

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**KLİNİK LABORATUVAR ÖRNEKLERİNDE HEMOLİZ, LİPEMİ VE
İKTER BELİRLENMESİ İÇİN PREANALİTİK OKUYUCU
TASARLANMASI**

HAZIRLAYAN

KUBİLAY TAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA – 2021

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**KLİNİK LABORATUVAR ÖRNEKLERİNDE HEMOLİZ, LİPEMİ VE
İKTER BELİRLENMESİ İÇİN PREANALİTİK OKUYUCU
TASARLANMASI**

HAZIRLAYAN

KUBİLAY TAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ ORHAN ERDEM HABERAL
TEZ EŞ DANIŞMANI
ÖĞR. GÖR. DR. DENİZ İLHAN TOPCU**

ANKARA – 2021

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Kubilay TAN tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/05/2021

Tez Adı: Klinik Laboratuvar Örneklerinde Hemliz, Lipemi Ve İkter Belirlenmesi İçin Preanalitik Okuyucu Tasarlanması

Tez Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı - Soyadı, Kurumu)

İmza

Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ, Başkent Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Muhittin Abdulkadir SERDAR, Acıbadem Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi Orhan Erdem HABERAL, Başkent Üniversitesi

.....

ONAY

Prof. Dr. Ömer Faruk ELALDI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Tarih: ... / ... / ...

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 31/05/2021

Öğrencinin Adı, Soyadı: Kubilay TAN

Öğrencinin Numarası: 21810057

Anabilim Dalı: Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Programı: Tezli Yüksek Lisans

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı: Dr. Öğr. Üyesi Orhan Erdem HABERAL

Öğr. Gör. Dr. Deniz İlhan TOPCU

Tez Başlığı: Klinik Laboratuvar Örneklerinde Hemoliz, Lipemi Ve İktter Belirlenmesi İçin Preanalitik Okuyucu Tasarlanması

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 70 sayfalık kısmına ilişkin, 31/05/2021 tarihinde tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %3'tür. Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

“Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını” inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:.....

ONAY

Tarih: 31 / 05 / 2021

Dr. Öğr. Üyesi Orhan Erdem HABERAL

Öğr. Gör. Dr. Deniz İlhan TOPCU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresi boyunca sadece akademik anlamda değil kişisel bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici tüm paylaşımları yapan değerli danışman hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Orhan Erdem HABERAL ve Sayın Öğr. Gör. Dr. Deniz İlhan TOPCU'ya,

Bu tez çalışmasında laboratuvar çalışma ortamı ve malzeme temini konusunda desteklerini esirgemeyen Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında çalışan tüm personellere,

Yüksek lisans eğitimim süresince sadece akademik anlamda değil, kişisel, mesleki bilgi ve birikimlerini de paylaştıkları için Başkent Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği'nde görev yapan tüm akademik personellere,

Yüksek lisans eğitimimi tamamlamak ve desteklemek için akademik burs desteği sağlayan başta Haberal Vakfı olmak üzere Başkent Üniversitesi kurucusu rektörü Sayın Prof. Dr. Mehmet HABERAL, Başkent Üniversitesi rektörü Sayın Prof. Dr. Ali HABERAL ve Başkent Üniversitesi İdari ve Mali İşler Daire Başkanlığında görevli Sayın Deniz AKYAŞAR'a

Üniversite yıllarımı güzelleştiren, tanıştığımız günden beri bana destek olan, tüm sevgisini benimle paylaşan, hayatımın en zorlu ve mutlu zamanlarında beni yalnız bırakmayan Gamze SEKİCEK'e,

Üniversite yıllarım boyunca aynı evi paylaştığım, birlikte film gibi anılar yaşadığımız, beraber mutlu olduğum ve yine beraber dertlendiğim, yakın arkadaşlarım Anıl KART ve Mustafa SİPAHİ'ye,

Lise yıllarımdan beri yanımda olan bana her zaman güvenen, iyi günümde ve zor zamanlarımda varlığını hep hissettiren, kardeşim, değerli arkadaşım Batuhan ŞAHİN'e,

Hayatımın her anında, hiçbir zaman desteklerini üzerimden eksik etmeyen, manevi katkılarını, sevgi ve emeklerini benden esirgemeyen, sevgili annem Sevilay TAN'a, babam Azmi TAN'a ve kardeşim Azra TAN'a teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

ÖZET

Kubilay TAN

KLİNİK LABORATUVAR ÖRNEKLERİNDE HEMOLİZ, LİPEMİ VE İKTER BELİRLENMESİ İÇİN PREANALİTİK OKUYUCU TASARLANMASI

Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

2021

Klinik laboratuvarlarda temel amaç, bir konsantrasyonun veya aktivitenin gerçek değerini belirlemektir. Bununla birlikte, sonuçlar genellikle hemoliz, ikterus ve lipemi interferan maddelerin varlığından dolayı etkilenir ve bu, numunenin görünümündeki renk değişikliği veya bulanıklık ile anlaşılmaktadır. Hemoliz, ikter ve lipemi serum indeksleri günümüzde spektral analiz ve görsel değerlendirme olmak üzere iki farklı yöntem ile tespit edilmektedir. Her biyokimya laboratuvarı maliyeti yüksek, yüksek teknolojik otoanalizör sistemlerine sahip değildir. Bu nedenle ölçümler sıklıkla görsel değerlendirme prosedürü uygulanarak yapılmaktadır. Serum örneklerindeki renk değişikliği kalibrasyon örnekleri ile görsel olarak karşılaştırılarak hemoliz, ikter ve lipemi seviyeleri derecelendirilmektedir. Görsel değerlendirmede sonuçların öznel kararlara bağlı olmasından, personelin tecrübesinden, iş yüküne bağlı olarak yorgunluğundan, laboratuvar ortam ve ışık koşullarından vb. nedenlerden dolayı sıklıkla etkilenmektedir.

Sistemin mekanik kısımları SolidWorks ile tasarlanmış ve üç boyutlu bir yazıcı ile üretilmiştir. Okuyucu sistemin elektronik kontrolcüsü olarak Esp32 ve görüntü kayıtları için Ov2640 kamera kullanılmıştır. Okuyucu sistem gömülü yazılım çalışmaları Arduino IDE platformu C ve C++ programlama dilleri kullanılarak yapılmıştır. Görüntü işleme süreçleri için Python programlama dili ve yapay zekâ algoritmaları kullanılarak serum bölgesini oluşturan görüntü alanının renk verileri elde edilmiştir.

Farklı indeks seviyelerine sahip 788 örneğin, hemoliz için 519 – 628 nm, ikter için 467 - 519 nm, lipemi için 467 – 519 - 628 nm dalga boyuna sahip ışık altında görüntü kayıtları yapılmıştır.

R, G ve B renk değerleri ile hemoliz, ikter ve lipeminin serum indeksi değerleri ile arasında sırasıyla 0.92, 0.90 ve 0.86 oranında negatif ve gl korelasyon ilişkisi bulunmuştur. Elde edilen regresyon denklemlerinin determinasyon katsayısı hemoliz için 0.86, ikter için 0.82, lipemi için 0.88 olarak hesaplanmıştır.

197 test örneğinin görüntüleri kaydedilerek regresyon denklemlerinin ve manuel algoritmanın serum indeks seviyelerini tahmin etme başarıları hesaplanmıştır. Regresyon denklemlerinin hemoliz, ikter, lipemi serum indekslerinin var/yok ($> H^+$, I^+ , L^+) tespit doğruluğu sırasıyla %89, %72, %99 olarak bulunmuştur. Ayrıca regresyon denklemleri ile derecelendirilmiş hemoliz, ikter ve lipemi örnekler üzerinde başarı hesaplamaları yapılmıştır. H^+ dereceli hemoliz için %86, H^{++} dereceli hemoliz için %86, I^+ dereceli ikter için %82, I^{++} dereceli ikter için %89, I^{+++} dereceli ikter için %96, I^{++++} dereceli ikter için %98, L^+ dereceli lipemi için %99 doğruluk oranı bulunmuştur. Geliştirilen manuel algoritma ile hemoliz, ikter, lipemi serum indekslerinin var/yok ($> H^+$, I^+ , L^+) tespit doğruluğu sırasıyla %78, %81, %99 olarak bulunmuştur.

Bu alışma sonucunda görsel değerlendirme yöntemine kıyasla sonuçların daha nesnel, hassas, kararlı ve doğru olduğu yeni bir serum indeks hesaplama yöntemi geliştirilmiştir. Çalışma sonucunda ticari oto analizörlere kıyasla uygun maliyetli, laboratuvar koşullarına uyumlu ve kullanıcı odaklı bir preanalitik okuyucu sistem geliştirilmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Hemoliz, İkter, Lipemi, Preanalitik Aşama, Görüntü İşleme

ABSTRACT

Kubilay TAN

DESIGNING A PREANALYTICAL READER FOR DETERMINING HEMOLYSIS, LIPEMIA AND ICTERUS IN CLINICAL LABORATORY SAMPLES

Başkent University Institute Of Science And Engineering

The Department Of Biomedical Engineering

2021

The main purpose in clinical laboratories is to determine the true value of a concentration or activity. However, results are often affected by the presence of hemolysis, icterus and lipemia interferans, as evidenced by the color change or turbidity in the appearance of the sample. Hemolysis, icterus and lipemia serum indices are determined by two different methods today, namely spectral analysis and visual evaluation. Not every biochemistry laboratory has high-cost, high-tech auto analyzer systems. For this reason, measurements are often made using a visual evaluation procedure. Hemolysis, icterus and lipemia levels are graded by visually comparing the color change in serum samples with calibration samples. In visual evaluation, the results depend on subjective decisions, the experience of the staff, the fatigue depending on the workload, the laboratory environment and light conditions, etc. It is often affected for reasons.

The mechanical parts of the system are designed with SolidWorks and produced with a three-dimensional printer. Esp32 was used as the electronic controller of the reader system and Ov2640 camera was used for image recordings. Reader system embedded software studies have been done using Arduino IDE platform C and C ++ programming languages. For image processing, the color data of the image area that constitutes the serum region was obtained by using the Python programming language and artificial intelligence algorithms.

Images of 788 samples with different index levels were recorded under light with a wavelength of 519 - 628 nm for hemolysis, 467 - 519 nm for icterus, and 467 - 519 - 628 nm for lipemia.

A negative and strong correlation was found between R, G and B color values and serum index values of hemolysis, icterus and lipemia at a rate of 0.92, 0.90 and 0.86, respectively. The coefficient of determination of the obtained regression equations was calculated as 0.86 for hemolysis, 0.82 for icterus, and 0.88 for lipemia.

By recording the images of 197 test samples, the success of the regression equations and the manual algorithm to predict serum index levels were calculated. The accuracy of the regression equations for detecting the presence/absence of hemolysis, icterus, lipemia serum indices (> H+, I+, L+) was found to be 89%, 72%, and 99%, respectively. In addition, success calculations were made on hemolysis, icterus and lipemia samples graded with regression equations. Accuracy rate of 86% for H+ grade hemolysis, 86% for H++ grade icterus, 82% for I+ grade icterus, 89% for I++ grade icterus, 96% for I+++ grade icterus, 98% for I++++ grade icterus, 99% for L+ grade lipemia found. With the developed manual algorithm, the accuracy of detecting the presence/absence of hemolysis, icterus, lipemia serum indices (> H+, I+, L+) was found to be 78%, 81%, and 99%, respectively.

As a result of this study, a new serum index calculation method was developed in which the results are more objective, precise, stable and accurate compared to the visual assessment method. As a result of the study, a user-oriented preanalytical reader system has been developed that is cost-effective, compatible with laboratory conditions, compared to commercial auto analyzers.

KEYWORDS: Hemolysis, Icterus, Lipemia, Preanalytical phase, Image Processing

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
TABLoların LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Konu ile İlgili Yapılan Çalışmalar	5
2.2 Biyokimya Laboratuvarları.....	6
2.3 Klinik Laboratuvar Safhaları	7
2.4 Klinik Laboratuvarlarda Analiz Sonuçlarını Etkileyen Faktörler.....	8
2.4.1 Endojen faktörler	12
2.5 Serum İndeks Değerlerini Belirleme Standardı	13
2.5.1 Spektrometrik analiz ile interferans belirleme yöntemi.....	13
2.5.2 Görsel değerlendirme ile interferans belirleme yöntemi.....	17
2.6 Görüntü İşleme	18
2.7 Üç Boyutlu Modelleme ve Tasarım.....	19
2.8 Mikro denetleyiciler, Gömülü Yazılımlar ve İletişim Protokolleri.....	21
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1 Kullanılan Materyaller	23
3.1.1 Raspberry pi	23
3.1.2 Arduino pro mini.....	24

3.1.3 Esp32cam	25
3.1.3.1 Ov2640 kamera.....	26
3.1.4 As7262 spektrometre sensörü.....	27
3.1.5 Adreslenebilir neopiksel led	28
3.1.6 Usb host kart.....	29
3.1.7 Barkod okuyucu	29
3.1.8 Lipo pil.....	30
3.2 Kullanılan Yazılım ve Çizim Programları	30
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	31
4.1 Preanalitik Okuyucu Tasarımı.....	31
4.1.1 Preanalitik okuyucu mekanik tasarımı.....	31
4.1.2 Görüntülerin kaydedilmesi	36
4.1.2.1 Görüntü kayıt prototipi elektronik tasarım çalışmaları.....	36
4.1.2.2 Görüntü kayıt prototipi yazılım çalışmaları	38
4.1.3 Preanalitik okuyucu elektronik tasarımı	41
4.1.4 Preanalitik okuyucu yazılım geliştirme çalışmaları.....	42
4.1.4.1 Görüntünün analize uygun hale getirilmesi.....	43
4.1.4.2 Görüntü serum bölgesinin tespit edilmesi.....	44
4.1.4.3 Örneklere ait renk kodlarının belirlenmesi	48
4.1.4.4 Kullanıcı ara yüzü tasarımı.....	50
4.2 Spektrometre Çalışmaları.....	55
4.2.1 Adreslenebilir ledlerin dalga boylarının belirlenmesi	55
4.2.2 Farklı örnekler üzerinde yapılan spektral ölçümler.....	57
4.3 Regresyon Analizi.....	59
4.4 Manuel Algoritmik Analiz	61
4.5 Preanalitik Okuyucu Sistemin Başarısının Hesaplanması	62

5. TARTIŞMA.....	67
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR.....	71

TABLolarIN LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Analiz Sonuçlarını Etkileyen Bazı Faktörler [13].....	3
Tablo 4.1. OV2640 Kamera Yazılım Ayarları	40
Tablo 4.2. Örneklere Ait Verilerin Kaydedilmesi	50
Tablo 4.3. Adreslenebilir Neopiksel Ledlerin Spektral Analiz Grafikleri	56
Tablo 4.4. Farklı Örneklere Ait Spektral Analiz Grafikleri	58
Tablo 4.5. Eğitim Görüntülerinin Sayısal Bilgileri ve Analiz Performansı	61
Tablo 4.6. Tanısal Doğruluk Tablosu.....	62
Tablo 4.7. Regresyon Denklemlerinin HIL Var / Yok Tespiti Tanısal Doğruluk Tablosu	63
Tablo 4.8. Regresyon Denklemlerinin Derecelendirilmiş HIL Tespiti Tanısal Doğruluk Tablosu	64
Tablo 4.9. Manuel Algoritmanın HIL Var / Yok Tespiti Tanısal Doğruluk Tablosu	65

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Hataların Analiz Safhalarına Göre Dağılımı	10
Şekil 2.2. Artan Hemoliz, İktter ve Lipemi Derecelerine Sahip Plazma Örnekleri [19]....	13
Şekil 2.3. Spektrometre Çalışma Prensibi [55].....	14
Şekil 2.4. Hemogloblin, Bilirubin ve Lipemi Absorbans Spektrumu[19].....	15
Şekil 2.5. Roche Cobas 6000 Otoanalizör Spektral Ölçüm Grafiği [54]	17
Şekil 2.6. HIL Serum İndeksi Tespiti İçin Kalibrasyon Karşılaştırma Serumları [19]	18
Şekil 2.7. 3B Modelleme Örneği [58]	20
Şekil 2.8. 3B Yazıcı Örneği.....	20
Şekil 3.1. Raspberry Pi [61]	24
Şekil 3.2 Atmega328 [62].....	25
Şekil 3.3. Esp32cam [63].....	25
Şekil 3.4. OV2640 Sensör Dizisi Bölgesi Renk Filtresi Düzeni [64].....	27
Şekil 3.5. AS7262 Spektrometre Sensörü [65].....	28
Şekil 3.6. Adreslenebilir Neopiksel Led [66]	29
Şekil 3.7. MAX3421 Entegresi [67].....	29
Şekil 3.8. Barkod Okuyucu.....	30
Şekil 3.9. Lipo Batarya [68]	30
Şekil 4.1. Preanalitik Okuyucu Çalışma Prensibi.....	31
Şekil 4.2. Mekanik Tasarım Çalışmaları ve Elde Edilen İlk Görüntü Kaydı	32
Şekil 4.3. Serum Tüpü Boyunun Ölçülmesi	33
Şekil 4.4 Preanalitik Okuyucu Ana Gövdesinin Önden ve Arkadan 3B Görünümü.....	34
Şekil 4.5. Preanalitik Okuyucunun Elektronik Sistem Kutusu.....	34
Şekil 4.6. Preanalitik Okuyucunun Tüp Giriş Kapağı	35

Şekil 4.7. Preanalitik Okuyucunun Aksesuar Tasarımları.....	35
Şekil 4.8. Preanalitik Okuyucunun Baskı Sonrası Görüntüsü	36
Şekil 4.9. Görüntü Kaydı İçin Tasarlanan Elektronik Devre Blok Diyagramı	36
Şekil 4.10. Görüntülerin Kaydedilmesi İçin Tasarlanan Sistem Elektroniği	38
Şekil 4.11. Serum Örnekleri Barkod Bilgilerinin Elde Edilmesi	38
Şekil 4.12. Görüntü Kaydı Yazılım Aşamaları	41
Şekil 4.13. Farklı Işık Altında Çekilen Görüntüler	41
Şekil 4.14. Preanalitik Okuyucu Sistem Elektroniği	42
Şekil 4.15. Görüntü Analizi Yazılım Aşamaları.....	43
Şekil 4.16. Görüntü Üzerine GaussianBlur Filtresi Uygulanması.....	44
Şekil 4.17. Farklı Seviyelerdeki Serum Örnekleri Görüntüsü.....	44
Şekil 4.18. Görüntünün Gray Formata Dönüştürülmesi.....	45
Şekil 4.19. Görüntünün Binary Formata Dönüştürülmesi.....	46
Şekil 4.20. Tüp Etiketlerinin Binary Görüntü Üzerindeki Etkisi	46
Şekil 4.21. Farklı Görüntülere Ait Numune Bölgelerinin Tespit Edilmesi	48
Şekil 4.22. Serum Bölgesinin Kırpılmış Hali.....	48
Şekil 4.23. Analiz Sonucunda Tespit Edilen Baskın Piksel Değeri	49
Şekil 4.24. Qt Designer Ara Yüz Geliştirme Ortamı.....	51
Şekil 4.25. Kullanıcı Ara Yüzü Tasarım Çalışması	51
Şekil 4.26. Görüntünün Anlık İnternet Ortamına Aktarılması	52
Şekil 4.27. Ara Yüz Uyarı Mesajı Örneği	53
Şekil 4.28. Preanalitik Okuyucu Ara Yüzü Çalışma Adımları.....	54
Şekil 4.29. Preanalitik Okuyucu Kullanıcı Ara Yüzü	55
Şekil 4.30. Adreslenebilir Neopiksel Ledlerin Dalga Boylarının Ölçülmesi	56
Şekil 4.31. Hemoliz, İkter ve Lipemik Örneklerin Regresyon Analiz Grafikleri	60

Şekil 4.32. Hemoliz, İkter ve Lipemi Var / Yok Analizi İçin Geliştirilen Manuel Algoritma	62
--	----

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

A	Hemoglobin İçin Ölçeklendirme Faktörü
BSD	Berkeley Software Distribution
C	Lipemi İçin Ölçeklendirme Faktörü
CAD	Bilgisayar Destekli Grafik-Tasarım
CMOS	Complementary Metal Oxide Semiconductor
D	Bilirubin İçin Ölçeklendirme Faktörü
FPS	Frame Per Second
FTKS	Fourier Transform Kızılötesi Spektrometresi
HBYS	Hastane Bilgi Yönetim Sistemi
HIL	Hemoliz, İkter, Lipemi
I2C	Inter Integrated Circuit
IoT	Internet of Things
LED	Light Emitted Diode
PLA	Poliaktik Asit
SCCB	Seri Kamera Kontrol Veriyolu
SPI	Serial Peripheral Interface
UART	Universal Asynchronous Receiver Transmitter
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ

Hemoliz, ikterus ve lipemi (HIL) içeren serum indeksleri, ön analiz aşamalarında meydana gelen hataların en önemli nedeni olarak görülmektedir. HIL, test süreçlerinin rutin preanalitik aşamalarını etkilemekte, dolayısıyla serum örneği üzerinde manuel işlem gereklilikleri veya yetersiz şekilde standardize edilmeleri tıbbi hataya neden olmaktadır [1]. Bununla birlikte, HIL, analitlerin plazma konsantrasyonunu ve çözelti renginin bozulması nedeniyle belirli dalga boylarında spektrofotometrik absorbans ölçümlerini etkiler [2]. Olası dalga boyları lipemi, hemoliz ve sarılık için sırasıyla 700 / 660 nm, 600 / 570 nm ve 505 / 480 nm'dir [3].

Hemoliz, hemoglobin ve diğer maddelerin eritrositlerdeki (kırmızı kan hücreleri) eritroid hücre zarına verdiği hasar nedeniyle hücre dışı salınımı olarak adlandırılır [4]. Hemolitik numuneler, klinik laboratuvarlardaki rutin numunelerin %3,3'ünü oluşturur ve yüksek oranda numune alma ve taşıma sonucunda oluşur [5,6]. İkterus genellikle kanda fazla bilirubin bulunması (yani bilirubin konsantrasyonu > 1.5 mg / dL) olarak tanımlanır ve hiperbilirubinemi olarak adlandırılır. Artan bilirubin konsantrasyonları en çok karaciğer hastalığından kaynaklanır. Ek olarak, Gilbert sendromu veya intrakorporeal hemoliz, hiperbilirubinemiye bağlı olarak ortaya çıkabilir [7]. Yüksek seviyeli lipid konsantrasyonları (tipik olarak hipertrigliseridemi) olarak tanımlanan lipemi, lipoproteinlerin birincil ve ikincil hemostazdaki etkileşiminin bir sonucu olarak ortaya çıkar.

Görsel inceleme, laboratuvarlarda HIL numunelerinin değerlendirilmesi için en yaygın yöntemdir. Ancak, öznel sonuçlar içermesi nedeniyle, güvenilirliği düşüktür ve zaman alıcıdır. Biyokimya otoanalizör cihazları, belirli spektrofotometrik profillere dayalı olarak HIL serum indekslerini ve serum içerisinde yer alan parazit maddeleri belirlemek için kullanılır. Bu cihazların ölçümü, görsel incelemeye kıyasla laboratuvar test süreci boyunca daha verimli ve standartlaştırılmış değerlendirme sağlar. Numunelerin yaklaşık %50'sinin gereksiz yere reddi görsel inceleme ile gözlemlenebilir, bu numunelerin %35'i otomatikleştirilmiş ve standartlaştırılmış bir yöntem kullanıldığında işlenebilir verilerin ortaya çıktığı görülmüştür. [8].

Verimli laboratuvar hizmeti, modern sağlık hizmetleri sistemlerinin temel gereksinimidir. Bu bağlamda, özellikle klinik kimya alanlarında, laboratuvar ekipmanları, gelişen teknoloji ile laboratuvar tanı hatalarının azaltılmasında önemli iyileştirmelere

katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte, gelişmiş klinik laboratuvar cihazlarının eksikliği, cihaz çalıştırma maliyetlerinin karşılanabilirliği ve deneyimli laboratuvar uzmanlarının eksikliği, çoğu gelişmekte olan ülkelerde kaliteli laboratuvar sonuçları üretme konusunda günümüzde devam eden bir zorluktur [9].

Bu tez çalışmasında, görüntü işleme tekniklerini kullanarak kullanımı kolay, düşük maliyetli, yeni serum indeksi ölçüm yöntemi ve prototip cihazı geliştirmeyi ve bu yöntemi otomatik indeks ölçüm sistemlerini karşılaştırarak doğrulamayı amaçlanmıştır. Veri analizini takip eden bir dizi deney aracılığıyla, test tüplerinde insan serum örnekleri için belirli dalga boylarında HIL serum indeks seviyelerinin saptanması için optik bir sistem geliştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Yapılan araştırmalara göre klinik laboratuvar çalışmalarında meydana gelen hataların yaklaşık olarak %68 ile %77'si ön analiz aşamasında ortaya çıktığı tespit edilmiştir [10,11]. Ön analiz aşamasında meydana gelen bu hataların etkin yönetimi ve izlenmesi, klinik laboratuvar analiz süreçlerinin ve hasta sonuçlarının kalitesi için kritik öneme sahiptir. Yapılan bu hatalar sonucunda tedaviye yön verecek laboratuvar testlerinin yapılmasına, sonrasında ise doktorların yanlış tedaviler uygulamasına neden olabilir. Bu durum tüm sağlık hizmetlerini olumsuz olarak etkilemektedir [12]. Tablo 2.1'de analiz sonuçlarını etkileyen bazı faktörler gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Analiz Sonuçlarını Etkileyen Bazı Faktörler [13]

Değiştirilemez Fak.	Değiştirilebilir Fak.	Endojen Fak.	Eksojen Fak.
Cinsiyet	Yaşam Tarzı	Hemogloninemi	Farmakoterapötikler
İrk	Beslenme Alışkanlığı	Bilirubinemi	Antikoagülanlar
Kalıtım	Sigara Kullanımı	Hiperlipemi	Kontaminasyon
Yaş	Alkol Kullanımı		
	Vücut Kütlesi		
	Günlük Aktivite		

Ön analiz sürecinde meydana gelen hataların ana nedenleri arasında endojen faktörler yer almaktadır. Bu tez çalışmasında endojen faktörler grubunda yer alan hemolitik, ikterik ve lipemik örneklerin serum indeks değerinin hesaplanması için alternatif okuyucu sistem tasarlanmıştır.

Endojen faktörler içerisinde yer alan ve ön analiz aşamasında ki hataların en önemli nedenlerinden biri örnek içerisinde hemoliz oranıdır ve bu durum hatalı numunelerin yaklaşık olarak %40 - %70'ini oluşturmaktadır [14]. Hemolizli numuneler (> %95), uygunsuz numune toplama tekniği veya nâkilinden kaynaklanmaktadır [15]. Hemolizli numune klinik testleri aşağıdaki nedenlerle etkilemektedir:

- Kırmızı kan hücrelerinin bileşenlerinin plazma veya seruma sızması,
- Hemoglobinin spektrofotometrik / kolorimetrik etkileşim,
- Hemoglobinin inhibisyon yoluyla reaksiyona girmesi ve serum veya plazma bileşenlerinin seyreltilmesi [16].

Ön analiz hataların diğeri nedeni olan lipemi seviyesinin varlığıdır. Lipemi kandaki trigliserid açısından zengin olan lipoprotein konsantrasyonunun artmasından kaynaklanır. Lipemi, serum veya plazmanın bulanık görünümüne neden olmaktadır. Lipemik numune ışık dağılımını etkilemesi sebebi ile analiz sonuçlarını etkilemektedir. Buna ek olarak lipemi hacim değiştirme etkisi nedeni ile analit değerlerinin bazılarını önemli ölçüde azaltabilmektedir [17].

Ön analiz hataların diğeri bir ana nedeni olan ikter seviyesi, artan bilirubin üretimi veya uygun olmayan bilirubin atılımı ile ilişkili hastalıklardan kaynaklanır. İktirik numuneler, farklı test analitleri veya reaktifleri ile doğrudan etkileşime girerek laboratuvar test sonuçlarına etki ederek analit değerlerinin düşmesine ve renk ölçümü sırasında spektral parazitlere neden olmaktadır [16,18].

Klinik laboratuvarlarda ana hedef bir konsantrasyon veya aktivitenin gerçek değerini rapor haline getirerek sunmaktır. Ancak, sonuçlar sıklıkla HIL olmasına bağlı olarak interferanlardan etkilenir ve bu durum numunenin görünümünde renk değişikliği veya bulanıklık ile anlaşılabilir. Bir analitin, ölçüm yapılacak olan numunenin konsantrasyonunu ve aktivitesini değiştiren maddelerin etkileri interferans olarak tanımlanır. Günümüzde kan serumlarındaki HIL interferans değerleri ticari oto analizörler ile spektrometrik yöntemler ile hesaplanmaktadır. Otoanalizör sistemleri test yapılan numunenin HIL serum indeks değerlerini tespit ederken aynı zamanda kalsiyum, glikoz, kolesterol, amilaz, üre vb. gibi testlerini de tek seferde yapmaktadır. Ancak bu uygulama üzerinde test yapılmaya uygun olmayan numuneler için de devam etmektedir. Bu durumda yapılan testler kullanıcı için anlamlı ve doğru veriler olarak kullanılmaz aynı zamanda daha maliyetli ve zaman alıcı olmaktadır. Otoanalizör sistemlerine sahip olmayan laboratuvarlar serum interferans değerleri Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu prosedürü göre görsel inceleme yöntemi kullanılarak hesaplamaktadırlar [19]. Bu prosedürde HIL serum indeksleri ayrı ayrı 0'dan 5'e kadar "+" işareti ile derecelendirilir. Kullanıcı kalibrasyon örnekleri ile test yapılan örneği renk farklılığına göre karşılaştırır ve test örneğine uygun derecelendirmeyi yapar.

Literatürde yapılan birçok çalışma, görsel değerlendirmelerin otoanalizör cihazlarına kıyasla daha öznel sonuçlar ortaya koyduğunu göstermiştir. Aynı zamanda görsel tanımlanmada ortam ve tecrübeden oluşabilecek farklılıklardan dolayı personelin daha fazla güçlük çekmesi, serum tüpü üzerinde etiketlerin bulunması, iş yükünün ve test sürelerinin artması gibi sınırlamaları olduğunu göstermiştir.

2.1 Konu ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Rovati ve Docchio, geliştirdikleri renk ölçme metodu ile hemoliz, ikter ve lipemi maddelerinin konsantrasyonlarını ölçmeyi hedeflemiştir. Burada kullanılan yöntem özel dalga boylarında girişim örnekleriyle serumun sönüm katsayısının ölçülmesine dayanmaktadır. Bu amaçla cam tüplere ışık saçan ledler kullanıldı ve yayılan ışık 45 derecelik açı ile toplanmıştır. Geliştirilen sistem kullanılarak, etiketsiz cam tüplerde bulunan örnekler için hemoliz için 318 mg / dL'ye, icterus için 22 mg / dL'ye ve lipemi için 450 mg/dL'ye kadar konsantrasyon ölçümleri yapılabilmektedir [20].

Melvin ve diğerleri, mikrobiyoloji testi için gönderilen 2599 serum örneğinde hemoliz, ikterus ve lipemi sıklığını inceledi. Bu amaçla kontamine olduğu düşünülen bazı örnekler alanında deneyimli laboratuvar teknikerlerinin görsel değerlendirmesine tabi tutulmuş ve gerçekte olan hemoglobin, bilirubin ve trigliserit konsantrasyonları ile karşılaştırılmıştır. Gerçek konsantrasyon değeri ile görsel değer arasında ciddi farklılıklar olduğu tespit edilmiş ve insan gözü ile görsel değerlendirmenin güvenilirliğinin düşük olduğunu göstermişlerdir [21].

Günasekaran ve Sankari spektroskopik bir emilim tekniği kullanarak hastalardan alınan serumlar ile sağlıklı bireylerden alınan serumlar arasındaki farklılıkları spektral olarak incelemiştir. Yöntem optik yoğunluk farkından faydalanarak serum örneklerinin nicelik olarak analiz edilmesine dayanmaktadır [22].

Kanagathara ve diğerleri, insan vücudundaki hastalıkların belirlenmesi için kan serumu analizinde Fourier Transform Kızılötesi Spektrometresi (FTKS) ve Ultraviyole (UV) gibi spektroskopik tekniklerin kullanılmasını önermiştir. UV bölgesi içerisinde emilim spektrumu ile protein yoğunluğu arasında doğrusal bir ilişki tespit edilmiştir. FTKS spektrumu, tanısal amaçlı klinik test ile karşılaştırılan moleküler parmak izini belirlemek için kullanılmıştır [23].

Ranganathan ve Gunasekaran öznel renk algısı yerine yapay sinir ağlarını kullanarak nesnel bir görsel değerlendirme tekniği üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Geliştirilen yöntem ile hemoglobin seviyesi ile kan örneğinin rengi arasında güçlü bir ilişki tespit edilmiş ve insan kanındaki hemoglobin seviyesi 16,5 mg / dL olarak ölçülmüştür [24].

Neudel ve Takatani, üç farklı dalga boyunda çalışan entegre bir optik sensör geliştirerek yansıyan ışığı ölçmeyi amaçlamışlardır. Plazmada serbest hemoglobinin

artışının yansıyan ışıktaki bir azalmaya yol açtığı her üç dalga boyunda da tespit edilmiştir [25].

Sankai ve arkadaşları, lazer diyot ve optik spektrum analizöründen meydana gelen ve numunedeki hemoliz miktarını ölçen bir sistem geliştirmiştir. Geliştirilen sistem renge dayalı ölçüm sistemine göre daha fazla doğruluk elde etmeyi hedeflemiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda sistem ölçümleri ile örnek verileri arasında yeterli bir ilişki bulunduğunu göstermişlerdir [26].

2.2 Biyokimya Laboratuvarları

Biyokimya canlıları ve onlar içinde meydana gelen kimyasal olayları inceleyen bir bilim dalıdır. Dolayısı ile hem kimyanın hem de biyolojinin bir alt disiplini olarak ortaya çıkmıştır. Temel olarak üç ana alana ayrılmaktadır, bunlar metabolizma, yapısal biyoloji ve enzimolojidir. Bu üç alan kullanılarak canlılardaki kimyasal süreçler açıklanmaktadır. Yaşam ile ilgili yapılan her çalışma biyokimya yöntemlerini kullanarak gelişmekte ve doğruluğunu ortaya koymaktadır [27]. Biyokimya, biyolojik moleküllerin canlı hücreler içinde ve hücreler arasında meydana gelen süreçlere yol açmasına izin veren kimyasal temeli anlamaya odaklanır, [28] büyük ölçüde doku ve organların anlaşılması, organizma yapısı ve işlevi ile ilgilidir [29]. Diğer taraftan biyokimya canlıların moleküler yapısını inceleyen moleküler biyoloji ile de yakından ilişkilidir [30].

Proteinler, karbonhidratlar, lipitler ve nükleik asitler gibi birçok makro molekülün yapısı ve işlevleri biyokimyanın araştırma alanına girmektedir. Bu moleküller hücrelerin yapı taşları olup yaşamla ilgili pek çok fonksiyonu yerine getirirler [31]. Bununla birlikte hücredeki hayatsal faaliyetler makro moleküllerin yanı sıra küçük molekül ve iyonların reaksiyonlarına da bağlıdır. Bu maddeler organik ve inorganik maddelerin sentezlenmesi amacı ile kullanılmaktadır [32]. Hücrelerin kimyasal reaksiyonlar yoluyla enerji elde etmek için kullandıkları bütün yöntemler metabolizma olarak adlandırılır. Biyokimya biliminin birçok uygulama alanı olmakla birlikte tıp, tarım ve beslenme bu alanlar arasında en yaygın olarak kullanılanlardır. Biyokimyanın tıp alanındaki temel araştırma alanı hastalıkların nedenlerinin tespit edilmesi, tedavi yöntemlerinin bulunması ve beslenme ile ilgili hususların sağlık üzerindeki etkileri olarak sıralanabilir [33,34].

Biyokimya laboratuvarları vücut sıvılarının kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilerek hastalıkların teşhis, tedavisi ve önlenmesinde, ilaç takibinde, doku ve organ naklinde ve adli incelemelerde ilgili birimlere yardımcı olurlar. Kimyasal testlere ve

tahlillere tabi tutulan çeşitli biyolojik sıvılar arasında kan, plazma, serum, idrar, omurilik sıvısı, asetik sıvı, plevral sıvı, dışkı ve dokular bulunur.

Günümüz tıbbi uygulamaları, vücut sıvılarının, özellikle de kanın laboratuvar analizine büyük ölçüde bağlıdır. Hastalığın belirtileri kan ve diğer dokuların bileşimine yansır. Bu nedenle, örnekteki anormal bileşenlerin normal bileşenlerinden ayrılması, klinik biyokimya çalışmasının temel amaçlarından biridir.

2.3 Klinik Laboratuvar Safhaları

Örneklerin klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmesi, örnek ömrünün analiz öncesi, analiz evresi ve analiz sonrası aşamalarında birçok ayrıntıya dikkat edilmesini gerektirir. Amaç hastanın en uygun tedaviye yönlendirilmesine yardımcı olurken toplam maliyetleri minimumda tutmak ve sonuçların uygulanabilir ve yorumlanabilir olmasını sağlamaktır.

Her biyokimya laboratuvarı kabul edilebilir bir sunuma, kullanıma ve her aşaması net olarak belirlenmiş bir çalışma prosedüre sahip olmalıdır. Bu prosedür, hastanın hazırlığı, numunenin toplanması, etiketlenmesi, saklanması, taşınması, işlenmesi, kabul edilmesi gibi işlem basamaklarını tanımlamalı ve numunenin alındığı tarih ve saatin belgelerini içermelidir [35].

İnsanlardan alınan kan, doku ve vücut sıvısı gibi örnekler hastalıkların teşhisi, tedavisi ve önlenmesi gibi farklı maksatlarla kullanılmakta ve bu testlerin geçerliliklerinin olabilmesi için uluslararası standartları karşılaması gerekmektedir. Bu standartlar ve yönetmelikler genel olarak numunenin laboratuvarda izlediği işlem sırasına göre düzenlenir. Bu işlem sıraları numunenin alınması (ön analitik safha) numunenin test edilmesi (analitik safha) ve test sonuçlarının raporlanması (analiz sonrası safha) olarak isimlendirilir.

Ön analitik aşama en fazla hatanın yapıldığı aşama olup, test sürecinin laboratuvar teknisyenlerini en fazla zorlayan aşaması olarak kabul edilir. Bu aşamada ki en çok karşılaşılan hatalar; hastanın yanlış değerlendirilmesi, test isteğinin hatalı girişi, isteğin tanımlanması, hastanın tanımlanması, örneğin toplanması ve taşınması, numune alma sırasında yapılan hatalardır.

Test sürecinin ikinci aşaması analitik aşamadır. Test işlemi hazırlığı ile başlar ve test sonucunun yorumlanması ve doğrulanması ile sona erer. Özellikle analiz tekniklerinin iyileştirilmesi ile birlikte hata oranları düşmüş ve test kalitesinde önemli bir iyileşme

meydan gelmiştir. Bu iyileşmeye rağmen analitik sürecin hatasız olarak tamamlanması önemini korumaktadır. Uygun olmayan numune hazırlama veya hemoliz ve lipidler gibi bazı durumlar test sonuçlarını olumsuz olarak etkilemektedir.

Test yöntemi performans özelliklerinin test doğruluğu, kesinliği, hassasiyeti, özgüllüğü ve doğrusallığı ile ilgili olarak oluşturulması ve doğrulanması, tanınmayan analitik hataları önlemekte oldukça etkilidir. Analiz sonrası aşamada, test sonuçları konunun uzmanları tarafından incelenerek yorumlanır ve daha sonra kararı verecek olan ilgili mercilere gönderilir. Ayakta tedavi ve acil servis ortamlarındaki hataların önemli bir yüzdesinin sorumlusu teşhis veya laboratuvar testlerinin zamanında yapılamaması ve yanlış yorumlanmasıdır. Bu aşamada meydana gelen hatalar genellikle raporlama ile ilgili hatalar, verilerin hatalı olarak girilmesi ve verilerin doğrulamasının yapılmaması olarak sıralanabilir [36].

2.4 Klinik Laboratuvarlarda Analiz Sonuçlarını Etkileyen Faktörler

Son çalışmalar, hastaların %96'sına laboratuvar ortamında diagnostik testlerin uygulandığını ve klinik kararların %80'inin laboratuvar sonuçları dikkate alınarak verildiğini ortaya koymaktadır [37-38]. Diğer taraftan, objektif sağlık kaydı verilerinin yaklaşık %40 - %94'ünün laboratuvar sonuçları olduğu bilinmektedir [39-40]. Tanısal hatalar, tanımlanmış tıbbi hataların %26 - %78'ini [41] ve yanlış tedavi iddialarının da yaklaşık %60'ını oluşturduğu belirtilmiştir [42]. Yapılan diğer bir çalışmada tanısal hataların tıbbi hatalardan kaynaklanan yan etkilerin %17'sinde yer aldığı tespit edilmiştir [43]. Doğru test sonuçlarının uygun şekilde sınıflandırılması ve yorumlanması, hastalıkların tanımlanması, sınıflandırılması, tedavi ve izlemeyi içeren önemli klinik kararlar verilmesi için gereklidir. Dolayısı ile doğru laboratuvar sonuçları hastalıkların doğru bir şekilde teşhis ve tedavi edilmesi için çok gereklidir. Bu nedenle aşağıdaki hususlar biyokimya çalışmalarında çok büyük önem arz etmektedir:

- Doğru test, doğru maliyet ve doğru yöntemle doğru hasta için doğru zamanda, doğru nedenden dolayı istenmelidir [44]. Yapılan çalışmalar tüm test isteklerinin %20'si uygunsuz olduğunu [45], istenilen testlerin yaklaşık %68'lik kısmının hastanın iyileşmesi sürecinde herhangi bir katkısının bulunmadığı [46] tespit edilmiştir. Diğer taraftan hastaların yaklaşık %50'sinde gerektiğinde testler istenmediği belirlenmiştir [45].

- Doğru numune hastanın uygun bir şekilde hazırlanmasından sonra doğru zamanda doğru hastadan alınmalıdır.

- Damar içi sıvılar, doku hasarı, uzun süreli damar tıkanıklığı veya hemoliz ile kontaminasyonu önlemek için numuneyi alırken doğru teknik kullanılmalıdır.

- Numune laboratuvara uygun şekilde nakledilmeli, doğru sıcaklıkta saklanmalı, analiz için işlenmeli ve ölçülen analit seviyelerinde yapay değişiklikleri önleyecek şekilde analiz edilmelidir.

- Analitik test, gerçek analit konsantrasyonunu klinik olarak kabul edilebilir bir hata marjı içinde ölçmelidir.

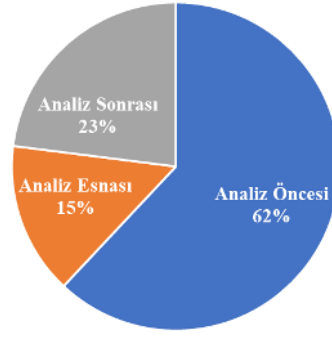
- Test sonucunda hazırlanan rapor, doğru sonucu, referans aralığını ve diğer yorumlayıcı bilgilerle birlikte, klinik tedavi uzmanına karar verme sürecinde yardımcı olacak şekilde hazırlanmalıdır.

Bu adımlarda oluşabilecek başarısız durumlar, bazen olumsuz sonuçlarla birlikte hatalı veya yanıltıcı laboratuvar sonuçlarına neden olabilir. Örneğin, maltoz içeren sıvılarla tedaviye bağlı olarak ortaya çıkan glikoz seviyesi artışları, önemli hipogliseminin tanınmamasına ve ölüme veya ciddi hastalıklara neden olmuştur [47].

Laboratuvarlardaki testlerin gerçekleştirilmesinde meydana gelen hatalar aşağıdaki şekilde kategorize edilebilir:

1. Ön analitik aşama (Test tiplerinin belirlenmesi, testin analiz amacı ile laboratuvara gönderilmesi, hastanın sistemi girilmesi ve test için hazırlanması, numunenin alınması ve işlenmesi)
2. Analitik aşama (Testin yapılarak sonuçların değerlendirilmesi ve sonuç raporunun hazırlanması)
3. Analiz sonrası aşama (Test sonuç raporunun ilgili birimlere gönderilmesi ve son kararın verilmesi)

Analitik hataların en aza indirilmesi tıbbi laboratuvar alanındaki gelişmelerin ana odağı olmasına rağmen, diğer adımlar da hatalı sonuçların ortaya çıkmasına ciddi katkı sağlamaktadır. Yapılan bir çalışmaya göre analiz öncesi aşamada yapılan hatalar bütün hataların %62'sini oluşturduğunu, analiz sonrası hataların tüm laboratuvar hatalarının %23'ünü oluşturduğu ve analiz sırasında yapılan hataların ise tüm hataların % 15'ini temsil ettiği belirlenmiştir [48]. Şekil 2.1'de analiz safhalarında meydana gelen hatalar pasta grafiği şeklinde ifade edilmiştir.



Şekil 2.1 Hataların Analiz Safhalarına Göre Dağılımı

En yaygın preanalitik hatalar arasında yanlış test isteği (tüm test isteklerinin yaklaşık %3'ünde) ve hemoliz (tüm örneklerin yaklaşık %0.3'ü) [49] bulunmaktadır. Preanalitik hataların diğer sık görülen nedenleri arasında şunlar yer alır:

- Hasta tanımlama hatası
- Tüp doldurma hatası, boş tüpler, eksik tüpler veya yanlış numune kabı
- Örnek kontaminasyonu
- Yetersiz numune sıcaklığı

Hastanın tanımlanmasına özel dikkat gösterilmelidir. Bu kritik adımdaki hatalar, örneğin transfüzyon reaksiyonları veya yanlış yönlendirilmiş tedavi kararları nedeniyle ölümcül sonuçlar da dâhil olmak üzere ciddi sonuçlar doğurabilir. Kimlik hatalarını en aza indirmek için hastalara özel olarak tanımlanan bir barkodu, tipik olarak bir bilek bandını tarayarak hastayı objektif olarak tanımlayabilen, laboratuvar bilgi sistemlerine bağlı el cihazları kullanılmaktadır.

Analitik hatalar çoğunlukla çeşitli girişimlerden veya diğer bilinmeyen nedenlerden kaynaklanırken, cihaz hataları yapılan bir çalışmada tüm laboratuvar hatalarının yalnızca %2'sini oluşturmuştur [48]. Bu çalışmaya göre, analitik sonrası hataların çoğu laboratuvar ve klinik tedavi uzmanları arasındaki iletişim arızasından kaynaklanırken, yalnızca %1'i laboratuvar içindeki yanlış iletişimden kaynaklanıyordu. Bununla birlikte test sonuçlarının %1'lik kısmı uzun raporlama geri dönüş sürelerine sahiptir [48]. Laboratuvar verilerinin yanlış kaydedilmesinden kaynaklanan analiz sonrası hatalar, otomatik analizörlerin ve laboratuvar bilgi sistemlerinin kullanılmaya başlanması ile çift yönlü ara yüzlerin mevcudiyeti nedeniyle büyük ölçüde azaltılmıştır [48]. Ancak, kayıt hataları ve hesaplama hataları, cihaz ve laboratuvar bilgi sistemi arasında otomatik ara yüzler bulunmayan test laboratuvarlarında önemli bir endişe alanı olmaya devam etmektedir. Raporlama hatalarını azaltmak ve test geri dönüş süresini en aza indirmek için yapılan diğer geliştirmeler

arasında, önceden belirlenmiş kurala dayalı parametrelere göre test sonuçlarının otomatik olarak doğrulanması ve kritik sonuçların sağlayıcılara otomatik raporlanması gibi tedbirler bulunmaktadır.

Hata kaynaklarını sınıflandırırken, bilişsel hatalar veya yetersiz bilgi veya muhakemeden kaynaklanan hatalar ile rutin veya nispeten otomatik bir süreçteki kesintilerden kaynaklanan, genellikle kayma ve atlamalar olarak bilinen bilişsel olmayan hatalar arasında ayırım yapmak önemlidir. İlk tip, artan eğitim, yetkinlik değerlendirmesi ve bir prosedürdeki önemli adımları özetleyen kontrol listeleri veya "kopya sayfaları" gibi süreç yardımcıları ile önlenirken, farkına varılamayan hatalar en iyi şekilde dikkat dağıtıcı unsurları ve yorgunluğu en aza indirmek için süreç iyileştirme ve çevresel düzenlemeler ile engellenebilir.

Olumsuz sonuçları ve hataları aktif hatalar ve gizli hatalar olarak iki grupta sınıflandırılabilir. Aktif hatalar bir işlemi gerçekleştiren kişinin bir eyleminin hemen sonucu olarak ortaya çıkarken, gizli hatalar genellikle sistem eksiklikleri ve tasarım hataları gibi nedenlerden dolayı meydana gelir. Yapılan bir çalışmada yapılan hataların yaklaşık %11'i analiz öncesi aşamada gerçekleşen bilişsel hatalar iken %33'ü gizli hatalardan meydana geldiği belirlenmiştir [48]. Bu nedenle, hataların büyük çoğunluğu, sürece doğrudan dâhil olan personel tarafından farkına varılmadan ve bilişsel olarak gerçekleştirilmeyen hatalardır.

Hataların sağlık sistemindeki tüm personelin erişebildiği ortak bir veri tabanına anında bildirilmesi ve kalite yönetimi personeline otomatik uyarılar gönderilmesi, gizli hataların doğru şekilde izlenmesi ve zamanında düzeltilmesi için önemlidir. Yapılan araştırmalara göre raporlama sisteminin en çok karşılaşılan hataları da içeren çevrimiçi onay ve kontrol formları kullanarak iyileştiği tespit edilmiştir. Daha sonra bu raporlar kullanılarak hatalar bilişsel / bilişsel olmayan, gizli / aktif ve laboratuvar içi / kurum içi / kurum dışı olarak sınıflandırılabilirler. Ayrıca belirlenen kök nedenler insan kaynaklı nedenler (örneğin, iletişim ve eğitim veya karar verme), yazılım kaynaklı nedenler veya fiziksel faktörlerden kaynaklı nedenler (çevre, araç, donanım, vb.) olarak sınıflandırılabilir. Hataların sonuçları şu şekilde sınıflandırılabilir:

- Hatanın kimi etkilediği, hedefi (hasta, personel, ziyaretçiler veya donanım).
- Hata sonucunun ciddiyet oranı (fark edilmeyen hatalardan ölümcül hatalara kadar).
- Hatanın aynı ciddiyet ölçeğinde yakalanmaması durumunda en kötü sonuç olasılığı, (çünkü birçok hata yaranılmaya neden olmadan önce düzeltilir).

Sonuç olarak, önemli sonuçları olan hatalar veya olumsuz sonuç olasılıkları, uygun düzeltici eylemleri ve süreç iyileştirme girişimlerini belirlemek için kalite yönetim personeli ve laboratuvar yöneticileri tarafından detaylı olarak ele alınmalı ve düzeltici eylemler en kısa sürede uygulanmalıdır.

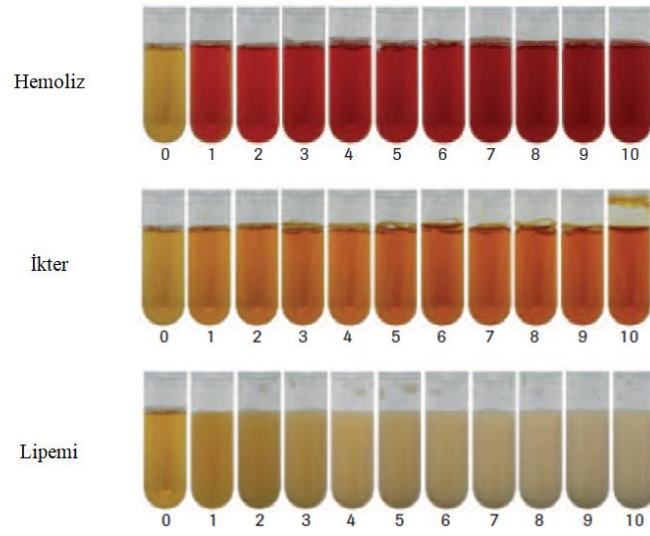
2.4.1 Endojen faktörler

Klinik kimyada hem analiz öncesi hem de sonrası faktörler hatalı sonuçlara neden olabilir. Çeşitli kimyasal maddelerin girişiminden kaynaklanan hataların düzeltilmesi kalite standartlarının sağlanması açısından son derece önemlidir. Böylelikle hastalara sağlanan sağlık hizmetlerinde hastanın güvenliği ve verilen hizmetlerde arzu edilen kalite standartları yakalanabilir [49]. Bu girişimlerden özellikle hemoliz, ikter ve lipemiden kaynaklanan girişimler çok sık meydana gelmekte ve yapılan ölçümlerde negatif ve pozitif yönde hatalara sebep olmaktadır.

Hemoliz canlı dokuda meydana gelebilir, ancak daha yaygın olarak canlı dışındaki hemoliz pediatrik ortamda, özellikle örnek toplama sırasında veya örnek taşıma sırasında meydana gelir. Hemoliz, doğrudan spektral girişimin bir sonucu olarak veya eritrositlerin hücresel bileşenlerinin salınmasına bağlı olarak karışabilir ve hemoliz vakalarında yanlış yüksek değerler ortaya çıkmasına yol açar [50]. Canlı içinde hemoliz, mekanik yıkım, tekrarlanan donma ve çözülme döngüleri, ozmotik şok ve kalıtsal hastalıklar nedeniyle ortaya çıkar [51].

İkter, örneklerdeki artan bilirubin konsantrasyonundan kaynaklanan sarı rengi ifade eder [52]. Artmış bilirubin konsantrasyonları en sık karaciğer hastalığından kaynaklanır; bununla birlikte bazı tahliller, Gilbert sendromu veya vücut içi hemoliz bağlamında ortaya çıkan nispeten hafif hiperbilirubinemiye duyarlı olabilir. İkter, kimya test sonuçlarını öncelikle spektrofotometrik ve kimyasal girişimler nedeni ile etkiler [53]. Girişim içeren serum numunelerine sahip test tüpleri aşağıdaki görselde verilmiştir.

Lipemi ise kan serumunda görülen yağ zerreciği düzeyinin aşırı yüksek olması nedeni ile meydana gelen makroskobik bulanıklık olarak tanımlanabilir. Bu yağ zerreciklerinin etkisini azaltmak için kan örneklerinin aç olarak alınması kısmi olarak etkili olurken, yağ metabolizma bozukluğu olan bireylerde veya acil kan analizi gereken durumlarda ortaya çıkan lipemi, laboratuvar sonuçlarını etkileyerek değerlendirmelerde hatalı sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilir [19]. Şekil 2.2’de artan HIL serum indeks değerlerine sahip serum örnekleri gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Artan Hemoliz, İkter ve Lipemi Derecelerine Sahip Plazma Örnekleri[19]

2.5 Serum İndeks Değerlerini Belirleme Standardı

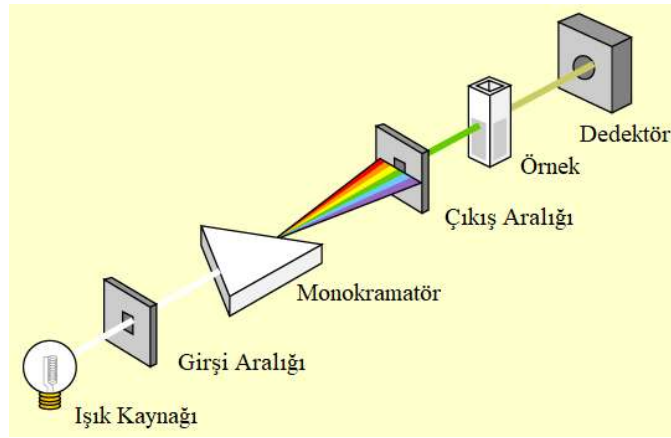
Klinik laboratuvarın amacı, bir konsantrasyonun veya aktivitenin gerçek değerini bildirmektir. Ancak test sonuçları HIL gibi girişimlerden etkilenmektedir. Bu durum numunenin bulanık veya farklı renk tonlarında görünmesi ile fark edilebilir. HIL etkisini tahmin etmek zordur çünkü her bir örnek santrifüj işleminin ardından HIL indeks değerlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Günümüzde tıbbi laboratuvarlarda iki yöntem ile serumların HIL interferans değerleri belirlenmektedir. Bunlardan birincisi ve daha kesin yöntem olan spektrometrik analiz yapan otoanalizör cihazları ile ölçüm yapmaktır. İkinci yöntem ise Klinik ve Laboratuvar Standart Enstitüsünün belirlemiş olduğu standartlarda hemoliz, lipemi, ikter kalibrasyon örnekleri ile karşılaştırmak ve uygun derecelendirme ile interferans değerlerini belirlemektir. Klinik ve Laboratuvar Standart Enstitüsünün 2012 yılında, potansiyel olarak etkilenen sonuçların not edilmesinin yanı sıra bir numunenin veya sonucun reddedilmesine yardımcı olmak için laboratuvarlar tarafından otomatik HIL indekslerinin kullanımına ilişkin kılavuzları sunmaktadır [19].

2.5.1 Spektrometrik analiz ile interferans belirleme yöntemi

Spektrometri temel olarak, örnek içerisindeki atom, molekül veya iyonların, ışıma adı verilen elektromanyetik radyasyon ile absorpsiyon, emisyon, kırılma indisi, yansıması, saçılması gibi çeşitli etkileşimler sonucunda kalitatif veya kantitatif olarak ölçülmesi ve sonuçların yorumlanması olarak tanımlanır. Tüm spektrometrik analizler, çözelti içerisinde

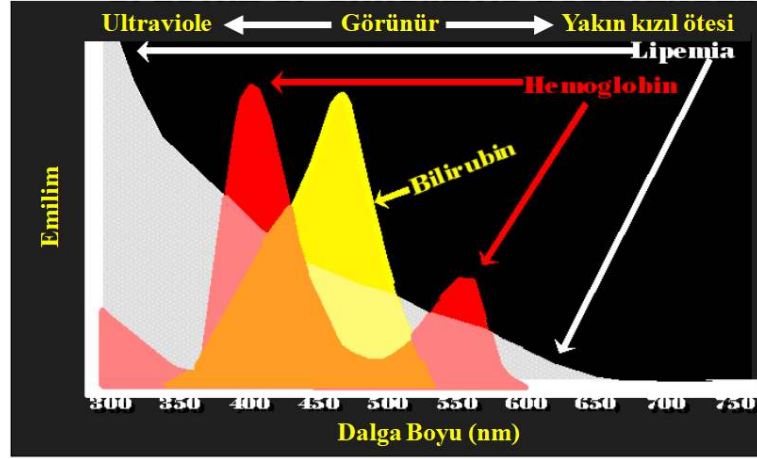
madde varlığından dolayı geçemeyen enerjinin, madde olmayan çözücünden geçen enerji miktarının karşılaştırılması ile yapılır.

Spektrometrik analiz ışık ile maddenin etkileşiminin incelenmesi olarak da tanımlanabilir. Maddeleri ışık aracılığı ile tanımlamak için özellikle moleküler biyolojide ve analitik kimyada kullanılmaktadır. Geçmişte bu tanımlama için sadece görünür ışık kullanılırken günümüzde çok farklı yöntemler geliştirilmiştir. Temel olarak bu yöntemde örnek üzerine uyarıcı bir tanecik yönlendirilir ve bu taneciğe olan reaksiyonu ölçülür. Bununla birlikte elektromanyetik ışık veya manyetik olmayan ışıklar da (X-ışınları, mikrodalga veya radyo dalgaları gibi) bu amaçla kullanılmaktadır. Bu yöntemde maddenin gelen uyarıcıya karşı göstermiş olduğu soğurma, yayma, saçma, yön değiştirme gibi etkileri analitik amaçlara yönelik olarak incelenir [55]. Şekil 2.3'te spektrometre cihazı çalışma prensibi gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Spektrometre Çalışma Prensibi [55]

Hemoglobin, bilirubin ve lipidler, Şekil 2.4'te görüldüğü gibi kendilerine özgü spektral özelliklere sahiptir. Bilirubin ışığı en güçlü olarak 460 nm'de emer. Diğer taraftan kırmızı renge sahip hemoglobin ışığı 340 - 440 nm ile 540 - 580 nm arasındaki dalga boylarında emer. Işığın lipemi / bulanıklık tarafından emilmesi, ışığın lipidler ve lipoprotein partiküllerine çarparak saçılması neden olur. Görünür absorpsiyon en yüksek 400 nm'nin altındadır ve görünür spektrum boyunca kademeli olarak azalır ve 700 nm'de bile önemli bir ışık saçılımı gözlenmektedir [19].



Şekil 2.4. Hemoglobin, Bilirubin ve Lipemi Absorbans Spektrumu [19]

Şekil 2.4'te görüldüğü gibi bilirubin, hemoglobin ve lipemi / bulanıklık spektrumları örtüşmektedir. Bununla birlikte, 625 nm'nin üzerinde absorbans, tek başına lipemi / bulanıklığa bağlıdır. Hemoglobin spektrumu, bilirubin spektrumunun çoğuyla örtüşür, ancak bilirubinin katkısı olmayan hemoglobine bağlı absorbans, 550 ile 575 nm aralığında ölçülebilir. Hemoliz varlığında ikter derecesini veya ikter varlığında hemoliz derecesini tahmin etmek en zor ölçümler arasındadır [19].

Hemoglobin konsantrasyonunun 300 mg / dL'yi aşması durumunda plazma renginde meydana gelen kırmızı renk değişimi gözle görülebilir. Hemolizli numuneler, %3,3 gibi yüksek bir yaygınlığa sahiptir ve reddedilen numunelerin yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır. Lipemi, serum örneklerinde çıplak gözle görülebilen bulanıklık olarak tanımlanır. Bu durum trigliserit konsantrasyonunun 300 mg / dL'yi geçmesi durumunda gözlenir. Hiperbilirubinemi girişiminin görsel olarak tahmin edilmesi yeterince hassas değildir. 340 ile 500 nm aralığında bilirubinin yüksek Emilimi ve yüksek arka plan nedeniyle, yöntemin doğrusallık aralığı, bu dalga boylarında spektrofotometrik analizler için sınırlayıcı bir faktör haline gelmektedir.

Stratejik olarak seçilmiş bazı dalga boyundaki soğurma okumaları, HIL endekslerinin hesaplanmasında kullanılmaktadır. Farklı üreticiler tarafından üretilen cihazlar, farklı yöntemler kullanarak bu okumaları gerçekleştirirler. Üreticiler arasında, mevcut dalga boylarının sayısına ve hangilerinin ölçüldüğüne ve absorbans okumalarını HIL indekslerine dönüştürmek için kullanılan çok değişkenli algoritmaya göre de farklılıklar vardır. HIL endekslerini oluştururken ve kullanırken dikkate alınması gereken bir dizi parametre vardır. Üreticiler, kullanıcıların endeksleri uygun şekilde kullanabilmesi

için bu bilgileri belgelere dâhil etmelidir. Üreticilerin kullanıcılara sunması gereken bilgiler şunları içerir [19]:

- Endekslerin belirlenmesinde kullanılan malzemeler
- Girişim yapan malzemelerin test konsantrasyonları
- İndeks ölçümleri için gerekli numune hacimleri
- Örnek eriyik ve seyreltici (varsa).
- Hemoliz, ikter ve lipemi / bulanıklık ölçümlelerinde kullanılan dalga boyları ve yöntemler
- Endekslerin / bölmelerin sayısı
- Okuma zamanı
- Algoritmaların hesaplanması

Roche, hemoliz, hiperbilirubinemi ve lipeminin potansiyel müdahalelerinin otomatik olarak belirlenmesi amacı ile laboratuvar çalışanlarını girişimlerden haberdar eden ve test sonuçlarının kalitesinin artırılmasına yardımcı olan bir araç geliştirmiştir [54]. Bu sistem anormal test sonuçlarını en aza indirir. Serum indekslerinin değerlendirilmesi Cobas® 6000 analizörleri ile birlikte daha kolay bir hale getirildi. Bu sistem ile verilerin çapraz kontrollerinin yapılması ve girişimlerden etkilenen numunelerin tespit edilmesi basitleştirildi. Sonuç olarak çalışma süreleri kısaltılarak daha güvenli hale getirilmiştir. Şekil 2.5'te Roche Cobas® 6000 cihazının spektrometrik ölçüm grafiği gösterilmiştir. Cihaz Serum indekslerini ölçerken, analizör hasta örneğinin bir bölümünü alır (6µl), %0,9 NaCl ile seyreltir ve daha sonra üç çift dalga boyunda absorbans ölçmektedir [54]:

- Lipemi ölçümü için (L), 700 / 660 nm dalga boylarındaki bikromatik dalga boylarını ($\Delta Abs3$) kullanılmaktadır, çünkü bu aralık hemoliz ve ikterus tarafından etkilenmemektedir. Eşitlik (2.1)'de lipemi hesaplaması için kullanılan düzeltme denklemi gösterilmiştir [54].

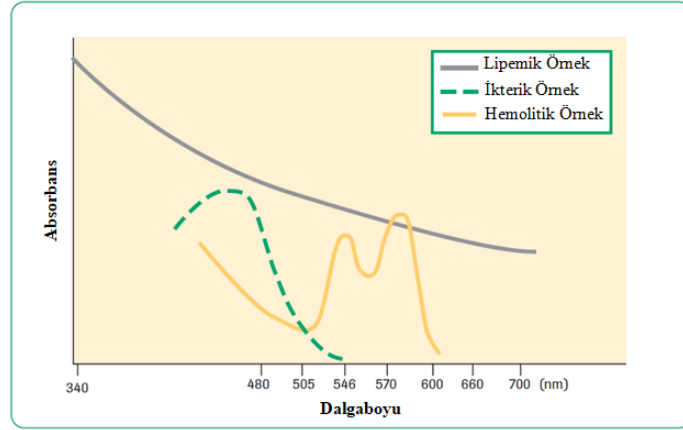
$$L = 1/C \times (\Delta Abs3) \quad (2.1)$$

- Hemoliz (H) 600 / 570 nm'de ölçülmektedir ($\Delta Abs2$) ve lipemiye bağlı emilim için düzeltme yapılmaktadır. Eşitlik (2.2)'de hemoliz hesaplaması için kullanılan düzeltme denklemi gösterilmiştir [54].

$$H = 1/A \times [(\Delta Abs2) - B(\Delta Abs3)] \quad (2.2)$$

- İkterus (I) 505 / 480 nm'de ölçülmektedir ($\Delta Abs1$) ve lipemi ve hemoliz nedeniyle emilim için düzeltme yapılır. Eşitlik (2.3)'te ikter hesaplaması için kullanılan düzeltme denklemi gösterilmiştir [54].

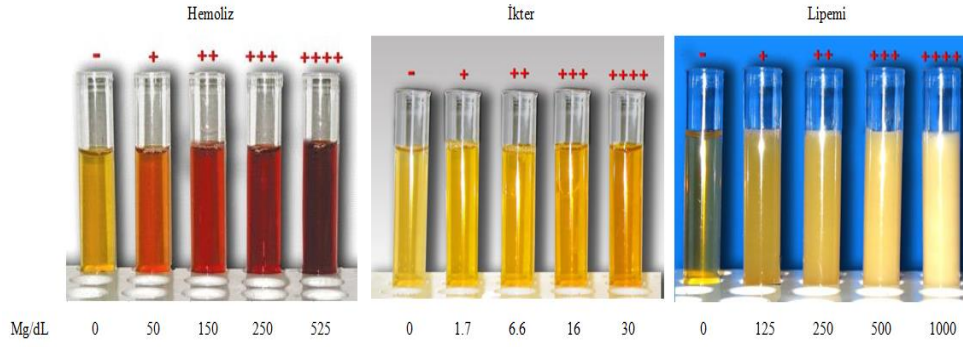
$$I = 1/D \times [(\Delta Abs1) - E\{(\Delta Abs2) - B(\Delta Abs3)\} - F(\Delta Abs3)] \quad (2.3)$$



Şekil 2.5. Roche Cobas 6000 Otoanalizör Spektral Ölçüm Grafiği [54]

2.5.2 Görsel değerlendirme ile interferans belirleme yöntemi

Laboratuvar analizlerinde sonuçlar sıklıkla HIL olmasına bağlı olarak interferanlardan etkilenir ve bu durum numunenin görünümünde renk değişikliği veya bulanıklık ile anlaşılabilir. Serum interferans değerlerinin hesaplanmasında kullanılan otoanalizör sistemlerine her laboratuvar sahip değildir. Bunu tespit etmek amacı ile çoğunlukla görsel değerlendirme yöntemi kullanılmaktadır. HIL serum indeks değerleri Şekil 2.6'da gösterilen kalibrasyon serumları ile karşılaştırılarak belirlenmektedir. Serum indeks değerleri belirli aralıklarda derecelendirilerek sınıflandırılmıştır [19]. Analiz edilecek numune kalibrasyon örnekleri ile karşılaştırılır ve derecelendirilir. Değerlendirme sonuçlarına personelin birebir etkisi bulunmaktadır. Bu durum sonuçların otoanalizör sistemlerine kıyasla daha öznel olmasına neden olur. Aynı zamanda sonuçlar, gözlemin yapıldığı ortama, gözlemi yapan kişinin tecrübesine, laboratuvar ortamına ve tüp üzerindeki etiketlerden etkilenmektedir.



Şekil 2.6. HIL Serum İndeksi Tespiti İçin Kalibrasyon Karşılaştırma Serumları [19]

Görsel değerlendirme sonuçlarında kişisel farklılıklar olabileceğinden dolayı interferans seviyesinin ölçüleceği tarafsız bir yöntem gereksinim duyulmaktadır. Bu tez çalışmasının amacı görsel değerlendirmenin yerine daha objektif, numuneyi inceleyen personel ve şartlardan bağımsız olarak isabetli sonuçlar veren aynı zamanda ticari otoanalizöre göre uygun maliyetli ve alternatif bir sistem geliştirmektir.

2.6 Görüntü İşleme

Bir görüntü içerisinde çalışmanın amacına uygun olan verileri ve faydalı bilgileri elde etmek ya da daha gelişmiş bir görüntü elde etmek amacı ile görüntü üzerinde çeşitli işlemler yapılmasına görüntü işleme denir. Diğer bir tanımıyla girdinin bir görüntü olduğu, çıktının ise görüntü ile ilgili bilgiler veya daha gelişmiş bir görüntü olduğu sinyal işleme türüdür. Görüntü işleme esnasında birçok farklı algoritma kullanılarak görüntü üzerindeki bozulmalar veya gürültüler giderilebilir. Günümüzde, görüntü işleme artık günlük hayatın bir parçası haline gelmiş durumdadır ve görüntü işleme teknolojileri de büyük bir hızla gelişmektedir.

Görüntü işleme amacı ile analog ve dijital olmak üzere iki farklı teknik kullanılmaktadır. Analog teknikler daha çok fotoğraflar ve çıktılar için kullanılır ve analistler basılı görüntüleri incelemek amacı ile çeşitli yorumlama kalıplarından faydalanmaktadır. Diğer taraftan dijital görüntü işlemede görüntüyü analiz etmek ve işlemek için bilgisayar kullanılır. Görüntü analizinde öncelikle ön işleme, daha sonra geliştirme ve son olarak da görüntüleme ve bilgi çıkarma aşamaları takip edilmektedir.

Günümüzde çok sayıda görüntü işleme ve makine öğrenimi için geliştirilmiş yazılım kütüphaneleri bulunmaktadır. Bu kütüphaneler içerisinde görüntü işlemeye ve makine öğrenmesine yönelik birçok farklı algoritma bulunmaktadır. Bu algoritmalar ile yüz tanıma, nesneleri ayırt etme, insan hareketlerini tespit edebilme, nesne sınıflandırma, plaka

tanıma gibi birçok işlem rahatlıkla yapılabilir. Bu kütüphaneler kullanılarak bu alanda uzman olmayan kişiler de kendi uygulamaları için görüntüleri kolaylıkla işleyebilmektedir.

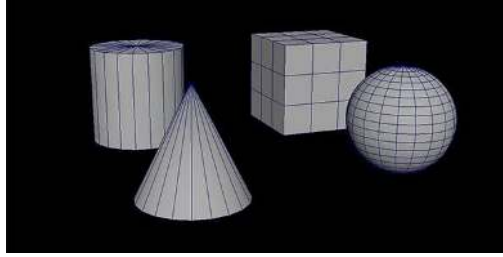
Görüntü işleme amacı ile çok farklı amaçlarla kurulmuş birçok kütüphane bulunmaktadır (OpenCV, Matlab, Halcon, OpenFrameworks, CIMG, ve Fiji). Halcon daha çok endüstriyel projeler için kullanılan ve kendi geliştirme ortamının yanı sıra çeşitli programlama dilleri (C, C++, VS C++, C#, VB.NET) için de kütüphaneleri bulunan, yapay görme odaklı ticari bir yazılımdır. Open Source Computer Vision (OpenCV) açık kaynak kodlu platformlardan bağımsız (Windows, Linux, FreeBSD, Android, Mac OS ve iOS) bir görüntü işleme kütüphanesidir. Kütüphane çapraz platformlu ve açık kaynaklı Berkeley Software Distribution (BSD) lisansına sahiptir. BSD lisansları, kapanan yazılımın kullanımı ve yeniden dağıtımını konusunda asgari kısıtlamalar getiren, izin veren ücretsiz yazılım lisansları ailesidir. Aynı zamanda TensorFlow, Torch/Pytorch ve Caffé gibi derin öğrenme çerçevelerini desteklemektedir. OpenCV, yüzleri ve nesneleri algılama ve tanımlama videolarda insani eylemleri sınıflandırma, kamera hareketlerini ve hareketli nesneleri izleme, nesneleri 3 boyutlu modellerine ayırma, nesne ve şekil takip gibi alanlarda kullanılmaktadır.

Bu çalışmada görüntü içerisinde bulunan serum bölgesinin tespiti ve piksel değerlerinin eldesi için görüntü işleme süreçleri uygulanmıştır. Bu uygulama için OpenCV, sklearn, skimage görüntü işleme kütüphanelerinin kullanılması tercih edilmiştir.

2.7 Üç Boyutlu Modelleme ve Tasarım

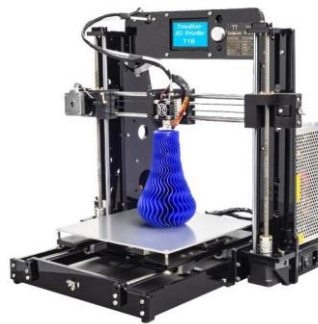
Bir nesnenin tamamının veya herhangi bir bölümünün özel yazılımlar kullanılarak matematiksel olarak modellenmesine 3B modelleme, elde edilen modele ise 3B model adı verilmektedir. Elde edilen model çeşitli 3B baskı kabiliyetine sahip cihazlar aracılığı ile fiziksel olarak da basılabilmektedir. Günümüzde geniş bir kullanım alanına sahip olan 3B modelleme video oyunlarında, filmlerde, mühendislik uygulamalarında, reklamlarda vb. birçok alanda sıkça kullanılmaktadır. 3B modelleme süreci, tamamen canlandırılabilen dijital bir nesne üretir, bu da onu karakter animasyonu ve özel efektler için önemli bir süreç haline getirmektedir [57]. 3B modelleme amacı ile geliştirilmiş çok sayıda yazılım bulunmaktadır. Solidworks, Catia ve AutoCAD günümüzde en çok kullanılan programlar arasında yer almaktadır.

Bir modelin çekirdeği uzaydaki noktalar topluluğu olarak tanımlanan ağdır. Uzayda bulunan noktalar çeşitli geometrik şekillerle birleştirilerek 3B bir ızgara üzerinde konumlandırılmaktadır. Her geometrik şeklin ızgara üzerinde bir adresi vardır ve bu geometrik şekiller birleştirilerek 3B modelin yüzeyleri modellenmektedir. Oluşturulan modeller daha sonra kullanım amacına göre başka yazılımlara veya ortamlara aktarılmaktadır [58]. Şekil 2.7’de üç boyutlu tasarım örnekleri gösterilmiştir.



Şekil 2.7. 3B Modelleme Örneği [58]

3B baskıda üç boyutlu nesnelerin ardışık malzeme katmanları kullanılarak basıldığı bir üretim baskı teknolojisidir. 3B baskı karmaşık nesneleri elde etmek için çok efektif bir yöntemdir. Karmaşık kalıp oluşturma gereksinimi olmadan çok karmaşık şekilleri başka türlü yapılması mümkün olmayacak şekilde tek parça olarak elde etmeyi sağlamaktadır. Bu nedenle hem zamandan hem de paradan tasarruf sağlayarak ek bir alet ve kalıp kullanma gereksinimini ortadan kaldırmaktadır. Özellikle fikir aşamasında olan tasarımların uygun maliyetlerle test edilme olanağı sağlarlar [59]. Şekil 2.8’de üç boyutlu yazıcı örneği gösterilmiştir.



Şekil 2.8. 3B Yazıcı Örneği

Bu tez çalışmasında kullanıcı açısından kullanımı kolay, maliyeti düşük, küçük ve taşınabilir bir prototip geliştirilmesi amaçlanmıştır. Tasarım süreçlerinde

ölçümlendirmelerin kontrolü ve testleri için yapılan modellemeler üç boyutlu yazıcılar kullanılarak imal edilmiştir.

2.8 Mikro denetleyiciler, Gömülü Yazılımlar ve İletişim Protokolleri

Mikro denetleyici tümleşik devre yongası üzerinde yerleştirilen küçük bir bilgisayar işlevi görmektedir. Standart bir mikro denetleyici bellek, giriş, çıkış ve çevre birimleri ve bir veya birden fazla işlemci çekirdeğinden meydana gelmektedir. Mikro denetleyiciler genellikle gömülü yazılımlar için tasarlanmış özel elemanlardır ve kişisel bilgisayarlarda veya diğer genel maksatlı uygulamalardan farklı kabul edilmektedir.

Mikro denetleyiciler; televizyon, bilgisayar, otomobil, cep telefonu ve daha birçok alanda sıklıkla kullanılmaktadırlar. Temel olarak bilgisayar sistemlerinde kullanılmakla beraber asıl kullanım alanları gömülü sistemlerdir. Elektronik devrelerde işlerin belli bir döngüde yer alan komutlara göre yapılabilmesi için otomasyon ve kontrol sistemlerinde de sıklıkla kullanılmaktadır [59].

Gömülü yazılım; daha büyük bir sistemin bir parçası olarak belirlenmiş kontrol işlemleri için tasarlanmış yazılımlardır ve temel olarak tam donanımlı bir cihazın parçası olarak kabul edilmektedir. Dolayısı ile çalışma prensibi olarak genel amaçlı bilgisayarlardan farklıdırlar. Genel amaçlı bilgisayarlar istenilen ihtiyaca cevap verirken, gömülü yazılımlar özel olarak tasarlanmış görevleri ve fonksiyonları yerine getirmektedirler [60].

İletişim protokolü, bir sisteminin iki veya daha fazla ögesinin bilgi iletmesine izin veren bir kurallar sistemidir. Protokol, iletişim kurallarını, sözdizimini, anlamını ve senkronizasyonunu ve olası hata giderme yöntemlerini tanımlamaktadır.

Bu çalışmada I2C, SPI, UART, TCP/IP protokolleri sensör arabirim kartları ve kullanıcı ara yüzü ile preanalitik kontrolcü kartı arasında veri aktarım süreçlerinde kullanılmıştır.

Universal Asynchronous Receiver Transmitter (UART), bilgisayar ve mikro denetleyiciler veya mikro denetleyiciler ve çevre birimler arasında haberleşmeyi sağlayan haberleşme bir protokolüdür. Aktarım hızı, veri hızı gibi parametrelerin değiştirilebilirliği sayesinde evrensel iletişim protokolleri arasında yer almaktadır. Alıcı (rx) ve gönderici (tx) pinlerin birbirlerine çapraz bağlantısı yapılarak veri transferi sağlanmaktadır.

Serial Peripheral Interface (SPI), çift yönlü ve eş zamanlı veri transferine imkan sağlayan ve çalışma prensibi olarak master / slave yapısını temel alan bir iletişim

protokolüdür. Birden fazla aygıtın aynı hat üzerinden veri iletişimini kolaylaştırmaktadır. SPI haberleşmede veri aktarımı için iki (MOSI, MISO), senkron iletişimin sağlanması için bir (SCK) ve bağlanılan aygıtın seçilmesi için bir (CS) adet olmak üzere toplamda dört bağlantı noktası kullanılmaktadır.

I2C, seri haberleşme protokolleri arasında çok kullanılan bir diğer iletişim protokolüdür. Veri iletişimi için iki adet bağlantı noktası kullanılmaktadır. I2C protokolü 1008 ağıta kadar adresleme yapabilmekte ve iki bağlantı noktası kullanılarak tüm ağıtlarla haberleşme sağlayabilmektedir. Haberleşme için kullanılan pinlerden bir tanesi veri bilgisini taşıırken (SDA) diğer pin senkron iletişimin sağlanması için saat sinyalini oluşturmaktadır (SCL). I2C seri haberleşme protokolünde veriler çift yönlü ve eş zamanlı olarak transfer edilebilir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu tez çalışmasında tıbbi laboratuvar örneklerinde bulunan hemoliz, ikter ve lipemi seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma ile serum indeksi belirleme yöntemlerinden biri olan görsel değerlendirmeye alternatif daha kararlı bir karar verici sistemin oluşturulması planlanmıştır. Geliştirilecek sistem ve yöntem ile sonuçların yapay zeka algoritmaları ile yorumlanması, sistem maliyetinin düşürülmesi, personel kaynaklı ölçüm hatalarının önüne geçilmesi, personel iş yükünün azaltılması ve laboratuvar test ölçüm sürelerinin kısaltılması amaçlanmıştır.

3.1 Kullanılan Materyaller

Bu bölümde sistem donanımı ve yazılımı için kullanılan elektronik kartlar, sensörler ve yazılım geliştirmeleri programları açıklanmıştır.

3.1.1 Raspberry pi

Raspberry Pi, bilgisayar bilimi öğretilmesi amacıyla geliştirilen küçük bir bilgisayar olarak bilinmektedir. Masaüstü veya dizüstü bilgisayarların yapabileceği çoğu işlemi yapabilme kapasitesine sahiptir. Raspberry Pi donanımı, merkezi işlem birimi türü, bellek kapasitesi miktarı, ağ desteği ve çevresel aygıt desteğinde farklılıklar içeren çeşitli sürümler aracılığıyla geliştirilmiştir. Küçük tasarımı ve kompakt yapısı sayesinde robotik projelerinde, akıllı ev sistemlerinde, gömülü sistemlerde, hatta klavye/fare, ekran gibi çevre birimleri bağlayarak masaüstü bilgisayar olarak da kullanılabilir. Raspberry Pi 3 Model B+ üzerinde 1.4 GHz hızında çalışan bir işlemci bulunmaktadır. 2.4 GHz bandında 802.11n desteği sunan kablosuz bağlantısı çift bant (2.4 GHz ve 5 GHz destekli) 802.11ac ve bluetooth desteği, üzerinde barındırdığı wifi entegresinin yanı sıra, Raspberry Pi üzerinde Ethernet bağlantısı da bulunmaktadır [61].



Şekil 3.1. Raspberry Pi [61]

Raspberry Pi, Linux işletim sistemleri ve Windows 10 IoT Core isimli özel geliştirilmiş bir işletim sistemi çalıştırabilmektedir. Geliştirilen ara yüz ve sistem gömülü yazılımı Python programlama dili kullanılarak kullanıcılar için çapraz platform (cross-platform) desteği sunulmuştur.

Bu çalışmada. Raspberry Pi üzerine mouse, klavye, ekran, flash kart gibi bilgisayar bileşenleri bağlanarak okuyucu sistem kontrolü için kullanıcı bilgisayarı oluşturulmuştur. Geliştirilen yazılım sayesinde Raspberry Pi ile ölçümün yapıldığı prototipin kontrolü sağlanmaktadır.

3.1.2 Arduino pro mini

Serum örneklerinin hafıza kartına kayıt işlemleri sırasında belirli barkod numaraları ile kaydedilmesi sağlanmıştır. Barkod okuyucudan gelen bilgilerin işlenmesi ve kontrolü için üzerinde Atmega328 mikro denetleyicisi bulunan Arduino Pro Mini modeli kullanılmıştır. Kart üzerinde 14 adet dijital giriş / çıkış pini buna ek olarak 8 adet de analog giriş pini, 16Mhz kristal ve reset tuşu bulunmaktadır. Arduino Pro Mini kartını programlamak için üzerinde USB soketi ve programlamayı yer almamaktadır. Kartın teknik özellikleri aşağıda sıralanmıştır. Arduino Pro Mini programlama kartının 5 ya da 3.3 volt gerilim ile çalışan modelleri bulunmaktadır. Bu çalışmada 5V ile çalışan model tercih edilmiştir. Üzerinde barındırdığı Sram, yazılıp silinebilir hafıza 2 kilobayttır. Flash hafızası 32KB olmasının yanında 1KB EEPROM bulunmaktadır [62].



Şekil 3.2. Atmega328 [62]

3.1.3 Esp32cam

Esp32cam Espressif Systems tarafından geliştirilmiş bir mikro denetleyicidir. Esp mikro denetleyicisini kullanan çeşitli varyasyonlara sahip kartlar bulunmaktadır. Esp32cam bunlardan bir tanesi olup, üzerinde kamera kullanımına imkân sağlamaktadır. Esp32cam, Ov2640 ve Ov7670 kameralarını desteklemektedir. Farklı üreticiler tarafından, farklı şekillerde kullanıcılara sunulan bu modül üzerinde Esp32-S çip bulunmaktadır. Bu çip üzerinde dahili olarak wifi, bluetooth gibi kablosuz özellikler sunmaktadır. Kart üzerinde 520 KB Sram bulunmaktadır. UART, SPI, I2C gibi iletişim protokollerini desteklemesi nedeniyle birçok sensör ve modül ile uyumlu şekilde çalışabilmektedir [63].



Şekil 3.3. Esp32cam [63]

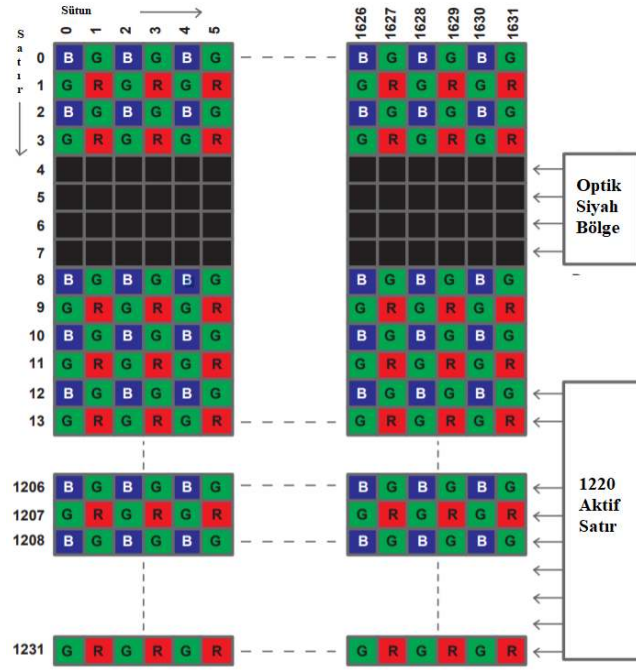
Uygun maliyette olması ve düşük güç harcaması nedeni ile birçok projede temel olarak kullanılmaktadır. Üzerinde bulunan kameranın takibinin uzaktan yapılabilmesine donanım ve yazılımsal olarak imkân sağlamaktadır. Video akış web sunucusu kurmak, yüz tanıma ve algılama yapmak, ev otomasyonu sistemi ile entegre olarak gözetim sistemi oluşturmak gibi farklı amaçlarla kullanılabilir. Kart üzerinde dijital giriş / çıkış pinleri, bluetooth ve wifi entegreleri bulunması sebebiyle kullanışlı bir programlama kartıdır. Ayrıca üzerine micro SD kart takılarak çekilen görüntüler kaydedilebilmektedir. Esp32cam en önemli özelliklerinden biri ise farklı şekillerde uyku modunu

desteklemesidir. Cihazın işlem yapmadığı durumlarda uyku moduna alınarak güç tasarrufu sağlanabilmektedir [63].

Bu çalışmada prototip ana kontrolcüsü olarak Esp32cam kullanılmıştır. Işık kaynağının kontrolü, görüntülerin kayıt altına alınması, serum tüp etiketlerinin okutulması gibi işlem adımlarını kontrol etmektedir.

3.1.3.1 Ov2640 kamera

Görüntü kayıtları için kullanılacak kamera olarak yüksek çözünürlüğe sahip Ov2640 tercih edilmiştir. Ov2640, Seri Kamera Kontrol Veriyolu (SCCB) ara yüzüyle kontrol edilen çok çeşitli formatlarda tam çerçeve, alt örneklenmiş, ölçeklenmiş veya pencereli 8 bit / 10 bit görüntüler sağlar. Ov2640, görüntü kalitesi, biçimlendirme ve çıktı veri aktarımı üzerinde tam kullanıcı kontrolü ile UXGA çözünürlükte saniyede 15 kareye (fps) kadar çalışabilen bir görüntü dizisine sahiptir. Pozlama kontrolü, gama, beyaz dengesi, renk doygunluğu, ton kontrolü, beyaz piksel iptali, gürültü engelleme ve daha fazlası dahil olmak üzere gerekli tüm görüntü işleme fonksiyonları da SCCB ara yüzü aracılığıyla programlanabilmektedir. Ov2640 ek olarak, OmniVision CameraChips, temiz, tamamen dengeli bir renkli görüntü oluşturmak için sabit model gürültüsü, lekelenme vb. yaygın aydınlatma/elektriksel görüntü kirliliği kaynaklarını azaltarak veya ortadan kaldırarak görüntü kalitesini iyileştirmek için tescilli sensör teknolojisini kullanmaktadır [64]. Ov2640 sensörü, 1632 sütun x 1232 satırlık bir görüntü dizisine sahiptir. Şekil 3.4, görüntü sensörü dizisinin bir enine kesitini göstermektedir.



Şekil 3.4. OV2640 Sensör Dizisi Bölgesi Renk Filtresi Düzeni [64]

Renk filtreleri bir Bayer düzeninde düzenlenmiştir. Ana renk BG / GR dizisi, sırayla değişen şekilde düzenlenmiştir. 2.010.624 pikselin 1.991.040'ı etkin olarak kullanılmaktadır. Diğer pikseller, siyah seviye kalibrasyonu ve entropolasyon için kullanılmaktadır. Sensör dizisi tasarımı, satır satır aktarımı olan bir alan entegrasyon okuma sistemine ve senkronize piksel okuma şemasına sahip bir elektronik deklanşöre dayanmaktadır [64].

3.1.4 As7262 spektrometre sensörü

As7262 spektrometre sensörü altı farklı görünür ışık kanalını tespit etme yeteneğine sahiptir. Normal RGB renk sensörlerinden farklı olarak, As7262 ile kırmızı, turuncu, sarı, yeşil, mavi ve menekşeye çevrilen altı bant renk okuması alabilmektedir. Yerleşik iki beyaz led, daha doğru spektral sağlamak için malzemeleri aydınlatabilmektedir. As7262, uygun maliyetli, çoklu spektral bir çip üzerinde sensördür spektral kimlik uygulamalarını ele almak için tasarlanmıştır. As7262, Gauss filtrelerini standart CMOS'a entegre etmektedir. Nano-optik birikimli girişim filtre teknolojisi ile silikon ve yerleşik bir LGA paketi içinde paketlenmiştir. Kontrol ve spektral veri erişimi, I2C kayıt seti veya yüksek seviyeli bir AT Spectral Command ile UART iletişim protokolü ile ayarlanmaktadır. [65].



Şekil 3.5. AS7262 Spektrometre Sensörü [65]

Bu çalışmada prototip içerisindeki ışık yoğunluğu As7262 tarafından ölçülmektedir. Sistem içerisine dış ortamdan ışığın girmesi durumunda neopiksel ledlerin parlaklık kontrolü As7262 tarafından algılanarak Esp32cam kontrolünde düzenlenmektedir.

3.1.5 Adreslenebilir neopiksel led

Adreslenebilir ledin diğer ledlerden ayıran en önemli özelliği istenilen adresteki ledin tek başına kontrol edilebilir olmasıdır. Adreslenebilir ledler, SPI, I2C gibi haberleşme protokolleri kullanılarak adresteki ledin, parlaklık ve renk bilgisi gönderilebilmektedir. Adreslenebilir ledler neopiksel led olarak da isimlendirilebilir. Neopiksel led üzerinde seri haberleşmeyi ve adreslemeyi gerçekleştiren entegreler bulunmaktadır. Neopiksel ledlerin kullanılan entegreler ile isimlendirilmektedir. Bu entegreler sırası ile SkXXX, WsXXX ve ApaXXX şeklindedir.

Bu tez çalışmasında Şekil 3.6'da gösterilen üzerinde sekiz adet adreslenebilir led bulunan Ws2812b neopiksel, geliştirilen preanalitik okuyucunun ışık kaynağı olarak kullanılmıştır.

Ws2812b, kontrol devresi ve RGB çipinin 5050 bileşenli bir pakete entegre edildiği akıllı bir kontrol led ışık kaynağıdır. Dâhili, akıllı dijital port veri mandalı ve sinyal yeniden şekillendirme yükseltici sürücü devresi içerir. Ayrıca hassas bir dâhili osilatör ve bir 12 volt ile programlanabilir sabit akım kontrol parçası içerir, böylece piksel noktası ışık rengi yüksekliğinin etkin bir şekilde tutarlı olmasını sağlar. Şekil 3.6'da gösterilen her bir led piksel olarak ifade edilmektedir. Her bir piksel içerisinde kırmızı, yeşil ve mavi olmak üzere üç adet led barındırmaktadır. Piksel içerisindeki her bir led ortalama 20 mA akım çekmektedir [66]. Dolayısı ile her bir piksel ortalama 60 mA akım çekecektir. Çalışmada kullanılan sekizli çubuk neopikselin akım ihtiyacı 480 mA olacaktır. Kullanılan led miktarı arttıkça çekilen akım artacağından neopiksel harici bir güç kaynağından beslenmesi daha sağlıklı bir işlem olacaktır.



Şekil 3.6. Adreslenebilir Neopiksel Led [66]

3.1.6 Usb host kart

USB host kartı, sistemde kullanılan Arduino Pro Mini kartının usb host özelliği kazanmasını sağlamaktadır. Bu kart ile programlama kartımıza dışarıdan usb aygıtı bağlanarak kart tarafından tanınmasını sağlanmaktadır. Kart üzerinde usb denetleyici görevi yapan Max3421 entegresi bulunmaktadır. Entegre içerisinde mantıksal ve analog devre yapısıyla usb 2.0 belirtilmelerine uyumlu olarak çalışmaktadır. Bu kart ile desteklenen cihazlar aşağıdaki maddelerde belirtilmiştir [67]:

- Klavye, fare, joystick,
- Oyun kolları - PS3, PS4, XBOX360,
- Usb seri dönüştürücüler,
- Android telefonlar ve tabletler,
- Dijital kameralar,
- Depolama cihazları - usb bellek, hafıza kart okuyucu, hard disk,
- Bluetooth dongle'lar



Şekil 3.7. MAX3421 Entegresi [67]

3.1.7 Barkod okuyucu

Barkod okuyucu barkodları okuyarak algıladığı seri numarasını elektronik ortama iletilmesini sağlamaktadır. Bu aşamadan sonra iletilen bilgiler (bilgisayarda veya terminalde) çözümlenerek sonuç yansıtılır, böylelikle veri girişi çok daha hızlı ve doğru gerçekleştirmektedir. Barkod uygun okuyucu ile okutulduktan sonra, okuyucu siyah ve beyaz çizgileri elektrik sinyallerine dönüştürmektedir. Okuyucunun kod çözümleri bu sinyalleri çözerek anlayabileceğimiz rakam veya karakterlere çevirmektedir.



Şekil 3.8. Barkod Okuyucu

3.1.8 Lipo pil

Lityum Polimer bataryaların kısaltılması ile Li-Po terimi ortaya çıkmıştır. Bu pillerde polimer elektrolit kullanılan ve tekrar şarj edilebilen bir Lityum İyon batarya çeşididir. LiPo batarya teknolojisi daha gelişmiş bir teknoloji olduğundan dolayı Li-İyon pillerden daha hafif ve istenen şekli alabilen bir yapıya sahiptirler. Daha ufak ve hafif bir yapıya sahip olmakla birlikte daha fazla enerji depolayabilmektedirler [68].



Şekil 3.9. Lipo Batarya [68]

3.2 Kullanılan Yazılım ve Çizim Programları

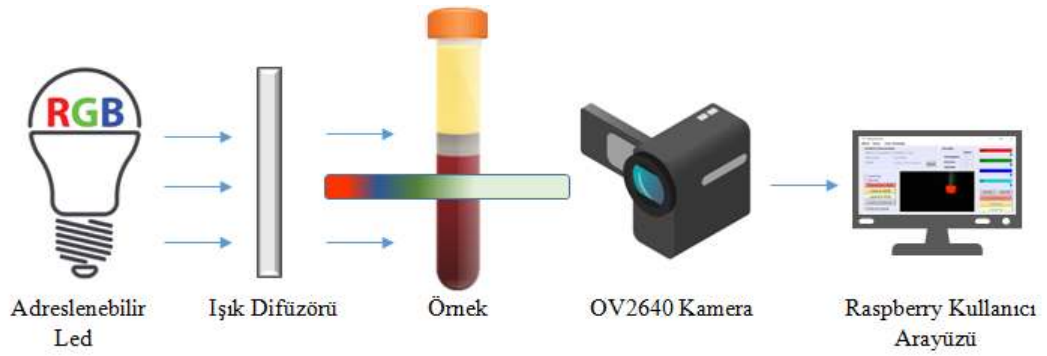
Preanalitik okuyucu tasarım çizimleri SolidWorks [69] programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada preanalitik okuyucu sistemi gömülü yazılım çalışmaları yapılmıştır. Arduino IDE [70] platformu ile C [71] ve C++ [72] programlama dilleri kullanılarak preanalitik okuyucu sistem kontrolü sağlanmıştır. Kullanıcı ara yüzü Qt Designer [73] programı ile oluşturulmuştur. Görüntü işleme, numune tespiti, renk hesaplama ve otomatik HIL serum indeks analizi için Visual Code [74] derleyici programı kullanılarak Python [75] programlama dili ile gömülü yazılım çalışmaları yapılmıştır.

4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu bölümde preanalitik okuyucunun mekanik, yazılım ve elektronik tasarım süreçleri açıklanmıştır. Çalışmada kullanılan adreslenebilir neopiksel ledlerin spektrofotometrik analizleri sonuçları paylaşılmıştır. Analiz yapılan ışık türlerinin sahip olduğu dalga boyları ölçülerek çalışmaya uygunluğu değerlendirilmiştir.

4.1 Preanalitik Okuyucu Tasarımı

Preanalitik okuyucu mekanik, elektronik ve yazılım olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır. Şekil 4.1’de preanalitik okuyucu çalışma prensibi gösterilmiştir.

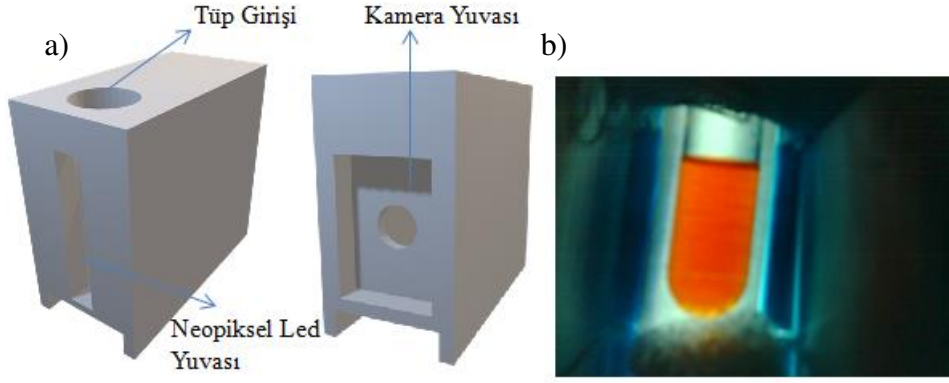


Şekil 4.1. Preanalitik Okuyucu Çalışma Prensibi

4.1.1 Preanalitik okuyucu mekanik tasarımı

Bu tez çalışmasında laboratuvar içerisinde büyük ve yer kaplayan biyokimya cihazlarına göre çok daha küçük, hafif, taşınabilir bir sistem geliştirilmiştir. Projenin mekanik model çalışmaları bilgisayar destekli tasarım (CAD) programı olan SolidWorks [69] ile yapılmıştır.

Preanalitik okuyucu çalışma prensibi referans alınarak sistemin ana gövde tasarım çalışmaları yapılmıştır. Prototip okuyucunun mekanik ölçülerinin tam olarak belirlenmesi için deneme tasarım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.2-a)’da gerçekleştirilen ilk tasarım çalışmasının 3B görüntüsü gösterilmiştir. Çalışma sonucunda karşılaşılan problemler göz önünde bulundurularak tasarım çalışmalarında güncelleştirmeler yapılmıştır.



Şekil 4.2. a) Mekanik Tasarım Çalışmaları b) Elde Edilen İlk Görüntü Kaydı

Tüp içerisindeki serumun seviyesi her zaman standartlara uygun ve belirli düzeyde olmamaktadır. Kameranın tüpe yakın konumlandırılması sonucunda tüpün ve serum bölgesinin belirli bir kısmı görüntü dışında kaldığı görülmüştür. Bu nedenle kamerayı yakın konumlandırarak ve sadece belirli bir alanı görüntü alanı olarak kullanmanın efektif olmayacağı düşünülmüştür. Yapılan ölçümler sonucunda kamera deliği ile tüp arasındaki mesafe 96 mm olarak belirlenmiştir. Belirtilen mesafede büyük ve küçük laboratuvar standartlarındaki serum tüplerinin tamamı görüntü alanı olarak kullanılmıştır. Kameranın tüpleri görebileceği minimum mesafede olması prototip sistemin küçük olmasında en büyük etken olmaktadır.

Işık kaynağı serum tüpünü aydınlatması için tüpün arka tarafına konumlandırılmıştır. Şekil 4.2-a)'da gösterilen ilk prototip çalışmasında ışık kaynağı ile serum tüpü arasında mesafe bırakılmadan ve tüp ile neopiksel arasında ışık difüzörü koyulmadan görüntü kaydı yapılmıştır. Bu durumun ışığın tüp yüzeyinden saçılmasına sebep olmuş ve görüntülerde ışık yansıması meydana gelmiştir. Şekil 4.2-b)'de kamera mesafesi yakın tutularak alınan ilk görüntü kaydı gösterilmiştir. Tasarım bu noktada da güncellenmiş ve tüp ile ışık kaynağı arasındaki 14 mm mesafe bırakılmıştır. Işığın tüp yüzeyinde homojen olarak dağılması için ışık kaynağı ile tüp arasına ışık difüzörü koyulmuştur. Işık kaynağı ile tüp arası dar tutularak ışığın doğrusal hareketi korunmuştur.

Işık kaynağı mesafesi ayarlandıktan sonra kamera ile tüp arasındaki görüntü alanının biçimlendirilmesi adımlarına geçilmiştir. Kamera açısı dar bırakılması sonucunda ana gövde duvarlarından ışık yansımaları görülmüştür. Bu sorunun önüne geçmek amacı ile kamera açısı geniş bırakılarak ana gövde duvarlarında oluşabilecek ışık saçılmalarının önüne geçilmiştir.

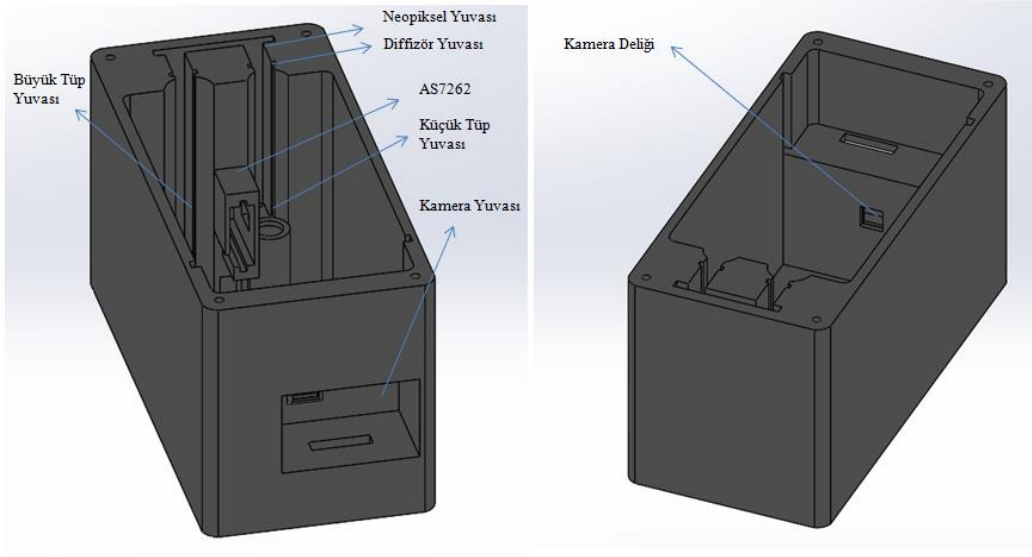
Laboratuvar serum tüplerinin ölçüleri alınarak deneme baskıları alınmıştır. Bu baskılar sonucunda prototip baskının derinliği ve tüp girişleri için gereken deliklerin küçük serum tüpü için 13,5 mm büyük tüp için 16,5 mm olması gerektiği bulunmuştur. Şekil 4.3'te serum tüpü ölçüm çalışmaları gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Serum Tüpü Boyunun Ölçülmesi

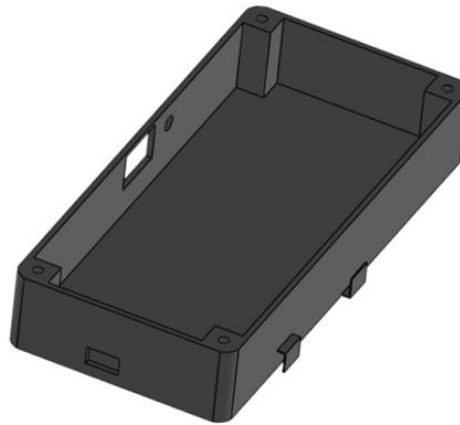
Yapılan ilk prototip çizimleri üç boyutlu yazıcılar kullanılarak imal edilmiştir. Tasarımın tek bir gövde olarak düşünülerek basılması bazı problemleri ortaya çıkarmıştır. Öncelikle baskı sonrasında gövde içerisindeki destek filamentlerin temizlenmesi çok zor ve zahmetli olmuştur. Bu nedenle sistemin ayrılabilir, birbirine geçebilir ve sabitlenebilir bölümlere sahip olması planlanarak tasarım çalışmalarına devam edilmiştir. Tasarım süreçleri üç adıma ayrılarak sürdürülmüştür. Birinci kısım görüntünün oluşturulacağı ana gövdeyi, ikinci kısım elektronik bileşenlerin bulunduğu hazneyi, üçüncü kısım ise tüp girişlerinin olduğu kapağı oluşturmaktadır.

Çalışma süresi boyunca yapılan tasarım denemeleri sonunda Şekil 4.4'te gösterilen ana gövde tasarımının yapılmasına karar verilmiştir. Bu çalışma büyük ve küçük serum tüpü için görüntü kaydı yapılacak şekilde tasarlanmıştır. Ana gövde üzerinde bulunan e-Esp32cam, neopiksel, as7262 elektronik bileşenleri gövde içerisine modüler olarak sabitlenmiştir. Sistem tasarımı hiçbir komponentin dış etkenlerden etkilenmeyecek şekilde kapalı ve kompakt olarak yapılmıştır.



Şekil 4.4. Preanalitik Okuyucu Ana Gövdesinin Önden ve Arkadan 3B Görünümü

Sistem elektroniği ana gövdenin altında yer alacak şekilde tasarlanmıştır. Ana gövde içinde yer alan sensör ve komponentlerin kablo bağlantıları kablo kanalları ile elektronik kutusuna ulaşmaktadır. Tüp sistem elektroniği ve batarya Şekil 4.5’te gösterilen elektronik kutu içerisinde konumlandırılmıştır. Bu bölümde sistem gücünü açıp kapatma anahtarı, bataryanın şarj edilebilmesi için usb kablo çıkışı ve barkod okuyucu usb girişi yer almaktadır.



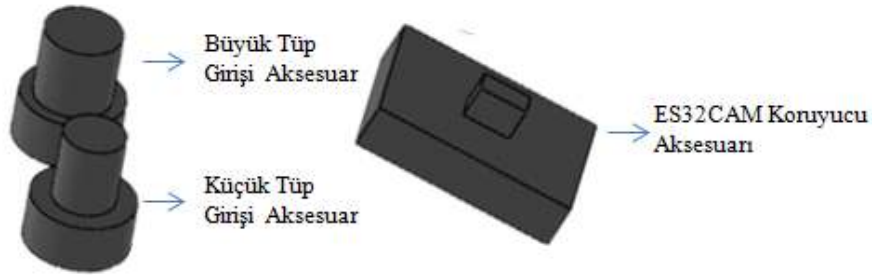
Şekil 4.5. Preanalitik Okuyucunun Elektronik Sistem Kutusu

Büyük ve küçük serum tüpleri genişlikleri ölçülerek deneme baskıları alınmıştır. Bu durumda prototipin tüp girişlerini oluşturacak kapak kısımlarının tasarım çalışmaları tamamlanmıştır. Şekil 4.6’da preanalitik okuyucunun tüp giriş kapağı gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Preanalitik Okuyucunun Tüp Giriş Kapağı

Kullanılmayan serum tüpü girişlerinden ışığın girişini engellemek için deliklerle uyumlu aksesuar tasarımları yapılmıştır. Aynı zamanda kamera modülü üzerinde bulunan hafıza kartının sürekli kullanımı kolay kılmak için Esp32cam ana kontrolcü bölümü açık bırakılmıştır. Buradaki elektronik bileşenlerin laboratuvar ortamında zarar görememesi için kontrolcü kartı koruma aksesuarı yapılmıştır. Şekil 4.7’de sistem aksesuarlarının üç boyutlu çizimleri gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Preanalitik Okuyucunun Aksesuar Tasarımları

CAD çizim çalışmalarının tamamlanmasının ardından Ender 3 Pro marka üç boyutlu yazıcı kullanılarak prototip baskıları alınmıştır. Işık geçirgenliğinin az olması ve sistem içerisine ışığın girişini engellemek amacı ile duvar kalınlığı 4 mm olarak ayarlanmıştır. Tasarlanan baskının üç boyutlu yazıcılar tarafından basılabilmesi için gcode uzantılı içerisinde XYZ koordinatlarını barındıran dosyalara çevrilmesi gerekmektedir. Cura 4.8 derleyici programı kullanılarak üç boyutlu yazıcı ayarlamaları yapılmış ve SLDPRT çizim dosyaları gcode uzantılı dosyalara çevrilmiştir. Prototip %30 dolulukta, 0.2 katman yüksekliğinde, 210 C° nuzzle ve 65 C° tabla sıcaklığında, 50 mm/s hızda yaklaşık 30 saat süren bir baskı sonucunda üretilmiştir. Baskı malzemesi olarak ışık emilimini ve

yansımaları önlemek amacı ile siyah PLA filament tercih edilmiştir. Şekil 4.8’de preanalitik okuyucunun baskı sonrası birleştirilmiş hali gösterilmiştir.



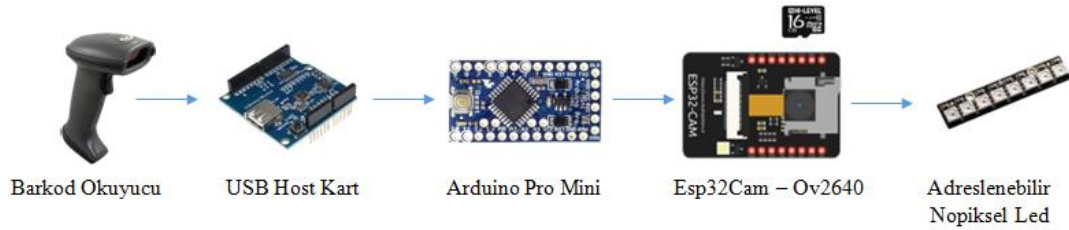
Şekil 4.8. Preanalitik Okuyucunun Baskı Sonrası Görüntüsü

4.1.2 Görüntülerin kaydedilmesi

Bu bölümde tasarlanan preanalitik okuyucunun elektronik bileşenleri hakkında bilgi verilmiştir. Elektronik tasarım iki bölüme ayrılmaktadır. Birinci kısım serum örneklerinin görüntülerinin kaydedilmesi için gereken elektronik tasarımı oluşturmaktadır. Bu kısımda görüntülerin analiz edilebilmesi için hafıza kartına kayıt edilmesi amaçlanmıştır. İkinci kısım okuyucunun personel tarafından kullanımını amaçlayan elektronik tasarımı oluşturmaktadır. Analiz sonrasında bulunan hemoliz, iktet ve lipemik örneklerinin R, G ve B değerleri arasındaki ilişki sisteme öğretilmiş ve yazılım içerisine gömülmüştür. Ek donanım geliştirmeleri sunularak elektronik tasarım geliştirilmiştir.

4.1.2.1 Görüntü kayıt prototipi elektronik tasarım çalışmaları

Görüntü kayıt süreçlerinde Şekil 4.8’de gösterilen prototip baskı kullanılmıştır. Kayıt süreçlerinde kullanılan elektronik bileşenler ve blok diyagramı Şekil 4.9’da gösterilmiştir.

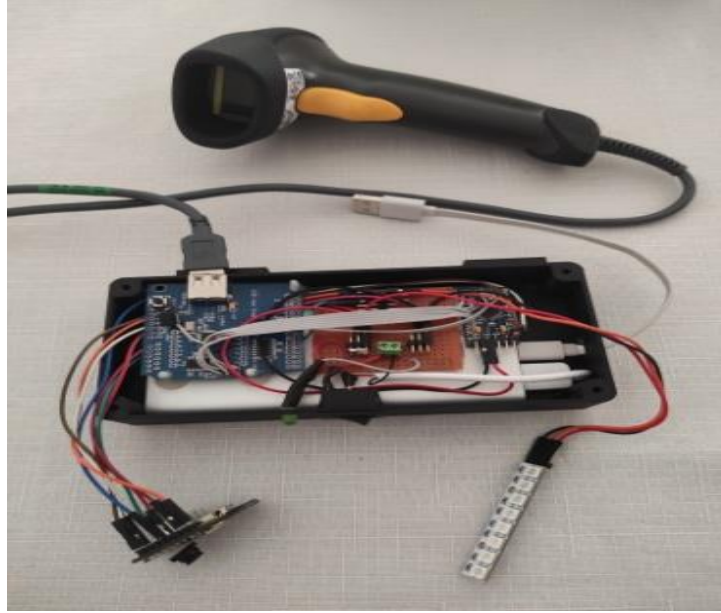


Şekil 4.9. Görüntü Kaydı İçin Tasarlanan Elektronik Devre Blok Diyagramı

Sistem üzerinde kullanılan sensör ve entegreler Esp32cam elektronik programlama kartı etrafında birleştirilmiştir. Preatalitik okuyucu güç kaynağı olarak 10.000 mAh lipo batarya kullanılmıştır. Batarya güç bağlantıları ile kontrolcü esp32 kontrolcüsü arasına anahtarlama yapılarak sistemin istenildiği durumlarda açılıp istenildiği durumlarda kapatılması sağlanmıştır. Elektronik sistem kutusu içerisinde Vcc ve Gnd ana güç dağıtım bağlantı noktaları oluşturularak çoğaltılmıştır. Kullanılan tüm sensörler ve kartlar için gerekli olan besleme gerilimleri bu noktadan sağlanmaktadır.

Görüntü kayıt süreci serum tüpü etiketinin barkod okuyucu ile okutularak tüpün okuyucu içerisine yerleştirilmesi ile başlamaktadır. Görüntüler hafıza kartı içerisinde serum tüpü etiket numarası ile kaydedilmektedir. Bu süreçte gerekli olan serum tüpü etiketlerinin sistem üzerinde otomatik anlamlandırılması için bir adet ticari usb barkod okuyucu ve usb host kartı kullanılmıştır. USB host kartı 3.3 volt çalışma gerilimi ile çalışmaktadır. Kullandığımız Arduino Pro Mini kartı 5V gerilimi ile çalıştığından ve üzerinde dahili bir voltaj regülatörü bulunmaması sebebi ile sistem üzerine Ams1117 voltaj regülatörü entegre edilerek gerekli olan 3.3 volt gerilim sağlanmıştır.

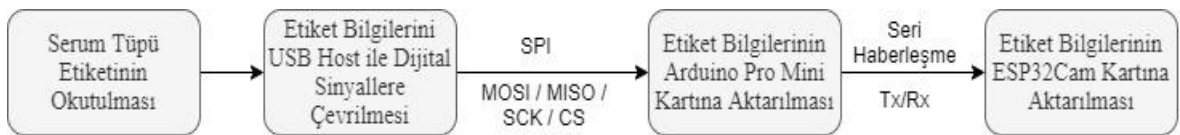
Işık kaynağı kontrolü için kullanılan adreslenebilir neopiksel led ile Esp32cam arasındaki bağlantılar oluşturulmuştur. Sistem üzerinde kullanılan neopiksel ledler 24-bit renk derinliğe sahip olup 4-7 volt DC gerilim ile çalışmaktadır. Neopiksel yalnızca bir mikro denetleyici kullanılarak sürebileceğimiz yanı zamanda arka arkaya bağlayarak çoklu kullanım imkânı sağlayan pratik bir RGB ledlerdir. Sistemimizde kullandığımız kartta sekiz adet neopiksel bulunmaktadır ve bu ledler birbirine seri bağlıdır. Sekizli neopiksel ledde dört adet bağlantı noktası bulunmaktadır. Bu bağlantılar sırası ile Gnd, Vcc, Din, Dout'tur. Gnd ve Vcc pinleri ana güç dağıtım noktasına bağlanmıştır. Din pini Esp32cam üzerinde bulunan programlanabilir on ikinci dijital giriş / çıkış pinine bağlanmıştır. Sistem içerisinde iki adet tüp ışık kaynağı olması sebebi ile diğer neopiksel led ikinci dijital I/O pinine bağlantısı gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.10'da görüntülerin kaydedilmesi için tasarlanan sistem elektroniği gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Görüntülerin Kaydedilmesi İçin Tasarlanan Sistem Elektronik

4.1.2.2 Görüntü kavıt prototipi yazılım çalışmaları

Görüntülerin kaydedilmesi için iki ayrı kod çalışması yapılmıştır. Yazılım çalışmaları Arduino IDE platformu kullanılarak yapılmıştır. İlk adım serum tüpü barkod numaraları elde etmek amacı ile Atmega328 için yapılmıştır. Tüp etiketlerinin dijital verilere dönüştürülmesi için USB host kartı kullanılmıştır. USB host kartı etiket bilgilerini Arduino'ya aktarmaktadır. Veri aktarım işlemi SPI haberleşme protokolü kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Görüntülerin kaydedileceği hafıza kartı esp32 üzerinde yer almaktadır. Bu nedenle barkod bilgisi tx / rx pinleri kullanılarak seri haberleşme yolu ile esp32 kartın aktarılmıştır. Arduino için yapılan kod çalışmalarında SPI [76], SoftwareSerial [77] ve usb host kartının kullanımı kolay kılmak için ushub [78] kütüphanelerinden yararlanılmıştır. Şekil 4.11'de serum tüplerinin barkod bilgilerinin elde edilmesi blok diyagramı olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.11. Serum Örnekleri Barkod Bilgilerinin Elde Edilmesi

Adreslenebilir ledlerin kontrol edilmesi ve görüntülerin kaydedilmesi bu kısımda yapılan ikinci yazılım çalışmasını oluşturmaktadır ve esp32 kontrol kartı için oluşturulmuştur. esp32 kartına seri haberleşme ile gelen barkod bilgileri tanımlanan

değişkenlerde tutulmaktadır. Bu çalışmada 8'li adreslenebilir neopiksel led kullanılmıştır. Neopiksel üzerinde bulunan Ws2812b entegresi kırmızı, yeşil ve mavi olmak üzere üç renginde ayrı ayrı kontrol edilmesini sağlamaktadır. Neopiksel led esp32 kontrolcü kartı ile tek kanal üzerinden I2C protokolü kullanılarak haberleşmektedir. Adreslenebilir ledlerin kullanılması için FastLED [79] kütüphanesinden faydalanılmıştır. FastLED kütüphanesi farklı ticari led entegrelerinin kullanımını kolaylaştırmaktadır. Kütüphane içerisinde Ws2812b entegresi ile uyumlu çalışabilen sınıflar bulunmaktadır. Kütüphane değişkenleri kullanılarak neopiksel ledlerin renkleri, parlaklıkları ve led adreslemeleri yapılmıştır. Işık türünün ayarlanması için fill_solid() fonksiyonu kullanılmıştır. Bu fonksiyon sırasıyla neopiksel ledin bağlı olduğu dijital pin, adreslenebilir led sayısı ve ışık türü değişkenlerini almaktadır. Işık türü değişkeni sırasıyla kırmızı, yeşil, mavi ledlerin değerlerini içermektedir. Neopiksel led üzerindeki her bir led piksel olarak ifade edilmektedir. Her piksel 24 bitlik renk derinliğine sahiptir. Pikseli oluşturan kırmızı, yeşil ve mavi renkler 8 bitlik veri genişliğinde yani 0-255 arasındaki değerler ile ifade edilmek Görüntüler hemoliz tespiti için (255,255,0) iktar tespiti için (0,255,255) ve lipemi için (255,255,255) RGB ışık altında kaydedilmiştir. RGB led parlaklığı da sekiz bitlik veri aralığında on beş olarak ayarlanmıştır. Parlaklık değeri görüntüler üzerinde denemeler yapılarak en uygun ve görüntü kalitesini etkilemeyecek seviyede seçilmiştir.

Esp32cam üzerinde bulunan Ov2640 kamerası pin adreslemeleri tanımlanmıştır. Görüntülerin elde edilmesi ve kamera ayarlarının tanımlanabilmesi için esp_camera [80] kütüphanesi kullanılmıştır. Bu kütüphane kullanılarak kameranın kontrast, çözünürlük, parlaklık, saturasyon, lens, görüntü döndürme gibi ayarlar yapılabilmektedir. Tablo 4.1'de görüntü kaydı için kullanılan kamera yazılım ayarları gösterilmiştir.

Tablo 4.1. OV2640 Kamera Yazılım Ayarları

Özellik	Anlamı	Değer Aralığı	Ayarlanan Değer
set_brightness()	Parlaklık	-2 den 2	-2
set_whitebal()	Beyaz Dengesi	0 – Kapalı 1 – Açık	0
set_saturation()	Saturasyon	-2 den 2	2
set_lenc()	Lens Düzeltmesi	0 – Kapalı 1 – Açık	0
set_contrast()	Kontrast	-2 den 2	2
set_framesize()	Çözünürlük	Framesize_uxga (1600 x 1200) Framesize_qvga (320 x 240) Framesize_cif (352 x 288) Framesize_vga (640 x 480) Framesize_svga (800 x 600) Framesize_xga (1024 x 768) Framesize_sxga (1280 x 1024)	Framesize_vga
set_awb_gain()	Beyaz Dengesi Kazancı	0 – Kapalı 1 – Açık	0
set_exposure_ctrl()	Pozlama Kontrolü	0 – Kapalı 1 – Açık	0
set_vflip()	Dikey Döndürme	0 – Kapalı 1 – Açık	0
set_hmirror()	Yatay Döndürme	0 – Kapalı 1 – Açık	0
set_special_effect()	Spesifik Efekt	0 – Efekt Yok 1 – Negatif 2 – Gri Tonlama 3 – Kırmızı 4 – Yeşik 5 – Mavi 6 – Kahverengi	0

Bu çalışmada ışık kaynağı olarak sadece tüplerin arka kısmında bulunan neopikseller kullanılmıştır. Bu nedenle esp32 üzerinde bulunan dâhili flash ledi kapatılmıştır. Görüntülerin hafıza kartına kaydedilmesi için SD_MMC [80] kütüphanesinden faydalanılmıştır. Şekil 4.12’de görüntü kayıt yazılım süreçlerinin blok şeması gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Görüntü Kaydı Yazılım Aşamaları

Şekil 4.13’de hafıza kartına kaydedilen farklı ışık altındaki numune görselleri yer almaktadır.

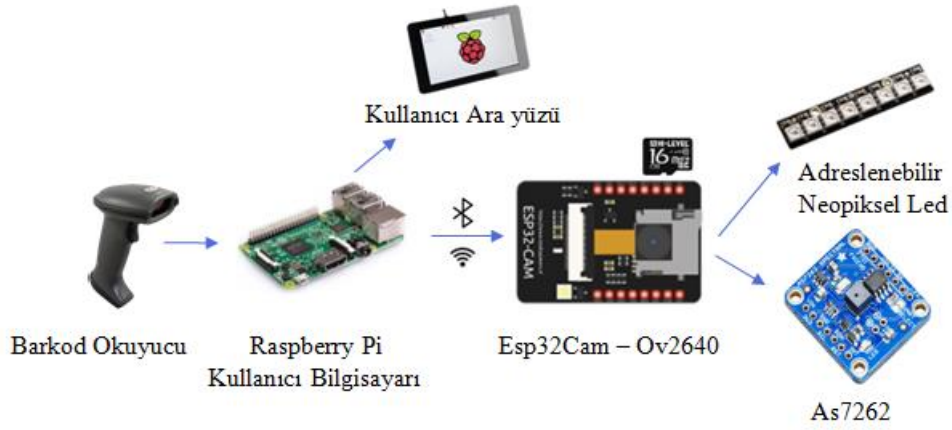


Şekil 4.13. Farklı Işık Altında Çekilen Görüntüler

4.1.3 Preanalitik okuyucu elektronik tasarımı

Görüntülerin kaydedilmesinin ardından elektronik sistem çalışmaları geliştirilerek devam etmiştir. Bu süreçte preanalitik okuyucunun kullanıcı tarafından kullanılması ve

analizin okuyucu sistem tarafından yapılması için bazı geliştirmeler yapılmıştır. Şekil 4.14'te preanalitik okuyucunun elektronik blok diyagramı gösterilmiştir.



Şekil 4.14. Preanalitik Okuyucu Sistem Elektronik

Sistem elektronikğine Raspberry Pi bilgisayarı eklenmiştir. Görüntülerin HIL serum indeks değerlerini belirlemek amacı ile geliştirilen yazılım Raspberry Pi bilgisayarı tarafından kontrol edilmektedir. Aynı zamanda geliştirilen kullanıcı ara yüzü Raspberry Pi üzerine bağlanan ekran ile kullanılmaktadır. Görüntü analizi ve kullanıcı ara yüz tasarım çalışmaları bir sonraki bölümde ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

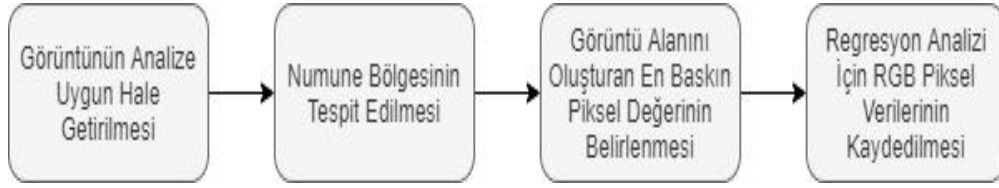
Raspberry Pi, usb aygıtları otomatik tanıyabilmektedir. Bu nedenle görüntü kayıt süreçlerinde kullanılan usb host kart ve Arduino Pro Mini sistem elektroniklerinden çıkartılmıştır. Kullanıcı bilgisayarı olarak tasarlanan Raspberry Pi ve üzerine bağlantısı gerçekleştirilen ekran ve barkod okuyucu 12 voltluk DC bir adaptör ile beslenmektedir.

Işık kaynağı neopiksel ve görüntü kayıtları Esp32cam kullanılmaya devam edilmiştir. Buna ek olarak okuyucu içerisinde ışık yoğunluğunu sabit kılmak ve dış ortandan gelen ışıkları tolere etmek amacı ile as7262 spektrometre sensörü kullanılmıştır. As7262 sensörü okuyucu içerisinde tüpe ve ışık kaynağına yakın olacak şekilde konumlandırılmıştır.

4.1.4 Preanalitik okuyucu yazılım geliştirme çalışmaları

Görüntü analizi ve uyumlu kullanıcı ara yüzü geliştirme çalışmaları Visual Code [74] derleyici programında Python 3.7 [75] programlama dili kullanılarak yapılmıştır. Açık kaynak kütüphanelerinin çok sayıda bulunması ve görüntü işleme algoritmalarının

zenginliği nedeni ile Python programlama dili tercih edilmiştir. şekil 4.15'te görüntü analizi yazılım aşamaları blok diyagramı olarak gösterilmiştir.



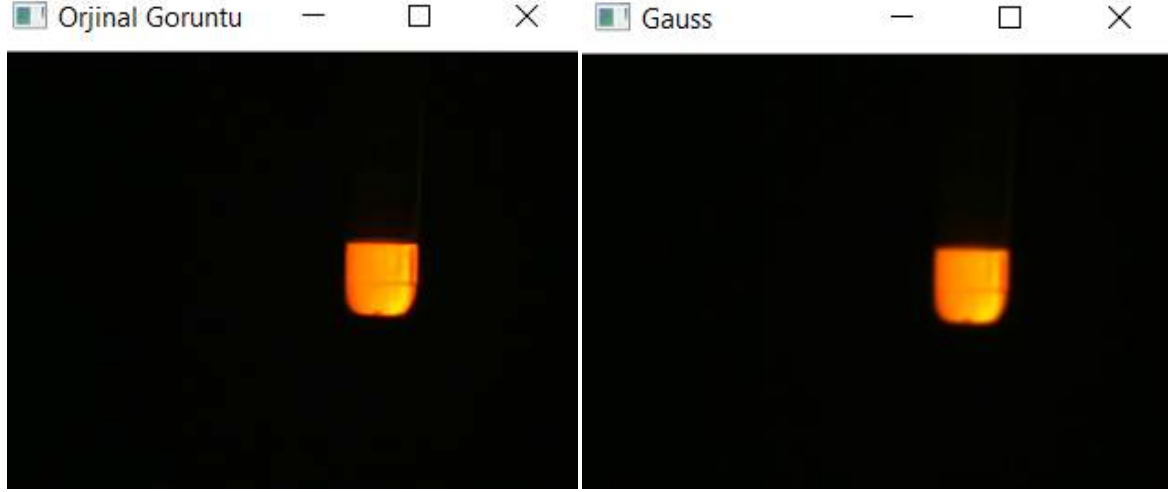
şekil 4.15. Görüntü Analizi Yazılım Aşamaları

4.1.4.1 Görüntünün analize uygun hale getirilmesi

Sistem besleme geriliminde meydana gelebilecek dalgalanmalar, görüntülerin hafıza kartına kaydedilmesi sırasında gerçekleşebilecek veri transfer problemlerinden dolayı görüntü sinyalleri bozulabilmekte ve görüntü kalitesi düşebilmektedir. Bu nedenle sistem tarafından kaydedilen görüntüler analiz için direk kullanılmamıştır. Görüntü işlemede, filtreler görüntüyü yumuşatmak ya da kenarları belirginleştirmek için dijital filtreler kullanılmaktadır. Filtrelemede, ıkış görüntüsü $g(i,j)$, girdi görüntüsü $f(i,j)$ filtre fonksiyonu $h(i,j)$ ile konvolüsyon işlem sonucunu temsil etmektedir. Bu işlem matematiksel olarak eşitlik (4.1)'de gösterilmiştir.

$$g(i,j) = h(i,j) \odot f(i,j) \quad (4.1)$$

Konvolüsyon işlemi, bir çekirdek şablonun resim üzerindeki gezdirilerek görüntüyü oluşturan pikseller ile kaydırma ve çarpma işlemi olarak tanımlanabilir. Bu işlemde belirlenen şablon matris görüntü üzerinde kaydırılır ve değer görüntüyü oluşturan pikseller ile çarpılır. Konvolüsyon ve filtreleme alışmaları OpenCV [81] kütüphanesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Görüntüler üzerinde gürültülerin temizlenmesi için alçak geçiren filtreleme yöntemlerinden biri olan gaussianblur filtresi uygulanmıştır. Bu çalışmada filtrelemede kullanılan çekirdek şablon matrisinin boyutları [5,5] olarak belirlenmiştir. şekil 4.16'da gaussianblur filtresi uygulanan görüntü gösterilmiştir.



Şekil 4.16. Görüntü Üzerine GaussianBlur Filtresi Uygulanması

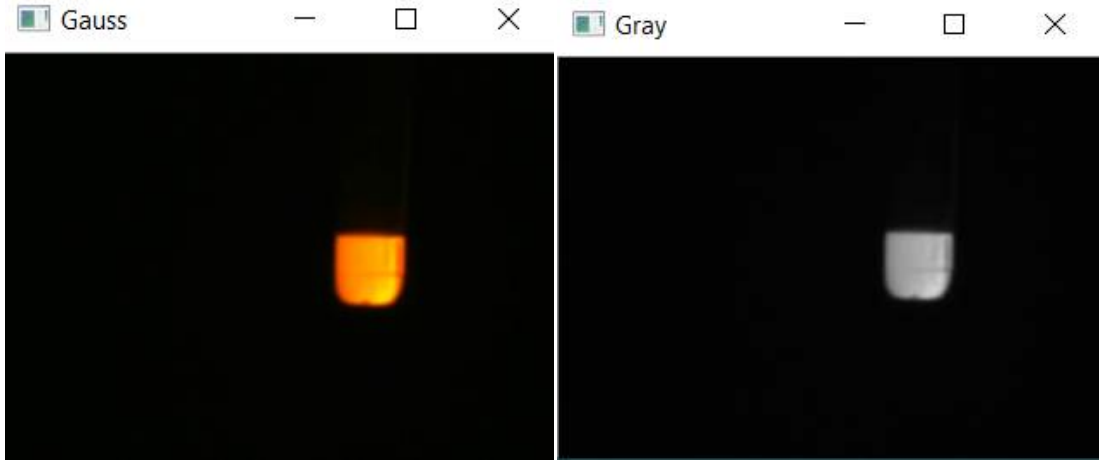
4.1.4.2 Görüntü serum bölgesinin tespit edilmesi

Biyokimya laboratuvarlarında çalışılan serum örnekleri her zaman aynı seviyede olmamaktadır. Analiz için kullanılacak görüntülerde sabit bir görüntü alanı çerçevesi belirlenerek deneme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda incelenen bölgenin bazı durumlarda serum bölgesinin dışını bazı durumlarda ise serumun bir bölümünü kapsadığı görülmüştür. Şekil 4.17’de farklı seviyelere ait serum örnekleri gösterilmiştir.



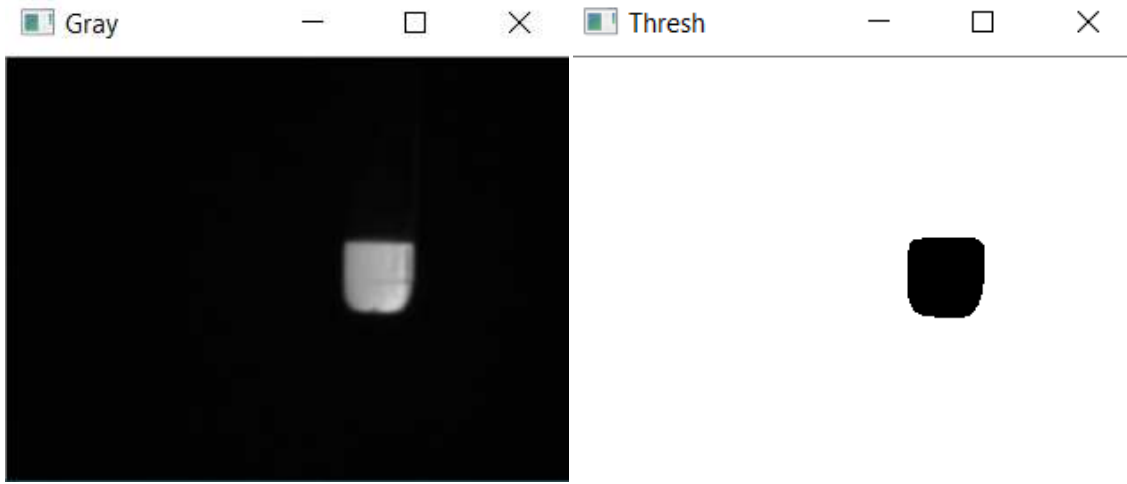
Şekil 4.17. Farklı Seviyelerdeki Serum Örnekleri Görüntüsü

Bu çalışmada serum örneklerinin görüntü içerisinde otomatik olarak tespit edilmesi amaçlanmıştır. Görüntü alanının örnek seviyesine bağlı olarak değişmesi sağlanmıştır. Serum bölgesi tespit aşamaları filtrelenmiş görüntü renk uzayının gray formata dönüştürülmesi ile başlamıştır. Şekil 4.18’de görüntünün gray formata dönüştürülmüş hali gösterilmiştir. Burada ki ana hedef serumun arka plandan ayrılmasını sağlamaktır.



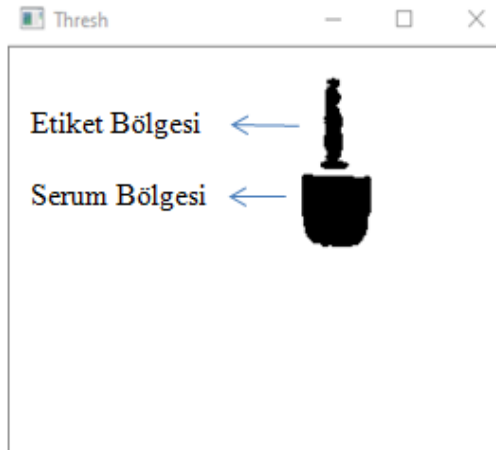
Şekil 4.18. Görüntünün Gray Formata Dönüştürülmesi

Numune bölgesinin net bir şekilde tespit edilmesi ve arka plandan ayrılması için threshold methodu kullanılmıştır. Görüntüler için belirlenen spesifik bir threshold değeri bulunmamaktadır. Bu nedenle doğru tespit için threshold değeri görüntüye göre değişmektedir. Threshold değeri minimum seviyede başlatılmış ve serum bölgesi tespit edilene kadar otomatik artırılarak devam ettirilmiştir. Threshold methodunda görüntü belirlenen eşik değere göre binary görüntüye çevrilmektedir. Binary görüntü beyaz arka plan üzerinde siyah objeleri ifade etmektedir. Görüntü dönüşümleri OpenCV kütüphanesi kullanılarak yapılmıştır. Matplotlib [82] kütüphanesi kullanılarak görüntülerin gösterilmesi sağlanmıştır. Şekil 4.19’da binary formata dönüştürülmüş görüntü gösterilmiştir.



Şekil 4.19. Görüntünün Binary Formata Dönüştürülmesi

Görüntüyü içerisinde serumu oluşturan bölgenin arka plandan ayrılması sağlanmıştır. Bu durumda serum bölgesinin koordinatlarının belirlenmesi gerekmektedir. Görüntüler her zaman Şekil 4.19’da görüldüğü gibi temiz ve belirgin çıkmamaktadır. Tüp üzerindeki etiketlerin standartlara uygun olmaması, serum seviyesinin çok az olması ışık kaynağının görüntü ve tüp üzerinde gölgelenmelere neden olduğu görülmüştür. Bu gölgeler binary görüntü içerisinde siyah alanlar yaratmakta ve görüntü içerisinde farklı bölgelerin oluşmasına neden olmaktadır. Bununla ilgili görsel Şekil 4.20’de gösterilmiştir.

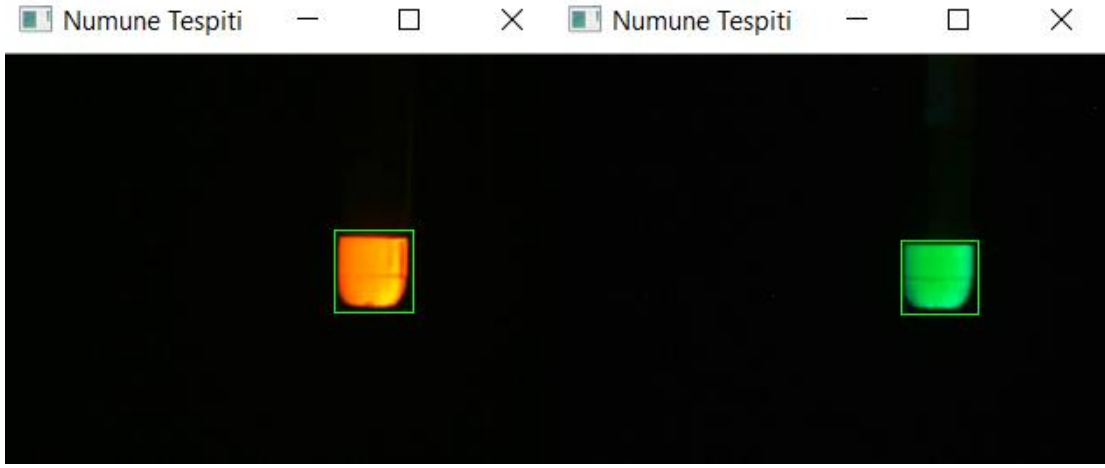


Şekil 4.20. Tüp Etiketlerinin Binary Görüntü Üzerindeki Etkisi

Bu durumun ortadan kaldırılması için görüntü içerisinde bulunan konturların yani kapalı alanların tespit edilmesi gerekmektedir. Konturlar genel anlamda aynı renk ve yoğunluğa sahip bölgelerin birbirleri ile komşulukları kesintisiz bir şekilde devam noktaları birleştiren bir eğri olarak tanımlanabilir. Konturların kullanılması için görüntünün

binary formatı üzerinden işlem yapılması gerekmektedir. Konturların tespit edilmesi için OpenCV kütüphanesi içerisinde yer alan `findcontours()` fonksiyonu kullanılmıştır. Bu fonksiyon üzerinde çalışılan görüntünün değişmesine neden olacağı için orijinal görüntü yazılım içerisinde kopyalanarak farklı değişkenlere atanmıştır. `Findcontours()` fonksiyonu içerisine üç parametre almaktadır. Birinci parametre kontur bulunacak kaynak görüntüyü ifade eder. İkinci parametre kontur almak için belirlenen modu ifade ederken üçüncü parametre ise kontur yaklaşım metodudur. Bu fonksiyon sonucunda görüntü, kontur ve hiyerarşi ortaya çıkmaktadır. Yazılım içerisinde belirlenen değişkenine atanan veriler görüntüdeki konturların Python programlama dilindeki bir listesini ifade etmektedir. Her kontur nesnenin sınır noktaları koordinatlarının bir numpy [83] dizisini oluşturmaktadır. Bu çalışma da kontur modu olarak `RETR_TREE` kullanılmıştır. Görüntü içerisinde bulunan konturlar içerisinde yine başka konturlar bulunabilmektedir. Ancak bu çalışmada incelenen görüntülerde sıvı birikim incelendiği için bu ayrışma gözlemlenmemektedir. Bu çalışmada tespit edilen konturlar en dış katmanı oluşturmaktadır. Bu durumda konturların içinde oluşabilecek kapalı alanlar dikkate alınmamıştır. Kontur yaklaşım metodu olarak `Chan_Approx_None` kullanılmıştır. Bu mod sayesinde tespit edilen konturların alan, koordinat, şekil vb bilgiler belirlenen değişken altında saklanmaktadır.

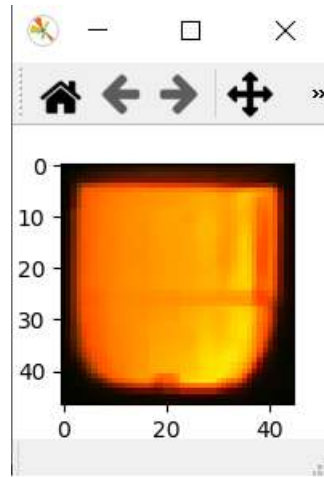
Tespit edilen konturların koordinat bilgileri değişkenlere kaydedilmiştir. Yazılım içerisinde `rectangle()` fonksiyonu kullanılarak konturlar çerçeve içerisine alınmıştır. Bu fonksiyonda ilk parametre kaynak görüntüyü içermektedir. İkinci parametre görüntüdeki konturların Python listesini ifade etmektedir. Üçüncü parametre konturların indeksi, dördüncü parametre çizim rengini ve son olarak beşinci parametre ise argüman çizimin kalınlığını temsil etmektedir. Şekil 4.21’de farklı görüntülerde tespit edilen konturlar gösterilmiştir.



Şekil 4.21. Farklı Görüntülere Ait Numune Bölgelerinin Tespit Edilmesi

4.1.4.3 Örneklere ait renk kodlarının belirlenmesi

Görüntü alanı olarak belirlenen ve tespit edilen bölge kırpılarak yeniden boyutlandırılmıştır. Görüntünün küçültülmesi ve yeniden boyutlandırılmasında cv2 sınıfı içerisinde yer alan `resize()` fonksiyonu kullanılmıştır. Şekil 4.22’te numune bölgesinin kırpılmış görüntüsü verilmiştir. Bir görüntünün yeniden boyutlandırılması, orijinal görüntüden yeni görüntünün piksel değerlerini hesaplamamanın bir yolunu gerektirir. Burada piksel alanı ilişkisi kullanılarak yeniden örnekleme yapılabilmesi için `Inter_Area` interpolasyon yöntemi kullanılmıştır. İnterpolasyonlu piksel değeri, iki orijinal komşu pikselin ağırlıklı ortalamasını ifade etmektedir. Ağırlıklar, iki piksele olan mesafelere bağlıdır. Ağırlık ortalamaları mesafelere göre doğrusal olarak değişmektedir.



Şekil 4.22. Serum Bölgesinin Kırpılmış Hali

Kümeleme algoritması, görüntüyü oluşturan piksel datalarının kendi içerisinde sınıflandırılmalarına dayanan algoritmalara verilen genel bir ifadedir. Kümeleme algoritmaların da sistem için sunulan veriler sınıflandırma algoritmalarında direkt eğitim verileri olarak sunulmamaktadır. Verilerin kendi içerisindeki benzerlikleri baz alınarak en uygun sınıflandırmanın oluşmasına dayanmaktadır. Bu çalışmada sklearn.cluster [84] kütüphane paketi içerisinde yer alan K-means kümeleme algoritması kullanılmıştır. K-means algoritması, makine öğrenmesi alanında sıkça tercih edilen kümeleme algoritmalarındandır. Bu algoritma, belirlenen küme sayısına göre rastgele kümeler oluşturmaktadır. Rastgele oluşturulan bu kümelerin orta noktaları belirlenerek, her bir verinin, ait olduğu kümenin orta noktasına olan uzaklıkları hesaplanmaktadır. Verinin yer aldığı küme için hata hesaplamaları yapılarak yer aldığı kümeye uygunluğu hesaplanabilmektedir. K-means algoritması bu hata oranının en aza indirilmesi üzerinde çalışmaktadır. Bu durum verilerin en uygun kümeye yerleştirilmesini sağlamaktadır. Bu çalışmada görüntü üzerinde en baskın piksel rengin tespiti için bir adet küme oluşturulmuştur. Kümeyi oluşturan Python etiketleri belirlenen değişkenlere atanmıştır.

Skimage.color() [85] fonksiyonu içerisinde yer alan rgb2lab sınıfı kullanılarak görüntü alanını oluşturan piksel verileri sayısal değerlere dönüştürmektedir. Küme içerisinde yer alan ve tespit edilen piksel değerleri deltaE_cie76 sınıfı kümeyi oluşturan matris üzerinde tarama yapmakta ve piksel verilerini birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Baskın piksel değeri hem hex formatında hem RGB renk uzayı formatında kullanıcıya sunmaktadır. Şekil 4.23'te analiz sonucunda bulunan piksel değeri pasta grafiği oluşturularak gösterilmiştir.



Şekil 4.23. Analiz Sonucunda Tespit Edilen Baskın Piksel Değeri

Analiz yapılan tüm serum örnekleri için barkod bilgileri, neopikselin ışık tipi, örneklere ait otoanalizör HIL serum indeks sonuçları ve analiz sonucunda elde edilen R,G

ve B verileri MS Excel programına kaydedilmiştir. Tablo 4.2’de bir örneğe ait veri kayıt tablosu gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Örneklere Ait Verilerin Kaydedilmesi

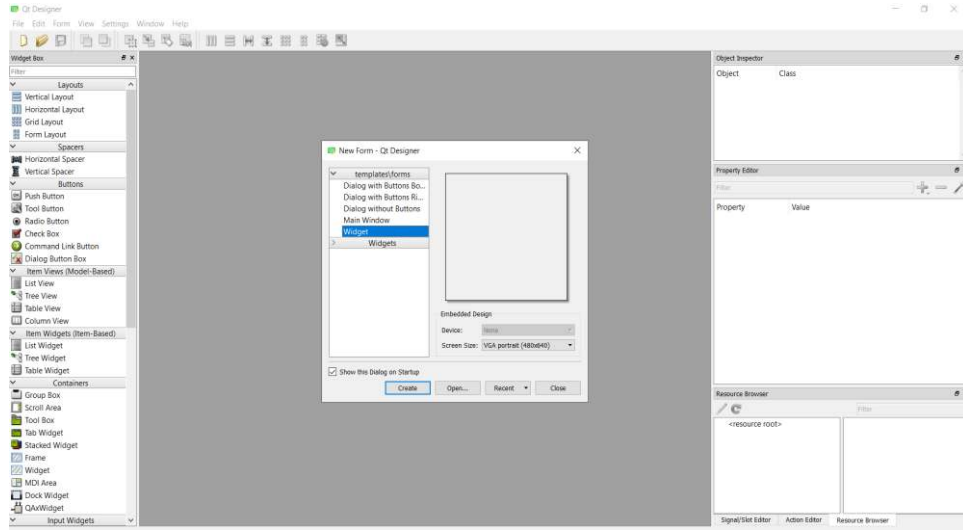
Barkod	Hemoliz 505-600 nm	İkter 480–505 nm	Lipemi 480-505-600 nm	Otoanalizör Değerleri			Ölçümler (Python)		
	R=255 G=255 B=0	R=0 G=255 B=255	R=255 G=255 B=255	H	I	L	R	G	B
XXXXXX	✓			33	0,8	7	255	234	11
		✓					0	192	45
			✓				254	253	68

Bu çalışma sonucunda görüntülere ait piksel değerleri yapay zekâ algoritmaları kullanılarak hesaplanmıştır. Serumlara ait renklerin tespiti için daha kararlı bir sistem oluşturulmuştur. Böylelikle görsel değerlendirme sırasında personelden kaynaklanacak hataların önüne geçilmesi amaçlanmıştır. Piksel verileri ile HIL indeks değerleri arasındaki ilişki sonuç bölümünde ayrıntılı olarak paylaşılmıştır.

4.1.4.4 Kullanıcı ara yüzü tasarımı

Preanalitik okuyucu sistemin biyokimya laboratuvarlarında personellerin kullanımına imkân sağlamak için kullanıcı ara yüzü çalışmaları yapılmıştır. Anlık HIL serum indeksi tespiti için gerçekleştirilen karar verici yazılım ara yüz programı ile entegre hale getirilerek sistem bilgisayarı olarak kullanılan Raspberry Pi içerisine yüklenmiştir. Ara yüz C++ [72] programla dili ile yazılan ve çapraz platform uygulamalarında sıkça tercih edilen Qt Python’da kullanım imkânı sunan PyQt [73] kütüphanesi kullanılarak tasarlanmıştır. PyQt, kullanıcı için grafiksel ara yüzleri, xml, işlemeyi, ağ iletişimini, SQL veri tabını işlemleri gibi birçok sınıfı içerisinde barındıran bir kütüphanedir. PyQt iki farklı şekilde kullanıcı ara yüzü tasarlamamıza imkân sağlamaktadır. Bunlardan birincisi ara yüz eklentilerinin (buton, text, label vb.) tamamen Python kodları kullanılarak tasarlanmasıdır. İkinci yöntem ise PyQt kütüphane kurulumu ile birlikte gelen Qt Designer eklentisi kullanılarak ara yüzün tasarlanmasıdır. Bu çalışmada Qt Designer 5.9.7 [73] eklentisi kurularak ara yüz

tasarımı gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.24'te Qt Designer ara yüz geliştirme ortamı gösterilmiştir.



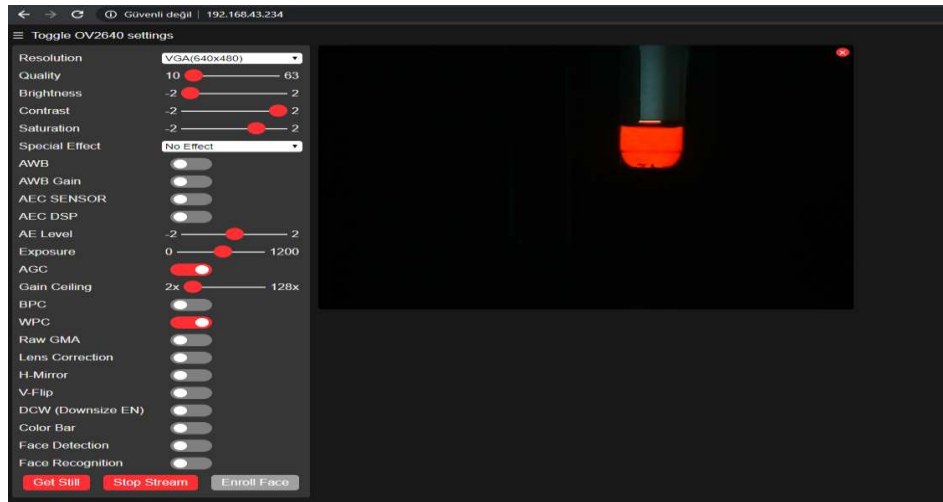
Şekil 4.24. Qt Designer Ara Yüz Geliştirme Ortamı

Prenanalitik okuyucu sistemin kullanıcıyı yönlendirebilen, sade bir ara yüze sahip olması amaçlanmıştır. Ara yüz 750 piksel genişliğe 500 piksel yüksekliğe sahiptir. Kullanıcı bilgisayarına bağlanabilen dokunmatik ekran tipleri ile uyumlu çalışabilmektedir. Şekil 4.25'te kullanıcı ara yüzünü oluşturan bileşenler ve sınıflandırmalar numaralandırılarak gösterilmiştir.

Şekil 4.25. Kullanıcı Ara yüzü Tasarım Çalışması

Okuyucu sistem ve kullanıcı bilgisayarı arasında kablosuz iletişim ile veri ve görüntülerin aktarılması amaçlanmıştır. Kablosuz haberleşme sayesinde laboratuvar içerisinde sistemin kullanım yeri rahatlıkla değiştirilebilmekte ve kablo karmaşasından kurtularak daha bağımsız bir sistem haline gelmektedir. Bu çalışmada görüntü analizlerinin internet ağı kullanılarak yapılmasının yanı sıra eski görüntüler üzerinde de işlem yapılabilmesi sağlanmıştır. Gerekli haller durumlarda kullanıcı veritabanında saklanan görüntüler üzerinde yeniden HIL serum indeks hesaplamalarını yapabilmektedir. Kullanıcının bu tercihi yapabilmesi için Şekil 4.25 bir numaralı kutucukta gösterilen menü barlar oluşturulmuştur.

Görüntülerin anlık internet ortamına aktarılması için yazılım çalışmaları yapılmıştır. Kullanıcı bilgisayarı olarak kullanılan Raspberry Pi ve preanalitik okuyucu kontrol kartı esp32nin dâhili wifi entegreleri kullanılarak preanalitik okuyucu sistemin aynı internet ağına bağlanması sağlanmıştır. Aynı zamanda kullanıcı bilgisayarı ve preanalitik okuyucu birbirlerine bluetooth ile bağlanmıştır. Esp32cam'in bağlı olunan ağ üzerinde statik bir IP yaratılarak bir web server oluşturulmuştur. Görüntülerin anlık olarak web serverına aktarılması sağlanmıştır. Kullanıcı bilgisayarı belirlenen IP adresi üzerinden görüntülere erişebilmektedir. Sistemin farklı görüntü modlarında çalıştırılabilirliğini sağlamak için kamera ayarları hem yazılım içerisinde hem IP adresi üzerinden değiştirilebilmektedir. Web server kullanılarak okuyucu sistemin kamera ayarları daha efektif bir şekilde kullanılmaktadır. Şekil 4.26'da anlık elde edilen bir görüntünün web servera aktarılmış hali gösterilmiştir.



Şekil 4.26. Görüntünün Anlık İnternet Ortamına Aktarılması

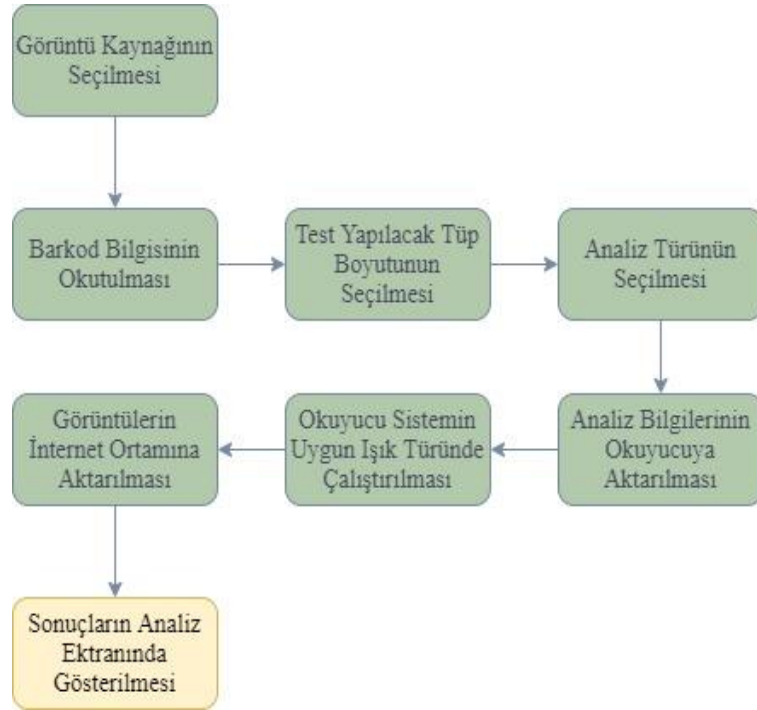
Görüntü kaynağı seçilmesinin ardından örneğe ait barkodun okutulması gerekmektedir. Okutulan barkod bilgileri Şekil 4.25'te gösterilen iki numaralı kutucuğa gelmektedir. Sistemin gelecek çalışmalarda Hastane Bilgi Yönetim Sistemine (HBYS) entegre edilebilir olması amaçlanmaktadır. Bu sayede barkod bilgilerinin okuyucu sisteme okutulduktan sonra hastaya ait gerekli tüm verilerin HBYS'den çekilerek ara yüze aktarılması gerçekleştirilebilecektir.

Barkod bilgi girişlerinin ardından kullanıcının hangi tüp için analiz yapacağını seçmesi gerekmektedir. Bu seçim Şekil 4.25'te üçüncü kutucuk içerisinde yer alan onay kutucukları ile yapılmaktadır. Yazılım iki tüpün aynı anda seçilmesini ve tüp seçimlerinin yapılmadan analize başlanmasına izin vermez. Kullanıcının yanlış ya da eksik seçimleri mesaj kutusu olarak uyarı ifadeleri oluşturulmuştur. Şekil 4.27'de örnek bir uyarı mesaj kutusu gösterilmiştir.



Şekil 4.27. Ara Yüz Uyarı Mesajı Örneği

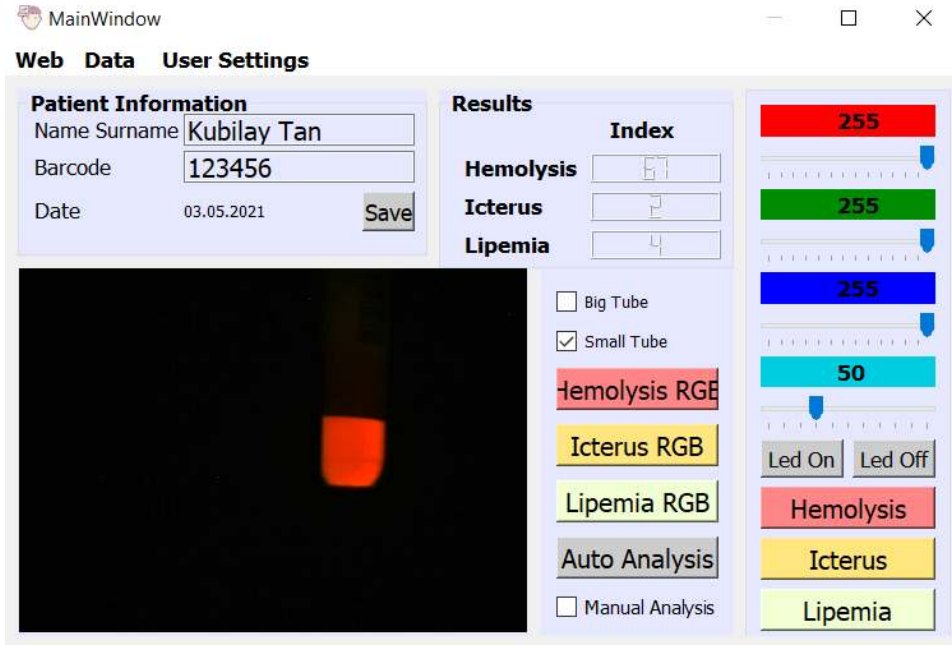
Bu çalışma hemoliz ikter ve lipemik serum indeks değerlerinin hem ayrı ayrı hem de hepsini birden otomatik hesaplama yapabilecek şekilde geliştirilmiştir. 4.25 dördüncü kutu içerisinde kullanıcı için hesaplama butonları gösterilmiştir. Kullanıcı hesaplama butonuna basmasının ardından Raspberry, esp32 okuyucu kartına bluetooth sinyali göndermektedir. Bu sinyal bilgileri içerisinde hangi tüp üzerinde çalışıldığı ve hangi analiz için işlem yapıldığı yer almaktadır. Esp32 gelen sinyali değerlendirmekte ve neopiksel ışık kaynağını uygun RGB ışık türünde çalıştırmaktadır. Kameradan elde edilen görüntü bağlı olunan internet ağı üzerinden web servera aktarılmaktadır. Şekil 4.28'de görüntü aktarım algoritması gösterilmiştir. Aktarılan görüntü kullanıcı bilgisayarını tarafından ara yüze aktarılmaktadır. Şekil 4.25'te altı numaralı kutu içerisine web servera aktarılan görüntü gelmektedir.



Şekil 4.28. Preanalitik Okuyucu Ara Yüzü Çalışma Adımları

Preanalitik okuyucu sistem farklı RGB ışık türlerinde de analiz yapma imkânı sunmaktadır. Kullanıcı set edilen ışık türleri dışında farklı bir RGB renk türünde çalışmak isterse ara yüzde bulunan manuel analiz onay kutusunu işaretlemelidir. Kutunun onaylanmasının ardından ara yüz ekranı genişlemekte ve Şekil 4.25'te beş numaralı kutuda gösterilen RGB ayar sliderları gelmektedir. RGB ve parlaklık değerleri set edildikten sonra neopiksel ışık kaynağı açılıp kapatılabilmektedir. Burada set edilen RGB verilerinin okuyucu sisteme aktarımı yine bluetooth sinyalleri ile gerçekleşmektedir. Manuel analizin aktif olduğu durumlarda dört numaralı kutu içerisinde yer alan analiz butonları kullanılamaz duruma geçmekte ve analiz için beş numaralı kutu içerisindeki butonlar kullanılmaktadır.

Görüntü analiz sonuçları Şekil 4.25'te yedi numaralı kutucuk içerisinde gösterilmektedir. Şekil 4.29'da preanalitik okuyucu sistemin ara yüz programı çalışır durumda gösterilmiştir.



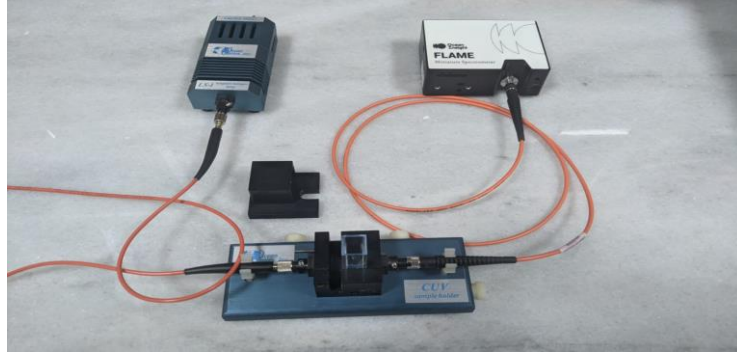
Şekil 4.29. Preanalitik Okuyucu Kullanıcı Ara Yüzü

4.2 Spektrometre Çalışmaları

Bu çalışmada hemoliz serum indeksinin belirlenmesi için iki, ikterus serum indeksinin belirlenmesi için iki ve lipemi serum indeksinin belirlenmesi için üç dalga boyunda analizler yapılmıştır. Hemoglobinin, bilirubinin ve lipidlerin kendilerine özgü spektral özellikleri vardır. Bilirubin 350-525 nm arasında absorptans göstermekte ve en güçlü absorptans değerine 460 nm'de ulaşmaktadır. Hemoglobin ışığı iki farklı dalga boyunda en yüksek seviyede absorbe etmektedir. İlk pik 300-450 nm arasındadır (maksimum ~ 400 nm). İkinci pik ise 500 ila 600 nm arasındadır (maksimum ~ 560 nm). Öte yandan, lipemi, görünür spektrum boyunca kademeli olarak azalan absorptans özelliğine sahiptir.

4.2.1 Adreslenebilir ledlerin dalga boylarının belirlenmesi

Preanalitik okuyucu sisteminde kullandığımız neopiksel ledlerin spektrometrik analizi Ocean Insight Flame (Florida, ABD) minyatür spektrometre cihazı ile yapılmıştır [86]. Şekil 4.30'da analiz için gerçekleştirilen deney düzeneği gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan RGB renk dönüşümlerinin karşılık gelen dalga boyları belirlenmiştir. Literatürdeki dalga boyları ve mevcut dalga boyları karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.30. Adreslenebilir Neopiksel Ledlerin Dalga Boylarının Ölçülmesi

Çalışmada kullanılan RGB dönüşümlerinin spektral özellikleri Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Adreslenebilir Neopiksel Ledlerin Spektral Analiz Grafikleri

Serum Tipi	RGB Renk Değerleri	Dalga boyu		Dalga boyu Grafikleri
		Beklenen	Mevcut	
Hemoliz	R=255 G=255 B=0	600 nm	628 nm	Yoğunluk Dalga boyu (nm)
		505 nm	519 nm	
İkter	R=0 G=255 B=255	505 nm	519 nm	Yoğunluk Dalga boyu (nm)
		480 nm	467 nm	
Lipemi	R=255 G=255 B=255	600 nm	628 nm	Yoğunluk Dalga boyu (nm)
		505 nm	519 nm	
		480 nm	467 nm	

Bu adımda tespit edilen ve çalışmada kullanılan ışık türlerinin literatürde olması gereken ve beklenen spektral dalga boyları arasında uyum bulunmuştur.

4.2.2 Farklı örnekler üzerinde yapılan spektral ölçümler

Spektrometrik çalışmalar, farklı serum indeks seviyelerine sahip hemolitik, ikterik ve lipemik numuneler üzerinde devam etmiştir. Her serum interferansı için seri seyreltme ile yedi numune hazırlanmıştır. Işık kaynağı olarak preanalitik okuyucu içerisinde kullanılan adreslenebilir neopiksel led kullanılmış ve HIL için belirlenen ışık altında analiz yapılmıştır. Serum indeks seviyeleri ile spektral absorbans eğrileri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Numuneler üzerindeki spektral analiz verileri Tablo 4.4'te verilmiştir. Grafik sonuçlarına göre hemoliz, ikter, lipemi indeksleri arttıkça absorbansın arttığı görülmüştür. Farklı serum indekslerine sahip örnekler üzerinde yapılan spektral analiz grafik sonuçları veri analizi adımlarında bulunan negatif korelasyonu desteklemektedir.

Tablo 4.4. Farklı Örneklerle Ait Spektral Analiz Grafikleri

Standart	Hemoliz	İkter	Lipemi	Spektral Grafikler
H7	118	2	14	
H6	111	1.2	7	
H5	74	0.8	3	
H4	45	0.4	2	
H3	31	0.3	0	
H2	21	0.2	0	
H1	13	0.1	0	
I7	0	2.4	6	
I6	0	1.2	3	
I5	0	0.7	1	
I4	0	0.4	0	
I3	0	0.2	0	
I2	0	0.2	0	
I1	0	0.1	0	
L7	0	0.1	710	
L6	0	0.1	350	
L5	0	0.3	160	
L4	0	0.5	82	
L3	0	0.6	45	
L2	0	0.6	19	
L1	0	0.7	10	

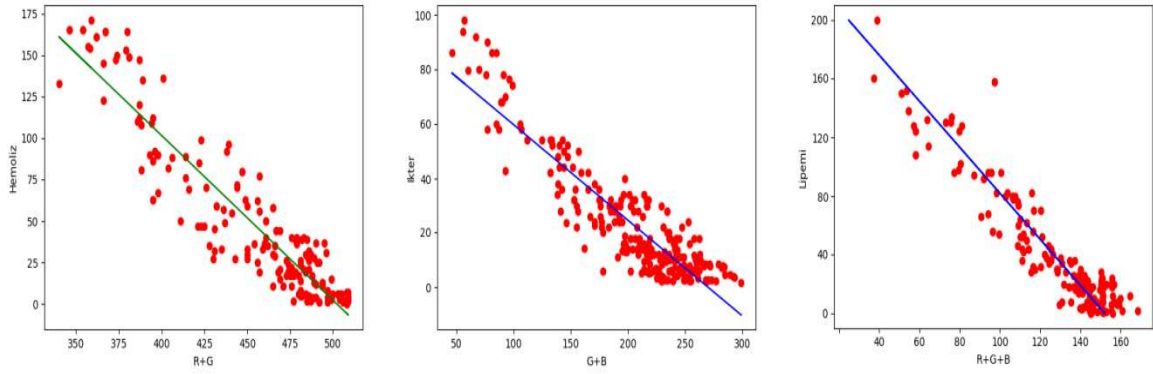
4.3 Regresyon Analizi

Regresyon analizinde, iki veya daha fazla değişkenin dâhil olduğu istatistiksel modellerde genellikle sebep-sonuç ilişkileri araştırılır. Regresyon modeli sadece iki veya daha fazla değişken arasındaki ilişkinin işlevsel şeklini göstermekle kalmaz, aynı zamanda bir değişkenin değeri bilindiğinde diğeri hakkında tahminlere izin verir. Bu çalışmada hemolitik, ikterik ve lipemik numunelerin tespit edilen R,G ve B renk verileri ile doğrusal regresyon analizi yapılarak regresyon denklemleri elde edilmiştir.

Tasarlanan preanalitik okuyucu sistem ile hemolitik örneklerin veri analizini yapmak için toplam 788 örneğin görüntü kaydı alınmıştır. Bazı örneklerin serum seviyelerinin yeterli olmaması, etiketlerin tüp üzerine standartlara uygun yerleştirilmemesi ve serum tüplerinin okuyucu içerisine düzgün yerleştirilmemesinden dolayı 201 örnek veri setinden çıkarılmıştır. Görüntü kayıtlarından hemolitik örneklerin veri analizini yapmak için 180, ikterik örneklerin veri analizini yapmak için 227 ve lipemik örneklerin veri analizini yapmak için 180 adet görüntü olmak üzere toplamda 587 görüntü kullanılmıştır. Kaydedilen görüntüler analiz için eğitim verisi olarak kullanılmıştır. Serum örneklerinin HIL indeks değerleri Abbott Alinity C analizör cihazı (Abbott Diagnostics, IL, USD) ile Abbott serum indeks belirleme kiti kullanılarak belirlenmiş ve referans alınmıştır [87].

Veri ön işleme ve istatistiksel analizler için Python 3.7 [75] yazılımı kullanılmıştır. Görüntü işlemeden elde edilen R,G ve B değerleri ile otoanalizör cihazı HIL serum indeks değerleri analiz.csv uzantılı veritabanı dosyasında toplanmıştır. Sayısal tabloları işlemek için pandas [88], tablo üzerinde özellik, etiket ve veri ayrıştırmak için numpy [83] kütüphanesinden faydalanılmıştır. Sklearn.linear_model [84] kütüphanesi kullanılarak lineer regresyon modeli çağrılmıştır. Fonksiyon içerisinde kullanılan parametrelerde değişiklik yapılmamıştır ve kütüphane içerisindeki varsayılan parametreler kullanılmıştır. Sınıflandırma modelinin performans değerlerini hesaplamak için sklearn.metrics [84] kütüphanesi kullanılmıştır.

Hemolitik örneklerin regresyon analizi için R+G (628 nm – 519 nm), ikterik örneklerin regresyon analizi G+B (519 nm – 467 nm), lipemik örneklerin regresyon analizi için R+G+B (628 nm – 519 nm – 467 nm) değerleri ölçüm parametresi olarak kullanılmıştır. Şekil 4.31’de interferan türlerine ait regresyon analizi grafikleri verilmiştir.



Şekil 4.31. Hemolitik, İkterik ve Lipemik Örneklerin Regresyon Analiz Grafikleri

Analiz sonucunda bulunan hemoliz regresyon denklemi eşitlik (4.2)'de, ikter regresyon denklemi eşitlik (4.3)'te ve lipemi regresyon denklemi eşitlik (4.4)'te gösterilmiştir.

$$H = 498.904 - 0.993 \times (R_H + G_H) \quad (4.2)$$

$$I = 47.407 - 0.175 \times (G_I + B_I) \quad (4.3)$$

$$L = 105.414 - 0.230 \times (R_L + G_L + B_L) \quad (4.4)$$

Tez çalışması sürecinde serum örneklerinden elde edilen R, G ve B değerleri ile otoanalizör sistemleri ile ölçülen hemoliz, ikter ve lipemi serum indeksleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Veriler arasında korelasyon hesaplamaları yapılarak ilişkinin yönü ve kuvveti hesaplanmıştır. Hesaplanan R, G ve B renk alanı verileri ile hemolitik, ikterik ve lipemik serum indeks değerleri arasında 0.92, 0.90, 0.86 oranında negatif ve güçlü korelasyon ilişkisinin olduğu tespit edilmiştir. Deneysel verilerin doğrusal bir eğriye ne kadar iyi uyduğunu hesaplamak için determinasyon katsayısı (R^2) değeri hesaplanmıştır. Hemoliz, ikter ve lipemi regresyon denklemleri için sırasıyla 0.86, 0.82, 0.86 R^2 değerleri bulunmuştur. Bu değerler sonucunda regresyon denklemlerinin Tablo 4.5'te eğitim verileri üzerinde yapılan regresyon analizinin performans sonuçları ve analiz parametreleri verilmiştir.

Tablo 4.5. Eğitim Görüntülerinin Sayısal Bilgileri ve Analiz Performansı

Serum Tipi	Kullanılan Ölçüm Parametresi	Örnek Sayısı	Serum İndeks Ölçüm Aralığı	Korelasyon (0-1)	R ² (0-1)
Hemoliz	R + G	180	1 – 171 mg / dL	0.92	0.86
İkter	G + B	237	1 – 92 mg / dL	0.90	0.82
Lipemi	R + G + B	180	1 – 200 mg / dL	0.86	0.88

4.4 Manuel Algoritmik Analiz

Bu tez çalışmasında görüntü analizleri sonucunda elde edilen R, G ve B değerleri ile regresyon analizine alternatif olarak, hemoliz, ikter ve lipemi varlığının pozitif veya negatif tespiti üzerine algoritma geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Algoritmada yer alan endeks limit değerleri, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü prosedürüne göre belirlenmiştir [19]. Şekil 4.33'te geliştirilen algoritma blok şeması gösterilmiştir. Geliştirilen algoritmada serum interferan tespit sırası ikter, hemoliz, lipemi olarak belirlenmiştir.

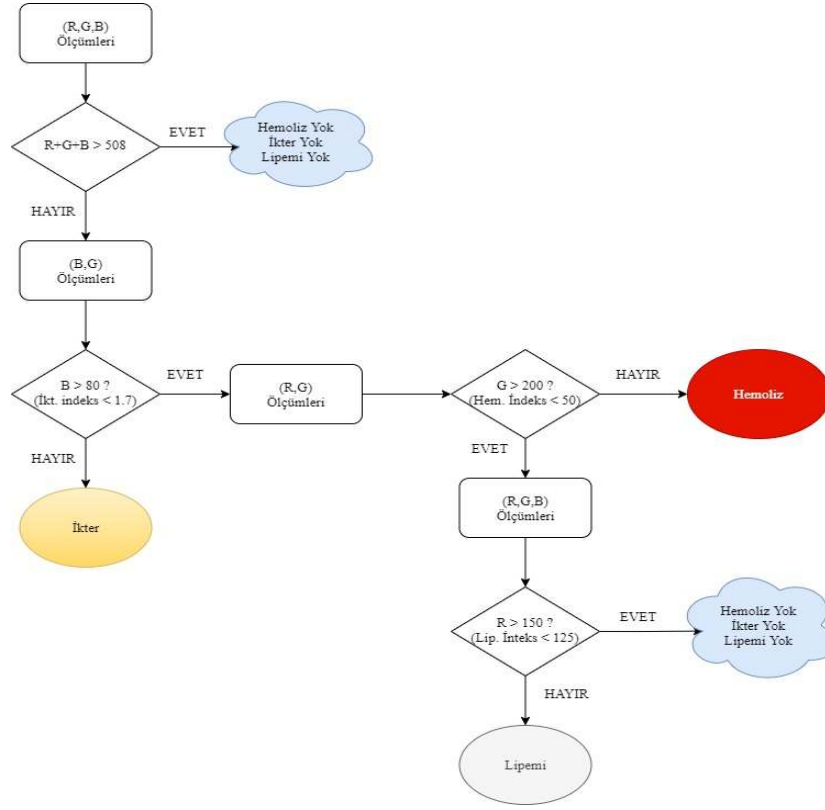
Örnek üzerinde ilk olarak hemoliz, ikter, lipeminin negatif olduğu durum sorgulanmıştır. RGB ışığı altında kaydedilen görüntü üzerinde işlem yapılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen R+G+B değerleri toplamı 508'den büyük olduğu durumlarda serum içerisinde HIL interferan maddelerin olmadığı kabul edilmiştir. Değerin 508'den küçük olduğu durumlarda ikinci adıma geçilmiştir.

İkinci adımda sorgulama RG ışığı altında kaydedilen görüntüler üzerinde yapılmıştır. Bu görüntüden tespit edilen B değerinin 80'den küçük olduğu durumlarda ikter pozitif olarak kabul edilmiştir. B değerinin 80'den büyük olduğu durumlarda üçüncü sorgulama adımına geçilmiştir.

Algoritmanın üçüncü adımında RG ışığı altında kaydedilen görüntüler üzerinde işlem yapılmıştır. Tespit edilen G değeri 200'den büyük olduğu durumlarda algoritmanın dördüncü adımına geçilirken, küçük olduğu durumlarda ise küçük olduğu durumlarda ise örnek hemoliz pozitif olarak kabul edilmiştir.

Algoritmanın dördüncü adımında lipemi tespiti yapılmaktadır. RGB ışığı altında kaydedilen görüntülerde R değerine bakılmıştır. R değerinin 150'den küçük olduğu durumlarda örnek lipemi pozitif olarak kabul edilmektedir. Aksi durum algoritmanın

karşılamadığı noktaları oluşturmaktadır ve örnek için hemoliz, ikter ve lipemi negatif olarak kabul edilmiştir.



Şekil 4.32. Hemoliz, İkter ve Lipemi Var/Yok Analizi İçin Geliştirilen Manuel Algoritma

4.5 Preanalitik Okuyucu Sistemin Başarısının Hesaplanması

Regresyon denklemlerinin ve geliştirilen manuel algoritmanın başarılarını belirlemek amacıyla her birinin duyarlılığı, doğruluğu ve özgüllüğü hesaplanmıştır. Duyarlılık, doğru pozitif oranını ifade ederken, özgüllük, doğru negatif oranı ifade eder. Duyarlılık, özgüllük ve doğruluk başarı yüzdeleri hesaplanırken Tablo 4.6’da verilen tanısal doğruluk matrisindeki veri dağılımı dikkate alınmıştır.

Tablo 4.6. Tanısal Doğruluk Tablosu

		GERÇEK DURUM	
		Pozitif (P)	Negatif (N)
TEŞHİS	Pozitif (P)	Gerçek Pozitif (DP)	Yanlış Pozitif (YN)
	Negatif (N)	Yanlış Negatif (YP)	Gerçek Negatif (DN)

Bir durum için pozitif olan bir örneğin doğru sınıflandırması duyarlılığını ifade ederken, negatif olan bir örneğin doğru sınıflandırılması özgüllüğü olarak ifade edilmektedir. Doğruluk ise özgüllük ve hassasiyet oranlarını birlikte ele alınması ile bulunmaktadır. Doğruluk ise hasta ve sağlıklı kişileri doğru bir şekilde ayırt edebilmesidir. Doğruluk, duyarlılık, özgüllük ve sırasıyla Eşitlik (4.5), (4.6) ve (4.7)'de verilmiştir.

$$Duyarlılık = \frac{DP}{DP+YN} \quad (4.5)$$

$$Özgüllük = \frac{DN}{DN+YP} \quad (4.6)$$

$$Doğruluk = \frac{DP+DN}{DP+DN+YP+YN} \quad (4.7)$$

Hatasız bir tanısal doğruluk tablosunda %100 duyarlılık, özgüllük ve doğruluk beklenmektedir. Spesifik olarak duyarlılık ile özgüllük arasında ters orantı bulunmaktadır. Duyarlılığın arttığı durumda özgüllük düşmekte, özgüllüğün arttığı durumlarda ise duyarlılık oranında düşüş gözlemlenmektedir. Başarılı bir tanısal doğruluk elde etmek için duyarlılık ve özgüllük arasında denge kurulması gerekmektedir.

Regresyon denklemlerini ve geliştirilen algoritmayı test etmek için 197 örnek görüntünün okuyucu prototip ile görüntü kaydı alınmıştır. Test örneklerinin HIL indeks değerleri regresyon analizinde olduğu gibi yine otoanalizör cihazı ile ölçülerek referans kabul edilmiştir. Gerçekleştirilen görüntü işleme yazılımı kullanılarak farklı ışık altında çekilen görüntülerin R, G ve B değerleri elde edilmiştir.

Regresyon denklemlerinin HIL +1 dereceden büyük ya da küçük yani HIL var / yok tespit başarısı Tablo 4.7'de gösterilmektedir.

Tablo 4.7. Regresyon Denklemlerinin HIL Var / Yok Tespiti Tanısal Doğruluk Tablosu

	Hemoliz >= (H ⁺) (>50 mg / dL)		İkter >= (I ⁺) (>1.7 mg / dL)		Lipemi >= (L ⁺) (>100 mg / dL)		Normal (HIL < +1)	
	P	N	P	N	P	N	P	N
P	53	19	85	40	7	0	46	25
N	2	123	14	58	1	189	17	109
Duyarlılık	%96		%85		%87		%73	
Özgüllük	%86		%59		%100		%81	
Doğruluk	%89		%72		%99		%78	

Test örnekleri otoanalizör HIL serum indeks sonuçları referans alınarak ve C56-A [19] prosedürüne uyularak derecelendirilmiştir. Regresyon denklemleri kullanılarak HIL örneklerinin derecelerini tahmin etme başarısı hesaplanmıştır. Tablo 4.8’de regresyon denklemlerinin HIL serum indekslerini derecelendirme düzeyinde tanısal doğruluğu hesaplanmıştır.

Tablo 4.8. Regresyon Denklemlerinin Derecelendirilmiş HIL Tespiti Tanısal Doğruluk Tablosu

	Hemoliz (H ⁺) (>50 - <150 mg / dL)		Hemoliz (H ⁺⁺) (>150 - <250 mg / dL)					
	P	N	P	N				
P	41	22	10	26				
N	4	130	0	161				
Duyarlılık	%91		%100					
Özgüllük	%85		%86					
Doğruluk	%86		%86					
	İkter (I ⁺) (>1.7 - <6.6 mg / dL)		İkter (I ⁺⁺) (>6.6 - <16 mg / dL)		İkter (I ⁺⁺⁺) (>16 - <30 mg / dL)		İkter (I ⁺⁺⁺⁺) (>30 mg / dL)	
	P	N	P	N	P	N	P	N
P	38	13	24	16	6	5	3	2
N	21	125	4	153	2	184	1	191
Duyarlılık	%64		%85		%75		%75	
Özgüllük	%90		%90		%97		%98	
Doğruluk	%82		%89		%96		%98	
	Lipemi (L ⁺) (>125 - <250 mg / dL)							
	P	N						
P	7	0						
N	1	189						
Duyarlılık	%87							
Özgüllük	%100							
Doğruluk	%99							

Test örneklerinden elde edilen renk değerleri ile manuel algoritma kullanılarak HIL +1 dereceden büyük ya da küçük yani HIL var / yok tespiti için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Sonuçlarının tanısal doğruluk tablosu Tablo 4.9’da gösterilmektedir.

Tablo 4.9. Manuel Algoritmanın HIL Var / Yok Tespiti Tanısal Doğruluk Tablosu

	Hemoliz $\geq$ (H^+) (>50 mg / dL)		İkter $\geq$ (I^+) (>1.7 mg / dL)		Lipemi $\geq$ (L^+) (>100 mg / dL)		Normal (HIL $< +1$)	
	P	N	P	N	P	N	P	N
P	30	37	76	18	7	0	48	24
N	5	125	18	85	1	189	12	113
Duyarlılık	%85		%80		%87		%80	
Özgüllük	%77		%82		%100		%82	
Doğruluk	%78		%81		%99		%81	

Test örneklerinden elde edilen R, G ve B renk değerleri kullanılarak regresyon denklemlerinin ve geliştirilen manuel algoritmanın tanısal yeterlilik hesaplamaları yapılmıştır. Bu çalışmada hemoliz için H^{++} (<200 mg / dL), ikter için I^{+++} (< 92 mg / dL), ve lipemi için L^+ (<100 mg / dL), derecelerine kadar serum indeksleri tahmin edilmiştir.

Hemoliz regresyon denkleminin H^+ (>50 mg / dL) dereceden büyük hemolitik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %96, özgüllük %86 ve doğruluk %89 olarak bulunmuştur.

İkter regresyon denkleminin I^+ (>1.7 mg / dL) dereceden büyük ikterik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %85, özgüllük %59 ve doğruluk %72 olarak bulunmuştur.

Lipemi regresyon denkleminin L^+ (>100 mg / dL) dereceden büyük lipemik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %87, özgüllük %100 ve doğruluk %99 olarak bulunmuştur. Hemoliz, ikter ve lipeminin olmadığı ($< H^+, I^+, L^+$) serum örneklerini tespit etme noktasında denklem duyarlılığı %73, özgüllüğü %81 ve doğruluğu %78 olarak bulunmuştur.

Test örnekleri sahip oldukları indeks seviyelerine göre derecelendirilmiştir. Regresyon denklemlerinin HIL serum indeklerinin derecelerini tahmin etme başarıları hesaplanmıştır.

Hemoliz regresyon denkleminin H^+ ($>50 - <150$ mg / dL) derece için hemolitik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %91, özgüllük %85 ve doğruluk %86, H^{++} ($>150 - <250$ mg / dL) derece için hemolitik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %100, özgüllük %86 ve doğruluğu %86 olarak bulunmuştur.

İkter regresyon denkleminin I^+ ($>1.7 - <6.6$ mg / dL) derece için ikterik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %64, özgüllük %90 ve doğruluk %82, I^{++} ($>6.6 - <16$ mg / dL) derece için ikterik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %85, özgüllük

%90 ve doğruluk %89, I⁺⁺⁺ (>16 - <30 mg / dL) derece için ikterik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %75, özgüllük %97 ve doğruluk %96, I⁺⁺⁺⁺ (>30 mg / dL) derece için ikterik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %75, özgüllük %98 ve doğruluk %98 olarak bulunmuştur.

Lipemi regresyon denkleminin L⁺ (>125 - <250 mg / dL) derece için lipemik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %87, özgüllük %100 ve doğruluk %99 olarak bulunmuştur.

Geliştirilen algoritma ile test örneklerinin HIL serum indekslerini tahmin etme başarısı hesaplanmıştır. Manuel algoritmanın H⁺ (>50 mg / dL) deceli hemolitik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %85, özgüllük %77 ve doğruluk %78, I⁺ (>1.7 mg / dL) deceli ikterik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %80, özgüllük %82 ve doğruluk %81, L⁺ (>100 mg / dL) deceli lipemik örnekleri tahmin etme başarısında duyarlılık %87, özgüllük %100 ve doğruluk %99 olarak hesaplanmıştır.

5. TARTIŞMA

Hemolitik, ikterik ve lipemik örneklerden elde edilen sonuçlar yanlış bilgiler içerebilir ve tıbbi hatalara yol açabilir. Bu preanalitik müdahaleler görsel veya otomatik değerlendirme kullanılarak tespit edilebilir. Görsel değerlendirme kullanıcı için zaman alıcıdır, sonuçlar oldukça öznel ve kişisel tecrübeden etkilenmektedir.

Tigist ve arkadaşları 1509 serum örneği üzerinde Cobas 6000 oto analizörü tarafından yapılan gerçek ölçümler ile görsel incelemelerle yapılan serum indeks değerlerini karşılaştırmışlar ve potansiyel yanlış sonuçların risklerini değerlendirmişlerdir. Çalışmaya göre en iyi gözlem hemolitik örneklerde gerçekleşirken en az uyumun ikterik örnekler arasında olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmaya göre serum indekslerinin görsel tespiti, otomatik sistemlere göre zayıf bir uyum göstermiştir. Bu nedenle, laboratuvar personellerinin serum indekslerinin tanımlanması konusunda daha fazla eğitilmesine ihtiyaç olduğunu ve test sonuçlarının kalitesini iyileştirmek için mümkün olduğunca serum indekslerinin otomatik sistemler tarafından yapılması gerektiğini savunmuşlardır [9].

Benzer bir çalışmada Ana-Maria ve arkadaşları lipemik, ikterik ve hemolitik numunelerin spektral analiz yöntemi kullanılarak otomatik tespiti ile görsel değerlendirme yöntemini karşılaştırarak değerlendirmişlerdir. 1727 rutin biyokimya serum örneği üzerinde yapılan çalışmada serum indekslerinin spektral analiz ile otomatik tespit kesinliği, hafif lipemik olan numuneler haricinde, tüm etkileşimler için yüksek seviyede bulmuşlardır. Görsel değerlendirme noktasında gözlemciler en iyi lipemik örnekleri belirledikleri gibi en düşük uyumluluk ikterik örneklerde gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda lipemik, ikterik ve hemolitik numunelerin görsel muayenesinin güvenilirliği oldukça düşük olduğunu tespit etmişler ve serum indekslerini tespit eden otomatik sistemlere ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır [12].

Usha 695 serum örneği ile yapmış olduğu çalışmada otomatik analizör sistemleri ile serum indekslerinin tahmini, hemoliz, ikter ve lipemi interferan maddelerin görsel değerlendirme yönteminde meydana gelen sınırlamalarının üstesinden geldiğini vurgulamıştır. Ayrıca, otomatik sistemler ile interferan maddenin daha objektif ve doğru tespit edildiğini açıklamışlardır [89].

Literatürde bulunan çalışmalara göre görsel değerlendirme sonuçlarının otomatik sistemlere kıyasla çok daha öznel ifadeler içerdiği görülmektedir. Bu tez çalışmasında serum indeksleri görüntü işleme algoritmaları ve sayısal veri işleme yöntemleri ile otomatik hale getirilerek belirlenmektedir. Geliştirilen preanalitik okuyucu sistem, otoanalizör sistemleri

ile görsel değerlendirme yöntemi arasında sağlık sektöründe kaliteyi artırıcı yeni bir karar destek mekanizması ortaya koymaktadır.

Hemoliz, ikter, lipemi serum indeksi tespiti için preanalitik okuyucu içerisinde kullanılan neopiksel ışık kaynağının ve ışık türlerinin literatürde yer alan spesifik analiz bölgelerine [7,8,18] yakın olduğu ve bu noktada akademik çalışmaları desteklediği görülmüştür.

Literatür çalışmalarında hemoliz, ikter ve lipemi serum indeksleri belirleme yöntemlerinde uyumsuzluk en çok ikterik örnekler arasında olduğu görülmüştür. Bunun nedeni ikterik örneklerin konsantrasyona bağlı olarak renk değişimlerinin birbirlerine çok yakın seviyelerde olmasından kaynaklanmaktadır. Bu tez çalışmasında da regresyon denklemlerinin HIL serum indekslerini tahmin etme noktasında en düşük doğruluk ikterik örnek tespitinde görülmüştür. Aynı zamanda en düşük duyarlılık seviyesi normal örneklerin I^+ dereceli ikterik örnekler ile ayrımında ölçülmüştür. Geliştirilen manuel algoritmanın ikterik örnekleri tespit etme başarısı ikterik regresyon denkleminde daha yüksek çıkmıştır.

Biyokimya laboratuvarında rutin günlük serum örneklerinde lipemik indekse sahip serum örneği sayısı az bulunmaktadır. Çalışma süresi boyunca test ve eğitim görüntüleri dahil olmak üzere görüntü kaydı alınan toplam 985 numune içerisinde hemolitik, ikterik ve lipemik örnekler arasında en az sayıda lipemik örnek bulunmaktadır. Az örnek ile elde edilen yüksek korelasyon ve regresyon sonuçlarına istinaden bu noktada lipemik örnek tespitinin çok daha kararlı ve yapılabilmesi için örnek sayılarının artırılarak sistemin eğitime devam etmesi gerekli olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması sonunda görsel değerlendirme yöntemine göre sonuçların, kullanıcı bazlı hatalardan daha az etkilenmesi sağlanmıştır. Ayrıca serum indeks sonuçlarının nesnel ve sayısal verilere dayandırıldığı yeni ve alternatif bir karar destek yöntemi oluşturulmuştur. Geliştirilen preanalitik okuyucu sistem sayesinde serum indeks seviyelerinin hassas, kararlı ve doğru şekilde belirlenmesi sağlanmıştır. Tasarlanan sistemin küçük ve kompakt olması, okuyucu ile kullanıcı bilgisayarı arasında kablosuz iletişimin sağlanmasından dolayı laboratuvar şartlarına uyumlu bir sistem geliştirilmiştir. Aynı zamanda okuyucu sistemin personel tarafından daha etkili kullanılabilmesi için kullanımı kolay, anlaşılabilir ara yüz tasarımı gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sonucunda geliştirilen preanalitik okuyucu sistem her seviyede otoanalizör sistemlerine kıyasla maliyet etkinliği üstündür. Sistemin barındırdığı elektronik ekipman tercihleri, yazılım ve tasarım geliştirmeleri kullanıcının sisteme erişebilirliğini arttırmak amacı ile düşük maliyet, yüksek performans odaklı yapılmıştır ve herhangi bir reaktif ya da sarf malzeme kullanımı söz konusu değildir. Preanalitik okuyucunun düzgün kullanımı halinde herhangi bir periyodik bakım gerektirmemektedir. Preanalitik okuyucunun, otoanalizör cihazlarına göre diğer bir avantajı ise örneklerin analize başlanmadan uygunluğunun kontrol edilebilirliğinin sağlanmış olmasıdır. Bu sayede analitik sürece ait test maliyeti olmadan örneklerin laboratuvara ulaştığı andan itibaren analize uygunluğu değerlendirilebilmektedir.

Geliştirilen okuyucu sistem üzerinde kullanıcı personel geri dönüşleri baz alınarak tasarım geliştirmeleri yapılabilir. Bu çalışma sonucunda tek seferde yalnızca bir örnek üzerinde analiz yapılabilir. Serum tüplerini taşıyan bir rakın, okuyucu sistem içerisinden geçişi motorize bir sistem ile sağlanarak iş yükü azaltılabilir ve test süreleri kısaltılabilir. Aynı zamanda örneklerin barkod etiketlerinin görüntü işleme yazılımı kullanılarak yine otomatik tespit edilmesi kullanıcı kaynaklı hataların azaltılmasında etkili olabilir.

Okuyucu sistem yazılımsal olarak Hastane Bilgi Yönetim Sistemine doğrudan bağlanması sağlanabilir. Bu sayede hasta verileri ile test örnekleri eşleştirilebilir ve örneklerin karışması, yanlış testlerin yapılması, hatalı hasta verilerinin girilmesi gibi durumların önüne geçilebilir.

Tıbbi laboratuvarlara gelen numunelerin, kaydedilmesi, raporlanması ve saklanması gerekmektedir. Bu gerekliliğin kontrollü bir şekilde gerçekleştirilmesi için biyokimya laboratuvarlarında tüp okuyucu otomasyon sistemleri mevcuttur. Bu sistemler örneklerin hangi dolaplarda, hangi raklarda ve ne şekilde saklandığı gibi bilgilerin ulaşılabilirliğini kolaylaştırmaktadır. Preanalitik okuyucu, tüp okuyucu otomasyon sistemleri ile entegre çalışması sağlanarak laboratuvar iş akışı güçlendirilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] L. Florin, M. Oyaert, T. Van Maerken, and K. M. J. Devreese, “Performance of the preanalytical check module of the Stago STA R Max2 mechanical endpoint detection analyzer for assessing the impact of hemolysis, lipemia, and icterus on aPTT and PT,” *Int. J. Lab. Hematol.*, vol. 40, no. 6, pp. e109–e112, 2018, doi: 10.1111/ijlh.12871.
- [2] M. P. Phelan, E. Z. Reineks, J. D. Schold, F. M. Hustey, J. Chamberlin, and G. W. Procop, “Preanalytic factors associated with hemolysis in emergency department blood samples,” *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 142, no. 2, pp. 229–235, 2018, doi: 10.5858/arpa.2016-0400-OA.
- [3] B. Montaruli, C. Guiotto, and D. Cosseddu, “Influence of hemolysis, icterus and lipemia on coagulation tests as performed on Cobas t511 new analyzer,” *Blood Coagul. Fibrinolysis*, vol. 31, no. 1, pp. 48–54, 2020, doi: 10.1097/MBC.0000000000000873.
- [4] A. Ishiguro et al., “What is the best wavelength for the measurement of hemolysis index?,” *Clin. Chim. Acta*, vol. 510, no. April, pp. 15–20, 2020, doi: 10.1016/j.cca.2020.06.046.
- [5] G. Lippi *et al.*, “Haemolysis: An overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories,” *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 46, no. 6, pp. 764–772, 2008, doi: 10.1515/CCLM.2008.170.
- [6] L. Heireman, P. Van Geel, L. Musger, E. Heylen, W. Uyttenbroeck, and B. Mahieu, “Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory,” *Clin. Biochem.*, vol. 50, no. 18, pp. 1317–1322, 2017, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2017.09.013.

- [7] G. Lippi, M. Plebani, and E. J. Favaloro, "Interference in coagulation testing: Focus on spurious hemolysis, icterus, and lipemia," *Semin. Thromb. Hemost.*, vol. 39, no. 3, pp. 258–266, 2013, doi: 10.1055/s-0032-1328972.
- [8] S. Storti, E. Battipaglia, M. S. Parri, A. Ripoli, S. Lombardi, and G. Andreani, "Pre-analytical quality control in hemostasis laboratories: Visual evaluation of hemolysis index alone may cause unnecessary sample rejection," *J. Lab. Med.*, vol. 43, no. 2, pp. 67–76, 2019, doi: 10.1515/labmed-2018-0122.
- [9] T. Getahun *et al.*, "Evaluation of visual serum indices measurements and potential false result risks in routine clinical chemistry tests in Addis Ababa, Ethiopia," *Electron. J. Int. Fed. Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 30, no. 3, pp. 276–287, 2019.
- [10] M. Plebani and P. Carraro, "Mistakes in a stat laboratory: Types and frequency," *Clin. Chem.*, vol. 43, no. 8, pp. 1348–1351, 1997, doi: 10.1093/clinchem/43.8.1348.
- [11] B. Goswami, B. Singh, R. Chawla, and V. Mallika, "Evaluation of errors in a clinical laboratory: A one-year experience," *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 48, no. 1, pp. 63–66, 2010, doi: 10.1515/CCLM.2010.006.
- [12] A. M. Simundic *et al.*, "Comparison of visual vs. automated detection of lipemic, icteric and hemolyzed specimens: Can we rely on a human eye?," *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 47, no. 11, pp. 1361–1365, 2009, doi: 10.1515/CCLM.2009.306.
- [13] Ö. Gülbahar, C. Yılmaz, Ş. Elbeg, B. Narlı, N. Afandiyeva, T. S. D. Bulut, G. Koca, "Gazi Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvar Test Rehberi," *Gazi Üniversitesi* pp. 1-85, 2019.
- [14] W. G. Guder, "Haemolysis as an Influence and Interference Factor in Clinical Chemistry," *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 24, no. 2, pp. 125–126, 1986, doi: 10.1515/cclm.1986.24.2.125.
- [15] G. F. Juros, D. Nedic, and D. Rogic, "What does the haemolysed sample mean for reliability of laboratory test results?," *Signa Vitae.*, vol. 9, no. 1, pp. 76-78, 2014.

- [16] C. J. L. Farrell and A. C. Carter, "Serum indices: managing assay interference," *Ann. Clin. Biochem.*, vol. 53, no. 5, pp. 527–538, 2016, doi: 10.1177/0004563216643557.
- [17] S. Mainali, S. R. Davis, and M. D. Krasowski, "Frequency and causes of lipemia interference of clinical chemistry laboratory tests," *Pract. Lab. Med.*, vol. 8, pp. 1–9, 2017, doi: 10.1016/j.plabm.2017.02.001.
- [18] U. S. Adiga, "Icteric index and its significance," *Int. J. of Med. and H. Res.*, vol. 2, no. 4, pp. 32–34, 2016.
- [19] M. B. Smith, *et al.*, "Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis; Approved Guideline," *C56-A*, vol. 32, no. 10, , pp. 1-64, 2012.
- [20] L. Rovati and F. Docchio, "Determination of the concentrations of interferents in blood serum by use of a novel solid-state colorimeter," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 11, no. 3, pp. 185–192, 2000, doi: 10.1088/0957-0233/11/3/303.
- [21] M. R. Glick, K. W. Ryder, S. J. Glick, and J. R. Woods, "Unreliable visual estimation of the incidence and amount of turbidity, hemolysis, and icterus in serum from hospitalized patients," *Clin. Chem.*, vol. 35, no. 5, pp. 837–839, 1989, doi: 10.1093/clinchem/35.5.837.
- [22] S. Gunasekaran and G. Sankari, "FTIR and UV-visible spectral study on normal and diseased blood samples," *Asian J. Chem.*, vol. 16, no. 3–4, pp. 1779–1786, 2004.
- [23] K. Narayanan, M. Thirunavukkarasu, C. E. Jeyanthi, P. Shenbagarajan, "FTIR and UV-visible spectral study on normal blood samples," *Int. J. of Phar. and Bio. Sci.*, vol. 1, no. 2, pp. 74-81, 2011.
- [24] H. Ranganathan and N. Gunasekaran, "Simple method for estimation of hemoglobin in human blood using color analysis," *IEEE Trans. Inf. Technol. Biomed.*, vol. 10, no. 4, pp. 657–662, 2006, doi: 10.1109/TITB.2006.874195.

- [25] F. Neudel, S. Takatani, H. Reul, and G. Rau, "Effect of hemolysis on oxygen and hematocrit measurements by near infrared reflectance spectroscopy," *Med. Eng. Phys.*, vol. 24, no. 4, pp. 301–307, 2002, doi: 10.1016/S1350-4533(02)00012-7.
- [26] T. M. Y. Sankai, T. Tsutsui, T. Jikuya, O. Shigeta, M. Ohta, "Method of noninvasive and continuous hemolysis/thrombogenesis measurement by laser photometry during artificial heart development.," *ASAIO J.*, vol. 43, no. 5, pp. M682-M686, 1997.
- [27] J. Voet, D; Voet, "Biochemistry (3rd ed.)," pp. 68–70, 2004.
- [28] D. A. Robinson *et al.*, "Natural Capital, Ecosystem Services, and Soil Change: Why Soil Science Must Embrace an Ecosystems Approach," *Vadose Zo. J.*, vol. 11, no. 1, 2012.
- [29] F. P. W. Melchels, *et al.*, "Additive manufacturing of tissues and organs," *Prog. in Poly. Sci.*, vol. 37, pp. 1079-1104, 2012, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.11.007.
- [30] W. T. Astbury, "Molecular biology or ultrastructural biology?," *Nature*, vol. 190, no. 4781, p. 1124, 1961, doi: 10.1038/1901124a0.
- [31] K. Basuki, *Biology, 8th Edition*, vol. 53, no. 9. 2019.
- [32] M. a Lieberman, "Marks ' Basic Medical Biochemistry : A Clinical Approach , 2nd Edition Marks ' Basic Medical Biochemistry : A Clinical Approach , 2nd Edition," *Biochem. Mol. Biol. Educ. a Bimon. Publ. Int. Union Biochem. Mol. Biol.*, vol. 34, no. 5, pp. 35–37, 2005, [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21638727>.
- [33] R. Finkel, L. Cubeddu, C. Michelle, "Lippincott's Illustrated Reviews," *A Textb. Clin. Pharmacol. Ther. 4Ed*, pp. 312–316, 2020, doi: 10.1201/b13234-52.
- [34] Unicef, "Immunization," *Facts for life*, 4Ed, 2010.

- [35] Department of Health and Human Services, “Changes resulting from the Taking Essential Steps for Testing Act of 2012,” vol. 2, pp. 112-202, 2013.
- [36] H. A. Sönmez, “Hastalıkların Tanı ve İzlenmesinde Biyokimya Laboratuvarları,” *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi* no. 81, 9-32, 2012.
- [37] J. E. Brady, S. P. Baker, C. Dimaggio, M. L. McCarthy, G. W. Rebok, and G. Li, “Effectiveness of mandatory alcohol testing programs in reducing alcohol involvement in fatal motor carrier crashes,” *Am. J. Epidemiol.*, vol. 170, no. 6, pp. 775–782, 2009, doi: 10.1093/aje/kwp202.
- [38] R. C. Klesges *et al.*, “Effect of the Alcohol Misconduct Prevention Program (AMPP) in air force technical training,” *Mil. Med.*, vol. 178, no. 4, pp. 445–451, 2013, doi: 10.7205/MILMED-D-12-00400.
- [39] A. W. JONES, “Quantitative measurements of the alcohol concentration and the temperature of breath during a prolonged exhalation,” *Acta Physiol. Scand.*, vol. 114, no. 3, pp. 407–412, 1982, doi: 10.1111/j.1748-1716.1982.tb07002.x
- [40] A. W. Jones, “VOLUME 6, NUMBER 2 ALCOHOL, DRUGS AND DRIVING Physiological Aspects of Breath-Alcohol Measurement,” vol. 6, no. 2, 1990, [Online]. Available: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.465.4404&rep=rep1&type=pdf>.
- [41] R. Swift, “Direct measurement of alcohol and its metabolites,” *Addiction*, vol. 98, no. SUPPL. 2, pp. 73–80, 2003, doi: 10.1046/j.1359-6357.2003.00605.x.
- [42] A. W. Jones and L. Andersson, “Determination of ethanol in breath for legal purposes using a five-filter infrared analyzer: Studies on response to volatile interfering substances,” *J. Breath Res.*, vol. 2, no. 2, 2008, doi: 10.1088/1752-7155/2/2/026006.

- [43] A. W. Jones, “Medicolegal Alcohol Determination - Blood- or Breath-Alcohol Concentration ?,” no. January 2000, 2015.
- [44] D. A. Labianca, “The chemical basis of the breathalyzer - A critical analysis,” *J. Chem. Educ.*, vol. 67, no. 3, pp. 259–261, 1990, doi: 10.1021/ed067p259.
- [45] A. W. Jones, L. Lindberg, and S. G. Olsson, “Magnitude and time-course of arterio-venous differences in blood-alcohol concentration in healthy men,” *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 43, no. 15, pp. 1157–1166, 2004, doi: 10.2165/00003088-200443150-00006.
- [46] D. H. Jaffe, M. Siman-Tov, A. Gopher, and K. Peleg, “Variability in the blood/breath alcohol ratio and implications for evidentiary purposes,” *J. Forensic Sci.*, vol. 58, no. 5, pp. 1233–1237, 2013, doi: 10.1111/1556-4029.12157.
- [47] K. M. Dubowski and N. A. Essary, “Measurement of low breath-alcohol concentrations: Laboratory studies and field experience,” *J. Anal. Toxicol.*, vol. 23, no. 6, pp. 386–395, 1999, doi: 10.1093/jat/23.6.386.
- [48] N. L. Polissar, W. Suwanvijit, and R. G. Gullberg, “The Accuracy of Handheld Pre-Arrest Breath Test Instruments as a Predictor of the Evidential Breath Alcohol Test Results,” *J. Forensic Sci.*, vol. 60, no. 2, pp. 482–487, 2015, doi: 10.1111/1556-4029.12659.
- [49] K. S. S. Saibaba, M. Vijaya Bhaskar, P. V. L. N. Srinivasa Rao, G. V. Ramana, and K. V. Dakshinamurthy, “Interferences in clinical chemistry analysis,” *Indian J. Clin. Biochem.*, vol. 13, no. 2, pp. 55–62, 1998, doi: 10.1007/BF02867865.
- [50] M. H. Kroll and R. J. Elin, “Interference with clinical laboratory analyses,” *Clin. Chem.*, vol. 40, no. 11 I, pp. 1996–2005, 1994, doi: 10.1093/clinchem/40.11.1996.
- [51] O. Sonntag, “Haemolysis as an Interference Factor in Clinical Chemistry,” *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 24, no. 2, pp. 127–140, 1986, doi: 10.1515/cclm.1986.24.2.127.

- [52] A. A. Lamola, V. K. Bhutani, R. J. Wong, D. K. Stevenson, and A. F. McDonagh, "The effect of hematocrit on the efficacy of phototherapy for neonatal jaundice," *Pediatr. Res.*, vol. 74, no. 1, pp. 54–60, 2013, doi: 10.1038/pr.2013.67.
- [53] W. G. Guder, S. Narayanan, H. Wisser, and B. Zawata, "From the Patient to the Laboratory," *Front Matter*. 1998.
- [54] R. Diagnostics, "D / P Module - Serum Index Principles," pp. 103–110.
- [55] C. Integra, L. N. Answers, R. Roche, D. Gmbh, and M. Germany, "Serum Indices : Reduction of clinical errors in laboratory medicine Going straight for the answer Clinical errors in laboratory medicine Going straight for the answer," 2007.
- [56] R. C. Gonzalez, R. E. Woods, and P. Prentice Hall, "Digital Image Processing Third Edition Pearson International Edition prepared by Pearson Education," p. 954, 2008.
- [57] V. G. Nanjundaswamy *et al.*, "Intuitive 3D computer-aided design (CAD) system with multimodal interfaces," *Proc. ASME Des. Eng. Tech. Conf.*, vol. 2 A, no. June 2014, 2013, doi: 10.1115/DETC2013-12277.
- [58] M. Attaran, "3D Printing: Enabling a New Era of Opportunities and challenges for Manufacturing," *Int. J. Res. Eng. Sci. ISSN*, vol. 4, no. 10, pp. 30–38, 2016, [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/308905412_3D_Printing_Enabling_a_New_Era_of_Opportunities_and_Challenges_for_Manufacturing.
- [59] J. S. Mayer, T. N. Jackson, and M. E. Lockley, "New role for microcontroller courses: integrating EE curricula," *Proc. - Front. Educ. Conf.*, vol. 1, pp. 415–419, 1995, doi: 10.1109/fie.1995.483102.
- [60] E. A. Lee, *Embedded software*, vol. 56, no. C. Elsevier Masson SAS, 2002.

- [61] R. Pi, “Raspberry Pi Compute Module 3 + Raspberry Pi Compute Module 3 + Lite,” no. January, pp. 5–8, 2019, [Çevrimiçi]. Available: https://www.raspberrypi.org/documentation/hardware/computemodule/datasheets/rpi_DATA_CM3plus_1p0.pdf.
- [62] Microchip, “ATmega48A / PA / 88A / PA / 168A / PA / 328 / P megaAVR ® Data Sheet ATmega48A / PA / 88A / PA / 168A / PA / 328 / P,” *Microchip*, vol. 4, no. 6, pp. 2186–2198, 2017, [Online]. Available: <https://ww1.microchip.com/downloads/en/DeviceDoc/ATmega48A-PA-88A-PA-168A-PA-328-P-DS-DS40002061A.pdf>.
- [63] Espressif Systems, “ESP32 Series Datasheet,” *Espr. Syst.*, pp. 1–61, 2019, [Online]. Available: https://www.espressif.com/sites/default/files/documentation/esp32_datasheet_en.pdf.
- [64] OmniVision Technologies, “Datasheet - OV2640 Color CMOS UXGA (2.0 MegaPixel) CAMERACHIP with OmniPixel2 Technology,” 2006.
- [65] G. Description and K. Benefits, “6-Channel Visible,” pp. 1–48, 2017.
- [66] W. Datasheet, “WS2812B 5050 LED Datasheet,” *Worldsemi*.
- [67] Ubicom Inc, “USB Peripheral Controller with SPI Interface MAX3420E USB Peripheral Controller with SPI Interface,” *Power*, 2010, [Online]. Available: <http://datasheets.maxim-ic.com/en/ds/MAX3420EEVKIT-2.pdf>.
- [68] Robotistan, Robotistan Elektronik Ticaret AŞ, [Online]. Available: <https://www.robotistan.com/74v-lipo-batarya-450mah-25c>.
- [69] SolidWorks, “Series Student’s Guide to Learning SolidWorks Software,” *Dassault Systèmes S.A*, p. 156, 2010, [Online]. Available: <http://www.solidworks.com/education>.
- [70] Tutorialspoint, “About the Tutorial Copyright & Disclaimer,” *Tutorials Point Pvt. Ltd.*, pp. 1–13, 2019.

- [71] Tutorialpoint.com, “C Programming Tutorial - 8 - Switch Statement,” *K R version*, vol. 4, 1987.
- [72] V. Torra, “Object-oriented programming in scala,” *Lect. Notes Comput. Sci. (including Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatics)*, vol. 9980 LNCS, pp. 51–67, 2016, doi: 10.1007/978-3-319-46481-7_4.
- [73] L. Wall *et al.*, “PyQt Tutorial,” p. 2, 2015.
- [74] Documentation for Visual Code Studio, Microsoft, [Online]. Available: <https://code.visualstudio.com/docs/python/python-tutorial>.
- [75] G. van Rossum and Python Development Team, “Python Tutorial Release 3.7.0,” *Python Softw. Found.*, pp. 1–155, 2018.
- [76] Arduino SPI Library, Arduino, [Online]. Available: <https://www.arduino.cc/en/reference/SPI>.
- [77] Arduino SoftwareSerial Library, Arduino, [Online]. Available: <https://www.arduino.cc/en/Reference/softwareSerial>.
- [78] USB Host Shield Library, Circuits At Home, [Online]. Available: <https://chome.nerpa.tech>. [Erişildi: 01.06.2020].
- [79] Arduino FastLED Library, Arduino, [Online]. Available: <https://www.arduino.cc/reference/en/libraries/fastled>.
- [80] E. Systems, “ESP-IDF Programming Guide,” 2021.
- [81] A. Mordvintsev and K. Abid, “OpenCV-Python Tutorials Documentation,” *OpenCV Python Doc.*, pp. 1–269, 2017, [Online]. Available: <https://media.readthedocs.org/pdf/opencv-python-tutroals/latest/opencv-python-tutroals.pdf>.

- [82] J. Hunter, D. Dale, E. Firing, and M. Droettboom, “Release 3.4.1,” 2021.
- [83] N. Community, “NumPy User Guide 1.11,” p. 109, 2013.
- [84] “scikit-learn user guide,” 2017.
- [85] S. Van Der Walt *et al.*, “Scikit-image: Image processing in python,” *PeerJ*, vol. 2014, no. 1, pp. 1–18, 2014, doi: 10.7717/peerj.453.
- [86] Ocean Optics, “Flame Miniature Spectrometer User Manual,” pp. 1–130, 2015.
- [87] O. Manual, “Alinity ci-series Operations Manual For use with the Alinity c processing module and the Alinity i processing module.”
- [88] W. McKinney and P. D. Team, “Pandas - Powerful Python Data Analysis Toolkit,” *Pandas - Powerful Python Data Anal. Toolkit*, pp. 1625, 2015.
- [89] U. Adiga, “Serum Indices – A tool to Measure Interfering Substances in Blood Samples,” *Int. J. of Phar. P. Res.*, vol. 9, no. 2, pp. 43–46, 2019.