



**KARDİYOLOJİ POLİKLİNİĞİNE BAŞVURAN WARFARİN
KULLANAN HASTALARDA KANDA PIHTILAŞMA HIZININ
BELİRLENMESİ İÇİN TEK KULLANIMLIK TEST KİTİ
GELİŞTİRİLMESİ**

Beyza SÖNMEZ

İLAÇ ENDÜSTRİSİNDE AR-GE VE ÜRETİM ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Emine ŞALVA
İkinci Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Gözde ULTAV**

Yüksek Lisans Tezi – 2025

TC.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KARDİYOLOJİ POLİKLİNİĞİNE BAŞVURAN WARFARİN KULLANAN
HASTALARDA KANDA PIHTILAŞMA HIZININ BELİRLENMESİ İÇİN TEK
KULLANIMLIK TEST KİTİ GELİŞTİRİLMESİ

Beyza SÖNMEZ

İlaç Endüstrisinde Ar-Ge Üretim Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Emine ŞALVA
İkinci Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Gözde ULTA V

Jüri Üyeleri
Prof. Dr. Emine ŞALVA
Dr. Öğr. Üyesi Naile ÖZTÜRK
Dr. Öğr. Üyesi Suna ÖZBAŞ

MALATYA
2025

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak Prof. Dr. Emine ŞALVA ve Dr. Öğr. Üyesi Gözde ULTAV danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Kardiyoloji Polikliniğine Başvuran Warfarin Kullanan Hastalarda Kanda Pıhtılaşma Hızının Belirlenmesi İçin Tek Kullanımlık Test Kiti Geliştirilmesi” başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım esere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 27/01/2025

Beyza SÖNMEZ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kan Kullanılarak Yapılan Tanısal Testlerin Kısa Tarihi	3
2.2. Hemostaz ve Pıhtılaşma	4
2.2.1. Trombosit Aktivasyonu ve Koagülasyonu İnhibe Eden Mekanizmalar	5
2.2.2. Fibrinoliz	6
2.3. Warfarin ve Antikoagülan Tedavi	6
2.3.1. INR Ölçümünün Önemi	6
2.3.2. INR Takibinin Klinikte Kullanımı	7
2.3.3. Tek Kullanımlık Test Kitlerinin INR Takibinde Rolü	7
2.4. INR Takip Yöntemleri	8
2.4.1. Mevcut Laboratuvar Tabanlı ve Taşınabilir INR Ölçüm Cihazları	8
2.4.2. Laboratuvar Tabanlı Yöntemler	8
2.4.3. Taşınabilir Cihazlar (Point-of-Care Devices)	9
2.4.4. Ticari Bakım Noktası (POC) Kan Analiz Cihazları	9
2.4.5. Tam Kan Testi İçin Kağıt Tabanlı POC Teşhis Cihazları	10
2.5. Yanal Akış Testlerinin Tarihçesi ve Teknolojik Gelişimi	10
2.5.1. Yanal Akış Testlerinin Kardiyolojik Uygulamalara Uygunluğu	11
2.5.2. Yanal Akış Testlerinin Çeşitleri, Çalışma Prensibi ve Bileşenleri	12
2.6. Yanal Akış Testlerinin Avantaj ve Dezavantajları	16
2.8. Deney Tasarımı	17
2.8.1. TAGUCHİ Deney Tasarımı	17
2.8.2. TOPSIS Yöntemi	18
2.9. ROC Analizi	18
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Materyal	19

3.2. Metotlar	20
3.2.1. Gliserin Çözeltilisinin hazırlanması	20
3.2.2. Kitin Hazırlanması.....	20
3.2.3. Deney Tasarımı ve TOPSIS	21
3.2.4. Saha Verilerinin Toplanması ve Değerlendirilmesi	25
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR.....	49
EKLER	56
EK-1. Özgeçmiş	56
EK-2. Etik Kurul Kararı	57

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının tamamlanmasında desteklerini esirgemeyen ve bilgi birikimleriyle yol gösteren kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Emine ŞALVA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Kendisi, her aşamada değerli görüşleri ve engin tecrübesiyle çalışmama yön vermiş ve beni sürekli motive etmiştir. Ayrıca, tezimde bana yol gösteren yardımcı danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Gözde ULTAV'a ve tez çalışmam süresince bana yardımcı olan Ecz. Melisa TEKŞAHİN'e teşekkür ederim.

Bu süreçte beni her daim destekleyen ve yanımda olan canım anneme, babama ve sevgili eşim Uzm. Dr. Emre SÖNMEZ'e teşekkürlerimi borç bilirim. Onların sabrı, sevgisi ve duaları, bu zorlu yolculukta en büyük gücüm olmuştur. Ayrıca, varlıklarıyla bana her zaman ilham kaynağı olan değerli çocuklarım Muhammed Arif ve Sevde'ye teşekkür ederim. Onların gülümsemeleri ve sevgileri bu süreci daha anlamlı kılmıştır.

Her birinize ayrı ayrı teşekkür eder, bu çalışmayı sizlerin desteğiyle tamamlamış olmaktan büyük mutluluk duyarım.

Beyza SÖNMEZ

ÖZET

Kardiyoloji Polikliniğine Başvuran Warfarin Kullanan Hastalarda Kanda Pıhtılaşma Hızının Belirlenmesi İçin Tek Kullanımlık Test Kiti Geliştirilmesi

Amaç: Bu çalışmada, warfarin kullanan hastalarda INR ölçümünü taşınabilir, güvenilir ve ekonomik bir şekilde gerçekleştirebilmek için yanal akış tabanlı bir test kiti geliştirilmesi ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Test kitinin performansı üzerinde etkili olan membran türü, yüzey aktif madde kullanımı ve parametre optimizasyonu gibi faktörler sistematik bir şekilde incelenmiştir.

Materyal ve metot: Çalışmada kullanılan yanal akış tabanlı test kiti, farklı membran türleri (İTK ve NC) ve yüzey aktif maddeler (Tween20 ve SDS) ile optimize edilmiştir. Performans değerlendirmelerinde Taguchi ve TOPSIS yöntemlerinden yararlanılmıştır. Testlerin klinik doğruluğunu belirlemek için ROC analizi uygulanmış ve kitin INR ölçümünde etkinliği değerlendirilmiştir.

Bulgular: Yüzey aktif madde türleri arasında, Tween20'nin akış hızını artırdığı ancak varyasyona neden olduğu, SDS'nin ise daha kararlı bir akış sağladığı belirlenmiştir. ROC analizi sonuçları, test kitinin INR ölçümünde orta düzeyde bir ayırt ediciliğe sahip olduğunu göstermiştir. TOPSIS analizi ile en uygun parametre kombinasyonları belirlenerek maliyet ve zaman tasarrufu sağlanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma, warfarin kullanan hastalarda INR ölçümü için geliştirilmiş yanal akış tabanlı test kitinin klinik pratikte kullanılabilir bir alternatif sunduğunu ortaya koymuştur. Test kitinin düşük maliyetli ve taşınabilir yapısı, özellikle laboratuvar erişiminin sınırlı olduğu bölgelerde önemli avantajlar sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Yanal Akış Testi, INR Ölçümü, Warfarin, Taguchi Yöntemi, TOPSIS, Membran Performansı.

ABSTRACT

Development of a Disposable Test Kit for the Determination of Blood Coagulation Rate in Patients Using Warfarin Applying to Cardiology Polyclinic

Aim: This study aimed to develop and evaluate a portable, reliable, and cost-effective lateral flow-based test kit for INR measurement in patients using warfarin. Factors influencing the performance of the test kit, such as membrane type, surfactant usage, and parameter optimization, were systematically analyzed.

Material and method: The lateral flow-based test kit used in the study was optimized with different membrane types (TLC and NC) and surfactants (Tween20 and SDS). Performance evaluations were carried out using Taguchi and TOPSIS methods. The clinical accuracy of the test was assessed through ROC analysis, evaluating the kit's effectiveness in INR measurement.

Results: Among surfactants, Tween20 increased flow rate but caused variations, whereas SDS ensured more stable flow. ROC analysis results showed that the test kit exhibited moderate discriminatory power in INR measurement. TOPSIS analysis identified optimal parameter combinations, achieving time and cost efficiency.

Conclusion: This study demonstrated that the developed lateral flow-based test kit offers a viable alternative for INR measurement in patients using warfarin. The kit's low-cost and portable design provides significant advantages, particularly in regions with limited access to laboratories.

Keywords: Lateral Flow Test, INR Measurement, Warfarin, Taguchi Method, TOPSIS, Membrane Performance.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AUC	: Area Under the Curve
INR	: International Normalized Ratio
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
LFA	: Lateral Flow Assay
NC	: Nitrocellulose
NSAİİ	: Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs
POC	: Point of Care
ROC	: Receiver Operating Characteristic
SDS	: Sodium Dodecyl Sulfate
TOPSIS	: Technique for Order Preference by Similarity to Ideal Solution

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Koagülasyon kaskad diyagramı.....	4
Şekil 2.2. Yanal akış test şeridinin tipik konfigürasyonu	13
Şekil 3.1. Kitin yapım aşamaları	21
Şekil 3.2. Önerilen metodoloji.....	22
Şekil 4.1. Farklı deney koşullarında gliserin çözeltisinin yürüme mesafesi sonuçları ...	27
Şekil 4.2. Ortalama değerler ve S/N oranları grafikleri.....	30
Şekil 4.3. Yanal akış kiti üzerindeki mesafe (cm) ile INR (Hastane) sonuçlarının korelasyonu grafiği.....	33
Şekil 4.4. Yanal akış test kitinde yürüme mesafesi ve hastaneden alınan INR değerlerinin ayırt edilmesine yönelik ROC eğrisi.....	35

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. INR takip yöntemleri	8
Tablo 2.2. Yanal akış testlerinin avantajları ve dezavantajları	16
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan malzemelerin listesi	19
Tablo 3.2. Kalite kriterleri ve ağırlıkları	23
Tablo 3.3. Belirlenen faktörler ve seviyeleri.....	23
Tablo 3.4. Taguchi tasarımından elde edilen deneyler ve faktörler	24
Tablo 4.1. Çeşitli konsantrasyonlarda gliserin çözeltilerinin viskozite değerleri	27
Tablo 4.2. Süre ve yürüme mesafesi kriterlerine göre TOPSIS analizi sonuçları.....	29
Tablo 4.3. Warfarin kullanan kişilerden elde edilen yan al akış test kit sonuçları ve hastaneden alınan INR değerleri	30
Tablo 4.4. Warfarin kullanmayan kişilerde yan al akış test kit sonuçları	31
Tablo 4.5. Mesafe değişkenine ait test sonucu ve eğri altında kalan alan	33
Tablo 4.6. SPSS'ten alınan hassasiyet ve seçicilik değerleri	34
Tablo 4.7. Ki-Kare test sonuçları ve 2x2 tablo	35

1. GİRİŞ

Antikoagülan tedavi gören hastalarda, kanın pıhtılaşma eğilimini değerlendirmek için INR (Uluslararası Normalleştirilmiş Oran) testi yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle warfarin gibi K vitamini antagonistleri ile tedavi gören hastalarda, INR'nin düzenli takibi gereklidir. INR'nin hedef aralıkta tutulması, tromboembolik komplikasyonları önlemek ve kanama riskini azaltmak açısından büyük önem taşımaktadır. Geleneksel INR ölçüm yöntemleri genellikle laboratuvar tabanlı olup, hastaların sık sık hastaneye gitmesini gerektirmektedir. Bu durum, hasta uyumunu azaltmakta ve sağlık sistemine ek yük oluşturmaktadır. Bu nedenle, taşınabilir, hasta başında (POC) kullanılabilen ve hızlı sonuç veren test kitlerine olan ihtiyaç giderek artmaktadır.

Warfarin, K vitamini antagonistleri sınıfında yer alan ve kanın pıhtılaşmasını önlemek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir oral antikoagülandır. INR, warfarin tedavisinin etkinliğini izlemek için kullanılan standart bir laboratuvar ölçümüdür ve hastanın pıhtılaşma süresinin hedef aralıkta olup olmadığını gösterir. INR'nin düzenli takibi, tromboembolik olayları önlemek için kritik öneme sahiptir. Ancak, laboratuvar tabanlı INR ölçümleri hasta için zaman alıcı olabilir ve sağlık sistemine ek yük getirebilir. Bu nedenle, taşınabilir test sistemleri alternatif bir çözüm olarak önerilmektedir.

Geleneksel INR ölçüm yöntemleri genellikle koagülometre tabanlı olup, laboratuvar ortamında gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemler güvenilir sonuçlar sağlasa da, hasta için erişim zorlukları yaratabilir. Son yıllarda geliştirilen taşınabilir INR ölçüm cihazları, laboratuvar bağımlılığını azaltarak hastaların evde kendi ölçümlerini yapmalarına olanak tanımaktadır. Ancak, mevcut taşınabilir cihazlar genellikle pahalıdır ve klinik doğruluk açısından laboratuvar yöntemleri ile kıyaslanarak sürekli olarak değerlendirilmektedir.

Yanal akış testleri, immünolojik ve biyokimyasal analizlerde yaygın olarak kullanılan, taşınabilir ve hızlı sonuç veren tanı yöntemleridir. Bu testler, düşük maliyetli olmaları ve kullanıcı dostu tasarımları nedeniyle klinik uygulamalarda giderek daha fazla tercih edilmektedir. INR ölçümü için yanal akış testlerinin geliştirilmesi, hastaların kendi takibini yapabilmesine olanak tanıyabilir ve mevcut laboratuvar tabanlı sistemlere alternatif bir seçenek sunabilir.

Bu alışma, yanal akış tabanlı bir INR test kitinin geliştirilmesini ve değerlendirilmesini amaçlamaktadır. Yanal akış testleri, hızlı ve dışuk maliyetli tanı sağlama potansiyeline sahip olup, taşınabilir olmaları sayesinde sahada ve evde kullanım için uygundur. Bu teknolojinin INR lmne uyarlanması, laboratuvar bağımlılığını azaltarak hastaların tedavi süreçlerini daha iyi yönetmelerine olanak tanıyabilir. Çalışma kapsamında, yanal akış testlerinde kullanılan membran türleri, yüzey aktif maddeler ve testin doğruluk performansı analiz edilmiştir. Bu doğrultuda, yanal akış tabanlı bir INR test kitinin geliştirilerek, warfarin kullanan hastalarda INR lm doğruluğunu değerlendirmek amaçlanmıştır. Çalışma, test kitinin laboratuvar tabanlı INR lmleri ile karşılaştırılarak klinik uygulanabilirliğinin belirlenmesini hedeflemektedir. Çalışmada, farklı membran türleri ve yüzey aktif maddeler test edilmiş, cut-off değeri ROC analizi ile belirlenmiş ve testin duyarlılığı ile özgüllüğü değerlendirilmiştir. Warfarin tedavisi gören hasta grubu üzerinde gerçekleştirilen bu çalışma kapsamında, INR lmleri ile test sonuçları istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kan Kullanılarak Yapılan Tanısal Testlerin Kısa Tarihi

Kalp fonksiyonu ve kan dolaşımının W. Harvey tarafından keşfedilmesinden önce, Hipokrat'ın eski teorisi dışında kan ve insan vücudundaki işlevselliği hakkında oldukça sınırlı bilgiye sahip olunmaktaydı (1). Her sıvının (kan, balgam, kara safra, sarı safra) belirli bir organda (beyin, akciğer, dalak ve safra kesesi) merkezlendiği ve belirli bir kişilik ile ilişkilendirildiği inancı yaygın olarak kabul görmekteydi. Bu teoriye dayanarak, fazla sıvının giderilmesi amacıyla kan alma, katarsis ve diürez gibi çeşitli tedavi yöntemleri geliştirilmiştir (1). Galen tarafından kanın en baskın sıvı olduğu ilan edilmesinin ardından, kan alma yöntemi diğer tedavi yöntemlerine kıyasla büyük önem kazanmış ve iki bin yılı aşkın bir süre boyunca hastalık tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya devam edilmiştir (1,2).

Kan hücrelerinin ilk kez A. Kircher tarafından mikroskop altında gözlemlenmesinin ve R. Lower tarafından kan nakli deneylerinin başlatılmasının ardından, kan kullanılarak yapılan teşhislerin hızla ilerlediği bilinmektedir (3). W. Hewson tarafından pıhtılaşmanın nedeni olarak plazmadaki "pıhtılaşabilir lenf" (günümüzde fibrinojen olarak bilinmektedir) keşfedilmiş, M. Dobson tarafından ise pıhtılaşmanın nedeni olarak şekerin rol oynadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, 1776 yılında diyabetik plazmadaki tatlılık tanımlanmış, 1841 yılında PS Denis tarafından plazma proteinlerinin tuz çöktürme yöntemi ile albüminlere ve globülinlere ayrılması açıklanmış, 1852'de K. Vierordt tarafından kan hücrelerinin doğru sayım yönteminin geliştirilmesi sağlanmıştır (günümüzde hemasitometri olarak bilinmektedir). Bunun yanı sıra, W. Osler tarafından 1892'de hemoglobinin tahmini yapılmış, 1898'de kan kültürü ve kan aglütinasyonu açıklanarak bu alandaki bilimsel ilerlemelere katkı sağlanmıştır (3).

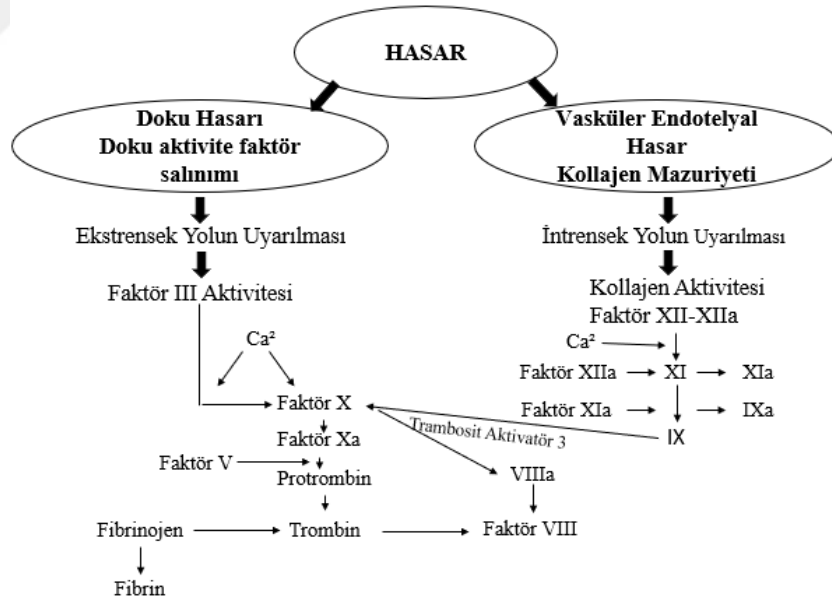
Kan gruplarına yönelik keşifler ve kanın klinik kimyasına ilişkin önemli gelişmeler, 1900 yılında K. Landsteiner tarafından insan kan gruplarının tanımlanması ile başlamış, 1909 yılında ABO kan gruplama sisteminin geliştirilmesi ile ilerleme kaydedilmiştir. Daha sonraki süreçte, 1939 yılında E. Conway ve R. Cook tarafından kan amonyakını ölçmek için ilk klinik laboratuvar yöntemi geliştirilmiş, 1945 yılında ise S. Borgstrom tarafından tam kan pıhtılaşma süresi testi oluşturulmuştur. Bu

gelişmelerin, hematoloji ve klinik laboratuvar uygulamalarında dönüm noktaları olduğu kabul edilmektedir (3).

2.2. Hemostaz ve Pıhtılaşma

Hemostaz, kan kaybının önlenmesi sürecini ifade etmekte olup, kan damarı hasar gördüğünde veya yırtıldığında bir dizi biyolojik mekanizmanın devreye girmesiyle gerçekleşmektedir. Bu süreç, damar duvarının daralması ile başlayan vazokonstriksiyon fazı, trombositlerin bir araya gelerek tıkaç oluşturduğu trombosit fazı, pıhtılaşma sürecinin gerçekleştiği ve damar duvarının kalıcı olarak kapatıldığı koagülasyon fazı, son olarak da hasarın iyileşmesiyle birlikte fibrinin plazmin ve doku plazminojen aktivatörleri aracılığıyla yıkıldığı fibrinoliz fazı ile tamamlanmaktadır (4,5).

Pıhtılaşma kaskadının, içsel yol (intrinsik yol) veya dışsal yol (ekstrinsik yol) aracılığıyla tetiklendiği bilinmektedir. Şekil 2.1'de gösterildiği gibi, içsel yol, kanda dolaşan pıhtılaşma faktörleri tarafından başlatılmakta, dışsal yol ise doku faktörlerinin koagülasyonu tetiklemesiyle aktive olmaktadır. Her iki yolun sonunda, pıhtı oluşumunu sağlayan ortak yol ile süreç tamamlanmaktadır (5).



Şekil 2.1. Koagülasyon kaskad diyagramı (5)

Pıhtılaşma kaskadı, Romen rakamlarıyla belirtilen on iki faktör, trombositler, prekallikrein (Fletcher faktörü) ve yüksek moleküler ağırlıklı kininojen (Fitzgerald faktörü) tarafından doğrudan düzenlenmektedir (4,5). Ortak yol, Faktör X'in dışsal

ve/veya içsel yollardan aktive edilmesiyle başlamaktadır. Ekstrinsik yolun sonunda, Ca^{2+} iyonlarının (Faktör IV) ve doku faktörünün (Faktör III) varlığı ile Faktör VIIa tarafından kompleks oluşturulmakta ve bu kompleks tarafından enzim görevi üstlenilerek Faktör X, Faktör Xa'ya (Faktör X'in aktif formu) dönüştürülmektedir. Faktör Xa'nın aynı zamanda içsel yolun sonunda da oluşturulabildiği bilinmektedir. Faktör IXa tarafından, Faktör VIIIa ve doku faktörü ile birlikte etki edilerek Faktör X'in aktivasyonu sağlanmaktadır. Faktör Xa'nın oluşumunun ardından, Ca^{2+} iyonlarının varlığı ile Faktör V ve fosfolipidlerle kompleks oluşturulmakta ve protrombin aktivatörü adı verilen bir kompleks meydana getirilmektedir. Protrombin aktivatörü tarafından, yeterli Ca^{2+} iyonu varlığında protrombinin (Faktör II) trombine (Faktör IIa) dönüşümü gerçekleştirilmektedir. Trombin tarafından, fibrinojen (Faktör I) moleküllerinin fibrin monomerlerine (Faktör Ia) polimerizasyonu tetiklenmekte ve bu monomerlerin, Ca^{2+} iyonları ve Faktör XIIIa (fibrin stabilize edici faktör) varlığında çapraz bağlı çözünmeyen fibrin liflerine dönüşmesi sağlanmaktadır (7).

Kan pıhtılaşma testleri ile hemofili, karaciğer hastalıklarına bağlı pıhtılaşma bozuklukları ve yaygın damar içi pıhtılaşmanın tanısı konulmakta, ayrıca heparin ve warfarin ile uygulanan antikoagülasyon tedavisinin izlenmesine yardımcı olunmaktadır (8). Kan pıhtılaşmasının değerlendirilmesi, dört temel test ile gerçekleştirilmektedir. İçsel yolun değerlendirilmesi için aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (aPTT), ortak ve ekstrinsik yolun değerlendirilmesi için protrombin zamanı (PT), ayrıca trombin zamanı (TT) ve fibrinojen düzeylerinin analizi kullanılmaktadır (9,10).

2.2.1. Trombosit Aktivasyonu ve Koagülasyonu İnhibe Eden Mekanizmalar

Trombosit aktivasyonunu ve koagülasyonu inhibe eden mekanizmaların, hemostazın düzenlenmesi ve trombotik olayların önlenmesi açısından kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. Protein C, trombin tarafından aktive edilerek faktör V ve faktör VIII'in inaktivasyonunu sağlamakta ve bu yolla koagülasyon kaskadını inhibe eden antikoagülan sistemin bir parçası olarak işlev görmektedir (11). Antitrombin, serin proteaz inhibitörleri ailesine ait olup, trombin, faktör Xa ve diğer aktif koagülasyon faktörlerini inhibe ederek koagülasyon sürecini sınırlandırmaktadır (12).

Doku faktör inhibitörü (TFI) tarafından, faktör VIIa-TF kompleksinin bloke edilerek ekstrinsik koagülasyon yolunun inhibe edildiği ve pıhtı oluşumunun düzenlendiği belirtilmektedir (13). Doku plazminojen aktivatörü (tPA), fibrinolitik sistemin önemli bir bileşeni olup, plazminojenin plazmine dönüşümünü hızlandırarak

fibrin pıhtılarının çözülmesini sağlamaktadır (14). Prostatiklin (PGI_2) ise trombosit agregasyonunu ve vazokonstriksiyonu inhibe eden bir eikosanoid olarak görev yapmakta, böylece trombositlerin damar duvarlarına yapışmasını engelleyerek pıhtı oluşumunu önlemektedir (15). Bu mekanizmaların birlikte çalışarak hemostatik dengenin korunmasını sağladığı ve trombotik komplikasyon riskini azalttığı ifade edilmektedir.

2.2.2. Fibrinoliz

Fibrinoliz, kan damarlarında oluşan fibrin pıhtılarının çözülerek kan akışının normale dönmesini sağlayan hayati bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Bu mekanizmanın, plazmin enzimi tarafından fibrinin parçalanması yoluyla gerçekleştiği ve plazminin inaktif öncüsü olan plazminojenden aktive edildiği bilinmektedir (16). Fibrinoliz süreci, vücudun doğal dengeleme sistemleri tarafından hassas bir şekilde düzenlenmektedir. Plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI-1 ve PAI-2) tarafından, tPA ve ürokinaz gibi aktivatörlerin plazminojeni plazmine dönüştürmesi engellenerek süreç kontrol altında tutulmaktadır (15). Aynı şekilde, $\alpha 2$ -antiplazminin plazmini doğrudan inaktive ederek pıhtının gereksiz yere çözülmesini önlediği ve stabilitesini koruduğu belirtilmektedir (17).

Fibrinoliz sürecinin en önemli doğal başlatıcılarından biri olan tPA'nın, endotel hücrelerinden salındığı ve fibrin pıhtısı üzerinde plazminojeni plazmine dönüştürerek yerel bir etki gösterdiği ifade edilmektedir (18). Ekstrensek aktivatörler arasında yer alan ürokinazın, fibrine bağlı olmadan plazminojeni aktive ettiği, streptokinazın ise streptokok bakterilerinden elde edilerek plazminojeni dolaylı olarak aktive eden bir ajan olduğu bilinmektedir (19). Genetik mühendislik yoluyla üretilen rekombinant tPA (rtPA)'nın, doğal tPA'nın özelliklerini taşıdığı ve akut trombotik olayların tedavisinde etkili bir şekilde kullanıldığı belirtilmektedir (20-25). Bu mekanizmaların uyum içinde çalışması ile fibrinoliz sürecinin etkinliği ve kontrolü sağlanarak pıhtılaşma ve kanama arasında hassas bir denge oluşturulmaktadır.

2.3. Warfarin ve Antikoagülan Tedavi

2.3.1. INR Ölçümünün Önemi

INR, warfarin tedavisi uygulanan hastalarda kanın pıhtılaşma süresinin standart bir ölçümle değerlendirilmesini sağlayan bir parametre olarak tanımlanmaktadır.

INR'nin hedef aralıkta tutulmasının (genellikle 2.0-3.0), tedavinin etkinliğini ve güvenliğini sağlama açısından kritik öneme sahip olduğu bilinmektedir. INR değerinin çok düşük olması durumunda (örneğin <2.0), hastanın tromboz riski altında olabileceği; çok yüksek olması halinde ise (örneğin >3.0) ciddi kanama riskinin ortaya çıkabileceği belirtilmektedir (26). Bu nedenle, INR'nin warfarin tedavisinin yönetiminde temel bir parametre olduğu ifade edilmektedir.

2.3.2. INR Takibinin Klinikte Kullanımı

INR, hastanın protrombin zamanı (PT) ile sağlıklı bir bireyin PT değeri arasındaki farkı standart bir ölçüm ile değerlendirmek amacıyla hesaplanmaktadır. INR hesaplaması aşağıdaki formüle dayanmaktadır:

$$INR = \left[\frac{\text{Hasta PT (s)}}{\text{Ortalama normal protrombin zamanı(s)}} \right]^{ISI} \quad (2.1)$$

Bu formülde, ISI (Uluslararası Duyarlılık İndeksi), kullanılan test cihazının duyarlılığını belirleyen bir faktör olup, INR değerlerinin farklı laboratuvarlar ve test sistemleri arasında standartlaştırılmasını sağlamaktadır (27,28). Warfarin tedavisi süresince INR değerinin düzenli olarak izlenmesi gerektiği bilinmektedir. Geleneksel olarak, hastaların INR kontrolü için laboratuvarlara gitmesi gerekmekte, ancak son yıllarda geliştirilen taşınabilir INR ölçüm cihazları ve evde kullanılan test kitleri sayesinde bu sürecin daha erişilebilir hale geldiği belirtilmektedir. Bu yenilikler, hasta takibini kolaylaştırarak tedavi uyumunu artırmakta ve sağlık hizmetlerine erişimi iyileştirmektedir.

2.3.3. Tek Kullanımlık Test Kitlerinin INR Takibinde Rolü

Warfarin tedavisinde INR'nin düzenli olarak takip edilmesi gerekmekte olup, laboratuvar ziyaretleri hem hasta hem de sağlık sistemi üzerinde ek bir yük oluşturmaktadır. Taşınabilir ve tek kullanımlık INR test kitlerinin geliştirilmesi, evde kullanım imkânı sunarak bu sürecin daha pratik hale gelmesini sağlamaktadır. Yanal akış testi (LFA) ve biyosensör teknolojisinin kullanılmasıyla, bu tür testlerin hızlı ve güvenilir sonuç verdiği, böylece tedavi süreçlerinin daha etkin bir şekilde yönetilmesine katkı sağladığı belirtilmektedir (29). Bunun yanı sıra, INR değerinin sayısal olarak belirlenmesi, hastaların kendi tedavi süreçlerini daha bilinçli yönetmelerine ve sık klinik ziyaret ihtiyacının azaltılmasına olanak tanımaktadır. Sonuç olarak, bu yenilikçi test

kitlerinin, warfarin tedavisinin etkinliğini artırarak hasta uyumunu güçlendirdiği ve güvenli bir tedavi süreci sağladığı ifade edilmektedir.

2.4. INR Takip Yöntemleri

2.4.1. Mevcut Laboratuvar Tabanlı ve Taşınabilir INR Ölçüm Cihazları

INR ölçümleri genellikle hastane ortamlarında, laboratuvar tabanlı koagülasyon analizörleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bu analizörlerin doğruluğu ve güvenilirliği yüksek olmakla birlikte, büyük ve kompleks yapıları nedeniyle sonuçların alınmasının zaman aldığı ve hastalar için ek hastane ziyareti gerektirebildiği belirtilmektedir. Tablo 2.1'de de görüldüğü gibi, laboratuvar tabanlı INR ölçüm cihazları, yüksek doğruluk sunmalarına rağmen, kullanım kolaylığı açısından bazı sınırlılıklara sahiptir.

Tablo 2.1. INR takip yöntemleri (29,30)

Cihaz Türü	Doğruluk	Sonuç Süresi	Maliyet	Kullanım Yeri	Hasta Uyum
Laboratuvar tabanlı yöntemler	Yüksek	30-60 dk	Yüksek	Hastane/Laboratuvar	Düşük
Taşınabilir cihazlar	Orta-Yüksek	3-5 dk	Orta	Ev/Klinik	Yüksek

Son yıllarda, taşınabilir INR ölçüm cihazlarının yaygınlaşmasıyla birlikte hastaların evde ve hastane dışındaki ortamlarda INR takibi yapabilmesi mümkün hale gelmiştir. Bu cihazların kullanımı, hasta uyumunu artırarak tedavi sürecinin daha etkin yönetilmesini sağlamakta ve hastane ziyaretlerinin sıklığını azaltmaktadır. Ayrıca, taşınabilir INR cihazlarının doğruluğunun, laboratuvar tabanlı ölçüm yöntemleriyle karşılaştırıldığında tatmin edici düzeyde olduğu ifade edilmektedir.

Tablo 2.1'de karşılaştırılan INR ölçüm yöntemleri iki ana kategoriye ayrılmaktadır: laboratuvar tabanlı analizörler ve taşınabilir (point-of-care) cihazlar. Her iki yöntemin de avantajları ve sınırlılıkları bulunmakta olup, hasta ihtiyacına ve klinik kullanım amacına bağlı olarak tercih edilmektedir.

2.4.2. Laboratuvar Tabanlı Yöntemler

Geleneksel INR ölçüm yöntemi, genellikle hastanelerde veya laboratuvarlarda kullanılan protrombin zamanı (PT) testine dayanmaktadır. Bu testte, hastadan alınan

kan örneği analiz edilerek pıhtılaşma süresinin referans bir değere göre nasıl değiştiği ölçülmektedir. Laboratuvar tabanlı cihazların yüksek doğruluk ve hassasiyet sunduğu bilinmekle birlikte, sonuçların alınmasının birkaç saat sürebileceği ve hastaların sık klinik ziyaretlerine ihtiyaç duyduğu belirtilmektedir (30).

Ayrıca, bu yöntemin uygulanabilmesi için kanın laboratuvara taşınması ve analiz edilmesi gerekmekte, bu durum ise tedavi sürecini zaman alıcı hale getirmektedir. Bununla birlikte, laboratuvar tabanlı yöntemlerin, özellikle hastalığın ağır seyrettiği veya karmaşık tedavi gerektiren durumlarda altın standart olarak kabul edildiği ifade edilmektedir.

2.4.3. Taşınabilir Cihazlar (Point-of-Care Devices)

Taşınabilir INR ölçüm cihazlarının, son yıllarda klinik kullanımda yaygınlaştığı ve özellikle hastaların evde kendi kendine pıhtılaşma takibini yapabilmesi amacıyla geliştirildiği belirtilmektedir. Bu cihazların, genellikle parmak ucundan alınan bir damla kan ile çalıştığı ve birkaç dakika içinde sonuç verebildiği ifade edilmektedir (31).

Laboratuvar tabanlı yöntemlere kıyasla taşınabilir INR cihazlarının daha hızlı sonuç sağladığı ve kullanım açısından hasta dostu olduğu bilinmektedir. Özellikle kronik antikoagülan tedavi gören hastalar için bu cihazların, tedaviye uyumu artırdığı ve sık klinik ziyaret gereksinimini azalttığı belirtilmektedir (32).

2.4.4. Ticari Bakım Noktası (POC) Kan Analiz Cihazları

Merkezi laboratuvar testlerine alternatif olarak kullanılan bakım noktası (POC) testlerinin, teşhis süreçlerini laboratuvar dışına taşıyarak hasta başında veya hasta yakını testleri şeklinde uygulanabildiği belirtilmektedir. POC testlerinin, kan şekeri ve kan gazı analizlerinden elektrolit, immünoloji, hematoloji, pıhtılaşma, lipitler ve kardiyak belirteçlere kadar geniş bir test yelpazesini kapsadığı ifade edilmektedir (33).

Bu cihazların, ameliyathane, yoğun bakım ve acil servis gibi yatan hasta bakım alanlarında, ayrıca evde bakım ve hemşire destek hizmetleri gibi ayakta tedavi süreçlerinde yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca, hastaların kendi kendine takibini kolaylaştırarak glikoz ve antikoagülan izleme gibi durumlarda kullanılabildiği belirtilmektedir (34).

POC testlerinin doğruluğunun, tedavi dozu ayarlama gibi klinik karar süreçlerinde hekim tarafından değerlendirildiği ve sonuçların hasta bazında belirlendiği ifade edilmektedir. Yapılan çalışmaların, POC koagülometrelerin hassasiyet ve

doğruluğunun laboratuvar cihazlarıyla karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu ve klinik testler için yeterli kabul edildiğini gösterdiği belirtilmektedir (35).

2.4.5. Tam Kan Testi İçin Kağıt Tabanlı POC Teşhis Cihazları

Kağıt tabanlı teşhis cihazlarının, laboratuvar dışında, ev veya saha ortamında hızlı ve düşük maliyetli tanı sağlama imkânı sunmaları ve uzman gerektirmeden kullanılabilmesi nedeniyle giderek artan bir popülerlik kazandığı belirtilmektedir (36). Bu tür teşhis cihazlarında, çeşitli maddeleri tespit etmek veya teşhis etmek amacıyla kağıt ve kağıt benzeri malzemelerde yanal ve dikey akış mekanizmalarının kullanıldığı ifade edilmektedir.

Son yıllarda geliştirilen kağıt tabanlı bakım noktası (POC) teşhis testlerinde, dijital görüntü analizi desteğiyle tekli veya çoklu hedef analizlerinin kantitatif olarak yapılabilmesi bildirilmektedir. Akıllı telefon tabanlı algılama tekniklerinin gelişmesiyle birlikte, kolorimetrik sinyalin otomatik görüntü analizinin gerçekleştirilebildiği ve test sonuçlarının kullanıcıya metin olarak iletilerek kantitatif analiz imkânı sağlandığı ifade edilmektedir.

Ayrıca, kağıt ve kağıt benzeri malzemelerin düşük maliyetli üretime olanak tanınması sayesinde daha sık test yapılabilmesi mümkün olmakta, tek kullanımlık olmaları ise çapraz kontaminasyon riskini azaltarak güvenli kullanım sağlamaktadır (37).

2.5. Yanal Akış Testlerinin Tarihçesi ve Teknolojik Gelişimi

Yanal akış (Lateral Flow, LFA) testlerinin 1980'lerde geliştirildiği ve ilk ticari uygulamalarından birinin 1988 yılında gebelik hormonu tespiti için piyasaya sürülen Clearblue 1-adım testi olduğu belirtilmektedir (38–42). Bu testler, mikroorganizmaların (bulaşıcı ajanlar, patojenler), antibiyotiklerin, mikotoksinlerin, gıda toksisitesi ve kimyasal kontaminantlar gibi kirleticilerin, proteinlerin (biyobelirteçler, alerjenler), pestisitlerin, toksinlerin, karbonhidratların ve spesifik DNA/RNA dizilerinin tespiti amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (38–43).

Yanal akış testlerinin, bakım noktası (POC) ve saha ortamlarında çeşitli numuneleri analiz etmek için hızlı, basit ve düşük maliyetli bir test yöntemi sunduğu ifade edilmektedir (44,45). Bu testlerin, su, kan, gıda maddeleri ve çevresel numuneler dahil olmak üzere çeşitli örneklerde atom seviyesinden tam hücrelere kadar farklı hedeflerin tespit edilmesi amacıyla çalışıldığı belirtilmektedir. Yanal akış testlerinin

Çalışma prensibinin, numunenin kılcal akış mekanizmasıyla belirli işlevlere sahip ardışık pedler boyunca ilerlemesine dayandığı bildirilmektedir (46).

Ancak, bu testlerin tam olarak kantitatif sonuç vermemesi, eř zamanlı analiz yapamaması ve biyobelirteçlerin ölçümünde yetersiz kalması gibi bazı sınırlılıklarının bulunduğu ifade edilmektedir. Son yıllarda, numunelerde bulunan çoklu analitlerin hızlı ve eşzamanlı olarak tespit edilmesini sağlayan geliştirilmiş yanal akış testlerine olan ihtiyaın arttığı belirtilmektedir (29).

Optik, termal, elektrokimyasal ve manyetik tabanlı yanal akış yöntemlerinin geliştirilmesiyle, daha hassas ve duyarlı ölçümlerin yapılmasının mümkün hale geldiği belirtilmektedir. Yanal akış testleri, literatürde hormon tespiti (29,47) ve toksin tespiti (29,48) gibi farklı tayinler için kullanılabilirken, özellikle Covid-19 pandemisi sürecinde antikor tespitinin yanı sıra doğrudan virüs tespitinde de etkin bir şekilde uygulanabileceği ortaya konulmuştur (40,49).

Pandemi dönemi, hızlı test kitlerinin önemini daha iyi anlamayı sağlamış ve bu alanın daha da geliştirilmesi gerektiğini göstermiştir (50). Bu kapsamda, yanal akış testlerinin yalnızca belirli hastalıklarla sınırlı kalmayıp, daha geniş bir kullanım alanına hitap edecek şekilde tasarlanması, sağlık sektöründe büyük avantajlar sağlayacağı belirtilmektedir. Özellikle sağlık okuryazarlığı yüksek toplumlarda, klinik olarak başarılı ve uygun maliyetli test kitlerinin piyasaya sunulması, hem sağlık kuruluşlarının hem de sağlık personelinin iř yükünü azaltarak sağlık sisteminin daha verimli işlemesine katkı sağlayabilecektir.

2.5.1. Yanal Akış Testlerinin Kardiyolojik Uygulamalara Uygunluğu

Kalp-damar hastalıklarının takibinde, kanın pıhtılaşma özelliklerinin belirlenmesinin hayati öneme sahip olduğu belirtilmektedir. İnme, pulmoner emboli ve kalp krizi gibi yaşamı tehdit eden hastalıkların riskini azaltmak amacıyla heparin ve warfarin gibi antikoagülan ilaçların yaygın olarak kullanıldığı ifade edilmektedir (51). Bu ilaçların doz ayarının doğru şekilde yapılabilmesi için hastaların kan pıhtılaşma seviyelerinin düzenli olarak takip edilmesi gerektiği bilinmektedir. Bu bağlamda, hastaların sık sık hastaneye giderek INR lm yaptırması gerekmekte olup, bu durum hasta uyumu açısından zorluklar yaratabilmekte ve sağlık sistemi üzerinde ek bir maliyet oluşturmaktadır (51).

Sık lm gerektiren hastalar için laboratuvar temelli takip yöntemlerinin maliyetli ve zahmetli olması, taşınabilir ve kendi kendine ölçüm yapmayı sağlayan test

kitlerine olan ihtiyacı artırmaktadır. Bu tür taşınabilir sistemler, hastaların evde daha sık ölçüm yapmasına imkân tanıyarak, tedavi süreçlerinin daha etkin bir şekilde yönetilmesine katkı sağlayabilmektedir. Ancak, piyasada bulunan ve hem kalitatif hem de kantitatif sonuç verebilen taşınabilir INR ölçüm cihazlarının 1000-5000\$ aralığında olduğu, kullanılan test şeritlerinin ise her ölçüm için 1-10\$ arasında değiştiği belirtilmektedir (51). Bu yüksek maliyetler, bu tür cihazların geniş hasta grupları tarafından erişilebilirliğini sınırlamakta ve uygun maliyetli alternatif test kitlerinin geliştirilmesine yönelik ihtiyacı ortaya koymaktadır.

Bu çalışmanın temel amacı, daha düşük maliyetli ve basit bir test kiti olan yanal akış test kitleri kullanılarak, kan pıhtılaşmasının kendi kendine izleme yöntemi ile tespit edilmesini sağlamaktır. Literatürde bu konuya ilişkin çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte, tam kan kullanılarak yapılan araştırmaların sınırlı olduğu belirtilmektedir. Bu bağlamda, tam kan ile çalışması hedeflenen yanal akış testlerine dair yapılan çalışmaların oldukça az olduğu ifade edilmektedir.

Bu tez çalışmasında, yanal akış testinin tam kandan koagülasyon belirleme amacıyla optimizasyonu, deney tasarımı yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Belirlenen değişkenler, deney tasarımı matrisine uygun şekilde değiştirilerek optimum test kiti geliştirilmiştir. Çalışmada, klinik ortamda warfarin kullanan hastalardan alınan kan örnekleri kullanılarak, geliştirilen testin etkinliği değerlendirilmiştir.

Ayrıca, literatürde yapılan incelemelerde, kan pıhtılaşma süresinin (protrombin zamanı) belirlenmesi için genellikle tavşan kanı kullanıldığı görülmüş olup (51,52), insan kanı ile gerçekleştirilen çalışmaların oldukça sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, insan kanı kullanılarak geliştirilen bu test kitinin özgünlüğünü ve klinik uygulanabilirlik açısından taşıdığı önemi ortaya koymaktadır.

2.5.2. Yanal Akış Testlerinin Çeşitleri, Çalışma Prensibi ve Bileşenleri

Yanal akış testlerinin, enfeksiyona neden olan ajanların, hastalıkla ilişkili biyobelirteçlerin ve alerji tepkilerinin hızlı bir şekilde değerlendirilmesini sağlayan testler olduğu bilinmektedir. Bu testlerin, hastane ve poliklinik ortamlarında spesifik antijenlerin, antikorların ve gen amplifikasyon ürünlerinin tespitinde yaygın olarak kullanıldığı ifade edilmektedir. Ayrıca, idrar, tükürük, ter, serum, plazma ve tam kan gibi çeşitli biyolojik numunelerin yanal akış testleri aracılığıyla analiz edilebildiği belirtilmektedir (29).

Bir yanal akış testinin, destek için plastik bir kart üzerine immobilize edilmiş bir dizi membrandan oluştuğu görülmektedir. Şekil 2.2'de gösterildiği gibi, testin ilk membran bileşeninin, numuneyi toplayarak kılcal akışına izin verdiği ve membranı tıkayabilecek kan hücreleri gibi belirli bileşenleri filtreleyen örnek pedi olduğu belirtilmektedir. Örnek pedinin, konjugat pedi olarak da adlandırılan sinyal etiketi içeren pedin bir kısmını kapladığı ve böylece numunenin kapiller akım yoluyla örnek pedinden konjugat pedine aktığı ifade edilmektedir.

Konjugat pedinin, sinyal etiketi olarak genellikle renkli nanopartikülleri kuru formda içerdiği ve bu etiketlerin, hedef analitlere spesifik olan antikorlar gibi bağlayıcı moleküllere bağlandığı belirtilmektedir. Çoğu durumda, konjugat pedlerin cam elyaf veya polyesterden üretildiği ifade edilmektedir. Numune ve tampon eklendiğinde, sinyal etiketlerinin konjugat pedden salındığı ve konjugat ped ile kaplanmış nitroselüloz test membranına doğru akışın gerçekleştiği belirtilmektedir (53).



Şekil 2.2. Yanal akış test şeridinin tipik konfigürasyonu (50)

Doğası gereği hidrofobik olan nitroselüloz (NC) membranların, yüzey aktif maddeler kullanılarak hidrofilik özellikler kazanacak şekilde modifiye edildiği ve bu sayede sulu numune çözeltilerinin akışına olanak sağladığı belirtilmektedir (54). NC membranların, test ve kontrol çizgilerinin oluşturulması için yeterli miktarda birincil ve ikincil antikorun etkin şekilde immobilizasyonuna izin veren yüksek protein bağlama kapasitesine sahip olduğu ifade edilmektedir.

Bu membranların dengeli bağlanma özelliklerinin, bloke edildikten sonra konjuge antikorların ve antijenlerin membran matrisinden geçmesine ve belirlenen test çizgileri tarafından yakalanmasına olanak sağladığı bildirilmektedir. Bu özellikleri sayesinde, nitroselüloz membranlar yanal akış testlerinde en yaygın kullanılan materyallerden biri haline gelmiştir.

NC membranın, sıvının nitroselüloz yüzeyinden emici pedlere doğru akışını sağlamak amacıyla bir emici ped ile desteklendiği ifade edilmektedir. Tüm membran boyunca sıvının kapiller akım kuvveti ile hareket ettiği ve bu akışı sağlamak için harici

bir pompa veya ek bir mekanizmaya ihtiyaç duyulmadığı belirtilmektedir. Hedef analitin mevcut olması durumunda, tespit ve yakalama molekülleri arasında sıkıştırılarak sinyal etiketinin belirli bir çizgi veya nokta üzerinde immobilizasyonuna yol açtığı ifade edilmektedir. Yeterli miktarda etiket immobilize edildiğinde, görünür bir renk değişimi veya başka bir tespit sinyali oluşarak testin sonucunun belirlenmesini sağladığı belirtilmektedir (55).

Yanal akış cihazlarının üretimindeki zorluklar arasında testin birçok bileşenden oluşması, malzeme uyumsuzluğu, üst üste binen parçaların/bileşenlerin bağlantısındaki eksiklikler veya malzemelerin özellikleri sayılabilir. Yanal akış testlerinin geliştirilmesi sırasında en çok dikkat edilmesi gereken nokta, en uygun tespit yönteminin bulunması veya en iyi antijen-antikor etkileşiminin seçilmesidir. Bunun yanı sıra tutarlı ve kalitesi yüksek bir ürün meydana getirmek için destek kartı, yapışkan şerit ve kapak bandı gibi temel bileşenlerin seçimi de önemlidir (29).

Yanal akış cihazlarının üretimi sırasında çeşitli zorluklarla karşılaşmaktadır. Testin birçok bileşenden oluştuğu, malzeme uyumsuzluğunun yaşandığı, üst üste binen parçaların bağlantılarında eksikliklerin bulunduğu ve malzemelerin özelliklerinin test performansını etkileyebildiği belirtilmektedir. Yanal akış testlerinin geliştirilmesi sürecinde en çok dikkat edilmesi gereken noktanın, en uygun tespit yönteminin belirlenmesi veya en iyi antijen-antikor etkileşiminin seçilmesi olduğu ifade edilmektedir. Bunun yanı sıra, tutarlı ve kaliteli bir ürün elde edilebilmesi için destek kartı, yapışkan şerit ve kapak bandı gibi temel bileşenlerin seçiminde özen gösterilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (29).

Antikor

Her ne kadar test şeridinin fiziksel bileşenleri, üretim teknikleri ve tamponların testin optimizasyonunda önemli bir rol oynadığı belirtilse de, bu süreçlerin en kritik aşamasının, dikkatli bir şekilde tasarlanması ve yüksek oranda saflaştırılması gereken antikorlar olduğu ifade edilmektedir. Kanıtlanmış afinite ve spesifikliğe sahip tutarlı bir antikor tedarikinin sağlanmasının büyük önem taşıdığı vurgulanmaktadır. Monoklonal antikorların, özellikle fare hibridomlarından türetilerek spesifik antikorların büyük miktarlarda üretilmesine olanak sağladığı için tercih edildiği belirtilmektedir.

Örnek Pedi

Örnek pedi, numunenin eşit şekilde dağıtılmasını ve konjugasyon pedine aktarılmasını sağlamak amacıyla tasarlanmıştır. Numunenin akış hızını kontrol etmek ve tespit sistemiyle uyumlu hale getirmek için tampon tuzları, proteinler ve yüzey aktif

maddelerle empenye edilmektedir. Ayrıca, gözenek yapısı sayesinde kırmızı kan hücreleri gibi gereksiz bileşenleri filtreleyerek test doğruluğunu artırmaktadır (29).

Numune pedinin seçimi sırasında kalınlık ve malzeme bileşimi önemli kriterler olarak öne çıkmaktadır. Daha kalın zarlar yüksek yatak hacmine sahip olduğundan, daha fazla numunenin işlenmesine olanak tanımaktadır. Malzeme açısından değerlendirildiğinde, dokuma ağların yüksek gerilme mukavemetine sahip olduğu, ancak düşük yatak hacmi nedeniyle tampon ve bloke edici reaktifleri tutmada yetersiz kaldığı belirtilmektedir. Buna karşılık, selüloz elyaf filtrelerin daha yüksek yatak hacmi sunduğu, ancak düşük gerilme mukavemeti nedeniyle dayanıklılığının daha az olduğu ifade edilmektedir. Bu özellikler göz önünde bulundurulduğunda, selüloz elyaf filtrelerin yanal akış testlerinde numune pedi olarak daha uygun olduğu belirtilmektedir (56,57).

Konjugasyon Pedi

Konjugasyon pedi, işaretli biyosensör moleküllerinin depolandığı ve test sırasında kontrollü bir şekilde serbest bırakılmasını sağlayan bir bileşen olarak kullanılmaktadır. Testin raf ömrü boyunca stabilitesinin korunmasında önemli bir rol oynamakta olup, düşük protein bağlama kapasitesine ve yüksek salım kapasitesine sahip olması gerekmektedir. Bu özellik, saptama reaktifinin ped içinde sıkışmasını önleyerek spesifik olmayan bağlanmayı en aza indirmektedir (56).

Nitroselüloz Membran

Membran, yanal akış test şeritlerinin en kritik bileşeni olup, en yaygın kullanılan malzeme nitroselülozdur. Performansı, kılcal kuvvetler, protein bağlanma kapasitesi ve akış dinamikleri gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Gözenek boyutu önemli bir özellik olarak değerlendirilse de, akış süresi daha güvenilir bir parametre olarak kabul edilmektedir (29).

Yüksek performanslı bir yanal akış testi için uygun membranın seçilmesi, antijen-antikor etkileşimi ve duyarlılık açısından büyük önem taşımaktadır. Membranların kılcal akış özellikleri üretim sürecine bağlı olarak farklılık göstermekte ve bu durum testin hassasiyetini ve tutarlılığını etkilemektedir. Yakalama reaktiflerinin membran üzerine doğru şekilde uygulanması, test başarısını doğrudan etkilemektedir (60,61).

Emici Ped

Emici pedin rolü, sıvıyı membrandan geçirmek ve işlenmiş sıvıyı toplamaktır. Emici ped daha büyük numune hacimlerinin kullanılmasına olanak tanır ve bu da test hassasiyetinin artmasına neden olur. En popüler emici pedler selüloz filtrelerden yapılır (29).

2.6. Yanal Akış Testlerinin Avantaj ve Dezavantajları

Yanal akış testleri, hızlı sonuç verme, düşük maliyet ve taşınabilirlik gibi önemli avantajlar sunmasına rağmen, duyarlılık ve tekrarlanabilirlik açısından bazı sınırlılıklara sahiptir. Özellikle kantitatif ölçüm yapamaması ve analit konsantrasyonundaki değişimlere duyarlılığının sınırlı olması, klinik uygulamalar açısından dikkate alınması gereken faktörlerdir. Tablo 2.2’de yanal akış testlerinin avantajları ve dezavantajları detaylı bir şekilde sunulmaktadır.

Tablo 2.2. Yanal akış testlerinin avantajları ve dezavantajları

AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
Tek adımlı analiz yıkama adımına gerek yok	Hatalı numune hacmi hassasiyeti azaltır.
Hızlı ve düşük maliyet, düşük numune hacmi	Testteki toplam hacmin kısıtlanması
Kalitativ veya yarı kantitatif sonuç	Tam kantitatif uygulaması yoktur.
Nispeten kısa geliştirme süresi sebebiyle pazara daha hızlı sunulur.	Analiz süresi numunenin viskozitesine bağlıdır.
Basit test prosedürü	Matris bileşenlerinden dolayı gözeneklerin tıkanması
Proteinler, aptamerler, nükleik asitler ve amplikonlar tespit edilebilir.	Sadece sıvı numuneler için kullanılabilir.
Uzun raf ömrüne sahip, soğutmaya gerek yok. Partiler önceden hazırlanabilir.	Testte tekrarlanabilirlik zordur.
Sıvı numuneler için ön işleme gerek yok	Birden fazla numune aynı anda ölçülemez.
Yüksek duyarlılık ve seçicilik	İyi antikor hazırlığı zorunludur.
Uzman kişilere gerek duyulmaksızın herkesin kullanabilmesi	Kullanıcılar arasında sonuçların yorumlanmasında farklılıklar olabilir.
Sonuçların güvenilirliği yüksektir.	Düşük volümlerin analizinde yetersiz kalabilir.

2.8. Deney Tasarımı

Deney tasarımı, bir ürünün kalite kriterlerine uygunluğunu sağlamak amacıyla, süreç üzerinde etkili faktörlerin belirlenmesi ve optimize edilmesine yönelik matematiksel yöntemleri içermektedir (16). Bu yöntem sayesinde, kalite kontrol aşamasına gerek kalmadan daha az sayıda deneyle test süreci yönetilebilir, böylece hem maliyet azaltılabilir hem de süreç daha verimli hale getirilebilir.

2.8.1. TAGUCHİ Deney Tasarımı

Taguchi yöntemi, 1950'lerde Dr. Genichi Taguchi tarafından süreç optimizasyonu ve deney sayısını en aza indirmek amacıyla geliştirilmiştir. Bu yöntem, deney süreçlerini daha verimli hale getirerek zaman ve maliyet tasarrufu sağlamaktadır (66). Ortogonal dizinler kullanılarak deney sayısının azaltıldığı ve kontrol edilemeyen faktörlerin etkilerinin minimize edildiği bu teknik, kaliteyi tasarım aşamasında sağlamayı hedeflemektedir. Bu çalışmada, test kitinde kullanılan membranın uzunluk ve genişliği, Taguchi yöntemi ile optimize edilmiştir. L8 ortogonal dizini kullanılarak yapılan deneyler sonucunda, her bir konfigürasyon için ortalama değerler ve sinyal/gürültü (S/N) oranları hesaplanmış, elde edilen veriler varyans analizi ve grafiksel yöntemlerle değerlendirilmiştir (67).

Ortogonal Diziler

Taguchi yönteminde, deney sayısını belirlemek için deneysel ortogonal diziler oluşturulmaktadır. Bu yöntemde, parametreler tek tek değiştirilmek yerine, aynı anda değiştirilerek farklı kombinasyonlar değerlendirilir. Örneğin, 3 seviyeli ve 5 faktörlü bir deneyin teorik olarak 625 ($5^3 = 625$) farklı kombinasyonla gerçekleştirilmesi gerekirken, ortogonal tasarım ile deney sayısı önemli ölçüde azaltılmaktadır. Bu durum, süreç optimizasyonunda zaman ve maliyet tasarrufu sağlayarak deneylerin daha verimli yürütülmesine olanak tanımaktadır.

Sinyal/Gürültü Oranı

Kayıp fonksiyonu olarak da adlandırılan sinyal/gürültü (S/N) oranı, deneylerde ölçülen değişkenlerin kalite üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanılan üç farklı hesaplama yöntemiyle belirlenmektedir (68,69).

En düşük – en iyi olduğu durumda;

$$S/N = -10 \log \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i^2 \right) \quad (2.2)$$

En yüksek-en iyi olduğu durumda;

$$S/N = -10 \log \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{y_i^2} \right) \quad (2.3)$$

Nominal en iyi olduğu durumda;

$$S/N = -10 \log \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left[\frac{1}{s^2} \right]^{-2} \right) \quad (2.4)$$

2.8.2. TOPSIS Yöntemi

TOPSIS (Technique for Order Preference by Similarity to the Ideal Solution), alternatifleri ideal çözüme yakınlık açısından sıralayan bir karar verme yöntemidir. İdeal çözüme en yakın ve negatif ideal çözümden en uzak alternatifi belirleyerek karar sürecini kolaylaştırır. Çok kriterli karar verme problemlerinde yaygın olarak kullanılan bu yöntem, daha az karmaşık matematiksel işlemler gerektirdiği için tercih edilmektedir (69).

2.9. ROC Analizi

ROC eğrisi, farklı eşik noktalarına göre doğru ve yanlış sınıflamaların değerlendirilmesiyle en uygun kesim noktasının belirlenmesini sağlar. Tanı testlerinin performansı, eğri altındaki alan (AUC) değeri ile ölçülmekte olup, AUC değeri "1"e yaklaştıkça testin doğruluğunun arttığı, "0.50" olması durumunda ise rastgele tahminle eşdeğer olduğu kabul edilmektedir (70). Bu analiz, klinik karar süreçlerinde en uygun eşik değerinin belirlenmesinde önemli bir yöntem olarak kullanılmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, warfarin kullanan INR ölçümünü hızlı, taşınabilir ve güvenilir bir şekilde gerçekleştirebilen bir test kitinin geliştirilmesi ve değerlendirilmesi sağlar. Metodolojik tipte bir araştırma yapılmış olup, kardiyoloji polikliniğine yönelik hastaların klinikleri göz önünde bulundurularak bu test kiti tasarlanmıştır. Yanal akış tabanlı bir sistem olarak tanıtılan bu sistem ile pıhtılaşma hızı gibi önemli bir biyokimyasal parametrenin hassas bir şekilde ölçümü hedeflenmiştir.

3.1. Materyal

Tablo 3.1’de bu çalışma kapsamında kullanılan sarf malzemeler sunulmuştur. Bunların dışında, genel laboratuvar ekipmanları arasında alan otomatik pipetler hariç, analiz amacıyla yalnızca Brookfield marka viskozimetre cihazı kullanıldı.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan malzemelerin listesi

Madde Adı	Ürün Markası	Kullanım Amacı
İnce Film		
Kromatografisinde kullanılan membran (İTK membranı)	GE Healthcare Life Sciences Whatman	Yanal akış test yapımında
Nitroselüloz Membran (NC membran)	GE Healthcare Life Sciences Amersham Proton Sandwich, 0.45 µm NC	Yanal akış test yapımında
Gliserin	Sigma	Kit optimizasyonunda, kan viskozitesini taklit etmek amacıyla
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	Sigma	Membran yüzeyinin kaplanmasında
Tween 20	Sigma	Membran yüzeyinin kaplanmasında
Sarflar: Pipet uçları, kit kasetleri (muhafazası), cetvel, makas, absorpsiyon pedi, numune pedi	Kit muhafazası: Artimed	Kitin dış plastik muhafazası (kasedi), numune ve adsorpsiyon pedi piyasada bulunan ticari bir üründen sökülerek kullanılmıştır.

3.2. Metotlar

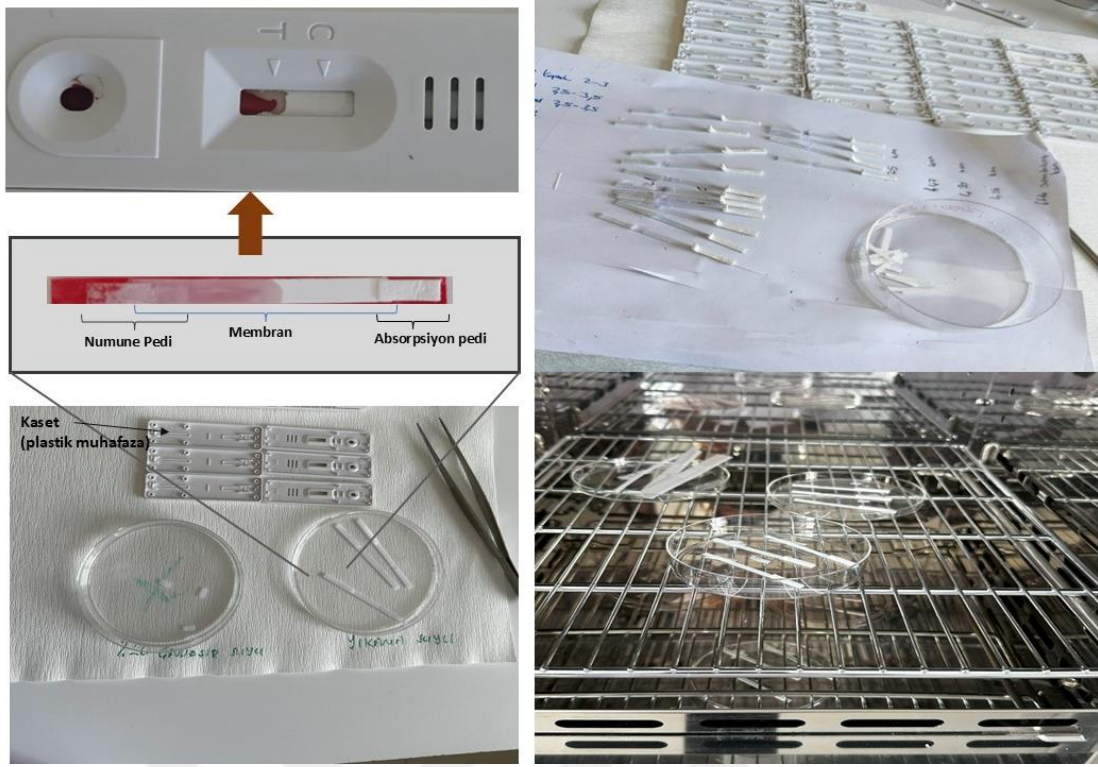
3.2.1. Gliserin Çözeltisinin hazırlanması

Kitin optimizasyonu esnasında, kanı taklit etmesi için gliserin çözeltisi kullanılması planlandı. Bu aşamada, warfarin kullanan kişilerde kanın viskozitesini taklit etmesi için uygun konsantrasyondaki çözelti belirlendi. Bu amaçla, farklı konsantrasyonlarda gliserin çözeltileri hazırlandı ve viskozimetrenin uygun Spindle'ı takılıp kalibrasyonu yapıldıktan sonra içine 500 µL örnek konuldu ve cihaz çalıştırılarak ölçüm alındı.

3.2.2. Kitin Hazırlanması

Kitlerin hazırlanması için tipik bir yanal akış testinde bulunan temel elemanlar, makas ve ticari yapıştırıcılar kullanılarak bir araya getirildi. Bu işlem gerçekleştirilirken, deney tasarımına göre farklı uzunluklar, kalınlıklar veya yüzey kaplamaları kullanıldı.

Kanın membran üzerinde daha rahat akmasının sağlanması için, literatüre göre, membran yüzeyi bir yüzey aktif madde çözeltisiyle kaplandı. Bu amaçla, bu çalışmada iki farklı yüzey aktif madde ve bunların iki farklı konsantrasyonu kullanılarak optimizasyon çalışmaları gerçekleştirildi(54). Yine çalışma kapsamında, membran yapısı ve gözenek açıklığı akış rejimini değiştireceği için, iki farklı membran kullanıldı. Bu maddeler ve oranları literatürden faydalanılarak seçildi (21,64). Çeşitli çözeltilerle muamele edilen membranlar 50°C'de gece boyu kurutuldu ve diğer kit parçalarıyla birleştirilip yapıştırılarak plastik kaset içine yerleştirildi, kullanıma hazır hale getirildi. Kitin yapım aşamaları fotoğraflarla gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Kitin yapım aşamaları

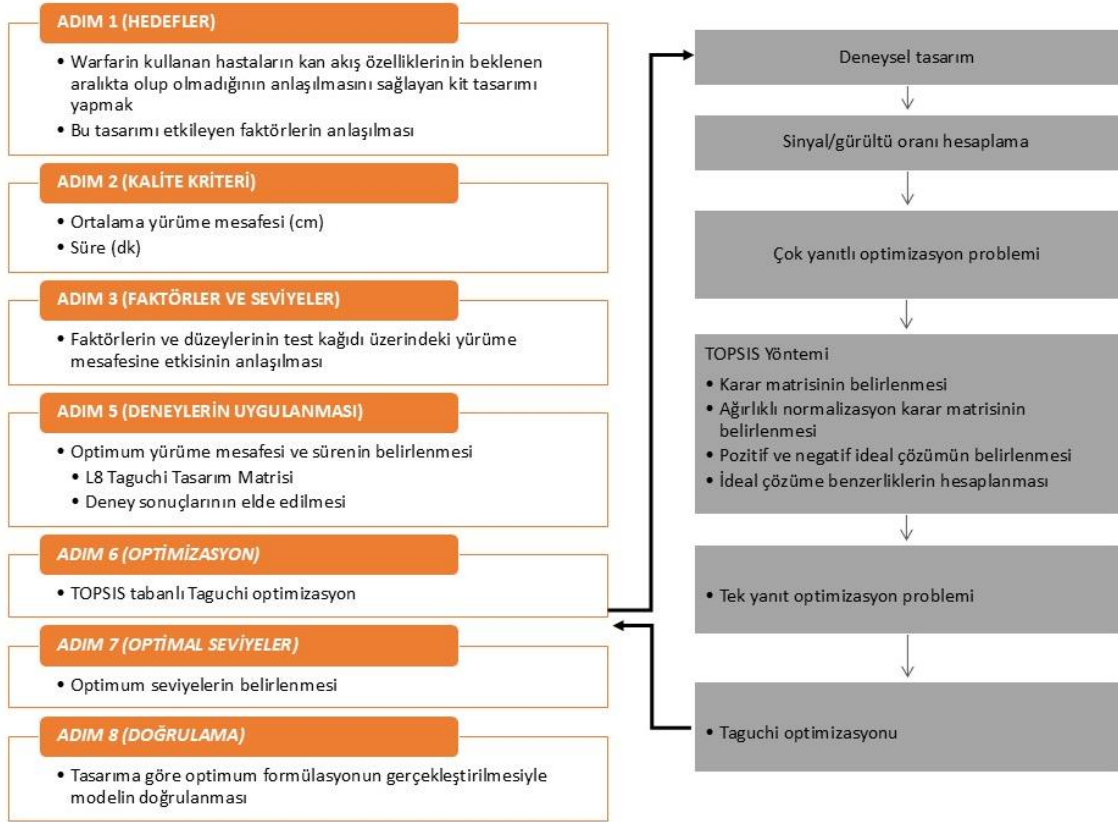
Şekil 3.1’de görüldüğü gibi, membranlar yüzey aktif madde ile kaplanıp kurutulduktan sonra esnek bir plastik zemine yapıştırılıp, absorpsiyon pedi ve numune pedi membranın iki başına gelecek şekilde sabitlendi. Toplam uzunluğu 1 cm olan numune pedi, 0.5 cm’si membranın üzerine gelecek şekilde yapıştırıldı. Ürünün diğer ucuna ise, membranın 0.2 cm üzerine çıkacak şekilde absorpsiyon pedi yapıştırıldı. Bu değerler, literatür araştırması ile seçildi ve deneyler boyunca sabit tutuldu(73,74).

Optimizasyon çalışmaları sırasında, kanı simüle etmek için %65’lik gliserin çözeltisi kullanıldı. Bu çözeltinin kanla benzer viskoziteye sahip olup olmadığı, viskozimetre ile yapılan ölçümlerle belirlendi. Her kullanımda, sabit hacimde kan veya gliserin, bir otomatik pipet yardımıyla kitin plastik kapağındaki numune bölmesine eklendi. Kullanım sonrasında plastik kaset çıkarıldı , kanın veya gliserinin ilerlemesi bir cetvel yardımıyla ölçüldü.

3.2.3. Deney Tasarımı ve TOPSIS

Optimizasyon çalışmaları için bir deney tasarımı oluşturuldu. Bu amaçla Taguchi tasarımı kullanıldı. Taguchi tasarımı, tek bir yanıtı optimize etmek için uygun bir yöntem olmakla birlikte, birden fazla yanıtı aynı anda optimize edemez. Bu nedenle, bu

çalışmada Taguchi tasarımı, istatistiksel karar verme kriteri olan TOPSIS yöntemi ile birlikte kullanıldı. Önerilen metodoloji Şekil 3.2’de sunulmuştur.



Şekil 3.2. Önerilen metodoloji

Bu çalışmada, L8 ortogonal dizini, membran tipini, uzunluğunu, genişliğini, kullanılan yüzey aktif madde cinsini ve konsantrasyonunu optimize etmek amacıyla kullanıldı. TOPSIS tabanlı Taguchi yöntemi ise sıvının membran üzerindeki yürüme süresi ve mesafesini aynı anda optimize etmek için uygulandı. Bu iki yanıt, kalite kriteri olarak belirlendi. Optimizasyona ilişkin bilgiler Tablo 3.2’de özetlenmiştir.

Tablo 3.2. Kalite kriterleri ve ağırlıkları

Kalite Kriteri	Sembol	Tanım	Bilgi	Hedeflenen Değerler	Ağırlık	Normalize Ağırlık
1	R (Süre)	Yürüme Süresi (dk)	Hasta uyuncunun iyileştirilmesi	En küçük en iyi	1	40
2	R (mesafe)	Yürüme Mesafesi (cm)	Test sonucunun değerlendirilmesi	En büyük en iyi	1.5	60
Toplam					2.5	100

Bu çalışma kapsamında, warfarin kullanan bireylerin kan akış özelliklerinin uygun aralıkta olup olmadığının belirlenmesi temel amaç olarak belirlendi. Bu amacın değerlendirilmesi için, INR değeri düşük olan hastalara ait kanın kit membranı üzerinde daha az ilerlemesi, INR değeri olması gerekenin üzerinde olanların ise daha fazla ilerlemesi beklenmektedir. Bu doğrultuda, yürüme mesafesi temel kalite kriteri olarak kabul edildi. Ayrıca, sürenin çok uzun olması hastanın bekleme süresini artıracığından, hasta uyuncunu artırmak amacıyla süre de bir kalite kriteri olarak belirlendi. Seçilen faktörler ve seviyeleri Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3. Belirlenen faktörler ve seviyeleri

Faktörler	Seviyeler	
	1	2
Membran çeşidi	Nitroselüloz (NC)	İnce Film Kromatografi membranı (İTK)
Membran genişliği (mm)	2	4
Membran uzunluğu (cm)	4	4.7
Kullanılan yüzey aktif madde	SDS	Tween 20
Kullanılan yüzey aktif madde konsantrasyonu (%)	3	6

Bu faktörler ve seviyeleri belirlenirken, daha önce de belirtildiği gibi literatürden faydalanıldı(71,73). Tipik olarak, bir yanıl akış testini en çok etkileyen etmenler; membranın yapısı ve gözenek büyüklüğü, membranın ebatları ve kullanılan yüzey aktif maddedir. Bu çalışmada kullanılan seviyeler ise, kan akış özellikleri açısından

uygunlukları göz önünde bulundurularak seçildi. Yaygın olarak yanal akış testlerinde kullanılan membran tipi nitroselüloz (NC) olmakla birlikte, maliyetinin düşük olması ve kolay erişilebilirliği nedeniyle ince tabaka kromatografi (İTK) için kullanılan membran da deney tasarımına dahil edildi.

Membran uzunlukları, yüzey aktif maddeler ve konsantrasyonları literatüre dayanarak belirlendi (77). Yanal akış testini etkileyen faktörlerden biri de uygulanan sıvı miktarıdır (29). Minimum sıvı miktarıyla testin optimize edilmesi hedeflenmiş olsa da, membranların farklı emicilik, kalınlık ve gözeneklilik özellikleri nedeniyle bu karşılaştırma uygun görülmedi(21,64). Bu nedenle, çalışma boyunca sıvı miktarı 30 µL olarak sabit tutulmuş ve faktör olarak değerlendirilmedi.

Taguchi metodu ile deney tasarımı, Minitab® yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Faktörler ve seviyeler, yazılımın “Stat” sekmesindeki “DOE” bölümünden “Taguchi” seçilerek ilgili alanlara girildi. Elde edilen deney tasarım matrisi Tablo 3.4’te sunulmuştur.

Tablo 3.4. Taguchi tasarımından elde edilen deneyler ve faktörler

Deney Kodu	Membran Çeşidi	Membran Uzunluğu (cm)	Membran Genişliği (mm)	Yüzey Aktif Madde	Yüzey Aktif Madde Konsantrasyonu (%)
E1	İTK	4.7	4	Tween 20	3
E2	İTK	4.7	4	SDS	6
E3	İTK	4.0	2	Tween 20	6
E4	İTK	4.0	2	SDS	3
E5	NC	4.0	2	Tween 20	6
E6	NC	4.0	2	SDS	3
E7	NC	4.7	4	SDS	6
E8	NC	4.7	4	Tween 20	3

*İTK: İnce Tabaka Kromatografisi

*NC:Nitroselüloz

Yanıtları minimize ve maksimize eden Sinyal/Gürültü (S/N) oranlarının hesaplanmasında, 3.1 ve 3.2 numaralı denklemler kullanıldı.

En küçük – en iyi olduğu durumda;

$$S/N = -10 \log \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i^2 \right) \quad (3.1)$$

En büyük -en iyi olduğu durumda;

$$S/N = -10 \log \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{y_i^2} \right) \quad (3.2)$$

Daha sonra, istatistiki karar verme kriteri olan TOPSIS yöntemiyle hesaplanan yanıtlar birleştirilerek tek bir yanıt haline getirilmiştir (Ci) ve bu yanıt Minitab®'e girilmiştir. “Statistics” bölümünden “Analyze Taguchi” seçilip, “Smaller is better” yani en küçük en iyi yöntemi ile optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen S/N ve Ortalamaların Ortalaması grafikleri kullanılarak optimum deney seti belirlenmiş ve bu deney tekrarlanarak valide edilmiştir. Daha sonraki işlemler için kullanılmak üzere bu kitten çok sayıda üretilmiştir. Kit optimizasyonu sırasında, deneyler tekrarlı olarak çalışılmış ve ortalamalar alınıp standart sapmaları belirlenmiştir.

3.2.4. Saha Verilerinin Toplanması ve Değerlendirilmesi

Hazırlanan yanal akış test kiti, İnönü Üniversitesi Kardiyoloji Polikliniğinde, reçeteli oral warfarin kullanan bireyler ve kalp damar hastalıklarına ilişkin herhangi bir ilaç kullanmayan kontrol grubu üzerinde uygulanmıştır. Çalışmaya dâhil edilen bireyler, en az bir ay önce warfarin tedavisine başlamış, 18 yaş ve üzerinde olan ve zihinsel yeterliliğe sahip kişilerden oluşmuştur. Hariç tutma kriterleri arasında, faktör V Leiden, antifosfolipid sendromu, protein C eksikliği, protein S eksikliği, antitrombin eksikliği ve gebelik gibi teşhis edilmiş kan pıhtılaşma bozuklukları yer almaktadır.

Araştırmaya dahil edilme kriterleri:

- 18-65 yaş aralığındaki bireyler
- Metal kalp kapağı nedeniyle (AVR-MVR) warfarin kullanan hastalar (Deney Grubu)
- Valvüler atrial fibrilasyon (ciddi mitral darlık) nedeniyle warfarin kullanan hastalar (Deney Grubu)
- Warfarin veya kanın koagülasyonunu ilgilendiren herhangi bir ilaç kullanmayan kişiler (Kontrol grubu)

Araştırmaya dahil edilmeme kriterleri:

- Böbrek yetmezliği nedeniyle Hemodiyaliz veya periton diyalizi alan hastalar
- Kalp yetmezliği hastaları (EF < % 50)
- Hematolojik malignansı olan hastalar
- Kronik veya akut karaciğer yetmezliği olan hastalar

- Biyoprotez kalp kapağı olan hastalar

Katılımcılar tarafından onam formu imzalandıktan sonra, hastalardan alınan kanın 30 µL'si kit üzerine bir otomatik pipet yardımıyla eklenerek aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- Laboratuvar ortamında, uzmanlar tarafından SYSMEX CS-5100 koagülasyon cihazı kullanılarak PT/INR testi gerçekleştirildi ve sonuçlar kaydedildi.
- Hazırlanan Yanal akış test kitlerine hasta kanları damlatılarak 4-8 dk bekledikten sonra kanın yürüme mesafesi cetvel kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar not edildi.

Bu çalışma kapsamında alınan etik kurul onayı EK-1'de sunuldu (Onay No: 2024-KAEK-08)

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen verilerle ROC analizi gerçekleştirilmiş ve %95 güven aralığında çalışıldı. ROC analizi için, hastaneden alınan INR değerleri uygun ve yüksek olarak kategorize edilerek, kitten alınan sonuçlarla karşılaştırıldı. Alan, hassasiyet ve özgüllük değerleri SPSS® ile hesaplanarak ROC eğrisi oluşturuldu. Seçilen cut-off değeri ile veriler yeniden kategorize edilerek, ki-kare testi ile istatistiksel analiz yapıldı. Klinik istatistik çalışmasında, warfarin kullanan bireylerde beklenen INR değerinin 2-3 aralığında olması esas alınarak, kanın kitte yürüme mesafesiyle INR değerinin uygun veya yüksek olarak belirlenmesi hedeflendi. Ayrıca, kit ile hastanede ölçülen INR değeri arasındaki korelasyon da istatistiksel olarak incelendi.

4. BULGULAR

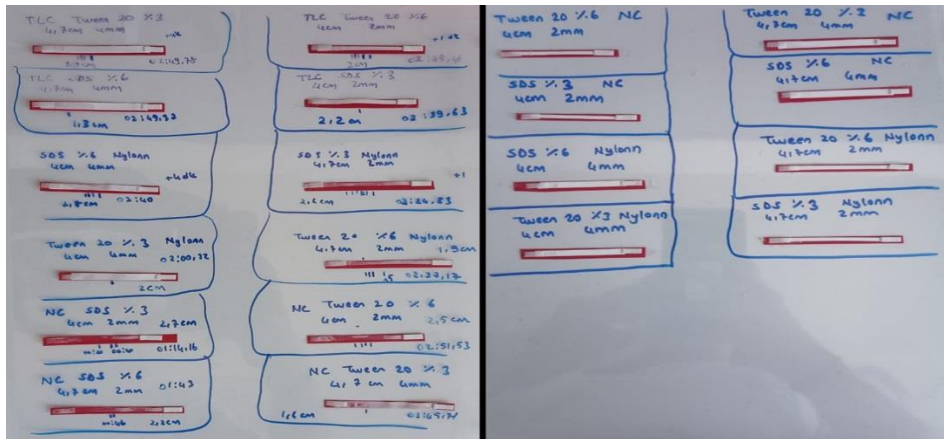
Öncelikle, kullanılacak gliserin çözeltisinin hangi konsantrasyonunun kanı daha iyi taklit ettiğini belirlemek amacıyla viskozite ölçümü gerçekleştirildi. Bu amaçla, farklı konsantrasyonlarda gliserin çözeltileri hazırlanarak viskoziteleri ölçüldü. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Çeşitli konsantrasyonlarda gliserin çözeltilerinin viskozite değerleri

DERİŞİM (%)	VİSKOZİTE (cP)
80	29.49
65	9.14
50	4.66
35	3.37

Literatüre göre, warfarin kullanan bireylerde kanın viskozitesinin yaklaşık 10 cP olduğu belirlendi. Bu nedenle, uygun gliserin konsantrasyonunun %65 olduğuna karar verildi ve optimizasyon deneylerinde bu çözelti kullanıldı.

Belirlenen deney tasarım matrisine göre, deneyler tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Deneylerde kanı modellemek amacıyla gliserin çözeltisi kullanıldı ve yürüme mesafeleri cetvel ile ölçüldü. Şekil 4.1’de, örnek olarak elde edilen bazı sonuçlar sunulmuştur.



Şekil 4.1. Farklı deney koşullarında gliserin çözeltisinin yürüme mesafesi sonuçları

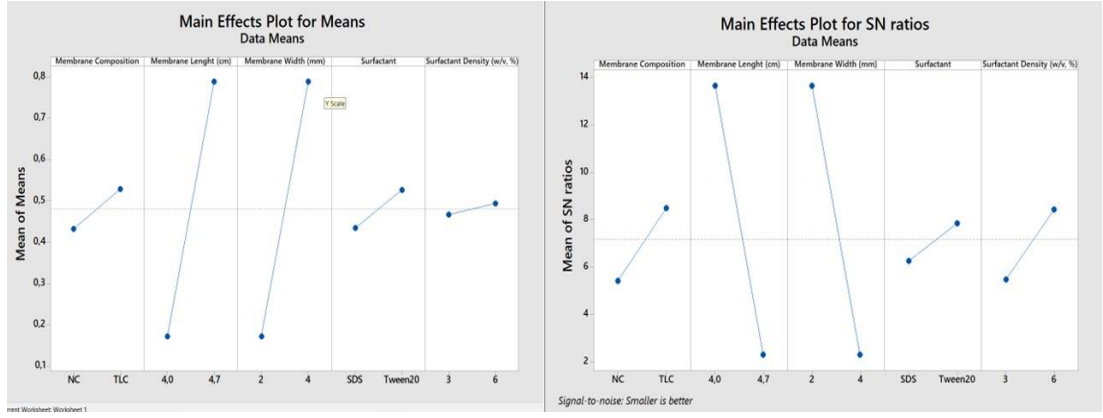
Şekil 4.1’de görüldüğü gibi, deney tasarımı belirlenen deney setleri uygulandı. Gliserin renksiz olduğu için, kağıt üzerinde yürüme mesafesinin daha iyi gözlemlenebilmesi amacıyla membranlar kırmızı plastik kağıt üzerine yapıştırıldı. Bu sayede yürüme mesafesi daha kolay belirlendi.

Elde edilen sonuçlar, ortalama değerler ve standart sapmalarıyla birlikte Tablo 4.2’de sunuldu. R(SÜRE) süre için alınan yanıt, R(MESAFE) ise gliserin çözeltisinin kağıt üzerindeki yürüme mesafesine ait yanıtı ifade etmektedir. Bu yanıtların hesaplanmasında, metod bölümünde belirtilen denklemler kullanıldı. Sürenin kısa olması hasta uyuncu açısından daha uygun olduğundan, süre hesaplanırken en küçük en iyiyi ifade eden denklem 3.1 kullanıldı. Mesafe için durum tam tersi olduğundan, hesaplamada denklem 3.2 kullanıldı. "Sqrt" ile belirtilen satırda, süre ve mesafe için hesaplanan yanıtların her birinin kareleri alınarak toplandı ve ardından karekökü hesaplandı. Bu değerler, $v(SÜRE)$ ve $v(MESAFE)$ değerlerinin belirlenmesinde kullanıldı. Her bir satır, hesaplanan karekök değerine bölünerek ağırlıklarla çarpıldı ve böylece $v(SÜRE)$ ve $v(MESAFE)$ sütunları oluşturuldu. Her yanıt sütununun sonunda, metod bölümünde belirtilen ağırlıklar yer almaktadır. A+ ve A- ile ifade edilen her sütuna ait minimum ve maksimum değerler Excel® yardımıyla hesaplandı ve Si+ ve Si- değerlerinin hesaplanmasında kullanıldı. Si değerleri hesaplanırken, her bir $v(SÜRE)$ ve $v(MESAFE)$ satırından minimum ve maksimum değerler çıkarıldı, kareleri alındı ve ardından karekökü hesaplandı. Son olarak, Si+ ve Si- için hesaplanan her bir satır değeri toplandı, aynı satıra ait Si- değeri bu toplama bölünerek Ci sütunu oluşturuldu. Ci sütunu, burada birleştirilmiş tek yanıtı ifade etmektedir.

Tablo 4.2. Süre ve yürüme mesafesi kriterlerine göre TOPSIS analizi sonuçları

D. No	SÜRE	YÜRÜME MESAFESİ		R(SÜRE)	R(MESAFE)	v(SÜRE)	v(MESAFE)	Si+	Si-	Ci
E1	165.45	17.33	44.3732	24.7776	0.1099	0.1360	0.1504	0.1498	0.4990	
E2	165.26	13.33	44.3632	22.4988	0.1099	0.1235	0.1526	0.1493	0.4944	
E3	115.15	22.33	41.2255	26.9791	0.1021	0.1480	0.1495	0.1509	0.5024	
E4	139.34	21.67	42.8817	26.7158	0.1062	0.1466	0.1494	0.1508	0.5025	
E5	182.51	21.67	45.2257	26.7158	0.1121	0.1466	0.0211	0.0323	0.6049	
E6	99.05	27.00	39.9174	28.6273	0.0989	0.1571	0.0226	0.0383	0.6294	
E7	114.84	18.33	41.2021	25.2648	0.1021	0.1386	0.0278	0.0240	0.4629	
E8	141.37	16.00	43.0071	24.0824	0.1066	0.1322	0.0314	0.0217	0.4081	
sqrt			121.0845	72.89214	95.78692	A+	0.1121	-0.1235		
			0.4	0.6		A-	0.0989	-0.1571		

Elde edilen Ci değerleri Minitab® yardımıyla analiz edildi ve Şekil 4.2’de verilen ortalamaların ortalaması ve S/N grafikleri elde edildi.



Şekil 4.2. Ortalama değerler ve S/N oranları grafikleri

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi, ortalamaların ortalaması grafiğinde minimum noktaların gözlemlendiği seviyeler seçilerek optimum sonucun elde edilmesi öngörüldü. Bu nedenle, NC membran, 4 cm uzunluk, 2 mm genişlik ve %3 SDS ile hazırlanan kitler optimum olarak kabul edildi. Yapılan validasyon deneyi ile de en iyi sonucun bu koşullarda alındığı gözlemlendi. S/N grafiğinden, en etkili faktörlerin membran uzunluğu ve genişliği olduğu, diğer faktörlerin ise bunlara kıyasla daha az etkili olduğu belirlendi.

Bu aşamadan sonra klinik çalışmaya başlandı. Araştırma sonucu alınan veriler tablo 4.3’de sunulmuştur.

Tablo 4.3. Warfarin kullanan kişilerden elde edilen yanıl akış test kit sonuçları ve hastaneden alınan INR değerleri

Denek No	Yürüme Mesafesi (cm)	INR (Hastane)
1	1.30	0.98
2	1.7	1.09
3	2.60	1.43
4	1.9	1.66
5	1.50	1.70
6	1.20	1.73
7	1.6	1.73
8	1.80	1.84
9	1.80	1.95
10	1.30	2.07
11	1.70	2.15
12	1.5	2.19
13	1.60	2.23

14	1.3	2.33
15	1.60	2.53
16	1.70	2.56
17	1.60	2.66
18	1.6	2.71
19	1.70	2.80
20	2.10	2.88
21	1.40	2.88
22	2.20	2.95
23	2.90	2.98
24	1.40	2.99
25	1.40	3.09
26	3.50	3.22
27	2.20	3.23
28	2.10	3.47
29	2.00	4.26
30	1.3	4.29
31	2.50	4.33
32	2.4	4.49
33	1.4	4.61
34	2.1	4.64
35	2.0	4.91
36	2.70	5.48
37	2.10	5.58
38	2.40	5.96
39	1.5	6.93
40	3.00	6.98
41	2.5	7
42	3.20	10.64

Benzer şekilde, kontrol amaçlı olarak warfarin kullanmayan bireyler üzerinde de bir çalışma gerçekleştirildi. Ancak, bu kişiler kalp damar sağlığını ilgilendiren herhangi bir ilaç kullanmadığından, hastanede INR değeri ölçümü yapılamadı ve bu nedenle tabloda bu değerlere yer verilemedi.

Tablo 4.4. Warfarin kullanmayan kişilerde yanal akış test kit sonuçları

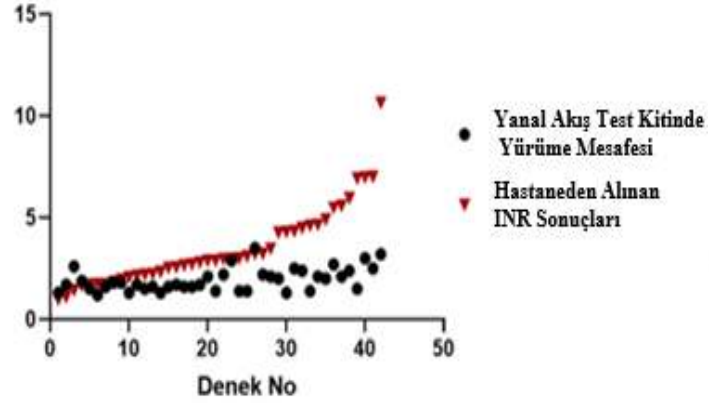
Denek No	Yürüme mesafesi (cm)
43	1.80
44	1.20
45	1.60
46	1.80
47	1.50
48	1.30
49	1.50
50	1.40
51	1.40
52	1.70
53	1.70
54	1.50

55	3.80
56	0.00
57	1.50
58	1.70
59	1.40
60	1.80
61	1.50
62	1.60
63	2.70
64	1.40
65	1.40
66	2.00
67	1.70
68	1.50
69	1.30
70	1.30
71	1.80
72	1.40
73	1.00
74	1.50
75	2.00
76	1.40
77	2.70
78	2.20
79	1.00
80	1.40
81	1.50
82	1.40
83	1.30
84	1.90
85	1.40
86	1.60
87	1.50
88	1.40
89	1.30
90	1.80
91	1.40

Her iki tablodan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, normal durumla uyumlu ve uyumsuz deneyler belirlenerek % hata hesaplandı. Kontrol grubunda, kanın viskozitesini değiştirebilecek bir ilaç kullanılmadığından, beklenen INR değeri 2'den küçük olarak kabul edildi. Warfarin kullanan bireylerde ise INR değerinin 2-3 aralığında olması beklendi.

Bu genel değerlendirmeden sonra, kit ile hastane sonuçları arasında bir korelasyon olup olmadığı istatistiksel olarak analiz edildi. Analiz sonucunda, iki veri seti arasında anlamlı bir fark olduğu ve iki sonucun yeterince korele olmadığı belirlendi. GraphPad® ile hesaplanan r^2 değeri 0.28 olarak bulundu. Bu durum, INR değeri 3 olan

bir bireyin kanının yanal akış test kitinde tam olarak 3 cm ilerlemesinin çok da mümkün olmadığını gösterdi. Bu nedenle, tasarlanan kitin başlangıçta planlandığı gibi tam bir INR değeri vermeyeceği anlaşıldı. Ancak, başlangıçta hedeflendiği şekilde, yanal akış test kitinin uygun/yüksek şeklinde sonuç vermesinin mümkün olduğu görüldü. Elde edilen korelasyon grafiği Şekil 4.3'te sunulmuştur.



Şekil 4.3. Yanal akış kiti üzerindeki mesafe (cm) ile INR (Hastane) sonuçlarının korelasyonu grafiği

Daha sonra, ROC analizi gerçekleştirilerek kitin hassasiyet (sensitivite) ve özgüllük (spesifite) özellikleri incelendi. Eğri altında kalan alan, SPSS 15® kullanılarak hesaplandı ve grafik oluşturuldu. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.5, Tablo 4.6 ve Şekil 4.4'te sunulmuştur.

Tablo 4.5. Mesafe değişkenine ait test sonucu ve eğri altında kalan alan

Alan	Standart hata ^a	Asimptotik sig. ^b	Asimptotik %95 güven aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
0.753	0.083	0.005	0.591	0.916

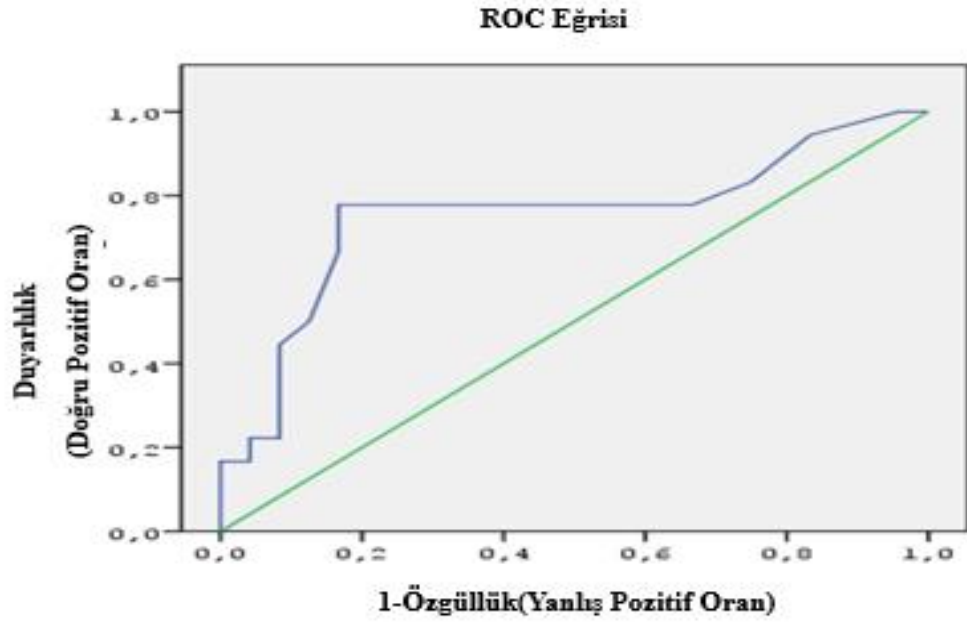
^a parametrik olmadığı varsayılmıştır

^b null hipotezi: gerçek alan=0.5

Tablo 4.6. SPSS'ten alınan hassasiyet ve seçicilik değerleri

Eşit veya büyükse pozitif kabul edilecek değer	Hassasiyet	1 - seçicilik	Seçicilik	Toplam
0.2	1	1	0	1
1.25	1	0.958333333	0.041667	1.041667
1.35	0.944444444	0.833333333	0.166667	1.111111
1.45	0.833333333	0.75	0.25	1.083333
1.55	0.777777778	0.666666667	0.333333	1.111111
1.65	0.777777778	0.458333333	0.541667	1.319444
1.75	0.777777778	0.291666667	0.708333	1.486111
1.85	0.777777778	0.208333333	0.791667	1.569444
1.95	0.777777778	0.166666667	0.833333	1.611111
2.05	0.666666667	0.166666667	0.833333	1.5
2.15	0.5	0.125	0.875	1.375
2.3	0.444444444	0.083333333	0.916667	1.361111
2.45	0.333333333	0.083333333	0.916667	1.25
2.55	0.222222222	0.083333333	0.916667	1.138889
2.65	0.222222222	0.041666667	0.958333	1.180556
2.8	0.166666667	0.041666667	0.958333	1.125
2.95	0.166666667	0	1	1.166667
3.1	0.111111111	0	1	1.111111
3.35	0.055555556	0	1	1.055556
4.5	0	0	1	1

Tablo 4.6’da görüldüğü gibi, işaretli satırda hassasiyet ve özgüllük toplamı maksimum değere ulaşmış ve dönüm noktasından sonra yeniden düşmeye başlamıştır. Bu nokta, hazırlanan kit için de dönüm noktasıdır; yani 1.95 cm’den daha düşük değerler “uygun” olarak nitelendirilebilirken, daha büyük değerler için “bir sağlık kuruluşuna başvurunuz” ibaresinin göz önüne alınması gerekir. Kit ürün olarak tasarlanırsa, bu uzunluk üzerinde bir çizgi olacak ve kullanıcı bu şekilde yönlendirilecek biçimde bir tasarım yapılacaktır. Ayrıca SPSS yardımıyla bir ROC eğrisi de elde edilmiş ve Şekil 4.4’de sunulmuştur.



Şekil 4.4. Yanal akış test kitinde yürüme mesafesi ve hastaneden alınan INR değerlerinin ayırt edilmesine yönelik ROC eğrisi

ROC analizi yapıldıktan sonra, veriler burada hesaplanan cut-off değeri olan 1.95 cm'ye göre yeniden uygun veya yüksek olarak kategorize edildi ve ki-kare testi uygulandı. Test sonucu Tablo 4.7'de sunulmuştur.

Tablo 4.7. Ki-Kare test sonuçları ve 2x2 tablo

INR * Yanal akış test Çapraz Tablosu					
		Yanal Akış Testi		Toplam	
		0	1	0	
INR	0	Sayı	20	4	24
		% INR içinde	%83.3	%16.7	%100
		% Yanal Akış Test içinde	%83.3	%22.2	%57.1
	1	Sayı	4	14	18
		% INR içinde	%22.2	%77.8	%100
		% Yanal Akış Test içinde	%16.7	%77.8	%42.9
Toplam	Sayı	24	18	42	
	% INR içinde	%57.1	%42.9	%100	
	% Yanal Akış Test içinde	%100	%100	%100	

Tablo 4.7, yanal akış testi sonuçları ile INR ölçüm değerleri arasındaki ilişkiyi değerlendiren 2x2 çapraz tabloyu göstermektedir. Ki-kare testi analizi, test kitinin INR sınıflandırma başarısını değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. ROC analizi

sonucunda belirlenen cut-off değeri 1.95 cm olarak hesaplanmış ve bu değere göre INR ölçümleri iki gruba ayrılmıştır. Cut-off değeri altında kalan ölçümler (1.95 cm'den düşük), INR'nin düşük olduğu grubu ($INR < Cut-off$) temsil etmektedir. Cut-off değerinin üzerinde kalan ölçümler (1.95 cm ve üstü) ise INR'nin yüksek olduğu grubu ($INR \geq Cut-off$) oluşturmaktadır. Cut-off altındaki hastaların %83.3'ü doğru şekilde negatif olarak sınıflandırılmış, ancak %16.7'si yanlış pozitif olarak değerlendirilmiştir. Cut-off üzerindeki hastaların %77.8'i doğru şekilde pozitif olarak sınıflandırılmış, ancak %22.2'si yanlış negatif olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, test kitinin cut-off değeri 1.95 cm'ye göre INR ölçüm gruplarını belirli bir doğrulukla ayırt edebildiğini göstermektedir. Ancak, daha geniş bir hasta grubu üzerinde doğrulama çalışmaları yapılması gerektiği anlaşılmıştır.



5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, warfarin kullanan hastalarda INR ölçümünü taşınabilir, hızlı ve güvenilir bir yöntemle gerçekleştirmek amacıyla yanıl akış tabanlı bir test kiti geliştirilmiş ve değerlendirilmiştir. Test kitinin performansı, membran türü, yüzey aktif madde kullanımı, testin kalitatif sınıflandırma gücü ve klinik uygulanabilirliği gibi birçok faktör açısından incelenmiştir. Elde edilen bulgular, kanın viskozitesinin yanıl akış performansını doğrudan etkilediğini ve bu yöntemin INR sınıflandırması için potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Çalışmanın sonuçları, literatürde yer alan benzer yanıl akış tabanlı testlerle büyük ölçüde uyumlu olmakla birlikte, bazı farklılıklar ve geliştirilmesi gereken yönler de ortaya koymuştur. Özellikle, test kitinin yalnızca tek bir cut-off değerine (1.95 cm) dayalı olarak INR sınıflandırması yapması, INR değerinin belirli terapötik aralıklarda tutulması gereken hasta gruplarında klinik karar süreçleri açısından sınırlılık oluşturmaktadır. Literatürde, atrial fibrilasyon ve kalp kapakçığı değişimi geçiren hastalarda INR'nin 2.5-3.5 aralığında olması gerektiği belirtilmekte olup, mevcut sistemin bu gruplarda kesin bir değerlendirme yapma kapasitesinin artırılması gerekmektedir.

Bunun yanı sıra, çalışmada kontrol grubunda INR ölçümünün yapılmamış olması, test kitinin doğruluğunu laboratuvar yöntemleriyle doğrudan kıyaslama imkânını sınırlandırmıştır. Ayrıca, hastaların beslenme alışkanlıkları, ilaç kullanımı ve eşlik eden hastalıklarının INR üzerindeki etkileri incelenmemiştir. Ancak, elde edilen veriler, çevresel faktörlerin INR değişkenliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, K vitamini içeriği yüksek besinlerin INR'yi düşürebileceği, antibiyotik ve NSAİİ (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs) gibi ilaçların warfarin metabolizmasını değiştirerek INR'yi artırabileceği bildirilmiştir (82). Bu nedenle, INR ölçümünü daha güvenilir hale getirmek için hasta bazlı çevresel değişkenlerin detaylı bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir.

Yanal akış tabanlı testlerin taşınabilirlik ve hızlı sonuç verme gibi avantajları, saha ve evde kullanım için ideal bir alternatif sunmaktadır. Bu testler, laboratuvar ortamı gerektirmeden teşhis imkânı sağladığından, özellikle acil durumlarda, kırsal bölgelerde veya laboratuvar erişimi sınırlı alanlarda büyük kolaylık sağlamaktadır. Posthuma-Trumpie ve arkadaşları, yanıl akış testlerinin kullanım kolaylığı ve hızlı

sonuç elde etme avantajları sayesinde hasta memnuniyetini artırdığını belirtmiştir. Ayrıca, bu testlerin hamilelik testleri, enfeksiyon belirteçleri, biyobelirteç analizleri ve antikoagülan izleme gibi birçok alanda başarıyla uygulandığı ifade edilmektedir.

Ancak, yanal akış testlerinin doğruluk oranlarının laboratuvar tabanlı yöntemlere kıyasla daha düşük olabileceği belirtilmiştir. Özellikle, düşük konsantrasyonda bulunan biyobelirteçlerin tespit edilmesinde duyarlılığın sınırlı olabileceği ve kritik klinik kararların verilmesi gereken durumlarda dikkatli olunması gerektiği vurgulanmaktadır. Bu durum, testlerin taşıdığı teknolojik sınırlamalar, kullanılan membran türü, yüzey aktif madde seçimi ve sıvı akış performansındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır.

Buna ek olarak, yanal akış tabanlı testlerin sonuçları, operatör faktörüne, numune türüne ve çevresel değişkenlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Özellikle membran gözenek yapısı ve kılcal akış süresi gibi faktörler, testin hassasiyet ve özgüllüğünü doğrudan etkileyebilir. Bu nedenle, testin doğruluğunu artırmak için membran optimizasyonu, yüzey aktif madde seçimi ve ileri seviye nanoteknolojik geliştirmeler üzerine çalışmalar yapılmaktadır.

Membran türleri açısından bakıldığında, literatüre göre NC membranlarının düşük maliyet avantajıyla ekonomik bir seçenek sunduğunu ifade edilmiştir. NC membranları, protein bağlama kapasitesinin yüksek olması ve taşınabilir testlerde sıkça kullanılması nedeniyle tercih edilmektedir (71,74). Bu çalışmada kullanılan İTK membranı, literatürde daha önce yanal akış testlerinde değerlendirilmemiştir. Bu nedenle, test kitinde İTK membranı kullanımı tamamen elde mevcut olması ve alternatif bir seçenek olarak değerlendirilmesi sebebiyle tercih edilmiştir. Ancak, deneylerde İTK membranının kan akışını yeterince desteklemediği gözlemlenmiş, bu durum membran yapısının yanal akış testleri için uygun olmayabileceğini düşündürmüştür. Bu sonuçlar, membran seçiminde yalnızca malzeme erişilebilirliğinin değil, aynı zamanda testin akış dinamikleri üzerindeki etkisinin de dikkate alınması gerektiğini ortaya koymaktadır.

İTK membranının kullanımına yönelik elde edilen sonuçlar, NC membranları ile karşılaştırıldığında belirgin farklılıklar göstermektedir. Bu çalışmada da İTK membranı ile başarılı sonuç alınamamış, bu durum NC membranlarının yanal akış testleri için daha uygun olduğu yönündeki literatür bilgisiyle de örtüşmüştür (73). Gelecekte yapılacak çalışmalar, farklı membran türlerinin test performansı üzerindeki etkisini daha geniş kapsamlı değerlendirmelidir.

Gelecekte, daha dayanıklı ve düşük maliyetli membranların geliştirilmesi, bu testlerin laboratuvar tabanlı yöntemlerle daha uyumlu hale gelmesini sağlayarak klinik

doğruluklarını artırabilir. Ayrıca, membran seçiminin hasta ihtiyaçlarına ve kaynaklara göre optimize edilmesi, bu teknolojilerin geniş çaplı kullanımı için kritik bir gereklilik olacaktır.

You ve arkadaşlarının çalışmalarında, yüzey aktif madde türlerinin yanıl akış performansı üzerindeki etkileri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Çalışmada, Tween20'nin sıvı akış hızını belirgin şekilde artırdığı, ancak bu durumun akış performansında varyasyonu da beraberinde getirdiği tespit edilmiştir. Tween20'nin düşük yüzey gerilimi oluşturmaları sayesinde sıvının membran yüzeyinde hızla ilerlemesi sağlanmıştır. Ancak, akış hızı arttıkça membran boyunca homojenlik kaybolmuş ve bu durum test sonuçlarında doğruluk kaybına yol açabilecek varyasyonlar oluşturmuştur. Bu bulgu, özellikle kritik test değerleri için önemli bir risk faktörüdür çünkü varyasyon, sonuçların tekrarlanabilirliğini azaltarak hata payını yükseltebilir (76). Araştırma, yüzey aktif maddelerin yüzey gerilimini azaltarak sıvı akışını hızlandırdığı, ancak konsantrasyonun artması durumunda bu etkinin kararlılığı olumsuz yönde etkileyebileceğini göstermiştir. Bu sonuçlar, yüzey aktif maddelerin doğru seçimi ve uygun konsantrasyon aralığında kullanımı gerekliliğini açıkça ortaya koymaktadır. Çalışmada kullanılan yöntemler ve elde edilen bulgular, yüzey aktif madde türünün ve konsantrasyonunun yanıl akış performansı üzerindeki doğrudan etkilerini anlamada önemli katkıları sağlamıştır.

Bazefidpar ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışma ise, SDS'nin yanıl akış testlerindeki üstün performansına odaklanmıştır. Çalışmada, SDS'nin sıvı akışını daha kararlı bir şekilde sağladığı ve bu kararlılığın test kitinin genel doğruluğunu artırdığı ortaya konulmuştur. SDS'nin membran yüzeyine daha tutarlı bir şekilde bağlanması, sıvı akışını hızlandırmaktan çok stabilize etmeye yönelik bir etki yaratmıştır. Bu özellik, özellikle tekrarlanabilir sonuçlar elde etme açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Araştırmacılar, SDS'nin test sonuçlarını daha güvenilir hale getirdiğini ve varyasyonu azalttığını belirterek, bu yüzey aktif maddenin yanıl akış testlerinde kullanımı için güçlü bir aday olduğunu ifade etmişlerdir (77). Ayrıca, SDS'nin düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olduğu ve yüksek konsantrasyon kullanımına gerek kalmadan yeterli performans sağladığı vurgulanmıştır. Bu, yalnızca teknik değil, ekonomik açıdan da önemli bir bulgu olarak öne çıkmaktadır çünkü düşük konsantrasyon kullanımı, hem malzeme tüketimini hem de üretim maliyetlerini azaltmaktadır (77).

Her iki çalışmanın sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, yüzey aktif maddelerin yanal akış test performansını belirleyen kritik faktörlerden biri olduğu açıkça görülmektedir. Ayrıca, yüzey aktif maddelerin membran yüzeyi ile etkileşimlerinin detaylı incelenmesi, membran kaplamalarının kimyasal ve fiziksel özelliklerinin optimize edilmesini sağlayarak, yanal akış tabanlı testlerde doğruluğun artırılmasına katkıda bulunabilir. Membran por yapısı, yüzey modifikasyonu ve bağlanma kapasitesi gibi parametrelerin değerlendirilmesi, testin duyarlılığı ve özgüllüğü açısından kritik önem taşımaktadır. Bu süreçte, farklı yüzey aktif madde konsantrasyonlarının ve membran kaplama tekniklerinin karşılaştırılması, optimal performansa ulaşmak için yol gösterici olacaktır.

İleriye dönük olarak, literatürde önerilen daha geniş bir konsantrasyon aralığının test edilmesi, farklı yüzey aktif maddelerin membran performansı üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacak ve bu doğrultuda daha hassas, güvenilir ve maliyet etkin test kitlerinin geliştirilmesine olanak tanıyacaktır.

Li ve arkadaşları, INR ölçümünde kullanılan testlerin geliştirilmesi sırasında genellikle hayvan kanı, özellikle tavşan veya fare kanı, kullanıldığını ve bu durumun test sonuçlarının gerçek klinik uygulamalara uyarlanabilirliğini sınırladığını ifade etmişlerdir. Çalışmada, hayvan kanının insan fizyolojisine tam olarak uymayan pıhtılaşma özelliklerine sahip olduğu ve bunun da INR ölçüm kitlerinin güvenilirliğini etkileyen bir faktör olduğu belirtilmiştir. Özellikle, INR değerlerini etkileyen fibrinojen konsantrasyonu ve trombosit aktivitesi gibi faktörlerin, hayvan ve insan kanı arasında önemli farklılıklar gösterdiği vurgulanmıştır. Bu durum, hayvan kanıyla yapılan testlerin insan kanıyla aynı doğruluğu sağlamasını zorlaştırmaktadır (54).

Ayrıca, hayvan kanı kullanılarak geliştirilen testlerin standardizasyon sürecinde yaşanan zorluklar, sonuçların tutarlılığı üzerinde olumsuz bir etki yaratmaktadır. Hayvanların yaş, sağlık durumu, diyet ve çevresel faktörler gibi değişkenlere bağlı olarak kan özelliklerinde farklılıklar görülebilmekte, bu da geliştirilen testlerin tekrarlanabilirliğini sınırlamaktadır (54).

Bu çalışma, insan kanı kullanılarak elde edilen bulguların klinik geçerliliği artırma potansiyelini göstermesi açısından önemli bir katkı sunmaktadır. İnsan kanının, gerçek dünyadaki klinik uygulamalara uygun sonuçlar vermesi, INR ölçümüne yönelik testlerin daha geniş bir hasta popülasyonunda uygulanabilirliğini desteklemektedir (51). Ayrıca, insan kanı ile gerçekleştirilen testlerin, farklı yaş grupları, cinsiyetler ve tıbbi durumlar üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasına olanak tanıdığı vurgulanmıştır.

(51). Bu yönüyle çalışma, literatüre yalnızca yeni bir bakış açısı kazandırmakla kalmamış, aynı zamanda klinik uygulamalarda kullanılabilecek daha doğru ve güvenilir bir alternatif sunarak önemli bir katkı sağlamıştır.

Bu çalışmada, kanın fiziksel ve akışkanlık özelliklerini modellemek amacıyla gliserin kullanılmıştır. Gliserin, test kitinin performansını değerlendirmek için kan yerine alternatif bir sıvı olarak seçilmiş ve yanal akış mekanizmasındaki etkileri incelenmiştir. Gliserinin kullanımı, kanın viskozite ve yüzey gerilimi gibi özelliklerini taklit ederek, membran üzerinde sıvının ilerleyişini modellemeye olanak sağlamıştır. Özellikle, kapiller akışın tutarlı olması, membran üzerindeki sıvı dağılımının kontrol edilebilmesi ve kuruma riskinin azaltılması gibi avantajlar sunarak deneysel koşulların standardize edilmesine katkıda bulunmuştur. Ayrıca, gliserinin biyouyumlu olması ve yanal akış testlerinde sıvı hareketini optimize etmesi, kan bazlı testlerde stabilite sağlama açısından kritik bir faktör olmuştur (71). İnsan kanı gibi biyolojik örneklerin akış performansı üzerindeki etkilerini simüle etmesi, test kitinin çalışma prensiplerini değerlendirme sürecinde önemli bir referans noktası oluşturmuştur. Bu yaklaşım, hem laboratuvar hem de sahada uygulanabilir, hassas ve ekonomik test kitlerinin geliştirilmesine yönelik önemli bir adım olarak değerlendirilmektedir.

Literatürde, $INR \geq 3$ olan bireylerde yürüme mesafelerinde anlamlı bir artış gözlemlendiği, bu durumun INR'nin bireylerin biyolojik kapasitesi ve genel sağlık durumu üzerindeki etkilerini açık bir şekilde ortaya koyduğu belirtilmektedir. Yüksek INR değerlerinin, kanın viskozitesini azaltarak dokulara oksijen ve besin taşınmasını kolaylaştırdığı, bunun da bireylerin fiziksel performansında iyileşme sağladığı vurgulanmıştır (78,79). Bu bulgular, INR'nin yalnızca pıhtılaşma süreçlerini değil, aynı zamanda bireylerin genel sağlık durumunu değerlendiren önemli bir parametre olduğunu göstermektedir.

Bunun yanı sıra, taşınabilir INR cihazlarının hasta yönetimindeki faydalarına literatürde sıkça dikkat çekilmektedir (51). Bu cihazlar, bireylerin kendi INR değerlerini evde veya sahada hızlı bir şekilde ölçebilmesine olanak tanımakta ve bu da klinik ziyaretlerin azalmasına, tedavi uyumunun artmasına ve hasta memnuniyetinin yükselmesine katkıda bulunmaktadır. Çalışmada geliştirilen taşınabilir test kiti, INR değerlerini sınıflandırma ve hızlı sonuç verme özellikleriyle hasta yönetiminde önemli bir yenilik sunmaktadır. Ancak, taşınabilir cihazların doğruluk oranlarının laboratuvar tabanlı yöntemlere yakın seviyelere çıkarılması gerektiği de literatürde vurgulanmaktadır (54).

INR değerinin bireyin biyolojik kapasitesi üzerindeki etkilerinin anlaşılması, bireysel tedavi süreçlerinin optimize edilmesine katkı sağlamaktadır. Taşınabilir INR cihazlarının yaygın kullanımı, bireylerin sağlık durumlarını düzenli olarak takip etmelerini kolaylaştırarak hem bireysel hem de klinik sonuçların iyileştirilmesine olanak tanımaktadır (54,78). Bu çalışmanın bulguları, taşınabilir INR cihazlarının doğruluk ve güvenilirlik açısından geliştirilmesinin yanı sıra daha geniş popülasyonlarda kullanımının teşvik edilmesi gerektiğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada, test kitinin ayırt edicilik gücünü değerlendirmek amacıyla ROC analizi gerçekleştirilmiş ve eğri altında kalan alan (AUC) değeri 0.753 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, testin orta düzeyde bir ayırt edicilik gücüne sahip olduğunu göstermektedir. Orta düzeyde bir AUC değeri, testin belirli bir seviyede klinik kullanım için uygun olduğunu ancak daha yüksek doğruluk oranları elde edebilmek için ek geliştirmelere ihtiyaç duyduğunu ifade etmektedir.

ROC eğrisi analizi sonucunda en uygun ayırım noktası olarak belirlenen 1.95 cm, duyarlılık ve özgüllük açısından en uygun dengeyi sağlayan eşik olarak hesaplanmıştır. Bu eşik değerin altındaki mesafeler "uygun" olarak sınıflandırılmış, üzerindeki değerler için ise "bir sağlık kuruluşuna başvurunuz" nerisi yapılmıştır.

Tasarladığımız test kitimiz kantitatif ölçüm sağlamamakta, sadece kalitatif olarak INR'nin belirli bir cut-off değerine göre yüksek veya düşük olduğunu göstermektedir. Oysaki, kalp kapakçığı değişimi geçiren veya atrial fibrilasyon gibi kardiyovasküler rahatsızlıklara sahip hastalarda INR'nin 2.5-3.5 arasında tutulması gerekmektedir (82). Bu tür hasta gruplarında, yalnızca INR'nin cut-off değerinin altında veya üstünde olup olmadığını belirlemek klinik anlam açısından yetersiz kalabilir. Buna karşın, derin ven trombozu, pulmoner emboli veya beyin damar tıkanıklığı gibi hastalar için INR'nin 2-3 arasında tutulması gerektiği göz önüne alındığında, mevcut test kiti bu grup hastalar için belirli bir klinik değer taşıyabilir (82). Ancak, INR hedef değerinin hastalığa göre değişkenlik göstermesi, test kitinin bu aralıklarda daha kesin ayrımlar yapabilecek şekilde geliştirilmesini gerektirmektedir. Bu nedenle, INR'si belirli bir aralıkta tutulması gereken hasta gruplarında (rneğin, atrial fibrilasyon veya kalp kapakçığı hastaları gibi) testin klinik anlamı sınırlı olabilir. Bu nedenle, gelecekte test kitinin tasarımında ikinci bir eşik değeri eklenerek INR'nin yalnızca cut-off değerinin üzerinde olup olmadığını değil, aynı zamanda INR'nin 3'n üzerine çıkıp çıkmadığını belirlemek mümkün hale getirilebilir (86).

Bu çalışmada, kontrol grubunda INR ölçümü yapılmamış, yalnızca test kitinde kanın yürüme mesafesi değerlendirilmiştir. Buna karşılık, deney grubunda hem INR ölçümü hem de test kitinde kanın ilerleme mesafesi değerlendirilmiştir. Bu durum, test kitinin klinik doğruluğunu tam olarak belirlemekte bazı sınırlamalara neden olmuştur. Kontrol grubunda test kitinin performansının klasik laboratuvar INR ölçüm yöntemleriyle doğrudan kıyaslanması mümkün olmamıştır. Yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların doğruluğu, kontrol grubundan alınacak INR ölçümleri ile daha iyi değerlendirilebilirdi. Eğer bir kontrol grubunda INR ölçümleri de alınsaydı test kitinin laboratuvar yöntemleriyle kıyaslanarak doğruluk analizi daha güvenilir olurdu. Deney ve kontrol grupları arasındaki farklar net bir şekilde belirlenebilirdi. Klinik uygulamalara geçiş için testin güvenilirliği artırılabilirdi. Kontrol grubu eksikliği nedeniyle, test kitinin doğruluğunun daha geniş bir hasta popülasyonunda doğrulama çalışmaları ile desteklenmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda, deney grubundaki hastaların antikoagülan olarak sadece warfarin kullandıkları bilindiği halde INR sonuçlarında beklenmedik değişkenliklerin gözlemlenmesi, INR'nin sadece kullanılan antikoagülan ilacın dozundan değil, beslenme alışkanlıkları, diğer ilaç kullanımları ve bireysel faktörlerden de etkilendiğini düşündürmüştür. Bu bulgular, INR takibinin yalnızca laboratuvar ölçümleriyle değil, hastanın yaşam tarzı, diyeti ve diğer ilaç kullanımı ile birlikte değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. Bu çalışmada, hastaların beslenme alışkanlıkları, ilaç kullanımları ve diğer çevresel etmenler sistematik olarak değerlendirilmemiştir. Ancak, deney grubundaki hastaların warfarin kullanmalarına rağmen bazılarında INR seviyelerinin beklenenden çok düşük, bazılarında ise çok yüksek çıkması, INR'nin yalnızca kullanılan antikoagülan ilahtan değil, bireysel faktörlerden de etkilendiğini düşündürmüştür.

Literatürde, warfarin metabolizmasının bireyler arasında büyük farklılıklar gösterebildiği ve bu farklılıkların hastanın genetik yapısının yanı sıra beslenme düzeni, diğer ilaç kullanımları, eşlik eden hastalıkları ve yaşam tarzı faktörleriyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (82, 83). Özellikle yeşil yapraklı sebzeler, K vitamini açısından zengin besinler INR'yi düşürebilir ve warfarinin etkisini azaltabilir (84). Aspirin, antibiyotikler ve bazı NSAİİ'ler warfarinin etkisini artırarak INR'yi yükseltebilir (85). Karaciğer yetmezliği, böbrek hastalıkları veya metabolik sendrom gibi kronik hastalıklar, INR'nin bireyler arasında farklı seyretmesine neden olabilir (81). Sigara kullanımı ve alkol

tüketimi, warfarin metabolizmasını hızlandırarak INR'nin kontrolsüz dalgalanmasına yol açabilir (86).

Deney grubunda INR sonuçlarının bazı bireylerde çok düşük, bazılarında ise çok yüksek çıkması, bu hasta grubunda sadece warfarin kullanımının değil, bireysel ve çevresel faktörlerin de INR üzerinde doğrudan etkili olduğunu göstermektedir. Bu durum, test kitinin kullanımının yalnızca warfarin kullanan hastalarla sınırlı kalmayıp, bu hastaların günlük yaşam alışkanlıklarının da INR stabilizasyonu açısından dikkate alınması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Karimollah Hajian-Tilaki'nin çalışmasında belirttiği gibi, ROC analizi yalnızca mevcut performansı değerlendirmekle kalmayıp, aynı zamanda gelecekte yapılacak iyileştirmeler için yol gösterici bir araç olarak kullanılmaktadır (80). Bu çalışmada elde edilen bulgular, test kitinin mevcut haliyle klinik uygulamalara uygun olduğunu, ancak doğruluk oranını artıracak optimizasyon çalışmalarının önemli olduğunu göstermektedir (70).

Performans değerlendirmesinde kullanılan TOPSIS yöntemi, çok kriterli karar verme süreçlerinde parametrelerin ideal ve anti-ideal çözümlere olan yakınlıklarını değerlendirerek en uygun koşulları belirlemiştir. Bu yöntem, yanal akış testlerinin optimizasyonunda çeşitli parametrelerin bir arada değerlendirilmesini mümkün kılmış ve test kitinin performansını artırmak için etkili bir araç olarak kullanılmıştır. Literatürde de belirtildiği gibi, çok kriterli karar verme yöntemleri, testlerin hassasiyetini artırma ve belirli koşullarda en iyi sonuçları elde etme açısından büyük avantajlar sunmaktadır. Yanal akış testlerinde membran türü, yüzey aktif madde konsantrasyonu, membran uzunluğu ve genişliği gibi kritik parametrelerin optimize edilmesinde TOPSIS yöntemi önemli bir rol oynamıştır (68).

TOPSIS yönteminin avantajlarının yanı sıra, subjektif ağırlıklandırma gerektirmesi nedeniyle sonuçların farklı kullanıcılar arasında değişkenlik gösterebileceği bir sınırlama olarak değerlendirilmiştir. Parametrelere atanan ağırlıkların subjektif olarak belirlenmesi, yöntemin sonuçlarının kullanıcıdan kullanıcıya değişebileceğini göstermektedir. Örneğin, bir kullanıcının membran uzunluğuna daha fazla ağırlık vermesi, test sonuçlarının optimizasyonuna farklı bir yön verebilir. Bu durum, yöntemin doğruluğunu ve tutarlılığını etkileyebilecek bir faktör olarak öne çıkmaktadır. Ancak, bu sınırlamaya rağmen, TOPSIS yöntemi, alternatiflerin sistematik bir şekilde sıralanmasına olanak tanıyan güçlü bir araç olarak değerlendirilmektedir (68).

Taguchi yöntemi ile birlikte kullanıldığında, TOPSIS yöntemi deney sayısını azaltarak zaman ve maliyet açısından önemli avantajlar sağlamıştır. Taguchi yöntemi, deney tasarımında varyasyonları minimize etmeyi ve optimum koşulları belirlemeyi hedeflerken, TOPSIS yöntemi bu koşullar arasında en uygun olanı seçmede etkili olmuştur. İki yöntemin birlikte kullanımı, hem sistematik hem de ekonomik bir optimizasyon süreci sağlayarak, yanal akış testlerinde doğruluk oranını artırma ve maliyet etkinliğini sağlama potansiyeli sunmuştur (66).

Bu çalışmada, TOPSIS yöntemi ile yapılan analizler, membran türü ve yüzey aktif madde konsantrasyonlarının yanı sıra, membran boyutları gibi test kitinin performansını etkileyen birçok parametrenin optimize edilmesine olanak tanımıştır. Elde edilen sonuçlar, TOPSIS yönteminin yanal akış testlerinde performans değerlendirme ve optimizasyon süreçlerinde önemli bir araç olduğunu ve bu yöntemin Taguchi yöntemi ile kombinasyonunun test kitlerinin tasarımını geliştirmede etkili olduğunu göstermektedir.

Taşınabilir INR ölçüm kitinin hem bireysel hem de klinik kullanımda sağladığı pratik çözümler, bu çalışmanın diğer bir özgün katkısıdır. Kitin taşınabilir yapısı, özellikle klinik ziyaretlerin sınırlı olduğu kırsal veya kaynak yetersizliği olan bölgelerde önemli bir çözüm sunmaktadır. Hasta uyumunu artıran bu teknoloji, bireylerin kendi sağlık durumlarını düzenli olarak takip etmelerine olanak sağlayarak, daha iyi sonuçlar elde etmelerine ve komplikasyon risklerini azaltmalarına yardımcı olmaktadır. Çalışmada kullanılan gliserin bazlı simülasyon yöntemi, INR değerine göre kanın membran üzerindeki yürüme mesafesinin optimize edilmesine olanak tanımış, böylece kitin doğruluk oranı artırılmıştır.

Literatürde benzer çalışmalar genellikle taşınabilir testlerin kullanım kolaylığı ve hasta uyumu üzerindeki etkilerine odaklanırken bu çalışma, yanal akış testlerinin optimizasyonu konusunda özgün bir perspektif sunmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları, yanal akış testlerinin yalnızca performansını artırmakla kalmayıp, aynı zamanda bu teknolojinin daha geniş bir uygulama alanına yayılmasına yönelik yeni fırsatlar yaratmaktadır. Ayrıca, bu testlerin klinik geçerliliğini artırma hedefiyle insan kanı kullanılarak gerçekleştirilen deneylerin literatüre yaptığı katkılar, çalışmanın bilimsel değerini daha da artırmaktadır. Bu açıdan, yanal akış testlerinin biyomedikal alandaki geleceğini şekillendirecek yenilikçi yaklaşımlar sunulmaktadır. Ancak, çalışmanın sınırlılıkları da göz ardı edilmemelidir. Örneklem boyutunun sınırlı olması, elde edilen sonuçların genelleştirilebilirliğini kısıtlayan önemli bir faktör olarak öne çıkmaktadır.

Daha geniş bir örneklem grubuyla yapılacak çalışmalar, test kitinin farklı hasta gruplarında ve klinik senaryolarda doğruluğunu ve güvenilirliğini daha iyi değerlendirebilir. Örneğin, yaş, cinsiyet ve eşlik eden sağlık sorunları gibi hasta özelliklerinin test sonuçları üzerindeki etkilerinin incelenmesi, test kitinin klinik uygulamalardaki uygunluğunu değerlendirmek açısından önemli bir katkı sağlayabilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, warfarin kullanan hastalarda INR ölçümünü hızlı, taşınabilir ve güvenilir bir şekilde gerçekleştirebilecek bir yanal akış tabanlı test kitinin geliştirilmesine odaklanmıştır. Geliştirilen test kitinin performansı, kanın viskozitesine bağlı olarak yanal akış mesafesi ile INR sınıflandırmasının yapılabilme yeteneği üzerinden değerlendirilmiştir. Çalışmada, belirlenen eşik değeri doğrultusunda, INR'si düşük olan hastalarda sıvı akış mesafesinin daha kısa olduğu, INR'si yüksek olan hastalarda ise sıvı akışının belirlenen mesafeyi aşabildiği gözlemlenmiştir. Bu bulgunun, yanal akış tabanlı testlerin INR sınıflandırmasında kullanılabilir bir alternatif olabileceğini ve membran ile yüzey aktif madde gibi faktörlerin testin doğruluğu üzerinde etkili olduğunu gösterdiği belirlenmiştir.

Ancak, çalışmada bazı sınırlılıklar bulunmaktadır. Kontrol grubunda INR ölçümünün yapılmamış olması, test kitinin laboratuvar yöntemleriyle doğrudan kıyaslanmasını zorlaştırmıştır. Ayrıca, hastaların beslenme alışkanlıkları, ilaç kullanımı ve eşlik eden hastalıklarının INR değerleri üzerindeki etkileri değerlendirilmemiştir. Warfarin tedavisi gören bireylerde, diyet, ilaç etkileşimleri ve metabolik değişkenlerin INR üzerinde önemli bir etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, test kitinin bireysel değişkenler göz önünde bulundurularak daha geniş bir hasta popülasyonunda test edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Gelecekte yapılacak çalışmalar kapsamında, kontrol gruplarının oluşturulmasıyla test kitinin klinik doğruluğunun daha sağlam bir şekilde değerlendirilebileceği ve laboratuvar yöntemleri ile karşılaştırmalı analizlerin yapılabilmesi öngörülmektedir. Ayrıca, farklı hasta gruplarında testin güvenilirliğini artırmak için bireysel ve çevresel faktörlerin INR değişkenliği üzerindeki etkilerinin daha detaylı incelenmesi gerekmektedir. Test kitinin sınıflama yeteneğinin geliştirilmesi için belirli hasta grupları için ek eşik noktalarının belirlenmesi ve INR'nin klinik hedef aralıklar doğrultusunda daha spesifik bir şekilde değerlendirilmesinin sağlanması önerilmektedir.

Ayrıca, test kitinin mevcut haliyle yalnızca tek bir eşik değeri üzerinden değerlendirme yapması, INR'nin belirli bir seviyenin üzerine çıkıp çıkmadığını belirleyemediğinden, özellikle yüksek INR gerektiren hasta gruplarında klinik anlam taşıması için daha ileri optimizasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır. Gelecekte, test kitine ek eşik noktaları eklenerek, INR'nin belirlenen

sınırların üzerinde olup olmadığı daha ayrıntılı şekilde değerlendirilebilir ve böylece klinik kullanım potansiyeli artırılabilir.

Öneriler

- Test kitinin farklı hasta gruplarında ve klinik koşullarda doğrulama çalışmalarının yapılması gerekmektedir.
- Çevresel faktörlerin (sıcaklık, nem, basınç) test performansı üzerindeki etkisinin araştırılması önerilmektedir.
- Test sonuçlarının mobil uygulamalar ve bulut tabanlı sistemlerle entegrasyonunun sağlanması faydalı olacaktır.
- Farklı yüzey aktif madde ve membran kombinasyonlarının test edilmesi ile doğruluk oranının artırılması hedeflenmelidir.
- Üretim maliyetlerinin analiz edilerek düşük maliyetli alternatiflerin değerlendirilmesi gerekmektedir.
- Test kitinin uzun süreli dayanıklılığı ve doğruluğunun farklı koşullarda test edilmesi önerilmektedir.
- Hastaların bireysel faktörlerinin (beslenme, ilaç kullanımı, yaşam tarzı) INR üzerindeki etkisinin incelenmesi gerekmektedir.
- Hasta bazlı anket çalışmaları düzenlenerek INR değişkenliği ile ilişkisi araştırılmalıdır.
- Kontrol grupları oluşturularak, testin laboratuvar INR ölçümleriyle kıyaslanması sağlanmalıdır.
- Kişiye özel INR takip algoritmalarının geliştirilerek klinik rehberlere entegre edilmesi önerilmektedir.
- Test kitine iki eşik değeri eklenerek, INR'nin yüksek seviyelere ulaşp ulaşmadığının belirlenmesi sağlanmalıdır.

Sonuç olarak, bu çalışma, taşınabilir ve pratik bir INR test kitinin geliştirilmesine yönelik önemli bir adım olarak değerlendirilmiştir. Ancak, testin klinik kullanım alanlarını genişletmek ve doğruluğunu artırmak için daha kapsamlı optimizasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu görülmüştür. Bu doğrultuda yapılacak iyileştirmelerle, test kitinin hasta bakımını destekleyici bir araç olarak sağlık sistemine katkı sağlaması ve klinik karar süreçlerinde daha etkin şekilde kullanılması mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Greenstone G. The history of bloodletting. *BC Med J.* 2010;52(1):12-4.
2. Voigts LE, Peter B, Galen on bloodletting: a study of the origins, development and validity of his opinions, with a translation of the three works. Cambridge University Press; *Med Hist.* 1986;34(4):445-6.
3. Berger D. A brief history of medical diagnosis and the birth of the clinical laboratory. *MLO Med Lab Obs.* 1999;31(7):28-30.
4. Guyton AC. Textbook of Medical Physiology. 2006;21(2):249-56.
5. Riviere JE, Papich. MG Veterinary Pharmacology and Therapeutics. *BC Med J.* 2018;12(3):158-165.
6. Sierra A., Cristina Y, Moreno D, Maite K, Garcia R, Juan C. The physiology of hemostasis. *Blood Coagulation & Fibrinolysis.* 2022;33(5):1-2.
7. Atalan N. Hemostaz. *Hematoloji Dergisi.* 2021;19(3):109-12.
8. Green D. Interpreting coagulation assays. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2010;21(1):3-6.
9. Triplett DA. Coagulation and bleeding disorders: review and update. *Clin Chem.* 2000;46(8):1260-9.
10. Harris LF, Castro-Lopez V, Killard AJ. Coagulation monitoring devices: past, present, and future at the point of care. *TrAC Trends Anal Chem.* 2013;50:85-95.
11. Esmon CT. The protein C pathway. *Chest.* 2003;124(31):26-32.
12. Rosenberg R. The heparin-antithrombin system: a natural anticoagulant mechanism. *Hemostasis and Thrombosis, Basic Principles and Clinical Practice.* 1994;83(7):58-60.
13. Broze GJ Jr. Tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Haemost.* 1995;74(7):90-3.
14. Collen D. Molecular mechanisms of fibrinolysis and their application to fibrin- specific thrombolytic therapy. *J Cell Biochem.* 1987;33(2):77-86.
15. Dellas C, Loskutoff DJ. Historical analysis of PAI-1 from its discovery to its potential role in cell motility and disease. *Thromb Haemost.* 2005;93(4):631-40.
16. Collen D. On the regulation and control of fibrinolysis. *Thromb Haemost.* 1980;43(2):77-89.
17. Wiman B, Collen D. Purification and characterization of human antiplasmin, the fast- acting plasmin inhibitor in plasma. *Eur J Biochem.* 1977;78(1):19-26.

18. Rijken DC, Collen D. Purification and characterization of the plasminogen activator secreted by human melanoma cells in culture. *J Biol Chem.* 1981;256(13):7035-41.
19. Summaria L, Hsieh B, Robbins KC. The specific mechanism of activation of human plasminogen to plasmin. *J Biol Chem.* 1967;242(19):4279-83.
20. Huber K, Maurer G. Thrombolytic therapy in acute myocardial infarction. *Semin Thromb Hemost.* 1996;22(1):15-26.
21. Türk Hematoloji Derneği, <https://www.thd.org.tr> Son Erişim Tarihi 1 Aralık 2024.
22. Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM, Palareti G. Oral anticoagulant therapy: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis. *Chest.* 2012;141(2):44-88.
23. Aytemiz F. Atrial fibrilasyonda antikoagülan tedavi ve yeni oral antikoagülan ilaçlar. *Türkiye Klinik Kardiyoloji-Special Topics.* 2015;8(1):28-42.
24. İncesoy N, Fıratlı İ, Türkoğlu C, Öztürk M. Use of oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation in Turkey. *Arch Turk Soc Cardiol.* 2000;28(9):534-7.
25. Kocabaş U, Ergin I, Yavuz V, Murat S, Özdemir I, Genç Ö, vd. Real-world evaluation of anticoagulant treatment patterns in patients with atrial fibrillation: data from multicenter ROTA study. *Turk Kardiyol Dern Ars.* 2023;51(2):88-96.
26. Schulman S, Kearon C. Definition of major bleeding in clinical investigations of antihemostatic medicinal products in non- surgical patients. *J Thromb Haemost.* 2005;3(4):692-4.
27. Moffat KA, Lewis CW. Laboratory monitoring of oral vitamin K anticoagulation. *Semin Thromb Hemost.* 2017;43(3):245-52.
28. Hirsh J, Fuster V, Ansell J, Halperin JL. American Heart Association/American College of Cardiology Foundation guide to warfarin therapy. *Circulation.* 2003;107(12):1692-711.
29. Koczula KM, Gallotta A. Lateral flow assays. *Essays Biochem.* 2016;60(1):111-20.
30. Ansell J, Hirsh J, Hylek E, Jacobson A, Crowther M, Palareti G. Pharmacology and management of the vitamin K antagonists: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest.* 2008;133(6):160-198.
31. Perrin R, Riste L, Hann M, Walther A, Mukherjee A, Heald A. Into the looking glass: Post-viral syndrome post COVID-19. *Med Hypotheses.* 2020;144(7):1100-55.

32. Douketis JD. Perioperative management of patients who are receiving warfarin therapy: an evidence-based and practical approach. *Blood*. 2011;117(19):5044-9.
33. Schnorrenberg G. Point-of-care testing in hospitals and primary care: Practice laboratory. *Dtsch Arztebl Int*. 2011;108(8):129-31
34. Junker R, Schlebusch H, Lupp PB. Point-of-care testing in hospitals and primary care. *Dtsch Arztebl Int*. 2010;107(33):561.
35. Christensen TD, Larsen TB. Precision and accuracy of point- of- care testing coagulometers used for self- testing and self- management of oral anticoagulation therapy. *J Thromb Haemost*. 2012;10(2):251-60.
36. Carleton PF, Schachter S, Parrish JA, Collins JM, Crocker JB, Dixon RF, et al. National institute of biomedical imaging and bioengineering point-of-care technology research network: Advancing precision medicine. *IEEE J Transl Eng Health Med*. 2016;4(1):1-14.
37. Mielczarek WS, Obaje EA, Bachmann TT, Kersaudy-Kerhoas M. Microfluidic blood plasma separation for medical diagnostics: is it worth it? *Lab Chip*. 2016;16(18):3441-8.
38. Wong R. Lateral flow immunoassay. Humana Press, Springer; 2008;37(5):17-21.
39. Boehringer HR, O'Farrell BJ. Lateral flow assays in infectious disease diagnosis. *Clin Chem*. 2022;68(1):52-8.
40. Budd J, Miller BS, Weckman NE, Cherkaoui D, Huang D, Decruz AT, et al. Lateral flow test engineering and lessons learned from COVID-19. *Nat Rev Bioeng*. 2023;1(1):13-31.
41. Saidykhan J, Selevic L, Cinti S, May JE, Killard AJ. Based lateral flow device for the sustainable measurement of human plasma fibrinogen in low-resource settings. *Anal Chem*. 2021;93(41):147-53.
42. Jiang N, Ahmed R, Damayantharan M, Ünal B, Butt H, Yetisen AK. Lateral and vertical flow assays for point- of- care diagnostics. *Adv Healthc Mater*. 2019;8(14):192-94.
43. Nguyen VT, Song S, Park S, Joo C. Recent advances in high-sensitivity detection methods for paper-based lateral-flow assay. *Biosens Bioelectron*. 2020;152(65): 112-15.
44. Pääkilä H, Soukka T. Simple and inexpensive immunoassay-based diagnostic tests. *Bioanal Rev*. 2011;3(1):27-40.

45. Shirshahi V, Liu G. Enhancing the analytical performance of paper lateral flow assays: from chemistry to engineering. *TrAC Trends Anal Chem.* 2021;13(6):116-20.
46. Parolo C, Sena-Torralba A, Bergua JF, Calucho E, Fuentes-Chust C, Hu L, et al. Tutorial: design and fabrication of nanoparticle-based lateral-flow immunoassays. *Nat Protoc.* 2020;15(12):3788-816.
47. Khelifa L, Hu Y, Jiang N, Yetisen AK. Lateral flow assays for hormone detection. *Lab Chip.* 2022;22(13):2451-75.
48. Faheem A, Qin Y, Nan W, Hu Y. Advances in the immunoassays for detection of *Bacillus thuringiensis* crystalline toxins. *J Agric Food Chem.* 2021;69(36):10407-18.
49. Hsieh WY, Lin CH, Lin TC, Lin CH, Chang HF, Tsai CH, et al. Development and efficacy of lateral flow point-of-care testing devices for rapid and mass COVID-19 diagnosis by the detections of SARS-CoV-2 antigen and anti-SARS-CoV-2 antibodies. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(10):1760.
50. Sayed RH, Abousenna MS, Elsaady SA, Soliman R, Saad MA. Development of lateral flow immunochromatographic test for rapid detection of SARS-CoV-2 virus antigens in clinical specimens. *Nanomaterials (Basel).* 2022;12(14):2477.
51. Li H, Han D, Pauletti GM, Steckl AJ. Blood coagulation screening using a paper-based microfluidic lateral flow device. *Lab Chip.* 2014;14(20):4035-41.
52. Li H, Han D, Pauletti GM, Hegener MA, Steckl AJ. Correcting the effect of hematocrit in whole blood coagulation analysis on paper-based lateral flow device. *Anal Methods.* 2018;10(24):2869-74.
53. Sotnikov DV, Zherdev AV, Dzantiev BB. Lateral flow serodiagnosis in the double-antigen sandwich format: Theoretical consideration and confirmation of advantages. *Sensors (Basel).* 2020;21(1):39.
54. Li H. Point-of-care Blood Coagulation Monitoring Using Low-cost Paper-based No-reaction Lateral Flow Assay Device [doctoral dissertation]. University of Cincinnati. 2018.
55. Vashist SK, Luong JH. Bioanalytical requirements and regulatory guidelines for immunoassays. In: *Handbook of Immunoassay Technologies.* Academic Press; 2018;7(5): 81-95.
56. O'Farrell B. Evolution in lateral flow-based immunoassay systems. In: *Lateral Flow Immunoassay.* Humana Press; 2009;20(8):1-33.

57. Yu L, Li P, Ding X, Zhang Q. Graphene oxide and carboxylated graphene oxide: Viable two-dimensional nanolabels for lateral flow immunoassays. *Talanta*. 2017;165:167-75.
58. Hristov DR, Rodriguez-Quijada C, Gomez-Marquez J, Hamad-Schifferli K. Designing paper-based immunoassays for biomedical applications. *Sensors (Basel)*. 2019;19(3):554.
59. Bahadır EB, Sezgintürk MK. A review on impedimetric biosensors. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2016;44(1):248-62.
60. Ince B, Sezgintürk MK. Lateral flow assays for viruses diagnosis: Up-to-date technology and future prospects. *TrAC Trends Anal Chem*. 2022;15(7):116-25.
61. Sukumaran A, Thomas T, Thomas R, Thomas RE, Paul JK, Vasudevan DM. Development and troubleshooting in lateral flow immunochromatography assays. *Indian J Clin Biochem*. 2021;36(2):208-12.
62. Posthuma-Trumpie GA, Korf J, van Amerongen A. Development of a competitive lateral flow immunoassay for progesterone: influence of coating conjugates and buffer components. *Anal Bioanal Chem*. 2008;39(2):1215-23.
63. Kettler H, White K, Hawkes SJ. Mapping the landscape of diagnostics for sexually transmitted infections: key findings and recommendations. *World Health Organization*. 2004;23(5):92-6.
64. Peeling RW, Holmes KK, Mabey D, Ronald A. Rapid tests for sexually transmitted infections (STIs): the way forward. *Sex Transm Infect*. 2006;82(5):1-6.
65. Drain PK, Hyle EP, Noubary F, Freedberg KA, Wilson D, Bishai WR, et al. Diagnostic point-of-care tests in resource-limited settings. *Lancet Infect Dis*. 2014;14(3):239-49.
66. Ross PJ. Taguchi techniques for quality engineering: loss function, orthogonal experiments, parameter and tolerance design [doctoral dissertation] 1988.
67. Çangal Ç, Ayhan V. Bir dizel motorunda biyodizel ve EGR kullanımının motor performans parametrelerine etkilerinin Taguchi yöntemi ile incelenmesi. *Mühendislikte Yeni Yaklaşımlar*. 2023;57(5):12-7.
68. Savaş Ö. Alüminyum esaslı in-situ borür takviyeli kompozitlerin üretimi ve özelliklerinin incelenmesi [doctoral dissertation]. *Sakarya Üniversitesi*; 2010.
69. Lai YJ, Hwang CL. Fuzzy multiple objective decision making. 1994;22(7):139-262.
70. Kılıç S. ROC analysis in clinical decision making. *Psychiatry Behav Sci*. 2013;3(3):135.

71. Llenado RA, Neubecker TA. Surfactants. *Anal Chem.* 1983;55(5):93-102.
72. Rogers MJ, McManus DP, Muhi S, Gordon CA. Membrane technology for rapid point-of-care diagnostics for parasitic neglected tropical diseases. *2021;34(4): 329-32.*
73. Mansfield MA. The use of nitrocellulose membranes in lateral-flow assays. *Drugs of Abuse: Body Fluid Testing.* 2005;57(8): 71-85.
74. Mansfield MA. Nitrocellulose membranes for lateral flow immunoassays: 2008; 12(3): 1-19.
75. Posthuma-Trumpie GA, Korf J, van Amerongen A. Lateral flow assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats. *Anal Bioanal Chem.* 2009;39(3):569-82.
76. You T, Jeong W, Lee H, Huh YS, Kim SM, Jeon TJ. A simple strategy for signal enhancement in lateral flow assays using superabsorbent polymers. *Microchim Acta.* 2021;18(8):1-8.
77. Bazsefidpar S, Serrano-Pertierra E, Gutiérrez G, Calvo AS, Matos M, Blanco-López MC. Rapid and sensitive detection of *E. coli* O157:H7 by lateral flow immunoassay and silver enhancement. *Microchim Acta.* 2023;190(7):264.
78. Rose AJ, Berlowitz DR, Miller DR, Hylek EM, Ozonoff A, Zhao S, et al. INR targets and site-level anticoagulation control: results from the Veterans Affairs Study to Improve Anticoagulation. *J Thromb Haemost.* 2012;10(4):590-5.
79. Shendre A, Beasley TM, Brown TM, Hill CE, Arnett DK, Limdi NA. Influence of regular physical activity on warfarin dose and risk of hemorrhagic complications. *Pharmacotherapy.* 2014;34(6):545-54.
80. Hajian-Tilaki K. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation. *Caspian J Intern Med.* 2013;4(2):627.
81. Hirsh J, Fuster V, Ansell J, Halperin JL. American Heart Association/American College of Cardiology Foundation guide to warfarin therapy. *Circulation.* 2003;107(12):1692-711.
82. Garcia DA, Baglin TP, Weitz JI, Samama MM. Warfarin therapy: Clinical practice and considerations. *Blood Rev.* 2018;32(4):236-244.
83. Holbrook A, Schulman S, Witt DM, Vandvik PO, Fish J, Kovacs MJ, et al. Evidence-based management of anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2012;141(2):152-184.

84. Pengo V, Crippa L, Falanga A, Barbui T. Standardized strategies for monitoring anticoagulation therapy. *J Thromb Haemost.* 2011;105(5):756-64.
85. Witt DM, Nieuwlaat R, Clark NP, Ansell J, Holbrook A, Guyatt GH. Predictors of INR instability among warfarin users: A systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost.* 2016;14(4):27-32.
86. Yang SM, Lee YS, Kim JH, Park CJ. Impact of diet and medication adherence on INR stability in warfarin-treated patients. *J Clin Pharm Ther.* 2020;45(3):519-28.



EKLER

EK-1. Özgeçmiş



EK-2. Etik Kurul Kararı

