



HEMOGLOBİN BOZUKLUKLARI İÇİN TARAMA TESTLERİNDE  
SIK KARŞILAŞILAN PREANALİTİK HATALAR

Doğan Yücel  
S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Tıbbi Biyokimya Bölümü

Ankara  
2106

## HEMOGLOBİN BOZUKLUKLARI İÇİN TARAMA TESTLERİNDE SIK KARŞILAŞILAN PREANALİTİK HATALAR

Doğan Yücel  
S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Tıbbi Biyokimya Bölümü

Son yıllarda klinik laboratuvarlarda yönetim anlayışı “**laboratuvar odaklı**” yaklaşımdan “**hasta odaklı**” yaklaşıma evrilmiştir. Buna göre laboratuvar uzmanı kendini **toplam test sürecinin** tüm aşamalarından sorumlu görmelidir. Toplam test süreci klinisyenin hastası için yapacağı test istemi ve sonrasında hastanın numune alımı için hazırlanması, uygun numunenin alınması, laboratuvara transferi ile başlar; gerekli analiz öncesi işlemlerin yapılması, doğru şekilde analizi ile devam eder; çıkan sonucun raporlanması, yorumlanması ve sonucun klinisyen tarafından doğru kullanılması ile sonuçlanır. İşte laboratuvar uzmanı eskiden sadece analizden sorumlu iken, bugün bu aşamaların tümünden de sorumludur. Nitekim, **ISO Teknik Raporu 22367** de, laboratuvar hatalarını “**Test isteminden sonuçların raporlanmasına ve bunların uygun şekilde yorumlanarak bu sonuçlara göre davranılmasına kadar, laboratuvar döngüsünün herhangi bir kısmında ortaya çıkan eksiklik**” olarak tanımlamaktadır (1).

Bu yönetim anlayışı laboratuvar teknolojisi ve metodolojisindeki hızlı gelişmelerden bağımsız değildir. Laboratuvar teknolojisi ve metodolojisindeki gelişmeler laboratuvar kaynaklı analitik hataları çok azaltmıştır. Dolayısıyla toplam laboratuvar hataları içinde analiz öncesi (preanalitik) ve analiz sonrası (postanalitik) hataların oranı artmıştır. Laboratuvar hatalarının günümüzdeki genel olarak sınıflandırması ve dağılımı şöyledir (2):

**Pre-pre-analitik hatalar (%46 - 68).** Uygun olmayan test istemi; yanlış istek girişi, hasta/numune kimliklendirmesinde yanlışlık, damar yolundan kan alınması, numune alımında hatalar (hemoliz, pıhtı oluşumu, yetersiz hacim vb.), uygun olmayan numune kabı, numunenin yanlış işlem görmesi, saklanması ve transportu bu kapsama girer.

**Pre-analitik hatalar (%3-5).** Numunelerin gruplandırılması ve yönlendirilmesi, dökülmesi, porsiyone edilmesi, pipetlenmesi ve etiketlenmesi, santrifügasyonu gibi alanlar bu kapsama girer.

**Analitik hatalar (%7-13).** Cihaz bozukluğu, numune karışıklığı, interferanslar, nedeni saptanamayan analitik hatalar bu kapsama girer.

**Post-analitik hatalar (%13-20).** Analitik verilerin onaylanması, raporlama ve raporun yönlendirilmesindeki hatalar, istek sonuç verme süresinin uzaması, yanlış veri girişi ve manuel yazım hataları, kritik değerlerin iletilmesindeki gecikmeler bu kapsama girer.

**Post-post-analitik hatalar (%25-46).** Test sonucuna göre geç davranışa geçme, yanlış yorum, yanlış takip planı, yanlış konsültasyon kararı gibi hatalar bu kapsamdadır.

Acil testleri kapsayan bir çalışmada ise analitik hatalar %15, preanalitik hatalar %62, postanalitik hatalar %23 olarak saptanmıştır (3). Preanalitik hataların dağılımı ise şöyle verilmektedir: Tüp dolumunda hata %13, hasta kimliklendirmesinde hata %9, yanlış tüp kullanma %8, yanlış test istemi %7, boş tüp %7, diğer hatalar %18.

Bir başka çalışmada hematoloji laboratuvarında preanalitik hataların dağılımı araştırılmış ve şu sonuçlar bulunmuştur: Yanlış kimliklendirme %35, yetersiz numune %19, yanlış tüp %16, pıhtılı numune %13, hemoliz %9, diğer %8 (4).

Hemoglobin bozukluklarının taramasında kullanılan başlıca testler şunlardır: Kan sayım (hemogram), hemoglobin varyant analizi, demir statüsü ile ilgili testler (serum demiri, demir bağlama kapasitesi, ferritin).

Kan sayım, hemen her laboratuvarında yapılabilen genel bir testtir. Hemoglobin bozukluklarında gerekli olan kan sayım parametreleri hemoglobinin konsantrasyonu, MCV, MCH ve RDW'dir.

Tarama amaçlı hemoglobin varyant analizi elektroforetik yöntemlerle (konvansiyonel alkali ve asit hemoglobin elektroforezi, kapiller elektroforez) ve kromatografik yöntemlerle (mikrokolon, HPLC, boronat afinite kromatografisi) yapılmaktadır.

Demir statüsü ile ilgili testler kolorimetrik (demir ve demir bağlama kapasitesi) ve immünokimyasal (ferritin) yöntemlerle yapılabilmektedir.

Genel olarak yukarıda belirtilen hata dağılımı, rutin kimya ve hematoloji testlerini kapsayan hemoglobinin bozukluklarının tarama testleri için de doğrudur.

Yukarıda da görüldüğü gibi hastanın kimliklendirilmesindeki yanlışlar en önemli ve biyolojik olmayan hata kaynağıdır. Numune alınışı, yapılan muamele ve numunenin taşınması biyolojik hatalar oluşturabilen etkenlerdir. Bunlara ek olarak bazı fizyolojik etkenler de (yaş, cinsiyet, fiziksel aktivite, alkol ve sigara kullanımı, kan alma zamanı vb.) sonuçları etkileyebilir.

### **Kan Alma Ve Numune Taşıma İşlemlerine Bağlı Hataları Önlemek İçin Dikkat Edilecek Noktalar**

Kimliklendirme hemoglobinin bozukluklarının taramasında özellikle önemlidir. Çünkü telafisi mümkün olmayan sağlık sorunları ile karşılaşılabilir. Hastanın kimliği kan alınmadan önce, barkod okutularak veya hastanın sözel onayını alarak doğrulanmalıdır. Bu sırada hastanın aç olup olmadığı da sorgulanmalıdır.

Hasta kan alma sırasında uygun, rahat, kolçaklı bir koltukta oturur pozisyonda olmalıdır.

Turnike çok uzun süre bağlı kalmamalı, mümkün olduğunca çabuk, tüpe kan gelmeye başladığında gevşetilmelidir. Hastanın defalarca yumruk yapıp gevşetmesine izin vermemek gerekir. Elini yumruk yapması yeterlidir. Damara girildikten sonra yumruğu açması istenir. Çünkü staz gelişir ve buna bağlı hatalar ortaya çıkar.

- Turnikenin neden olduğu staza bağlı olarak hemoglobinin değerlerinde %7 (0.9 g/L) artış görülebilir (5). Hastanın uzun süre ayakta kalışı veya fiziksel aktivite göstermesi de benzer bir durum doğuracaktır.

Kan alma işleminde vakumlu tüpler ve kilitli adaptörler tercih edilmelidir. Kan eğer enjektörle alınıyorsa, enjektördeki kan çok nazik bir şekilde, dikkatle tüpe işaret noktasına kadar aktarılmalıdır. Hızlı aktarıldığı takdirde hemoliz riski artacaktır.

Kan uygun tüpe alınmalıdır. Hemoglobinin bozuklukları için uygun tüp, mor kapaklı EDTA'lı tüplerdir. Rutin kimya testleri için kırmızı kapaklı tüpler uygundur (jelli veya jelsiz). EDTA'lı tüplere kan, kırmızı kapaklı tüplerden ve diğer tüplerden sonra alınmalıdır.

- EDTA'nın kullanılan formuna göre pH'sı değişir. Örneğin serbest asit formunun pH'sı  $2.5 \pm 1.0$  kadardır.  $K_3$ -EDTA'nın pH'sı ise  $7.5 \pm 1.0$  kadardır. EDTA tuzları hiperozmolar olduğundan hücrelerden su çıkışına neden olur.  $K_2$ -EDTA (pH  $4.8 \pm 1.0$ ) veya  $Na_2$ -EDTA (pH  $5.0 \pm 1.0$ ) formları ile hücrelerden su kaybı daha az görülür. EDTA'nın potasyum tuzları Na tuzlarına oranla daha iyi çözünür. Bu yüzden kan sayımda  $K_2$ -EDTA tercih edilir (6).

Tüpler yeterince doldurulmalıdır. Kan vakum sonlanana kadar alınmalıdır, tüp üzerindeki işaret çizgisine kadar alınmalıdır. Numune, tüp ideal hacminin  $\pm 10$  sınırları içinde olmalıdır.

- Hemogloblin bozukluklarında kullanılacak tüpler EDTA'lı tüplerdir. Bu tüplerde EDTA sıvı veya kuru halde olabilir. Kan eğer yetersiz miktarda alınırsa kuru EDTA konsantrasyonu nispi olarak artış gösterir ve bu durum hücre morfolojisini bozabilir. EDTA eğer sıvı ise, yetersiz kan alımı durumunda kan seyrelir ve yanlış sonuçlara yol açar (7).
- Tübün aşırı doldurulması, homojen karışımı önleyeceğinden kanın pıhtılaşmasına yol açar. Kan pıhtılaşmasa bile analiz öncesinde homojen numune sağlanamadığından, böyle durumlarda genel olarak yanlış negatif sonuçlarla karşılaşılabilir (8).

Kan alınan tüpler nazik bir şekilde, çalkalamadan altüst edilmelidir. Bu işlemin kaç kez yapılacağı tüp üreticisi firmadan edinilebilir. Bu işlem antikoagülanlı tüplerde pıhtılaşmayı önler, serum tüplerinde ise serumun daha iyi ayrılmasını sağlar.

Numuneler doğru etiketlenmiş olmalı (barkodlu numuneler), etiket üzerinde hastanın adı soyadı, hasta kimlik no'su, kan alma tarihi ve zamanı bulunmalıdır (9).

Hemogloblin varyant analizi için numuneler çalışılacak laboratuvara uygun koşullarda taşınmalıdır. Numunenin yüksek sıcaklıklarda taşınması eritrosit fragmantasyonuna neden olabilir ve bu fragmanlar HPLC'de hemogloblin F veya HbA1c gibi pik verebilir. Jel elektroforezinde de karışıklığa yol açar. Numuneler mümkün olduğunca çabuk ve 2-8 derecede ilgili laboratuvara ulaştırılmalıdır. Numunelerin bu sıcaklıkta beklemesi hemogloblin varyant analizi için 5 günü geçmemelidir (10). Kan sayım için EDTA'lı tüpler oda sıcaklığında tutulmalı ve 6 saat içinde çalışılmalıdır (11).

### **Hemogloblin Bozukluklarında Preanalitik Evre İle İlgili Diğer Önemli Noktalar**

**Sirkadyen ritim.** Eritrosit sayısı ve hemogloblin değerleri sabah daha yüksektir. Demirde oynama daha da yüksektir. Öğleden sonra demir değerleri sabah kanlarına göre %30 düşer, gece yarısı bu düşüklük çok daha artar (10).

**Cinsiyet.** Premenopozal kadınlarda eritrosit sayısı, hemogloblin ve demir değerleri genellikle erkeklere oranla düşüktür.

**Gebelik.** Eritrosit, hemogloblin ve demir değerleri gebelikte düşebileceği gibi, hemogloblin F değerleri de gebelerin %15-20'sinde %5 kadar artabilir (7).

**Sigara.** Uzun süre sigara kullanımı hemogloblin, eritrosit sayısı ve MCV değerlerini yükseltir (6).

**Alkol.** Alkol kullanımı MCV değerlerini artırır ve bu kan sayımda yanlış yoruma yol açabilir. Alkolün bu etkisi folat eksikliği veya alkolün eritrosit prekürsörleri üzerine direkt toksik etkisinden kaynaklanabilir (12).

**İlaçlar.** Hidroksiüre, sodyum valproat ve eritropoietin hemogloblin F düzeylerini yükseltir (7).

**Transfüzyon.** Hemoglobın bozukluğu taşıyıcısı donörlerden alınan kan transüzyonu sonucunda transfüzyon ile edinilmiş hemoglobınopati durumuyla karşılaşılabılır. Alıcıda toplam hemoglobının %14'üne kadar anormal hemoglobın saptanabılır (13).

**Taşıma hataları.** HPLC ile anormal hemoglobın araştırmasında taşıma hatalarıyla karşılaşılabılır. Örneğin homozigot hemoglobın S hastasının (Hb SS) numunesinden sonra normal bir hasta kanı çalışıldığında küçük bir hemoglobın S piki görülebilir (14).

**İnterferanslar.** Özellikle hemoliz ve lipemi hemoglobın bozuklukları ile ilgili testleri de etkileyebilen preanalitik hata kaynaklarıdır. Ağır hemoliz durumunda serum demirinde yanlış yükseklik görülebilir. Lipemi ise kan sayımda bulanıklık nedeniyle hemoglobın yüksekliğine neden olabilir. Hemoglobın ölçümleri 540 nm'de yapılır. Ölçüm sırasında ortamda bulanıklığa neden olan durumlar (lipemi, parenteral nutrisyon, hipergammaglobulinemi, kriyoglobulinemi) hemoglobında yanlış yüksekliğe neden olur. Çok yüksek lökositoz da aynı nedenle (bulanıklık) hemoglobın yüksekliğine yol açar (7).

**Biyolojik varyasyon.** Laboratuvar testleri aynı kişide zaman içinde ve farklı bireyler arasında değişkenlik gösterir. Buna sırasıyla bireysel biyolojik varyasyon ve bireyler arası varyasyon denir. Her testin kendine has bireysel ve bireyler arası varyasyon değerleri vardır. Bu doğal değişkenlik laboratuvarcılar tarafından bilinmeli ve klinisyenlere de anlatılmalıdır. Hemoglobın bozuklukları ile ilgili bazı testlerin bireysel ve bireyler arası varyasyon değerleri aşağıda verilmektedir (15):

ANALİT	BİREYSEL BİYOLOJİK VARYASYON (%)	BİREYLER ARASI BİYOLOJİK VARYASYON (%)
HEMOGLOBİN	2.85	6.8
HEMOGLOBİN A2	0.7	7.7
ERİTROSİT SAYISI	3.2	6.3
RDW	3.5	5.7
MCV	1.4	485
MCH	1.4	5.2
SERUM DEMİRİ	25.5	23.2
TRANSFERRİN	3.0	4.3
FERRİTİN	14.2	15.0

**Klinik durum.** Hastanın klinik durumu hakkında bilgi yorum için önemlidir.

- Demir eksikliği hemoglobın A2'yi %0.5 kadar düşürür ve yanlış yoruma (talasemi taşıyıcılığının gözden kaçmasına) neden olabilir.
- Demir eksikliği ve talasemi taşıyıcılığının ayırıcı tanısında demir ve demir bağlama kapasitesine ek olarak ferritin ve transferrin de yararlı olacaktır. Ancak, ferritin pozitif, transferrin negatif akut faz reaktanıdır. Bu yüzden hastanın enfeksiyöz veya enflamatuvar bir hastalık taşıyıp taşımadığı bilgisi gereklidir.
- Diyabetli hastalar özellikle önemlidir. Hem hemoglobın varyantlarının, hem de kan sayım parametrelerinin yorumu bakımından hasta bilgisi gereklidir. Orak hücre hastalığında (Hb SS), glike hemoglobın S, hemoglobın A2 gibi pik verir (yanlış A2 yüksekliği). Hemoglobın AC ve

hemoglobin CC varlığında ise glike hemoglobin C, HPLC'de hemoglobin S gibi elüe olur, yorumu zorlaştırır.

- Hiperozmolar durumlarda (kontrolsüz diyabet, hipernatremi, dehidratasyon) kan çalışma sırasında dilüent ile karşılaştığında hücre içine sıvı girişi olur ve MCV gerçek değerin üzerinde bulunur. Hipoozmolar durumlarda bu mekanizma tam tersine çalışır (7).
- Eğer numunede eritrosit aglütinasyonu varsa, bu eritrosit kümeleri kan sayım cihazında tek bir eritrosit gibi sayılır ve MCV yüksek bulunur.
- Eğer numunede büyük trombositler varsa, bunlar cihaz tarafından eritrosit gibi sayılabilir, ancak bu trombositler büyük de olsa eritrositlere göre gene de küçük kalacaklarından MCV düşer.

## Öneriler

Hemoglobin bozuklukları taramasında en önemli aşama hastanın kimliklendirilmesi (hasta kimliğinin tespiti ve numune karışıklığının önlenmesi), dolayısıyla doğru hastadan doğru kan numunesinin alınmasıdır. Ülkemizde bir tarama merkezine pek çok farklı birimden kan örneği gelmektedir. Karışıklığı önlemek, hataları sıfıra indirmek için bilgi teknolojilerinden yararlanılmalıdır. Bir ortak yazılım ağı aracılığıyla her alt birim kendi hastası için kendi barkodunu basmalı ve hasta demografik bilgileri merkez ile paylaşılmalıdır. Hastanın klinik bilgileri de bu ortamda paylaşılabilir.

Buna ek olarak, merkez laboratuvar ile numune gönderen birimler arasında iyi bir kooperasyon şarttır. Gerektiğinde kolay iletişim sağlanabilmelidir.

Gerek merkez laboratuvar, gerekse alt birim personeli kan alma, ilgili analizler ve işin ciddiyeti, olası hata kaynakları ve çözümleri konusunda eğitilmelidir ve bu eğitim sürekli kılınmalı, belirli periyotlarla tekrarlanmalıdır.

Basit de olsa laboratuvar hataları kalite indikatörleri çerçevesinde kaydedilmeli ve bu rakamlara dayanarak sürekli iyileşme hedef alınmalıdır. Rakamlar aynı zamanda iyiye gidişin kanıtı olacaktır. Bu aynı zamanda bir etik sorumluluktur. Çalışanlar bunun bilincinde olmalıdır. Böyle bir çalışma ortamı ve kültürü yaratılmalıdır.

Preanalitik hataları zamanında saptamak için rutin biyokimya cihazlarında serum indeksleri kullanılabilir.

## Kaynaklar

1. ISO/TS 22367:2008. Medical laboratories – Reduction of error through risk management and continual improvement.
2. Hawkins R. Managing the pre- and post-analytical phases of the total testing process. *Lab Med* 2012;32:5-16.
3. Carraro P, Plebani M. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clin Chem* 2007;53:1338-42.
4. Upreti S, Upreti S, Bansal R, Jeelani N, Bharat V. Types and frequency of preanalytical errors in a haematology lab. *J Clin Diagn Res* 2013;7:2491-3.
5. Guidi GC, et al. Venous blood stasis during venipuncture influences routine hematologic testing. *Clin Chem* 2006;52(Suppl):A24-A25.
6. Narayanan S. The preanalytic phase. An important component of laboratory medicine. *Am J Clin Pathol* 2000;113:429-52.
7. Dasgupta A, Sepulveda JL. Accurate results in the clinical laboratory. A guide to error detection and correction. San Diego, Elsevier: 2013.
8. Narayanan S, Guder WG. Preanalytical variables and their influence on the quality of laboratory results. *eJIFCC* vol 13, no 1: <http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no1/1301200107.htm>
9. CLSI Standard H3-A6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved Standard – sixth edition, 2007.
10. Higgins T, Eckfeldt JH, Barton JC. Hemoglobin, iron, and bilirubin. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Eds. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*, fifth edition, Elsevier: 2012, pp. 985-1030.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Additives to blood collection devices: EDTA; tentative standard H35-T. Wayne, PA: NCCLS; 1992.
12. Young DS. Preanalytical variables and biological variation. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Eds. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*, fifth edition, Elsevier: 2012, pp. 119-44.
13. Lippi G, Mercadanti M, Alberta C, Franchini M. An unusual case of a spurious, transfusion-acquired haemoglobin S. *Blood Transfus* 2010;8:199-202.
14. Williams JS, Donahue SH, Gao H, Brummel CL, Universal LC. Method for minimized carryover in a discovery bioanalytical setting. *Bioanalysis* 2012;4:1025-37.
15. Ricos C, et al. Desirable biological variation database specifications. <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>