



**T. C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**BİYOKİMYA VE HORMON TESTLERİNDE BELİRSİZLİK
VE REFERANS DEĞİŞİM DEĞERLERİNİN SAPTANMASI**

Dr. Enes AĞCA

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. H. Gülçin ESKANDARI

MERSİN - 2016



**T. C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**BİYOKİMYA VE HORMON TESTLERİNDE BELİRSİZLİK
VE REFERANS DEĞİŞİM DEĞERLERİNİN SAPTANMASI**

Dr. Enes AĞCA

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. H. Gülçin ESKANDARI

MERSİN - 2016

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez yazımı çalıőmalarımnda hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, çalıőmalarımnda beni gerektiği şekilde yönlendiren ve gayretlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. H. Gülçin ESKANDARI'ye,

Asistanlığım süresince beni her zaman destekleyen ve her konuda yardımcı olan Sayın hocalarım Prof. Dr. Gürbüz Polat, Prof. Dr. Lülüfer TAMER, Prof. Dr. Burak imen ve Doç. Dr. Necati Muőlu'ya,

Güzel dostluklar edindiğim ve beraber çalıőmaktan her zaman mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarım ve tüm Biyokimya Anabilim Dalı alıőanlarına,

Karőılıksız sevgilerini her zaman içimde hissettiren babaannem, halalarım, ağabeyim ve sevgili yeğenlerime,

En samimi duygularımıla teőekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
GİRİŞ VE AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	9
Biyokimyasal Testlerin Kullanım Amaçları	9
Biyokimyasal Test Sonuçlarının Elde Edilmesi ve Yorumlanması	11
Test sonuçlarının elde edilmesi	11
Sonuçların yorumlanması	13
Temel İstatistiksel Kavramlar	14
Bir Analitik Yöntemin Laboratuvara Kurulması	16
Validasyon	16
İzlenebilirlik	19
Ölçüm Belirsizliği	20
Ölçüm belirsizliğinin gelişim süreci	20
Ölçüm belirsizliğinin ifade rehberi (GUM)	21
Ölçüm belirsizliğinin hesaplanması	22
Ölçüm belirsizliğinin raporlanması	24
Referans Değişim Değeri	24
Biyolojik varyasyon kavramı	24
Birey içi ve bireyler arası varyasyonun hesaplanması	25
Referans değişim değeri ve biyolojik varyasyon	26
Popülasyona dayalı referans aralık ve bireysellik indeksi ilişkisi	27
GEREÇ VE YÖNTEM	29
Cihazlar	30
Ölçüm Belirsizliklerinin Hesaplanması	30

Örnek: Glukoz için ölçüm belirsizliği hesaplaması	35
RCV Hesaplaması ve Değerlendirilmesi	36
Örnek: Glukoz için RCV hesaplaması	38
BULGULAR	39
Ölçüm Belirsizliği	39
Biyokimyasal testlerin ölçüm belirsizliği	39
Hormon testlerinin ölçüm belirsizlikleri	41
Hasta Sonuçlarının RCV'ye Göre Değerlendirilmesi	42
Biyokimyasal test sonuçlarının RCV'ye göre değerlendirilmesi	43
Hormon test sonuçlarının RCV'ye göre değerlendirilmesi	49
TARTIŞMA	56
SONUÇ VE ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	67
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	73
TABLolar DİZİNİ	76

ÖZET

Klinik biyokimya laboratuvarında çalışılan testler hastalık yönetiminde önemli rol oynar. Ancak elde edilen test sonucunun, hastalık yönetiminde kullanılabilmesi için güvenilir olması gerekmektedir. Bir ölçüm sonucuna güvenebilmek için ölçüm yönteminin kabul edilebilir sınırlarda doğruluk ve kesinliğe sahip olması gerekir. Tüm şartlar aynı olsa bile ardışık ölçümlerde farklı değerler elde edilebilir. Çünkü her ölçüm kimyasal reaksiyonların doğası gereği kendi içinde bir belirsizliğe sahiptir.

Hastalıklara tanı koymada genellikle testin tek bir sonucu kullanılabilirken, hastalık izleminde ve daha da önemlisi ölçümler arasındaki değişikliklerin patolojik bir nedenden mi, yoksa fonksiyonel bir anormallikten mi kaynaklandığını anlamak için ardışık test sonuçları kullanılmaktadır.

Gerek biyolojik varyasyonlar gerekse biyokimyasal ölçümün doğasından kaynaklanan rakamsal değişimler, test sonuçlarının değerlendirilmesinde ölçüm belirsizliği ve referans değişim değeri kavramlarını hesaba katmanın gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılan biyokimyasal (glukoz, albümin, kalsiyum, üre, kreatinin, sodyum, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K) ve total kolesterol) ve hormon testlerinin (tiroid stimulan hormon (TSH), folikül stimulan hormon (FSH), total prostat spesifik antijen (tPSA), serbest tiroksin (fT4) ve kortizol) ölçüm belirsizliği ve referans değişim değerleri hesaplandı. Bu değerler konu ile ilgili otoritelerin önerdiği %TEa (total izin verilebilir hata) değerleri ve önceki çalışmalarda hesaplanan değerler ile karşılaştırıldı.

Sonuç olarak her klinik biyokimya laboratuvarının kendi ölçüm belirsizliği ve referans değişim değerlerini belirlemesi, sonuçların uygun ve doğru bir şekilde değerlendirilmesi açısından büyük önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Ölçüm belirsizliği, referans değişim değeri, total izin verilebilir hata.

ABSTRACT

The tests performed in clinical biochemistry laboratory, play an important role in managing the diseases. However, the test results must be reliable to be used in the management of diseases. It also needs to have an accuracy and precision within acceptable limits to rely on a result of the measurement method. Even if all the conditions are same, it can be obtained different values in consecutive measurements. Because of the nature of chemical reactions, each measurement has an uncertainty in itself.

In diagnosing the disease, the result of a single test can be used, consecutive test results are used to understand the changes of disease monitoring, and more importantly are used to understand that originates from a functional abnormality or pathological reasons.

Both biological variations and numerical changes that originates from the nature of biochemical reactions, reveals the necessity of to take into account the concepts of uncertainty of measurement and reference change value.

Uncertainty of measurements and reference change values of some biochemical (glucose, albumin, calcium, urea, creatinine, sodium, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and total cholesterol) and hormonal tests (thyroid stimulating hormone (TSH), follicle stimulating hormone (FSH), total prostate specific antigen (tPSA), free thyroxine (fT4) and cortisol) performed in Mersin University Health Application and Research Center Hospital Medical Biochemistry Laboratory were calculated. These values were compared with both %TEa (total allowable error) proposed by the relevant authority and uncertainty and reference change values calculated in previous studies.

Consequently, each of clinical chemistry laboratory has to determine their measurement of uncertainty and reference change values, has a great importance for the appropriate and correctly assessment of the test results.

Key words: Reference change value, total allowable error, uncertainty of measurement.

GİRİŞ VE AMAÇ

Klinik laboratuvarlarda ölçüm sonuçlarının doğru bir şekilde değerlendirilmesi, sonuçların güvenilirliğine bağlıdır. Aynı büyüklüğe ait ölçülen değerler, ölçümden ölçüme farklılık gösterir. Her ölçümün sonucunda verilen sayısal değer, mutlaka belirli bir şüphe içerir. O yüzden, bir ölçümün sonucu verilirken ölçülen veya hesaplanan değer belirsizliği her zaman ölçüm sonucu ile beraber verilmelidir¹.

Metroloji; herhangi bir alanda yapılan ölçümlerin doğruluğunu sağlamak ve artırmakla ilgilenen bilim dalıdır. Metroloji biliminin alanı; hataların belirlenmesi, hesaplanması ve azaltılması ile sonuçların belirsizliğinin hesaplanması ve ifade edilmesini kapsar. Bir ölçümün doğruluğu ile belirsizliği ters ilişkilidir. Yüksek doğruluk düşük belirsizliği, düşük doğruluk ise yüksek belirsizliği temsil eder².

VIM'de (International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology; Uluslararası Metroloji Sözlüğü) ölçüm belirsizliği: "ölçülen büyüklüğe uygun bir şekilde atfedilebilecek bütün değerlerin dağılımını temsil eden ve ölçüm sonucuyla ilişkili olan bir parametredir" şeklinde tanımlanmaktadır. Belirsizliğin bu tanımı, ölçülen büyüklüğü uygun ve doğru bir şekilde içereceğine inanılan bütün değerlerin içinde bulunduğu, belirli bir aralığa vurgu yapmaktadır³.

Genel anlamda ölçüm sonucu, ölçülen bir büyüklük için yaklaşık bir sayısal değerdir. Dolayısıyla ölçüm sonucu ile ilgili verilecek bir rapor ancak belirli bir güven seviyesindeki ölçüm belirsizliği ile beraber verildiğinde tamamlanmış olur⁴.

Bir ölçüm metodu ile doğru ve anlamlı sonuç elde etmek için, öncelikle metot validasyonu yapılmış olması gerekir. Metot validasyonu ile ilgili veriler ölçüm belirsizliğinin hesaplanması ve değerlendirilmesine temel oluşturabilir⁵. Belirsizlik de dahil olmak üzere, ölçüm sonucu kalitesinin devamlılığı kalite kontrol çalışmaları ile izlenir⁶.

Laboratuvar ölçümlerinde örnek alınması, örnek transportu ve saklanması, reaktiflerin hazırlanması, cihazların bakımı, ölçüm metodu ve

bunlara bağlı olarak olası bir değişkenlik söz konusudur. Güvenilir sonuçlar elde edebilmek için, varyasyona neden olan kaynaklar en aza indirilmelidir⁷.

Bunlarla birlikte bütün analitleri etkileyen bir diğer varyasyon, birey içi varyasyondur ve her bir bireyin denge noktası etrafında rastgele dalgalanmalar olarak tanımlanır. Bireylerin denge noktaları birbirlerinden farklı olabilir; bu farklılıktan kaynaklanan varyasyon ise bireyler arası varyasyon olarak tanımlanır. Bu değerler matematiksel olarak varyasyon katsayısı (CV; Coefficient of Variation) ile gösterilir ve birey içi varyasyon için CVI, bireyler arası varyasyon için CVG simgesi kullanılır⁸.

Bir bireye ait ardışık iki test sonucu arasındaki rakamsal değişikliğin klinik önemini betimleyen ve analitik kesinlik verileri ile CVI değerleri kullanılarak hesaplanan sayısal değer, klasik olarak kritik fark veya günümüzde referans değişim değeri (RCV; Reference Change Value) olarak bilinmektedir⁹.

Bu çalışmada Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılan biyokimyasal (glukoz, albümin, kalsiyum, üre, kreatinin, sodyum, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL-K) ve total kolesterol) ve hormon testlerinin (tiroid stimulan hormon (TSH), folikül stimulan hormon (FSH), total prostat spesifik antijen (tPSA), serbest tiroksin (fT4) ve kortizol) ölçüm belirsizliği ve referans değişim değerlerinin hesaplanması amaçlanmaktadır. Hasta sonuçlarını değerlendirmede ölçüm belirsizliği ve referans değişim değeri hesaplamalarının önemi üzerinde durulacaktır.

GENEL BİLGİLER

Biyokimyasal Testlerin Kullanım Amaçları

Klinik biyokimya laboratuvarında çalışılan testler, hastalık yönetiminde merkezi bir rol oynarlar. Bu testlere göre edinilen bilgi, doğru ve hastalıkla bağlantılı olduğunda değerlidir. Bu bilgi klinisyenler tarafından uygun bir şekilde klinik olarak karar vermede kullanılabilir. Biyokimyasal testler hastalıklarda genel olarak tanı, prognoz, izlem ve tarama amaçlı olarak kullanılmaktadır¹⁰.

Klinik olarak konulmuş bir tanının geçerliliği, uygun tedaviye yanıtla veya ilgili laboratuvar test sonuçları ile kontrol edilir. Tanı, klinik ve diğer bulgulara göre düşünülen ön tanının hasta test sonuçlarına uygunluğuna göre doğrulanır. Eğer test sonucu beklenildiği gibi değilse, tanı yeniden gözden geçirilir¹¹.

Klinik tanı, hasta öyküsü ve klinik muayeneye dayanmaktadır. Genel pratikte olguların büyük çoğunluğuna hasta öyküsü ve klinik bulgulara göre güvenilir bir tanı konulabilmektedir. Eğer tanı bu şekilde konulamazsa, ayırıcı tanılar akla getirilir. Bu durumda, laboratuvar incelemeleri en olası tanı hakkında yol gösterici olacaktır. En olası tanıya göre seçilen tedavi şekli ve ardından hastanın izlemi, tanının doğru olup olmadığını gösterecektir¹¹.

Tersine, hastalık yönetiminde önemi olmaksızın mevcut tanı ileri incelemeler ile genişletilip, derinleştirilebilir; hastalığın patogenezi ve altta yatan nedeni belirlenebilir. Örneğin, miyokard infarktüsü ile gelen bir hastada serum troponin konsantrasyonu ölçümü, tipik göğüs ağrısı ve elektrokardiyografik anormalliklerle birlikte tanıyı doğrulayabilir. Tanıyı takiben yapılan anjiyografi mevcut ateroskleroza göstermede kullanılabilir. Yine biyokimyasal incelemeler sayesinde aterosklerozun nedeni olarak hiperkolesterolemi saptanabilir. Hastada aile hikayesi mevcut ise familyal hiperkolesterolemi düşünülebilir ve DNA (deoksiribonükleik asit) mutasyon analizi, altta yatan genetik kusuru ortaya çıkarabilir¹¹.

Biyokimyasal testlerin çoğu sayısal olarak sonuç vermektedir. Dolayısıyla bir testin sonucu ne kadar anormal ise patolojik bir nedeni olma olasılığı da o kadar fazladır. Yine, genel olarak test sonucunun anormalliği ile

hastalığın ciddiyeti doğru orantılı olmaktadır. Ancak bu her zaman böyle olmamaktadır. Örneğin, hepatitli iki hastanın plazma aminotransferaz seviyeleri eşit derecede yüksek olmasına rağmen, uzamış protrombin zamanına sahip olan hastanın hastalığı daha ciddi seyredecektir. Hastalıkların ciddiyeti birçok faktöre bağlı olmaktadır (yaş, önceki hastalıklar, başka hastalıkların mevcudiyeti gibi). Örneğin, hepatit A virüsü ile gelişen bir hepatit enfeksiyonu hepatit B ya da C ile gelişen bir enfeksiyona göre daha iyi prognoza sahip olacaktır¹¹.

Genel olarak biyokimyasal testler hastalık prognozunu belirlemede yeteri kadar yetkin değildir. Ancak bu durumun istisnaları da mevcuttur. Örneğin, testiküler teratomda plazmada yüksek alfafetoprotein seviyesi önemli bir prognostik belirteçtir¹¹.

Tek bir test sonucu sadece tanı koymak için kullanılabilirken, ardışık test sonuçları hastalığın izleminde ya da tedaviye cevabı değerlendirmede kullanılabilir. Daha da önemlisi ölçümler arasındaki değişikliklerin; patolojik bir nedenden mi, yoksa fonksiyonel bir anormallikten mi kaynaklandığını anlamak için kullanılabilir. Öte yandan sonuçlar arasındaki değişiklik her zaman beklenen klinik değişikliği ifade etmez. Örneğin, glomerüler bir hastalığı olan kişide idrar protein atımında bir azalma; hastalığın iyileşmesini gösterebildiği gibi, hastalığın ciddileşmesi ile glomerüler filtrasyondaki azalmaya bağlı da olabilir. Bu yüzden, biyokimyasal veriler her zaman klinik bilgiler ve diğer inceleme sonuçlarının ışığında yorumlanmalıdır¹¹.

Hastalık taraması, klinik belirtileri ortaya çıkmadan hastalığın saptanmasını amaçlayan faaliyettir. Hastalık taraması, klinik değerlendirmeler ve laboratuvar incelemelerini kapsar. Tarama, kalıtsal metabolik hastalıklar gibi bazı durumlarda, tek bir biyokimyasal test incelenmesini de ifade edebilmektedir. Yine, tarama terimi sağlıklı kişilerde birçok biyokimyasal test sonucunun normal referans aralıkları içerisinde olup olmadığını saptamak şeklinde de ifade edilmektedir¹¹.

Tarama testinde saptanan anormal bir sonuç kesin tanı koydurucu değildir. Örneğin, popülasyonda taranan bir hastalığın prevalansı düşük ise, bu hastalıkla ilgili anormal olarak değerlendirilen bir tarama testi sonucunun prediktif değeri sıklıkla daha düşük olacaktır. Tarama testinde saptanan

anormal sonuç, her zaman ileri incelemelerle değerlendirilmelidir. Ancak, mutasyon analizi gibi doğrudan yöntemler bu durumun istisnası olmakla beraber, mutasyon saptanması hastalığın ortaya çıkacağını kesin olarak göstermez¹¹.

Sonuç olarak biyokimyasal testler tıpta hastalık yönetimi ve araştırma amaçlı olarak çok geniş alanda kullanılmaktadır. Ancak test istemi yapılmadan önce bu istemin gerekçeleri her zaman düşünülmelidir. Otomatik analizörler birçok testi çok az bir maliyetle çalışabilmesine rağmen, toplam maliyet göz ardı edilmemelidir. Tekrarlı test istemleri hasta açısından da sıkıntı oluşturmaktadır. Özellikle küçük çocuklarda sık sık kan alınması, ciddi hematokrit düşüklüğüne neden olabilmektedir. Bir biyokimyasal test sonucu birçok soruya cevap verebilmektedir. Ancak testin istem nedeni ile ilgili sorular istem yapılmadan önce sorulmamışsa, test sonucunun sunduğu cevaplar bir anlam ifade etmeyecektir¹¹.

Biyokimyasal Test Sonuçlarının Elde Edilmesi ve Yorumlanması

Test sonuçlarının elde edilmesi

Biyokimyasal bir veri (test sonucu) elde edilirken, tüm aşamaları dikkatle gerçekleştirilmelidir. Bu aşamalar; sırasıyla test isteminin yapılması, örneğin alınması, örneğin laboratuvara taşınması, örneğin analizi, sonuç raporunun hazırlanması ve elde edilen verinin hasta yararına kullanılmasıdır¹³. Her bir aşama kendi içinde potansiyel olarak hata olasılığı barındırmaktadır. Dolayısıyla hataların etkilerini en aza indirmek için, her bir aşamanın olası potansiyel hata kaynaklarını tanımlamak ve anlamak esastır. Genel olarak biyokimyasal testlerde sonuçları etkileyen faktörler (hata kaynakları) 3 ana kategoride tanımlanmıştır. Bunlar preanalitik (analiz öncesi), analitik ve postanalitik (analiz sonrası) faktörlerdir¹².

Preanalitik hatalar test istemi, örnek alımı ve örnek taşınması gibi aşamalarda oluşur. Preanalitik faktörler analiz için örnek elde etme süreci ile ilgili teknik faktörler ya da yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, postür, ilaç kullanımı, birey içi biyolojik varyasyon gibi hastanın doğrudan kendisi ile ilgili olan biyolojik faktörlerdir¹².

Analiz sürecinde gösterilen tüm çaba hata olasılıklarını azaltmak içindir. Bunu sağlamak için de laboratuvarda titiz bir kalite kontrol programı uygulanmalıdır. Test yöntemleri yeterli performansı sağlayacak şekilde seçilmelidir. Test yönteminin analitik ölçüm aralığı, klinik karar aşamasında o analit ile ilgili beklenebilecek tüm konsantrasyonları içermelidir. Genel olarak vücutta konsantrasyonları daha yüksek olan analitlerin ölçümü, konsantrasyonları daha düşük olanlara göre daha kolaydır. Ancak yüksek konsantrasyonlarda dilüsyon gerekebileceği için, dilüsyon ile yapılan çalışma sonucunun test yönteminin ölçüm aralığı içerisinde olması gerekmektedir. Diğer taraftan, test yöntemlerinde her zaman düşük bir alt saptama sınırı elde etmek mümkün olmamaktadır. Bu durum, özellikle hormonlar gibi vücutta düşük konsantrasyonda bulunan analitler için daha fazla ön plana çıkmaktadır. Ancak daha hassas yöntemlerin geliştirilmesiyle, bu problem giderek azaltılmaktadır¹².

Bir analitik yöntem, test sonucunu gerçek değere en yakın olacak şekilde vermeli (doğruluk) ve aynı koşullarda tekrar edilen test sonucunda en az sapma göstermelidir (kesinlik, tekrarlanabilirlik). Diğer bir deyişle, yeterli doğruluk ve kesinlik özelliklerine sahip olması gerekir. Bias terimi ise gerçeklik (trueness) kavramının zıt anlamı olarak kullanılır ve ölçüm sonucunun doğruluktan ne kadar saptığını ifade eder. Ayrıca bir analitik yöntem sadece istenilen analiti ölçebilme özelliğine sahip olmalı (spesifite) ve ölçüm sonucuna etki edebilecek endojen ve ekzojen maddelerden en az oranda etkilenmelidir (interferans)¹².

Cotlove ve arkadaşları bir yöntemin arzu edilen analitik hedefi için; analitik yöntemin varyasyonunun, birey içi biyolojik varyasyonun yarısından daha küçük olması gerektiğini önermiştir¹³.

Öte yandan analitik ölçüm yapıp sonuçlandıktan sonra elde edilen veri; uygun bir şekilde raporlanıp, klinisyene sunulmalıdır. Cihazdan aktarılan sonuç ile hastanın klinik durumu arasındaki ilişki gözden geçirilmeli ve sonuç buna göre değerlendirilmelidir. Eğer bu aşamada test sonucu laboratuvar uzmanı tarafından hastanın klinik durumu göz ardı edilerek raporlanırsa, klinisyeni yanlış yönlendirebilecek postanalitik hatalar oluşabilmektedir¹².

Sonuçların yorumlanması

Biyokimyasal bir test sonucu yorumlanırken, sonucun normal olup olmadığı ya da aynı test daha önce de çalışılmışsa, test sonucunda önemli bir değişiklik olup olmadığı sorgulanır. Test sonucunun ifade ettiği bilgi ile klinisyenin tıbbi bilgisi birleştirilerek, hasta yararına kullanılıp kullanılmayacağı araştırılır¹².

Bir test sonucunun normal olup olmadığı ise, o test ile ilgili sağlıklı bir kişide beklenen sonuç aralığı ile karşılaştırılarak değerlendirilir. Bu sonuç aralığına referans aralığı denir. Popülasyona dayalı referans aralığı, geleneksel olarak yeterli genişlikte, uygun ve sağlıklı bir popülasyondaki bireylerden yapılan, analitik ölçümlerle elde edilir. Ölçüm sonuçlarının Gaussian dağılımına göre normal, ortalamanın 2 SD (standard deviation; standart sapma) aşağısı ile yukarısı arasındaki aralıktır. Bu aralık, sağlıklı popülasyondan elde edilen değerlerin %95'ini kapsamaktadır. Normal dağılım terimi, istatistikte Gaussian dağılımı tanımlamak için kullanılır. Normal aralık terimi, istatistiksel olarak sadece dağılım şekli Gaussian (normal) olduğunda geçerli olmaktadır. Ancak bir laboratuvarında çalışılan birçok analit, normal dağılım göstermez. Bu yüzden normal aralık terimi karakteristik değerlerin %95 'ini kapsayan aralık olarak ifade edilir. Bu durumda "normal" teriminin karşılığı olarak "kabul edilebilir", "tipik" ya da "sağlıklı" kelimeleri de kullanılabilir¹².

Standart koşullar altında, belirli bir analit için bir bireyden yapılan tekrarlı ölçümlerin sonuçları da, o bireyin analitle ilgili ortalama değerinin etrafında bir "Gaussian dağılım" gösterir. Bu dağılım SD kavramı ile değerlendirilir ve her analit için farklıdır. Örneğin açlık kan glukozu ve plazma kalsiyumu için bu dağılım, plazma enzim aktivitelerine göre daha dardır. Biyolojik varyasyon ardışık ölçümlerin varyasyon katsayısı ile ifade edilir ve aşağıdaki formülle hesaplanır¹⁰:

$$\%CV = (\text{Standart sapma}/\text{Ölçümlerin aritmetik ortalaması}) \times 100$$

Bir ölçümü yapmak için kullanılacak analitik yöntem ideal olarak doğru, kesin, sensitif ve spesifik olmalıdır. Ancak pratikte ideal bir analitik yöntem yoktur. Bunun yerine analitik yöntemin klinik yararlılığı garanti altına alacak şekilde, yeterli derecede güvenilir olması sağlanmaya çalışılır. Her ne kadar

kalite kontrol yöntemleri ile güvenilirlik sağlanmaya çalışılsa da, her ölçüm sonucunun potansiyel olarak belirli bir analitik varyasyonu ya da tutarsızlığı mevcuttur¹⁰.

Temel İstatistiksel Kavramlar

Yukarıda tüm anlatılanlarla ilgili temel istatistiksel kavramlar şunlardır:

Aritmetik ortalama: Bir veri dizisinde ölçülen değerlerin toplamının veri sayısına bölümü ile elde edilen değerdir¹⁴.

Gaussian Dağılım (Normal dağılım): Simetrik ve çan eğrisi şeklindeki dağılım eğrisidir. Dağılım aritmetik ortalamaya göre simetriktir. Her iki yandaki uzantılar verilerin ortalamadan farklarının standart katları şeklinde belirtiliyorsa dağılım eğrisi normal dağılım olarak adlandırılır¹⁴.

Kesinlik (Precision; Tekrarlanabilirlik) : Belirlenmiş koşullarda elde edilen birbirinden bağımsız sonuçların birbirine yakınlığını gösteren parametredir¹⁵. CV, standart sapmanın ortalamaya göre yüzde değişimini ifade eder ve değişkenliği standardize ettiği için tekrarlanabilirliğin değerlendirilmesinde kullanılır. Tekrarlanabilirlik ile rastgele hata değerlendirilmektedir¹⁴.

Doğruluk (Accuracy): Tek bir ölçüm sonucunun, gerçek veya gerçek olduğu kabul edilen değere yakınlığının ölçütüdür. Doğruluk, gerçeklik ve kesinlik ile ifade edilir. Dolayısıyla doğruluk ile hem sistematik, hem de rasgele hata değerlendirilmektedir¹⁶.

Gerçeklik (Trueness): Bir seri tekrarlı ölçümden elde edilen ortalama değer, gerçek veya gerçek olduğu kabul edilen değere yakınlığının ölçütüdür. Gerçeklik kavramı ile de sistematik hata değerlendirilmektedir¹⁶.

Bias: Bir seri tekrarlı ölçümden elde edilen ortalama değer ile gerçek veya gerçek olduğu kabul edilen değer arasındaki farktır. Gerçeklik kavramının zitti olarak ifade edilir. Bias ile sistematik hata değerlendirilmektedir¹⁶.

Analitik hata: Deneysel işlemlerde doğruluğu ve kesinliği etkileyen iki tip analitik hata bulunmaktadır. Bunlar; sistematik hatalar ve rastgele hatalardır¹⁸.

Sistematik hatalar: Analiz sonucunu sabit ve belirli düzeyde değiştiren, nedeni bilinen ve ölçülebilen, kesin değerlere sahip hatalardır. Sistematik hatalar,

analiz sonucunun doğruluğunu etkilerler. Bütün değerler belirli oranda, belirli yönde saptığı için, ortalama değer doğru değerden farklı çıkar. Bu tip hatalar cihazdan, kişiden ve yöntemden kaynaklanabilir. Cihazın yetersizliği, kalibrasyon yanlışlığı, azalan voltaj veya kirlenme sonucunda oluşan direnç artışından kaynaklanan hatalar, cihazdan gelen sistematik hatalardır. Cihazlar kalibre edilerek ve bireysel dikkat gösterilerek, cihazdan ve kişiden kaynaklanan hatalar en aza indirilebilir. Ancak yöntemden gelen hatayı belirlemek güçtür. Bir analizde tekrarlanabilirlik iyi ise, aynı cihaz ve yöntem kullanılarak yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar birbirine yakın çıkar. Sonuçların bu şekilde çıkması deneyde hata olmadığını göstermez¹⁴.

Rasgele hatalar: Her fiziksel ve kimyasal ölçümde bulunan, düzeltilemeyen ve kontrol edilemeyen, birçok değişkene bağlı hatalardır. Odanın sıcaklığı, basıncı ve nemindeki hafif değişiklikler, titreşimler, cihaz okumasının her defasında farklı açılardan yapılması gibi faktörler rasgele hata kaynaklarıdır. Bu hatalar, analizin kesinliğine etki ederler ve sonuçların ortalama değer etrafında dağılmasına neden olurlar. Rasgele hatalar, birçok belirsizliğin sonucu ortaya çıkmaktadır. Bütün belirsizliklerin aynı yönde olma olasılığı, istatistiksel açıdan farklı yönde olma olasılığına göre daha azdır. Dolayısıyla hataların birbirini götürerek daha az hata elde etme olasılığı daha fazladır. Rasgele hataların dağılımı normal dağılım eğrisine uyar. Buna göre pozitif ve negatif hataların meydana gelme olasılığı birbirine eşit olduğundan, eğri simetrik ve ortalaması sıfırdır. Rasgele hata ne kadar çoksa standart sapma o kadar büyük, dolayısıyla kesinlik o kadar düşüktür. Örnekleme alınan birim sayısı çoksa ($n > 30$) hataların “büyük sayılar kanunu”na göre birbirlerini götüreceği ve sonuçlar üzerine pek yansımayacağı kabul edilir¹⁴.

Ölçüm belirsizliği: Belirsizlik; ölçüm sonucu ile beraber raporlanan ve ölçüm sonucuna atfedilebilecek olasılıkların dağılımını gösteren bir parametredir. Ölçülebilen bir büyüklüğün değerini içine alan bir aralığı tanımlayan istatistiksel parametredir¹⁷. Ölçüm belirsizliği hesaplanıp, ölçümle beraber verildiğinde; ölçümün hangi sınırlar içinde yer alabileceğini ve güven/kalite düzeyini gösterir. Bu yüzden ölçüm belirsizliği; ölçüm sonucunu kullanarak tıbbi karar verirken, ölçüm sonuçlarını karşılaştırırken ve limitlere uygunluğa karar verirken gereklidir. Matriks etkisi, interferanslar, referans materyaller, kütle ve hacimsel

belirsizlikler, çevresel etkiler, ölçüm yöntemi gibi pek çok neden ölçüm sonuçlarının belirsizliğine katkıda bulunmaktadır¹⁸⁻¹⁹.

Bir Analitik Yöntemin Laboratuvara Kurulması

Bir yöntem laboratuvara kabul edilirken; yöntemin tıbbi yararı, uygulamadaki pratik özelliği, maliyeti ve analitik performans özelliği (validasyon) değerlendirilir. Validasyon, yöntemin laboratuvara kabul edilmesi aşamasında uygulanmalıdır. Bu, laboratuvar akreditasyonunun 3 temel taşıdır. Akreditasyon; yapılan test ve analizlerin güven sağlayabilmesi için laboratuvarın teknik yeterliliğinin uluslararası tanınmış ve yetkili bir kuruluş tarafından gerekli kriterlere göre değerlendirilmesi, onaylanması ve sonrasında denetlenmesi faaliyetidir. Türkiye'de yetkili kuruluş Türk Akreditasyon Kurumu'dur (TÜRKAK) ve tıbbi laboratuvar akreditasyonuna esas standart TS EN ISO 15189 standardıdır²⁰.

Laboratuvar akreditasyonunun 3 temel taşı vardır:

- a. Metot validasyonu,
- b. Sonuçların izlenebilirliği,
- c. Sonuçların belirsizliği.

Laboratuvar sonuçlarının kalite ve güvenilirliği için önemli bu üç aşama yerine getirilmelidir. Metot validasyonu yapılmalı, izlenebilirlik tamamlanmalı ve ölçüm belirsizliği hesaplanmalıdır. Ardından kalite kontrol çalışmaları ile takip edilmelidir²¹⁻²².

Validasyon

Bir testin veya ölçüm yönteminin belirlenen amaçlara uygunluğunun, deneysel çalışmalarla elde edilen objektif delillerle doğrulanmasına validasyon denir. Validasyon çalışması üç şekilde olabilir²¹:

Tam validasyon: Prosedürün ilgili bütün performans parametreleri incelenir.

Kısmi validasyon: Performans parametrelerinin bazıları incelenir.

Konfirmasyon: Standardize metotlar için, diğer bir deyişle önceden valide edilmiş metotlar için kullanılır. Tekrar validasyona gerek yoktur. Konfirmasyon ile laboratuvar ortamında doğruluk ve tekrarlanabilirlik test edilir²¹.

Validasyon için en uygun performans karakteristiklerine karar verilir ve bunlar test edilir. Önemli performans özellikleri şunlardır²¹⁻²²:

1. Doğruluk
2. Tekrarlanabilirlik
3. Analitik Hassasiyet (Sensitivite)
4. Analitik Özgünlük (Spesifite; Selektivite)
5. Bozucu Etkiler (İnterferans)
6. Analitik Ölçüm Aralığı
7. Linearite (Doğrusallık)
8. En küçük tayin sınırı (LOD: Limit of Detection)
9. En küçük belirleme sınırı (LOQ: Limit of Quantitation)
10. Dayanıklılık (Robustness; Ruggedness)

1. Doğruluk (Accuracy): Daha önce anlatıldığı gibi, bir ölçüm sonucunun gerçek veya gerçek olduğu kabul edilen değere yakınlığının ölçütüdür.

2. Tekrarlanabilirlik: Belirlenmiş koşullarda elde edilen, birbirinden bağımsız sonuçların birbirine yakınlığını gösteren parametredir. %CV ile ifade edilir. Tekrarlanabilirlik, rasgele hatayı değerlendirir. Çalışma içi, gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik hesaplaması yapılmalıdır¹⁴.

3. Analitik hassasiyet (Sensivite): Analitin konsantrasyonundaki değişime karşılık ölçüm sinyalinde meydana gelen değişikliktir. Kalibrasyon eğrisinin eğimi, analitik hassasiyetin göstergesidir²¹.

4. Analitik özgünlük (Spesifite; Selektivite): IUPAC 2001'e göre analitik özgünlük metodun; kompleks bir karışımda benzer davranış gösteren diğer maddelerle etkileşmeksizin, sadece ölçülecek analiti belirleme yeteneğidir. IUPAC spesifite teriminin yerine, selektivite terimini önermektedir¹⁸.

5. Bozucu Etkiler (İnterferans): Yöntemin herhangi bir basamağında, ölçüme etki eden maddelerin yarattığı etkiye bozucu etki (interferans; girişim) denir. Bozucu etkenler çoğunlukla lipemi, hemoliz ve ilaçlar olup, genellikle patolojik durumlarda miktarı artan maddelerdir. Bu durumun varlığını tespit edebilmek için, örneklerde analiz yapıldıktan sonra, bozucu etkisi incelenecek maddeler örneklere ilave edilerek, ölçüm tekrarlanır¹⁴.

6. Analitik ölçüm aralığı: Laboratuvara uygulanacak bir yöntemin, gelen numunelerin %95-%99'unu ölçebilmesi gerekir. Bu aralık yöntemin analitik ölçüm aralığını teşkil eder. Yöntemin kalibrasyon eğrisi çizilerek doğrusallık sınırları belirlenir ve bu sınırların analitik ölçüm aralığını kapsamaması hedeflenir¹⁴.

7. Doğrusallık (Linearite): Kantitatif bir metot için doğrusallık çalışılırken, istenilen aralığı kapsayacak analit konsantrasyonları ölçülür. Elde edilen veriler ile konsantrasyonların regresyon analizi yapılır. Konsantrasyon, elde edilen verilerin bir fonksiyonu olarak ifade edilmiş olur ($y=f(x)$). Doğrusal bir ilişkinin fonksiyonu $y=ax+b$ şeklindedir. Ölçümler doğrusal ilişkinin devam ettiği konsantrasyon aralığında yapılabilir^{14,22}.

8. En küçük tayin sınırı ya da saptanabilirlik sınırı: Analit sinyalinin arka plan gürültüden ayrılabilmesi için gereken en az analit miktarıdır. Bir dizi kör ölçümünün ortalamasının üç standart sapma fazlasıdır.

X kör = 'kör' ölçümlerinin ortalaması

S kör = 'kör' ölçümlerinin standart sapması

LOD = X kör + 3 S kör

9. En küçük belirleme sınırı ya da belirlenebilirlik sınırı: Analitin güvenilir bir şekilde doğru ölçümünün yapılabilmesi için gerekli en düşük miktarıdır. Uygun bir standart kullanılarak bulunabilir. Kalibrasyon eğrisinin en alt noktasıdır. Bir görüşe göre bir dizi kör ölçümünün ortalamasının on standart sapma fazlasıdır²¹⁻²².

X kör = 'kör' ölçümlerinin ortalaması

S kör = 'kör' ölçümlerinin standart sapması

LOQ= X kör + 10 S kör

10. Dayanıklılık: Yöntemin deneysel olarak yaratılan minör sapmalara karşılık sonuçlardaki değişikliklere direncidir. Prosedürün deneysel değişiklikler (pH, sıcaklık, reaktif konsantrasyonu, operatör gibi) için limitleri tanımlanmalıdır²¹.

Validasyon için en uygun performans karakteristiklerine karar verilirken, her test için farklı performans özellikleri önemli olmaktadır. Örneğin; serumda kolesterol tayininde doğruluk, tekrarlanabilirlik ve linearite önemlidir. Serum konsantrasyonu düşük olmadığından, LOD ve LOQ önemsizdir. Safılık tayininde LOD, LOQ ve spesifite önemlidir. Doğruluk ve tekrarlanabilirlik daha az önemlidir, linearite önemsizdir. Doping kontrolü için yapılan testler içinse; serum konsantrasyonu düşük olduğu için, LOD ve LOQ çok önemlidir. Öte yandan linearite önemsizdir²¹.

Bir yöntem laboratuvarında ilk defa uygulanacağı zaman, bir analiz için yeni bir yöntem geliştirildiği zaman, kullanılmakta olan yöntemde değişiklik yapıldığında, iki yöntemi karşılaştırmak için ve uzun süre kullanılmayan bir yöntem yeniden kullanılacağı zaman yöntem valide edilmelidir²³.

İzlenebilirlik

İzlenebilirlik; ölçüm cihazında okunan değer bir veya daha fazla kademedeki, beyan edilen bir referansla (ulusal veya uluslararası standart) karşılaştırılmasıdır. İzlenebilirlik ulusal veya uluslararası standartlarla sağlanmalıdır. Uluslararası birimler sisteminde (SI) izlenebilirlik; Ulusal Metroloji Enstitüsü (UME), BIMP'ye (Uluslararası Ölçüler ve Tartılar Bürosu) üye diğer kuruluşlar, TÜRKAK'a göre akredite olan kalibrasyon laboratuvarları gibi kuruluşlardan gelen sertifikalı referans malzemeler veya bunlara göre hazırlanmış kalibratörler ile sağlanabilir²⁰. Ölçüm sonucunun hesaplandığı denklem; kullanılan reaktiflerin birimleri ve sabit ortam şartlarının değerlerinin birimleri standarttaki denklem ile uygun, yani izlenebilir olmalıdır. Ölçüm sonucu, bilinmeyen standart değer ile karşılaştırılmasıyla elde edilir. Ölçüm sonucunun belirsizliği, bu karşılaştırmadan gelen belirsizlik ile standart materyallerden kaynaklanan belirsizliğin birleşimidir²¹.

Ölçüm Belirsizliği

Ölçüm belirsizliğinin gelişim süreci

Belirsizlik, ölçüm sonucunun amaca uygunluğuna karar vermek ve benzer sonuçlarla tutarlı olup olmadığını anlamak için önemlidir. Yıllar boyunca ölçüm belirsizliğini değerlendirmek ve ifade etmek için birçok yaklaşım kullanılmıştır. Ölçüm belirsizliğini ifade etme konusunda uluslararası bir fikir birliği bulunmadığından, ölçüm alanında en yüksek otorite olan Uluslararası Ağırlık ve Ölçü Komitesi (CIPM); Uluslararası Ağırlık ve Ölçü Bürosu'ndan ulusal metroloji enstitüleriyle işbirliği yaparak, bu konuda bir tavsiye oluşturmasını istemiştir. BIPM tarafından toplanan Belirsizliğin İfadesi için Çalışma Grubu (Working Group on the Statement of Uncertainties), INC-1 (1980) tavsiyelerini oluşturmuştur²⁴.

INC-1 (1980) tavsiyeleri

1. Sayısal değerinin hesaplanma şekline göre, belirsizlik bileşenleri iki ayrı gruba ayrılabilir:

Tip A: İstatistiksel yöntemlerle değerlendirilen grup.

Tip B: İstatistiksel olmayan yöntemlerle değerlendirilen grup.

Tip A ve B şeklindeki sınıflandırma ile önceden kullanılan rasgele ve sistematik belirsizlikteki sınıflandırma arasında her zaman bir benzerlik yoktur. Sistematik belirsizlik terimi yanıltıcı olabilir ve sakınılması gerekir. Herhangi bir detaylı belirsizlik raporu bütün bileşenlerin tam listesini, sayısal değerlerini elde etme yöntemleriyle birlikte içermelidir.

2. Tip A'daki bileşenler hesaplanmış varyans, s_i^2 ile (veya hesaplanmış "standart sapma"), serbestlik derecesi sayısı ise ν_i ile karakterize edilmiştir.

3. Tip B'deki bileşenler, ilgili varyanslara yaklaşık olduğu düşünülen u_j^2 şeklinde ifade edilir. u_j^2 varyans, u_j standart sapma gibi değerlendirilir.

4. Birleşik belirsizlik varyansların birleştirilmesinden elde edilen sayısal değerle tanımlanır. Birleşik belirsizlik ve onun bileşenleri, standart sapma şeklinde ifade edilir.

5. Birleşik belirsizlik genişletilmek üzere bir faktörle çarpıldığı durumlarda, faktör mutlaka belirtilmelidir.

INC-1 (1980) tavsiyeleri bir özet olup detay içermemektedir. Sonuç olarak CIPM bu tavsiyeler üzerinden ayrıntılı bir kılavuz hazırlaması için Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu'na (ISO) talepte bulunmuştur. Kendisine sorumluluk verilen ISO Teknik Tavsiye Grubu-4 (ISO/TAG-4) bir rehber hazırlamak üzere Çalışma Grubu-3'ü (WG-3) kurmuştur. Hazırlanan rehberin amacı, ölçüm belirsizliğinin nasıl hesaplanması gerektiğini anlatmak ve ölçüm sonuçlarının uluslararası standardizasyonuna temel oluşturmaktır²⁴.

Ölçüm belirsizliğinin ifade rehberi (GUM)

ISO/TAG-4/WG-3'ün çalışmasının sonucu olarak, ölçüm belirsizliğinin ifade rehberi (GUM) ortaya çıkmıştır. Bu rehber 1993'te yayınlanmış ve 1995'te yeniden düzenlenmiştir.

ISO rehberinin (GUM) esas amacı, birçok sahada çeşitli doğruluk seviyelerinde takip edilen ölçümlerde belirsizliğin sunumu ve değerlendirilmesinin genel kurallarını vermektir. GUM'un prensipleri; üretimde kalite kontrolünü ve güvencesini sağlamak, kanunları ve düzenlemeleri zorlamak ve onlara uymak, bilimdeki ve mühendislikteki temel araştırmaları uygulamadaki gelişmelerle birleştirmek, ulusal standartlarda izlenebilirliği sağlamak için ulusal ölçüm sistemi içerisinde uygulanan testleri, cihazları ve standartları kalibre etmek, uluslararası ve ulusal fiziki referans standartları ve referans materyalleri geliştirmek, devam ettirmek ve karşılaştırmak gibi ölçümle alakalı birçok alanda uygulanabilir²⁴.

Ulusal Ölçüm Standardı; bir ülkede resmi olarak tanınmış ve ülkedeki diğer tüm ölçüm standartları için değeri referans teşkil eden, en üst seviye doğruluğa sahip temel standarttır. Ulusal ölçüm standartlarının oluşturulması yoğun bir araştırma ve geliştirme gerektirmektedir. Türkiye'de ulusal ölçüm standartları UME tarafından oluşturulup, devamlılığı sağlanır. UME, 11 Ocak 1992'de TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) kararıyla Marmara Araştırma Merkezi bünyesinde kurulmuştur.

1 Ocak 1997 tarihinde UME, TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi'nden ayrılmış ve doğrudan TÜBİTAK Başkanlığı'na bağlı olarak faaliyetlerini yürütmeye başlamıştır. UME ve TÜRKAK, 15 Şubat 2002 tarihinde imzaladıkları bir protokolle, kalibrasyon ve test laboratuvarlarının akreditasyonu ve bu laboratuvarlar tarafından yapılan ölçümlerin izlenebilir kılınması konularında işbirliği yapmaya karar vermişlerdir. Türkiye'de laboratuvarların akreditasyon başvuruları TÜRKAK'a yapılmaktadır²⁵.

Ölçüm belirsizliğinin hesaplanması

VIM2, GUM1, ISO/IEC ve son olarak da VIM3 belgeleriyle sunulan bilgiler, ölçüm belirsizliğinin hesaplanması için, çeşitli metrolojik teknikler sunmaktadır. Bu amaçla ölçüm belirsizliği hesaplamasında değişik kılavuzlar yayınlanmaktadır.

ISO/IEC 17025 genel kalite yönetim standardına göre ve klinik laboratuvarların kalite yönetimini ifade eden ISO/IEC 15189 tıbbi laboratuvarlar kalite standardına göre laboratuvarlar; analiz sonuçlarının belirsizliğini, belirsizlik bileşenlerini hesaba katarak saptayabilmelidir²⁶. ISO/IEC 17025 standardına göre akredite olmak isteyen laboratuvarlar için, ölçüm belirsizliğinin ifadesi önemlidir. Ancak hesaplamanın nasıl yapılacağına dair henüz bir fikir birliği bulunmamaktadır²⁷.

EURACHEM kaynaklı Nordtest kılavuzu, ölçüm belirsizliği hesabında yaygın, anlaşılabilir ve pratik bir uygulama sunmaktadır. Geleneksel kimyasal ölçümlerin temel prensiplerine ilişkin pratik örnekleri sunmaktadır. GUM rehberinde önerilen Tip A ve Tip B belirsizlik değerlendirmelerine, EURACHEM rehberinde de yer verilmiş ve birçok örnekle değişik belirsizlik bileşenlerinin nasıl birleştirildiği gösterilmiştir. Rehberden edinilen fikir, bütün belirsizlik kaynaklarının belirlenmesi ve sonra tamamının hesaplanıp birleştirilmesidir. Bu yöntem, laboratuvarlarda yapılan belirsizlik değerlendirmesi için en uygun yöntem gibi görünmektedir²⁸.

Nordtest kılavuzuna göre belirsizlik hesaplaması 5 aşamada yapılmaktadır²⁹:

1. Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlikten kaynaklanan belirsizliğin (uRw) hesabı için farklı seviyelerdeki laboratuvar iç kalite kontrol materyalleri kullanılarak, sonuçların varyasyon katsayısı hesaplanır.

$$uRw = \sqrt{(1. seviye kontrol \%CV^2 + 2. seviye kontrol \%CV^2)/2}$$

2. Belirsizliğin standart komponentini (u(bias)) hesaplamak için, dış kalite kontrol verilerinden farklı bias değerlerinin ortalamasının karekökü (RMS bias) ve sertifikaya değere ait belirsizlik değerleri (u(Cref)) kullanılır. Bias gerçek ve ölçülen değer arasındaki fark olarak ifade edilir.

$$RMS\ bias = \sqrt{\sum(Dış\ kalite\ kontrol\ bias)^2/n}$$

(n= laboratuvarın dış kalite kontrol programına katılım sayısı)

u(Cref), sertifikalı referans materyalden veya dış kalite kontrol sonuçlarındaki değerlerden hesaplanarak elde edilen belirsizlik bileşeni olarak tarif edilir. Dış kalite kontrol verilerinden u(Cref) değerinin hesaplanmasında %CV değeri kullanılabilir. Dış kalite kontrol verilerinden belirsizliğin u(Cref) değeri; her bir parametre için elde edilen ortalama %CV değerinin, aynı metod ve aynı cihazı kullanan laboratuvar sayısının kareköküne bölünmesiyle hesaplanır.

$$u(Cref) = \%CV/\sqrt{n}.$$

3. Tüm belirsizlik bileşenleri aşağıdaki formülle standart belirsizlik değerine dönüştürülür:

$$u(bias) = \sqrt{(RMS\ bias)^2 + u(Cref)^2}$$

4. Standart belirsizlik bileşenlerinin tamamından faydalanılarak, kombine belirsizlik (uc) değeri hesaplanır:

$$uc = \sqrt{(uRw)^2 + u(bias)^2}$$

5. Birleşik belirsizlik değeri 'k' faktörü ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik değeri hesaplanır. 'k' değeri %95 güven aralığını temsil eden 1.96 (yaklaşık olarak 2 alınabilir) alınır.

$$U = 2 \times uc.$$

Her analit için bulunan genişletilmiş belirsizlik değeri (U), izin verilebilir toplam hata limitleri (%TEa) kullanılarak değerlendirilir³⁰.

Buna göre eğer genişletilmiş belirsizlik değeri; %TEa değerinden küçükse, ölçüm yönteminin belirsizliğinin kabul edilebilir sınırlar içerisinde olduğu söylenebilir.

Toplam hata, ölçüm yöntemindeki sistematik ve rasgele hatanın toplamına eşittir. %95 güven aralığı için;

$$\%TEa = \text{Bias} + 1.65 \times \text{CVA} \text{ 'dır.}$$

Biasın müsaade edilebilir sınırı, toplam biyolojik değişikliğin 1/4'üdür:

$$\text{Bias} < 0.25 \times \sqrt{(\text{CVI})^2 + (\text{CVG})^2}$$

Analitik hata için Cotlove ve arkadaşlarının önerisi:

$\text{CVA} < 0.5 \times \text{CVI}$ dir¹³. Bu durumda %TEa formülü;

$$\%TEa = 0.25 \times \sqrt{(\text{CVI})^2 + (\text{CVG})^2} + 1.65 \times (0.5 \times \text{CVI}) \text{ olur}^{30-31}.$$

Ölçüm belirsizliğinin raporlanması

Hesaplamalar sonunda bulduğumuz U (genişletilmiş belirsizlik), yüzde olarak ifade edilir. Herhangi bir sonuç (S) rapor edilirken $S \pm (S \times U)$ şeklinde rapor edilir. Böylece; bir yöntem için önceden hesaplanmış genişletilmiş belirsizlik değeri S sonucu ile çarpılarak, sonuca ait genişletilmiş belirsizlik saptanmış olur.

Referans Değişim Değeri

Biyolojik varyasyon kavramı

İnsanların yaşamı süresince meydana gelen biyolojik varyasyon büyüme, yaşlanma, gebelik, menapoz ve diğer fizyolojik koşullar ile ilişkilidir. Laboratuvarlarda ölçümü yapılacak maddelerin (analitlerin) varyasyonu, dolaşıma salınan hücreli kökenli çeşitli hormonlarda olduğu gibi aydınlık, karanlık veya mevsimsel değişiklikler gibi dış etmenler aracılığıyla ortaya çıkabilmektedir³². Bununla birlikte bütün analitleri etkileyen bir diğer varyasyon, birey içi varyasyondur ve her bir bireyin denge noktası etrafında rastgele dalgalanmalar olarak tanımlanır. Bireylerin denge noktaları da birbirlerinden

farklı olabilir. Bu farklılıktan kaynaklanan varyasyon ise bireyler arası varyasyon olarak tanımlanır. Bu değerler matematiksel olarak varyasyon katsayısı ile gösterilir ve birey içi varyasyon için CVI, bireyler arası varyasyon için CVG simgesi kullanılır⁸.

Laboratuvar tıbbında, analitlerin ölçümünde güvenilir sonuçlar verilebilmesi için, biyolojik varyasyonun hesaba katılması gerekmektedir. Laboratuvar ölçümlerinde; örnek toplama, örnek transportu ve saklanması, reaktiflerin hazırlanması, cihazların bakımı ve yöntemle bağlı olarak ortaya çıkan bir varyasyon söz konusudur. Güvenilir sonuçlar elde edebilmek için varyasyona neden olan kaynaklar en aza indirilmelidir.

Bu süreç; örneklerin doğal varyasyonu hariç, ilişkili tüm laboratuvar süreçleri için mümkündür⁷. Bu amaçla, laboratuvar uzmanları birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyon bileşenlerini hesaplayıp değerlendirerek, raporlanmaya kadar giden tüm süreç boyunca uygun bir şekilde yönetimini sağlamalıdır.

Birey içi ve bireyler arası varyasyonun hesaplanması

Birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyonun hesaplanması ve öneminin değerlendirilmesi için aşağıdaki basamakların takip edilmesi gerekmektedir³³:

- a. Sağlık durumu bilinen belirli sayıdaki bireyden, belirli sayıda örnek elde edilmelidir.
- b. Örnekler, analiz edilene kadar uygun ve stabil şartlarda saklanmalıdır.
- c. Örnekler analiz edilmeli ve eş zamanlı olarak kontrol materyallerinden veya aynı örneğin çift çalışılması ile analitik-biyolojik varyasyon (analitik + biyolojik varyasyon; $CV(A+I)$) saptanmalıdır.
- d. Analitik, birey içi ve bireyler arası varyasyon unsurları; analiz sonuçlarından varyans analiz testi ile hesaplanmalıdır.

Biyolojik varyasyon hesaplamalarının güvenilir olduğundan emin olmak için, preanalitik faktörlerin sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gerekir. Eğer sağlıklı bireylerle çalışılıyorsa, bireyler örnek toplama süresince normal günlük yaşamlarına devam etmelidirler. Kan alma ile ilgili koşullar açık bir şekilde tanımlanmalı ve bütün bireylere aynı şekilde uygulanmalıdır. Örnek alma işlemi;

aynı flebotomist tarafından, günün aynı saatinde, turnike zamanı eşit olacak şekilde ve hastalar birkaç dakika dinlendikten sonra gerçekleştirilmelidir. Sağlıklı olmayan bireylerde biyolojik varyasyon hesaplamaları için bu aynı koşullar uygulanmalı, ek olarak bu bireyler hastalık durumları bakımından da stabil halde olmalıdırlar³⁴⁻³⁶. Teknik olarak örnekler, bir günden daha kısa aralıklarla alınmamalıdır. Bu kısıtlama haricinde örneklemeler arasındaki süre, istenilen aralıklarla yapılabilir. Örneğin; örnekler her gün, haftada bir ya da ayda bir alınabilir³⁷. Çalışılan birey sayısı ve örnek sayısı çok önemli olmamakla beraber, en az 10 birey ve 5 örnek ile çalışılması önerilmektedir. Çalışmada kullanılan analitik yöntem, cihaz ve reaktifler biyolojik varyasyon hesaplamalarında herhangi bir fark yaratmamaktadır. Cinsiyet, yaş, ırk ve coğrafi bölge gibi bireyle ilişkili faktörler sonuçlarda değişiklik oluşturmamaktadır^{8,38}.

Çok sayıda analit için biyolojik varyasyon hesaplamalarının yapıldığı çalışmalar gerçekleştirilmiştir³⁹⁻⁴¹. Biyolojik varyasyon hesaplamalarında CVA, CVI, CVG, CVTI (total birey içi varyasyon) ve CVT (total varyasyon) yer almaktadır⁸:

$$CVI = \sqrt{CVTI^2 - CVA^2}$$

$$CVG = \sqrt{CVT^2 - CVI^2 - CVA^2}$$

Tüm mevcut biyolojik varyasyon hesaplamaları, ilk olarak 1999 yılında Ricos ve arkadaşları tarafından derlenmiş ve bu konuyla ilgili her iki yılda bir güncellenen bir veri tabanı oluşturulmuştur³⁷. Veri tabanının güncelleştirilmesi en son 2014 yılında yüzlerce analit için yapılmıştır⁴². Yaygın olarak kullanılan birçok testin verilerine ulaşılabilmektedir. Bununla birlikte, bu yönde daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Örneğin biyolojik varyasyonları henüz hesaplanmamış olan daha birçok analit bulunmaktadır. İleride yapılacak olan çalışmalarda bu özel testlere de odaklanmak gerekmektedir.

Referans değişim değeri ve biyolojik varyasyon

Bir bireyin ardışık iki sonucu arasındaki değişikliğin klinik önemi değerlendirilirken; preanalitik varyasyon kaynaklarının minimal olduğu varsayılır, varyasyonun analitik ve fizyolojik kaynakları dikkate alınır. İki sonuç arasındaki değişikliğin klinik önemini temsil eden sayısal değer, klasik olarak kritik fark

veya günümüzde referans değışim değeri olarak bilinmektedir⁹ ve aşağıdaki formül ile hesaplanmaktadır:

$$RCV = k \times \sqrt{2} \times \sqrt{CVA^2 + CVI^2}$$

Bu formülde k sabit değeri %95 güven aralığında 2 yönlü değışim için 1.96 olarak belirlenmiştir. Bazı araştırmacılar bu formülün biraz daha farklısını kullanmaktadırlar. Bu durumda karekök içerisindeki bölüm yerine CV(A+I)² ifadesi konulmaktadır⁴³:

$$RCV = k \times \sqrt{2} \times \sqrt{CV(A + I)^2}$$

Her iki formül ile elde edilen sonuçlar hemen hemen aynıdır. Laboratuvarların istenilen kalite değerlerine ulaşabilmesi için analitik varyasyonun idealleştirilmeye çalışıldığı düşünülürse ve bu formülün de özellikle CVI komponentine bağı olduğu hesaba katılırsa; RCV değeri bütün laboratuvarlar için hemen hemen aynı olarak düşünülebilir⁴⁴. Birçok analit yüksek bireysellik göstermektedir. Yani birey içi biyolojik varyasyonu, bireyler arası biyolojik varyasyonundan daha düşüktür. Dolayısıyla sağlıklı olma halinde gerçekleşen değışiklikleri değerlendirmek için RCV kullanımının popülasyona dayalı referans aralık kullanımından daha iyi bir yaklaşım olabileceği ileri sürülmektedir⁴⁵.

Popülasyona dayalı referans aralık ve bireysellik indeksi ilişkisi

Bireysellik indeksi (II), birey içi biyolojik varyasyonun bireyler arası biyolojik varyasyona oranı ile belirlenir:

$$II = CVI/CVG.$$

Birçok analit için hesaplanmış olan bireysellik indeksi, 1'in altında olduğunda, bir bireyin ardışık iki test sonucu RCV değerinin dışında, fakat popülasyona dayalı referans aralığının içinde olabilir. Bu durumda bir test sonucu yorumlanırken; en az iki istek yapılmış bir testin iki sonucu arasındaki farkın, ilgili RCV'den daha yüksek olması halinde, laboratuvar uzmanı tarafından iki test sonucunun klinik açıdan anlamlı fark taşıdığı yönünde yorumlanmalıdır. Sonuç olarak, tek bir testin sonucunu yalnızca bireysellik indeksi 1'in üzerinde olan analitler için popülasyona dayalı referans aralıkları ile

karşılaştırmak uygundur. Bireysellik indeksi 0.6'nın altında olan testler için topluma dayalı referans aralığı yerine RCV kullanımı; bireysellik indeksi 1.4'ün üzerinde olan testler için de RCV yerine topluma dayalı referans aralığı kullanımı önerilmektedir. Bireysellik indeksi 0.6 ile 1.4 arasında olan testlerde ise hem RCV, hem de referans aralıklarına göre değerlendirme önerilmektedir³³.



GEREÇ VE YÖNTEM

Ölçüm belirsizliği ve RCV'yi hesaplamak ve değerlendirmek için Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılan 8 adet biyokimyasal (glukoz, albümin, kalsiyum, üre, kreatinin, sodyum, HDL-K ve total kolesterol) ve 5 adet hormon testi (TSH, FSH, tPSA, fT4 ve kortizol) ele alınmıştır. Bu seçilen testler yaygın olarak istenilen biyokimyasal ve hormon testleri olup; hepsinin bireysellik indeksi, sonuçları değerlendirmede referans değişim değeri kullanımının daha uygun olduğu 1.4 kritik değerinin altındadır. Bu testlerin bir kısmında bireysellik indeksi 0.6 değerinden de düşüktür. Bu kritik değer altındaki bireysellik indeksine sahip testlerde RCV'nin kullanımı daha uygundur. Bireysellik indeksi 0.6'dan düşük olan biyokimyasal testler kreatinin, HDL-K ve total kolesterol; hormon testleri FSH, tPSA, fT4 ve kortizol'dür^{33,42}.

Ölçüm belirsizliği hesaplamaları Nordtest kılavuzunda yer alan bilgilere göre yapılmıştır. Hesaplamalar için 1 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında çalışılan aylık iç ve dış kalite kontrol sonuçlarıyla ilgili veriler kullanılmıştır. Ölçüm belirsizliği hesaplamalarında 2 farklı seviye olarak çalışılan iç kalite kontrol sonuçlarının %CV değerleri, dış kalite kontrol sonuçlarının ortalama bias değerleri, u(cref) hesabı için dış kalite kontrol sonuçlarının ortalama %CV değerleri ve programa katılan laboratuvar sayıları kullanılmıştır.

RCV hesaplamasında, 2 farklı seviye olarak çalışılan iç kalite kontrol sonuçlarının %CV değerleri ve analitlere ait biyolojik varyasyon değerleri kullanılmıştır⁹. Biyolojik varyasyon değerleri son olarak 2014 yılında güncellenen, Westgard sitesinde yer alan veri tabanından elde edilmiştir⁴².

1 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılmak üzere test istemi yapılmış ve testlere ait ardışık 2 (iki) sonucu olan tüm hastaların sonuçları, hesaplanan RCV'ler ile değerlendirilmiştir.

Cihazlar

Biyokimyasal testler (glukoz, albümin, kalsiyum, üre, kreatinin, sodyum, HDL-K ve total kolesterol) ve hormon testleri (TSH, FSH, tPSA, fT4 ve kortizol) biyokimya ve hormon otoanalizörlerinde çalışılmıştır (Cobas 6000 analizör serileri. Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Ölçüm Belirsizliklerinin Hesaplanması

Belirsizlik hesaplaması, Nordtest kılavuzuna göre yapılmıştır. Biyokimyasal ve hormon testlerinin ölçüm belirsizliği hesaplanırken; belirsizlik bileşenleri verilen formüllerde teker teker hesaplandıktan sonra, her bir aşamada elde edilen sonuçlar, en son aşamada genişletilmiş belirsizlik değerini hesaplamada kullanılmıştır²⁹.

Bu hesaplama aşamaları şunlardır:

1. Laboratuvar içi yeniden üretilebilirliğin hesaplanması:

$$uRw = \sqrt{(1. seviye kontrol \%CV^2 + 2. seviye kontrol \%CV^2)/2}$$

2. Belirsizliğin standart komponentini belirlemek amacı ile RMS bias ve u(Cref) değerlerinin hesaplanması:

$$RMS\ bias = \sqrt{\sum(Dış\ kalite\ kontrol\ bias)^2/n}$$

(n= laboratuvarın dış kalite kontrol programına katılım sayısı)

$$u(Cref) = \%CV / \sqrt{n}$$

3. Tüm belirsizlik bileşenlerinin aşağıdaki formülle standart belirsizlik değerine dönüştürülmesi:

$$u(bias) = \sqrt{(RMS\ bias)^2 + u(Cref)^2}$$

4. Standart belirsizlik bileşenlerinin tamamından faydalanılarak, kombine belirsizlik değerinin hesaplanması:

$$uc = \sqrt{(uRw)^2 + u(bias)^2}$$

5. Son olarak kombine belirsizlik değerinin 'k' faktörü ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik değerinin hesaplanması:

'k' değeri %95 güven aralığını temsil eden 1.96 (yaklaşık olarak 2 alınabilir) alınmıştır.

$$U = 2 \times uc$$

Biyokimyasal ve hormon testlerinin ölçüm belirsizliklerinin hesaplanmasında kullanılan; testlere ait 5 aylık ortalama iç kalite kontrol %CV değerleri, 5 aylık ortalama dış kalite kontrol %CV değerleri ve 5 aylık dış kalite kontrol bias değerleri ile 5 ay boyunca dış kalite kontrol programına katılan laboratuvar sayıları Tablo 1., Tablo 2. ve Tablo 3.'te verilmiştir.

Tablo 1. Biyokimyasal ve hormon testleri için 5 aylık ortalama iç kalite kontrol %CV değerleri

TESTLER	1. SEVİYE	2. SEVİYE
GLUKOZ	1.69	1.75
ALBÜMİN	2.35	3.16
KALSİYUM	1.57	1.34
ÜRE	2.83	2.75
KREATİNİN	1.73	1.56
SODYUM	1.13	1.1
HDL-K	1.85	2.18
TOTAL KOLESTEROL	1.54	1.82
TSH	1.69	1.77
FSH	2.15	2.28
tPSA	4.8	4.71
ft4	1.96	2.64
KORTİZOL	3.11	3.11

Tablo 2. Biyokimyasal ve hormon testleri için 5 aylık ortalama dış kalite kontrol %CV değerleri

TESTLER	Ortalama dış kalite kontrol %CV değeri
GLUKOZ	2.44
ALBÜMİN	2.94
KALSİYUM	2.02
ÜRE	2.86
KREATİNİN	2.16
SODYUM	1.34
HDL-K	5.9
TOTAL KOLESTEROL	2.34
TSH	3.33
FSH	4.38
tPSA	4.58
ft4	3.75
KORTİZOL	10.47

Tablo 3. Biyokimyasal ve hormon testleri için 5 aylık dış kalite kontrol bias değerleri ile katılımcı laboratuvar sayıları

TESTLER	Dış kalite kontrol bias değerleri					Katılımcı laboratuvar sayısı
	1.ay	2.ay	3.ay	4.ay	5.ay	
GLUKOZ	1.64	1.89	6.2	2.82	1.18	564
ALBÜMİN	3.54	0.9	4.34	7.5	2.78	490
KALSİYUM	2.96	4.26	2.92	1.65	0.37	280
ÜRE	2.67	4.3	0.36	0.47	0.2	563
KREATİNİN	2.0	0.66	7.7	0.38	1.65	172
SODYUM	1.2	0.95	6.82	0.55	0.59	488
HDL-K	0.1	0.7	8.01	14.3	1.79	465
T. KOLESTEROL	0.54	1.3	8.05	4.76	4.9	534
TSH	3.8	0.43	1.17	6.62	1.6	295
FSH	8.42	6.9	6.68	6.06	10.45	229
tPSA	14.8	10.8	12.78	10.05	6.84	280
ft4	1.32	0.69	0.5	10.3	2.06	177
KORTİZOL	3.74	10.04	12.47	5.02	3.47	142

Biyokimyasal ve hormon testlerinin ölçüm belirsizlikleri tablolarda verilen değerler kullanılarak hesaplanmıştır. Nordtest kılavuzuna göre glukozun ölçüm belirsizliği hesabı, örnek olarak gösterilmiştir. Diğer tüm biyokimyasal ve hormon testlerinin belirsizlikleri bu örnekle aynı şekilde hesaplanmıştır.

Örnek: Glukoz için ölçüm belirsizliği hesaplaması

1. Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlikten kaynaklanan belirsizlik değerinin hesaplaması:

Tablo 1.'de yer alan glukoz için 5 aylık ortalama iç kalite kontrol %CV değerlerine göre:

$u_{Rw} = \sqrt{[(1.69)^2 + (1.75)^2]/2}$ olduğundan, u_{Rw} yaklaşık olarak 1.72 bulunmuştur.

2. RMS bias ve $u(\text{cref})$ değerlerinin hesaplanması:

Tablo 3.'te yer alan glukoz için 5 aylık dış kalite kontrol bias değerleri ile katılımcı laboratuvar sayılarına göre:

$\text{RMS bias} = \sqrt{[(1.64)^2 + (1.89)^2 + (6.2)^2 + (2.82)^2 + (1.18)^2]/5}$ olduğundan, RMS bias değeri yaklaşık olarak 3.29 bulunmuştur.

$u(\text{cref}) = 2.44 / 23.7$ olduğundan, $u(\text{cref})$ değeri yaklaşık olarak 0.1 bulunmuştur.

3. Tüm belirsizlik bileşenlerinin aşağıdaki formülle standart belirsizlik değerine dönüştürülmesi:

$u(\text{bias}) = \sqrt{(3.29)^2 + (0.1)^2}$, $u(\text{bias})$ değeri yaklaşık olarak 3.29 bulunmuştur.

4. Birleşik belirsizlik hesaplanması:

$u_c = \sqrt{(1.72)^2 + (3.29)^2}$ ve u_c değeri yaklaşık olarak 3.71 bulunmuştur.

5. Genişletilmiş belirsizlik değerinin hesaplanması:

Glukoz için genişletilmiş belirsizlik değeri $2 \times 3.71 = \%7.42$ olarak hesaplanmıştır.

RCV Hesaplaması ve Değerlendirilmesi

Çalışmada ele alınan tüm biyokimyasal ve hormon testleri için RCV hesabı Fraser'in önerdiği şu formüle göre yapılmıştır⁹:

$$RCV = k \times \sqrt{2} \times \sqrt{CVA^2 + CVI^2}$$

Bu formülde; 'k' sabit değeri %95 güven aralığında 2 yönlü değişim için 1.96 olarak belirlenmiştir. Tek yönlü değişim için ise bu değer 1.65'tir. Tüm testler için analitik varyasyonun hesaplanmasında 5 aylık iç kalite kontrol çalışmalarına ait %CV değerleri kullanılmıştır. Tüm analitler için birey içi biyolojik varyasyon değerleri ise Westgard sitesinde yer alan güncel veri tabanından elde edilmiştir⁴².

Biyokimyasal ve hormon testleri için RCV hesaplama aşamaları:

1. Tablo 1.'de yer alan ve 5 aylık iç kalite kontrol çalışması ile elde edilen %CV değerlerinin ortalaması alınarak, CVA değeri hesaplanmıştır.
2. Westgard sitesinde yer alan güncel veri tabanından ilgili analite ait birey içi biyolojik varyasyon değeri elde edilmiştir.
3. Son olarak elde edilen tüm sayısal değerler formülde yerine konularak RCV hesaplanmıştır.

Hesaplanan RCV ile; 1 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılmak üzere test istemi yapılmış ve değerlendirilecek testlere ait ardışık 2 (iki) sonucu olan tüm hastaların, sonuçları arasındaki sayısal değişimin klinik anlamlılığı değerlendirilmiştir. Aynı teste ait ikiden fazla sonucu olan hastaların, söz konusu tarihler arasındaki ilk ve son sonuçları değerlendirmeye alınmıştır. Dolayısıyla her hasta için aynı testin yalnızca iki sonucu arasındaki değişim değerlendirilmiştir. Sonuçlar arasındaki değişimler, sonuçlardaki sayısal değişimlerin testlere ait RCV değerleri ile karşılaştırılması ve buna göre hasta sonuçlarının ne kadarının klinik olarak anlamlı değişiklik gösterdiği, Windows 2013 Office Excel programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.'te, RCV hesabında kullanılmak üzere Westgard'ın güncel veri tabanından elde edilen birey içi biyolojik varyasyon değerleri yer almaktadır.

Tablo 4. Biyokimyasal ve hormon testlerinin birey içi biyolojik varyasyon değerleri

TESTLER	Birey içi Biyolojik Varyasyon Değerleri (%)
GLUKOZ	5.6
ALBÜMİN	3.2
KALSİYUM	2.1
ÜRE	12.1
KREATİNİN	5.95
SODYUM	0.6
HDL-K	7.3
T. KOLESTEROL	5.95
TSH	19.3
FSH	11.0
tPSA	18.1
ft4	5.7
KORTİZOL	15.2

Biyokimyasal ve hormon testlerinin referans değişim değerleri, Tablo 1. ve Tablo 4.'te yer alan analitik ve birey içi varyasyon değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. Fraser'in formülüne göre glukozun referans değişim değerinin

hesaplanması, örnek olarak gösterilmiştir. Diğer tüm biyokimyasal ve hormon testlerinin referans değışim değeri, bu örnekle aynı şekilde hesaplanmıştır.

Örnek: Glukoz için RCV hesaplaması

1. CVA hesaplanması: Tablo 1.'de verilen %CV değeri kullanılmıştır.

$$CVA = (1.69 + 1.75) / 2, \text{ CVA değeri } 1.72 \text{ olarak hesaplanmıştır.}$$

2. Glukoz için CVI değeri Tablo 4.'te %5.6 olarak ifade edilmiştir⁴².

3. $RCV = k \times \sqrt{2} \times \sqrt{(1.72)^2 + (5.6)^2}$ olduğundan, $RCV = 1.96 \times 1.41 \times 5.86$ 'dır. Glukoz için RCV yaklaşık olarak %16.19 hesaplanmıştır.



BULGULAR

Ölçüm Belirsizliği

Ele alınan tüm testlerin ölçüm belirsizliği, total izin verilebilir hata limitlerine (%TEa) göre değerlendirilmiştir. Her test için hesaplanan genişletilmiş belirsizlik değeri incelenirken, Westgard %TEa değerleri kullanılmıştır³⁰. Buna göre eğer genişletilmiş belirsizlik değeri %TEa değerinden küçükse, ölçüm belirsizliği kabul edilebilir sınırlar içerisinde¹⁴.

Ayrıca tüm testlerin hesaplanan ölçüm belirsizlikleri, CLIA 88'in önerdiği formüllerle hesaplanan %TEa değerleri ile de karşılaştırılmıştır. CLIA 88, total izin verilebilir hata limitlerini daha yüksek tutmuş;

$$\%TEa = \text{Bias} + 2 \times \text{CVA} \text{ formülüne göre hesaplanmıştır}^{48}.$$

CLIA; bazı testler için TEa değerini yüzde olarak ifade ederken, bazı testlerin TEa değerini de SD veya birim olarak ifade etmiştir⁴⁹. CLIA'da SD veya birim olarak ifade edilen (biyokimyasal testlerden kalsiyum; hormon testlerinden TSH, FSH, tPSA ve FT4) TEa değerlerinin yüzde olarak hesaplanmasında, yine CLIA'nın önerdiği %TEa formülü kullanılmıştır.

Biyokimyasal testlerin ölçüm belirsizliği

Biyokimyasal testlerin Nordtest kılavuzunda tarif edilen hesaplama yöntemine göre hesaplanmış ölçüm belirsizlikleri ile Westgard ve CLIA formüllerine göre hesaplanmış %TEa değerleri Tablo 5.'te verilmiştir.

Tablo 5. Biyokimyasal testler için hesaplanmış ölçüm belirsizliği ve %TEa değerleri

BİYOKİMYASAL TEST	ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ	%TEa (Westgard)	%TEa (CLIA 88)
GLUKOZ	%7.42	%6.96	%10
ALBÜMİN	%10.4	%4.07	%10
KALSİYUM	%6.26	%2.55	%5.34
ÜRE	%7.2	%15.55	%9
KREATİNİN	%8	%8.87	%15
SODYUM	%6.68	%0.73	%3
HDL-K	%15.3	%11.63	%30
T. KOLESTEROL	%10.1	%9.01	%10

Westgard'a göre elde edilen %TEa değerlerine göre glukoz, albümin, kalsiyum, sodyum, HDL-K ve total kolesterolün ölçüm belirsizliği değerleri yüksek bulunmuştur. Buna karşın CLIA'nın %TEa değerleri göz önüne alındığında; albümin, kalsiyum ve sodyum ve total kolesterolün ölçüm belirsizliği değerlerinin %TEa değerlerini aştığı görülmüştür.

Öte yandan üre ve kreatinin testlerine ait ölçüm belirsizliği değerlerinin; hem Westgard hem de CLIA'nın önerdiği %TEa değerlerinin altında olduğu görülmüştür.

Hormon testlerinin ölçüm belirsizlikleri

Hormon testlerinin ölçüm belirsizlikleri ile Westgard ve CLIA formüllerine göre hesaplanmış %TEa değerleri Tablo 6.'da verilmiştir.

Tablo 6. Hormon testleri için hesaplanmış ölçüm belirsizliği ve %TEa değerleri

HORMON TESTİ	ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ	%TEa (Westgard)	%TEa (CLIA 88)
TSH	%7.88	%23.7	%6.18
FSH	%16.36	%21.19	%12.13
tPSA	%24.66	%33.6	%20.56
ft4	%10.6	%8.0	%7.57
KORTİZOL	%16.96	%22.8	%25

Ölçüm belirsizliği değerleri ile Westgard'a göre elde edilen %TEa değerleri karşılaştırıldığında, sadece ft4 için ölçüm belirsizliği değeri %TEa değerinden yüksek bulunmuştur. Bununla beraber ölçüm belirsizlikleri CLIA'nın önerdiği %TEa değerlerine göre karşılaştırıldığında, sadece kortizol testi için ölçüm belirsizliği değeri %TEa değerinin altında bulunmuştur. Diğer hormon testlerinin ölçüm belirsizliği değerlerinin, CLIA'nın önerdiği %TEa değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür.

Hasta Sonuçlarının RCV'ye Göre Değerlendirilmesi

Biyokimyasal ve hormon testlerinin Fraser'e göre hesaplanmış referans değişim değerleri Tablo 7.'de gösterilmiştir.

Tablo 7. Biyokimyasal ve hormon testlerinin referans değişim değerleri

TESTLER	REFERANS DEĞİŞİM DEĞERİ (%)
GLUKOZ	16.19
ALBÜMİN	11.68
KALSİYUM	7.07
ÜRE	34.32
KREATİNİN	17.06
SODYUM	3.51
HDL-K	20.93
T. KOLESTEROL	17.09
TSH	53.55
FSH	31.01
tPSA	51.72
ft4	16.99
KORTİZOL	42.88

Tüm testler için hesaplanan RCV, ardışık hasta sonuçlarını değerlendirmek için kullanılmıştır. Bu amaçla; 1 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne başvuran hastaların, ardışık sonuçları arasındaki rakamsal

değişim yüzde ile ifade edilerek, ilgili teste ait RCV ile karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda topluma dayalı referans aralığına göre RCV karşılaştırması yapılmıştır. Bu amaçla, ardışık sonuçların her ikisi de kendi yaş ve cinsiyetine göre belirlenmiş topluma dayalı referans aralığı içinde olan; ardışık sonuçların biri kendi yaş ve cinsiyetine göre belirlenmiş topluma dayalı referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı altında ya da üstünde olan ve ardışık sonuçların her ikisi de kendi yaş ve cinsiyetine göre belirlenmiş topluma dayalı referans aralığı üzerinde ya da altında olan hasta sonuçları RCV ile karşılaştırılmak üzere ayrı ayrı ele alınmıştır. Belirtilen tarihler arasında Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne başvuran hastaların testlere ait ilk ve son sonuçları değerlendirmeye alınmıştır.

Biyokimyasal test sonuçlarının RCV'ye göre değerlendirilmesi

1 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında çalışılmış, toplam 14.698 hastanın biyokimyasal test sonucu değerlendirmeye alınmıştır. Her hastanın iki sonucu değerlendirmeye alındığı için, test sonucu sayısı hasta sayısının iki katıdır. Tablo 8.'de biyokimyasal test sonuçları arasındaki rakamsal değişimin RCV'yi aştığı ve aşmadığı hasta sayısı ve yüzde oranları verilmiştir. Buna göre 1 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında biyokimyasal testleri çalışılan hastaların ortalama %81.07'sinde (%70.26-%87.97) sonuçlar arasındaki rakamsal değişim, ilgili teste ait RCV'yi aşmamıştır. Diğer taraftan ortalama %18.93'ünde (%12.03-%29.74) ise sonuçlar arasındaki değişim, ilgili teste ait RCV'yi aşmıştır.

Biyokimyasal testler için, ardışık sonuçlarının her ikisi de kendi yaş ve cinsiyetine göre belirlenmiş topluma dayalı referans aralığı içinde olan hastaların sonuç değişimleri, RCV'ye göre değerlendirilmiştir. Bununla ilgili veriler Tablo 9.'da verilmiştir.

Tablo 8. Biyokimyasal testler için ardışık sonuçları değerlendirilen hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumları

BİYOKİMYASAL TEST	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI(%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
GLUKOZ	2.529	1.777 (%70.26)	752 (%29.74)
ALBÜMİN	1.097	965 (%87.97)	132 (%12.03)
KALSİYUM	1.311	1.110(%84.67)	201 (%15.33)
ÜRE	2.343	1.733 (%73.97)	610 (%26.03)
KREATİNİN	3.766	3.254 (%86.4)	512 (%13.6)
SODYUM	1.812	1.579 (%87.14)	233 (%12.86)
HDL-K	839	720 (%85.82)	119 (%14.18)
T. KOLESTEROL	1.001	777 (%77.62)	224 (%22.38)
TOPLAM	14.698	11.915 (%81.07)	3.808 (%18.93)

Tablo 9. Biyokimyasal testler için ardışık sonuçları topluma dayalı referans aralığı içerisinde bulunan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

BİYOKİMYASAL TEST	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI(%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
GLUKOZ	1.453	1.284 (%88.37)	169 (%11.63)
ALBÜMİN	859	792 (%92.20)	67 (%7.8)
KALSİYUM	1.112	1.013 (%91.1)	99 (%8.9)
ÜRE	2.064	1.311 (%63.52)	753 (%36.48)
KREATİNİN	3.224	2.899 (%89.92)	325 (%10.08)
SODYUM	1.698	1.334 (%78.56)	364 (%21.44)
HDL-K	691	614 (%88.86)	77 (%11.14)
T. KOLESTEROL	713	614 (%86.12)	99 (%13.88)
TOPLAM	11.814	9.861 (%83.47)	1.953 (%16.53)

Ardışık sonuçları topluma dayalı referans aralığı içerisinde bulunan hastaların ortalama %83.47'sinde (%63.52-%92.2) sonuçlar arasındaki rakamsal değişim, ilgili teste ait RCV'yi aşmamıştır. Hastaların ortalama %16.53'ünde (%7.8-%36.48) ise sonuçlar arasındaki değişim ilgili teste ait RCV'yi aşmıştır.

Albümin, kalsiyum, sodyum ve HDL-K testleri için referans aralığı altındaki sonuçlar klinik açıdan önemli olduğundan; bu testler için ardışık sonuçlardan biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı altında olan hasta sonuçları ve her iki sonucu da referans aralığı altında olan hasta sonuçları değerlendirilmiştir. Tablo 10.'da söz konusu biyokimyasal testler için ardışık sonuçların biri referans aralığı içerisinde olan, diğeri ise referans aralığı altında

olan hasta sayısı ve bu hastaların sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu verilmiştir.

Tablo 10. Biyokimyasal testler için ardışık sonuçlarının biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı altında olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

BİYOKİMYASAL TEST	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI(%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
ALBÜMİN	49	21 (%42.9)	28 (%57.1)
KALSİYUM	102	38 (%37.3)	64 (%62.7)
SODYUM	79	25 (%31.6)	54 (%68.4)
HDL-K	59	31 (%52.5)	28 (%47.5)
TOPLAM	289	115 (%39.8)	174 (%60.2)

Bu biyokimyasal testler için biri referans aralığı altında, diğeri referans aralığı içinde olan ardışık sonuçlar karşılaştırıldığında; ortalama %39.8'inin (%31.6-%52.5) ilgili teste ait RCV'yi aşmadığı, diğer taraftan ortalama %60.2'sinde (%47.5-%68.4) sonuçlar arasındaki değişimin ilgili testin RCV'sini aştığı görülmüştür. Tablo 11.'de ise albümin, kalsiyum, sodyum ve HDL-K testleri için her iki sonucu da referans aralığı altında olan hasta sayısı ve bu hastaların sonuç değişimlerinin RCV değerine göre durumu gösterilmiştir.

Tablo 11. Biyokimyasal testler için ardışık sonuçlarının her ikisi de referans aralığı altında olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

BİYOKİMYASAL TEST	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI (%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
ALBÜMİN	50	38 (%76)	12 (%24)
KALSİYUM	65	42 (%64.6)	23 (%35.4)
SODYUM	18	14 (%77.8)	4 (%22.2)
HDL-K	55	46 (%83.6)	9 (%16.4)
TOPLAM	188	140 (%74.5)	48 (%25.5)

Bu sonuçlara göre albümin, kalsiyum, sodyum ve HDL-K testleri için referans aralığı altındaki ardışık sonuçlar değerlendirildiğinde, test sonuçlarındaki rakamsal değişimlerin ortalama %74.5'inin (%64.6-%83.6) ilgili teste ait RCV'yi aşmadığı görülmüştür. Söz konusu testleri çalışılan hastaların ortalama %25.5'inde (%16.4-%35.4) ise değişimin ilgili teste ait RCV'yi aştığı görülmüştür.

Glukoz, kalsiyum, üre, kreatinin, sodyum ve total kolesterol testleri için referans aralığı üzerindeki sonuçlar da klinik açıdan önemli olduğundan; bu testler için ardışık sonuçların biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı üzerinde olan hasta sonuçları ve her iki sonucu da referans aralığı üzerinde olan hasta sonuçları da değerlendirilmiştir. Tablo 12.'de söz konusu biyokimyasal testler için ardışık sonuçların biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı üzerinde olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu verilmiştir.

Tablo 12. Biyokimyasal testler için ardışık sonuçlarının biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı üzerinde olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

BİYOKİMYASAL TEST	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI (%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
GLUKOZ	407	125 (%30.7)	282 (%69.3)
KALSİYUM	20	6 (%30)	14 (%70)
ÜRE	105	31 (%29.5)	74 (%70.5)
KREATİNİN	230	147 (%63.9)	83 (%36.1)
SODYUM	17	2 (%11.8)	15 (%88.2)
T. KOLESTEROL	169	75 (%44.4)	94 (%55.6)
TOPLAM	948	386 (%40.7)	562 (%59.3)

Bu sonuçlara göre söz konusu biyokimyasal testlerden biri referans aralığı üzerinde, diğeri referans aralığı içinde olan ardışık değerler karşılaştırıldığında; sonuçlar arasındaki rakamsal değişimlerin ortalama %40.7'si (%11.8-%63.9) ilgili teste ait RCV'yi aşmamış, ortalama %59.3'ü (%36.1-%88.2) ise ilgili teste ait RCV'yi aşmıştır.

Tablo 13.'te ise glukoz, kalsiyum, üre, kreatinin, sodyum ve total kolesterol testleri için; her iki sonucu da referans aralığı üzerinde olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu verilmiştir.

Tablo 13. Biyokimyasal testler için ardışık sonuçlarının her ikisi de referans aralığı üzerinde olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

BİYOKİMYASAL TEST	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI(%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
GLUKOZ	603	350 (%58)	253 (%42)
KALSİYUM	12	11 (%91.7)	1 (%8.3)
ÜRE	61	44 (%72.1)	17 (%27.9)
KREATİNİN	595	480 (%80.7)	115 (%19.3)
SODYUM	-	-	-
T. KOLESTEROL	326	288 (%88.3)	38 (%11.7)
TOPLAM	1597	1173 (%73.5)	424 (%26.5)

Bu sonuçlara göre glukoz, kalsiyum, üre, kreatinin ve total kolesterol testleri için referans aralığı üzerindeki ardışık sonuçlar değerlendirildiğinde; yüksek test sonuçlarındaki değişimlerin ortalama %73.5'inin (%58-%91.7) ilgili teste ait RCV'yi aşmadığı, ortalama %26.5'inde (%8.3-%42) ise aştığı görülmüştür.

Hormon test sonuçlarının RCV'ye göre değerlendirilmesi

1 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında çalışılmış, toplam 2.532 hastanın hormon testi sonucu değerlendirmeye alınmıştır. Her hastaya ait iki sonuç değerlendirmeye alındığı için; değerlendirmeye alınan test sonucu sayısı, hasta sayısının iki katıdır. Tablo 14.'te ardışık hormon test sonuçlarına göre değişimin, RCV'yi aştığı ve aşmadığı hastaların sayısı ve yüzde oranı verilmiştir. 1 Ocak 2016 ile 31 Mayıs 2016 tarihleri arasında hormon testleri çalışılan hastaların ortalama %57.27'sinde (%45.83-%68.97) sonuçlar arasındaki rakamsal değişim, ilgili teste ait RCV'yi aşmamıştır. Hastaların ortalama %42.73'ünde (%31.03-%54.17) ise sonuçlar arasındaki değişim, ilgili teste ait RCV'i aşmıştır. Tablo 15.'te ise ardışık sonuçlarının her ikisi de kendi

yaş ve cinsiyetine göre belirlenmiş topluma dayalı referans aralığının içinde olan hastaların sonuçları da RCV'ye göre değerlendirilmiştir.

Belirtilen tarihler arasında hormon testleri için ardışık sonuçları topluma dayalı referans aralığı içerisinde bulunan hastaların ortalama %72.21'inde (%63.16-%82.4) sonuçlar arasındaki rakamsal değişim ilgili teste ait RCV'yi aşmamıştır. Hastaların ortalama %27.79'unda (%17.6 - %36.84) ise sonuçlar arasındaki değişim ilgili teste ait RCV'yi aşmıştır.

Tablo 14. Hormon testleri için ardışık sonuçları değerlendirilen hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumları

HORMON TESTİ	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI (%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
TSH	1.338	699 (%52.24)	639 (47.76)
FSH	96	44 (%45.83)	52 (%54.17)
tPSA	87	60 (%68.97)	27 (%31.03)
ft4	968	627 (%64.77)	341 (%35.23)
KORTİZOL	43	20(%46.51)	23 (%53.49)
TOPLAM	2.532	1.450 (%57.27)	1.082 (%42.73)

Tablo 15. Hormon testleri için ardışık sonuçları topluma dayalı referans aralığı içinde bulunan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

HORMON TESTİ	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI (%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
TSH	716	463 (%64.66)	253 (%35.34)
FSH	41	31 (%75.61)	10 (%24.39)
tPSA	44	30(%68.18)	14 (%31.82)
ft4	551	454 (%82.4)	97 (%17.6)
KORTİZOL	19	12 (%63.16)	7 (%36.84)
TOPLAM	1.371	990 (%72.21)	381 (%27.79)

TSH, FSH, ft4 ve kortizol testleri için referans aralığı altındaki sonuçlar da klinik açıdan önemli olduğundan; bu testler için ardışık sonuçların biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı altında olan hasta sonuçları ve her iki sonucu da referans aralığı altında olan hasta sonuçları RCV'ye göre değerlendirilmiştir (Tablo 16. ve Tablo 17.)

Tablo 16'da görüldüğü gibi, sonuçlar arasındaki rakamsal değişimlerin ortalama %19.9'u (%3.6-%34) ilgili teste ait RCV'yi aşmamış, %80.1'inde (%66-%96.4) ise RCV'yi aşmıştır.

Tablo 16. Hormon testleri için ardışık sonuçlarının biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı altında olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

HORMON TESTİ	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI (%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
TSH	110	4 (%3.6)	106 (%96.4)
FSH	15	1 (%6.7)	14 (%93.3)
fT4	147	50 (%34)	97 (%66)
KORTİZOL	9	1 (%11.1)	8 (%88.9)
TOPLAM	281	56 (%19.9)	225 (%80.1)

Tablo 17.'de TSH, FSH, fT4 ve kortizol testleri için topluma dayalı referans aralığı altındaki ardışık sonuçlar değerlendirilmiştir. Test sonuçlarındaki rakamsal değişimlerin ortalama %53.2'sinin (%23.5-%80) ilgili teste ait RCV'yi aşmadığı, %46.8'inde (%20-%76.5) ise aştığı görülmüştür.

Tablo 17. Hormon testleri için ardışık sonuçlarının her ikisi de referans aralığı altında olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

HORMON TESTİ	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI (%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
TSH	108	42 (%38.9)	66 (%61.1)
FSH	17	4 (%23.5)	13 (%76.5)
ft4	80	64 (%80)	16 (%20)
KORTİZOL	11	5 (%45.5)	6 (%54.5)
TOPLAM	216	115 (%53.2)	101 (%46.8)

TSH, FSH, tPSA, ft4 ve kortizol testleri için referans aralığı üzerindeki sonuçlar da klinik açıdan önemli olduğundan; bu testlere ait ardışık sonuçların biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı üzerinde olan hasta sonuçları ve her iki sonucu da referans aralığı üzerinde olan hasta sonuçları değerlendirilmiştir. (Tablo 18. ve Tablo 19.)

Tablo 18. Hormon testleri için ardışık sonuçlarının biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı üzerinde olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

HORMON TESTİ	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI (%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
TSH	220	51 (%23.2)	169 (%76.8)
FSH	6	0 (%0)	6 (%100)
tPSA	11	2 (%18.2)	9 (%81.8)
ft4	118	27 (%22.9)	91 (%77.1)
KORTİZOL	3	2 (%66.7)	1 (%33.3)
TOPLAM	358	82 (%22.9)	276 (%77.1)

Tablo 19. Hormon testleri için ardışık sonuçlarının her ikisi de referans aralığı üzerinde olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu

HORMON TESTİ	HASTA SAYISI	RCV'Yİ AŞMAYAN HASTA SAYISI (%)	RCV'Yİ AŞAN HASTA SAYISI (%)
TSH	134	89 (%66.4)	45 (%33.6)
FSH	18	8 (%44.4)	10 (%55.6)
tPSA	32	28 (%87.5)	4 (%12.5)
ft4	47	32 (%68.1)	15 (%31.9)
KORTİZOL	0	0 (%0)	0 (%0)
TOPLAM	231	157 (%68)	74 (%32)

Tablo 18.'de sonuçlar arasındaki rakamsal değişimlerin ortalama %22.9'u (%0-%66.7) ilgili teste ait RCV'yi aşmamıştır. Hastaların ortalama %77.1'inde (%33.3-%100) ise sonuçlar arasındaki değişim ilgili teste ait RCV'yi aşmıştır.

Tablo 19.'da TSH, FSH, tPSA, fT4 ve kortizol testleri için referans aralığı üzerindeki ardışık sonuçlar değerlendirilmiş; test sonuçlarındaki rakamsal değişimin ortalama %68'inin (%0-%87.5) ilgili teste ait RCV'yi aşmadığı, ortalama %32'sinde (%0-%55.6) ise aştığı görülmüştür.



TARTIŞMA

Ölçüm belirsizliği, ölçülen büyüklüğe uygun bütün değerlerin dağılımını karakterize eden ve ölçüm sonucuyla ilişkili olan bir parametredir⁵⁰. Uluslararası standartlara göre klinik laboratuvarların, test sonuçlarının belirsizliğini tahmin edecek yöntemlere sahip olması gereklidir⁵¹. Herhangi bir biyokimyasal test sonucunun güvenilir olması için; gerçek değere yakın ve tekrarlanabilir olması, belirsizlik değeri ile birlikte verilmesi, ulusal ve uluslararası ortamlarda karşılaştırılabilir olması gereklidir. Laboratuvar sonuçlarıyla beraber her analiz için ölçüm belirsizliğini bildirmek zorunluluğu, henüz Sağlık Bakanlığınca zorunlu tutulmamıştır. Ancak yakın gelecekte, özellikle referans aralıkların alt ve üst limitlerinde ve klinik karar düzeylerinin yorumlanmasında bu bilgiye ihtiyaç duyulacaktır. Örnekleme ve örnek hazırlama aşamaları, kalibratörler, referans materyaller, cihazlar, çevresel faktörler ve personel değişimleri belirsizliğe etki eden önemli kaynaklardır⁵².

Klinik laboratuvarlarda belirsizliği ifade etmek için genellikle kesinlik kavramını kullanma alışkanlığı vardır⁵³. Kesinlik, aynı yol ile elde edilen sonuçların birbirine yakınlığını gösterir ve yöntemin tekrarlanabilirliğinin bir ölçütüdür. Bir analiz sonucu kesin olduğu halde doğru olmayabilir¹⁴. Bazı dış kalite kontrol programlarında, bulunan SD veya CV değerleri (genellikle 3 SD veya 3 CV) kabul edilebilirliğin bir ölçütü olarak kullanılmaktadır. Bu durum önemli bir dezavantajdır. Çünkü SD veya CV değerleri sadece var olan metodoloji ve teknolojinin kabul edilebilirliğini gösterir⁵⁴. Bu nedenle belirsizlik hesaplamalarında daha fazla bileşenin etkisi değerlendirilmelidir⁵². Biyokimyasal metotlar için ölçüm belirsizliği hesaplama yaklaşımları dış kalite kontrol, iç kalite kontrol ve metot validasyon çalışmalarından elde edilen verilere odaklanmış durumdadır⁵⁵. Nordtest kılavuzu ile tanımlanan ölçüm belirsizliği hesabı, diğer ölçüm belirsizliği hesapları gibi kalite kontrol ve validasyon çalışmalarına ait verileri kullanmakta olup; asıl amacı bu hesabın daha kolay yapılabilmesi için kullanıcılara yaygın, anlaşılabilir ve pratik bir uygulama sunmaktır²⁸.

Ölçüm belirsizliğinin ölçüm yönteminin kendi teknik sınırları içinde oluşan ve ölçüm sonucunu etkileyen faktörleri kapsadığı kabul edilir⁵⁶. Analitik süreçten kaynaklanan faktörlerin yanı sıra biyolojik varyasyonun da test

sonuçlarına etkisi ve laboratuvar sonuçlarının yorumlanmasındaki önemi büyüktür. Bazı testler yaşlanma sürecinden dolayı değişkenlik gösterirken; bazı testler ise günlük, aylık veya mevsimlik ritimlere sahip olabilirler. Hayati öneme sahip bazı testlerde ise döngüsel ritme hiç rastlanmayabilir. Fraser; kesinlik, bias ve izin verilebilir total hata limitlerini biyolojik varyasyondan faydalanarak hesaplamaktadır. Fakat kesinlik, bias ve izin verilebilir total hata limitlerinden oluşan üç aşamalı bu model ile var olan metodoloji ve teknoloji kullanılarak trigliserid gibi bazı testlerde genel kalite şartları kolaylıkla karşılanabilirken, kalsiyum, sodyum ve klor gibi bazı testlerde karşılanamayabilir⁵³.

Tıbbi karar düzeyine yakın değerlerde yapılan hatalar, artık daha önemli hale gelmiştir. Hatalar temel olarak ölçüm belirsizliğinden kaynaklanmaktadır. Bunun sonucunda medikal masraflar artmakta, yanlış teşhis konabilmekte ve hatta hastanın hayatı tehlikeye girebilmektedir²⁷. Bu nedenle hastaya tanı koyduran kritik değerlere sahip testler için, ölçüm belirsizliğinin sonuçlarla birlikte klinisyene bildirilmesi önem arz etmektedir⁵⁷.

Diğer taraftan aynı laboratuvarda aynı analit için farklı ölçüm belirsizliği hesaplama modelleri kullanılarak farklı sonuçlar elde edilebilir. Bu nedenle biyokimya laboratuvarlarında ölçüm belirsizliği hesaplama modelleri standardize edilmelidir. Laboratuvarların ölçüm belirsizliği sonuçlarını hangi kriterlere göre değerlendirecekleri belirlenmelidir. Ayrıca sonucu kullanan klinisyene, test sonucu ile birlikte ölçüm belirsizliğinin nasıl bildirileceği konusunda fikir birliğine varılmalıdır. Laboratuvarlarda, hedeflenen %TEa değerini aşmamak için hazır reaktif kullanılsa bile, yöntemin analitik performans özellikleri (kesinlik, doğruluk, interferans, doğrusalılık gibi) laboratuvar koşullarında değerlendirilmeli, ölçüm belirsizliği hesabında kullanılan iç ve dış kalite kontrol verileri iyi yorumlanmalıdır. İç kalite kontrol değerlendirme kriterleri her bir testin hedef SD veya CV değerleri belirlenerek gözden geçirilmeli, dış kalite kontrol verileri de bias ve olası kaynakları açısından değerlendirilmelidir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre biyokimyasal testlerden glukoz, albümin, kalsiyum, sodyum, HDL-K ve total kolesterolün ölçüm belirsizlikleri, Westgard'ın bu testler için önerdiği %TEa değerlerine göre yetersiz görünmektedir. Öte yandan CLIA'nın önerdiği %TEa değerlerine göre

ise biyokimyasal testlerden albümin, kalsiyum, sodyum ve total kolesterol testlerinin ölçüm belirsizliklerinin yetersiz olduğu görülmektedir.

Üre ve kreatinin testlerinin ölçüm belirsizlikleri ise hem Westgard'ın, hem de CLIA'nın önerdiği %TEa değerlerine göre uygun ve yeterli görülmektedir.

Hormon testlerinin ölçüm belirsizliklerine bakıldığında ise sadece serbest tiroksin için ölçüm belirsizliği Westgard'ın önerdiği %TEa değerine göre yetersiz bulunmuştur. Öte yandan CLIA'nın hormon testleri için önerdiği %TEa değerlerine göre sadece kortizol testinin ölçüm belirsizliğinin yeterli olduğu görülmüştür. Bu durumun CLIA'nın biyokimyasal testler için ölçüm belirsizliği hedeflerini Westgard'a göre daha geniş tutması ve buna karşın hormon testleri için daha dar tutmasından kaynaklandığı görülmektedir.

Bal ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, aynı marka ve model üç ayrı cihazda 10 adet biyokimya parametresinin (glukoz, albümin, AST, kan üre nitrojeni, total kolesterol, kreatinin, potasyum, sodyum, total protein, trigliserid) ölçüm belirsizliği değerleri Nordtest kılavuzu ile tanımlanan ölçüm belirsizliği hesaplama yöntemine göre hesaplanmış ve elde edilen değerler CLIA'nın total izin verilebilir hata değerleriyle karşılaştırılmıştır. Glukozun ölçüm belirsizliği 3 ayrı cihaz için sırasıyla %3.22, %5.81 ve %3.74 olarak bulunmuştur. Albüminin ölçüm belirsizliği 3 ayrı cihaz için sırasıyla %7.35, %6.49 ve %6.47 olarak bulunmuştur. Total kolesterolün ölçüm belirsizliği 3 ayrı cihaz için sırasıyla %4.58, %7.49 ve %3.37 olarak bulunmuştur. Kreatininin ölçüm belirsizliği 3 ayrı cihaz için sırasıyla %10.42, %5.33 ve %9.91 olarak bulunmuştur. Sodyumun ölçüm belirsizliği ise 3 ayrı cihaz için sırasıyla %2.32, %2.21 ve %2.07 olarak bulunmuştur⁵⁸. Bu bulgulara göre her 3 cihaz da aynı marka ve aynı model olmasına rağmen her bir cihaza ait ölçüm belirsizliği değerleri farklı bulunmuştur. Ancak bu analitlerin her bir cihaz için ayrı ayrı hesaplanan ölçüm belirsizliği değerleri CLIA'nın önerdiği %TEa değerlerinin altında bulunmuştur.

Bu biyokimyasal testlerin ölçüm belirsizliği değerleri, Westgard'ın önerdiği %TEa değerleri ile karşılaştırıldığında ise glukoz ve total kolesterolün her 3 cihaz için hesaplanan belirsizlik değerlerinin %TEa değerinin altında olduğu görülmüştür. Albümin ve sodyumun her 3 cihaz için hesaplanan

belirsizlik değerleri ise %TEa değerinin üzerinde bulunmuştur. Kreatinin testi için ise 2.cihaza ait belirsizlik değeri %TEa değerinin altında, birinci ve üçüncü cihaza ait belirsizlik değerlerinin ise %TEa değerinin üzerinde olduğu görölmüştür.

Arslan İnce ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada heksokinaz yöntemi ile çalışılan glukoz testinin ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır. EURACHEM/CITAC CG 4 QUAM rehberinin verilerine göre hesaplanan belirsizlik değerini %3 olarak bulmuşlardır⁵⁹.

Oğul ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada ise TSH, fT4 ve fT3 testleri için ölçüm belirsizlikleri hesaplanmıştır. Nordtest kılavuzunda tanımlanan ölçüm belirsizliği hesaplama yöntemine göre hesaplanan belirsizlik değerleri TSH testi için %17.93, fT4 ve fT3 için ise sırasıyla %8.83 ve %9.13 olarak bulunmuştur⁶⁰. Bu değerlerin tümü CLIA'nın bu testler için önerdiği %TEa değerini aşmaktadır. Hesaplanan ölçüm belirsizlikleri Westgard'ın önerdiği %TEa değerleri ile karşılaştırıldığında ise sadece fT4'ün hedeflenen %TEa değerini aştığı görölmektedir.

Türkmen ve arkadaşları TSH, serbest PSA ve total PSA testleri için ölçüm belirsizliği hesabı yaptıkları bir çalışmada, TSH için genişletilmiş ölçüm belirsizliği değerini %14.46, serbest PSA için % 12.3 ve total PSA için ise %11.92 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada kullanılan hesaplama modeli; İyi Laboratuvar Pratiği doğrultusunda, GUM ve EURACHEM çerçevesinde ifade edilen ölçüm belirsizliği hesaplama modelidir. Elde edilen belirsizlik sonuçları biyolojik varyasyon limitleri dahilinde ve kabul edilebilir toplam hata sınırları içerisinde bulunmuştur⁶¹.

Güngör'ün yaptığı bir tez çalışmasında ise TSH için ölçüm belirsizliği değeri %10.16 olarak bulunmuştur⁶².

Değişik çalışmalarda görölen farklılıklar cihaz, yöntem ya da çalışma koşullarına bağlı olabileceği gibi, ölçüm belirsizliği hesabında kullanılan farklı hesaplama modellerinden de kaynaklanmaktadır. Özellikle ölkemizde gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin kıyaslanabilir olması adına, ülke çapında kullanılacak, hem %TEa değerlerinin belirlenmesi, hem de ölçüm belirsizliğini hesaplama modelinin standardize edilmesi gerekmektedir.

Böylelikle ülke çapında biyokimya laboratuvarları bir standardizasyon doğrultusunda hasta sonuçlarını raporlarken, testlerin ölçüm belirsizliğini de raporlayabilirler. Özellikle kritik karar verme değerlerine yakın sonuçların hasta yararına kullanılmasında ülke çapında bir standardizasyon sağlanmış olur.

Klinik laboratuvarlarda test sonuçları tanı, tarama, hasta izlemi ve hastalık seyrini belirleme gibi amaçlar için kullanılmaktadır⁶³. Test sonuçlarını yorumlamada popülasyona dayalı referans aralıkları, hastalıkların klinik davranışlarını belirlemek amacı ile kararlaştırılmış bazı protokoller, uzman kişiler veya komiteler tarafından önerilen değerler ve üst referans limitlerinin katları gibi bazı değerler kullanılmaktadır⁶⁴⁻⁶⁵.

Günümüzde klinik laboratuvarlarda sonuçlar, her yaş grubundan ve farklı cinsiyette en az 120 sağlıklı bireyin dağılımından elde edilen popülasyona dayalı referans aralıklarına göre raporlamaktadır. Bu referans aralığı, bir bireyin daha önceki sonuçlarına ulaşamadığı durumlarda, test sonuçlarını yorumlamada temel oluşturmaktadır⁵⁴. Ancak bir bireyin ardışık ölçümleri arasındaki rakamsal farklılık hastalık durumundan kaynaklanabileceği gibi, birey içi biyolojik varyasyon ya da analitik varyasyona bağlı olabilir. Bu nedenle son yıllarda laboratuvarlarda referans değişim değerinin, popülasyona dayalı referans aralıkları ile beraber sonuç raporlarına eklenmesi tartışılmaktadır.

Referans değişim değeri; biyolojik ve analitik varyasyon kaynaklarını da hesaba katarak, seri ölçümler arasındaki sonuç farklılıklarının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır⁶⁶. Referans değişim değeri kullanımı, farklı zamanlarda rapor edilen sonuçların neden değiştiğini anlamak ve bu sonuçlardaki rakamsal değişimlerin anlamlı olup olmadığına karar vermek açısından önemlidir. İki sonuç arasındaki fark, referans değişim değerini aşıyorsa ve testin bireysellik indeksi de düşükse, klinik açıdan önemli bir değişimi ifade edebilir³³.

Yaptığımız çalışmada %95 güven aralığında ve iki yönlü olarak referans değişim değerleri biyokimyasal parametreler olan glukoz için %16.19, albümin için %11.68, kalsiyum için %7.07, üre için %34.32, kreatinin için %17.06, sodyum için %3.51, HDL-K için %20.93 ve total kolesterol için %17.09 olarak bulunmuştur.

Buğdaycı ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 24 ayrı biyokimyasal testin referans değişim değeri hesaplanmıştır. %95 güven aralığında ve tek yönlü olarak hesaplanan RCV değerini glukoz için %14.63, albümin için %8.7, kalsiyum için %6.4, üre için %29.88, kreatinin için %15.63, sodyum için %3.05, HDL-K için %20.51 ve total kolesterol için %14.19 olarak bulmuşlardır⁶⁷.

Nunes ve arkadaşlarının 11 kan sayımı testinin ve 7 biyokimyasal testin referans değişim değerini hesapladığı bir çalışmada %95 güven aralığında ve iki yönlü olarak referans değişim değerini üre için %42.5, kreatinin için %26.8 ve total kolesterol için %27 olarak bulmuşlardır⁶⁸.

Yapılan çalışmalarda RCV için belirtilen değerlerde farklılık bulunmaktadır. RCV hesaplamasında kullanılan parametreler; biyolojik varyasyon, analitik varyasyon ve iki ya da tek yönlü değişim için alınan 'k' sabitidir. Dolayısıyla çalışmalarda kullanılan biyolojik varyasyon ve k sabitleri aynı bile olsa; her laboratuvarın analitik varyasyonu farklı olacağından, hesaplanan RCV'ler de farklı olacaktır. Önemli olan nokta her laboratuvarın, çalışılan testler için kendi RCV'lerini kullanmasıdır.

Çalışma kapsamında biyokimyasal testleri çalışılan tüm hastaların ortalama %18.93'ünde, sonuçlar arasındaki rakamsal değişim, ilgili teste ait RCV'yi aşmakta ve klinik açıdan önemli bir değişikliği ifade etmektedir. Biyokimyasal testler için sadece ardışık sonuçları topluma dayalı referans aralığı içinde bulunan hastalar değerlendirildiğinde, ortalama %83.47'sinde sonuçlar arasındaki rakamsal değişim ilgili teste ait RCV'yi aşmamaktadır. Hastaların ortalama %16.53'ünde ise sonuçlar arasındaki değişim ilgili teste ait RCV'yi aşmaktadır. Bu durumda her iki sonucu da topluma dayalı referans aralığı içerisinde bulunsa dahi, hastaların %16.53'ünde sonuçlar arasındaki değişim ilgili teste ait RCV'yi aştığından, klinik olarak anlamlı bir farklılığı işaret etmektedir.

Albümin, kalsiyum, sodyum ve HDL-K testleri için referans aralığı altındaki sonuçlar da klinik önem arz ettiğinden, bu testler için ardışık sonuçların biri referans aralığı içerisinde olan diğeri ise referans aralığının altında olan hastaların sonuçları ve her iki sonucu da referans aralığının altında olan hastaların sonuçları da değerlendirilmiştir. Söz konusu biyokimyasal testler için

biri referans aralığı altında olan ve bir diğeri referans aralığı içinde olan ardışık sonuçlar karşılaştırıldığında, ortalama %39.8'i ilgili teste ait RCV değerini aşmamaktadır. Dolayısıyla bir sonucu topluma dayalı referans aralığı içinde, diğeri altında olsa da, hastaların %39.8'inin ardışık sonuçlarındaki değişim klinik olarak anlamlı değildir ve bu durumda söz konusu test ile ilgili hastanın klinik durumuna göre karar vermek gerekir.

Albümin, kalsiyum, sodyum ve HDL-K testleri için her ikisi de referans aralığı altındaki ardışık sonuçlar değerlendirildiğinde, test sonuçlarındaki rakamsal değişimlerin ortalama %74.5'inin ilgili teste ait RCV'yi aşmadığı görülmüştür. Dolayısıyla bu testler için ardışık sonuçları referans aralığı altında bulunan hastaların %74.5'inde klinik olarak anlamlı bir değişimden söz edilemez.

Glukoz, kalsiyum, üre, kreatinin, sodyum ve total kolesterol testleri için referans aralığı üzerindeki sonuçlar da klinik açıdan önemli olduğundan; bu testler için ardışık sonuçların biri referans aralığı içinde, diğeri üzerinde olan ve her iki sonucu da referans aralığı üzerinde olan hasta sonuçları değerlendirilmiştir. Söz konusu biyokimyasal testlerde biri referans aralığı içinde, diğeri üzerinde olan ardışık değerler karşılaştırıldığında; sonuçların ortalama %40.7'sinde ilgili teste ait RCV değeri aşılmamıştır. Buna göre, bir sonucu referans aralığı üzerinde olsa dahi; hastaların %40.7'sinde bu testlerle ilgili ardışık sonuçlarda görülen rakamsal değişim klinik olarak anlamlı değildir. Bu rakamsal değişimler, hastanın klinik durumu göz önünde bulundurularak değerlendirilmelidir. Örneğin bu %40.7'lik dilimde bulunan bir hastanın ilk sonucu referans aralığı içinde ise ve hastada klinik olarak bir değişiklik gözlenmemişse, ikinci ve yüksek çıkan sonucun klinik olarak anlamlı bir değişim ifade etmediği düşünülmelidir.

Glukoz, kalsiyum, üre, kreatinin ve total kolesterol testleri için referans aralığı üzerindeki ardışık sonuçlar değerlendirildiğinde, yüksek test sonuçlarındaki rakamsal değişimlerin ortalama %73.5'inde ilgili teste ait RCV değerini aşmadığı görülmüştür. Bu durumda söz konusu hastaların %73.5'inde, sonuçlar arasındaki rakamsal değişim klinik olarak anlamlı değildir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların ortalama %57.27'sinde tüm hormon test sonuçları arasındaki rakamsal değişim, ilgili teste ait RCV'yi aşmamaktadır. Dolayısıyla bu hastalarda klinik olarak anlamlı bir farklılıktan söz edilemez. Hormon testleri için ardışık sonuçların her ikisi de kendi yaş ve cinsiyetine göre belirlenmiş topluma dayalı referans aralığı içinde olan hasta sonuçları, RCV'ye göre değerlendirildiğinde; hastaların ortalama %27.79'unda sonuçlar arasındaki rakamsal değişim, ilgili teste ait RCV'yi aşmaktadır. Referans aralığı içinde de olsa, bu sonuçlar arasındaki değişim klinik açıdan anlamlı olarak değerlendirilmelidir.

TSH, FSH, fT4 ve kortizol testleri için biri referans aralığı içinde, diğeri altında olan ardışık sonuçlar RCV açısından değerlendirildiğinde; ortalama %19.9'unda ilgili teste ait RCV'nin aşılmadığı gözlenmiştir. İlgili testlere ait sonuçların yaklaşık %20'lik kısmında; ardışık sonuçlardan biri referans aralığı altında olsa da, klinik açıdan önemli olabilecek bir değişiklikten söz edilemez. Ardışık iki sonucu da referans aralığı altında olan hasta sonuçlarının, ortalama %46.8'i ilgili teste ait RCV'yi aşmaktadır. Sonuçları arasındaki rakamsal değişimin RCV'yi aştığı bu hastalarda; her iki sonucu referans aralığı altında olsa da, klinik olarak anlamlı bir farklılık vardır. Dolayısıyla bir tedavi başlanmışsa, ya verilen tedaviye yanıt alındığından ya da tedavinin yetersiz olduğundan söz edilebilir.

Çalışma kapsamındaki hormon testleri için ardışık sonuçlardan biri referans aralığı içinde, diğeri üzerinde olan hasta sonuçlarındaki değişim, RCV ile kıyaslandığında, ortalama %22.9'unda ilgili teste ait RCV'nin aşılmadığı saptanmıştır. Bu %22.9'luk dilimde bulunan sağlıklı bir hastanın, ikinci sonucu referans aralığı üzerinde olsa da, klinik açıdan hastalık durumunu yansıtmaz. Ardışık her iki sonucu da referans aralığı üzerinde olan hastaların ortalama %68'inde ilgili teste ait RCV'nin aşılmadığı, dolayısıyla klinik bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir.

Cinpolat ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 24 farklı hormon testinin referans değişim değeri hesaplanmıştır. TSH testi için %95 güven aralığında iki yönlü referans değişim değerini %53.74, FSH için %35.14, tPSA için %51, fT4 için %17.38 ve kortizol için %44.3 olarak bulmuşlardır⁶⁹.

Bizim çalışmamızda da, yine %95 güven aralığında ve iki yönlü olarak referans değişim değerleri TSH için %53.55, FSH için %31.01, tPSA için %51.72, FT4 için %16.99 ve kortizol %42.88 olarak hesaplanmıştır. Buna göre yukarıdaki çalışma ile benzer sonuçlar elde edildiği söylenebilir. Her iki çalışmada kullanılan cihazların aynı marka ve model olması benzer sonuçların elde edilmesini sağlamış olabilir.

Erden ve arkadaşlarının 26 sağlıklı erkek gönüllü ile yaptığı başka bir çalışmada ise tPSA için birey içi biyolojik varyasyon değeri %20.7 ve %95 güven aralığında iki yönlü referans değişim değeri %49.4 olarak hesaplanmıştır⁷⁰.

Referans değişim değeri, hem sağlıklı olma durumu hem de birçok patolojik durum için hesaplanabilir. Patolojik durumlar, bir bireyin homeostatik denge noktasını ve dolayısıyla ilgili testin birey içi varyasyon değerini değiştirebilir⁷¹. Bu yüzden patolojik durumlarda RCV, söz konusu patoloji ile ilgili CVI değeri belirlenerek hesaplanmalıdır.

Genel olarak hormon testlerinin referans değişim değerlerinin biyokimyasal testlere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Örneğin; tPSA gibi hastalık taraması ve izleminde oldukça önemli olan bir hormon testinin, görece yüksek bir referans değişim değerine sahip olması, tPSA testi için ardışık sonuçlar değerlendirilirken referans değişim değerini de göz önünde bulundurmanın ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

RCV ve ölçüm belirsizliği değerleri, hasta sonuç raporlarında gösterilebilir. Hatta klinik karar destek sistemlerinin kullanılması ile test sonuçları; laboratuvar enformasyon sistemlerinde yer alan belirsizlik ve referans değişim değerlerine göre otomatik olarak onaylanarak, sonuç değerlendirme ile ilgili iş yükü azaltılabilir⁷².

SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Günümüzde klinik laboratuvarlarda test sonuçlarının yorumlanmasında temel olarak popülasyona dayalı referans aralıkları kullanılmakla birlikte, ölçüm belirsizliği ve referans değişim değeri kavramları da önemli hale gelmeye başlamıştır.
2. Çalışmamızda bazı biyokimyasal ve hormon testlerine ait ölçüm belirsizliği ve referans değişim değerleri hesaplanmıştır.
3. Ölçüm belirsizliği değerleri hem CLIA, hem de Westgard'ın önerdiği %TEa değerleri ile karşılaştırılarak belirsizlik değerlerinin yeterlilikleri araştırılmıştır.
4. Biyokimyasal ve hormon testlerinin RCV değerleri hesaplanıp; hasta sonuçları ile karşılaştırıldığında, sonuç düzeylerine göre (referans aralığının altında, üzerinde veya içinde) önemli oranlarda RCV değerini aşan ve aşmayan hasta sonuçları saptanmıştır.
5. Bu yolla RCV'nin ardışık hasta sonuçlarını popülasyona dayalı referans aralıkları ile birlikte değerlendirmede ve yorumlamada ne kadar önemli olduğu ortaya konulmaya çalışılmıştır.
6. Sonuç olarak her klinik laboratuvar kendine ait ölçüm belirsizliği ve referans değişim değerlerini belirleyebilmelidir. Bu değerlerin sonuç raporlarına dahil edilmesi konusunda klinisyenler yeterince bilgilendirilmeli; RCV veya ölçüm belirsizliği değerlerinin raporlarında yer alacağı testler, klinisyen ve laboratuvar uzmanı arasındaki bir konsensüs ile belirlenmelidir.
7. Patolojik durumlarda bireylerin analit ile ilgili homeostaz noktası değişebileceğinden, CVI değeri de değişebilmektedir. Dolayısıyla RCV, sağlıklı ve hasta olma durumlarında farklı olabilir. Ancak çalışmamızda yaptığımız gibi sağlıklı durumlar için hesaplanan RCV; laboratuvar enformasyon sistemlerinde yer aldığı anda, hasta sonuçları otomatik olarak onaylanarak, sonuç değerlendirme konusunda iş yükünü ciddi oranda azaltabilecektir.
8. Ölçüm belirsizliği; özellikle bireysellik indeksi 1.4'ün üzerinde olan testlerin, topluma dayalı referans aralığı ile birlikte değerlendirilmesinde önem taşımaktadır.

9. Referans değişim değeri, bireysellik indeksi 1'in altında olan testlerin sonuçlarını yorumlamada önem taşımaktadır.



KAYNAKLAR

1. Sadıkhov E, Kangı R, Uğur S. Ölçüm Belirsizliği, Ulusal Metroloji Enstitüsü UME 95-014, 1995.
2. Kirkup L, Frenkel B. An Introduction to Uncertainty in Measurement. Cambridge: Cambridge University Press 2006.
3. EURACHEM / CITAC Guide CG 4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement Second Edition, 2000.
4. Taylor BN, Kuyatt CE. Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results. Gaithersburg: 1994.
5. LGC Workshop Document, EURACHEM Çalıştayı, İstanbul 2006.
6. Internal quality control handbook for chemical laboratories NT TR-569. <http://www.nordtest.info>. Erişim tarihi: 15.05.2016.
7. Ricos C, Perich C, Minchinela J, Alvarez V, Simon M, Biosca C. Application of biological variation - a review. *Biochem Med* 2009; 19: 250-9.
8. Fraser CG. The nature of BV. In: Fraser CG. *Biological variation: from principles to practice*. Washington: AACC Press Washington, 2001:1-28.
9. Fraser CG. Changes in serial results. In: *Biological variation: from principles to practice*. Washington: AACC Press 2001: 67-90.
10. Marshall WJ, Bangert SK, Lapsley M. *Clinical Chemistry* 7th ed. London: Elsevier, 2012; 1: 1-4.
11. Marshall WJ, Lapsley M, Day AP, Ayling RM. *Clinical Chemistry* 3th ed. London: Elsevier 2014; 1: 2-5.
12. Marshall WJ, Lapsley M, Day AP, Ayling RM. *Clinical Chemistry* 3th ed. London: Elsevier 2014; 2: 6-13.
13. Cotlove E, Harris EK, Williams GZ. Biological and analytical components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. III. Physiological and medical implications. *Clin Chem* 1970; 16: 1028-32.

14. Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay ZF. Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi. Ankara: Türk Biyokimya Derneği Yayınları 2000: 46-89.
15. ISO 3435: Continuous mechanical handling equipment - Classification and symbolization of bulk materials (1977).
16. ISO 5725-1: Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results-Part 1: General principles and definitions (1994).
17. Kristiansen J. The Guide to Expression of Uncertainty in Measurement Approach for Estimating Uncertainty: An Appraisal Clinical Chemistry 2003; 49(11); 1822-9.
18. Estimation of Uncertainty of Measurement in Medical Laboratories. EDMA Position Paper 2006; (9): 1-5.
19. Technical Guide 4 A Guide on Measurement Uncertainty in Medical Testing, The SAC Accreditation Programme 2013; (2): 1-51.
20. http://www.turkak.org.tr/turkaksite/kurumsalbirimlerlabakrdbskligi_1.aspx. Erişim tarihi: 01.06.2016.
21. Validation of Measurement Procedures. <http://tera.chem.ut>. Erişim tarihi: 22.05.2016.
22. Guide to Quality in Analytical Chemistry An Aid to Accreditation. Eurachem/CITAC Guide 2002.
23. www.atal.tubitak.gov.tr/Istanbul/Ibrahim_akdag.pdf. Erişim tarihi: 02.06.2016.
24. <http://physics.nist.gov/cuu/Uncertainty>. Erişim tarihi: 02.06.2016.
25. www.ume.tubitak.gov.tr. Erişim tarihi: 02.06.2016.
26. Medical laboratories-Particular requirements for quality and competence ICS 03.120.10;11.100.01. TS EN ISO 15189 2009.
27. Aytekin M, Cevlik T, Emerk K. Describing an ideal model for calculating the uncertainty of measurements in a clinical laboratory. Clin Biochem 2009; 42(4-5): 321-2.
28. Magnusson B, Naykki T, Hovind H, Krysell M. Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories. NordTest Report TR 537. NORDTEST, Finland, 2004.
29. Magnusson B, Naykki T, Hovind H and Krysell M. Handbook for

Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories.
Nordtest Project 2012.

30. <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>. Erişim tarihi: 20.09.2016.
31. Petersen PH, Fraser CG. Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine: 10 years on from the Stockholm consensus conference. *Accred Qual Assur* 2010; 15: 323-30.
32. Ricós C, Arbós MA. Quality goals for hormone testing. *Ann Clin Biochem* 1990; 27: 353-8.
33. Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1989; 27: 409-37.
34. Biosca C, Ricós C, Jiménez CV, Lauzurica R, Galimany R. Model for establishing biological variation in non-healthy: renal posttransplantation. *Clin Chem* 1997; 43: 2206-8.
35. Biosca C, Ricós C, Jiménez CV, Lauzurica R, Galimany R. Are equally spaced collections necessary to assess biological variation? Evidence from renal transplant recipients. *Clin Chim Acta* 2000; 301: 79-85.
36. Ozturk OG, Balal M, Sahin G, Yuzbasioglu S, Karacor D, Budak B. Biological variation and reference change values in renal post-transplantation: way to assess routine parameters. *Balkan Journal of Clinical Laboratory* 2011; 19(11): 128.
37. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 491-500.
38. Fraser CG, Cummings ST, Wilkinson SP, Neville RG. Biological variation of 26 clinical chemistry analytes in elderly people. *Clin Chem* 1989; 35: 783-6.
39. Fraser CG. The application of theoretical goals based on biological variation data in proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med* 1988; 112:404-15.
40. Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry. An update: collated data 1988-1991. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 916-23.
41. Sebastián MA, Lirón FJ, Fuentes X. Intra and inter-individual biological variability data bank. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35: 845-52.

42. Minchinela J, Ricós C, Perich C, Fernández-Calle P, Alvarez V, Domenech M. Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). <http://www.westgard.com/biodatabase-2014-update.htm>. Erişim tarihi: 30.09.2016.
43. Biosca C, Ricós C, Lauzurica R, Galimany R, Hyltoft Petersen P. Reference change value concept combining two delta values to predict crises in renal post-transplantation. *Clin Chem* 2001; 47: 2146-8.
44. Ricós C, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Iglesias N, Jimenez CV et al. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J Clin Lab Invest* 2004; 64: 175-84.
45. Ricós C, García-Lario JV, Álvarez V, Cava F, Jimenez CV, Minchinela J et al. Biological variation database and quality specifications for imprecision, bias and total error. The 2008 update. <http://westgard.com/guest36.htm>. Erişim tarihi: 30.09.2016.
46. The Meaning and Application of Total Error. Westgard QC. www.westgard.com. Erişim tarihi: 30.09.2016.
47. Gowans EMS, Petersen PH, Blaabjerg O, Horder M. Analytical goals for the acceptance of common reference intervals for laboratories throughout a geographical area. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 757-64.
48. <https://www.asvcp.org/pubs/pdf/TEa%20Guidelines.pdf>. Erişim tarihi: 18.09.2016.
49. <https://www.westgard.com/clia.htm>. Erişim tarihi: 18.09.2016.
50. Tietz NW. A model for a comprehensive measurement system in clinical chemistry. *Clin Chem* 1979; 25(6): 833-9.
51. Medical laboratories-particular requirements for quality and competence. ISO EN 15189 2003. British Standards Institute, Bristol, UK, 2007.
52. Feinberg M, Boulanger B, Dewé W, Hubert P. New advances in method validation and measurement uncertainty aimed at improving the quality of chemical data. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2004; 380: 502-14.
53. Ellison SLR, Rosslein M, Williams A. EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying uncertainty in analytical measurement. EURACHEM/CITAC

- 2000.
54. Fraser CG. Biological variation: from principle to practices, AACC Press Washington 2001: 1-143.
 55. Barwick V. Evaluating measurement uncertainty in clinical chemistry. UK National Measurement Systems: Report no: LGC/R/2010/17, 2012.
 56. Requirements for the estimation of measurement uncertainty. National Pathology Accreditation Advisory Council (NPAAC). Department of Health and Ageing, Canberra, 2007.
 57. Öztürk Ö, Serdar MA, Öztürk M, Kurt İ. Calculation of uncertainty for glucose: may it affect the diagnosis of gestational diabetes?. Turk J Biochem 2012; 37(1): 68-72.
 58. Bal C, Serdar A. M, Güngör T. O, Çelik T. H. Biyokimya Parametrelerinin Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması. Türk Biyokimya Dergisi 2014; 39(4): 538-543.
 59. Arslan İnce FD, Arslan Senturk B, Kap S, Akgöl E, Ustuner F. The Evaluation of Uncertainty of Measurement for Glucose Parameter in Clinical Chemistry Laboratory. Turk Klinik Biyokimya Dergisi 2007; 5(1): 1-5.
 60. Oğul Y, Şenyurt M, Altınkaynak K, Aksoy H, Akçay F. TSH, FT4 ve FT3 Testlerinin Ölçüm Belirsizliğinin Değerlendirilmesi. Türk Klinik Biyokimya Dergisi 2015; 13(3): 89-94.
 61. Turkmen S, Yildirmak T. S, Yekrek M, Cimen B. Within the context of good clinical laboratory practices evaluation of measurement uncertainty of Thyroid Stimulating Hormone and Prostate Specific Antigen parameters. Turkish Journal of Biochemistry 2012; 39(7): 476–81.
 62. Güngör M. Klinik Biyokimyada Ölçüm Belirsizliği. Tıpta Uzmanlık Tezi. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul 2008.
 63. Monach PA. Repeating tests: different roles in research studies and clinical medicine. Biomark Med 2012; 6: 691-703.
 64. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a “reference change” for comparing two consecutive measurements. Clin Chem 1983; 29: 25-30.
 65. Fraser CG. Reference change values. Clin Chem Lab Med 2012; 50: 807-12.

66. Ozturk OG, Paydas S, Balal M, Sahin G, Karacor ED, Ariyurek SY. Biological variations of some analytes in renal posttransplant patients: A different way to assess routine parameters. *J Clin Lab Anal* 2013; 27: 438-43.
67. Bugdayci G, Oguzman H, Arattan HY, Sasmaz G. The Use of Reference Change Values in Clinical Laboratories. *Clin Lab* 2015; 61 (3-4): 251-7.
68. Nunes S, Brenzikofer R, Vaz de Macedo D. Reference change values of blood analytes from physically active subjects. *Eur J Appl Physiol* 2010; 110: 191-198.
69. Cinpolat HY, Bugdayci G, Oguzman H, Yis MO. Calculation of Reference Change Values of Immun Analysis Parameters. *Gazi Medical Journal* 2015; 26: 85-7.
70. Erden G, Tezcan G, Soydas OA, Yıldırımkaaya MM. Biological Variation and Reference Change Value (RCV) of Prostate Spesific Antigen (PSA) Levels In The Serum of Healthy Young Individuals. *Gazi Medical Journal* 2009; 20(4): 152-6.
71. Trape´ J, Aliart M, Brunet M, Dern E, Abadal E, Queralto´ JM. Reference change value for HbA1c in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38: 1283–7.
72. Özata M, Aslan Ş. Klinik Karar Destek Sistemleri ve Örnek Uygulamalar. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004; 5: 11-17.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BIMP: International Bureau of Weights and Measures; Uluslararası Ölçüler ve Tartılar Bürosu

CIPM: International Committee for Weights and Measures; Uluslararası Ağırlık ve Ölçü Komitesi

CITAC: Co-Operation on International Traceability in Analytical Chemistry; Analitik Kimyada Uluslararası İzlenebilirlik Üzerine İşbirliği

CLIA: Clinical Laboratory Improvement Amendments; Klinik Laboratuvar İyileştirme Düzenlemeleri

CV: Coefficient of Variation; Varyasyon Katsayısı

CV(A+I): Analytic-Intra Individual Coefficient of Variation; Analitik-Birey içi Biyolojik Varyasyon

CVG: Inter Individual Coefficient of Variation; Bireyler arası Biyolojik Varyasyon

CVI: Intra Individual Coefficient of Variation; Birey içi Biyolojik Varyasyon

CVT: Total Coefficient of Variation; Total Varyasyon

CVTI: Total Intra Individual Coefficient of Variation; Total Birey içi Biyolojik Varyasyon

DNA: Deoksiribonükleik asit

EURACHEM: A Focus for Analytical Chemistry in Europe; Avrupa Analitik Kimya Odağı

FSH: Folikül Stimülan Hormon

FT4: Free Thyroxine; Serbest Tiroksin

GUM: Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement; Ölçüm Belirsizliğinin İfade Rehberi

HDL-K: High Density Lipoprotein-Kolesterol; Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol

II: Individuality Index; bireysellik indeksi

ISO: International Organization for Standardization; Uluslararası Standartlık Örgütü

ISO/TAG-4: International Organization for Standardization Technical Advisory Group on Metrology-4; Uluslararası Standartlık Örgütü'nün Metrolojide Teknik Danışma Grubu-4

ISO/TAG-4/WG-3: International Organization for Standardization Technical Advisory Group on Metrology 4, Working Group 3; Uluslararası Standartlık Örgütü'nün Metrolojide Teknik Danışma Grubu-4, Çalışma grubu-3.

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry; Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği

k: Sabit değer

LOD: Limit of Detection, En küçük tayin sınırı ya da saptanabilirlik sınırı

LOQ: Limit of Quantitation; En küçük belirleme sınırı ya da belirlenebilirlik sınırı

QUAM: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement; Analitik Ölçüm Belirsizliği Belirleme

RCV: Reference Change Value; Referans Değişim Değeri

RMS bias: Root Mean Squares of Biases; Biasların karelerinin ortalamasının karekökü

S: sonuç

SD: Standard Deviation; Standart Sapma

SI: International System of Units; Uluslar arası Birimler Sistemi

TEa: Total allowable Error; izin verilebilir toplam hata

TPSA: Total Prostat Spesifik Antijen

TS EN ISO/IEC: Turkish Standards- Europe Norm / International Organization for Standardization and International Electrotechnical Commission; Türk Standartları- Avrupa Standartları / Uluslararası Standartlık Örgütü ve Uluslararası Elektroteknik Komisyonu

TSH: Tiroid Stimulan Hormon

TÜBİTAK: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu

TÜRKAK: Türk Akreditasyon Kurumu

U: Expanded uncertainty; genişletilmiş belirsizlik

u(bias): Belirsizliğin standart komponenti

uc: Combined standart uncertainty; kombine belirsizlik

u(Cref): Sertifikalı referans materyalden kaynaklanan belirsizlik

UME: Ulusal Metroloji Enstitüsü

uRw: Uncertainty for within laboratory reproducibility; Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlikten kaynaklanan belirsizlik

VIM: International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology; Uluslararası Metroloji Sözlüğü

TABLolar DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1. (Biyokimyasal ve hormon testleri için 5 aylık ortalama iç kalite kontrol %CV değerleri)	32
Tablo 2. (Biyokimyasal ve hormon testleri için 5 aylık ortalama dış kalite kontrol %CV değerleri)	33
Tablo 3. (Biyokimyasal ve hormon testleri için 5 aylık ortalama dış kalite kontrol bias değerleri ile katılımcı laboratuvar sayıları)	34
Tablo 4. (Biyokimyasal ve hormon testlerinin birey içi biyolojik varyasyon değerleri)	37
Tablo 5. (Biyokimyasal testler için hesaplanmış ölçüm belirsizliği ve %TEa değerleri)	40
Tablo 6. (Hormon testleri için hesaplanmış ölçüm belirsizliği ve %TEa değerleri)	41
Tablo 7. (Biyokimyasal ve hormon testlerinin referans değişim değerleri)	42
Tablo 8. (Biyokimyasal testler için ardışık sonuçları değerlendirilen hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumları)	44
Tablo 9. (Biyokimyasal testler için ardışık sonuçları topluma dayalı referans aralığı içerisinde bulunan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	45
Tablo 10. (Biyokimyasal testler için ardışık sonuçlarının biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı altında olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	46
Tablo 11. (Biyokimyasal testler için ardışık sonuçlarının her ikisi de referans aralığı altında olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	47
Tablo 12. (Biyokimyasal testler için ardışık sonuçlarının biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı üzerinde olan hasta	

	sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	48
Tablo 13.	(Biyokimyasal testler için ardışık sonuçlarının her ikisi de referans aralığı üzerinde olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	49
Tablo 14.	(Hormon testleri için ardışık sonuçları değerlendirilen hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumları)	50
Tablo 15.	(Hormon testleri için ardışık sonuçları topluma dayalı referans aralığı içerisinde bulunan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	51
Tablo 16.	(Hormon testleri için ardışık sonuçlarının biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı altında olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	52
Tablo 17.	(Hormon testleri için ardışık sonuçlarının her ikisi de referans aralığı altında olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	53
Tablo 18.	(Hormon testleri için ardışık sonuçlarının biri referans aralığı içinde, diğeri referans aralığı üzerinde olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	54
Tablo 19.	(Hormon testleri için ardışık sonuçlarının her ikisi de referans aralığı üzerinde olan hasta sayısı ve sonuç değişimlerinin RCV'ye göre durumu)	54