

TSH, FT4 ve FT3 Testlerinin Ölçüm Belirsizliğinin Değerlendirilmesi

The Evaluation of Measurement Uncertainty for TSH, FT4 and FT3 Tests

Yasemin Oğul* Mahmut Şenyurt* Konca Altınkaynak*
Hülya Aksoy** Fatih Akçay**

* Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi biyokimya, Erzurum, Türkiye

** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Tıbbi biyokimya, Erzurum, Türkiye

Başvuru Tarihi: 08 Haziran 2015

Kabul Tarihi: 01 Aralık 2015

ÖZET

Amaç: Ölçüm belirsizliği (U) ölçüm sonucu ile beraber raporlanan ve ölçüm sonucuna atfedilebilecek olasılıkların dağılımını gösteren bir parametre olarak tanımlanmıştır. Ölçüm belirsizliği klinisyenin tıbbi kararı vermesinde çok önemlidir, tanı ve tedaviyi yönlendiricidir. Bu çalışmanın amacı, laboratuvarımızda FT4, FT3 ve TSH parametrelerinin ölçüm belirsizliğini belirlemektir.

Yöntem: Bu çalışmada Nordtest kılavuzunda tanımlanan ölçüm belirsizliği hesaplama modeli kullanıldı. Standart, birleşik ve genişletilmiş belirsizlik değerleri bu modelle hesaplandı.

Bulgular: TSH testi için genişletilmiş belirsizlik değerini %17.93 hesaplandı. FT4 ve FT3 için bu değeri sırasıyla %8.83 ve %9.13 olarak bulundu. FT4'ün genişletilmiş belirsizlik değeri Westgard'ın % TEa değerinden yüksek bulundu.

Sonuç: Laboratuvardaki tüm değişiklikler belirsizliği etkileyebilir. Bu yüzden için belirsizlik sürekli olarak izlenmelidir ve belirsizlik tahminleri daha fazla veri eklenerek iyileştirilmelidir.

Anahtar Sözcükler: Tiroid stimulan hormon, serbest tiroksin, serbest tiroidotironin, belirsizlik

ABSTRACT

Purpose: A parameter associated with the result of a measurement that characterises the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measurand is defined as measurement uncertainty (U). Measurement uncertainty is very important for the clinician to provide medical judgement, diagnosis and treatment. The aim of this study was to determine the measurement uncertainty of FT4, FT3 and TSH parameters in our laboratory.

Material and Methods: In this study, measurement uncertainty calculation was done using Nordtest guide model. Standard, combined and expanded uncertainty values were calculated with this model.

Results: Expanded uncertainty was calculated 17.93% for TSH. We found measurement uncertainty of FT4 and FT3 were % 8.83 and %9.13, respectively. Expanded uncertainty of FT4 was found to be higher when compared to %TEa values of Westgard.

Conclusion: All changes may affect the uncertainty in the laboratory. Therefore, it must be constantly monitored and uncertainty estimates should be improved by adding more data.

Key Words: Thyroid stimulating hormone, free thyroxine, free triiodothyronine, uncertainty.

GİRİŞ

Belirsizlik (uncertainty); ölçüm sonucu ile beraber raporlanan ve ölçüm sonucuna atfedilebilecek olasılıkların dağılımını gösteren bir parametredir. Ölçülebilir bir büyüklüğün değerini içine alan bir aralığı tanımlayan istatistiksel parametredir (1). Yani; ölçüm belirsizliği hesaplanıp, ölçümle beraber verildiğinde; ölçümün hangi sınırlar içinde yer alabileceğini ve güven/kalite düzeyini gösterir. Bu yüzden ölçüm belirsizliği, ölçüm sonucunu kullanarak tıbbi karar verirken, ölçüm sonuçlarını karşılaştırırken, limitlere uygunluğa karar verirken gereklidir. Matriks etkisi, interferanslar, referans materyaller, kütle ve hacimsel belirsizlikler, çevresel etkiler, ölçüm yöntemi ve prosedürü gibi pek çok neden ölçüm sonuçlarının belirsizliğine katkıda bulunmaktadır (2,3).

Yıllarca ölçüm sonucunun belirsizliğini değerlendirmede ve ifade etmede birçok değişik yaklaşım kullanılmıştır (4). *International Vocabulary of Metrology* (VIM2, VIM3), *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* (GUM1) gibi kuruluşlar bu hesabın nasıl yapılacağı yönünde metrolojik olarak teknikler sunmaktadır. Ancak hesaplanmanın nasıl yapılacağına dair henüz bir fikir birliği bulunmamaktadır (5).

Laboratuvarında en çok istenen hormon testleri tiroid stimulan hormon (TSH), serbest tiroksin (fT4) ve tiroidotironin (fT3)'dür. Üstelik tiroid fonksiyon bozuklukları en sık görülen endokrin hastalıklardandır. Bu nedenle belirsizlik hesaplarının yapılması için laboratuvarımızda çalışılan testlerden fT4, TSH ve fT3 seçildi. Seçilen testlerin hem alt hem de üst referans limitleri klinik kararda çok değerli ve tedaviyi yönlendirici öneme sahiptir. Bu nedenle, ölçüm belirsizliklerinin saptanması sonuçların yorumlanmasında fay-

dalı olacaktır. Bu çalışmanın amacı, laboratuvarımızda fT4, fT3 ve TSH parametrelerinin ölçüm belirsizliğini belirlemektir. Böylece tıbbi hataların da mümkün olduğunca azaltılmasına katkıda bulunabilecektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Nordtest kılavuzunda tanımlanan ölçüm belirsizliği hesaplama modeli kullanıldı(6). Analitler Siemens firmasına ait ADVIA Centaur XP otoanalizörlerinde aynı firmaya ait kitler kullanılarak çalışıldı.

1. Aşama

Laboratuvar içi yeniden üretilebilirlik (*within laboratory reproducibility*, R_w) hesabı için Biorad Lypocheck Immunassay Plus seviye 1 ve seviye 2 kontrol materyallerininin bir aylık varyasyon katsayısı (%CV) değerleri kullanıldı (Tablo 1).

$\%CV = (\text{ölçümün standart sapması} / \text{ölçüm ortalaması}) \times 100$.

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

$$uR_w = R_w / 2$$

2. Aşama

Dış kalite kontrol verilerinden belirsizliğin standart u (bias) komponentinin hesabında farklı bias değerlerinin ortalamasının karekökü (*Root Mean Squares of Biases*, RMS bias) ve sertifikaya veya nominal değere ait belirsizlik (u (Cref)) değerleri kullanılır. Bias gerçek ve ölçülen değer arasındaki fark olarak ifade edilir.

Dış kalite kontrol (EQAS) programından elde ettiğimiz dokuz aylık veriler RMS bias hesabında kullanıldı (Tablo 2).

Tablo 1. İç kalite kontrol %CV, R_w ve uR_w değerleri
Table 1. Internal quality control, CV%, R_w and uR_w values.

	1. seviye internal kalite kontrol ortalama - %CV	2. seviye internal kalite kontrol ortalama - %CV	R_w	uR_w
TSH (μ IU/mL)	0.353 - 2.74	4.927 - 2.26	5.02	2.51
fT4 (ng/dL)	0.772 - 3.1	1.913 - 2.68	5.8	2.90
fT3 (pg/mL)	2.548 - 2.45	6.650 - 2.54	5	2.5

Tablo 2. Dış kalite kontrol RMS bias, %CV, n ve u(Cref) değerleri
Table 2: External quality control, RMS bias, CV%, n and u(Cref) values.

	RMS bias	%CV	n	u(Cref)
TSH (μIU/mL)	8.51	11.70	83	1.3
ft4 (ng/dL)	3.30	7.29	263	0.5
ft3 (pg/mL)	3.81	4.25	251	0.3

RMS bias = $\sqrt{\frac{\sum (DK\ bias)^2}{n}}$, n=dış kalite kontrol katılım sayısı

u(Cref) sertifikalı referans materyalden veya dış kalite kontrol sonuçlarındaki değerden (nominal) hesaplanarak elde edilen belirsizlik bileşeni olarak tarif edilir. Dış kalite kontrol verilerinden u(Cref) değerinin hesaplanmasında %CV değeri kullanılabilir. Belirsizliğin u(Cref) değerinin hesabında her bir parametre için dış kalite kontrol verilerinden elde edilen dokuz aylık ortalama %CV değerleri aynı metod ve aynı cihazı kullanan laboratuvar sayısının kareköküne bölündü (Tablo 2).

u(Cref) = %CV / \sqrt{n} , n=aynı metod ve aynı cihazı kullanan laboratuvar sayısı

3. Aşama

Tüm belirsizlik bileşenleri aşağıdaki formüllerle standart belirsizlik değerine dönüştürüldü (Tablo2, 3).

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

4. Aşama

Standart belirsizlik bileşenlerinin tamamından faydalanılarak birleşik belirsizlik (*combined standart uncertainty*, uc) değeri oluşturuldu (Tablo 3).

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

5. Aşama

Birleşik belirsizlik değeri k faktörü ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik (*expanded*

uncertainty, U) değeri hesaplandı. 'k' değeri %95 güven aralığını temsil eden 1.96 yaklaşık 2 olarak alındı (Tablo 3).

$$U = 2 \cdot uc$$

TSH, FT3 ve FT4 için bulunan genişletilmiş belirsizlik (U) değerleri, Westgard'ın izin verilen toplam hata limitleri (%TEa) kullanılarak değerlendirildi (7). Toplam hata, ölçüm prosedüründeki sistematik ve rasgele hatanın toplamına eşittir.

$$\% TEa = Bias + z \times precision,$$

$$\%95\ güven\ hududu\ için,\ \%TEa = Bias + 1.65 \times precision = \%TEa = Bias + 1.65CV_A.$$

Biasın müsaade edilebilir hududu, toplam biyolojik değişikliğin ¼'dür. Bias < 0.25[(Birey içi biyolojik değişkenlik (CV_I)² + Bireyler arası biyolojik değişkenlik (CV_G)²)^{1/2}].

Analitik hata için öneri: CV_A < 1/2 CV_I.

Bu durumda %TEa formülü %TEa = 0.25 (CV_I² + CV_G²)^{1/2} + 1.65 (0.5 CV_I) olur (8,9).

TSH ölçümünde WHO uluslararası insan TSH standard materyali kullanılırken, ft4 ve ft3 ölçümünde ise United States Pharmacopeia standard materyali kullanıldı.

BULGULAR

Yaptığımız çalışmada; TSH testi için U değeri %17.93 bulunurken, ft4 için U değeri % 8.83 ve ft3 için bu değeri %9.13 olarak bulundu (Tablo 3). FT4' ün U değeri Westgard'ın hedef % TEa değerinden yüksek bulundu (Tablo 4).

Tablo 3. Standart, birleşik, genişletilmiş belirsizlik değerleri
Table 3: Standard, combined and expanded uncertainty values

	u(bias)	uc	U (%)
TSH (μIU/mL)	8.60	8.96	17.93
ft4 (ng/dL)	3.33	4.42	8.83
ft3 (pg/mL)	3.82	4.56	9.13

Tablo 4. Birey içi CV, bireyler arası CV, hedef kesinlik, yanlılık ve izin verilen hata değerleri
Table 4: Intraindividual CV, interindividual CV, target precision, bias and allowable error values.

	CV _i	CV _G	CV (%)	Bias (%)	TEa(%)
TSH (μIU/mL)	19.3	24.6	9.7	7.8	23.7
ft4 (ng/dL)	5.7	12.1	2.9	3.3	8
ft3 (pg/mL)	7.9	17.6	4	4.8	11.3

Tablo 5. Referans aralıkların belirsizliğe göre gösterimi
Table 5. Representation of the reference range by the uncertainty

	Referans aralığın alt değeri	Belirsizliğe göre düzenlenmiş alt değer	Referans aralığın üst değeri	Belirsizliğe göre düzenlenmiş üst değer
TSH (μIU/mL)	0.35	0.29 – 0.41	4.94	4.06 – 5.82
ft4 (ng/dL)	0.70	0.64 – 0.76	1.48	1.35 – 1.61
ft3 (pg/mL)	1.71	1.56 – 1.86	3.71	3.38 – 4.04

Tartışma

ISO 15189 standardı madde 3.19'da ölçme belirsizliği (ölçüm belirsizliği) "Makul olarak ölçülen büyüklüğe atfedilebilen değerlerin dağılımını niteleyen ve ölçme sonucuyla birlikte verilen parametre" olarak tanımlanmıştır. Madde 5.6.2'de ise "laboratuvar gerektiği ve mümkün olduğu yerde sonuçların belirsizliğini tayin etmelidir" ibaresi yer almaktadır (10). Bu ifade 2012 revizyonunda yenilenmiş ve 'her ölçüm prosedürü için ölçüm belirsizliği hesaplanmalı' şeklinde klavuzda yerini almıştır (11).

Herhangi bir biyokimyasal test sonucunun güvenilir olması için, gerçek değere yakın ve tekrarlanabilir olması, belirsizlik değeri ile birlikte verilmesi, ulusal ve uluslararası ortamlarda karşılaştırılabilir olması gereklidir. Henüz laboratuvar sonuçlarıyla beraber, her analiz için ölçüm belirsizliğini bildirmek zorunluluğu sağlık bakanlığınca mecbur tutulmamıştır; ancak yakın gelecekte özellikle referans aralıkların alt ve üst limitlerinde ve klinik karar düzeylerinin yorumlanmasında bu bilgiye ihtiyaç duyulacaktır. Örnekleme ve örnek hazırlama aşamaları, kalibratörler, referans materyaller, cihazlar, çevresel faktörler ve personel değişimleri belirsizliğe etki eden önemli kaynaklardır.

Bu çalışmada belirsizlik hesabının yapılması için, iç ve dış kalite kontrol verileri kullanılmıştır. İç kalite kontrol değerleri laboratuvar da uygulanan metodun kesinliğini yansıtır-

ken, dış kalite kontrol değerleri laboratuvarın performansının tarafsız olarak değerlendirilmesini sağlar (12). TSH, ft4 ve ft3 testlerine ait belirsizlik hesaplamalarını yapmak için Nordtest klavuzunda tanımlanan ölçüm belirsizliği hesaplama modeli kullanıldı ve belirsizlik kaynakları tespit edildi (6).

Her bir kaynaktan gelen birimsiz (rölatif; ortalamaya oranlı) standart belirsizlikler u (bias) hesaplandı. Elde edilen birimsiz standart belirsizlikleri birleşik belirsizlik formülüyle birleştirip birimsiz birleşik belirsizlik (uc) bulundu. Bu değer k faktörü ile genişleterek genişletilmiş belirsizlik yüzde cinsinden (U) hesaplandı.

Belirsizliğin iç kalite kontrol verilerinden hesaplanarak kesinliğin bir ölçütü olarak kullandığımız uRw değerleri ve dış kalite kontrol verilerinden elde edilen ve yanlılığın bir ölçütü olarak kullanılan u(bias) değerleri Westgard'ın hedef %CV ve %bias ile karşılaştırıldı. Her üç testin uRw değerlerinin hedeflenen %CV değerlerini aşmadığı tespit edildi (Tablo 1,3 ve 4). Aynı zamanda uRw değerlerinin kit prospektusunda belirtilen total %CV değerlerinden düşük olduğu da görüldü (TSH, ft4 ve ft3 için prospektus %CV değerleri sırasıyla %12.8, %4.58 ve %4.05). TSH testinin u(bias) değerinin hedeflenen bias değerini aştığı görüldü. Biasdan kaynaklanan hataların dış kalite kontrol materyalinin sulandırılmasından kaynaklanıyor olabileceğini düşünüyoruz. FT4 için bulunan

genişletilmiş belirsizlik (U) değerinin Westgard'ın izin verilen total hata limitini (%TEa) aşdığı tespit edildi (Tablo 3 ve 4). Çoğunlukla yapılan çalışmalarda belirsizlik ile % TEa değerlerinin karşılaştırması yapılmaktadır. Bu iki parametrenin karşılaştırılmasının yön gösterici olduğu gerçeği ile birlikte, mutlak doğru olduğu tartışmalıdır. Belirsizlik metrolojik bir kavram iken % TEa biyokimyasal bir kavramdır.

Türkmen ve ark.'ları (14) TSH ve PSA testleri için belirsizlik hesabı yaptıkları çalışmada TSH için U değerini %14.46 olarak bulmuşlardır. Bizim bu test için bulduğumuz U değeri % 17.93 olup Türkmen ve ark'larının değerinden yüksekti. Güngör'ün (4) yaptığı tez çalışmasında TSH için bulduğu %10.16 olan U değeri ise bizim belirsizlik değerinden düşüktü. Bu farklılık cihaz ve yöntemle bağlı olabileceği gibi belirsizlik hesabında farklı formüller kullanıldığı için olabilir. Bu nedenle klinik biyokimya laboratuvarlarında kullanılan ölçüm belirsizliği hesaplama modelleri standardize edilmelidir. Literatürde belirsizlik konusundaki çalışmalar son derece sınırlı olduğundan FT4 ve FT3 için bir karşılaştırma yapamadık.

Sonuçların raporlanması iki şekilde yapılabilir (15).

- 1- Test sonucu (birim) \pm belirsizlik değeri (birim) / referans aralık değerleri
- 2- Test sonucu (birim) \pm belirsizliğin yüzdesi / referans aralık değerleri

Genişletilmiş ölçüm belirsizlik değerine göre testlerin sınır değerleri;

(sınır değer x U) / 100 olarak hesaplandı ve sonuçların raporlanması 1. maddeye göre tabloda gösterildi (Tablo 5).

Tüm bu hesaplamalara rağmen belirsizlik kesin bir değer değil, sadece olasılıktır. Çünkü belirsizliğe yol açan tüm faktörleri göz önünde bulundurmak ve bu faktörlerden sayısal bir değer elde etmek oldukça güçtür. Laboratuvardaki tüm değişiklikler belirsizliği etkileyebildiği için de belirsizlik sürekli olarak izlenmelidir ve belirsizlik tahminleri daha fazla veri eklenerek iyileştirilmelidir.

Özellikle kliniklerde çalışan hekimler henüz bu kavrama aşına değildir. Bu nedenle belirsizlik değerlerinin sonuçla birlikte rapor edildiğinde kafa karışıklığına yol açmamak için klinisyenler belirsizlik konusunda bilgilendirilmeli veya eğitim seminerine tabi tutulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Kristiansen J. (2003). The Guide to Expression of Uncertainty in Measurement Approach for Estimating Uncertainty: An Appraisal. *Clinical Chemistry*, 49(11), 1822-9.
2. EDMA Position Paper. (2006). Estimation of Uncertainty of Measurement in Medical Laboratories, (September), 1-5.
3. The SAC Accreditation Programme . (2013). Technical Guide 4 A Guide on Measurement Uncertainty in Medical Testing, (February), 1-51.
4. Güngör M. (2008). *Klinik Biyokimya Ölçüm Belirsizliği (Tıpta Uzmanlık Tezi)*. İstanbul, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
5. Bal C, Serdar A. M, Güngör T. O, Çelik T. H ve ark. (2014). Biyokimya Parametrelerinin Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması. *Türk Biyokimya Dergisi*, 39(4):538-43.
6. Bertil M, Naykki T, Hovind H and Krysell M. (2012). Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories. *Nordtest project*.
7. Westgard QC. Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from biologic variation. <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>. (Erişim: 2015).
8. Petersen P.H., Fraser C.G. (2010). Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine: 10 years on from the Stockholm consensus conference. *Accred Qual Assur*, 15:323-30
9. Westgard QC. Biological variation Data for setting Quality Specifications. <https://www.westgard.com/guest12.htm>. (Erişim : 2015).
10. Öztürk Ö, Serdar A. M, Öztürk M ve Kurt İ. (2012). Gestasyonel Diyabet Tanısında Glukoz Ölçüm Belirsizliğinin Etkisi Var mı? *Türk Biyokimya Dergisi*, 37(December 2011), 68-72.
11. Dequeker E. ISO 15189 : 2012 'E- Course On The New Version Of ISO 15189' http://www.eurogentest.org/fileadmin/templates/eugt/event_files/jan_2014/e_course_ISO_15189_2012.pdf (Erişim: Mayıs 2015)
12. Feinberg M, Boulanger B, Dewé W and Hubert P. (2004). New advances in method validation and measurement uncertainty aimed at improving the quality of chemical data. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 380(3 SPEC.ISS.), 502-14.
13. Citac / Eurachem Guide. (2002). Guide to Quality in Analytical Chemistry, 1-40.

14. Turkmen S, Yildirmak T. S, Yekrek M, Cimen B, et al. (2014). Within the context of good clinical laboratory practices evaluation of measurement uncertainty of Thyroid Stimulating Hormone and Prostate Specific Antigen parameters. *Turkish Journal of Biochemistry*, 39(July 2012), 476-81.
15. Üstüner F. (2010). Metrolojik İzlenebilirlik Kavramlarının Analitik Kalite Kontrole Uyarlanması (Ölçme Belirsizliği), Aslan D. Ed. Klinik Laboratuvarlarda Analitik Kalite Yönetimi Kursu Kitabı. İzmir: 95-100.

Yazışma adresi:

Mahmut Şenyurt

Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi biyokimya, Erzurum, Türkiye

E-mail: mahmutsenyurt@gmail.com
