

# ***Olgu Sunumları 1***



# ARDIŞIK REFLEKTİF TESTLER İLE LABORATUVARIN TANI SÜRECİNE KATKISI

## Direkt bilirubin ölçümünde saptanan bir paraprotein interferansı

Niyazi Samet Yılmaz

Burdur Halk Sağlığı Laboratuvarı

Laboratuvara gelen her numunenin kendine özgü bir matriksi vardır. Laboratuvardaki tüm süreçler kusursuz işlese dahi, numune matriksine bağlı olarak irregüler (numune bazında) hatalar meydana gelebilmektedir (1). Bu olguda irregüler bir hatanın laboratuvar tarafından tespitinden sonra, reflektif testler yapılmış ve hastanın tanı alma sürecine katkıda bulunulmuştur.

Laboratuvar uzmanının hastanın yaşı, tanısı ya da ön tanısı, mevcut laboratuvar ve görüntüleme sonuçlarını inceleyerek gerekli görmesi durumunda hastadan yeni test istemi yapması ya da yeni test önerisinde bulunması reflektif test olarak adlandırılır (2). Laboratuvar uzmanı reflektif testler ile hastanın tanı alma sürecini kolaylaştıracak, tanıya katkı sağlayacak ve gereksiz işlem yapılmasını önleyecek müdahalelerde bulunup hasta ve klinisyen yararına olacak öneriler sunabilir.

66 yaşında, nefes darlığı ile acil servise başvuran bir hastanın biyokimya sonuçlarının onaylanması esnasında direkt bilirubin sonucunun total bilirubinden yüksek olduğu fark edildi. Numunenin tekrar çalışılması sonrasında direkt bilirubin sonucu negatif olarak sonuçlandı. Cihazdaki reaksiyon monitörü grafiklerinin incelenmesinin ardından interferanstan şüphelenildi. Hastanın sonuçları incelendiğinde, albumin düşüklüğü ve anemi mevcuttu. Bunun üzerine zaman kaybetmeden reflektif test olarak total protein çalışıldı ve albumin/globulin oranının tersine döndüğü saptandı.

Paraprotein interferansından şüphelenilen hastanın acil servisteki doktoru ile görüşülerek hastanın hematoloji polikliniğine yönlendirilmesi uyarısında bulunuldu. Numune muhafaza edilerek serum protein elektroforezi bir diğer reflektif test olarak çalışıldı. Serum protein elektroforezinde monoklonal gammopatinin tespit edilmesinin ardından hasta güvenliği için hasta ile iletişime geçilerek hastanın herhangi bir hematolojik hastalığı olup olmadığı sorgulandı. Tıbbi geçmişinde herhangi bir hematolojik hastalık teşhisi bulunmayan hasta sonuçlarını alması için laboratuvarımıza davet edildi. Hastaya hematoloji polikliniğine başvurması önerisinde bulunuldu. Kemik iliği biyopsisi yapılan hasta Waldenström Makroglobulinemisi tanısı aldı ve kemoterapi sonrasında hastanın kliniğinde iyileşme görüldü.

Paraprotein interferansı farklı üreticilere ait sistemlerde ve farklı test gruplarına ait parametrelerde görülebilmektedir (3). Sıklıkla etkilenen testler direkt bilirubin, total bilirubin, ürik asit, inorganik fosfor, sodyum, kreatinin, CRP, HDL, vankomisin parametreleridir (3).

Paraproteinlerin presipitasyonu, numunedeki turbidite, M-proteininin analite ya da ölçüm sistemindeki başka bir bileşiğe bağlanması, volüm yer değiştirme etkisi, prozon etkisi, kanca etkisi, hipervisközite ve kriyoglobulinemi paraprotein interferansına neden olan mekanizmalardır (4). Bununla birlikte, en yaygın interferans mekanizması paraprotein presipitasyonu ve numune turbiditesinde artıştır.

Laboratuvarda meydana gelen irregüler analitik hataları belirli bir sistematik ile tespit edecek yaklaşımlar ortaya konulmalıdır (5-8). Otoanalizörde mevcut olan fakat sonuçların verifikasyonu esnasında göremediğimiz birtakım veri veya uyarılar LIS'e ya da ara yazılımlara entegre edilerek verifikasyon sürecinde biyokimya uzmanının analiz hakkında daha fazla bilgi sahibi olması sağlanabilir.

## Kaynaklar

1. Vogeser M, Seger C. Irregular analytical errors in diagnostic testing—a novel concept. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2018;56(3):386-96.
2. Verboeket-van de Venne WP, Aakre KM, Watine J, Oosterhuis WP. Reflective testing: adding value to laboratory testing. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2012;50(7):1249-52.
3. Dalal BI, Brigden ML. Factitious biochemical measurements resulting from hematologic conditions. *American journal of clinical pathology*. 2009;131(2):195-204.
4. King RI, Florkowski CM. How paraproteins can affect laboratory assays: spurious results and biological effects. *Pathology*. 2010;42(5):397-401.
5. Quiñones-Torrel C, Villanueva-Gil MP, Rodríguez-Muñoz A, Abellán-Tejada L, Aparici-Ibáñez M, Carratalá-Calvo A. When an analytical interference is a useful diagnostic tool: finding monoclonal gammopathies in routine analysis. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2016;30(2):140-4.
6. García-González E, González-Tarancón R, Aramendía M, Rello L. Analytical interference by monoclonal immunoglobulins on the direct bilirubin AU Beckman Coulter assay: the benefit of unsuspected diagnosis from spurious results. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2016;54(8):1329-35.
7. García-González E, Aramendía M, González-Tarancón R, Romero-Sánchez N, Rello L. Detecting paraprotein interference on a direct bilirubin assay by reviewing the photometric reaction data. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017;55(8):1178-85.
8. Seimiya M, Suzuki Y, Yoshida T, Sawabe Y, Matsushita K, Nomura F. The abnormal reaction data-detecting function of the automated biochemical analyzer was useful to prevent erroneous total-bilirubin measurement and to identify monoclonal proteins. *Clinica Chimica Acta*. 2015;441:44-6.

# BİR SOĞUK AGLÜTİNİN OLGUSU (IGG KAPPA VE IGM LAMBDA BİKLONAL GAMMOPATİ)

Arzu Oran<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Şehir Hastanesi

**Amaç:** Soğuk aglütinin hastalığı; düşük ısılarda eritrosit üzerindeki polisakkarit antiijenlere karşı oluşan IgM tipi antikorların (nadiren IgA veya IgG) sebep olduğu nadir bir otoimmün hemolitik anemidir. Primer (idiyopatik) olabileceği gibi viral enfeksiyonlara (Mycoplasma pneumoniae, EBV) ya da immün sisteme ait tek bir klonun neoplastik büyümesine ikincil ortaya çıkabilir. Soğukta aktifleşen antikorların eritrositlerin zarında dejenerasyon ve otoaglütinasyon oluşturması sonucu eritrosit sayısı olduğundan daha düşük, hemoglobin değeri ise eritrosit sayısı ile bağdaşmayacak derecede yüksek bulunabilir.

**Olgu sunumu:** Dahiliye polikliniğine halsizlik şikayeti ile başvuran 81 yaşında erkek hastadan istenen hemogram analizinden ölçülebilir değer alınmaması üzerine numune tüpü incelendiğinde, cidarında gözle görülebilir aglütinasyon varlığı tespit edildi. Soğuk aglütinin hastalığı ön tanısı düşünülerek, numune 37<sup>0</sup> C benmaride 15 dakika bekletildi. Tüp içindeki aglütininlerin kaybolmasıyla tekrar cihaza verilen numunede eritrosit sayısının okunabilir düzeye gelmesi ve hemoglobin/hematokrit oranının uygun olması üzerine yapılan ölçüm doğru kabul edilerek onaylandı. İmmünfiksasyon elektroforez analizi sonucunda nadir görülen IgG kappa ve IgM lambda biklonal gammopati saptandı. Hastanın kan grubu analizi hem oda ısısındaki hem de benmari ile ısıtılmış tüpte O Rh (+) bulundu.

**Sonuç:** Hemogram analiz sonuçlarında parametreler birbiri ile uyumsuz ise ya da ölçülebilir sonuç alınmaması durumunda tüp incelenmelidir. Tüpte aglütinasyon gözlendiğinde soğuk aglütinin hastalığı akla gelmeli, numune benmaride 37<sup>0</sup> C'de bekletilmeli, aglütinasyonların kaybolduğu görüldüğünde zaman kaybetmeden otomatize hemogram cihazında çalışılmalıdır. Böylece yeni numuneye gerek duyulmadan, hastanın vakit kaybetmeden doğru sonuç alması sağlanarak yanlış tedavilerin önüne geçilmesi mümkün olacaktır.

**Anahtar Kelimeler :** soğuk aglütinin hastalığı, otoimmün hemolitik anemi, protein elektroforezi

## Kaynaklar

1. Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease. Blood 2013;122(7):1114- 21.)
2. Kulaksızoğlu S ve ark. , Soğuk Aglütinin hastalığında Tam Kan Sayımı, Türk Klinik Biyokimya Derg 2015; 13(2): 69-73
3. Berentsen S, Beiske K, Tjonnfjord GE. Primary chronic cold agglutinin disease: An update on the pathogenesis, clinical features and therapy. Haematology. 2007; 12(5): 361-70.
4. Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R Primary chronic cold agglutinin disease: a population based clinical study of 86 patients Haematologica. 2006 Apr;91(4):460-6.
5. Lodi G, Resca D, Reverberi R. Fatal cold agglutinin-induced haemolytic anaemia: a case report. Journal of Medical Case Reports. 2010, 4:252.



# ***Olgu Sunumları 2***



# Xp21 BİTİŞİK GEN DELESYON SENDROMU'NUN BİYOKİMYASAL YANSIMALARI: OLGU SUNUMU

**Nurullah Özsarı<sup>1</sup>, Ceyda Seren Bedel<sup>1</sup>, Mesut Parlak<sup>2</sup>, Halide Akbaş<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Hastanesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Antalya

**Amaç:** Konjenital adrenal hipoplazi; yenidoğan/çocukluk döneminde tuz kaybıyla seyreden ve hipoglisemi, hipotansiyon gibi adrenal kriz semptomları ile karakterize heterojen bir hastalıktır. Bu çalışmada; adrenal yetmezlik kliniğine ek olarak gliserol, trigliserit ve kas enzim düzeylerinin yüksek olduğu bir hastayı değerlendirdik.

**Olgu:** Doğum öyküsü bilinmeyen, sosyal hizmetlerde kalan, mental-motor retarde ve adrenal yetmezlik öntanılı 8 ay 19 günlük erkek bebek; solunum sıkıntısıyla dış merkeze başvurmuş ve entübe edilerek yoğun bakım takibine alınmıştır. Hasta, ileri tetkik ve tedavi amaçlı hastanemize sevk edildi. Genel durumu kötü ve sedatize olan hastanın fizik muayenesinde; sendromik yüz görünümü, plagiosefali, mikrocefali ve pektus ekskavatum gözlemlendi. Nörolojik muayenesinde; pupiller izokorik, ışık refleksi her iki gözde pozitif ve derin tendon refleksleri doğaldı. Genitoüriner muayenesinde; bilateral testisler palpe edilemedi ve skrotum hiperpigmenteydi.

**Bulgular:** Hastanın serum aspartat aminotransferaz (AST); 1081 U/L ( $\leq 34$  U/L) ve alanin aminotransferaz (ALT); 282 U/L (10-49 U/L), laktat dehidrojenaz (LDH); 2736 U/L (120-246 U/L) total kreatin kinaz (CK); 46609 U/L (20-200 U/L), miyogloblin; 2416  $\mu\text{g/L}$  (28-72  $\mu\text{g/L}$ ) ve trigliserit; 742 mg/dL ( $\leq 150$  mg/dL) düzeyleri yüksek izlendi. İdrar organik asit analizinde, gliserol düzeyi; 1785 mmol/mol kreatinin (0,01-0,1 mmol/mol kre.) belirgin şekilde yüksekti. Laktat, amonyak, aminoasit düzeyleri; karnitin/açilkarnitin, peroksizomal ve lizozomal profili normaldi. Hastanın klinik ve laboratuvar bulguları; konjenital adrenal hipoplazi (AHC), gliserol kinaz eksikliği ve Duchenne musküler distrofişinden oluşan Xp21 bitişik gen delesyon sendromunu düşündürmekteydi. Tüm ekzom analizinde (WES) IL1RAPL1 gen delesyonu saptandı.

**Sonuç:** Adrenal hipoplazisi olan hastalarda; total CK ve trigliserit düzeyleri yüksekse, plazma/idrar gliserolüne bakılmalıdır. Gliserol düzeyinde de artış gözlenirse, kesin tanı için genetik analiz yapılmalıdır. Gliserol kinaz eksikliğinin infantil formunda (Xp21 bitişik gen delesyon sendromu), konjenital adrenal hipoplazi ve/veya Duchenne musküler distrofiş görülürken; çocuk/yetişkin formlarında izole gliserol kinaz eksikliği vardır. Xp21 bitişik gen delesyon sendromunun erken tanısı; akut metabolik dekompanyasyonların öngörülmesi, uygun tedavi ve genetik danışmanlığın verilmesi için önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Total kreatin kinaz, trigliserit, gliserol, adrenal hipoplazi, musküler distrofiş

# MİYOKARDİYAL ENFARKTÜS ŞÜPHESİ İLE ACİL SERVİSE BAŞVURAN HASTALARA AKILCI YAKLAŞIM

**Enes BAYRAK**

SBÜ Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya AD

Günümüzde Miyokardiyal Enfarktüs önemli mortalite ve morbidite sebepleri arasında yer almaktadır. Bu sunumda, Miyokardiyal Enfarktüs ön tanılı hastaların tanı, tedavi ve izlemi ile prognoz açısından önemli değer taşıyan kardiyak troponinlerin (cTn) hastanemiz uygulama verilerini güncel kılavuzlar ve yaklaşımlar eşliğinde retrospektif olarak inceledik.

01.01.2021-01.01.2022 tarihleri arasında, hastanemiz acil servisine göğüs ağrısı şikâyeti ile başvuran toplam 30.394 hastadan kardiyoloji yoğun bakıma yatırışı yapılmış 2.184 vakanın verileri gözden geçirildi. Hastaların epidemiyolojik bilgileri, hs-cTn I ve CK-MB, tam kan ve koagülasyon parametreleri ile LDH, AST, Glukoz değerleri toplandı.

Güncel literatür bilgileri ışığında, CK-MB ve/veya hs-cTn testlerinin klinik karar verme sürecine katkıları sorgulandı. Günümüzde miyokard enfarktüsü düşünülen vakalarda yeni bir yaklaşım olan, ilk başvuruda sadece hs-cTn istenmesi, CK-MB testinin ise sadece kardiyolog isteği ile yatırışı yapılan uygun hastalarda çalışılmasının klinik karar verme sürecine etkisi nasıldır? Klinik tanının temel ayağı olan hs-cTn testinin, tek başına ve CK-MB ile beraber karar verme yeterliliğini, etkinliğini, sonuç değerlerinin prognostik limitlerini LBYS üzerinden elde ettiğimiz verilerin istatistiki sonuçları ile karşılaştırmayı amaçladık.

Dünyada Acil Servise başvuran her 10 göğüs ağrısı şikayeti olan hastadan sadece 1 tanesi (%10'u) kardiyoloji yoğun bakım yatış endikasyonu almaktadır. Bu süreçte etkin rol alan acil hekiminin, uygun klinik biyokimya test seçimi ile hem total test süresinin azaltılması ve hasta sağlığı uygulamalarının kalitesinin artırılması hem de maliyet etkinlik açısından olumlu katkılar sağlaması mümkün olabilecektir. Böylece klinik – laboratuvar işbirliği sağlanabilir ve hasta dahil tüm partnerler için yüksek verimli sonuçlar alınabilir.

# HİPERGAMMAGLOBULİNEMİNİN NEDEN OLABİLECEĞİ ELEKTROLİT ANALİZLERİ İÇİN DİREKT VE İNDİREKT İYON SELEKTİF ELEKTROT ÖLÇÜMLERİ ARASINDAKİ UYUŞMAZLIKLAR: IGG1 $\kappa$ TİPİ MULTİPL MİYELOMLU BİR VAKA SUNUMU

**Engin IŞIK<sup>1</sup>, Murat USTA<sup>1</sup>, Hasan Mücahit ÖZBAŞ<sup>2</sup>, Sembol YILDIRMAK<sup>1</sup>, Birgül TOK<sup>3</sup>,  
Ömer EMECEN<sup>1</sup>, Yavuz ABBAK<sup>4</sup>, Nurten BAHTİYAR<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Giresun

<sup>2</sup>Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Giresun

<sup>3</sup>Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji AD, Giresun

<sup>4</sup>İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik AD, İstanbul

**Amaç:** Multipl miyelom gibi bir plazma hücre diskrazisi sonucu ortaya çıkan hipergammaglobulineminin preanalitik dilüsyon ile ölçüm yapan indirekt iyon selektif elektrot (ISE) analizlerinde hatalı düşük sonuçlara yol açabildiği bilinmektedir. Biz hipergammaglobulinemili bir olguda direkt ve indirekt ISE yöntemleri ile ölçülen elektrolit sonuçlarını değerlendirdik.

**Materyal ve Metot:** Hematoloji polikliniğine başvuran altmış bir yaşında erkek hastaya serum protein elektroforezinde monoklonal pik (paraprotein) saptanması, serum IgG konsantrasyonunun >30 g/L olarak belirlenmesi, kemik iliği aspirasyonunda plazma hücre infiltrasyonunun >%10 olması, kemik litik lezyonlarının belirlenmesi, diğer alt tiplerine göre ağır zincirlerden IgG1 ve hafif zincirlerden  $\kappa$  konsantrasyonlarının yüksek olması üzerine IgG1 $\kappa$  tipi multipl miyelom tanısı konuldu. Hastanın biyokimya laboratuvarına farklı zamanlarda gönderilen serum numunelerinin rutin biyokimya analizörlerinde prob tıkanma hatalarına yol açtığı gözlemlendi.

**Bulgular:** Üç farklı zamanda gelen serum numunelerinin viskozite değerlerinin >1,8 mPa.s olduğu belirlendi. Hastanın nörolojik ve göz bulgularının olmaması ve serum viskozite değerlerinin <4 mPa.s olması hiperviskozite sendromu ile uyumlu olmayan serum viskozite artışı olarak değerlendirildi. Hastanın üç farklı zamanda alınan serum numunelerinde indirekt ile direkt ISE sonuçları arasındaki farklar sodyum için sırasıyla -4 mmol/L, -8 mmol/L ve -6 mmol/L; potasyum için sırasıyla -0,08 mmol/L, -0,4 mmol/L ve -0,3 mmol/L; klor için sırasıyla -5 mmol/L, -8 mmol/L ve -8 mmol/L olarak bulundu. Bu üç numune için ozmotik gap değerleri sırasıyla 10,2 mOsm/kg-H<sub>2</sub>O, 21,1 mOsm/kg-H<sub>2</sub>O ve 12,2 mOsm/kg-H<sub>2</sub>O idi. Dikkate değer farkların gözlemlendiği sodyum ve klor için serum/plazma su fraksiyonunu dikkate alan, biri serum trigliserit, total kolesterol ve total protein; diğeri ise sadece total protein parametrelerinin olduğu iki düzeltme formülü kullanıldığında indirekt/direkt ISE elektrolit sonuçları arasındaki farkların azaldığı belirlendi.

**Sonuç:** Analizler için %93'lük serum/plazma su fraksiyonunu esas alan indirekt ISE analizlerinde bu fraksiyonun yüzde değerini değiştirebilecek hiperlipidemi, hiperproteinemi ve viskozite artışlarının özellikle sodyum ve klor sonuçlarının değerlendirilmesinde üzerinde durulması gerekliliği bu vaka ile dikkat çekilmeye çalışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** direkt ISE, indirekt ISE, multipl miyelom, hipergammaglobülinemi, viskozite



*Geleceğin Uzmanları  
Tartışıyor  
TnI / TnT'ye Karşı*



# TROPONİN I - TROPONİN T'ye Karşı

İhsan Dönmez

Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD

Troponinler, çizgili kaslar ve kalp kasında kasılma aşamasında miyozin başlarının aktin filamentleri ile kalsiyum bağımlı etkileşimlerini regüle eden üç proteinden oluşan bir komplekstir. Troponin T, troponin kompleksini tropomiyozine bağlar; Troponin I aktin ve miyozinin bağlanmasını inhibe eder, Troponin C ise troponin I'nın inhibitör etkisini tersine çevirmek üzere kalsiyumu bağlar. İzofomların her biri ayrı bir gen tarafından kodlanmıştır ve kas tipine spesifik olarak eksprese edilirler. Bu sayede kardiyak orijinli troponinler (I veya T) yüksek özgüllük ile tespit edilebilirler.

Özellikle akut koroner sendrom durumlarında serum düzeyi artan kardiyak troponinler bunun dışında miyokardit, aort diseksiyonu, akut veya kronik kas hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, sepsis, ilaç toksisitesi ve ağır egzersiz gibi daha pek çok durumda da artış gösterebilir.

Miyokard infarktüsünde, miyokardiyal hasardan 3-12 saat sonra kanda saptanan kardiyak troponinler 12-24 saat içerisinde pik yapıp 1 haftadan daha uzun süre kanda yüksek saptanabilir. Troponin I 7-14, troponin T 8-21 gün kadar yüksek saptanabilir. Kardiyak troponinler akut miyokard infarktüsünde en geniş zaman aralığını en yüksek özgüllüğü ve duyarlılığı sağlamaktadır.

Troponin I serum normal değeri 10 ng/ml'nin altındadır. Akut miyokard infarktüsü durumunda ise serum değerinin 100 ng/ml'nin üzerinde seyredebileceği çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>1</sup>

Pagani ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada; her iki troponinin de akut miyokard infarktüsü için duyarlılığı eşit düzeyde (%100 troponin I, %98 troponin T) olsa da özgüllüğün Troponin I için oldukça yüksek olduğu (%68.1'e karşılık %78.7) saptanmıştır.<sup>2</sup>

Avcıküçük ve ark. tarafından ülkemizde yapılmış bir çalışmada, akut MI tanısı konan hastaların serumlarında troponin I'nın özgüllüğünün (%90,9) troponin T'den (%70,2) daha yüksek olduğu bulunmuştur. İlgili çalışmada pozitif prediktif değeri troponin I için %80, troponin T için ise %58,6 olduğu görülmüştür. Diğer bir deyişle; troponin T'nin yalancı pozitifliği, troponin I'dan daha yüksek bulunmuştur.<sup>3</sup>

Sağlıklı yetişkin iskelet kaslarında troponin I ve troponin T bulunmaz. Troponin I kalp kası dışında başka herhangi bir fetal dokuda saptanamamıştır ancak troponin T fetal iskelet kasında bulunabilir. Yine bir başka çalışmada kardiyak troponin T'nin idiopatik inflamatuvar miyopatilerde hastalık aktivitesi ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>4</sup>

İskoçya'da 19.501 kişi ile yapılan bir çalışmada, troponin I'nın miyokard infarktüsü ve koroner kalp hastalığı ile troponin T'ye nazaran daha fazla ilişkili olduğu ve ayrıca troponin T'nin non-kardiyojenik sebeplerden daha fazla etkilendiği ortaya konmuştur.<sup>5</sup>

Yine bir başka çalışmada hemodiyaliz hastalarında troponin T'nin serum düzeyinin yaklaşık %100 oranında artış gösterdiğini ortaya koymuştur.<sup>6</sup>

Tüm bu çalışmalardan ortak hareketle şunu söyleyebiliriz ki; kardiyak troponinlerden troponin I, troponin T'den daha duyarlı ve daha spesifik bir akut koroner sendrom belirteçidir. Troponin T non-kardiyojenik sebeplerden daha çok etkilenmektedir. Troponin I düzeylerinin normal olduğu Troponin T'nin yalnız başına arttığı durumlarda çeşitli miyopatiler ve böbrek hastalıkları akla gelmelidir. Troponin I'nın tek başına artışı bu durumun kalp için kuvvetle spesifik olduğunu göstermektedir.

## Kaynaklar

1. Durando M, Jensen B, Willis M. (2016). Kardiyak hasar ve fonksiyon için laboratuvar belirteçleri. Bishop M. (Ed). Akbıyık F. (Çev. Ed.) ve Dikmen G. (Çev.). Klinik Biyokimya (7.baskı, s.538-560). Akademisyen Tıp Kitabevi. (orijinal eserin yayın tarihi 2013, 7.baskı)
2. Pagani, F., Bonetti, G., & Panteghini, M. (2001). Comparative study of cardiac troponin I and T measurements in a routine extra - cardiological clinical setting. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 15(4), 210-214.
3. Avcıküçük, M., Bakır, F., Topçuoğlu, C., & Güçtekin, A. (2011). Akut koroner sendromda troponin T ve troponin I. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 130.
4. Ang, E., Mweempwa, A., Heron, C., Ahn, Y., Rivalland, G., Ha, L. Y., & Deva, S. (2021). Cardiac troponin I and T in checkpoint inhibitor-associated myositis and myocarditis. *Journal of Immunotherapy*, 44(4), 162-163.
5. Welsh, P., Preiss, D., Hayward, C., Shah, A. S., McAllister, D., Briggs, A., ... & Sattar, N. (2019). Cardiac troponin T and troponin I in the general population: comparing and contrasting their genetic determinants and associations with outcomes. *Circulation*, 139(24), 2754-2764.
6. Sandoval, Y., Herzog, C. A., Love, S. A., Cao, J., Hu, Y., Wu, A. H., ... & Apple, F. S. (2016). Prognostic value of serial changes in high-sensitivity cardiac troponin I and T over 3 months using reference change values in hemodialysis patients. *Clinical chemistry*, 62(4), 631-638.

# TROPONİN T

**Belgin BAYRAM**

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Akut koroner sendromların tanı ve takibinde troponin düzeylerinin izlenmesi çok önemlidir. Troponinler, temel olarak kardiyak kasılma ünitesinde miyofibrillerle beraber yer almaktadırlar. Bunlar arasında miyosit hasarına karşı yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmaları nedeniyle özellikle troponin T ve troponin I ölçümü ön plana çıkmaktadır. Tarihsel süreçte 1990'lı yılların başında klinik kullanıma troponin T ile girilmiş ve sonradan troponin I da kullanılmaya başlanmıştır. Troponin T, 37kDa ağırlığı ve iskelet kasındakinden farklı olarak kardiyak özgüllüğünü sağlayan amino terminalindeki 11 amino asit rezidüsüyle, kalp kasında tropomiyozini bağlayarak kasılma kontrolünde görev almaktadır. Hem iskelet kasında hem de kalp kasında bulunur ancak farklı genlerle kodlanır, yine de nadiren ve daha çok eski jenerasyon testlerle fetal gelişimde, bazı iskelet kası hastalıklarında ve son evre böbrek yetmezliklerinde de troponin T artışı gözlemlenebilmektedir. Akut koroner sendromda Troponin T ilk olarak 3-12 saat içerisinde yükselmeye başlar, 12-48 saatte zirveye ulaşır, 14 gün içerisinde düşer, troponin I ise 10 gün içerisinde düşer. Troponin T için referans değerleri erkeklerde <15ng/L, kadınlarda <10ng/L'dir. Troponinler enzim immünassay temelli yöntemlerle ölçülürler; fakat dolaşımdaki farklı formları, kombinasyonları, modifikasyonları ve farklı ticari kitlerde farklı bölgelere yönelik antikorların kullanılmasından dolayı troponin I için standardize bir ticari referans test oluşturulamamıştır. Troponin T ise tek firma üzerinden standardize bir yöntemle ölçülebilir ve farklı merkezler arasında da karşılaştırma yapılabilir. Ağır hemoliz ve fibrin her iki test için de yanlış yüksek veya düşük sonuçlara neden olabilirken; troponin I için heterofilik antikorlar, romatoid faktör ve makrotroponinin interferansı ile da ilgili özel olarak vakalar yayımlanmıştır. Hem troponin I hem troponin T testlerinde özgüllük ve duyarlılık düzeyleri benzer olsa da aralarında bazı farklılıklar vardır. Testlerin birbirlerine göre üstün yönlerinin göz önünde bulundurularak çalışılması ve sonuçları etkileyebilecek faktörlerin iyi bilinmesi hastalara doğru zamanda doğru tanı ile müdahale edilmesini sağlayacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Troponin T, Troponin I



*Geleceğin Uzmanları  
Tartışıyor*

*BNP / Pro BNP'ye Karşı*



# BNP, NT-Pro-BNP'ye Karşı

Sercan EROL

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

Yaklaşık 70 yıl kadar önce kalbin endokrin fonksiyona sahip olduğu düşünüldü. Atriumlarda dilatasyon olduğunda natriürezisin gerçekleştiğinin görülmesi ve elektron mikroskopisi ile atriyum miyositlerindeki intrasellüler granüllerin gösterilmesi bu şüpheleri doğruladı. 1981'de atriyal miyosit ekstratlarının enjekte edilmesiyle ratlarda natriürez ve diürezin gerçekleştiği gözlemlendi ve sonrasında atrial natriüretik peptid'in (ANP) disülfid köprüleri içeren 28 aminoasitli halka yapısı gösterildi. 1988'de Sudoh'un çalışmaları beyinde ANP benzeri bir peptid olduğunu ortaya çıkardı ve brain natriüretik peptid (B-tip natriüretik peptid-BNP) olarak adlandırıldı. Daha sonraki tecrübeler BNP'nin kardiyak miyositlerde daha yüksek konsantrasyonlarda üretildiğini ve ANP ile aynı reseptörü paylaştığını gösterdi.

İnsan BNP geni 1. kromozomda lokalizedir ve 108 aminoasitten oluşan prohormonproBNP'yi kodlar. ProhormonproBNP, furin proteazı ile dolaşımdaki aktif form olan aktif BNP (32 aminoasit) ve inaktif NT-proBNP'ye (76 aminoasit) ayrılıp eşit miktarda sekrete edilir. BNP, klirens reseptörü olduğu düşünülen natriüretik peptid reseptör tip-C'ye bağlanarak ve nötral endopeptidazlar tarafından proteoliz ile uzaklaştırılırken, NT-proBNP plazmadan temel olarak renal yolla ekstrakte edilmektedir.

BNP sentez ve sekresyonu için ana uyarıcı kardiyak duvar gerilimidir ve sağlıklı organizmada dolaşımdaki BNP'nin major kaynağı atriyum miyositleridir. Ancak kalp yetmezliği gibi miyosit geriliminin olduğu durumlarda başta BNP olmak üzere ventriküler natriüretik peptid üretimi de hızla artar.

BNP, ANP gibi natriüretik peptid reseptör A'ya bağlanıp, intrasellüler cGMP artışına sebep olur. Diürezis ve vazodilatasyon yapmasının yanı sıra renin/anjyotensin/aldosteron sistemi ve kardiyak/vasküler miyosit büyümesini inhibe ederek pre ve post yükü azaltmaktadır.

BNP ve NT-proBNP temel olarak acil serviste akut dispne etiyolojisinin belirlenmesinde ve konjestif kalp yetmezliğinin (KKY) tanısında kullanılmaktadır. BNP düzeyleri kardiyovasküler hastalıkların tanısının yanı sıra hastalığın ciddiyeti ve prognozu için de önemlidir. BNP/NT-proBNP seviyeleri ile KKY'nin şiddeti ve mortalitesi arasında pozitif yönde doğrusal bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Amerikan Kalp Birliği (AHA)/Amerikan Kardiyoloji Koleji (ACC)/Amerika Kalp Yetersizliği Birliği (HFSA) 2022 kılavuzu kalp yetmezliği tanı algoritmasında, BNP'nin klinik öykü, fizik muayene ve elektrokardiyogram (EKG) ile birlikte ilk basamak olarak kullanılması önerilmektedir. Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) kılavuzunda belirtilen % 94-98 arasındaki negatif prediktif değeri ve % 44-57 arasındaki pozitif prediktif değeri ile natriüretik peptidlerin özellikle tanıyı dışlamada kullanılması gerektiğini önermiştir.

## Neden BNP?

BNP ve NT-proBNP ölçümleri biyokimyasal ve fizyolojik karakterlerinden dolayı farklı avantajlara sahip olabilir. BNP'nin yarı ömrü yaklaşık 20 dk, NT-proBNP'nin ise 120 dk kadardır, bu nedenle akut olaylarda BNP'nin kullanımı tercih edilebilir.

BNP tüm yaş gruplarında 100 pg/mL eşik değerinde optimum sensitivite ve spesifite göstermektedir. NT-proBNP için 75 yaşın altında 125 pg/mL ve 75 yaşın üzerinde 450 pg/mL olmak üzere 2 farklı eşik değer kullanılmaktadır. Ayrıca bazı çalışmalarda NT-proBNP için yaşa göre daha detaylı eşik değer tanımlamaları da yapılmıştır. Tanıda NT-proBNP için birden fazla referans değer bulunması klinik uygulamalarda karışıklığa neden olabilir. Ayrıca böbrek yetmezliği olan kişilerde NT-proBNP

konsantrasyonlarının BNP'ye göre daha fazla etkilendiğini, NT-proBNP'nin KKY tanısında sensitivite ve spesifitesinin düştüğünü ve NT-proBNP eşik değeri belirlenmesinde eGFR'ye göre düzeltme yapılması gerektiğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır.

BNP ölçümü için N-terminal, C-terminal veya sistein halkası gibi farklı epitoplara karşı antikorların kullanıldığı farklı firmaların BNP ve NT-proBNP'ye özgü farklı ticari kitleri bulunmaktadır ve BNP reaktifleri NT-proBNP'ye göre daha ucuzdur.

Sonuç olarak, BNP, akut dispne ile başvuran hastalarda konjestif kalp yetmezliği tanısında, akut değişikliklerin değerlendirilmesinde ve özellikle renal yetmezliği olan hastalarda tercih sebebiyen ayrıca maliyet etkin olması nedeniyle NT-proBNP'ye tercih edilebilir.

### **Kaynaklar**

1. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines
2. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure
3. Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *Eur J Heart Fail.* 2004 Mar 15;6(3):257-60. doi: 10.1016/j.ejheart.2003.12.015. PMID: 14987573.
4. Tsutomoto T, Sakai H, Ishikawa C, Fujii M, Tanaka T, Yamamoto T, Takashima H, Ohnishi M, Wada A, Horie M. Direct comparison of transcardiac difference between brain natriuretic peptide (BNP) and N-terminal pro-BNP in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2007 Jun-Jul;9(6-7):667-73. doi: 10.1016/j.ejheart.2007.01.003. Epub 2007 Mar 23. PMID: 17360233.
5. Maries L, Manitiu I. Diagnostic and prognostic values of B-type natriuretic peptides (BNP) and N-terminal fragment brain natriuretic peptides (NT-pro-BNP). *Cardiovasc J Afr.* 2013 Aug;24(7):286-9. doi: 10.5830/CVJA-2013-055. PMID: 24217307; PMCID: PMC3807675.

# NT-PROBNP VE BNP TESTLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

**Arif Murat Kaytaz<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Natriüretik peptit sistemi kardiyovasküler homeostazın sağlanmasında önemli role sahiptir. B-tipi natriüretik peptit (BNP) miyokardiyal gerilmeye yanıt olarak ventriküler kas sistemi tarafından salgılanır. BNP'nin 108 amino asitlik polipeptit öncülü olan proBNP proteaz grubu enzim olan furin ile 76-peptid uzunluğundaki biyolojik olarak inaktif N-terminal proB-tip natriüretik peptit (NT-proBNP) ve 32-peptid uzunluğunda biyolojik olarak aktif hormon BNP'ye bölünür.

Hem BNP hem de NT-proBNP kalp yetmezliği tanısında, takibinde ve tedavi izleminde kullanılan testlerdir. Uluslararası kılavuzlarda önerilen cut-off değerleri kalp yetmezliği ekartasyonunda BNP için kronik durumda 35 pg/mL ; akut durumda 100 pg/mL ve NT-proBNP için kronik durumda 125 pg/mL ve akut durumda için 300 pg/mL'dir. Ayrıca BNP için 400 pg/mL ve NT-proBNP için <50, 50-75 ve >75 yaş için sırasıyla 450, 900 ve 1800 pg/mL üzerindeki değerler kalp yetmezliğini olasılığını güçlendirir. Ek olarak koroner arter hastalıklarının ve kapak hastalıklarının prognozunda ,ani kardiyak ölümün ve kardiyak resenkrizasyon tedavisine yanıtın prediktörü olarak kullanımları vardır.

Cinsiyet, yaş , obezite ve böbrek yetmezliği dolaşımdaki BNP ve NT-proBNP konsantrasyonlarının diğer belirleyicileridir. Obez hastaların daha düşük natriüretik peptit seviyelerine sahip oldukları gösterilmiştir. Tüm yaş gruplarında hem BNP hem de NT-proBNP düzeyleri kadınlarda erkeklere göre daha yüksektir. Yaş ilerledikçe BNP ve NT-proBNP seviyeleri artar. Bu kapsamda NT-proBNP testi için yaşa bağımlı cut-off değerlerinin belirlenmiş olması özellikle yaşlı hasta grubunda hastalığın daha spesifik olarak yorumlanmasını sağlar. Böbrek yetmezliğinde NT-proBNP seviyeleri BNP'e göre daha fazla yükselir.

Tüm BNP tahlilleri, peptit tespiti için farklı antikorlar ve malzemeler kullanır; bu nedenle, standardizasyon eksikliği vardır. Buna karşılık NT-proBNP testleri aynı antikorları ve kalibratörleri kullanır. Bu nedenle ticari olarak piyasada bulunan NT-proBNP testleri aralarında %10 dan daha az varyasyon gösterir.

Natriüretik peptit reseptörleri ve plazma endopeptidazları, dolaşımdan BNP'yi aktif olarak temizler; plazma yarı ömrü yaklaşık 20 dakikadır. NT-proBNP'nin klirensi ise pasif olarak gerçekleşir ve NT-proBNP'nin buna bağlı olarak 60-120 dakikalık uzun bir yarı ömrü vardır. Sonuç olarak NT-proBNP gün içi değişkenliğe daha az eğilimlidir ve kan dolaşımında daha yüksek konsantrasyonlarda dolaşır, bu nedenle daha erken kalp yetmezliği formlarını tespit etmede daha duyarlı olması daha olasıdır.

BNP testleri için EDTA plazma önerilen tek numunedir. BNP, oda sıcaklığında 24 saat veya 30 °C'de 12 saat saklanabilir. EDTA'da toplam plazma BNP değerleri -20 °C'de 1 ay boyunca stabildir ancak formlar zamanla değişebilir. NT-proBNP testi, serum, heparinize plazma veya EDTA plazma numunelerinde saptanabilir. Oda sıcaklığında veya 4 °C'de en az 72 saat veya -80 °C'de saklandığında 1 yıla kadar stabildir. Bu özellikleri nedeniyle NT-proBNP testi diğer kardiyak belirteçlerle birlikte aynı numuneden çalışılabilme ve uzun süre stabil olması nedeniyle test eklenmesine olanak sağlama özellikleriyle laboratuvarında esneklik sağlar.

NT-proBNP ve BNP testleri benzer diagnostik ve prognostik özelliklere sahiptir. Ek olarak bu iki test preanalitik ve analitik süreci etkileyen yarı ömür, in vitro stabilite ve plazma klirensi gibi özellikler açısından farklılık gösterir.

**Anahtar Kelimeler:** NT-proBNP, BNP, kalp yetmezliği



# *Geleceğin Uzmanları Tartışıyor*

*Alt Ölçüm Limiti İçin LOD / LOQ'ya Karşı*



# ALT ÖLÇÜM LİMİTİ İÇİN LOD / LOQ'YA KARŞI

Alper Kutlu

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

Limit of blank (LoB), limit of detection (LoD) ve Limit of quantitation (LoQ) bir ölçüm prosedürüne ait en düşük konsantrasyon düzeyini elde etmek için kullanılan kavramlardır. LoD, tespit limiti, kör veya sıfır dışında tespit edilebilen en küçük miktar ya da konsantrasyon olarak belirtilmektedir. Kantitasyon limiti istenen kalite gereksinimini karşılayan (bias ve imprecizyon) en düşük analit konsantrasyonunu ifade etmektedir. Bir analite ait raporlanan en düşük konsantrasyon değeri için tespit limiti ve kantitasyon limiti kullanımı tartışmalı bir konu olmuştur. Bu iki kavram karşılaştırıldığında tespit limiti kullanımının kantitasyon limitine karşı birçok avantajı öne çıkmaktadır. İlk olarak tespit limitinin belirlenmesinde kör limiti kullanılabilir. Sıfır kalibratör ile hesaplanan kör düzeyinin yüzde 5 alfa hata için tek taraflı yüzde 95 güven aralığının üst sınırı tespit limitini oluşturur. Kantitasyon limiti hesabında ise düşük düzey serum havuzları kullanılması gerekmekte ayrıca istenen total hata veya imprecizyon düzeyindeki analit konsantrasyonu için regresyon formülü üzerinden yaklaşık düzeyler elde edilmektedir (1). Kitaplarda yer alan Currie ve arkadaşlarının kantitasyon limiti için önerdiği 10 sigma hesabı da istatistiksel temellerden uzak olup tahmini bir yaklaşımdır (2). Tespit limiti her zaman kantitasyon limitinden daha düşük bir konsantrasyonu temsil eder. Bir hasta örneği içindeki analitin var veya yok şeklinde raporlanması ayırıcı tanıda birçok hastalığın dışlanmasında önemli avantaj sağlar. Raporlanırken sadece kantitasyon limitinin kullanılması hastalığa ait spesifiteyi azaltması çok olasıdır. Örneğin göğüs ağrısı şikayeti olan bir hastada troponin testi ile hızlıca myokardial infarktüs dışlanmalıdır. Bu konuda *Fourth universal definition of myocardial infarction (2018)* (3) rehberinde tespit limitinin önemini vurgulayarak tek örnekle dışlama stratejilerinde tespit limitinin %99u geçen yüksek negatif prediktif değeri ile önemli bir parametre olduğu ve mutlaka klinisyenlerle paylaşılması gerektiği belirtilmiştir. Rehberde ayrıca IFCC'nin tavsiye ettiği bir kriter olan bir troponin ölçüm prosedürü sağlıklı popülasyonun en az yüzde 50'sinin sahip olduğu düzeyin üstünde bir tespit limitine sahip olması gerekliliği ile hem klinik kullanım hem kalite gereksinimi olarak tespit limitinin önemi vurgulanmıştır. Apple ve arkadaşlarının çalışmasında da kardiyak troponin için tespit limitinin kullanılması hızlı dışlamanın yanısıra yaratacağı finansal avantajı vurgulanmış ve %20'lik imprecizyonu sağladığı sürece tespit limitinin kullanılabilirliği belirtilmiştir (4). Örneğin Beckman Coulter Access Yüksek Hassasiyetli Kardiyak Troponin testine ait prosedür incelendiğinde üreticiye ait belirlenmiş tespit limiti ve kantitasyon limiti aynı düzeydir. Bu noktada raporlanan alt sınır için tespit limiti kavramını kullanmak klinik açıdan daha avantajlı olacaktır. Alkol, toksikoloji, terapötik ilaç düzeyi izlemi gibi ekzojen analitlerin ölçümünde de tespit limiti kavramı yaygın kullanılmaktadır. Etanol düzeyi mevzuatta belirlendiği şekilde tespit limiti alt sınır olarak belirlenir. Öte yandan toksikolojik tarama testlerinde pozitif raporlama için belirlenen cut-off değerler aranan maddeye ait tespit limitini oluşturur. Kantitasyon limiti bu testlerde kullanılan kavramlar değildir. Ekzojen analitler için doğrulama veya gold standart testlerde kullanılan kromatografik yöntemlerde analitin varlığı internal standarta uyan sinyal ile belirlenebilir. İmprecizyon hesabından bağımsız şekilde kantitasyon limitini kullanmadan analit tespiti mümkündür. Tespit limiti özellikle spektrofotometrik testlerde yüksek imprecizyon gösterebilir. Bu sebeple klinik kullanım olarak kantitasyon limiti daha yaygın olduğu bilinmektedir fakat CLSI EP-17 rehberinin de önerdiği şekilde tespit limiti yüksek saçılım gösteren bir değer olsa da mutlaka raporlamada yer almalıdır. Tespit limiti ve kantitasyon limiti arasındaki gri zone içeren bir sonuç raporu en doğru ve en kapsamlı bilgiyi yansıttığı ifade edilmiştir (1).

## Kaynaklar

1. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
2. Carlson, Jill & Wysoczanski, Artur & Voigtman, Edward. (2014). Limits of quantitation - Yet another suggestion. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 96. 10.1016/j.sab.2014.03.012.
3. Kristian Thygesen, Joseph S Alpert, Allan S Jaffe, Bernard R Chaitman, Jeroen J Bax, David A Morrow, Harvey D White, ESC Scientific Document Group, Fourth universal definition of myocardial infarction (2018), *European Heart Journal*, Volume 40, Issue 3, 14 January 2019, Pages 237–269, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy462>
4. Apple FS, Sandoval Y, Jaffe AS, Ordonez-Llanos J; IFCC Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers. Cardiac Troponin Assays: Guide to Understanding Analytical Characteristics and Their Impact on Clinical Care. *Clin Chem*. 2017;63(1):73-81. doi:10.1373/clinchem.2016.255109

# KANTİTASYON SINIRI (LIMIT OF QUANTIFICATION)

Çetin UZUN

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Günümüzde hastalıkların tanınmasında ve takibinde çeşitli laboratuvar testleri önemli rol oynamaktadır. Analiz sürecinin doğru işlediğinden emin olunması gerekmektedir. Süreci doğru şekilde yönetmek, sonuçların doğruluğunu ve sağlık hizmetinin kalitesini arttıracaktır. Doğruluğun sağlanması için laboratuvarlar süregelen bir biçimde çalışırlar. Analitik yöntemlerin validasyon ve verifikasyon süreçleri de bu çalışmalardandır.

Validasyon, bir metodun beklendiği şekilde çalıştığını ve kullanım amacını karşıladığını kanıtlama sürecidir. Verifikasyon ise belirlenen hedeflerin karşılandığını göstermek için yapılan inceleme sürecidir. Üretici firmalar test kitlerini klinik kullanım amaçlı üretiyorsa çeşitli validasyon çalışmalarını yapmak durumundadır. Rutin hizmet veren laboratuvarlarda valide edilmiş kitlerin kullanımı gerekmektedir. Kitlerin klinik kullanıma verilmeden önce mutlaka verifikasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Analitik bir yöntemin validasyon çalışmaları doğruluk, kesinlik, linearite, spesifite, saptama sınırı ve kantitasyon sınırının belirlenmesi gibi konuları içerir.

Ölçüm aralığı, bir testin en düşük konsantrasyondan en yüksek konsantrasyona kadar dilüsyonsuz olarak ölçümünün yapıldığı aralıktır. Saptama sınırı (LoD), kitin tayin edebileceği en düşük analit konsantrasyonudur. Kantitasyon sınırı (LoQ), kabul edilebilir bir kesinlik ve doğruluk düzeyi ile belirlenebilen en düşük “ölçülen” konsantrasyonudur. Bir başka deyişle LoQ, bir yöntemin veya ölçüm sisteminin performansının kabul edilebilir olduğu en düşük konsantrasyondur. LoD’den en önemli farkı çeşitli kılavuzlarca belirlenmiş hedeflerin doğru ölçümünün sağlandığı minimum ölçülen konsantrasyonu olmasıdır. Avustralya Ulusal Test Otoriteleri Birliği’nin (NATA) yayınladığı TechnicalNote17 kılavuzunda LoQ terimi, yöntemin kantitasyon sınırı ve ölçüm sisteminin kantitasyon sınırı olarak ikiye ayrılmıştır. Yöntemin kantitasyon sınırı, belirli yöntemle verilen hedeflere uyacak en küçük konsantrasyon olarak tanımlanmaktadır. Ölçüm sisteminin kantitasyon sınırı ise cihaz tarafından güvenilir şekilde ölçülebilen en düşük konsantrasyondur. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) limitleri belirlemek, tanımlamak ve standardize etmek için 2012 yılında EP17-A2 kodlu kılavuzunu yayımlamıştır. CLSI’ya göre, LoQ sadece kantitatif ölçümler için geçerli olup ölçüm prosedürünü geliştirme esnasında firma tarafından belirlenir. Ayrıca laboratuvarlar da farklı doğruluk hedefleri ve farklı tür numuneler için kendi kantitasyon sınırlarını belirleyebilir.

Tüm ölçüm yöntemleri ve uygulamaları için tek bir LoQ tanımı yoktur. LoQ, tercihen toplam hata hedefi açısından veya hem bias hem kesinlik hedeflerine göre tanımlanır. Ancak biasın belirlenemediği bazı durumlarda hedef olarak sadece laboratuvar-ıçi kesinlik kullanılır. Bu durumlarda LoQ, fonksiyonel duyarlılığa eşdeğer olacaktır (örnek kardiyak troponinler). LoQ tanımı seçildikten sonra, ilgili doğruluk hedef değerini sağlamak gerekir. LOQ’ın değerlendirilmesinde fonksiyonel duyarlılık veya toplam hataya dayalı yöntemler kullanılabilir. Kardiyak, kanser ve tiroid ile ilişkili hastalıkların tanısında kullanılan ölçüm yöntemlerinde fonksiyonel duyarlılığın değerlendirilmesi önerilmektedir. Fonksiyonel duyarlılık, hedeflenen laboratuvar içi tekrarlanabilirlik ile ilişkili ölçüm aralığının alt sınırındaki analit konsantrasyonudur. Toplam hataya dayalı yöntemler ise hedeflenen toplam hatanın sağlandığı ilişkili ölçüm aralığının alt sınırındaki analit konsantrasyonudur.

Bu değer hesaplanmasında ya da tahmininde birkaç yöntem kullanılabilir. Birinci yöntemde, LoQ için bir hedef seçilir ve çok sayıda düşük konsantrasyonlu örnekler hazırlanır. Örnekler birden fazla gün boyunca en az bir cihaz sistemi kullanılarak tayin edilir. Bu tayin sonucu kabul edilebilir hata hesaplanır. Bu hata değeri tanımlanmış hedefleri sağlıyor ise ölçüm prosedürü için ortaya çıkan

ortalama konsantrasyon LoQ değeri olarak tanımlanır. Bu hesaplamada reaktif lotu başına toplam 36 minimum düşük seviye numune sonucu gereklidir. Bir diğer hesap metodu olarak LoD hesaplandıktan sonra 3 SD ya da kör sınırına (LoB) 10 SD eklenerek LoQ tahmin edilebilir. Genel olarak LoQ, saptama sınırından daha büyük bir konsantrasyondur. Bazı durumlarda eşit olabilir; fakat kesinlikle daha düşük olmayacaktır. Sonucu raporlama aşamasında; LoQ'dan küçük, LoB'dan büyük ölçülen değerler analitin numunede mevcut olduğunu belirterek, <LoQ değeri olarak raporlanmalıdır, analitin ölçülen değeri ise raporlanmamalıdır. LoD ile LoQ arasındaki sonuçlar rapor edilmek isteniyorsa, CLSI'daki prosedüre uygun olarak, sonuçların yüksek belirsizliğe sahip olduğu ve dikkatli yorumlanması gerektiği bir uyarı notu ile rapor edilebilir.

Genel olarak klinik karar limitleri LoD ve LoQ gibi değerlerin çok üstünde oldukları için bu değerlerin hangisinin raporlanacağı arasındaki çelişki bir problem yaratmamaktır. Genellikle immunassay ölçüm yöntemleriyle ölçülen testlerde, örneğin TSH gibi düşüklüğü klinik karar sürecinde kritik olan analitlerde ise bu çelişki karşımıza çıksa da LoD yerine LoQ değerlerine göre test sonucunu değerlendirmek daha uygun olacaktır. LoD ile raporlanan değer, LoQ ile raporlanan değere göre tekrarlanabilirliği daha yüksek, doğruluğu daha düşüktür. Bu nedenle LoQ olarak raporlamak hem doğruluk hem kesinlik açısından önemlidir. Klinik kararda düşük limitlerin önemli olduğu testlerde LoQ neredeyse LoD sınırına kadar çekilmiştir. Kütle spektrometrik sistemlerde de LoQ ve üzeri değerlerin rapor daha uygun bir tercih olacaktır. Spektrofotometrik rutin kimya testlerinde ise genel olarak LoD verilir.

Sonuç olarak, laboratuvarlarda validasyon ve verifikasyon işlemleri tamamlanmış olan testler kullanılmalıdır. LoQ değerlerinin klinik karar sürecinde önemli olduğu testlerde laboratuvarlar verifikasyon aşamasında LoQ değerlerini de değerlendirmelidir. Kesinlik ve doğruluk hedeflerinin sağlanabildiği LoQ değerleri klinik karar verme sürecine katkısı olan testlerde mutlaka hasta raporlarında verilmelidir.

## Kaynaklar

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 6th Edition, 2018.
2. Armbruster DA, Pry T. Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. Clin Biochem Rev. 2008;29 Suppl1:S49-S52.
3. CLSI EP17-A2: Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2nd Edition, 2012.
4. NATA Technical Note 17. Guidelines for the validation and verification of
5. quantitative and qualitative test methods, 2012.
6. Lister, Ashley. (2005). Validation of HPLC methods in pharmaceutical analysis. Separation Science and Technology, 191-217.
7. Sandeep K. Vashist, John H.T. Luong, Bioanalytical Requirements and Regulatory Guidelines for Immunoassays, Handbook of Immunoassay Technologies, 2018, 81-95.