ederek "Blast" flag'i için çok daha yüksek duyarlılık (%97,6) ve özgüllük (%93,8) elde etmiştir (29). Bu uyumsuzluğun nedeni dolaşımdaki blast sayısındaki farklılıklar olabilir. Az miktarda bu hücreleri içeren numunelerde analizör bunların varlığını göstermeyebilir ve bu da flag'lerin duyarlılığının azalmasına neden olabilir. Farklı yayınlarda sunulan anormal hücrelerin tanımlanmasında, duyarlılık ve özgüllük açısından görülen bu farklılıklar, birim hacimdeki hücre sayısındaki farklılıklarla ilişkili olabileceği gibi cihazın teknik ve analiz üstünlüğünü de yansıtabilir (31). Bu farklılıklar, belirli bir flag'in tek başına mı yoksa diğer flag'lerle kombinasyon halinde mi değerlendirildiğine bağlı olarak elde edilebilir (31).

Anormal PLT Histogram uyarısı için Mindray BC6200 ve Edan H60 analizörleri sırasıyla (cutoff >56, duyarlılık: 86.2, özgüllük:85.1) (cutoff >54, duyarlılık: 79.3, özgüllük: 85.3) değerleri bulunmuştur. PLT Küme uyarısı ise sadece Mindray analizöründe bulunduğu için Edan analizöründe değerlendirilmemiştir; Mindray BC6200 (cutoff >4, duyarlılık: 90.9, özgüllük: 79.2) değerini tespit edilmiştir. Düşük spesifite tespit edilmesi, arka plan gürültüsüyle ilgili olabilir. Çalışmamız süresince her iki cihazda da "lipid partikülleri", "hücre parçaları" veya "RBC kümeleri" olarak uyarılara rastlanmıştır. Zini ve arkadaşlarının çalışmalarında, Mindray BC-6800 analizörünün PLT küme flag'in %100 sensitiviteye, ancak düşük bir spesifiteye sahip olduğu rapor edilmiştir (29). So ve arkadaşları, BC-6800Plus cihazında ortaya çıkan trombosit küme flag'i manuel inceleme ve MC-80 dijital görüntü analizörü ile doğrulamış, BC-6800Plus analizörünün trombosit küme flag'i için 0,72 hassasiyet değerine sahip olduğunu ve MC-80 dijital görüntü analizi sonuçlarını entegre ederken, BC-6800Plus'ın hassasiyetinin 0.89 - 1.0'a yükseldiğini raporlamışlardır (36).

Bu çalışmada yer alan her iki hematoloji analizörü, firmaları tarafından gerekli validasyon çalışmaları yapıldıktan sonra tüm dünyada tıp laboratuvarlarında FDA (USA) ve CE (European Union sertifikasyonu) hemogram testinin ölçümünü yapmaya yetkin olarak piyasaya sunulmuştur. Mindray BC-6200 analizörünün Edan H60 analizörüne göre, daha yüksek analiz hızına sahip olması (200 numune/saat), hücre sayımında teknolojik olarak daha ileri metotlar kullanması (SF Cube, Fluid Emprdans), daha detaylı dağılım grafikleri (DIFF, WNB) sunması, daha fazla sayıda raporlanabilir parametre (37 adet) ve araştırma parametresine (42 adet) sahip olması, daha fazla flag tipi (WBC için 10 tip, RBC için 12 tip, PLT için 2 tip) tanımlayabilmesi önemli üstünlükleri olarak sayılabilir. Ayrıca Mindray BC-6200 cihazının, ray sistemi aracılığı ile hem otomatik periferik kan yayma oluşturunca cihazı (Mindray SC-120), hem de periferik kan yaymasının dijital optik okuyucu cihazı (Mindray

MC-80) ile kombine hale gelebilmesi ilave avantajlar sağlamaktadır. Edan H60 analizörünün avantajı ise boya maddesi kullanmadan daha az sayıda kimyasal reaktif [(Edan H60: 1 adet diluent, 1 adet lyse)(Mindray BC-6200: 1 adet diluent, 3 adet lyse, 3 adet boya)] kullanarak analiz yapabilmektedir. Analitik performans açısından her ne kadar iki analizör, birbirine yakın analitik performanslara sahip olsalar da, çalışmamızda, Mindray BC-6200 analizörü ile daha iyi sonuçlar elde edildiğini değerlendirebiliriz. Bununla birlikte, Edan H60 analizörünün, hemogram parametrelerinin analiz sonuçlarının, Mindray BC-6200 analizörünün sonuçları ile yüksek korelasyona sahip olması nedeniyle, hasta sayısının nisbeten düşük olduğu hastane laboratuvarlarında veya bağımsız laboratuvarlarda kullanılabilmesinin uygun görüldüğü kanaatine varılmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre flag uyarıları aldığımız 4 genel parametrenin (Olgunlaşmamış Granülosit, Anormal Lenf/Blast, Anormal PLT Histogramı, PLT Kümesi) flag uyarılarının, çok yüksek bir duyarlılığa veya özgüllüğe sahip olmadığı görülmektedir. Bu nedenle klinik duyarlılık açısından, flag uyarısı tespit edildiğinde mutlaka uzman aracılı periferik kan yaymasının incelemesi ile doğrulanması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Sonuç olarak; her iki cihazın hemogram parametrelerinin analiz sonuçlarının, birbiriyle uyumlu olduğu saptanmıştır. Her iki cihazın da analitik performansları, CLSI kılavuzu ekseninde yaptığımız bu çalışma sonuçlarına göre hedeflenen beklentilere uygun sınırlardadır. Her iki cihazda görülen flag uyarılarının, gold standart olan “periferik tam kan yayması uzman incelemesi” ile kontrolü ve doğrulanması sağlanmalıdır. Sadece bu iki cihaz açısından karşılaştırmalı değerlendirme yapacak olursak; büyük hasta sirkülasyonlu laboratuvarlarda Mindray BC-6200’ün; daha küçük hasta sirkülasyonu olanlarda ise Edan H60 analizörünün yeterli olabileceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Ciesla B. (2007). Hematology in Practice. USA, F.A. Davis Company. ss.22-138.
2. McPherson RA, Pincus MR. Henry'nin klinik tanısı ve laboratuvar yöntemleriyle tedavisi. Missouri, MO: Elsevier; 2017.s. 519-521.
3. Palmer L, Briggs C, McFadden S, Zini G, Burthem J, Rozenberg G, et al. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. Int J Lab Hematol 2015;37;287-303.
4. McFarlane A, Aslan B, Raby A, Bournier G, Padmore R. Critical values in hematology. Int J Lab Hematol 2015;37;36-43.
5. Brereton M, De La Salle B, Arden J, Hyde K, Burthem J. Do we know why we make errors in morphological diagnosis? An analysis of approach and decision-making in Haematological morphology. EBio- Medicine. 2015;2(9):1224-1234. doi:10.1016/j.ebiom.2015.07.020
6. Green R, Wachsmann-Hogiu S. (2015). Development, history, and future of automated cell counters. Clinics in laboratory medicine. 35(1):1-10.
7. Behrens JA, Brown WP, Gibson DF, Detter JC. Whole-blood hemoglobin determinations: a comparison of methodologies. Am J Clin Pathol. 1979 Dec;72(6):904-8. doi: 10.1093/ajcp/72.6.904. PMID: 517459.
8. Keen ML. Hemoglobin and hematocrit: an analysis of clinical accuracy. Case study of the anemic patient. ANNA J. 1998 Feb;25(1):83-6. PMID: 9543916.
9. Penn D, Williams PR, Dutcher TF, Adair RM. Comparison of hematocrit determinations by microhematocrit and electronic particle counter. Am J Clin Pathol. 1979 Jul;72(1):71-4. doi: 10.1093/ajcp/72.1.71. PMID: 453114.
10. Bull BS, Fujimoto K, Houwen B, Klee G, van Hove L, van Assendelft OW, Bunyaratvej A, Buttarello M, Davis B, Koepke JA, Lewis SM, Machin SJ, d'Onofrio G, Rowan RM, Tatsumi N; ICSH Expert Panel on Cytometry. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for "surrogate reference" method for the packed cell volume. Lab Hematol. 2003;9(1):1-9. PMID: 12661822.
11. Kottke K. Marchant. Davis B.H. (2012) Laboratory Hematology Practice. UK. Blackwell. Publishing Ltd. s.26.
12. Bain BJ. Diagnosis from the blood smear. N Engl J Med. 2005 Aug 4;353(5):498-507. doi: 10.1056/NEJMr043442. PMID: 16079373.
13. Tefferi A, Hanson CA, Inwards DJ. How to interpret and pursue an abnormal complete blood cell count in adults. Mayo Clin Proc. 2005 Jul;80(7):923-36. doi: 10.4065/80.7.923. PMID: 16007898; PMCID: PMC7127472.
14. Güngör, M. Klinik biyokimya ölçüm belirsizliği, Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Ve Klinik Biyokimya Laboratuvarı, Uzmanlık Tezi, 2008, İstanbul
15. Yücel, K. S, serum androstenedion ölçümünde immunoassay ve sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometre (lc-ms/ms) metodlarının karşılaştırılması, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, 2016.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guidelin. 2nd ed. Wayne, PA, USA: CLSI; 2012. CLSI document EP17-A2.

17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline. 2nd ed. Wayne, PA, USA: CLSI; 2004. CLSI document EP05-A2.
18. Zini G; International Council for Standardization in Haematology (ICSH). Stability of complete blood count parameters with storage: toward defined specifications for different diagnostic applications. *Int J Lab Hematol*. 2014 Apr;36(2):111-3. doi: 10.1111/ijlh.12181. Epub 2013 Dec 27. PMID: 24373157.
19. Resimler (<https://www.mindray.com/en/solutions/laboratory-diagnostics>)
20. Resimler (https://www.edan.com/product/b/IVD_Hematology_H60S.html)
21. International Council for Standardization in Hematology. Guidelines for the evaluation of blood cell analyzers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting and cell marker applications; International Council for Standardization in Haematology: prepared by the ICSH Expert Panel on Cytometry. *Clin Lab Haematol*. 1994;16(2):157–174
22. CLINICAL and Laboratory Standards Institute (CLSI). Validation, verification, and quality assurance of automated hematology analyzers. Approved standard. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI Document H26-A2, 2010.
23. <https://www.westgard.com/CLIA-A-Quality/Quality-Requirements/238Biodatabase1.html>
24. Noor T, Imran A, Raza H, Sarwar M, Umer S, Fatima M. Frequency of Nucleated Red Blood Cells in the Peripheral Blood of ICU-Admitted Patients. *Cureus*. 2023 Jan 16;15(1):e33827. doi: 10.7759/cureus.33827. PMID: 36819402; PMCID: PMC9930871.
25. Da Rin G, Vidali M, Balboni F, et al. Performance evaluation of the automated nucleated red blood cell count of five commercial hematological analyzers. *Int J Lab Hematol*. 2017;39(6):663-670. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12722>
26. (CLSI)CaLSI. Reference Leukocyte (Wbc) Differential Count (Proportional) and Evaluation of Instrumental Methods: CLSI Document H20–A2 Approved Standard, 2nd edn. Wayne, Pennsylvania, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2007
27. Kulik K, Kwiecień I, Chelstowska B, Rutkowska E, Rzepecki P. Evaluation and comparison of the new Mindray BC-6200 hematology analyzer with ADVIA 2120i. *Int J Lab Hematol*. 2021 Jun;43(3):395-402. doi: 10.1111/ijlh.13418. Epub 2020 Dec 3. PMID: 33270987.
28. Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *Int J Lab Hematol*. 2007;29(2):77-91. <https://doi.org/10.1111/j.1751-553X.2007.00909.x>
29. Zini G, Cantelli F, Scavone F, Barbagallo O, Ciminello A. Hematological performance of a last generation automated blood cell counter: The Mindray BC-6800 Plus. *Int J Lab Hematol*. 2020;42(4):439-449. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13218>
30. Shen Y, Cao J, Zhou Z, Wang Y, He J. Clinical performance evaluation of the new hematology analyzer Mindray BC-6000. *Int J Lab Hematol*. 2019;41(5):622-634. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13075>
31. Depoorter M, Goletti S, Latinne D, Defour J. Optimal flagging combinations for best performance of five blood cell analyzers. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(1):63-70. <https://doi.org/10.1111/i>
32. Merino A, Laguna J, Rodríguez-García M, Julian J, Casanova A, Molina A. Performance of the new MC-80 automated digital cell morphology analyser in detection of normal and abnormal blood cells: Comparison with the CellaVision DM9600. *Int J Lab Hematol*. 2024 Feb;46(1):72-82. doi: 10.1111/ijlh.14178. Epub 2023 Sep 25. PMID: 37746889.
33. Zini G, Mancini F, Rossi E, Landucci S, d'Onofrio G. Artificial intelligence and the blood film: Performance of the MC-80 digital morphology analyzer in samples with neoplastic and reactive cell types. *Int J Lab Hematol*. 2023 Dec;45(6):881-889. doi: 10.1111/ijlh.14160. Epub 2023 Aug 28. PMID: 37641457.

34. Khongjaroensakun N, Chaothai N, Chamchomdao L, Suriyachand K, Paisooksantivatana K. White blood cell differentials performance of a new automated digital cell morphology analyzer: Mindray MC-80. *Int J Lab Hematol*. 2023 Oct;45(5):691-699. doi: 10.1111/ijlh.14119. Epub 2023 Jun 20. PMID: 37338111.
35. Ye X, Fang L, Chen Y, Tong J, Ning X, Feng L, Xu Y, Yang D. Performance comparison of two automated digital morphology analyzers for leukocyte differential in patients with malignant hematological diseases: Mindray MC-80 and Sysmex DI-60. *Int J Lab Hematol*. 2024 Jun;46(3):457-465. doi: 10.1111/ijlh.14227. Epub 2024 Jan 11. PMID: 38212663.
36. So MK, Huh J, Kim S, Park S. Integration of an MC-80 Digital Image Analyzer With an Automated BC-6800Plus Hematology Analyzer Enables Accurate Platelet Counting in Samples With EDTA-Induced Pseudothrombocytopenia. *Ann Lab Med*. 2024 Apr 4. doi: 10.3343/alm.2023.0460. Epub ahead of print. PMID: 38572537.



EKLER

EK 1: ETİK KURUL ONAY FORMU

S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU (2013-KAEK-64) KARAR FORMU					
SAYI:		Tarih: 27.09.2023			
KONU: Etik Kurulu Kararı					
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Hematoloji Analizörlerinde Yöntem Karşılaştırması, Çıkan Cihaz Uyarılarının Periferik Yayma İle Birlikte Değerlendirilmesi.			
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU					
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
	AÇIK ADRESİ:	Doktor Erkin Cad. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi			
	TELEFON	216 570 91 90			
	FAKS	216 565 55 26			
	E-POSTA	etik@sbgoztepehastanesi.gov.tr			
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Por. Dr. Mustafa Baki Çekmen- Dr. Ahmad Kado-Prof. Dr. Ferruh Kemal İşman- Doç. Dr. Fatih Yeşildal- Uzm. Dr. Ramazan Murat Koşer			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
FAZ 4		☐			
Gözlemsel ilaç çalışması		☐			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐			
İlaç dışı klinik araştırma		☒			
Retrospektif	☐				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLE N DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	SİGORTA	☐			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐			
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐			
	İLAN	☐			
	YILLIK BİLDİRİM	☐			
	SONUÇ RAPORU	☐			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2023/0636	Tarih: 27.09.2023			
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplanmaya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.				

. Şükrü Sadık ÖNER

S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU (2013-KAEK-64)
KARAR FORMU

SAYI:

Tarih: 27.09.2023

KONU: Etik Kurulu Kararı

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Hematoloji Analizörlerinde Yöntem Karşılaştırması, Çıkan Cihaz Uyarılarının Periferik Yayma İle Birlikte Değerlendirilmesi.
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Doç. Dr. Şükrü Sadık ÖNER	Tıbbi Farmakoloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Aytekin OĞUZ	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof. Dr. Işıl MARAL	Halk Sağlığı Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof. Dr. Asif Yıldırım	Üroloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Süleyman Daşdağ	Biyofizik	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Derya Büyükkayhan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	T.C. Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Asiye KANBAY	Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Sıdika Şeyma ÖZKANLI	Tıbbi Patoloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Hacer Hicran Mutlu	Aile Hekimliği	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr Öğretim Üyesi Ergül Demirçivi	Kadın Hastalıkları ve Doğum	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Avukat Mahmut ÇELİK	Avukat	Çelik Hukuk Bürosu	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Saliha Şahin	İşçi		E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Karar: ☒ Onaylandı ☐ Reddedildi

İmza

Dr. Şükrü Sadık ÖNER

EK 2: İNTİHAL FORMU

HEMATOLOJİ ANALİZÖRLERİNDE YÖNTEM KARŞILAŞTIRMASI, ÇIKAN CİHAZ UYARILARININ PERİFERİK YAYMA İLE BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% **11**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **11**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **1**

YAYINLAR

% **1**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

pdffox.com

İnternet Kaynağı

% **4**

2

acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

% **4**

3

www.microbiologylaboratoryturkey.com

İnternet Kaynağı

% **2**

4

Submitted to Istanbul Medeniyet Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

% **1**

Alıntıları çıkart

üzerinde

Eşleşmeleri çıkar

< %1

Bibliyografyayı Çıkart

üzerinde