Klinik
LABORATUVAR
Araştırma Dergisi

2010, Cilt:14, Sayı: 1

ISSN: 1301-4722

SAHİBİ
Mehmet Erenmemişoğlu

SORUMLU YAZI İŞLERİ MÜDÜRÜ
Dr. Hakan Seçkin

YÖNETİM YERİ
Atatürk Bulvarı 121/44
Kızılay/ANKARA

YAZIŞMA ADRESİ
Prof. Dr. Kadirhan SUNGUROĞLU
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Morfoloji Binası 06100 Sıhhiye /
ANKARA

BASKI
Tasarım 72 Dijital Basımevi
Cemal Gürsel Caddesi
Dirim Sokak No: 25
İçcebeci/ANKARA

FİYAT (KDV DAHİL)
5 TL.

YILLIK ABONE (KDV Dahil)
20 TL.

EDİTÖR
Prof. Dr. Kadirhan SUNGUROĞLU

EDİTÖR YARDIMCILARI
Prof. Dr. Serenay ELGÜN ÜLKAR
Doç. Dr. Aslıhan AVCI
Doç. Dr. B. İmge ERGÜDER
Doç. Dr. Erdinç DEVRİM

DANIŞMA KURULU

Prof. Dr. Nejat Akar
Prof. Dr. Canan Akbay
Prof. Dr. Tülay Akçay
Prof. Dr. İdris Akkuş
Prof. Dr. Ahmet Alpman
Prof. Dr. Muhlise Alvur
Prof. Dr. Aysel Arıcıoğlu
Prof. Dr. Oya Bayındır
Prof. Dr. Nail Çağlar
Prof. Dr. Ahmet Çorakçı
Prof. Dr. Orhan Değer
Prof. Dr. Pakize Doğan
Prof. Dr. Orkide Donma
Prof. Dr. İlker Durak
Prof. Dr. Kaya Emerk
Prof. Dr. Nural Erdoğan
Prof. Dr. Çetin Erol
Prof. Dr. Biltan Ersöz
Prof. Dr. Uğur Gönüllü
Prof. Dr. Sevgi Başkan
Prof. Dr. Gül Güner
Prof. Dr. Günhan Gürman
Prof. Dr. Erkan İbiş
Prof. Dr. Necip İlhan
Prof. Dr. Mine Erden İnal
Prof. Dr. Turgay İsbir
Prof. Dr. Emin Kansu
Prof. Dr. Selim Karayalçın
Prof. Dr. Güzin Özelçi Kavas
Prof. Dr. Kamer Kılıç
Prof. Dr. Mehmet Kıyan
Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Prof. Dr. Halil Kurt
Prof. Dr. Sezai Kuş
Prof. Dr. Mustafa Kutlu
Prof. Dr. Gülriz Menteş
Prof. Dr. Taner Onat
Prof. Dr. Hatice Özenci
Prof. Dr. Serdar Öztürk
Prof. Dr. Hatice Paşaoğlu
Şef Uzm. Dr. Gül Saydam
Prof. Dr. Feride Söylemez
Prof. Dr. Asuman Sunguroğlu
Prof. Dr. Yavuz Taga
Prof. Dr. Murat Turgay
Prof. Dr. Nurten Türközkan
Prof. Dr. Nuray Ulusu
Prof. Dr. Aydan Usman
Prof. Dr. Muzaffer Üstdal
Prof. Dr. Gülseli Yıldırım
Doç. Dr. M. Metin Yıldırımkaya
Doç. Dr. Doğan Yücel

YÜRÜTME KURULU

Dr. Ebru Gürleyik
Dr. Şebnem Korkmaz
Dr. Oğuz Han Edebal

İÇİNDEKİLER

- **ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDE ENTEROKOK İZOLASYONU İDENTİFİKASYONU VE BERABERİNDE ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI.....3**
  Lale TÜRKMEN, Cengiz GÜLSAYIN

- **EFFECTS OF PNEUMATIC TRANSPORTATION ON BLOOD SPECIMENS …….....…….8**
  Arzu KÖSEM

- **KLİNİK BİYOKİMYA LABORATUVARLARINDA JEL ELEKTROFOREZ UYGULAMALARINDA KARŞILAŞILAN SORUNLARA SİSTEMATİK YAKLAŞIM……..…..11**
  Tuncay KÜME, Murat ÖRMEN, Pınar AKAN, Canan ÇOKER, Banu ÖNVURAL

- **ATEROSKLEROZİS FİZYOPATOLOJİSİNDE KEMOKİNLER…….....……...…….…….…..19**
  Mehtap KAÇAR KOÇAK, Nuray YAZIHAN, Ethem AKÇIL

- **3. ANKARA TIP BİYOKİMYA GÜNÜ BİLİMSEL PROGRAM VE KONFERANS ÖZETLERİ……...……29**

Klinik Laboratuvar Araştırma Dergisi Cilt: 14, Sayı: 1, 2010

KLİNİK BİYOKİMYA LABORATUVARLARINDA JEL ELEKTROFOREZ UYGULAMALARINDA KARŞILAŞILAN SORUNLARA SİSTEMATİK YAKLAŞIM

Tuncay KÜME*, Murat ÖRMEN*, Pınar AKAN*, Canan ÇOKER*, Banu ÖNVURAL*

SYSTEMATICAL APPROACH TO APPLICATION PROBLEMS OF GEL ELECTROPHORESIS IN CLINICAL BIOCHEMISTRY LABORATORY

Summary: *There is difficult to determine and to solve of application problems in the electrophoretic techniques which are often used diagnostic methods in clinical laboratory. This study is defined the problems and determined the sources with systematical approach by "define the problems" and "review the application steps" algorithms. We retrospectively evaluated 59 protein electrophoresis plaque, 17 lipoprotein electrophoresis plaque and 101 immunofixation electrophoresis plaque according to "define the problems schema" and "review the application steps schema" in Dokuz Eylul University Hospital Central Laboratory for 6-months period. There were determined problems in 37 electrophoresis plaque. These problems were arised 21% from sample preparation step, 38% from sample application step, 21% from electrophoretical migration step, 2% from staining step and 18% from destaining step; also special to 15% antiserum application step in immunofixation electrophoresis. As a result, there is obtained precise and accurate results for electrophoretic application with systematical approach by "define the problems" and "review the application steps" schemas in clinical biochemistry laboratory.*

Key words: *Clinical laboratory, laboratory management, protein electrophoresis, gel electrophoresis, errors, systematical approach.*

Özet: *Klinik biyokimya laboratuvarlarında sık kullanılan bir tanı yöntemi olan elektroforez tekniğinin, uygulamada karşılaşılan sorunlarını saptayabilmek ve çözüm bulabilmek bazen güç olmaktadır. Bu çalışmada sorun tanımlama ve çözme algoritmaları aracılığıyla sistematik bir yaklaşımla sorunlar tanımlandı ve kaynakları belirlendi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında 6 aylık dönemde rutin olarak çalışılan 59 adet serum protein elektroforezi, 17 adet lipoprotein elektroforezi ve 101 adet immünfiksasyon elektroforezi plağı, "sorun tanımlama" ve "uygulama basamaklarını gözden geçirme" şemalarına göre retrospektif olarak değerlendirildi. Toplam 37 elektroforez plağında sorun saptandı. Bu sorunların % 21'inin örnek hazırlama, % 38'inin örnek uygulama, % 21'inin elektroforetik yürütme, % 2'sinin boyama, % 18'inin boya giderme basamaklarından, ayrıca immünfiksasyon elektroforezi sorunlarının % 15'inin antiserumdan kaynaklandığı belirlendi. Sonuç olarak, klinik biyokimya laboratuvarlarında elektroforez uygulamaları için uygulama basamaklarının ve hata kaynaklarının şematize edilerek sistematik yaklaşımın benimsenmesi daha doğru ve verimli sonuçlar alınmasına katkı sağlayacaktır.*

Anahtar kelimeler: *Klinik laboratuvar, laboratuvar yönetimi, protein elektroforezi, jel elektroforezi, hatalar, sistematik yaklaşım.*

GİRİŞ

Jel elektroforezi, yüklü partiküllerin porlu bir destek ortamda elektriksel alan etkisiyle yüklerine göre göç ederek ayrılmalarına dayanan laboratuvar tekniğidir (1, 2). Klinik biyokimya laboratuvarlarında rutinde sık kullanılan bir tanı yöntemidir. Bu yöntem ile vücut sıvılarındaki protein (serum/BOS/idrar proteinleri, lipoproteinler, hemoglobinler, izoenzimler, gamaglobulinler) veya nükleik asit (DNA, cDNA/RNA) türevlerinin ayrılması sağlanır (1-3).

Protein elektroforezi, toplam klinik elektroforez analizlerinin üçte ikisinden fazlasını oluşturmaktadır. Serum protein elektroforezi (SPE), çeşitli klinik durumlarda değişen serum protein dağılımının gösterilmesinde kullanılır (4). Lipoprotein elektroforezinde (LE), temel olarak protein elektroforezine benzer şekilde net yüklerindeki farka göre lipoproteinlerin ayrılması sağlanır; farklı olarak lipid boyasıyla boyanarak lipoproteinler görünür hale getirilir. Bu sayede hiperlipoproteinemilerin sınıflandırılmasına katkı sağlar. İmmünfiksasyon elektroforezi (İFE), sırayla agaroz jelde protein elekroforezi ve immünpresipitasyon uygulanarak yapılan iki basamaklı işlemdir. Klinik laboratuvarlarda FE'nin öncelikli kullanım nedeni monoklonal

**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, ANKARA*

immunglobulinlerin belirlenmesidir (5-7) (Tablo 1).

Tablo 1: Klinik laboratuvarlarda uygulanan elektroforez çeşitleri ve kullanım amaçları.

<table>
<tr><th colspan="2">PROTEİN ELEKTROFOREZLERİ (PE)</th></tr>
<tr><td colspan="2">SERUM PROTEİN ELEKTROFOREZİ (S-PE)</td></tr>
<tr><td>ALBUMİN
Artışı:
• Malnutrisyon and malabsorpsiyon
• Gebelik
• Böbrek hastalığı (özellikle nefrotik sendrom)
• Karaciğer hastalığı
• İnflamatuar durumlar
• Protein kaybı sendromları
Azalışı:
• Dehidratasyon
ALPHA-1 GLOBULİN
Artışı:
• Konjenital amfizem (a1-antitripsin eksikliği, nadiren genetik hastalık)
• Ciddi karaciğer hastalığı
Azalışı:
• Akut or kronik inflamatuar hastalıklar
ALPHA-2 GLOBULİN
Artışı:
• Hipertiroidi
• Ciddi karaciğer hastalığı
• Hemoliz
Azalışı:
• Böbrek hastalığı (özellikle nefrotik sendrom)
• Akut or kronik inflamatuar hastalıklar</td><td>BETA GLOBULİN
Artışı:
• Malnutrisyon
• Siroz
Azalışı:
• Hiperkolesterolemi
• Demir eksikliği anemisi
• Bazı multipl myeloma veya MGUS durumları
GAMMA GLOBULİN
Artışı:
• Poliklonal:
o Kronik inflamatuar hastalıklar
o Romatoid artrit
o Sistemik lupus eritematosus
o Siroz
o Kronik karaciğer hastalığı
o Akur ve kronik infeksiyon
o Yeni yapılış immunizasyon
• Monoklonal:
o Waldenstrom makroglobulinemisi
o Multipl myeloma
o Monoclonal gammopathies of undetermined significance (MGUS)
Azalışı:
• Çeşitli genetik immun hastalıkların
• Sekonder immün eksiklikler</td></tr>
<tr><td>HEMOGLOBİN ELEKTROFOREZİ (HB-E)</td><td>LİPOPROTEİN ELEKTROFOREZİ (L-E)</td></tr>
<tr><td>HEMOGLOBİN F
Artışı:
• Thalassemiler
• Diğer hemolitik hastalıklar
HEMOGLOBİN A
Azalışı:
• Thalassemiler
• Diğer hemolitik hastalıklar
DİĞER (VARYANT) HEMOGLOBİN TİPLERİ
• Hemoglobin S (Sickle cell disease)
• Hemoglobin C
• Hemoglobin D
• Hemoglobin E
• Hemoglobin M</td><td>ŞİLOMİKRON
Artışı
• Primer veya sekonder hiperlipemi
ALFA LİPOPROTEİN (HDL)
Azalışı
• Tangier has
Artışı
• Siroz, obstruktif sarılık
• Gebelik veya östrojen alımı
PRE-BETA LİPOPROTEİN (VLDL)
Artışı
• Primer veya sekonder hiperlipemi
BETA LİPOPROTEİN (LDL)
Azalışı
• Abetalipoproteinemi
Artışı
• Primer veya sekonder hiperlipemi</td></tr>
</table>

Tablo 1'in devamı.

İDRAR PROTEİN ELEKTROFOREZİ (U-PE)	***BOS ELEKTROFOREZİ (CSF-PE)***
BENCE-JONES PROTEİN • Multipl myeloma • MGUS	OLİGOKLONAL BANT (İSOELEKTRİK FOKUSLEME) • Multipl skleroz
İMMÜNFİKSASYON ELEKTROFOREZİ (İF-E)	***İZOENZİM ELEKTROFOREZLERİ (ISOENZ-E)***
MONOKLONAL İNTAKT ve FREE FRAGMAN (IG G/M/A AĞIR veya κ/λ HAFİF ZİNCİR) İMMUNGLOBULİN Artışı • Immün sistem hastalıkları (Multipl myeloma, Waldenstrom makroglobulinemisi) • Kanser	• ALP izoenzim elektroforezi • CK izoenzim elektroforezi • LDH izoenzim elektroforezi
NÜKLEİK ASİT ELEKTROFOREZLERİ (NA-E)	
DNA ELEKTROFOREZİ (DNA-E)	***cDNA (RNA) ELEKTROFOREZİ(cDNA-E)***
• Mutasyon taramaları	• Ekspresyon paternleri

Klinik laboratuvarlarda *protein elektroforezi uygulamaları* çok basamaklı, zaman alıcı, bilgi ve tecrübe gerektiren manuel bir laboratuvar tekniği olması nedeni ile hatalara açıktır. Ortaya çıkan sorunları tanımlamak ve bu sorunlara çözüm bulabilmek bazen güç olabilmektedir. Bu çalışmada hazırlanan iki şematize algoritma aracığıyla plaklar incelenerek, elektroforez sorunlarına daha kolay ve doğru çözümler bulup daha verimli ve kaliteli elektroforez uygulamalarının yapılması amaçlandı.

MATERYAL VE METOD

Elektroforetik sistemler

SPE için Titan Gel (Cat. No: 3041; Helena Laboratories, Seventh Avenue Tam Valle Trading Estate Gateshead, England.), LE için Titan Gel (Cat. No: 3045; Helena Laboratories, Seventh Avenue Tam Valle Trading Estate Gateshead, England.), İFE için Paragon (Cat. No: 444930; Beckman İnstruments Inc., Fullerton, CA, 92834-3100, USA) ticari agaroz jel sistemleri kullanıldı. Ayrıca İFE için antiserumlar (Cat. No: 444930; Beckman İnstruments Inc., Fullerton, CA, 92834-3100, USA) uygulandı. Üretici kullanım talimatları doğrultusunda hazırlanan tampon, boya, boya uzaklaştırcılar oda sıcaklığında; antiserumlar +4^{o}C'de buzdolabında saklandılar.

Elektroforetik yürütme için güç kaynağı Helena Electrophoresis power supply (model 1511; 220V, 50Hz), tank "Helena electrophoresis chamber master plus (model 4043)" ve jelleri kurutmak için "Helena titan micro-hood (model 8008; 220V, 1A, 50Hz)" kullanıldı. Elektroforetogramlar ise "Helena Cliniscan2" dansitometre ile elde edildi.

Örnekler

Serum ve 24-saatlik idrar örnekleri analiz için kullanıldı. Serum örnekleri gerektiğinde kit kullanım talimatı doğrultusunda tamponla dilüe edildi. 24-saatlik idrar örnekleri "Vivaspin 500µL (Vivascience; 30K MWCO)" ile konsantre edildi. Plate için gerekli örnek sayısı tamamlanıncaya kadar (SPE için 10, LE için 10, İFE için 1), en fazla 1 haftayı geçmeyecek şekilde, örnekler +4^{o}C'de saklandı.

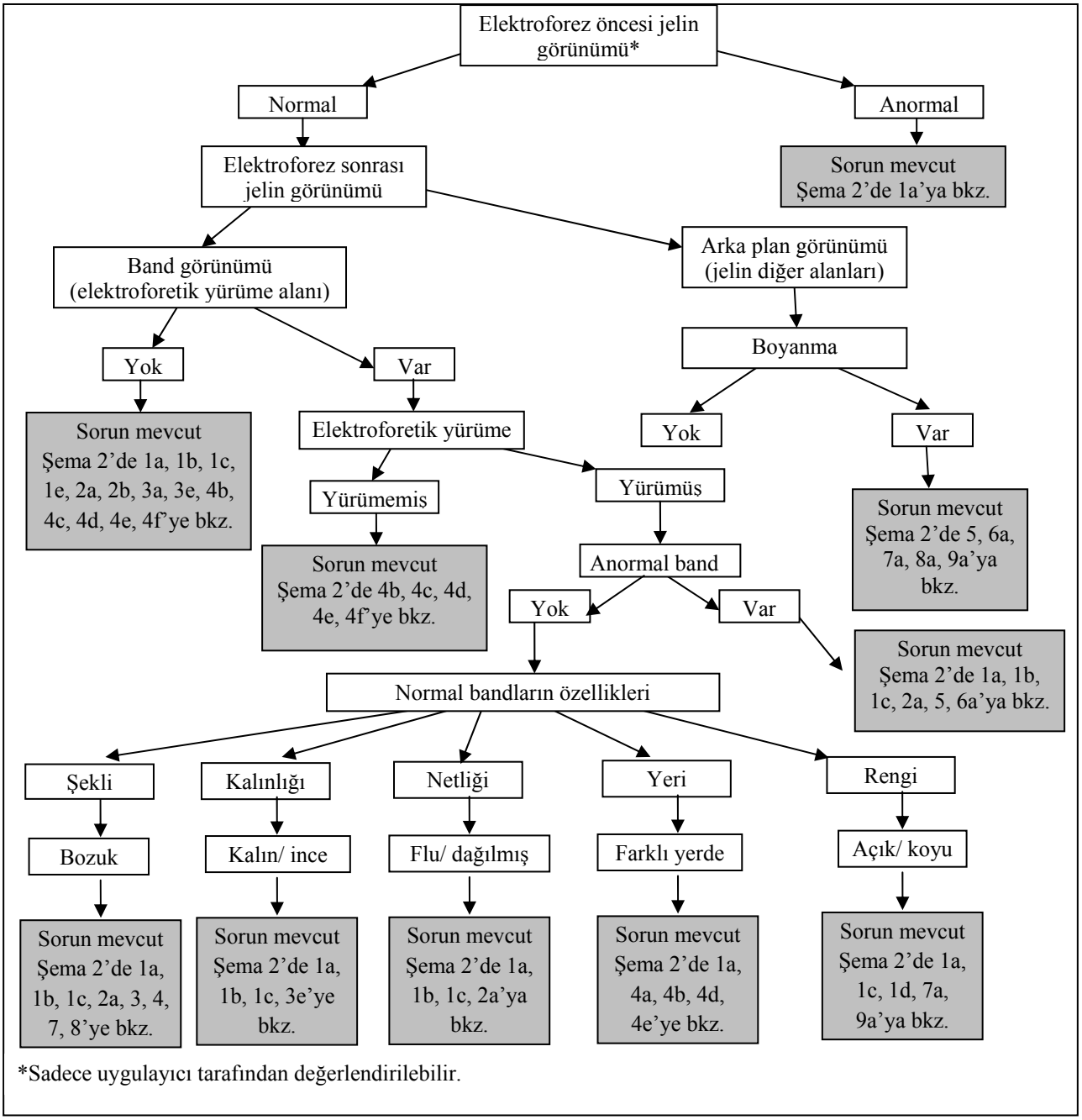
Analiz Prosedürleri

SPE, LE ve İFE için kit kullanım talimatı doğrultusunda önerilen prosedürler aynen uygulandı.

Sorunlara Yaklaşım Prosedürü

Elektroforez sorunlarına sistematik yaklaşımda bulunmak üzere iki şematize algoritma oluşturuldu. Buna göre DEÜTF Merkez Laboratuvarında 6 aylık dönemde rutin çalışılan 177 elektroforez plağı değerlendirildi.

Elektroforez sorunlarını saptamak için "sorun tanımlama şeması" hazırlandı (Şekil 1).



Şekil 1: Sorun tanımlama şeması (Şema 1).

Bunun için elektroforez sonuç raporunu yazarken karşılaşılan elektroforez plaklarını değerlendirme güçlüklerinden elde edilen tecrübelerden yararlanıldı. Bu şema uygulama basamaklarını gözden şeması ile ilişkilendirildi.

Elektroforez hata kaynaklarını saptamak için ise "uygulama basamaklarını gözden geçirme şeması" hazırlandı (Tablo 2).

Tablo 2: Uygulama basamaklarını gözden geçirme şeması (Şema 2).

No	Prosedür Basamakları	Kod/Hata Kaynakları
1	Malzeme ve cihaz hazırlama	**1a**/Jel doğru şekilde mi saklanıyor? (pozisyonu, sıcaklık, nem, ışık) **1b**/Tampon doğru mu hazırlandı? Doğru şekilde mi saklanıyor? (sıcaklık, nem, ışık, kapalı kap) **1c**/Boya solusyonu doğru mu hazırlandı? Doğru şekilde mi saklanıyor? (sıcaklık, nem, ışık, kapalı kap) **1d**/Destain solusyonu doğru mu hazırlandı? Doğru şekilde mi saklanıyor? (sıcaklık, nem, ışık, kapalı kap) **1e**/Elektoforez cihazı çalışıyor mu? **1f**/Jel kurutucusu çalışıyor mu?
2	Örnek hazırlama	**2a**/Örnek tipi doğru mu? Örnek doğru hastanın mı? **2b**/Dilüsyon yapılacak mı? Dilüent solusyonu doğru mu? Dilüsyon oranı doğru mu? **2c**/Konsantrasyon yapılacak mı? Konsantrasyon metodu doğru mu? Konsantrasyon oranı doğru mu?
3	Örnek uygulama	**3a**/Jel paketinden uygun şekilde zedelenmeden çıkarıldı mı? **3b**/Jel uygun bir zemine (düz ve sert) mi yerleştirildi? **3c**/Kalıbın uygulanacağı jel yüzeyindeki nem kurutma kağıdı ile alındı mı? **3d**/Jele kalıbın yerleştilmesi uygun mu? (Jelin uçlarındaki "0" işaretiyle kalıp aynı hizaya getirildi mi? Kalıp hava kabarcığı kalmaması için özen gösterildi mi?) **3e**/Doğru hacimde örnek pipetlendi mi? (Pipet kalibre mi?, pipetleme tekniği doğru mu?, doğru hacimde mi pipetlendi?) **3f**/Yeterli süre jele penetrasyon için beklendi mi? **3g**/Kalıbın üzerindeki örnek fazlalıkları alındı mı? **3h**/Kalıp jelden uygun şekilde kaldırıldı mı?
4	Elektroforetik yürütme	**4a**/Elekroforez tankının içine uygun miktarda tampon konuldu mu? **4b**/Jel elektroforez tankına uygun şekilde yerleştirildi mi? (Kutupları doğru mu? Jelin yüzeyi doğru tarafta mı?) **4c**/Elektroforez cihazının kapağı tam kapatıldı mı? **4d**/Elektroforez cihazına elektrodlar doğru takıldı mı? **4e**/Elektroforez cihazına süre ve voltaj doğru mu girildi? **4f**/Başlatmak için elektroforez cihazının "start" düğmesine basıldı mı? **4g**/Jel elektroforez tankından uygun şekilde çıkarıldı mı?
5	Antiserum Uygulama	**5a**/Antiserum uygun sütınlarına yeretli süre uygulandı mı?
6	Birinci kurutma	**6a**/Jel uygun sıcaklıkta kuru havada yeterli süre tutularak kurutuldu mu?
7	Boyama	**7a**/Jel boya solusyonunda yeterli süre tutuldu mu?
8	Boyayı uzaklaştırma	**8a**/Jel destain solusyonunda yeterli süre tutuldu mu?
9	İkinci kurutma	**9a**/Jel uygun sıcaklıkta kuru havada yeterli süre tutularak kurutuldu mu?

Bu şema; oluşan sorunların hangi uygulama basamağında oluştuğunu tespit etmeye ve hata kaynaklarını bulmaya yönelik, elektroforez tekniğindeki uygulama basamaklarını sırayla gözden geçirerek sorgulama kullanıldı. Bu şema ancak tekniği uygulayan kişinin işbirliği ile gözden geçirilebilir.

BULGULAR

Sorunlu Plaklar

Elektroforez sorunlarının elektroforez tekniklerine göre dağılımı Tablo 3'te gösterilmiştir. Değerlendirilen 177 elektroforez plağından 37'sinde (% 21) sorun saptandı. Dağılıma bakıldığında ise 59 protein elektroforez plağının 15'inde (% 25), 17 lipoprotein elektroforezinin 2'sinde (% 12) ve 101 immünfiksasyon plağının 20'sinde (% 20) sorun saptandı.

Sorunların Kaynakları

Elektroforez sorunlarının tek tek veya tüm protein elektroforezi tekniklerindeki uygulama basamaklarına göre dağılımı Tablo 4'te gösterilmiştir. Tüm tekniklerdeki hata kaynaklarının % 38'i örnek uygulama, % 21'i örnek hazırlama, % 21'i elektroforetik yürütme, % 18'i boyayı uzaklaştırma, % 2'sinin boyama basamaklarından kaynaklandığı saptandı.

Tablo 3: Elektroforez sorunlarının elektroforez tekniklerine göre dağılımı.

Elektroforez Teknikleri	Çalışılan Plak (n)	Sorunlu Plak (n)	Sorun Oranı (%)
PE	59	15	25
LE	17	2	12
IFE	101	20	20
Toplam	177	37	21

Tablo 4: Elektroforez sorunlarının uygulama basamaklarına göre dağılımı.

Prosedür Basamakları	PE n (%)	LE n (%)	İFE n (%)	Toplam[1] n (%)	Toplam[2] n (%)
Malzeme ve cihaz hazırlama	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Örnek hazırlama	2 (13)	0 (0)	5 (25)	2 (21)	7 (19)
Örnek uygulama	6 (40)	1 (50)	6 (30)	7 (38)	13 (35)
Elektroforetik yürütme	5 (33)	1 (50)	1 (5)	6 (21)	7 (19)
Antiserum uygulaması[3]	-	-	3 (15)	-	3 (8)
Birinci kurutma	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Boyama	1 (7)	0 (0)	0 (0)	1 (3)	1 (3)
Boyayı uzaklaştırma	1 (7)	0 (0)	5 (25)	1 (18)	6 (16)
İkinci kurutma	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Toplam	15 (100)	2 (100)	20 (100)	17 (100)	37 (100)

[1] PE+LE toplamı; [2] PE+LE+IFE toplamı; [3]İFE'e özgü uygulama basamağı.

TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Elektroforezle ayrılan partiküllerin elektroforetogram paterni ve kantitasyonu dansitometri ile elde edilir. Hasta örneğinden elde edilen patern sağlıklı bireylerin paternleri ile karşılaştırılarak hastalığın tanısının konmasında ve tedavisinin belirlenmesinde yardımcı olarak kullanılır.

Elektroforez plağında oluşan patern hekimin kararını etkileyeceği için; uygulanan teknikle doğru ve tekrarlanabilir ayrım paternleri oluşturulması önemlidir. Bu ancak elektroforez prensibinin iyi anlaşılarak, dikkatli ve bilinçli uygulanan teknikle sağlanır.

Elektroforez tekniği; instrumental laboratuvar teknikleri içinde dikkat, sabır, bilgi ve tecrübe gerektiren manuel uygulama basamakları olan güç bir analiz yöntemidir. Bu kadar emekli ve zaman alan analitik teknikte, teknik sorunlar veya uygulayıcı kaynaklı hatalarla sık karşılaşılmaktadır. Analitik süreçteki söz konusu sorunlara bağlı olarak sonucun yorumlanmasındaki güçleşmekte ve çoğu zaman test tekrar edilmekte bu da sonuç çıkma süresini uzatmakta ve maliyeti arttırmaktadır. Diğer taraftan elektroforez yöntemleri birçok hastalığın laboratuvar tanısında önemli katkı sağlamakta ve hatalı pozitif veya negatif sonuçlara sebep olarak ciddi zararlara da sebep olabilmektedir. Bu nedenle klinik laboratuvarlarda sistematik yaklaşarak analitik sorunların tanınması önem taşır (8).

Klinik laboratuvarlarda genellikle protein elektroforezleri; entegre cihaz, malzeme ve reaktif kitlelerinden oluşan ticari sistemler kullanılarak uygulanmaktadır. Bu çalışmada üretici firmaların uygulayıcılara yönelik hazırladıkları elektroforez sorunlarının çözümü için çeşitli dökümanlardan (9, 10), literatürdeki çeşitli tekniklerle uygulanan elektroforez uygulamalarındaki sorunlara yönelik bildirilerden (11-13) ve elektroforez plaklarının değerlendirme güçlüklerinden elde edilen tecrübelerden yararlanarak hazırlanan "sorun tanımlama şeması" ile sorunlar saptandı. Plaklar incelendiğinde; LE en az uygulanan ve uygulama basamakları daha kolay olan elektroforez tekniği olduğu için sorun oranı en az çıkmasına rağmen, PE daha sık uygulanan elektroforez tekniği olması nedeniyle sorun oranı en fazla çıkmıştır. İFE ise en sık uygulanan, uygulama basamakları daha fazla ve daha zor elektroforez tekniği olmasına rağmen sorun oranı PE'den az saptanmıştır. Bu şema sayesinde farkına varılamayan veya göz ardı edilen sorunların da saptandığı uygulayıcılar tarafından belirtildi. Daha önce tanımlanmayan sorunların kaynakları saptanarak uygulama basamaklarındaki teknikler düzeltildi; daha doğru ve verimli sonuçlar alındı.

Ticari sistemlerde firmaların önerdiği prosedürde sırayla şu uygulama basamakları manuel olarak yerine getirilir: malzeme, cihaz, örnekler hazırlanır, jele örnekler yüklenir, elektroforetik yürütme yapılır, jel kurutulur, boyama yapılır, boya uzaklaştırılır ve jel kurutulur. Bu çalışmada "uygulama basamaklarını gözden geçirme şeması" tespit edilen sorunların çoğunun insan kaynaklı (örnek hazırlama, örnek uygulama, kurutma, boyama, boyama uzaklaştırma sorunları gibi) sorunlar olduğu tespit edildi. Ayrıca daha önce farkında olunup da kaynağı sistematik olarak araştırılamadığı için çözülemeyen sorunlar da çözüldü.

Manuel analitik bir teknik olan elektroforez uygulamalarındaki sorunlar, ticari üretilen kitler sayesinde büyük oranda standardize edilerek teknik sorunlar azaltılmıştır. İnsan kaynaklı hatalar ise uygulayıcı eğitimleriyle azaltılabilir; gelecekte ise otomatize elektroforez sistemlerinin yaygınlaşmasıyla daha da azalacaktır. Son söz olarak; bu yaklaşımla daha önce tanımlanamayan, çözüm bulunamayan veya göz ardı edilen sorunlar saptandı. Hata kaynaklarının çoğunun elektroforez uygulayıcısından kaynaklandığı belirlendi ve uygulayıcının eğitimi ile bu hataların büyük oranda azaltılabileceği düşünüldü. Ayrıca bu yaklaşımla daha doğru ve verimli sonuçların alınabileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry. Third edition W.B.Saunders Company. 1999.

2. Schoeff LE, Williams HR. Principles of laboratory instruments. Mosby Company. 1993.

3. Gochman N, Burke MD. Electrophoretic techniques in today's clinical laboratory. Clin Lab Med. 1986;6(3):403-26.

4. O'Connell TX, Horita TJ, Kasravi B. Understanding and interpreting serum protein electrophoresis. Am Fam Physician. 2005;71(1):105-12.

5. Attaelmannan M, Levinson SS. Understanding and identifying monoclonal gammopathies. Clin Chem. 2000;46(8 Pt 2):1230-8.

6. Killingsworth LM, Warren BM. Immunofixation for the identification of monoclonal gammopathies. Helena Laboratories.

7. Keren DF. Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins. Arch Pathol Lab Med. 1999;123(2): 126-32.

8. Bossuyt X, Mariën G. False-Negative Serum Protein Electrophoresis in a Sample with an IgM Monoclonal Protein by Semiautomated Gel Electrophoresis. Clin Chem. 2005;51(1):270.

9. Kit insert. IDGels Troubleshooting Guide. DGel Electrosystem. 2002.

10. Troubleshooting Guide for Protein Electrophoresis and Analysis. Fermentas Inc. 2005.

11. Artiss JD, Epstein E, Kiechle FL, Zak B. Potential problems in serum protein electrophoresis. Clin Lab Med. 1986;6(3):427-40.

12. Zak B, Baginski ES, Epstein E. Associated problems of protein electrophoresis, staining and densitometry. Ann Clin Lab Sci. 1978;8(5):385-95.

13. Kahn SN, Strony LP. Imprecision of quantification of serum protein fractions by electrophoresis on cellulose acetate. Clin Chem. 1986;32(2):356-7.