

Klinik biyokimya laboratuvarında ölçüm belirsizliği: pratik uygulama

[Measurement uncertainty in clinical biochemistry laboratories: practical application]

Aydan Çelebiler,
Huriye Serin,
Derya Güleç,
Baysal Karaca

İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya Bölümü, İzmir

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Dr Aydan Çelebiler

İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya Bölümü, İzmir
Tel: 02322505050-1721
E-posta: aydancelebiler@gmail.com

Kayıt Tarihi: 2 Şubat 2011; Kabul Tarihi : 29 Temmuz 2011

[Registered: 2 February 2011; Accepted: 29 July 2011]

ÖZET

Amaç: Ölçüm belirsizliği test sonucunun dağılım düzeyini göstermek için kullanılan bir kalite göstergesidir. Test sonuçları analitik kesinliğinin güven düzeyindeki kantitatif tahminini sağlar ve testin tekrarlanma durumundaki değişkenliğini gösterir. Test sonuçları ölçüm belirsizliğini hesaplamak için prensip olarak iki yaklaşım kullanılabilir: “Aşağıdan yukarıya” yaklaşımında sonuçları etkileyen olası değişkenlik kaynakları ayrı ayrı listelenir ve her bir kaynağın ölçüm belirsizliğine katkısı belirlenir. “Yukarıdan aşağıya” yaklaşımı ise uygulanan test ile elde edilen sonuçlarla birlikte olan belirsizliğin tahmininde laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası kalite kontrol verileri gibi laboratuvar test performans bilgilerinin kullanılır. Bu çalışmanın amacı; benzer ve tutarlı bir şekilde klinik biyokimya laboratuvarlarında ölçüm belirsizliği tahmininde yol gösterici olmaktadır.

Gereç ve yöntem: Bu araştırma ile pratik örnek olarak “yukarıdan aşağıya” yaklaşımına dayalı serum glukoz düzeyi ölçüm belirsizliği tahmini yapıldı.

Bulgular: Serum glukoz analizi ölçüm belirsizliği %95 güven aralığında \pm %6 olarak bulundu.

Sonuç: Klinik laboratuvarlar sonuçların doğru kullanılması ve yorumlanması için gerekli bilgileri ve analitik güvenilir sonuçları üretmek zorundadır. Güvenilirliği konusunda bir değerlendirme olmaksızın bir ölçüm veya bir test sonucu yeterince etkin değildir. Belki de ülkemizde klinik biyokimya laboratuvarlarının belirsizlik tahmininde benzer kılavuzların kullanılmasını sağlayacak standardizasyon gereklidir.

Çıkar çatışması: Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Anahtar Kelimeler: ölçüm belirsizliği, “yukarıdan aşağıya” yaklaşımı, dış kalite kontrol

ABSTRACT

Objective: Uncertainty of measurement is a quality parameter of measurement results, which is used to represent a dispersing level of test results. Uncertainty of measurement provides quantitative estimates of the level of confidence that a laboratory has in its analytical precision of test results and therefore represents the expected variability in a laboratory result if the test is repeated a second time. In principle, two approaches may be used when calculating the measurement uncertainty of a test result : the ‘Bottom-up’ approach in which all possible sources of variation of the result are listed separately and the contribution of each source to the measurement uncertainty is estimated. The “top-down” approach, using available laboratory test performance information, such as method validation, intra-laboratory and inter-laboratory quality control data, to calculate estimates of the standard uncertainty associated with the result produced by overall testing procedure/method.

The aim of this study is to present guidelines for estimating the measurement uncertainty in medical biochemistry laboratories in an similar and consistent manner.

Materials and Methods: The uncertainty of measurement on serum glucose level based on the top-down approach was estimated by this research, as a practical example.

Results: Measurement uncertainty (95 % confidence interval) for glucose is estimated to \pm 6%

Conclusion: Medical laboratories must produce analytically reliable results, and the information required for the correct interpretation and use of results. A test result without an assessment of its reliability is not enough powerful. Perhaps standardization is necessary so that the clinical biochemistry laboratories in our country utilize the same guidelines in the estimation of uncertainties.

Conflict of Interest: Authors did not declare any conflict of interest.

Key words: Measurement uncertainty, “top-down” approach, external quality assesment

Giriş

Klinik laboratuvarların ana görevi klinik karar verme konusunda klinisyene ve dolayısıyla hasta yönetimine katkıda bulunmaktır. Klinik biyokimya laboratuvarı bu sorumluluğunu analitik test sonuçlarına göre yerine getirir. İkişel olarak bir analitik ölçümün gerçek değerinin bilinmediği kabul edilir. Bu kapsamda Ölçüm Belirsizliği İfade Kılavuzu (GUM) hata kavramının dışında farklı bir bakış ile ölçüm sonucu ile birlikte olan, ölçülene makul ölçüde dahil olabilen değerlerin dağılımı olarak tanımlandığı “ölçüm belirsizliği” kavramını geliştirdi, yöntem ve prensiplerini açıkladı [1]. Ölçüm belirsizliğinin ölçüm prosedürünün kendi teknik sınırları içinde meydana gelen ve ölçüm sonucunu etkileyen faktörleri kapsadığı kabul edilir [2]. Matriks etkisi, interferanslar, referans materyaller, kütle ve hacimsel belirsizlikler, çevresel etkiler, ölçüm yöntemi ve prosedürüne dahil olan varsayım ve yaklaşımlar gibi pek çok neden ölçüm sonuçlarının belirsizliğine katkıda bulunabilir [3]. Bunların bir bölümü rastlantısal olabildiği gibi bir bölümü de sistematik olabilir. Sonuçta toplam belirsizliğin tahmin edilebilmesi belirsizliğe katkıda bulunan her bir bileşenin ayrı ayrı ele alınmasını gerektirir.

GUM’ a göre belirsizlik tahminlerinin uygulaması kullanıcı tarafından ölçüm sürecinin eksiksiz olarak matematiksel modelinin ortaya konmasını gerektirir. Fakat birçok alanda teknik ve ekonomik olarak bu gereklilikleri ortaya koymak pratik olmadığı gibi mümkün de olmayabilir. ISO/CEI 17025 standardı test ve kalibrasyon laboratuvarları için gerekliliklerde; önceki deneyimler ve validasyon verilerine dayanan yöntem ve ölçüm performansı bilgilerinin kullanılabilmesi alternatif yaklaşımı getirdi [4]. Hem Uluslararası Laboratuvar Akreditasyon Komitesi kılavuzunda [5] hem de ardından yayınlanan çeşitli dökümanlarda [6, 7] laboratuvarlarda uygulanan kalite kontrol şemaları ve laboratuvarlar arası yeterlilik testleri ile elde edilen deneysel verilerin ölçüm belirsizliğinde kullanılabilmesi yer aldı.

GUM’un açıkladığı “Aşağıdan yukarıya” yaklaşımı; test prosedüründeki her bir basamağın belirsizlik tahmininin yapılmasının ardından bunların bileşimi ile test sonucu ile birlikte olan total belirsizliğin hesabını içerir [8]. “Yukarıdan aşağıya” yaklaşımında ise test sonucunun total belirsizliğinin tahmin edilmesinde laboratuvarlar arası ve laboratuvar içi kalite kontrol verileri kullanılır [9-11]. Klinik biyokimya laboratuvarında bu yaklaşım ile genişletilmiş ölçüm belirsizliği (U) belirleneceği zaman iki faktör önemlidir: 1-Laboratuvar içinde yeniden üretilebilirlik ya da kesinlik 2- Uygun referans ya da kalite kontrol materyali kullanarak değerlendirilen yanlılık (bias). Yanlılık; ölçümün sistematik hatası, kesinlik ise rastlantısal hata olarak kabul edilebilir [6, 7]. Laboratuvar içinde yeniden üretilebilirlik ile karakterize edilen analitik süreçten doğan belirsizlik (u_{R_w}) ve yanlılık nedeniyle meydana gelen belirsizlik ($u_{yanlılık}$) ile birleşik belirsizlik (U_c) hesaplanır [12, 13].

$$U_c = \sqrt{(u_{R_w}^2 + u_{yanlılık}^2)} \text{ (eşitlik 1)}$$

Son olarak %95 güven aralığı ile genişletilmiş belirsizlik (U) belirlenir.

$$U = 2\sqrt{(u_{R_w}^2 + u_{yanlılık}^2)} \text{ (eşitlik 2)}$$

Farklı konsantrasyon seviyelerinde elde edilen sonuçların birbirleri ile birleştirmenin kolay olması nedeniyle hesaplamalarda standart sapmanın rölatif değerleri [Rölatif standart sapma: $RSD = \%CV$ (varyasyon katsayısı)] tercih edilir. Standart sapma ve rölatif değerler arasındaki ilişki $RSD = 100 \times (\text{ölçümün standart sapması} / \text{ölçüm ortalaması})$ şeklindedir.

Ölçüm belirsizliğinin tahmininde kullanılan yöntemden bağımsız olarak ana basamaklar şöyle sıralanabilir [14]:

1. Ölçülenin tanımlanması
2. Ölçüm değerlerini etkileyen faktörlerin tümünü listelenmesi,
3. Her bir faktörün standart ölçüm belirsizliklerinin belirlenmesi,
4. Birleşik ölçüm belirsizliğinin hesaplanması
5. Genişletilmiş ölçüm belirsizliği tahminin yapılması
6. Test sonucu \pm genişletilmiş ölçüm belirsizliği olarak raporlanması.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma ile yukarıdan aşağıya ölçüm belirsizliği tahmininde rehberlik sağlayan ISO/TS 21748:2004 standardı [15] doğrultusunda serum glukoz analizinin ölçüm belirsizliği hesaplandı.

Bulgular

1. Ölçülenin Tanımlanması

İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi klinik biyokimya laboratuvarında p800, Roche/Hitachi analizörü ile ölçüm belirsizliği tahmininin yapılacağı glukoz testi tanımlandı:

Ölçülen: Serum glukoz düzeyi

Yöntem: Glukoz Oksidaz

Birim: mg/dL

2. Ölçüm değerlerini etkileyen faktörlerin listelenmesi

Serum glukoz düzeyi ölçüm belirsizliği için laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik, yöntem ve laboratuvar yanlılığı ile birleştirildi.

3. Ölçüm değerlerini etkileyen faktörlerin standart ölçüm belirsizlikleri

a- Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik yanlılığı ($u_{R_w}^2$): Kontrol materyali 154672 lot numaralı precinorm (Roche) ve 180161 lot numaralı precipath (Roche) kullanıldı. Kontrol örneklerinin matriksi serum bazlı olması nedeniyle yalnız kalite kontrol verileri kullanıldı. Kontrol örneklerinin 6 aylık (168 gün) analiz sonuçları ile SD ve RSD hesaplandı (tablo 1). Bu koşullarda;

$$u_{R_w}^2 \text{ (analitik süreçten doğan belirsizlik)} = (RSD_{normal}^2 + RSD_{patolojik kontrol}^2) / 2 \text{ [12].}$$

Tablo 1. Laboratuvar içinde yeniden üretilebilirlik ve analitik süreçten doğan belirsizlik

	Glukoz kontrol (n: 168) Normal kontrol	Glukoz kontrol (n: 168) Patolojik kontrol
Ortalama	98.81 mg/dL	194.14
SD	1.42 mg/dL	2.16
RSD	1.44 (= 100 x 1.42 / 98.81)	1.11 (= 100 x 2.16 / 194.14)
uR_w^2	1.65 [= (1.44 ² + 1.11 ²) / 2]	

b- Laboratuvar ve yöntem yanlılık ölçüm belirsizliği ($u_{yanlılık}$): Ölçüm sonucunun gerçek olduğu varsayılan değerden sapma olarak bilinen yanlılık varlığı sertifikalı referans materyaline (kalibratör vb) bağlı olarak biliniyor ve anlamlıysa ölçüm sonuçları düzeltilmelidir [1]. Bununla birlikte yanlılık sıfır bile olsa belirsizlik bileşeni olarak ele alınmalıdır [16]. Yöntem ve laboratuvar yanlılığından gelen belirsizlik tahmininde kalibratör ile birlikte olan belirsizlik ($u_{C_{ref}}$) ile birlikte farklı seviyelerdeki analizlerle en az 3 katımlı dış kalite kontrol (EQA) performans verilerinden elde edilen belirsizlik (u_{EQA}) yer alır [12, 13].

$$u_{yanlılık}^2 = u_{C_{ref}}^2 + u_{EQA}^2 \text{ (eşitlik 3)}$$

b1. Kalibratörden gelen belirsizlik ($u_{C_{ref}}$): Kalibratör olarak 155208 lot numaralı c.f.a.s (Roche) kullanıldı. Bu çalışmada üretici tarafından sağlanan, 19,3 mg/dL konsantrasyonu olan glukoz kalibratöründen gelen belirsizliğinin ($u_{C_{ref}}$ 1.63 mg/dL) rölatif değeri kullanıldı.

$$\text{Rölatif } u_{C_{ref}} = (100 \times u_{C_{ref}}) / (k \times C_{ref}) \text{ (eşitlik 4)}$$

$$\text{Glukoz rölatif } u_{C_{ref}} = (100 \times 1.63 \text{ mg/dL}) / (2 \times 193 \text{ mg/dL})$$

Glukoz rölatif $u_{C_{ref}} = 0.42$, Glukoz rölatif $u_{C_{ref}}^2 = 0.18$ Cref; Kalibratör konsantrasyonu, $u_{C_{ref}}$; sertifikada yer alır, k; kapsam faktörü, ek bilgi verilmedikçe %95 güven aralığı kullanıldığı için 2'dir.

b2. Dış kalite kontrol performans verilerinden elde edilen belirsizlik (u_{EQA}): EQA ile yanlılık, laboratuvar test sonucunun karşılaştırılma yapılan grubun test sonuç ortalamalarından sapma yüzdesi [= (test sonucu karşılaştırılan grup ortalaması / karşılaştırılan grup ortalaması) x 100] olarak hesaplanır. Değerlendirmeye alınan her bir EQA raporu ile laboratuvarın genel performans verilerinden doğan belirsizlik için aşağıdaki eşitlik kullanılır.

$$u_{EQA} = \sqrt{(\sum \text{yanlılık}_{EQA}^2) / n}$$

n: EQA değerlendirme sayısı

Serum glukoz düzeyi dış kalite kontrol performans verilerinden elde edilen belirsizliği laboratuvarın dahil olduğu son bir yıl içindeki Rıqas EQA programının 10 analiz sonucuna göre belirlendi (tablo 2).

Tablo 2. Glukoz'un dış kalite kontrol performans verilerinden elde edilen belirsizliği

EQA numunesi	Glukoz yanlılığı (% sapma)	Glukoz yanlılık _{EQA} ²
1	3.4	11.56
2	-1.80	3.24
3	-3.20	10.24
4	-1.20	1.44
5	-3.80	14.44
6	0.60	0.36
7	-1.20	1.44
8	-1.40	1.96
9	0.10	0.01
10	4.4	19.36
$\sum \text{yanlılık}_{EQA}^2$		64.05
$u_{EQA}^2 = (\sum \text{yanlılık}_{EQA}^2) / n$		6.405

Kalibratör ve EQA performans verileri ile hesaplanan laboratuvar ve yöntem yanlılığı eşitlik 3 ile hesaplandı.

$$u_{yanlılık}^2 = u_{C_{ref}}^2 + u_{EQA}^2 \text{ (eşitlik 3)}$$

$$u_{yanlılık}^2 = 0.18 + 6.40$$

$$u_{yanlılık}^2 = 6.58$$

4. Birleşik ölçüm belirsizliği (Uc):

Elde edilen verilerle eşitlik 1 yardımıyla serum glukoz değerinin birleşik ölçüm belirsizliği hesaplandı.

$$Uc = \sqrt{(uR_w^2 + u_{yanlılık}^2)} \text{ (eşitlik 1)}$$

$$Uc = \sqrt{(1.65 + 6.58)}$$

$$Uc = 2.87$$

5. Genişletilmiş ölçüm belirsizliği (U)

Genişletilmiş ölçüm belirsizliği bileşik ölçüm belirsizliğinin kapsam faktörü (k) ile çarpılmasıyla elde edilir. k faktörü %95 güven aralığını temsil eden 1.96 yaklaşık 2 olarak alınır.

$$U = 2\sqrt{(uR_w^2 + u_{yanlılık}^2)} \text{ (eşitlik 2)}$$

$$U = 2 \times Uc$$

$$U = 2 \times 2.87$$

$$U_{glukoz} \sim \%6$$

6. Genişletilmiş ölçüm belirsizliğinin raporlanması

Serum glukoz analiz sonuçları %95 güven aralığında \pm %6'dır.

Yorum

CLIA88 verilerine göre glukoz için toplam hata %10 [17], Westgard internet sitesindeki listede %6.9 [18], Amerika Diyabet Birliği tarafından ise <%10 [19] olarak bildirildi. Serum glukoz analiz sonuçlarının %95 güven aralığında \pm %6 olarak raporlanması kabul edilebilir sınırlar içindedir.

Tartışma

Bu çalışma ile klinik biyokimya laboratuvarında serum glukoz analiz sonucu ölçüm belirsizliği tahmininin, örnek uygulaması gösterildi. Ölçüm belirsizliğinin tahmin edilmesinde laboratuvarda uygulanan kalite kontrol verileriyle birlikte laboratuvarlar arası değerlendirmeye dayalı performans verileri kullanıldı.

Bir klinik laboratuvarda ölçüm prosedürünün kesinliğini belirlemek basitken, gerçekliğini araştırmak daha zordur. Ancak laboratuvar ve yöntem yanlılığının EQA verileri ile tahmin edilebilmesi ve bunun laboratuvar içinde kullanılan kalite kontrol uygulama verileriyle birleştirilmesi belirsizlik ölçümlerini daha uygulanabilir hale getirmektedir. Kalite kontrol verileri ile ölçüm belirsizliğini tahmin edebilmenin gerekçesi belirli testin ölçüm belirsizliğinin dış kalite kontrol değerlendirme programına katılan başka bir laboratuvara ait sonuçların dağılımı ile karşılaştırılabilir olmasına dayalıdır [15]. Ayrıca uzun süreli kalite kontrol verilerinin kullanılması, laboratuvar uygulamalarındaki bazı faktörlerin (farklı analistler, farklı cihazlar, farklı reagenler, standartlar, farklı çevresel koşullar gibi) etkisini görünür hale getirir. Dış kalite kontrol değerlendirme programına yeterli katılımcısı olmayan durumlarda hatalı yöntem ve prosedürün genel kullanımı nedeniyle fark edilmeyen yanlılığın olabileceği göz önüne alınmalıdır. Bununla birlikte yeterli katılım sayısının olduğu durumlarda grup ortalama değerlerinin referans laboratuvarlardan elde edilen değerlere yakın olduğu kabul edilir [10].

“Aşağıdan yukarıya” yaklaşımında; ölçüm belirsizliği kaynaklarının tümünü belirleme gereksinimi, özellikle klinik laboratuvarlarda bu yöntemin uygulanmasını zorlaştırır. Yöntemin doğasından kaynaklanan belirsizliğin önemli kaynakları göz ardı edilebilir. Ayrıca ölçümdeki tüm bileşenlerin hatalarını belirlemek uzun ve pahalı bir işlem olabilir. “Yukarıdan aşağıya” yaklaşımında ise; hem laboratuvar içi hem de laboratuvarlar arası performans verilerinin kullanılması, belirsizlik hesaplamalarını kolaylaştırır. Bu nedenle de klinik laboratuvarlar için daha pratik bir yöntem olarak gözükmektedir.

Uluslararası standartlara göre klinik laboratuvarların test sonuçlarının belirsizliğini tahmin edecek prosedürlere sahip olması gereklidir [3]. Test sonuçlarının uygun olarak kullanılabilmesi, klinik biyokimya laboratuvarlarının analiz sonuçlarının belirsizliğini bilmesine bağlıdır. Klinik biyokimya laboratuvarlarının kalite geliştirme süreçleri içinde ölçüm belirsizlikleri tahminlerini yapması, klinik karar verme noktasında klinisyenin hasta yönetimindeki rolüne ortak olma gücünü artırır. Bu durumda belki de, kendi ülkemizde ölçüm belirsizliği tahmininde klinik biyokimya laboratuvarları tarafından aynı kılavuzun kullanılmasını sağlayabilecek standardizasyon, hem uygulamayı hem de laboratuvarın performansını iyileştirecek hareket planını destekler.

Çıkar çatışması

Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- [1] International Organization for Standardization. ISO/IEC 98:1995 Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM). International Organization for Standardization, Geneva.
- [2] National Pathology Accreditation Advisory Council (NPAAC). (2007) Requirements for the estimation of measurement uncertainty. Commonwealth Department of Health and Ageing, Canberra.
- [3] International Organization for Standardization. ISO 15189:2003 Medical laboratories—Particular requirements for quality and competence. International Organization for Standardization, Geneva.
- [4] International Organization for Standardization. ISO/IEC 17025:2005 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. 2nd ed. International Organization for Standardization, Geneva.
- [5] ILAC. (2002) ILAC-G17: Introducing the concept of uncertainty of measurement in testing in association with the application of the standard ISO/IEC 17025. ILAC, Rhodes, Australia.
- [6] European Co-operation for Accreditation (EA). (2003) EA Guidelines on the expression of uncertainty in quantitative testing. EA-4/16 (<http://www.european-accreditation.org/n1/doc/EA-4-16.pdf>).
- [7] EuroLab (2007) Measurement uncertainty revisited: alternative approaches to uncertainty evaluation, Technical Report No. 1/2007. (http://www.eurolab.org/docs/technical%20report/Technical_Report_Measurement_Uncertainty_2007.pdf).
- [8] Eurochem Working Group on Uncertainty in Chemical Measurement Members of the Working Group. (1995) Quantifying Uncertainty in Analytical Chemistry Measurements. p. 87 Eurochem secretariat, Teddington, Middlesex, UK.
- [9] Analytical Methods Committee. (1995) Uncertainty of measurements: implication of its use in analytical science. Analyst 120: 2303-08.
- [10] Thompson M, Ellison SLR, Wood R. (2006) The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry (IUPAC technical report). Pure Appl Chem 78:145-96.
- [11] Fisticaro P, Amarouche S, Lalere B, Labarraque G, Priel M. (2008) Approaches to the uncertainty evaluation based on proficiency testing schemes in chemical measurements. Accred Qual Assur 13:361-6.
- [12] Federal Agency for the safety of the food chain (FASFC). (2008) Estimating measurement uncertainty in chemical analysis LAB P 508. (http://www.fav.v.be/laboratories/approvedlaboratories/officecircular/_documents/03-11-2008-procedureENLAB-P-508-Measurement-uncertainty-v.01_en.pdf).
- [13] Crawford L, Moses G. (2009) Traceability and uncertainty of measurement for medical laboratories-OLA's expectations. QMP-LS 2009. (<http://www.qcnet.com/Portals/74/pdfs/Traceability%20and%20Uncertainty%20of%20Measurement%20for%20Medical%20Laboratories.pdf>).
- [14] Standing Committee for Quality and Competence (QCC). (2006) Guidance for uncertainty of measurement in quantitative analyses or testing (UM) QCC-UM-001. (http://www.enfsi.eu/get_doc.php?uid=478).
- [15] International Organization for Standardization. ISO/TS 21748:2004. Guide to the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation. International Organization for Standardization, Geneva.
- [16] Magnusson B, Naykki T, Hovind H, Krysell M. (2004) Handbook for calculation of measurement uncertainty in envi-

ronmental laboratories: edition 2. Nordtest technical report TR 537. Nordtest, Espoo, Finland.

- [17] Koch DD, Peters T. (1999) Selection and evaluation of methods. Tietz textbook of clinical chemistry, 3rd (Burtis CA Ashwood ER eds). p. 320-35 WB Saunders, Philadelphia.
- [18] <http://www.westgard.com/biodatabasel.htm> (last accessed: 05/01/2011).
- [19] American Diabetes Association. (1996) Consensus statement on self-monitoring of blood glucose. Diabetes Care 19: 62-6.