

# Serum Etanol Düzeyi Ölçümünde Belirsizliğin Değerlendirilmesi

## *Evaluation of Uncertainty in Serum Ethanol Measurement*

Zekiye Catak\* Esra Koçdemir\*\*

\* Elazığ Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, Elazığ/Türkiye

\*\* Kovancılar Devlet Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, Elazığ/Türkiye

**Başvuru Tarihi:** 26 Nisan 2017

**Kabul Tarihi:** 31 Temmuz 2017

### ÖZET

**Amaç:** Kan alkol düzeyi ölçümleri klinik ve adli toksikolojik laboratuvarlarda en sık yapılan testlerdendir. Ölçüm belirsizliği, bir testin güvenilirliğini değerlendiren analitik veri olarak tanımlanır. Bu çalışmanın amacı Elazığ Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi Merkez Laboratuvarına ait internal ve eksternal kalite kontrol sonuçlarını kullanarak etil alkol testinin ölçüm belirsizliğinin değerlendirilmesi ve buna göre 2016 yılında laboratuvarımızda analiz edilen etil alkol test sonuçlarının retrospektif değerlendirilmesidir.

**Gereç ve Yöntem:** Serum etil alkol analizinin standart, kombine ve genişletilmiş ölçüm belirsizliği değerleri Nordest Klavuzu'na göre beş basamakta hesaplandı. Son bir yılda laboratuvarımızda analiz edilen 566 adet etil alkol testi sonucu retrospektif olarak incelendi.

**Bulgular:** Laboratuvarımızın verileri kullanılarak yapılan analizlerde, etanol testinin belirsizlik değeri %14.2 olarak tespit edildi. 10(%1.76) hastanın test sonucu eşik değere yakındı (42.9-57.1 mg/dl arasında). Geri kalan hasta sonuçlarının tamamının(%98.24) belirsizlik değerinden etkilenmediği gözlemlendi.

**Sonuç:** Belirsizlik ölçüm sonucuna atfedilen olasılıkların dağılımını gösteren bir parametredir ve ölçüm sonucu ile birlikte rapor edilir. Laboratuvarımızın etil alkol analiz sonuçları %95 güven aralığında  $\pm$ %14.2 olarak tespit edildi. Hastaların %1.76'sının belirsizlik değerinden etkilendiği görüldü.

**Anahtar Sözcükler:** Ölçüm belirsizliği, Etil alkol, Toksikolojik analizler

### ABSTRACT

**Objective:** The measurement of serum alcohol level is one of the most common tests in forensic and toxicologic laboratories. Measurement uncertainty is an analytical data which evaluate the reliability of a test. This study aims to evaluate the measurement uncertainty of the ethyl alcohol test using the internal and external quality control results of Elazığ Mental Health Hospital Central Clinical Laboratory and to retrospectively examine serum ethanol analysis results analyzed in our laboratory in 2016.

**Material and Methods:** Standard, combined and expanded uncertainty values of serum ethyl alcohol analysis were calculated at six steps based on Nordest guide. A total of 566 serum ethanol test results analyzed in our laboratory in 2016 were retrospectively examined.

**Results:** As a result of the analyses made by using datas of our laboratory, uncertainty value of ethanol test was calculated as %14.2. The test results of 10 patients(1.76%) were near to cut-off (between 42.9-57.1 mg/dl). It was observed that all of remaining patients (98.24%) were not affected by measurement uncertainty.

**Conclusion:** Uncertainty in measurement is a parameter that indicates the distribution of the probabilities attributed to the result of measurement and reported with result of measurement. The uncertainty value of ethyl alcohol test was determined as  $\pm$ %14.2 in the %95 confident interval at our laboratory. It was observed that 1.76% of all patients were affected by uncertainty values.

**Key words:** Measurement uncertainty, Ethyl alcohol, Toxicological analysis

## GİRİŞ

Etanol, trafik kazalarıyla en sık bağlantılı olan bağımlılık yapıcı maddedir (1). Alkol etkisi altında taşıt kullanımı ciddi bir sosyal problemdir (2). Serum alkol seviyesinin ölçümü, klinik ve adli toksikolojik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılan testlerden biridir(3). Bu analizin doğru ve güvenilir bir şekilde yapılması, klinik laboratuvarlar için diğer biyokimyasal analizlerden çok daha önemlidir. Çünkü, kişinin serum alkol seviyesi, herhangi bir kaza/ olayın sonuçlarını klinik, sosyal ve adli perspektiflerde etkilemektedir.

Belirsizlik ölçüm sonucuna atfedilen olasılıkların dağılımını gösteren bir parametre olarak tanımlanır ve ölçüm sonucuyla beraber raporlanır (4,5). Matris etkisi, yöntem hatası, cihaz belirsizliği, kalibrasyon, örnekleme tekniği, çevre ve ölçüm koşulları, analit özellikleri gibi laboratuvarlarda belirsizliğe neden olan birçok faktör bulunmaktadır (6). Başka bir deyişle belirsizlik ölçüm sonucuyla birlikte rapor edildiğinde sonucun gerçek değeri hangi oranda temsil ettiğini belirtir. Bu nedenle belirsizlik değeri eşik değere yakın olan sonuçlar için hem adli hem de klinik karar vermede analitik güvenilirlik ve kolaylık sağlayabilir (7). International Vocabulary of Metrology (VIM2 ve VIM3), Guide to Expression of Uncertainty in Measurement (GUM1) ve ISO/IEC tarafından belirsizliğin hesaplanmasına ilişkin çeşitli metrolojik teknikler geliştirilmesine rağmen bu konuda henüz net bir fikir birliği bulunmamaktadır (4). Belirsizlik hesaplamalarındaki bu karmaşa ile birlikte Australian Clinical Biochemistry Association (AACB) ve Nordest

Guide gibi daha pratik ve anlaşılabilir kılavuzlar da yayınlanmıştır(5).

Bu çalışmanın amacı Elazığ Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na ait internal ve eksternal kalite kontrol sonuçlarını kullanarak, etil alkol testinin ölçüm belirsizliğinin değerlendirilmesi ve 2016 yılında laboratuvarımızda analiz edilen tüm etil alkol test sonuçlarının retrospektif değerlendirilmesidir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Laboratuvara gelen ve analiz için uygun olduğu değerlendirilen tüm numuneler 25°C sıcaklıkta 3000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Ardından örnekler bekletilmeden Roche marka Ethanol Gen.2 kiti(plasma/serum), kalibratör ve kontrolleri kullanılarak alkol dehidrogenaz enzimatik metodu ile analiz edildi. Kitin ölçüm aralığı 10.1-498 mg/dl idi. Analizlerde Elazığ Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi Merkez laboratuvarında bulunan Roche-Cobas c501 cihazı kullanıldı. Serum etil alkol analizinin standart, kombine ve genişletilmiş belirsizlik değerleri, Nordest Kılavuzuna göre hesaplandı (4). İç kalite kontrol sonuçları Çoklu Wesgard kurallarına göre değerlendirildi. Uygunsuzluk tespit edildiğinde hata kaynağı tespit edilip uygunsuzluk giderilene kadar testler çalışılmadı. 29 Kasım 2016 tarihine kadar çalışılmış son 263 düşük seviye (mean: 50.7 mg/dl) ve 263 yüksek seviye (mean: 151mg/dl) iç kalite kontrol verisi kullanıldı. Aynı dönemde LGC analitik eksternal kalite programının son üç raporundan üç adet veri kullanıldı. Laboratuvarımızda 01.01.2016 -31.12.2016 tarihleri arasında analiz edilmiş 16-68 yaş aralığın-

daki 566 hastaya ait etil alkol testi sonucuna, hastanemizin "Laboratuvar Bilgi Sistemi"nden (Akgün yazılım) retrospektif olarak ulaşıldı. Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Etik Kurulu'nun 76457100-000-41 sayılı kararıyla onaylanmıştır. Retrospektif olarak veri analizi yapıldığından hastalardan onam formu alınmamıştır.

**1. Basamak** Son üç aylık iç kalite kontrol sonuçlarından elde edilen varyasyon katsayısı (% CV), laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik (Rw) hesabı için kullanıldı. İç kalite kontrol analizleri, Roche Ammonia / Ethanol / CO2 Control Abnormal / Normal kullanılarak yapıldı. (%CV patolojik veya normal düzeyler için =Standart sapma /Tüm ölçümlerin ortalaması x100)

$$Rw = \sqrt{[(Patolojik kontrol \%CV)^2 + (Normal kontrol \%CV)^2]}/2$$

$$uRw = Rw/2$$

**2. Basamak** Gerçek değer ile ölçülen değer arasındaki fark "bias" olarak tanımlanmaktadır (4). Belirsizliğin u(Bias) komponenti, Root Mean Squares of Bias (RMS bias) ve son üç aylık dış kalite kontrol sonuçlarından elde edilen u(Cref) değerleri kullanılarak hesaplandı. RMS bias değerini saptamak için grup içi ve gruplar arası bias değerleri hesaplandı.

$$RMSbias = \sqrt{[(Grup içi bias)^2 + (Gruplar arası bias)^2]}/2$$

$$(Grup içi bias)^2 = \frac{\sum Grup içi bias^2}{n}$$

$$(Gruplar arası bias)^2 = \frac{\sum Gruplar arası bias^2}{n}$$

n=Dış kalite kontrol sonuçlarının sayısı

u(Cref) değeri, dış kalite kontrol verilerinden Rölatif standart sapma (RSD=%SR) hesaplanarak belirlenebilir.

$$(RSD=%SR) \quad [\%SR = (\text{Ölçümün standart sapması}/\text{Ölçümün ortalaması}) \times 100 = \%CV]$$

$$u(Cref) = \%CV(\text{etanol için dış kalite kontrol verilerinden elde edilen üç aylık ortalama \%CV değeri.})/\sqrt{n}$$

n = aynı yöntem ve aynı cihazı kullanarak etil alkol analizi yapan laboratuvar sayısı.

**3. Basamak** Tüm belirsizlik bileşenleri aşağıdaki formüllerle standart belirsizliğe dönüştürüldü.

$$uRw = Rw/2, \quad u(bias) = \sqrt{RMSbias^2 + u(Cref)^2}$$

**4. Basamak** Kombine standart belirsizlik (uc) değeri, standart belirsizlik bileşenlerinin tamamı kullanılarak aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir. Kombine standart belirsizlik, belirsizliğin tüm bileşenlerinin toplamından oluşmaktadır.

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

**5. Basamak** uc değeri, sonuçların % 95'ini temsil edebilmesi için k faktörü ile çarpıldı. Genişletilmiş belirsizlik değerleri belirsizliğin güven aralığını artırmak için k faktörü (kapsama faktörü) ile çarpılarak hesaplanır (4). (K = 2, % 95 güven aralığı için)

$$U = 2xuc$$

## BULGULAR

Laboratuvarda yapılan bütün ölçümler kalitesi her ne olursa olsun yaklaşık değerdir ve bir miktar belirsizliğe sahiptir. Belirsizlik değerinin test sonucuyla birlikte raporlanması testin tanınal yeterliliğini ölçecek ve güvenilirliğini arttıracaktır. Serum etil alkol analizinin standart, kombine ve genişletilmiş belirsizlik değerleri, Nordest Kılavuzuna göre hesaplandı. Buna göre son üç aylık iç kalite kontrol sonuçlarından elde edilen varyasyon katsayısı (% CV), laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik (Rw=3.86) hesabı için kullanıldı. Belirsizliğin u(Bias)(5.97) komponenti, Root Mean Squares of Bias (RMS bias= 35.25) ve son üç aylık dış kalite kontrol sonuçlarından elde edilen u(Cref) (0.65) değerleri kullanılarak hesaplandı. Belirsizliğin tüm bileşenleri standart belirsizliğe dönüştürüldü. Ardından kombine standart belirsizlik (uc=7.1)ve genişletilmiş belirsizlik(U) değerleri hesaplandı. Yapılan hesaplamalar sonucunda, etanol testinin genişletilmiş belirsizlik değeri % 14.2 olarak tespit edildi (Tablo I). CV değerlerinin

belirsizlik değerini etkileyen ilk faktör olduğu görüldü. 01.01.2016 itibariyle bir yıl boyunca laboratuvarımızda analiz edilen 566 adet serum etanol testi sonucu retrospektif olarak incelendi. Rutin de kullanılan 50 mg/dl eşik değerine göre 10 hastaya ait (% 1.76) test sonucunun (42.9-57.1 mg / dl arasında) belirsizlik değerinden etkilendiği gözlemlendi. Kalan diğer tüm hastaların (% 98.24) ölçüm belirsizliği değerinden etkilenmediği tespit edildi.

**Tablo 1.** Serum etanol testinin belirsizlik değeri

**Table 1.** The uncertainty value of the serum ethanol test

<b>%CV patolojik</b>	6.01
<b>%CV normal</b>	9.14
<b>Belirsizlik Bileşeni <math>R_w</math></b>	7.73
<b><math>u_{Rw}</math></b>	<b>3.86</b>
<b>Grup içi bias</b>	5.98
<b>Gruplar arası bias</b>	5.88
<b>RMS bias<sup>2</sup></b>	<b>35.25</b>
<b>Ortalama %CV (3-aylık dış kalite kontrol)</b>	5.13
<b>n</b>	62
<b>U (Cref)</b>	<b>0.65</b>
<b>U (bias)</b>	5.97
<b>U (genişletilmiş belirsizlik)</b>	<b>14.2</b>

## TARTIŞMA

ISO 15189'un 2012 revizyonuna göre belirsizlik değeri her ölçüm prosedürü için hesaplanmalıdır (8). Serum etil alkol seviyeleri laboratuvarımızda Roche-Cobas c501 sisteminde enzimatik metod ile analiz edildi. Bu çalışma ile laboratuvarımızda etanol testinin belirsizlik değerinin % 14.2 düzeyinde olduğu gösterildi. Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA'88) Proficiency Testing Limits, U.S. Federal Register ve Westgard'ın total izin verilebilir hata değerlerine ( $\pm 25\%$ ) göre yorumlandığında, tespit edilen belirsizlik değerinin bu seviyeyi aşmadığı gözlemlendi (9). Testin tanınabilir yeterliliğinin uygun olduğu saptandı. Ancak Hwang ve arkadaşları (2016) gaz kromatografisi metodu ile kan etanol analizi için genişletilmiş ölçüm belirsizliği değerini  $\pm 4.8$  olarak tespit etmişlerdir(10). İnce ve arkadaşlarının(2016)

çalışmalarında ise enzimatik metodla çalışılan etanol testinin belirsizlik değeri  $\pm 8.5$  olarak tespit edilmiştir(11). Bu değerlerin bizim tespit ettiğimiz değerden daha düşük olduğu gözlemlendi. Yapılan hesaplamalar yeniden incelendiğinde özellikle iç kalite kontrol çalışmalarından elde edilen CV değerlerinin, belirsizlik değerini yükselten önemli bir faktör olduğu gözlemlendi.

Serum alkol seviyelerinin izin verilen yasal sınırları ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir(11). Bu sınır ülkemizde kamu hizmeti, kargo-yolcu taşımacılığı ve resmi sürücüler hariç 50 mg / dl'dir (12). Ayrıca laboratuvarımızda rutinde kullandığımız eşik değer de 50 mg/dl olduğundan bu çalışmada hasta sonuçları bu eşik değere göre değerlendirilmiştir. Belirsizlik ölçümü testin güvenilirliğini artırmakla birlikte, kesin sonuç değildir(13). Tespit edilen genişletilmiş ölçüm belirsizliği (U) değerine göre yeniden hesaplandığında (eşik değer  $x_U$ : 100), yeni eşik değer  $50 \pm 7.1$  olarak belirlendi (8). Bu bakımdan analiz edilen etil alkol test sonuçlarının, % 14.2'lik belirsizlik değeriyle birlikte yorumlanması sonucunun güvenilirliğinin artırılması açısından önem arz etmektedir. Laboratuvarımızda son bir yıl içinde analiz edilen 566 adet serum etanol testini retrospektif olarak incelediğimizde, yalnızca 10 hastanın (% 1.76) belirsizlik değerinden etkilendiği gözlemlendi. Geriye kalan tüm hastaların (% 98.24) ölçüm belirsizliği değerinden etkilenmediği tespit edildi.

Hesaplamalar daha uygulanabilir ve pratik olması nedeniyle Nordest kılavuzuna göre yapıldı. Günümüzde birçok laboratuvar, çalışılan testlerin belirsizlik değerleri tanımlanmaktadır. Ne yazık ki, serum etanol testinin belirsizliği hakkında ülkemizde kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır(11). Bağımlılık yapıcı madde analizleri kişilerin hayatlarını klinik, sosyal ve adli perspektiflerde etkilemektedir (3). Belirsizliğin göz ardı edilmesi yanlış karar verme riskini artırırken, sonuç ile birlikte yorumlanması karar verenin riskini azaltır (14). Bu nedenle, laboratuvarımızda olduğu gibi özellikle adli/toksikolojik analizlerin yapıldığı laboratuvarlarda testlerin

belirsizlik değerlerinin hesaplanması, sonuçların güvenilirliğini arttırmak adına atılacak önemli adımlardan bir tanesidir. Ancak ölçüm belirsizliğinin raporlanma şekli göz ardı edilmemesi gereken önemli bir husustur. Konu ile ilgili çeşitli öneriler olmasına rağmen(14,15) henüz geçerlilik kazanmış, test bazında veya tüm testler için ortak tasarlanmış, bir rapor formatı henüz bulunmamaktadır. Konu ile ilgili ileri disiplinler/kurumlar arası çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Kocak FE, Isiklar OO, Kocak H, Meral A. Comparison of blood ethanol stabilities in different storage periods. *Biochemia medica* 2015;25(1):57-63.
2. Ying YH, Wu CC, Chang K. The effectiveness of drinking and driving policies for different alcohol-related fatalities: A quantile regression analysis. *International journal of environmental research and public health* 2013;10(10):4628-44.
3. Kelly AT, Mozayani A. An Overview of Alcohol Testing and Interpretation in the 21st Century. *Journal of Pharmacy Practice* 2012;25(1) 30-36
4. Bal C, Serdar MA, Güngör OT, Çelik HT, Abuşoğlu S, Uğuz N et al. Biyokimya parametrelerinin ölçüm belirsizliğinin hesaplanması 2014;39(4):538-543
5. İnce FDA, Şentürk BA, Kap S, Akgöl E, Üstüner F. Klinik biyokimya laboratuvarında glukoz parametresi için ölçüm belirsizliği değerlendirilmesi. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2007;5(1): 1-5.
6. Maestroni M, editor. Uncertainty of laboratory operations. *Lectures Database/Uncertainty of analytical results/PrinGAples of estimation of uncertainty* FAO/IAEA Training Workshop on Introduction to QC/QA in PestiGAde Analytical Laboratories, Training and Reference Center for Food and PestiGAde Control, Austria; 2005.
7. Sentürk AB, Kaplan YC, Yigitbasi T, Karadas B, Zorlu N, Sutcu R. Evaluation of measurement uncertainty for tetrahydrocannabinol and opiate tests and its effect on clinical decision values. *Turkish Journal of Biochemistry* 2013;38(2):186-92.
8. Oğul Y, Şenyurt M, Altınkaynak K, Aksoy H, Akçay F. The Evaluation of measurement Uncertainty for TSH, FT4 and FT3 Tests, *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2015;13(3): 89-94
9. <https://www.westgard.com/clia.htm> Assesed:13 January 2017
10. Hwang RJ, Beltran J, Rogers C, Barlow J, Razatos G. Measurement of uncertainty for blood alcohol concentration by headspace gas chromatography. *Canadian Society of Forensic Science Journal* 2016; 50(3): 114-124
11. Ince FD, Arslan B, Kaplan YC, Ellidağ H. The Evaluation of Uncertainty for the Measurement of Blood Ethanol. *J Clin Anal Med* 2016;7(5): 648-51
12. Aşcıoğlu F, Yapar B, Tütüncüler A, Belce A. Trafik Güvenliğini Tehlikeye Sokma Suçu Açısından Alkol. *Adli Tıp Dergisi* 2009; 23(3): 8-16
13. Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ. Tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon ve kalite yönetimi. Ankara, *Türk Biyokimya Derneği Yayınları* 2000:106-23.
14. Gullberg RG. *Measurement Uncertainty in Forensic Toxicology: Its Estimation, Reporting and Interpretation, Toxicity and Drug Testing* 2012; ISBN: 978-953-51-0004-1
15. <https://www.nist.gov/pml/nist-tn-1297-7-reporting-uncertainty> Assesed:27 June 2017

---

#### Yazışma adresi:

Zekiye Çıtak  
Elazığ Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Hastanesi  
Tıbbi Biyokimya, Elazığ/Türkiye  
E-mail: drccatak@hotmail.com

---