

Fotometrik Testlerde Lineariteyi Aşan Örneklerin Tespitinde Uyarı İşaretleri Yeterli mi?

Are the Flags Sufficient in the Detection of Exceeding Linearity in Photometric Tests?

Esin Çalci* **Fatma Meriç Yılmaz**** **Turan Turhan***

* Ankara Numune EAH, Tıbbi Biyokimya, Ankara, Türkiye

** Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim dalı, Ankara, Türkiye

Başvuru Tarihi: 31 Mayıs 2018

Kabul Tarihi: 24 Eylül 2018

ÖZET

Giriş ve Amaç: Fotometrik testlerde sonuçların onayı sırasında karşılaşılan önemli problemlerden biri lineariteyi aşan örneklerin tespitidir. Linearitenin aşıldığı durumlarda, özellikle enzim düzeyleri gerçek değerinden farklı sonuçlar verebilmekte, onay aşamasında bu durum tespit edilemezse hastaların tanı ve tedavisinde ciddi sıkıntılar doğabilmektedir. Sonuçların linearite değerlerini aştığı durumlar için bir takım uyarı işaretleri (flag) tanımlanmış ve bu uyarı işaretlerinin varlığı durumunda örneklerin dilüsyona gönderilmesi önerilmiştir. Bu çalışmada, Roche Moduler P otoanalizörü için tanımlanmış olan uyarı işaretlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Hastanemizin Biyokimya laboratuvarında Şubat-Ekim 2013 tarihleri arasında dilüsyon yapılmış olan örnekler çalışma kapsamına alınmıştır. Varsa uyarı işaretleri kaydedilmiştir. Dilüsyon öncesi ve sonrası değerler arasındaki fark CLIA 88 sınırlarını aşmış ise örneğin linearite değerinin aşıldığı kabul edilmiştir.

Bulgular: Toplam 479 parametreye dilüsyon yapılmış, 428'inde uyarı işareti mevcutken 51 tanesinde herhangi bir uyarı işareti tespit edilmemiştir. Yapılan dilüsyonlardan 197 tanesinde dilüsyon sonrası anlamlı farklılık oluşmuştur. Lineariteyi aşan örneklerin %9,1'inde uyarı işareti bulunmadığı gözlenmiştir.

Sonuçlar: Çalışma ile uyarı işareti veren her örneğin dilüsyona gönderilmesi, ancak uyarı işareti gelmeyen testlerde de klinik uyumun mutlaka değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Uyarı İşaretleri, Dilüsyon, Linearite, Fotometri

Yazışma adresi: Esin Çalci

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4941-1586>

Ankara Numune EAH, Tıbbi Biyokimya, Ankara, Türkiye

e-mail: esn_calci@hotmail.com

ABSTRACT

Purpose: One of the important problems encountered in the confirmation of the results in photometric tests is the detection of samples exceeding linearity. In situations where linearity is exceeded, especially enzyme levels may give different results than the true value. If this can not be detected during the approval phase, serious problems can arise in the diagnosis and treatment of the patients. A number of flags are defined for situations where the results exceed the linearity values. In the presence of these flags, it is recommended that samples be sent to dilution. In this study, it is aimed to examine the flags defined for the Roche Modular P autoanalyzer.

Materials and Methods: Our hospital Biochemistry Laboratory samples which were diluted between February and October 2013 was included study. If there are flags, it is recorded. If the difference between the values before and after dilution exceeds the CLIA 88 limits, for example, the linearity value is assumed to be exceeded.

Results: A total of 479 parameters were diluted and there were flags in 428 parameters. No flags were detected in 51 parameters. Significant differences after the dilution procedure have been observed in 197 samples. It was observed that 9,1 % of the samples exceeding the linearity had no flag.

Conclusion: The study concluded that each sample giving a warning sign should be sent to the dilution, but the clinical fit should be assessed absolutely even in the test without the flag.

Key words: Dilution, Linearity, Photometry, Flag

GİRİŞ

Analitik aralık, yöntemin örnekte hiçbir değişiklik yapılmadan ölçebildiği konsantrasyon aralığıdır. Linearite ile test edilir (1). Linearite çalışması, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)'ın EP6-A protokolüne uygun olarak içinde miktarı bilinen farklı konsantrasyonlardaki gerçek örnekler ve bunlardan hazırlanan dilue havuzların kullanılması ile yapılır. İdeal olanı yanıtın (absorbans gibi) konsantrasyona karşı hazırlanan kalibrasyon grafiğinin lineer olması ve orjinden geçmesidir. Grafik lineer ise, test edilen aralık yöntemin lineer olduğu aralık olarak adlandırılır.

Linearitenin aşıldığı durumlarda yöntemin özelliğine göre olduğundan yüksek ya da düşük değerler elde edilebilmekte; bu durum özellikle enzim düzeylerinin okuma aralığının üstüne çıktığı akut hepatit gibi durumlarda sorun oluşturabilmektedir. Onay aşamasında linearitenin aşıldığı tespit edilemezse, hastaların tanı ve tedavisinde ciddi sıkıntılar doğabilmektedir. Sonuçların linearite değerlerini aştığı durumlarda kullanıcının uyarılması amacıyla otoanalizör sistemlere belli uyarı işaretleri (flag) tanımlanmakta ve bu uyarı işaretlerinin varlığı durumunda örneklerin dilüsyona gönderilmesi önerilmektedir.

Mevcut çalışma, gece saatlerinde lineariteyi aşan bir hasta örneğinin laboratuvar tenkisyeni tarafından atlanması nedeniyle ortaya çıkan bir problemin çözümü için planlanmıştır. Laboratuvarımızda gündüz saatlerinde tüm sonuçlar uzman hekimler tarafından onaylanırken gece 12.00-05.00 arasındaki sonuçlar laboratuvar gece teknisyeninin onayı ile verilmektedir. Acil Biyokimya Laboratuvarında karşılaştığımız sorunda, uzman onayının olmadığı gece saatlerinde akut hepatit nedeni ile hastaneye başvuran bir hastanın örneğinde linearitenin aşıldığı fark edilmemiş ve sonuçlar dilüsyon yapılmadan verilmiştir (ALT: 570 U/L AST: 1536 U/L). Hastanın hospitalizasyonunu takiben gecenin ilerleyen saatlerinde hastadan tekrar örnek gönderilmiş ve sonuçlar yine dilüsyon yapılmadan raporlanmıştır. (ALT:279 U/L AST: 353 U/L) Ertesi gün mesai saatleri içinde gönderilen örnekte ise onay aşamasında linearitenin aşıldığı fark edilerek dilüsyon yapılmış ve ALT: 9810 U/L, AST: 8250 U/L olarak raporlanmıştır. İki gün sonra yine gündüz saatlerinde gelen hastaya ait örnekte de linearitenin aşıldığı, uyarı işareti olduğu görülüp sonuçlar dilüsyon yapılarak verilmiştir. (ALT: 10380 U/L AST: 6970U/L). Problem, klinisyenin laboratuvarı arayarak hastanın klinik durumunda belirgin fark olmadığı

halde Acil Laboratuvar ve Rutin Laboratuvar arasındaki bu farklılığı açıklayamadıklarını belirtmesi ile fark edilmiştir. Yapılan geriye dönük incelemede gece saatlerinde gelen örneklerde linearitenin aşılıp cihazda uyarı işareti bulunduğu halde dilüsyonun yapılmadığı görülmüş, klinisyene bilgi verildikten sonra gece saatlerindeki örneklerin onayları konusunda düzeltici faaliyet başlatılmıştır.

Bu çalışma kapsamında dilüsyon yapılan örnekler incelemeye alınmış ve bu örneklerde uyarı işareti olup olmadığı kaydedilmiştir. Bu verilerden yola çıkarak uzman onayı sağlayamadığımız acil şartlarında, uyarı işaretlerini takip etmenin dilüsyonlu örnekleri tespit etmede yeterli olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastanemiz Acil Biyokimya Laboratuvarına Şubat-Ekim 2013 tarihleri arasında gelen 351 hastada 479 parametreye dilüsyon yapılmıştır. Dilüsyon yapılan testler Glukoz, Alanin Aminotransferaz (ALT), Alkalen Fosfataz (ALP), Amilaz, Gama Glutamil Transferaz (GGT), Laktat Dehidrogenaz (LD), Aspartat aminotransferaz (AST) ve Kreatin Kinaz (CK)'dır. MODULAR ANALYTICS (Roche Diagnostics) otoanalizörü tarafından varsa verilen uyarı işaretleri kaydedilmiştir. Uygun dilüsyon oranları seçilerek mikropipet yardımıyla serum fizyolojik kullanılarak örnekler dilüe edilmiştir. Dilüe edilen örnekler otoanalizörde tekrar çalışılıp elde edilen sonuçlar dilüsyon oranı ile çarpılmıştır. Dilüsyon öncesi ve sonrasında elde edilen değerler arasındaki fark CLIA 88 sınırlarını aşmış ise örneğin linearite değerinin aşıldığı kabul edilmiştir. Bu sınır değerler Glukoz için %10, ALT, AST, LD, GGT için % 20 ve ALP, CK ve Amilaz için %30 dur. Hemolizli, lipemik ve ikterik örnekler çalışmaya dahil edilmemiştir.

BULGULAR

MODULAR ANALYTICS (Roche Diagnostics) için kullanım kılavuzunda yer alan dilüsyon ile ilgili uyarı işaretleri incelenmiştir. Kılavuzda dilüsyon yapılması gerekir şeklinde

belirtilen uyarı işaretleri (FLAG) "\$, I, J, ve K'dır. Uyarı işaretlerinden "\$ " teknik limitin altında veya üstünde bir değer olduğunu, " I " tüm noktalarda substrat tükenmesini, " J " bir nokta dışında substrat tükenmesini, " K " iki veya üç nokta dışında substrat tükenmesini belirtmek için tanımlanmıştır. Bu uyarı işaretlerinin bulunduğu örnekler prospektif olarak incelenmiştir. 9 ayda 351 hastada toplam 479 parametreye dilüsyon yapılmıştır. 479 parametrenin 428'inde uyarı işareti bulunurken 51 tanesinde herhangi bir uyarı işareti tespit edilmemiştir. 428 parametre incelendiğinde 134 (%31,3) tanesinde "\$", 132 (%30,8) tanesinde "I", 38 (%8,9) tanesinde " J " ve 124 (%29) tanesinde de " K " uyarı işareti görülmüştür (Tablo 1). Yapılan dilüsyonlardan 197 (%41) tanesinde dilüsyon sonrası anlamlı farklılık oluşurken, 282 (%59) tanesinde bu farklılık gözlenmemiştir. Uyarı işaretleri incelendiğinde ise "\$ " uyarı işareti veren 134 parametrenin 29 (%22) tanesinin gerçekten dilüsyon gerektirirken 105 (%78) tanesinin gerektirmediği, "I" uyarı işareti veren 132 parametrenin 109 (%83) tanesinin gerçekten dilüsyon gerektirirken 23 (%17) tanesinin gerektirmediği, "J" uyarı işareti veren 38 parametrenin 7 (%18) tanesinin gerçekten dilüsyon gerektirirken 31 (%82) tanesinin gerektirmediği, " K " uyarı işareti veren 124 parametrenin 34 (%27) tanesinin gerçekten dilüsyon gerektirirken 90 (%73) tanesinin gerektirmediği, uyarı işareti vermeyen 51 parametrede ise 18 (%35) tanesinin gerçekten dilüsyon gerektirirken 33 (%65) tanesinin gerektirmediği görülmüştür (Tablo 2). "\$", "I", "J", "K" uyarı işareti en fazla LD'da (sırasıyla %25, %78, %79, %73) görülmüştür, "\$" ise en az Amilazda (%2), "I" ve "J" en az ALT'de (sırasıyla %4, %3), "K" ise en az GGT ve amilazda (%1) da görülmüştür. Uyarı işareti vermediği halde en fazla dilüsyon yapılan parametre ise AST (%29) iken en az yapılan GGT (%2) dir (Tablo 1). En sık rastlanan uyarı işareti "\$" olmasına rağmen uyarı işareti veren örnekler incelendiğinde lineariteyi aşan örneklerde en çok görülen uyarı işaretinin "I" olduğu saptanmıştır. Lineariteyi aşan örneklerin % 9,1'inde ise uyarı işareti bulunmadığı görülmüştür.

Tablo 1. İncelenen parametrelerde uyarı işaretlerinin dağılımı
Table 1. Distribution of warning signs in the parameters examined

PARAMETRE	"Ş"	"I"	"J"	"K"	Uyarı İşareti Yok
GLUKOZ	15 (%11)	---	---	---	---
ALT	29 (%22)	5 (%4)	1 (%3)	9 (%7)	12 (%24)
AST	30 (%22)	12 (%9)	4 (%11)	4 (%3)	15 (%29)
ALP	8 (%6)	---	---	---	3 (%6)
AMİLAZ	2 (%2)	---	---	1 (%1)	---
CK-T	11 (%8)	12 (%9)	3 (%8)	19 (%15)	6 (%12)
GGT	6 (%5)	---	---	1 (%1)	1 (%2)
LD	33 (%25)	103 (%78)	30 (%79)	90 (%73)	14 (%27)
TOPLAM	134 (%100)	132 (%100)	38 (%100)	124 (%100)	51 (%100)

Ş: teknik limitin altında veya üstünde bir değer olduğunu, I: tüm noktalarda substrat tükenmesini, J: bir nokta dışında substrat tükenmesini, K: iki veya üç nokta dışında substrat tükenmesini belirtmek için kullanılır.

Ş: is a value below or above the technical limit, I: substrate depletion at all points, J: outside of a point is used to indicate substrate depletion, except for two or three points of substrate depletion.

Tablo 2. İncelenen uyarı işaretlerinin dağılımı
Table 2. Distribution of the warning signs examined

	CLIA 88		DEĞERLERİNE GÖRE	Toplam
	Dilüsyon Gerektiren	Dilüsyon Gerektirmeyen		
Ş	29 (%22)	105 (%78)		134
I	109 (%83)	23 (%17)		132
J	7 (%18)	31 (%82)		38
K	34 (%27)	90 (%73)		124
Uyarı işareti yok	18 (%35)	33 (%65)		51
Toplam	197 (%41)	282 (%59)		479

Ş: teknik limitin altında veya üstünde bir değer olduğunu, I: tüm noktalarda substrat tükenmesini, J: bir nokta dışında substrat tükenmesini, K: iki veya üç nokta dışında substrat tükenmesini belirtmek için kullanılır
 Ş: is a value below or above the technical limit, I: substrate depletion at all points, J: Substrate depletion outside a point, K: used to denote substrate depletion outside of two or three points

TARTIŞMA

Çalışmamızda rutin onay sırasında dilüsyon yapılmış olan Glukoz, ALT, ALP, GGT, LD, AST ve CK testleri incelemeye alınmıştır. Diabetes mellitus, gestasyonel diyabet, pankreatit adacık hücre tümörleri ve idiyopatik hipogliseminin de içinde bulunduğu karbonhidrat metabolizma bozukluklarının tanısı ve izlenmesinde glukoz ölçümleri kullanılır (2). GGT, gizli alkolizm için bir tarama testi olup hepatobiliyer hastalıkların tanısında ve takip edilmesinde kullanılır (3). ALP aktivitesi karaciğer ve kemik hastalıklarının tanı ve tedavisinde kullanılır (4,5). Miyokard enfarktüsü, rabdomiyoliz, musküler distrofi, polimiyozit gibi miyopatilerin tanısında ve izlenme-

sinde CK ve CK-izoenzim aktivitelerinin tayini kullanılır (6,7,8). LD özellikle iskelet kası, kalp, karaciğer, böbrekler ve eritrositler olmak üzere çeşitli dokularda yüksek miktarda bulunur. Çeşitli hastalık durumlarında serumda yükselmiş LD seviyeleri gözlenir (9). ALT ve AST vücuttaki hücrelerde yaygın olarak bulunur. ALT başlıca karaciğer ve böbrekte bulunurken daha az olarak kalp ve iskelet kasında bulunur. AST ise başlıca kalp, karaciğer, iskelet kasında bulunur. Yükselmiş ALT ve AST düzeyleri akut hepatoselüler hasarın, alkolik, viral veya kronik hepatitin ve organ hasarının göstergesi olabilir. ALT, AST'ye göre karaciğere daha spesifik bir enzimdir. Akut hepatitin takibi ALT ve AST düzeyleri ile yapılır (10).

Birçok önemli hastalığın tanı ve tedavi takibinde kullanılan laboratuvar testlerinde doğru sonuç rapor edilmesi son derece kritiktir. Zira takipteki bir hastada linearite aşıldığı için yanlış düşük sonuç raporlanması, bir sonraki çalışmada doğru sonuç elde edildiğinde "bir önceki değere göre belirgin artış var" izlenimi doğuracağından myokard infarktüsü hastasında reinfarkt ya da akut hepatitte fulminant hepatite gidiş gibi son derece kritik yanlış tanıların oluşmasına yol açabilecektir. Bu nedenle laboratuvar onay aşamasının standardize edilmesi ve kullanılan cihazın uyarı işaretlerinin anlamı bilinerek takip edilmesi önemlidir. Mevcut çalışma ile Roche Moduler P için dilüsyon yapılması gereken uyarı işaretlerinin anlamı ve rutin geçerliliği sorgulanmıştır.

SONUÇ

Roche moduler P otoanalizörü tarafından verilen 428 uyarı işareti incelenmiş, uyarı işareti veren örneklerin %42'sinde gerçekten dilüsyon yapılması gerektiği görülmüştür. Uyarı işareti verilmediği halde onay aşamasında dilüsyon gerektiği düşünülen 51 testte de örneklerin %35'inin gerçekten dilüsyon gerektirdiği görülmüştür. Bu verilerden yola çıkarak uyarı işaretlerinin onay aşamasında takip edilmesinin önemli olduğu, her cihazın kendine özel uyarı işaretlerinin bilinmesi ve klinik anlamlarının araştırılması gerektiği ve yalnızca uyarı işaretlerine güvenerek linearite takibi yapmanın ufak bir grupta da olsa dilüsyon gerektiren bir örneğin atlanmasına yol açabileceği; dolayısıyla onay aşamasının mutlak surette uzman kontrolünde olması gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Westgard JO, 2008. Basic Method Validation. 3rd Edition. Madison, Westgard QC. pp. 9-306
2. American Diabetes association Clinical practice Recommendations: Executive summary. Standards of Medical care in Diabetes Care-2010. Diabetes Care. 2010;33 (suppl 1): 11-69
3. Targher G. Elevated serum γ -glutamyltransferase activity is associated with increased risk of mortality, incident type 2 diabetes, cardiovascular events, chronic kidney disease and cancer – a narrative review. Clin Chem Lab Med 2010;48: 147-57.
4. Aragon G, Younossi ZM. When and how to evaluate mildly elevated liver enzymes in apparently healthy patients. Cleve Clin J Med 2010;77: 195-204.
5. Rajarubendra N, Bolton D, Lawrentschuk N. Diagnosis of bone metastasis in urological malignancies - an update. Urology 2010;76: 782-90.
6. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. Clin Chem Lab Med 2010;48: 757-67.
7. Cervellin G, Comelli I, Lippi G. Rhabdomyolysis: historical back ground, clinical diagnostic and therapeutic features. Clin Chem Lab Med 2010;48: 749-56.
8. Ristagno G, Santonocito C, Li Y, Li Volti G, Gullo A. Biomarkers of myocardial injury after cardiac arrest or myocardial ischemia. Front Biosci 2010;2: 373-91.
9. Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1995;384-87.
10. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. CMAJ 2005;172: 367-79.