

# Klinik Biyokimya Laboratuvarında Glukoz Parametresi İçin Ölçüm Belirsizliği Değerlendirilmesi

## The Evaluation of Uncertainty of Measurement for Glucose Parameter in Clinical Chemistry Laboratory

F. Demet Arslan İnce

Banu Arslan Şentürk

Serkan Kap

Evren Akgöl

Füsun Üstüner

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Laboratuvarı, İzmir

### ÖZET

**Amaç:** Belirsizlik, ölçülebilen bir büyüklüğün değerini içine alan bir aralığı betimleyen parametredir. Sonucun, gerçek değeri ne ölçüde temsil ettiğini de gösterir. Ölçüm belirsizliği birçok bileşeni içerir. Bu çalışmanın amacı, glukoz heksokinaz yöntemi kullanan glukoz analizinde ölçüm belirsizliğini tespit etmek ve laboratuvar uygulamalarında işe yararlılığını ispatlamaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Glukoz için tekrarlanabilirlik, kit belirsizliği ve kalibrasyon kayma belirsizliği hesaplandı. Tüm bu standart belirsizlik değerleri tespit edildikten sonra, bileşik belirsizlik bulundu. Genişletilmiş belirsizlik, bileşik belirsizliğin kapsam faktörü(k) ile çarpımından elde edildi. Yaklaşık %95 güven düzeyi için k=2 idi.

**Bulgular:** Bilinmeyen test (X) sonuç formülüne göre glukoz için ölçüm belirsizliği  $X \pm 0.03X$  (%95, k=2) bulundu. Örneğin; 126 mg/dL glukoz konsantrasyonu için belirsizlik  $\pm 3.78$  mg/dL'dir.

**Sonuç:** Akredite olmuş tüm kuruluşlar her parametre için ölçüm belirsizliğini hesaplamalıdır. Ölçüm belirsizliği, sonuçların güvenilirliğini yansıtır. Preanalitik, analitik ve postanalitik aşamalar esnasında sonucu etkileyebilecek her hata kaynağı tanımlanmalı ve belirsizlik değeri olarak verilmelidir. Bu bileşenlerin bir kısmı, tekrar edilen seri ölçüm sonuçlarının istatistiksel dağılımından elde edilebilir ve standart sapma yardımıyla tanımlanabilir. Standart sapma yardımıyla tanımlanan diğer bileşenler, tecrübeye veya diğer bilgilere dayandırılan varsayılan olası dağılımlardan elde edilebilir. Bu çalışmaya göre, klinisyenler test sonuçlarını değerlendirirken ölçüm belirsizliğini göz önünde bulundurmalıdır.

**Anahtar Sözcükler:** Glukoz, ölçüm belirsizliği

### ABSTRACT

**Objective:** Uncertainty is a parameter that characterize a range which includes a measurable substantiality. It also shows how much the result represents the real value. Uncertainty of measurement comprises many components. The purpose of this study was to estimate uncertainty of measurement in the glucose analysis that use glucose hexokinase method and to prove it to be useful in laboratory practice.

Bu çalışma, Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği 4. Ulusal Kongresi (16-20 Ekim 2007)'nde poster olarak sunulmuştur.

**Materials and Methods:** Repeatability, uncertainty of reagent and uncertainty of calibration drift for glucose were calculated. After all these standard uncertainty values were estimated, the combined uncertainty was founded. Expanded uncertainty was obtained by multiplying the combined uncertainty by a coverage factor (k). For an approximate level of confidence of 95%, k is 2.

**Results:** According to the formula of unknown test result (X), uncertainty of measurement for glucose was founded  $X \pm 0.03X$  (%95, k=2). e.g. uncertainty was  $\pm 3.78$  mg/dL for 126 mg/dL glucose concentration.

**Conclusion:** All institutions that have accreditation, must calculate the uncertainty of measurement for every parameter. The uncertainty of a measurement reflects reliability of the results. Every error source that can affect the result during preanalytical, analytical and postanalytical stages must be determined and it must be given as a uncertainty value. Some of these components may be obtained from the statistical distribution of the results of series of repeated measurements and they can be determined by means of standard deviation. The other components which can be determined by means of standard deviation are obtained from assumed probability distributions based on experience or other information. According to this study, the physicians must take care of the uncertainty of measurement during the evaluation of the test results.

**Key Words:** Glucose, uncertainty of measurement

## GİRİŞ

Belirsizlik, ölçülebilen bir büyüklüğün değerini içine alan bir aralığı betimleyen istatistiksel parametredir (1). Sonucun, gerçek değeri ne ölçüde temsil ettiğini gösterir. Sonuçtan yararlanacak kişiye, sonucun güvenilirliğini değerlendirme olanağı sağlar.

Uygun bir yöntemle hesaplanarak bulunmuş ölçüm belirsizliği, ölçülerek bulunmuş değer tanınmış belirsizlik aralığı içinde yer alması halini bir güvenilirlik düzeyi ile birlikte açıklar (2). Ölçüm belirsizliği genel olarak birçok bileşeni içerir. Bu bileşenlerin bir kısmı, ölçüm serileri sonuçlarının istatistiksel dağılımına bakılarak tahmin edilebilir ve deneysel olarak hesaplanan standart sapma yardımıyla belirtilebilir (Örn; tekrarlanabilirlik). Diğer bileşenlerin tahmini ise daha önceki ölçümlere, ilişkili materyal ya da cihazın özellikleriyle ilgili deneyimlere, üretici firmanın verilerine veya kitaplardan elde edilen referans verilere dayandırılabilir (Örn; matris etkisi) (3).

Akredite olmuş tüm kuruluşların çalıştıkları her parametre için ölçüm belirsizliği değeri vermesi gereklidir (2). Klinik laboratuvarlarda belirsizliği göstermek için genellikle kesinlik kavramını kullanma alışkanlığı vardır. Kesinlik kavramı belirsizliği ifade etse

de kimyasal ölçümlerde daha çok bileşen etkisi değerlendirilerek daha kapsamlı belirsizlik hesaplamaları yapılmalıdır. Bu amaçla belirsizlik hesaplamaları için Eurachem / CITAC Guide CG 4 "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" (QUAM), 2000 yılında yenilenerek yayınlanmıştır (3).

Bu çalışmanın amacı, laboratuvarımızda glukoz heksokinaz yöntemi ile belirlenen glukoz ölçümlerinin kesinlik parametrelerinden olan tekrarlanabilirlik, ticari kit ve kalibrasyondan kaynaklanan belirsizliğinin saptanmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Klinik biyokimya ölçüm belirsizliğini değerlendirmek için İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi I. Biyokimya ve Klinik Biyokimya laboratuvarında çalışılmakta olan glukoz parametresi ele alındı. Ölçümler Abbott/Architect C8000 otoanalizöründe glukoz heksokinaz yöntemi ile fotometrik olarak yapıldı.

Eurachem / CITAC Guide CG 4 "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" (QUAM) verilerine göre ölçüm belirsizliği Tip A ve Tip B olarak ayrılmaktadır. Tip A istatistiksel hesaplamalarla bulunan belirsizlik değeri, Tip B ise üretici firmaların verdiği

değerlere göre hesaplanan belirsizlik değeridir (3). Çalışmamızda tüm belirsizlik kaynakları tek tek değerlendirildi. Tip A belirsizliği olarak kalibratör kayma belirsizliği ve tekrarlanabilirlik, Tip B belirsizliği olarak kit belirsizliği ele alındı.

Tekrarlanabilirlik belirsizliği için, aynı örnekten 21 kez arka arkaya, hem gün içi hem de günler arası çalışıldı ve varyasyon katsayısı (%CV) hesaplandı. Kalibrasyon kayma belirsizliği için aynı kalibratörden 5 farklı gün çalışıldı. Bu 5 farklı kalibrasyon eğrisinin eğim değerlerinin ortalaması ve standart sapmasından(sd) %CV hesaplandı. Eurachem Guide'a göre her bir belirsizliği elde etmek için kullanılan verilerin diktörtgenel dağılım veya normal dağılıma uyduğu varsayıldı (3). Tekrarlanabilirlik belirsizliği ( $u(x_1)$ ) normal dağılıma göre  $\%CV/\sqrt{n}$  olarak, kalibrasyon kayma belirsizliği ( $u(x_2)$ ) diktörtgenel dağılıma göre  $sd/\sqrt{3}$  ve kit belirsizliği ( $u(x_3)$ ) normal dağılıma göre  $\%CV/2$  olarak hesap-

landı. Her bir standart belirsizlik değeri, %'ye göre hesaplandığı için  $x_1, x_2, x_3$  değerleri 100 kabul edildi. Tüm standart belirsizlikler ( $u(x_1), u(x_2), u(x_3)$ ) 100'e bölünerek rölatif standart belirsizlik bulundu. Rölatif standart belirsizliklerin kareleri toplamının karekökü alınarak bileşik belirsizlik

$$u_c(x) = \sqrt{\frac{u(x_1)^2}{x_1^2} + \frac{u(x_2)^2}{x_2^2} + \frac{u(x_3)^2}{x_3^2}}$$

Bu değeri kapsam faktörü (k) ile çarptığımızda genişletilmiş belirsizlik değeri (U) ortaya çıktı ( $U=k \cdot u_c(x)$ ). Kapsam faktörünü seçerken istenilen güven aralığı temel alındı. Buna göre %95 güven aralığı ile kapsam faktörü 2'dir (3) (Tablo 1).

## BULGULAR

Eurachem /CITAC Guide CG 4'nın bildirdiği bilinmeyen test sonucu raporlama formülüne göre  $X \pm 0.03X$  (%95, k=2) olarak gösterilir. Örneğin; glukoz konsantrasyonu 126 mg/dL için belirsizlik değeri  $\pm 3.78$  mg/dL'dir.

**Tablo 1.** Glukoz ölçüm değeri ve belirsizlik hesaplaması.

1. Kit Belirsizliği	Değer (x)	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Ticari kitin verdiği ortalama %CV değeri % Standart belirsizlik (normal dağılımla)	100	1.07	2.15/2= <b>1.07</b>
2. Kalibrasyon Kayma Belirsizliği	100	1.15	0.0115
Farklı zamanlarda verilen kalibrasyon eğrilerinin eğimlerinin % sapması % Standart belirsizlik (diktörtgen dağılımla)	100	0.21	2,00/ $\sqrt{3}$ = <b>1.15</b>
3. Tekrarlanabilirlik Belirsizliği	100	0.21	0.0021
Aynı serum örneğinin günler arasında ve gün içinde n=21 sonucun %CV değeri % Standart belirsizlik (normal dağılımla)	100	0.21	1/ $\sqrt{21}$ = <b>0.21</b>

	Değer (x)	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
1. Kit Belirsizliği	100	1.07	0.0107
2. Kalibrasyon Kayma Belirsizliği	100	1.15	0.0115
3. Tekrarlanabilirlik	100	0.21	0.0021
Bileşik Belirsizlik		$\sqrt{(0.0107^2+0.0115^2+0.0021^2)} = 0.015$	
Genişletilmiş Belirsizlik (k=2)		$0.015 \times 2 = 0.03$	
Bilinmeyen Test Sonucu (X)			
İçin Raporlama Formülü		$X \pm (0.03X)$	
Örnek Ölçüm Sonucu		126 mg/dL	
Örnek Test Sonucu		$126 \pm (126 \times 0.03)$ mg/dL $126 \pm 3.78$ mg/dL	

## TARTIŞMA

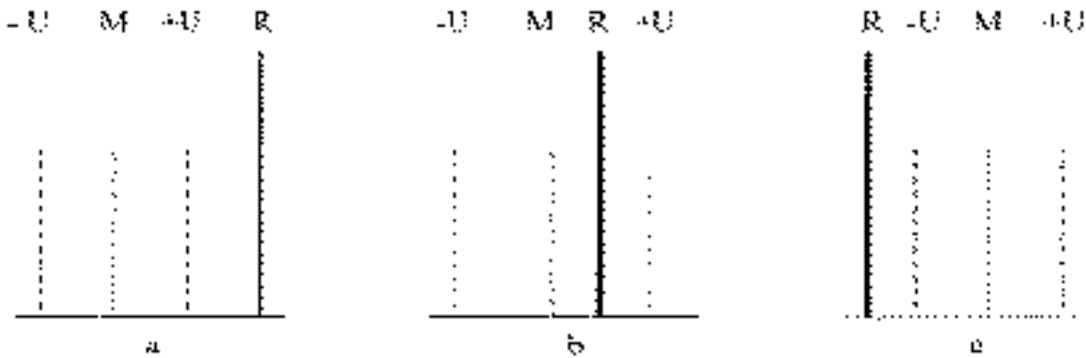
Ölçüm belirsizliği, sonuçların değerlendirilmesi ve kalitesinin artırılması için birçok alanda olduğu gibi klinik biyokimyada da kullanılmalıdır. Bir işlemde birçok ölçme olabilir ve her ölçüme belirsizlik vardır. Preanalitik, analitik ve postanalitik aşamalar esnasında sonucu etkileyebilecek her hata kaynağı tanımlanmalı ve belirsizlik değeri olarak verilmelidir.

Ölçüm sonucunun kalitesini arttırmak için yapılacak iş, sistemdeki en yüksek belirsizliğe sahip ölçmeyi iyileştirmektir (1). Yaptığımız çalışmada glukoz için kalibratör kayma belirsizliği, kit belirsizliği, tekrarlanabilirlik belirsizliği hesaplandı. Değerlendirilen diğer belirsizlik kaynaklarının olası katkıları önemsenmeyecek kadar az olduğu için dikkate alınmadı. Çalışmamızda glukoz için bulduğumuz %3'lük belirsizlik değeri, Linko ve ark. (4)'ün yaptığı çalışmada %2.6 değerine benzerken, İnal ve ark. (5)'ün yaptığı %4.6'lık belirsizlik değerinden bir miktar farklılık göstermekteydi. Ancak günümüzde klinik laboratuvarlarda çalışılan parametreler için belirlenmiş ve standartize edilmiş ölçüm belirsizliği değerleri henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle farklı laboratuvarlarda hesaplanan değerlerin karşılaştırılması mümkün değildir. Bununla birlikte ölçüm belirsizliği hesaplamaları konusunda ortak bir yargıya varıldıktan sonra önümüzdeki yıllar içinde her parametre için kabul edile-

bilir ölçüm belirsizliği değerleri nin oluşturulacağı beklenmektedir.

Pratikte laboratuvarlar tarafından ölçüm belirsizliği değerlerinin raporlanması kadar klinisyenler tarafından bu değerlerin doğru şekilde kullanılması da son derece önemlidir. Uygulamada ölçülen sonucun kabul kriteri, referans değeri (R) aşmaması, aşması veya belirli iki değer arasında kalması şeklinde olabilir. Örneğin; Diabetes mellitus (DM) tanısı koymak için tanı kriterlerinden biri, açlık glukozunun 126 mg/dL'nin altında olmasıdır. Ölçülen değer (M)±belirsizlik değeri (U) 126 mg/dL'nin altında ise DM kabul edilemez (Şekil 1a) (1), değer (M)±belirsizlik değeri (U) 126 mg/dL'nin üzerinde ise DM kabul edilir (Şekil 1c) (1). Ölçülen değer (M)±belirsizlik değeri (U) 126 mg/dL değerine içine alıyorsa yine DM kabul edilemez (Şekil 1b) (1). Buna göre, klinisyenler karar sınırında çıkan sonuçları, ölçüm belirsizliğini dikkate alarak değerlendirmelidir.

Ölçüm belirsizliğini değerlendirme yöntemi International Organization for Standardization (ISO) 17025 Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM) ile saptanmıştır (6). Ancak bu rehber ile ilgili pek çok tartışma halen sürmektedir (7,8). Bu hesaplamaların karmaşık ve uzun olması anlaşılmasını zorlaştırmakta ve pratikte uygulanabilirliğini azaltmaktadır. Bu nedenle Australian Association of Clinical Biochemists (AACB), Australian Institute of Medical



Şekil 1. Belirsizliğin değerlendirilmesi (1).

M: Ölçülen değer, U: Belirsizlik değeri, R: Referans değeri, a: DM kabul edilemez, b: DM kabul edilemez, c: DM kabul edilir

Scientists (AIMS), National Association of Testing Authorities (NATA), National Pathology Accreditation Advisory Council (NPAAC) ve Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA) kuruluşlarının dahil olduğu "Ölçüm Belirsizliği Çalışma Grubu", ISO 15189 standartları için farklı bir öneri getirmiştir. Önerileri ölçüm belirsizliğinin hesaplanması için  $\%CV \times 2$  kullanılmasıdır. Bu hesapmanın mantığını ise, örnek hazırlanması, kalibrasyon değişimleri, kullanılan cihaz ve kit, çevresel faktörler ve operatör değişiminin ölçüm belirsizliğine olan etkisinin zaten  $\%CV$  içinde yer aldığı temeline dayandırılmaktadır (9).

Ölçüm belirsizliği hesaplamalarının 2002 yılından itibaren IVD (In Vitro Diagnostic Medical Devices) direktifleri ve European Union (EU) komisyonu kararlarına göre zorunlu hale gelmiş olması klinik kimya laboratuvarlarının bu uygulamaların dışında kalamayacağını düşündürmektedir.

Literatürde bu konudaki çalışmalar son derece azdır. Oysa klinik biyokimya laboratuvarlarında çalışan her parametre için ölçüm belirsizliği saptanmalıdır. Analiz sonuçlarının ölçüm belirsizliği ile birlikte değerlendirilmesi, tanıda klinisyene büyük yarar sağlayacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. Türker AR. Tıp Laboratuvarlarında Standardizasyon ve Kalite Güvencesi Kurs Kitabı-Laboratuvarlarda Temel İstatistik Kavramları; 1998: 13-16.
2. Bakır F, Laleli Y. TS EN ISO/IEC 17025 Kapsamında Akreditasyona Teknik Hazırlık. Türk Biyokimya Dergisi 2006; 31 (2): 96-101.
3. Ellison SLR, M. Rosslein & A. Williams. 2nd Ed. Quantifying Uncertainty In Analytical Measurement. Eurachem/Citac 2000.
4. Linko S, Ormemark U, Kessel R, Taylor PD. Evaluation of uncertainty of measurement in routine clinical chemistry--applications to determination of the substance concentration of calcium and glucose in serum. Clin Chem Lab Med 2002; 40(4): 391-8.
5. Berçik Inal B, Koldas M, Inal H., Coskun C., Gümüş A, Döventas Y. Evaluation of measurement uncertainty of glucose in clinical chemistry. Ann N Y Acad Sci 2007; 1100: 223-6.
6. The Guide To The Expression Of Uncertainty In Measurement. ISO 17205, Geneva 1993. (ISBN 92-67-10188-9) (Reprinted 1995).
7. Krouwer JS. Point 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.
8. Krouwer JS. Counterpoint The Guide to Expression of Uncertainty in Measurement Approach for Estimating Uncertainty: An Appraisal. Clinical Chemistry 2003; 49(11): 1818-1829.
9. White GH, Farrance I. on behalf of the AACB Uncertainty of Measurement Working Group. Clin Biochem Rev 2004; 25 (Suppl (ii)).

---

#### Yazışma adresi:

Dr. F. Demet Arslan İnce  
Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,  
Biyokimya ve Klinik Biyokimya Laboratuvarı,  
35360, İzmir  
Tel : 0.232 244 44 44/2648  
Faks : 0.232 243 15 30  
GSM : 0.505 646 82 14  
E-posta: fatmademet.arslan@gmail.com

---