



T.C.

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA BİLKENT ŞEHİR HASTANESİ
TIBBİ BİYOKİMYA KLİNİĞİ**

**HİPERBİLİRUBİNEMİ ÖLÇÜMÜNDE
FARKLI ANALİZ YÖNTEMLERİ KULLANILMASININ ETKİSİ**

Dr. Esra ÖZYURT

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2024



T.C.

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA BİLKENT ŞEHİR HASTANESİ**

TIBBİ BİYOKİMYA KLİNİĞİ

**HİPERBİLİRUBİNEMİ ÖLÇÜMÜNDE
FARKLI ANALİZ YÖNTEMLERİ KULLANILMASININ ETKİSİ**

Dr. Esra ÖZYURT

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ceylan BAL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2024

TEŞEKKÜRLER

Asistanlık eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, her konuda bana destek verip yol gösteren, bu tezin hazırlanmasında tüm imkânları sağlayarak emeği ve bilgisini benimle paylaşan kıymetli tez danışmanım, değerli hocam; Sayın Prof. Dr. Ceylan BAL'a;

Uzmanlık eğitimim boyunca bana birçok deneyim ve bilgi kazandıran sayın hocalarım; Prof. Dr. Özcan EREL, Prof. Dr. Turan TURHAN, Prof. Dr. Fatma Meriç YILMAZ, Prof. Dr. Gülsen YILMAZ, Prof. Dr. Cemile BİÇER, Doç. Dr. Canan TOPÇUOĞLU, Doç. Dr. Sevilay SEZER, Doç. Dr. Serpil ERDOĞAN, Doç. Dr. Salim NEŞELİOĞLU, Doç. Dr. Esra FIRAT OĞUZ, Doç. Dr. Funda EREN ve Doç. Dr. Merve ERGİN'e;

Meslekteki değerli tecrübelerini benimle paylaşan eğitim ve gelişimime katkı sağlayan tüm uzmanlarımıza;

Asistanlık eğitimim boyunca karşılıklı saygı ve anlayış içinde çalıştığım asistan arkadaşlarıma;

Uzmanlık eğitimim boyunca bana destek veren, birlikte çalıştığım çalışma arkadaşlarım Sezen TUTAR ve Melih DÖLEK'e;

Zorluklarda yanımda olan ve bana destek veren canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Yenidoğanda Sarılığın Tanımı.....	4
2.2. Bilirubin Metabolizması.....	5
2.2.1. Bilirubin Sentezi.....	5
2.2.2. Bilirubin Plazma Transportu.....	7
2.2.3. Bilirubin Karaciğere Alınması.....	8
2.2.4. Bilirubin Konjugasyonu.....	8
2.2.5. Bilirubin Safra Kesesine Atılımı.....	9
2.2.6. Bilirubin Enterohepatik Dolaşımı.....	9
2.3. Yenidoğan Sarılıkları Epidemiyolojisi.....	11
2.3.1. Genetik, Ailesel ve Etnik Farklılıklar.....	11
2.3.2. Maternal ve Obstetrik Risk Faktörleri.....	11
2.3.3. Fetal Risk Faktörleri.....	11
2.3.4. Çevresel Faktörler.....	12
2.4. Yenidoğan Sarılıkları Sınıflaması.....	12
2.4.1. İndirekt Hiperbilirubinemi.....	12
2.4.1.1. Fizyolojik Sarılık.....	12
2.4.1.2. Anne Sütü Sarılığı.....	15
2.4.1.3. İndirekt Hiperbilirubineminin Patolojik Nedenleri.....	15
2.4.1.3.1. Bilirubin Yapımında Artma.....	16
2.4.1.3.2. Bilirubin Konjugasyon ve Atılım Bozuklukları.....	20
2.4.2. Direkt Hiperbilirubinemi.....	21
2.4.3. Uzamış Sarılık.....	22

2.5. Bilirubin Toksisitesi.....	22
2.5.1. Akut Bilirubin Ensefalopatisi.....	24
2.5.2. Kronik Bilirubin Ensefalopatisi (Kernikterus).....	24
2.6. Yenidoğan Sarılığının Tanısı ve Değerlendirilmesi.....	24
2.7. Hiperbilirubineminin Önlenmesi.....	28
2.8. Hiperbilirubinemi Tedavisi.....	28
2.8.1. Fototerapi.....	29
2.8.2. Kan Değişimi.....	31
2.9. Total Bilirubin Analizinde Kullanılan Yöntemler.....	33
2.9.1. Diazo Metodu.....	34
2.9.2. Direkt Spektrofotometrik Metod.....	37
2.9.3. Oksidasyon Metodu.....	39
2.9.4. HPLC (High Performance Liquid Chromatography)	40
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	42
3.1. Materyal ve Yöntem.....	42
3.2. Örnek Alımı.....	42
3.3. Parametrelerin Analizi.....	42
3.3.1. Vanadat Oksidaz Metodu (Siemens Atellica).....	42
3.3.2. Diazo Metodu (Roche Cobas).....	43
3.3.3. Non-kimyasal Fotometrik Metod (Rapidlab 1265).....	44
3.3.4. Optik Metod (MBJ 20 Transkutanöz Bilirubinometre).....	44
3.4. Cihazların Analitik Performansı.....	45
3.4.1. Tekrarlanabilirlik	44
3.4.2. Doğruluk	44
3.5. İstatiksel Analiz.....	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. Cihazların Analitik Performans Bulguları.....	46
4.1.1. Tekrarlanabilirlik Bulguları.....	46
4.1.2. Doğruluk Bulguları.....	48
4.2. Demografik Veriler.....	48
4.3. Farklı Yöntemler ile Analiz Edilen Total Bilirubin Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Bulguları	49

4.4. Yöntemlerin Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	50
4.5. Alt Gruplarda Yöntemlerin Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	60
4.6. Roc Analizleri.....	68
4.7. Kappa analizleri.....	72
5. TARTIŞMA.....	75
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	87
7. KAYNAKLAR.....	89
8. EKLER.....	97



KISALTMALAR

- ABR:** Auditory Brainstem Response
APA: Amerikan Pediatri Akademisi
BİND: Bilirubinin İndüklediği Nörolojik Disfonksiyon
BVR: Biliverdin Redüktaz
CNS-I: Crigler Najjar Sendromu-1
CNS-II: Crigler Najjar Sendromu-II
CO: Karbonmonoksit
DCP-DT: Diklorofenil-Diazonyum-Tetrafloroboratu
ETCO: End-tidal Karbonmonoksit
ER: Endoplazmik Retikulum
FT: Fototerapi
G6PD: Glukoz 6 Fosfat Dehidrojenaz
GS: Gilbert Sendromu
HbA: Hemoglobin A
HCT: Hematocrit
HO-1: Hemoksijenaz -1
HO-2: Hemoksijenaz -2
HO-3: Hemoksijenaz -3
IVIG: İntravenöz İmmünglobulin
İYE: İdrar Yolu Enfeksiyonu
NPV: Negative predictive value
OATP: Organic Anion Transporting Polypeptide
PPV: Positive predictive value
RES: Retikuloendotelial Sistem
SS: Sandart Sapma
TcB: Transkutanöz Bilirubin
TSB: Total Serum Bilirubin
UDPGT: Üridildifosfat glukuronil transferaz
UGT1A1: Üridildifosfat glukuronil transferaz 1A1

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan yenidoğan bebeklerde yüksek bilirubin seviyesine neden olabilecek risk faktörleri
- Tablo 2. Patolojik indirekt hiperbilirubinemi sebepleri
- Tablo 3. BİND skorlaması
- Tablo 4. Kramer'in dermal zonlara göre belirlediği yaklaşık bilirubin seviyeleri
- Tablo 5. Sarılıklı bebeklerde yapılacak laboratuvar incelemeleri: APA önerileri
- Tablo 6. Hiperbilirubinemi Nörotoksisite Risk Faktörleri
- Tablo 7. Gebelik yaşı < 35 hafta olan bebeklerde doğum ağırlığına göre oluşturulmuş fototerapi ve kan değişimi tedavi eşikleri
- Tablo 8. İki yüz dokuz yenidoğanın demografik verileri
- Tablo 9. Yenidoğanda total bilirubin analizinde tüm yöntemlerin tanımlayıcı istatistikleri
- Tablo 10. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Rapidlab 1265 ve Roche Cobas cihazının medyan ve spearman korelasyonlarının karşılaştırılması
- Tablo 11. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Roche Cobas ve Rapidlab 1265 cihazının Bland-Altman analizleri
- Tablo 12. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Roche Cobas ve MBJ 20 cihazının medyan ve spearman korelasyonlarının karşılaştırılması
- Tablo 13. Total bilirubin analizinde alt gruplarda MBJ20 transkutanöz bilirubinometre ve Roche Cobas cihazlarının Bland-Altman analizleri
- Tablo 14. MBJ 20 transkutanöz bilirubinometri cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının TSB: 13mg/dl cut-off değerinde yapılan Roc analizi sonuçları
- Tablo 15. MBJ 20 transkutanöz bilirubinometri cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının TSB :15mg/dl cut-off değerinde yapılan Roc analizi sonuçları
- Tablo 16. Roche Cobas ve Rapidlab 1265 cihazlarının Kappa analizi
- Tablo 17. Roche Cobas ve MBJ20 cihazlarının Kappa analizi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Hemogloblin A'nın görüntüsü ve Hem'in yapısı

Şekil 2. Hem katabolizması ve bilirubin oluşumu

Şekil 3. Bilirubin metabolizması ve enterohepatik dolaşımı

Şekil 4. Bebeklerde hiperbilirubinemi gelişme riskini belirlemede kullanılan bilirubin nomogramı

Şekil 5. Bebeklerin hiperbilirubinemi risk durumunu belirlemek için oluşturulan bilirubin nomogramı

Şekil 6. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan, sağlıklı olan ve anne sütü ile beslenen yenidoğanların postnatal bilirubin seviyelerinin doğal ilerleyişini gösteren transkutanöz bilirubin nomogramı.

Şekil 7. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan ve nörotoksisite risk faktörü bulunmayan bebeklerde postnatal yaşa göre oluşturulmuş fototerapi tedavi eşikleri

Şekil 8. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan, bir veya daha fazla nörotoksisite risk faktörü bulunan bebeklerde postnatal yaşa göre oluşturulmuş fototerapi tedavi eşikleri

Şekil 9. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan ve nörotoksisite risk faktörü bulunmayan bebeklerde postnatal yaşa göre oluşturulmuş kan değişimi tedavi eşikleri

Şekil 10. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan, bir veya daha fazla nörotoksisite risk faktörü bulunan bebeklerde postnatal yaşa göre oluşturulmuş kan değişimi tedavi eşikleri

Şekil 11. Diazotize sülfonilik asit oluşumu

Şekil 12. Vanadat oksidaz metodunda reaksiyon denklemi

Şekil 13. Diazo metodunda reaksiyon denklemi

Şekil 14. Siemens Atellica cihazı ile Roche Cobas cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

Şekil 15. Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

Şekil 16. Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

Şekil 17. Roche Cobas cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

Şekil 18. Roche Cobas ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

Şekil 19. Roche Cobas ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

Şekil 20. Siemens Atellica cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

Şekil 21. Siemens Atellica ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

Şekil 22. Siemens Atellica ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

Şekil 23. Roche Cobas ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

Şekil 24. Roche Cobas ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

Şekil 25. Roche Cobas ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

Şekil 26. Siemens Atellica ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

Şekil 27. Siemens Atellica ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

Şekil 28. Siemens Atellica ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

Şekil 29. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Rapidlab 1265 ve Roche Cobas cihazlarının Pasing-Bablok regresyon analizleri (A; Alt grup 1, B; Alt grup 2, C; Alt grup 3 D; Alt grup 4)

Şekil 30. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Rapidlab 1265 ve Roche Cobas cihazlarının Bland-Altman analizleri (A; Alt grup1, B; Alt grup 2, C; Alt grup 3, D;Alt grup 4)

Şekil 31. Total bilirubin analizinde alt gruplarda MBJ 20 ve Roche Cobas cihazının Pasing-Bablok regresyon analizleri (A; Alt grup 1, B; Alt grup 2, C; Alt grup 3 D; Alt grup 4)

Şekil 32. Total bilirubin tanalizinde alt gruplarda MBJ20 ve Roche Cobas cihazlarının Bland-Altman analizi (A; Alt grup1, B; Alt grup2, C; Alt grup3, D; Alt grup 4.)

Şekil 33. TSB:13 cut-off değerlerinde MBJ 20 ve Rapidlab 1265 Roc eğrisi (A; TSB:13 mg/dL, MBJ20 Roc eğrisi, B; TSB:13 mg/dL, Rapidlab 1265 Roc eğrisi)

Şekil 34. TSB:15 cut-off değerlerinde MBJ 20 ve Rapidlab 1265 Roc eğrisi (A; TSB :15 mg/dL, MBJ20 Roc eğrisi, B; TSB:15 mg/dL, Rapidlab 1265 Roc eğrisi)

Şekil 35. Rapidlab 1265 ve Roche Cobas cihazı ile hiperbilirubinemi risk derecelendirmesi

Şekil 36. MBJ 20 ve Roche Cobas cihazı ile hiperbilirubinemi risk derecelendirmesi



ÖZET

Amaç: Yenidoğanlarda en sık görülen klinik bulgulardan biri olan sarılık, genellikle fizyolojik nedenlere bağlı olarak gelişse de bazı yenidoğanlarda patolojik durumlara bağlı gelişerek ciddi bilirubin yüksekliğine neden olabilir. Bu yükseklik, akut bilirubin ensefalopatisi ve kernikterusa kadar ilerleyerek nörolojik hasara yol açabilir. Bu nedenle, yenidoğan sarılığının tanı, tedavi ve yönetiminde total bilirubin seviyelerinin doğru ölçümü büyük önem taşır.

Bu çalışmada yenidoğanlarda bilirubin analizinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Diazo metodu (Roche Cobas) ve vanadat oksidaz metodu (Siemens Atellica) ile non-kimyasal fotometrik metod (Rapidlab 1265 kan gazı analizörü) ve optik metod (MBJ20 transkutanöz bilirubinometre) karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: 209 Türk yenidoğan çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalardaki total bilirubin seviyeleri 4 farklı cihazda 4 farklı metod kullanılarak ölçülmüştür. Vanadat oksidaz metodu (Siemens Atellica), diazo metodu (Roche Cobas c701/702), optik metod (MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre) ve non-kimyasal fotometrik metod (Rapidlab 1265 kangazı cihazı) ile analizler yapılmıştır.

Bulgular: Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazlarının total bilirubin analizleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,964 saptanmıştır. Bland-Altman analizinde, Siemens Atellica cihazı ile Roche Cobas cihazı arasında istatistiksel açıdan anlamlı olmayan + 0,10 mg/dL ortalama fark gösterilmiştir.

Rapidlab 1265 kan gazı cihazı ile, Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazının total bilirubin analizleri karşılaştırılmış ve istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$). Rapidlab 1265 cihazı ile, Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazının total bilirubin analizleri arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri sırasıyla 0,943 ve 0,948 saptanmıştır. Bland-Altman analizlerinde ise ortalama fark sırasıyla + 0,60 mg/dL ve +0,70 mg/dL saptanmıştır. Roche Cobas cihazı ve Rapidlab 1265

cihazlarının total bilirubin analizleri arasında yapılan ağırlıklı kappa analizinde güçlü bir uyum saptanmıştır (Ağırlıklı kappa değeri:0,800, $p<0,001$).

MBJ 20 cihazı ile, Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazının total bilirubin analizleri karşılaştırılmış ve istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$). MBJ 20 cihazı ile, Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazının total bilirubin analizleri arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri sırasıyla 0,868 ve 0,850 saptanmıştır. Bland-Altman analizlerinde ise ortalama fark sırasıyla -2,10 mg/dL ve -2,00 mg/dL saptanmıştır. Roche Cobas cihazı ve MBJ 20 cihazlarının total bilirubin analizleri arasında yapılan ağırlıklı kappa analizinde düşük derecede bir uyum saptanmıştır (Ağırlıklı kappa değeri:0,383, $p<0,001$).

Sonuç: Bu çalışmanın sonucunda Siemens Atellica (vanadat oksidaz metod) ve Roche Cobas (diazometod) cihazlarının total bilirubin sonuçları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazlarıyla karşılaştırıldığında, Rapidlab 1265 (non-kimyasal fotometrik) kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının daha yüksek olduğu, MBJ 20 (optik metod) transkutanöz bilirubinometre cihazının sonuçlarının ise daha düşük olduğu saptanmıştır. Her iki yöntem için de bu sapmanın yüksek bilirubin seviyelerinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Total bilirubin ölçümünde yöntemler arasında farklılıklar ortaya çıkabilir, bu da klinik karar almayı zorlaştırır. Klinisyenler ile laboratuvar uzmanları arasındaki etkin iletişim, hasta yönetiminin ve sonuçlarının belirgin şekilde iyileşmesine olanak sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Yenidoğan sarılığı, Bilirubin, Kan gazı analizörü, Transkutanöz bilirubinometre

ABSTRACT

Aim: : Jaundice, one of the most common clinical findings in newborns, generally develops due to physiological causes; however, in some cases, it may result from pathological conditions leading to significant bilirubin elevation. This elevation may progress to acute bilirubin encephalopathy and kernicterus, potentially leading to neurological damage. Therefore, accurate measurement of total bilirubin levels is crucial in the diagnosis, treatment, and management of neonatal jaundice.

This study aims to compare the methods used for bilirubin analysis in neonates. The diazo method (Roche Cobas) and the vanadate oxidase method (Siemens Atellica) were compared with the non-chemical photometric method (Rapidlab 1265 blood gas analyzer) and the optical method (MBJ20 transcutaneous bilirubinometer).

Materials and Methods: A total of 209 Turkish neonates were included in the study. Total bilirubin levels in the patients were measured using four different methods on four different devices. Analyses were performed using the vanadate oxidase method (Siemens Atellica), the diazo method (Roche Cobas c701/702), the optical method (MBJ 20 transcutaneous bilirubinometer), and the non-chemical photometric method (Rapidlab 1265 blood gas device).

Results: No statistically significant difference was found between the total bilirubin analyses of the Siemens Atellica and Roche Cobas devices ($p > 0.05$). In the Spearman correlation analysis, the correlation coefficient (r) was determined to be 0.964. In the Bland-Altman analysis, a mean difference of +0.10 mg/dL, which was not statistically significant between the Siemens Atellica and Roche Cobas devices.

Total bilirubin analyses of the Rapidlab 1265 blood gas device were compared with those of the Siemens Atellica and Roche Cobas devices, and a statistically significant difference was observed ($p < 0.001$). The Spearman correlation analysis comparing the total bilirubin analyses of the Rapidlab 1265 device with those of the Siemens Atellica and Roche Cobas devices demonstrated correlation coefficients (r) of 0.943 and 0.948, respectively. In the Bland-Altman analyses, the mean differences were +0.60 mg/dL and +0.70 mg/dL, respectively. A weighted kappa analysis

performed between the Roche Cobas and Rapidlab 1265 devices for total bilirubin analyses revealed a strong concordance (weighted kappa value: 0.800, $p < 0.001$).

The total bilirubin analyses of the MBJ 20 device were compared with those of the Siemens Atellica and Roche Cobas devices, and a statistically significant difference was observed ($p < 0.001$). The Spearman correlation analysis comparing the total bilirubin analyses of the MBJ 20 device with those of the Siemens Atellica and Roche Cobas devices demonstrated correlation coefficients (r) of 0.868 and 0.850, respectively. In the Bland-Altman analyses, the mean differences were -2.10 mg/dL and -2.00 mg/dL, respectively. A weighted kappa analysis between the Roche Cobas and MBJ 20 devices for total bilirubin analyses indicated a low degree of concordance (weighted kappa value: 0.348, $p < 0.001$).

Conclusion: The results of this study indicated that there was no statistically significant difference between the Siemens Atellica and Roche Cobas devices. Compared to the Siemens Atellica and Roche Cobas devices, the Rapidlab 1265 (non-chemical photometric) blood gas analyzer demonstrated higher total bilirubin results, whereas the MBJ 20 (optical method) transcutaneous bilirubinometer indicated lower results. For both methods, this deviation was found to be greater at higher bilirubin levels.

Variations in total bilirubin measurement methods can lead to challenges in clinical decision-making. Effective communication between clinicians and laboratory specialists is crucial for optimizing patient management and improving clinical outcomes.

Key Words: Neonatal jaundice, Bilirubin, Blood gas analyzer, Transcutaneous bilirubinometer

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yenidoğan bebeklerde sarılık en sık görülen belirtilerden biridir. Hem katabolizması sonucunda ortaya çıkan bilirubin, plazmada yükselerek cilt ve skleranın sararmasına neden olur. Preterm bebeklerin %80' inde, term bebeklerin ise %60' ında sarılık görülmesi bu durumun ne kadar yaygın olduğunu göstermektedir (1, 2).

Yenidoğan sarılıkları; fizyolojik veya patolojik sebeplere bağlı gelişebilir. Fizyolojik sebeplere bağlı gelişen sarılık, neonatal hiperbilirubineminin en yaygın nedenidir ve yenidoğan döneminde bilirubin metabolizmasının tam olarak gelişmemiş olması nedeniyle görülür. Unkonjuge bilirubin düzeyleri yükselir ancak bebek için zararlı olabilecek seviyelere genellikle ulaşmaz. Çoğu zaman geçicidir ve herhangi bir tedaviye ihtiyaç duyulmaz (1).

Patolojik hiperbilirubinemi ise konjuge bilirubin veya unkonjuge bilirubin artışına bağlı iki tipte görülebilir. Konjuge hiperbilirubinemi neonatal kolestaz olarak da adlandırılır ve nadir görülür. Safra atrezisi, enfeksiyon ve genetik sebeplere bağlı meydana gelebilir. Hızlı tanınıp tedavi edilmelidir. Cerrahi tedavi gerekebilir. Patolojik hiperbilirubineminin en sık görülen tipi olan unkonjuge hiperbilirubinemi ise eritrositlerin aşırı yıkımı, bilirubin konjugasyon yetersizlikleri gibi sebeplere bağlı gelişebilir ve bilirubin değerleri ciddi seviyelere yükselebilir. Yenidoğanda yaşamın ilk haftasında ciddi unkonjuge hiperbilirubinemi geliştirebilecek patolojik durumlar arasında sepsis, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz eksikliği, kan grubu uyumsuzluğu ve sefal hematoma gibi hastalıklar yer alır. Ciddi hiperbilirubinemi durumlarında unkonjuge bilirubin kan beyin bariyerini geçerek beyin dokusuna ulaşır ve bilirubin indüklediği nörolojik disfonksiyona (BİND) neden olur ve kalıcı hale gelmesi durumunda kernikterus meydana gelebilir (1, 3-5). Kernikterusun akut faz belirtileri beslenme yetersizliği, uyuşukluk, tiz sesli ağlama, hipertoni veya hipotoni, opistotonus ve nöbetlerdir. Kronik belirtiler arasında atetoid serebral palsy, motor gecikme, bakış felci, diş displazisi, mental retardasyon ve sensörinöral işitme kaybı bulunur. Zamanında tanınması ve tedavisinin yapılması çok önemlidir (6).

Neonatal hiperbilirubinemi vakalarında tanı, risk sınıflandırması ve tedaviye karar verme açısından bilirubin seviyeleri ölçümü çok önemlidir. Bilirubin düzeyleri, çeşitli yöntemler ve cihazlar kullanılarak tespit edilebilir. Vanadat oksidaz ve diazo metodunun kullanıldığı serum veya plazmada ölçüm gerçekleştiren biyokimyasal

analizörlerle, tam kanda non-kimyasal fotometrik yöntemle ölçüm gerçekleştiren kan gazı analizörleriyle, yüksek performanslı sıvı kromatografi metodu ile ve cilt üzerinden optik yöntemle ölçüm gerçekleştiren transkutanöz bilirubinometre (TcB) cihazları ile bilirubin seviyeleri ölçülebilmektedir. Biyokimyasal analizlerle serum veya plazmada bilirubin ölçümü klinik tanıda yaygın olarak kullanılmaktadır (7, 8). Amerikan Klinik Kimya Derneği Standartlar Komitesi'nin çalışma grubu, total serum bilirubin tayini için referans ölçüm prosedürü olarak diazo metodunu (Jendrasik-groff) en uygun metod olarak seçmiştir (9).

Total serum bilirubini'nin (TSB) ölçülmesi yenidoğan sarılığının tanı ve tedavisine karar verirken çok önemlidir. 1999 yılında Bhutani'nin geliştirdiği ve TSB'nin kullanıldığı bilirubin nomogramlarıyla hiperbilirubinemi gelişme riski olan bebekler belirlenmeye çalışılmıştır. APA (Amerikan Pediatri Akademisi)'nin 2022 yılında güncellediği yenidoğan sarılığı kılavuzunda da bebeğin klinik bulguları, risk faktörleri ve TSB düzeylerine göre tedavi eşikleri belirlenmiştir (10, 11). TSB analizleri venöz kan alımı gerektirir, bebekte enfeksiyon ve anemi gibi durumları tetikleyebilirler. TcB ölçümleri noninvaziv bir işlemdir ve daha hızlı sonuç verir (12). Taramada kullanılması ile bebeklerden kan alınma ihtiyacını azaltmıştır. TcB analizleri ile TSB analizleri arasındaki korelasyonun iyi olduğunu gösteren çalışmalar olmakla birlikte yüksek bilirubin düzeylerinde korelasyonun bozulduğunu gösteren çalışmalar vardır. Ayrıca cilt renginden ve fototerapi tedavisinden TcB ölçümlerinin etkilendiği gösterilmiştir (6, 13-15).

Kan gazı analizörlerinde sağlanan gelişmelerle bu cihazlarda da neonatal total bilirubin seviyeleri ölçülebilmektedir. Az miktarda tam kan kullanarak ölçüm gerçekleştirilir. Bu işlem hızlı sonuç vermesi ve kan gazında bakılabilecek acil ek parametrelere de aynı anda bakılabilmesi gibi avantajlara sahiptir (16, 17). Tam kan total bilirubin ölçümlerinin klinikte kullanılması için öncelikle TSB seviyeleri ile iyi bir korelasyona sahip olduğu gösterilmelidir. Daha önce yapılan çalışmalarda korelasyonun iyi olduğu gösterilmiş olmasına rağmen bildiğimiz kadarıyla uluslararası kılavuzlarda bu ölçüm yöntemi ile ilgili tam bir rehberlik sağlanamamıştır. TSB seviyeleri 15 mg/dl üzerinde gözleendiği zaman korelasyonun bozulduğunu gösteren çalışmalar vardır (13, 18).

Bu çalışmada yenidoğanlarda bilirubin analizinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Rutin laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan diazo metodu (Roche Cobas) ve vanadat oksidaz metodu (Siemens Atellica) ile non-kimyasal fotometrik metod (Rapidlab 1265 kan gazı analizörü) ve optik metod (MBJ20 transkutanöz bilirubinometre) karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yenidoğanda Sarılığın Tanımı

Yenidoğan bebeklerde sarılık, en sık karşılaşılan ve tıbbi müdahale gerektiren klinik semptomlardan biridir. Sarılık vücutta bilirubin miktarının artmasıyla meydana gelir. Artan bilirubin cilt ve mukozalarda birikerek deri ve skleranın sarı renkte görülmesine neden olur (1, 2). Sarılığın gözle görülür hale gelmesi için TSB düzeyinin 5 mg/dL'yi geçmesi gerekir (19).

Yenidoğan sarılıkları, direkt (konjuge bilirubin) hiperbilirubinemi ve indirekt (unkonjuge bilirubin) hiperbilirubinemi olarak iki ana kategoriye ayrılır. Yenidoğanlarda en sık rastlanan form indirekt hiperbilirubinemi'dir. İndirekt hiperbilirubinemi fizyolojik veya patolojik sebeplere bağlı gelişebilir. Direkt hiperbilirubinemi ise her zaman patolojiktir (1, 19).

Fizyolojik sebeplere bağlı gelişen sarılık, neonatal hiperbilirubineminin en yaygın nedenidir ve neonatal bilirubin metabolizmasının tam olarak gelişmemiş olması nedeniyle görülür. Bu durum, yenidoğanların büyük bir kısmında gözlemlenir ve çoğu zaman herhangi bir tedaviye ihtiyaç duyulmaz. Ancak yüksek indirekt bilirubin düzeylerine sebep olabilecek patolojik durumlarda, nörotoksisite gelişebilir ve bebeklerde kalıcı hasar oluşabilir. Bu sebeple, yenidoğanlarda bilirubin düzeyleri dikkatli bir şekilde izlenmeli ve potansiyel risklere karşı önlemler alınmalıdır (1, 19).

Yenidoğan sarılıklarının yönetiminde, teşhis ve tedavi süreçlerinde uluslararası kabul görmüş kılavuzlar kullanılmaktadır. Bu kılavuzlar riskleri yönetmekte, erken tanı ve tedavi uygulanmasında ve kernikterus riskinin azaltılmasında önemli rol oynamaktadır. APA, 2004 yılında yenidoğan sarılığının tanısı, önlenmesi ve tedavisine ilişkin yeni öneriler sunan bir rehber yayımlamıştır. Bu rehber, uygun şekilde takip edildiğinde bilirubin ensefalopatisinin önlenileceği ve olası sekellerin azaltılabileceği ileri sürülmüştür. Ancak her ülke kendine göre rehber oluşturmalıdır, çünkü hiperbilirubinemi artırma veya azaltma potansiyeli taşıyan riskler coğrafi farklılıklar gösterebilir (20, 21).

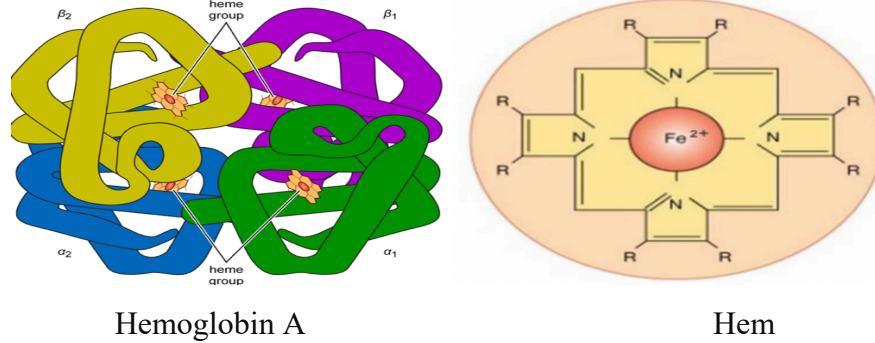
Sarılığın en sık tipi olan indirekt hiperbilirubinemiye daha iyi anlayabilmek için bilirubin metabolizmasını iyi bilmek gerekir.

2.2. Bilirubin Metabolizması

Bilirubin sentezi, plazma içinde taşınması, karaciğer tarafından emilimi, karaciğerde konjuge edilmesi, safra yoluyla dışarı atılması ve bağırsaklardan tekrar emilimi, bilirubin metabolizmasındaki temel aşamalardır.

2.2.1. Bilirubin Sentezi

Hem katabolizmasının sonucunda bilirubin üretilir. Hem, metan köprüleri ile birbirine bağlanmış dört pirol halkasından oluşan tetrapirel yapıdaki bir maddedir. Hem grubunun merkezinde iki değerli demir (Fe^{2+}) atomu bulunur ve oksijen moleküllerini reversibl bir şekilde bağlayabilir (22, 23). Bilirubin sentezinde kullanılan hemin %80' i dolaşımdaki eritrositlerde bulunan hemoglobinin metabolizması sonucunda oluşur. Hemoglobin dışında miyoglobin, nitrik oksit sentetaz, katalaz, peroksidaz ve sitokromlar gibi proteinlerden de hem oluşabilir. Eritrositler, bilirubin sentezinin büyük bir kısmını oluşturduğu için, eritrosit yıkımını artıran herhangi bir durum, hem yıkımını arttır ve dolayısıyla bilirubin seviyesinde artışa neden olur (2, 24, 25). Şekil 1'de hemoglobin A'nın görüntüsü ve hemin yapısı gösterilmiştir.



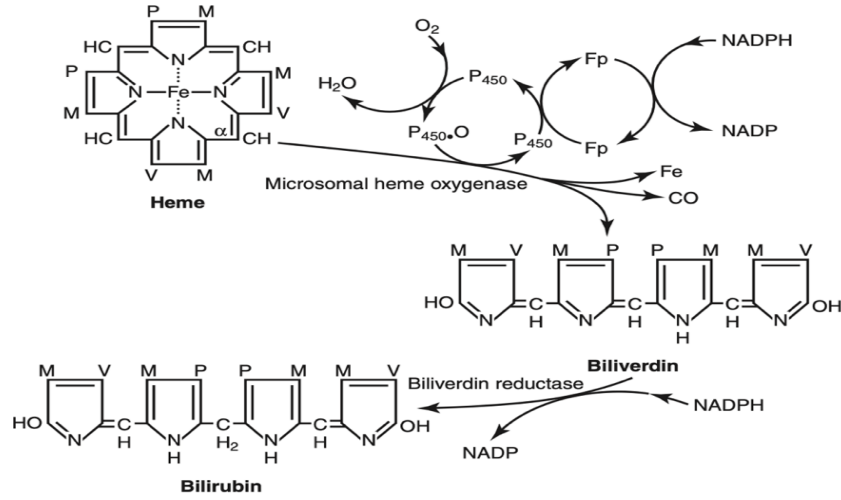
Şekil 1. Hemoglobin A'nın görüntüsü ve Hem'in yapısı

Hem katabolizmasındaki ilk adım biliverdin üretimidir. Bu aynı zamanda hız kısıtlayıcı basamaktır ve mikrozomal hemoksijenaz enziminin etkisiyle endoplazmik retikulum (ER) da gerçekleştirilir. Hem oksijenaz enziminin bilinen üç izoformu bulunmaktadır. Bu izoformlardan en yaygın olanı, hem oksijenaz-1 (HO-1)'dir ve stres ile hem moleküllerinin varlığında aktive olur. HO-2 ve HO-3 ise insan dokularında çok az miktarda bulunan yapısal izoformlardır. Özellikle nöron, dalak ve karaciğerde

bu izoformlar bulunur. Hem'in alfa metilen bağlarının hemoksijenaz (HO) enziminin katalizlediği reaksiyonla yıkılması sonucunda demir (Fe²⁺), karbon monoksit (CO) ve biliverdin oluşur. Biliverdin daha sonra biliverdin redüktaz tarafından hızlı bir şekilde bilirubine parçalanır. Bu olayların gerçekleşebilmesi için oksijen (O₂) ve nikotin adenin dinükleotid fosfat dehidrogenaza (NADPH) ihtiyaç vardır (2, 25, 26) (Şekil 2).

Biliverdin molekülünün dört izoformu bulunur. HO-1 tarafından hemden oluşturulan biliverdin izoformu, doğrusal bir tetrapirrol molekülü olan biliverdin-IXa'dır. BV-IXa sitozolik NADPH bağımlı biliverdin redüktaz (BVR) enzimi aracılığıyla hızlı bir şekilde bilirubine dönüştürülür (27-29). BVR enziminin de BVR-A ve BVR-B olmak üzere iki izoenzimi bulunur. BVR-A bilirubin metabolizması basamaklarındaki ana enzim formudur ve BV-IXa ile etkili bir şekilde reaksiyona girer. Araştırmalara göre BVR-B fetal gelişim sırasında, BVRA ise doğumdan sonra yetişkinlerde baskındır. BVR-A enzimi etkisiyle ana bilirubin izoformu olan bilirubin IXa (bilirubin 4Z, 15Z) oluşur. Oluşan bilirubin dört pirol halkasından meydana gelir ve bunlar üç tek karbon köprüsüyle birbirlerine bağlanmıştır. Merkezde yer alan karbon köprüsü, ortadaki 2 pirol halkasına tek bağ ile bağlanırken, yanlarda bulunan 2 karbon köprüsü kalan iki pirol halkasına çift bağ ile bağlanır. Bu çift bağlar 2 farklı yapıya sahip olabilir. Bu konfigürasyonlardan biri Z, biri E formudur. Ana molekül olan hemde bu çift bağlar Z konumunda olduğu için bilirubin 4Z, 15Z bilirubin IX α adını alır. Bilirubin IXa unkonjuge formdadır. Yapısında, propiyonik asit yan zincirleri ve amino grupları gibi birçok polar grup bulunmasına rağmen su içinde çözünmez. Bunun nedeni, bu polar grupların molekül içi hidrojen bağlarına ve bilirubin molekülünün yüzeyinde metil ve vinil grupları gibi hidrofobik grupların varlığına bağlıdır (2, 29-32).

Hem'in yıkılması sonucu açığa çıkan karbon monoksit (CO) solunum yoluyla vücuttan uzaklaştırılabilir. Soluk verilen havadaki karbon monoksit seviyesi ölçülebilir ve bu ölçüm genellikle end-tidal karbon monoksit (ETCO) seviyesi olarak adlandırılır, vücuttaki hem yıkım sürecinin bir göstergesi olarak kullanılır. Özellikle yenidoğanlarda hiperbilirubinemi ve hemoliz durumlarının değerlendirilmesinde kullanılan bu yöntem, solunum yoluyla atılan CO miktarını belirleyerek hemoliz oranı hakkında önemli bilgiler sunar (33).



Şekil 2. Hem katabolizması ve bilirubin oluşumu (2).

Mikrozomal hem oksijenaz enzimi etkisiyle hemden biliverdin oluşur. Biliverdin redüktaz enzimi ile biliverdinden bilirubin oluşur. Oluşan bilirubin indirekt (unkonjuge) bilirubindir. Suda çözünmez.

2.2.2. Bilirubinin Plazma Transportu

Unkonjuge bilirubin, polar grupları dışarıda bırakmayacak şekilde iç içe geçmiş iki dipirol birimi içerir ve bu yüzden nötr pH'ta suda çözünmez. Unkonjuge bilirubin bu özelliklerinden dolayı serumda taşınamaz, karaciğer ya da böbrek yoluyla uzaklaştırılmaz. Bu oluşan serbest unkonjuge bilirubin, kan-beyin bariyerini ve nöron hücre biyomembranlarını kolayca geçebilir ve nörotoksik etki gösterebilir (34).

Serbest unkonjuge bilirubin albümine bağlanarak suda çözünen bir form kazanır ve karaciğere konjugasyon gerçekleşmesi için transfer edilir. Albümin, insanlarda toplam plazma proteininin % 50-60' ını oluşturur, birçok liganda bağlanır ve bunları taşır. Albümin-bilirubin bağlanması, hücreleri koruyan bir etki gösterir. Bağlanma işlemi genellikle geri dönüşümlüdür ve pH, sıcaklık gibi durumlardan etkilenir. Yenidoğan döneminde albüminin bilirubine afinitesi daha azdır çünkü yenidoğanlar daha düşük albümin konsantrasyonlarına ve daha düşük pH değerlerine sahiptir (25).

Albümin ile unkonjuge bilirubin bağlanması çeşitli durumlarda azalabilir. Hipotermi, hipoksi, asidoz ve asfiksi gibi durumlar albümin ile unkonjuge bilirubin arasındaki bağın kırılmasına neden olur. Seftriakson ve ibuprofen gibi bazı ilaçlar da

bilirubin ile albümin bağlanması için rekabet ederek serbest unkonjuge bilirubin miktarını arttırabilir (25).

2.2.3. Bilirubin Karaciğere alınması

Karaciğer hücrelerine girmeden önce, dolaşımdaki unkonjuge bilirubin albuminden ayrılmalıdır. Bu pasif difüzyon yoluyla veya OATP (Organic Anion Transporting Polypeptide) aracılığıyla gerçekleştirilebilir (35).

Unkonjuge bilirubin, hepatositlerin sitoplazması içinde bulunan Y (ligandin) ve Z adı verilen proteinlere bağlanır ve bu proteinlerden özellikle ligandin, unkonjuge bilirubini düz endoplazmik retikulum mikrozomlarına taşır (36). Sitosolik glutatyon-S-transferaz olarak da adlandırılan Y proteinine bağlanma, unkonjuge bilirubinin hepatosit sitoplazmasındaki çözünürlüğünü artırır ve hücre dışına atılmasına engel olur. Glutatyon-S-transferaz, hepatosit sitoplazmasının yaklaşık %5' ini temsil eder ve çeşitli ilaçlar, hormonlar, organik anyonlar ve kortizol metabolitleri gibi maddelere bağlanma yeteneğine sahiptir (37, 38).

2.2.4. Bilirubin Konjugasyonu

Bilirubin vücuttan atılabilmesi ve safra içine salgılanabilmesi için karaciğerde konjugasyon sürecinden geçmesi gereklidir. Bilirubin konjugasyonu karaciğerdeki hepatositler içinde üridin difosfat-glukuronosiltransferaz 1A1(UGT1A1) enzimi tarafından gerçekleştirilir (39).

UGT1A1 enzimi, bilirubine kovalent bağlarla bir veya iki glukuronik asit molekülü ekler ve konjuge bilirubin formları olan bilirubin diglukuronid ve monoglukuronid oluşur. Oluşan konjuge bilirubin suda çözünebilir ve kolayca atılabilir. Normal şartlarda bilirubin diglukuronid, baskın olarak sentezlenen moleküldür. Ancak, bilirubin sentezinin aşırı olduğu durumlarda, bilirubin monoglukuronid baskın hale gelebilir (38, 39).

Bebeklerin bilirubin konjuge etme kapasitesi UGT1A1 aktivitesine bağlıdır. UGT1A1 aktivitesi 17-30. gebelik haftalarında yetişkin seviyelerinin %0,1'i kadardır. 30-40. gebelik haftaları arasında yetişkin değerlerinin %1'ine yükselir ve doğum sonrası yaşamın 14. haftasında yetişkin seviyelerine ulaşır. Yenidoğanlarda, özellikle

prematüre bebeklerde, UGT1A1 enziminin aktivitesi düşük olabilir veya hiç olmayabilir, bu da konjugasyon fonksiyonunun yetersiz kalmasına neden olur (40).

Laboratuvar testlerinde konjuge bilirubin, direkt bilirubin olarak ölçülürken, albümine bağlı ya da serbest bulunan unkonjuge bilirubinin hepsi indirekt bilirubin olarak ölçülür. Uzamış konjuge hiperbilirubinemi durumlarında, albümine bağlı bilirubinin bir kısmı geri dönüşümsüz hale gelebilir. Bu durumda oluşan bilirubin formu delta bilirubin olarak adlandırılır ve doğrudan Van Den Bergh reaksiyonu verir (17, 38, 39, 41).

2.2.5. Bilirubin Safra Kesesine Atılımı

Hepatositlerde oluşan konjuge bilirubin, safra kesesine aktif bir süreçle atılır ve bu, bilirubin metabolizmasının hız kısıtlayıcı adımını oluşturur. Safra kesesine iletilen konjuge bilirubin daha sonra safra içinde bağırsağa atılır. Uzun süreli safra tıkanıklığı veya intrahepatik kolestaz gibi konjuge bilirubinin hepatik atılımı bozulduğunda, konjuge bilirubinin bir kısmı serumda birikebilir. Bu konjuge bilirubin serumda albümine bağlanarak delta bilirubin fraksiyonunu oluşturur. Albüminin yarı ömrü uzun olduğu için delta bilirubinin serumdan temizlenmesi uzun sürer. Ayrıca bilirubin üretiminin fazla olduğu durumlarda bilirubin atılım kapasitesi aşıldığı için orta derecede konjuge bilirubin artışı görülebilir (38).

2.2.6. Bilirubin Enterohepatik Dolaşımı

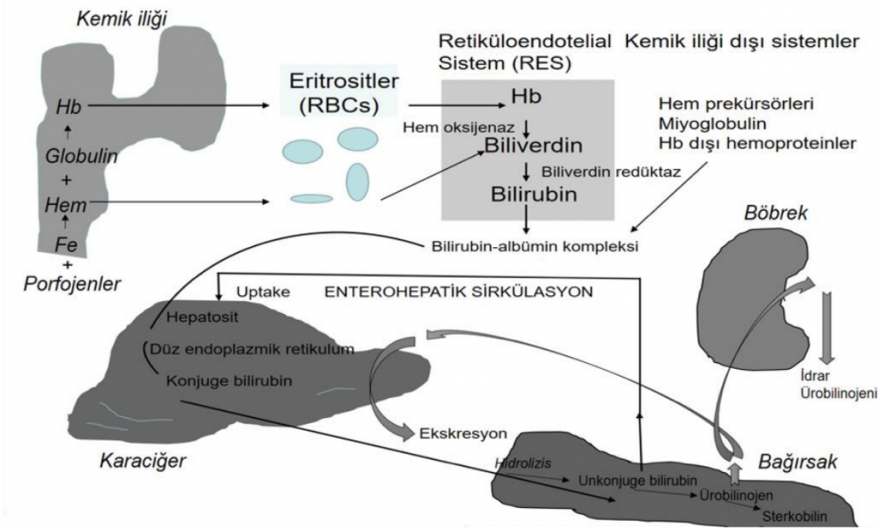
Günlük olarak safra yoluyla bağırsağa ulaşan yaklaşık 300 mg bilirubinin %85'i konjuge bilirubin şeklindedir. Konjuge bilirubinler bağırsaktan emilmez. Bağırsağa ulaşan konjuge bilirubinler, suda çözünürler ve stabil değillerdir. Kolayca unkonjuge forma dönüşebilirler. Oluşan unkonjuge bilirubinler kısmen bağırsaktan emilir ve karaciğere geri döner.

Karaciğere geri dönen bilirubinin bir bölümü yeniden safra yoluyla bağırsağa salınırken, diğer bir bölümü karaciğerde antioksidan görevi görebilir. Bilirubinin bağırsaktan emilimi, karaciğere dönüşü ve yeniden safra yoluyla bağırsağa salınımı sürecine bilirubinin enterohepatik dolaşımı denir. Yenidoğanlarda enterohepatik dolaşıma katkıda bulunan mekanizmalar vardır. Enterik mukozalarında bulunan yüksek miktardaki beta glukuronidaz enzimi enzimatik dekonjugasyona neden olur.

Ayrıca duodenum ve jejunumlarında bulunan alkali pH varlığı da dekonjugasyon sürecine katkıda bulunur (2, 40) (Şekil 3).

Distal bağırsak kesimlerine ulaşan unkonjuge bilirubinlerin çoğunluğu ise, çekum ve özellikle sağ kolonda yer alan anaerobik bakterilerin enzimleriyle bir grup renksiz bilirubin metaboliti olan ürobilinojenlere dönüşürler. Ürobilinojenler karaciğere geri taşınabilir veya idrarla atılabilir. Bilirubin üretimi çok arttığında, ürobilinojen seviyesi idrarda artış gösterir. Ayrıca ürobilinojenler kolonda okside olarak renkli bilirubin ürünleri olan bilinler veya ürobilinleri oluştururlar (2, 42, 43).

Yenidoğanlarda yapılan çalışmalarda enterohepatik sirkülasyonun erişkinlere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Yenidoğanların bağırsak lümenlerinde bilirubini ürobilinojenlere indirgeyecek bakteri florası az bulunur ve bağırsak bilirubin havuzu yetişkinlere kıyasla daha yüksektir. Proksimal ince bağırsaklarında hafif alkali pH varlığı dekonjugasyonu kolaylaştırır. Ayrıca unkonjuge forma daha kolay hidrolize olabilen bilirubin monoglukuronid formunun yenidoğanlarda daha fazla oluşu enterohepatik dolaşımı arttırıcı durumlardır (40).



Şekil 3. Bilirubin metabolizması ve enterohepatik dolaşımı (2)

2.3. Yenidoğan Sarılıkları Epidemiyolojisi

Epidemiyolojik çalışmalara göre, yenidoğan hiperbilirubinemisinin süresi ve şiddeti; gestasyon yaşı, doğum ağırlığı, beslenme durumu, ırk, coğrafi bölge ve genetik yapı gibi faktörlere bağlı olarak belirgin değişiklikler göstermektedir.

2.3.1. Genetik, Ailesel ve Etnik Farklılıklar

Güneydoğu ve Doğu Asya kökenli yenidoğanlarda TSB düzeyleri, beyaz ve Afrika kökenlilere göre daha yüksek saptanmıştır (1). Doğu Asya kökenli yenidoğanlarda, UGT1A1 enzimini kodlayan gendeki varyasyonların hiperbilirubinemiye katkıda bulunduğunu gösteren araştırmalar bulunmaktadır. Ayrıca Gilbert sendromu, ABO uyumsuzluğu, G6PD eksikliği gibi hastalıklarda da bu genetik varyasyonların hiperbilirubinemi şiddetini etkilediği bildirilmiştir (44).

Yenidoğan sarılığının yüksek rakımlı bölgelerde yaşayan bebeklerde daha yaygın olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (1). Bir çalışmada, önceki kardeşinde sarılık olan yenidoğanda sarılık riskinin arttığı gösterilmiştir (45).

2.3.2. Maternal ve Obstetrik Risk Faktörleri

Anne yaşının sarılık insidansını nasıl etkilediği ile ilgili fikir ayrılıkları vardır. Bazı alışmalar anne yaşı ilerledikçe yenidoğan sarılığı riskinin arttığını belirtirken bazı çalışmalar özellikle 20 yaşından kk olanların en yüksek riske sahip olduğunu belirtmektedir (46). Enstrümantal doğum, normal vajinal doğum ve oksitosin ile doğumun tetiklenmesinin de yenidoğan sarılığı riskini arttırdığı düşünülmektedir (47). Diyabetik annelerden doğan bebeklerde polisitemi nedeniyle sarılık riskinin yükseldiği bildirilmiştir (48). Sigara kullanan kadınların bebeklerinde hiperbilirubineminin daha az görüldüğünü ileri süren çalışmalar olmakla birlikte bunların etyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır (46).

2.3.3. Fetal Risk Faktörleri

Erkek yenidoğanlarda sarılık riskinin kızlara göre daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (46). Prematürite ve düşük doğum ağırlığı, bebeklerin bilirubin metabolizmasının tam olarak gelişmemiş olması nedeniyle sarılık riskini artırır (49, 50). Emme güçlüğü yetersiz beslenmeye neden olur ve enterohepatik

sirkülasyonu arttırarak sarılık riskini arttırır (47). Kan grubu ve Rh faktörü uyumsuzluğu, maternal-fetal uyumsuzluk nedeniyle artmış eritrosit yıkımına yol açabilir (21). Genetik veya metabolik durumlar (örneğin, G6PD eksikliği veya sferositoz) artmış veya uzamış sarılık riski ile ilişkilendirilir. Mekonyum pasajının erken uyarıldığı bebeklerde hiperbilirubineminin daha az olduğu görülmüştür (46).

2.3.4. Çevresel Faktörler

Yenidoğanlarda bazı ilaçların kullanımı hiperbilirubinemi riskini arttırabilir. Pankuronyum, sentetik K vitamini preparatlarının ve kloralhidratın kullanılması bilirubin konjugasyonunu engelleyerek veya hemolize neden olarak bilirubin düzeylerini arttırabilirler. Ayrıca albumine bağlanmak için bilirubinle yarışan sefaperazon, seftriakson gibi antibiyotikler de bilirubin düzeylerini arttırır (51).

Yenidoğanlarda hiperbilirubinemi arttıran bir diğer çevresel faktör olarak çinko eksikliği gösterilmiştir. Bunun sebebi olarak da bu eksikliğin yenidoğanda eritrosit membranında bozulmaya ve hemolize yol açtığı gösterilmiştir (52). Yüksek rakımlı yerlerde yaşayanlarda hiperbilirubinemi insidansı daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (53).

2.4. Yenidoğan Sarılıklarının Sınıflandırılması

Yenidoğan sarılıkları ikiye ayrılmaktadır. Biriken bilirubin tipine göre indirekt ve direkt hiperbilirubinemi olarak adlandırılırlar. Yenidoğanlarda en çok görülen indirekt hiperbilirubinemidir ve fizyolojik veya patolojik sebeplere bağlı gelişebilir. Direkt hiperbilirubinemi ise her zaman patolojiktir (1, 40). Yenidoğanlarda en sık görülen indirekt hiperbilirubineminin fizyolojik ve patolojik sebeplerine değineceğiz.

2.4.1. İndirekt Hiperbilirubinemi

2.4.1.1. Fizyolojik Sarılık

Yenidoğan döneminde sıkça görülen fizyolojik sarılık, doğumun ilk haftasında ortaya çıkar ve kalıcı olmayan total bilirubin seviyelerinde artışla kendini gösterir. TSB seviyeleri genellikle doğumdan sonraki 2. veya 3. günde artmaya başlar, 5. ile 7. günler arasında pik yapar ve ilk iki hafta içinde normale döner. Yaklaşık olarak term yenidoğanların %80' inde TSB düzeyi 5 mg/dL'nin üzerinde bulunur, bu da fizyolojik

sarılığın oldukça yaygın olduğunu göstermektedir. Bilirubin seviyeleri tipik olarak 12 mg/dL'nin altında seyreder fakat nadiren 18 mg/dL'ye kadar yükselebilir (2).

Fizyolojik sarılık nedenleri (1, 2, 54)

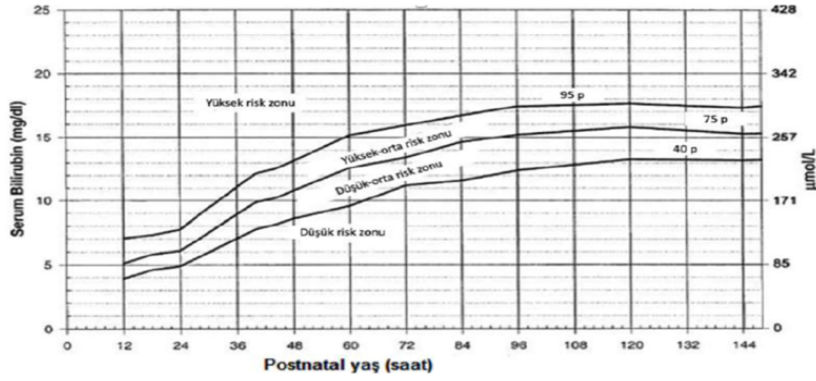
- 1) Yenidoğanlardaki eritrositler yetişkinlere göre daha kısa yaşam süresine sahiptir. Bu da, normalden daha hızlı bir eritrosit yıkımına ve dolayısıyla bilirubin üretiminin artmasına yol açar.
- 2) Yenidoğanların karaciğerleri henüz tam olarak olgunlaşmamıştır ve bu nedenle üretilen bilirubini etkili bir şekilde işleyip vücuttan atamayabilirler.
- 3) Yenidoğanların enzimlerinin immatür olması sebebiyle konjugasyon yeterince yapılamaz.
- 4) Yenidoğanlarda hepatik bilirubin alımı yetersizdir.
- 5) Yenidoğanda enterohepatik sirkülasyonla bilirubin dekonjugasyonu fazla gerçekleşir.
- 6) Yenidoğanda bilirubinin safraya atılımında yetersizlik vardır.

Fizyolojik sarılık tanı kriterleri

- 1) Sarılık 2. veya 3.günde başlar.
- 2) TSB seviyeleri genellikle preterm bebeklerde 15 mg /dL altında, term bebeklerde ise 12-13 mg/dL altında seyreder.
- 3) Konjuge (direkt) bilirubin düzeyi 2 mg/dL altındadır.
- 4) Sarılık preterm bebeklerde 14 günden, term bebeklerde ise 7 günden kısa sürer.
- 5) Total bilirubin artma hızı günde 5 mg/dl' nin altındadır.

Fizyolojik sarılık teşhisi bebeğin anamnezi, kliniği, laboratuvar bulguları ile birlikte sarılığın bilinen nedenleri dışlanarak konur. Yenidoğan sarılığının incelenmesi ve takibi bilirubin ensefalopatisi riskinden dolayı büyük önem taşımaktadır. Fizyolojik olmayan sarılıkları önceden belirlemek önemlidir. APA patolojik sarılık derecesinde hiperbilirubinemi gösterebilecek bebekleri önceden belirlemek için 2 önemli strateji geliştirmiştir (21).

- 1) Sarılığı olan yenidoğanların bilirubin namogramında postnatal yaşına göre hangi risk bölgesinde yer aldığı belirlenmesi (Şekil 4).
- 2) Yüksek bilirubin seviyesi verebilecek risk faktörlerinin belirlenmesi (Tablo 1).



Şekil 4. Bebeklerde hiperbilirubinemi gelişme riskini belirlemede kullanılan bilirubin nomogramı (19)

Bilirubin nomogramı postnatal yaş ve total bilirubin seviyeleri kullanılarak oluşturulmuştur. 1999 yılında Bhutani tarafından oluşturulan bu nomogram günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Hiperbilirubinemi riski bulunan bebeğin öngörülmesini sağlar (10). İki veya daha fazla farklı zamanda bilirubin seviyesi ölçülen bebeklerde, bu değerler nomograma işaretlenerek bilirubin artış hızı incelenir. Eğer bilirubin seviyesi üst persantil eğrilerine doğru ilerliyorsa, intravasküler hemoliz olasılığı değerlendirilir ve buna göre takip edilir veya gerekli tetkikler yapılır (55).

Tablo 1. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta* olan yenidoğan bebeklerde yüksek bilirubin seviyesine neden olabilecek risk faktörleri (56)

Majör risk faktörleri	Minör risk faktörleri	Düşük risk faktörleri
<ul style="list-style-type: none"> -Doğum haftası 35-36 hafta -İlk 24 saatte sarılık meydana gelmesi -Taburculuk öncesi TcB/TSB değerinin yüksek riskli bölgede bulunması -Direkt coombs pozitifliği ile beraber olan kan grubu uyumsuzluğu, bilinen hemolitik hastalık, endtidal co artışı -Annenin önceki bebeğinde fototerapi öyküsü -Sefal hematoma - Kilo kaybının fazla olması ve anne sütü ile yetersiz beslenme -Doğu asya kökenli olma 	<ul style="list-style-type: none"> -Doğum haftası: 37-38 hafta -Taburculuk öncesi TcB/TSB değerinin yüksek- orta riskli bölgede bulunması - Sarılığın taburculuk öncesi ortaya çıkması -Annenin önceki bebeğinde sarılık bulunması -Diabetik annenin makrozomik bebeği -Anne yaşı >25 olması -Erkek cinsiyet 	<ul style="list-style-type: none"> Doğum haftası >41 hafta - TcB/TSB değerinin düşük riskli bölgede bulunması - 72 saat sonra hastaneden taburcu olma -Siyah ırk

* Gebelik yaşı \geq 35 hafta olan bebekler annesi 35 hafta ve üzerinde gebeliğe sahipken doğum yapan bebekleri ifade eder.

2.4.1.2. Anne Sütü Sarılığı

Formülle beslenen bebeklere göre, anne sütü ile beslenen bebeklerde sarılık daha uzun sürebilir ve bu durum %15-40 oranında görülür. Yenidoğanda görülen uzamış sarılıkların çoğu anne sütü sarılığıdır, fakat emzirmeyi kesmek önerilmez. Sarılığa neden olan tüm durumlar dışlanmadan anne sütü sarılığı tanısı konulmaması gerekir. Sarılık bazen 12. haftaya kadar devam edebilir. İki kategoriye ayrılır (57).

A) Erken Başlangıçlı Anne Sütü Sarılığı

Yenidoğan bebeklerde yaşamın ilk haftası içinde gelişir. Anne sütüyle yetersiz beslenme vardır. Yeterince beslenemeyen bebek dehidrate kalır ve mekonyum çıkışı gecikir. Enterohepatik sirkülasyon artar ve unkonjuge bilirubin seviyeleri yükselir. Bebeği en az 8-12 kez emzirmek ve şekerli içeceklerden kaçınmak gereklidir (2, 58, 59).

B) Geç Başlangıçlı Anne Sütü Sarılığı

Yaşamın ilk haftasından sonra başlar ve 3 haftalıkken bilirubin seviyesi >10 mg/dL olan bebeklerin % 2-4'ünde görülür (57, 60). Çeşitli araştırmalar, 14 günden uzun süren anne sütü sarılığı ile UGT1A1 gen promotorü varyantı arasında bir bağlantı olduğunu ortaya koymuştur. Anne sütündeki bir progesteron metaboliti olan pregnane-3-alfa,20-beta-diol, laboratuvar çalışmalarında UGT enzimini inhibe edebildiği için geçmişte anne sütü sarılığının potansiyel bir nedeni olarak düşünülmüştür. Ancak, bu metabolitin ve anne sütündeki esterleşmemiş uzun zincirli yağ asitlerinin bilirubin metabolizması üzerindeki etkisi tam olarak net değildir, bu nedenle anne sütü sarılığının kesin nedenleri hala tam olarak belirlenememiştir (57).

Anne sütü sarılığı bazı uzmanlar tarafından fizyolojik sarılığın bir uzantısı olarak kabul edilmesine rağmen, bazı bebeklerde kernikterus vakaları bildirilmiştir (60). Emzirmeye ara verirse bilirubin hızlıca düşer ve normal seviyelere kısa sürede ulaşır. Geç tip anne sütü sarılığı fototerapiden fayda görebilir (2).

2.4.1.3. İndirekt Hiperbilirubineminin Patolojik Nedenleri

Patolojik sarılık bilirubin düzeylerinin normal sınırların üzerine çıkması ve çeşitli komplikasyonlara yol açabilecek kadar yükselmesi durumudur.

Patolojik sarılık tanı kriterleri (55)

- 1) İlk 24-36 saat içinde ortaya çıkan sarılık
- 2) 10-14 günden uzun süren sarılık
- 3) Günde 5 mg/dL, saatte ise 0,2 mg/dL'den fazla artan total bilirubin düzeyi varsa
- 4) Direkt bilirubin total bilirubinin %20 sinden fazlasını oluşturuyorsa veya 1,5-2 mg/dL'den fazla ise
- 5) Total bilirubin değerinin bilirubin nomogramında %95 persentil ve üzerinde ise
- 6) Eşlik eden başka bir hastalığı varsa

Yukardaki bulguların varlığında patolojik sarılık düşünülmeli ve önlemler alınmalıdır. Tablo 2'de indirekt hiperbilirubineminin patolojik sebepleri verilmiştir.

Tablo 2. Patolojik indirekt hiperbilirubinemi sebepleri

Bilirubin yapımında artma	Bilirubin konjugasyon ve atılımında azalma
1.Hemolitik hastalıklar a. Kalıtsal hastalıklar -Eritrosit membran bozuklukları -Eritrosit enzim bozuklukları -Anstabil hemoglobin -Hemoglobinopatiler b. İmmün hastalıklar -ABO uyumsuzluğu -Rh uyumsuzluğu	1.Kalıtsal hastalıklar - Gilbert sendromu - Crigler Najjar sendromu tip 1 -2 -Tirozinemi -Hipermetioninemi 2.Prematürite 3.Metabolik hastalıklar -Hipopituiterizm -Hipotiroidizm
2.Diğer nedenler Sepsis, kanama, Dissemine intravasküler koagülasyon, Polistemi, Diabetik anne bebeği	
3.Bilirubinin enterohepatik dolaşımının artması	

2.4.1.3.1. Bilirubin Yapımında Artma

A) Kan Grubu Uyuşmazlıkları

1. Rh Uyuşmazlığı

Rh uyuşmazlığı annenin Rh (-) olduğu, bebeğin ise Rh (+) olduğu durumda meydana gelir. Rh pozitif bir fetüsten sadece 0,1 mL kadar eritrositin plasentadan geçerek Rh negatif bir annenin kan dolaşımına karışması ile alloimmünizasyon gerçekleşebilir. Annenin dolaşımında üretilen ilk yanıt, plasentayı geçmeyen immünoglobulin (Ig) M' dir. Sonraki gebeliklerde Ig G tipi antikolar meydana gelir ve indirekt coombs testi pozitifleşir. Ig G antikoları plasentayı geçer ve fetal eritrositlerdeki D antijenine yapışır ve antikor miktarlarına bağlı olarak çeşitli derecelerde hemolize yol açarak direk coombs testini pozitifleştirir (60, 61). Her yeni gebelikle immün yanıt daha da şiddetlenir. Anemi, fetal hidrops, postnatal hiperbilirubinemi ve kernikterus riski artar (62).

Maternal alloimmunizasyon, gebeliğin herhangi bir anında meydana gelebilir. Transplental olarak kanama olması, anneye uygulanan enjeksiyon iğnelerinin Rh (+) kanla enfekte olması, anneye yanlışlıkla Rh (+) kan transfüze edilmesi, Rh uyumsuz allojenik hematopoetik kök hücre transfüzyonu yapılması yollarıyla da gerçekleşebilir (2).

ABO uyumsuzluğu olan durumlarda, annenin anti-A veya anti-B antikoları Rh pozitif fetal hücreleri hızla temizler, bu da Rh duyarlanmasını azaltır. Dolayısıyla, hem ABO hem de Rh uyuşmazlığı varsa, Rh hassasiyeti daha seyrek görülür (63).

Rh uyuşmazlığı durumunda bebeklerin yaklaşık %50'sinde anemi görülür. Hafif bir anemidir genellikle tedavi gerekmez. Kan değişimi ve/veya fototerapi gibi tedavilere ihtiyaç ise yaklaşık olarak %25-30 bebekte görülür. Şiddetli bir klinik tablo olan hidrops fetalis ise yaklaşık olarak %20-25 bebekte görülür.

Geçmişte, Rh hemolitik hastalığı, ciddi hemolitik hiperbilirubineminin ve kernikterusun en yaygın nedeniydi. Ancak, anti-D immünoglobulin G ile yapılan maternal profilaksi, fetal izleme ve intrauterin kan transfüzyonları sayesinde, bu hastalığın görülme sıklığı ve şiddeti büyük ölçüde azalmıştır (2).

2) ABO Uyuşmazlığı

ABO uyuşmazlığı ile ilişkili hemolitik hastalık genellikle, O kan grubu olan annenin, B veya A kan grubu olan bebeği olması durumunda ortaya çıkar. O kan grubundaki annelerin anti-A ve anti-B antikoru genellikle Ig G yapısındadır ve plasentayı geçerek bebeğin kanındaki A veya B hücrelerine bağlanarak hemolize yol açarlar. ABO uyumsuzluğu, gebeliklerin yaklaşık %15'inde görülür (40).

ABO uyumsuzluğuna bağlı hemolitik aneminin şiddeti, Rh uyumsuzluğuna kıyasla daha hafiftir. Hidrops fetalis daha az sıklıkla görülür, belirgin hemoliz nadiren ortaya çıkar ve kan değişimine olan gereksinim oranı % 0,1'in altındadır.

Semptomatik ABO hemolitik hastalığı ile ilişkili hiperbilirubinemi, genellikle hayatın ilk 12-24 saatleri içinde tespit edilir. Tek başına fototerapi ile kontrol edilebilirler.

ABO uyumsuzluğu durumunda belirgin sarılık gelişimi gözlemlenen ve sıklıkla pozitif direk Coombs testi ile periferik yaymada eritrosit hücrelerinde mikrosferositozun belirgin olduğu bebeklerde, tanının değerlendirilmesi gerekir (2).

ABO uyuşmazlığı tanı kriterleri (2)

- 1) Özellikle ilk 24 saat içinde gelişen indirekt hiperbilirubinemi
- 2) Annenin O kan grubu bebeğin A ya da B kan grubu olması
- 3) Periferik yaymada sferosit olması
- 4) Retikülosit sayısının artması
- 5) Hemoliz bulguları

B) Eritrosit Enzim Defektleri

1) Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) defekti

Eritrosit enzim defektlerinden en fazla gözlenen, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzim eksikliğidir. X'e bağlı geçiş gösterir. G6PD eksikliği en sık Afrika, Güney Avrupa, Ortadoğu ve Asya'da görülür (40).

Bu enzim, özellikle eritrositler olmak üzere birçok hücre tipinde bulunur ve glukoz-6-fosfatı metabolize ederek enerji üretimini sağlar ve hücrelerin oksidatif strese korunmasını sağlayan pentoz fosfat yolunu destekler. G6PD eksikliği durumunda, oksidatif hasara karşı hücrelerin savunması azalır, bu da özellikle eritrositlerde hasara ve hemolize yol açar (60).

G6PD enzim defekti, akut hemolitik anemi ve yenidoğan sarılığı şeklinde görülebilir. Akut hemolitik anemi, genellikle herhangi bir klinik belirti göstermeyen bir durumdur. Ancak, ilaçlar, enfeksiyonlar ve kimyasallar gibi oksidatif stres yaratan durumlar altında hemoliz meydana gelir.

Yenidoğan sarılığı doğumdan sonra 2-3. günlerde görülür bazı durumlarda tedavi edilmediği takdirde kernikterus gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir. Çoğunlukla anemi gözlemlenmez. Hemoliz, ilaçlar veya naftalin gibi oksidan maddelere maruz kalındığında daha da belirgin hale gelebilir. Sarılığın ana nedeninin karaciğerin bilirubini yeterince konjuge edememesi olduğu düşünülmektedir. Bazen tek çare kan değişimidir (64).

G6PD eksikliğinin yaygın olarak görüldüğü topluluklarda, kordon kanında yapılan araştırma ile erken dönemlerde hiperbilirubinemi saptanabilir ve oluşabilecek nörotoksisite önlenir.

2) Pirüvat kinaz eksikliği

Pirüvat kinaz eksikliği, otozomal resesif bir şekilde kalıtılan ve en çok Kuzey Avrupa kökenli yenidoğanlarda görülen bir durumdur. Bu durum, yeni doğan döneminde sarılık, anemi ve retikülositoz ile kendini gösterir. Direk coombs testi negatif olan ve sferositik olmayan bir hemolitik anemi ile karşılaşılan yeni doğanlarda bu durum göz önünde bulundurulmalıdır (60).

C) Eritrosit membran defektleri

Hereditör sferositoz

Hereditör sferositoz otozomal dominant veya otozomal resesif yollarla aktarılabilir, sıklıkla ailede akut hiperbilirubinemi geçmişi vardır. %75' i otozomal dominant kalıtılır. Sferositoz durumunda, eritrositin standart bikonkav formu değişerek, küçülür ve küresel bir forma döner. Yüzey alanındaki azalma nedeniyle oksijenin alınımı ve taşınımı azalırken, şekil değiştirme kapasitesindeki kısıtlama, önemli ölçüde dalakta tutulup yıkılmasına neden olur (65).

Eritrosit membranındaki değişiklik, ankrin, band 3, alfa-spektirin, beta-spektirin ve protein 4.2 dahil olmak üzere proteinlerin eksikliğinden kaynaklanır. Bu osmotik olarak hassas eritrositler, dalakta hapsolür, mikroveziküller makrofajlar tarafından fagosite edilir. Tanı, periferik kan yaymasında sferositlerin gösterilmesiyle

mikroskopik olarak konulabilir ve osmotik frajilite testi ile doğrulanabilir. Bu test, özellikle kalıtsal sferositozu olan bebekleri, doğrudan Coombs pozitif ABO izoimmünizasyonu olanlardan ayırt etmede önemlidir çünkü bu durumda da mikrosferositoz görülür (66).

Yükselmiş ortalama korpusküler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC >36.5–37 g/dL) veya ortalama korpusküler hacme (MCV) göre MCHC oranının (MCHC/MCV >0.36) yüksek olması gibi laboratuvar bulguları kalıtsal sferositoz tanısını destekler (67).

E) Enfeksiyonlar

Yenidoğanlarda enfeksiyon hastalıklarında sarılık meydana gelebilir. İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) ve sepsis gibi durumlarda görülebilir (68). Bakteriyel enfeksiyon, hemoliz ve hiperbilirubineminin bilinen bir nedenidir. Sepsis, hemoliz yoluyla bilirubin konsantrasyonlarını artırarak veya konjugasyonu bozarak hiperbilirubinemiye neden olur (69).

F) Polisitemi

Polisitemi kan hücrelerinin, özellikle de eritrositlerin normalden fazla sayıda bulunması durumudur. Genellikle kandaki hemoglobin seviyesinin yüksekliği, hematokrit değerinin artması veya eritrositlerin sayısının artmasıyla karakterize edilir. Eritrosit kütesinin artması ve bu hücrelerin artan yıkımı, yeni doğanın hem yıkım ürünlerini ortadan kaldırma kapasitesinin olgunlaşmamış olması nedeniyle yenidoğan sarılığını artırır (60).

Gecikmiş kordon bağlama, anne-fetal transfüzyon ve ikiz-ikiz transfüzyonu ile polisitemi görülebilir ve yenidoğanda hiperbilirubinemiye arttırabilir (70). Diyabetik annelerin bebekleri, özellikle makrozomik olanlar, polisitemi için risk altındadır (71).

2.4.1.3.2. Bilirubin Konjugasyon ve Atılım Bozuklukları

A) Crigler Najjar Sendromu

Crigler Najjar Sendromunun iki tipi bulunmaktadır. Crigler-Najjar sendromu tip I (CNS-I), otozomal resesif bir hastalıktır ve karaciğerdeki UGT1A1 aktivitesi çok az veya tamamen yoktur. Total serum bilirubini genellikle 20 mg/dL'nin üzerindedir. Erken yenidoğan döneminde agresif fototerapi ve kan değişimi ile tedavi edilmediği

sürece bilirubin ensefalopatisi ve ölüme neden olur. Kalıcı tedavi olarak eksik olan enzimin yerine konulması veya gen tedavisi gibi tedavilerin gelecekte faydalı olacağı düşünülmektedir. Bazı vakalarda karaciğer transplantasyonunun etkili olduğu gösterilmiştir (72).

Crigler Najjar Sendromu tip 2 (CNS-II) Arias hastalığı olarak da bilinir. CNS-I'den daha yaygın olarak görülür ve tipik olarak iyi huyludur. UGT1A1 enzim aktivitesinin azalmıştır. CNS-I' den farklı olarak, CNS-II'deki genetik kusur genellikle bir nokta mutasyondur ve enzim aktivitesini azaltır ancak ortadan kaldırmaz. Hiperbilirubinemi yaşamın ilk günlerinde ortaya çıkar, ancak to bilirubin seviyeleri genellikle 20 mg/dL'yi aşmaz ve nadiren kernikterusla sonuçlanır. CN-II sendromu, fenobarbital tedavisinden sonra serum bilirubin seviyelerinde %30' dan fazla bir azalma göstermesi ile CN-I sendromundan ayırt edilebilir. Tedavi yenidoğan döneminde agresif fototerapiyi ve fenobarbital tedavisini içerir. Bu hastaların prognozu genellikle iyidir (72).

B) Gilbert sendromu (GS)

GS, popülasyonun %3-13'ünde meydana gelen ve en yaygın görülen kalıtsal hiperbilirubinemi sendromudur. Otozomal resesif kalıtım gösterir. UGT1A1 aktivitesinde azalma görülür (72).

GS, yenidoğanlarda genellikle klinik belirti vermez. ABO uygunsuzluğu veya glikoz-6-fosfatat dehidrojenaz eksikliği, talasemi, pılor stenozu gibi eşlik eden hastalıklar varsa bilirubin değerleri daha da yükselir ve klinik bulgular gelişebilir. Bu tür bebekler şiddetli hiperbilirubinemi ve hatta kernikterus gelişimi açısından yüksek risk altındadır. Bu bulgular dışında yenidoğan döneminde genellikle tanı konulamaz (73-75). GS kalıtsal bir hastalık olmasına rağmen asemptomatik olarak genç erişkinlerde görülür. Hemoliz veya karaciğer hasarı bulguları yoktur. Hafif, aralıklı indirekt hiperbilirubinemi olarak ortaya çıkar. Rutin laboratuvar testleri unkonjuge hiperbilirubinemi dışında normaldir. Hemoliz, açlık, ateşli hastalık, fiziksel zorlanma veya stres gibi durumlar bilirubin düzeyleri artabilir (72).

C) Hipotiroidizm

Konjenital hipotiroidide UGT aktivitesi azalmıştır. Yenidoğanların yaklaşık %10'unda uzun süreli ve şiddetli sarılığa neden olur. Tiroid fonksiyonu testleri yapılmalıdır. Tiroid hormonu tedavisiyle hiperbilirubinemi hızla azalır (60).

2.4.2. Direkt Hiperbilirubinemi

Direkt hiperbilirubinemi ciddi hastalık durumlarında görülür. Her zaman patolojiktir. Serumda total bilirubin düzeyi 5 mg/dL üzerindeyken %20' sinden çoğu direkt bilirubin olduğu durumlarda veya serumda 1mg/dL 'den fazla direkt bilirubin olması durumu direkt hiperbilirubinemi olarak adlandırılır.

Direkt hiperbilirubinemi, karaciğerin bilirubini konjuge etme sürecinde veya konjuge edilmiş bilirubinin safra yoluyla atılımında bir problem olduğunda ortaya çıkar. Biliyer atrezi, sepsis, kolestaz, galaktozemi, tirozinemi, koledok kisti gibi durumlar en sık nedenleridir. Medikal ve cerrahi tedavi gerekebilir. Hastalık bulguları spesifik olmayabilir bu yüzden yenidoğanlarda tanı koymak güç olabilir ve tedavi gecikebilir. Etkin tedavi ve iyi prognoz sağlamak için erken tanı çok önemlidir (76).

2.4.3. Uzamış Sarılık

Term bebeklerde iki haftadan uzun süren, preterm bebeklerde ise üç haftadan uzun süren sarılık uzamış sarılık olarak adlandırılır. Anne sütü sarılığı en sık nedenidir. Diğer nedenler arasında hemolitik hastalıklar, hipotiroidi, Crigler-Najjar sendromu, Gilbert sendromu, pilor stenozu ve üriner enfeksiyonlar bulunur. Düzenli olarak takip edilmelidir. Uzamış sarılık vakalarının çoğu, uygun tedavi ve izleme başarılı bir şekilde yönetilebilir. Ancak altta yatan ciddi nedenlerin tespiti ve tedavisi büyük önem taşır (40).

2.5. Bilirubin Toksisitesi

Patolojik ve ilerleyici indirekt hiperbilirubineminin gecikmiş tanısı ve tedavisi, bilirubin kaynaklı ensefalopati olarak adlandırılan nörolojik bozukluklara yol açabilir. Bu komplikasyon, geçici olabileceği gibi kalıcı da olabilir (77, 78).

Bilirubin nörotoksisitesinin yenidoğanda erken dönemdeki belirtileri akut bilirubin ensefalopatisi (ABE) olarak tanımlanırken, bilirubin toksisitesinin kalıcı ve kronik sekelleri kernikterus olarak adlandırılır (2, 78).

Bilirubine bağılı beyin hasarı birincil olarak kandaki unkonjuge bilirubin konsantrasyonuna ve pH'a bağılıdır. Kanda albümine bağlanma kapasitesini aşacak kadar unkonjuge bilirubin miktarı varlığında veya bilirubinin albümine bağlanmasını azaltan maddelerin bulunması halinde bilirubinin beyin dokusuna geçişi artar. Ayrıca yenidoğan döneminde kan-beyin bariyeri (KBB) henüz olgunlaşmamıştır ve geçiş daha kolay olur. Hipoksik-iskemik ensefalopati, prematürite, sepsis ve menenjit gibi hastalıklar da KBB'de hasara neden olarak geçişi kolaylaştırır (78, 79).

Globus pallidus, bazal ganglionlar, substantia nigra, hipokampus, talamik çekirdekler, putamen çekirdekleri, dentat nükleus ve serebellum bilirubinin neden olduğu toksisiteye karşı en hassas beyin bölgeleridir ve bu bölgelerde simetrik bir etkilenme olur. Ayrıca üçüncü, dördüncü ve altıncı kranial sinirler de sık etkilenir. Otopside bu bölgelerde yoğun sarı renk oluşumu indirekt bilirubinin birikimini göstermiştir. Bilirubinin özellikle beyin bazal ganglionlarında birikme eğilimi göstermesinin ve hücre içine girdikten sonra nöronal hasara yol açmasının altında yatan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır (19, 78, 80).

Bilirubinin indüklediği nörolojik disfonksiyon (BİND), bilirubin ensefalopatisi ile ilişkili bozuklukları tanımlamak için kullanılan bir terimdir. BİND, hafif düzeydeki fark edilemeyen nörolojik sorunlardan, akut bilirubin ensefalopatisi ve sarılık sonrası kalıcı etkileri de içeren geniş bir klinik yelpazede görülebilir (77). Tablo 3'de BIND skorlamasının nasıl yapıldığı gösterilmektedir (4).

Tablo 3. BİND skorlaması (19).

Klinik bulgular	skor
1) Mental durum	
Normal	0
Beslenme azalmış, uykulu ancak uyandırılabilir	1
Emme zayıf, irritabl, letarjik,	2
Beslenemiyor, nöbet, semikoma/koma,	3
2) Kas tonusu	
Normal	0
Hafif/orta hipotoni	1
Hafif /orta hipertoni	2
Opistotonus ve retrokollis	3
3) Ağlama durumu	
Normal	0
Tiz sesli olarak uyandırıldığında ağlama	1
Sakinleştirilmesi zor ve tiz sesle ağlama	2
Ağlamama veya sakinleşmeme	3

BİND: Bilirubin in indüklediği nörolojik disfonksiyon

Toplam BİND puanı:

Puan 1-3: Hafif derecede akut bilirubin ensefalopatisi; fototerapi tedavisi ihtiyacı total bilirubin değerlerine göre belirlenir. Bu durumdaki bebeklerde "Auditory Brainstem Response" (ABR) testi önemli olup, anormal sonuçlar orta düzey ABE ihtimalini gösterir.

Puan 4-6: Orta düzey ABE, hemen tedavi gerekli (yoğun fototerapi ve gerekirse kan değişimi).

Puan 7-9: İleri düzey ABE, hızlı şekilde kan değişimi uygulanmalıdır.

2.5.1. Akut Bilirubin Ensefalopatisi

Tedavi edilmemiş şiddetli hiperbilirubineminin önlenebilir bir nörolojik sekolidir. Birkaç gün içerisinde ilerleme gösterir ve 3 klinik faza ayrılır.

Erken evre: Halsizlik, hipotoni, azalmış hareketlilik ve zayıf emme görülür. Klinik bulgular belirsizdir. Hızlı terapötik müdahale yapılmalıdır.

Orta evre: Tonusta artma, iritabilite ve orta derecede stupor gibi bulgular görülür. Bebekte boyunda retrokollis veya opistotonus gözlenebilir. Acil kan değişimi bazı olgularda santral sinir sistemi bulgularında gerileme gözlenmiştir.

İleri evre: Derin stupor veya koma, artmış tonus, beslenmeyi gerçekleştirilememesi ve inleyen bir ağlama ile karakterizedir. Bu aşamada merkezi sinir sistemi hasarı geri dönüşümsüz olabilir ve çoğu bebekte sonradan kronik bilirubin ensefalopatisi gelişir (78).

2.5.2. Kronik Bilirubin Ensefalopatisi

Kronik bilirubin ensefalopatisi, kernikterus olarak da adlandırılır. Kernikterus, Almanca kökenli bir terim olup, şiddetli sarılık nedeniyle ölen bebeklerde sarı renge boyanan bazal ganglionları tanımlamak için kullanılmıştır ve patolojik bir tanıdır. Geri dönüşümsüzdür. Mortalite %10 kadar yüksek olabilir (2). Klinik tetradı;

1. Koreoatetoid serebral palsi
2. Yüksek frekanslı sensörinöral işitme kaybı
3. Dikey bakış felci
4. Dental mine hipoplazisi

Mental retardasyon genellikle nadir rastlanır. Bununla birlikte, bazı olgularda yalnızca izole sensörinöral işitme kaybı belirti olarak ortaya çıkabilir (60, 78).

Bilirubin seviyeleri hangi düzeyde iken kernikterus geliştiği tam olarak belli değildir. Ancak kernikterus vakalarının %90'ında TSB seviyelerinin 25 mg/dL'nin üzerinde görüldüğü saptanmıştır (81).

2.6. Yenidoğan Sarılığının Tanısı ve Değerlendirilmesi

Sarılığın tanısındaki ilk bulgu cilt ve skleraların sararmasıdır. Sarılığın gözle değerlendirilmesi aydınlık bir ortamda ve bebek çıplak bir şekildeyken yapılmalıdır (19). Kramer, sarılığın sefalokaudal yayılımının serum bilirubin düzeyleriyle bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur (82, 83) (Tablo 4). Bu yayılımın nedeni olarak vücut distal kısımlarındaki kan akışının azalması veya vücut bölgelerinin yüzey lipid tabakalarının değişiklik göstermesi gibi hipotezler ortaya atılmış ancak tam nedeni hala açıklanamamıştır (83).

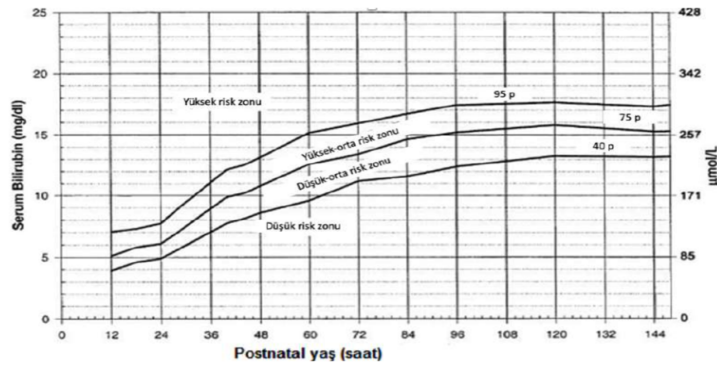
Tablo 4. Kramer'in dermal zonlara göre belirlediği yaklaşık bilirubin seviyeleri (82)

Dermal zon	Ortalama \pm SD (mg/dl)	Ortalama \pm SD(mmol/dl)
Yüz	5,9 \pm 0,3	101 \pm 5
Göbek üst kısmı	8,9 \pm 1,7	152 \pm 29
Göbek alt kısmı	11,8 \pm 1,8	201 \pm 31
Ekstremitte proksimali	15,0 \pm 1,7	257 \pm 29
Ekstremitte distali	>15	>257

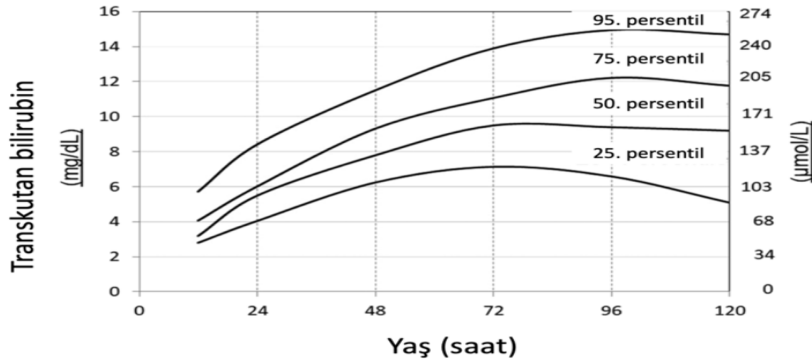
Sarılığın gözle görülerek değerlendirilmesi, TSB düzeylerini doğru bir şekilde tahmin etmek için yeterli değildir. Irklar arası cilt renklerinin değişmesi, bebeğin fototerapi alması gibi durumlarda bebeklerde görsel muayene ile TSB düzeylerini tahmin etmek hatalı sonuçlara neden olur (84). Sarılığı olan her bebekte bilirubin düzeyleri dikkatlice değerlendirilmelidir. Bilirubin nomogramı kullanılarak hiperbilirubinemi gelişme riski belirlenmeli ve buna göre gerekli önlemler alınmalıdır (85).

Postnatal yaşa göre hazırlanan nomogramın kullanımı, bilirubin düzeylerinin takibini kolaylaştırır ve ileride hiperbilirubinemi gelişme riski olan bebeklerin belirlenmesine yardımcı olur. Bhutani nomogramı 1999 yılından beri kullanılmaktadır

ama kullanımı hala tartışmalıdır. Bu nomogramın erken bilirubin seviyelerini tespit edemeyeceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır. Etnik farklılıkları doğru yansıtmadığı düşünülmektedir. Başka bir çalışmada transkutanöz bilirubinometri (TcB) ile ölçülen total bilirubin sonuçlarının kullanıldığı TcB eğrileri kullanılarak nomogram oluşturulmuştur. Ama günümüzde ilk oluşturulan Bhutani nomogramlarının kullanılması sürmektedir. Şekil 5 ve Şekil 6’ da TSB ve TcB nomogramları gösterilmiştir (19).



Şekil 5. Bebeklerin hiperbilirubinemi risk durumunu belirlemek için oluşturulan bilirubin nomogramı



Şekil 6. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan, sağlıklı olan ve anne sütü ile beslenen yenidoğanların postnatal bilirubin seviyelerinin doğal ilerleyişini gösteren transkutanöz bilirubin nomogramı

Bilirubin seviyeleri çeşitli yöntem ve cihazlarla ölçülebilir. Bilirubin seviyeleri değerlendirilirken yaygın ve güvenilir klinik yöntem serum total bilirubin düzeyinin

laboratuvardaki analizörlerle kimyasal olarak ölçülmesidir. Ancak bunun için venöz kan alınması gerekir ve her zaman yeterli kan elde edilemeyebilir.

Kimyasal olmayan fotometrik yöntemlerle de total bilirubin seviyeleri ölçülebilir. Kan gazı ölçüm aletleri bu yöntemi kullanır. Az miktarda kan yeterlidir ve santrifüje ihtiyaç duyulmaz. Bebekte çeşitli sebeplere bağlı olarak kan gazı analizi yapılmasının gerekli olduğu durumlarda bu metodla bilirubin tayini tercih edilebilir. Yapılan bazı çalışmalar TSB ile iyi bir korelasyon gösterdiğini, ancak total bilirubin değerleri 15 mg/dl' yi aştığında aralarındaki uyumun bozulduğunu göstermektedir (13, 85).

Total bilirubin seviyelerinin ölçümü TcB cihazları ile cilt üzerinden de gerçekleştirilebilir. Bu cihazlar cilt üzerinden total serum veya plazma bilirubinini ölçer. Sarılık geliştiği görülen bebeklerde TcB ölçümleri kullanılması kan örneği alınma sıklığını azaltır. Yaygın kullanımının şiddetli hiperbilirubinemi sıklığını ve fototerapi için hastaneye yeniden yatış sıklığını azalttığını gösteren çalışmalar vardır. Cilt rengi koyu olan ve fototerapi tedavisi alan bebeklerde TcB kullanımı doğru sonuçlar vermeyebilir. Ayrıca yüksek bilirubin düzeylerinde TcB ölçümleri TSB ölçümlerinden daha düşük sonuçlar verebilir bu yüzden standart laboratuvar yöntemleri ile doğrulanması gerekir (11).

Bazı durumlarda TCB güvenilir değildir. TSB ile değerlendirilme önerilir (19).
Bunlar;

1. Sarılığın bebekte ilk 24 saatte ortaya çıkması durumunda
2. Bebeklerde TcB >13 mg/dL ise
3. Bebek fototerapi alıyorsa
4. Bebeğe tedavi kararı verilmiş ise
5. Bilirubin nomogramında bilirubin değeri 75. persentilin üzerinde ise
6. TcB düzeyi, önerilen fototerapi sınırının %70'ine ulaşan bebekler

Tedavi gerektiren düzeyde hiperbilirubinemi gelişen, tekrarlanan bilirubin ölçümlerinde persantil atlayan, öyküde ve fizik muayenede sarılığı açıklayacak bir neden bulunmayan bebeklerde çeşitli tetkikler yapılması gerekmektedir. Sarılığın etyolojisini belirlemek doğru tedavi planlanması için önemlidir.

APA'nın yenidoğan sarılığı kılavuzunda, gebelik süresi 35 haftayı aşan sarılıklı bebekler için laboratuvar incelemelerinin hangi koşullarda yapılması gerektiği tanımlanmıştır (21) (Tablo 5).

Tablo 5. Sarılıklı bebeklerde yapılacak laboratuvar incelemeleri: APA önerileri (19)

Endikasyon	Değerlendirme
İlk 24 saatte sarılık meydana gelmesi	TSB ölçümü
Yenidoğanın yaşına göre bilirubin seviyelerinin yüksek olması	TcB ve/veya TSB ölçümü
Öykü ve fizik muayene ile nedeni açıklanamayan hızlı yükselen TSB değeri veya fototerapi tedavisi alıyor ise	Kan grubu ve direkt Coombs testi Tam kan sayımı ve periferik yayma değerlendirilmesi Direk bilirubin seviyesi ölçümü Retikülosit sayımı, G6PD ölçümü ve yapılabiliyorsa ETCOc TSB ölçümlerinin bebeğin yaşına göre 4-24 saat aralıklarla tekrarlanması.
Fototerapi tedavisine yanıtı yok veya TSB düzeyi kan değişimi sınırına yükseldiyse	Retikülosit sayımı, Albumin ölçümü, G6PD ölçümü, ETCOc yapılmalı
Direkt bilirubin yüksekliğinde	İdrar tetkiki ve İdrar kültürü alınması, Sepsis değerlendirmesi
3 haftadan uzun süren sarılık	Total ve direkt bilirubin ölçümü, Direkt bilirubin seviyesi artmış ise kolestaz sebeplerinin araştırılması, Hipotiroidizm yüngünden araştırılması ve tiroid fonksiyon testlerinin bakılması

2.7. Hiperbilirubineminin Önlenmesi

Gebelik döneminde her anneye, kan grubu ve olası Rh uyumsuzluğuna bağlı gelişebilecek antikolları tespit etmek için test yapılması gerekmektedir. Eğer gebelik esnasında bu testler yapılmamışsa ve anne Rh negatifse, bebeğin doğumu sonrası hemen bebeğin kordon kanında kan grubunun ve direkt Coombs testlerinin yapılması gerekmektedir. Rh negatif anneler ayrıca, Rh duyarlılaşmasını önlemek amacıyla anti-D immünglobulin tedavisi almalıdır. Hiperbilirubinemi açısından risk taşıyan bebekler yakından izlenmeli ve gerekirse fototerapi ile tedavi edilmelidir.

Tüm yenidoğanların emzirilmesi hiperbilirubinemiye önlemek için çok önemlidir. Gün içinde bebekler en az 8-12 kez emzirilmelidir. Yenidoğanlara su ya da

şekerli su verilmemesi tavsiye edilir. Aileler bebek taburcu olmadan önce beslenme ve sarılık hakkında eğitilmelidir (11).

2.8. Hiperbilirubinemi Tedavisi

Yenidoğanda indirekt bilirubin yüksekliğinin en çok korkulan komplikasyonu kernikterusdur. Tedaviye erken başlanması ve izlenmesi önemlidir. Bilirubin seviyesini düşürmek için fototerapi, kan değişimi veya medikal tedaviler uygulanabilir.

Bebeğin gebelik haftası, postnatal yaşı, bilirubin düzeyi ve klinik risk faktörleri varlığına bağlı olarak tedavi endikasyonları değişebilir. Gebelik haftası 35 haftanın üzerinde olan bebeklerde, hem bebekteki risk faktörleri hem de gebelik haftası dikkate alınarak oluşturulmuş APA eğrileri kullanılabilir. Gebelik haftası 35 haftanın altındaki bebeklerde ise doğum ağırlığına göre hazırlanmış tablolar kullanılabilir (85).

2.8.1. Fototerapi

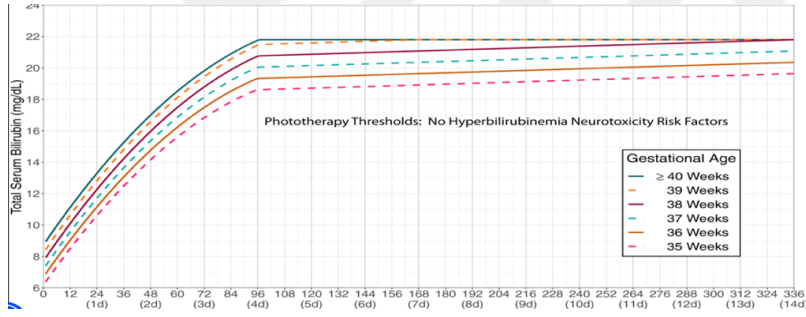
Fototerapi (FT), yenidoğanlarda total bilirubin konsantrasyonlarını azaltmak için kullanılan bir yöntemdir. Fototerapidaki esas olay bilirubinün foton absorbe etmesidir. Bu yöntem, özellikle hafif ve orta dereceli sarılık vakalarında etkili bir tedavi seçeneğidir (86, 87). Fototerapi sırasında bilirubin molekülleri üzerinde gerçekleşen üç ana değişiklik; konfigürasyonel izomerizasyon, yapısal izomerizasyon ve fotooksidasyondur (86).

Fototerapiye karar verilirken, total serum bilirubin seviyesi, bilirubin seviyesindeki artışın hızı, bebeğin doğum kilosu, gestasyonel yaşı, postnatal dönemi ve nörotoksisite risk faktörleri gibi değişkenler göz önünde bulundurulmalıdır. Hiperbilirubinemi nörotoksisite risk faktörlerinin varlığı, fototerapi tedavi eşliğini düşürür. Klinisyenlerin klinik instabilite veya sepsis dahil olmak üzere nörotoksisite risk faktörlerinin varlığını belirlemede kendi yargılarını kullanmaları önemlidir. Nörotoksisite risk faktörleri Tablo 6' da verilmiştir (11, 19).

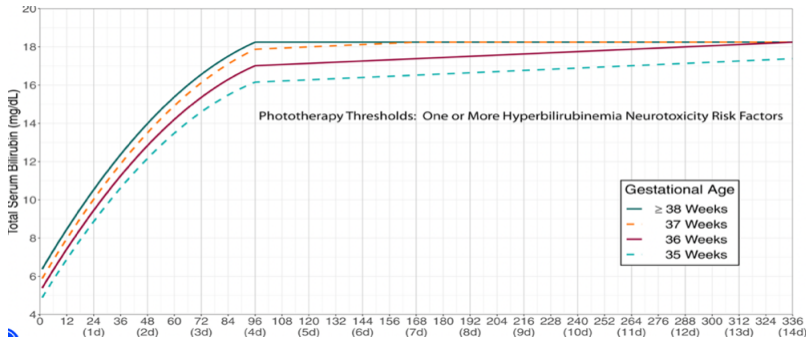
Tablo 6. Hiperbilirubinemi Nörotoksisite Risk Faktörleri

Risk faktörleri
Önceki 24 saatte klinik bozulmalar
Gebelik haftası <38 hafta ve bu risk prematürelilik evresi arttıkça artar
G6PD eksikliği veya diğer hemolitik durumlar, İzimmün hemolitik hastalık
Sepsis meydana gelmesi
Albumin <3,0 g/dL

Fototerapinin ne zaman başlaması gerektiğine dair net bir veri yoktur. Amerikan pediatri akademisi güncel kılavuzu gebelik yaşı ≥ 35 hafta üzerindeki bebeklerde Şekil 7 ve Şekil 8'in kullanılmasını önermektedir. Tablo 6'da belirtilen nörotoksisite risk faktörleri yoksa Şekil 7, en az biri bulunuyor ise Şekil 8'in kullanılmasını önermiştir (11). Gebelik yaşı < 35 hafta olan yenidoğanlarda ise Tablo 7 'deki fototerapi ve kan değişim sınırları kullanılabilir (85).



Şekil 7. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan ve nörotoksisite risk faktörü bulunmayan bebeklerde postnatal yaşa göre oluşturulmuş fototerapi tedavi eşikleri (11)



Şekil 8. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan, bir veya daha fazla nörotoksisite risk faktörü bulunan bebeklerde postnatal yaşa göre oluşturulmuş fototerapi tedavi eşikleri (11)

Tablo 7. Gebelik yaşı <35 hafta olan bebeklerde doğum ağırlığına göre oluşturulmuş fototerapi ve kan değişimi tedavi eşikleri (85)

Doğum ağırlığı (g)	24-48 saat	49-72 saat	72.saatten sonra
<1000	4 (10)	5 (11)	6 (12)
1000–1499	5 (12)	7 (14)	8 (16)
1500–1999	7 (15)	9 (16)	10 (17)
≥2000	8 (17)	12 (18)	14 (19)

İlk şekil fototerapi eşik düzeyini, parantez içindeki şekil ise değişim transfüzyon eşik düzeyini (mg/dL) göstermektedir. Risk faktörlerinin mevcut olması durumunda 2 birim altı olan değerler kullanılır. Risk durumları: Asidoz, sepsis, asfiksi, izoimmün hemolitik hastalık, G6PD eksikliği, belirgin uyusukluk, ısıyı koruyamama, albümin <3 g/dL

Tedaviye verilen yanıt, bilirubin seviyelerinin düzenli olarak ölçülmesiyle takip edilir. Fototerapi durdurulduktan sonra bilirubin seviyelerinde ani bir artış olup olmadığı izlenmelidir (19). Fototerapi tedavisi sonrası çeşitli komplikasyonlar gelişebilir. Sıvı kaybı ve ciltte döküntüler meydana gelebilir. Yeterli hidrasyon ve beslenme sağlanmalıdır. Prematüre bebeklerde hipokalsemi gelişebilir. Özellikle 1500 gr'ın altındaki prematüre bebeklerde yüksek güçlü FT cihazları kullanıldığında patent duktus arteriozus (PDA) görülme sıklığı artabilir. Direkt hiperbilirubinemi tanımlı bebeklerde bronz bebek sendromu ortaya çıkabilir. Zararsızdır ve FT tedavisi kesildikten sonra bebek düzelir. Konjenital porfiriası bulunan hastalarda fototerapi kontrendikedir (85).

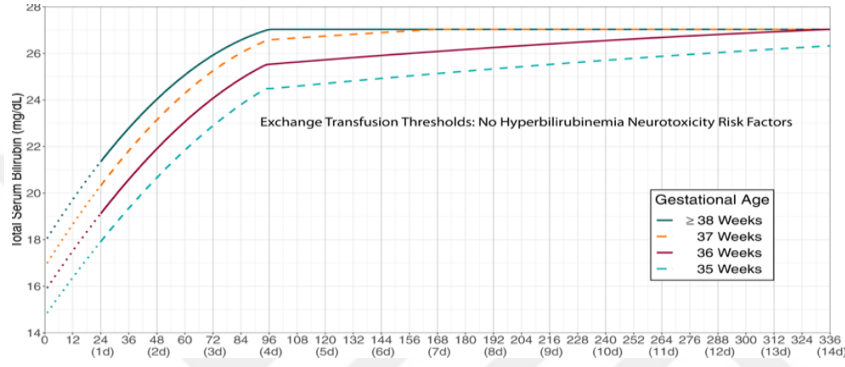
2.8.2. Kan Değişimi

Kan değişimi işlemine ihtiyaç erken ve etkin fototerapi ile giderek azalmaktadır. Bu yöntemin temel amacı, kernikterusun önlenmesidir.

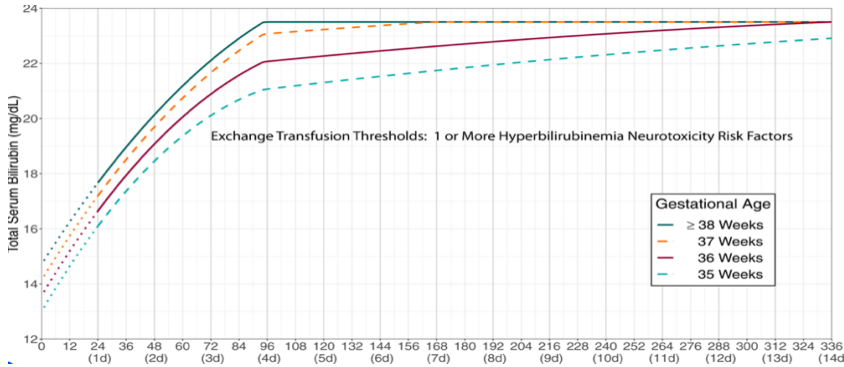
Bebekte bilirubin seviyesi, yoğun fototerapi tedavisine rağmen belirlenen eşik değerlerin üzerinde seyrettiğinde veya bebekte yüksek bilirubine bağlı olarak ensefalopatisi belirtileri gözlemlendiğinde kan değişimi gerekebilir. Bebeğin kan değişimi ihtiyacı, bilirubin seviyesi, bilirubin artış hızı, bilirubin/albumin oranı,

doğum ağırlığı, gebelik haftası, hemoglobin değeri gibi çeşitli faktörler göz önünde bulundurularak değerlendirilmelidir (21, 85).

Amerikan pediatri akademisi, gebelik yaşı ≥ 35 hafta bebeklerde kan değişimi eşik değerleri için Şekil 9 ve Şekil 10'daki grafiklerin kullanılmasını önermektedir. Nörotoksisite risk faktörü bulunmayan bebeklerde Şekil 9, bulunan bebeklerde Şekil 10'un kullanılması önerilmiştir (11).



Şekil 9. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan ve nörotoksisite risk faktörü bulunmayan bebeklerde postnatal yaşa göre oluşturulmuş kan değişimi tedavi eşikleri (11)



Şekil 10. Gebelik yaşı ≥ 35 hafta olan, bir veya daha fazla nörotoksisite risk faktörü bulunan bebeklerde postnatal yaşa göre oluşturulmuş kan değişimi tedavi eşikleri (11)

Serum albumin düzeyi ve Bilirubin/ albumin oranı (B/A)

3 gr/dL altına inen serum albumin seviyeleri kernikterus riskini arttırabilir ve buna göre fototerapi dahil diğer tedavilere başlanma eşiğinin ayarlanması gereklidir. Kan değişimi kararı verilirken tek başına bilirubin/albumin (B/A) oranı kullanılmaz ancak total serum bilirubin seviyeleriyle birlikte alınacak tedavi kararını etkiler. Term bebeklerde, B/A oranı belirlenen değerleri geçtiğinde, kernikterus riski artar, fakat albumin infüzyonu rutin olarak önerilmez (21, 85, 88).

Kan değişimini bağlı ölüm oranları sağlıklı bebeklerde %1 den azdır. Apne, bradikardi, hipo-hipertansiyon, trombositopeni, omfalit, graft versus host hastalığı gibi komplikasyonlar gelişebilir.

2.9. Total Bilirubin Analizinde Kullanılan Metodlar (17)

A) Diazo Metod

- 1) Mallory Evelyn Metod
- 2) Jendrassik-Grof Metod
- 3) Diklorofenil-Diazonyum-Tetrafloroborat Kullanılan Metod
- 4) Dyphylline kullanılan Metod

B) Direkt Spektrofotometrik Metod

- 5) Bilirubinometre
- 6) Kuru kimya yöntemi
- 7) Transkutanöz bilirubinometre

C) Oksidasyon Metodu

- 8) Enzimatik oksidasyon
- 9) Kimyasal oksidasyon

D) HPLC (Yüksek performanslı sıvı kromatografi)

E) Florometrik Metod

F) Elektrokimyasal Metod

G) Kemilüminesan Metod

H) İnce Tabaka Kromatografisi

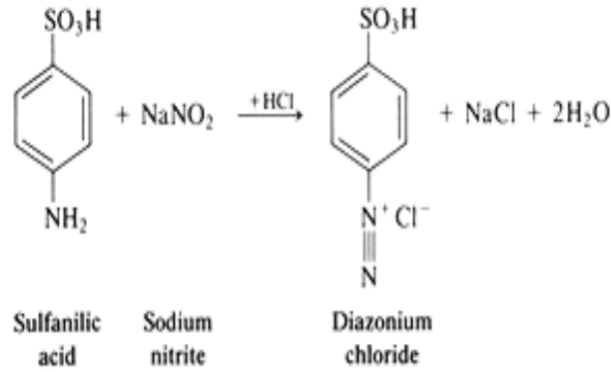
I) Kapiller Elektroforez

2.9.1. Diazo Metodu

Diazo metodu, bilirubin molekülünün diazotize edilmiş bir bileşik ile reaksiyona girerek renkli bir azo bileşiği oluşturması prensibine dayanır. Bu renk değişimi spektrofotometrik olarak ölçülerek bilirubin konsantrasyonu belirlenir (41).

İlk olarak 1883 yılında Ehrlich, idrar numunelerinde bilirubinin diazotize edilmiş sülfanilik asit çözeltisi ile renkli bir ürün oluşturmak üzere reaksiyona girdiğini görmüştür. Daha sonra bu reaksiyon klasik diazo reaksiyonu olarak tanımlanmış ve günümüzde yaygın olarak kullanılan çoğu yöntem bu reaksiyona dayandırılmıştır (41).

Diazotize edilen ürün genellikle sülfanilik asittir. Şekil 11' de sülfanilik asitin sodyum nitrit ile HCL (Hidroklorik asit) varlığındaki diazotizasyonu gösterilmiştir. Bunun dışında günümüzde 2,4 Dikloranilin, p-Nitroanilin gibi bileşikler de diazo reaktifi olarak kullanılabilir (17).



Şekil 11. Diazotize sülfonilik asit oluşumu (17)

Diazotize sülfanilik asitin (diazo reaktifi), bilirubin ile reaksiyonu sonucunda, nötr pH'ta kırmızımsı-mor renkte, düşük veya yüksek pH değerlerinde mavi renkte olan iki azodipirrol (azobilirubin) üretilir. Oluşan azobilirubinlerin spektrofotometrede oluşturduğu absorbans ölçülerek bilirubin değerleri belirlenir (8).

1913 de Van den Berg diazo reaksiyonunun serum örneklerine uygulanabilir olduğunu, ancak bu reaksiyonun serumda sadece bir hızlandırıcı (akselatör, çözücü) varlığında gerçekleştiğini bulmuştur. Alkolü hızlandırıcı olarak kullanmıştır. Alkol yokluğunda diazo reaktifi ile reaksiyona giren bilirubin fraksiyonu direkt bilirubin olarak tanımlanmış, reaksiyon karışımına alkol ilavesinden sonra reaksiyona giren

bilirubin fraksiyonu ise indirekt bilirubin olarak tanımlanmıştır (7). Van den Bergh ve Muller yönteminin çok sayıda varyasyonu geliştirilmiştir. Hepsi, alkol gibi, indirekt bilirubinin diazo reaktifi ile reaksiyonunu kolaylaştıran çeşitli hızlandırıcılardan birini kullanır (8).

1937'de Mallory ve Evelyn serum örneklerindeki bilirubin kantitasyonunda klasik diazo reaksiyonu ve hızlandırıcı olarak %50 metanol çözeltisi kullanımı ile kullanılabilir ilk klinik yöntemi geliştirmişlerdir. 1938 yılında Jendrassik ve Grof bilirubin ölçümü için diazo reaksiyonu ile hızlandırıcı olarak kafein-benzoat-asetat kullanılan bir yöntem tanımlamışlardır. Günümüzde bilirubin ve fraksiyonlarının ölçümü için yaygın kullanılan yöntemler Mallory Evelyn tarafından tanımlanan yöntemin modifikasyonlarıdır. Total bilirubin ve konjuge bilirubin ölçülür. Unkonjuge bilirubin ise total bilirubinden konjuge bilirubinin çıkarılmasıyla hesaplanır (41).

Bilirubin +Diazolanmış sulfanilik asit+hızlandırıcı >>>2 azobilirubin (Total bilirubin)

Bilirubin +Diazolanmış sulfanilik asit >>>>2 azobilirubin (Konjuge bilirubin)

Total bilirubin- Konjuge bilirubin=Unkonjuge bilirubin

Bilirubinün bilinen üç fraksiyonundan ikisi olan konjuge ve unkonjuge bilirubin tarihsel olarak çözünürlüklerinin farklı olmasıyla ayırt edilmiştir. Konjuge bilirubin plazmada serbest halde bulunan polar ve suda çözünen bir bileşiktir. Diazo reaktifi ile hızlandırıcı olmadan reaksiyona girer ve ölçülür. Bu sebeple direkt bilirubin olarak adlandırılmıştır. Unkonjuge bilirubin plazmada albümine bağlı bulunan polar olmayan suda çözünmeyen bir maddedir. Bu özelliklerinden dolayı unkonjuge bilirubin sadece bir hızlandırıcı varlığında reaksiyona girer. Hızlandırıcı varlığında reaksiyona girmesi sebebiyle indirekt bilirubin olarak tanımlanmıştır (7, 17, 41).

1950'lerde, kromatografi yöntemi ile bilirubinün üç farklı fraksiyonunun tanımlanması yapılmış, direkt ve indirekt bilirubinün kimyasal yapısı ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Bu fraksiyonlar unkonjuge bilirubin ve konjuge bilirubin olan; bilirubin monoglukuronid ve bilirubin diglukuroniddir. Daha sonra dördüncü fraksiyon olarak bilirubinün proteinlere, özellikle albümine kovalent bağlanmasıyla oluşan delta bilirubin (δ -bilirubin) fraksiyonu tanımlanmıştır (7). Delta bilirubin fraksiyonu yalnızca belirgin hepatik tıkanıklık olduğunda görülür. Bu bilirubin varlığı çoğu

laboratuvar yönteminde konjuge bilirubin olarak reaksiyona girer. Serumdaki total bilirubini konjuge bilirubin, unkonjuge bilirubin ve delta bilirubin oluşturur (41).

A) Mallory Evelyn Metodu

Vücutta bilirubin, farklı biçimlerde bulunur ve her bir bilirubin fraksiyonunun diazo reaktifi ile etkileşim hızı da birbirinden farklıdır. Konjuge bilirubin, bu reaksiyona hızlı bir şekilde katılırken, δ -bilirubin ise daha yavaş bir reaksiyon gösterir. Unkonjuge bilirubinin reaksiyon hızı, çözeltinin pH değerine bağlı olarak değişir. Genellikle pH 6'da reaksiyonun hızlandırılması amacıyla çeşitli hızlandırıcılar eklenir. Unkonjuge bilirubini tespit edebilmek için çözücü olarak çeşitli kimyasallar kullanılmış olsa da en yaygın olarak kullanılanı metanoldür (17).

Direkt bilirubin ölçümü için pH değeri 1.2'ye ayarlanır. Bu düşük pH değeri, bilirubinin diazo reaktifiyle reaksiyona girmesini sağlar. Diazolanmış sülfanilik asit molekülü, bilirubinin santral metilen karbonu ile reaksiyona girerek 2 molekül azobilirubin oluşturur. Üretilen azobilirubin kırmızı-mor renktedir ve 560 nm'de maksimum absorpsiyon verir. Total bilirubin ölçümü için ortama hızlandırıcı eklenir ve pH genellikle 6 'ya getirilir (17, 41).

B) Jendrassik-Grof Metodu

Jendrassik ve Grof tarafından 1938'de tanımlanan ve daha sonra Doumas ve meslektaşları tarafından modifiye edilen diazo yönteminin, serumdaki total bilirubin seviyelerinin ölçümü için tekrarlanabilir ve güvenilir sonuçlar verdiği gözlenmiştir (8). Bu methoda serum veya plazma örneğinden 2 alikot alınır ve biri diazo reaktifi ile hızlandırıcı olmadan reaksiyona girerek mor renkli azobilirubin oluşturur. Oluşan azobilirubin 540 nm de spektrofotometrik olarak ölçülür ve konjuge bilirubin değeri belirlenir. Örneklerden diğeri diazo reaktifi ile hızlandırıcı olarak sodyum benzoat-kafein çözeltisi kullanılarak reaksiyona sokulur ve azobilirubin elde edilir. Hızlandırıcı kullanılması unkonjuge bilirubinin çözünürlüğünü artırır. Daha sonra askorbik asit ilavesi ile diazo reaksiyonu sonlandırılır. Çözelti daha sonra alkali tartarat kullanılarak alkali hale getirilir. Alkali tartarat kullanımı ile azobilirubin maddesinin absorpsiyon spektrumu, daha yoğun bir mavi renge kayar ve ölçüm 600 nm dalga boyunda yapılır. Total bilirubin değeri elde edilmiş olur (17).

Amerikan Klinik Kimya Derneği ve Ulusal Standartlar Bürosu, çözüldürücü olarak kafein-benzoat kullanan modifiye Jendrassik-Grof prosedürünü total bilirubin ölçümü için aday referans yöntem olarak göstermişlerdir (41).

C) Diklorofenil-diazonyum-tetrafloroborat Kullanılan Metod

Diklorofenil-diazonyum-tetrafloroborat kullanılan yöntem, bilirubin ölçümünde kullanılan gelişmiş bir tekniktir. Bu yöntem, bilirubin ile özel olarak reaksiyona giren bir kimyasal olan diklorofenil-diazonyum-tetrafloroboratu (DCP-DT) diazonyum tuzu olarak kullanır. DCP-DT, bilirubin ile reaksiyona girerek ölçülebilir bir renk değişimi üretir. Bu renk değişimi spektrofotometre aracılığıyla ölçülür ve bilirubin miktarı belirlenir (17).

D) Dyphylline Kullanılan Metod

Dyphylline kuru-kimya teknolojisinde total bilirubin ölçümü için kullanılır. Kuru kimya teknolojisi, analitik reaktiflerin bir polyster filme katmanlar halinde uygulanmasına dayanmaktadır. Bilirubin ölçümü için bu yöntem, Jendrassik-Grof'un geliştirdiği diazo reaksiyonunun bir modifikasyonunu kullanır. Burada, unkonjuge bilirubini albümden ayırmak amacıyla difilin ve yüzey aktif bir madde kullanılır. Reaksiyon sürecinde, konjuge bilirubin, unkonjuge bilirubin ve δ -bilirubin, azobilirubin oluşturmak için diazo reaktifi ile tepkimeye girer. Elde edilen azobilirubin bileşiği yansıma spektrofotometresi ile ölçülür. 540 nm ve 460 nm dalga boylarında ölçüm yapılır. 540 nm'deki ölçüm, azobilirubinin oluşumuna bağlı olarak toplam bilirubin miktarını belirler. 460 nm'deki ölçüm ise spektral interferansı düzeltmek için kullanılır. Bu, özellikle hemoglobun gibi diğer bileşiklerin ölçümü etkilememesi için önemlidir. Kuru-kimya teknolojisiyle bilirubin ölçümü, laboratuvar işlemlerinde otomasyonu ve kullanım kolaylığını önemli ölçüde artırır. Bu yöntem, özellikle alan kısıtlaması olan ve hızlı sonuçlara ihtiyaç duyulan klinik ortamlar için büyük bir avantaj sunar (17)

2.9.2. Direkt Spektrofotometrik Metod

A) Bilirubinometre

Total bilirubin, direkt spektrofotometri yöntemi ile ölçülebilir. Direkt spektrofotometri yönteminde belirli bir dalga boyundaki ışık, analiz edilen maddenin

içinden geçirildikten sonra ışığın ne kadarının emildiği ölçülür ve burda emilen ışık miktarı ile ölçülmek istenen maddenin konsantrasyonu doğru orantılıdır. Bilirubin 454 nm' de verdiği maksimum absorbansa dayanarak ölçüm gerçekleştirilir. Bilirubinometre cihazlarında 454 ve 540 nm olmak üzere iki dalga boyu kullanılır. Bilirubin 454 nm de maksimum absorbans verir. Numunede bulunan oksijen hemoglobinin de 454 ve 540 nm dalga boylarında absorbans verir. Cihaz bilirubin konsantrasyonunu 454 nm oluşan absorbansdan 540 nm de oluşan absorbansı çıkararak elde eder. Bu yöntem kullanılırken, örnekte sadece unkonjuge bilirubin olduğu ve tek interfere edici maddenin hemoglobin olduğu varsayılır (17). Ayrıca bu yöntem 3 aya kadar olan yenidoğanlardan alınan örnekler için uygundur, çünkü daha büyük bebeklerde ve yetişkinlerde bulunan karotenoidler de 454 nm bölgesinde emilim yaparak sonuçları interfere eder (17).

Bilirubinometreler yenidoğan ünitelerinde kullanılır. Ancak, kan örneklerinin santrifüj edilmesi ve serum/plazmanın cihaza yerleştirilmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Ayrıca bilirubinometre ile elde edilen sonuçlar, rutin yöntemlerle iyi bir korelasyon gösterse de, önemli miktarda δ -bilirubin içeren örneklerde sonuçlar güvenilir değildir. Delta bilirubin , unkonjuge bilirubinden çok daha yüksek absorbans verir ve bu da ölçümlerin hatalı çıkmasına neden olur (17, 89). Tam kan bilirubin ölçümlerinin (kan gazından) ve transkütan bilirubinometrelerin kullanılabilir olmasıyla, bu tür bilirubinometreler şu anda daha az kullanılmaktadır.

B) Kan Gazı Analizörlerinde Bilirubin Ölçümü

Direkt spektrofotometri yöntemi artık tam kan bilirubin ölçümleri için kan gazı analizörlerine entegre edilmiştir. Kan gazı CO-oksümetri modülünde, hemolize edilmiş veya edilmemiş kan örnekleri kullanılarak bilirubin ve hemoglobin konsantrasyonları çoklu dalga boyu ölçümleri yapılarak belirlenir. Total bilirubin konsantrasyonu daha sonra çok bileşenli bir algoritma kullanılarak hesaplanır ve serum konsantrasyonuna eşdeğer bir değere dönüştürülür (90). Bu ölçüm yönteminin, hasta başında ve hızlı sonuç verebilmesi özellikle kritik durumdaki hastalar için hızlı karar verme ve tedavi yönetimi sağlar (17). Kan gazında bilirubin analizinde santrifüje gerek olmaması, düşük örnek hacminin yeterli olması ve aynı anda diğer kritik parametrelerin ölçülebilmesi de diğer önemli avantajlarıdır.

C) Transkutanöz Bilirubinometre

Transkutanöz bilirubinometre, yenidoğanlarda neonatal sarılığı etkili bir şekilde tespit etmek ve yönetmek amacıyla, invaziv olmayan, hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır (91). 1970'de Japonya'da Yamanouchi gibi araştırmacıların önemli katkılarıyla transkutanöz bilirubin ölçüm teknolojisi gelişmeye başlamıştır. İlk bilirubinometrelerden biri olan ikterometre, hemoglobinin neden olduğu rengi düzeltmek amacıyla iki farklı filtre kullanan bir yansıma fotometresiydi ve sekiz farklı vücut bölgesinde ölçüm yapılmasını gerektiriyordu. Bu tür ölçümlerin doğruluğunu artırmaya yönelik çalışmalar başarıya ulaşmış ve kabul edilebilir performans seviyelerine sahip cihazlar geliştirilmiştir (8, 17).

Günümüzde, yenidoğanlarda bilirubin ölçümü için birkaç non-invaziv transkutan bilirubinometre mevcuttur. Bu cihazlar genellikle belirli bir dalga boyunda (450 nm ile 550 nm arasında, genellikle mavi veya yeşil ışık) ışık yayan bir LED veya başka bir ışık kaynağı kullanır. Bu ışık dalga boyu, bilirubinün yüksek emilim gösterdiği dalga boyudur. Daha sonra cildin yüzeyinden geri yansıyan ışık, cihazın sensörü tarafından algılanır. Sensör, yansıyan ışığın yoğunluğunu ölçer. Cihaz, emilim ve yansıma verilerini kullanarak ciltteki bilirubin miktarını hesaplar. Bu hesaplama, cihazın kalibrasyonuna ve kullanılan ölçüm teknolojisine bağlıdır (17).

Transkutanöz bilirubinometre ölçüm yeri olarak alın, sternum, kalça kemiği, alt karın gibi bölgeler kullanılmalıdır. En sık kullanılan ölçüm yeri alın ve sternumdur. Transkutanöz bilirubinometre ölçümünü etkileyen çeşitli durumlar vardır. Hemoglobin konsantrasyonu, melanin konsantrasyonu, cilt tarafından saçılan ışık miktarı ve cilt yüzeyinin altındaki kemik derinliği ölçümleri etkileyen bazı faktörlerdir (92).

2.9.3. Oksidasyon Metodu

A) Enzimatik Oksidasyon

Bilirubinün spesifik enzimler kullanılarak okside edilmesi yoluyla ölçülmesi işlemidir. Myrothecium verrucaria MT-1'den izole edilen bilirubin oksidaz kullanılarak bilirubin tayini için enzimatik bir yöntem geliştirilmiştir. Bilirubin oksidaz ile konjuge bilirubin direkt olarak biliverdine okside edilir. 425-460 nm aralığındaki absorbansın azalması spektrofotometrik olarak saptanır ve direkt bilirubin değeri ölçülmüş olur. pH değişiklikleri veya ortama eklenen hızlandırıcı bileşiklerle

indirekt bilirubinin de oksitlenmesi sağlanarak total bilirubin değeri ölçülür. Total bilirubin ölçülmesinde, indirekt bilirubini albuminden ayırıp çözünürlüğünü arttırmak ve tepkimeleri hızlandırmak için sodyum dodesil sülfat (SDS) ve/veya sodyum kolat kullanılabilir (17). Yaklaşık pH 8'de ve sodyum kolat ve sodyum dodesil sülfat varlığında, dört bilirubin fraksiyonu da biliverdine oksitlenir, bu da mor ve en sonunda da renksiz ürünlere oksitlenir. 425 veya 460 nm'de absorbansın azalması, total bilirubin konsantrasyonu ile orantılıdır (8). Enzimatik yöntemler otomatize edilmiştir ve sonuçlar, Jendrassik-Grof yöntemiyle elde edilen sonuçlarla iyi bir uyum içindedir. Ancak, yüksek konjuge bilirubin konsantrasyonuna sahip örneklerde farklılıklar gözlemlenmiştir (17).

B) Kimyasal Oksidasyon (Vanadat oksidaz metodu)

Vanadat oksidaz kullanılarak yapılan bilirubin ölçüm yöntemi, bilirubini biliverdine dönüştüren bir oksidasyon sürecine dayanır. Bu reaksiyon, yaklaşık pH 2,9 gibi asidik bir ortamda gerçekleşir. Deterjan ve vanadatın birlikte kullanımı, hem konjuge hem de unkonjuge olmayan bilirubin formlarının etkili bir şekilde oksitlenmesini sağlar. Bu kimyasal dönüşüm sırasında, bilirubinin sarı rengi azalır ve optik yoğunlukta düşüş meydana gelir. Bilirubin konsantrasyonu, 451/545 nm'de ölçülen sarı rengin optik yoğunluğundaki azalmayla doğru orantılıdır. Ölçüm, bir son nokta reaksiyonu olarak gerçekleştirilir. Bu yöntem, bilirubin düzeylerini hızlı ve etkili bir şekilde belirleme imkanı sunar (93, 94).

2.9.4. HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemleri, dört bilirubin fraksiyonunu, yani unkonjuge bilirubini, mono-konjuge bilirubini, di-konjuge bilirubini ve proteinlere güçlü bir şekilde bağlı delta bilirubini kantitatif olarak belirler (17). HPLC yöntemleri fototerapi sırasında üretilen fotoizomerleri tespit etme kapasitesine de sahiptir. HPLC bilirubin fraksiyonlarının ayrıntılı analizi için güçlü bir araçtır, ancak yöntemin karmaşıklığı, kalibrasyon sorunları ve yüksek maliyeti nedeniyle, rutin klinik laboratuvar uygulamalarında sınırlı kullanımı vardır. Ayrıca, total bilirubin ölçümünde referans yöntem olarak kabul edilmez çünkü doğruluk ve hassasiyeti yetersizdir. Belirli araştırma ve tanısal durumlar için değerli bilgiler sağlayabilir (8).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Materyal ve Yöntem

Bu çalışma, Ankara Bilkent Şehir Hastanesi yenidoğan polikliniğine Ocak 2024 ile Ekim 2024 tarihleri arasında rutin kontrol veya sarılık belirtileriyle gelen ve önceden bilinen ciddi bir sağlık problemi bulunmayan hastaları içerecek şekilde prospektif olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın etik onayı 1 Kasım 2023 tarihinde, Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Etik Kurulu'nun 4199 numaralı kararı ile alınmıştır.

Çalışmaya 209 Türk yenidoğan dahil edilmiş olup, daha önce fototerapi tedavisi alan ve bilinen bir hastalığı bulunan yenidoğanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Hastalardaki total bilirubin seviyeleri 4 farklı cihazda 4 farklı metod kullanılarak ölçülmüştür;

- 1) Vanadat oksidaz metodu (Siemens Atellica cihazı)
- 2) Diazo metodu (Roche Cobas c701/702 cihazı)
- 3) Optik metod (MBJ20 Transkutanöz bilirubinometre cihazı)
- 4) Non-kimyasal fotometrik metod (Rapidlab 1265 kan gazı cihazı)

3.2. Örnek Alımı

Biyokimyasal analizlerde pediatrik jelli biyokimya tüplerine alınan 1 ml venöz kan, non-kimyasal fotometrik analizlerde heparinli kapiller tüplere alınan 0,2 ml tam kan örnekleri kullanılmıştır. Transkutanöz bilirubin ölçümleri sternumdan gerçekleştirilmiştir. Önce transkutanöz bilirubin ölçümleri gerçekleştirilmiş ve sonrasında diğer analizler yapılmıştır.

3.3. Parametrelerin Analizi

3.3.1. Vanadat Oksidaz Metodu (Siemens Atellica Cihazı)

Siemens Atellica Cl (Siemens Healthineers, Erlangen, Almanya) cihazında total bilirubin seviyeleri ölçülmüştür.

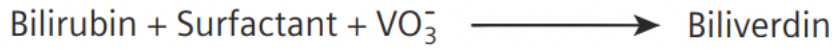
Atellica cihazı kullanılarak yapılan total bilirubin ölçümleri, kimyasal oksidasyon yöntemine dayanmaktadır ve oksidasyon yapıcı madde olarak vanadat

oksidaz kullanılır (95). Yenidoğan ve yetişkinlerin insan serumu veya plazmasında (lityum heparin) ölçüm gerçekleştirilir. Bu yöntemde pH 2,9 civarında iken bilirubin vanadat oksidaz varlığında oksitlenerek biliverdine dönüşür. Hem direkt hem de indirekt bilirubin, deterjan ve vanadatın etkisiyle oksitlenir. Oksidasyon sonucunda bilirubinin sarı rengindeki optik yoğunluk azalır ve bu azalış 451/545 nm dalga boylarında ölçülür. Total bilirubin değerleri ile optik yoğunluk azalışı doğru orantılıdır. Konsantrasyon, son nokta reaksiyonu olarak ölçülür. Ölçüm aralığı 2,5-599 $\mu\text{mol/l}$ (0,15-35 mg/dL)'dir (96).

Reaktifler:

Reaktif 1: Sitrata tamponu (pH 2,9) (0,1 mol/l); deterjan

Reaktif 2: Fosfat tamponu (pH 7,0) (10 mmol/l); sodyum metavanadat (4 mmol/l)



Şekil 12. Vanadat oksidaz yönteminde reaksiyon denklemi

Surfactant: Sürfaktan , VO₃: Vanadyum trioksit

3.3.2. Diazo Metodu (Roche Cobas Cihazı)

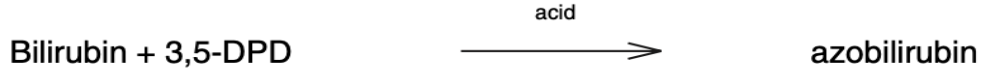
Roche Cobas c701/702 (Roche Diagnostics, Basel, İsviçre) cihazında total bilirubin seviyeleri ölçülmüştür.

Roche Cobas c701/702 analizörü kullanılarak gerçekleştirilen total bilirubin analizleri ise diazo metoduna dayanmaktadır. Yenidoğan ve yetişkinlerin insan serumu veya plazmasında (lityum heparin) ölçüm gerçekleştirilir. Bu yöntemde uygun bir çözme maddesinin varlığında total bilirubin güçlü asidik ortamda 3,5-diklorofenildiazonyum tuzuyla birleşir. Sonuçta kırmızı bir azoboyası oluşur. Oluşan bu boyanın yarattığı renk değişimi 600/546 nm dalga boylarında spektrofotometrik olarak ölçülür. Oluşan renk şiddeti ile total bilirubin doğru orantılıdır. Ölçüm aralığı 2,5-650 $\mu\text{mol/L}$ (0.15-38.0 mg/dL)'dir (97).

Reaktifler:

R1: Fosfat tamponu (50 mmol/L), deterjanlar, stabilizatörler, pH 1.0

R2: 3,5-diklorofenil diazonyum tuzu (≥ 1.35 mmol/L)



Şekil 13. Diazo yönteminde reaksiyon denklemi

3,5-DPD: 3,5-diklorofenil diazonyum tuzu
pH:1 asidik ortamında meydana gelir

3.3.3. Non-kimyasal Fotometrik Metod (Rapidlab 1265 Kan Gazı Cihazı)

Tam kanda neonatal bilirubin ölçümleri Rapidlab 1265 (Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Almanya) kan gazı cihazında gerçekleştirilmiştir.

Rapidlab 1265 kan gazı cihazı, neonatal tam kan örneklerindeki hemoglobin türevlerini ve bilirubin konsantrasyonlarını tespit etmek üzere çoklu dalga boyu spektrofotometrisi yöntemini kullanır ve bunu CO-oksimetri modülünde yapar. 450-500 nm aralığındaki dalga boylarında çoklu ölçümler gerçekleştirir. Ham bilirubin değerleri hesaplandıktan sonra hematokrit için düzeltme yapılır ve neonatal bilirubin değerleri elde edilir. En düşük ölçüm aralığı 0,7 mg/dL'dir. Bu yöntem için özel bir reaktif kullanılmamaktadır, cihazın ışık ve dalga boyu ölçümleri ile çalışmaktadır (98).

3.3.4. Optik Metod (MBJ 20 Transkutanöz Bilirubinometre Cihazı)

MBJ 20 transkutanöz bilirubinometri (Pekin M&B Elektronik Cihazlar, Pekin, Çin) cihazı kullanılarak cilt üzerinden total serum bilirubin ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

MBJ20 transkutanöz bilirubinometri cihazı, derideki bilirubinin emdiği belirli dalga boylarındaki ışığın yoğunluğunu ölçerek çalışır. Bu yöntem, bilirubinin emdiği spesifik dalga boylarında ışık yayar ve sonra bu ışığın ne kadarının geri yansıdığını ölçer. Yayılan ve yansıyan ışık yoğunlukları arasındaki fark, bilirubin konsantrasyonunun hesaplanmasında kullanılır. Cihaz ışık yayar ve yansımaları yakalar. Bu işlem genellikle sadece birkaç saniye sürer. MBJ20, ölçüm yapıldıktan hemen sonra bilirubin seviyesini dijital ekranında gösterir. Sonuç genellikle mg/dL

veya $\mu\text{mol/L}$ olarak verilir. Bu yöntem için özel bir reaktif kullanılmamaktadır. Cihaz, optik ve elektronik ölçüm yöntemleri ile çalışmaktadır (99).

3.4. Cihazların Analitik Performansı

3.4.1 Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik çalışması Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) EP15A-2 (User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline) kılavuzuna göre yapılmıştır. İki farklı düzeydeki kontrol materyalinde gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik çalışması gerçekleştirilmiştir. Tekrarlanabilirlik çalışması; Siemens Atellica, Roche Cobas ve Rapidlab 1265 cihazlarının total bilirubin analizleri için gerçekleştirilmiştir. Tekrarlanabilirlik verileri üretici tarafından beyan edilen değerlerle karşılaştırılmıştır.

3.4.2. Doğruluk

RIQAS (Randox international quality assessment scheme) programındaki 6 aylık dış kalite kontrol verilerinden % bias sonuçları elde edilmiştir. Doğruluk çalışması; Siemens Atellica cihazı ve Roche Cobas cihazlarının total bilirubin analizleri için gerçekleştirilmiştir.

3.5. İstatiksel Analiz

İstatiksel analizler; MEDCALC istatistik programı versiyon 19.1 ve IBM SPSS istatistik programı versiyon 27 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Grupların normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılıma uymayan ölçüm verileri için medyan (minimum-maksimum) değerleri hesaplanmıştır. Medyan farklarının karşılaştırılması için Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanılmıştır. Yöntemler arasındaki korelasyon karşılaştırmaları için Spearman korelasyon analizleri ayrıca yöntemler arasındaki uyumu ve ortalama farkı hesaplamak için Passing-Bablok regresyon analizleri ve Bland-Altman istatistikleri kullanılmıştır. ROC analizleri gerçekleştirilmiş ve her bir cut-off değeri için duyarlılık (sensitivite) ve özgüllük (spesifite) değerleri saptanmıştır. Ayrıca yöntemlerin hiperbilirubinemi riskini tahmin etmedeki uyumlarına bakılmış ve ikili olarak ağırlıklı kappa analizleri gerçekleştirilmiştir. $p < 0,05$ istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Cihazların Analitik Performans Bulguları

4.1.1. Tekrarlanabilirlik Bulguları

Rapidlab 1265 (non-kimyasal fotometrik) kan gazı cihazının tekrarlanabilirlik sonuçları

Gün içi tekrarlanabilirlik çalışması

Konsantrasyon	Ortalama \pm SS	% CV	Firmanın önerdiği % CV
20,1 mg/dL	19,9 \pm 0,12	0,60	1,2
12,98 mg/dL	13,8 \pm 0,10	0,72	2,0

SS: Standart sapma, CV:Varyasyon katsayısı (Coefficient of Variation)

Günler arası tekrarlanabilirlik çalışması

Konsantrasyon	Ortalama \pm SS	% CV	Firmanın önerdiği % CV
20,1 mg/dL	20,2 \pm 0,14	0,69	3,3
12,98mg/dL	14,1 \pm 0,18	1,27	3,6

SS: Standart sapma, CV:Varyasyon katsayısı (Coefficient of Variation)

Rapidlab 1265 cihazıyla yapılan ölçümlerde elde edilen % CV değerleri, belirlenen kabul edilebilir sınırların altında bulunmuştur.

Siemens Atellica (Vanadat Oksidaz) cihazının tekrarlanabilirlik sonuçları

Gün içi tekrarlanabilirlik çalışması

Konsantrasyon	Ortalama \pm SS	% CV	Firmanın önerdiği % CV
0,71 mg/dL	0,80 \pm 0,01	1,25	6,0
3,18 mg/dL	3,56 \pm 0,04	1,12	4,0

SS: Standart sapma, CV:Varyasyon katsayısı (Coefficient of Variation)

Günler arası tekrarlanabilirlik çalışması

Konsantrasyon	Ortalama \pm SS	% CV	Firmanın önerdiği % CV
0,71 mg/dL	0,82 \pm 0,02	2,40	9,0
3,18 mg/dL	3,59 \pm 0,05	1,40	5,0

SS: Standart sapma, CV: Varyasyon katsayısı (Coefficient of Variation)

Siemens Atellica cihazıyla yapılan ölçümlerde elde edilen % CV değerleri, belirlenen kabul edilebilir sınırların altında bulunmuştur.

Roche Cobas (Diazo) cihazının tekrarlanabilirlik sonuçları

Gün içi tekrarlanabilirlik çalışması

Konsantrasyon	Ortalama \pm SS	% CV	Firmanın önerdiği % CV
0,90 mg/dL	0,91 \pm 0,01	1,09	2,1
3,09 mg/dL	3,2 \pm 0,02	0,6	0,6

SS: Standart sapma, CV: Varyasyon katsayısı (Coefficient of Variation)

Günler arası tekrarlanabilirlik çalışması

Konsantrasyon	Ortalama \pm SD	% CV	Firmanın önerdiği % CV
0,90 mg/dL	0,91 \pm 0,02	2,1	2,1
3,09 mg/dL	3,34 \pm 0,02	0,59	0,8

SS: Standart sapma, CV: Varyasyon katsayısı (Coefficient of Variation)

Tüm cihazların tekrarlanabilirlik çalışmasındaki varyasyon katsayılarının üreticinin beyan ettiği sınırların altında olduğu saptanmıştır.

4.1.2. Doğruluk Bulguları

Siemens Atellica total bilirubin analizinin 6 aylık ortalama % bias sonuçları

Bias sonuçları RIQAS (Randox international quality assessment scheme) programındaki 6 aylık dış kalite kontrol verilerinden elde edilmiş ve ortalama % bias total bilirubin için 4,15 olarak hesaplanmıştır.

Roche Cobas total bilirubin analizinin 6 aylık ortalama % bias sonuçları

Bias sonuçları RIQAS (Randox international quality assessment scheme) programındaki 6 aylık dış kalite kontrol verilerinden elde edilmiş ve ortalama % bias 4,67 olarak hesaplanmıştır.

% Bias sonuçlarının RIQAS için kabul edilebilir limitler dahilinde olduğu görülmüştür. Ayrıca biasın bireysel ve bireyler arası biyolojik varyasyon toplamının ¼ ünden küçük olması önerilmiştir (100). Westgard sitesinde önerilen bireysel ve bireyler arası biyolojik varyasyon sırasıyla 21,8 ve 22,4'dür. Biasın 11,4 'den küçük olması önerilmektedir. Elde ettiğimiz bias sonuçları kabul edilebilir sınırlardadır.

Ayrıca Siemens Atellica (Vanadat oksidaz) ve Roche Cobas (Diazo) cihazlarının total bilirubin testi için total analitik hataları (TAH); % TAH=% Bias + 1,65 x % CV formülünden sırasıyla 6,13 ve 7,14 olarak hesaplanmıştır. Westgard sitesinde total bilirubin için önerilen % TAH: % 26,94'dür (101). Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazlarının % TAH değerleri izin veriler sınırlar içindedir.

4.2. Demografik Veriler

Çalışmaya dahil edilen 209 hastanın 105 (%50,2)'i erkek ve 104 (%48,8)'ü kadındı. Medyan (minimum-maksimum); gebelik yaşı 38 (35-41) hafta, postnatal yaş 5 (2-20) gün, doğum ağırlıkları 3210 (2300-4960) gr ve anne yaşları 25 (18-44) yıl'dı. Hastaların 16'sı preterm (35-37 hafta arasında) geri kalanı termdi (Tablo 8).

Tablo 8. İki yüz dokuz yenidoğanın demografik verileri

Değişkenler	Median (min-maks) veya n (%)
Gebelik yaşı (hafta)	38 (35-41)
Postnatal yaş (gün)	5 (2-20)
Erkek ve kadın cinsiyet (n (%))	105 (%50,2) ,104 (%48,8)
Doğum ağırlıkları (gr)	3210 (2300-4960)
Anne yaşı (yıl)	25 (18-44)

4.3. Farklı Yöntemler ile Analiz Edilen Total Bilirubin Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Bulguları

Farklı yöntemleri kullanan cihazların total bilirubin sonuçlarının Shapiro-Wilk normalite testine göre normal dağılıma uymadığı saptanmıştır ($p<0,05$).

Total bilirubin değerlerinin medyan (min-maks) değerleri vanadat oksidaz metodunu kullanan Siemens Atellica cihazında 15,5 (0,20-27,1) mg/dL, diazo metodunu kullanan Roche Cobas cihazında 15,3 (0,16 -27,4) mg/dL, non-kimyasal fotometrik metodu kullanan Rapidlab 1265 kan gazı cihazında 15,9 (0,70-28,5) mg/dL ve optik metodu kullanan MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazında 13,5 (0,10-20,3) mg/dL saptanmıştır (Tablo 9).

Tablo 9. Yenidoğanda total bilirubin analizinde tüm yöntemlerin tanımlayıcı istatistikleri

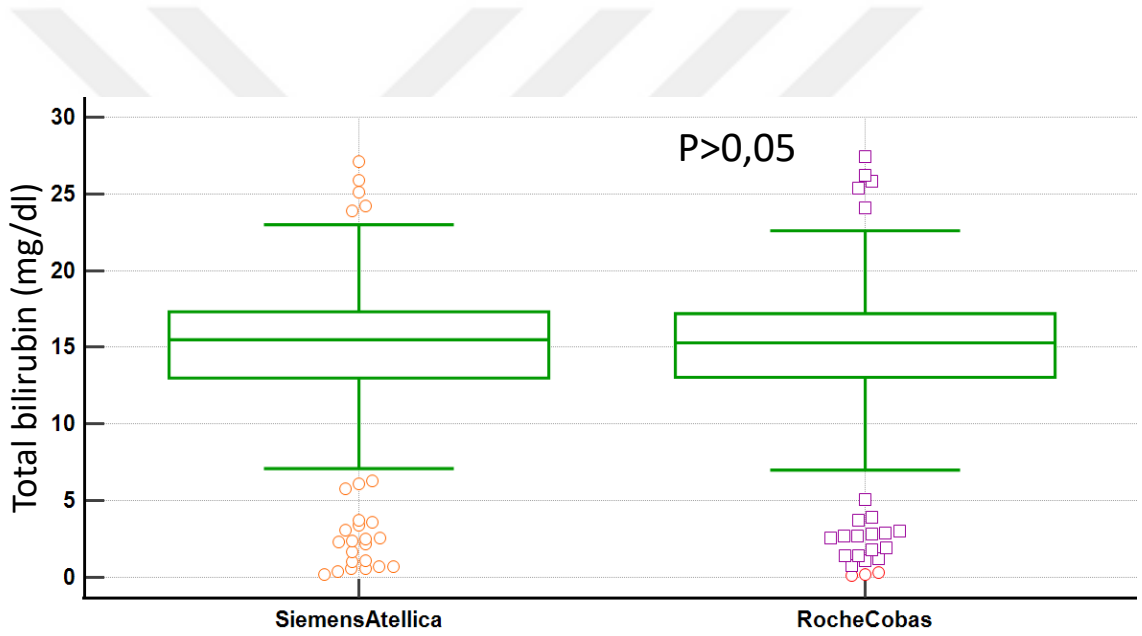
Total bilirubin (mg/dL)	Hasta sayısı (n)	Medyan (min-maks)
Siemens (Vanadat oksidaz metodu)	209	15,5 (0,20-27,1)
Roche (Diazo metodu)	209	15,3 (0,16-27,4)
MBJ 20 (Optik metod)	209	13,5 (0,10-20,3)
Rapidlab 1265 (Non-kimyasal fotometrik metod)	209	15,9 (0,70-28,5)

4.4. Yöntemlerin Sonuçlarının Karşılaştırılması

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar için Wilcoxon işaretli sıralar testi, Spearman korelasyon analizleri, Pasing-Bablok regresyon analizleri ve Bland-Altman analizleri kullanılmıştır.

A) Siemens Atellica Cihazı ve Roche Cobas Cihazının Total Bilirubin Sonuçlarının Karşılaştırılması

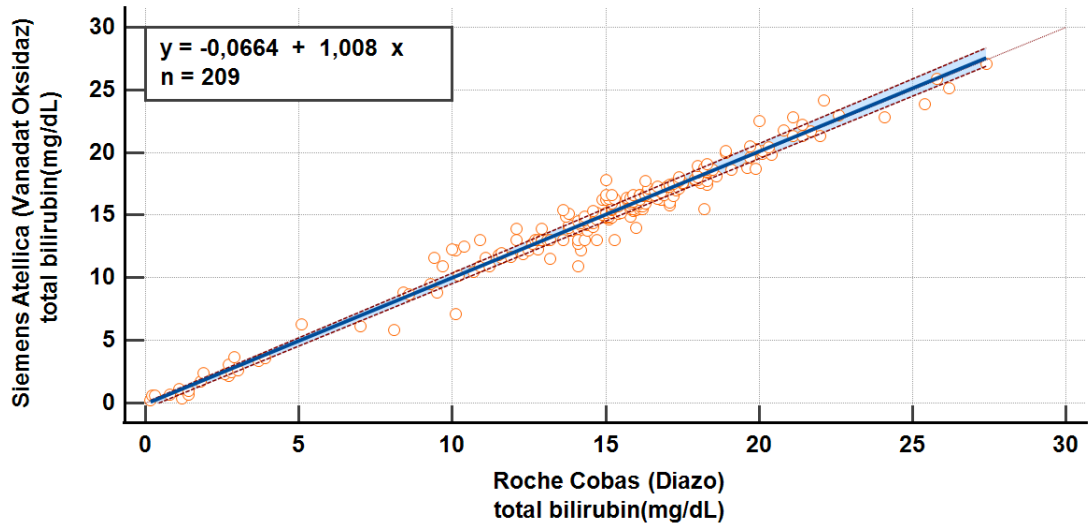
Siemens Atellica cihazı (vanadat oksidaz metodu) ile Roche Cobas (diazometodu) cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar testinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,337$) (Şekil 14).



Şekil 14. Siemens Atellica cihazı ile Roche Cobas cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

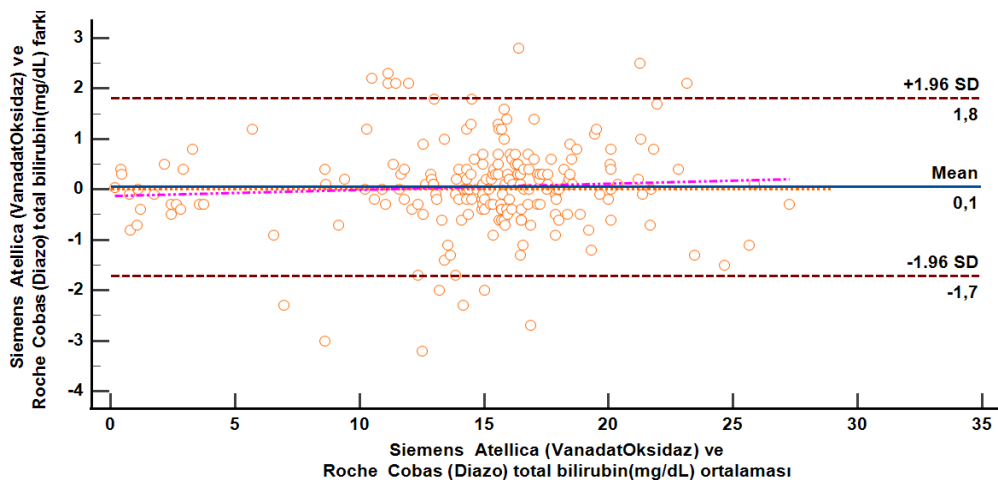
Siemens (Vanadat) ve Roche (Diazometodu) cihazlarının total bilirubin sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,337$).

Siemens Atellica cihazı ile Roche Cobas cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,964 saptanmıştır ($p<0,001$). Pasing-Bablok regresyon analizinde regresyon denklemi; $y= -0,0664 +1,008x$ saptanmıştır. Regresyon denklemine bakıldığında eğim ve regresyon eğrisinin iyi bir uyuma sahip olduğu görülmektedir (Şekil 15).



Şekil 15. Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

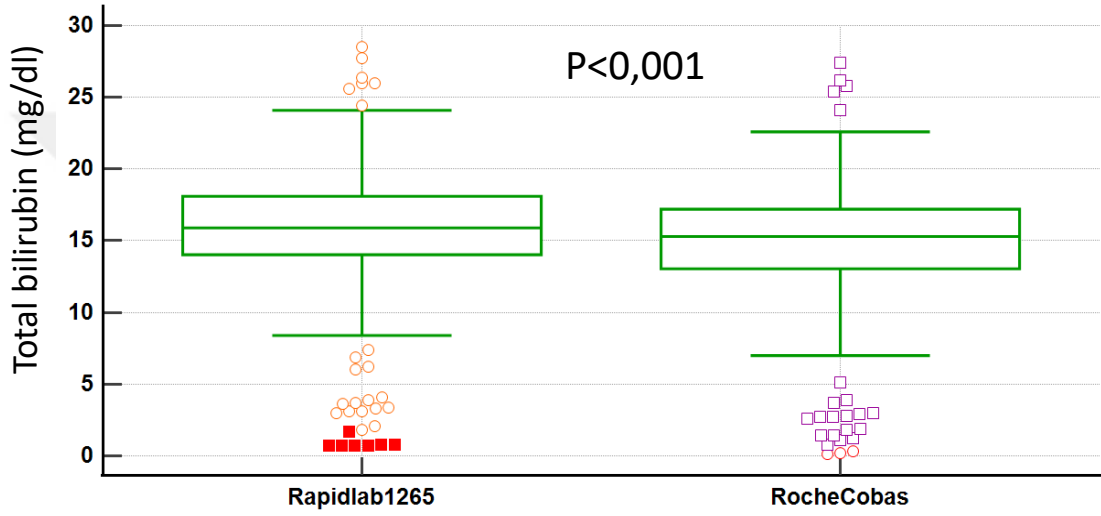
Siemens Atellica cihazı ile Roche Cobas cihazının total bilirubin (mg/dL) sonuçları arasında yapılan Bland-Altman analizinde ortalama fark + 0,1 mg/dL saptanmıştır. %95 güven aralığındaki limit değerleri -1,70 mg/dL ve +1,8 mg/dL olarak bulunmuştur. Grafiğe bakıldığında 209 numuneden 15'i uyum sınırları dışında görülmüştür. Ortalama fark istatistiksel açıdan anlamlı saptanmamıştır ($p=0,413$) (Şekil 16).



Şekil 16. Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

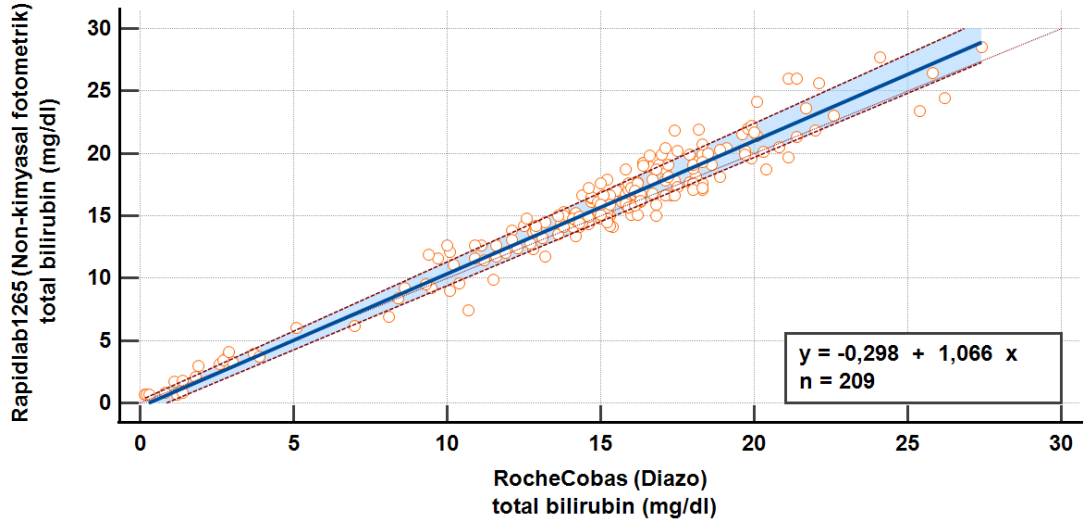
B) Roche Cobas Cihazının ve Rapidlab 1265 Kan Gazı Cihazının Total Bilirubin Sonuçlarının Karşılaştırılması

Roche Cobas (diazometodu) cihazı ve Rapidlab 1265 (non-kimyasal fotometrik metod) kan gazı cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar testinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0,001$) (Şekil 17).



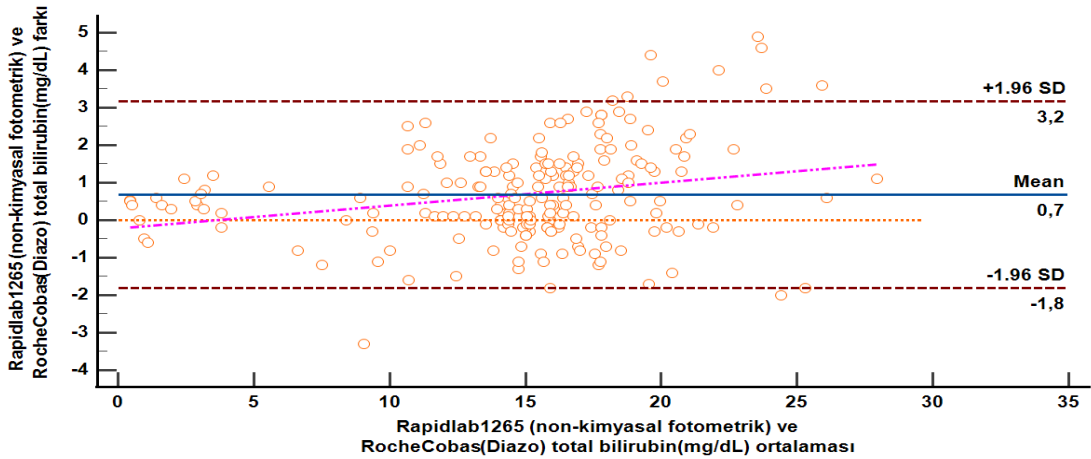
Şekil 17. Roche Cobas cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

Roche Cobas cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,948 saptanmıştır ($p < 0,001$). Pasing-Bablok regresyon analizinde regresyon denklemi $y = -0,298 + 1,066x$ saptanmıştır. Regresyon denkleminde bakıldığında uyum eğrisinin, regresyon eğrisinin altında kaldığı gösterilmiştir (Şekil 18).



Şekil 18. Roche Cobas ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

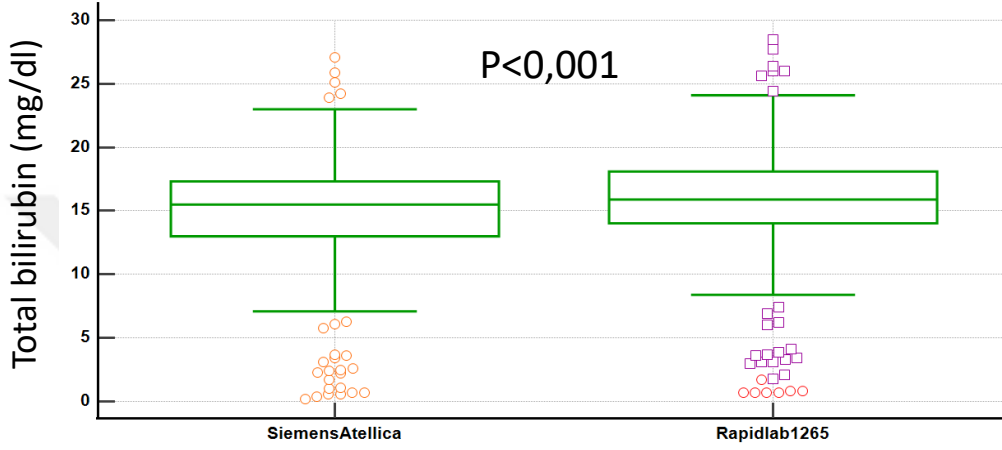
Roche Cobas cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Bland-Altman analizinde ortalama fark + 0,7 mg/dL saptanmıştır ($p < 0,001$). %95 güven aralığındaki limit değerleri -1,8 mg/dL ve +3,2 mg/dL saptanmıştır. Grafiğe bakıldığında 209 numuneden 9'unun uyum sınırları dışında olduğu görülmüştür (Şekil 19).



Şekil 19. Roche Cobas ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

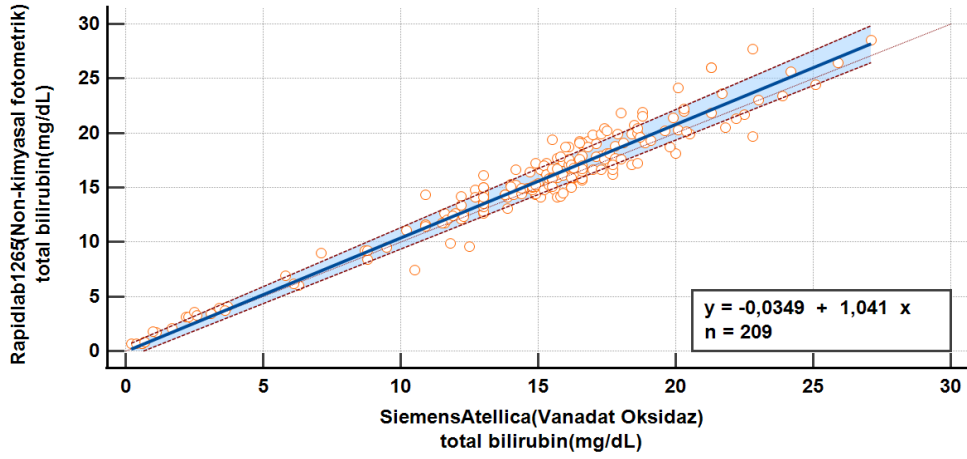
C) Siemens Atellica Cihazı ve Rapidlab 1265 Cihazının Total Bilirubin Sonuçlarının Karşılaştırılması

Siemens Atellica (vanadat oksidaz metodu) cihazı ve Rapidlab 1265 (non-kimyasal fotometrik metod) kan gazı cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar testinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,001$) (Şekil 20).



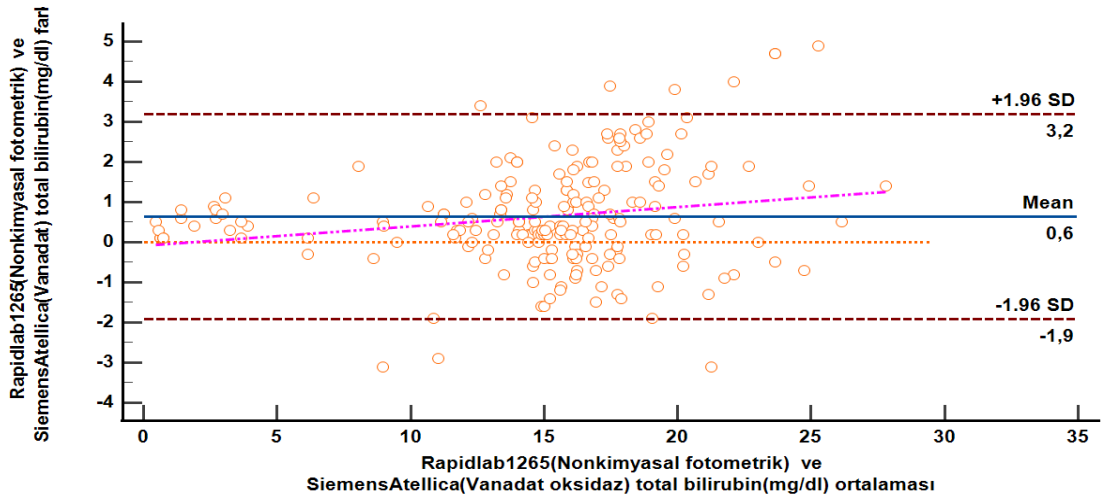
Şekil 20. Siemens Atellica cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

Siemens Atellica cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,943 saptanmıştır ($p<0,001$). Pasing-Bablok regresyon analizinde ise regresyon denklemi $y=-0,034+1,041x$ saptanmıştır. Regresyon denkleminde uyum eğrisinin, regresyon eğrisinin altında kaldığı gösterilmiştir (Şekil 21).



Şekil 21. Siemens Atellica ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

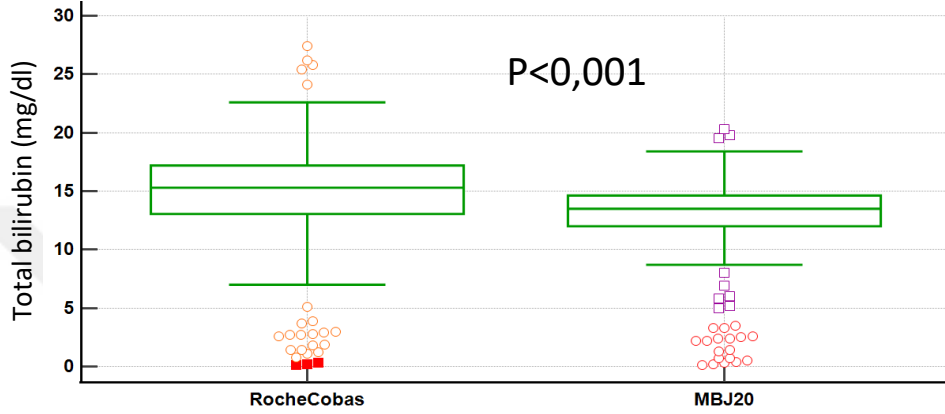
Siemens Atellica cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Bland-Altman analizinde ortalama fark +0,6 mg/dL saptanmıştır ($p < 0,001$). %95 güven aralığındaki limit değerleri -1,9 mg/dL ve +3,2 mg/dL saptanmıştır. Grafiğe bakıldığında 209 numuneden 9'unun uyum sınırları dışında olduğu görülmüştür (Şekil 22).



Şekil 22. Siemens Atellica ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

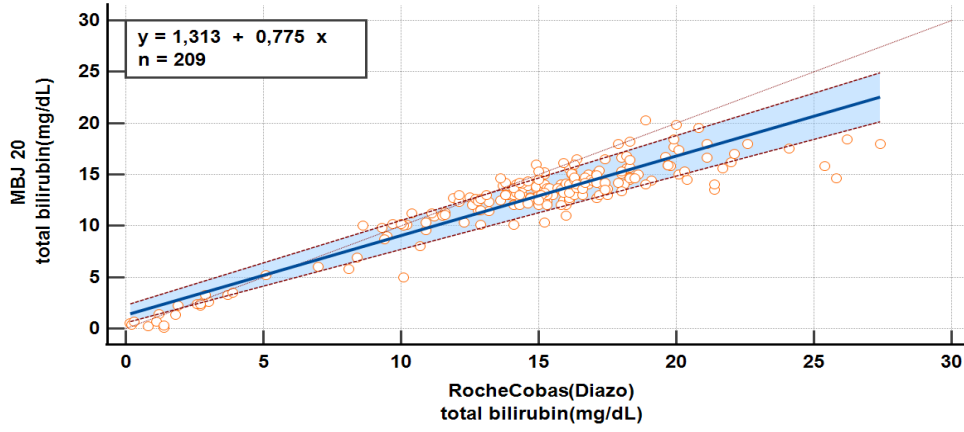
D) Roche Cobas Cihazının ve MBJ 20 Transkutanöz Bilirubinometre Cihazının Total Bilirubin Sonuçlarının Karşılaştırılması

Roche Cobas (diazometodu) cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre (optik metod) cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar testinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0,001$) (Şekil 23).



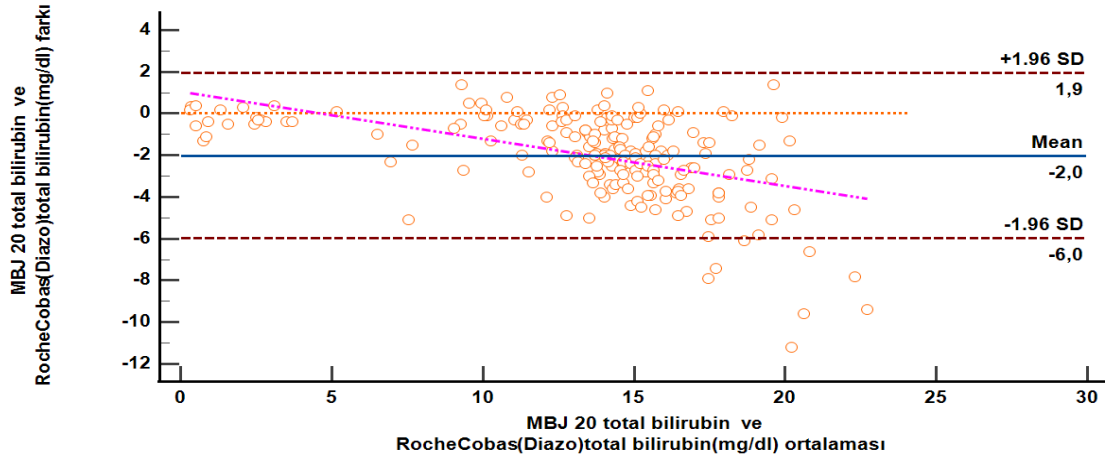
Şekil 23. Roche Cobas ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

Roche Cobas cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,850 saptanmıştır ($p < 0,001$). Pasing-Bablok regresyon analizinde ise regresyon denklemi $y = 1,313 + 0,775x$ saptanmıştır. Regresyon denkleminde bakıldığında uyum eğrisinin, regresyon eğrisinin üzerinde kaldığı gösterilmiştir. Bu da MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının, Roche Cobas cihazına göre total bilirubin sonuçlarını daha düşük ölçme eğiliminde olduğunu göstermektedir (Şekil 24).



Şekil 24. Roche Cobas ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

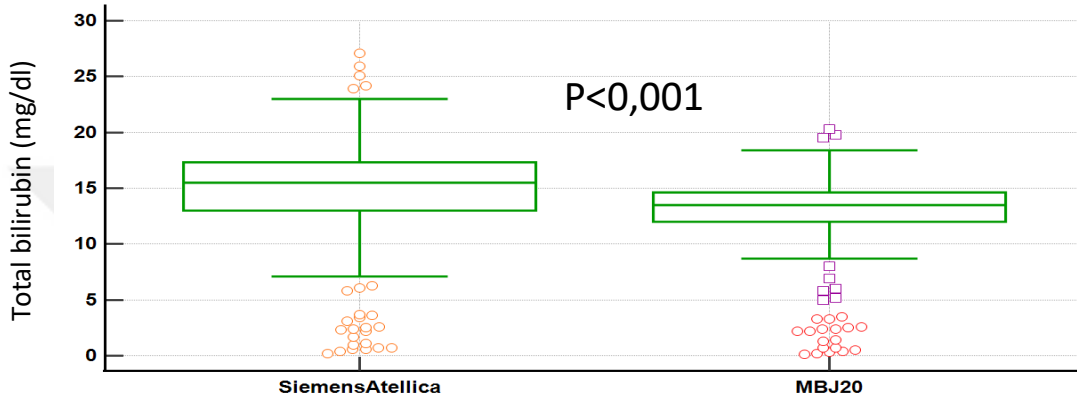
Roche Cobas cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Bland-Altman analizinde ortalama fark -2 mg/dL saptanmıştır ($p < 0,001$). %95 güven aralığındaki limit değerleri -6,0 mg/dL ve +1,9 mg/dL saptanmıştır. Grafiğe bakıldığında 209 numuneden 7'sinin uyum sınırları dışında olduğu görülmüştür. Yüksek bilirubin seviyelerinde farkın arttığı grafikte gözlenmiştir (Şekil 25).



Şekil 25. Roche Cobas ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

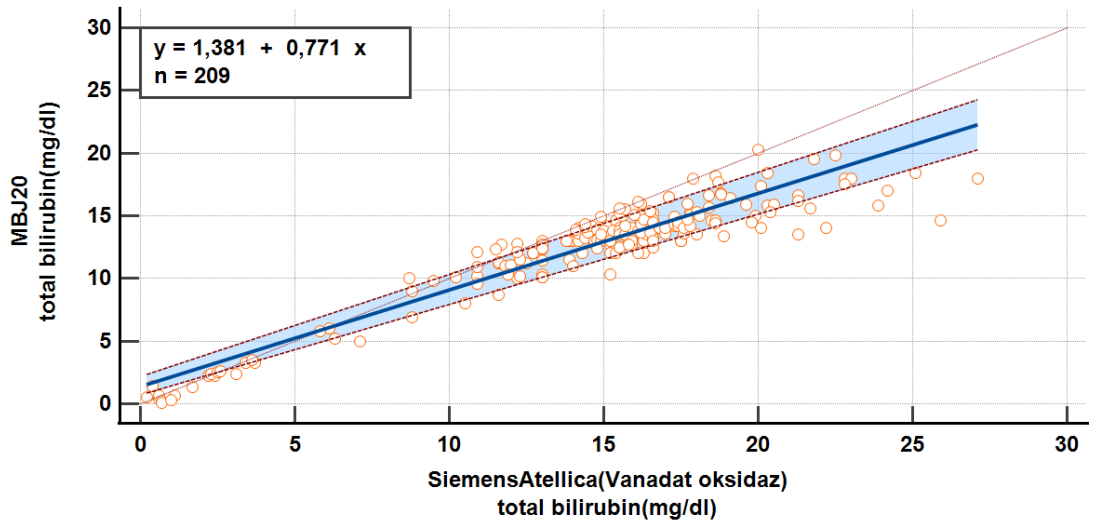
E) Siemens Atellica Cihazının ve MBJ 20 Transkutanöz Bilirubinometre Cihazının Total Bilirubin Sonuçlarının Karşılaştırılması

Siemens Atellica (vanadat oksidaz) cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre (optik metod) cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar testinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,001$) (Şekil 26).



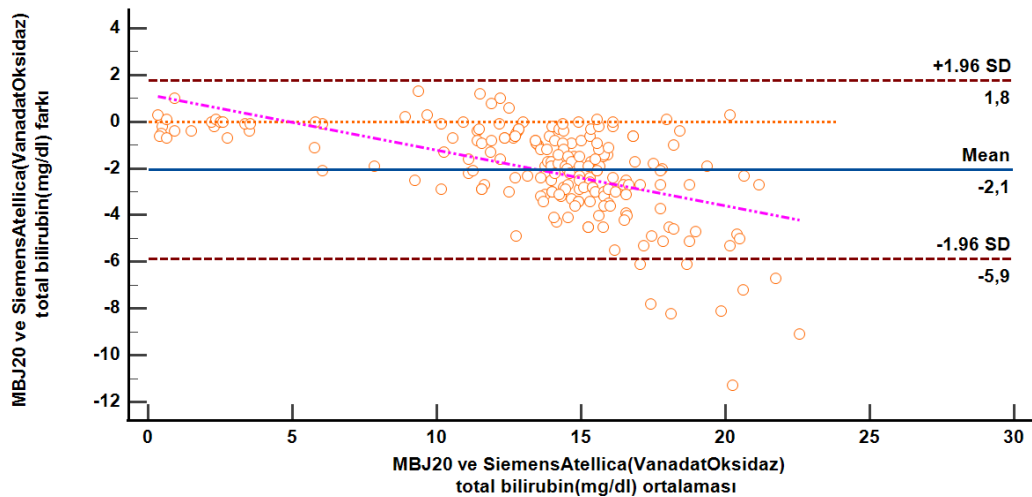
Şekil 26. Siemens Atellica ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin (mg/dL) konsantrasyonları

Siemens Atellica cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,868 saptanmıştır ($p<0,001$). Pasing-Bablok regresyon analizinde ise regresyon denklemi $y=1,381 + 0,771x$ saptanmıştır. Regresyon denkleminde uyum eğrisinin, regresyon eğrisinin üzerinde kaldığı gösterilmiştir. Bu da MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının, Siemens Atellica cihazına göre total bilirubin sonuçlarını daha düşük ölçme eğiliminde olduğunu göstermektedir (Şekil 27).



Şekil 27. Siemens Atellica ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçlarının Pasing-Bablok regresyon analizi

Siemens Atellica cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Bland-Altman analizinde ortalama fark -2,10 mg/dL saptanmıştır ($p < 0,001$). %95 güven aralığındaki limit değerleri -5,9 mg/dL ve +1,8 mg/dL saptanmıştır. Grafiğe bakıldığında 209 numuneden 7'sinin uyum sınırları dışında olduğu görülmüştür. Yüksek bilirubin seviyelerinde farkın arttığı grafikte gözlenmiştir (Şekil 28).



Şekil 28. Siemens Atellica ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçlarının Bland-Altman analizi

4.5. Alt Gruplarda Yöntemlerin Sonuçlarının Karşılaştırılması

Rutin tanıda yaygın olarak kullanılmadığı azo metoduna (Roche Cobas) göre alt gruplar oluşturularak non-kimyasal fotometrik metod (Rapidlab 1265) ve optik metod (MBJ 20) ile karşılaştırılmıştır. Bu alt gruplar klinik anlamlı olabilecek ve literatürde serum bilirubin değerleri ile tam kan ve transkutan bilirubin değerlerinde fark gözlemlenen aralıklara göre belirlenmiştir (13, 19, 102). Total bilirubin değerlerine göre oluşturulan alt gruplar <12 mg/dL, 12-15 mg/dL, 15-17 mg/dL ve ≥ 17 mg/dL şeklindedir. Shapiro- Wilk normalite testine göre alt grupların tamamının normal dağılıma uymadığı saptanmıştır ($p < 0,05$).

A) Total bilirubin analizinde alt gruplarda Roche Cobas ve Rapidlab 1265 Kan Gazı Cihazının karşılaştırılması

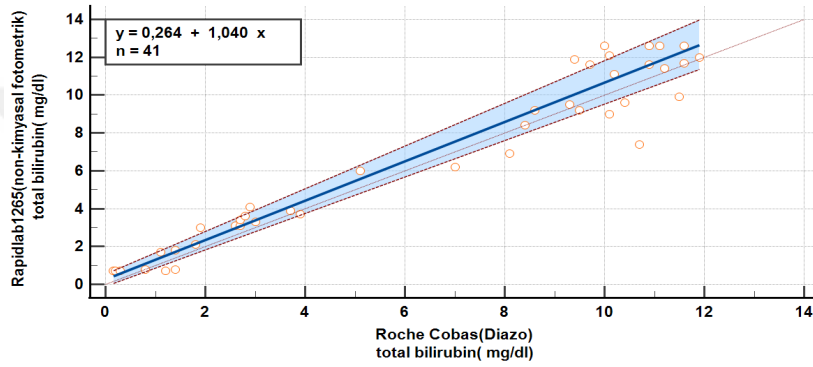
Tablo 10. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Rapidlab 1265 ve Roche Cobas cihazının medyan ve spearman korelasyonlarının karşılaştırılması

Alt gruplar	Hasta sayısı	Total bilirubin (mg/dl)		Spearman korelasyon analizi
		Roche Cobas Medyan (min-maks)	Rapidlab1265 Medyan (min-maks)	
Grup1 (<12 mg/dl)	41	8,1 (0,16-11,9)	6,90 (0,70-12,6) *	r= 0,933 p<0,001
Grup 2 (12-15mg/dl)	45	14,1 (12-14,95)	14,3 (11,7-17,2) **	r=0,701 p<0,001
Grup 3 (15-17 mg/dL)	65	15,9 (15,0-16,9)	16,2 (14,1-19,8) **	r=0,520 p<0,001
Grup 4 (≥ 17 mg/dL)	58	18,55 (17,0-27,4)	19,95 (16,6-28,5) **	r=0,724 p<0,001

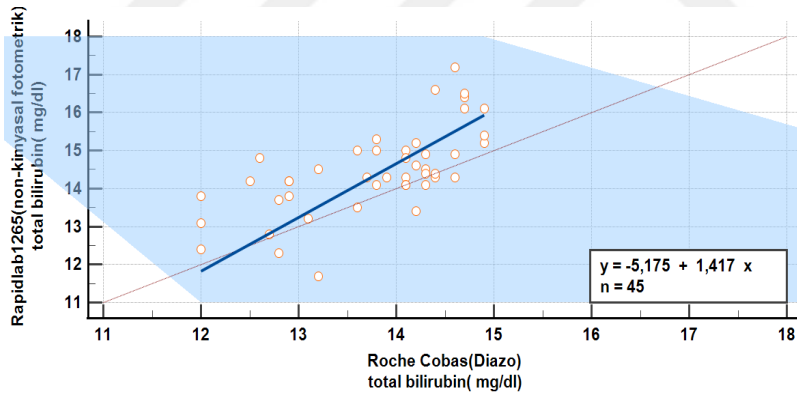
Alt grupların tümünde biyokimyasal analiz ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$).

Spearman korelasyon analizinde r değeri grup 1’de 0,933, grup 2’de 0,701 grup 3’de 0,520 ve grup 4’de 0,724 bulunmuştur. En yüksek korelasyon ilk grupta görülmüştür (p<0,001) (Tablo 10).

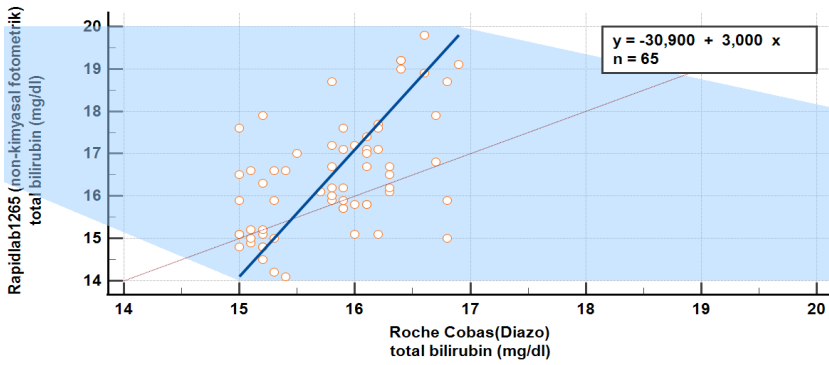
Rapidlab 1265 kan gazı cihazı ve Roche Cobas cihazının sonuçları arasında Passing-Bablok regresyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Regresyon denklemleri Grup 1, 2, 3 ve 4 için sırasıyla $y = 0,264 + 1,040x$, $y = -5,175 + 1,417x$, $y = -30,90 + 3,00x$ ve $y = -5,750 + 1,53x$ saptanmıştır (Şekil 29).



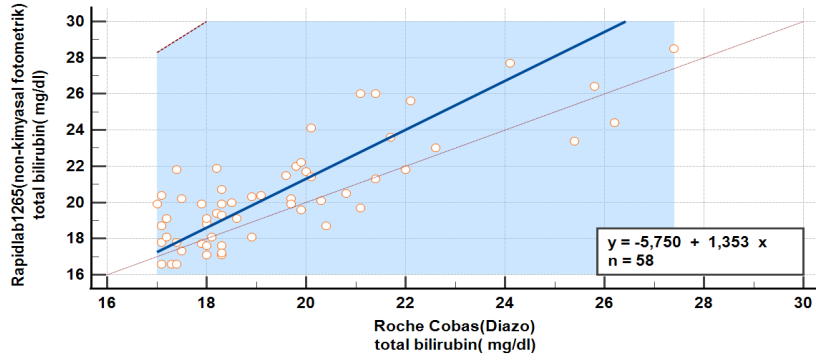
A.



B.



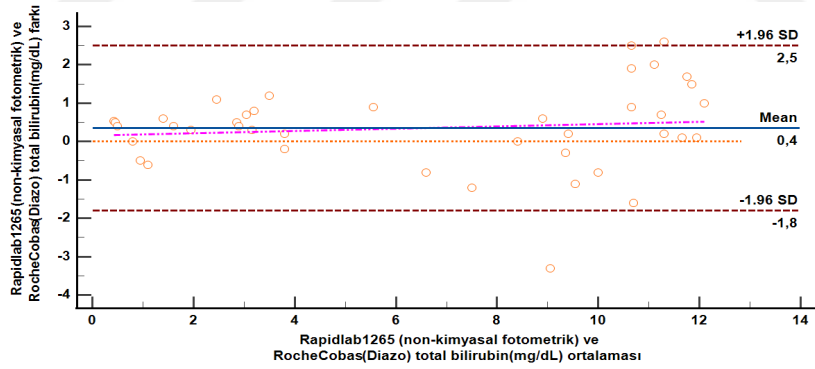
C.



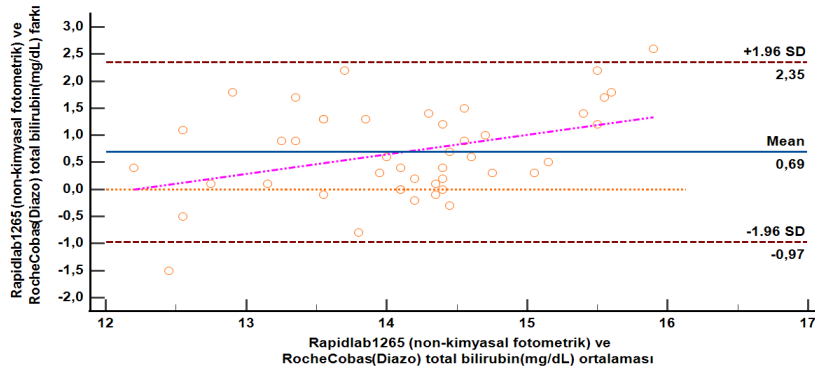
D.

Şekil 29. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Rapidlab 1265 ve Roche Cobas cihazlarının Pasing-Bablok regresyon analizleri (A; Alt grup 1, B; Alt grup 2, C; Alt grup 3 D; Alt grup 4)

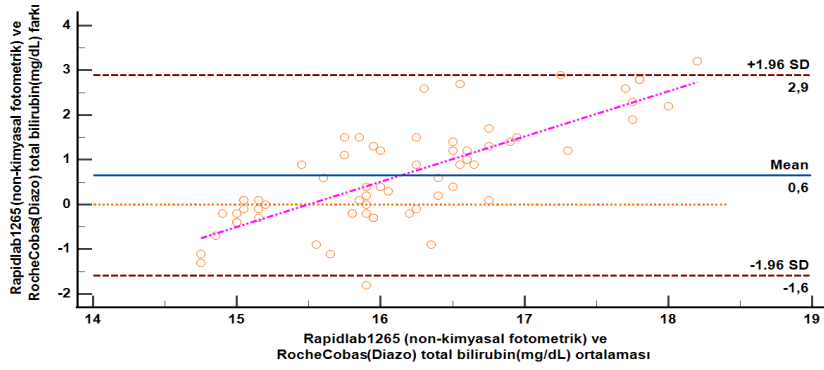
Roche Cobas ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazlarının alt gruplardaki Bland-Altman analizinde ortalama farklar mg/dL; Grup1’de + 0,40 [(-1,80)- (+2,50)], grup 2’de +0,69 [(-0,97) - (+2,35)] grup 3’de + 0,60 [(-1,60) - (+2,90)] ve grup 4’de +1,00 [(-2,30) - (+4,30)] bulunmuştur. En düşük ortalama fark grup 1’de gözlenmiştir ($p < 0,001$) (Tablo 11, Şekil 30).



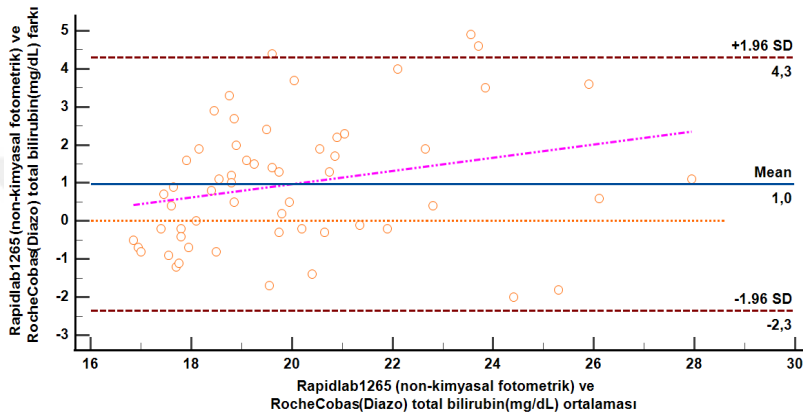
A.



B.



C.



D.

Şekil 30. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Rapidlab 1265 ve Roche Cobas cihazlarının Bland-Altman analizleri (A; Alt grup 1, B; Alt grup 2, C; Alt grup 3, D; Alt grup 4)

Tablo 11. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Roche Cobas ve Rapidlab 1265 cihazının Bland-Altman analizleri

Alt gruplar	Hasta sayısı (N)	Ortalama fark (mg/dL)	%95 GA'yı aşan hasta sayısı [n/N(%)]
Grup 1 (<12 mg/dl)	41	+0,40	1/41 (%2,4)
Grup 2 (12-15 mg/dl)	45	+0,69	2/45 (%4,4)
Grup 3 (15-17 mg/dL)	65	+0,60	2/65 (%0,30)
Grup 4 (≥17 mg/dL)	58	+1,00	2/58 (%3,44)

%95 GA: %95 Güven aralığı, N:Alt gruplardaki hasta sayısı, n: %95 güven aralığı dışındaki hasta sayısı

B) Total bilirubin analizinde alt gruplarda Roche Cobas ve MBJ 20 Transkutanöz Bilirubinometre Cihazının karşılaştırılması

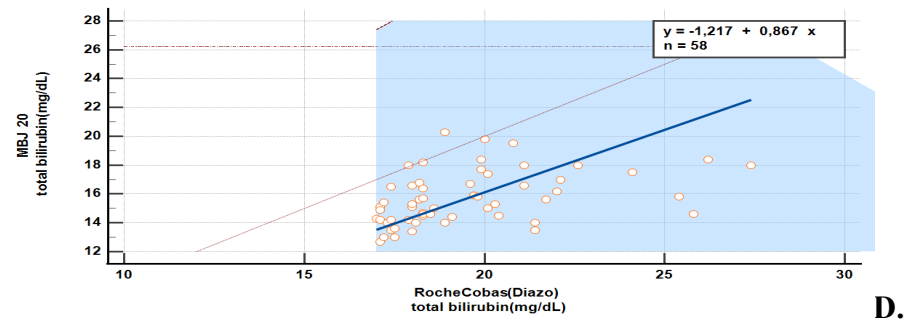
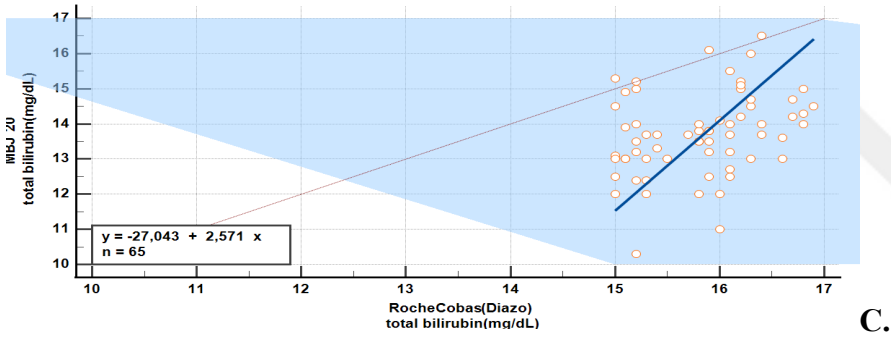
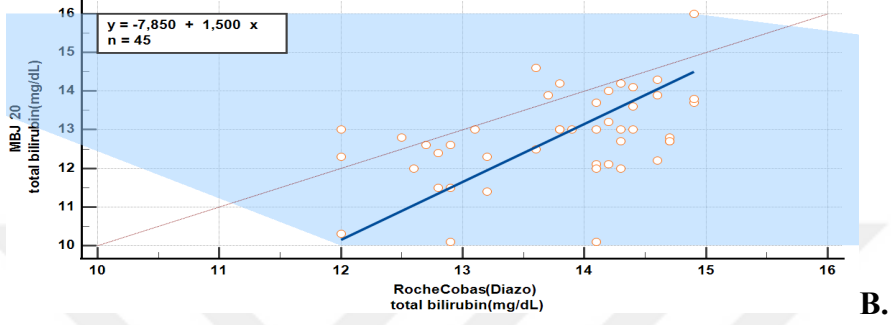
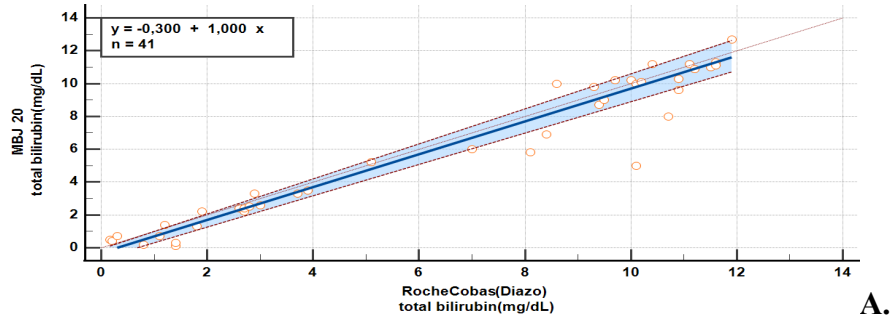
Tablo 12. Total bilirubin analizinde alt gruplarda Roche Cobas ve MBJ 20 cihazının medyan ve spearman korelasyonlarının karşılaştırılması

Alt gruplar	Hasta sayısı	Total bilirubin (mg/dl)		Spearman korelasyon analizi
		Roche Cobas Medyan (min-maks)	MBJ 20 Medyan (min-maks)	
Grup1 (<12 mg/dl)	41	8,10 (0,16-11,9)	5,80 (0,10-12,7) *	r= 0,952 p<0,001
Grup 2 (12-15mg/dl)	45	14,1 (12-14,95)	12,8 (10,1-16,0) **	r=0,456 p<0,001
Grup 3 (15-17 mg/dL)	65	15,90 (15,0-16,9)	13,7 (10,3-16,5) **	r=0,354 p<0,001
Grup 4 (≥17 mg/dL)	58	18,55 (17,0-27,40)	15,35 (12,7-20,3) *	r=0,496 p<0,001

Alt grupların tümünde biyokimyasal analiz ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (*p<0,001 **p<0,05).

Spearman korelasyon analizinde r değeri; grup1'de 0,952, grup2'de 0,456, grup 3'de 0,354 ve grup 4'de 0,496 bulunmuştur. En yüksek korelasyon ilk grupta görülmüştür (p<0,001) (Tablo 12).

MBJ20 transkutanöz bilirubinometre cihazının ve Roche Cobas cihazının Passing-Bablok regresyon analizlerinde regresyon denklemleri grup 1, 2, 3 ve 4 için sırasıyla $y = -0,30 + 1,00x$, $y = -7,85 + 1,500x$, $y = -27,043 + 2,571x$, $y = -1,217 + 0,8676x$ saptanmıştır (Şekil 31).



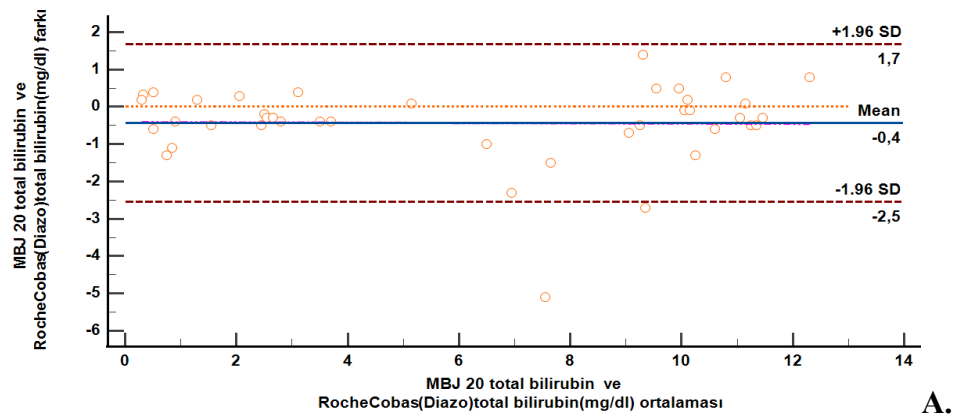
Şekil 31. Total bilirubin analizinde alt gruplarda MBJ 20 ve Roche Cobas cihazının Pasing-Bablok regresyon analizleri (A; Alt grup 1, B; Alt grup 2, C; Alt grup 3 D; Alt grup 4)

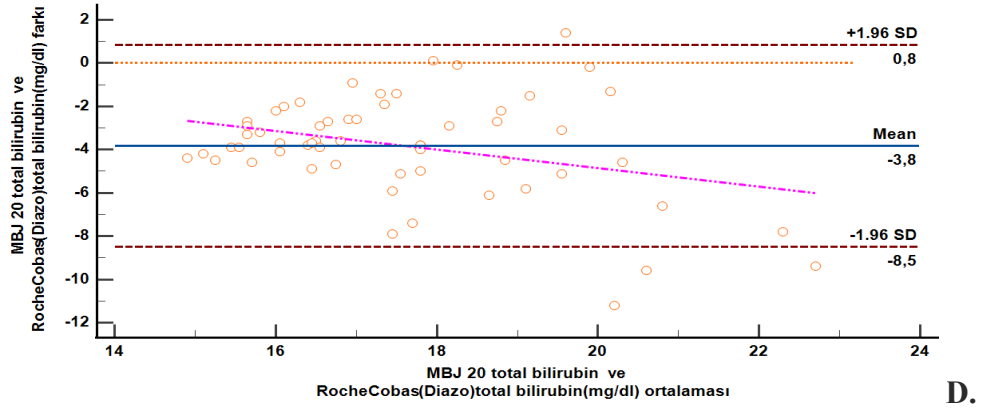
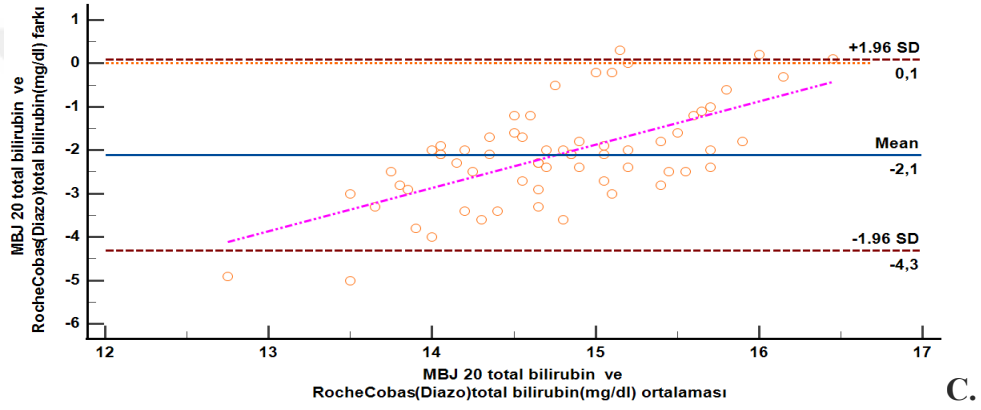
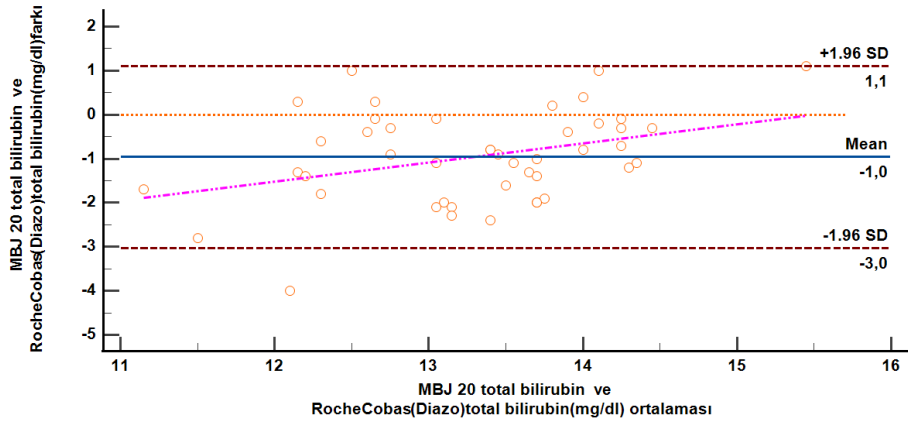
MBJ20 ve Roche Cobas cihazının alt gruplardaki Bland-Altman analizinde ortalama farklar mg/dL; grup 1’de -0,40 [(-2,50) - (+1,70)], grup 2’de -1,00 [(-3,00) - (+1,10)], grup 3’de -2,10 [(-4,30) - (0,10)] ve grup 4’de -3,80 [(-8,50) - (+0,80)] olarak saptanmıştır. Grup 1’de ortalama farkın en düşük olduğu görülmüştür (Tablo 13, Şekil 32).

Tablo 13. Total bilirubin analizinde alt gruplarda MBJ20 transkutanöz bilirubinometre ve Roche Cobas cihazlarının Bland-Altman analizleri

Alt gruplar	Hasta sayısı(N)	Ortalama fark (mg/dL)	%95 GA’yı aşan hasta sayısı [n/N (%)]
Grup1 (<12 mg/dl)	41	-0,40	1/41 (%2,43)
Grup 2 (12-15 mg/dl)	45	-1,0	1/45 (%2,22)
Grup 3 (15-17 mg/dL)	65	-2,10	3/65 (%4,61)
Grup 4 (≥17 mg/dL)	58	-3,80	4/58 (%6,89)

%95 GA: %95 Güven aralığı, N:Alt gruplardaki hasta sayısı, n: %95 güven aralığı dışındaki hasta sayısı





Şekil 32. Total bilirubin tanalizinde alt gruplarda MBJ 20 ve Roche Cobas cihazlarının Bland-Altman analizi (A; Alt grup1, B; Alt grup2, C; Alt grup3, D; Alt grup 4.)

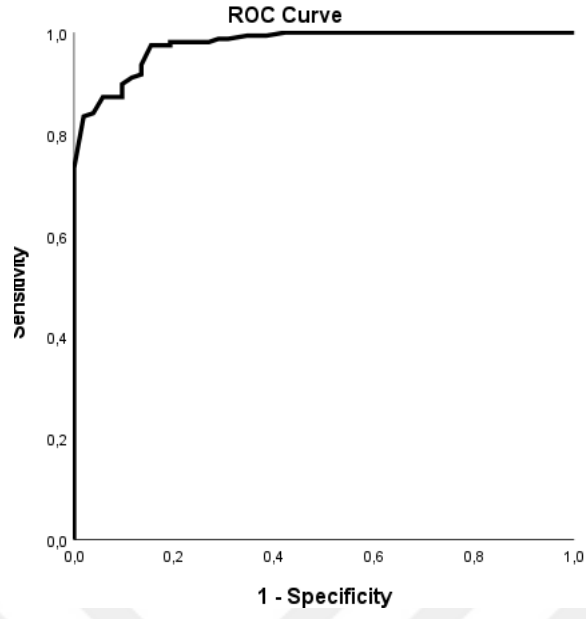
4.6. Roc analizleri

Roche Cobas cihazının TSB; 13 mg/dL ve 15 mg/dL cut -off değerleri için Roc analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu cut-off değerleri APA kılavuzunda ve literatürde taranılan makalelerden elde edilmiştir (11, 13, 103) Sensitivite, spesifite, ve AUC (eğri altındaki alan) değerleri ve hesaplanan PPV (Positive predictive value) ve NPV (Negative predictive value) değerleri Tablo 14, 15 ve Şekil 33, 34' de verilmiştir.

Tablo 14. MBJ 20 transkutanöz bilirubinometri cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının TSB: 13mg/dl cutt-off değerinde yapılan Roc analizi sonuçları

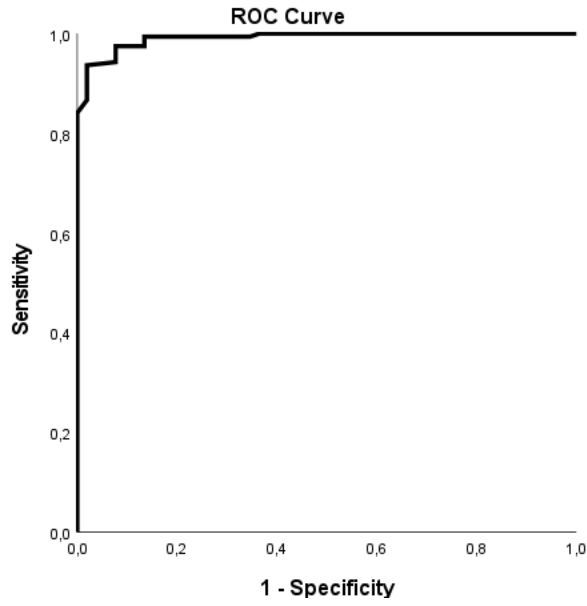
MBJ 20 total bilirubin	Rapidlab 1265 total bilirubin
13 mg/dl cut-off değerinde: Sensitivite: %73 Spesifite:% 100 PPV (%): 99,2 NPV (%): 65,3 AUC:0,977	13 mg/dl cut-off değerinde: Sensitivite: % 99,4 Spesifite:% 84,6 PPV (%): 95,1 NPV (%):97,7 AUC:0,991
alışmada saptanan cut-off değeri: 12,45 mg/dl Sensitivite: %90 Spesifite:% 90	alışmada saptanan cut-off değeri: 14,25 mg/dl Sensitivite: %93 Spesifite:% 98
alışmada %100 sensitivite gösteren cut-off değeri: 10,05 mg/dl Sensitivite (%):100 Spesifite (%):57,7	alışmada %100 sensitivite gösteren cut-off değeri: 11,65 mg/dl Sensitivite: %100 Spesifite:% 63,5

PPV: Positive predictive value, NPV: Negative predictive value



A.

AUC (eğri altındaki alan): 0,977, $p < 0,05$



B.

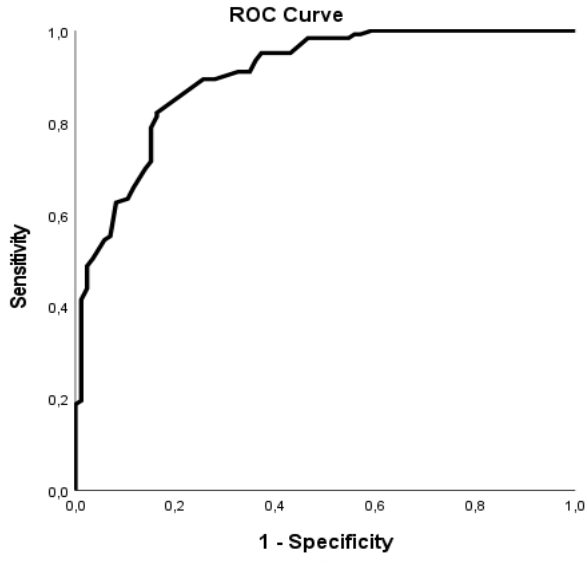
AUC (eğri altındaki alan): 0,991, $p < 0,05$

Şekil 33. TSB:13 cut-off değerlerinde MBI 20 ve Rapidlab 1265 Roc eğrisi (A; TSB:13 mg/dL, MBI20 Roc eğrisi, B; TSB:13 mg/dL, Rapidlab 1265 Roc eğrisi)

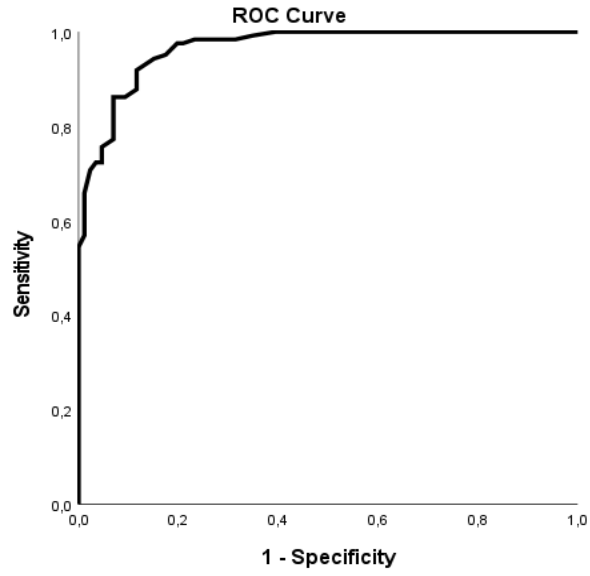
Tablo 15. MBJ 20 transkutanöz bilirubinometri cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının TSB :15mg/dl cut-off değerinde yapılan Roc analizi sonuçları

MBJ 20 total bilirubin	Rapidlab 1265 total bilirubin
15mg/dl mg/dl cut-off değerinde: Sensitivite: %33 Spesifite:% 99 PPV (%): 97,7 NPV (%):51,5 AUC:0,902	15 mg/dl mg/dl cut-off değerinde: Sensitivite: %94 Spesifite:% 85 PPV (%): 87,8 NPV (%):91,2 AUC:0,966
Çalışmada saptanan cut-off değeri: 13,05 mg/dl Sensitivite: %82 Spesifite:% 84	Çalışmada saptanan cut-off değeri: 15,05 mg/dl Sensitivite: %92 Spesifite:% 89
Çalışmada %100 sensitivite gösteren cut-off değeri: 10,25 mg/dl Sensitivite (%):100 Spesifite (%):46	Çalışmada %100 sensitivite gösteren cut-off değeri: 13,95 mg/dl Sensitivite (%):100 Spesifite (%):60

PPV: Positive predictive value, NPV: Negative predictive value



AUC (eğri altındaki alan): 0,902, $p < 0,05$



AUC (eğri altındaki alan): 0,966, $p < 0,05$

Şekil 34. TSB:15 cut-off değerlerinde MBI 20 ve Rapidlab 1265 Roc eğrisi (A; TSB :15 mg/dL, MBI20 Roc eğrisi, B; TSB:15 mg/dL, Rapidlab 1265 Roc eğrisi)

4.7.Kappa analizi

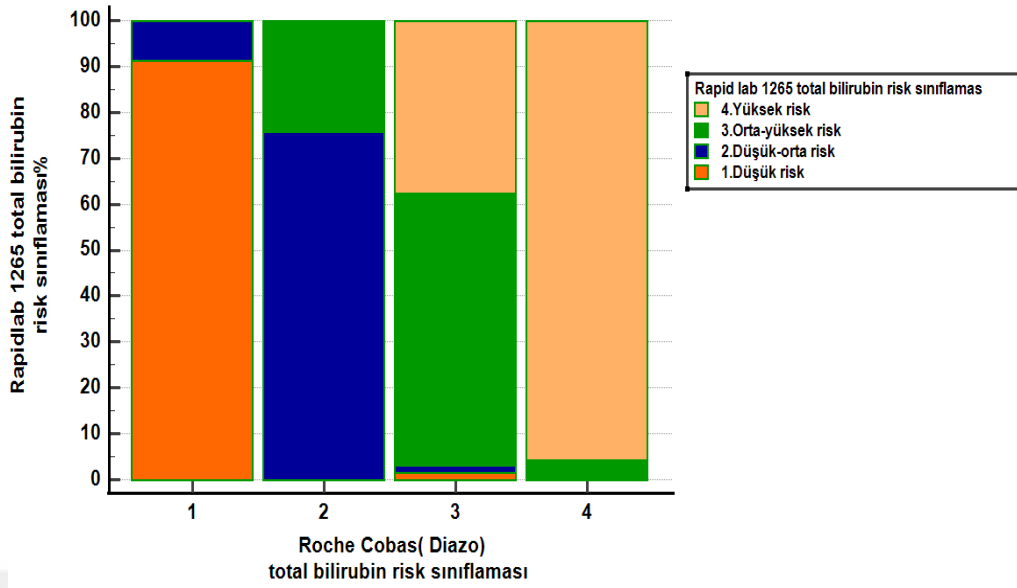
Roche Cobas cihazı ile MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazlarının hiperbilirubinemi riskini tahmin etmedeki uyumlarına bakılmış ve ikili olarak ağırlıklı kappa analizleri gerçekleştirilmiştir. Hiperbilirubinemi risk sınıflaması Bhutani nomogramına göre gerçekleştirilmiş olup cihazların total bilirubin değerleri düşük risk, düşük-orta risk, orta-yüksek risk ve yüksek risk olarak sınıflandırılmıştır. Bhutani nomogramı diazo tabanlı yöntemler baz alınarak oluşturulmuştur (10). Çalışmaya dahil edilen 209 yenidoğandan postnatal 12 ila 144 saat arasında olan 167 yenidoğan kappa analizi için uygun görülmüştür (Bhutani nomogramının oluşturulduğu aralık).

Kappa analizinde Roche Cobas ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazı arasında güçlü bir uyum gözlenmiştir (Ağırlıklı kappa değeri: 0,800, $p < 0,001$). Roche Cobas (Diazo) cihazına göre orta-yüksek risk bölgesinde sınıflandırılan 64 hastanın %37,5'ini Rapidlab 1265 kan gazı cihazı yüksek riskli bölgede sınıflandırmıştır. Ayrıca düşük-orta risk bölgesinde bulunan 33 hastanın %24' ünü orta-yüksek risk bölgesinde sınıflandırmıştır (Tablo 16, Şekil 35).

Tablo 16. Roche Cobas ve Rapidlab 1265 cihazlarının Kappa analizi

Roche Cobas total bilirubin	Rapidlab 1265 total bilirubin				Hasta sayıları
	Düşük risk	Düşük-orta risk	Orta-yüksek risk	Yüksek risk	
Düşük risk	21	2	0	0	23
Düşük-orta risk	0	25	8	0	33
Orta-yüksek risk	1	1	38	24	64
Yüksek risk	0	0	2	45	47
Hasta sayıları	22	28	48	69	167

Ağırlıklı kappa:0,800



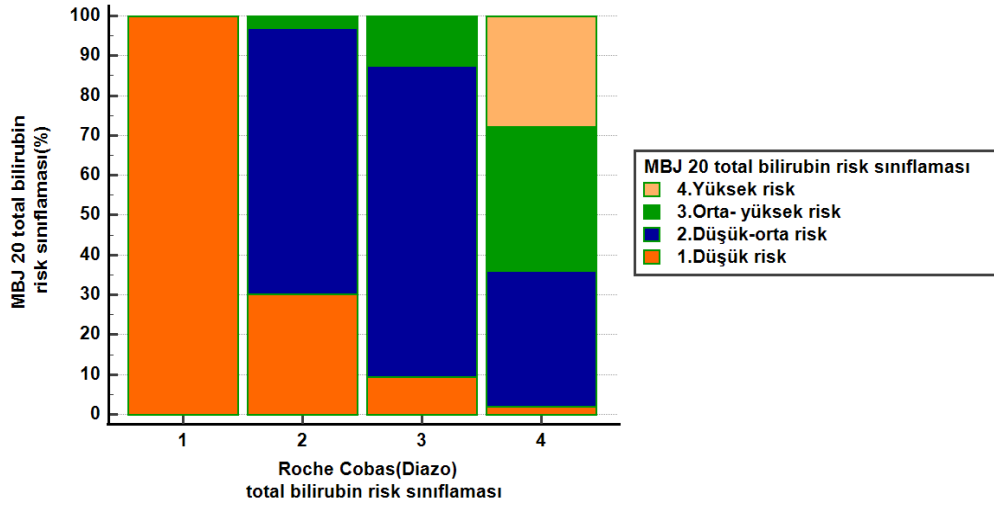
Şekil 35. Rapidlab 1265 ve Roche Cobas cihazı ile hiperbilirubinemi risk derecelendirmesi

Kappa analizinde Roche Cobas ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazı arasında zayıf-orta derecede bir uyum saptanmıştır (Ağırlıklı kappa değeri:0,383, $p < 0,001$). Roche Cobas (Diazo) cihazına göre düşük risk bölgesinde sınıflandırılan hastaların hepsini MBJ 20 cihazı da düşük risk bölgesinde sınıflandırmıştır. Roche Cobas cihazının orta-yüksek risk bölgesinde sınıflandırdığı 64 hastanın %78,1' ini MBJ 20 cihazı düşük-orta risk bölgesinde sınıflandırmıştır. Ayrıca biyokimyasal analize göre yüksek risk bölgesinde sınıflandırılan 47 hastanın %36 'sını orta-yüksek risk ve %34 ünü düşük-orta risk bölgesinde sınıflandırmıştır (Tablo 17 ve Şekil 36).

Tablo 17. Roche Cobas ve MBJ20 cihazlarının Kappa analizi

Roche Cobas total bilirubin	MBJ 20 total bilirubin				Hasta sayıları
	Düşük risk	Düşük-orta risk	Orta-yüksek risk	Yüksek risk	
Düşük risk	23	0	0	0	23
Düşük-orta risk	10	22	1	0	33
Orta-yüksek risk	6	50	8	0	64
Yüksek risk	1	16	17	13	47
Hasta sayıları	40	88	26	13	167

Ağırlıklı kappa:0,383



Şekil 36. MBJ 20 ve Roche Cobas cihazı ile hiperbilirubinemi risk derecelendirmesi

5. TARTIŞMA

Sarılık yenidoğan bebeklerde en sık görülen klinik belirtilerden biridir ve vücutta bilirubin seviyesinin artmasıyla meydana gelir. Yenidoğanda bilirubin seviyesi yaklaşık olarak 5-6 mg/dL 'yi geçtiği zaman görülmeye başlar (104, 105). Yenidoğan sarılığı çoğu zaman kendini sınırlayan ve zamanla düzelen bir durum olmasına rağmen yenidoğanların küçük bir kısmında bilirubin ciddi seviyelere yükselerek akut bilirubin ensefalopatisinden kernikterusa kadar ilerleyebilecek nörolojik bozukluklara sebep olabilir. Bebeklerde laterji, hipotoni, tiz sesli ağlama, nöbet, koma, kalıcı işitme bozuklukları, kalıcı motor bozukluklar ve ölümlerle sonuçlanabilir (2, 78). Yüksek gelirli ülkelerde kernikterus insidansı 100.000 doğumda 0,4-2 iken, düşük gelirli ülkelerde bu oran çok daha yüksektir (6). Yenidoğanlarda hangi bilirubin seviyesinin anlamlı olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır. Anne sütü ile beslenmenin ve fototerapinin yaygın olmadığı dönemlerde yapılan bir çalışmada fizyolojik sarılık sınırı 12,9 mg/dl olarak belirlenmiştir. Ancak günümüzde böyle bir sınır belirlemek doğru değildir (19). Total bilirubin düzeyi, postnatal yaşa göre oluşturulan bilirubin nomogramına göre değerlendirilerek yorumlanmalıdır. Postnatal yaşa göre kullanılan nomogram, bilirubin seviyelerinin düzenli olarak takip edilmesini sağlar ve böylece gelecekte hiperbilirubinemi gelişme riski taşıyan bebeklerin önceden tespit edilmesine yardımcı olur. 1999 yılında Bhutani'nin geliştirdiği bu nomogram TSB düzeylerine göre oluşturulmuştur (10). APA'nın 2022 yılında güncellediği yenidoğan sarılığı kılavuzunda tedavi eşikleri belirlenirken de total serum bilirubin seviyesi, bebeğin gebelik haftası, postnatal yaşı ve hiperbilirubinemi risk faktörlerine göre eğriler oluşturulmuştur (11).

Yenidoğan sarılığının tanısı, tedavisi ve yönetiminde total bilirubin seviyeleri kritik öneme sahiptir. Bu nedenle, doğru bir şekilde ölçülmesi gerekir. Total bilirubin seviyeleri, çeşitli yöntemler kullanılarak ölçülebilir. HPLC, farklı bilirubin formlarını ayrı ayrı ölçme yeteneğine sahiptir. Ancak, HPLC'nin doğruluğu ve hassasiyeti sınırlıdır ve yöntem zahmetli olup birçok laboratuvarında bulunmamaktadır. Bu nedenle, modern TSB analizlerinin HPLC metoduyla nasıl uyum sağladığı halen net değildir. Yaygın olarak kullanılan güvenilir klinik yöntemler serum veya plazmada kimyasal

spektrofotometrik yolla ölçüm gerçekleştiren biyokimyasal analizlerdir (Diazo metodu, vanadat oksidaz metodu). Amerikan Klinik Kimya Derneği Standartlar Komitesi'nin çalışma grubu, total serum bilirubin tayini için referans ölçüm prosedürü olarak diazo metodunu (Jendrasik- groff) en uygun aday olarak seçmiştir. Bu analizler venöz kan alınma ihtiyacı duydukları için yenidoğanlarda enfeksiyon ve anemi gibi durumları tetikleyebilirler. İnvaziv olmayan, optik yonteme dayanan transkutanöz bilirubinometri cihazları da yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu analizler hasta başında hızlı sonuç almayı sağlarlar. Hastadan gereksiz yere kan alınmasını azaltırlar. Transkutanöz bilirubinometre (TcB) kullanımının hastane içinde ve dışında yaygınlaşması ile ağır hiperbilirubinemi sıklığının azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca fototerapi için hastaneye tekrar başvuru sıklığı, fototerapi alan bebek sayısı ve fototerapi süresi de azalmıştır. Ancak TcB ölçümleri cilt rengi, cilt kalınlığı, hemoglobin seviyeleri gibi durumlardan etkilenir. Daha önce fototerapi alan bebeklerde ve yüksek bilirubin seviyelerinde hatalı sonuçlar verebilir. Uluslararası kılavuzlar TcB ölçümlerinin taramada kullanılmasını önermektedir. Neonatal bilirubin seviyeleri tam kanda non-kimyasal fotometrik yöntemle ölçüm gerçekleştiren kan gazı cihazları kullanılarak da belirlenebilmektedir. Az miktarda tam kan örneğinde, hızlı sonuç almayı sağlarlar. Ayrıca kritik durumdaki hastalarda ek parametrelere de bakılabilmesi gibi avantajlara sahiptirler. Ancak bu cihazların klinik kullanımını henüz yaygın değildir. Bu cihazların tanıda kullanılabilmesi için rutin laboratuvar yöntemleri ile uyumlu olmaları gerekmektedir. (6-8, 11, 13, 18, 94, 102, 106, 107)

Bu çalışmada yenidoğanlarda bilirubin analizinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Rutin laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan diazo metodu (Roche Cobas) ve vanadat oksidaz metodu (Siemens Atellica) ile non-kimyasal fotometrik metod (Rapidlab 1265 kan gazı analizörü) ve optik metod (MBJ20 transkutanöz bilirubinometre) karşılaştırılmıştır

Çalışmaya dahil edilen 209 Türk yenidoğanın demografik özelliklerine bakıldığında min- maks değerleri; gebelik haftası 35-40 hafta, doğum ağırlıkları 2300-4960 gr ve postnatal 2-20 gün arasında değişmekteydi. Total bilirubin seviyeleri;

Vanadat oksidaz metodu (Siemens Atellica) ve diazo metodu (Roche Cobas), optik metod (MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazı) ve non-kimyasal fotometrik metotla (Rapidlab 1265 kan gazı cihazı) analiz edilmiştir.

Total bilirubin değerlerinin medyan (min-maks) değerleri Roche Cobas (Diazo metodu), Siemens Atellica (Vanadat oksidaz), Rapidlab 1265 (Non-kimyasal fotometrik metod), MBJ 20 (Optik metod) cihazları için sırayla 15,3 (0,16 -27,4) mg/dL, 15,5 (0,20-27,1) mg/dL, 15,9 (0,70-28,5) mg/dL ve 13,5 (0,10-20,3) mg/dL saptanmıştır.

Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazlarının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar analizinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,337$). Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,964 saptanmıştır. Pasing-Bablok regresyon analizinde $y= -0,0664 +1,008x$ saptanmıştır. Şekil 15'deki regresyon denkleminde bakıldığında eğim ve regresyon eğrisinin iyi bir uyuma sahip olduğu görülmektedir. Bland-Altman analizinde Siemens Atellica cihazının Roche Cobas cihazına göre ortalama farkı + 0,10 mg/dl saptanmıştır ($p=0,413$). Ortalama fark istatistiksel açıdan anlamlı saptanmamıştır. Bu iki metod arasında korelasyon ve uyumun çok iyi olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (108). Çalışmamızdan farklı olarak Oostendorp ve arkadaşları diazo ve vanadat oksidaz metodlarını karşılaştırmış ve vanadat oksidaz metodunun yenidoğanlarda diazo metoduna kıyasla pozitif anlamlı bir farka sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Yöntemler arasındaki standardizasyon ve uyum eksikliklerine bağlı bu durumun gelişebileceğini belirtmişlerdir (94).

Rapidlab 1265 ve Roche Cobas cihazlarının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar analizinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,001$). Rapidlab 1265 cihazının, Roche Cobas cihazına göre total bilirubin sonuçlarının medyan değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,001$). Roche Cobas cihazı ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,948 saptanmıştır ($p<0,001$). Pasing-Bablok regresyon analizinde regresyon denklemi $y=-0,298 + 1,066x$ saptanmıştır. Şekil 18'deki regresyon denkleminde bakıldığında uyum eğrisinin,

regresyon eğrisinin altında kaldığı gösterilmiştir. Bland-Altman analizinde Rapidlab 1265 kan gazı cihazının, Roche Cobas cihazına göre ortalama farkı + 0,70 mg/dL saptanmıştır (p<0,001). %95 güven aralığındaki limit değerleri -1,80 mg/dL ve +3,20 mg/dL saptanmıştır. Şekil 19'deki grafiğe bakıldığında 209 numuneden 9'unun uyum sınırları dışında olduğu görülmüştür. Ayrıca total bilirubin değerleri arttıkça ortalama farkın arttığı grafikte gözlenmiştir.

Rapidlab 1265 ve Siemens Atellica cihazlarının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar analizinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p<0,001). Rapidlab 1265 cihazının, Siemens Atellica cihazına göre total bilirubin sonuçlarının medyan değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (p<0,001). Siemens Atellica ve Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,943 saptanmıştır (p<0,001). Pasing-Bablok regresyon analizinde regresyon denklemi $y = -0,034 + 1,041x$ saptanmıştır. Şekil 21'deki regresyon denklemine bakıldığında uyum eğrisinin, regresyon eğrisinin altında kaldığı gösterilmiştir. Bland-Altman analizinde Rapidlab 1265 kan gazı cihazının, Siemens Atellica cihazına göre ortalama farkı + 0,60 mg/dL saptanmıştır (p<0,001). %95 güven aralığındaki limit değerleri -1,90 mg/dL ve +3,20 mg/dL saptanmıştır. Şekil 22'deki grafiğe bakıldığında 209 numuneden 9'unun uyum sınırları dışında olduğu görülmüştür. Ayrıca total bilirubin değerleri arttıkça ortalama farkın arttığı grafikte gözlenmiştir.

Total bilirubin seviyeleri diazo yönteminin total serum bilirubin sonuçlarına göre 4 alt gruba ayrılarak Rapidlab 1265 kan gazı cihazı ile karşılaştırılmıştır. Bu alt gruplar klinik olarak anlamlı, literatürde yöntemler arası fark gözlemlenen total bilirubin seviyelerine göre belirlenmiştir (13, 19, 102, 105). Grup 1'de yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,933, grup 2'de 0,701, grup 3'de 0,520, grup 4'de 0,724 olarak saptanmıştır. Tüm korelasyonlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,001). Bland-Altman analizinde ise Rapidlab 1265 kan gazı cihazının, Roche Cobas cihazına göre grup 1, 2, 3 ve 4 için sırasıyla + 0,40 mg/dL, + 0,69 mg/dL, + 0,60 mg/dL ve + 1,00 mg/dL ortalama farka sahip olduğu saptanmıştır. En yüksek korelasyon ve en düşük ortalama fark ilk grupta saptanmıştır. Total

bilirubin değerleri arttıkça ortalama farkın daha da arttığı ve korelasyonun bozulduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda, Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin seviyelerini Roche Cobas cihazı ve Siemens Atellica cihazına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek lçtüğu saptanmıştır ($p < 0,001$). Çalışmamızdaki sonuçlara benzer sonuçlar bulan TSB ve tam kanda ölçüm gerçekleştiren kan gazı cihazlarını karşılaştıran çalışmalar olmuştur. Kuang ve ark. yaptıkları çalışmada Werfen Gem 4000 kan gazı cihazı ile Hitachi 7600 (enzimatik yöntem) biyokimya cihazı karşılaştırılmış ve Werfen Gem 4000 kan gazı cihazının yüksek bilirubin seviyelerinde pozitif biasa sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Özellikle total bilirubin seviyeleri 300 $\mu\text{mol/L}$ (17,54 mg/dL)' den daha yüksek olduğu zaman tutarsızlığın arttığını saptamışlardır. Sapmaların nedeni olarak neonatal hemoglobin etkileşimi ve metodolojik farklılıkları göstermişlerdir (102). Benzer şekilde Cazon ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada Werfen GEM 4000 kan gazı cihazının biyokimya analizine göre yüksek bilirubin seviyelerinde pozitif sapma gösterdiğini bulmuşlardır (109).

Literatürde, kan gazı cihazlarının total bilirubin seviyelerini düşük ölçtüğünü gösteren çalışmalar da mevcuttur (13, 110, 111). Mkerji ve ark. yaptığı bir çalışmada, Siemens Rapidpoint 500 kan gazı cihazı ile Ortho Vitros 5600 (spektrofotometrik kuru kimya yöntemi) biyokimya cihazının total bilirubin sonuçları karşılaştırılmıştır. Genel olarak, iki cihaz arasında iyi bir uyum gözlenmiş; ancak kan gazı cihazının biyokimya analizine kıyasla ortalama farkının $-11 \mu\text{mol/L}$ ($-0,58 \text{ mg/dL}$) olduğu saptanmıştır. Ayrıca, 200-300 $\mu\text{mol/L}$ (11,69-17,5 mg/dL) aralığındaki total bilirubin değerlerinde, bazı kan gazı cihazı total bilirubin sonuçlarının $-70 \mu\text{mol/L}$ (4 mg/dL) gibi yüksek farklar gösterdiği ve bu durumun sonuçların düşük lçlmesine yol açtığı belirlenmiştir (18). Lano ve ark. yaptığı çalışmada, Radiometer kan gazı analizörü, Roche (Diazo) biyokimya analizörü ve Ortho VITROS 350 biyokimya analizörü ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, Radiometer kan gazı analizöründen elde edilen total bilirubin değerleri, Roche cihazından elde edilen değerler ile yüksek korelasyon göstermiştir. Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı olmayan $-1,0 \mu\text{mol/L}$ (0,05 mg/dl)'lik bir sapma gözlemlemişlerdir. Diğer yandan, Ortho VITROS 350 cihazı ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı $-4,4 \mu\text{mol/L}$ ($-0,25 \text{ mg/dL}$)'lik bir

sapma bulmuşlardır. Bu farklılıkları Roche cihazı ve Ortho VITROS cihazı arasındaki uyum ve standardizasyon farklılıklarına dayandırmışlardır (112). Mielsch ve ark. yaptığı çalışmada Siemens Rapidlab 1265 ve Ortho Vitros 350 biyokimya analizörü karşılaştırılmış ve aralarında yüksek korelasyon bulunduğunu göstermişlerdir. Kan gazı cihazının biyokimya analizine göre ortalama biasını -0,1 mg/dL saptamışlardır (113).

Rapidlab 1265 kan gazı cihazının performansını değerlendirmek için Roche Cobas cihazının 13 ve 15 mg/dl TSB cut-off değerlerinde Roc analizi yapılmıştır. Bu cut-off değerleri APA kılavuzunda ve literatürde taranılan makalelerden elde edilmiştir (11, 13, 19, 114). TSB 13 mg/dL cut-off değerinde Rapidlab 1265 kan gazı cihazının sensitivitesi %99, spesifitesi %84,6 ve AUC değeri 0,991 olarak saptanmıştır. Kan gazı cihazının cut-off değeri 14,25 mg/dL'ye yükseltildiğinde, sensitivite %93, spesifite %98 olarak belirlenmiştir. Kan gazı cihazının cut-off değeri 11,65 mg/dL'ye düşürüldüğünde sensitivite %100, spesifite %63,5 saptanmıştır. TSB 15 mg/dL cut-off değerinde, Rapidlab 1265 kan gazı cihazının sensitivitesi %94, spesifitesi %85 ve AUC değeri 0,966 olarak saptanmıştır. Kan gazı cihazının cut-off değeri 13,95 mg/dL'ye düşürüldüğünde, %100 sensitivite ve %60 spesifite saptanmıştır. Cut-off değeri 15,05 mg/dL'ye yükseltildiğinde ise %92 sensitivite ve %89 spesifite elde edilmiştir. Grohman ve ark. yaptıkları çalışmada kan gazı cihazları ve TSB de analiz gerçekleştiren biyokimyasal cihazların total bilirubin sonuçları arasında TSB; 13 ve 15 mg/dL cut-off değerlerinde Roc analizleri gerçekleştirilmiştir. TSB 13 mg/dL cut-off değerinde Roche OMNI S, ABL 735, Twin Beam kan gazı cihazlarının %100 sensitivite gösterdiği değerler sırasıyla 11,98 mg/dL, 10,4 mg/dL ve 11,3 mg/dL'dir. TSB 15 mg/dL'de ise bu değerler sırasıyla 14,7 mg/dL, 13,0 mg/dL, 13,45 mg/dL saptanmıştır (13).

Roche Cobas cihazı ile Rapidlab 1265 kan gazı cihazlarının hiperbilirubinemi riskini tahmin etmedeki uyumlarını saptamak amacıyla gerçekleştirdiğimiz ağırlıklı kappa analizinde iyi bir uyum saptanmıştır (Ağırlıklı kappa değeri: 0,800). Roche Cobas (Diazo) cihazına göre, orta-yüksek risk bölgesinde sınıflandırılan 64 hastanın %37,5'ini Rapidlab 1265 kan gazı cihazı yüksek riskli bölgede sınıflandırmıştır.

Ayrıca düşük-orta risk bölgesinde bulunan 33 hastanın %24' ünü orta-yüksek risk bölgesinde sınıflandırmıştır. Çalışmamızdan farklı olarak Wang ve ark. Roche kan gazı cihazıyla, Orto vitros biyokimya cihazının total bilirubin sonuçları arasında kappa analizi gerçekleştirmiş ve yüksek-orta risk bölgesinde bulunan hastalarının yaklaşık yarısını Roche kan gazı cihazının düşük-orta risk bölgesinde sınıflandırdığını saptamışlardır (115).

2001 yılında yayınlanan ilk çalışmalardan bu yana, tam kan bilirubin ölçümleri ile total serum bilirubin ölçümleri arasındaki tutarlılık değerlendirilmiştir. Tam kan örneklerinde eritrosit hücrelerinin seyreltme etkisi, plazmada çözünen maddelerin doğru ölçümü için dikkate alınması gereken önemli bir sorundur. Günümüzde, kan gazı analizörleri kullanılarak yapılan tam kan bilirubin ölçümleri, plazma eşdeğer bilirubin düzeylerini belirlemek için hematokrit için düzeltme yapar (115, 116). Çalışmamızdaki Rapidlab 1265 ve biyokimyasal analizler arasında farka neden olabilecek durumlar arasında da bu metodolojik farklılıklar yer alabilir. Rapidlab 1265 kan gazı cihazı, tam kan örneklerinde çoklu dalga boyu spektrofotometrisi (Co-oksometri) yöntemi kullanarak bilirubin ve hemoglobin seviyelerini belirler. Ham bilirubin değerleri belirlendikten sonra hemotokrit için düzeltme yapılarak neonatal bilirubin seviyeleri belirlenir. Bu yöntemde hemoglobin ve diğer kan bileşenlerinin de ölçüme dahil olması, bilirubin konsantrasyonunun hatalı tahmin edilmesine yol açabilir. Kan gazı cihazında hemoglobin ölçümlerinin doğruluğu hakkında çeşitli tartışmalar bulunmaktadır (16, 113, 117). Huang ve arkadaşları, GEM 4000 kan gazı analizörü kullanılarak yapılan hemoglobin ölçümlerinin yetişkinlerdeki sonuçlarının tutarlı olduğunu, ancak yenidoğanlarda önemli sapmalar olduğunu gözlemlemiştir (118). Kan gazı analizörlerinde total bilirubin ölçümünde hemolizli örnekler de sapmalara neden olabilir (116). Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Gem premier 4000 kan gazı cihazı ile Ortho Vitros biyokimya analizöründe total bilirubin sonuçlarına hemolizin etkisi araştırılmıştır. Hemolizli numunelerde Gem premier kan gazı cihazının biyokimya cihazına göre total bilirubin sonuçlarını daha düşük ölçtüğünü saptamışlardır (16). Bir diğer sapmalara neden olabilecek durum da kan gazı cihazları ve biyokimyasal analiz cihazlarının kalibratör farklılıkları ve

standardizasyon eksikliklerinden kaynaklanabilir. Bu kalibrasyon farkları, ölçüm sonuçlarında tutarsızlıklara yol açabilir (102).

Roche Cobas cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar testinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0,001$). MBJ 20 cihazının, Roche Cobas cihazına göre total bilirubin sonuçlarının medyan değerlerinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Roche Cobas cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,850 saptanmıştır ($p < 0,001$). Pasing-Bablok regresyon analizinde ise regresyon denklemi $y = 1,313 + 0,775x$ saptanmıştır. Şekil 24'deki regresyon denklemine bakıldığında uyum eğrisinin, regresyon eğrisinin üzerinde kaldığı gösterilmiştir. Bu da MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının Roche Cobas cihazına göre total bilirubin sonuçlarını daha düşük ölçme eğiliminde olduğunu göstermektedir. Bland-Altman analizinde MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının, Roche Cobas cihazına göre ortalama farkı - 2,00 mg/dL saptanmıştır ($p < 0,001$). %95 güven aralığındaki limit değerleri - 6,00 mg/dL ve +1,90 mg/dL saptanmıştır. Şekil 25'deki grafiğe bakıldığında 209 numuneden 7'sinin uyum sınırları dışında olduğu görülmüştür. Yüksek bilirubin seviyelerinde farkın arttığı grafikte gözlenmiştir.

Siemens Atellica cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Wilcoxon işaretli sıralar testinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0,001$). MBJ 20 cihazının, Siemens Atellica cihazına göre total bilirubin sonuçlarının medyan değerlerinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Siemens Atellica cihazı ve MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin sonuçları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde r değeri 0,868 saptanmıştır ($p < 0,001$). Pasing-Bablok regresyon analizinde ise regresyon denklemi $y = 1,381 + 0,771x$ saptanmıştır. Şekil 27'deki regresyon denklemine bakıldığında uyum eğrisinin, regresyon eğrisinin üzerinde kaldığı gösterilmiştir. Bu da MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının Siemens Atellica cihazına göre total bilirubin sonuçlarını daha düşük ölçme eğiliminde olduğunu göstermektedir. Bland-Altman analizinde MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre

cihazının, Siemens Atellica cihazına göre ortalama farkı -2,10 mg/dL saptanmıştır ($p<0,001$). %95 güven aralığındaki limit değerleri -5,90 mg/dL ve +1,80 mg/dL saptanmıştır. Şekil 28'deki grafiğe bakıldığında 209 numuneden 7'sinin uyum sınırları dışında olduğu görülmüştür. Yüksek bilirubin seviyelerinde farkın arttığı grafikte gözlenmiştir

Roche Cobas cihazının total bilirubin sonuçlarına göre oluşturan alt gruplarla MBJ 20 cihazının sonuçları karşılaştırılmıştır. Spearman korelasyon analizinden elde edilen r değeri Grup 1' de 0,952, grup 2'de 0,456, grup 3'de 0,354, grup 4' de 0,496 saptanmıştır. Tüm korelasyonlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Bland altman analizinde ise MBJ 20 cihazının Roche Cobas cihazına göre grup 1,2,3 ve 4 için sırasıyla -0,40 mg/dL, -1,00 mg/dL, -2,10 mg/dL ve -3,80 mg/dL ortalama farka sahip olduğu saptanmıştır. En yüksek korelasyon ve en düşük ortalama fark ilk grupta görülmüştür. Total bilirubin değerleri arttıkça ortalama farkın daha da arttığı ve korelasyonun bozulduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda, MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının total bilirubin seviyelerini Roche Cobas cihazı ve Siemens Atellica cihazlarına istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük ölçtüğü saptanmıştır ($p<0,001$). Alt gruplarda yapılan Pasing-Bablok regresyon analizi ve Bland- Altman analizlerine bakıldığında özellikle 12 mg/dL üzerindeki bilirubin değerlerinde tutarsızlıklar tespit edilmiştir. Literatürde çalışma sonuçlarımıza benzer sonuçlar bulan TSB ve TcB sonuçlarını karşılaştıran çok sayıda çalışma vardır (13, 119, 120). Mazrah ve ark. 35 haftadan büyük gebelik yaşına sahip 130 yenidoğan üzerinde yaptıkları bir çalışmada TcB ve TSB değerleri karşılaştırılmıştır. TSB değeri 200 mmol/L (11,69 mg/dL) den yüksek olan hastalarda TcB değerlerinin TSB değerlerini olduğundan düşük ölçtüğünü gözlemlemişlerdir. Ancak 200 mmol/L'nin altındaki TSB değerlerinde TcB değerleri daha yüksek ölçümlerde bulunmuştur (121). Çalışmamızda hem düşük hem de yüksek bilirubin seviyelerinde TcB'nin daha düşük ölçme eğiliminde olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde Şimşek ve ark. yayınladıkları çalışmada 36 haftadan büyük gebelik yaşına sahip 250 Türk yenidoğanda çalışma gerçekleştirilmiştir. TSB değerleriyle alın ve sternumdan gerçekleştirilen transkutanöz bilirubin ölçümlerini karşılaştırmışlardır.

Transkutanöz bilirubinometre cihazıyla alın ve sternumdan gerçekleştirilen ölçümlerin TSB değerlerini olduğundan düşük ölçtüğünü bildirmişlerdir. Özellikle 15 mg/dl üzerindeki TSB değerlerinde ortalama farkın arttığı ve korelasyonun bozulduğunu saptamışlardır (122).

MBJ 20 cihazının performansını değerlendirmek için Roche Cobas cihazının 13 ve 15 mg/dl TSB cut-off değerlerinde Roc analizi yapılmıştır. TSB 13 mg/dL cut-off değerinde MBJ 20 cihazının sensitivitesi %73, spesifitesi %100 ve AUC değeri 0,977 olarak saptanmıştır. MBJ 20 cihazının cut-off değeri 10,05 mg/dL'ye düşürüldüğünde sensitivite %100, spesifite %57,7 saptanmıştır. Cut-off değeri 12,45 mg/dL'ye düşürüldüğünde ise sensitivite % 90, spesifite %90 olarak saptanmıştır. TSB 15 mg/dL cut-off değerinde MBJ 20 cihazının sensitivitesi %33, spesifitesi %99 ve AUC değeri 0,902 saptanmıştır. Bu durumda cihazın sensitivitesinin oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir. MBJ 20 cihazının cut-off değeri 10,25 mg/dL'ye düşürüldüğünde sensitivite %100, spesifite % 46 saptanmıştır. Cut-off değeri 13,05 mg/dL'ye düşürüldüğünde ise sensitivite %82, spesifite %84 saptanmıştır. Bu bulgular, MBJ 20 cihazının sensitivite ve spesifitesinin cut-off değerlerinin ayarlanmasına bağlı olarak önemli ölçüde değişebileceğini göstermektedir. Özellikle düşük cut-off değerlerinde sensitivitenin arttığı, ancak spesifitenin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, klinik uygulamalarda doğru cut-off değerinin belirlenmesinin önemini vurgulamaktadır.

Çalışmamıza benzer şekilde, yüksek total serum bilirubin seviyesine sahip hastaları tespit etmek için transkutanöz bilirubin ölçümlerinde daha düşük cut-off değerleri kullanıldığında, sensitivitenin arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Boo ve ark. yaptığı çalışmada, 300 $\mu\text{mol/L}$ (17,54 mg/dL) veya daha yüksek total serum bilirubin seviyelerini tespit etmek için 250 $\mu\text{mol/L}$ (14,6 mg/dL) cut-off değeri kullanılarak yapılan TcB ölçümlerinde %100 hassasiyet elde edilmiştir (123). Benzer şekilde, Bertini ve ark. yaptığı çalışmada, 256 $\mu\text{mol/L}$ (15 mg/dL) veya daha yüksek total serum bilirubin seviyelerini tespit etmek için 222 $\mu\text{mol/L}$ (13 mg/dL) cut-off değeri kullanıldığında %85,7 hassasiyet bildirilmiştir (124). Ercan ve ark. birden çok cut-off değerinde çalışma gerçekleştirmiştir. TSB 13 mg/dl ve 15 mg/dl cut-off

değerlerinde TcB sırasıyla % 80 ve %64,7 hassasiyet göstermiştir. TSB 15 mg/dl cut-off değerinde TcB cut-off değeri 13,9 mg/dl'ye düşürüldüğünde %81,2 hassasiyet elde etmişlerdir (103).

Ağırlıklı Kappa analizinde Roche Cobas ve MBJ 20 cihazı arasında düşük derecede uyum saptanmıştır (Ağırlıklı kappa değeri: 0,383). Roche Cobas cihazına göre düşük risk bölgesinde sınıflandırılan hastaların hepsini MBJ 20 cihazı da düşük risk bölgesinde sınıflandırmıştır. Roche Cobas cihazının orta-yüksek risk bölgesinde sınıflandırdığı 64 hastanın %78,1'ini MBJ 20 cihazı düşük-orta risk bölgesinde sınıflandırmıştır. Ayrıca Roche Cobas cihazına yüksek risk bölgesinde sınıflandırılan 47 hastanın %36 'sını orta-yüksek risk ve %34 ünü düşük-orta risk bölgesinde sınıflandırmıştır. Çalışmamızdan farklı olarak Boateng ve ark. 99 geç preterm yenidoğanda yaptıkları çalışmada TcB ile TSB sonuçları karşılaştırılmış ve TcB' nin 2,4 mg/dL'lik ortalama fark ile sonuçları daha yüksek ölçme eğiliminde olduğu gösterilmiştir. TcB ve TSB arasında yapılan kappa analizinde ağırlıklı kappa değeri 0,033 bulunmuştur. Biyokimyasal TSB değerlerine göre düşük veya düşük orta risk bölgesinde sınıflanan 75 hastanın %93 ünü orta-yüksek veya yüksek risk bölgesinde sınıflandırmıştır. Ayarlanmış TcB-1mg/dL değerleri ile TSB sonuçları arasında yapılan kappa analizinde ağırlıklı kappa değeri 0,298 bulunmuştur. Biyokimyasal TSB değerlerine göre düşük veya düşük orta risk bölgesinde sınıflanan 75 hastanın %53,3 'ünü orta-yüksek veya yüksek risk bölgesinde sınıflandırmıştır. Ayarlanmış TcB-2mg/dL değerleri ile TSB sonuçları arasında yapılan kappa analizinde ağırlıklı kappa değeri 0,43 bulunmuştur. Biyokimyasal TSB değerlerine göre düşük veya düşük orta risk bölgesinde sınıflanan 75 hastanın %29,3 'ünü orta-yüksek veya yüksek risk bölgesinde sınıflandırmıştır (125).

Çalışmamızda, MBJ 20 cihazının total bilirubin seviyelerini Roche Cobas cihazı ve Siemens Atellica cihazına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük ölçtüğü saptanmıştır ($p<0,001$). MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının ölçüm sonuçlarında sapmaya neden olabilecek birçok faktör vardır. TcB cihazları optik spektroskopi prensibine dayanır ve bilirubinün subkutanöz dokudaki optik emilimini bilirubin konsantrasyonu ile ilişkilendirir (126). Cilt dokunun kalınlığı,

kemik derinliği gibi faktörler bilirubinini doğru ölçülmesini etkileyebilir. Daha kalın cilt veya yağ dokusu, bilirubinini cilt yüzeyine ulaşmasını engelleyebilir, bu da ölçüm sonuçlarında hatalara neden olabilir. Cildin ışık saçılımı özelliği de ölçümlerde sapmalara neden olabilir (126). Ciltteki melanin pigmenti ve hemoglobin, ışığın yansımalarını ve emilimini etkileyebilir. Hindistan'da Jandial ve ark. ile Afrika'da Olusanya ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda, TcB ölçümlerinin yenidoğanlarda TSB ölçümlerine kıyasla bilirubin seviyelerini fazla ölçtüğü gözlemlenmiştir. Bu bulgular, cilt pigmentasyonunun TcB ölçümlerinde önemli bir etken olduğunu ve farklı cilt tonlarına sahip popülasyonlarda TcB'nin doğruluğunu etkileyebileceğini göstermektedir (14, 15). Wainer ve ark. yaptığı başka bir çalışmada da TcB cihazı açık ve orta cilt tonuna sahip bebeklerde serum bilirubin konsantrasyonlarıyla iyi bir korelasyon gösterdi, ancak daha açık cilt tonuna sahip olan hastalarda düşük ölçümler gerçekleştirmiştir. Daha koyu cilt tonu olan hastalarda yüksek ölçme eğilimi göstermiştir (127).

Çalışmamız, yenidoğanlarda total bilirubin ölçüm yöntemlerinin karşılaştırılmasını amaçlayan bir çalışmadır. Daha önce, non-kimyasal fotometrik metod, optik metod ve diazo metodlarının çoklu karşılaştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmış olsa da, bildiğimiz kadarıyla bu çalışmalar arasında vanadat oksidaz metodunu kullanan bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın sınırlamaları arasında, preterm ve term hasta ayrımı yapılmaması, kronik hastalığı olan, hiperbilirubinemi tedavisi alan veya yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan hastaları içermemesi gösterilebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yenidoğan bebeklerde en sık görülen klinik belirtilerden biri olan sarılık, vücutta bilirubin seviyesinin artmasıyla meydana gelir. Yenidoğan sarılığı çoğu zaman kendini sınırlayan ve zamanla düzelen bir durum olmasına rağmen yenidoğanların küçük bir kısmında bilirubin ciddi seviyelere yükselerek akut bilirubin ensefalopatisinden kernikterusa kadar ilerleyebilecek nörolojik bozukluklara sebep olabilir. Hızlı tanı alması ve tedaviye erken başlanması komplikasyon gelişmemesi açısından çok önemlidir.

Neonatal hiperbilirubinemi vakalarında tanı, risk sınıflandırması ve tedaviye karar verme açısından bilirubin seviyeleri ölçümü çok önemlidir. Total bilirubin seviyeleri farklı yöntemler ve cihazlar kullanılarak ölçülebilir. Kullanılan yöntemlerin avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Klinik tanıda yaygın olarak serum veya plazmada ölçüm gerçekleştiren biyokimyasal analizler kullanılmaktadır. Bu analizler venöz kan alımı gerektirir ve yenidoğanlarda anemi vb. durumları tetikleyebilirler.

Cilt üzerinden non-invaziv ölçüm gerçekleştiren transkutanöz bilirubinometre cihazları da yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu cihazlar özellikle yenidoğan sarılığı taramasında kullanılır. Yöntemi interfere eden çeşitli faktörler bulunmaktadır. Cilt dokusunun kalınlığı, kemik derinliği, ciltteki melanin miktarı gibi faktörlerden ölçüm sonuçları etkilenebilir. Ayrıca yüksek bilirubin seviyelerinde biyokimyasal analizlerle olan korelasyonun bozulduğu ve sonuçların hatalı ölçüldüğünü gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Tam kanda non-kimyasal fotometrik yöntemle ölçüm gerçekleştiren kan gazı cihazlarında da total bilirubin seviyeleri ölçülebilmektedir. Az miktarda tam kan kullanarak ölçüm gerçekleştirilir. Bu işlem hızlı sonuç vermesi ve kan gazında bakılabilecek acil ek parametrelere de aynı anda bakılabilmesi gibi avantajlara sahiptir. Ancak bu yöntemin metodolojik farklılıkları çeşitli interferanslara açık hale gelmesine neden olur. Tam kan kullanılması eritrositlerin seyreltme etkisine maruz kalmasına neden olur ama günümüzde bu durumu engellemek için kan gazı cihazları hemotokrit

(HCT) için düzeltme yaparak total bilirubin sonuçlarını verir. HCT seviyelerinin yanlış hesaplanması, anormal HCT değerleri veya yüksek hemoglobin seviyeleri bilirubin sonuçlarının yanlış saptanmasına neden olabilir. Tam kan total bilirubin ölçümlerinin klinikte kullanılması için öncelikle TSB seviyeleri ile iyi bir korelasyona sahip olduğu gösterilmelidir.

Farklı metodların avantajları ve dezavantajları dikkate alınarak yapılan ölçümler, yenidoğanların sağlıklı bir şekilde büyüme ve gelişme şansını artırır ve potansiyel nörolojik hasar riskini azaltır. Bu nedenle, klinik uygulamalarda kullanılan bilirubin ölçüm cihazlarının doğru seçimi ve kullanımı büyük önem taşır.

Bu çalışmada yenidoğanlarda bilirubin analizinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Rutin laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan diazo metodu (Roche Cobas) ve vanadat oksidaz metodu (Siemens Atellica) ile non-kimyasal fotometrik metod (Rapidlab 1265 kan gazı analizörü) ve optik metod (MBJ20 transkutanöz bilirubinometre) karşılaştırılmıştır

Bu çalışmanın sonucunda serum veya plazmada ölçüm gerçekleştiren Siemens Atellica ve Roche Cobas cihazlarının total bilirubin sonuçlarına kıyasla, tam kanda ölçüm gerçekleştiren Rapidlab 1265 kan gazı cihazının total bilirubin sonuçlarının daha yüksek olduğu, MBJ 20 transkutanöz bilirubinometre cihazının sonuçlarının ise daha düşük olduğu saptanmıştır. Her iki yöntem için de bu sapmanın yüksek bilirubin seviyelerinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Total bilirubin ölçümünde rutin tanıda yaygın olarak serum veya plazmada gerçekleştirilen biyokimyasal analizler kullanılmaktadır. Ancak hastanın klinik durumuna, aciliyetine göre farklı yöntemler de tercih edilebilmektedir. Özellikle birden fazla farklı yöntemin kullanıldığı hastanelerde sonuçlar arası farklılıklar görülebilmektedir. Bu durum, klinik karar verme sürecinde potansiyel zorluklar yaratabilir. Bu nedenle, klinisyenler ve laboratuvar uzmanları arasındaki etkili iletişim, hasta yönetiminin optimize edilmesi ve klinik sonuçların iyileştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Etkili bir işbirliği, doğru tanı ve tedavi yaklaşımlarının belirlenmesine katkıda bulunur.

7. KAYNAKLAR

1. Ansong-Assoku B, Shah SD, Adnan M, Ankola PA. Neonatal Jaundice. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Sanket Shah declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Mohammad Adnan declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Pratibha Ankola declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing
Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.
2. Fanaroff AA, Martin R, Walsh M. Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine. 9 ed. Fanaroff AA, Martin R, Walsh M, editors: Elsevier Mosby; 2011.
3. Ullah S, Rahman K, Hedayati M. Hyperbilirubinemia in Neonates: Types, Causes, Clinical Examinations, Preventive Measures and Treatments: A Narrative Review Article. Iran J Public Health. 2016;45(5):558-68.
4. Bhutani VK, Johnson-Hamerman L. The clinical syndrome of bilirubin-induced neurologic dysfunction. Semin Fetal Neonatal Med. 2015;20(1):6-13.
5. Amegan-Aho KH, Segbefia CI, Glover NDO, Ansa GA, Afaa TJ. Neonatal Jaundice: awareness, perception and preventive practices in expectant mothers. Ghana Med J. 2019;53(4):267-72.
6. Okwundu CI, Olowoyeye A, Uthman OA, Smith J, Wiysonge CS, Bhutani VK, et al. Transcutaneous bilirubinometry versus total serum bilirubin measurement for newborns. Cochrane Database Syst Rev. 2023;5(5):Cd012660.
7. Guerra Ruiz AR, Crespo J, López Martínez RM, Iruzubieta P, Casals Mercadal G, Lalana Garcés M, et al. Measurement and clinical usefulness of bilirubin in liver disease. Adv Lab Med. 2021;2(3):352-72.
8. Rifai N, Chiu RWK, Young I, Burnham C-AD, Carl T. Wittwer. Tietz Textbook of Laboratory Medicine. 7 ed. Rifai N, editor: Elsevier; 2022.
9. Dumas BT, Kwok-Cheung PP, Perry BW, Jendrzeczek B, McComb RB, Schaffer R, et al. Candidate reference method for determination of total bilirubin in serum: development and validation. Clin Chem. 1985;31(11):1779-89.
10. Bhutani VK, Johnson L, Sivieri EM. Predictive ability of a pre-discharge hour-specific serum bilirubin for subsequent significant hyperbilirubinemia in healthy term and near-term newborns. Pediatrics. 1999;103(1):6-14.
11. Kemper AR, Newman TB, Slaughter JL, Maisels MJ, Watchko JF, Downs SM, et al. Clinical Practice Guideline Revision: Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. Pediatrics. 2022;150(3).
12. Dai J, Krahn J, Parry DM. Clinical impact of transcutaneous bilirubinometry as an adjunctive screen for hyperbilirubinemia. Clin Biochem. 1996;29(6):581-6.
13. Grohmann K, Roser M, Rolinski B, Kadow I, Müller C, Goerlach-Graw A, et al. Bilirubin measurement for neonates: comparison of 9 frequently used methods. Pediatrics. 2006;117(4):1174-83.
14. Olusanya BO, Imosemi DO, Emokpae AA. Differences Between Transcutaneous and Serum Bilirubin Measurements in Black African Neonates. Pediatrics. 2016;138(3).
15. Jandial S, Parmar N, Gosai V. Correlation between transcutaneous and serum bilirubin measurements in neonates in a tertiary neonatal care center. Int J Res Med Sci. 2017;6(2):86-9.
16. Wang L, Albert AY, Jung B, Hadad K, Lyon ME, Basso M. Limitations and opportunities of whole blood bilirubin measurements by GEM premier 4000®. BMC Pediatr. 2017;17(1):92.
17. Kaplan LAP, Amadeo J. METHODS in CLINICAL CHEMISTRY. 5 ed. Hickman PE, Koerbin G, editors: Mosby; 2009.
18. Mukerji S, Popat H, Chung JZ. Accuracy of bilirubin on the Siemens RAPIDPoint 500 blood gas analyser: A data mining study. J Paediatr Child Health. 2022;58(6):1013-5.
19. Çoban A, Kaynak Türkmen, M., & Gürsoy, T. Yenidoğan Sarılıklarında Yaklaşım, İzlem ve Tedavi Rehberi. 2023.
20. Kaplan M, Hammerman C. American Academy of Pediatrics guidelines for detecting neonatal hyperbilirubinaemia and preventing kernicterus. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2005;90(6):F448-9.

21. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics*. 2004;114(1):297-316.
22. Ogun AS, Joy NV, Valentine M. Biochemistry, Heme Synthesis. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Neena Joy declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Menogh Valentine declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing
Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.
23. Layer G, Reichelt J, Jahn D, Heinz DW. Structure and function of enzymes in heme biosynthesis. *Protein Sci*. 2010;19(6):1137-61.
24. Creeden JF, Gordon DM, Stec DE, Hinds TD, Jr. Bilirubin as a metabolic hormone: the physiological relevance of low levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2021;320(2):E191-e207.
25. Soto Conti CP. Bilirubin: The toxic mechanisms of an antioxidant molecule. *Arch Argent Pediatr*. 2021;119(1):e18-e25.
26. Consoli V, Sorrenti V, Grosso S, Vanella L. Heme Oxygenase-1 Signaling and Redox Homeostasis in Physiopathological Conditions. *Biomolecules*. 2021;11(4).
27. Lemberg R, Wyndham RA. Reduction of biliverdin to bilirubin in tissues. *Biochem J*. 1936;30(7):1147-70.
28. Maghzal GJ, Leck MC, Collinson E, Li C, Stocker R. Limited role for the bilirubin-biliverdin redox amplification cycle in the cellular antioxidant protection by biliverdin reductase. *J Biol Chem*. 2009;284(43):29251-9.
29. Florczyk UM, Jozkowicz A, Dulak J. Biliverdin reductase: new features of an old enzyme and its potential therapeutic significance. *Pharmacol Rep*. 2008;60(1):38-48.
30. Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, Gantla S, de Boer A, Oostra BA, et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med*. 1995;333(18):1171-5.
31. O'Brien L, Hosick PA, John K, Stec DE, Hinds TD, Jr. Biliverdin reductase isozymes in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2015;26(4):212-20.
32. Itoh S, Okada H, Koyano K, Nakamura S, Konishi Y, Iwase T, et al. Fetal and neonatal bilirubin metabolism. *Front Pediatr*. 2022;10:1002408.
33. Stevenson DK, Fanaroff AA, Maisels MJ, Young BW, Wong RJ, Vreman HJ, et al. Prediction of hyperbilirubinemia in near-term and term infants. *Pediatrics*. 2001;108(1):31-9.
34. Adin CA. Bilirubin as a Therapeutic Molecule: Challenges and Opportunities. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(10).
35. Cui Y, König J, Leier I, Buchholz U, Keppler D. Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporter SLC21A6. *J Biol Chem*. 2001;276(13):9626-30.
36. Wolkoff AW, Goresky CA, Sellin J, Gatmaitan Z, Arias IM. Role of ligandin in transfer of bilirubin from plasma into liver. *Am J Physiol*. 1979;236(6):E638-48.
37. Levi AJ, Gatmaitan Z, Arias IM. Two hepatic cytoplasmic protein fractions, Y and Z, and their possible role in the hepatic uptake of bilirubin, sulfobromophthalein, and other anions. *J Clin Invest*. 1969;48(11):2156-67.
38. Kalakonda A, Jenkins BA, John S. Physiology, Bilirubin. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Bianca Jenkins declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Savio John declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing
Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.
39. Kennelly PJ, Botham KM, McGuinness OP, Rodwell VW, Weil PA. Harper's Illustrated Biochemistry. 32nd Edition ed. New York: McGraw Hill; 2023.
40. Gleason CA, Juul SE. Avery's Diseases of the Newborn. 10 ed. Gleason CA, Juul SE, editors: elsevier; 2018.
41. BISHOP M, FODY E, SCHOEFF L. KLÍNÍK BĪYOKĪMYA2016.
42. Vitek L, Majer F, Muchová L, Zelenka J, Jirásková A, Branný P, et al. Identification of bilirubin reduction products formed by *Clostridium perfringens* isolated from human neonatal fecal flora. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2006;833(2):149-57.
43. Hamoud AR, Weaver L, Stec DE, Hinds TD, Jr. Bilirubin in the Liver-Gut Signaling Axis. *Trends Endocrinol Metab*. 2018;29(3):140-50.

44. Yang H, Li H, Xia Q, Dai W, Li X, Liu Y, et al. UGT1A1 variants in Chinese Uighur and Han newborns and its correlation with neonatal hyperbilirubinemia. *PLoS One*. 2022;17(12):e0279059.
45. Khoury MJ, Calle EE, Joesoef RM. Recurrence risk of neonatal hyperbilirubinemia in siblings. *Am J Dis Child*. 1988;142(10):1065-9.
46. Hansen TWR. Narrative review of the epidemiology of neonatal jaundice. *Pediatric Medicine*. 2021;4.
47. Linn S, Schoenbaum SC, Monson RR, Rosner B, Stubblefield PG, Ryan KJ. Epidemiology of neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics*. 1985;75(4):770-4.
48. Jährig D, Jährig K, Stiete S, Beyersdorff E, Poser H, Hopp H. Neonatal jaundice in infants of diabetic mothers. *Acta Paediatr Scand Suppl*. 1989;360:101-7.
49. Olusanya BO, Osibanjo FB, Slusher TM. Risk factors for severe neonatal hyperbilirubinemia in low and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10(2):e0117229.
50. Castillo A, Grogan TR, Wegrzyn GH, Ly KV, Walker VP, Calkins KL. Umbilical cord blood bilirubins, gestational age, and maternal race predict neonatal hyperbilirubinemia. *PLoS One*. 2018;13(6):e0197888.
51. Freeman J, Lesko SM, Mitchell AA, Epstein MF, Shapiro S. Hyperbilirubinemia following exposure to pancuronium bromide in newborns. *Dev Pharmacol Ther*. 1990;14(4):209-15.
52. Boskabadi H, Maamouri G, Zakerihamidi M, Mohammadzadeh Vatanchi A, Sokhtanloo M, Mousavi MS, et al. Comparison of hyperbilirubinemia incidence between the newborns of zinc-taking and non-zinc-taking mothers during the third trimester of pregnancy. *Caspian J Intern Med*. 2021;12(4):521-5.
53. Moore LG, Newberry MA, Freeby GM, Crnic LS. Increased incidence of neonatal hyperbilirubinemia at 3,100 m in Colorado. *Am J Dis Child*. 1984;138(2):157-61.
54. Rathore S, Kumar V, R S. A critical review on neonatal hyperbilirubinemia-an Ayurvedic perspective. *J Ayurveda Integr Med*. 2020;11(2):190-6.
55. Üstün N. Yenidoğan Sarılığı. *Klinik Tıp Aile Hekimliği Dergisi*. 2018;10:55.
56. Vural M. Bilirubin Nörotoksitesisi. *Güncel Pediatri*. 2008;6:112-3.
57. Bratton S, Cantu RM, Stern M. Breast Milk Jaundice. *StatPearls*. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Rebecca Cantu declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Mitchell Stern declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing
Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.
58. Gartner LM. Breastfeeding and jaundice. *J Perinatol*. 2001;21 Suppl 1:S25-9; discussion S35-9.
59. Leung AK, Sauve RS. Breastfeeding and breast milk jaundice. *J R Soc Health*. 1989;109(6):213-7.
60. Gomella TL, Cunningham MD, Eyal FG. Neonatology: Management, Procedures, On-Call Problems, Diseases, and Drugs. 7 ed. Gomella TL, editor: McGraw-Hill Education; 2013.
61. Hall V, Avulakunta ID. Hemolytic Disease of the Newborn. *StatPearls*. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Indirapriya Darshini Avulakunta declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing
Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.
62. Neamțu SD, Novac MB, Neamțu AV, Stanca ID, Boldeanu MV, Gluhovschi A, et al. Fetal-maternal incompatibility in the Rh system. Rh isoimmunization associated with hereditary spherocytosis: case presentation and review of the literature. *Rom J Morphol Embryol*. 2022;63(1):229-35.
63. Miserre L, Wienzek-Lischka S, Mann A, Cooper N, Santoso S, Ehrhardt H, et al. ABO Incompatibility between the Mother and Fetus Does Not Protect against Anti-Human Platelet Antigen-1a Immunization by Pregnancy. *J Clin Med*. 2022;11(22).
64. Lee HY, Ithnin A, Azma RZ, Othman A, Salvador A, Cheah FC. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and Neonatal Hyperbilirubinemia: Insights on Pathophysiology, Diagnosis, and Gene Variants in Disease Heterogeneity. *Front Pediatr*. 2022;10:875877.
65. Wu Y, Liao L, Lin F. The diagnostic protocol for hereditary spherocytosis-2021 update. *J Clin Lab Anal*. 2021;35(12):e24034.


66. Zhang Y, Shao S, Liu J, Zeng C, Han Y, Zhang X. Neonatal hereditary spherocytosis caused by a de novo frameshift mutation of the SPTB gene characterized by hydrops fetalis: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2021;100(12):e24804.
67. Christensen RD, Henry E. Hereditary spherocytosis in neonates with hyperbilirubinemia. *Pediatrics*. 2010;125(1):120-5.
68. Amiri FB, Tavasoli S, Borumandnia N, Taheri M. Factors Affecting Prevalence of Urinary Tract Infection in Neonates with Unexplained Hyperbilirubinemia: A Systematic Review and Meta-Analysis Study in Iran. *Iran J Public Health*. 2021;50(7):1311-23.
69. Kardum D, Serdarušić I, Biljan B, Šantić K, Živković V, Kos M. Cord blood bilirubin and prediction of neonatal hyperbilirubinemia and perinatal infection in newborns at risk of hemolysis. *J Pediatr (Rio J)*. 2021;97(4):440-4.
70. Black VD, Lubchenco LO, Koops BL, Poland RL, Powell DP. Neonatal hyperviscosity: randomized study of effect of partial plasma exchange transfusion on long-term outcome. *Pediatrics*. 1985;75(6):1048-53.
71. Boskabadi H, Rakhshanzadeh F, Zakerihamidi M. Evaluation of Maternal Risk Factors in Neonatal Hyperbilirubinemia. *Arch Iran Med*. 2020;23(2):128-40.
72. Memon N, Weinberger BI, Hegyi T, Aleksunes LM. Inherited disorders of bilirubin clearance. *Pediatr Res*. 2016;79(3):378-86.
73. Kaplan M, Renbaum P, Levy-Lahad E, Hammerman C, Lahad A, Beutler E. Gilbert syndrome and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a dose-dependent genetic interaction crucial to neonatal hyperbilirubinemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(22):12128-32.
74. Kaplan M. Genetic interactions in the pathogenesis of neonatal hyperbilirubinemia: Gilbert's Syndrome and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *J Perinatol*. 2001;21 Suppl 1:S30-4; discussion S5-9.
75. Cozzi L, Nuti F, Degrassi I, Civeriati D, Paoletta G, Nebbia G. Gilbert or Crigler-Najjar syndrome? Neonatal severe unconjugated hyperbilirubinemia with P364L UGT1A1 homozygosity. *Ital J Pediatr*. 2022;48(1):59.
76. Irk T, Bekem Soylu Ö, Çalkavur Ş, Olukman Ö, Çelik K. Evaluation of Patients with Conjugated Hyperbilirubinemia in Neonatal Period. *J Behcet Uz Child Hosp*. 2020;10(2):143-9.
77. Shapiro SM. Definition of the clinical spectrum of kernicterus and bilirubin-induced neurologic dysfunction (BIND). *J Perinatol*. 2005;25(1):54-9.
78. Karimzadeh P, Fallahi M, Kazemian M, Taslimi Taleghani N, Nouripour S, Radfar M. Bilirubin Induced Encephalopathy. *Iran J Child Neurol*. 2020;14(1):7-19.
79. Wennberg RP. The blood-brain barrier and bilirubin encephalopathy. *Cell Mol Neurobiol*. 2000;20(1):97-109.
80. Shapiro SM. Chapter 11. Kernicterus. In: Stevenson DK, Maisels MJ, Watchko JF, editors. *Care of the Jaundiced Neonate*. New York, NY: The McGraw-Hill Companies; 2012.
81. Ip S, Chung M, Kulig J, O'Brien R, Sege R, Glick S, et al. An evidence-based review of important issues concerning neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics*. 2004;114(1):e130-53.
82. Kramer LI. Advancement of dermal icterus in the jaundiced newborn. *Am J Dis Child*. 1969;118(3):454-8.
83. Kamphuis ASJ, Bekhof J. Cephalocaudal progression of neonatal jaundice assessed by transcutaneous bilirubin measurements. *Early Hum Dev*. 2021;160:105418.
84. Abiha U, Banerjee DS, Mandal S. Demystifying non-invasive approaches for screening jaundice in low resource settings: a review. *Front Pediatr*. 2023;11:1292678.
85. Çoban A, Türkmen MK, Gürsoy T. Turkish Neonatal Society guideline to the approach, follow-up, and treatment of neonatal jaundice. *Turk Pediatr Ars*. 2018;53(Suppl 1):S172-s9.
86. Mreihil K, Madsen P, Nakstad B, Benth J, Ebbesen F, Hansen TW. Early formation of bilirubin isomers during phototherapy for neonatal jaundice: effects of single vs. double fluorescent lamps vs. photodiodes. *Pediatr Res*. 2015;78(1):56-62.
87. Singh A, Koritala T, Jialal I. Unconjugated Hyperbilirubinemia. *StatPearls*. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Thoyaja Koritala declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Ishwarlal Jialal declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing
Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.

88. Ahlfors CE, Amin SB, Parker AE. Unbound bilirubin predicts abnormal automated auditory brainstem response in a diverse newborn population. *J Perinatol.* 2009;29(4):305-9.
89. Doumas BT, Wu TW, Jendrzyszczak B. Delta bilirubin: absorption spectra, molar absorptivity, and reactivity in the diazo reaction. *Clin Chem.* 1987;33(6):769-74.
90. Thaler M, Luppia PB, Schlebusch H. Bilirubin measurement – an updated survey1. *LaboratoriumsMedizin.* 2008;32(1):---.
91. Norman M, Aytug H, Celebi HB. Evaluation of a new transcutaneous bilirubinometer in newborn infants. *Sci Rep.* 2022;12(1):5835.
92. van Erk MD, Dam-Vervloet AJ, de Boer FA, Boomsma MF, Straaten HV, Bosschaart N. How skin anatomy influences transcutaneous bilirubin determinations: an in vitro evaluation. *Pediatr Res.* 2019;86(4):471-7.
93. Ngashangva L, Bachu V, Goswami P. Development of new methods for determination of bilirubin. *J Pharm Biomed Anal.* 2019;162:272-85.
94. Oostendorp M, Ten Hove CH, van Berkel M, Roovers L. A Significant Increase in the Incidence of Neonatal Hyperbilirubinemia and Phototherapy Treatment Due to a Routine Change in Laboratory Equipment. *Arch Pathol Lab Med.* 2024;148(2):e40-e7.
95. Tokuda K. New method of measuring serum bilirubin using vanadic acid. *Jpn J Clin Chem.* 1993;22:116-22.
96. Healthineers S. Atellica CH Total Bilirubin_2 (TBil_2) Testi. 2022.
97. Diagnostics R. Bilirubin Total Gen.3 (BILT3) Method Sheet. 2017.
98. Healthineers S. RAPIDLab 1200 Operator's Guide.
99. Beijing M&B Electronic Instruments Co. L. MBJ20 Transcutaneous Jaundice Detector User Manual. 2013.
100. Fraser CG, Petersen PH. Desirable standards for laboratory tests if they are to fulfill medical needs. *Clin Chem.* 1993;39(7):1447-53; discussion 53-5.
101. Desirable Biological Variation Database specifications [Available from: <https://westgard.com/clia-a-quality/quality-requirements/biodatabase1.html>].
102. Kuang Z, Zong X, Xing S, Zhao F, Guo S, Li H, et al. Analytical performance validation and clinical application of blood gas analyzer on the detection of neonatal bilirubin. *Transl Pediatr.* 2021;10(12):3175-83.
103. Ercan Ş, Özgün G. The accuracy of transcutaneous bilirubinometer measurements to identify the hyperbilirubinemia in outpatient newborn population. *Clin Biochem.* 2018;55:69-74.
104. Hansen TWR, Bratlid D. Chapter 5. Physiology of Neonatal Unconjugated Hyperbilirubinemia. In: Stevenson DK, Maisels MJ, Watchko JF, editors. *Care of the Jaundiced Neonate.* New York, NY: The McGraw-Hill Companies; 2012.
105. Olusanya BO, Kaplan M, Hansen TWR. Neonatal hyperbilirubinaemia: a global perspective. *Lancet Child Adolesc Health.* 2018;2(8):610-20.
106. Cat FC, Cat A, Cicek T, Gulec SG. Evaluation of the Relationship Between Transcutaneous Bilirubin Measurement and Total Serum Bilirubin in Neonatal Patients Followed for Jaundice. *Sisli Etfal Hastan Tip Bul.* 2021;55(2):262-7.
107. Klauke R, Kytzia HJ, Weber F, Grote-Koska D, Brand K, Schumann G. Reference measurement procedure for total bilirubin in serum re-evaluated and measurement uncertainty determined. *Clin Chim Acta.* 2018;481:115-20.
108. Ameri M, Schnaars H, Sibley J, Honor D. Comparison of the vanadate oxidase method with the diazo method for serum bilirubin determination in dog, monkey, and rat. *J Vet Diagn Invest.* 2011;23(1):120-3.
109. Aranda C, Torrubia D, Álvarez L. Determining the correlation and accuracy of three methods of measuring neonatal bilirubin concentration: serum, capillary and transcutaneous bilirubin. *Biomed J Sci & Tech Res.* 2017;1(3):722-6.
110. Mussavi M, Niknafs P, Bijari B. Determining the correlation and accuracy of three methods of measuring neonatal bilirubin concentration. *Iran J Pediatr.* 2013;23(3):333-9.
111. Nambara T, Katayama Y, Enomoto M, Kikuchi S, Takei A, Ikegami H, et al. Reliability of Total Bilirubin Measurements in Whole Blood from Preterm Neonates Using a Blood Gas Analyzer. *Clin Lab.* 2016;62(11):2285-9.

112. Lano IM, Lyon AW, Wang L, Ruskin R, Lyon ME. Comparative evaluation of neonatal bilirubin using Radiometer whole blood co-oximetry and plasma bilirubin methods from Roche Diagnostics and Ortho Clinical Diagnostics. *Clin Biochem*. 2018;53:88-92.
113. Mielsch C, Zimmermann A, Wagner D, Matthes B, Schlebusch H, Luppä PB. Point-of-care determination of neonatal bilirubin with the blood gas analyzer RapidLab 1265. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(10):1455-61.
114. Makkong P, Choosongsang P, Choosongsang P, Trongnit S, Sriwimol W. The Direct Spectrophotometric Method Is Reliable for Initial Assessment of Total Bilirubin in Neonatal Venous Plasma. *Laboratory Medicine*. 2021;53(2):199-205.
115. Wang Q, Zhang T, Lin Y, Jiang L, Zhou W, Zong X. Accuracy and Reliability of Whole Blood Bilirubin Measurements Using a Roche Blood Gas Analyzer for Neonatal Hyperbilirubinemia Screening and Risk Stratification. *Front Pediatr*. 2022;10:910566.
116. Rolinski B, Küster H, Ugele B, Gruber R, Horn K. Total Bilirubin Measurement by Photometry on a Blood Gas Analyzer: Potential for Use in Neonatal Testing at the Point of Care. *Clinical Chemistry*. 2001;47(10):1845-7.
117. Murphy PT. Inaccurate haemoglobin measurement by blood gas analyzer may lead to severe adverse clinical consequences. *Am J Emerg Med*. 2020;38(2):395.
118. Huang Y, Dean R, Dubbelman Y, Vincent A, Khurshid F. Neonatal hemoglobin affects the accuracy of whole blood bilirubin measurement on GEM Premier 4000 blood gas analyzers. *Pract Lab Med*. 2021;25:e00231.
119. Wong CM, van Dijk PJ, Laing IA. A comparison of transcutaneous bilirubinometers: SpectRx BiliCheck versus Minolta AirShields. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2002;87(2):F137-40.
120. Lam TS, Tsui KL, Kam CW. Evaluation of a point-of-care transcutaneous bilirubinometer in Chinese neonates at an accident and emergency department. *Hong Kong Med J*. 2008;14(5):356-60.
121. Mohamed M, Ibrahim NR, Ramli N, Abdul Majid N, Yacob NM, Nasir A. Comparison between the Transcutaneous and Total Serum Bilirubin Measurement in Malay Neonates with Neonatal Jaundice. *Malays J Med Sci*. 2022;29(1):43-54.
122. Şimşek FM, Narter F, Ergüven M. Comparison of transcutaneous and total serum bilirubin measurement in Turkish newborns. *Turk J Pediatr*. 2014;56(6):612-7.
123. Boo NY, Ishak S. Prediction of severe hyperbilirubinaemia using the Bilicheck transcutaneous bilirubinometer. *J Paediatr Child Health*. 2007;43(4):297-302.
124. Bertini G, Pratesi S, Cosenza E, Dani C. Transcutaneous bilirubin measurement: evaluation of Bilitest. *Neonatology*. 2008;93(2):101-5.
125. Akuamoah-Boateng G, Stetson RC, Karon BS, Brumbaugh JE. Refining interpretation of transcutaneous bilirubin measurement in newborns born late preterm. *Pediatr Neonatol*. 2022;63(5):484-8.
126. Dam-Vervloet AJ, van Erk MD, Doorn N, Lip SGJ, Timmermans NA, Vanwinsen L, et al. Inter-device reproducibility of transcutaneous bilirubin meters. *Pediatr Res*. 2021;89(4):770-5.
127. Wainer S, Rabi Y, Parmar SM, Allegro D, Lyon M. Impact of skin tone on the performance of a transcutaneous jaundice meter. *Acta Paediatr*. 2009;98(12):1909-15.

8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi




T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Ankara Şehir Hastanesi
1 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : E.Kurul –E1-23-4199

4199-no’lu çalışma

Ankara Şehir Hastanesi Tıbbi Biyokimya Kliniği’nde yapılması planlanan
“Hiperbilirubinemi Ölçümünde Farklı Analiz Yöntem Kullanılmasının Etkisi” konulu çalışma
incelenmiş olup, Etik açıdan oy birliğiyle uygun görülmüştür.


Etik Kurul Başkanı

Etik Kurul Sekreterliği Üniversiteler Mah. Bilkent Cad. No:1 Çankaya/Ankara İrtibat; Etik Kurul EKadioğlu
Tel: 0 (312) 552 66 00

Ek 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “**Hiperbilirubinemi ölçümünde farklı analiz yöntem kullanılması etkisi**” dir.

Araştırmamızın amacı; Farklı bilirubin ölçüm yöntemlerini karşılaştırmak ve ölçüm yöntemleri arasındaki farklılığın hiperbilirubineminin değerlendirilmesine olan etkisini araştırmaktır.

Bu araştırmada sizin için beklenen riskler ve rahatsızlıklar yoktur; ancak sizin için beklenen yarar da bulunmamaktadır.

Bu araştırmanın olası yararları bilirubin ölçen cihazların birbiriyle uyumlu sonuç verip vermediklerine karar vermektir. Bu çalışma 12 ay sürecektir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için Ankara Şehir Hastanesi telefon numarasından dahili:703116 no.lu telefondan bize başvurabilirsiniz.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır; ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı olduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dâhilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan gerekleri yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız nedeni ile sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana

yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Eğer bu araştırma sonrası tetkik için kullanılacak kadar kan numunesi kalırsa bu numuneler tetkik tekrarı gerekmesi ihtimaline karşı bir müddet saklanmaktadır. Bu sürenin sonunda (Size uygun gelen seçenekleri işaretleyiniz.)

Bu Örneklerin kurumun uygun göreceği sürece saklanmasını
Kabul ediyorum **EVET** **HAYIR**

Şayet bu örneklerin saklanmasına izin verirsiniz
Bu örneklerin devam eden veya yeni başlayacak
gerekli kurullardan onay almış araştırmalarda
kullanılmasını kabul ediyorum **EVET** **HAYIR**

Bu örneklerin devam eden veya yeni başlayacak
gerekli kurullardan onay almış araştırmalarda
sadece bana haber verilerek tekrar izin alındıktan sonra
kullanılmasını kabul ediyorum **EVET** **HAYIR**

Bu örneklerin araştırmalarda kullanılmasını kabul ettiyseniz bu araştırmalarla
ile ilgili talep ettiğiniz anda Doç. Dr. Ceylan BAL'dan bilgi alabilirsiniz. Bunun
dışında bu tetkiklerinizde sağlığınızla ilgili fayda sağlayabilecek bir bilgiye
ulaşılırsa bunun tarafınıza bildirilmesini ister misiniz **EVET** **HAYIR**

Bu Örneklerin imha edilmesini istiyorum **EVET** **HAYIR**

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş
görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

