

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

**KANDA HEMOLİZ ÖLÇÜMÜ YAPAN YENİ BİR SİSTEM
GELİŞTİRİLMESİ**

HAZIRLAYAN

GÖKHAN SAĞLAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA- 2025

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

**KANDA HEMOLİZ ÖLÇÜMÜ YAPAN YENİ BİR SİSTEM
GELİŞTİRİLMESİ**

HAZIRLAYAN

GÖKHAN SAĞLAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. İSMAİL CENGİZ KOÇUM

ANKARA- 2025

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

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

Tez Savunma Tarihi:

Tez Adı: Kanda Hemotokrit Ölçümü Yapan Yeni Bir Sistem Geliştirilmesi

Tez Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı - Soyadı, Kurumu)		İmza
Prof. Dr. İsmail Cengiz KOÇUM	Başkent Üniversitesi
Prof. Dr. Sıtkı Çağdaş İmam	Başkent Üniversitesi
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet YÜKSEKKAYA	Ankara Üniversitesi

ONAY

Prof. Dr. Dilek ÇÖKELİLER SERDAROĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Tarih: ... / ... /

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih:

Öğrencinin Adı, Soyadı : Gökhan SAĞLAM

Öğrencinin Numarası : 21010019

Anabilim Dalı : Biyomedikal Mühendisliği

Programı : Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı : Prof. Dr. İsmail Cengi KOÇUM

Tez Başlığı : Kanda Hemoliz Ölçümü Yapan Yeni Bir Sistem Geliştirilmesi

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 43 sayfalık kısmına ilişkin, 21.07.2025 tarihinde tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %1'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (8) 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: ... / ... / 20...

Öğrenci Danışmanı:

Prof. Dr. İ. Cengiz KOÇUM

TEŞEKKÜR

Her fırtınamda ve her zaman yanımda olan Annem, Babam ve tüm aileme, her şart ve koşulda yanımda desteği eksik olmayan dostum O. Erdem Haberal'a, süreçte güler yüzünü ve tavsiyelerini eksik etmeyen Prof. Dr. Dilek Çökeliler Serdaroğlu hocama ve tez döneminde destek ve danışmanlıklarını esirgemeyen Prof. Dr. İsmail Cengiz Koçum hocama, teşekkürü borç bilirim.

ÖZET

Gökhan SAĞLAM

KANDA HEMOLİZ ÖLÇÜMÜ YAPAN YENİ BİR SİSTEM GELİŞTİRİLMESİ

Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Ana Bilim Dalı

2025

Hemoliz eritrositlerin zarlarının mekanik, kimyasal veya immünolojik sebepler ile bozulması ve bu sebeple içindeki hemoglobin ve diğer fonksiyonel proteinlerin plazmaya karışması durumudur. Bu durum kan gazı ölçümlerinin hepsinde hatalara yol açar. Biz çalışmamızda bunun önlenmesi için hastadan alınan tam tüp kanın kullanılması yerine çok daha az bir miktarın mobil bir cihazla ölçülmesi ile tüm örneklerin çöpe gitmesinin engellenebileceğini öngördük. Yine bu cihaz, hemoliz sonucu gelişen hemolitik anemi rahatsızlığının tayininde kullanılabilir. Cihazın yapımında; ışık kaynağı olarak SMD RGB LED, alıcı sensör olarak Osram SFH2440 Fotodiyot DIL SMT sensör kullanılmıştır. Cihaz parçaları Wemos D1 geliştirici kiti üzerinde birleştirilmiştir. Dışarıdan ışık etkileşimini engellemek ve kan örneğini içinde tutan tek kullanımlık kartuşun giriş yuvasının hizalanması için Prusa Marka üç boyutlu yazıcıdan parçalar basılıp birleştirilmiş ve fonksiyonel bir cihaz yapısı haline getirilmiştir. Cihaz içinde kartuş olarak kullanılması için PMMA (Pleksi Cam) malzemenin parçalar üretilmiştir. Biri CNC cihazı kullanılarak "U" şeklinde işlenmiş, diğeri düz, 25x14x2 mm boyutlarındaki iki parça, birbirine kloroform kullanılarak yapıştırılmıştır. Bu sayede cihazın, üç boyutlu yazıcı ile basılmış ve bir tarafında fotosensör ve diğer tarafında ışık kaynağı olan, haznesine uygun tek kullanımlık kartuş hazır hale getirilmiştir. Altı adet kartuş üretilmiş ve her bir kartuşun içine hemoliz indeksi önceden tanımlanmış hemolizatlar konulmuştur. Burada amaç, mobil cihazdan verilen ışığın hemolizli örnek tarafından absorbanının ölçüp ölçemeyeceğini görmektir. Deneylerimiz sabit LED şiddeti altında yapılmıştır. Alıcı sensördeki değerler, plazmadaki serbest hemoglobin (HGB) değeri yükseldikçe, doğru orantılı olarak düşmüştür. Bu da bize doğru dalga boyunda yapılmış olan ölçümler sayesinde yaklaşık 100 mikrolitre kan örneği ile doğru bir şekilde mobil olarak kandaki hemolizin ölçülebileceğini göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Hemoliz, taşınabilir ölçüm, yerinde ölçüm, tek kullanımlık kartuş.

ABSTRACT

Gökhan SAĞLAM

DEVELOPMENT OF A NEW SYSTEM FOR MEASURING HEMOLYSIS IN BLOOD

Başkent University Institute Of Science

The Department Of Biomedical Engineering

2025

Hemolysis is the disruption of erythrocyte membranes due to mechanical, chemical, or immunological causes, resulting in the release of hemoglobin and other functional proteins into the plasma. This leads to errors in all blood gas measurements. In our study, we proposed that, instead of using a whole tube of blood from the patient, a much smaller sample could be measured with a mobile device to prevent the waste of entire samples. This device could also be used to detect hemolytic anemia, which develops as a result of hemolysis. The device was constructed using an SMD RGB LED as the light source and an Osram DIL SMT sensor as the receiver sensor. The device components were assembled using a Wemos D1 developer kit. To prevent external light interference and align the input slot of the disposable blood sample cartridge, the components were printed and assembled using a Prusa 3D printer to create a functional device structure. PMMA (Plexiglass) parts were fabricated for use as cartridges within the device. One was machined into a "U" shape using a CNC machine, the other was straight, measuring 25x14x2 mm. These two pieces were bonded together using chloroform. This resulted in a disposable cartridge suitable for the device's chamber, printed with a 3D printer and featuring a photosensor on one side and a light source on the other. Six cartridges were fabricated, and each cartridge was filled with hemolyzates with a predefined hemolysis index. The aim here was to determine whether the mobile device could measure the absorbance of light emitted by a hemolyzed sample. Our experiments were conducted under constant LED intensity. The values on the receiver sensor decreased proportionally as the free hemoglobin (HGB) level in the plasma increased. This demonstrated that hemolysis in blood can be accurately measured on a mobile device with a sample of approximately 100 microliters, thanks to measurements made at the correct wavelength.

KEYWORDS: Hemolysis, mobile diagnostics, point of care (POC), disposable cartridge.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kan, Kanım Bileşenleri ve Hemoliz	3
2.2. Bilgisayar Destekli Tasarım ve Üretim (CAD – CAM).....	6
2.3. CNC İşleme.....	6
2.4. 3B Baskı	7
2.5. Mikrodenetleyici Sistemler	8
2.6. Optik Ölçüm Yöntemleri ve Bileşenleri.....	9
2.7. Kullanıcı Arayüzleri	10
3. HEMOLİZ ÖLÇÜMÜNÜN ÖNEMİ VE SORUNLAR.....	11
3.1. Klinikteki Ölçüm Yöntemleri	11
3.2. Görsel Değerlendirme Yöntemi.....	11
3.3. Otomatik Hemoliz İndeksi (HI) Ölçümü	12
3.4. Karbonmonoksit Eliminasyonuna Dayalı Ölçüm.....	12
3.5. Haptoglobin Testi	13
3.6. Yerinde Tanı Cihazlarıyla Ölçüm	13
3.7. Hatalı Ölçümler ve Etkileri.....	14
3.8. Konuyla İlgili Yapılan Çalışmalar	16
4. MATERYAL VE METOT	20
4.1. Donanım Bileşenleri	20
4.2. PMMA Kartuş Tasarımı ve Üretimi.....	25
4.3. Cihaz Tasarımı ve 3B Baskı.....	27
4.4. Kullanıcı Arayüzü.....	29
4.5. Prototip Yazılımı.....	31

4.6. Numunelerin Hazırlığı ve Deney Seti.....	33
5. BULGULAR.....	36
5.1. Deneysel Çalışmalar ve Sonuçları	36
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR.....	44
EKLER	
EK 1: Hemolizat Hazırlama Protokolü	

TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 3.1. Hemoliz Ölçümü İçin Klinikte Kullanılan Yöntemler.....	13
Tablo 4.1. Set 1 Bilgileri.....	33
Tablo 5.1. Beyaz Renk ile Alınan Sonuçlar	36
Tablo 5.2. Kırmızı Renk ile Alınan Sonuçlar	36
Tablo 5.3. Yeşil Renk ile Alınan Sonuçlar	36
Tablo 5.4. Set 2 Sonuçları	37
Tablo 5.5. Set 3 Sonuçları	38
Tablo 5.6. Tüm Deneylerin Sonuçları	38
Tablo 5.7 Pearson Korelasyon Testi Sonuçları	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 4.1. WEMOS D1 MINI ESP32 Mikrodenetleyici Kartı	20
Şekil 4.2. WS2812B Programlanabilir RGB LED	21
Şekil 4.3. Osram SFH2440 Fotodiyot	22
Şekil 4.4. DFRobot ADS1115 ADC	23
Şekil 4.5. Yükselteç Devresi Yerleşim Planı	24
Şekil 4.6. Yükselteç Devresi Kart Görünümü	24
Şekil 4.7. a) Kartuşun Çift Taraflı Görüntüsü, b) Kartuşun Ölçüleri	25
Şekil 4.8. Kullanılan CNC Cihazı ve Kesici Takım	26
Şekil 4.9. a) Cihaz Tasarımının Dışı, b) Cihaz Tasarımının İçi	27
Şekil 4.10. Cihazın 3B Yazıcı İle Basılmış Halinin Görüntüsü	27
Şekil 4.11. Kullanılan 3B Yazıcı ve Filament	28
Şekil 4.12. Tasarlanan Kullanıcı Arayüzü	30
Şekil 4.13. Algoritmanın Akış Şeması	32
Şekil 4.14. Örnek Sonuç Tablosu	32
Şekil 4.15. Hemoliz Seviyeleri	33
Şekil 4.16. Deney Setinin Kartuştaki Görüntüsü	34
Şekil 4.17. Deney Setinin Tüpteki Görüntüsü	35
Şekil 5.1. Tüm Deneylerin Sonuçları.....	39
Şekil 5.2. Hemoliz Deneylerinde Elde Edilen Verilerin ADC Sinyal Değerlerine Göre Ortalama ve Standart Sapmalarının Gösterimi.....	41
Şekil 5.3. Pearson korelasyon testinin ısı harita grafiği	41

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

RGB	Kırmızı, Yeşil, Mavi
LED	Işık Yayan Diyot
ADC	Analog-Dijital Dönüştürücü
CBC	Tam Kan Sayımı
LDH	Laktat Dehidrojenaz
AST	Aspartat Aminotransferaz
HI	Hemoliz İndeksi
CAD	Bilgisayar Destekli Tasarım
CAM	Bilgisayar Destekli Üretim
STEP	Ürün Verilerinin Değişimine İlişkin Standart
IGES	İlk Grafik Değişimi
STL	Standart Üçgen Dili
CNC	Bilgisayar Sayısal Kontrolü
PMMA	Polimetil Metakrilat
FDM	Erimiş Biriktirme Modellemesi
SLA	Stereolitografi
DLP	Dijital Işık İşleme
UV	Ultraviyole
ABS	Akrilonitril Bütadien Stiren
PLA	Polilaktik Asit
PC	Polikarbonat
SLS/SLM	Seçici Lazer Sinterleme/Eritme
CPU	Merkezi İşlem Birimi
RAM	Rastgele Erişim Belleği
ROM	Salt Okunur Bellek
GPIO	Genel Amaçlı Giriş/Çıkış
UART	Evrensel Asenkron Alıcı/Verici
SPI	Seri Çevre Birimi Arayüzü
I ² C	Entegre Devreler Arası İletişim
IDE	Entegre Geliştirme Ortamı
POC	Yerinde Tanı
HD	Hemodiyaliz
RBC	Kırmızı Kan Hücreleri
DF	Diyaliz Sıvısı
IR	Kızılötesi
NIR	Yakın Kızılötesi
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

1. GİRİŞ

Kan örnekleri, klinik tanı süreçlerinde en yaygın kullanılan biyolojik materyaller arasında yer almakta olup; metabolik durumun, organ fonksiyonlarının ve sistemik hastalıkların değerlendirilmesinde temel rol oynamaktadır. Bu örneklerden elde edilen biyokimyasal analizlerin doğruluğu, örneklerin alınma, işlenme ve saklanma süreçlerine büyük oranda bağlıdır. Özellikle preanalitik fazda meydana gelen hatalar, laboratuvar sonuçlarının güvenilirliğini ciddi şekilde zedelemekte, yanlış tanı ve tedavilere yol açabilmektedir [1]. Bu hatalar arasında en yaygın ve etkili olanlardan biri ise hemolizdir. Hemoliz, eritrosit zarının hasar görecerak içeriğindeki hemoglobinin ve diğercer hücresel bileşenlerin plazma ya da serum fazına sızmasıyla karakterize edilen bir süreçtir. Hemoliz, gerek in vivo gerekse in vitro koşullarda ortaya çıkabilir ve çoğru zaman fark edilmeden analizlere konu olabilir. İn vitro hemoliz çoğrunlukla kanın alınma veya taşınma aşamasında gerçekleşmekte; kullanılan iğne çapının uygun olmaması, kan alma sırasında fazla vakum uygulanması, örneğın hızlıca çalkalanması ya da yanlış santrifüj koşulları gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır [2]. Literatürde bildirilen bulgulara göre, laboratuvarlardaki örnek reddetme oranlarının %30'undan fazlasının hemoliz kaynaklı olduğru ve bunun sağlık sistemine ciddi zaman ve maliyet yükü getirdiğru bildirilmektedir [3]. Hemolizin laboratuvar sonuçları üzerindeki etkisi oldukça geniş bir yelpazeye yayılmaktadır. Serbest hemoglobinin biyokimyasal analizlerdeki absorbans değerlerini değiştirmesi, potasyum ve laktat dehidrogenaz gibi parametrelerin yalancı yüksekliğine yol açabilmektedir. Bu durum, hiperkalemi gibi kritik klinik tabloların yanlışlıkla tanı almasına sebep olabilmekte ve tedavi protokollerinin gereksiz yere başlatılmasına neden olabilmektedir [4].

Klinik laboratuvarlarda hemolizi tespit edebilmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunların başında manuel görsel değerlendirme, otomatik hemoliz indeksi hesaplamaları ve spektrofotometrik ölçümler gelmektedir. Ancak bu yöntemler çoğru zaman maliyet, erişilebilirlik, doğruluk veya taşınabilirlik gibi sınırlamalar nedeniyle yaygın, hızlı ve güvenilir hemoliz tespiti için yeterli olamamaktadır [5]. Özellikle düşük hacimli örneklerde, gerçek zamanlı ve kantitatif değerlendirme sunabilecek sistemlere duyulan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Bu bağlamda taşınabilir, düşük maliyetli, kolay üretilebilir ve kullanıcı

dostu optik sistemler, klinik laboratuvarların yanı sıra sahada da kullanılabilen yeni nesil cihazların geliştirilmesine katkı sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasında, örneklerin hemoliz derecesinin tespit edilmesini sağlayacak taşınabilir bir optik ölçüm cihazı geliştirilmesi amaçlanmıştır. Cihazın tasarımında düşük hacimli kan örneklerinde spektral değerlendirme yapılmasına olanak tanıyan, spektrofotometrik prensibe dayalı yöntem benimsenmiştir. Tasarlanan sistem, RGB LED ışık kaynağı, geniş spektrum duyarlılığına sahip fotodiyot, transimpedans yükselteç devresi ve yüksek çözünürlüklü ADC gibi donanım bileşenleriyle desteklenmiştir. Ayrıca cihaz, mikrodenetleyici tabanlı birimlerle donatılmış olup, kullanıcı dostu bir arayüzle veri görselleştirmesi sağlanmıştır. Bu bağlamda bu tez çalışma sonucunda, kan numunesi gereksinimini minimal düzeyde tutan, gerçek zamanlı veri toplayabilen, düşük maliyetli bileşenlerle üretilebilen ve klinikte kullanılan yöntemlerin avantajlarını birleştiren hassas bir sistem geliştirilmiştir.

Geliştirilen cihaz, hem laboratuvar ortamında hem de mobil sağlık hizmetlerinde kullanılmaya aday olup, örnek kalitesinin değerlendirilmesinde hızlı ve güvenilir bir alternatif sunmaktadır. Özellikle yoğun bakım, acil servis ve kan bankacılığı gibi örnek trafiğinin yoğun olduğu klinik ortamlarda preanalitik hata oranlarının düşürülmesi açısından önemli bir potansiyele sahiptir.

Tezin ilerleyen bölümlerinde, öncelikle hemoliz süreci ve klinik etkilerine ilişkin teorik ve istatistiksel bilgiler sunulmuş, ardından cihaz tasarımı, yazılım geliştirme, deneysel analizler ve sonuç değerlendirmeleri ayrıntılı olarak ele alınmıştır. Elde edilen bulgular ışığında cihazın etkinliği tartışılmış ve gelecekteki uygulamalara yönelik önerilere yer verilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kan, Kanın Bileşenleri ve Hemoliz

Kan, insan vücudunun yaşamsal işlevlerini yerine getiren ve homeostatik dengenin korunmasında merkezi rol oynayan kompleks bir vücut sıvısıdır. Toplam kan hacmi yetişkin bir bireyde ortalama beş litre olup, vücut ağırlığının yaklaşık %7–8'ini oluşturur. Kanın temel işlevleri arasında dokulara oksijen taşınması (tissue oxygenation), metabolik atıkların taşınması, pH ve elektrolit dengesinin sürdürülmesi, bağışıklığın korunması ve pıhtılaşma süreçlerinin yürütülmesi yer alır. Kan, hacimce yaklaşık %55 oranında plazma ve %45 oranında hücresel elemanlardan (eritrositler, lökositler ve trombositler) oluştuğu kabul edilir [6], [7].

Plazma, kanın akışkan fazını teşkil eder ve yaklaşık %90'ı sudur. Geriye kalan %10 büyük oranda proteinlerden oluşur. Başlıca plazma proteinleri arasında albümin, globulin ve fibrinojen bulunur. Albümin, plazmanın osmotik basıncını belirleyerek sıvı dengesinin korunmasına yardımcı olmakla birlikte, birçok ilaç ve hormonun taşınmasında taşıyıcı molekül görevi görür [8]. Globulinler, bağışıklık tepkilerinde görev alan antikorları barındıran gama-globulin grubu başta olmak üzere, farklı şekillerde bulunur ve hücresel savunma fonksiyonlarını destekler. Fibrinojen ise pıhtılaşma sürecinin temel bileşenlerinden biridir. Plazmada ayrıca elektrolitler, organik moleküller (glikoz, amino asitler, yağ asitleri), metabolik atıklar (üre, ürik asit, kreatinin) ve çözülmüş gazlar (O₂, CO₂) yer alır. Plazmanın fiziksel özellikleri, kanın akışkanlığı (viskozite) ve optik davranışı açısından birçok bilimsel çalışmaya temel oluşturmuştur [9].

Eritrositler, yaygın olarak kırmızı kan hücreleri olarak bilinir ve kanda en fazla bulunan hücrelerdir. Başlıca işlevleri oksijeni akciğerlerden dokulara taşımak ve dokularda biriken karbondioksiti akciğerlere geri taşımaktır. Bu hücreler oksijen iletimi için gereklidir, ayrıca bağışıklık fonksiyonunda da önemli rol oynarlar [10]. Eritrositler, antioksidan görevi görerek zararlı reaktif oksijen ve azot türlerini temizler, bu da kan damarlarını ve dokuları hasardan korumaya yardımcı olur [11]. Eritrosit şekli, yapısı veya işlevindeki değişiklikler, iltihaplanma ve oksidatif stresle ilişkili durumlar dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların sinyalini verebilir [11], [12]. Eritrositler, sıklıkla maddelerin toksisitesini değerlendirmek ve

oksidatif stresi ve hücre hasarını incelemek için laboratuvar testlerinde model olarak kullanılır [13].

Beyaz kan hücreleri olarak da bilinen lökositler, vücudu enfeksiyonlara, virüs ve bakteriler gibi yabancı istilacılara ve hastalıklara karşı savunmaktan sorumlu bağışıklık sisteminin en önemli parçalarından biridir. Hem patojenleri tespit etme ve onlara yanıt vermede, hem de iltihaplanma ve doku onarımında merkezi bir rol oynarlar. Lökositler genel olarak üç ana gruba ayrılır: granüositler, lenfositler ve monositler. Granüositler nötrofiller, eozinofiller ve bazofilleri içerir. Lenfositler T hücreleri, B hücreleri ve doğal katil hücrelerden (natural killer cells) oluşur. Monositler ise makrofajlara ve dendritik hücrelere farklılaşabilir [14], [15]. Lökositler, bakteri, virüs ve diğer yabancı maddeler gibi patojenleri tanımlayarak ve nötralize ederek vücudu korur; yara iyileşmesinde ve doku yeniden şekillenmesinde önemli rol oynarlar. Nötrofiller genellikle enfeksiyona ilk müdahale edenlerdir, monositler/makrofajlar ise kronik iltihaplanma ve doku onarımında yardımcı olur. Lökosit sayısındaki değişiklikler (lökositoz veya lökopeni) enfeksiyon, iltihaplanma, bağışıklık bozuklukları veya lösemi gibi kan hastalıklarının sinyali olabilir [16].

Trombositler ise, kanamayı durdurmada (hemostaz) merkezi bir rol oynayan ve bağışıklık, inflamasyon ve diğer fizyolojik süreçlerde rol oynayan küçük, disk şeklindeki hücre parçalarıdır. Kanın pıhtılaşması için gereklidirler, ayrıca bağışıklık süreçlerinde ve doku onarımında önemli görev üstlenirler. Trombositler, megakaryositler adı verilen büyük kemik iliği hücrelerinden üretilir ve kanda yaklaşık 5-7 gün boyunca dolaşırlar. Trombositlerin çekirdekleri yoktur ancak kan dolaşımındaki sinyallere hızla yanıt vermelerini sağlayan birçok hücresel bileşen içerirler [17]. Trombositler, kan damarı yaralanmalarına ilk müdahale edenlerdir. Bölgeye yapışırlar, aktive olurlar ve kanamayı durduran bir bariyer oluşturmak için bir araya toplanırlar. Ayrıca pıhtılaşma faktörleri (clotting factors) için yüzey oluşturarak, pıhtıyı stabilize etmeye ve aşırı kan kaybını önlemeye yardımcı olurlar. Buna karşın; hastalık durumlarında, aşırı trombosit aktivasyonu istenmeyen kan pıhtılarına yol açarak kalp krizi, felç veya derin ven trombozuna (deep vein thrombosis) neden olabilir [18], [19].

Kan bileşenlerinin her biri, klinik tanı ve araştırma uygulamalarında farklı ölçüm teknikleri gerektirir. Tam kan sayımı (CBC), plazma biyokimya panelleri, koagülasyon testleri, akış sitometrisi (flow cytometry) gibi teknikler kullanılarak kana dair hücresel ve

moleküler düzeyde ayrıntılı bilgiler elde edilir. Ayrıca, hemoliz, ikter, lipemi gibi örnek kirlilikleri laboratuvar sonuçlarını etkileyebilir; bu nedenle örnek toplama ve işleme protokollerinin standardize edilmesi hayati önem taşır [20].

Hemoliz, eritrosit zarının mekanik, immunolojik veya kimyasal etmenlerle bozulması sonucu hemoglobin ve diğer hücresel bileşenlerin plazmaya salındığı süreçtir. Hemolizin gerçekleşmesi hem in vivo hem de in vitro koşullarda klinik ve analitik açıdan kritik sonuçlar doğurur [21]. İn vivo hemoliz, otoimmün hemolitik anemi, orak hücre anemisi veya kapakçık stresinin eritrositleri parçalaması gibi patofizyolojik nedenlerle gelişirken, in vitro hemoliz büyük ölçüde örnek toplama ve/veya işleme sırasında yapılan preanalitik hatalardan kaynaklanır [22], [23]. Örnek vermek gerekirse; iğne çapının uygun olmaması, aşırı vakum uygulanması veya hatalı santrifüj parametreleri, serbest hemoglobinin yükselmesine ve bunun sonucunda potasyum, laktat dehidrojenaz (LDH) ile aspartat aminotransferaz (AST) değerlerinde yanıltıcı yükselmelere yol açabilir [23]. Moleküler düzeyde hemoliz, başta oksidatif stres olmak üzere birden fazla mekanizma ile gerçekleşir [24]. Mekanik hemolizde ise aşırı laminer gerilime ve yüzey temasına bağlı olarak fiziksel strese maruz kalan eritrositler doğrudan parçalanır [25].

Klinik önemi bakımından hemoliz, yanlış laboratuvar sonuçlarının ötesinde hastanın tedavi yönetimini de etkiler. Serbest hemoglobinin böbrek tübüllerinde birikmesi akut böbrek hasarını tetiklerken, ortamdaki hemoglobin yara iyileşmesinde ve by-pass sonrası trombosit aktivasyonunda bağışıklık hücrelerini aktive edecek sinyaller oluşturur [25].

Hemoliz derecesinin belirlenmesi için en sık kullanılan yöntemlerden biri spektrofotometrik yöntemlerdir. Klinikte genellikle, serbest hemoglobinin belirli dalga boylarındaki absorbans artışı hemoliz indeksine (HI) dönüştürülerek otomatik kimya analizörleri tarafından ölçülür [26]. Ek olarak, elektro-kimyasal iletkenlik ölçümü ve nanoölçekli spektrofotometrik cihazlar gibi alternatif teknolojiler, düşük hacimli örneklerde hızlı ve hassas hemoliz tayinine imkân tanıyabilir [27]. Modern biyosensör tabanlı yöntemler ise optik ve elektrokimyasal transdüksiyon birleşimiyle gerçek zamanlı takip olanağı sunmaktadır [28].

Preanalitik hemoliz riskini düşürmek için kan toplama protokollerinin titizlikle uygulanması esastır. Uygun iğne çapı ve tüp seçimi, nazik venipunktür tekniği, önceden belirlenmiş standart santrifüj hızları ve taşıma esnasında sıcaklığın kontrol edilmesi hemoliz

riskini düşürmede kritik rol oynar [29]. Laboratuvar bilgi yönetim sistemlerine entegre edilen hemoliz tespit algoritmaları, olası hemolizli örnekleri otomatik işaretleyerek yeniden analiz yapılmasına veya yeni örnek alınmasına olanak sağlar [30]. Hemoliz, hem hasta güvenliği hem de laboratuvar kalite yönetimi açısından öncelikli bir konu olup, moleküler mekanizmaların aydınlatılması, gelişmiş tespit yöntemlerinin kullanılması ve sıkı preanalitik kontrollerin sürdürülmesiyle etkili bir şekilde yönetilebilir.

2.2. Bilgisayar Destekli Tasarım ve Üretim (CAD – CAM)

Bilgisayar destekli tasarım (CAD) ve bilgisayar destekli üretim (CAM) yazılımları, modern imalat süreçlerinde dijital iş akışlarının temelini oluşturur. CAD sistemleri, parametrik modelleme, yüzey tasarımı ve bileşen montaj simülasyonu gibi araçlarla ürün tanımını kantitatif ve görsel olarak tanımlar; STEP, IGES ve STL gibi endüstriyel standarttaki dosya formatları, tasarım verilerinin farklı platformlar arasında kesintisiz şekilde paylaşılmasını sağlar [31]. CAM modülleri ise bu dijital modelleri doğrudan üretim talimatlarına, özellikle CNC (Computer Numerical Control) makinelerinin anlayacağı G-kod'a dönüştürerek takım yolu planlaması, takım seçimi, kesme hızları ve ilerleme parametrelerinin otomatik optimize edilmesine olanak tanır [32]. CAD–CAM entegrasyonu, CNC işleme ve 3B baskı teknolojilerini bir araya getirerek karmaşık geometrilerin hem çıkarıcı hem de ekleyici yöntemlerle üretilmesini mümkün kılar.

Endüstri 4.0 doğrultusunda CAD–CAM sistemlerine bulut tabanlı veri yönetimi ve yapay zekâ destekli parametre optimizasyonu sağlanmakta; bu sayede hem seri üretim hem de hızlı prototipleme süreçlerinde verimlilik artırılmaktadır [33]. Bu teknolojik gelişmeler, sağlık, havacılık, otomotiv ve savunma sanayileri başta olmak üzere yüksek hassasiyet ve izlenebilirlik gerektiren tüm sektörlerde CAD–CAM tabanlı iş akışlarının kritik bir parçası olmasını sağlamaktadır.

2.3. CNC İşleme

CNC işleme, bilgisayar kontrollü kesici takımların malzeme blokları üzerinde çok eksenli hareketlerle karmaşık geometrilerin hassas biçimde işlenmesini sağlayan bir imalat yöntemidir. Bu süreçte, dijital platformlarda oluşturulan tasarımlar CAM yazılımları

aracılığıyla G-kod'a dönüştürülerek takım yolları programlanır ve malzemeye özgü kesme hızları, ilerleme oranları ile takım seçimi detaylı olarak belirlenir ve optimize edilir. CNC makineleri, yüksek tekrarlanabilirlik ve boyutsal doğruluk imkânı sunarken, yüzey pürüzlülüğünü düşük tutması sebebiyle süreç sonrası işlem gereksinimini azaltır [34]. Endüstriyel uygulamalarda, genel olarak metaller (alüminyum, çelik, paslanmaz çelik gibi) CNC işleme süreçlerinde yaygın biçimde kullanılır; bu malzemeler sertlikleri ve termal iletkenlik özellikleri dolayısıyla belirli kesme parametreleri gerektirir. Bununla birlikte, polimer malzemeler de CNC tezgâhlarında giderek daha fazla tercih edilmektedir. Polimerler; düşük elastik modülleri, minimal ısıl deformasyon eğilimleri ve genellikle metalden daha az takım aşınması sağlamaları nedeniyle CNC işleme için elverişlidir [35]. Polimerler arasında ABS ve polikarbonat gibi mühendislik plastikleri, mekanik mukavemet, kimyasal direnç ve işlenebilirlik kriterlerine göre seçilir. Ayrıca akrilik veya Plexiglass olarak da bilinen polimetil metakrilat (PMMA), optik saydamlığı ve yüzey kalitesi nedeniyle prototipleme ve medikal uygulamalarda sıkça CNC ile işlenir. Kesme hızları ve soğutma stratejilerinin PMMA'nın ısıdan etkilenmemesi ve yüzey kalitesinin korunması amacıyla titizlikle ayarlanması gerekmektedir.

2.4. 3B Baskı

3B baskı, dijital bir modelin katmanlı üretim prensibiyle fiziksel nesnelere dönüştürülmesini sağlayan eklemeli bir imalat yöntemidir. Süreç, ilk olarak CAD yazılımıyla tasarlanmış üç boyutlu geometrinin dilimlenmesi (slicing) aşamasıyla başlar; bu aşamada model, baskı yüksekliği oranında ince yatay katmanlara bölünür ve her katman için baskı yolu oluşturulur [36]. Ardından, seçilen baskı teknolojisine bağlı olarak malzeme ekleyici bir kafa tarafından dikey ekseninde katman katman biriktirilir. FDM (Fused Deposition Modeling) yönteminde termoplastik filament eritilerek nozülde ekstrüde edilirken, SLA (Stereolithography) ve DLP (Digital Light Processing) tekniklerinde sıvı reçine UV ışıkla fotopolimerize edilir [37], [38]. Her bir katmanın hassas bir şekilde üst üste eklenmesi, karmaşık iç yapılar ve organik formların dahi yüksek doğrulukla üretilmesini mümkün kılar.

Katman kalınlığı, baskı hızı, dolgu (infill) oranı ve destek yapısı gibi parametreler, hem mekanik performansı hem de yüzey kalitesini doğrudan etkiler; bu nedenle parametre optimizasyonu, işlevsel prototiplerin ve nihai parçaların üretiminde kritik bir rol oynar.

Örneğin, katman kalınlığının 0,05–0,2 mm arasında seçilmesi, hem baskı süresini makul seviyede tutarken hem de yüzey pürüzlülüğünü düşük seviyelere çekmeyi sağlar [39]. Destek gerektiren çıkıntılar, genellikle çözünebilir malzemeler kullanılarak veya kolay ayrılabilir geometriyle basılarak işlem sonrası adımları zaman ve uğraş açısından en aza indirmek amaçlanır. 3B baskıda kullanılacak malzemeler geniş bir yelpazeye yayılır. Termoplastikler arasında akrilonitril bütadien stiren (ABS), polilaktik asit (PLA) ve polikarbonat (PC) yaygınken, fotopolimer reçineler ve biyoyumlu sert reçineler gibi özel malzemeler tıp ve diş hekimliği uygulamalarında tercih edilir [40], [41]. Metal tozlu SLS/SLM (Selective Laser Sintering/Melting) uygulamaları, uçak ve otomotiv parçalarında yüksek mukavemetli bileşenlerin üretilmesine imkân tanırker, seramik reçineler ve kompozit filamentler fonksiyonel prototiplerin mekanik performansını artırır [42].

2.5. Mikrodenetleyici Sistemler

Mikrodenetleyici sistemler, işlemci çekirdeği, bellek, girdi/çıkış arabirimleri ve çevresel birimleri tek bir entegre devrede barındıran gömülü bilgisayar birimleridir [43]. Bir mikrodenetleyicinin temel bileşenleri arasında merkezi işlem birimi (CPU), rastgele erişimli bellek (RAM), kalıcı bellek (flash/ROM), analog–dijital dönüştürücüler (ADC), zamanlayıcı/kesme modülleri ve sayısal giriş/çıkış (GPIO) pinleri yer alır [44]. Mikrodenetleyici seçiminde bellek kapasitesi, çalışma frekansı, çevresel birim sayısı ve güç tüketimi kritik kriterlerdir; uyku, derin uyku ve hazırda bekleme modları, batarya içeren uygulamalarda akım tüketimini minimize etmek ve uzun süreli kullanımlar için kullanışlı özelliklerdir [45]. Gerçek zamanlı kontrol gerektiren sistemlerde kesme gecikmesi (interrupt latency) ve zamanlayıcı hassasiyeti, kritik görevlerin zamanında tamamlanabilmesi için önemli parameterlerdir [46]. Veri iletişimi açısından mikrodenetleyiciler, UART, SPI ve I²C gibi seri haberleşme protokollerini destekleyerek sensör ve eyleyicilerle (actuator) veri alışverişi yapar; protokol tercihi uygulamanın bant genişliği ve güç gereksinimleri gibi parametrelerine göre şekillenir [47]. Yazılım geliştirme süreçlerinde kullanılan entegre geliştirme ortamları (IDE), hata ayıklayıcı (debugger) ve bootloader desteği ile firmware yükleme, birim testi ve üretim sonrası görüntüleme özellikleri sunar [48]. Tıbbi cihazlar, otomotiv elektronik üniteleri veya endüstriyel otomasyon sistemleri gibi kritik ve hassas uygulamalarda, mikrodenetleyiciler sıklıkla kullanılır. Özellikle taşınabilir ve batarya ile

çalışan medikal cihaz tasarımlarında mikrodenetleyiciler gerçek zamanlı lem ve kesintisiz izleme imkanı sağlar. Bu zellikleri sayesinde mikrodenetleyici tabanlı sistemler, endüstriden tıbbı, tüketicı elektroniğinden savunma sanayisine kadar çok geniş bir uygulama sahasının omurgasını oluşturur.

2.6. Optik lem Yöntemleri ve Bileşenleri

Biyolojik örneklerin optik ölçümünde spektrofotometrik prensiplere dayanan dört yöntem sıklıkla kullanılır, bunlar iletim (transmittance), yansıma (reflectance), soğurma (absorbance) ve saçılma (scattering) yöntemleridir. İletim ölçümlerinde, belirli bir dalga boyundaki ışık kaynağından çıkan ışığın örnekten geçtikten sonraki ışık şiddetindeki azalma miktarı analiz edilir; Beer-Lambert yasası yardımıyla ışık iletimi ile çözelti derişimi arasında doğrusal bir ilişki kurarak kantitatif sonuçlar elde edilir [49]. Yansıma ölçümlerinde numune yüzeyinden dönen ışığın açısal dağılımını kaydedilir; bu yöntem, opak veya yarı saydam katı örneklerin optik özelliklerinin belirlenmesinde tercih edilir [50]. Soğurma spektroskopisinde ise analiz edilen numuneye göre belirlenen bir veya birden çok dalga boyunda örneğin konsantrasyonuna dair bilgi elde edilmek amaçlanır [51]. Saçılma ölçümlerinde ise numune içerisindeki parçacıklar veya moleküller tarafından yön ve fazı değiştirilen ışığın açısal dağılımını ve yoğunluğu kaydedilerek; partikül boyutları, dağılımını ve örnek homojenitesi hakkında nicel ve nitel veriler sağlanır. Biyomedikal uygulamalarda bunlara ek olarak floresan spektrometrisi ve Raman spektrometrisi gibi yöntemler de sıklıkla kullanılır.

Optik lüm sistemlerinin en önemli bileşenlerinden birini oluşturan ışık kaynakları arasında lambalar (zellikle tungsten-halojen), ışık yayan diyotlar (light emitting diode, LED) ve lazerler sayılabilir. Tungsten–halojen lambalar görünür ve yakın kızılötesi aralıkta stabil bir spektruma sahipken, LED’ler daha dar bir spektrum bandı sunarak belli dalga boyları için enerji verimliliği yüksek bir ışık oluşturur [52], [53]. Lazerler ise dar bant genişliği ve yüksek tutarlılıkları (coherence) sayesinde Raman spektroskopisi ve düşük konsantrasyon tespitleri için ideal ışık sağlayıcılar olarak öne çıkar [54].

2.7. Kullanıcı Arayüzleri

Kullanıcı arayüzleri bir cihaz veya yazılımın insanlar tarafından daha pratik bir şekilde kullanılabilmesi için geliştirilen görsel öğelerdir. Kullanıcı arayüzleri, bir ekranda görünen düğmeler, menüler, grafikler veya dokunmatik kontroller gibi görsel ve işitsel öğeler yardımıyla kullanıcı ile bilgisayar arasında bilgi akışını sağlar. Günlük yaşamda akıllı telefon uygulamalarında, internet sitelerinde ve birçok cihazda kullanılan kullanıcı arayüzlerinde temel amaç, kullanıcıların her seferinde basit, hızlı ve hatasız bir şekilde işlemlerini gerçekleştirebilmelerini sağlamaktır.

Yeni bir kullanıcı arayüzü geliştirilirken hangi kullanıcı grubuna hizmet verileceğinin belirlenmesi gerekir. Ardından gerekli tasarım öğeleri bir eskiz haline getirilerek somutlaştırma ve prototipleme işlemleri gerçekleştirilir. Sonrasında, tasarlanan arayüz kodlanır ve sistemle entegrasyonu sağlanır. Bu aşamada React, Flutter veya PyQt gibi yazılım kütüphaneleri kullanılmaktadır.

Etkili bir kullanıcı arayüzü tasarımının temel ilkeleri arasında tutarlılık, görünürlük ve kullanıcı kontrolü yer alır. Tutarlılık, benzer işlevleri benzer biçimde sunarak öğrenme süresini kısaltır; görünürlük, sistem durumunu ve kullanıcı eylemlerinin sonuçlarını her an açıkça gösterir; kullanıcı kontrolü ise gerekirse önden tanımlı varsayılan ayarlara ve “geri alma” seçeneklerine hızlı erişim imkânı tanır. Ayrıca, erişilebilirlik kriterleri kapsamında renk kontrastı, yazı tipi büyüklüğü ve klavye navigasyonu göz önünde bulundurularak tasarımın herkesin kullanımına uygun olması sağlanır.

3. HEMOLİZ ÖLÇÜMÜNÜN ÖNEMİ VE SORUNLAR

3.1. Klinikteki Ölçüm Yöntemleri

Klinik laboratuvarlarda hemolizin doğru şekilde tespiti, biyokimyasal analizlerin güvenilirliğini doğrudan etkiler. Bu nedenle hemoliz ölçümünde kullanılan tekniklerin uygulama biçimi, doğruluk düzeyi, maliyeti ve standardizasyon kabiliyeti büyük önem taşır. Modern tıpta hemoliz ölçümü için farklı yöntemler geliştirilmiş olup, bu yöntemler genel olarak manuel (görsel) ve otomatik (cihaz temelli) yaklaşımlara ayrılır. Her iki yöntemin de belirli avantajları ve sınırlamaları mevcuttur. Bu kısımda, klinik ortamlarda kullanılan hemoliz ölçüm yöntemleri ayrıntılı biçimde ele alınmakta, uygulama şekilleri ve karşılaşılan zorluklar açıklanmaktadır.

3.2. Görsel Değerlendirme Yöntemi

Klinik laboratuvarlarda en yaygın kullanılan ve en eski hemoliz tespit yöntemi, görsel değerlendirmeye dayalı manuel tekniktir. Bu yöntemde kan örneği santrifüj edildikten sonra elde edilen serum veya plazma, teknisyen tarafından çıplak gözle incelenir. Hemolizli örnekler genellikle pembe veya kırmızımsı bir renk alır ve bu renklenme, eritrosit yıkımının bir göstergesi olarak kabul edilir [55]. Bu yöntemin uygulanışı oldukça basittir. Laboratuvar teknisyeni, santrifüj sonrası elde edilen örneği standart ışık koşullarında değerlendirir. Değerlendirme sırasında renk skalaları ya da referans görseller kullanılabilir. Çoğu laboratuvarında görsel değerlendirme için “0” (renksiz) ile “4+” (tam kırmızı) arasında değişen yarı-kantitatif bir skala kullanılır [56]. Görsel değerlendirmenin temel avantajı düşük maliyetli ve hızlı olmasıdır. Herhangi bir gelişmiş ekipman gerektirmez ve basit bir eğitimle uygulanabilir. Özellikle kaynakları kısıtlı olan hastanelerde yaygın olarak tercih edilmektedir. Ayrıca ani durumlarda hızlı karar verme avantajı da sunar. Ancak bu yöntemin ciddi dezavantajları da bulunmaktadır. En önemli sorun, değerlendirmede subjektiflik bulunmasıdır. Aynı örnek farklı teknisyenler tarafından farklı düzeylerde hemolizli olarak sınıflandırılabilir. Bu durum sonuçların tutarlılığını ve tekrarlanabilirliğini azaltır [57]. Ayrıca düşük düzeyli hemoliz vakaları gözle tespit edilemeyebilir, bu da klinik açıdan önemli olan bazı interferansların gözden kaçmasına yol açabilir [58].

3.3. Otomatik Hemoliz İndeksi (HI) Ölçümü

Gelişmiş klinik laboratuvarlarda, hemoliz tespiti genellikle otomatik sistemlerle gerçekleştirilir. Bu sistemlerde hemoliz, analizörler tarafından optik ya da fotometrik ölçüm teknikleri kullanılarak kantitatif olarak değerlendirilir. “Hemoliz İndeksi” (HI), serum ya da plazmadaki serbest hemoglobin konsantrasyonuna bağlı olarak belirlenir [57]. Bu yöntemlerin uygulanması oldukça sistematik ve standardize edilmiştir. Numune analiz cihazına yüklendiğinde, belirli dalga boylarındaki ışık absorbansları ölçülerek örneğin ne kadar hemoliz içerdiği hesaplanır. Birçok cihaz, 570 nm ve 600 nm gibi dalga boylarında absorbans farklarını değerlendirerek serbest hemoglobini belirler [59]. Otomatik HI ölçümünün en büyük avantajı, değerlendirme sürecinin objektif ve tekrarlanabilir olmasıdır. Cihaz temelli sistemler sayesinde farklı kullanıcıların sonuçları birbirinden bağımsız olarak aynı doğrulukta alması sağlanır. Ayrıca bu sistemler, çok düşük düzeydeki hemolizi bile tespit edebilir ve sonuçlarla birlikte hemoliz indeksi sayısal olarak rapor edilir [57]. Bir diğer avantaj da bazı analizörlerin, test sonuçlarına entegre hemoliz uyarıları eklemesidir. Bu uyarılar, sonuç yorumlamada klinisyenlere önemli bilgiler sunar. Örneğin HI değeri belirli bir eşik değeri aştığında cihaz, testin güvenilirliği konusunda uyarı verir [60]. Dezavantaj olarak, bu sistemlerin yüksek maliyeti ve cihaz bağımlılığı öne çıkar. Özellikle düşük bütçeli hastaneler veya kırsal bölgelerdeki laboratuvarlar için ulaşılabilirliği sınırlı olabilir. Ayrıca bazı durumlarda bilirubin ya da lipitlerin neden olduğu optik interferanslar nedeniyle HI değerinde yanlış pozitiflik görülebilir [55].

3.4. Karbonmonoksit Eliminasyonuna Dayalı Ölçüm

Yeni geliştirilen fizyolojik temelli hemoliz ölçüm yöntemlerinden biri, endojen karbonmonoksit (CO) salınımına dayalı analizlerdir. Eritrosit yıkımı sırasında açığa çıkan CO, gaz kromatografisi ile ölçülerek hemoliz düzeyi hakkında kantitatif veri sağlar [61]. Bu yöntemde, hastadan alınan solunum havası veya kan örneği içerisindeki CO miktarı analiz edilerek, eritrositlerin parçalanma düzeyi hakkında bilgi edinilir. Yöntem özellikle ekstrem ortamlarda, düşük örnek hacimleriyle yüksek doğruluk gerektiren klinik senaryolarda veya hemolitik anemilerin takibinde kullanılabilir. Avantajları arasında, klasik hemoliz belirteçlerinden bağımsız ve daha fizyolojik bir temele dayanması, ayrıca çok düşük

düzeydeki hemolizi bile hassas şekilde tespit edebilmesi yer alır. Ancak bu teknik oldukça pahalıdır, karmaşık ekipman gerektirir ve gaz analizine yönelik altyapı ister. Bu nedenle yaygın klinik uygulamada henüz standart bir yöntem haline gelmemiştir.

3.5. Haptoglobin Testi

Haptoglobin, serbest hemoglobinle kompleks oluşturarak hemolizin biyokimyasal bir göstergesi olarak görev yapar. Klinik laboratuvarlarda hemoliz tespiti için serum haptoglobin düzeyi ölçülebilir. Düşük haptoglobin düzeyi, hemolizin bir göstergesi olarak değerlendirilir [62]. Bu test genellikle immünoturbidimetrik yöntemle yapılır. Tek başına akut hemolizi değil, aynı zamanda kronik veya in vivo hemolizi değerlendirmede kullanılır. Özellikle hemolitik anemilerde tanı koymaya yardımcı olur. Avantajı, in vivo hemolizi ayırt etme kapasitesidir. Ancak bu test akut faz reaktanı olarak da değişkenlik gösterebilir ve sadece hemoliz şüphesi varsa kullanılır. Ayrıca bu yöntem, in vitro hemolizi değerlendirmede yetersiz kalır [57].

3.6. Yerinde Tanı Cihazlarıyla Ölçüm

Modern klinik uygulamalarda, hızlı hemoliz tespiti için taşınabilir yerinde tanı (point-of-care, POC) cihazları da kullanılmaktadır. Bu cihazlar genellikle hemoglobin, potasyum veya LDH gibi hemolizle ilişkili parametreleri küçük örnek hacimlerinde ve dakikalar içinde ölçebilmektedir [63]. POC cihazlarının uygulaması genellikle parmak ucu kanı veya mikrolitre düzeyinde plazma örnekleriyle gerçekleştirilir. Bazı sistemlerde hemoliz algılama, çoklu spektrometrik ölçümle yapılır; örneğin hemoglobin, bilirubin ve lipit sinyallerinin karışımı analiz edilir. Avantajları arasında hızlı sonuç verme, mobilite, küçük örnek gereksinimi ve acil karar süreçlerinde kullanılabilirlik yer alır. Ancak bu cihazların hassasiyeti, laboratuvar analizörleriyle kıyaslandığında daha düşük olabilir ve doğrulama gerektirir.

Tablo 3.1’de yöntemlerin avantaj-dezavantajları ve klinikteki kullanım yaygınlıklarına dair bilgiler verilmiştir. Klinik ortamlarda hemoliz ölçümü; manuel gözlem, spektrofotometrik cihazlar, biyokimyasal göstergeler (haptoglobin), fizyolojik gaz ölçümleri ve taşınabilir cihazlar gibi çok sayıda yöntemle gerçekleştirilmektedir. Görsel yöntemler ekonomik ve hızlıdır ancak subjektiftir. Otomatik hemoliz indeksi sistemleri yüksek

doğruluk ve standardizasyon sağlar, fakat maliyetlidir. Haptoglobin testi in vivo hemolizi değerlendirmek için yararlıdır. Karbonmonoksit eliminasyonu ve POC cihazları ise gelecekte daha yaygın hale gelebilecek yenilikçi yaklaşımlardır. Klinikler, uygulama sahasına, kaynaklarına ve analiz gereksinimlerine göre bu yöntemlerden uygun olanı seçmelidir.

Tablo 3.1. Hemoliz Ölçümü İçin Klinikte Kullanılan Yöntemler

Yöntem	Avantaj(lar)	Dezavantaj(lar)	Kullanım Yaygınlığı
Görsel Değerlendirme	Düşük maliyetli Hızlı uygulanabilir	Subjektif Düşük düzeyde hemolizi yakalamada yetersiz	Orta – birçok laboratuvarında temel yöntem olarak kullanılır
Otomatik Hemoliz İndeksi (HI)	Yüksek doğruluk Standardizasyon	Cihaz maliyeti yüksek İnterferanslardan etkilenebilir	Yaygın – gelişmiş laboratuvarlarda standart yöntemdir
Karbonmonoksit Eliminasyon Ölçümü	Fizyolojik temelli Yüksek doğruluk	Pahalı Özel ekipman gerektirir	Nadir – araştırma veya özel durumlarda
Haptoglobin Testi	İn vivo hemolizi ayırt edebilme kapasitesi	Akut safhada değişkenlik gösterebilir	Orta – özellikle hemolitik anemi şüphesinde kullanılır
Point-of-Care Cihazlar	Hızlı sonuç verme Taşınabilirlik	Laboratuvar cihazlarına göre daha düşük hassasiyet	Artışta – acil servis ve saha uygulamalarında yaygınlaşmakta

3.7. Hatalı Ölçümler ve Etkileri

Laboratuvar test süreçleri üç temel aşamaya ayrılır: preanalitik, analitik ve postanalitik fazlar. Yapılan araştırmalar, laboratuvar hatalarının büyük bir çoğunluğunun preanalitik fazda gerçekleştiğini göstermektedir [64]. Bu aşamada en sık karşılaşılan hata türlerinden biri hemolizdir. Hemoliz, numune kalitesini etkileyerek analiz sonuçlarında yanlış yorumlara yol açabilir. Bu nedenle hemolize bağlı preanalitik hataların nedenlerinin anlaşılması, laboratuvar kalitesini artırmak ve hasta güvenliğini sağlamak açısından kritik öneme sahiptir.

Preanalitik hataların temelinde genellikle kan alma, taşıma ve saklama süreçlerinde yapılan hatalar yatmaktadır. Hemoliz, eritrositlerin parçalanarak hemoglobinin plazmaya karışmasıdır ve çoğu zaman in vitro süreçlerde meydana gelir. Kan alma sırasında kullanılan iğnenin çok ince olması, kanın tüpe zorla verilmesi, tüplerin aşırı çalkalanması, pıhtılaşma tamamlanmadan santrifüj edilmesi ve uygun olmayan sıcaklıkta taşınması hemolize neden olan başlıca faktörlerdir [65]. Özellikle acil servislerde ve yoğun bakım ünitelerinde hemoliz

oranlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunun temel nedeni, kan alma işlemlerinin genellikle intraket ya da damar içi kateter gibi ikincil yollarla yapılmasıdır. Ayrıca gece vardiyalarında, deneyimli olmayan personelin numune alımı sırasında yaptığı teknik hatalar a hemolizi artırmaktadır [66].

Bir çalışmada, 11 milyondan fazla örnek üzerinden yapılan analizde, 87.317 hata saptanmış ve bunların %97'sinin preanalitik fazda gerçekleştiği görülmüştür. Bu hataların %47.2'si ise hemolizli örneklerden kaynaklanmıştır [64]. Başka bir çalışmada, üniversite hastanesinde yıl boyunca analiz edilen 1.082.014 örneğin %0.63'ünde preanalitik hata saptanmış, hemoliz bu hataların %44.6'sını oluşturmuştur [67]. Ayrıca, Suudi Arabistan'da yapılan bir iki yıllık çalışmada, preanalitik hata oranı %12.1 olarak bildirilmiş ve bunların %3.5'inin doğrudan hemoliz kaynaklı olduğu tespit edilmiştir [68]. Bu veriler, hemolizin preanalitik hatalarda önemli bir paya sahip olduğunu ve laboratuvar güvenilirliğini ciddi şekilde etkilediğini göstermektedir.

Hemoliz, laboratuvar testlerinde hem biyolojik hem de analitik olarak interferansa neden olur. Eritrosit içeriğinin seruma karışmasıyla birlikte potasyum, LDH (laktat dehidrogenaz), AST (aspartat aminotransferaz), ALT, kreatin kinaz ve fosfat gibi analizlerde yapay artışlar görülür. Bunun yanında, sodyum, klorür, albümin gibi parametrelerde ise yalancı düşüşler gözlemlenebilir [58]. Bu tür hatalı sonuçlar, özellikle elektrolit bozuklukları ya da karaciğer enzimleri ile ilgili tanı ve tedavi süreçlerinde ciddi yanlış kararlara yol açabilir. Örneğin, hemolizli örnekte yüksek potasyum sonucu yanlışlıkla hiperkalemi tanısı konulabilir ve gereksiz tedaviler uygulanabilir. Ayrıca hemoliz, spektrofotometrik analizlerde doğrudan optik interferansa da neden olur. Serbest hemoglobinin renginden dolayı absorbans değişir ve analiz cihazı yanlış sonuç verebilir [57].

Hemoliz nedeniyle hatalı sonuçlar sadece klinik yanlışlara değil, aynı zamanda tekrar numune alımı, gecikmiş tanı, hasta memnuniyetsizliği ve artan sağlık hizmeti maliyetlerine yol açar. Bazı çalışmalarda hemolizli örneklerin %60'a varan oranda reddedildiği ve laboratuvarlardaki toplam numune reddinin en yaygın nedeni olduğu rapor edilmiştir [65]. Hemolizli örneklerin tekrarlanması gerektiğinde hem hasta hem de sağlık personeli için zaman kaybı oluşur. Ayrıca, testin tekrar edilmesi, laboratuvar iş yükünü artırır ve kaynak tüketimini yükseltir. Gerekli önlemler alınmadığında bu tür hatalar zincirleme şekilde sağlık sistemine zarar verebilir.

Hemolize bağlı preanalitik hatalar, laboratuvar tıbbında sık karşılaşılan, ancak büyük ölçüde önlenebilir hatalardır. Bu hataların çoğu, uygun numune alma tekniklerinin uygulanması, personel eğitimi ve kalite kontrol mekanizmalarının güçlendirilmesiyle azaltılabilir. Ayrıca, otomatik hemoliz indeks sistemlerinin kullanımı, hatalı örneklerin erken tespiti açısından oldukça yararlıdır. Preanalitik sürecin sürekli izlenmesi, verilerin analiz edilmesi ve iyileştirici adımların atılması, sadece laboratuvar kalitesini değil, aynı zamanda hasta bakımını da olumlu yönde etkiler.

3.8. Konuyla İlgili Yapılan alışmalar

Bu bölümde literatürde bulunan, yapılan çalışmaya benzer çalışmalar özetlenmiştir.

2016 yılında Cattini ve Rovati tarafından yapılan çalışmada [69], hemodiyaliz (HD) esnasında hemolizin gerçek zamanlı ve kantitatif olarak izlenmesi için bir optik ölçüm tekniği sunulmuştur. Mevcut yöntemlerin, toksik kimyasallar kullanması veya serbest hemoglobini (Hb) sağlam kırmızı kan hücreleri (RBC) içindeki hemoglobinden ayırt edememesi nedeniyle hat-içi (inline) izlemeye uygun olmamasından yola çıkılmıştır. Geliştirilen yöntemin temel prensibi, doğrudan kanı analiz etmek yerine, hemodiyalizr filtresinden geçen serbest Hb'yi atık diyaliz sıvısı (DF) içinde ölçmektir. Bu yaklaşım, hemodiyalizr membranının sağlam RBC'leri tutarken, yaklaşık 5 nm çapa sahip serbest Hb moleküllerinin diyalizata geçişine izin vermesi esasına dayanır. Geliştirilen sistem, atık diyalizatın içinden geçtiği bir akış hücresinde 415, 450 ve 700 nm dalga boylarındaki LED'ler ile optik soğurma spektroskopisi yaparak diyalizattaki serbest Hb konsantrasyonunu ler. Hastanın kanındaki serbest Hb konsantrasyonunu tahmin etmek için, bu iki konsantrasyon arasındaki deneysel olarak belirlenen ve filtre özelliklerine bağlı olan R oranı kullanılmıştır. Yapılan n ex vivo deneyler sonucunda, sistemin hemolizi hastalar için riski azaltmaya yetecek bir çözünürlük ve hassasiyetle tespit edebildiği bulgusuna ulaşılmıştır.

2017 yılında Van Leeuwen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [70], hareket halindeki kanda hemolizin hiper-spektral absorbands (ışık soğurma) zerindeki etkileri, in silico (bilgisayar tabanlı) bir araştırma ile incelenmiştir. Bu araştırma, kırmızı kan hücrelerinin (RBC) akış sırasındaki oryantasyonunu ve dağılımını dikkate alan CLBlood adlı hücre tabanlı bir ışık etkileşim modeli kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, farklı hematokrit seviyeleri (%10 ve %45), akış koşulları (rastgele yönelimli, akışa paralel ve akışa

dik gelen ışık) ve hemoliz dereceleri altında kanın absorbands imzası ultraviyole (UV), görünür ve kızılötesi (IR) spektral aralıklarda simüle edilmiştir. Simülasyon sonuçları, hemolizin absorbands üzerindeki etkisinin, kanın akışına (biyofiziksel faktörler), gelen ışığın yönüne ve özellikle de hematokrit seviyesine önemli ölçüde bağlı olduğunu göstermiştir. Örneğin, ışığın akışa paralel geldiği durumda düşük hematokritteki etki büyükken, akışa dik geldiği durumda ise yüksek hematokritteki etkinin daha belirgin olduğu saptanmıştır. Ayrıca, incelenen çoğu durumda kan absorbandsının kızılötesi (IR) bölgede hemolize karşı hassas olduğu ve bu hassasiyetin, daha fazla hücrenin neden olduğu saçılmanın ışık yolunu uzattığı "detour etkisi" (detour effect) nedeniyle yüksek hematokrit seviyelerinde arttığı bulgusuna ulaşılmıştır. Bu bulgular, hemoliz tespiti için daha doğru yöntemler geliştirilmesinde bu faktörlerin dikkate alınması gerektiğini ortaya koymaktadır.

2018 yılında Zhou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [71], optofluidik nanofiltrelere sahip bir dalga kılavuzlu sensör kullanılarak tam kan örneklerinde santrifüj işlemine gerek kalmadan hemoliz düzeyinin gerçek zamanlı olarak ölçülebileceği gösterilmiş. Çalışmada, 400 nm açıklığa ve 200 nm aralığa sahip nanofiltrelere dayanan evanesan dalga emilim ölçümü yöntemiyle hemoglobinin plazmadan ayrıştırılması sağlanmış ve hemoliz seviyesi 0–200 mg/dL arasında yüksek doğrulukla tespit edilmiş. Yapılan testlerde, 100 mg/dL hemoglobin konsantrasyonunda %0,86 ve 0 mg/dL'de %1,65 varyasyon katsayısı elde edilerek sensörün tekrarlanabilirliği ortaya konmuştur. Bilirubin gibi interferanların varlığında bile çoklu regresyon analiziyle hemoglobin ve bilirubin ayrımı yapılarak %18 oranında duyarlılık artışı sağlanabileceği belirtilmiştir. Sensörün bir kan gazı analizörüne entegre edildiği uzun dönem (7 hafta) deneylerinde, tartrazin kalibrasyon sıvısıyla yapılan testlerde %4,7'ye varan toplam duyarlılık sapması kaydedilerek malzemenin kararlılığı kanıtlanmıştır. Sonuç olarak, bu çalışmada geliştirilen optofluidik sensörün, POC cihazlarında altı basamaklı hemoliz sınıflandırması için hızlı, güvenilir ve otomatik bir çözüm sunduğu ortaya konmuştur.

2019 yılında Archibong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [72], kan plazması numunelerindeki hemolizi hızlı ve güvenilir bir şekilde saptamak amacıyla optik fiber platformuna entegre edilmiş minyatür bir spektroskopik sensör tasarlanmış ve test edilmiştir. Cihazın tasarımı, 0-500 mg/dL'lik hemoglobin konsantrasyon aralığında en iyi çözünürlüğü elde etmek için fiber ucu ile yansıtıcı yüzey arasındaki mesafenin teorik olarak optimize

edilmesiyle oluşturulmuştur. Bu yöntemde, optik fiberden çıkan ışığın plazma içerisinden geçip altın kaplı yansıtıcı bir membrandan geri yansması ve aynı fiber tarafından toplanarak bir güç ölçere iletilmesi prensibi kullanılmıştır. Yapılan deneysel testler sonucunda, geliştirilen cihazın serbest plazma hemoglobini 0-500 mg/dL gibi geniş bir aralıkta ölçebildiği ve 4 mg/dL'den daha düşük bir tespit limitine sahip olduğu bulgusuna ulaşılmıştır. Bu sonucun, standart bir yöntem olan görsel tespitteki yaklaşık 50 mg/dL'lik sınıra kıyasla çok daha hassas olduğu ve düşük seviyeli hemolizin dahi saptanmasına imkan tanıdığı belirtilmiştir. Çalışma, bu reaktif gerektirmeyen ve anında kantitatif sonuçlar sunan sensörün, kan testi laboratuvarları ve hastanelerde numune kalite kontrolü için faydalı olabileceğini ortaya koymuştur.

2020 yılında Azhar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [63], kan plazmasının mikrolitreden daha küçük hacimlerinde hemoliz tespitini amaçlayan basit, hassas ve uygun maliyetli bir yöntem geliştirilmiştir. Bu çalışmada, herhangi bir optik filtre veya hareketli parça içermeyen çok spektrumlu bir optik düzenek kullanılarak, bilirubin ve lipid gibi interferantların varlığında dahi hemoglobin içeriği ölçülmüştür. Yaklaşık 150 mikrometrelik bir optik yol uzunluğu kullanılan sistemde, 1 µL'den daha az bir numune hacmiyle 0 ile 400 mg/dL aralığındaki hemoglobin konsantrasyonları tayin edilmiştir. Bilirubinin örtüşen soğurma spektrumu ve lipidlerin saçılma spektrumundan kaynaklanan spektral girişimin, lineer matris cebiri algoritmaları kullanılarak aşıldığı belirtilmiştir. Bu yöntemle 27 bilinmeyen numune üzerinde yapılan testlerde, %90'ın üzerinde bir doğruluk ve yaklaşık %10'luk bir varyasyon katsayısı ile hemoliz tespit edildiği bulgusuna ulaşılmıştır. Çalışmanın sonunda, geliştirilen sistemin düşük numune hacmi gereksinimi ve yüksek hassasiyeti sayesinde POC tıbbi cihazlarında uygulanma potansiyeline sahip olduğu vurgulanmıştır.

2023 yılında Banerjee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [73], düşük maliyetli yakın kızılötesi (near infrared, NIR) tabanlı fotoakustik sistem kullanılarak hemolizin zamana bağlı değişiminin gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmacılar, toplam hemoglobin içeriğinin hemoliz süresince sabit kalması nedeniyle fotoakustik sinyal genliğinin değişmeyeceği hipotezi test edilmiştir. Çalışmada, kırmızı kan hücrelerine farklı konsantrasyonlarda (134.75 mM - 38.5 mM) hipotonik ortamda ozmotik şok uygulanarak hemoliz indüklenmiş ve 905 nm lazer diyot içeren fotoakustik sistem ile yanıt kaydedilmiştir. Deneysel sonuçlar, hipotezin aksine fotoakustik sinyal genliğinin lizis ilerledikçe azaldığını göstermiş ve bu

düşüşün hemoliz miktarı ile doğrusal bir ilişki sergilediğini ortaya koymuştur ($R^2 = 0.997$). Sistem, %1.7 kadar düşük hemoliz seviyelerini tespit edebilme kapasitesi göstermiştir. Çalışma ayrıca, fotoakustik yanıtın hemolizin erken fazında eritrosit şişmesinin imzasını taşıdığını ve farklı kan örneklerinde değişen bozunma oranlarının eritrosit kırılma testinde kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Bulgular, NIR-fotoakustik sistemin in-vivo hemoliz izlemi için taşınabilir, non-invaziv hasta bakım cihazına dönüştürülme potansiyelini desteklemektedir.

4. MATERYAL VE METOT

Bu bölümde tez çalışmasında kullanılan materyaller hakkında ve metot hakkında bilgi verilecektir.

4.1. Donanım Bileşenleri

4.1.1. Mikrodenetleyici

Çalışmada mikrodenetleyici olarak WEMOS D1 MINI ESP32 kullanılmıştır. ESP32 ailesinin bir üyesi olan bu modül işlem kapasitesi ve 39x31 mm, 12 g'lık kompakt tasarımı sayesinde taşınabilir cihaz prototiplerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Espressif Systems tarafından geliştirilen ve Xtensa mimarisini kullanan modül, maksimum 240 MHz CPU frekansına ve 4 MB'lık flash boyutuna sahiptir. Sistem 2.4 GHz bandında 802.11 desteği ile kablosuz internete ve Bluetooth ağlarına bağlanabilmektedir. Toplamda 34 adet dijital IO pini ve 18 analog giriş pini barındırmaktadır.

Çalışmada; kompakt tasarımı, güçlü işlem kapasitesi ve Arduino IDE üzerinden hızlı bir şekilde derleme yapılabilmesi adına bu mikrodenetleyici kartı seçilmiştir. Mikrodenetleyici üzerinde veri toplama, veri işleme ve hata ayıklama işlemleri yapılmıştır. Şekil 4.1'de kullanılan mikrodenetleyici kart görülmektedir.



Şekil 4.1. WEMOS D1 MINI ESP32 Mikrodenetleyici Kartı [74]

4.1.2. Işık Kaynağı

Çalışmada ışık kaynağı olarak WS2812B [75] programlanabilir LED kullanılmıştır. Dekor ışıklandırmalarında ve ev içi projelerde kullanılan bu ışık kaynağı 5x5 mm'lik tasarımı ile bunların yanı sıra POC cihazlar için de oldukça uygundur. Her renk kanalı için 256 seviyede (0-255) programlanabilmesi sayesinde RGB (kırmızı, yeşil, mavi) renk uzayında 16777216 farklı renk oluşturma kapasitesine sahiptir ve veri aktarımı 800Kbps'te gerçekleşir. Dalga boyları kırmızı, yeşil ve mavi için sırasıyla; 620-625 nm, 522-525 nm, 465-467 nm aralığındadır. Kırmızı renk için 2-2.2 V, yeşil ve mavi için ise 3-3.4 V'luk bir çalışma gerilimi bulunmaktadır.

Çalışmada, farklı dalga boylarında yapılan analizlerin değerlendirilmesi adına programlanabilir LED seçilmiştir, bu sayede tek bir renge veya dalga boyuna bağlı kalınmayarak cihazın ölçümleri farklı dalga boylarında da incelenmiştir. Şekil 4.2'de kullanılan ışık kaynağı görülmektedir.



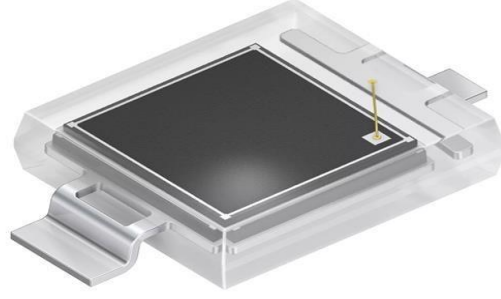
Şekil 4.2. WS2812B Programlanabilir RGB LED [75]

4.1.3. Işık Sensörü

Çalışmada ışık sensörü olarak SFH 2440 fotodiyot kullanılmıştır. Yüksek doğrusallığa ve düşük sıcaklık hassasiyetine sahip olan bu fotodiyotun spektral hassasiyeti insan gözüyle

uyumlu olacak şekilde tasarlanmıştır. 400-690 nm arasında efektif bir şekilde çalışabilen fotodiyotun, maksimum hassasiyete sahip olduğu dalga boyu ise 620 nm'dir.

Kullanılan fotodiyotun 620 nm'de maksimum hassasiyete sahip olması sebebiyle, klinikte uygulanan manuel (insan gözüyle) ölçüm yöntemi cihaz üzerinde de imite edilebilmiştir. Şekil 4.3'te kullanılan ışık sensörü görülmektedir.



Şekil 4.3. Osram SFH2440 Fotodiyot DIL SMT [76]

4.1.4. Analog-Dijital Dönüştürücü (ADC)

Çalışmada DFRobot ADS1115 16-bitlik sigma-delta programlanabilir analog-dijital dönüştürücü kullanılmıştır. WEMOS D1 MINI mikrodenetleyicide gömülü olarak bulunan 10-bitlik SAR ADC'ye göre daha yüksek çözünürlük kapasitesine sahiptir. Mikrodenetleyiciler ile kullanılabilmesi adına bu ADC'de dört adet I2C adresi bulunmaktadır. ADS1115'in örnekleme hızı da programlanabilmekte ve saniye başına 8 ile 860 arasında örnek alabilmektedir.



Şekil 4.4. DFRobot ADS1115 ADC [77]

Çalışmada ADS1115 ADC'nin Programlanabilir kazanç (PGA) kazancı 1 olarak ayarlanmış bu şekilde tam ölçek aralığı $\pm 4096V$ ve çözünürlük değeri $125 \mu V$ olmuştur.

ADC'nin saniyedeki örnek sayısı 860 ve 16bit çözünürlük seçilmiştir; bu sayede sinyal üzerinde gürültüye sebep olmadan, maksimum örnek sayısı en hızlı şekilde alınmaya çalışılmıştır. Şekil 4.4'te kullanılan ADC modülü görülmektedir. Fotodiyot çıkışına başka bir transempedans yükselteç devresi kullanılmıştır.

4.1.5. Yükselteç Devresi

Işık sensörü olarak kullanılan SFH 2440 fotodiyotun çıkışı işlemek ve analiz etmek için çok düşük (nanoamper mertebesinde) olduğu için fotodiyot ölçümlerinin ADC'ye iletilmeden, analog haldeyken gerilime çevrilmesi ve yükseltilmesi gerekmektedir. Bu sebeple akım değerlerini voltaja çeviren ve yükselten bir devre tasarlanmıştır, bu sayede ADC'nin ölçüm çözünürlüğüne uygun bir çıkış alınmaktadır. Devrede bu amaçla bir transempedans yükselteci kullanılmıştır. Devrenin kazancı, op-amp'ın ters beslemeli (inverting) konfigürasyonunda olduğu için, çıkış geriliminin (V_{OUT}) giriş gerilimine (V_{IN}) oranıdır. Bu devre bir transimpedans amplifikatördür. Bu tür devrelerde giriş, bir akım kaynağı (bu durumda fotodiyot) ve çıkış bir gerilimdir. Devrenin kazancı, geri besleme direncine (R_2) ve giriş direncine (R_1) bağlıdır. Ancak bu devrede giriş R_1 üzerinden değil, fotodiyot üzerinden akım olarak verilmektedir. Fotodiyot, üzerine düşen ışık miktarına bağlı olarak bir akım (I_{PD}) üretir. Bu devrenin kazancı, bir voltaj kazancı değil, bir transimpedans kazancıdır. Yani birimi Volt/Amper (V/A) veya Ohm (Ω) olan bir kazançtır. Devre, girişine uygulanan akımı, çıkışta bir voltaja dönüştürür. Örnek olarak devrenin kazancı, geri besleme direncine (R_1) eşittir. $A_i=R_1=1M\Omega=1,000,000\Omega$. Fotodiyotun (D_2) üzerine düşen ışık miktarı arttığında, fotodiyot tarafından üretilen akımın (I_{PD}) **1 mikroamper** ($1\mu A$) olduğunu varsayalım. Bu durumda, op-amp'ın çıkış voltajı (V_{OUT}) şöyle hesaplanır:

- $I_{PD} = 1\mu A = 1 \times 10^{-6} A$
 - $R_1 = 1M\Omega = 1 \times 10^6 \Omega$
- $$V_{OUT} = -(1 \times 10^{-6} A) \times (1 \times 10^6 \Omega) \quad (4.1)$$
- $$V_{OUT} = -1V$$

Buradaki negatif işaret, fotodiyot akımı op-amp'ın ters girişine aktığı için çıkış geriliminin negatif olacağını gösterir. Ancak fotodiyot ters besleme (reverse bias) modunda

kullanıldığında, akım yönü değişir ve çıkış pozitif olur. Devre şemasına göre, fotodiyotun anodu toprağa bağlı, katodu ise op-amp'ın girişine bağlıdır. Işık altında, anottan katoda doğru bir akım akışı olur. Op-amp'ın girişi sanal toprakta olduğundan, bu akım geri besleme direnci üzerinden akarak çıkışta pozitif bir gerilim oluşturur. Yani,

$$V_{OUT} = +I_{PD} \times R_1.$$

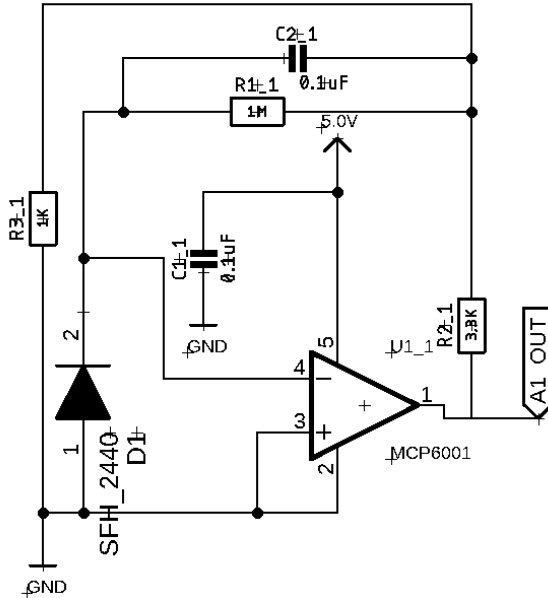
Bu durumda:

$$V_{OUT} = (1 \times 10^{-6} \text{A}) \times (1 \times 10^6 \Omega)$$

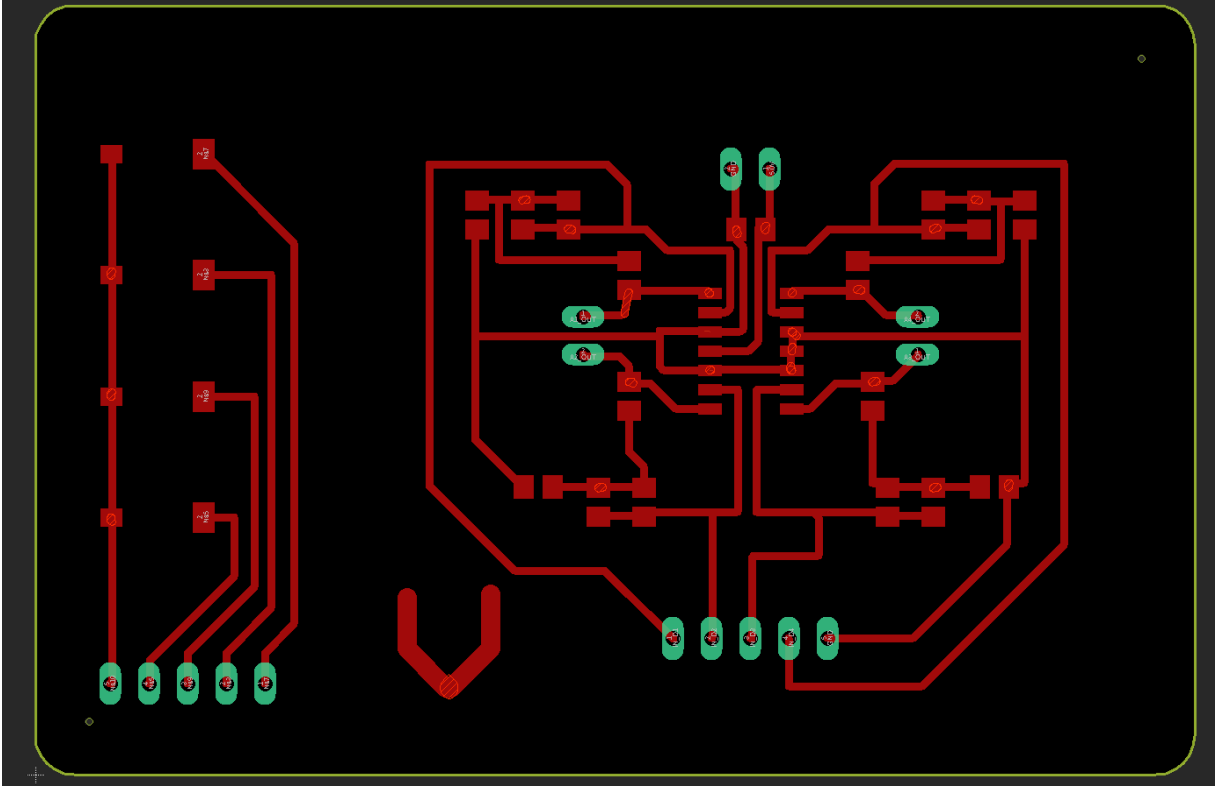
$$V_{OUT} = 1 \text{V}$$

Bu örnek, devrenin 1 mikroamperlik bir akımı 1 voltluk bir gerilime dönüştürdüğünü gösterir. Kullanılan devrede 1M ohmluk direnç yerine potansiyometre kullanılarak çıkış voltajının ADC'nin seçilen giriş voltajına uygun maksimum değerde olması sağlanmıştır.

Devre MCP6001 yerine MCP6004 entegresi kullanılarak tek pakette dört kanallı olacak şekilde tasarlanmış, ihtiyaç durumunda 4 farklı konumda yerleştirilen 4 adet fotodiyottan ölçüm yapabilecek şekilde tasarlanmıştır, tek konum ve kanalda alınan ölçüm sonuçları yeterli olduğu için diğer kanallar kullanılmıştır. Devre kartının şematik tasarımı Şekil 4.5'te, kart görünüşü Şekil 4.6'da görülmektedir.



Şekil 4.5. – Yükselteç Devresi Yerleşim Planı

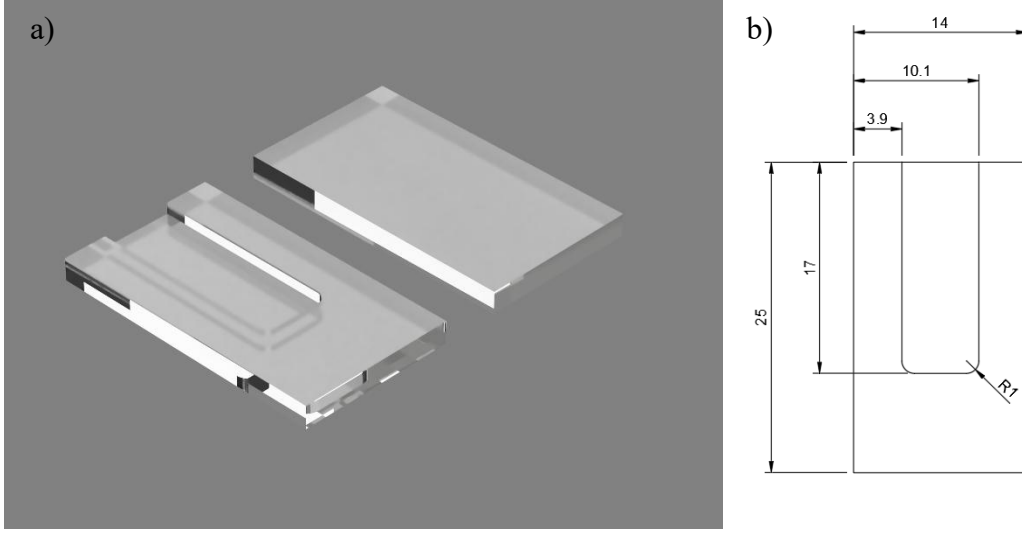


Şekil 4.6. – Yükselteç Devresi Kart Görünümü

4.2. PMMA Kartuş Tasarımı ve Üretimi

Çalışmada kanın kılcal etki ile kartuşa aktarılması için kapsamlı bir tasarım çalışması yürütülmüştür. Yapılan bütün tasarım süreçleri ve işleme için gereken takım yolu oluşturma işlemleri, içeriğinde entegre bir şekilde bilgisayar destekli tasarım (CAD) ve bilgisayar destekli üretim (CAM) modülleri bulunan Autodesk Fusion 360 programı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kartuşun toplam boyutu uzunluk, genişlik ve yükseklik için sırasıyla 25x14x2 mm olacak şekilde tasarlanmış ve işlenen kısma girecek olan kanın toplam hacmi 105 μL (17x6.2x1 mm) olacak şekilde ayarlanmıştır. Şekil 4.7’de kartuşun çift taraflı görüntüsü ve ölçülerine dair bilgiler görülmektedir.

Tasarlanan kartuşun ham PMMA levhada işlenebilmesi için CNC işleme yöntemi uygulanmıştır. Bunun için bir masaüstü CNC cihazı (Raptorex Pro, Raptorex, Türkiye) kullanılmıştır. X ve Y eksenlerinde maksimum 2000 mm/dk hıza sahip olan cihazın aksenal tekrarlanabilen hata payı 0.05 mm’den küçüktür; bu sebeplerle cihazın yüksek hıza ve hassasiyete sahip olduğu söylenebilir.



Şekil 4.7. a) Kartuşun Çift Taraflı Görüntüsü, b) Kartuşun Ölçüleri

240x360 mm'lik çalışma tablası sayesinde tek bir çalışmada 10 adet kartuş üretilebilmektedir. İşleme ve kesim işlemleri için karbür kaplı kesici takım (EPF3125061, Linix, Almanya) kullanılmıştır. Bu kesici takım tek ağızlı (flute) tasarımı ile kesim esnasında düşük ısı ürettiği için PMMA kesimine oldukça uygundur. Buna ek olarak 3 mm'lik kesici çapı ile yüksek hızlarda işlem yapabilmeyi de mümkün kılmıştır. Kesim sonrası oluşan yüzeyin optik geçirgenliğini korumak adına kapsamlı bir optimizasyon süreci sonrasında spindle hızı 8000 rpm, kesim hızı (feedrate) 900 mm/s olarak ayarlanmıştır, ek olarak tek seferde en fazla 0.2 mm inilecek şekilde işleme yapılarak malzemenin çok seferde kesilmesi ile daha az ısı üretimi sağlanarak ucun sağlığı ve yüzeyin optik geçirgenliği korunmaya çalışılmıştır. Kurulumun yapılması, CNC işleme ve kesme işlemleri kartuş başına ortalama bir dakika sürmektedir. Şekil 4.8'de kullanılan Raptorex Pro CNC cihazı ve kesici takım görülmektedir.

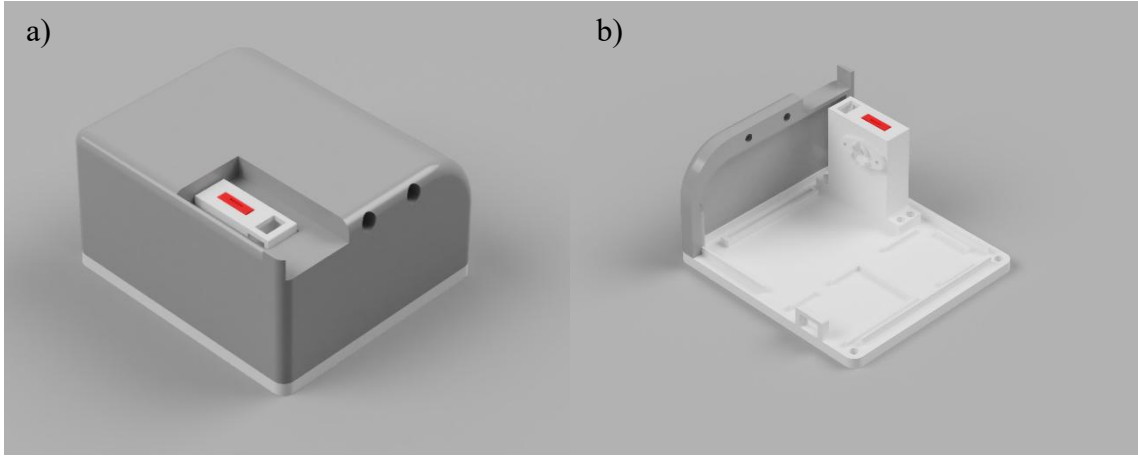
CNC cihazı ile işlenen ve kesilen PMMA parçaların birleştirilmesi için kloroform (Edukim, Türkiye) kullanılmıştır. Bir boya fırçası yardımıyla, kloroform yüzeylere sürülmüş ve yüzeylerin kloroformlu tarafları temas edecek şekilde hizalandıktan sonra en az üç dakika boyunca bir mengenede sabit bir şekilde baskıya maruz bırakılmışlardır. Bu noktada doğru basıncı ayarlamak kloroformdan kaynaklanan ve PMMA'da görülen mikro çatlaklara engel olunması bakımından kritiktir. Bu sebeple, bir sünger yardımıyla basınç dengelenmeye çalışılmış ve mengene her seferinde yaklaşık olarak aynı noktaya kadar sıkılmıştır.



Şekil 4.8. Kullanılan CNC Cihazı ve Kesici Takım

4.3. Cihaz Tasarımı ve 3B Baskı

Hemoliz ölçüm cihazının 3B baskı olarak basılabilmesi için gerekli tasarımlar Autodesk Fusion 360 programı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Sağlıklı bir baskı ve montaj aşaması için cihaz dört parça olarak basılmıştır. Bu dört parça; kartuş yuvası, taban, ana kapak ve yan kapak şeklindedir. Öncelikle kartuş yuvası tabana vidalanmış, sonrasında taban ve kartuş yuvası kısmı sırayla kapaklarla birleştirilmiştir. Şekil 4.9’da cihaz tasarımı dışı ve içi gösterecek şekilde görülmektedir. Şekil 4.10’da ise cihazın üç boyutlu yazıcı ile basılmış hali görülmektedir.



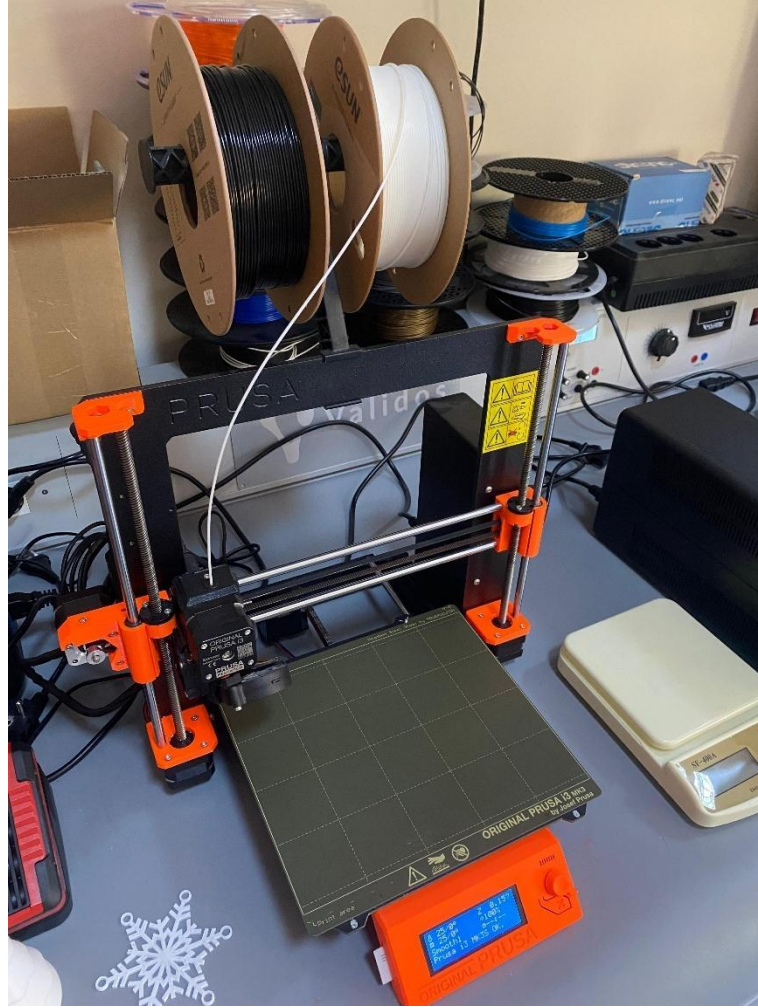
Şekil 4.9. a) Cihaz Tasarımının Dışı, b) Cihaz Tasarımının İçi



Şekil 4.10. Cihazın 3B Yazıcı ile Basılmış Halinin Görüntüsü

3B Baskı işlemleri için Prusa marka 3B yazıcı (MK3S, Prusa Research, Çekya) kullanılmıştır. Oluşturulan cihaz tasarımları Fusion programı yardımıyla STL formatına çevirilmiş ve Prusa Slicer yazılımı üzerinde GCODE formatına çevrilerek takım yolu oluşturulmuştur. Baskılar 0.2 katman kalınlığında, program tarafından önerilen standart

ayarlar kullanılarak alınmıştır. Baskı için siyah renkte filament (PLA+, eSun, Çin) kullanılmıştır. Şekil 4.11’de kullanılan 3B yazıcı ve PLA+ filament görülmektedir.



Şekil 4.11. Kullanılan 3B Yazıcı ve Filament

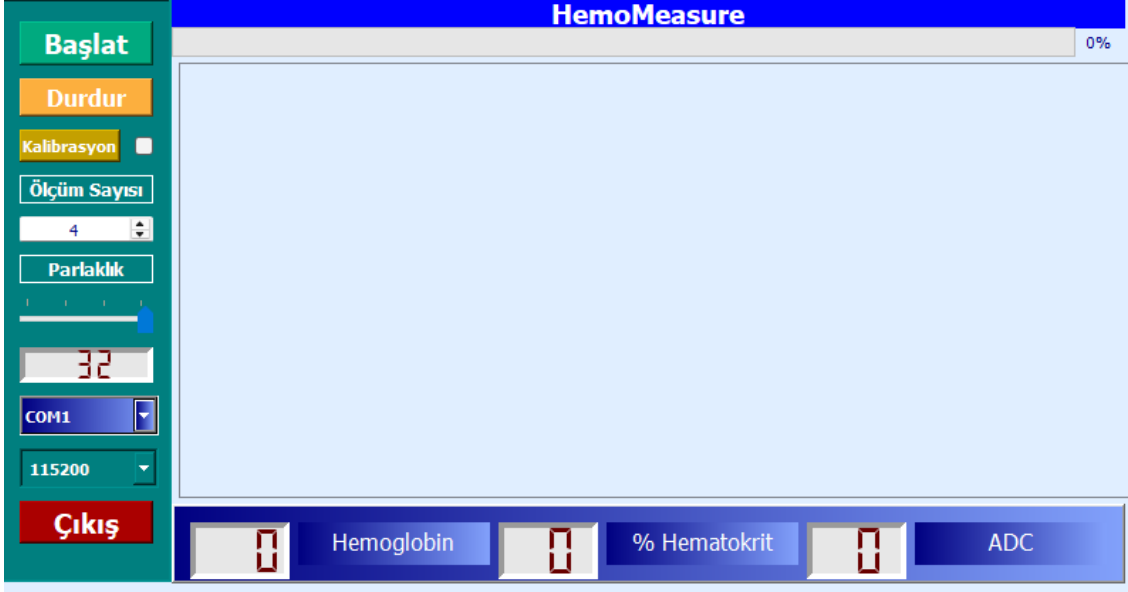
4.4. Kullanıcı Arayüzü

Kullanıcı arayüzü Python ortamında PyQt kütüphanesi ve kütüphaneye ait çalıştırılabilir bir yazılım olan QtDesigner yazılımı ile geliştirilmiştir. Sol menüde gerekli bütün ayarlar, sağ tarafta ise alınan ölçüm(ler)e dair grafik görülebilmektedir. Sol menüde bulunan özellikler şu şekildedir:

- Seri Port Seçim Menüsü: Öncelikle cihazın bilgisayara Micro-USB kablo ile bağlandığı seri port seçimi yapılması gerekmektedir, kullanılan cihazda sıklıkla kullanılan port COM11 olduğu için, bu ayarla varsayılan olarak belirlenmiştir.
- Kalibrasyon Butonu: PMMA'nın yapısından, işleme veya yapıştırma esnasında gerçekleşebilecek kartuşlar arası farkların etkisinin yok edilmesi adına bir kalibrasyon butonu eklenmiştir. Boş kartuş cihaza konulduktan sonra bu butona basılması beklenmektedir, basılmasa da cihazın ölçüm fonksiyonları aktif haldedir fakat kullanıcıya kalibrasyon yapması için bir uyarı gösterilmektedir. Kalibrasyon yapıldıktan sonra sağ taraftaki checkbox kendi kendini tiklemektedir, bu sayede kalibrasyonun yapıldığı kullanıcı tarafından teyit edilebilmektedir.
- Parlaklık Ayarı: Farklı parlaklık seviyelerinde ölçüm yapılabilmesi için parlaklığın değeri 0-255 arası için 32 seviyeye bölünmüştür, bu ayarın varsayılan değeri 32 olmakla birlikte, istenmesi halinde 0-32 aralığında daha düşük seviyelere çekilebilmektedir.
- Ölçüm Sayısı Ayarı: Ölçümler esnasında farklı sebeplerle (örneğin, şebeke gürültüsü gibi) gürültüler sinyale eklenebilmektedir, bu gürültülerin etkisini azaltabilmek adına fazlaca ölçüm alınması gerekebilmektedir, bu sebeplerle ölçüm sayısının belirlenebileceği bir ayar kısmı eklenmiştir. Bu kısımda minimum 1, maksimum 99 ölçüm alınabilmektedir, tek bir kartuş için 99 ölçüm alınması yaklaşık olarak on saniye sürmektedir.
- Baudrate Ayarı: İstenmesi durumunda mikrodenetleyici ile arayüzün haberleşmesi için kullanılan baudrate değiştirilebilmektedir, bu değer sıklıkla 115200 olarak kullanılmaktadır, bu sebeple varsayılan değer de buna uygun olarak belirlenmiştir.
- Başlat Butonu: Her şey hazır olduktan sonra (kartuşun koyulması, kalibrasyon süreci, kanın eklenmesi) ölçüm alınabilmesi için "Başlat" tuşuna basılması gerekmektedir. Belirlenen parlaklıkta belirlenen sayıda ölçüm alınarak sağ taraftaki grafik ekranına çizdirilmektedir.

- Durdur Butonu: Herhangi bir sebeple ölçümler esnasında kullanıcı ölçüm işlemini durdurmak isterse kullanılacak butondur, o ana kadar alınan ölçümler ekrana yazdırılır ve süreç yarıda kesilir.
- Çıkış Butonu: Sağ üstteki çarpı (kapat) tuşuna alternatif olarak eklenmiştir, bu butona basıldığında program kendini kapatır.

Şekil 4.12’de tasarlanan kullanıcı arayüzü görülmektedir.



Şekil 4.12. Tasarlanan Kullanıcı Arayüzü

4.5. Prototip Yazılımı

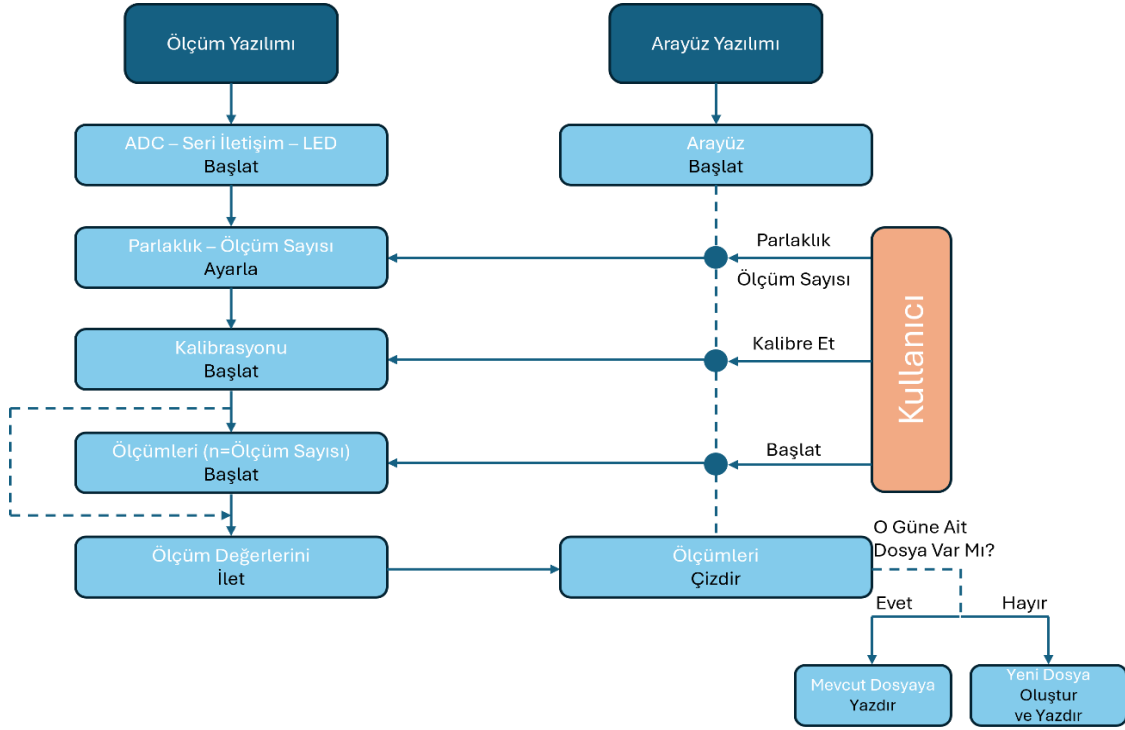
Prototip yazılımını iki ana kısımdan oluşmaktadır. Birincisi mikrodenetleyici üzerinde gömülü olarak bulunan ve ölçüm süreçlerini kontrol eden yazılım, ikincisi ise arayüzü kontrol eden yazılımdır. Prototip yazılımının ölçüm kısmı Arduino IDE, arayüz kısmı ise Python ortamında geliştirilmiştir. Arduino IDE ortamında kullanılan ESP32 ve ADS1115’in kullanımı için gereken kütüphanelere ek olarak, Python ortamında PyQt, Pandas, Numpy ve Matplotlib gibi birçok kütüphane kullanılmıştır.

Ölçüm kısmında öncelikle seri iletişim, ADS1115 ADC ve LED’ler ayarları yapılarak başlatılmaktadır. Sonrasında arayüzden çekilen parlaklık bilgisine göre LED’in parlaklığı ayarlanmaktadır. Başlat tuşuna basıldığında kod koşturulmakta ve ADC’den gelen voltaj değerleri arasında kısa bir gecikme olacak şekilde ölçülmekte ve hepsi yükselteç devresinden

geçirilerek mikrodenetleyiciye iletilmektedir. Sonuç olarak, mikrodenetleyici tarafından bu işlenmiş ölçüm değerleri seri port aracılığıyla arayüze döndürülmektedir.

Ölçümler alındıktan sonra her bir ölçüm için o günün tarihini içeren bir Excel dosyasına gerekli bilgiler ve veriler yazdırılmaktadır. Her bir ölçüm yeni bir hasta kabul edilerek, her yeni günde birden başlayacak şekilde Hasta numaraları oluşturulacak şekilde bir algoritma geliştirilmiştir. Excel dosyasında ölçüm sürecine ait; kalibrasyon değeri, alınan ölçüm sayısı, ölçümlerin ortalaması, kalibrasyon değeriyle ölçüm ortalamasının farkı ve tüm ölçümlerin ayrı ayrı sonuçları gibi değerler bulunmaktadır.

Şekil 4.13'te algoritmanın akış şeması, şekil 4.14'te oluşturulan örnek bir Excel sonuç tablosu dosyasından bir örnek görülmektedir.



Şekil 4.13. Algoritmanın Akış Şeması

Hasta ID	Maksimum Değer	Ortalama Değer	Kalibrasyon Değeri	Kalibre Edilmiş Ortalama	Ölçümler
Hasta 1	4095	4095	4095	0	4095.0, 4095.0, 4095.0, 4095.0
Hasta 2	4095	4010	4095	-85	3989.0, 4095.0, 3937.0, 4019.0
Hasta 3	1058	1037	4095	-3058	1032.0, 1058.0, 1014.0, 1044.0
Hasta 4	547	538	4095	-3557	536.0, 547.0, 526.0, 543.0
Hasta 5	523	515,25	4095	-3579,75	523.0, 507.0, 511.0, 520.0

Şekil 4.14. Örnek Sonuç Tablosu

4.6. Numunelerin Hazırlığı ve Deney Seti

Cihazın performansının incelenebilmesi adına farklı hemoliz seviyelerinde kan içerecek şekilde üç ayrı set hazırlanmıştır, bu setler literatürdeki hemoliz seviyelerine uygun olacak şekilde altı ayrı kategoride incelenmiştir. Her üç set için de A Rh⁺ grup kana sahip gönüllü kişilerden alınmış ve sitratlı tüpte saklanmış kanlar kullanılmıştır.

Şekil 4.15'te hemoliz seviyelerine dair örnek bir görsel bulunmaktadır.



Şekil 4.15. Hemoliz Seviyeleri

Oluşturulan setlerden birincisi Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) talimatları uyarınca hazırlanan ve altı farklı hemoliz kategorisini içerecek prosedür uygulanarak hazırlanmıştır. Buna göre;

- Sodyum sitratta korunmuş kan örneği 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenir,
- Üstteki plazma pipetle alınır ve ayrı bir tüpe aktarılır,
- Tüpte kalan alyuvar pellet yıkama işlemi için kullanılır,
- Alyuvar pelletin üzerine hacmen 3 katı kadar soğuk serum fizyolojik (%0.9 NaCl) çözeltisi eklenir ve hafifçe karıştırılır,
- Tüp 3000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenir,
- Süpernatant uzaklaştırılır,
- Bu işlem en az 3 kere tekrar edilir,
- Yıkamış alyuvar pelletine eşit hacimde soğuk distile su eklenir,
- 10 dakika oda sıcaklığında bekletilir,
- Tüp 2 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüjlenir,
- Üstte oluşan hemolizat süpernatantı alınır.

Bu yöntem yardımıyla plazma ve hemolizat sıvıları oluşturulmuş ve analiz için kullanılmıştır.

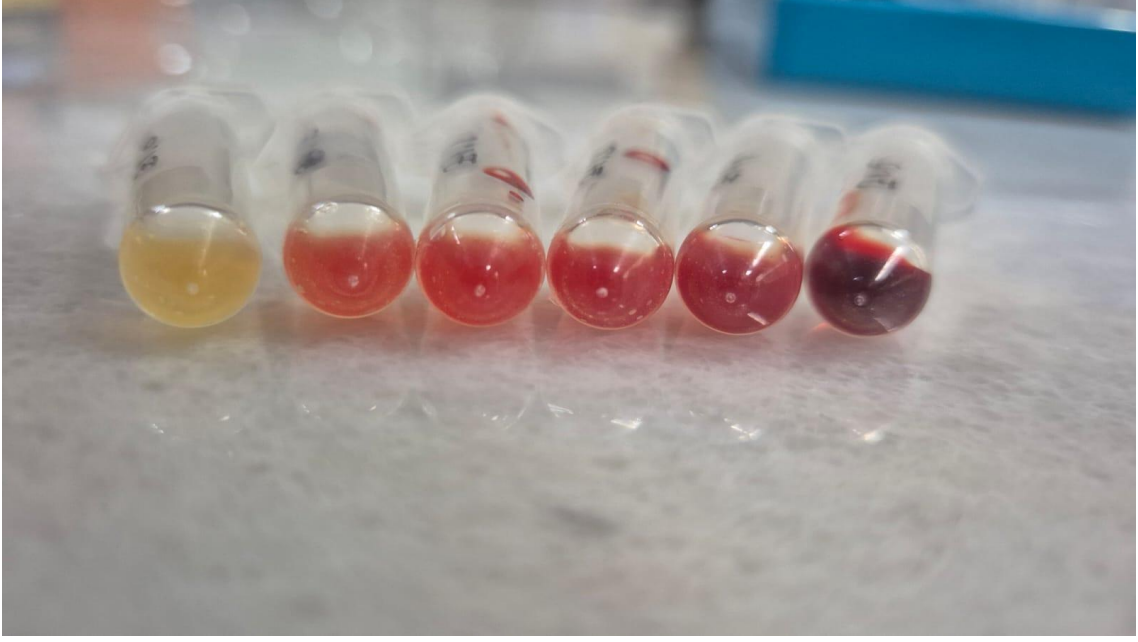
Tablo 4.1’de oluşturulan deney setlerine dair, farklı hemoliz seviyelerini temsil edecek şekilde hazırlanan karışımların oranları ve temsil ettikleri kategoriler görülmektedir. Şekil 4.16’da hazırlanan örnek bir setin kartuştaki görüntüsü, 4.17’de ise tüpteki görüntüsü görülmektedir. Tabloda yukarıdan aşağıya ifade edilen kartuş sırası, görsellerde soldan sağa görülmektedir.

Tablo 4.1. Set 1 Bilgileri

Seviye	Hemolizat (μL)	Plazma (μL)	Hemoliz Oranı (%)
Normal	-	100	0
+	5	95	5
++	10	90	10
+++	20	80	20
++++	40	60	40
+++++	100	-	100



Şekil 4.16. Deney Setinin Kartuştaki Görüntüsü



Şekil 4.17. Dency Setinin Tüpteki Görüntüsü

5. BULGULAR

Bu bölümde yapılan deneylerin sonuçları ve bu sonuçlara dair analizler paylaşılacaktır.

5.1. Deneysel Çalışmalar ve Sonuçları

Materyal ve ve metot kısmında bahsedildiği üzere toplamda üç ayrı set oluşturulmuştur. Bunlar farklı zamanlarda A Rh+ kan grubuna sahip gönüllerden alınmış olup aynı hemolizat hazırlama prosedürü yardımıyla hemoliz kategorilerini temsil edecek hale getirilmiş ve kartuşlara mikropipet yardımıyla eklenmiştir. Kartuşlar cihazda ilgili bölmeye konulduktan sonra ölçümler alınmış olup arayüz yazılımı yardımıyla incelenmiş ve sonuçları yazdırılmıştır.

Oluşturulan üç sette de ölçümler ikişer kere alınmıştır. Bu yöntem ile kartuşun işlenmiş yüzeyinin ışık kaynağına yakın veya uzak tarafta olmasının sonuçlarda anlamlı bir değişime sebep olup olmadığı incelenmiştir. Sonuçlar kısmının kalanında işlenmiş kısım ışık kaynağına yakınsa “ön”, uzaksa “arka” şeklinde ifade edilecektir.

Yapılan ilk setteki deneyler, kullanılan prototip yazılımındaki renk ayarı değiştirilerek üç farklı renkte yapılmıştır. Bu sayede hemoliz ölçümü için beyaz, kırmızı ve yeşil renklerdeki performanslar incelenmiştir. Set 1'e ait ölçümlerin farklı renkler altındaki sonuçları Tablolar 5.1, 5.2 ve 5.3'te sunulmuştur.

Tablo 5.1. Beyaz Renk ile Alınan Sonuçlar

Renk	Hemoliz Etiketi	Ölçüm (Ön)	Ölçüm (Arka)	Ölçüm (Ortalama)
Beyaz	Normal	2717	3203	2960
	+	2297	2512	2404
	++	1140	1604	1372
	+++	1130	1363	1246
	++++	1039	1155	1097
	+++++	750	980	865

Tablo 5.2. Kırmızı Renk ile Alınan Sonuçlar

Renk	Hemoliz Etiketi	Ölçüm (Ön)	Ölçüm (Arka)	Ölçüm (Ortalama)
Kırmızı	Normal	3597	3911	3754
	+	3682	3637	3659
	++	3136	3334	3235
	+++	3131	3444	3287
	++++	3076	2843	2959
	+++++	2902	2880	2891

Tablo 5.3. Yeşil Renk ile Alınan Sonuçlar

Renk	Hemoliz Etiketi	Ölçüm (Ön)	Ölçüm (Arka)	Ölçüm (Ortalama)
Yeşil	Normal	3554	3633	3593
	+	2905	2885	2895
	++	904	897	900
	+++	757	759	758
	++++	344	336	340
	+++++	52	52	52

Set 1 kullanılarak yapılan deneylerin sonuçlarına göre yeşil rengin seviyeler arası farkları daha iyi temsil ettiği ve ön-arka farklarının daha tutarlı olduğu gözlenmiştir. Bu sebeple sonraki iki sette deneyler sadece yeşil renk ayarı kullanılarak yapılmıştır. Set 2 ve Set 3'e dair deneysel sonuçlar Tablolar 5.4 ve 5.5'te görülmektedir.

Tablo 5.4. Set 2 Sonuçları

Hemoliz Etiketi	Ölçüm (Ön)	Ölçüm (Arka)	Ölçüm (Ortalama)	Ölçüm (Standart Sapma)
Normal	3209,75	3228	3218,875	12,9
+	1816	1853,25	1834,625	26,34
++	361	545,5	453,25	130,46
+++	146,25	218,75	128,5	51,27
++++	12,75	16,25	14,5	2,47
+++++	9,75	9,25	9,5	0,35

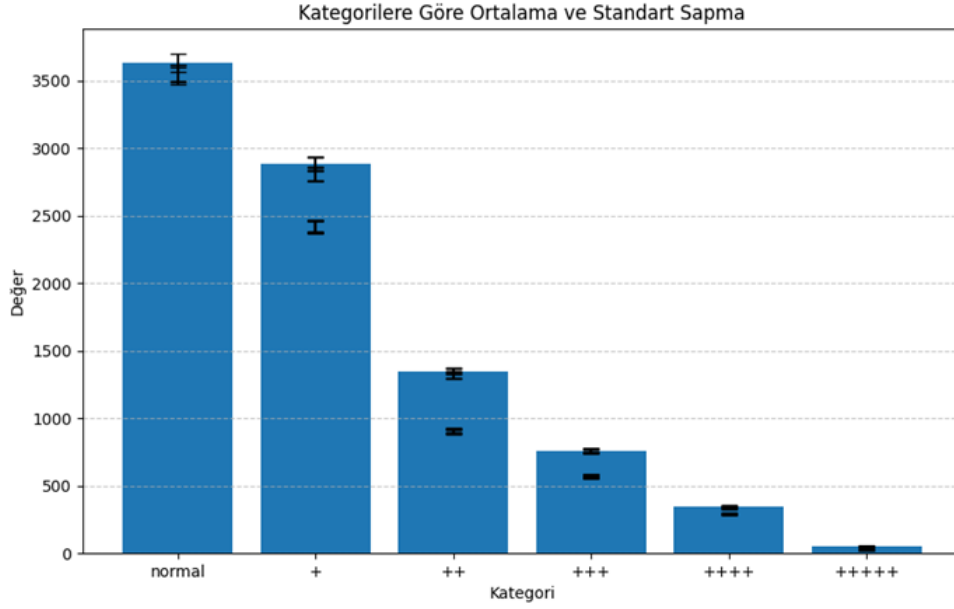
Tablo 5.5. Set 3 Sonuçları

Hemoliz Etiketi	Ölçüm (Ön)	Ölçüm (Arka)	Ölçüm (Ortalama)	Ölçüm (Standart Sapma)
Normal	3559,75	3537,5	3548,625	15,73
+	2417,75	2424,5	2421,125	4,77
++	1349	1322,25	1335,625	18,92
+++	573	569,75	571,375	2,3
++++	290,5	292	291,25	1,06
+++++	22,75	23	22,875	0,18

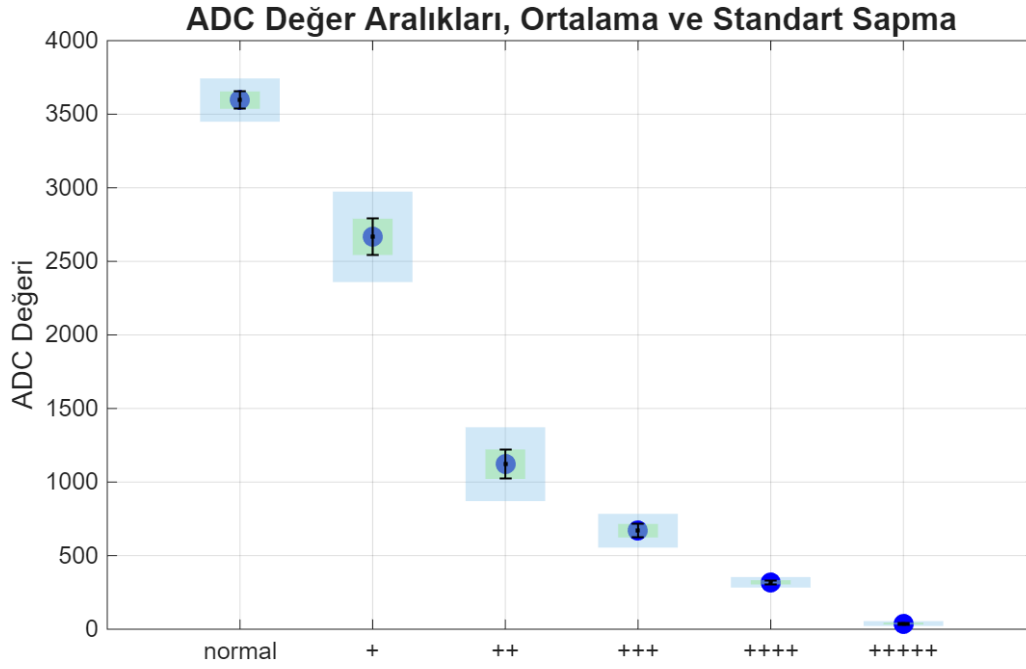
Üç deney setinden yeşil renk kullanılarak alınan ölçümlere göre toplam 36 ölçümün (3 set, 6 seviye, ön-arka ölçümler) sonuçları Tablo 5.6'da, sonuçların grafiksel gösterimi ise Şekil 5.1'de görülmektedir.

Tablo 5.6. Tüm Deneylerin Sonuçları

Hemoliz Seviyeleri	Ortalama	Standart Sapma	Maksimum	Min
Normal	3594,15	55,39	3743	3449
+	2845,81	56,33	2974	2359
++	900,98	4,7	1372	871
+++	758,7	1,75	784	555
++++	340,6	5,57	354	283
+++++	52,72	0,34	55	22



Şekil 5.1. Tüm Deneylerin Sonuçları



Şekil 5.2. Hemoliz deneylerinde elde edilen verilerin ADC sinyal değerlerine göre ortalama ve standart sapmalarının gösterimi

Hemoliz skoru arttıkça cihaz sinyali çok düzenli bir şekilde azalıyor. Bu, cihazın hemoliz tespitinde yüksek hassasiyet gösterdiğini görsel olarak ispatlamaktadır.

Hemoliz skoru ile cihaz sinyali arasındaki doğrusal ilişkinin gücünü ölçmek için yapılmıştır. Bu çalışmada hemoliz arttıkça cihaz sinyali artıp artmadığı sayısal olarak göstermek hedeflenmiştir. Pearson, veri normal dağıldığı durumda uygundur.

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (5.1)$$

$r \in [-1, 1]$

$r = 1 \rightarrow$ pozitif mükemmel ilişki

$r = -1 \rightarrow$ negatif mükemmel ilişki

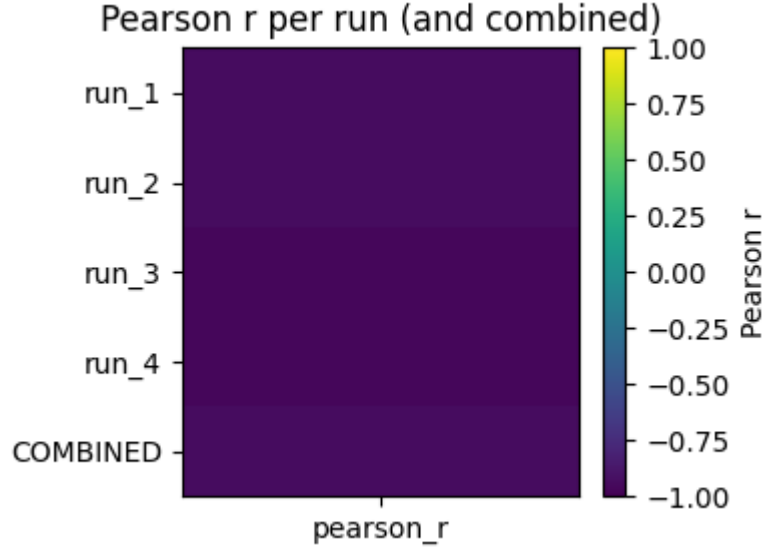
$r = 0 \rightarrow$ ilişki yok

Python programında pearson kalibrasyon testi yapılmıştır ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 5.7 Pearson Korelasyon Testi Sonuçları

Deney Seti	n	r	p-değeri
1	300	-0.936	1.20×10^{-137}
2	300	-0.934	3.23×10^{-135}
3	24	-0.963	5.77×10^{-14}
4	24	-0.962	6.89×10^{-14}
Tüm Sonuçlar beraber (Combined)	648	-0.937	5.24×10^{-297}

Hemoliz skoru arttıkça cihaz sinyali güçlü şekilde azalıyor. Tüm çalışmalarda korelasyon çok yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$). Bu, cihazın hemoliz tespiti açısından duyarlı olduğunu gösteriyor. Verilerin ısı haritası Şekil 5.3'teki gibidir.



Şekil 5.3. Pearson korelasyon testinin ısı harita grafiği

Her run (1 deney seti) için pearson r değerleri görselleştirilmiştir. Tüm değerlerin -1'e yakın olduğu hesaplanmıştır. Isı haritası, cihazın farklı örnek setlerinde bile benzer korelasyonlar verdiğini görsel olarak desteklemektedir.

Cihazın sinyal çıktısı hemoliz seviyesiyle yüksek doğrulukta ters orantılıdır. Gruplar arasında sinyal farkı belirgin ve istatistiksel olarak anlamlıdır. Cihaz, hemoliz seviyesini sayısal olarak ayırt edebilecek kapasitede olduğu gösterilmiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kan alma ve işleme süreçlerinde sıkça karşılaşılan ve laboratuvar sonuçlarını olumsuz etkileyen preanalitik bir sorun olan hemolizin, az miktarda kan örneği kullanılarak hızlı ve taşınabilir bir sistemle ölçülmesi amaçlanmıştır. Geliştirilen prototip cihaz ile yapılan deneysel çalışmalar, sistemin plazmadaki serbest hemoglobin miktarını başarılı bir şekilde tespit edebildiğini ve hemoliz seviyesini kantitatif olarak belirleme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, hemoliz derecesi ile alıcı sensörden okunan değer arasında belirgin bir ters orantı olduğu görülmüştür. Bu durum, Beer-Lambert yasası ile tamamen uyumludur; plazmadaki serbest hemoglobin konsantrasyonu arttıkça, ışık absorbansı artmakta ve dolayısıyla sensöre ulaşan ışık yoğunluğu azalmaktadır. Özellikle yeşil ışık kullanılarak yapılan ölçümlerde, hemoliz indeksi ile sensör çıktısı arasında en stabil ve doğrusal ilişki elde edilmiştir. Bu bulgu, hemoglobinin bu dalga boyu aralığında karakteristik bir absorbans göstermesiyle açıklanabilir ve yöntemin güvenilirliği açısından kritik bir öneme sahiptir. Buna karşın, kırmızı ışıkla yapılan ölçümlerde anlamlı bir sonuç alınamaması, hemoglobinin kırmızı ışığı absorbe etmek yerine büyük ölçüde yansıtmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum, sistemin doğru dalga boyu seçimiyle ne kadar hassas çalıştığını ortaya koymaktadır.

Klinik pratikte hemoliz tespiti, genellikle subjektifliğe açık olan görsel değerlendirme veya yüksek maliyetli ve merkezi laboratuvarlara bağımlı otomatik analizörler ile yapılmaktadır. Geliştirilen sistem, bu iki yöntemin sınırlılıklarına bir alternatif sunmaktadır. Cihazın taşınabilir olması ve sadece 100 mikrolitre gibi çok az bir kan örneği gerektirmesi, onu özellikle acil servisler, yoğun bakım üniteleri, pediatri klinikleri ve kaynakların kısıtlı olduğu saha koşulları için ideal bir “point-of-care” cihazı haline getirme potansiyeli taşır. Bu sayede, numuneler merkezi laboratuvara gönderilmeden önce hemoliz açısından hızlıca taranabilir, bu da hatalı test sonuçlarının, gereksiz numune tekrarlarının, geciken tanıların ve artan sağlık maliyetlerinin önüne geçilmesine yardımcı olabilir. Sistemin 0-4095 aralığındaki 12-bitlik ADC çözünürlüğü, hemoliz seviyelerini ayırt etmek için yeterli hassasiyete sahip olduğunu göstermektedir. Normal kan örneğinde 3554 değerinden başlayarak, tam hemolizli

örnekte 52 değerine kadar olan geniş ölçüm aralığı, sistem dinamik aralığının klinik ihtiyaçları karşıladığını göstermektedir.

Literatürde belirtildiği üzere, preanalitik hataların %47.2'sini hemolizli örnekler oluşturmaktadır. Bu çalışmada geliştirilen sistem, kan alımı öncesinde küçük bir örnek ile hemoliz riskini değerlendirme imkanı sunmaktadır. Bu yaklaşım, özellikle hemoliz riski yüksek olan durumlarda (intravenöz kateter yoluyla kan alımı, acil servis koşulları, deneyimsiz personel) erken uyarı sistemi olarak kullanılabilir. Geliştirilen sistemin temel bileşenleri (SMD RGB LED, Osram fotosensör, WEMOS D1 geliştirici kiti) laboratuvar sistemlerine göre oldukça düşük maliyetlidir. Bu durum, özellikle kaynak kısıtlılığı yaşayan sağlık kuruluşlarında uygulanabilirliğini artırmaktadır. Tek kullanımlık PMMA kartuşların üretimi de maliyet açısından avantaj sağlamaktadır. Kartuşların kloroform ile yapıştırılması ve sızdırmazlık testlerinin başarılı olması, sistemin güvenilirliğini desteklemektedir. Sistemin Python tabanlı kullanıcı arayüzü, sağlık çalışanlarının kolayca kullanabileceği sade ve anlaşılır bir yapıya sahiptir. Bu durum, sistem adaptasyonunu kolaylaştırmakta ve kullanıcı hatalarını minimize etmektedir.

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. İlk olarak, testler yalnızca A Rh+ kan grubu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Farklı kan gruplarının optik özelliklerinin sistem performansına etkisi araştırılmalıdır. İkinci olarak, sistemin klinik ortamda doğruluğu ve güvenilirliği, geniş hasta popülasyonu üzerinde daha kapsamlı çalışmalarla doğrulanmalıdır. Bu noktada klinikte “altın standart” olarak kullanılan otomatik laboratuvar analizörleri ile sonuçlar kıyaslanmalı ve geliştirilen sistemin performansı valide edilmelidir.

Bu çalışmada geliştirilen taşınabilir hemoliz ölçüm sistemi, klinik laboratuvar hizmetlerinde önemli bir boşluğu doldurmaktadır. Sistemin başarılı uygulanması, hemoliz kaynaklı preanalitik hataların azaltılması, hasta konforunun artırılması ve sağlık maliyetlerinin düşürülmesi açısından önemli katkılar sağlayabilir. Özellikle acil servis, yoğun bakım ve pediatrik klinikler gibi hemoliz riskinin yüksek olduğu bölümlerde rutin kullanım için uygun bir çözüm sunmaktadır. Sonuç olarak, geliştirilen sistem klinikteki mevcut yöntemlerin avantajlarını birleştirerek, düşük maliyetli, hızlı ve güvenilir bir hemoliz tespit sistemi sunmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] G. Lippi *vd.*, “Haemolysis: An overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories”, *Clin Chem Lab Med*, c. 46, sy 6, ss. 764-772, Haz. 2008, doi: 10.1515/CCLM.2008.170/MACHINEREADABLECITATION/RIS.
- [2] W. N. W. Azman, J. Omar, T. S. Koon, ve T. S. T. Ismail, “Hemolyzed Specimens: Major Challenge for Identifying and Rejecting Specimens in Clinical Laboratories”, *Oman Med J*, c. 34, sy 2, s. 94, 2019, doi: 10.5001/OMJ.2019.19.
- [3] E. Bozdemir, M. N. Kurutkan, ve M. Terzi, “Reprocessing Cost Analysis of Specimens Rejected in Laboratory: Results from the Perspective of the Costs to the Hospital”, *Clinical and Experimental Health Sciences*, c. 12, sy 1, ss. 67-74, Mar. 2022, doi: 10.33808/CLINEXPHEALTHSCI.804238.
- [4] A. M. Simundic, E. Topic, N. Nikolac, ve G. Lippi, “Hemolysis detection and management of hemolyzed specimens”, *Biochem Med (Zagreb)*, c. 20, sy 2, ss. 154-159, Haz. 2010, doi: 10.11613/BM.2010.018/FULLARTICLE.
- [5] F. Marques-Garcia, “Methods for Hemolysis Interference Study in Laboratory Medicine – A Critical Review”, *EJIFCC*, c. 31, sy 1, s. 85, 2020, Erişim: 17 Temmuz 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7109502/>
- [6] “Blood Basics - Hematology.org”. Erişim: 08 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.hematology.org/education/patients/blood-basics>
- [7] J. E. Hall ve A. C. Guyton, “Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology”.
- [8] “Physiology, Blood Plasma - StatPearls - NCBI Bookshelf”. Erişim: 08 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531504/>

- [9] A. Roggan, M. Friebel, K. Dörschel, A. Hahn, ve G. Müller, “Optical Properties of Circulating Human Blood in the Wavelength Range 400–2500 nm”, *J Biomed Opt*, c. 4, sy 1, s. 36, 1999, doi: 10.1117/1.429919,.
- [10] J. W. Harvey, “The Erythrocyte: Physiology, Metabolism, and Biochemical Disorders”, *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, ss. 157-203, Oca. 1997, doi: 10.1016/B978-012396305-5/50008-7.
- [11] Y. Ren, C. Yan, ve H. Yang, “Erythrocytes: Member of the immune system that should not be ignored”, *Crit Rev Oncol Hematol*, c. 187, s. 104039, Tem. 2023, doi: 10.1016/J.CRITREVONC.2023.104039.
- [12] M. Minetti, L. Agati, ve W. Malorni, “The microenvironment can shift erythrocytes from a friendly to a harmful behavior: Pathogenetic implications for vascular diseases”, *Cardiovasc Res*, c. 75, sy 1, ss. 21-28, Tem. 2007, doi: 10.1016/J.CARDIORES.2007.03.007/2/M_75-1-21-FIG1.GIF.
- [13] M. Podsiedlik, M. Markowicz-Piasecka, ve J. Sikora, “Erythrocytes as model cells for biocompatibility assessment, cytotoxicity screening of xenobiotics and drug delivery”, *Chem Biol Interact*, c. 332, s. 109305, Ara. 2020, doi: 10.1016/J.CBI.2020.109305.
- [14] A. N. Al-Shura, “Immune System 1: Leukocytes”, *Hematology in Traditional Chinese Medicine Cardiology*, ss. 29-31, Oca. 2014, doi: 10.1016/B978-0-12-800124-0.00007-5.
- [15] A. K. Nussler, U. A. Wittel, N. C. Nussler, ve H. G. Beger, “Leukocytes, the Janus cells in inflammatory disease”, *Langenbecks Arch Surg*, c. 384, sy 2, ss. 222-232, Nis. 1999, doi: 10.1007/S004230050196/METRICS.
- [16] C. Rüegg, “Leukocytes, inflammation, and angiogenesis in cancer: fatal attractions”, *J Leukoc Biol*, c. 80, sy 4, ss. 682-684, Eki. 2006, doi: 10.1189/JLB.0606394.

- [17] P. E. J. van der Meijden ve J. W. M. Heemskerk, “Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives”, *Nature Reviews Cardiology* 2018 16:3, c. 16, sy 3, ss. 166-179, Kas. 2018, doi: 10.1038/s41569-018-0110-0.
- [18] M. Holinstat, “Normal platelet function”, *Cancer and Metastasis Reviews*, c. 36, sy 2, ss. 195-198, Haz. 2017, doi: 10.1007/S10555-017-9677-X/FIGURES/1.
- [19] X. R. Xu *vd.*, “Platelets are versatile cells: New discoveries in hemostasis, thrombosis, immune responses, tumor metastasis and beyond”, *Crit Rev Clin Lab Sci*, c. 53, sy 6, ss. 409-430, Kas. 2016, doi: 10.1080/10408363.2016.1200008.
- [20] G. Lippi, G. L. Salvagno, G. Brocco, ve G. C. Guidi, “Preanalytical variability in laboratory testing: Influence of the blood drawing technique”, *Clin Chem Lab Med*, c. 43, sy 3, ss. 319-325, 2005, doi: 10.1515/CCLM.2005.055.
- [21] J. D. Dimitrov, L. T. Roumenina, G. Perrella, ve J. Rayes, “Basic Mechanisms of Hemolysis-Associated Thrombo-Inflammation and Immune Dysregulation”, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, c. 43, sy 8, ss. 1349-1361, Ağu. 2023, doi: 10.1161/ATVBAHA.123.318780/ASSET/A645D11C-41BA-4761-9D92-CF1C924B9DC7/ASSETS/GRAPHIC/ATVBAHA.123.318780.FIG02.JPG.
- [22] C. Baldwin, J. Pandey, ve O. Olarewaju, “Hemolytic Anemia”, *Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms*, ss. 1532-1543, Tem. 2023, doi: 10.1016/B978-0-12-386456-7.07907-7.
- [23] N. Nordin *vd.*, “Preanalytical Errors in Clinical Laboratory Testing at a Glance: Source and Control Measures”, *Cureus*, c. 16, sy 3, s. e57243, Mar. 2024, doi: 10.7759/CUREUS.57243.
- [24] É. M. F. Gotardo *vd.*, “Molecular and cellular effects of in vivo chronic intravascular hemolysis and anti-inflammatory therapeutic approaches”, *Vascul Pharmacol*, c. 150, s. 107176, Haz. 2023, doi: 10.1016/J.VPH.2023.107176.

- [25] J. D. Dimitrov, L. T. Roumenina, G. Perrella, ve J. Rayes, “Basic Mechanisms of Hemolysis-Associated Thrombo-Inflammation and Immune Dysregulation”, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, c. 43, sy 8, ss. 1349-1361, Ağu. 2023, doi: 10.1161/ATVBAHA.123.318780/ASSET/A645D11C-41BA-4761-9D92-CF1C924B9DC7/ASSETS/GRAPHIC/ATVBAHA.123.318780.FIG02.JPG.
- [26] R. E. Gislefoss, U. Berge, M. Lauritzen, H. Langseth, ve M. W. Wojewodzcic, “A Simple and Cost-Effective Method for Measuring Hemolysis in Biobank Serum Specimens”, *Biopreserv Biobank*, c. 19, sy 6, ss. 525-530, Ara. 2021, doi: 10.1089/BIO.2021.0037/SUPPL_FILE/SUPP_DATA.DOCX’,.
- [27] C. Heckl *vd.*, “Spectrophotometric evaluation of hemolysis in plasma by quantification of free oxyhemoglobin, methemoglobin, and methemalbumin in presence of bilirubin”, *J Biophotonics*, c. 14, sy 5, s. e202000461, May. 2021, doi: 10.1002/JBIO.202000461;CTYPE:STRING:JOURNAL.
- [28] H. A. Hussein *vd.*, “Label-free live-cell-based electrochemical nano-biosensor for monitoring the hemolytic effect of *Staphylococcus aureus* α -hemolysin”, *Microchemical Journal*, c. 209, s. 112644, Şub. 2025, doi: 10.1016/J.MICROC.2024.112644.
- [29] M. S. Iqbal, A. Tabassum, A. F. Arbaeen, A. H. Qasem, A. G. Elshemi, ve H. Almasmoum, “Preanalytical Errors in a Hematology Laboratory: An Experience from a Tertiary Care Center”, *Diagnostics*, c. 13, sy 4, s. 591, Şub. 2023, doi: 10.3390/DIAGNOSTICS13040591.
- [30] M. Möckel ve P. B. Luppä, “Why hemolysis detection should be an integral part of any near-patient blood gas analysis”, *Journal of Laboratory Medicine*, c. 45, sy 4-5, ss. 193-195, Eki. 2021, doi: 10.1515/LABMED-2021-0076/MACHINEREADABLECITATION/RIS.

- [31] H. K. Miao, N. Sridharan, ve J. J. Shah, “CAD-CAM integration using machining features”, *Int J Comput Integr Manuf*, c. 15, sy 4, ss. 296-318, Tem. 2002, doi: 10.1080/09511920110077502.
- [32] “From CAD to CAM: Navigating Software Integration in CNC Machining | AMI”. Erişim: 09 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.americanmicroinc.com/resources/cad-cam-software-integration-cnc-machining/>
- [33] T. E. Henriksen, T. F. Brustad, R. Dalmo, ve A. Pedersen, “Computer-Aided Optimisation in Additive Manufacturing Processes: A State of the Art Survey”, *Journal of Manufacturing and Materials Processing 2024, Vol. 8, Page 76*, c. 8, sy 2, s. 76, Nis. 2024, doi: 10.3390/JMMP8020076.
- [34] “CNC Plastic Machining: Types, Processes, and Applications”. Erişim: 09 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://geomiq.com/blog/cnc-plastic-machining/>
- [35] “Choose the Right Polymer for CNC Machining | MakerVerse”. Erişim: 09 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: https://www.makerverse.com/resources/cnc-machining-guides/choose-the-right-polymer-for-cnc-machining/?eid=27410&utm_campaign=mpro5&utm_content=&utm_medium=PersonalisedLP&utm_term
- [36] L. Zhou *vd.*, “Additive Manufacturing: A Comprehensive Review”, *Sensors 2024, Vol. 24, Page 2668*, c. 24, sy 9, s. 2668, Nis. 2024, doi: 10.3390/S24092668.
- [37] “FDM vs. SLA vs. SLS: 3D Printing Technology Comparison | Formlabs”. Erişim: 12 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://formlabs.com/uk/blog/fdm-vs-sla-vs-sls-how-to-choose-the-right-3d-printing-technology/?srsltid=AfmBOopTEKnnLePcbSzPveSJHl5ciHSayrIUT3iot3LJQzF2WcTmkQPZ>
- [38] N. Shahrubudin, T. C. Lee, ve R. Ramlan, “An Overview on 3D Printing Technology: Technological, Materials, and Applications”, *Procedia Manuf*, c. 35, ss. 1286-1296, Oca. 2019, doi: 10.1016/J.PROMFG.2019.06.089.

- [39] M. M. Prabhakar, A. K. Saravanan, A. H. Lenin, I. J. Leno, K. Mayandi, ve P. S. Ramalingam, “A short review on 3D printing methods, process parameters and materials”, *Mater Today Proc*, c. 45, ss. 6108-6114, Oca. 2021, doi: 10.1016/J.MATPR.2020.10.225.
- [40] S. Wickramasinghe, T. Do, ve P. Tran, “FDM-Based 3D Printing of Polymer and Associated Composite: A Review on Mechanical Properties, Defects and Treatments”, *Polymers 2020*, Vol. 12, Page 1529, c. 12, sy 7, s. 1529, Tem. 2020, doi: 10.3390/POLYM12071529.
- [41] A. Kafle, E. Luis, R. Silwal, H. M. Pan, P. L. Shrestha, ve A. K. Bastola, “3D/4D Printing of Polymers: Fused Deposition Modelling (FDM), Selective Laser Sintering (SLS), and Stereolithography (SLA)”, *Polymers (Basel)*, c. 13, sy 18, s. 3101, Eyl. 2021, doi: 10.3390/POLYM13183101.
- [42] T. Ma *vd.*, “Advances in 3D printing for polymer composites: A review”, *InfoMat*, c. 6, sy 6, s. e12568, Haz. 2024, doi: 10.1002/INF2.12568.
- [43] “Embedded Systems on IEEE Technology Navigator”. Erişim: 13 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://technav.ieee.org/topic/embedded-systems>
- [44] P. Pietrzak, P. Pietrzak, ve M. Wolkiewicz, “Microcontroller-Based Embedded System for the Diagnosis of Stator Winding Faults and Unbalanced Supply Voltage of the Induction Motors”, *Energies 2024*, Vol. 17, Page 387, c. 17, sy 2, s. 387, Oca. 2024, doi: 10.3390/EN17020387.
- [45] D. Ibrahim, “Microcomputer Systems”, *PIC32 Microcontrollers and the Digilent chipKIT*, ss. 1-14, 2015, doi: 10.1016/B978-0-08-099934-0.00001-6.
- [46] N. Semiconductors, “Measuring Interrupt Latency”, 2018.

- [47] “UART vs I2C vs SPI – Communication Protocols and Uses - Latest News from Seeed Studio”. Erişim: 13 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.seeedstudio.com/blog/2019/09/25/uart-vs-i2c-vs-spi-communication-protocols-and-uses/?srslid=AfmBOooVGTgoVt09SQPHc6bzwEl8oQ5zyOSG3xigw1o5HKu9OTvjlw7Tk>
- [48] “What is the difference between a bootloader and a debugger?” Erişim: 13 Mayıs 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.playembedded.org/blog/difference-bootloader-debugger/>
- [49] P. A. van Nijnatten, “Regular Reflectance and Transmittance”, *Experimental Methods in the Physical Sciences*, c. 46, ss. 143-178, Oca. 2014, doi: 10.1016/B978-0-12-386022-4.00005-4.
- [50] S. Tassan ve G. M. Ferrari, “A sensitivity analysis of the ‘Transmittance–Reflectance’ method for measuring light absorption by aquatic particles”, *J Plankton Res*, c. 24, sy 8, ss. 757-774, Ağu. 2002, doi: 10.1093/PLANKT/24.8.757.
- [51] R. Tao, J. Gröhl, L. Hacker, A. Pifferi, D. Roblyer, ve S. E. Bohndiek, “Tutorial on methods for estimation of optical absorption and scattering properties of tissue”, *J Biomed Opt*, c. 29, sy 6, s. 060801, Haz. 2024, doi: 10.1117/1.JBO.29.6.060801.
- [52] A. Devices Inc, “Dual Beam Spectrophotometer: ADI Solutions Application Brief”. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.analog.com/sample>
- [53] “Optical Measurement Guidelines for high-power LEDs and solid state lighting products”.
- [54] H. Cao, R. Chriki, S. Bittner, A. A. Friesem, ve N. Davidson, “Complex lasers with controllable coherence”, *Nature Reviews Physics*, c. 1, sy 2, ss. 156-168, Şub. 2019, doi: 10.1038/S42254-018-0010-6;SUBJMETA=1020,2735,624,639,766,930;KWRD=IMAGING+TECHNIQUES,LASERS.

- [55] “Visual hemolysis Index for routine clinical chemistry laboratory parameters”, *International Journal of Clinical Biochemistry and Research*, c. 5, sy 2, ss. 217-221, Ara. 2020, doi: 10.18231/2394-6377.2018.0045.
- [56] P. J. Howanitz, C. M. Lehman, B. A. Jones, F. A. Meier, ve G. L. Horowitz, “Practices for Identifying and Rejecting Hemolyzed Specimens Are Highly Variable in Clinical Laboratories”, *Arch Pathol Lab Med*, c. 139, sy 8, ss. 1014-1019, Ağu. 2015, doi: 10.5858/ARPA.2014-0161-CP.
- [57] A. M. Simundic, G. Baird, J. Cadamuro, S. J. Costelloe, ve G. Lippi, “Managing hemolyzed samples in clinical laboratories”, *Crit Rev Clin Lab Sci*, c. 57, sy 1, ss. 1-21, Oca. 2020, doi: 10.1080/10408363.2019.1664391,.
- [58] G. Lippi, G. L. Salvagno, M. Montagnana, G. Brocco, ve G. C. Guidi, “Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing”, *Clin Chem Lab Med*, c. 44, sy 3, ss. 311-316, Mar. 2006, doi: 10.1515/CCLM.2006.054/MACHINEREADABLECITATION/RIS.
- [59] S. Bouazza, A. Bouarfa, A. Khalifa, S. Brikhoul, ve A. Demmouche, “The hemolysis index as a tool for monitoring mild hemolysis in biochemical assays at the emergency laboratory”, *Journal of Biological Research - Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, c. 97, sy 2, Kas. 2024, doi: 10.4081/jbr.2024.12469.
- [60] J. Zou, D. K. Nolan, A. R. LaFiore, ve M. G. Scott, “Estimating the effects of hemolysis on potassium and LDH laboratory results”, *Clinica Chimica Acta*, c. 421, ss. 60-61, Haz. 2013, doi: 10.1016/J.CCA.2013.02.034.
- [61] N. Shahin, H. Louati, ve G. Trudel, “Measuring Human Hemolysis Clinically and in Extreme Environments Using Endogenous Carbon Monoxide Elimination”, *Ann Biomed Eng*, c. 48, sy 5, ss. 1540-1550, May. 2020, doi: 10.1007/S10439-020-02473-5/TABLES/1.

- [62] A. Ballin *vd.*, “Anemia of acute infection in hospitalized children-No evidence of hemolysis”, *J Pediatr Hematol Oncol*, c. 31, sy 10, ss. 750-752, Eki. 2009, doi: 10.1097/MPH.0B013E3181B79696.
- [63] M. Azhar *vd.*, “Hemolysis Detection in Sub-Microliter Volumes of Blood Plasma”, *IEEE Trans Biomed Eng*, c. 67, sy 5, ss. 1243-1252, May. 2020, doi: 10.1109/TBME.2019.2934517,.
- [64] Y. Lin, N. C. Spies, M. A. Zaydman, ve C. W. Farnsworth, “A-209 Preanalytical Phase Errors Constitute the Vast Majority of Errors in Clinical Laboratory Testing”, *Clin Chem*, c. 70, sy Supplement_1, s. 207, Eki. 2024, doi: 10.1093/CLINCHEM/HVAE106.207.
- [65] P. Carraro, G. Servidio, ve M. Plebani, “Hemolyzed Specimens: A Reason for Rejection or a Clinical Challenge?”, *Clin Chem*, c. 46, sy 2, ss. 306-307, Şub. 2000, doi: 10.1093/CLINCHEM/46.2.306.
- [66] J. Chang, S. Kim, S. Yoo, E. Park, T. Um, ve C. Cho, “Preanalytical Errors in the Central Laboratory of a University Hospital Based on the Analysis of Year-Round Data”, *Clin Lab*, c. 66, sy 09/2020, 2020, doi: 10.7754/CLIN.LAB.2020.200110
.
- [67] J. Chang, S. Kim, S. Yoo, E. Park, T. Um, ve C. Cho, “Preanalytical Errors in the Central Laboratory of a University Hospital Based on the Analysis of Year-Round Data”, *Clin Lab*, c. 66, sy 09/2020, 2020, doi: 10.7754/CLIN.LAB.2020.200110
.
- [68] J. C. Alcantara, B. Alharbi, Y. Almotairi, M. J. Alam, A. R. M. Muddathir, ve K. Alshaghdali, “Analysis of preanalytical errors in a clinical chemistry laboratory: A 2-year study”, *Medicine (United States)*, c. 101, sy 27, Tem. 2022, doi: 10.1097/MD.00000000000029853.
- [69] S. Cattini ve L. Rovati, “An Optical Technique for Real-Time Monitoring of Hemolysis during Hemodialysis”, *IEEE Trans Instrum Meas*, c. 65, sy 5, ss. 1060-1069, May. 2016, doi: 10.1109/TIM.2015.2490939.

- [70] S. R. Van Leeuwen, G. V. G. Baranoski, ve B. W. Kimmel, “In silico investigation of the effects of hemolysis on the hyperspectral absorptance of blood in motion”, *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS*, ss. 2724-2727, Eyl. 2017, doi: 10.1109/EMBC.2017.8037420.
- [71] C. Zhou, M. Keshavarz Hedayati, X. Zhu, F. Nielsen, U. Levy, ve A. Kristensen, “Optofluidic Sensor for Inline Hemolysis Detection on Whole Blood”, *ACS Sens*, c. 3, sy 4, ss. 784-791, Nis. 2018, doi: 10.1021/ACSSENSORS.8B00030/ASSET/IMAGES/LARGE/SE-2018-00030E_0002.JPEG.
- [72] E. Archibong, J. Stewart, H. Wang, ve A. Pyayt, “Design of an optofluidic sensor for rapid detection of hemolysis”, *Sens Actuators B Chem*, c. 288, ss. 274-278, Haz. 2019, doi: 10.1016/J.SNB.2019.02.072.
- [73] S. Banerjee, S. Sarkar, S. Saha, S. K. Hira, ve S. Karmakar, “Observing temporal variation in hemolysis through photoacoustics with a low cost LASER diode based system”, *Sci Rep*, c. 13, sy 1, Ara. 2023, doi: 10.1038/S41598-023-32839-3,.
- [74] “WEMOS D1 MINI ESP32 Development Board Details, Pinout, Specs”. Erişim: 16 Temmuz 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.espsboards.dev/esp32/d1-mini32/#tech-specs>
- [75] “WS2812B Intelligent control LED integrated light source”.
- [76] “OSRAM DIL SMT Ambient Light Sensor, SFH 2440 Photodiodes | ams OSRAM”. Erişim: 16 Temmuz 2025. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://ams-osram.com/products/photodetectors/photodiodes/osram-dil-smt-ambient-light-sensor-sfh-2440>

[77] “ADS111x Ultra-Small, Low-Power, I²C-Compatible, 860SPS, 16-Bit ADCs with Internal Reference, Oscillator, and Programmable Comparator”, 2024. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: www.ti.com

EKLER

EK 1: Hemolizat Hazırlama Protokolü

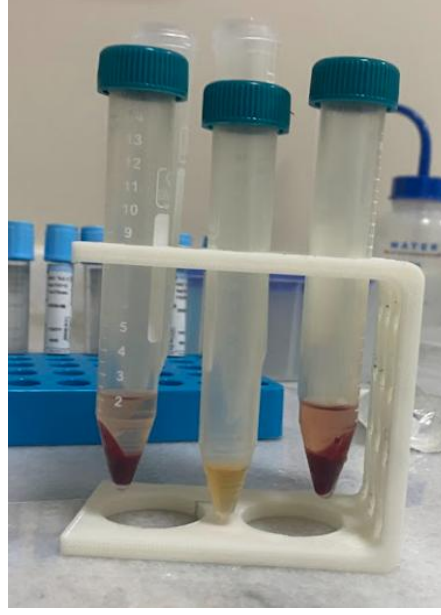
1. Plazmanın Ayrılması

Bu adımda plazma kandan uzaklaştırılmaktadır.

- 15 ml'lik falkona alınan kan örneği 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenir.
- Tüpte ayrılan kanın süpernatant (serum/plazma) dikkatlice başka bir tüpe aktarılır.
- Tüpte kalan pelet için yıkama adımları ile devam edilir.



0 Rh+ kan grubunun santrifüj sonrası görüntüsü

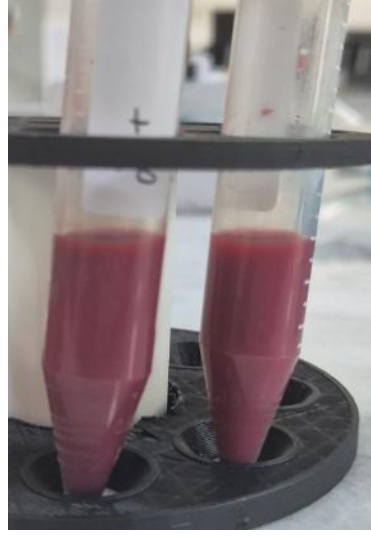


0 Rh+ kan grubunun ayrılmış plazmasının görüntüsü

2. Alyuvarların Yıkanması

Bu adımda pelet içerisindeki sitrat bileşimini temizlemek için yapılmaktadır.

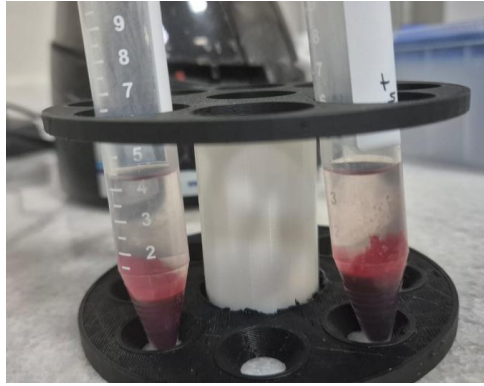
- Pelet hacminin 3 katı olacak şekilde soğuk %0.9 NaCl (serum fizyolojik (SF)) çözeltisi eklenir ve hafifçe karıştırılır. (vortex önerilmez. Hafifçe karıştırarak veya pipetleme ile yapılabilir.)
- Bu çözelti 3000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenir.
- Süpernatant uzaklaştırılır.
- Bu işlem 4 kez tekrarlanır.



Pelet'in yıkama işlemlerinin SF eklendiğinde alınan görüntüsü



Yıkama işlemlerinde santrifüj cihazının görüntüsü

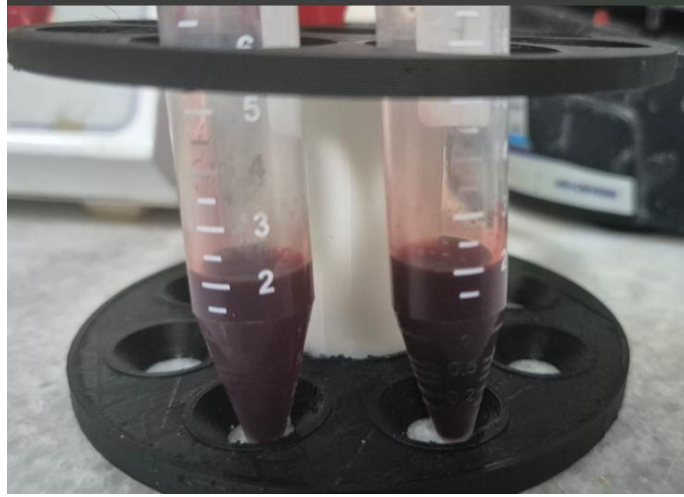


Yıkama işlemlerinde santrifüj edildikten sonra alınan görüntü

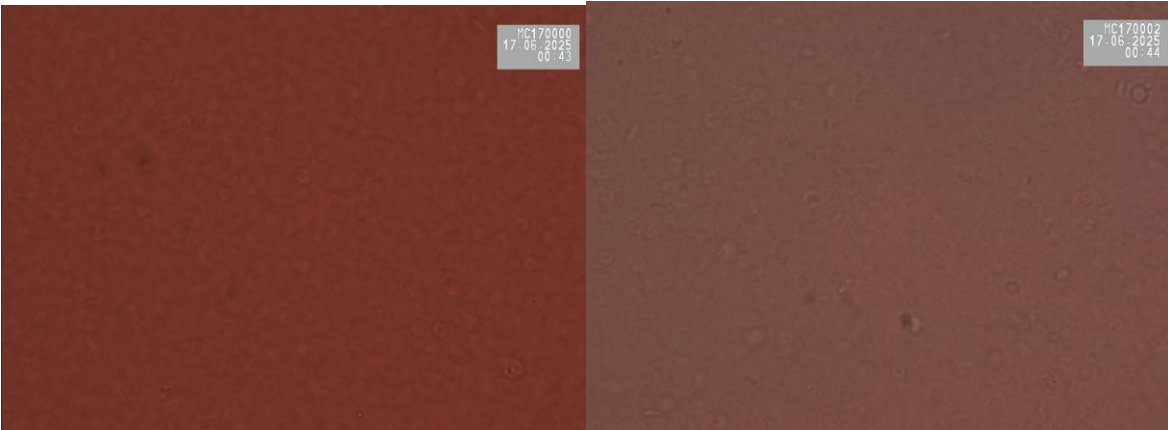
3. Hemolizat Hazırlama

Bu adımda saf su ile pelet içeriğindeki alyuvarları patlatarak içeriğini dışarı salması istenmektedir.

- Peletin hacmine eşit olacak şekilde soğuk distile su eklenir. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilir.
- 3000 rpm'de 3 dakika santrifüjlenir.
- Üstte oluşan hemolizat süpernatantı dikkatlice alınarak başka bir tüpe aktarılır.



Pelet hacmine 1:1 olacak şekilde distile su eklenerek hemolizat oluşturma adımının görüntüsü



Hemolize uğrayan kan hücrelerin 40X mikroskop görüntüleri



Hemolizat aşamasında uygulanan santrifüj cihazının görüntüsü



Hemolizat adımı için uygulanan santrifüj cihazı sonrası alınan görüntü.

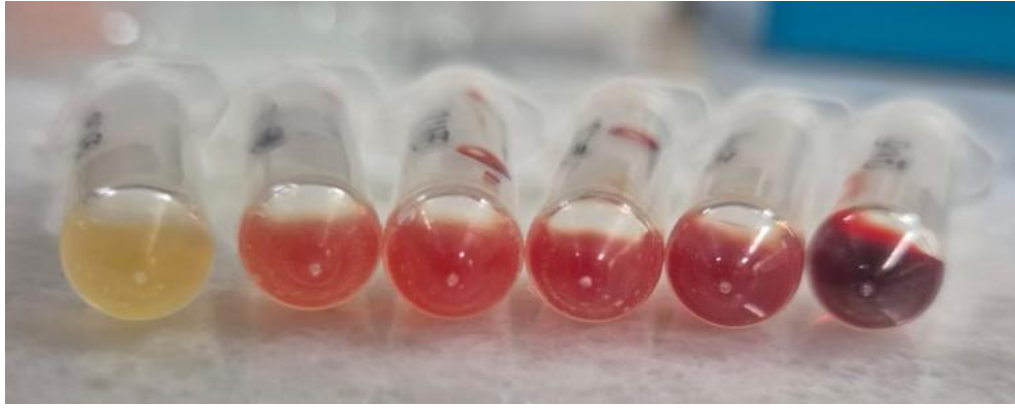
4. Hemolizat-Plazma Karışımı Hazırlama

Aşağıdaki tabloda verilen oranlar ile karışımlar hazırlanmıştır.

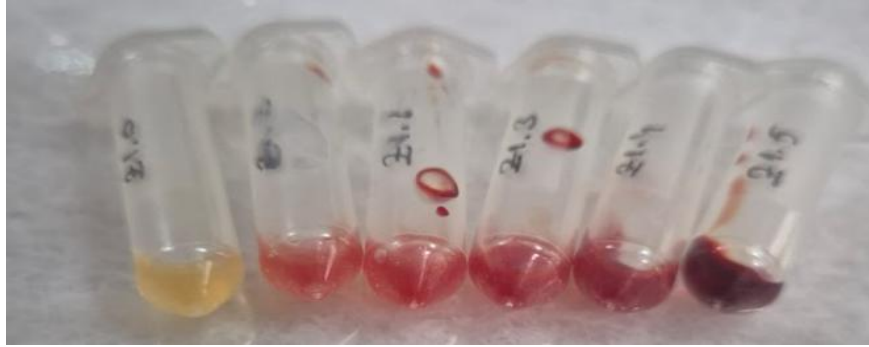
Tablo 1 Karışım oranları

Seviye	Hemolizat (μ l)	Serum (μ l)
0	0	200
1	10	190

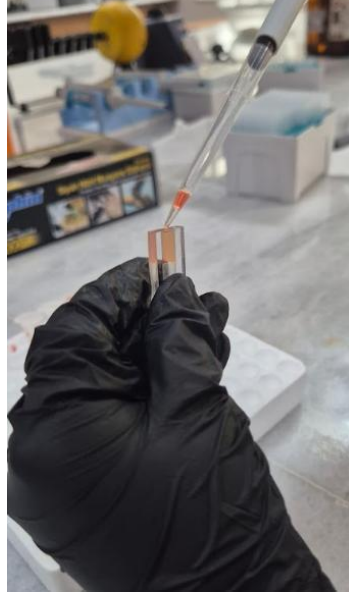
2	20	180
3	40	160
4	80	120
5	100	0



Hemolizat ve plazma karışımlarının görüntüleri



Hemolizat ve plazma karışımlarının görüntüleri



Kartuşların hazırlanması



Kartuşların cihaza yerleştirilmesi