

T.C

İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

UYUŞTURUCU MADDE ANALİZLERİNDE ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ VE
TEST PERFORMANSININ DEĞERLENDİRİLMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Gül Zakire SARAÇ

TEZ DANIŞMANI

Yrd.Doç.Dr.Saliha AKSUN

İZMİR

ARALIK-2017

T.C

**İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**UYUŞTURUCU MADDE ANALİZLERİNDE ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ VE
TEST PERFORMANSININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Gül Zakire SARAÇ

TEZ DANIŞMANI

Yrd.Doç.Dr.Saliha AKSUN

**Bu tez çalışması 2017-TDU-TIPF-0042 proje numarası ile İzmir Katip Çelebi
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.**

İZMİR

ARALIK-2017



T.C.
Sağlık Bakanlığı İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Kliniği
TEZ SINAV TUTANAĞI



I-UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN

Adı Soyadı : Dr.Gül Zakire SARAÇ	Tarih 14.12.2017
Anabilim / Bilim Dalı : Tıbbi Biyokimya	
Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr. Saliha AKSUN	

II-TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER

Tezin Başlığı: "Uyusturucu Madde Analizlerinde Ölçüm Belirsizliği ve Test Performansının Değerlendirilmesi"
Tezin Niteliği: <input checked="" type="checkbox"/> Ana Dal Uzmanlık Tezi <input type="checkbox"/> Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu: <input checked="" type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3
1- Sayfa Sayısı : 85
2- Tablo Sayısı : 19
3- Şekil Sayısı : 7
4- İstatistik Sayısı : 1
5- Literatür Sayısı ve Faydalanma Durumu : 52
6- Yazı Tertibi : Formata uygun
7- Konuyu Anlatma ve Konuya Hakimiyet : Başarılı
8- İncelemenin Bilimsel Bakımdan Tutumu : Başarılı
9- Orijinal Olup Olmadığı : Orijinal

III-KARAR

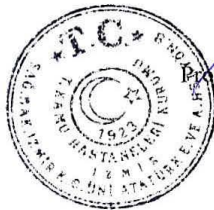
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak
 Kabulüne
 Reddine
 Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine
Oy birliği / oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV-AÇIKLAMALAR

Lütfen tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekeçli açıklamalarınızı buraya yazınız

TEZ DEĞERLENDİRME JÜRİSİ

Jüri Başkanı	Jüri Üyesi	Jüri Üyesi
 Prof. Dr. Figen NARİN İzmir Katip Çelebi Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D. Başkanı/Eğt. Sorm.	 Yrd.Doç.Dr. Saliha AKSUN İzmir Katip Çelebi Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D. Öğretim Üyesi	 Doç.Dr. Tuncay KÜME Dokuz Eylül Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya A.D. Öğretim Üyesi



ONAY
... / ... / 2017
Prof.Dr.Gökhan KÖYLÜOĞLU
Tıp Fakültesi Dekan V.

TEŞEKKÜR

İyi bir hekim, iyi bir biyokimya uzmanı olmak için çıktığım bu yolda, engin bilgi ve tecrübeleri ile bana ışık tutan, sadece tıbbi eğitimim değil, her konuda yardım ve desteğini gördüğüm, tez çalışmam sırasındaki sabrı, özverisi ve titizliğiyle beni en doğru şekilde yönlendiren, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım, sayın hocam Yrd. Doçent Dr. Saliha AKSUN'a,

Bilgili, tecrübeli, iyi ve uzmanlık alanında donanımlı bir hekim olarak yetişmemde emekleri olan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Figen Narin, klinik eğitim görevlileri Prof. Dr. Mehmet Hicri KÖSEOĞLU, Uzm.Dr.Ayşenur ATAY, Uzm. Ecz. Tayfur ONUR'a,

Uzmanlık eğitim süreci içerisinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tıbbi biyokimya kliniği uzman doktorlarına,

İhtisas süresi boyunca beraber çalıştığım, çalışmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarıma, tüm teknisyen arkadaşlarıma ve personellerimize,

Bana verdikleri emek ve desteklerinden dolayı aileme, sevgili eşime ve gülüşüyle sevgisiyle beni motive eden canım kızıma teşekkürlerimi sunarım.

Gül Zakire SARAÇ

Aralık-2017

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Laboratuvar Verilerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Bazı Temel İstatistiksel Kavramlar	3
2.2. Test Performansının Değerlendirilmesinde Kullanılan Kavramlar	5
2.2.1. Akreditasyon	6
2.2.2. Validasyon	6
2.3. Test Performansının Tanısal Verimliliğinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Kavramlar.....	9
2.4. İzlenebilirlik	11
2.5. Ölçüm Belirsizliğinin Tanımı, Tarihçesi ve Gelişim Süreci.....	11
2.5.1.GUM' un Belirlediği Esaslara Göre Hazırlanan Rehberler	15
2.6. Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması.....	16
2.6.1. Aşağıdan yukarıya yaklaşımı	16
2.6.1.1. Ölçülen Büyüklüğün Tanımlanması	16
2.6.1.5. Kombine Standart Belirsizlik (uc)'in Hesaplanması	20
2.6.1.6. Genişletilmiş Belirsizlik (U)'in Hesaplanması	20
2.6.2. Yukarıdan Aşağıya Yaklaşımı	21
2.6.3. Ölçüm Belirsizliğinin Raporlanması.....	21
2.7. Uyuşturucu Maddeler.....	22
2.7.1. Uyuşturucu Maddelerin Çeşitleri ve Etkileri	22
2.7.1.1. Merkezi Sinir Sistemini Yavaşlatanlar.....	22
2.7.1.2. Merkezi Sinir Sistemini Uyarıcılar.....	24
2.7.1.3. Duyuların Bozulmasına Sebep Olanlar (Halusinojenler).....	25

3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1. Çalışmamızda Kullanılan İdrar Örneklerinin Belirlenmesi	27
3.2.Çalışma Materyalleri	27
3.2.1.İnternal Kalite Kontrol Materyali	28
3.2.2.Test Kalibratör Bilgi ve Belgeleri	28
3.2.3.Belirsizliğin Bias Komponentinin Hesaplanması	28
3.3.Kullanılan Otoanalizör Bilgisi	29
3.4. Uyuşturucu Madde Analizi için Kullandığımız Yöntemler	29
3.5.Belirsizlik kaynaklarının tespiti ve Birleşik Belirsizliğin Hesaplanması.....	31
3.5.1. Kalibratör ve Kalibrasyon Belirsizliği	32
3.5.2.Tekrarlanabilirliğin Belirsizliği.....	35
3.5.3.Dış Kalite Kontrol Programından Gelen Belirsizlik	37
3.5.4.Birleşik Belirsizlik	39
3.5.5.Genişletilmiş Belirsizliğin Hesaplanması	40
3.5.6.Belirsizliğin Raporlanması.....	40
3.6. İstatistiksel Yöntem.....	41
4.BULGULAR	42
4.1.Belirsizliğin Hesaplanması.....	42
4.1.1.Kalibratör ve Kalibrasyon Belirsizliği :	42
4.1.2.İç Kalite Kontrol Programından Gelen Belirsizlik Sonucu.....	42
4.1.3.Dış Kalite Kontrol Programından Gelen Belirsizlik Sonucu:	42
4.1.4.Birleşik Standart Belirsizlik Sonucu:	42
4.1.5. Genişletilmiş Belirsizlik Sonucu:.....	42
4.2. Bulunan Belirsizlik Değerinin Hasta Örneklerine Uygulanması.....	42
5.TARTIŞMA	47
6.SONUÇ	52
7.TÜRKÇE ÖZET	53
8. İNGİLİZCE ÖZET	55
9.KAYNAKLAR	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

AACB	Australasian Association of Clinical Biochemistry
BIPM	Bureau International des Poids et Mesures
EURACHEM	A Focus for Analytical Chemistry in Europe
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
ISO	International Organization for Standardization
NPL	National Physical Laboratory
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografi Kütle Spektrometresi
GC/MS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
SD	Standart Sapma
CITAC	The Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry
$S_{\bar{x}}$	Ortalamanın standart sapması
\bar{x}	Aritmetik Ortalama
LOD	Limit of detection
LOQ	Limit of Quantitation
GP	<i>Gerçek Pozitif</i>
GN	Gerçek Negatif
YP	<i>Yanlış Pozitif</i>
YN	<i>Yanlış Negatif</i>
CIPM	Comité International des Poids et Mesures
INC-1	Deneysel Belirsizliklerin İfade Edilmesi Tavsiye Metni-1
JCGM	Joint Committee For Guides In Metrology
GUM	Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement
VIM	International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology
NIST	National Institute of Standards and Technology
VAM	Valid Analytical Measurement Project 3.2.1 Development and Harmonisation of Measurement Uncertainty Principles
NORAMET	North American Collaboration in Measurement Standards

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. 11 nor delta 9 THC-9-COOH Kalibratör Bilgileri.....	28
Tablo 2. Emit II plus multidrug kalibratör, THC konsantrasyonu:0 ng/ml	32
Tablo 3. Emit II plus multidrug kalibratör, THC konsantrasyonu:20 ng/ml	32
Tablo 4. Emit II plus multidrug kalibratör, THC konsantrasyonu:50 ng/ml	33
Tablo 5. Emit II plus multidrug kalibratör, THC konsantrasyonu:100 ng/ml	33
Tablo 6. THC; 20 ng/ml, Emit II Plus Kalibratör Doğruluk Çalışması	34
Tablo 7. THC; 50 ng/ml, Emit II Plus Kalibratör Doğruluk Çalışması.....	34
Tablo 8. : THC; 100 ng/ml, Emit II Plus Kalibratör Doğruluk Çalışması.....	35
Tablo 9. Cihaz Üzerindeki Kalite Kontrol Modülünden Elde Edilen SD ve %CV Değerleri.....	36
Tablo 10. Birinci Siklus Dış Kalite Kontrol Sonuç Raporu.....	38
Tablo11. İkinci Siklus Dış Kalite Kontrol Sonuç Raporu	38
Tablo 12. Üçüncü Siklus Dış Kalite Kontrol Sonuç Raporu	39
Tablo 13. Rastgele örneklem yöntemi ile seçilmiş idrar numunelerine ait sonuçlar .	43

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Normal dağılım eğrisi	18
Şekil 2. Dikdörtgen dağılım eğrisi	19
Şekil 3. Üçgen dağılım eğrisi	19
Şekil.4. U dağılımı eğrisi	20
Şekil 5. Kannabisin molekül formülü.	26
Şekil 6.GC/MS ile Lineer 10-noktalı kalibrasyon eğrisi	30



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Klinik laboratuvarlar verdikleri test sonuçlarıyla bir hastalığa tanı koyma, prognozunu belirleme ve tedaviyi yönetmekte hekimlere, dolayısıyla hastalara yardımcı olurlar. Analiz metotlarındaki ilerlemelere paralel olarak klinik laboratuvarların merkezi önemi ve kullanıcıların onlardan beklentileri her geçen gün artmaktadır (1). Laboratuvarlar da bu önemin bilincinde olarak en doğru ve güvenilir test sonuçlarını üretmeye çalışmaktadırlar. Ancak tüm çabalara karşın her analizin bir grup hatadan etkilendiği, yani bir “ölçüm belirsizliği” taşıdığı da bilinmektedir. Klinik laboratuvarlar için en güncel konulardan biri olan ölçüm belirsizliği, Uluslararası Temel ve Genel Metroloji Terimleri Sözlüğünde [2]“ölçülen büyüklüğe mantıklı bir şekilde atfedilebilecek bütün değerlerin dağılımını karakterize eden ve ölçüm sonucuyla ilişkili olan bir parametre” olarak tanımlanmaktadır. Daha basit bir anlatımla, ölçüm belirsizliği bir test tekrarlandığında elde edilecek sonucun birinciden ne kadar farklı olabileceğinin sınırlarını gösterir. Sonuçların belirsizliği referans değerlerin belirsizliği ve ölçüm süreci ile ilgili tüm diğer belirsizliklerin bileşiminden kaynaklanır [3]. Pratikte bunlar örnek işleme, matriks etkisi, interferanslar, pipetleme, kalibratörler, referans materyaller, kullanılan donanım, çevresel etkenler, çalışan kişi gibi belirsizliklerdir [4]. Bir test sonucunun yanına ölçüm belirsizliğinin göstergesi olarak “ \pm bir değer” eklenmesi, ilk bakışta hekim ve hastalarda laboratuvarlara karşı bir güvensizlik yaratabilir.

Oysa ölçüm belirsizliği laboratuvarların kalitesini ortaya koyan bir parametredir ve ölçüm belirsizliği olmadığında hiçbir ölçüm tamamlanmış sayılmaz. Tıbbi laboratuvarların kalitelerinin artırılması için geliştirilmiş olan ISO 15189 gibi akreditasyon süreçleri de laboratuvarlardan ölçüm belirsizliği için belirlenmiş bir yöntemleri olmasını, hesaplarının yapılmasını ve raporlanmasa bile en azından istenildiğinde verilmek üzere hazır bulundurulmasını istemektedir [5]. Bununla birlikte klinik laboratuvarlarda ölçüm belirsizliğinin hesaplanması yukarıda sayılan çok sayıda değişkenin belirsizliğe katkıda bulunması ve bunların hesaplanmalarındaki zorluklar nedeniyle farklı yaklaşımları da beraberinde getirmektedir[6-8]. Ancak, yakın bir gelecekte laboratuvarların kalitesinin göstergesi

olarak kullanılabilir ve hasta sonuçlarının klinik yorumunu etkileyebilecek böyle bir parametrenin tüm laboratuvarlarca ortak bir yöntemle hesaplanması gereği çok açıktır.

Klinik Biyokimya Laboratuvarları tüm biyolojik örneklerin, laboratuvar testlerinin yapılmasını ve raporlandırılmasını sağlayan birimlerdir. Tıbbi biyokimya laboratuvarının sayısal olarak verdiği sonuç raporuna, ilgili teste ilişkin ölçüm belirsizliği değerinin not olarak eklenmesi klinik karar aşamasında hekime yardımcı olacaktır.

Sağlıkta Kalite Standartları (SKS) versiyon 5'e göre ölçüm belirsizliği değerlerini biyokimyasal sonuçlarla birlikte raporlamak tercihe bağlı tutulmuştur. Ancak laboratuvar test akreditasyon süreci için başvuru yapıldığında akreditasyonun gereği olarak tüm testlerin ölçüm belirsizliği değerlerinin sonuçlara eklenmesi zorunlu olacaktır.

Bu düşünce ile laboratuvarımızda çalışmakta olduğumuz uyuşturucu madde testleri için ölçüm belirsizliği değerini belirlemek, ölçüm belirsizliğinin klinik karara etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Laboratuvarımızdaki 2016-2017 verileri göz önüne alındığında pozitif raporlama sayısı en fazla olan 11 nor delta 9 THC-9-COOH (esrar) çalışma parametremiz olarak belirlendi. Bu kapsamda çalışmamız üç aşamadan oluşmaktadır; ilk aşamada ölçüm belirsizliği değeri sayısal olarak hesaplandı; daha sonra klinik kararın 11 nor delta 9 THC -9- COOH (esrar) açısından ölçüm belirsizliğinde verdiğimiz sayı ile değişme durumu değerlendirildi; son olarak seçilmiş olan tüm örnekler uyuşturucu madde analizlerinde referans yöntem olarak kabul edilen Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (GC/MS) yöntemi ile tekrar çalışıldı. Bu yöntemle elde edilen sonuçlar laboratuvarımızda elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldı ve ölçüm belirsizliğinin kullanılması ve kullanılmaması halinde eşik değer klinik karar düzeylerindeki değişimler belirlendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Laboratuvar Verilerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Bazı Temel İstatistiksel Kavramlar

İstatistiksel analizler birçok alanda olduğu gibi, laboratuvar verilerinin değerlendirilmesinde de işimizi kolaylaştırır ve uzun süreçlerde elde edilen çok sayıdaki verinin birkaç yararlı sayıya indirilmesini sağlarlar. Aşağıda çalışmamızda kullanılan bazı istatistiksel kavramların tanımları verilmiştir[4,9].

Aritmetik Ortalama (\bar{x}): Ölçüm değerlerinin toplanıp ölçülen parametre sayısına bölümüdür. İstatistik bilim dalında aritmetik ortalama hem betimsel istatistik alanında hem de çıkarımsal istatistik alanında en çok kullanan merkezi eğilim ölçüsüdür.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1, n} x_i}{n}$$

Ortalama (Mean): Ölçüm değerlerinin tek bir değerle gösterilmesini sağlayan ölçüdür.

Normal Dağılım (Gaussian Distribution): Çan eğrisi şeklinde, ortalamaya göre simetrik bir dağılımdır. Bu dağılımda ortanca, aritmetik ortalama ve tepe değeri birbirine eşittir. Verilerin ortalamadan farkları standart katlar şeklindedir.

Ortanca (Median): Dağılımın orta noktasındaki değerdir.

Standart Sapma (Standart deviation, SD) (s, σ): Dağılımın yaygınlığını gösterir. Her bir değer in ortalamadan olan uzaklığını gösterir. Sonuçların tekrarlanabilirliğinin ölçüsüdür. Standart sapma ortalamadan sapmaların karelerinin toplamının serbestlik derecesine (n-1) bölümünün kareköküdür. n>30 ise (n-1) yerine n alınır.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Ortalamanın standart sapması (S \bar{x}): standart sapmasının \sqrt{n} 'e bölümüyle ortalamanın standart sapması elde edilir

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Bağlı (Rölatif) standart sapma (RSD); standart sapmanın ortalama değere bölünmesiyle elde edilir, birimlidir.

$$RSD = \frac{S}{\bar{x}}$$

Birleşik standart sapma; standart sapmaların kareleri toplamının karekökü olarak ifade edilir.

$$S_{(bir)} = \sqrt{s_1^2 + s_2^2 + \dots + s_n^2}$$

Varyans (s^2 , σ^2); Standart sapmanın karesidir. Verilerin ortalama değer etrafındaki saçılımını kontrol eder.

Değişkenlik Katsayısı/Varyasyon Katsayısı (Coefficient of Variation, CV); Standart sapmanın aritmetik ortalamaya bölünüp 100 ile çarpılmasıyla hesaplanır. Kısaca elde edilen standart sapmanın konsantrasyondan bağımsız, yüzde olarak ifadesidir. Sonuçların kesinliğinin bir göstergesidir. Ayrıca rölatif standart sapma (RSD) olarak da adlandırılmaktadır.

$$\%CV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100$$

Serbestlik Derecesi (df): n sayıdaki gözlemden, doğrusal olarak, birbirlerinden bağımsızolanların sayısıdır.

Güven aralığı: Standart sapma ve ölçme sayısına bağlı gerçek ortalamadeğeri içine alan sınırların (güven sınırları) belirlediği aralıktır.

Rastgele Hata: Neredeyse tüm fiziksel ve kimyasal ölçümlerde olan, düzeltilemeyen ve kontrol edilemeyen, aynı zamanda birçok değişkene bağlı olarak oluşan hatalardır. Bu hatalar, analizin doğruluğuna ve kesinliğine etki ederler ve çıkan sonuçların ortalama değer civarında dağılmasına sebep olur. İstatistiksel olarak bütün belirsizliklerin aynı yönlü olması olasılığı farklı yönlü olmasından daha az

olarak bulunmaktadır. Bu nedenle, hataların birbirlerini nötralize ederek daha az hatalı sonuç elde etme olasılığı yüksektir. Rastgele hataların dağılımı normal dağılım eğrisine uyar. Böylelikle, pozitif ve negatif hataların meydana gelme olasılığı eşit olacağından eğri simetrik olur ve ortalamaları sıfırdır. Rastgele hatanın yüksek olması standart sapmanın büyük olması ve buna karşın kesinliğin düşük olması şeklinde ifade edilir.

Sistemik Hata (Hs):Sistemik hatada analiz sonucu sabit ve/veya belirli bir seviyede değişebilen, sebebi bilinen veya ölçülebilen kesin değerlere sahip hatalardır. Bu hatalar analiz sonucunun doğruluğunu direk olarak etkiler. Bu hata türünde tüm değerler belli bir seviyede ve belli bir yönde değiştiği için ortalama değer olması gerekenden farklıdır. Sistemik hatalar, cihaz, yöntem ve kişi gibi birçok değişkene bağlı olarak değişen hatalardır. Sistemik hata ölçüm değerleri ortalamasının (\bar{x}) gerçek değerden (x_{cref}) farkıdır

$$Hs = \bar{x} - X_{cref}$$

Bağıl Hata(Hr): Sistemik hatanın gerçek değere (x_{cref}) bölünmesiyle elde edilir.

$$Hr = \frac{Hs}{X_{cref}}$$

Bias:Bir seri tekrar ölçümden elde edilen ortalama değerle kabuledilen referans değer arasındaki farklılıktır. Sistemik hatanın bir tahminidir.

2.2. Test Performansının Değerlendirilmesinde Kullanılan Kavramlar

Bir test performansının analitik değerlendirilmesinde kullanılan kavramlar testin laboratuvara hangi aşamada girdiğine bağlıdır. Laboratuvarın kendi geliştirdiği bir testle, ticari olarak belirli bir cihaz için hazırlanmış bir kitin analitik yeterliliğinin sınanması çok farklı sayıda değerlendirme gerektirir[9,10].

2.2.1. Akreditasyon

CITAC (The Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry) /Eurochem kılavuzunda akreditasyon, birim veya bireyin sağladığı birtakım özel hizmetlerin yeterli olduğunun resmi birimler tarafından tanınması olarak isimlendirilmektedir[11]. TS EN ISO 15189 standardına göre ise; akreditasyon, bir kurum veya kişinin belirli görevleri yürütmek için yetkin olduğunun yetkili bir kuruluş tarafından resmi olarak tanınması işlemidir (TS EN ISO, 2004).Laboratuvar akreditasyonu, yapılan analizlerin güvenilirliğinin sağlanması için uluslararası yetkin kuruluşlar tarafından yeterli kriterlere göre değerlendirilmesi, denetlenmesi ve onaylanması işleridir [12]. Akreditasyon kurum ve kuruluşların isteğine bağlı bir süreçtir. Odak noktası yetkinlik, tarafsızlık ve bağımsızlıktır. Akreditasyonun amacı, herhangi bir testin ne zaman nerede ve kim tarafından yapılırsa yapılsın aynı sonucu vermesini sağlamaktır. Ayrıca, kalitenin sürekliliği ve güvenilirliği ön plandadır. Yapılan testin sonucunun başka bir laboratuvar veya ülkede yapılmış olmasına rağmen belirli güven aralığı içinde aynı sonucu vermesi gereklidir. Bu durum, kurum veya kişiler için saygınlık ve ticari üstünlük sağlar. Üçüncü kişiler/kuruluşlar tarafından tanınmasından dolayı laboratuvar bir seri denetimden geçmektedir. Şimdilerde gönüllü olarak yapılan akreditasyon ilerleyen ekonomi ve teknoloji ile bir zorunluluk haline gelebilir [12].

2.2.2. Validasyon

Yeni ya da bilinmeyen bir yöntemi tanımak ve onaylamak, güvenilir ölçüm sonuçları sağlamak için yapılır. Ayrıca yeni bir cihaz devreye girdiğinde, temel kimyasallarda önemli bir değişiklik olduğunda, cihaz personel tarafından ilk kez kullanılacaksa, uzun süredir kullanılmamış valide bir yöntem tekrar kullanılacaksa ve sonuçları etkileyebileceği düşünülen diğer değişikliklerde validasyon yapılmalıdır. Validasyon performans parametrelerinin tümünü içeriyorsa tam validasyon, bazılarını içeriyorsa kısmi validasyon olarak tanımlanır (13).

Yöntemin validasyonu için gerekli başlıca “Analitik Performans Parametreleri” şunlardır;

Spesifiklik (Specificity)
Seçicilik (Selectivity)
Kesinlik (Precision)
Tekrarlanabilirlik (Repeatability)
Ara-Tekrarlanabilirlik (Intermediate Repeatability)
Tekrar Üretilirlik (Reproducibility)
Doğruluk (Accuracy)
Lineerlik (Linearity)
Ölçüm Aralığı (Reportable Range)
Tayin Limiti (Limit of detection, LOD)
Ölçüm Limiti (Limit of Quantitation, LOQ)
Geri Kazanım (Recovery)
Sağlamlık (Robustness/Ruggedness) şeklindedir.

Doğruluk (Accuracy) : Gerçek değerle ölçülen değer arasındaki yakınlığı ifade eder. Bu iki değer arasındaki farkın göstergesi ise “Hata” (bias, inaccuracy) dır. Sistemik hatayı ölçmek için kullanılır. Doğruluğu ölçmek için aynı örnekler referans yöntemle eş zamanlı olarak yeni yöntemle de çalışılır ve bulgular karşılaştırılır. Bu verileri değerlendirmek için istatistiksel olarak regresyon analizi yöntemi kullanılarak iki dizi veri arasındaki ilişkinin doğrusal grafiği elde edilir ve korelasyon katsayısı (r , correlation coefficient) değeri hesaplanır. Bu değeri 1 olmalıdır. Doğruluk ayrıca, geri-kazanım (recovery) ve bozucu etki (interferans) çalışmalarıyla da ölçülür (13).

Kesinlik (Precision): Aynı örnek çeşitli defalar analiz edildiğinde bunların birbirine yakın olması istenir. Kesinlik rastgele hatayı ölçmek için kullanılır. Bu özelliği ifade etmek için iki farklı kavram kullanılır (13).

Tekrarlanabilirlik (Repeatability): Tek bir laboratuvarında, aynı örnek, aynı ölçüm sistemi, aynı tekniker ve aynı çalışma şartlarında kısa süre içinde yapılan

kesinlik çalışmasıdır. Tekrarlanabilirlik bazen çalışma-içi (within run precision) olarak da tanımlanır.(13).

Yeniden-üretilebilirlik (Reproducibility): Aynı örneğin, aynı metod ile farklı laboratuvarlarda farklı tekniker ve farklı ekipmanlarla yapılmasıdır. Bu tip yeniden üretilebilirlik bazen çalışmalar arası (between run precision) olarak da adlandırılır. Eğer aynı örnek, aynı metod, aynı donanım ile ancak uzun zaman aralıkları, farklı teknikerler, farklı kalibratör gibi değişen koşullarda çalışılırsa, bu da bir yeniden-üretilebilirlik çalışmasıdır ve R_w ile gösterilir. Bazen bu tip yeniden-üretilebilirlik orta seviye kesinlik (Intermediate Precision) olarak isimlendirilir.(13)

Toplam hata sistematik hata (bias) ve rastgele hatanın toplamıdır. % 95 güven için

$$\text{Toplam hata} = 1.96 \text{ SD} + \text{Sistematik Hata}$$

Seçicilik (Selectivity): Seçicilik ölçülmesi hedeflenen bileşiğin analiz edileceği matriste doğru olarak belirlenmesidir. Aynı veri seti içerisinde aynı özellik gösteren bileşenlerin olmadığı kanıtlamaya çalışır. Bu hedefle, analiti içermeyen kör örnekler hazırlanarak analiz edilir [13].

Minimum Tayin Limiti (LOD, Tespit Limiti): Analit sinyalinin arka planda oluşan gürültü kirliliğinde ayırt edilebilmesi için gerekli olan en az analit miktarıdır. Bu LOD çalışması ile doğrulaması yapılan yöntem ve belirlenen matriste ölçülebilen fakat miktarı kesin olarak tayin edilemeyen konsantrasyonlar bulunabilmektedir (13).

Minimum Ölçüm Limiti (LOQ, Teşhis Limiti): Uygun koşullar altında gerçekleştirilen kabul edilebilir tekrarlanabilirlik ve doğrulukla tespit edilen en düşük örnek konsantrasyonudur. LOQ hesaplaması için kullanılan farklı yöntemler kullanılmaktadır:

Ölçüm aralığı (Analitik sınır): Yöntemin kalibrasyon eğrisi çizilerek doğruluk sınırları belirlenir. Bu eğrinin laboratuvara gelen örneklerin % 95- 99'unu ölçecek bir doğruluk sınırına sahip olması beklenir. Analitik sınır aynı zamanda rapor edilebilir sınır olarak da isimlendirilir.

Bozucu etkenler (Interferans): Ölçüm için kullanılan yöntemin herhangi bir aşamasında olumsuz etki gösteren maddelerin oluşturduğu etki bozucu etken

(interferans) olarak tanımlanır. İnterferanslar genellikle, hemoliz, lipemi, ilaç kullanımı ve patolojik durumlarda miktarı artan maddelerdir.

Spesifite (Specificity): Spesifite, bir yöntemde tanımlanmaya çalışılan analitin diğer analitlerin de bulunduğu örnek içinde tespit edilmesidir. Spesifitenin belirlenmesinde kör örnek ve farklı örneklere tespit edilmesi istenilen analitin eklenmesi ile girişim oluşturup oluşturmadığı gözlemlenir.

Geri kazanım (Recovery): Bir analitik yöntemin konsantrasyonu bilinen örneklerle belirli miktarlarda eklenen analiti doğru ölçme kapasitesidir. Konsantrasyonu bilinen örnekler üzerine test edilecek analitten belirli miktarlarda eklenir. Eklendikten sonra tekrar ölçüm yapılır. Son ölçümden ilk ölçüm çıkarılır. Bu değer geri kazanılan değerdir. Geri kazanılan değer eklenen miktara bölünüp 100 ile çarpılarak yüzde geri kazanım hesaplanır. Geri kazanım ölçümleri bir yöntemin doğruluğu hakkında en gerçekçi bilgiyi sağlar.

Gerçeklik (Trueness): Ölçüm sonucunun doğru değer veya doğru kabul edilen değere yakınlığıdır (13).

2.3. Test Performansının Tanısal Verimliliğinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Kavramlar

Bir laboratuvar testinin klinik performansı tanısal yeterlilik ya da olguların klinik açıdan önemli alt grupları doğru ayrılabilme kapasitesi ile tanımlanabilir. Yapılan bir testin farklı sağlık durumlarını tespit etmek için, o testin verdiği bilginin kalitesinin bir ölçütü veya sağlıklı ve hastanın birbirinden ayrılabilmesi özelliğinin bir ölçütüdür (4).

Klinik laboratuvarlarda elde edilen bir test sonucu için dört durum söz konusu olabilir:

- 1. Gerçek Pozitif (GP):** Hastalık bulunan örnekteki sonuç pozitif (+)
- 2. Gerçek Negatif (GN):** Hastalık bulunmayan örnekteki sonuç negatif (-)
- 3. Yanlış Pozitif (YP):** Hastalık bulunmayan örnekteki sonuç pozitif (+)
- 4. Yanlış Negatif (YN):** Hastalık bulunan örnekteki sonuç negatif (-)

Aslında tüm pozitif sonuçların gerçek pozitif, tüm negatif sonuçların gerçek negatif olması idealdir, ancak böyle bir tanısal yeterliliğin sağlanması çoğu zaman

imkânsızdır. Bir laboratuvar testinin tanısal yeterliliğinin değerlendirilmesi için kullanılan başlıca kriterler şunlardır: Tanısal duyarlılık, tanısal özgüllük, tanısal verimlilik, yararlılık, önceden tahmin değeri.

Tanısal Duyarlılık (Sensitivity); Test sonucunun doğru olarak gösterdiği özel bir hastalığa sahip olanların değişimidir. Diğer bir deyişle, aranan hastalığın ilgili kişide bulunması durumunda analiz sonucunun pozitif çıkması olasılığıdır. Tanısal duyarlılık ölçülen analit miktarının veya konsantrasyonun değişmesi ile ölçüm sinyalinde oluşan değişim olarak da ifade edilmektedir.

$$\text{Duyarlılık (\%)} = (\text{GP}/(\text{GP}+\text{YN})) \times 100$$

Tanısal Özgüllük (Specificity); Test sonucunun doğru olarak gösterdiği hastalığı olmayanları oranı şeklinde ifade edilmektedir. Diğer bir deyişle, aranan hastalığın ilgili kişide bulunmaması durumunda test sonucunun negatif çıkma olasılığıdır. Bu yöntem ile istenilen maddenin analizinin yapıp yapılmadığını bir göstergesidir. Tanısal özgüllüğün analitik özgüllük yönteminin doğruluğu ile ilişkili olduğu ve yüksek olması beklenir.

$$\text{Özgüllük (\%)} = (\text{GN}/(\text{GN}+\text{YP})) \times 100$$

Duyarlılık (gerçek pozitiflik) ve özgüllüğün (yanlış pozitiflik) karşılaştırılmasıyla elde edilen ROC (relative operating characteristic) eğrileri testlerin tanısal doğruluğunu görsel olarak da saptayabilmektedir.

Tanısal Verimlilik (Efficiency); Test sonucunun doğru teşhis koydurabilme olasılığıdır. Tanısal verimlilik hesaplanırken doğru sonuç sayısı tüm sonuç sayısı ile karşılaştırılır. Tanısal verimliliği hesaplamak için aşağıdaki formül kullanılabilir.

$$\text{Verimlilik (\%)} = [(\text{GP}+\text{GN})/(\text{YP}+\text{YN}+\text{GP}+\text{GN})] \times 100$$

Yararlılık (Usefulness); Testin sağladığı bilginin hastanın takibindeki pratik değeridir.

Önceden Tahmin Değeri: Test uygulanan popülasyonda hastalığın yaygınlık oranına (prevalans) karşın testin doğru teşhis koydurabilme olasılığıdır. Diğer bir deyişle pozitif (+) tahmin değeri, testin yapıldığı popülasyonda (+) sonucu olanların gerçekte hasta olması olasılığıdır. Pozitif tahmin değerini etkileyen parametreler,

hastalığın yaygınlık oranı ve tanısal özgüllüktür. Pozitif tahmin değeri aşağıdaki formül ile hesaplanabilmektedir.

$$\text{Pozitif (+) Tahmin değeri} = \text{GPO}/(\text{GPO} + \text{YPO})$$

GPO: Popülasyondaki gerçek pozitiflik oranı (YO x Duyarlılık)

YPO: Popülasyondaki yanlış pozitiflik oranı (1-YO)(1- özgüllük)

YO: Yaygınlık oranı

Negatif (-) tahmin değeri ise, testin yapıldığı popülasyonda (-) sonucu olanların gerçekte hasta olmaması olasılığıdır. Negatif tahmin değerini etkileyen parametreler, hastalığın yaygınlık oranı ve tanısal duyarlılıktır. Negatif tahmin değeri aşağıdaki formül ile hesaplanabilmektedir.

$$\text{Negatif Tahmin Değeri(-)} = \text{GNO}/\text{GNO} + \text{YNO}$$

GNO: Popülasyondaki gerçek negatiflik oranı (1-YO)x(özgüllük)

YNO: Popülasyondaki yanlış negatiflik oranı (YO) x (1-duyarlılık)

YO: Yaygınlık oranı

2.4. İzlenebilirlik

İzlenebilirlik, bir test sonucunun veya standartlaştırılmış bir değer için belli olan ulusal/uluslararası standartlara uygun referanslarla, tamamının ölçüm belirsizliği tanımlanmış olan karşılaştırmalı kesintisiz bir ölçüm zinciri yoluyla ilişkilendirilebilmesi özelliğidir.

2.5. Ölçüm Belirsizliğinin Tanımı, Tarihçesi ve Gelişim Süreci

Ölçüm belirsizliği, hasta raporunda verilecek herhangi bir ölçüm sonucuyla birlikte verilmesi gerekli olan bir parametredir. Aynı zamanda ölçüm belirsizliği, ölçülen miktar ile bağıntılı olarak karşılaşılabilecek tüm değer aralığını tanımlar. Bu sebeple, gerek ölçüm değerinin hangi sınırlar içinde yer alacağını ve güven düzeyini yansıtır.

Bir ölçüm sonucu sadece belirsizliğin niceleyici değeri ile birlikte sunulduğu zaman tam anlamıyla gerçekleşmiş demektir. Belirsizlik, diğer benzer sonuçlarla uygun olup olmadığını araştırmak ve hedeflenmiş amacın yeterli olup olmadığına karar vermek için gereklidir.

Klinik laboratuvarların birincil ve temel görevleri klinisyene klinik karar vermesi konusunda katkı sağlamaktır. Analitik testlerin ölçüm değerinin tam anlamıyla gerçeği yansıtmadığı bilinmektedir. Bu durumda bir klinik belirsizlik ortaya çıkmaktadır. Belirsizlik, ölçüm sonucuna eşlik eden ve bu sonuca yüklenen olasılıkların dağılımını gösteren bir parametre olarak ifade edilmektedir. Dolayısıyla, ölçülen değer ile birlikte ölçüm belirsizliği hesaplanıp, ölçülen analitik verinin hangi sınırlar içinde yer alabileceğini ve kalite/güven düzeyini gösterir. Ölçüm belirsizliği, hata kavramı dışında, matriks etkisi, referans malzemeler, ölçüm metotları, çevresel etmenler, interferanslar ve ölçüm sürecini etkileyen faktörler olarak sıralanabilir.

Ölçüm belirsizliğini ifade etmek için yıllardır birçok yaklaşım geliştirilmiştir. Bu alanda en yüksek otoriteye sahip olan Uluslararası Ağırlık ve Ölçüm Komitesi (Comité International des Poids et Mesures, CIPM), 1977 yılında Uluslararası Ağırlık ve Ölçüm Dairesi’den (Bureau International des Poids et Mesures, BIPM) ulusal standartlar enstitüleri ile işbirliği ile bu duruma bir tavsiye oluşturulmasını istemiştir (14). BIPM, mevcut konuları içeren bir anket hazırlamıştır ve bu konuyla ilgili 32 ulusal metroloji laboratuvarına ve 5 uluslararası organizasyona göndermiştir. Yaklaşık iki yıl içerisinde (1979) 21 laboratuvardan cevap gelmiştir (14). Cevap veren bu 21 laboratuvarın neredeyse tamamı ölçüm belirsizliğinin belirlenmesinde uluslararası kabul edilen bir prosedür seçilmesini ve farklı belirsizlik bileşenlerinin de bir araya getirilerek tek bir belirsizlik çatısı altında toplanmasını vurgulamışlardır. Ancak bu yöntem konusunda fikir ayrılıkları olmuştur. Bu fikir ayrılığından dolayı BIPM, belirsizliğin özellikleri için her yerde aynı şekilde uygulanacak ve genel kabul görececek bir prosedürün belirlenmesi amacıyla 11 ulusal standart laboratuvarından uzmanların iştirak ettiği bir toplantı düzenlemiştir. 1980 yılında BIPM tarafından toplanan “Belirsizliğin İfadesi için Çalışma Grubu (WorkingGroup on the Statement of Uncertainties)”Deneysel Belirsizliklerin İfade Edilmesi Tavsiye Metni-1 (INC-1) tavsiyelerini oluşturmuştur (14).

INC-1’deki deneysel belirsizliğin ifadesine ilişkin tavsiyeleri;

1. Bir ölçüm sonucuna ait belirsizlik birçok bileşen içerebilir ve sayısal değerinin hesaplanma yoluna göre iki kategoriye ayrılır:

- A. İstatistiksel metotlarla belirlenenler
- B. Başka yöntemler kullanılarak belirlenenler

Belirsizliğe ilişkin her rapor, bileşenlerinin tam listesini içermelidir ve her bir bileşenin sayısal değerinin elde edildiği metot belirtilmelidir.

2. A grubu bileşenleri, hesaplanan s_i^2 varyansı (veya hesaplanan “standart sapma (SD)” s_i) ve serbestlik derecesi olarak karakterize edilir.

3. B grubu bileşenleri, olduğu varsayılan, varyanslara karşılık gelen yaklaşık değerler olarak düşünülebilecek u_j^2 niceliği ile karakterize edilmelidir. Nicelik u_j^2 , varyans; u_j ise SD gibi ele alınabilir.

4. Kombine (Birleşik) belirsizlik (u_c), varyansların birleştirilmesinde kullanılan, belirli yöntemler kullanılarak elde edilen rakamsal değerdir.

5. Belirli bir uygulama için, eğer genişletilmiş belirsizliği (U) saptamak üzere birleşik belirsizliği bir kat sayı ile çarpmak gerekiyorsa, bu kat sayı mutlaka ifade edilmelidir.

INC-1 (1980) önerileri bir özet olarak değerlendirildiği için CIPM bu tavsiyelerin geliştirilmesi ve ayrıntılı bir kılavuz hazırlanması için Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu’ndan (ISO) istekte bulunmuştur (14). ISO, bu konuda araştırma yapmak, geliştirmek ve bir kılavuz oluşturmak için ISO Teknik Tavsiye Grubu-4 (ISO/TAG-4), Çalışma Grubu-3’ü (WG-3) kurmuştur. Hazırlanacak olan bu kılavuz, ölçüm belirsizliğinin nasıl hesaplanması gerektiğini detaylı olarak anlatmayı ve ölçüm sonuçlarının uluslararası standardizasyona temel olmasını hedeflemiştir (15).

Yapılan bu çalışmalar sonucunda 1993 yılında hazırlanan Ölçüm Belirsizliği İfade Kılavuzu (Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, GUM) dünyadaki metroloji merkezleri tarafından kullanılan kılavuzdur. Bunun yanı sıra, Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (National Institute of Standards and Technology, NIST) ve Ulusal Fizik Laboratuvarı (National Physical Laboratory, NPL) gibi kurumlarda bu dokümanın özetlenmiş hali bir kılavuz olarak kullanılmaktadır (15). Doküman, geniş kapsamlı olup yapılan ölçüm ve kalibrasyonlarda elde edilen sonuçların içerdiği belirsizliği hesaplayabilmek için genel bir yön belirlemektedir .

1997 yılında, Metroloji Kılavuzları Hazırlama Ortak Komitesi (JCGM), Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması Kılavuzu (GUM) ve Metrolojide Kullanılan

Uluslararası Temel ve Genel Terimler Sözlüğü (International Vocabulary of Metrology, VIM) kılavuzlarının ilk baskılarını hazırlayan yedi kuruluşun katılımıyla BIPM Müdürü Başkanlığında kurulmuştur. JCGM;

Uluslararası Ölçüler ve Ağırlıklar Bürosu (Bureau International des Poids et Mesures, BIPM),

Uluslararası Elektroteknik Komisyonu (International Electrotechnical Commission, IEC),

Uluslararası Klinik Kimya ve Tıbbi Laboratuvarlar Federasyonu (The International Federation of Clinical Chemistry, IFCC),

Uluslararası Standartlar Organizasyonu (International Organization for Standardization, ISO),

Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC),

Uluslararası Temel ve Uygulamalı Fizik Birliği (The International Union of Pure and Applied Physics, IUPAP),

Uluslararası Yasal Metroloji Organizasyonu (Organisation Internationale de Métrologie Légale, OIML) temsilcilerinden oluşmaktaydı.

Kurucu yedi üyeye ilave olarak, 2005 yılında Uluslararası Laboratuvar Akreditasyon Birliği (International Laboratory Accreditation Cooperation, ILAC) resmen organizasyona katılmıştır (14,15).

JCGM bu kılavuzu oluştururken iki çalışma grubu oluşturmuştur:

JCMG/WG 1: Bu çalışma grubu GUM'un kullanılmasını ve bu kılavuzun farklı alanlarda kullanılabilmesi için gerekli ek dosyaların hazırlanması görevini almıştır.

JCGM/WG 2: Bu çalışma grubu ise VIM'in güncellenmesi ve kullanımının özendirilmesi görevini üstlenmiştir. Bu grup, her üye kuruluştan en fazla iki temsilcinin katılımı ile oluşmakta ve sınırlı sayıda uzman tarafından desteklenmektedir. Bu belge, VIM'in 3. baskısı olup, 2. Çalışma Grubu tarafından hazırlanmıştır. VIM dokümanının 3. Baskısı, BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML, ILAC gibi JCGM'ye üye sekiz kuruluşun her biri tarafından onaylanmış ve kabul edilmiştir. VIM dokümanının 3. baskısı, 1993 yılında yayımlanmış olan 2. baskıyı iptal etmekte ve onun yerini almaktadır.

2.5.1.GUM' un Belirlediği Esaslara G6re Hazırlanan Rehberler

EURACHEM (A Focus for Analytical Chemistry in Europe- EURACHEM/CITAC Guide CG 4): EURACHEM 1995 yılında GUM'un belirlediği esaslara g6re yayınlanmıştır. Bu y6ntemde, belirsizlik kaynaklarının bir neden-sonuç ilişkisi içerisinde belirleyerek “belirsizlik” kaynaklarının birleştirilmesine dayanmaktadır. Belirsizlik değerlendirmesi için kullanılan en uygun y6ntemdir. 6l6m belirsizliği tahmini s6reci genel olarak d6rt aşamada gerçekleşmektedir (16).

- 6l6m belirlenir; 6l6len miktarlar, sabitler, kalibrasyon ve standart değerleri gibi 6l6mler belirlenir.
- Belirsizlik kaynakları tanımlanır; olası belirsizlik kaynakları belirlenir.
- Belirsizlik bileşenleri niceleştirilir. Belirlenen her belirsizlik kaynağı ile ilgili belirsizlik bileşeninin boyutu 6l6l6r veya tahmin edilir.
- Birleşik belirsizliği hesaplanır. 3. adımda elde edilen bilgiler, bireysel kaynaklarla ya da çeşitli kaynaklardan elde edilen kombine etkilerle ilişkili olacak, genel belirsizliğe verilen miktarda katkılardan oluşacaktır.

Nordtest (Handbook For Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories): Nordtest kılavuzu 6l6m Belirsizliği hesabında anlaşılabilir ve pratik bir uygulama sunmayı amaçlamıştır. Nordtest kılavuzunda İç Kalite Kontrol verilerinin %CV'leri ve Dış Kalite Kontrol verilerinden elde edilen RMS_{bias} ile 6l6m Belirsizliğinin hesaplanmasını 6nermektedir (17).

Avustralya Ulusal Klinik Biyokimya Derneği (AACB; Australasian Association of Clinical Biochemists): 2004 yılında hazırlanan rehberde 6l6m Belirsizliği hesaplanırken en az iki d6zey ve her bir kontrol d6zeyinde en az 30 veri noktasından İç Kalite Kontrol verilerinin sonuçlarının “Kareler Toplamının Kare K6k6” y6ntemi ile birleştirilmesi esasına dayanmaktadır (18,19).

Ulusal Patoloji Akreditasyon Danışma Konseyi (NPAAC; National Pathology Accreditation Advisory Council): 2007 yılında hazırlanan rehberde AACB ile aynı doğrultuda 6l6m Belirsizliği hesabı 6nermiştir. Ek olarak RDD (Referans Değişim Değer) form6l6nde Birey-içi Biyolojik Varyasyonun ve 6l6m Belirsizliğinin birlikte değerlendirmesi 6rneklerle açıklanmıştır (20).

İngiliz Kimyasal ve Biyokimyasal Ölçümler için Ulusal Metroloji Enstitüsü (VAM; Valid Analytical Measurement Project- 1998): Ölçüm Belirsizliğini validasyon amaçlı kullanılması önerilir. Bunlar kesinlik, doğruluk ve sağlamlık çalışmalarıdır (21).

2.6. Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması

Ölçüm belirsizliği iki yaklaşım ile hesaplanabilmektedir.

1. Aşağıdan yukarıya yaklaşımı
2. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı

2.6.1. Aşağıdan yukarıya yaklaşımı

Bu yaklaşım GUM yaklaşımı olarak da bilinmektedir. Aşağıdan yukarıya yaklaşımda her bir potansiyel belirsizlik kaynağı tanımlanır ve büyüklüğü tespit edilir.

Aşağıdan yukarıya yaklaşımıyla ölçüm belirsizliği hesaplamasında, sırasıyla şu aşamalar yerine getirilmelidir:

- Ölçülen büyüklüğün tanımlanması.
- Ölçümün modellenmesi
- Belirsizlik kaynaklarının ortaya konulması
- Standart belirsizliklerin hesaplanması
- Kombine standart belirsizlik (uc)'in hesaplanması
- Genişletilmiş belirsizlik (U)'in hesaplanması

2.6.1.1. Ölçülen Büyüklüğün Tanımlanması

Ölçüm belirsizliği hesaplanırken ilk olarak ölçülen büyüklük tanımlanır. Ölçülenin ne olduğu açıkça belirlendikten sonra ölçümde kullanılan denklem oluşturulur.

2.6.1.2. Ölçümün Modellenmesi

Modelleme, ölçülen ile ölçülenin bağlı olduğu girdiler arasındaki matematiksel ilişkinin ifade edilmesidir.

2.6.1.3. Belirsizlik Kaynaklarının Ortaya Konulması

Denklemden yer alan tüm girdilerden kaynaklanan belirsizlikler tespit edilmelidir. EURACHEM/CITAC CG4 rehberine göre; belirsizliğin tipik kaynakları şunlardır: Örnekleme, saklama koşulları, kullanılan cihazın etkisi, reaktif saflığı, ölçüm koşulları, örnek etkisi, hesaplama etkileri, kör düzeltmesi, teknisyen etkileri, rastlantısal etkiler.

2.6.1.4. Standart Belirsizliğin Hesaplanması

Her bir girdiye ilişkin hesaplanan SD, ilgili girdinin standart belirsizliği olarak adlandırılır. SD'nin, ortalamaya bölünmesi ile rölatif standart sapma (RSD) elde edilir. Bu standart belirsizlik birimsizdir ve rölatif standart belirsizlik (RSB) olarak tanımlanır.

Standart belirsizliğin hesaplanmasında, nümerik değer hesaplanabilmesi için belirsizlik bileşenleri iki alt gruba ayrılır:

Tip A: İstatistiksel yöntemlerle değerlendirilen grup: Tekrarlı ölçülerden elde edilen bir takım sonucun rastlantısal hata nedeniyle az da olsa birbirlerinden farklılık göstermesidir. Tip A belirsizlikler, normal dağılım ile ifade edilirler.

Standart sapma, daha önce de bahsedildiği gibi ortalamadan sapmaların karelerinin toplamının serbestlik derecesine (n-1) bölümünün kareköküdür. n>30 ise (n-1) yerine n alınır (n=ölçüm sayısı) (9).

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

Standart belirsizlik (u(x)) ise, ortalamanın standart sapmasına eşittir.

Tip B: İstatistiksel olmayan yöntemlerle değerlendirilen grup: Ölçüm belirsizliğinin istatistiksel yöntem dışında bir yolla değerlendirildiği belirsizlik

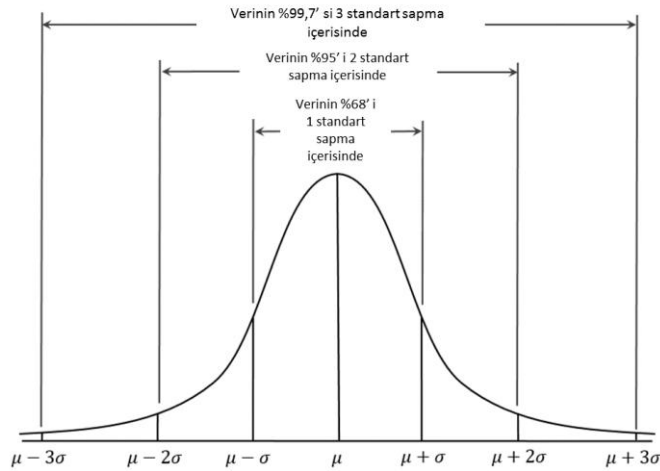
grubudur. Belirsizlik bilgisine, daha önce yapılmış ölçüm verilerinden, ilgili malzeme ve cihazların işleyişi ve özellikleriyle ilgili deneyimlerden, üretici spesifikasyonlarından, ölçümleme (calibration) sertifikalarından, kitaplardan edinilen referans verilerden elde edilebilir.

u_c hesaplanırken, istatistiksel olmayan tip B belirsizlik bileşenlerini, istatistiksel olan tip A belirsizlik bileşenleriyle birleştirmek için; tip B belirsizlik bileşenleri, istatistiksel belirsizlik bileşenleriymiş gibi davranılır. Bu amaçla, istatistiksel olmayan belirsizlik bileşenleri için olasılık dağılım fonksiyonları ve her bir dağılım tipine ilişkin standart belirsizliği hesaplamak için formüller geliştirilmiştir (22).

En çok karşılaşılan dağılım tipleri ve standart belirsizlik formülleri aşağıda verilmiştir.

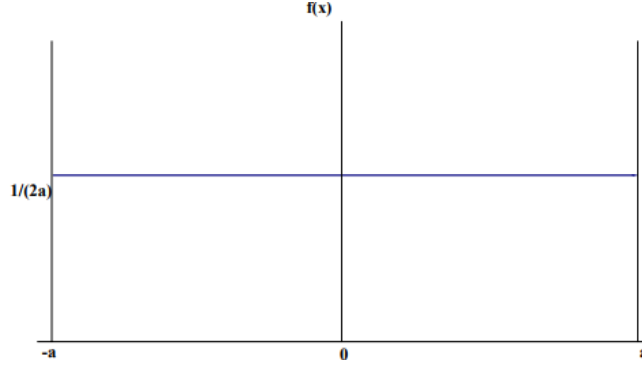
1- Normal Dağılım: En yaygın ve en önemli sürekli olasılık dağılımıdır. İki parametre ile gösterilir: Dağılımın merkezini gösteren ortalama (μ) ve dağılımın genişliğini belirleyen standart sapmadır (σ) (Şekil 1)

$$f(x;\mu,\sigma)=\frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma}e^{-\left[\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right]}$$



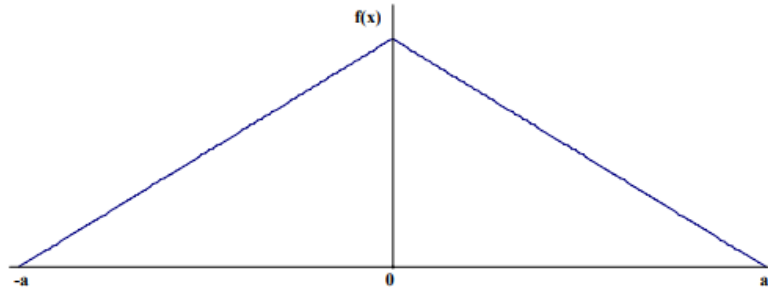
Şekil 1:Normal dağılım eğrisi

2- Dikdörtgen Dağılım: B tipi belirsizlikler için diğer yaygın bir dağılım formudur. Ne zaman ki asıl dağılım formu bilinmiyorsa; dikdörtgen dağılım, varsayılan dağılımdır (Şekil 2).



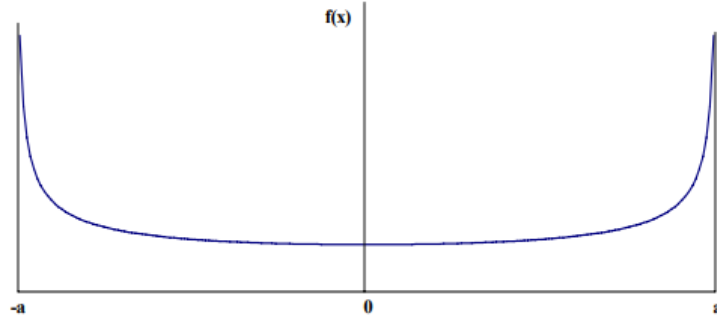
Şekil 2:Dikdörtgen dağılım eğrisi

3- Üçgen Dağılım: Değerlerin uç noktalara kıyasla ortalamaya yakın olma olasılığının daha yüksek olduğu dağılım formudur (Şekil 3).



Şekil 3: Üçgen dağılım eğrisi.

4- U Dağılımı: Bir ölçülene ait en olası değer, belirtilen sınırlarda veya yakınında olduğu durumlarda geçerli bir dağılım formudur (Şekil4).



Şekil 4: U dağılımı eğrisi

2.6.1.5. *Kombine Standart Belirsizlik (u_c)'in Hesaplanması*

u_c , belirsizliğin yayılması kanununa göre hesaplanır.

Birbirinden bağımsız girdiler arasındaki ilişki:

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i)$$

Birbirine bağımlı girdiler (x_i, x_j) arasındaki ilişki:

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{\partial f}{\partial x_i} \frac{\partial f}{\partial x_j} u^2(x_i, x_j)$$

$u(x_i)$ ve $u(x_j)$, her bir belirsizlik bileşeni için standart belirsizliği ifade etmektedir. Formüldeki kısmi türevler $\partial f / \partial x_i$ ve $\partial f / \partial x_j$ sensitivite katsayısı olarak adlandırılmaktadır. Sensitivite katsayıları, y 'nin, x_i 'ye bağlı olarak nasıl değiştiğini ifade eder. Mümkün oldukça, her bir belirsizlik bileşeni için sensitivite katsayısı hesaplanır ve u_c hesaplamasına dahil edilir.

2.6.1.6. *Genişletilmiş Belirsizlik (U)'in Hesaplanması*

$U_c(y)$, evrensel olarak ölçüm belirsizliğini tanımlamaktadır. Ancak bu değer ölçülen büyüklüğün dağılımını gösterdiğinde güven aralığı %68.27 düzeyindedir.

Fakat, pratik uygulamalarda daha yüksek güven aralığına ihtiyaç duyulmaktadır. Dolayısıyla böyle koşullarda ölçüm belirsizliğini ifade etmek için genişletilmiş belirsizlik kavramı kullanılır.

2.6.2. Yukarıdan Aşağıya Yaklaşımı

NORDtest rehberi esas alındığı için, NORDtest yaklaşımı olarak da adlandırılabilir. Metot validasyonu, laboratuvar içi (İKK gibi) ve laboratuvarlar arası veriler (DKK gibi) gibi mevcut laboratuvar test performans bilgilerinin kullanıldığı yaklaşımdır. Yukarıdan aşağıya yaklaşımıyla ölçüm belirsizliği hesaplamasında, sırasıyla şu aşamalar yerine getirilmelidir:

1. Ölçülen büyüklüğün tanımlanması
2. Belirsizliğin laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik (R_w) bileşeninin hesaplanması [$u(R_w)$]
3. Belirsizliğin bias bileşeninin hesaplanması [$u(\text{bias})$]
4. Kombine standart belirsizlik (u_c)'in hesaplanması
5. Genişletilmiş belirsizlik (U)'in hesaplanması

2.6.3. Ölçüm Belirsizliğinin Raporlanması

Ölçüm belirsizliği hesaplamaları sonucunda elde ettiğimiz U_x (genişletilmiş belirsizlik) değeri birimsizdir ve yüzde olarak ifade edilir. Herhangi bir sonuç (X) rapor edilirken sonuç= $X \pm (U_x) * X$ şeklinde rapor edilir. Dolayısıyla bir yöntem için önceden hesaplanmış birimsiz olan genişletilmiş belirsizlik değerinin (rölatif; ortalamaya oranlı) X sonucu ile çarpılmasıyla o sonuca ait genişletilmiş belirsizlik saptanır (23). Standart Belirsizlik kullanıldığında ise \pm sembolünün kullanılması tavsiye edilmez, çünkü sembol yüksek güven seviyelerine karşılık gelen aralıklarla ilişkilendirilmektedir. Sonuçların Belirsizliği aşırı sayıda basamakla verilmemelidir. Belirsizlik verilen sonuçla tutarlı olacak şekilde yuvarlanmalıdır (24). Ancak, Ölçüm Belirsizliğinin sonuçlarla birlikte raporlanması konusunda fikir birliği bulunmamaktadır. GUM, Ölçüm Belirsizliğinin sonuçlarla raporlanmasını önerse de

Westgard dahil birçok uzman bu konuda Ölçüm Belirsizliğinin bir “Laboratuvar Hatası” olarak algılanabileceği noktasında çekincelerini bildirmiştir (24).

2.7. Uyuşturucu Maddeler

Uyuşturucu kelime anlamı olarak Yunanca da uyku anlamına gelen “narke”den gelmektedir. Daha sonralarda “narcotic” olarak İngilizceden dilimize geçen bu sözcük, uyuşturma özelliği olan, uyuşturan, duymaz haline getiren demektir. Aslından uyuşturucu bir kavram olarak uyuşturan maddeler olarak bilinmektedir. Fakat bu kelime keyif veren, yatıştıran, kışkırtan ve uyanıklık sağlayan bazı maddeler için de kullanılmaktadır.

"Uyuşturucu Madde" belirli dozlarda kullanıldığında, bireyin merkezi sinir sistemini etkileyerek, fiziki, psikolojik ve akli dengesini bozan, toplum ve birey içinde ekonomik ve sosyal çöküntü oluşturan, bağımlılık yapan, kullanılması, satışının yapılması ve bulundurulmasının kanunlar tarafından yasaklanan maddelere denir. Ayrıca uyuşturucu madde narkotik ve psikotrop olarak da ifade edilmektedir (25).

2.7.1. Uyuşturucu Maddelerin Çeşitleri ve Etkileri

Uyuşturucu Maddeler sinir sistemi üzerindeki etkilerine göre ayrılmaktadır.

Merkezi Sinir Sistemini Yavaşlatanlar

Merkezi Sinir Sistemini Uyananlar

Duyuların bozulmasına sebep olanlar

2.7.1.1. Merkezi Sinir Sistemini Yavaşlatanlar

Merkezi sinir sistemini yavaşlatan uyuşturucular doğal ve sentetik uyuşturucular olmak üzere ayrılır.

Doğal uyuşturucular: Afyon, eroin, kodein, morfin gibi doğal uyananlardır.

Afyon, karmaşık bir kokteyldir. En önemli kısmını ise alkaloidler oluşturur. Alkaloid, son derece karmaşık yapıya sahip organik bazdır. Bitkilerde bulunması ve kendine özgü keskin tadı onu ayırt eden özelliklerdir. Ham halde afyon, tohum zarfı, soğan ya da haşhaş başı da denenen kapsülün kurumuş öz suyudur (25).

Eroin, afyon haşhaş bitkisinin asit anhidritle işleminden geçirilmesiyle elde edilir. Eroin günümüzdeki en tehlikeli psikoaktif maddedir. Beyaz kristal bir tozdur. Bu madde bilinen uyuşturucu maddeler arasında en fazla ve en hızlı şekilde alışkanlık yaptıran maddedir.

Morfin, afyonun içinde en fazla bulunan ve en önemli alkaloididir. Afyonun kalitesini de bu maddenin afyon içindeki miktarı belirler. 1803 yılında Sertürner tarafından izole edilmiş ve uyutucu tesirinden dolayı mitolojideki uyku tanrıçası Morpheus'un ismine izafeten isimlendirilmiştir. Morfin eskisi kadar yaygın olmamakla birlikte günümüzde hala tıpta kullanılmaktadır. Bilinen en etkili ağrı kesicilerden birisidir. Morfin emiliminin kolay olması için kullanıcılar tarafından burun mukozası gibi kılcal damarların bol olduğu yerlerden alınır. İlk 30-60 dakika içerisinde etkisini gösterir ve 24 saatin sonuna doğru etkisi gittikçe zayıflar. Normal etkisi 4-6 saattir. Zehir etkisi yapabilecek dozlarda beyinde oksijen alımını azaltır. Morfin solunumu yavaşlatır ve çabuk tolerans oluşturur. Aksi halde yoksunluk belirtileri görülür.

Kodein, morfinin bazı kimyasal işlemler sonucu elde edilen bu madde tıp alanında da kullanılmaktadır. Bu maddenin bağımlılığı nadir olarak görülmektedir. Kodein beyaz renkli kokusuz ve acımsı bir tadı vardır.

Sentetik uyuşturucular: Sentetik uyuşturucu maddeler suni (yapay) uyuşturuculardır. Doğal uyuşturucuların farklı kimyasal yöntemler ile elde edilmesinden oluşurlar.

Barbüratlar, merkezi sinir sistemini etkileyen bir sentetik uyuşturucudur. Bu madde rahatlatıcı kimyasal maddelerden elde edilen bir karışımdır. Genellikle ağız yoluyla yutulurken alınsa da, suda eritilip deri altına enjekte edilebilir veya eroin içerisine karıştırılıp sigara gibi kullanılabilir.

Trankizanlar, akli ve fiziki uyanıklığını artırır. Dolayısıyla sakinleştirici olarak kullanılır. Bazı ülkelerde reçetesiz olarak satılmaktadır, fakat Türkiye’de reçete ile satılır. Çok yüksek olamayan dozlarda ve aniden bırakılmasında barbüratlarda oluşan etkiler görülür.

Sedatifler, akli ve fiziki uyanıklığını/aktiviteyi yatıştırırlar.

2.7.1.2. Merkezi Sinir Sistemini Uyaranlar

Merkezi sinir sistemini yavaşlatan uyuşturucular tabii ve sentetik uyaranlar ile halisünojenler olmak üzere üç gruba ayrılır.

Tabii uyaranlar, kokain, crack, koka yaprağı gibi uyaranlardır.

Kokain, en çok Güney Amerika’da yetişen koka ağacından elde edilir. Bu madde beyazdır ve toz şeklindedir. Kok veya buz olarak bilinir. Normalde saf kokain çok ender bulunur ve genellikle kimyasal sentez yoluyla elde edilir.

Crack (Roch), bir karışımdır Bu karışımın içinde aynı zamanda organo fosfat (böcek ilacı) vardır ve kokainden 10 kat güçlü ve 10 kat hızlıdır ve öldürücüdür. Crack, kokainden daha ucuz fakat çok daha tehlikeli bir türevidir. Toz veya sıvı halinde, kesme şeker görünümünde, beyaz veya krem rengindedir.

Sentetik Uyaranlar, amfetamin, metamfetamin, ecstasy, gibi uyaranlardır.

Amfetamin; Sentetik uyarıcı maddedir. Merkezi sinir sistemine olan uyarıcı ve semptomimetik etkileri ile canlılık, güçlülük verir. Kimyasal formülü $C_9H_{13}N$ -hidroklorürdür

Metamfetamin; Amfetaminin en çok bağımlılık yapan türevidir. Bu uyuşturucu maddenin oldukça toksik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Rengi ve görüntüsünden dolayı ICE (buz) olarak da piyasada bilinmektedir ancak kısaca METH olarak adlandırılır. Metamfetaminin etkisi kullanım dozuna bağlı olarak 2-24 saat arasında değişiklik göstermektedir. Bu maddeyi kullanan kişilerde hayali böceklerden kurtulmak için aşırı şekilde kaşınma görülmektedir.

Ecstasy (Ekstazi); Ekstazi, 1990'lı yıllardan itibaren popüler hale gelmiştir. Halen dünyada yasa dışı üretilen ve kullanılan en popüler uyuşturucu maddelerdendir. Ekstazi genellikle çeşitli renk, grafik, tasarım, geometrik şekil ve logolarda basılan tablet yapısında olmakta ve kullanımı ağız yolu ile gerçekleştirilmektedir (26).

2.7.1.3. Duyuların Bozulmasına Sebep Olanlar (Halusinojenler)

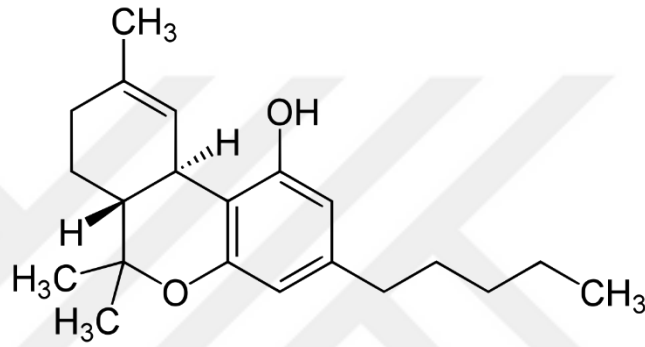
LSD (LiserejikSoreDietilamid Asit): Çavdar mahmuzu olarak bilinen bir çavdar mantarından elde edilmektedir. Sıvı halde, kâğıda emdirilmiş olarak, jel, toz veya tablet şeklinde birçok formu bulunmaktadır. Kimyasal adı Liserjik Asid Dietilamid (D-lysergicaciddiethylamide)'dir.

Esrar: Esrar, neredeyse tüm coğrafi kesimlerde yetişebilen kenevir bitkisinden sentezlenmektedir. Bitkinin özünde bulunan TetraHydroCannabinol'ü izole etmek haşhaş bitkisinden olduğundan daha zordur. Ancak bitki çeşitli işlemlerden geçirilerek içendeki özünün kalması sağlanır kullanımı mümkün hale getirilir. Esrar, kenevir bitkisinin yaprak, dal, gövde gibi farklı bölümlerinden elde edilebilmektedir. Dolayısıyla bu maddenin çeşitliliğini arttırmaktadır.

Esrar (kannabis, marijuana) bağımlılık yapıcı özelliği olan ve dünyada en yaygın kötüye kullanılan yasadışı maddedir (27). Farklı toplumlarda yapılmış olan epidemiyolojik çalışma sonuçlarına göre Türkiye'de % 1.2-4 olarak bildirilmiştir (28). Esrar, psikotrop ve keyif verici etkisini, % 0.5-5 oranında içerdiği, yağda erime oranı yüksek delta 9-tetrahidrokannabinol (delta 9-THC, kannabinoid) ile ortaya çıkarır (29).

Kannabinoidlerin ortak ismi esrar (marijuhana) bugün dünya çapında sokak ilacı olarak en çok kullanılan maddedir (30). En çok bilinen ve en fazla miktarda elde edilen kannabinoidler; Δ 9-tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC), Δ 8-tetrahydrocannabinol, (Δ 8-THC), cannabiol ve cannabidiol'dur (31). Esrarın pekiştirici etkilerden sorumlu olan esas madde ise Δ 9-tetrahidrokannabinol (Δ 9-THC)'dur (29). Lipofilik bir molekül olan Δ 9-THC, bu özelliği ile kan-beyin bariyerini kolayca geçerek özgül membran reseptörleri aracılığı ile santral etkilerin oluşmasını sağlar.

Canlı sistemde Δ^9 -THC hızlı bir şekilde emilir, akciğerde ve karaciğerde santral olarak aktif metaboliti olan 11-hidroksi- Δ^9 -THC'ye çevrilir. Bu metabolit Δ^9 -THC'den daha aktiftir ve kan-beyin bariyerini daha kolay geçer (32). Soluma veya damar içi enjeksiyon sonrası maksimum konsantrasyonlarına 15 dakika içinde erişilir. Beyindeki konsantrasyona bağlı olarak görülen bu etkiler daha sonra yavaş yavaş azalarak 2-4 saat içinde sona erer. Ağız yoluyla alım sonrası en yüksek etki 1 saat sonra başlar ve bağırsakta devam eden emilim nedeniyle 5-6 saat sürebilir (32).



Şekil 5: Kannabisin molekül formülü.

Sentetik kannabinoidler: Sentetik kannabinoidler Δ^9 -THC benzeri molekül yapısına sahip klasik ve benzemeyen klasik olmayan olarak sınıflandırılabilir.

Esrar kullanımı sonrasında veya etkisin altındayken bireyde bazı fizyolojik ve psikolojik etkiler görülür.

Esrarın etkinliği kişiden kişiye farklılık gösterir. Bu etki, kullanım şekline, ruhsal durumuna ve çevresel koşullara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Esrar kullanımı sonrasında insan vücudunda yağ dokularında birikir. Aynı zamanda beyin ve üreme organları gibi hayati organlarda 30 gün kadar depolanabilir. Uzun süre depolandığından dolayı birçok yan etkileri ortaya çıkmaktadır. En belirgin olan yan etkileri, sigara kullananlarda olduğu gibi akciğer kanseri, kronik solunum hastalıkları gibi ciddi hastalıklardır. Bunun yanı sıra, öğrenmede azalma, beyinde küçülme, bazı motor yetilerinin kaybedilmesi ve bellek bozuklukları gibi etkileri de görülmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmamızda Kullanılan İdrar Örneklerinin Belirlenmesi

Rutin uygulamada hastanemiz Tıbbi Biyokimya laboratuvarında uyuşturucu madde analizleri yapıldıktan sonra, eşik değeri üzerinde sonuçlanan idrar örnekleri 3 ayrı şahit numune ayrılıp dondurularak saklanmaktadır. Saklanmış olan idrar örnekleri arasından 11 nor delta 9 THC -9-COOH testi için eşik değeri olan 50 ng/ml ye göre, ölçüm belirsizliği düzeyimiz hesaplandıktan sonra, bu belirsizlik sınırlarında eşik değeri geçen pozitif örnekler ve negatif örnekler, idrar kreatinin değeri 20-300 mg/dl arasında olanlar gözetilerek rastgele örnekleme yolu ile son altı aylık örnekler arasından seçildi.

3.2.Çalışma Materyalleri

Çalışmamız üç aşamalı olarak gerçekleştirildi:

Birinci aşama: Ölçüm belirsizliğinin hesaplanması

- a. Rutin çalışmalar sırasında kullanılan son bir yıldır yapılan internal kalite kontrol sonuçları ile CV değeri hesaplandı.
- b. Testin standart kalibratörüne ait belirsizlik değerleri elde edildi.
- c. Dış kalite kontrol materyaline ait belirsizlik değerleri elde edildi.

İkinci aşama:

Eşik değere göre pozitif ya da negatif olarak belirlenen, 30-80 ng/ml arasında raporlanan, örnekler rastgele yöntemle seçildi, çözdürülerek hazırlandı. Aynı çalışma koşullarında, aynı gün ve saatte laboratuvarında kullandığımız ve ölçüm belirsizliğini hesapladığımız cihaz ile tekrar çalışıldı.

Üçüncü aşama:

Seçilmiş olan tüm örnekler uyuşturucu madde analizlerinde referans yöntem olarak kabul edilen gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC MS) yöntemi ile tekrar çalışıldı.

3.2.1.İnternal Kalite Kontrol Materyali

Düşük seviye Siemens EmittII Plus kontrol Lot numarası: 423-71880

Yüksek seviye Siemens EmittII Plus kontrol Lot numarası: 424-72540

3.2.2.Test Kalibratör Bilgi ve Belgeleri

THC nin beş seviye kalibratörü (Siemens Syva Emit Calibrator) vardır. Laboratuvarımızda dört seviye kontrolü kullanılmaktadır.

Tablo 1: 11 nor delta 9 THC-9-COOH Kalibratör Bilgileri

Syva Emit Kalibratör	11norΔ 9 THC-9-COOH	Lot numaraları
Düzy 0	0 ng/dl	K2
Düzy 2	20 ng/dl	K2
Düzy 3	50 ng/dl	K3
Düzy 4	100 ng/dl	K4

3.2.3.Belirsizliğin Bias Komponentinin Hesaplanması

Bias komponentini hesaplamak için bir çok değişik yöntem izlenebilir. Ölçüm sonucunun gerçek olduğu varsayılan değerden sapması olarak bilinen yanlışlık;sertifikalı referans materyal (CRM) ile değerlendirilebilir, laboratuvarlar arası karşılaştırma ile değerlendirilebilir. Klinik laboratuvarlar için en uygun ve kolay olan yöntem laboratuvarlar arası karşılaştırmayı gösteren ilgili analite ait eksternal kalite kontrol verilerine dayandırılmaktadır.

Uyuşturucu madde analizleri için CRM sağlanması Sağlık Bakanlığı'nın iznine tabi olduğundan ve gümrükten geçiş izni için prosedürleri sağlamanın zorluğundan dolayı çalışmamızda eksternal kalite kontrol verileri kullanılmıştır.

Belirsizliğin Bias komponentinin hesaplanması için;Eksternal Kalite Kontrol Belgeleri

LGC (ISO 9001 - ISO/IEC 17025 - ISO Guide 34 - GMP/GLP - ISO 13485 - ISO/IEC 17043)

DAU (Drug of Abuse in Urine)

Numara:1701944

Route ID:WESE20004160

Lab ID:DU 1064

3.3.Kullanılan Otoanalizör Bilgisi

Siemens Dimension EXL 200 (ABD) cihazı ile çalışılmıştır.

3.4. Uyuşturucu Madde Analizi için Kullandığımız Yöntemler

Tarama analiz yöntemleri immunokimyasal tekniğe dayanırlar. Hasta başı cihazlarla (lateral flow immunokromatografi) veya laboratuvardaki otoanalizörlerle işaretli immunassay yöntemler (Enzyme multiplied immuno assay technique, EMIT; Cloned enzyme donor immuno assay, CEDIA; Chemiluminescence immuno assay, CLIA; Fluorescence polarization immuno assay, FPIA) ile kalitatif veya semi- kantitatif olarak uygulanırlar. Tek bir maddeye spesifik olmayıp başka moleküllere çapraz reaksiyon (interferans) verebilirler.

Doğrulama analiz yöntemleri ise instrumental tekniğe dayanırlar. Kromatografi ile bütünleşik kütle spektrometri cihazlarında (GC-MS, LC-MS/MS) kantitatif olarak uygulanırlar. Özgüllüğü yüksek olduğundan molekülü tanırlar/ ayırt ederler ve bu nedenle doğrulayıcıdırlar.

Laboratuvarımızda kullanılan yöntem EmitII Plus (Enzyme multiplied immunoassay technique) İmmun ölçüm yöntemidir. Sonuçlar ng/ml olarak raporlanır.

İmmun Yöntemle Analiz:

Siemens EmitII plus kitleri kullanılmaktadır. Her kutuda yirmi testlik dört flex halinde toplam 80 test yer almaktadır. Her flexde reaksiyonda kullanılan poliklonal antikorun, G6PD enziminin ve substratın yer aldığı kuyucuklar bulunmaktadır.

Yöntem, antikorun bağlanma bölgeleri için idrar örneğinde bulunan antijenin ve kitte bulunan G6PD (Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz) enzim işaretli antijenin yarışmasına dayanmaktadır.

SAMSHA (Substance Abuse and Mental Health Administration)'ya göre immün yöntemlerde THC için kabul edilen idari eşik değer 50 ng/ml'dir.

Bu yöntem için ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır.

THC-Karboksilik Asit GC/MS Yöntemi:

THC-COOH (THC-ana metabolit) tespit edebilmek için; dötereinternal standart (THC-COOH-d3) ile spike edilen 1 mL idrar numunesine hidroliz sonrası katı faz

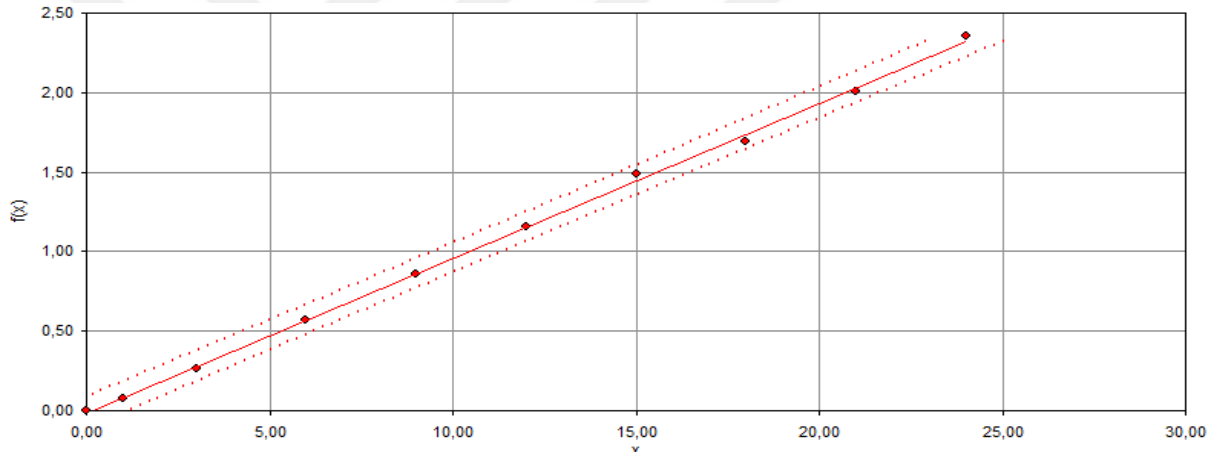
ekstraksiyonu uygulandı. Ekstraksiyon sonrası numuneler açılma türevlendirmesi yapıp, çözme işlemi sonrası SIM modda (Single Ion Mode) , GC/MS-EI (Shimadzu, QP2010-Plus) ile analiz edildi.

Negatif idrar havuzundan hazırlanan kalibratörler ile çizilen Lineer 10-noktalı kalibrasyon eğrisi (Şekil 6; 0-24 ng/mL) kullanılarak sonuçlar değerlendirildi.

LOD: <1ng/mL

LOQ: 3ng/mL'dir.

SAMSHA (Substance Abuse and Mental Health Administration)'ya göre kromatografik yöntemlerde THC için kabul edilen idari eşik değeri 15 ng/ml'dir.



Şekil 6: GC/MS ile Lineer 10-noktalı kalibrasyon eğrisi

Kromatografik analizlerimiz Toksilab (İstanbul) laboratuvarında çalışılmıştır.

3.5.Belirsizlik kaynaklarının tespiti ve Birleşik Belirsizliğin Hesaplanması

Ana belirsizlik kaynağı kalibratöre ait olsa da; numunenin laboratuara gelme aşaması, ön hazırlık aşamaları, sistem ya da kullanıcı değişimlerinden kaynaklanan faktörler gibi preanalitik etkilerin de belirsizlik bileşeni olarak belirsizliğe etkisi vardır.

Bizim laboratuvarımızda kullanılan EmitII Plus immün yönteminde örnek cihaza girmeden önce herhangi bir ön işleme tabi tutulmadığından ve hasta örnekleri ile kontrol örneklerinin analize alınma süreçleri aynı olduğundan ön hazırlık aşamaları ile ilgili belirsizlik bileşeni yok kabul edilmiştir. Tezimizde analitik sürecin ölçüm belirsizliği hesaplanmış, preanalitik evre aşaması bu çalışmanın dışında bırakılmıştır.

Ortam ısısı, nem değerleri, ışıklandırma ile ilgili koşullar günler arasında sabit olduğundan belirsizliğe etkisi gözardı edilmiştir.

Örneğin biyolojik varyasyonları ölçümü etkileyen belirsizlik sebebi olarak düşünülebilirse de bu türlü bir etkinin değerlendirilmesi, 11 nor delta 9-THC-COOH için olası değildir. Biyolojik varyasyon, uygun olan test parametreleri için ölçüm belirsizliği yanında ayrıca raporlanması gereken bir parametredir.

Belirsizlik hesaplanmasında çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır. Çalışmamızda testlerin ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında NORDTEST rehberleri esas alınmıştır. Yapılan analizlerdeki belirsizlik kaynakları şunlardır;

- 1.Kalibratör belirsizliği (U kalibratör)
- 2.İç kalite kontrol programından gelen belirsizlik (URw)
- 3.Dış kalite kontrol programından gelen belirsizlik (Ubias)

Sonuçta bulunacak olan birleşik belirsizlik aşağıdaki formül ile ifade edilmiş olacaktır.

$$Uc = \sqrt{U_{kalibratör}^2 + URw^2 + Ubias^2}$$

Sonra genişletilmiş belirsizlik, sonuçların %95'ini temsil edebilmesi için, birleşik belirsizliğin 2 çarpanı ile çarpılması ile elde edilir. Bulunan aralık sonuç değerini etkileyecek sınırları işaret eder.

3.5.1. Kalibratör ve Kalibrasyon Belirsizliği

Kullanılan kalibrasyon materyalinin ölçüm belirsizliği değerini genişletilmiş ölçüm belirsizliği hesaplarında yer alabilmesi için üretici firma tarafından kalibratörün belirsizliğinin bildirilmesi gereklidir. THC kalibrasyonunda kullanılan multdrug kalibratörün ölçüm belirsizliği değeri kalibrasyon sertifikalarında yer almaktadır. Ayrıca kalibratör sertifikalarında, gaz kromatografisi yöntemi ile miktarı kanıtlanmış THC düzeyleri bulunmaktadır.

Tablo 2: Emit II plus multdrug kalibratör, THC konsantrasyonu:0 ng/ml

CERTIFICATE OF ANALYSIS	
PRODUCT DESCRIPTION:	EMIT II Plus Multidrug Calibrator0
MATERIAL/CATALOG NO.:	9A509UL
LOT NO.:	K2
EXPIRATION DATE: (YYYY-MM-DD)	2018-07-05
MANUFACTURED DATE: (YYYY-MM-DD)	2017-07-05
RELEASE DATE: (YYYY-MM-DD)	2017-08-10
RELEASED BY:	ROBIN WALKER (QA RELEASE)

Tablo 3: Emit II plus multdrug kalibratör, THC konsantrasyonu:20 ng/ml

CERTIFICATE OF ANALYSIS	
PRODUCT DESCRIPTION:	EMIT II Plus Multidrug Calibrator2
MATERIAL/CATALOG NO.:	9A549UL
LOT NO.:	K2
EXPIRATION DATE: (YYYY-MM-DD)	2018-05-25
MANUFACTURED DATE: (YYYY-MM-DD)	2017-08-25
RELEASE DATE: (YYYY-MM-DD)	2017-09-20
RELEASED BY:	Jacqueline Haynes (QA RELEASE)

Tablo 4: Emit II plus multidrug kalibratör, THC konsantrasyonu:50 ng/ml

CERTIFICATE OF ANALYSIS	
PRODUCT DESCRIPTION:	EMIT II Plus Multidrug Calibrator3
MATERIAL/CATALOG NO.:	9A569UL
LOT NO.:	K3
EXPIRATION DATE: (YYYY-MM-DD)	2018-05-03
MANUFACTURED DATE: (YYYY-MM-DD)	2017-08-03
RELEASE DATE: (YYYY-MM-DD)	2017-09-07
RELEASED BY:	ROBIN WALKER (QA RELEASE)

Tablo 5: Emit II plus multidrug kalibratör, THC konsantrasyonu:100 ng/ml

CERTIFICATE OF ANALYSIS	
PRODUCT DESCRIPTION:	EMIT II Plus Multidrug Calibrator4
MATERIAL/CATALOG NO.:	9A589UL
LOT NO.:	K4
EXPIRATION DATE: (YYYY-MM-DD)	2018-05-25
MANUFACTURED DATE: (YYYY-MM-DD)	2017-08-25
RELEASE DATE: (YYYY-MM-DD)	2017-09-20
RELEASED BY:	Jacqueline Haynes (QA RELEASE)

Delta9- tetrahidrokannabinol (delta9-THC, kannabinoid) ait 3 düzey kalibratörfarkı zamanlarda 10 defa çalışıldı.

Tablo 6: THC; 20 ng/ml, Emit II Plus Kalibratör Doğruluk Çalışması

Çalışma Sıralaması	Çalışma Tarihi	Analiz Sonucu		
1	25.10.2017	22	Ortalama	21.1
2	28.10.2017	21	SD	1.100
3	01.11.2017	22	%CV	5.215
4	03.11.2017	21	% Bias	5.5
5	06.11.2017	21		
6	09.11.2017	19		
7	13.11.2017	21		
8	15.11.2017	21		
9	17.11.2017	20		
10	20.11.2017	23		

Tablo 7: THC; 50 ng/ml, Emit II Plus Kalibratör Doğruluk Çalışması

Çalışma Sıralaması	Çalışma Tarihi	Analiz Sonucu		
1	25.10.2017	45	Ortalama	47.8
2	28.10.2017	54	SD	3.4576807
3	01.11.2017	45	%CV	7.2336416
4	03.11.2017	44	% Bias	-4.4
5	06.11.2017	44		
6	09.11.2017	51		
7	13.11.2017	49		
8	15.11.2017	46		
9	17.11.2017	50		
10	20.11.2017	50		

Tablo 8: THC; 100 ng/ml, Emit II Plus Kalibratör Doğruluk Çalışması

Çalışma Sıralaması	Çalışma Tarihi	Analiz Sonucu		
		1	25.10.2017	94
2	28.10.2017	96	SD	3.533
3	01.11.2017	94	%CV	3.775
4	03.11.2017	98	% Bias	6.4
5	06.11.2017	91		
6	09.11.2017	89		
7	13.11.2017	91		
8	15.11.2017	95		
9	17.11.2017	99		
10	20.11.2017	89		

$$U(bias) = \sqrt{(RMS)bias^2}$$

$$RMS\ bias^2 = \% bias_1^2 + \% bias_2^2 + \% bias_3^2 / 3$$

$$= (5.5)^2 + (4.4)^2 + (6.4)^2 / 3$$

$$= (30.25 + 19.36 + 40.96) / 3$$

$$U(bias) = \sqrt{90.57/3}$$

$$U(bias) = 5.49 \text{ (birimsiz)}$$

3.5.2. Tekrarlanabilirliğin Belirsizliği

İlgili analit için elimizde bulunan iç kalite kontrol örneklerine ait belirsizliğin hesaplanması gerekmektedir. Bu verilerden ölçüm belirsizliğinin bir bileşeni olan R_w komponenti hesaplanır ve Tip A belirsizliği olarak kabul edilir.

Eğer iç kalite kontrol serumları farklı lot no'larından oluşuyorsa aşağıdaki formülle R_w değeri hesaplanır.

$$R_w = \sqrt{(I_1^2 + I_2^2 + \dots)ns + (I_1^2 + I_2^2 + \dots)ps/N}$$

I_1 = Birinci lot için %CV değeri

I2 = İkinci lot için %CV değeri

I3 = Üçüncü lot için %CV değeri

ns = Normal seviyede kontrol materyali

ps = Patolojik seviyede kontrol materyali

N = Toplam kontrol sayısı

İnternal kalite kontrol verilerinden toplam ölçüm belirsizliğinin bir bileşimi olan Rw komponentinin hesaplanması. Eğer internal kalite kontrol materyali,normal ölçümde örneğin geçtiği tüm aşamaları geçiyorsa Rw değeri yeterlidir. Bu tip belirsizliğe A tipi belirsizlik denir.

Bu hesaplama yönteminde kullanılan her seviye kalite kontrol materyalinin farklı her lotu için ayrı ayrı CV değerleri hesaplanır ve ortalamaları alınır.

Temmuz 2017- Kasım 2017 tarihleri arasındaki İKK verileri kullanılmıştır. Normal ve patolojik düzeylerdeki kontrol materyallerinin (THC için EMIT Liquicheck urine toxicology kontrol set low/high,lot no:71880/72540, ABD) iç kalite kontrol sonuçları toplandı ve Rölatif Standart Deviasyon (RSD) değerleri hesaplandı. Bu verilerle de normal ve patolojik kontrollerin %CV'leri hesaplandı.

Verilen tarih aralığında kontrol materyalinde lot değişimi olmadığından değerlendirmeler tek lot üzerinden yapıldı.

Tablo 9: Cihaz Üzerindeki Kalite Kontrol Modülünden Elde Edilen SD ve %CV Değerleri.

	Urine QC 1	Urine QC 2
Expected mean	35.4	70.6
Actuel mean	32.3	70
SD	6.52	9.57
%CV (RSD)	20.2	13.7

$Rw = \sqrt{(\%RSD\ normal^2 + \%RSD\ patolojik^2)/2}$ formülünden Rw'ler hesapladı.

URw=Rw/2

Rw= İlgili analit için iç kalite kontrollerinin birleşik belirsizliği

URw= Rw'nin standart belirsizliğe dönüştürülmesinden elde edilir

$$\begin{aligned}
Rw &= \sqrt{(20.2)^2 + (13,7)^2} / 2 \\
&= \sqrt{(408.04 + 187.69) / 2} \\
&= \sqrt{297.86} \\
&= 17.25
\end{aligned}$$

$$URw = 17.25 / 2$$

$$URw = 8.62 \text{ (birimsiz)}$$

3.5.3. Dış Kalite Kontrol Programından Gelen Belirsizlik

Çalışmamızda kullanılan dış kalite kontrol programlarından alınan metoda bağlı belirsizlik değerleri bulunmaktadır.

Belirsizliğin Bias komponentinin hesaplanması

Eksternal kalite kontrol verileri için geçmişe yönelik en azından bir yıllık eksternal kalite kontrol verileri bias komponentinin hesaplanmasında kullanılır.

$$RMS \text{ bias}^2 = (\% \text{ bias}_1^2 + \% \text{ bias}_2^2 + \% \text{ bias}_3^2 \dots \% \text{ bias}_n^2) / n$$

LGC(ISO 9001 - ISO/IEC 17025 - ISO Guide 34 - GMP/GLP - ISO 13485 - ISO/IEC 17043)

DAU (Drug of Abuse in Urine) Distribution .Dış kalite kontrol programı ile 2017 yılında üç ay ara ile her birinde üç örnek olmak üzere toplam dokuz örnek çalışılmıştır. Her örneğin bias değeri alınarak U bias hesaplandı.

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

$$u(\text{Cref})^2 = \% \text{ bias}_{\text{metot+cihaz}} / \sqrt{n}$$

$\% \text{ bias}_{\text{metot+cihaz}}$ = eksternal kalite kontrol programından elde edilen grup bias değerleri

n = aynı eksternal kalite kontrol programına katılıp aynı metod ve cihaz ile çalışan laboratuvarlar arasından sonuçları kabul edilen laboratuvar sayısı

Tablo 10 :Birinci Siklus Dış Kalite Kontrol Sonuç Raporu

	Kalite kontrol materyaline spike yapılarak eklenen ve beklenen sonuç (ng/ml)	Laboratuvarımızda elde edilen sonuç ng/ml	Bias sonucu Ölçülen değer- Hedef değer / Hedef değer	Raporda bildirilen belirsizlik sonucu
Round 123 örnek 1	2.55 ng/ml	4.0 ng/ml	0,568	1.49
Round 123 örnek 2	8.50 ng/ml	4.0 ng/ml	0.529	2.97
Round 123 Örnek 3	1.90 ng/ml	1.0 ng/ml	0.473	0.78

Tablo11:İkinci Siklus Dış Kalite Kontrol Sonuç Raporu

	Kalite kontrol materyaline spike yapılarak eklenen ve beklenen sonuç ng/ml	Laboratuvarımızda elde edilen sonuç ng/ml	Bias sonucu Ölçülen değer- Hedef değer / Hedef değer	Raporda bildirilen belirsizlik sonucu
Round 124 örnek 1	4.01 ng/ml	1.0 ng/ml	2.25	1.81
Round 124 örnek 2	2.0 ng/ml	2.0 ng/ml	0	1.84
Round 124 Örnek 3	120.0 ng/ml	137.0 ng/ml	0.14	5.65

Tablo 12 : Üçüncü Siklus Dış Kalite Kontrol Sonuç Raporu

	Kalite kontrol materyaline spike yapılarak eklenen ve beklenen sonuç ng/ml	Laboratuvarımızda elde edilen sonuç ng/ml	Bias sonucu Ölçülen değer-Hedef değer / Hedef değer	Raporda bildirilen belirsizlik sonucu
Round 125 örnek 1	4.0 ng/ml	1.0 ng/ml	0,75	1.79
Round 125 örnek 2	30.0 ng/ml	27.0 ng/ml	0.10	1.53
Round 125 örnek 3	2.0 ng/ml	1.0 ng/ml	0.50	1.30

Dış kalite kontrol raporlarında verilmiş olan ölçüm belirsizliği değerleri hesaplamalarda kullanıldı, 9 adet belirsizlik değeri kullanılarak ortalaması alındı.

$$U \text{ bias} = (1.49 + 2.97 + 0.78 + 1.81 + 1.84 + 5.65 + 1.79 + 1.53 + 1.30) / 9$$

$$= 19.16 / 9$$

$$= 2.12 \text{ (Birimsiz)}$$

3.5.4. Birleşik Belirsizlik

Tahmin edilen bütün belirsizlik kaynaklarından gelen birimsiz standart belirsizlikler birleştirilerek birimsiz birleşik belirsizlik (U_c) bulundu.

$$U_c = \sqrt{U_{\text{kalibratör}}^2 + URw^2 + Ubias^2}$$

$U_{\text{kalibratör}}$ = Üretici firmanın kalibratör standart belirsizliği

URw = İç kalite kontrolden hesaplanan standart belirsizlik

U_{bias} = Dış kalite kontrol programından gelen standart belirsizlik

Tahmin edilen bütün belirsizlik kaynaklarından gelen birimsiz standart belirsizlikler birleştirilerek birimsiz birleşik belirsizlik (U_c) bulundu.

$$U_c = \sqrt{(5.49)^2 + (8.625)^2 + (2.12)^2}$$

$$U_c = \sqrt{30.14 + 74.39 + 4.49}$$

$$U_c = \sqrt{109.02}$$

$$U_c = 10.44 \text{ (Birimsiz)}$$

3.5.5. Genişletilmiş Belirsizliğin Hesaplanması

Hesaplamaların son basamağında seçilen bir faktörle (coverage faktör) birleşik standart belirsizlik çarpıldı ve genişletilmiş standart belirsizlik hesaplandı. Genişletilmiş belirsizliğin ölçülen büyüklüğe atfedilen ve geniş bir dağılım gösteren değerleri içine alması istenir.

Rastgele etkilerin değerlendirilmesi için yapılan ölçümlerde yeterli serbestlik derecesi sağlandığından yaklaşık %95 güven seviyesi için k faktörü iki alındı. Birleşik standart belirsizlik 2 ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik (U_x) bulundu.

$$U_x = 2 \times U_c$$

$$U_x = 2 \times 10.44$$

$$U_x = 20.88 \text{ (Birimsiz)}$$

%20,88 olarak ifade edilir = 0.20 olarak kullanılabilir.

3.5.6. Belirsizliğin Raporlanması

Hesaplamalar sonunda bulduğumuz genişletilmiş belirsizlik (U_x) birimsizdir. Herhangi bir sonuç;

Rapor edilirken;

Analizin Ölçüm Belirsizliği Eklenmiş Sonucu

= **Bulunan Sonuç (Birimli)** \pm (U_x) \times **Bulunan sonuç (birimli)** şeklinde rapor edilir.

Böylece önceden yöntem için hesaplanmış birimsiz (rölatif; ortalamaya oranlı) genişletilmiş belirsizlik, analiz sonucu ile çarpılarak o sonuca ait genişletilmiş belirsizlik bulunmuş olur.

Tüm hasta sonuçları genişletilmiş belirsizlik değeri ile çarpılıp birimli hale getirilerek, herbir örnek için elde edilen değer, örneğin analiz sonucuna \pm değer olarak eklenebilir.

3.6.İstatistiksel Yöntem:

Emit II Plus immun yöntemle çalışılan örnek sonuçları ile aynı örneklerin GC-MS yöntemi ile çalışma sonuçları Pearson korelasyon analizi ile karşılaştırıldı.

$p=0.000$ anlamlı olarak elde edildi.

$r=0.776$



4.BULGULAR

4.1.Belirsizliğin Hesaplanması

4.1.1.Kalibratör ve Kalibrasyon Belirsizliği :

Ukalibratör=5.49 (birimsiz)

4.1.2.İç Kalite Kontrol Programından Gelen Belirsizlik Sonucu

URw =8.62 (birimsiz)

4.1.3.Dış Kalite Kontrol Programından Gelen Belirsizlik Sonucu:

Ubias=2.12 (birimsiz)

4.1.4.Birleşik Standart Belirsizlik Sonucu:

Uc= 10.44 (birimsiz)

4.1.5. Genişletilmiş Belirsizlik Sonucu:

U_X=20.88 (birimsiz)

=%20.88

4.2. Bulunan Belirsizlik Değerinin Hasta Örneklerine Uygulanması:

Hesapladığımız genişletilmiş belirsizlik değerimizi gözönünde bulundurarak çoğu eşik değer üzerinde olmak üzere 50 örnek rastgele yöntemle seçildi. (Bu örneklerin eşik değer üzerinde olanları rutin uygulama kapsamında -80 derecede dondurularak saklananlar arasındaydı)

Rutin numune çalışma kapsamında hasta örneği laboratuvara ilk geliş gününde iki kez çalışılmış ve rutin sonuçlar rapor edilmiştir. Bu sonuçlar tabloda görülmektedir. (tablo 13, sütun 1 ve sütun 2)

Seçilen örnekler oda ısısında çözdürülerek aynı gün ve aynı çalışma düzeneğinde bir kere daha laboratuvarımızda kullanılan immün yöntemle tekrar çalışıldı (tablo 13, sütun 4).

Bulunan belirsizlik değeri olan %20.88 (0.2088) her hasta sonucu için, ilgili sonuçla çarpıldı ve herbir sonucun kendi belirsizliği bulundu (tablo 13, sütun 5). Ve her bir sonuca o sonuca ait belirsizlik eklendi ve çıkarıldı.

Tüm örnekler GC-MS ile çalışıldı. Sonuçları tabloda verilmiştir (tablo 13, sütun 6).

Tablo 13: Rastgele örneklem yöntemi ile seçilmiş idrar numunelerine ait sonuçlar

Örnek no	İlk çalışma Sonucu (ng/ml)	Tekrar çalışması (ng/ml)	EMIT sonucu (ng/ml) 05.12.2017 tarihli çalışma sonucu İdari eşik değeri: 50 ng/ml	Her hastanın Emt II plus analiz sonucu x U_x (%20,88) =0,2088 ng/ml	GC/MS sonucu (ng/ml) 05.12.2017 tarihli çalışma sonucu idari eşik değeri: 15 ng/ml	Ölçüm Belirsizliği değeri eklenmiş ve çıkarılmış immun yöntem Analiz Sonuçları ng/ml	
1	57	56	48	11.90	12,83	57±11.90	Yanlış pozitif
2	55	57	37	11.48	13,06	55±11.48	Yanlış pozitif
3	52	53	37	10.85	14,67	52±10.85	Yanlış pozitif
4	60	57	43	12.52	18,5	60±12.52	Gerçek pozitif
5	61	54	47	12.73	23,89	61±12.73	Gerçek pozitif
6	72	79	72	15.03	100	72±15.03	Gerçek pozitif
7	55	52	54	11.48	22,99	55±11.48	Gerçek pozitif
8	63	65	53	13.15	22,33	63±13.15	Gerçek pozitif
9	57	62	50	11.90	17,61	57±11.90	Gerçek pozitif
10	62	59	61	12,94	29,6	62±12,94	Gerçek pozitif

11	62		51	12.94	26,16	62±12.94	Gerçek pozitif
12	53	56	40	11.06	17,4	53±11.06	Gerçek pozitif
13	53	54	41	11.06	11,37	53±11.06	Yanlış pozitif
14	52	52	36	10.85	5,94	52±10.85	Yanlış pozitif
15	51	50	42	10.64	20,9	51±10.64	Gerçek pozitif
16	52	57	39	10.85	15,52	52±10.85	Gerçek pozitif
17	52	53	34	10.85	10,84	52±10.85	Yanlış pozitif
18	61	58	66	12.73	25,17	61±12.73	Gerçek pozitif
19	61	59	54	12.73	19,99	61±12.73	Gerçek pozitif
20	56	51	40	11.69	4,93	56±11.69	Yanlış pozitif
21	68		61	14.19	29,41	68±14.19	Gerçek pozitif
22	68	81	68	14.19	100	68±14.19	Gerçek pozitif
23	66		49	13.78	19,36	66±13.78	Gerçek pozitif
24	61	57	40	12.73	23,27	61±12.73	Gerçek pozitif
25	77		65	16.07	25,36	77±16.07	Gerçek pozitif
26	71		55	14.82	24,27	71±14.82	Gerçek pozitif
27	65		56	13.57	19,18	65±13.57	Gerçek pozitif
28	68		61	14.19	21,84	68±14.19	Gerçek pozitif
29	63		37	13.15	11,27	63±13.15	Yanlış pozitif
30	56	57	44	11.69	16,67	56±11.69	Gerçek pozitif
31	61	56	40	12.73	26,02	61±12.73	Gerçek pozitif

32	70	75	70	14.61	100	70±14.61	Gerçek pozitif
33	74	78	74	15.45	100	74±15.45	Gerçek pozitif
34	57	55	53	11.90	20,16	57±11.90	Gerçek pozitif
35	59	58	62	12.31	24,63	59±12,31	Gerçek pozitif
36	73		73	15.24	100	73±15.24	Gerçek pozitif
37	58	53	54	12.11	22,19	58±12.11	Gerçek pozitif
38	56	55	48	11.69	21,51	56±11.69	Gerçek pozitif
39	59		50	12.31	20,87	59±12.31	Gerçek pozitif
40	73	65	73	15.24	100	73±15.24	Gerçek pozitif
41	72	77	72	15.03	100	72±15.03	Gerçek pozitif
42	48		44	10.02	14,01	48±10.02	Gerçek negatif
43	45		43	9.39	22,91	45±9.39	Yanlış negatif
44	42		35	8.76	19,27	42±8.76	Yanlış negatif
45	45		43	9.39	13.42	45±9.39	Gerçek negatif
46	45		35	9.39	15,82	45±9.39	Yanlış negatif
47	42		50	8.76	14,93	42±8.76	Gerçek negatif
48	48	53	60	10.02	20,21	48±10.02	Yanlış negatif
49	30		33	6.26	12,05	30±6,26	Gerçek negatif
50	50	43	29	10.44	13,68	50±10.44	Yanlış pozitif

- Bu analiz sonuçları arasında 19 örneğin ilk geldiği andaki çalışma sonucu, eşik değer üstünde raporlanmışken örnekler çözüldükten sonra tekrar toplu çalışma gününde eşik değer altında bulunmuştur. Yani **yanlış pozitif**

olarak verilmiş olma şüphesi vardır.

- İki örnek (47 ve 48. örnekler) ilk çalışmada eşik altı değerlerde sonuçlanmış ve raporlanmıştır. Ancak aynı örneklerin sonucu, toplu çalışma gününde eşik üstü olarak saptanmıştır. **Yani yanlış negatif olarak verilmiş olma şüphesi vardır.**
- Tüm örnekler referans yöntem olan GC-MS ile çalışıldığında ise, yanlış pozitif olma şüphesi olan 19 örneğin 9 tanesi GC MS ile 15 ng/ml altında saptanmıştır, ve bu durumda bu dokuz örnek laboratuvara ilk kabul edildiklerinde yapılan analize göre **yanlış pozitif** olarak raporlandığı görülmüştür.
- İlk kabuldeki analiz sonucu, toplu analiz gününde elde edilen sonuca göre karşılaştırıldığında, Emit yöntemi ile, yanlış negatif şüphesi olan 2 örneğin ise bir tanesi (48. örnek) GC-MS ile 15 ng/ml üstünde saptanmış ve gerçekten **yanlış negatif** olarak raporlandığı anlaşılmıştır.

Örneğin laboratuvara ilk kabulünde yapılan analiz sonuçları, genişletilmiş belirsizlik hesabı ile bulunan 0.2088 (%20.88) değeri ile çarpılıp, böylece o sonuç için bulunan ölçüm belirsizliği değeri ile değerlendirildiğinde, bu sonucun gerçekte ölçüm belirsizliği kadar daha yüksek ya da daha düşük olabileceği düşünülmektedir. GC-MS den elde edilen sonuca göre, yanlış pozitif olarak verilen 9 örneğin sonuçları ölçüm belirsizliğinde bulunan sayı kadar eksikliği ile değerlendirildiğinde tümünün eşik değer olan 50 ng/ml altına indiği görülmektedir.

Benzer şekilde yanlış negatif olarak verilen 48. örneğin 48 ng/ml olan sonucuna 10.02 olan belirsizlik değeri eklendiğinde eşik değer olan 50 ng/ml üzerinde olabileceği düşünülebilirdi.

5.TARTIŞMA

Akreditasyon süreci kalitenin sürekliliğini, güvenilirliğini disiplin altına almayı amaçlar. Metroloji bilimindeki son gelişmeler yeni kavramlarla karşılaşılmasına neden olmuştur. Bu kavramlardan biri ölçüm belirsizliğidir.

Ölçüm belirsizliği, bir ölçümün sonucu ile ilgili olası alt ve üst sınırları tanımlayan istatistiksel bir parametredir. Analizle ilgili kesinliğe atfedilen tekrarlanabilirlik ve yanlılığa atfedilen doğruluk çalışmaları ile ölçüm belirsizliği değerleri bulunur. Ölçüm belirsizliği değerinin düşük olması laboratuvarın güvenilirliği ile ilişkili olacaktır.

Klinik laboratuvarlarda yapılan bir ölçümün sonucu, ancak laboratuvarın o teste ait belirsizliğinin kantitatif olarak tanımlanması ile mümkündür.

Uyuşturucu madde analiz sonuçları Amatem kliniği olan hastanelerde ve acil servislerde medikal amaçlı olarak ve denetimli serbestlik polikliniklerinde idari cezalandırmalar amacı ile kullanılmaktadır. Kötüye kullanılan her bir uyuşturucu madde analizi parametresi için klavuzlarda belirlenmiş, yöntemine göre değişen idari eşik değerler vardır.

Analiz sonuçları klinisyen tarafından değerlendirilirken, rutin uygulamamızda, hastanın klinik durumu ya da kendi bildiri ile korele olmayan sonuçlar için laboratuvarımızdan testlerin doğruluğu ile ilgili bilgi ve destek istenmemektedir. Ve gerektiğinde bazı test örnekleri doğrulama için doğrulama laboratuvarlarına gönderilmektedir.

Özellikle bu türlü durumlarda laboratuvarımızca verdiğimiz analiz sonucunun belirsizlik değerinin tanımlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu amaçla son iki yıllık verilerimize göre yapılan analizler sonrası uyuşturucu maddeler arasında, gerek daha yaygın kullanılması, gerekse diğerlerine göre yağ dokusunda daha fazla oranda depolanma ve bu nedenle idrarda daha uzun süre bulunabilme özelliğinden ötürü, en fazla oranda eşik üstü raporlama yaptığımız esrar testi için ölçüm belirsizliği değerini ortaya koymak istedik.

Hesaplamalarımız için özellikle eşik değere yakın rapor edilen örnekler seçildi. Ölçüm belirsizliği için çeşitli araştırmalarda kullanılan yöntemler analiz edildiğinde, farklı yaklaşımların olduğu görüldü. Bunların arasında yapılan derleme

sonucunda en kolay anlaşılabilen yöntemin Nordtest klavuzunda önerildiği gibi, internal kalite kontrol sonuçlarından elde edilen kesinlik ölçüsü %CV değerleri ve external kalite kontrol raporlarından elde edilen yanlışlık ölçüsü %bias değerlerinin kullanımı ile olacağı sonucuna varıldı.

Bias hesaplaması için, özellikle uyuşturucu madde analizlerinde, sertifikalı bir referans materyalin (CRM) kullanılması, external kalite kontrol raporlarından elde edilen belirsizliği kullanmak yerine öncelikli olarak tercih edilirdi. Ancak böylesi bir örneğin sağlanması kolay olmadığından, Aslan ve arkadaşlarının(1) çalışmasında olduğu gibi uyuşturucu madde analizinde bias hesabı dış kalite kontrol sonuçları ile yapıldı. Bunlara ek olarak kalibratör belirsizliği değeri firma tarafından verilen sertifikalardan elde edildi. Kalibratörümüze bağlı belirsizlik değerleri aynı zamanda rutin olarak uyuşturucu madde örneklerimizi analiz etmek için kullanılan otomatik analizörümüzde ölçüldü.

Bu ölçümler sırasında rutin kullanımımızda kapağı açılarak kullanılmaya başlandıktan sonra 20-30 günlük sürede porsiyonlanmadan ve dondurulmadan +4 derecede saklayarak kullandığımız kalibratörümüzün ilk günkü değerine göre 20-30 günlük süreçte değiştirilmeden kullanılmasının yanlışlık anlamında sonuçlara etkisi bias değeri hesaplanarak değerlendirildi ve Kalibratör olarak sonuç hesaplamalarına eklendi. Bu değer 5,49 olarak bulundu. Firma tarafından verilen 5,9 değeri ile uyumluydu.

Aynı kalibratörün 30 günlük kullanımı süresince analizör ile ilgili fonksiyonların değişmiş olabileceği faktörü ise, sistem kontrol solüsyonları ile, her çalışma günü, analizörün örnek probu, reaktif probu, lamba ışması değerlerinin 30 günlük sürede değişmemesinin kontrol edilmesi ile gözardı edilebildi.

İlk olarak belirsizlik değerlerinin (kalibratör belirsizliği, iç kalite kontrol verilerinden gelen belirsizlik ve dış kalite kontrol verilerinden gelen belirsizlik) hesaplanmasından sonra bu verilerden birleşik belirsizlik ve genişletilmiş belirsizlikler elde edildi. Bu amaçla; hesaplanan genişletilmiş belirsizlikler ile çalışılan hastalar tekrar gözden geçirildi. Hastanın raporlanmış olan sonucuna genişletilmiş belirsizlik değeri eklenerek her bir hastanın belirsizlikle olabilecek değeri görülmüş oldu.

Günümüzde mevcut rutin uygulamada ölçülen sonuç, karar değerini aşması ya da aşmamasına göre değerlendirilmektedir. Ancak sonuçlar belirsizlik değerleriyle birlikte değerlendirildiğinde karar değerine yakın ölçme sonuçlarının yorumlanması etkilenecektir. Yapılan çalışmalarda hesaplanan ölçüm belirsizlikleri eklendiğinde yanlış negatif ya da pozitif sonuçlar verildiği görülmüştür (33).

Bizim rutin uygulamamızda, 11 Nor Delta- 9- THC -9-COOH testi için çalışmak üzere örnekler analiz edildikten sonra, 50-100 ng/ml aralığında olanlar 2 kere çalışıldığından ilk çalışma sonuçlarımızın yanında tekrarlarını da değerlendirmiş oluyoruz.

Seçtiğimiz 50 örnek içinde ikisi dışında tüm sonuçlar ilk çalışma günündeki tekrarlarında eşik üstü ya da altı olmak üzere aynı yönde bulunmuştur. Bu bizim yöntemimizin gün içinde tekrarlanabilirliğinin iyi olduğunun bir kanıtı olarak değerlendirilebilir.

İlk çalışmalarımıza göre pozitif çıkan örneklerimizi -80 derecede dondurduktan sonra, seçtiğimiz örnekleri aynı koşullarda çözerek, aynı gün ve aynı çalışma düzeneğinde bir kez daha analiz ettik. Bu analiz sonuçlarına göre 19 örneğin ilk çalışma sonucu eşik değer üstünde raporlanmışken, çözüldükten sonra tekrar toplu çalışma gününde eşik değer altında bulunmuştur. Yani yanlış pozitif olarak verilmiş olma şüphesi vardır. Ayrıca iki örnekte de ilk çalışmada eşik altı olan değerler toplu çalışma gününde eşik üstü olarak saptanmıştır. Yani yanlış negatif olarak verilmiş olma şüphesi vardır.

Örneklerimizi çözdükten sonra alt üst edip yeniden çalışılmak üzere GC-MS ile çalışılmak üzere hizmet aldığımız firmaya gönderdik.

Aynı örnekler referans yöntem olan GC MS ile çalışıldığında ise, yanlış pozitif olma şüphesi olan 19 örneğin 9 tanesi GC MS ile 15 ng/ml altında saptanmıştır ve gerçekten buna göre değerlendirilirse dokuz örnek yanlış pozitif olarak raporlanmıştır. Yanlış negatif şüphesi olan 2 örneğin ise bir tanesi GC MS ile 15 ng/ml üstünde saptanmış ve gerçekten yanlış negatif olarak raporlandığı anlaşılmıştır.

Aslan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da esrar ve opiyat testleri için ölçüm belirsizliği değeri hesaplanmış ve hasta sonuçları üzerine bu değerlerin

nasıl etki edeceği bildirilmiştir (1). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde esrar testi için ölçüm belirsizliği hesaplanmış ve seçilen bir grup hastada etkisinin ne olacağı değerlendirilmiştir. Aslan ve arkadaşlarının çalışmasından farklı olarak bizim çalışmamızda seçilen örnekler kromatografik yöntemle doğrulanmış ve yöntemimizin verdiği sonuçlar tanısal doğruluk açısından değerlendirilebilmiştir. Diğer taraftan Aslan ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile bizim çalışmamızda ölçüm belirsizliği hesabı için kullanılan yöntem ve cihaz farklıdır.

Örneklerin laboratuvara geldiği ilk çalışma günü ile toplu çalışma gününde tekrar çözülerek çalışılması arasında herbir örnekte farklı olmak üzere bir ile altı ay arasında bir süre geçmiştir. İlk çalışma ve sonraki arasında farklılık olması laboratuvarın bu süre içinde geçen analiz performansının farklı olabilmesi ile açıklanabilir. Bu durum sadece uyuşturucu madde testlerinde değil analiz edilen pekçok test için geçerli olacaktır. İşte tam da bu nedenle laboratuvarın ölçüm belirsizliğini hesaplaması ve sonuçları ile birlikte bildirmesi gereklidir.

Ölçüm belirsizliği hesaplamalarında kullanılan iç kalite kontrol materyaline ait CV değerleri son 50 veri ya da son 100 veriye göre olarak alınmalıdır şeklinde tanımlanmaktadır. Biz de çalışmamızda son altı aya ait iç kalite kontrol çalışmalarının sonucu olan 95 veriden elde edilen CV değerlerini kullandık, yine benzer şekilde dış kalite kontrol sonuçlarının da son bir yıllık verilerinden elde edilen bias değerinin kullanılması önerilmektedir. Bizim çalışmamızda da son bir yılın dış kalite kontrol sonuçları kullanılmıştır. Bu durumda ölçüm belirsizliği hesabı en azından son altı aylık bir performansı kapsayacak şekilde hesaplanmıştır ve örneklerin iki ay, üç ay ya da altı aya kadar uzanan bir dönem aralığında ilk çalışmaya göre ikinci çalışmada farklı oluşu bir ölçüm belirsizliği sonucu ile de açıklanabilir.

Bu sonuçların ilk verildiği günde ölçüm belirsizliği değerimiz olan herbir sonuç 0,2088 katsayısı ile çarpılarak ve sonuca eklenerek ya da çıkarılarak raporlansaydı, GC MS ile hesaplamalarda değeri eşik altı bulunan 9 testin bizim analiz sonucumuza göre de eşik altında kalmış olabileceği söylenebilirdi.

Günümüzde ölçüm belirsizliği saptanması ve rapor edilmesi konusunda zorunluluk yoktur, ancak yakın gelecekte bu zorunluluk karşımıza çıkacaktır.

İlk çalışma sonuçları yani hastanın ilk geldiği tarihteki çalışma sonucu ile tüm örneklerin birlikte çalışıldığı tekrarlarımız arasında bazı farklar görülebilmektedir. Bu farklar genelde düşüş yönünde olup bazılarında hafif artmalar görülmüştür. Tekrarlanabilirliği kendi içinde iyi olan testimizin ölçüm belirsizliği hesaplandı. Bu ölçüm belirsizliği değerini %20.88 olarak hesapladık. Hastanın bize başvurduğu ilk gündeki çalışma sonucundan bugüne olan düşme örneğinin ölçüm belirsizliği ile açıklanabilir. Ölçüm belirsizliğine göre ilk gün 52 ng/ml bulduğumuz bir sonuca %20 olan ölçüm belirsizliğimizi eklediğimizde 42 ng/ml ya da 62 ng/ml çıkabilirdi. Bazı sonuçların bu şekilde düşme yada yükselmesini ölçüm belirsizliği ile açıklayabiliriz. Bu da bize göstermektedir ki ölçüm belirsizliği değerini hesaba kattığımız da biz bu hastalara eşik değer olan 50ng/ml'nin üzerinde sonuç veriyor olsakta aslında başka günlerde tekrarladığımızda daha düşük sonuçlar elde edebiliyoruz.

Bu tez çalışması için İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Koordinatörlüğünden proje kapsamında maddi destek alınmıştır.

6.SONUÇ

Ölçüm belirsizliği değerinin kullanılması, laboratuvar sonucunun klinisyene +/-olacak şekilde belirsizlik değeri ile verilmesi, uyuşturucu madde analizleri gibi idari anlamda kişilerin özgürlükleri ile ilgili karar verdirecek analitler için laboratuvarın sorumluluğunu tam olarak yerine getirmesini sağlar. Klinisyenin hastada yaptığı anamnez ve gözlemi ile edindiği izlenimine klinik karar içindetek olur. Yanlış yüksek vermeyi önler.

Diğer taraftan değerlendirildiğinde, uyuşturucu maddenin kötüye kullanıldığının klinisyen tarafından bilindiği ancak laboratuvar sonuçları ile ortaya konulamadığı durumlarda, belirsizlik hesabının sonuca yükselme yönündeki etkisinin tahmini, hastanın gelecek yaşamında onu kurtaracak olası bir tedavi ve rehabilitasyon işleminden mahrum kalma durumunu önlenmiş olur.Yani yanlış düşük vermeyi önler.

Ayrıca belirsizlik değerinin bilinmesi, laboratuvarın ve klinisyenin doğrulama analizine göndermesi gerektiği örnekleri belirlemesine yardımcı olacaktır.

7.TÜRKÇE ÖZET

Ölçüm belirsizliği, hasta raporunda verilecek herhangi bir ölçüm sonucuyla birlikte verilmesi gerekli olan bir parametredir. Aynı zamanda ölçüm belirsizliği, ölçülen miktar ile bağıntılı olarak karşılaşılabilecek tüm değer aralığını tanımlar. Bu sebeple, gerçek ölçüm değerinin hangi sınırlar içinde yer alacağını ve güven düzeyini yansıtır.

Son iki yıllık verilerimize göre yapılan analizler sonrası uyuşturucu maddeler arasında, gerek daha yaygın kullanılması, gerekse diğerlerine göre yağ dokusunda daha fazla oranda depolanma ve bu nedenle idrarda daha uzun süre bulunabilme özelliğinden ötürü, en fazla oranda eşik üstü raporlama yaptığımız esrar testi için ölçüm belirsizliği değerini ortaya konulması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada kullanılan örnekler, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya laboratuvarında, saklanmış olan idrar örnekleri arasından 11 nor delta 9 THC -9-COOH testi için, eşik değer olan 50 ng/ml ye göre, eşik değeri geçen pozitif örnekler ve ayrıca negatif örnekler arasından rastgele örnekleme yolu ile son altı aylık örneklerin içinden seçilerek yapılmıştır İdrar kreatinin değeri 20-300 mg/dl arasında olması gözetilmiştir.

Ölçüm belirsizliği için çeşitli araştırmalarda kullanılan yöntemler analiz edildiğinde, farklı yaklaşımların olduğu görüldü. Bunların arasında en kolay anlaşılabilen yöntemin Nordest klavuzunda önerildiği gibi, internal kalite kontrol sonuçlarından elde edilen kesinlik ölçüsü %CV değerleri ve external kalite kontrol raporlarından elde edilen yanlılık ölçüsü %bias değerlerinin kullanımı ile olacağı sonucuna varıldı.

İlk olarak belirsizlik değerlerinin (kalibratör belirsizliği, iç kalite kontrol verilerinden gelen belirsizlik ve dış kalite kontrol verilerinden gelen belirsizlik) hesaplanmasından sonra bu verilerden birleşik belirsizlik ve genişletilmiş belirsizlikler elde edildi. Bu amaçla; hesaplanan genişletilmiş belirsizlikler ile çalışılan hastalar tekrar gözden geçirildi. Hastanın raporlanmış olan sonucuna genişletilmiş belirsizlik değeri eklenerek her bir hastanın belirsizlikle olabilecek değeri görülmüş oldu.

İlk çalışmalarımıza göre pozitif çıkan örneklerimiz -80 derecede

dondurulduktan sonra, belirsizlik hesabımız yapıldı, bu değere göre tekrar hesaplanacak ve kromatografiye gönderilecek çalışma örnekleri seçildi ve aynı koşullarda çözülerek, aynı gün ve aynı çalışma düzeneğinde bir kez daha analiz edildi.

Bu analiz sonuçlarına göre 19 örneğin ilk çalışma sonucu eşik değer üstünde raporlanmışken, çözüldükten sonra tekrar toplu çalışma gününde eşik değer altında bulunmuştur. Yani yanlış pozitif olarak verilmiş olma şüphesi vardı.. Ayrıca iki örnekte de ilk çalışmada eşik altı olan değerler toplu çalışma gününde eşik üstü olarak saptanmıştır. Yani yanlış negatif olarak verilmiş olma şüphesi vardı.

Örneklerimiz GC-MS ile çalışılmak üzere hizmet aldığımız firmaya gönderildi.

Aynı örnekler referans yöntem olan GC MS ile çalışıldığında ise, yanlış pozitif olma şüphesi olan 19 örneğin 9 tanesi GC MS ile 15 ng/ml altında saptanmıştır ve gerçekten buna göre değerlendirilirse dokuz örnek yanlış pozitif olarak raporlanmıştır.

Ölçüm belirsizliği değerinin kullanılması ve laboratuvar sonucunun klinisyene +/- bu değerle verilmesi, uyuşturucu madde analizleri gibi özellikle idari anlamda kişilerin özgürlükleri ile ilgili karar verdirecek sonuçların verildiği analitler için laboratuvarın sorumluluğunu tam olarak yerine getirmesini sağlar.

Diğer taraftan belirsizlik değerinin bilinmesi, laboratuvarın ve klinisyenin doğrulama analizine göndermesi gerektiği örnekleri belirlemesine yardımcı olacaktır.

8.İNGİLİZCE ÖZET

Measurement uncertainty is a parameter that must be given together with any measurement result in the patient report. At the same time, measurement uncertainty defines the entire range of values that can be encountered in relation to the measured quantity. For this reason, it reflects the limits of the actual measurement value and the confidence level.

After analyzing according to our last two years' data, it is possible to determine the value of measurement uncertainty for test, which we mostly report on top of the threshold, because of its more common use, more storage in fat tissue than others, .

The samples used in this study were positive samples with a threshold value according to the threshold value of 50 ng / ml for the 11 nor delta 9 THC -9-COOH test among the stored urine samples in İzmir Katip Çelebi University Atatürk Training and Research Hospital Medical Biochemistry laboratory and also negative samples were selected randomly from within the last six months. Urine creatinine value was considered to be between 20-300 mg / dl.

When the methods used in various researches for the measurement uncertainty were analyzed, it was seen that different approaches exist. Among these, the most easily understandable method was the conclusion that the precision value obtained from the internal quality control results is% CV values and the bias value obtained from external quality control reports is% bias values, as suggested in the Nordest guide.

First, combined uncertainty and extended uncertainty were obtained after calculating the uncertainty values (calibrator uncertainty, uncertainty from internal quality control data, and uncertainty from external quality control data). For this purpose; the patients studied with the calculated extended uncertainties were re-examined. The added value of the patient's reported uncertainty was the value that each patient could have with uncertainty.

Our samples which were positive according to our initial studies were frozen at -80 ° C, then our uncertainty was calculated, the samples to be recalculated

according to this value and the chromatographic data were selected and solved in the same conditions and analyzed once again on the same day and same working set.

According to the results of these analyzes, 19 samples were reported above the first study outcome threshold value, but were found to be at the threshold value again on the collective study day after being solved. In other words, the values below the threshold in the first study were found to be above the threshold on the collective working day. So there was a doubt that it was given as false negative.

The use of measurement uncertainty allow the laboratory 'responsibilities for analytes. And this is help of decision-making, especially in drug analysis for administrative restriction.

On the other side knowing the value of the uncertainty will help laboratory and the clinician to identify that which samples should be send to the validation analysis

9.KAYNAKLAR

- 1.Aslan B., Kaplan Y.C., Yiğitbaşı T.,Karadaş B., Zorlu N., Sütçü R. Esrar ve opiyat testleri için ölçüm belirsizliğinin hesaplanması ve klinik karar değerine etkisi. Türk Biyokimya Dergisi 2013; 38 (2):181–185.
- 2.Vim, I.S.O., International vocabulary of basic and general terms in metrology (VIM). International Organization, 2004; 09-14.
- 3.Taverniers, I., M. De Loose, and E. Van Bockstaele, Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2004; 23(8):535-552.
- 4.Burtis, C.A., E.R. Ashwood, and D.E. Bruns, Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book. 2012; Elsevier Health Sciences.
5. Guzel, O. and E.I. Guner, ISO 15189 accreditation: Requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory I. Clinical biochemistry, 2009; 42(4):274-278.
6. Guide, I.S.O., 98. Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM). International Organization for Standardization, 1995.
7. Kristiansen, J., Christensen JM. Traceability and uncertainty in analytical measurements. Annals of Clinical Biochemistry, 1998; 35(3):371-379.
8. Krouwer, J.S. Critique of the guide to the expression of uncertainty in measurement method of estimating and reporting uncertainty in diagnostic assays. Clinical Chemistry, 2003; 49(11):1818-1821.
9. Taga, Y., Aslan D., Güner G., Kutay FZ., Tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon ve kalite yönetimi. Ankara, Türk Biyokimya Derneği Yayınları, 2000; 106-123.
10. Gasljevic, V. Method validation and measurement uncertainty. Biochemia Medica, 2010; 20(1):57-63.
11. Berçik B., Topkaya Çiğdem. Klinik Biyokimya Laboratuvarlarında Akreditasyona Geçiş. İstanbul Tıp Dergisi, 2010; 2:74-76.
12. Bakır F., Laleli Y. TS EN ISO/IEC 17025 Kapsamında Akreditasyona Teknik Hazırlık. Türk Biyokimya Dergisi, 2006; 31(2):96-101.
13. Magnusson B., The fitness for purpose of analytical methods: A laboratory guide to method validation and related topics 2014; Eurachem.

14. BIPM, I.E.C., IFCC, ISO. IUPAP, OIML. JCGM. GUM 1995 with minor corrections. Evaluation of measurement data Guide to the expression of uncertainty in measurement. International Organisation for Standardisation, 2008.
15. Taylor B.N., Kuyatt CE., Guidelines for evaluating and expressing the uncertainty of NIST measurement results. 1994:US Department of Commerce, Technology Administration, National Institute of Standards and Technology Gaithersburg, MD.
16. Draft D., Discussion Draft. EURACHEM/CITAC Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Third Edition ed. US L R Ellison (LGC and A.W. (UK). 2011.
17. Magnuson B., et al. Nordest Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty Based on Quality Control and Method Validation. In Proceedings of 1st International Proficiency Testing Conference. 2007.
18. Bais R. AACB, The Australasian Association of Clinical Biochemists. 1961.
19. White GH. AACB Uncertainty of Measurement Working Group. Uncertainty of measurement in quantitative medical testing-A laboratory implementation guide. ClinBiochem Rev 2004.
20. NPAAC, Requirements For The Retention Of Laboratory Records And Diagnostic Material. 2013. Sixth Edition.
21. Barwick VJ. VAM Project. Development and harmonisation of measurement uncertainty principles. Part (d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data. January 2000 LGC / VAM /1998/088., 2000.
22. Adams T.M. G104-A2LA Guide for estimation of measurement uncertainty in testing. American Association of Laboratory Accreditation Manual, 2002: 10-18.
23. GÜNGÖR M. Klinik Biyokimya Ölçüm Belirsizliği. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Ve Klinik Biyokimya Laboratuvarı. 2008; İstanbul.
24. Westgard J.O. Useful measures and models for analytical quality management in medical laboratories. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2016; 54(2):223-233.

25. Schiff Jr, P.L., Opium and its alkaloids. American Journal of Pharmaceutical Education, 2002; 66(2):186.
26. T., B., Çağın Korkulu Rüyası: Uyuşturucu Madde ve Uyuşturucu Madde Bağımlılığı. Türkiye Polis Dergisi, 2003: p. 24-25.
27. Katona I. et al. Distribution of CB1 cannabinoid receptors in the amygdala and their role in the control of GABAergic transmission. Journal of Neuroscience, 2001; 21(23):9506-9518.
28. Ogel K., et al., Tobacco, alcohol and substance use prevalence among elementary and secondary school students in nine cities of Turkey. Turk psikiyatri dergisi. 2004; 15(2):112-118.
29. Busto U., Bendayan R., Sellers E. Clinical pharmacokinetics of non-opiate abused drugs. Clinical pharmacokinetics. 1989;16(1):1-26.
30. Ameri A. The effects of cannabinoids on the brain. Progress in neurobiology. 1999; 58(4):315-348.
31. Hall W. Solowij N. Adverse effects of cannabis. The Lancet. 1998; 352(9140):1611-1616.
32. Abood M.E., Martin B.R. Neurobiology of marijuana abuse. Trends in Pharmacological Sciences. 1992; 13:201-206.
33. Aslan B., Yiğitbaşı T., Abuşoğlu S., Üstüner F., İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Biyokimya Testleri İçin Ölçüm Belirsizliği Testlerinin Değerlendirilmesi. İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi. 2010;48(4):145-148.