

YENİDOĞAN
HİPERBİLİRUBİNEMİSİNE
LABORATUVAR YAKLAŞIMI:
ANALİTİK SORUNLAR

DR MUAMMER YÜCEL
BİYOKİMYA UZMANI

Neonatal Hiperbilirubinemi

Sarılık yenidoğanlarda yaygın bir durumdur.

Geç preterm ve term YD'ların % 60'ında görülür.

Prematür YD'larda % 80 oranında görülür.

Yenidoğan sarılığı çoğunlukla benign seyir izler.

Yaşamın 3-5 günleri arasında pik yapar,

2 hafta içinde kaybolur.

Neonatal Hiperbilirubinemi Nedenleri

- Artmış hemoglobin yıkımı nedeniyle bilirubin oluşumunun artması

Fetal Hb yaşam ömrü yetişkin Hb'den daha kısadır.

YD'da bilirubin oluşum hızı yetişkinden 2-3 kat ↑

- Yeterince gelişmemiş (immature) karaciğerin bilirubin konjugasyonu ve atılımında yavaş kalması

Hiperbilirubinemi

- TSB $\geq 12,9$ mg/dL ise şiddetli hiperbilirubinemi
- Risk faktörleri:
 - Prematürite (< 38 hafta)
 - ABO/Rh uygunsuzluğu
 - Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz eksikliği
 - Önceki bebekte şiddetli sarılık öyküsü
 - Anne sütü ile beslenme

Kern İcterus

- Şiddetli hiperbilirubinemi ilerlerse “**kern icterus**”a yol açabilir.
- Risk faktörü olan ve/veya prematürelere olasılık ↑

*İrreversibl beyin hasarı,
Bazal ganglionlar tutulmuştur.*

- Kern icterus önlenabilir bir durumdur;
Erken tanı ve uygun tedavi ile...

Çorum Özel Hastanesi
LABORATUVAR TETKİK DAĞILIMI

Başlangıç Tarihi : 01.10.2010

Bitiş Tarihi : 01.10.2011

Bölüm : Tüm Bölümler

Tetkik : Tüm Tetkikler

Sıra_Tetkik Adı	Toplam	Yüzde
1. TAM KAN (HEMOGRAM)	30560	% 8,8
2. GLUKOZ (AKŞ)	18625	% 5,36
3. İDRAR TETKİKİ (STRİP İLE)	16039	% 4,62
4. KREATİNİN	14228	% 4,1
5. KAN ÜRE AZOTU (BUN)	13952	% 4,02
6. İDRAR MİKROSKOBİSİ	13051	% 3,76
7. ALANİN AMİNOTRANSFERAZ (ALT)	12609	% 3,63
8. ASPARTAT TRANSAMİNAZ (AST)	12128	% 3,49
9. SEDİMENTASYON	11634	% 3,35
10. TRİGLİSERİD	10550	% 3,04
11. T. KOLESTEROL	10546	% 3,04
12. HDL KOLESTEROL	9639	% 2,78
13. LDL KOLESTEROL	9634	% 2,77
14. CRP (TURBİDİMETRİK)	8291	% 2,39
15. TSH	7932	% 2,28
16. POTASYUM	7333	% 2,11
17. SODYUM (SERUM VE VÜCUT SIVILARINDA)	7138	% 2,06
18. LAKTİK DEHİDROGENAZ (LDH)	6199	% 1,78
19. SERBEST T4	5713	% 1,64
20. GGT	5306	% 1,53
21. KALSİYUM (CA)	5182	% 1,49
22. ALKALEN FOSFATAZ	4925	% 1,42
23. SERBEST T3	4319	% 1,24
24. ASO (TURBİDİMETRİK)	4161	% 1,2
25. VİTAMİN B12	3772	% 1,09
26. RF (TURBİDİMETRİK)	3762	% 1,08
27. ALBÜMİN	3609	% 1,04
28. T. PROTEİN (SERUM VE VÜCUT SIVILARI)	3411	% 0,98
29. PROTROMBİN ZAMANI	3257	% 0,94
30. HBSAG (HIZLI TEST)	3174	% 0,91
31. PSEUDOKOLİNESTERAZ	3064	% 0,88
32. İDRAR KÜLTÜRÜ	2890	% 0,83
33. TOTAL BİLİRUBİN	2766	% 0,8
34. APTT	2619	% 0,75
35. KLOR (CL)	2540	% 0,73
36. ABO+RH TAYINI (FORWARD-REVERSE)(LAB)	2379	% 0,68
37. NEONATAL BİLİRUBİN	2359	% 0,68
38. GLİKOZİLE HEMOGLOBİN (HBA1C)	2220	% 0,64
39. GAITADA AMİP-GIARDİA ARANMASI	2157	% 0,62
40. ÜRİK ASİT	2042	% 0,59
41. AMİLAZ	1964	% 0,57

PEDİATRİ YAŞ GRUBUNDA YILLIK TEST DAĞILIMI

Birimlere ve Güne Göre Laboratuvar Tetkik Sayıları

Tarih: 01.10.2010 - 01.10.2011

	Tetkik	Adet
1	TAM KAN (HEMOGRAM)	4152
2	İDRAR MİKROSKOBİSİ	2915
3	İDRAR TETKİKİ (STRİP İLE)	2904
4	NEONATAL BİLİRUBİN	2279
5	İDRAR KÜLTÜRÜ	2226
6	CRP (TURBİDİMETRİK)	1769
7	ASPARTAT TRANSAMİNAZ (AST)	1412
8	ALANİN AMİNOTRANSFERAZ (ALT)	1410
9	GLUKOZ (AKŞ)	1250
10	KAN ÜRE AZOTU (BUN)	1241
11	KREATİNİN	1237
12	KALSİYUM (CA)	1035
13	SEDİMENTASYON	1033
14	POTASYUM	957
15	SODYUM (SERUM VE VÜCUT SIVILARINDA)	955
16	FOSFOR (P)	912
17	KLOR (CL)	900
18	T. PROTEİN (SERUM VE VUCUT SIVILARI)	874
19	ALKALEN FOSFATAZ	849
20	ALBUMİN	840
21	GGT	775

Birimlere ve Güne Göre Laboratuvar Tetkik

Tarih: 01.10.2010 - 01.10.2011

0 - 30 günlük bebekler

	Tetkik	Adet
1	NEONATAL BİLİRUBİN	2206
2	TAM KAN (HEMOGRAM)	389
3	ASPARTAT TRANSAMİNAZ (AST)	348
4	ALANİN AMİNOTRANSFERAZ (ALT)	346
5	KAN ÜRE AZOTU (BUN)	340
6	KALSİYUM (CA)	337
7	CRP (TURBİDİMETRİK)	336
8	POTASYUM	336
9	SODYUM (SERUM VE VÜCUT SIVILARINDA)	336
10	KREATİNİN	333
11	GLUKOZ (AKŞ)	330
12	KLOR (CL)	321
13	FOSFOR (P)	286
14	T. PROTEİN (SERUM VE VUCUT SIVILARI)	284
15	ALBUMİN	273
16	GGT	253
17	ALKALEN FOSFATAZ	248
18	TOTAL BİLİRUBİN	236
19	İDRAR TETKİKİ (STRİP İLE)	84
20	İDRAR MİKROSKOBİSİ	83
21	TSH	77

Yenidoğanlarda Bilirubin Ölçümü

Tercih edilebilecek yöntemler;

1. Kan örneklerinde direk fotometrik ölçüm yapan cihazlar
2. Laboratuvar analizörlerinde spektrofotometrik bilirubin ölçümü
3. HPLC
4. Transkutanöz bilirubinometreler (TcBmetre)

Yenidoğan Sarılığının Değerlendirilmesi

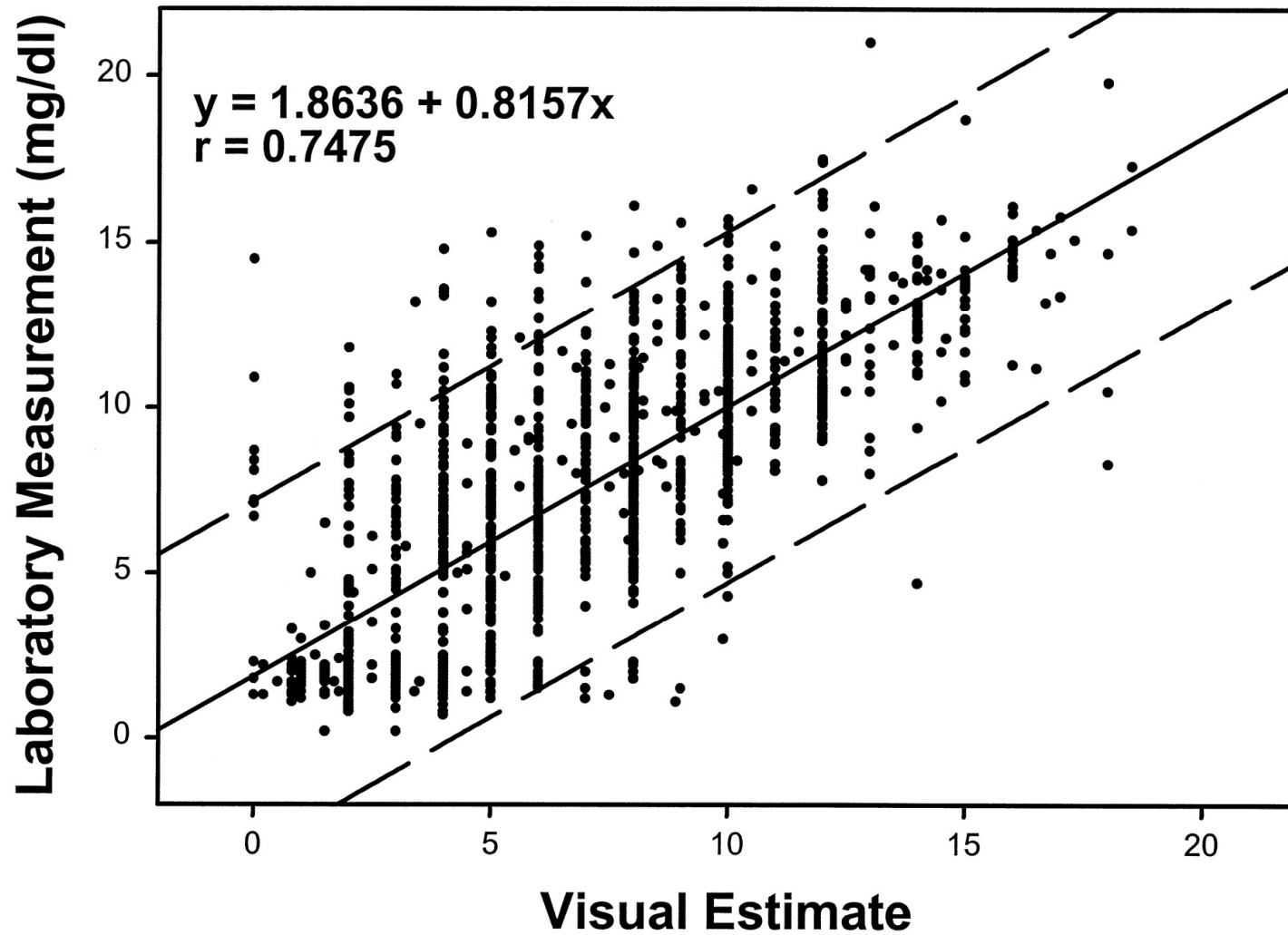
- Deri ya da skleranın gözle değerlendirilmesi ??

Hızlı ve sıfır maliyetli,
Güvenilir değil, çok yanıltıcı....

- **AAP**

“visual estimation of bilirubin levels from the degree of jaundice can lead to errors”

The relationship of the visual estimate of bilirubin (“how jaundiced?”) to the laboratory analysis of total bilirubin.



Tayaba R et al. Pediatrics 1998;102:e28-e28

PEDIATRICS[®]

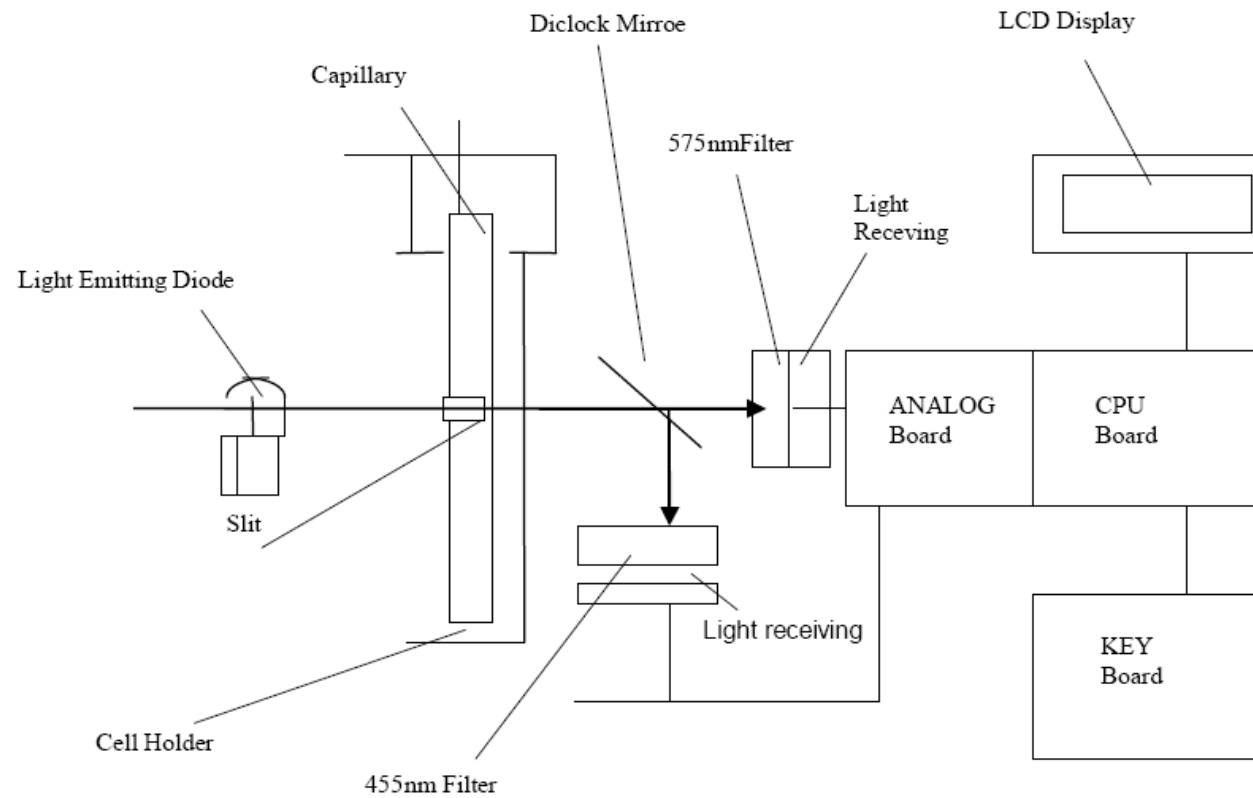
Yenidoğanlarda Bilirubin Seviyelerinin Belirlenmesi

- Bilirubin seviyelerini saptamak için hangi metodu seçeceğimize ve elde edilen sonucu nasıl yorumlayacağımıza karar vermek zor olabilir.
 - ✓ Güvenilirlik,
 - ✓ Tekrarlanabilirlik,
 - ✓ Maliyet,
 - ✓ Hızlı sonuç alınması,
 - ✓ Laboratuvar şartlarına uygunluk

Direkt Fotometrik Ölçüm Yapan Cihazlar

- Hasta başında ya da laboratuvarda *minimal kan volümü* ile total bilirubin seviyelerini ölçmek için geliştirilmişlerdir.
 - Bilirubinometreler
 - Kan gazı cihazları

BİLİRUBİNOMETRE



Bilirubinometre; *Avantajları*

- ✓ Elde etmek ucuz ve kolaydır,
- ✓ Düşük örnek hacmi ile sonuç,
- ✓ Ölçüm aralığı (0 – 30 mg/dL),
- ✓ Saniyeler içinde sonuç alınır,
- ✓ Sarf maliyeti yok denecek kadar azdır (Htc pipeti)
- ✓ Hemoliz interferansı yoktur.

Bilirubinometre; *Dezavantajları*

- Kan örneği gerektirir,
- Laboratuvara transfer,
- Hematokrit santrifüjünde santrifugasyon,
- İkinci haftadan sonra kullanılamaz, **karotenoidler** sonucu etkiler.
- Bilirubin ile benzer fiziksel ve optik özellikleri vardır (MA, 455 nm'de absorban, lipofilik özellik)

Kan Gazı Analizörlerinde Bilirubin Ölçümü

Tam kan örneğinde çoklu dalga boyunda direk fotometrik ölçüm yaparlar.

- ABL 735 (Radiometer)
478 – 672 nm arasında 128 okuma noktası
- OMNI S (Roche)
460 – 660 nm arasında 512 okuma noktası

Avantaj ve Dezavantajlar

- Santrifugasyona gerek yok,
- Düşük örnek hacmi,
- Hızlı sonuç,
- Aynı anda diğer önemli parametreler ölçülür
(pH, sodyum, kalsiyum, vb)
- Maliyet yüksek !
- Kalite kontrol değerlendirmesi zor.

Laboratuvar Analizörlerinde Spektrofotometrik Yöntem

- Serum ya da plazma örneğinde kimyasal reaksiyon ile laboratuvar analizörlerinde spektrofotometrik ölçümü
 - Referans Yöntemdir.

(Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine)

Laboratuvar Analizörlerinde Bilirubin Ölçüm Yöntemleri

- Malloy Evelyn Yöntemi (J Biol Chem 1937;119:481-490)
- Jendrassik&Grof Yöntemi (Biochem Z. 1938;297:81-89)
- 2,5-dichlorophenyldiazonium reaksiyonu
(Scand J Clin Lab Invest 1972;29 spp 126:Abs 11.12)
- Herz's Yöntemi (Scand J Clin Lab Invest 1974;33:215-230)
- Doumas Yöntemi *** (Clin Chem 1985;31:1779-89)
- Vink's Yöntemi (Clin Chem 1988;34:67-70)

Spektrofotometrik Yöntemin Avantajları

- İzlenebilirlik (Traceability)
- Tekrarlanabilirlik (Reproducibility)
- Lineeritesi

yüksektir

- Ölçüm aralığı geniştir (0,1-38mg/dL)

Dezavantajları

- Diğer yöntemlere göre daha yüksek örnek hacmi gerektirir.
 - Numune hacmi+ölü hacim
- Zaman alıcıdır.
 - Santrifugasyon (10 dakika)
 - İnkubasyon (10 dakika)

Dezavantajları

- Hemolizden etkilenir ?!
- Dikkat: topuktan alınan kan örneklerinde her zaman hemoliz vardır (56 – 1275 mg/dL)***
- Hemoglobinin interferans mekanizmasının kompleks doğası nedeniyle Hb konsantrasyonları ile interferansın yönü ve büyüklüğü arasında direk bir ilişki yoktur.***

***(Clin Chem 2002; 48: 1096-1097)

HPLC

- Gold standart,
 - Sensitivitesi yüksek,
 - Bilirubin fraksiyonları ölçülebilir,
 - Hemoliz ve lipemiden etkilenmez.
- Pratik değil, rutinde ?
 - Yetişmiş personel ve
 - Yoğun emek gerektirir.

Transkutanöz Bilirubin Ölçüm Yöntemi

- Transkutanöz bilirubinometreler, küçük ve hafif, hasta başı test cihazlarıdır.
- *Noninvaziv, deri üzerinden bilirubin seviyelerini ölçebilmek !*
- Laboratuvara kan örneği gitmiyor
- Reaktif yok, kimyasal reaksiyon yok
- Zaman kaybı yok, hızlı sonuç....

İlk Transkutanöz Bilirubinometreler

- Jaundice Meter (Minolta/Air Shields)
- ColorMate III (Chromatics Color Sciences Inc)
- JM-102 (Konica Minolta)
- Bilirubin sonucu olarak sayısal indeks “transcutaneous index” veriyordu.
- TSB ölçülerek başlangıç korelasyonu sağlanması ve bilirubin konsantrasyonuna çevrilmesi gerekiyordu.
- TcB sonuçlarının *lineeritesi* ile ilgili endişeler vardı.

İlk Transkutanöz Bilirubinometreler

- *Gestasyonel yaş, ırk ve vücut ağırlığı* sonuçları etkiliyordu.
- Term yenidoğanlarda ve beyaz ırkta TcB ve TSB korelasyonları çok iyi,
- Farklı deri rengi ve prematürelerde korelasyon çok düşük idi.

Yeni Nesil Transkutanöz Bilirubinometreler

- JM-103 (Draeger)
- Bilichek (Respironics/ Philips)

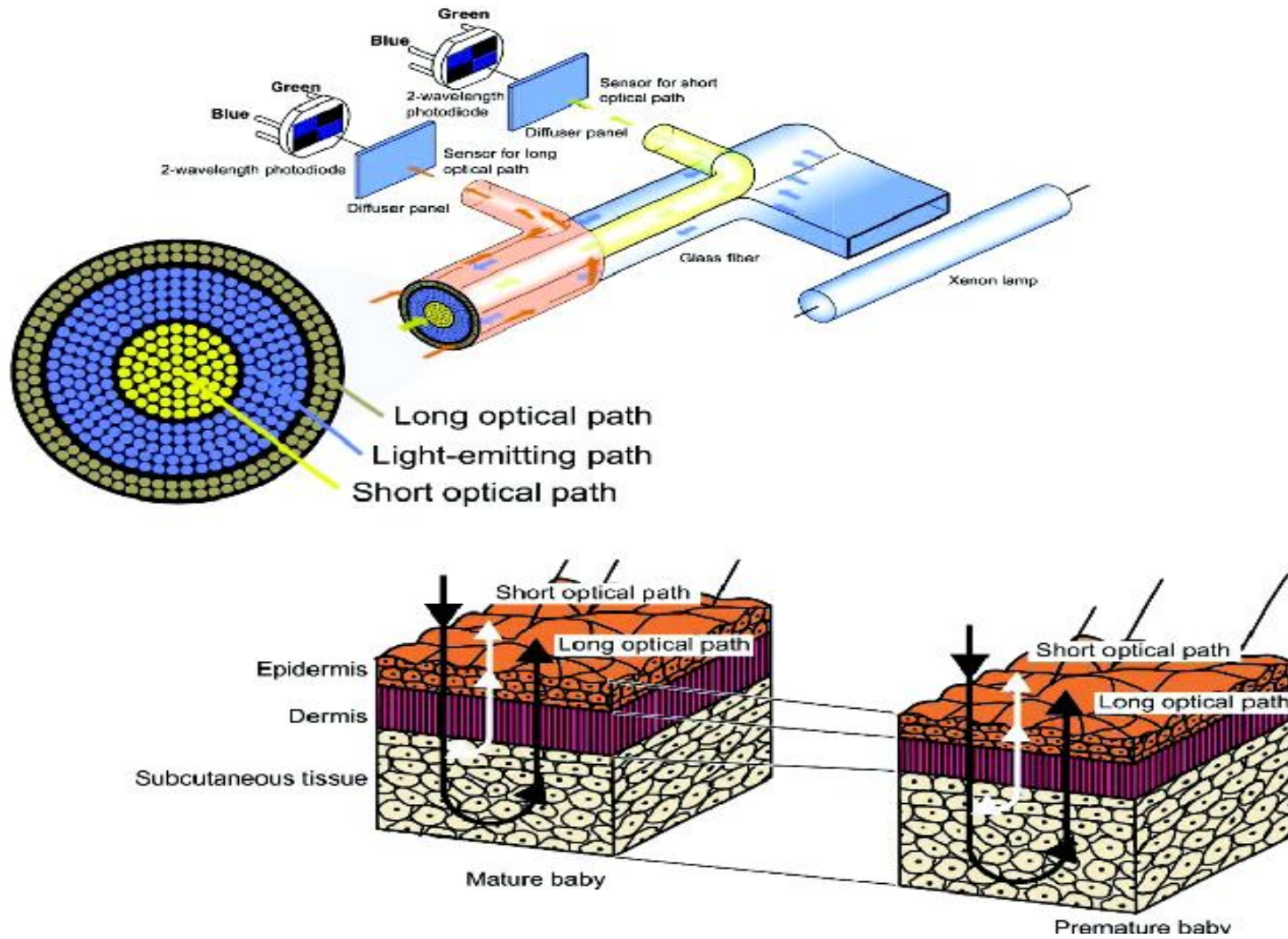
ABD’de klinik kullanım için FDA onayı almış 2 cihazdır.

- TcBmetreler giderek popüler olmakta ve kullanımını yaygınlaşmaktadır.
- *Görsel değerlendirme ile kıyaslanamayacak kadar güvenilir*dir.

JM-103 Draeger



JM-103 Ölçüm Prensipleri



JM – 103 Draeger

- Tek ölçüm ile sonuç,
- Çoklu ölçümlerin ortalaması ile sonuç,
- Ortalama sonuç süresi 23 sn (n=3)
- Birim olarak; mg/dL ya da $\mu\text{mol/L}$ seçimi
- 150 gr

JM-103; Avantaj ve Dezavantajları

- Sarf malzemesi ve ekstra maliyet yok
- Muadiline göre daha ucuz
- Xenon lamba 150.000 ölçüm yapar

- Prob ucu korunmuyor, çizilebilir
- Direkt cilde temas var, enfeksiyon riski
- Kullanıcı tarafından kalibre edilemiyor

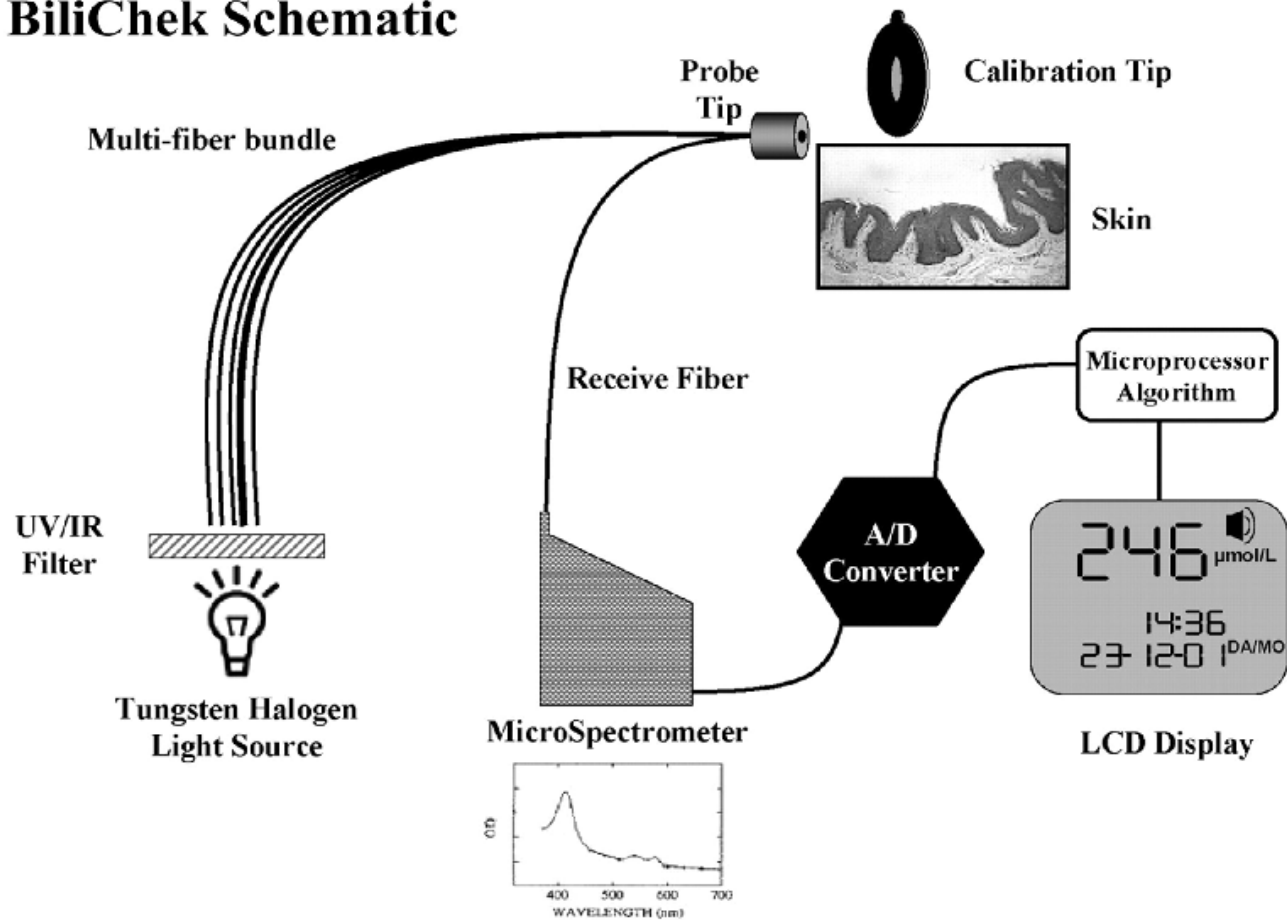
Bilichek (Respironics/Philips)



BiliChek® Noninvasive Bilirubin System allows you to measure total serum bilirubin levels gently – and without a blood sample. No pain. No waiting. And no risk of infection. There's really no better alternative.

Bilichek Ölçüm Prensipleri

BiliChek Schematic



Bilichek

- Ölçüm için 5 okuma yapar,
- 5 ölçümün ortalaması ile sonuç,
- Ortalama sonuç süresi 55 sn (n=5)
- Birim olarak; mg/dL ya da $\mu\text{mol/L}$ seçimi
- 350 gr

Bilichek; disposibl uç

- Her yenidoğan için ayrı disposibl uç kullanılır,
- Her ölçüm öncesi cihaz kendini *kalibre* eder,
- Fiber optik probu korur,
- Ölçüm yerine probun uygun pozisyonda yerleşmesini sağlar,
- Ölçümler için temiz bir yüzey sağlar, **enfeksiyon riski** ortadan kalkar.
- Bir uç ile en fazla 12 ölçüm yapılabilir.

Bilichek; Avantaj ve Dezavantajları

- Prob ucunda koruyucu plastik disposibl uç var
- Direkt cilde temas yok, enfeksiyon riski yok
- Her ölçüm öncesi otomatik kalibrasyon yapar.

- Sarf malzemesi var ve maliyetli
- Muadiline göre daha pahalı
- Tungsten halojen lamba 150.000 ölçüm yapar ancak 30.000 net hasta sonucu verir.

Karşılaştırma Çalışmaları

Her iki TcBmetre ile yapılmış bir çok karşılaştırma çalışması mevcut:

- Jendrassik-Grof ile ($r=0.92$, $p<0.001$)
- Malloy-Evelyn ile (Afrika Yerli YD'larda)
(TSB <12 mg/dL, $r=0.92$ ve TSB ≥ 12 mg/dL, $r=0.84$)
- Bilirubiometre (Twin Beam) ile ($r=0.915$)
- Vitros BuBc slaytı ile ($r=0.92$)
- HPLC ile ($r=0.85$)

Referans Bilirubin Standardı

National Institute of Standards and Technology
(NIST)

Sertifikalandırılmış Referans Materyal

SRM 916a

($98.3 \pm 0.3\%$ unkonjuge bilirubin)

Karşılaştırma Çalışmalarının Ortak Sonucu

- TcB ile TSB arasında güçlü korelasyon ($r=0,87-0,96$)
- ≥ 12 mg/dL laboratuvarda konfirme edilmelidir.
- TcB ile 8,8 mg/dL üzerinde negatif bias başlıyor.
- Yüksek düzeylerde negatif bias artmaktadır.
- *Yenidoğan hiperbilirubinemisinin taramasında oldukça kullanışlı*
- Hiçbir zaman serum total bilirubin ölçümlerinin yerini alamaz.

TcBmetrelerin Ortak Avantajları – 1

- *Noninvaziv*, kan alınmasına gerek yoktur
- TcBmetre ile zaman kazanılır
- TcBmetre ile klinik olarak önemli **hiperbilirubineminin etkin taraması** yapılabilir.
- TcBmetre **kan alınması gereken YD sayısını azaltır**
- Melanin, hemoglobin ve dermal kalınlık interferansa yol açmaz

TcBmetrelerin Ortak Avantajları – 2

TcBmetre kullanımı:

- Toplamda bilirubin ölçümü yapılan YD sayısını ↑
- Tedavi görmesi gereken hiperbilirubinemili YD'ın erken taburculuğunu önler.
- Hastaneye sarılık nedeniyle tekrar başvuru sayısını azaltır.
- Fototerapi alacak hiperbilirubinemili YD sayısını arttırır.

Ortak Dezavantajları

- Ölçüm aralığı dar (0 – 20 mg/dL)
- 20 mg/dL'ye yaklaşan bilirubin düzeyleri tartışmalı
- LIS bağlantısı yok, sonuçlar LIS'e elle yazılıyor.
- Jeneralize cilt hastalığı olan bebeklerde kullanılmıyor.
- **Karotenoidler** hatalı yüksek sonuca yol açar.

TcBmetre Ölçüm Yeri

- TSB ile en iyi korelasyonu veren ölçüm yerleri;
Alın ve sternum
- Alından ölçüm yapmak kolaydır fakat en iyi bölge sternum alt yarısıdır
- Alın sternuma göre daha düşük sonuçlar verir
(Ortalama 0,8-0,9 mg/dL)
- Hemanjiom, ekimoz, doğum lekesi bulunan yerden ölçüm yapılmamalıdır.

Gestasyonel ve Postnatal Yaşın Etkisi

- Çalışmalar çoğunlukla ≥ 35 hafta YD'larda yapılmış
- Prematürelde güvenle kullanılıyor (30. haftaya kadar)
- Bilickek; 27-42 haftalar arasında kullanılabilir.
- Prematürelde beklenenden yüksek sonuçlar ile karşılaşılabilir.

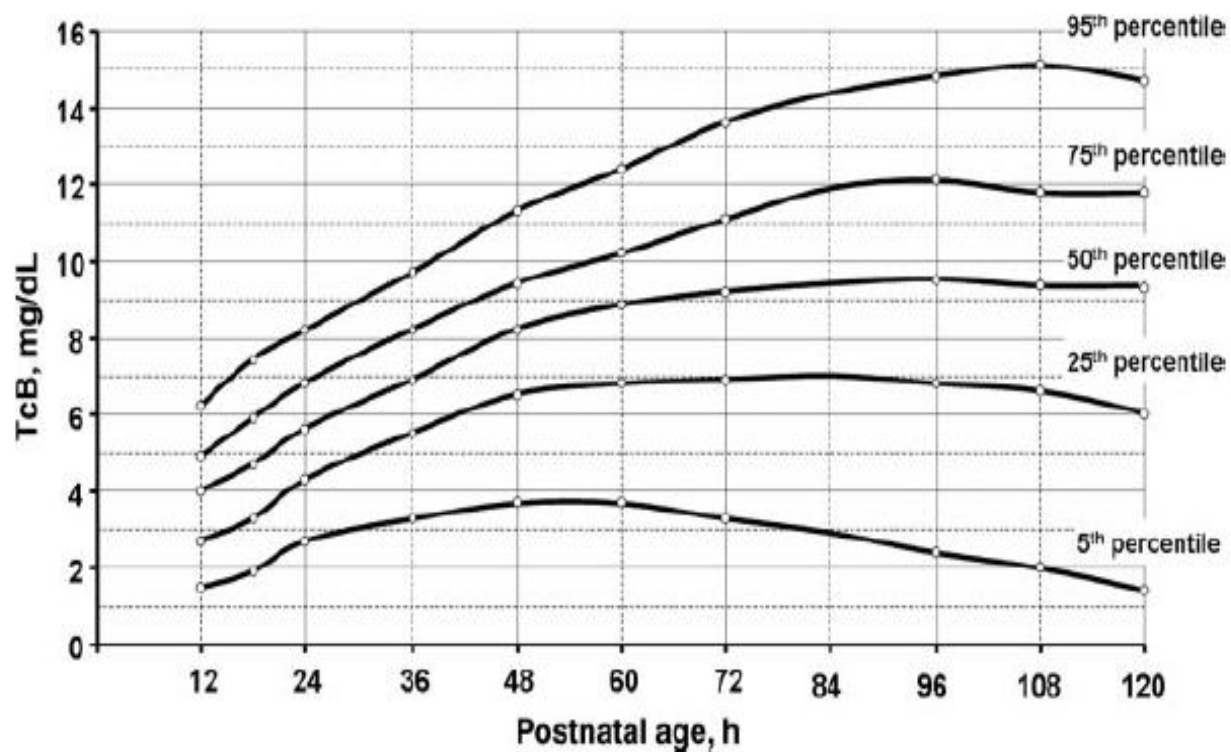
Postnatal yaş konusunda yayınlar farklı bilgiler içeriyor:

- 10 güne kadar ya da 14 güne kadar

TcBmetre ve Fototerapi

- Fototerapi esnasında ölçüm yapılamaz !!
- Fototerapi sırasında ve sonrasında Bilickek ile güvenilir ölçümler yapıldığına dair yayın var
- Ölçüm yapılacak bölge **kapatılırsa** sorun yok
- Fototerapi sonrası ölçüm için **24 saat** beklenmeli
- Fototerapinin etkinliğini izlemek hızlı ve kolay

TcB Nomogramı



Bilichek
TcBmeter

FIGURE 1

Nomogram showing smoothed curves of the 5th, 25th, 50th, 75th, and 95th TcB percentiles for the first 120 postnatal hours in healthy term and near-term neonates. A total of 14 035 measurements from 2646 neonates were used. TcB values from neonates who required phototherapy were not included.

TcB Nomogram

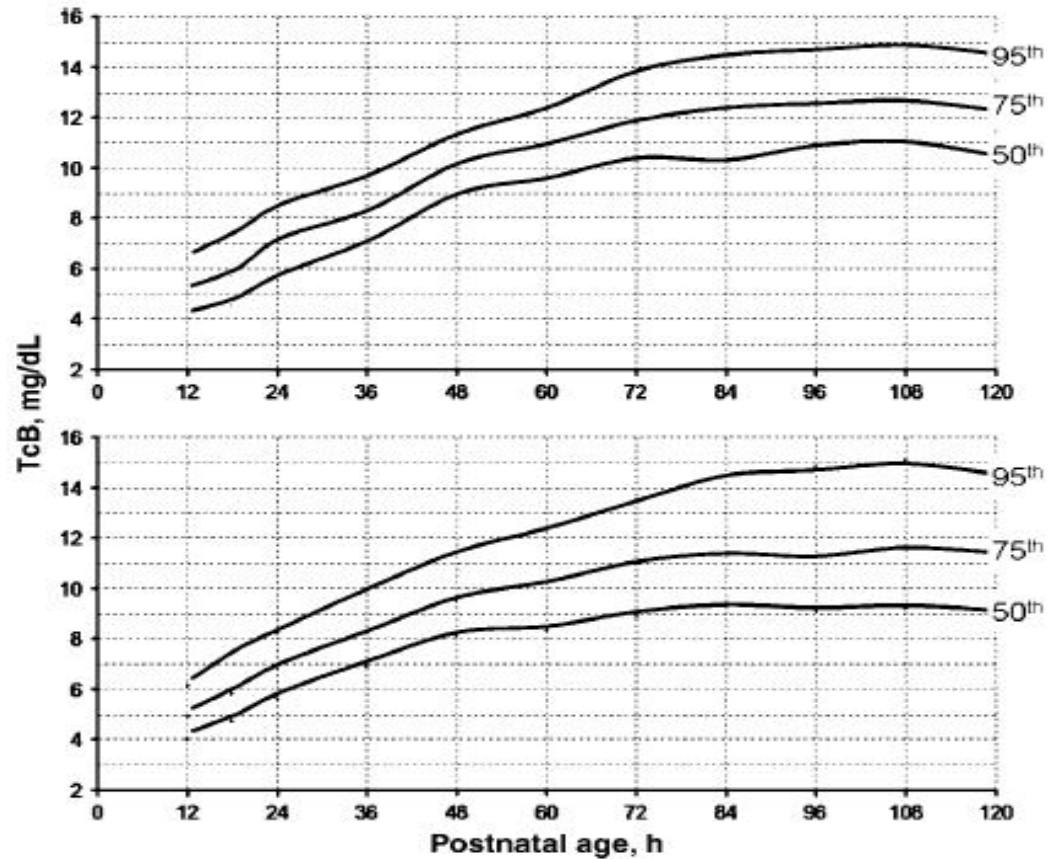


FIGURE 2
Nomogram showing smoothed curves of the 50th, 75th, and 95th TcB percentiles for the first 120 postnatal hours in healthy neonates according to GA: <37 weeks (upper) and \geq 37 weeks (lower).

TcBmetreler ile Bilirubin Ölçüm Maliyeti

- Serum bilirubinini saptamak için kullanılan TcB ölçümü *göreceli olarak düşük maliyetlidir.*
- Her iki TcBmetre'nin satın alma maliyeti ve sarf maliyetini kullanım ömrüne bölerek test başına maliyet hesaplanabilir.

JM-103 (Draeger)

- Cihaz 4.000 € + KDV = **11.800 TL**
- Sarf maliyeti yok.
- Bir ölçüm maliyeti **0,236 TL**'dir.

Bilichek (Philips)

- Cihaz 6.250 \$ + KDV = **13.717 TL**
- Disposibl uç; 5\$ + KDV = **10 TL**
- Bir ölçüm maliyeti değişken
 - Minimum **1,29 TL** – maksimum **10,46 TL**.

- **Bilirubinometre (Bilimeter-III)**
 - 3.828,60 TL (KDV dahil)
 - Sarf maliyeti yok denecek kadar az
 - Yılda 2.250 test (toplam 13.500 test)
 - Neonatal bilirubin test maliyeti= 0,283 TL
- **Integra 400 plus; total bilirubin maliyeti:**
0,26 TL (KDV, kalibrasyon ve kontrol dahil)
- **Vitros kuru kimya ile test maliyeti: ~3 TL**

SONUÇ

TSB düzeylerinin ölçümü yenidoğanlarda özellikle de prematürelere **kan alınmasının en sık nedenidir.**

- Kan alımı bebek için acı verici,
- Hem bebek hem de ebeveynler için stress nedeni
- Enfeksiyon ve calcaneus osteomyeliti riski var,

Bilirubin ölçümü için kan örneği alınması gereken yenidoğan sayısını azaltmak önemlidir.

DENİZ BEBEK

