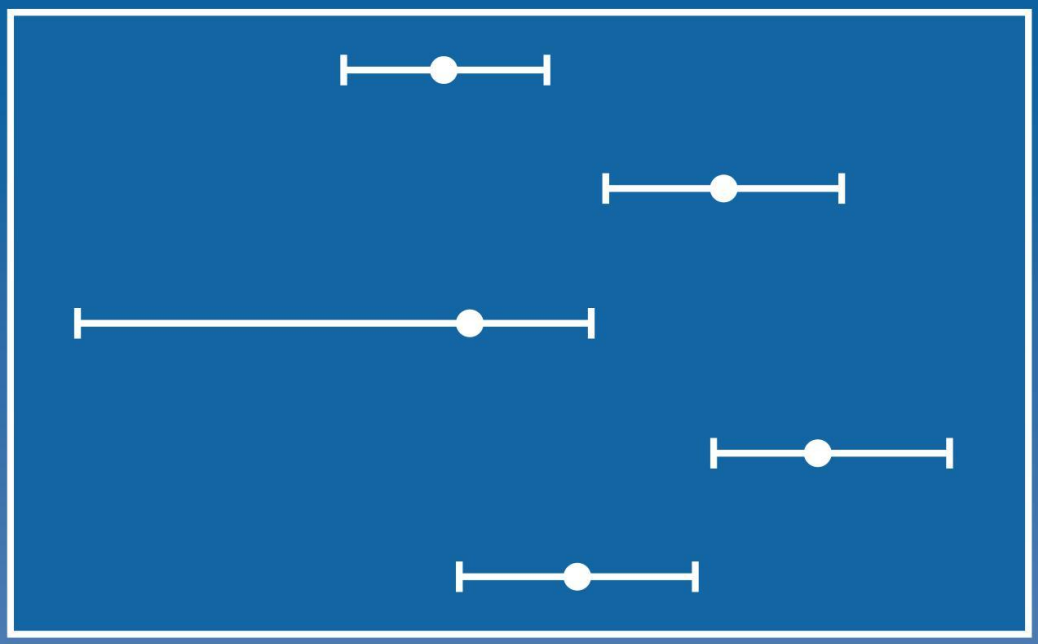
BİYOLOJİK VARYASYON:

İLKELERDEN UYGULAMAYA



Callum G. Fraser

AACCPress

Biyolojik Varyasyon

Biyolojik Varyasyon:
İlkelerden Uygulamaya

Callum Fraser
Callum G. Fraser, PhD
Ninewells Hospital and Medical School
Dundee Scotland

Çeviren: **Abdurrahman Coşkun**

AACC
Press

İçindekiler

Çeviri Önsözü VII
Teşekkür IX
Önsöz XI
Giriş XIII

1. Bölüm Biyolojik Varyasyonun Doğası 1
2. Bölüm Kalite Spesifikasyonları 35
3. Bölüm Seri Ölçüm Sonuçlarındaki Değişimler 81
4. Bölüm Popülasyona Dayalı Referans Değerlerin Yararı 111
5. Bölüm Biyolojik Varyasyonun Diğer Kullanım Alanları 141
6. Bölüm Sonraki Adımlar 149

Sözlük 157

Ek 1 Biyolojik Varyasyon Bileşenlerinin Tahmini Değerleri 163
Ek 2 Presizyon, Bias ve Toplam Kabul Edilebilir Hata İçin Kalite Spesifikasyonları 169

İndeks 175

Çeviri Önsözü

Biz klinik laboratuvarcılar, genel olarak analiz sürecinde test sonuçlarındaki değişkenlikleri, özellikle de analitik varyasyonu, preanalitik etkenleri, interferansları işimiz gereği iyi biliriz. Ve bunları iyileştirebilir ya da kontrol edebiliriz. Ancak, analitik süreçte kontrol edebildiğimiz bu değişkenlerin yanı sıra iyi bilmemiz gereken bir de **rastlantısal biyolojik varyasyon gerçeği** var. Biyolojik varyasyonun gerek bireysel bileşeni, gerekse bireyler arası bileşeni öngöremediğimiz, kontrol edemediğimiz ve laboratuvar uygulamaları bakımından çok önemli değişkenlik alanları. Kontrol edemesek veya değiştiremesek de, eğer biyolojik varyasyon konusunda yeterli bilgiyle donanırsak, hasta güvenliği bakımından çok daha yararlı bir laboratuvar hizmeti verebiliriz. Çünkü, günümüzde biyolojik varyasyonu pek çok alanda kullanabiliriz. Başlıcaları: **(1) Analitik hata hedeflerinin belirlenmesi:** Bu konuda biyolojik varyasyonun önemi gittikçe artmaktadır. Bias, presizyon ve toplam analitik hata hedefleri büyük ölçüde biyolojik varyasyon verilerine göre belirlenebilmektedir. Tahminimce, ileride pek çok analit için **evrensel analitik hata hedefleri** biyolojik varyasyon verileriyle belirlenecektir. Biyolojik varyasyon bu potansiyele sahiptir. **(2) Ardışık hasta sonuçlarının değerlendirilmesi.** Hasta takibinde ve delta çek değerlerinin saptanmasında referans değişim değerinin kullanılması, bilişim teknolojisinin de desteğiyle gittikçe yaygınlaşacaktır. Bu konuda klinisyenleri bilgilendirmek ve referans değişim değerini uygulamak yakın gelecekte laboratuvarcıların önemli görevlerinden birisidir. **(3) Popülasyona dayalı referans aralıklarının kulanılması.** Biyolojik varyasyona dayalı analit bireyselliklerinin bilinmesi, herhangi bir test sonucunun popülasyona dayalı referans aralıklara göre değerlendirilip değerlendirilemeyeceği veya testin ne amaçla kullanılacağı konusuna da ışık tutar. **(4)** Bunlara ek olarak biyolojik varyasyon verileri, herhangi bir klinik durum için **uygun test ve numune seçiminde**, **interferansların ve dış kalite değerlendirme sonuçlarının yorumlanmasında** ve **ilaç tedavisi takibinde** de kullanılabilir.

Elinizdeki kitap, **"Biyolojik Varyasyon: İlkelerden Uygulamaya"**, **"biyolojik varyasyonun babası"** diyebileceğimiz bir klinik biyokimyacı olan

Dr. Callum G. Fraser tarafından kaleme alınmıştır. Kitapta yukarıda belirtilen kullanım alanları yanı sıra, biyolojik varyasyonun ne olduğu, bileşenleri ve bu bileşenlerin nasıl hesaplanacağı konusunda çok yararlı, net bilgiler verilmektedir.

Kitap **Türk Biyokimya Derneği (TBD) EFLM Temsilcisi Prof. Dr. Abdurrahman Coşkun** tarafından Türkçe'ye kazandırıldı. Prof. Coşkun aynı zamanda **EFLM Biyolojik Varyasyon Görev Gücü** üyesidir ve bu alanda pek çok bilimsel çalışması vardır. Kitabı büyük emek vererek akıcı, anlaşılır, duru bir Türkçe ile ve titizlikle hazırladı. Sonuçta ortaya çok yararlı bir ürün çıktı. Bu değerli kitabı TBD Yayınları içinde ülkemize kazandırdığı için Prof. Coşkun'a tüm meslektaşlarımız ve derneğimiz adına teşekkür ederim. Ayrıca, kitabın Türkçe'ye kazandırılmasına onay verdikleri için **Prof. Fraser**'a ve **AACC Press** yöneticilerine de teşekkürü borç biliriz.

Saygılarımla.

Doğan Yücel
TBD Başkanı

Teşekkür

Çok yoğun bir iş temposu içinde kitabı çevirmeye çalıştım. Bu nedenle hatalar olmuş olabilir. Tüm hataların sorumluluğu bana aittir. Kitabın çevirisi sırasında meslektaşlarımın çok değerli katkıları oldu. Çeviriyi gözden geçiren başta Türk Biyokimya Derneği Başkanı sayın Doç. Dr. Doğan Yücel olmak üzere çeviriyi gözden geçiren sayın Prof. Dr. Ferhan Sağın ve sayın Doç. Dr. Alev Kural'a çok teşekkür ederim. Tablo ve resimlerin hazırlanmasında çok büyük katkıları olan Tıp Fakültesinin fedakar öğrencileri Cansu Kızıltaş, Sibel Huet, İlayda Dalgakıran ve yüksek lisans öğrencisi Cansu Arslan'a çok teşekkür ederim. Ve son olarak teşvik ve gayretleri ile her zaman yanımda olan sevgili eşim Ayşe Coşkun'a ayrıca teşekkür ederim. Herşey daha iyi bir dünya için

Abdurrahman Coşkun
Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi
Ataşehir, İstanbul

Önsöz

Bu kitap basit ancak kapsamlı olarak aşağıdakilerin nasıl gerçekleştirileceği konusunda yardımcı olmaktadır:

- Bireysel ve bireyler arası biyolojik varyasyon bileşenleri ile ilgi sayısal verilerin üretilmesi ve
- bu verilerin literatür ve diğer kaynaklara eklenmesini ve daha sonra
- bu bilgilerin günlük klinik laboratuvar pratiğinde uygulanması.

Son zamanlarda kalite spesifikasyonları ile birlikte, popülasyona dayalı ve kişiye özgü referans aralıklarının belirlenmesiyle ilgili stratejilere olan ilgi son zamanlarda giderek artmaktadır. Konuyla ilgili güncel bilgiler ders kitaplarından ziyade daha çok literatürde ve dağınık vaziyette bulunmaktadır. Bu bilgiler elinizdeki kitapta derli toplu olarak bir araya getirilmiştir.

Bu kitabın hedef kitlesini aşağıdakiler oluşturmaktadır:

Laboratuvar tıbbında kalite ile ilgilenen tüm bireyler, hasta numuneleri ile ilgili işlemleri gerçekleştirenler ve özellikle,

- Kalite yönetimi ile ilgilenen laboratuvar profesyonelleri
- Laboratuvar tıbbında mezuniyet öncesi ve mezuniyet sonrası eğitim alanlar ve
- Sınava girecek ya da sertifika alacak stajyerler

Kitabın içerdiği konuların büyük bir kısmının, laboratuvar testlerini isteyen ve nümerik sonuçlarını yorumlayanların ilgisini çekeceğini ve sanıldığından daha kolay olan bu konunun tıp öğrencilerinin eğitiminde de kullanılacağını umit etmekteyim.

Bazı yönleri ile bu kitap daha önce yayımlanan, 'Interpretation of Clinical Chemistry and Laboratory Data' (Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford, 1986) adlı kitabımın güncellenmiş bir versiyonudur. Bununla birlikte kitabın içeriği ve vurguladığı konular önemli oranda değiştirildi.

Kitabı yazmamda, 2000'li yılların başlarında QIK Quality Is Key, Ltd., (Worthington, Ontario, Kanada) başkanı Zoe Brooks ile bir toplantıda karşılaşmamın büyük etkisi oldu. Zoe, son 20 yılda ürettiğimiz ve yayımladığımız verileri ve modelleri nasıl kullandığımızı görmek için beni Dundee'de

ziyaret etti. Önceki kitabımı güncellemem için yapılan girişimleri kabul etmemiştim, ancak Zoe biyolojik varyasyonun teoriden pratiğe nasıl aktarılacağı konusunda ki düşüncelerimin yazılması için beni yeterince cesaretlendirdi ve ikna etti.

Bu kitap Zoe ile yakın işbirliğimizin bir ürünüdür. Kitabın ilk taslağını yazdım. Zoe her bir sözcüğü tek tek okudu ve kitabın son versiyonuna çok sayıda yeni fikirler ekledi. Jeanette Devere tüm şekilleri çizdi ve mükemmel yorumlar ekledi. AACC Press yazdıklarımı özlü ve okunabilir bir formata çevirdi. Hata ve eksiklerin sorumluluğu, kuşkusuz bana aittir.

Callum G. Fraser
Ninewells Hastanesi ve Tıp Fakültesi
Dundee
İskoçya
Şubat 2001

Giriş

Klinik laboratuvarların ilgilendiği pek çok analit bireylerin yaşamı boyunca değişim gösterir. Bu değişimin basitçe nedeni, doğal biyolojik faktörlerin yaşlanma sürecine dâhil olmasıdır. Bu değişimler neonatal (yeni doğan) dönem, çocukluk dönemi, puberte, menopoz veya illeri yaşlar gibi yaşamın kritik dönemlerinde çok hızlı gerçekleşebilir.

Bununla birlikte, belli analitler önceden tahmin edilebilir biyolojik ritim veya döngülere sahiptir. Bu döngüler günlük, aylık veya mevsimsel olabilir. Bu döngülerin bilinmesi iyi hekimlik uygulamalarında hayati önem taşır. Örneğin, bir hastanın numunesinin döngünün uygun bir zamanında alınması önemlidir ve belirlenen bu zaman, testin klinik amacına uygun olmalıdır. İyi referans değerlerin elde edilmesi zaman alıcı ve kompleks olduğundan referans değerlerin doğru elde edilmesi özellikle klinik karar verme noktaları için oldukça önemlidir. Daha da önemlisi, beklenen bir ritim ya da döngünün yokluğu dinamik fonksiyon testlerinin en basiti olup mevcut bir hastalığın varlığı için önemli bir ipucu olabilir.

Bununla birlikte, pek çok test klinik önemi olan döngüsel ritim göstermezler. Aslında görünen değişimlerin, belli bir homeostatik karar noktası etrafında rastgele dalgalanmalar olduğu söylenebilir. Uygulamada bu durumu kolaylıkla görüyoruz. Eğer bellirli bir laboratuvar testi için bir bireyden seri (art arda) olarak numune alırsak, elde edilen tüm ölçüm sonuçların aynı sayısal değerde olmadığını görürüz. Her bireyin test sonuçları zamanla değişim gösterir. Bu değişimin üç nedeni vardır:

- **Preanalitik etkenler:** Bunlar, postür gibi, numune alımı için bireyin hazırlanmasıyla ve turnike uygulama süresi gibi, numunenin toplanmasıyla ilişkili etkenlerdir.
- **Rastgele analitik hatalar** (presizyon) ve muhtemelen **sistematik hatalar** (örneğin kalibrasyondan dolayı bias'da görülen değişimler) ve
- Homeostatik karar noktası etrafındaki doğuştan gelen **biyolojik varyasyon**. Bu varyasyon *bireysel biyolojik varyasyon* olarak bilinmektedir.

Eğer aynı testi farklı bireylerde çalışmış olsaydık her bir bireyin test sonuçlarının ortalamasının tam olarak aynı sayısal değerde olmadığını görecektik. Bireylerin homeostatik karar noktaları genellikle farklılık göstermektedir. Bireyler arasındaki bu fark *bireyler arası biyolojik varyasyon* olarak adlandırılır.

Biyolojik varyasyonun bireysel ve bireyler arası bileşenlerinin büyüklüğünü sayısal olarak belirlemek için aşağıda maddeler halinde sıralandığı gibi oldukça basit bir çalışma gerçekleştirebiliriz:

1. Sağlıklı görünen (veya çalışılan analiti etkilemeyecek rahatsızlığı bulunan hastalar) gönüllü bireylerden oluşan küçük bir grup oluşturun.
2. Preanalitik varyasyonu en az düzeye indirmek için, belirli zaman aralıklarında düzenli olarak her bireyden bir seri numune alın.
3. Numuneleri analize kadar saklayın.
4. Analizden kaynaklanan varyasyonu en az düzeye indirmek için tüm numuneleri çift çalışın.
5. Uç değerleri (outlier), yani veri kümesinden anlamlı olarak farklı olan değerleri atın.
6. Varyans analizini (ANOVA) kullanarak analitik varyasyon ve biyolojik varyasyonun bireysel ve bireyler arası bileşenlerini belirleyiniz.

BASTGELE BİYOLOJİK VARYASYONA DAYALI VERİLERİN KULLANIMI

Yukarıda açıklanan deneysel yöntemleri kullanarak sayısal veriler elde ettiğimiz zaman aşağıdaki konular hakkında kantitatif olarak bilgimiz olacaktır:

- Ortalama bireysel biyolojik varyasyon ve
- Bireyler arası biyolojik varyasyonun değerleri

Bu tür deneysel çalışmaları laboratuvarımızda nadiren yapıyoruz. Çünkü literatürde biyolojik varyasyon bileşenleriyle ilgili çok sayıda veri bulunmaktadır. Bu verilere ulaşmak kolaydır. Günlük uygulamalarda bu verileri rahatlıkla kullanabiliriz.

Biyolojik varyasyon bileşenlerinin verilerini aşağıda sıralanan kalite spesifikasyonlarını elde etmek için kullanabiliriz:

- Presizyon (kesinlik)
- Bias
- Kabul edilebilir toplam hata
- Metotlar arası kabul edilebilir fark

- Yeterlilik testleri (PT) veya dış kalite değerlendirme programları (EQAS) ve
- Referans metotlar.

Bireysel biyolojik varyasyon ve analitik kesinlik ile ilgili veriler aşağıda sıralanan bilgileri elde etmek için kullanılabilir:

- Bir bireyin seri ölçümleri arasındaki farkın anlamlı olabilmesi için gerekli değişimin (referans değişim değeri) belirlenmesi
- Bir bireyin seri ölçüm sonuçları arasındaki farkın anlamlılık düzeyini gösteren istatistiksel olasılığın belirlenmesi
- Kalite yönetiminde kullanmak için, objektif delta çek (delta check) değerlerinin elde edilmesi

Bireysel ve bireyler arası biyolojik varyasyonun karşılaştırılması ile aşağıdakiler hakkında bilgi sahibi olabiliriz:

- Geleneksel popülasyona dayalı referans değerlerinin (sıklıkla normal aralık olarak adlandırılır) kullanılabilirliği hakkında karar vermek
- Referans değerlerinin, örneğin yaş ve cinsiyete göre tabakalara ayırmanın, neden klinik karar vermeye olumlu katkısı olduğunu açıklamak.

Biyolojik varyasyon verileri aşağıda sıralananlarda olduğu gibi başka amaçlar için de kullanılabilir:

- Epidemiyolojide kullanılan güvenilirlik katsayısının hesaplanmasında
- Belirli bir yüzdelik içinde ve belirtilen olasılıkta homeostatik karar noktasının tahmin edilmesi için gerekli olan numune sayısının belirlenmesinde ve
- Test sonuçlarının rapor edilmesinde en iyi yöntemin belirlenmesi, en uygun şekilde numunelerin toplanması ve en büyük kullanım potansiyeline sahip test prosedürlerinin seçimine karar verilmesinde.

Ve kuşkusuz, biyolojik varyasyonla ilgili verilerin üretimi ve uygulanması, tüm yeni test prosedürlerinin gelişiminde temel ön koşuldur.

BİYOLOJİK VARYASYON VE KALİTE ARAYIŞI

Zamanla kalite yönetiminin, yıllardır her gün laboratuvarda uyguladığımız basit istatistiksel kalite kontrol tekniklerinden çok daha fazlası olduğunu fark ettik. Kalite yönetimine, laboratuvar kalite uygulaması, kalite güvencesi, kalite iyileştirmesi ve kalite planlaması yanı sıra kalite kontrolün de dâhil edilmesi ve entegrasyonu gerekir. Kısacası, kalite yönetimi klinik olarak uygun ve doğru yorumlanan laboratuvar sonuçlarının elde edilmesi sürecinde,

preanalitik, analitik ve postanalitik basamaklar dâhil olmak üzere, çalışmalarımızın tüm aşamalarını etkiler.

Bu nedenle kalite yönetimi ile ilgilenenlerin, günlük uygulamalarında, biyolojik varyasyon bileşenleri ile ilgili sayısal verilerin nasıl elde edildiği ve uygulandığı konusunda bilgi sahibi olmalarıönemlidir. Daha da önemlisi, biyolojik varyasyonun laboratuvar testleri ve laboratuvar sonuçlarını yorumlamadaki etkilerini göz önünde bulundurmak zorundayız.

KALİTENİN TANIMLANMASI

ISO (International Organization for Standardization) kaliteyi 'bir ürün ya da hizmetin belirlenen ve kastedilen gereksinimi karşılayabilme yeteneklerini ortaya koyan karakteristiklerin bütünüdür' şeklinde tanımlar. Bu oldukça karmaşık tanımı – en azından bizler için – 'laboratuvar tıbbında gerçekleştirilen testlerin kalitesi klinisyenlerin iyi hekimlik yapmalarına imkân vermelidir' şeklinde değiştirebiliriz.

Laboratuvar kalitesinin uygulaması, güvencesi, geliştirilmesi ve kontrolünü yapmadan önce klinik karar vermede yeterliliği sağlamak için hangi düzeyde kaliteye gereksinim duyduğumuzu bilmek zorundayız. Laboratuvar hizmetleri, numunelerin teknik analizinden çok daha fazlasını içermektedir. Bu nedenle hasta numunelerinin günün hangi saatinde ya da ayın hangi dönemlerinde alındığının bilinmesi önemlidir. Çünkü numunenin alındığı saat (gün içinde) ve dönem (ay içinde) test sonuçlarını etkileyebilir. Daha da önemlisi, hastanın takibinde (bir bireyin test sonuçlarındaki değişimi görmek için seri ölçümlerin yapılması), teşhisin konulmasında ve olgu bulmada (popülasyona dayalı referans değerlerinin sıklıkla kullanılması) test sonuçları sayısal olarak yorumlanırken ilgili testin biyolojik varyasyonu göz önünde bulundurulmalıdır.

KİTABIN KULLANIMI

Bu kitap biyolojik varyasyon değerlerinin elde edilmesi ve uygulamasıyla ilgili modern ve en son görüş ve düşünceleri bir araya getirmektedir. Spesifik olarak aşağıda sıralanan konularda sizlere yardımcı olacaktır.

- Laboratuvar test sonuçlarındaki varyasyonun pek çok kaynağının olduğunun bilinmesinde
- Döngüsel biyolojik ritimlerin klinik önemlerinin anlaşılmasında
- Bireysel ve bireyler arası biyolojik varyasyonun sayısal değerlerini üretmede ve/veya bulmada

- Kalite spesifikasyonlarının belirlenmesinde kullanılan mevcut modellerdeki hiyerarşinin anlaşılmasında
- Biyolojik varyasyon verilerini kullanarak presizyon (kesinlik) ve bias için kalite spesifikasyonlarının belirlenmesinde
- Biyolojik varyasyona dayalı, kabul edilebilir toplam hata için, kalite spesifikasyonlarının geliştirilmesinde
- Başka amaçlar için kullanılacak kalite spesifikasyonlarının biyolojik varyasyon verilerinden elde edilebileceğinin farkına varılmasında
- Bir bireyin ardışık test sonuçlarında, zamanla oluşan değişimin anlaşılmasında
- Bireylerin test sonuçlarında, farklı zamanlarda görülen değişimi belirlemek için referans değişim değerlerinin hesaplanmasında
- Bir bireyin ardışık test sonuçlarında görülendeğişimin anlamlı olma olasılığının hesaplanmasında
- Laboratuvar kalite yönetiminde kullanılmak üzere hasta verilerini kullanarak delta çek (delta-check) değerinin hesaplanmasında
- Popülasyona dayalı referans değerlerinin elde edilmesinde ve gerektiğinde bu verilerin tabakalara ayrılmasında (partisyon)
- Biyolojik bireysellikten dolayı, klasik referans değerlerindeki sınırlamaların bilinmesinde
- Biyolojik varyasyon verilerinin diğer pek çok küçük uygulamalarının bilinmesinde ve
- Yeni bir testin uygulamaya konulması için biyolojik varyasyon verilerinin temel ön koşul olduğunun anlaşılmasında

Bu kitabın gerçek amacı, laboratuvar tıbbının farklı alanlarında rastgele biyolojik varyasyonla ilgili sayısal verilerin pek çok uygulamasını ve üretimini tanımlamaktır. Buna ek olarak, bu verilerin her yerde kullanılmasını sağlamak için kolaylıkla bulunan kaynaklarını ortaya koyacağız.

1. Bölüm
Biyolojik Varyasyonun Doğası

Sağlıkla ilgili kişisel kayıtlarını tutanlar nadiren sadece bir grup laboratuvar sonuçlarına sahiptirler. Herhangi bir bireyin ardışık laboratuvar verileri kabaca incelendiğinde bile test sonuçlarının zamanla değişim gösterdiği görülebilir. Gerçekten de test sonuçlarında değişim beklenmektedir. Kitabın bu bölümünde test sonuçlarının neden ve nasıl değişim gösterdiği, kısacası preanalitik, analitik ve biyolojik varyasyonun kaynakları hakkında genel bir bakış sunulmaktadır.

BİYOLOJİK (KİŞİSEL) BİR VAKA ANALİZİ

Kendimi oldukça sağlıklı hissediyorum. Biyolojik varyasyonla ilgilendiğimden ve nispeten sağlığımın iyileştirilmesi ve hastalıklardan korunmaya çalıştığımdan yıllardan beri düzenli aralıklarla kendimle ilgili pek çok laboratuvar analizi yapıyorum. Bir kaç yıl önce, 53 yaşımda iken, özellikle böbrek fonksiyonu, karaciğer fonksiyonu, lipitler, tiroid fonksiyonu ve prostat spersifik antijen (PSA) başta olmak üzere bir grup laboratuvar testinin çalışılmasını istedim.

Bu testlerin bir kısmının sonuçları Tablo 1.1'de verilmiştir. Referans aralığın üst sınırını geçen serum bilirubin konsantrasyonu hariç anormal bir sonuç görünmemektedir. Popülasyona dayalı referans aralıklarda görülen sorunlardan dolayı -daha sonra bu kitapta açıklanacaktır- önceki yıllarda bu durumu genellikle göz ardı etmiştim.

Bir klinisyen olarak ve kısmen de bir meslektaşımın araştırma ilgisinden dolayı bu 'anormal' bulgunun detaylarıyla ilgilenmeye başladım. Bir ay sonra biyokimya panelindeki testleri tekrarladım. İkinci grup sonuçlarda da bilirübinin 'anormal' ve diğer testlerin de 'normal' düzeylerde olduğu teyit edildi. Birçok klinisyen bu görüştedir. Aşağıdaki noktaları göz önünde bulundurmalıyız:

- Analizlerin yapıldığı dönemde serum bilirübin konsantrasyonu aynı değerde değildir, fakat referans aralığın üst sınırının üzerinde kalmaya

devam etmektedir. (Yeni moleküler genetik testleri kullanarak yapılan ileri analiz sonuçlarına göre - daha önce şüphelendiğim fakat şimdi emin olduğum - bende, yaygın görülen fakat zararsız olan Gilbert sendromu bulunmaktadır. Bu durum yüksek serum bilirubin düzeyini tam olarak açıklamaktadır.)

- Diğer tüm testlerin sonuçları hala referans aralıkları içinde bulunmaktadır. Fakat laboratuvarın rapor ettiği değerler sayısal olarak aynı değildir.

Muhtemelen aşağıdakiler daha önemli sorulardır:

- Laboratuvar tarafından raporlanan değerler neden zamanla değişim göstermektedir?
- Sayısal değerlerde görünen değişimler (artış ve azalış) anlamlı mıdır?
- Laboratuvar sonuçlarındaki sayısal değişimler, erken veya gizli bir hastalığın işareti midir?

Tablo 1.1 Test Sonuçları, 53 Yaşında Erkek Hasta

Analit	1.sonuç	Birim	Referans Aralığı	2.sonuç
Sodyum	139	mmol/L	135-147	139
Potasyum	4.3	mmol/L	3.5-5.0	4.1
Üre	4.0	mmol/L	3.3-6.6	4.4
Kreatinin	88	umol/L	64-120	97
ALT	40	U/L	12 -40	28
Bilirübin	19	umol/L	0-17	21
ALP	49	U/L	30-105	46
GGT	57	U/L	30256	49
Kalsiyum	2.39	mmol/L	2.10-2.55	2.33
Albümin	44	g/L	35-50	48
Kolesterol	4.60	mmol/L	Ideal < 5.00	4.82
Trigliserid	0.48	mmol/L	2.30'a kadar	0.52
TSH	2.03	mU/L	0.4-4.0	2.19
PSA	1.5	ug/L	4.0'a kadar	2.5

TEST SONUÇLARINDAKİ DEĞİŞİMİN KAYNAKLARI

Görüldüğü gibi, test sonuçları doğal olarak değişim göstermektedir. Burada değişimin üç ana kaynağını açıklamaya çalışacağız:

- Preanalitik varyasyon
- Analitik varyasyon (presizyon ve biastaki değişimler), ve
- Bireysel biyolojijk varyasyon

PREANALİTİK VARYASYON

Hastanın Hazırlanması Tıbbi laboratuvarlarda herhangi bir numunenin analizini yapmadan önce birey mutlaka numune alımı için hazırlanmalıdır. Hazırlık aşamasından sonra numune alınır, laboratuvara ulaştırılır, gerekli tanımlamalar yapılır ve bazen analizden önce uygun koşullarda saklanır.

Bu işlemlerin her biri değişkenlik gösterebilir ve bu nedenle laboratuvar sonuçlarının preanalitik fazını etkileyebilir. Tüm bu etkileri kantitatif olarak bu kitapta sıralamak mümkün değildir. Ancak, analiz edilmek üzere alınan numuneleri belli bazı değişkenlerin etkilediği gösterilmiştir (Tablo 1.2.).

Numune Toplanması ve İşlenmesi İdeal bir ortamda numunelerin alınıp laboratuvara ulaştırılması, tanımlanması, işlenmesi ve bazen de saklanması gibi işlemler yapılmadan önce test sonuçlarını etkileyebilecek varyasyon kaynakları dikkatlice kayıt altına alınır. Preanalitik evredeki varyasyon kaynakları, sadece numune alımı ve analize kadar olan süreçteki etkenlerden ibaret değildir. Preanalitik fazın ikinci aşamasındaki (numune toplanması) varyasyon kaynakları da göz önüne alınmalıdır. Bu konudaki bazı önemli hususlar Tablo 1.3'te gösterilmiştir.

Tablo 1.2 Analiz İçin Alınan Numunelerde Test Sonuçlarını Etkileyen Değişkenler

Kısa Süreli Açlık	Numune alımından kısa süre önce yemek yenilmişse serum alanin aminotransferaz aktivitesi, aspartat aminotransferaz aktivitesi ve trigliserit, bilirübin, glukoz, fosfat ve potasyum düzeyleri genellikle en az %5 daha yüksek ölçülecektir.
Uzun Süreli Açlık	Uzun süren açlıkta serum proteinleri, kolesterol, trigliserit ve üre düzeyleri azalırken; ürat ve kreatinin düzeyleri artmaktadır.
Egzersiz	Uzun süren egzersizler serum da kas kaynaklı enzimlerin (kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz, ve aspartat aminotransferaz) aktivitelerinde artışa neden olmaktadır.
Rakım	Yüksek rakıma uyum sağlama da (haftalar süren, uzun bir süreç) serum CRP ve ürat; kan hemoglobin ve hematokrit düzeylerinde artışla neden olmaktadır.
Uyarıcılar	Kafein, nikotin, alkol alımı ve madde bağımlılığı gibi durumlarda pek çok testin düzeyleri etkilenmektedir.
Postür	Postürdeki değişim aşağıda sıralanan ölçümleri etkilemektedir • Proteinler gibi büyük moleküller • Enzimler • Kendileri küçük olmakla birlikte protein gibi büyük moleküllere bağlanan kalsiyum (kısmi bağlı), demir, steroid hormonlar ve tiroid hormonları ve • Hücreler Birey ayakta iken numune alındığı zaman bu saydığımız testler yatar pozisyona göre %10 daha yüksek değerde ölçülmektedir. Numune alınırken bireyin oturur pozisyonda olması bu testleri orta düzeyde etkilemektedir (Bakınız Şekil 1.1).

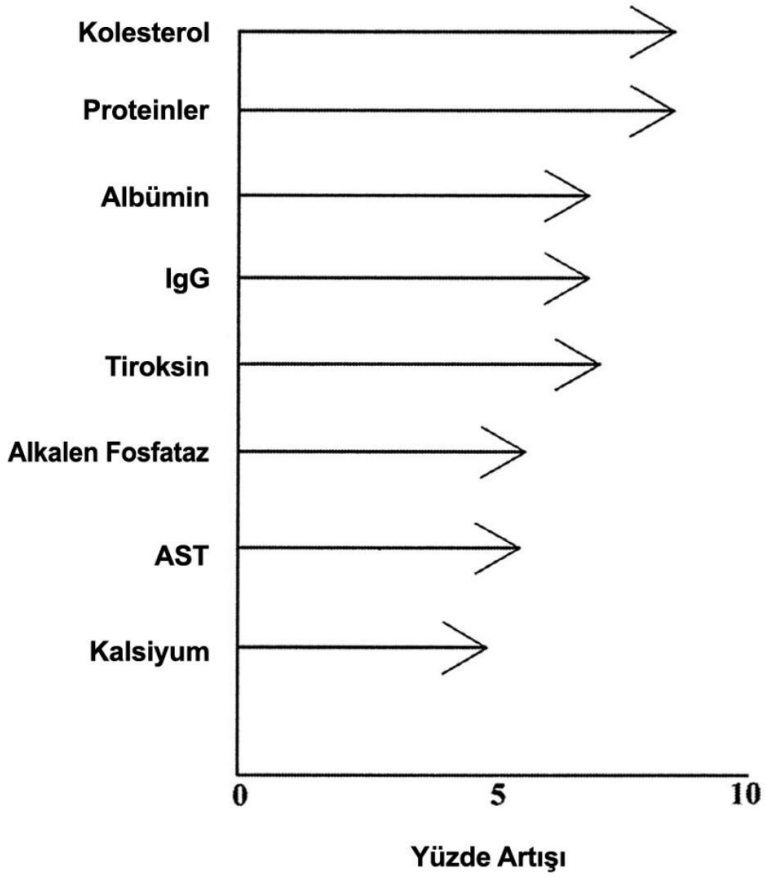
VARYASYONUN ANALİTİK KAYNAKLARI

Tüm analitik ya da ölçüm teknikleri bazı varyasyon kaynakları içermektedir. Bu varyasyonları tamamıyla yok etmek mümkün olmamakla birlikte, laboratuvar kalite uygulaması ve doğru seçilen metodolojiler sayesinde minimum düzeye indirilebilir.

Genel olarak analitik varyasyonlar – rastgele ve sistematik- olmak üzere iki tiptir. Bunlara sırasıyla presizyon ve bias denilmektedir. (Dilde sadelik yanlısı olanların bir kısmı bu terimleri sevmezler, fakat bu terimler geniş kullanım alanı bulmaktadır ve bu kitap boyunca da kullanılacaktır).

Rastgele Varyasyon ISO (International organization for standardization) presizyonu 'Öngörülen koşullar altında elde edilen bağımsız ölçüm sonuçları arasındaki uyuşmanın yakınlığı' şeklinde tanımlamaktadır. Pratikte, presizyon aynı numunenin tekrarlanan analiz sonuçları ile ölçülmektedir. Elde edilen presizyonun analitik koşullardan etkilenebileceğine dikkat edilmelidir. Tekrarlanan ölçümlerde kısa sürede tek bir teknisyen, aynı lot numaralı reaktif, ve tek kalibrasyon kullanarak elde edilen presizyon değeri ile; çok sayıda teknisyen, farklı lot numaralı reaktifler ve farklı kalibratörler kullanılarak uzun sürede yapılan ölçümlerden elde dilen presizyona göre çok daha düşük olacaktır.

Rastgele ölçümlerin varyasyonu Gaussian tanıma uyduğundan, sonuçların dağılımı simetrik ve çan eğrisi şeklindedir. Bu yüzden dağılımın genişliği (dağılımın yaygınlığı demek daha doğru olur) standart sapma (Standar Deviation, SD) olarak hesaplanabilir. Standart sapmanın aritmetik ortalamaya oranını aldığımızda varyasyon katsayısını yani CV değerini (SD/Ortalama) x100 denkleminden elde ederiz. Dağılımın özelliklerinden yararlanarak Şekil 1.3'te görüldüğü gibi ortalama ± n.SD aralığında bulunan değerlerin yüzdesini hesaplamak oldukça kolaydır.



Şekil 1.1 Postür Değişimiyle Bazı Analitlerde Görülen Artışın Yüzdesi (Yatış Pozisyonundan Dik Duruşa Geçiş).

Değişimler bireyin yatış pozisyonundan dik duruşa geçiş sırasında damar içinde meydana gelen suyun yer değiştirmesiyle açıklanabilir.

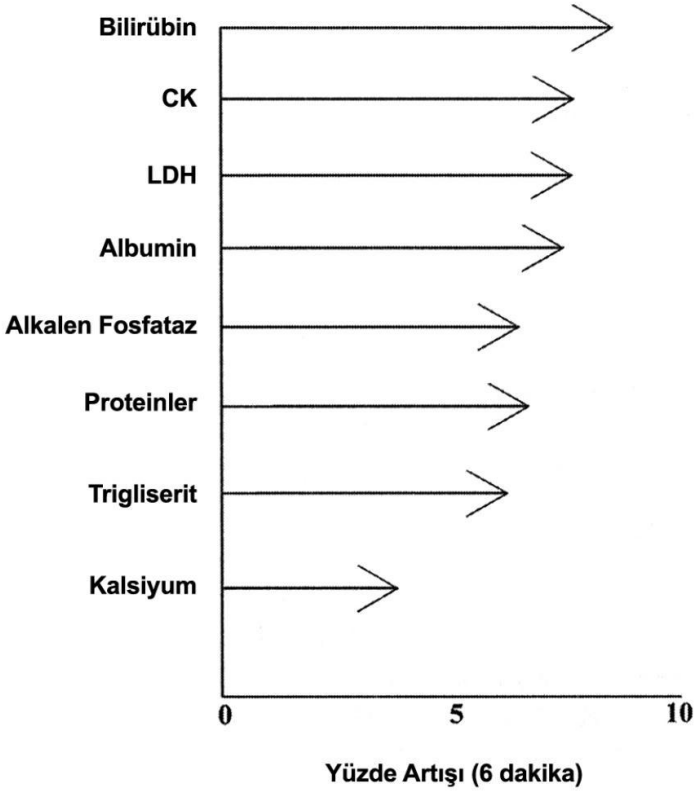
Rastgele varyasyon, kullanılan analitik sistemler ve metodolojilerden kaynaklanmaktadır. Bu etkenlerden bazıları, sıcaklıktaki dalgalanmalar, pipet ile alınan numune ve/veya reaktif hacmindeki veya dilüsyondaki varyasyonlar, çevresel değişkenler ve kullanılan materyalle ilgili tutarsız işlemler şeklinde sıralanabilir.

Eğer bir metodun presizyonu iyi ise rastgele varyasyonu düşük olacaktır. Bu metodun kullanılmasıyla elde edilecek sonuçlar - en azından analitik etkenlerden dolayı - zamanla fazla değişim göstermeyecektir. Aksine eğer bir metodun presizyonu iyi değilse analitik kaynaklı büyük rastgele etkenler pek çok önemli klinik değişimin anlaşılmasını zorlaştırabilir. Örneğin analitik kaynaklı 'gürültü'den dolayı klinik olarak önemli olan 'işaretleri' görme imkânımız olmayabilir. Bu konu kitabın ileriki bölümlerinde detaylı olarak ele alınacaktır.

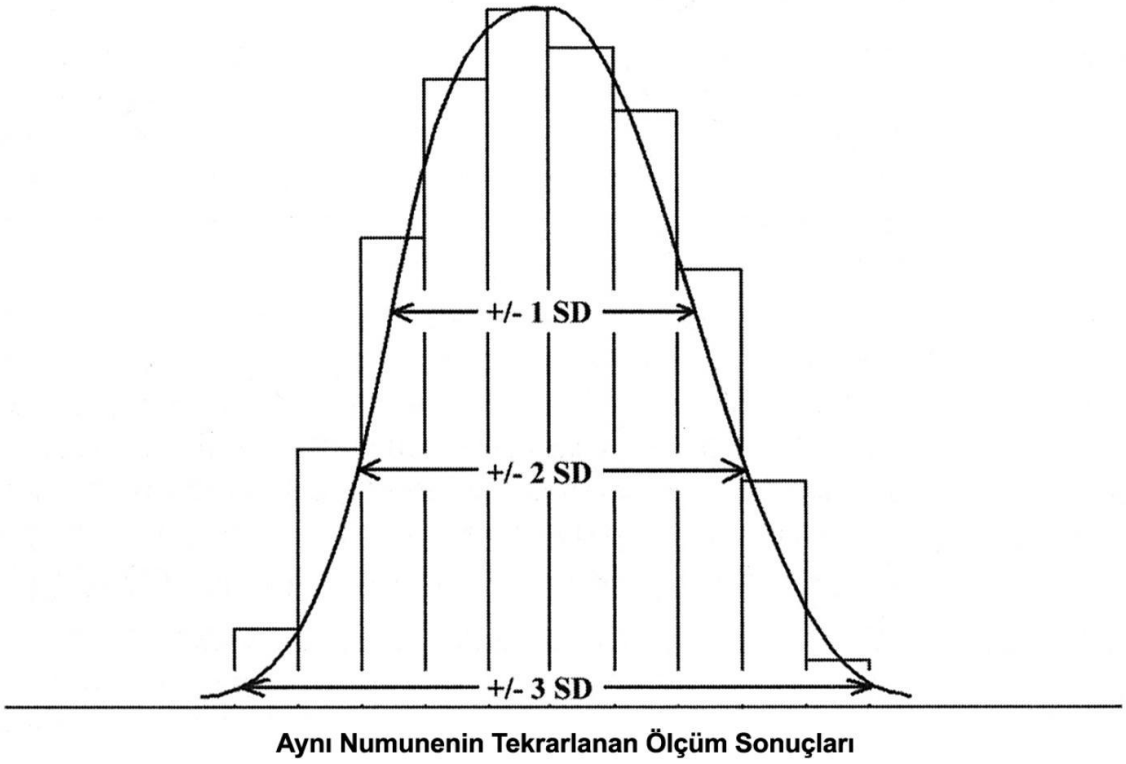
Tablo 1.3 Numune Toplama Aşamasındaki Potansiyel Varyasyon Kaynakları

Numune Tipi	Kapiller ve venöz kanlar aynı değildir. Özelikle glukoz düzeylerinin aynı olmadığının bilinmesi gerekir. Kapiller ve arteriyel kandaki pO2 parsiyel basınçları farklıdır.
Antikoagülanlar	Serum ve plazmanın tüm bileşenleri aynı değildir. Bazen yanlışlıkla aynı olduğu düşünülmektedir. Proteinler, albümin ve transferrin düzeyleri plazmada daha yüksektir. Muhtemelen pıhtı oluşumu ve retraksiyondan dolayı potasyum, laktat dehidrogenaz ve fosfat serumda daha yüksek düzeylerde bulunmaktadır.
Turnike Uygulaması	Turnikenin uzun süre kalması, su ve diğer küçük moleküllerin damar dışına çıkmasına, büyük moleküller ve büyük moleküllere bağlanan küçük moleküllerin (büyük moleküllere yaklaşık %50 civarında bağlanan bilirübin, kalsiyum gibi) ve hücrelerin damar içinde kalarak plazmanın konsantre olmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak oluşan stazdan dolayı bu tür analitler olduğundan daha yüksek ölçülmektedir (Şekil 1.2).
Taşıma Süresi	Koruyucu içermeyen numunelerde glukoz düzeyleri hızla düşecektir. Numunenin santrifüj edilmeden uzun süre bekletilmesi serum potasyum, fosfat, aspartat aminotransferaz, ve laktat dehidrogenaz düzeylerinin daha yüksek ölçülmesine neden olacaktır. (Buzdolabında bekletilen numunelerde potasyum düzeyleri kısa sürede düşer.)
Santrifüj	Santrifüj süresinin çok kısa tutulması serum ya da plazmada hücresel elemanların kalmasına neden olacaktır. Bu durum enzim aktiviteleri ve potasyumun yüksek düzeylerde ölçülmesine neden olur. Bazen de homosistein gibi stabil olmayan bazı analitler için numune alınır alınmaz hemen santrifüj edilmesi gerekir.
Saklama	Analizden önce numunelerin uygun koşullarda saklanması gerekir. Numunelerin doğru saklanması kompleks bir işlem olup pek çok şeyin göz önünde bulundurulmasını gerektirir. Örneğin bilirübin testi için numunelerin ışıktan korunması gerekir. Benzer şekilde CO_2 ölçümünde numunenin hava ile teması en aza indirilmelidir, aksi takdirde CO_2 düzeyi düşük ölçülecektir. Analit stabilitesini korumak için bazı numunelerin santrifüjden hemen sonra hızla dondurulması gerekir.

Sistematik Varyasyon (Bias) ISO biası 'ölçülen büyüklüğün doğru değeri ile beklenen ölçüm sonuçları arasındaki fark' şeklinde tanımlamaktadır. Pratikte, bias elde ettiğimiz sonuçlar ile tahmin edilen doğru değer arasındaki farktır.



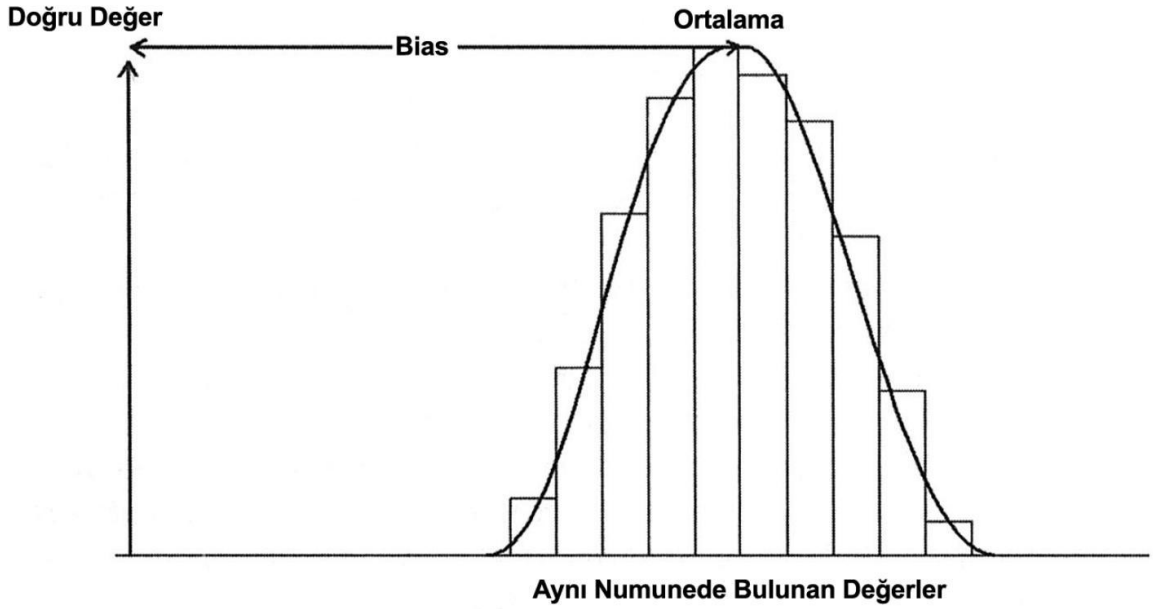
Şekil 1.2. Uzamış Venöz Staz Sonrası Bazı Analitlerde Görülen Artışın Yüzde Değerleri



Şekil 1.3. Aynı Numunenin Tekrarlı Ölçümünde Elde Edilen Dağılımın Karakteristikleri

Gaussian dağılımın karakteristikleri

- Ortalama ± 1SD, verilerin %68.3'ünü kapsar
- Ortalama ± 2SD, verilerin %95.5'ini kapsar
- Ortalama ± 3SD, verilerin %99.7'sini kapsar



Şekil 1.4. Bias: Ölçüm Sonuçları İle 'Doğru' Değer Arasındaki Fark.

Bias, laboratuvarda ölçülen değer ile PT ya da EQAS programlarına katılan laboratuvarların ortalama değerleri arasındaki farktan hesaplanabilir. PT ve EQAS organizatörleri laboratuvar sonuçlarının sayısal olarak nasıl karşılaştırılacağını belirlerler. Örneğin, laboratuvar sonuçlarını daha önce belirlenmiş bir değerle, referans metod değerleriyle ya da referans laboratuvarlardan elde edilen değerlerle karşılaştırmak mümkündür. Bias kavramı Şekil 1.4'te tanımlanmıştır.

Test sonuçları tanı koyma, vaka bulma ya da tarama amaçlı kullanıldığında bias önemli bir sorun olmaktadır. Klinik değerlendirmelerde sıklıkla hastanın test sonuçlarını önceki değerlerle karşılaştırırız. Bununla birlikte eğer laboratuvarın sabit bir bias değeri varsa bu durum hastaların takibinde –en azından hastadaki değişimlerin takip edildiği sürede – klinik olarak bir soruna neden olmayacaktır. Test sonuçlarının tümü gerçek değerden yüksek ya da düşük olabilir ancak varyasyonlardan hiçbiri bu süre zarfında biasa dayandırılamaz.

Ancak biasın her zaman sabit olmadığı da unutulmamalıdır. Eğer cihazlarda ya da metodolojide büyük değişiklikler yapılmışsa ve hastanın test

sonucu bu değişimden önce ya da sonra elde edilen değerlerle karşılaştırılmışsa, biastaki farklılıklar test sonuçlarındaki varyasyonlara yansıyabilecektir. Daha da önemlisi, rutin ve acil testleri (STAT) ya da laboratuvar ve hasta başı cihazlarında (POCT) ya da alternatif yerlerdeki örneklerde olduğu gibi eğer farklı cihaz ve yöntemleri kullanıyorsak bu yöntemlerin ve cihazların her birisinin bias değerleri farklı olacaktır.

Temel stratejimiz, analiz sonuçlarını rapor etmeden önce bilinen bias'ları ortadan kaldırmak olmalıdır. Diğer yandan, farklı sistemlerin bias'ları farklı olduğu zaman, bu sistemlerden biri 'altın standart' olarak kabul edilmeli ve diğer sistemler de buna göre kalibre edilmelidir.

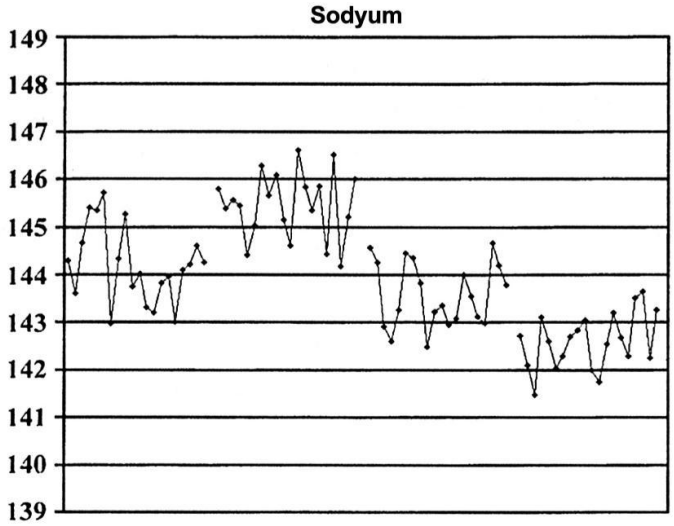
Kısa ve orta vade de aşağıdaki durumlarda bir yöntemin bias'ında değişim potansiyeli bulunmaktadır:

- Kalibratörün lot'u değiştiğinde
- Reaktif ve sarfların lot'ları değiştiğinde, ya da
- Testi çalışan teknisyen değişiminde; bir teknisyen çok tutarlı olmakla birlikte diğer teknisyenlerden oldukça farklı çalışabilir.

Günlük kullandığımız iç kalite kontrol grafiklerinde, bu değişimler ortalamadan sistematik sapma şeklinde kendini gösterir. Bu arada SD ya da CV kısa bir süreliğine çoğunlukla aynı kalmaktadır (Şekil 1.5).

Tekrarlanan analizlerin çok dar bir bölgede dağılım gösterdiği dört örnek Şekil 1.5'de verilmiştir (yöntemlerin kendi içinde uyumlu ve küçük SD değerine sahip olduğuna dikkat ediniz). Bu dört örnekteki ölçüm sonuçları dört yeni kalibrasyonu izleyen dönemde görülmektedir. Her bir kalibrasyonda bias değeri anlamlı olarak değişmektedir. Pek çok modern analitik sistemde kalibrasyondaki bias değişimi analitik varyasyondan çok daha büyüktür. Bu faktör modern laboratuvarların kalite kontrol ve yönetiminde çok önemlidir.

Şekil 1.5'de görüldüğü gibi, biasların olduğu dönemleri kapsayacak şekilde SD değerlerini hesapladığımızda elde edeceğimiz 'presizyon', bu aralıktaki sistematik varyasyonları da kapsayacaktır. Bu nedenle bir bireydeki değişimin objektif olarak değerlendirilmesinde sistematik varyasyon ihmal edilebilir. Bununla birlikte laboratuvar kalite yönetim tekniklerini kullanarak tüm sistematik hataları minimuma indirmek için elimizden gelen tüm gayreti göstermeyi de ihmal etmemeliyiz.



Şekil 1.5. Bir Numunenin (Sodyum, mmol/L) Farklı Zamanlarda Tekrarlanan Ölçümlerinin Sonucu. (Sodyum, mmol/L).

Zamanla oluşan biası minimum düzeye indirmek için uygulanacak en önemli strateji, yeniden kalibrasyon yapılmasıyla ilgili kalite kurallarının geliştirilmesidir. Bu işlemlerin nasıl yapılacağıyla ilgili detaylar bu kitabın kapsamı dışında kalmakla birlikte, genel olarak çoklu kalite kontrol numuneleri kullanılabilir ve yeniden kalibrasyondan sonra yapılan kontrol çalışmalarının sonuçları değerlendirirken çok katı kalite kontrol kuralları uygulanabilir. Rutin uygulamada olduğu gibi sadece belirli kuralları uygulamak ve az sayıda kontrol numunesi ile çalışmak yeterli olmayacaktır. Kalibrasyondan sonra (bias'ta sadece küçük değişimlerin olduğundan emin olmak için) uygulanacak kurallar ve analiz sayıları rutin uygulamadan (hem presizyon hem de bias'ın kalite spesifikasyonlarını karşıladığından emin olmak için) farklılık gösterir.

VARYASYONUN BİYOLOJİK KAYNAKLARI

Bazı analitler bireylerin yaşam süresi boyunca değişim gösterirler. Bu nedenle referans değerlerini bireylerin kronolojik yaşlarına göre tabakalara (alt gruplara) ayırıyoruz. Bununla birlikte belli bazı analitlerin biyolojik siklus ya da ritimleri olduğunu da önceden tahmin edebiliyoruz. Bu nedenle eğer bir bireyden numuneler

- Günlük ritimlerin varlığında günün farklı zamanlarında alınmışsa
- Aylık siklusların varlığında ayın farklı günlerinde alınmışsa, ya da
- Farklı mevsimlerde alınmışsa (analiz edilecek analit için mevsimsel değişimler söz konusu ise)

bu döngüsel değişimler aynı bireyin sonuçlarındaki sayısal farklılıklara (seri olarak ölçülen) etkisi olacaktır.

Çok detaylı analizler yapıldığında küçük ritimlerin varlığı gösterilebilmekle birlikte pek çok analitin klinik olarak önemli siklik ritimleri bulunmamaktadır. Siklik ritimlerin olmaması bu testler için önemli bir sorun teşkil etmez. Bunula birlikte ritimlerin olduğunun bilinmesi yaşamsal öneme sahiptir. Rastgele biyolojik varyasyonla ilgili verilerin nasıl elde edildiği ve rutin uygulamada nasıl kullanıldığına yönelik bilgilere sahip olmanın önemli yararları bulunmaktadır.

Biyolojik Varyasyonu Anlamak Günlük uygulamada, intrinsik biyolojik varyasyonu – yani homeostatik bir karar noktası etrafındaki rastgele dalgalanmaları - anlamak için çok basit bir model kullanabiliriz. Bu rastgele varyasyona denek içi ya da bireysel biyolojik varyasyon diyoruz.

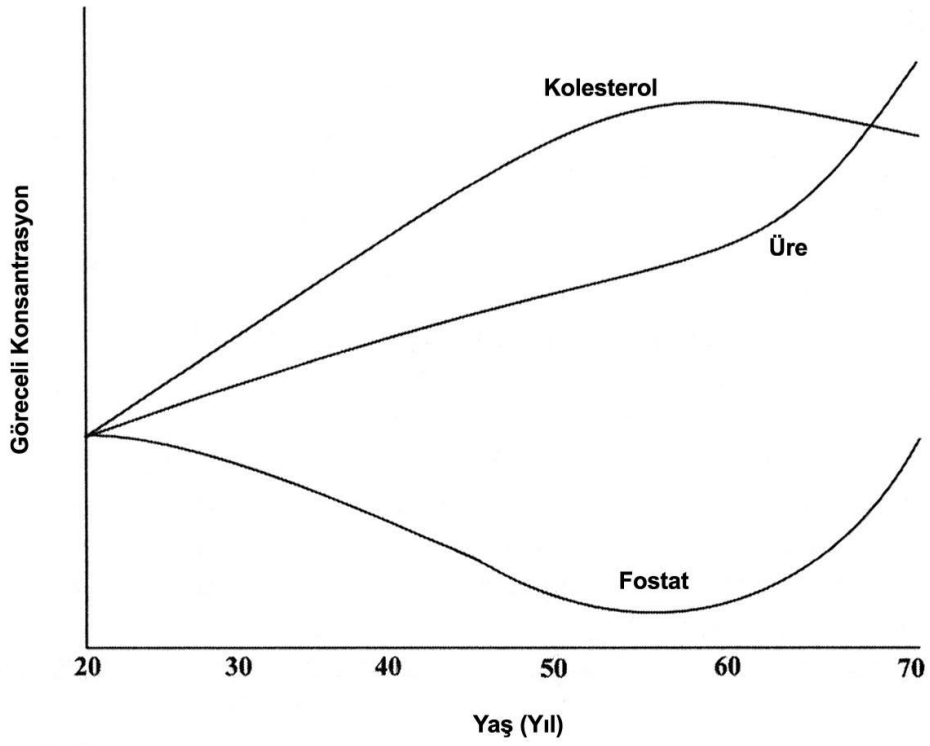
Eğer aynı testi çok sayıda farklı birey üzerinde uygularsak homeostatik karar noktasının farklı bireylerde farklılık gösterdiğini görürüz. Homeostatik karar noktasının bireyler arasındaki farklılığına denekler-arası ya da bireyler arası biyolojik varyasyon diyoruz.

Belli analitler rastgele olmayan değişim göstermektedir. Bu tür değişimlerin bilinmesi sadece referans değerlerin doğru kullanımı için değil aynı zamanda testlerin doğru istenmesi ve sonuçların mantıklı yorumlanması için de önemlidir.

Yaşam Boyu Süren Biyolojik Varyasyon Pek çok analit bireyin yaşıyla birlikte değişim gösterir (örnekler için Şekil 1.6'ya bakınız). Özellikle yaşamın kritik dönemlerinde belirgin değişimler görülmektedir:

- Yeni doğan, uterus dışı yaşama uyum sağlandığı dönem
- Çocukluk
- Ergenlik
- Yetişkinlik (kadınlar için menopoz dönemi)
- Yaşlılık

Analitlerin yaşla birlikte değişimiyle ilgili çok sayıda veri bulunmaktadır ve bu kitapta hepsinden bahsetmek mümkün değildir. Laboratuvar tıbbındaki referans değerler konusunda çok sayıdaki genel kitaba ilaveten, çocukluk ve yaşlılık dönemlerindeki referans değerlerle ilgili yayımlanmış kapsamlı pek çok eser bulunmaktadır.



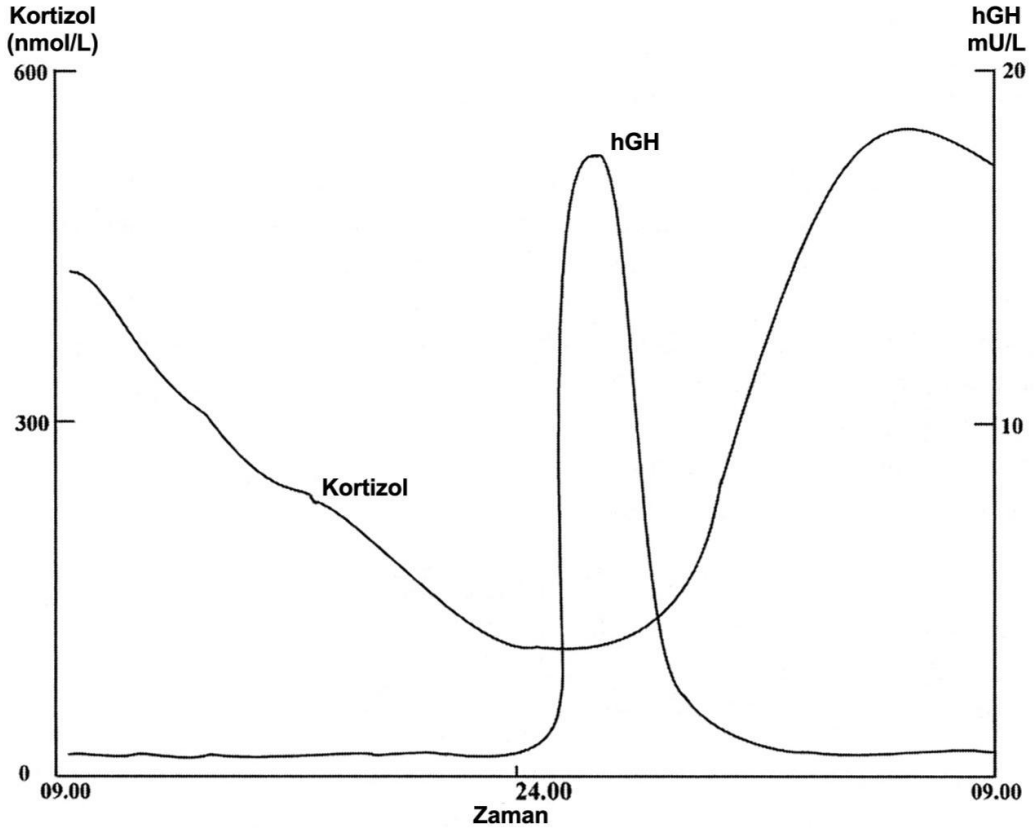
Şekil 1.6. 20-70 Yaş Aralığındaki Erkeklerde Serumdaki Üç Analitin Konsantrasyonu (Analite Özgü Yaşa Bağlı Değişim Paternleri).

Pratikte, bireylerin tüm test sonuçları yaşlarıyla uyumlu referans değerleri içermelidir. Bireylerin kronolojik yaşlarını çok net olarak bilmemize rağmen, biyolojik yaşlarını tahmin etmemiz bazen sanılandan daha zordur.

Günlük Biyolojik Ritimler Sıklıkla günlük biyolojik ritimleri 'sirkadiyen' olarak düşünürüz, fakat bu terminolojiyi sadece varyasyonun günün saatlerine bağlı olduğu durumlarda kullanırız. Günlük ritim olarak adlandırılan ve literatürde bulunan pek çok durumun gerçekte günün saat veya uyku/uyanıklıkla (niktemeral) çok az ilişkisi bulunmaktadır. Bu ritimler daha çok postürdeki değişimler (proteinler ve proteine bağlanan bileşenlerin düzeyleri, her zamanki uyku pozisyonu olan supin pozisyona geçince düşmektedir); gıda alımı (trigliserit ve glukozun etkilenmesi gibi) ve aşırı fiziksel aktivitelerden (kreatin kinaz aktivitesinin artması gibi) kaynaklanmaktadır.

Kortizol ve büyüme hormonunun (ve günlük ritmi bulunan diğer analitler) farklı siklik paternleri olduğundan, her bir analit kendi içinde değerlendirilmelidir. Örneğin uyku/uyanıklık döngüsündeki değişimlerin büyüme hormonu döngüsü üzerinde ani etkisi ortaya çıkarken, buna karşılık kortizol üzerindeki etkisi daha geç (birkaç gün) görülmektedir. Bununla birlikte

bu günlük ritimlerin yaşam boyu sabit olarak kalması beklenmemelidir. Örneğin uyku sırasında büyüme hormonu konsantrasyonu genellikle puberte öncesi ve puberte döneminde yüksektir ve bu pikler orta ya da ileri yaşlarda görülmeyebilir.



Şekil 1.7. Normal Uyku/Uyanıklık Periyodu Olan Tipik Bir Günde Serum Kortizol ve Büyüme Hormonu Konsantrasyonundaki Değişimler

Eğitimle ilgili diğer pek çok diyagram gibi bu resimlerde de bazı piklerin yuvarlatıldığını unutmayalım. Her iki analitin de temel ritim üzerinde kısa salınımları bulunmaktadır.

Biyolojik ritimlerin laboratuvar tıbbındaki kaliteye etkisi ile ilgilenenlerin aşağıdakileri de göz önünde bulundurmaları gerekir.

- Verilen bir siklüsteki her bir nokta için uygun referans değerleri elde etmek mümkün değildir. Bu değerlerin elde edilmesi kompleks bir işlem olup zaman alıcıdır (4. Bölüme bakınız).
- İdeal olanı, günlük ritimlerin etkisini minimuma indirmek (ve preanalitik varyasyonu azaltmak) için test numunelerinin sabah saatlerinde alınmasıdır. En azından hastane uygulamalarında, bu bilgiler ışığında yatan hastalardan numune alınması sağlanmalıdır.
- Serum kortizolü gibi belli bazı analitler için, uygun referans aralıklarının bulunduğu ve konsantrayonun maksimum ve minimum düzeylerde

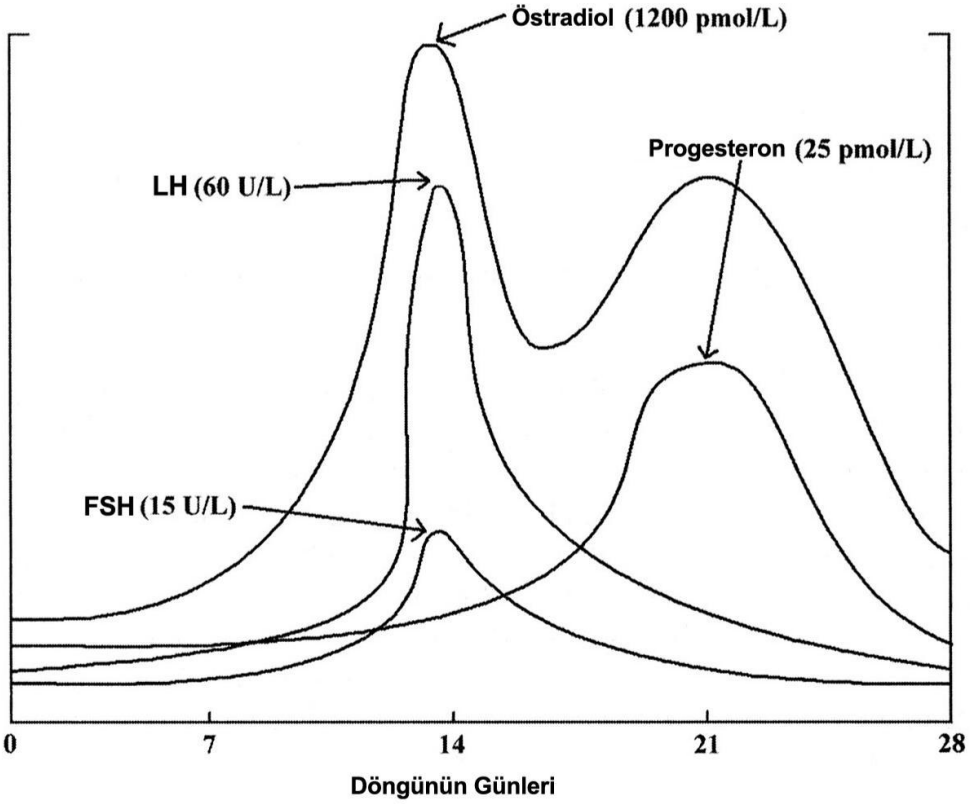
olduğu belli saatlerde numuneler alınmalıdır (örneğin saat 09:00 ve 24:00).

- Beklenen ritimlerin bulunmaması hastalıkların olabileceğine dair önemli ipuçları verebilir. Örneğin niktemeral ritmin kortizolde bulunmaması Cushing sendromu (kortizolün fazla salgılanması) için karakteristiktir. Büyüme hormonu eksikliği düşünülen kişilerde, numunenin hasta uykuya daldıktan sonra alınması, beklenen büyük salınımın gerçekleşip gerçekleşmediğini görmek açısından oldukça önemlidir. Bununla birlikte hastanın hazırlanması ve numune alımı için kanülün yerleştirilmesinin zorluğu göz önüne alındığında bu tür uygulamaların nadiren yapıldığını söyleyebiliriz.

Aylık Sikluslar Reprodüktif dönemdeki kadınlarda aylık sikluslar laboratuvar tıbbı açısından oldukça önemlidir. Günlük ritim gösteren analitler gibi reprodüktif sikluslarla ilişkili analitler de oldukça farklı siklik paternler gösteririler. Bu nedenle bunların tümü ayrı ayrı göz önüne alınmalıdır. Bunlara ek olarak diğer bazı hormonlar ve hatta meme tümör belirteci CA-15.3 gibi bazı analitlerin aylık siklusları bulunmaktadır. Ancak bunların klinik anlamları fazla değildir.

Aylık sikluslardan etkilenen analitlerin test sonuçları yorumlanırken aşağıdaki hususların göz önünde bulundurulması önemlidir:

- Siklus boyunca her bir nokta için uygun referans aralıkların elde edilmesi mümkün değildir. Böyle bir işlem kompleks olup zaman alıcıdır.
- Belirli analitler için numune alımı spesifik ve uygun zamanda olmalıdır. Örneğin ovulasyonun meydana gelip gelmediği ve korpus luteumun oluşup oluşmadığı değerlendirilmek istenildiğinde progesteron düzeyleri siklusun 21. gününde ölçülmelidir.
- Bu analitler infertiliteyi değerlendirmek ya da yardımcı konsepsiyon programları için kullanıldığında, siklik değerleri hakkında gerekli bilgilere sahip olmak yaşamsal öneme sahiptir.



Şekil 1.8. 28 Günlük Klasik Bir Menstrüel Siklus Boyunca Dört Hormonun Konsantrasyonu.

Şekilde, dört hormonun günlük ritimleri önemli aylık sikluslarla birlikte verilmiştir. Luteinizan hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FSH), östradiol ve progesteron. Bu çizimin ideal eğri olmadığı ve düzgün görünmesi için modifiye edildiğini tekrar belirtmekte yarar vardır.

Mevsimsel Ritimler Mevsimsel ritimler diğer biyolojik sikluslara göre literatürde daha az çalışılmıştır. Bunun nedeni kısmen, bu tür çalışmaların birden fazla siklusu içerecek şekilde yapılmasının gerekliliğidir. Bu nedenle mevsimsel ritimlerin iyi değerlendirilebilmesi ve sonuç alınması yıllar alabilmektedir. Şekil 1.9'da bir örnek verilmiştir.

Gerçek mevsimsel varyasyonların çalışılması oldukça zordur. Pek çok preanalitik faktör test sonuçlarını etkileyebilir ve bunlar, ilk etapta mevsimsel varyasyonlar olarak düşünülen değişimlerin, temel nedeni olabilir. Örneğin,

- Serum laktat dehidrogenaz aktivitesi yaz mevsiminde kışa göre daha yüksektir. Bu durum, artan fiziksel aktivite ile ilişkilendirilmektedir.
- Serum kolesterol düzeyleri kış mevsiminde yaza göre daha yüksektir. Düşük fiziksel aktivite, fazla gıda alımı ve kış mevsiminde gün ışığının az olması gibi nedenler etken olarak düşünülmektedir.

- Yüksek sıcaklıktan dolayı, yaz mevsiminde kan hacminde artış eğilimi gözlenmektedir.
- Kış mevsiminde protein düzeyi yaklaşık %10 kadar artmaktadır.
- Yaz mevsiminde glike hemoglobin düzey artmaktadır.

Genel olarak ele alındığında bu tür etkilerin ancak akademik değeri vardır. Günlük uygulamada laboratuvar test sonuçlarının yorumlanmasında anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır.

RASTGELE BİYOLOJİK VARYASYON

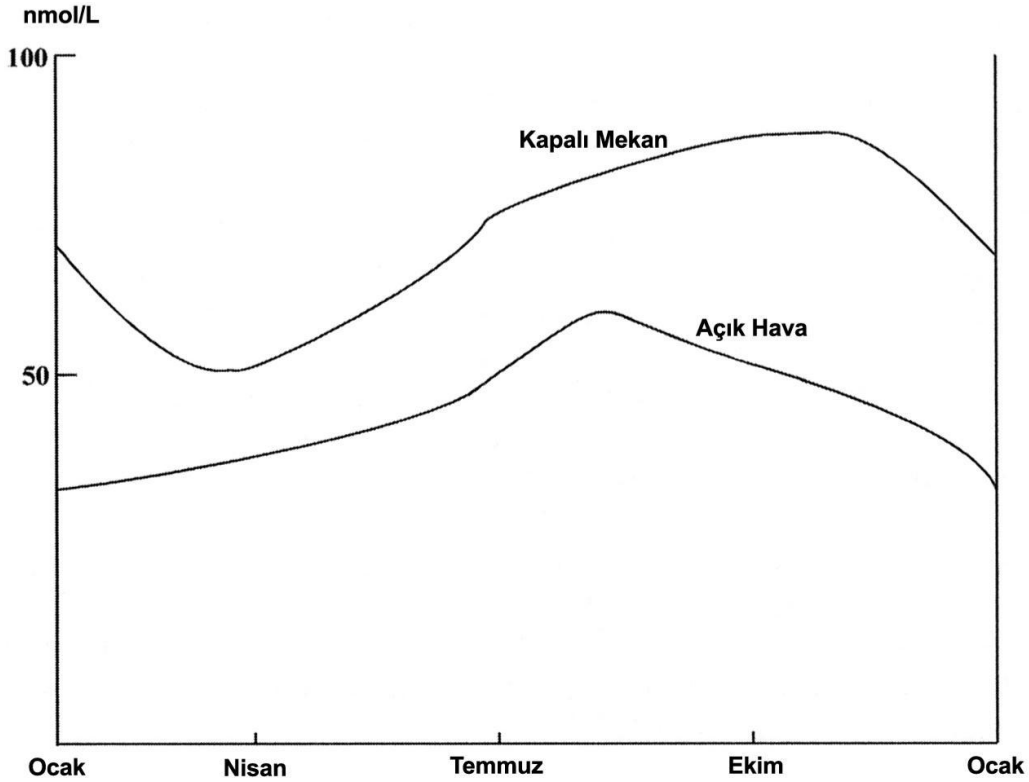
Varyasyonlar ritmik biyolojik siklusların ve yaşamın belli dönemlerindeki değişimlerin sonucunda görülebilmekle birlikte pek çok analit için biyolojik varyasyon, basit bir ifadeyle, ilgili analitin homeostatik karar noktasının etrafındaki rastgele dalgalanmaları olduğunu söyleyebiliriz. Kitabın bu bölümünde bu modeli, daha detaylı açıklamaya çalışacağız.

Bir Olgu: Bir Bireyde Testlerin Zaman İçindeki Sonuçları Bu bölümün başlarında sağlıklı görünen bir bireydeki iki grup testin sonuçlarını değerlendirmiştik. Serum bilirübin konsantrasyonu hariç, diğer tüm sonuçların yaş ve cinsiyete uygun referans aralıklarda bulunduğunu görmüştük. Bir testin 'alışılmadık' bir sonucunun nedenini de açıklamıştık.

Bu birey belirli zaman aralıklarıyla yıllarca pek çok test için numune vermiş ve sonuçlarını almıştır. 1996-1999 yılları arasında alınmış bir grup veri Tablo 1.4'te gösterilmektedir.

Laboratuvar sonuçlarının zamanla değişim gösterdiğine ve elde ettiğimiz sayısal değerlerin sabit olmadığına dikkat ediniz. Bu sonuçlar homesostatik bir karar noktası etrafında rastgele dalgalanmalar göstermektedir. Bunun olası nedenleri şunlar olabilir:

- Preanalitik faktörler
- Analitik rastgele varyasyon (presizyon) ve muhtemel sistematik hatalar (biastaki değişimler) ve
- Doğal biyolojik varyasyonlar



Şekil 1.9. Açık ve kapalı alanlarda çalışan işçilerin serum 25-hidroksikolekalsiferol konsantrasyonları (Dundee, İskoçya, 56° kuzey)

Özellikle ekvatordan çok uzak enlemlerde yaşayanlarda majör bir ritim de mevsimin kalsiyum metabolizmasına etkisidir. Normal bir yılda ultraviyole ışınları Mayıs ayından Temmuz ayına kadar maksimum düzeyde seyreder. 25-hidroksikolekalsiferolün bir yıl boyunca konsantrasyon seyri yukarıdaki şekilde gösterilmiştir. Çevredeki ultraviyole ışınlarının pik yapmasıyla, serum değerlerinin pik yapması arasında bir gecikme süresinin bulunduğuna dikkat ediniz. Bunlara ek olarak yaz mevsiminde artan güneş ışığı derideki kolekalsiferol düzeyini artırmaktadır ve kolekalsiferol metabolitleri de kalsiyum homeostazisine etki ederek serum kalsiyum düzeyini ve idrarla kalsiyum atılımını artırmaktadır. (Devgun MS et al. Vitamin D Nutrition in relation to season and occupation. Am J Clin Nutr 1981;34:1501-4. Bu bilgiler ve şekil izin alınarak verilen kaynaktan uyarlanmıştır).

Varyasyonun kaynaklarına bakılmaksızın test sonuçlarının gözle değerlendirilmesiyle aşağıda sıralananları görebiliriz:

- Zamanla tüm analitlerin sonuçları değişmektedir.
- Sodyum örneğinde olduğu gibi (137-140 mmol/L) bazı testlerde değişim çok azdır.
- Bazı testlerde değişim daha fazladır, örneğin PSA (1.5-2.5 μg/L).
- Beli bazı testlerin ortalaması referans aralık ortalamasına yakındır (örneğin potasyum).

- Belli bazı testlerin ortalamasının referans aralıkların alt sınırına yakın olduğu görülmektedir (örneğin, sodyum).
- Belli bazı testlerin ortalamasının referans aralıkların üst sınırına yakın olduğu görülmektedir (örneğin, albümin).
- Bilirübin (farklı olan test) düzeyi daima referans aralığın üst sınırında ya da üstündedir, ve
- Hiç bir test referans aralıklarının alt sınırından üst sınırına kadar dağılım göstermemektedir.

Şimdi, bu bulguların seçilen bireye mi özgü, yoksa daha genel bir fenomenin yansıması mı olduğunu sorgulamalıyız.

Tablo 1.4. Bir bireyin test sonuçları, 1996-1999.

Analit	Birim	1.sonuç	2.sonuç	3.sonuç	4.sonuç	5.sonuç
Sodyum	mmol/L	139	139	137	140	138
Potasyum	mmol/L	4.3	4.1	4.1	4.4	4.4
Üre	mmol/L	4.0	4.4	4.1	3.9	3.6
Kreatinin	umol/L	88	97	89	82	88
ALT	U/L	40	28	32	33	31
Bilirübin	umol/L	19	21	17	18	17
ALP	U/L	49	46	52	46	45
Kalsiyum	mmol/L	2.39	2.33	2.25	2.36	2.29
Albümin	g/L	45	48	47	46	47
Kolesterol	mmol/L	4.60	4.92	4.84	4.64	4.41
Trigliserid	mmol/L	0.48	0.52	0.39	0.35	0.43
TSH	mU/L	2.03	2.19	1.89	1.93	2.06
PSA	ug/L	1.5	2.5	2.1	1.8	1.9

Rastgele Biyolojik Varyasyonun İncelenmesi: Kadın ve Erkekte Serum Kreatinini Rastgele biyolojik varyasyonu daha yakından incelemek için kadın ve erkekteki serum kreatinini inceleyelim. Serum kreatinini, bir grup kadın ve erkekte 14 günlük aralıklarla 4 kez ölçüldü. Sonuçlar Tablo 1.5 ve 1.6 ile Şekil 1.10 ve 1.11'de verilmiştir.

Test sonuçlarının sayısal değerlerini ve şekildeki çizgileri incelediğimizde aşağıda sıralananları görebiliriz:

- Tüm bireylerdeki değerler zamanla değişmektedir.
- Hiçbir bireydeki değerler tüm referans aralığını kapsamaktadır.

- Her bir bireydeki değerler referans aralıktaki küçük bir aralıkta dağılım göstermektedir.
- Bireylerin büyük çoğunluğunun değerleri referans aralıkta bulunmaktadır.
- Tüm bireylerin ortalama değerleri referans aralıkta bulunmaktadır ve birbirlerinden farklıdır.
- Bireylerin büyük çoğunluğunda kendileri için çok olağan dışı olan değerler bulunmakta ancak bu değerler hala referans aralık içinde kalmaktadır.
- Bireyler referans aralığın alt ve üst sınırlarına yayılan değerlere sahip olabilirler. Ve bu nedenle bireyler zamanla normalden anormale değişim gösteren değerlere (ya da tersi durum) sahip olabilirler.

Tablo 1.5. Sağlıklı görünen 10 erkekte serum kreatinin konsantrasyonu (µmol/L)

Erkek	1.sonuç	2.sonuç	3.sonuç	4.sonuç
1	60	63	66	62
2	103	99	110	107
3	88	85	93	86
4	125	120	115	118
5	75	83	78	86
6	92	98	90	96
7	75	70	68	71
8	105	110	99	103
9	72	81	74	78
10	68	75	72	77

Kreatinin Sonuçlarının Yorumu Bu veriler kreatinin için her bir bireyin kendine ait homeostatik karar noktasının bulunduğu ve yine her bir bireyin sonuçlarının popülasyona dayalı referans aralığın sadece küçük bir kısmında dağılım gösterdiğini ortaya koymaktadır. (Bu durum kreatinin için bireyselliğin yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Daha sonra göreceğimiz gibi, pek çok analitte belirgin bireysellik bulunmaktadır). Karar noktası etrafındaki bu değişim preanalitik varyasyon, analitik varyasyon (presizyon ve biastaki değişim) ve bireysel biyolojik varyasyondan kaynaklanabilir.

Homeostatik karar noktaları arasındaki farklılıklar bireyler arasındaki biyolojik varyasyonu göstermektedir. Ayrıca sağlıklı bireylerde homeostatik

karar noktası büyük olasılıkla her bireyin kas kütlesine bağlıdır. Bu nedenle genellikle, erkeklerin homeostatik karar noktalarının kadınlara göre daha yüksekte bulunması çok da şaşırtıcı değildir.

Tablo 1.6. Sağlıklı Görünen 10 Kadında Serum Kreatinin Konsantrasyonu (µmol/L).

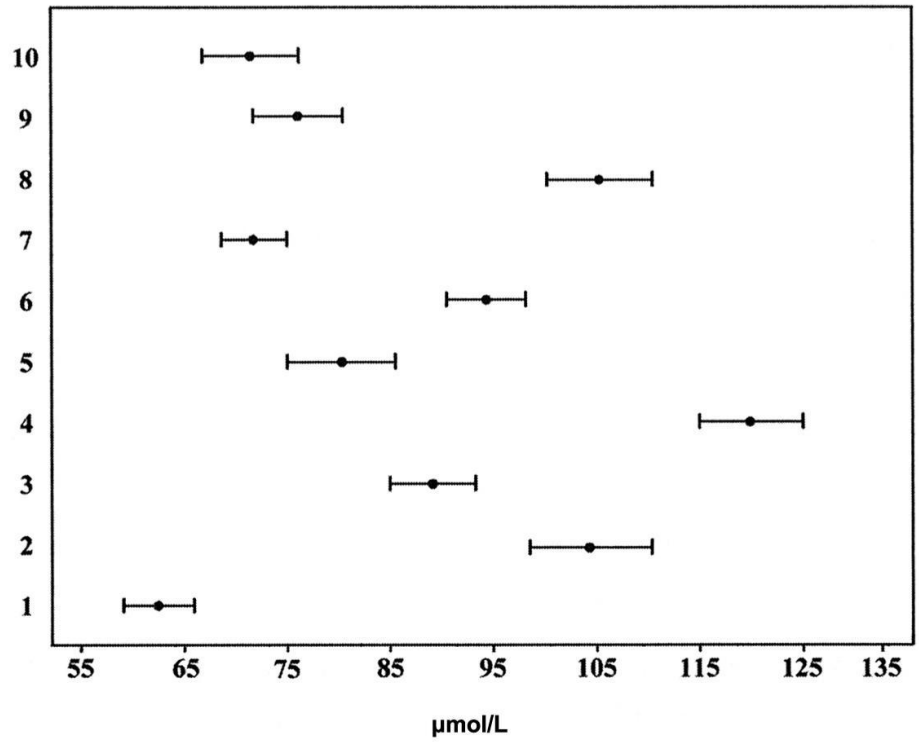
Kadın	1.sonuç	2.sonuç	3.sonuç	4.sonuç
1	61	64	66	59
2	45	50	52	55
3	79	72	74	78
4	83	77	86	79
5	95	104	99	97
6	65	68	69	63
7	92	86	94	89
8	77	73	78	71
9	65	68	75	71
10	89	83	85	82

Bu incelemede şu noktanın altını çizmekte yarar vardır. Bireyler kendileri için anormal sayılabilecek değerlere sahip olabilirler ve buna rağmen bu veriler hala popülasyona dayalı referans aralıklar içinde bulunabilir. Üstelik bu referans aralıklar yaş ve/veya cinse göre tabakalara da ayrılmış olabilir. Bu basit gerçek, aşağıda sıralananların neden genel olarak doğru olduğunu mantıklı olarak açıklamaktadır

- Laboratuvar test sonuçları hastalıkların erken ya da henüz belirti göstermeyen dönemlerinde çok güvenilir sonuç vermezler.
- Rutin laboratuvar prosedürlerinin uygulanmasıyla yapılan taramalarda pek verimli sonuçlar alınmamaktadır.
- Yaygın laboratuvar testlerini kullanarak yapılan olgu bulma işlemi, 30 yıl kadar önce çok kanallı otoanalizörlerin ortaya çıktığı dönemdeki kadar umut verici değildir.
- Bazı bireylerin test sonuçları doğal olarak referans aralıklarının üzerinde ya da altında bulunabilir; 'hafif anormal' görünen testler tekrar çalışıldığında 'normal' değerler elde edilebilir. (Bu durumu detaylı olarak 4. Bölümde açıklamaya çalışacağız).

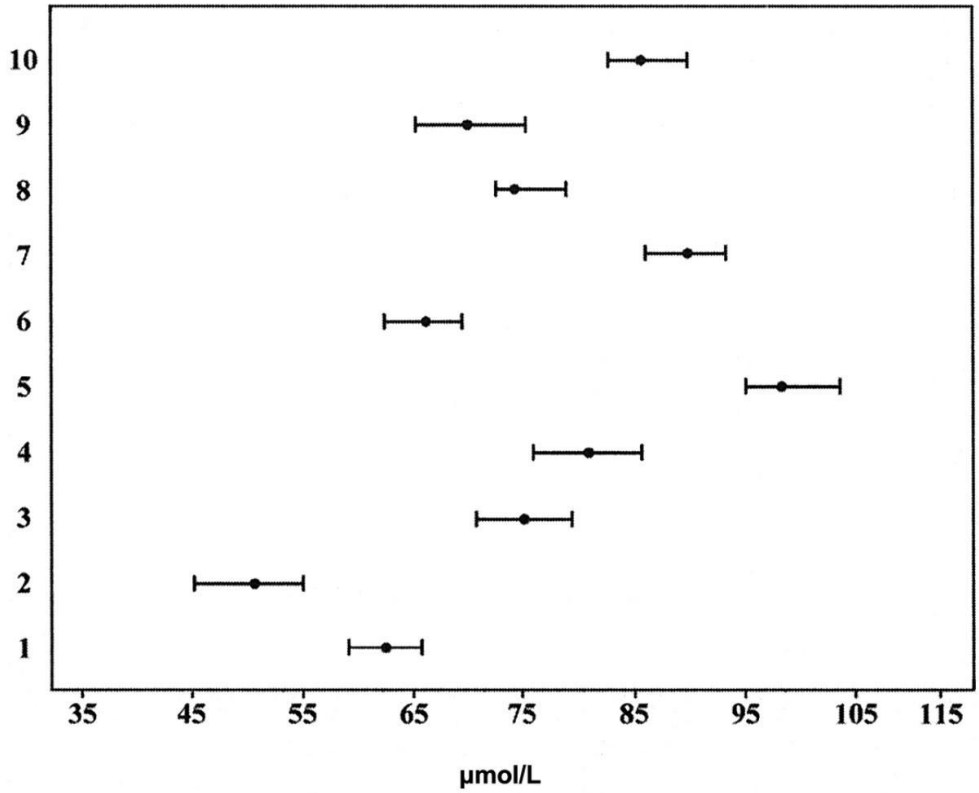
Preanalitik varyasyonları dikkatlice kontrol ederek ve analitik varyasyonu kolayca hesaplayabileceğimiz şekilde deneyleri tasarlayarak, ortalama bireysel ve bireyler arası biyolojik varyasyon değerlerini kolayca elde edebiliriz. Elde ettiğimiz biyolojik varyasyon değerlerini aşağıdaki amaçlar için kullanabiliriz:

- Kalite spesifikasyonlarını tayin etmek
- Bir bireyde yapılan seri ölçümlerdeki değişimlerin anlamlı olup olmadığına karar vermek
- Klasik popülasyona dayalı referans değerlerin yararlılığını değerlendirmek ve
- Diğer uygulamalar



Şekil 1.10. Sağlıklı görünen 10 erkeğin her birinden alınan dört numunedeki serum kreatinin düzeylerinin ortalama ve en düşük-en yüksek değerleri (mutlak sınırları).

18-55 yaş arası erkeklerin yaş ve cinsiyete göre belirlenmiş referans aralıkları 64-120 µmol/L.



Şekil 1.11. Sağlıklı görünen 10 kadının her birinden alınan dört numunedeki serum kreatinin düzeylerinin ortalama ve en düşük-en yüksek değerleri (mutlak sınırları).

18-55 yaş arası kadınların yaş ve cinsiyete göre belirlenmiş referans aralıkları 50-100 µmol/L. (Gruplardaki bireyler aynı yaş aralığında olmasına rağmen, kadın ve erkekler için referans aralığının aynı olmadığına dikkat ediniz).

BİYOLOJİK VARYASYON BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ

Biyolojik varyasyonun bireysel ve bireyler arası bileşenleri ile ilgili verileri kullanmadan önce bu verileri kantitatif olarak nasıl belirleyeceğimizi bilmemiz gerekir. Örneğin 'tüm laboratuvarların, çalıştıkları her bir test için kendi popülasyon-bazlı referans aralıklarını belirlemesi gerekir' düşüncesi adeta tartışmasız olarak kabul görmektedir. Benzer şekilde tüm laboratuvarların çalıştıkları testlere ait biyolojik varyasyon verilerini belirlemeleri gerekiyor mu? Daha da önemlisi eğer mevcut verileri günlük laboratuvar uygulamalarında kullanabiliyorsak, biyolojik varyasyonla ilgili iyi verilerin kaynağını bulmamız gerekir.

Çalışma İçin Denek Seçimi Rastgele biyolojik varyasyon bileşenleri (bireysel ve bireyler arası) ile ilgi verilerin üretimi, bir bakıma klasik popülasyona dayalı referans aralık verilerinin üretimine benzer. Ancak ikisi arasında, çalışmaya alınan denek sayısı ve her bir denekten alınan numune sayısı gibi önemli

farklar bulunmaktadır. Referans aralık çalışmalarında, büyük bir grup çalışmaya alınır ve her bir bireyden bir numune alınır; oysa biyolojik varyasyon çalışmalarında küçük bir grup çalışmaya alınır ve her bir bireyden çok sayıda numune alınır. Literatürde bazı spesifik hastalıklar için yapılmış çalışmalarla ilgili veriler bulunmakla birlikte biyolojik varyasyon çalışmalarında (adı üstünde biyolojik) varyasyonun patolojik kaynaklardan ziyade biyolojik kaynakları ile ilgilendiğimiz için sağlıklı bireyler çalışmaya alınmaktadır.

Çalışma için seçilen bireyler 'referans bireyler' olmalıdır. Genel olarak IFCC'nin (Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu) *a priori* diye nitelendirdiği yaklaşım benimsenmelidir. Bu yaklaşımda, temel olarak bireyler çalışmaya alınmadan önce bazı dışlama (veya çalışmaya alınma) kriterlerine göre değerlendirilir ve uygun olanlar çalışmaya alınır.

Genellikle, uygulanabilir olduğu kadarıyla preanalitik varyasyonlar minimum düzeye indirilmeye çalışılır. Kısmen de olsa aşağıdaki özellikleri taşıyan bireyler çalışmaya alınmalıdır:

- Belli bir süre boyunca çok sayıda numune (kan, idrar v.s) vermeye gönüllü olmalı,
- Görünürde sağlıklı olmalıdır, biyolojik varyasyonu çalışılacak analiti etkileyecek bir ilaç almamalıdır (kontraseptifler ve reçetesiz ilaçlar dahil).
- Uygun olmayan yaşam biçimi ya da alışkanlıkları olmamalı ve
- Tavsiye edilenden fazla alkol almamalı (gerektiğinde tütün ürünlerinin kullanımı da dışlama kriterleri arasına alınmalıdır).

Bazıları, bireylerin bu tür araştırmalar için çalışmaya alınmadan önce sağlık durumlarını değerlendirmek amacıyla bir grup laboratuvar testinin yapılmasını tavsiye ederler. Bireyler çalışmaya kabul edilmeden önce klinik değerlendirmeleri yapılabilir, biyokimyasal ve hematolojik testleri çalışılabilir. Bununla birlikte, eğer tüm kurallar katı olarak uygulanacak olursa çalışmaya uygun ancak birkaç birey kalır. Laboratuvar testlerinin yorumunda cinsiyet önemli bir faktör olduğu için biyolojik varyasyon çalışmalarına hem kadın hem de erkeklerin alınması gerekir.

Biyolojik varyasyonla ilgili bir çalışma yapmak için kaç bireye ihtiyacımız var? Bu sorunun kesin bir cevabı yoktur. Ancak çalışmaya ne kadar çok birey alırsak o kadar iyi tahmin yapabiliriz. İstatistiksel açıdan değerlendiecek olursak, ne kadar çok veri olursa sonuçların güven aralığı da o denli dar olacaktır. Ancak çok sayıda birey çalışmaya alındığı zaman (her bireyden çok sayıda numune alındığı için) numuneleri almak, ön işlemleri doğru yapmak ve

uygun koşullarda analizleri yapmak da o denli güçleşecektir. Bu nedenle çalışmaya alınacak birey sayısı belirlenirken ideal olan çok sayıda birey sayısı ile kolaylıkla işlenebilen az sayıdaki birey arasında orta bir nokta bulunmalıdır.

Numune Alımı, Ön İşlemler ve Depolama Biyolojik varyasyonun sayısal değerlerini en iyi şekilde tahmin edebilmek için, bireylerdeki preanalitik varyasyonu minimuma indirmemiz gerekir ve bunun için mümkün olan her şey yapılmalıdır. Bunlar aşağıda sıralanmıştır:

- Genellikle sabahın erken saatlerinde olmak üzere numuneler günün aynı saatinde alınmalıdır. Ancak bir günden az bir süredeki biyolojik varyasyon verileri tahmin edilmek istenildiğinde numuneler farklı bir zamanda alınabilir.
- Numuneler aynı koşullarda alınmalıdır: numune alınmadan önce aşırı egzersiz yapılmamış olmalı, standart bir yemek yenilmiş olmalı (numune alınmadan önceki akşam yemeği), mümkünse kahvaltı yapılmamış olmalı ve numune alınmadan önce en az 30 dakika oturulmalıdır.
- Numunelerin tecrübeli bir flebotomist tarafından standart bir flebotomi tekniği ile alınması tercih edilmeli ve aynı lot numaralı tüplere konulmalıdır.
- Numuneler laboratuvara aynı sıcaklık ve sürede ulaştırılmalıdır ve
- Santrifüj işlemi gerektiğinde, aynı sıcaklık ve hızda belirtilen sürede gerçekleştirilmelidir.

İki olası yaklaşım benimsenebilir: (1) tüm numunelerin dondurulması (bu seçenek saklama koşullarında analitlerin stabil kalmasını sağladığı için idealdir), veya (2) numuneler alındığında analizler gerçekleştirilmeli (analitlerin stabil olmadığı durumlarda gereklidir).

Eğer kan dışındaki diğer sıvılar analiz edilecekse benzer prensipler takip edilmelidir. Örneğin 24 saatlik idrarda bir analitin biyolojik varyasyonu çalışılmak istenildiğinde aşağıda sıralananların dikkate alınması gerekir:

- Çalışmaya katılan tüm bireylere aynı talimatlar açık ve anlaşılır bicimde anlatılmalı.
- Başlangıç ve bitiş saatleri standart olmalı.
- Numunelerin toplanacağı kaplarındaki koruyucu ya da stabilizatörlerin miktarı sabit olmalı.
- Tüm tartım ve hacim ölçümlerini sadece bir kişi ve aynı ekipmanları kullanarak yapmalı.
- İdeal olarak, porsiyonlara ayrılmış numunelerin analize kadar stabilitelerini tam koruyacak şekilde saklanması sağlanmalıdır.

Analiz Analitik varyasyon mümkün olabildiği kadar düşük tutulmalıdır. 'Optimal koşullara uygun presizyon' veren tekniklerin kullanılması gerekir.

İyi presizyon ve ihmal edilebilir bias'ı elde edebilmek için aşağıda sıralananlar sağlandıktan sonra analizler gerçekleştirilmelidir:

- Tek cihaz
- Aynı teknisyen
- Tek bir kalibratör seti
- Aynı lot reaktifler
- Diğer tüm yardımcı malzemeler ve reaktifler aynı lot numaralı olmalıdır

En iyi deney tasarımında, numuneler tek bir çalışmada, rastgele ve çift çalışılır. Bu yaklaşımın aşağıda sıralanan gerçek avantajları bulunmaktadır:

- Çalışmalar arası (between-run) analitik varyasyon elimine edilir.
- Varyasyonun analitik bileşeni, bireylerden alınan numunelerin çift çalışılması ile elde edilir. Bu yaklaşımda matriks sorunu olmaz (ticari kontrol numuneleri yerine hasta numuneleri kullanıldığı için. Ç.N.) ve analitik varyasyonun hesaplandığı düzey, bireylerin numunelerindeki analitlerin düzeyi ile aynı (varyasyon konsantrayonla değişim gösterir. Ç.N.) olur.

Bu alanda yoğun çalışanlar yukarıdaki yaklaşımı tercih ederler. Bununla birlikte bu alanda önemli bir sorun bulunmaktadır. Numunelerin bu yöntemle analiz edilmesi için harcanması gereken yoğun çabalar, çalışmaya alınacak bireylerin ve bu bireylerden alınacak numunelerin sayılarını sınırlandırmaktadır.

Nispeten yaygın olan diğer bir protokol de, yukarıda açıklandığı gibi, tüm numunelerin analize kadar uygun koşullarda saklanması ve tek bir çalışmada tüm numunelerin birer kez analiz edilmesidir. Bu yaklaşımda, analitik varyasyonu tayin etmek için kalite kontrol numuneleri kullanılmalıdır. Ancak bu yaklaşımın bazı dezavantajları vardır. Bazı testlerde kalite kontrol numuneleri ile elde edilen presizyon, hasta numuneleri ile elde edilen prersizyondan farklıdır. Bu nedenle presizyonun her iki tip numune için aynı olduğunu kanıtlamamız gerekir. Bunu gerçekleştirmek için bazı numuneler çift çalışılmalı ve elde edilen değerlerden presizyon SD (standart sapma) cinsinden (ya da CV (varyasyon katsayısı)) aşağıda gösterildiği gibi hesaplanmalıdır:

SD = Karekök (çift değerler arasındaki farkın karelerinin toplamının, çift değer sayılarının iki katına bölümü)

Bu ifadenin formül olarak karşılığı aşağıda verilmiştir:

$SD = (\Sigma\ d^2 / 2n)^{1/2}$

Daha sonra F-testini kullanarak SD'leri (ya da CV'leri) karşılaştırmamız gerekir. Bunun için öncelikle varyansların (SD^2) oranlarını alarak F değerini bulmalıyız ve bulduğumuz bu değeri standart istatistiksel tablolardaki kritik F değeri ile karşılaştırmamız gerekir. Kontrol materyalindeki analit konsantrasyonlarının bireylerin numunelerindeki analit konsantrasyonu ile eşdeğer olmasına dikkat etmeliyiz (SD analit konsantrasyonu ile değiştiğinden farklı düzeylerdeki analitlerin SD değerleri farklı olacaktır ve bu durumda F değeri hatalı hesaplanıp yorumlanacaktır Ç.N.).

Eğer numuneler stabil değilse veya alındığı sırada analiz edilecekse, kalite kontrol materyallerini kullanarak çalışmalar arası (between-run) presizyonu tahmin etmek zorundayız. Bu durum problem yaratabilir. Eğer numuneler alındığı gün çift çalışılmışlarsa çalışma içi (within-run) presizyonunu yukarıda açıklandığı gibi kolaylıkla hesaplayabiliriz. Bununla birlikte çalışma içi ve çalışmalar arası presizyonu kalite kontrol materyallerinden hesaplamak zorundayız. Eğer hasta numunelerinden ve kalite kontrol materyallerinden elde edilen çalışma içi (within-run) presizyon değerleri anlamlı olarak farklı değillerse (objektif F-testini kullanarak) çalışmalar arası presizyon değerlerinin de benzer olduğunu (karşılaştırılabilir olduğunu) söyleyebiliriz. Bu durumda sadece basit çıkarma işlemi ile biyolojik varyasyon bileşenlerini elde edebiliriz. Daha sonra göreceğimiz gibi varyansları kullanarak rastgele varyasyon kaynaklarını kolaylıkla ekleyip çıkarabiliriz.

Ham Verilerin İlk İncelenmesi ve İstatistiksel Değerlendirme Numune sonuçlarının istatistiksel analizini basit bir yöntemle inceleyebiliriz. Bununla birlikte eğer istatistik programı kullanmayacak olursak hesaplamaların kompleks olduğunu unutmamalıyız. İstatistiksel metodoloji Fraser ve Harris tarafından detaylı olarak ve çok sayıda sayısal örneklerle açıklanmıştır. Verilen deney ve yukarıda açıklanan ideal yaklaşım sonucunda aşağıdakilerin bulunması gerekir:

- Her numune çift çalışılmış olmalı yani iki ölçüm sonucu olmalıdır.
- Çalışmadaki tüm bireylerin belli zamanlardaki numunelerinin çift sonuçlarının serisi olmalıdır.
- Çalışma grubundan elde edilen çift sonuçların kümesi olmalıdır.

Öncelikle bu üç aşamadaki verileri outlier (uç değerler) için analiz etmemiz gerekir. Outlier analizini yapmak zorundayız çünkü tek bir uç değer (analitik ölçüm ya da yanlış numune kaynaklı) biyolojik varyasyon bileşenlerini büyük oranda etkileyebilir.

Outlier analizi için istatistiksel olarak iki test kullanabiliriz: (1) Cochran testi ve (2) Reed kriteri. Bu aşamada bir biyoistatistikçinin desteğini almakta yarar vardır. Bu iki testin prensipleri aşağıda verilmiştir:

- Cochran testini kullanarak çift sonuçların grubunda outlier değerlerini araştırabiliriz. Cochran testinde maksimum varyansın, varyansların toplamına oranı incelenir ve bu oran istatistik tablolarındaki uygun kritik değerle karşılaştırılır. Eğer bir varyansın outlier olduğunu (çift çalışılan sonuçlardaki beklenmedik büyük fark) bulursak bu değerin ait olduğu ikili grup çalışmadan çıkarılır.
- Cochran testini tekrar kullanıp her bir bireyin sonuçlarının varyanslarında outlier değerler olup olmadığını araştırarak herhangi bir bireyin dağılımının tüm gruptan daha büyük ya da küçük olup olmadığını incelememiz gerekiyor. Bu işleme birey – içi biyolojik varyasyonun heterojenitesinin incelenmesi diyoruz.
- Bu incelemelerden sonra Reed Kriteri'ni kullanarak herhangi bir bireyin ortalama değerinin diğer bireylerden büyük oranda farklı olup olmadığını inceleyebiliriz. Reed kriteri çok basit olup yaygın olarak kullanılan istatistiksel bir testtir. Bu yöntemde eğer ekstrem değer ile takip eden en küçük (ya da büyük) değer arasındaki fark, gruptaki en düşük ile en yüksek değerler arasındaki farkın (grubun range değeri) üçte birinden daha yüksek ise ekstrem değer gruptan atılır.

Outlier incelemesinde en iyi yöntemlerden biri de tüm çift sonuçların yazılarak belirgin bir farkın olup olmadığının incelenmesidir. Şekil 1.12'de görüldüğü gibi değerlerin ortalaması ve mutlak sınırlarını gösteren bir diyagram çizilerek görsel değerlendirme yapılabilir.

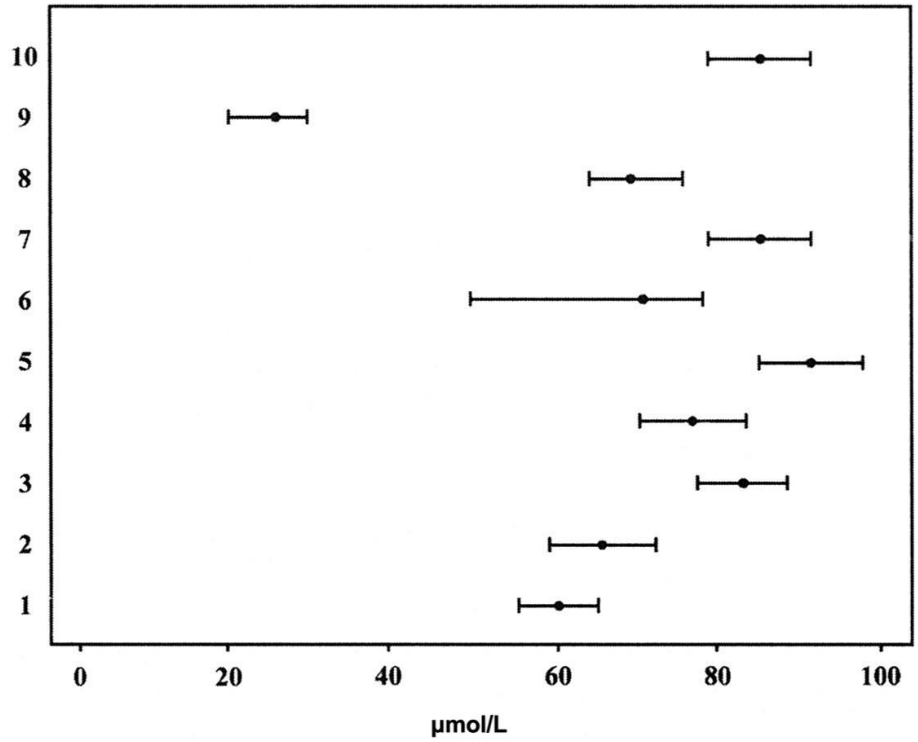
Biyolojik Varyasyon Bileşenlerinin Tahmin Edilmesi Outlier değerler tespit edip gruptan çıkarıldıktan sonra, geri kalan verilerin (ideal deneyden elde edilen ve daha ileri istatistiksel analiz için) aşağıda belirtilen değişkenleri bulunmaktadır:

- Çift çalışmaların ortalama varyansları (çalışma içi presizyon)
- Ortalama bireysel biyolojik varyans (bireyin homeostatik karar noktası etrafındaki varyansı), ve
- Bireyler arası gerçek ortalama değerlerin (homeostatik karar noktaları) varyansı, yani bireyler arası varyans

Bu varyanslar en doğru şekilde (istatistiksel) Nested ANOVA (Nested analysis of variance) yöntemi ile elde edilir. İstatistik paket programlarında

Nested ANOVA bulunmaktadır. (Hesaplamalar elle yapılabilir, fakat bu işlem çok zaman alıcı ve komplekstir. Fraser ve Harris'in derlemesi model olarak bir örnek sunmaktadır. Biyolojik varyasyon literatüründe yaygın olarak kullanılmış olmakla birlikte bunun basit olarak varyansların eklemesi olmadığını belirtmekte yarar vardır).

Eğer ideal deney modelini uygulamayacak olursak, genellikle bireyler arası biyolojik varyasyon ve diğer kalıntı bileşenleri (analitik ve bireysel biyolojik varyasyon) hesaplarız. Daha sonra analitik bileşeni basit bir hesaplama ile toplam varyasyondan çıkartabiliriz. Çünkü toplam SD^2 veya CV^2, bileşenlerin SD^2 veya CV^2'lerinin toplamı olduğundan basit bir çıkartma işlemi yeterli olacaktır. Bu konuyu kitabın ilerleyen bölümlerinde detaylı olarak açıklayacağız.



Şekil 1.12. Hipotetik (henüz çalışılmamış) bir analite ait verilerin ortalama ve mutlak aralığını (Maksimum – minimum) gösteren grafik.

Outlier değerleri görmek için çift çalışılan sonuçların listesini inceledikten sonra, verilerin grafiğini gözle değerlendirmek gerekir. Yukarıdaki grafiğe göre 6 numaralı bireyin varyasyonunun (bireysel ve analitik varyasyonların toplamı) çalışmadaki diğer bireylerden farklı olarak çok büyük olduğu görülmektedir. Daha da önemlisi dağılımın simetrik olmadığı izlenmektedir. Bu birey bir outlier olabilir ve prensip olarak bu bireyin varyansının gerçekten istatistiksel olarak diğer bireylerden farklı olup olmadığını değerlendirmek için Cochran testi uygulanmalıdır. Buna ilaveten 9 numaralı bireyin ortalama değerinin diğer bireylerin ortalama değerinden düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle 9 numaralı bireyin tüm verilerinin çalışmadan çıkarılıp çıkarılmayacağını değerlendirmek için Reed kriteri uygulanmalıdır.

Yeni bir analite ait biyolojik varyasyonun değerlendirildiği bu hipotetik örnekte veriler grafikle gösterildiğinde (1) diğerlerinden belirgin olarak farklı olan herhangi bir ortalama

değer (outlier) açıkça görülebilmektedir; ve (2) verilerinin aralığı (minimum – maksimum) diğerlerinden farklı olan herhangi bir bireyin sonuçları da belirgin olarak göze çarpmaktadır.

Günümüzde herhangi bir veri grubunu istatistik paket programlarına girerek çok farklı istatistiksel değerlendirmeler yapmak oldukça kolaydır. Hesaplamalardan önce verilerin gözle değerlendirilmesi son derece önemlidir. Sıklıkla ihmal edilen bu konu çok önemli olup tüm kişisel bilgisayarlarda ve istatistiksel paket programlarında değerlendirilebilmektedir.

Hesaplamaları nasıl yaptığımıza bakmaksızın (ya da bizim için nasıl yapıldığına) ve sadece verilerin kalitesine karar verdikten sonra, aşağıda sıralananları sayısal olarak tahmin edebiliriz:

- SD ya da CV olarak analitik presizyon (analitik kesinlik). Genellikle SD_A ve CV_A olarak gösterilir (İdeal deneylerde bu veri optimal koşullardaki çalışma içi presizyonun değeri olacaktır).
- Ortalama bireysel biyolojik varyasyon değeri (SD ya da CV olarak). Genellikle SD_I ve CV_I olarak gösterilir, ve
- Bireyler arası biyolojik varyasyon değeri (SD ya da CV olarak). Genellikle SD_G ve CV_G olarak gösterilir.

Bireysel Biyolojik Varyasyonun Sabitliği Biyolojik varyasyonla ilgili sayısal verilerin üretilmesi (elde edilmesi) zaman alıcı olup üst düzeyde analitik ve istatistik beceri gerektirmektedir. Tüm laboratuvarların, biyolojik varyasyonla ilgili, kendi verilerini üretmeleri gerekli mi?

Sıklıkla istenilen analitlerin biyolojik varyasyonuyla ilgili yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Serum sodyum ve ürenin bireysel biyolojik varyasyonuyla ilgili yapılmış bazı çalışmaların sonuçları Tablo 1.7'de verilmiştir. Bireysel biyolojik varyasyonun genel olarak, çalışmaya alınan birey sayısı, çalışmanın süresi, kullanılan analitik metotlar ve çalışmanın yapıldığı ülke gibi etkenlerden bağımsız olarak sabit olduğu görülmektedir.

Yaşlanmayla birlikte homeostatik mekanizmaların bozulduğu, buna bağlı olarak biyolojik varyasyonun arttığı ve 30 – 50 yaşları arasında biyolojik varyasyonun en düşük düzeyde olduğu iddia edilmektedir. Biyokimya ve hematoloji testlerinden yaygın olarak istenilenlerin biyolojik varyasyonlarını yaşlı insanlarda inceledik. Yaygın istenilen birkaç serum analitinin genç insanlardaki ve 70 yaşın üzerinde olan sağlıklı insanlardaki biyolojik varyasyon değerleri Tablo 1.8'de gösterilmiştir. Biyolojik varyasyonun yaşlı ve gençlerde farklı olduğunu gösteren çok az kanıt vardır. Daha da önemlisi bireysel biyolojik varyasyonun sabit olduğunu iddia eden bu hipotez sadece serum analitleri için doğru değildir. Bazı analitlerin 24 saatlik idrardaki biyolojik varyasyonuyla ilgili çalışmaların sonuçları Tablo 1.9'da verilmiştir.

Bireysel biyolojik varyasyonun bu sabitliği pek de şaşırtıcı değildir. Çünkü bireysel biyolojik varyasyon, insan türünde homeostazisin kantitatif değeridir.

Mevcut Veri Bankaları Her laboratuvar için biyolojik varyasyon bileşenlerini çalışmak zorunda değiliz. Çünkü bireysel biyolojik varyasyonun sabit olduğunu gösteren çok sayıda kanıt bulunmaktadır. Hasta insanlarda bile, eğer ilgili analit hastalıktan etkilenmemişse, biyolojik varyasyonu sağlıklı bireylerdeki değerle aynıdır. Hatta analit hastalıktan etkilenmişse bile, eğer hastalık kronik ve stabilse, ilgili analitin bireysel biyolojik varyasyon değeri CV olarak hesaplandığında sağlıklı bireylerdeki değerle aynı olduğunu gösteren kanıtlar vardır. Muhtemelen patolojiden dolayı, homeostatik karar noktası değişmiştir, ancak bu noktanın etrafındaki varyasyon değişmez.

Tablo 1.7. Serumda Ölçülen Sodyum ve Ürenin Bireysel Biyolojik Varyasyonuyla İlgili Bazı Çalışmalar (CV, %)

Denek No	Zaman aralığı (hafta)	Cinsiyet	Sodyum	Üre	Ülke
11	2	M	0.7	12.3	Danimarka
10	4	M	0.9	14.3	ABD
10	8	M	0.6	9.5	Almanya
14	8	F	0.5	11.3	Almanya
9	12	M	1.4	13.6	ABD
11	15	M	0.6	15.7	Danimarka
37	22	M	0.5	11.1	İngiltere
15	40	M&F	0.7	13.9	İskoçya

Tablo 1.8. Dundee'de (İskoçya da bir kent, Ç.N.) yaşlı ve gençlerde bireysel biyolojik varyasyonla ilgili bazı çalışmalar (CV, %)

Analit	Genç	Yaşlı
Sodyum	0.7	0.9
Potasyum	5.4	4.8
Klor	1.2	1.2
Üre	13.9	10.3
Kreatinin	4.1	4.3
Kalsiyum	2.1	1.6
Kolesterol	4.9	5.8
Protein	3.1	2.6
Albümin	2.2	2.6

Sonuç olarak, biyolojik varyasyonla ilgili mevcut veri bankaları tüm laboratuvarlar tarafından kullanılabilir. 1982 yılında John Ross, presizyonla ilgili bir makalede çalışma süreleri, CVI ve CVG, diğer göstergeleri ve referansları içeren yayımlanmış verileri topladı. Callum Fraser 1988 yılında bu modeli takip etti ve daha sonra 1992 yılında bu çalışmayı güncelledi. Bu oldukça önemli derlemelerin referansları 1997 yılında Xavier Fuentes-Arderiu ve meslektaşları tarafından yayımlanan kapsamlı veri bankasında bulunabilir. Bu veri bankası (www.westgard.com/intra-inter.htm adresinde ulaşılabilir) CVI ve CVG'nin medyan değerlerini özetlemektedir.

Biyolojik varyasyon bileşenleri ile ilgili derlenen en güncel ve kapsamlı veriler ve bunlardan türetilen pek çok göstergeler İspanyadan Carmen Ricos ve arkadaşları tarafından toparlanmıştır (www.westgard.com/guest17.htm adresinden ulaşılabilir). Tüm laboratuvarların bu verileri kullanmaları şiddetle tavsiye edilmektedir. Bu kitabın Ek 1 kısmı, 3 tablo içermektedir. Bu tablolarda, yaygın olarak kullanılan analitlerin bireysel (CVI) ve bireyler arası (CVG) biyolojik varyasyon bileşenleri aşağıda sıralandığı gibi üç bölüm halinde verilmiştir:

- Serum ya da tam kan (parantez içinde belirtilmiştir)
- İdrar ve
- Hematoloji ve hemostaz

Bunlara ilaveten çok nadir çalışılan analitlerle ilgi veriler de bulunmaktadır. Bu üç tabloya dahil edilmeyen analitlerle ilgili çalışma yapmadan önce, okuyucuların bu verilerin bulunup bulunmadığını araştırmaları için orijinal veri bankalarını incelemeleri gerekir.

Tablo 1.9. İdrarla Atılan Analitlerin Bireysel Biyolojik Varyasyonu ile İlgili Bazı Çalışmalar (CV, %).

Analit	Erkek: Avusturalya	Erkek ve Kadın: İskoçya	Erkek ve Kadın: İspanya
Sodyum	28.0	26.5	28.7
Kalsiyum	25.1	26.2	27.5
Kreatinin	11.2	11.0	15.0
Fosfat	16.6	16.9	20.6

ÖZET

Bu bölüm aşağıdaki noktaları kapsamaktadır:

- Bireylerden alınan numunelerdeki testlerin sonuçları zamanla değişim göstermektedir.
- Bireylerden numune alımı için yapılan hazırlık çalışmalarında çok sayıda preanalitik varyasyon kaynakları bulunmaktadır.
- Numune toplama prosedürleri olası pek çok varyasyon kaynaklarını içermektedir.
- Rastgele analitik varyasyon (presizyon) test sonuçlarının varyasyonunu artırmaktadır.
- Sistematik varyasyon da (bias), özellikle biasın zamanla değişimi, test sonuçlarının varyasyonunu artırmaktadır ve mümkün olduğunca en düşük düzeye indirgenmelidir.
- Biyolojik varyasyon, farklı zamanlarda test sonuçlarında görülen varyasyonun en önemli kaynağıdır.
- Bazı analitler, özellikle hızlı fizyolojik değişimlerin olduğu dönemlerde olmak üzere, yaşam boyunca değişim göstermektedir.
- Bazı analitlerin, - özellikle hormonlar -, önceden tahmin edilebilir belirgin siklik ritimleri bulunmaktadır. Bu bilgilerden referans değerlerin elde edilmesi, uygun zamanlarda numunelerin toplanması ve hastalıkların teşhisinin konulması amacıyla yararlanmak mümkündür.
- Pek çok analit, belirli bir homeostatik nokta etrafında rastgele değişim göstermektedir. Bu değişim bireysel biyolojik varyasyon olarak adlandırılır ve genel kısaltması CV_I'dır.
- Pek çok analit için, farklı bireylerin farklı homeostatik karar noktaları bulunmaktadır ve bu fark bireyler arası biyolojik varyasyon olarak tanımlanır. Genel kısaltması CV_G'dir.
- Biyolojik varyasyonun bileşenleri, referans bireylerden oluşan bir gruptan standart koşullar altında dikkatlice toplanan numunelerin, optimal koşullarda çift çalışılmasıyla elde edilen verilerden üretilebilir (hesaplanabilir). Outlier değerler (uç değerler) atıldıktan sonra istatistiksel olarak Nested varyans analizi tercih edilen metottur.
- Literatürde biyolojik varyasyonla ilgili pek çok veri bulunmaktadır. Tüm laboratuvarlar, kalite spesifikasyonlarını belirlemek, referans değişim (RCV) ve delta çek değerlerini elde etmek, klasik referans değerlerinin kullanılabilirliğini değerlendirmek ve diğer amaçlar için mevcut verileri kullanmalıdır.

EK OKUMA LİSTESİ

1. Brooks Z. Performance-driven quality control. Washington, DC: AACC Press, 2001.
2. Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. Crit Rev Clin Lab Sci1989;27:409-437.
3. Fraser CG. Interpretation of clinical chemistry laboratory data. Oxford: Blackwell Scientific, 1986.
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zatwa B. Samples: from the patient to the laboratory. Darmstadt: GIT Verlag GmbH, 1996.
5. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. Scand J Clin Lab Invest 1999;59:491-500. Available online: www.westgard.com/guest17.htm.
6. Sebastian-Gambaro MA, Liron-HernandezFJ, Fuentes-Arderiu X. Intra- and inter-individual biological variability data bank. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997;35:845-852. Available online: www.westgard.com/intra-inter.htm.
7. Young DS. Biological variability. In: Brown SS, Mitchell FL, Young DS. Effects of pre-analytical variables on clinical laboratory tests. Washington, DC; AACC Press, 1993.

2. Bölüm
Kalite Spesifikasyonları

Modern kalite yönetimi, laboratuvarda her gün gerçekleştirilen basit istatistiksel kalite kontrolden çok daha fazlasını içermektedir. Laboratuvar kalite pratiğinin temel bileşenleri olan kalite güvencesi, kalitenin geliştirilmesi ve kalitenin planlanması mutlaka kalite yönetimine dâhil edilmelidir. Aslında bu bileşenler laboratuvar tıbbındaki toplam kalite yönetiminin temelini teşkil etmektedir.

Kalitenin tüm tanımları (yapılmış pek çok tanım bulunmaktadır) çalışma alanımıza (laboratuvar tıbbı) şöyle uyarlanabilir: Laboratuvarda çalışılan tüm testlerin kalitesi, klinisyenlerin iyi hekimlik pratiğini uygulamalarına yardımcı olacak şekilde gerekli koşulların oluşturulmasıdır. Bu nedenle laboratuvar kalitesinde kontrol, uygulama, güvence ve geliştirme gibi işlemleri yapmadan önce, yeterli düzeyde klinik karar vermenin mümkün olduğundan emin olmak için, tam olarak hangi düzeyde kaliteye gereksinim duyduğumuzu bilmek zorundayız. Böylece, kalite yönetiminin kurumsallaşması için, gerek duyulan kalitenin öncelikli olarak belirlenmesi gerekir (bakınız Şekil 2.1).

KALİTE SPESİFİKASYONLARININ DÜZENLENMESİ

Klinik karar vermeyi kolaylaştırmak için gerekli olan performans düzeyine çok sayıda farklı isim verilmiştir. Günümüzde en yaygın kullanılan terim 'kalite spesifikasyonları'dır. Diğer terimler kalite hedefleri, kalite standartları, arzu edilen standartlar, analitik hedefler, analitik performans hedefleridir.

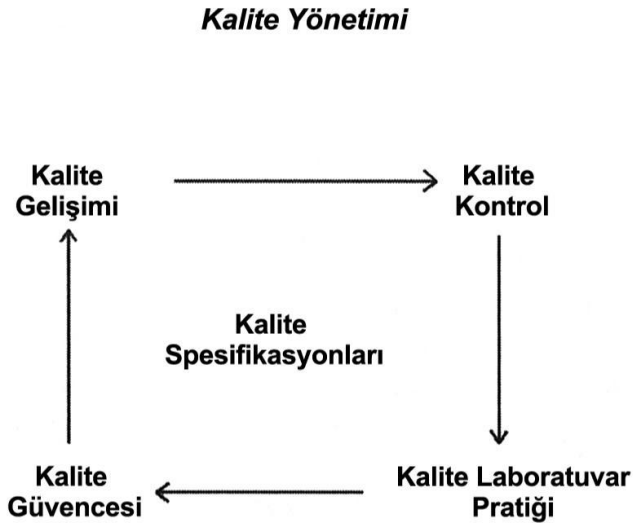
Test sonuçlarının üretimiyle ilgilenen ve testleri isteyen çok sayıda kişiye 'iyi laboratuvar testi'nin tanımını sorduğumuzda her birey büyük ihtimalle çok farklı yanıtlar verebilecektir. Örneğin:

- Laboratuvar direktörü 'PT ve EQAS'ta sürekli iyi sonuç veren ve akreditasyon durumumuzu korumaya yardımcı olan bir test' karşılığını verebilir.

- Laboratuvar yöneticisi (işletme müdürü), 'pahalı olmamalı ve nispeten fazla ustalık gerektirmeyen ve tüm laboratuvar personeli tarafından yapılabilmeli' şeklinde yanıt verebilir.
- Laboratuvar teknisyeni, 'hiçbir zaman iç kalite kontrolde sorun yaratmayan bir test' yanıtını verebilir.
- Acil servis hekimi, 'hasta başında ve tam kan ile çok hızlı sonuç verebilen bir test' karşılığını verebilir.
- Akademisyen olan hekim (klinisyen), 'duyarlılık, özgüllük ve öngörü değeri (predicitive value) çok yüksek olan bir test' yanıtını verebilir.
- Pediyatrist 'çok az numune gerektiren bir test' şeklinde yanıtlayabilir.

Bu hipotetik yanıtlar, her bir laboratuvar testinin çok farklı niteliklerinin olduğunu göstermektedir ve en iyi adlandırma *performans karakteristikleri*dir. Tüm metotlar, iki sınıfa dahil olan performans karakteristikleri açısından tam olarak açıklanabilmelidir.

- *Uygulanabilirlik karakteristikleri* prosedürün uygulama detayları ile ilgilidir ve çalışma becerisi, analiz hızı, gerekli numune hacmi ve analiz edilebilen numune tipi gibi pek çok yönleri bulunmaktadır.
- *Güvenilirlik karakteristikleri* kesinlik, bias, saptama sınırı ve ölçüm aralığı gibi metodun bilimsel yönü ile ilgilidir.



Şekil 2.1. Kalite yönetiminde kalite spesifikasyonlarının merkezi rolü

İdeal olarak, başta kesinlik (presizyon) ve bias olmak üzere özellikle güvenilirlik karakteristikleri ve diğer laboratuvar prosedürlerinin tüm performans karakteristikleri için kalite spesifikasyonlarının bulunması gerekir. Uygun bir laboratuvar yönetim sistemini kurmak için kesinlik ve bias ile ve daha sonra da toplam hata için kalite spesifikasyonlarını tanımlamamız gerekir.

KALİTE SPESİFİKASYONLARININ KULLANIMI

Objektif kalite spesifikasyonlarının pek çok açıdan laboratuvar kalite yönetimi için gerekliliği yeni bir analitik sistem, cihaz ya da metodun klinik laboratuvarlarda nasıl kullanılacağı düşünülerek gösterilebilir.

Bu basamaklar aşağıdakileri içermektedir:

- Gereksinimlerin dokümante edilmesi
- Mevcut sistemlerin değerlendirilmesi
- Spesifikasyonun hazırlanması
- Değerlendirme için kısa bir listenin hazırlanması
- Metodun değerlendirmesi ya da validasyonunu gerçekleştirmek ve bu amaçla kullanılan verileri değerlendirmek
- Planlanmış iç kalite kontrol sisteminin kurmak ve
- Uygun bir PT ya da EQAS'a kayıt olmak

Gereksinimlerin Dokümante Edilmesi İşlemin başlangıcında objektif kalite spesifikasyonlarını tanımlamak esastır. Tüm yeni teknolojilerin kullanımında bu ilk basamağın mutlaka çok iyi düşünülerek gerçekleştirilmesi gerekir. İstenilen performans karakteristiklerini pratiklik ve güvenilirlik açısından detaylı olarak dokümante etmek zorundayız. Test repertuvarı, numune matriksi (serum, plazma, BOS, idrar, vücut sıvıları), numune hacmi (yetişkin, çocuk, yeni doğan), acil ve rutin testler ve çıktılar için zaman, kimyasal yöntem, reaktiflerin kutu büyüklüğü, kalibratör değerlerinin belirlenmesi, kalibrasyon sıklığı ve stabilitesi, cihaz üzerinde kalite kontrol numunelerinin sayısı ve kullanılacak kalite kontrol kurallarının spektrumu gibi ne istediğimizi dokümante etmek zorundayız. Elimizde mevcut olan ve kullanabileceğimiz alan ve servislerin (güç kaynağı, su, aydınlatma, IT için alt yapı) ne olduğunu belirlemek zorundayız. Hali hazırda ve gelecekte hangi fonların mevcut olduğunu ve kullanabileceğimizi bilmemizde yarar var. Ve en önemlisi bu aşamada istediğimiz kesinlik (presizyon), bias ve toplam hatanın kalitesini, ve ilaveten saptama sınırı, ölçüm aralığı, interferanslar, özgüllük ve taşıma etkisini (carry-over) tanımlamamız gerekir.

Mevcut Sistemlerin Değerlendirilmesi Bir kez neye gereksinim duyduğumuzu tam olarak tanımladıktan sonra bu gereksinimleri potansiyel olarak karşılayacak mevcut olanakları değerlendirebiliriz. Bilimsel dergiler, ticari basın ve ana üreticilerin ürünleri ile ilgili makaleleri inceleyebiliriz. Üreticilerin tanıtım ve verilerini değerlendirebiliriz ve özellikle kongre ve konferanslardaki

seminer ve çalıştaylarına katılabiliriz. Diğer laboratuvarları ziyaret ederek meslektaşlarımızın sorunları çözerken kazandıkları tecrübelerden yaralanabiliriz. PT ve EQAS raporlarında bulunan çok zengin bilgilerden yararlanabiliriz. Daha sonra, önceden hazırladığımız kalite spesifikasyonlarını kullanarak, arzu ettiğimiz spesifikasyonları teknik ve metodolojik olarak mümkün olan ve kullanılabilen spesifikasyonlarla karşılaştırabiliriz.

Bir Spesifikasyonun Yazılması Mevcut durumu değerlendirdikten sonra geri dönüp gereksinim duyduklarımızın tanımını modifiye edebiliriz. Gerekli ve istenilen karakteristiklerin detaylı listelerini ayrı ayrı hazırlayabiliriz. Bunları potansiyel tedarikçiler için ihale dokümanları hazırlarken iş teklifimiz için kullanabiliriz. Spesifikasyon ve ihale dokümanları mümkün olan tüm performans karakteristikleri için detaylı sayısal kalite spesifikasyonlarını içermelidir. Bunu hiç olmazsa kısmen yaparak, üreticilere metotların güvenilirlik karakteristiklerinin klinik karar vermeyi etkiledikleri ve hala laboratuvarlarda önemli bir husus olduğunu hatırlatmamız gerekir.

Kısa Bir Liste Oluşturma Hazırladığımız ihale şartnamesine cevap veren firmalara, laboratuvar için olası çözümleri kısa bir liste halinde sunmalıyız. Daha sonra her bir güvenilirlik karakteristiği için önceden belirlenmiş kalite spesifikasyonları ile firmanın yerine getirmeyi taahhüt ettiği spesifikasyonları karşılaştırılmalıyız.

Değerlendirme Analizi ya da Verilerin İncelenmesi Kurulması planlanan analitik sistemler veya cihazlar alınmadan ya da kiralanmadan ve kuşkusuz laboratuvarda kullanılmadan önce genellikle kısaca gözden geçirilir ya da detaylı olarak incelenir. Metot validasyonunun nasıl yapılacağını ya da değerlendirileceğini detaylı olarak gösteren pek çok yayın bulunmaktadır. Bunlar performans karakteristikleri ile ilgili çok sayıda veri oluşturmaktadır. Bu veriler kabul edilebilirlik konusunda detaylı bilgi sahibi olmak için arzu edilen kalite spesifikasyonları ile karşılaştırılmalıdır (Bu proses kitabın bu kısmında daha sonra tartışılacaktır).

İç Kalite Kontrol Sisteminin Kurulması Analitik sistemler ya da cihazlar kullanıma alınmadan önce iyi bir kalite kontrol sisteminin kurulması ve aynı zamanda kalite yönetiminin diğer tüm yönlerinin uygulamaya alınması gerekir. Kabul ya da ret için hangi kalite kontrol kurallarının kullanılacağını ve kaç kontrol numunesinin çalışılacağını gösteren detaylı kalite planlamasının yapılması şarttır. Tüm bunlar kalite spesifikasyonlarının detaylı kullanımı

olmadan yapılamaz. (Bu prosesler elinizdeki kitabın kapsamı dışındadır fakat pek çok yeni yayında detaylı olarak ele alınmıştır).

PT ya da EQAS'a Kayıt Olma Laboratuvarların mümkün olduğu kadar çok sayıda analit için PT ya da EQAS'a katılmaları gerekli olup bazen de zorunludur. Bu plan ve programların en iyileri, kabul edilebilirliği değerlendirmek amacıyla, sabit sınırları elde etmek için objektif kalite spesifikasyonlarını kullanırlar.

Metot değerlendirme ve kalite kontrolde objektif kalite spesifikasyonlarının gerekliliği çok iyi dokümante edilmiştir. Örneğin, 1999 yılında, laboratuvar tıbbının öncü bir dergisi, *Clinical Chemistry,* potansiyel yazarlar için şu önerilerde bulunmuştur: 'Performans karakteristikleri için elde edilen sonuçlar, modern metotların kullanıldığı yayımlanmış veriler, CLIA 88 gibi düzenleyici birimlerin (regulatory bodies) gerekli gördüğü performans veya uzman profesyonel grupların dokümante edilmiş tavsiyeleri gibi, iyi dokümante edilmiş kalite spesifikasyonları ile objektif olarak karşılaştırılmalıdır'. Ayrıca Klinik Laboratuvar Standartları için Ulusal Komite (NCCLS) ABD'de çalışanlar için istatistiksel kalite kontrol kılavuzunu yakın zamanda güncellemiştir. Gözden geçirilmiş kılavuzlar istatistiksel kalite kontrol prosedürünün planlanması ile ilgili bilgiler içermektedir ve burada ilk gereksinim kalite spesifikasyonlarının tanımıdır.

KALİTE SPESİFİKASYONLARININ OLUŞTURULMASINDA PROBLEMLER

Kalite planlaması iç kalite kontrol sisteminde devrim yarattı. Bununla birlikte bazıları kalite planlama prosesinde kalite spesifikasyonlarını kurmanın çok zor olduğunu düşünürler ve klasik istatistiksel proses kontrolüne bağlı kalmayı tercih ederler. Diğerleri, sayısal kalite spesifikasyonlarının kullanımını reddetmek için aşağıda sıralanan ek itirazlarda bulunuyorlar:

- Kitaplarda, derlemelerde ve dünyanın tüm bölgelerindeki makalelerde yayımlanmış çok sayıda tavsiye bulunmaktadır. Bu alanda uzman olmayanların hangi modelin daha iyi ve hangisinin problemli olduğuna karar vermesi çok güçtür. Bu durum kalite planlamasında en uygun kalite spesifikasyonun seçimini zorlaştırmaktadır.
- Sonuçlar araştırma ve geliştirme, eğitim ve öğretim, takip (hasta takibi), tanı, vaka bulma ve tarama gibi çok farklı klinik durumlarda

kullanılmaktadır. Tüm klinik amaçlar için her metodu kullanılabilir hale getirecek tek bir kalite spesifikasyonları grubu olmayabilir.

- Zaman geçtikçe yeni önerilerin yayımlanmasına devam edilmektedir. Hatta bu yeni önerilerde bulunanlar daha önceki görüş ve düşüncelerini değiştirmek isteyen uzmanlardır. Bu durum kalite spesifikasyonlarını oluşturmak için hali hazırda gerçek bir profesyonel konsensüsün olmadığını düşündürmektedir.
- Bazıları hastaların (veya klinisyenlerin) mevcut teknoloji ve metodolojilerin performans düzeylerinin yetersizliğinden olumsuz etkilendiklerini gösteren bir kanıtın bulunmadığını illeri sürmektedir. Bu kişiler yıllardır bize iyi hizmet veren kuralların değişimini sorguluyorlar.
- Eğitim yönü olan EQAS'tan ziyade PT'yi kabul eden mevzuat (ABD CLIA '88 gereksinimler gibi) nedeniyle, laboratuvarın gayreti temel olarak PT'yi geçmek için gerekli olan standartları yakalamaya yönlendirilebilir. Bu durumda PT'de bulunan sabit sınırlar uygulamadaki kalite spesifikasyonu haline gelecektir.
- Klinik laboratuvarlardaki analitik sistemlerin üreticileri gerek Ar-Ge ve gerekse pazarlama da profesyonel olarak kurulmuş objektif spesifikasyonları pek kullanmıyorlar. Bundan ziyade çoğunlukla teknolojinin ön planda olduğu (state of the art) ve teknik olarak uygun fiyata elde edilebileni tercih ediyorlar.

İddia edilen bu güçlüklerden bağımsız olarak, kalite spesifikasyonları kalite planlaması ve kalite yönetiminin püf noktasını oluşturmaktadır. Modern klinik laboratuvar uygulamaları için kalite spesifikasyonlarının oluşturulması ve uygulanması ile ilgili bilgiler yaşamsal derecede önemlidir.

KALİTE SPESİFİKASYONLARININ BELİRLENMESİNDE KULLANILAN MODELLERİN HİYERARŞİSİ

Kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi ile ilgili orijinal makaleler, derlemeler, laboratuvar tıbbı genel ders kitapları gibi çok şey yazılmaktadır. Konuyu tartışmak için özel içerikli konferanslar düzenlenmektedir. Bu nedenle, kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi ile ilgi karşıt argümanlardan biri olan 'çok sayıda basılmış önerinin bulunması ve uzman olmayanlar için hangi modelin iyi, hangisinin sorunlu olduğuna karar vermenin kolay olmadığı' düşüncesinin bazı haklı yönleri de bulunmaktadır.

Bu sorunları aşmak için 1999 yılında Stockholm'da IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), IFCC (Intrernational Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sponsorluğunda bir konferans organize edildi. Bu konferansın amacı laboratuvarın büyük ya da küçük, özel ya da kamu, gelişmiş ya da gelişmekte olup olmadığına bakılmaksızın laboratuvar tıbbındaki kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi ile ilgili global stratejilerde bir anlaşmanın sağlanıp sağlanamayacağını tartışmaktı. Bu konferansa 23 ülkeden kalite spesifikasyonları ile ilgili orijinal çalışması olan bilim insanları konuşmacı olarak davet edildi.

Konferans amacına ulaştı. Makale ve konsensus metni *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* dergisinin özel bir sayısında basıldı. Konsensus metni mevcut modelleri hiyerarşik bir yapıda düzenlemektedir (Bakınız Tablo 2.1).

Hiyerarşi, daha önce Clinical Chemistry dergisinde yayımlanan bir başyazıdaki (editorial) önerilere dayanarak hazırlandı. Hiyerarşide, üst düzeydeki modeller alt düzeydekilere tercih edildi ve özel klinik amaçlar için uygun modellerin kullanımı önerildi. Bununla birlikte bu öneriler mutlak kurallar olarak kabul edilmedi, çünkü yeni ve daha iyi modeller ortaya çıktığında ve konunun uzmanları tarafından kabul edildikten sonra zamanı geldiğinde bunlar kullanılabilir.

Hiyerarşide savunulan kalite spesifikasyonlarının karşılaştırılması ile ilgi zorluklardan birsi de spesifikasyonların oldukça farklı formatlarda sunulmuş olmasıdır (Bu durum konu ile ilgili önceki basılmış çalışmalarda da görülmektedir). Bazı spesifikasyonlar kesinliği (presizyon), bazıları biası, bazıları da kabul edilebilir toplam hatayı işaret etmektedir.

Kabul edilebilir toplam hata için kalite spesifikasyonu, kabul edilebilirlik kriteri olarak rastgele ve sistematik varyasyonun kombinasyonunu almaktadır. Pek çok kişi klinisyenlerin toplam hatayı dikkate aldıklarını; kalite planlamasındaki düşüncelerin toplam hata kalite spesifikasyonlarının kullanımını gerektirdiğini, PT ve EQAS'taki sabit sınırların da toplam kabul edilebilir hata için kalite spesifikasyonu olarak ayarlandığını düşünürler. Bu nedenle kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi ile ilgili hiyerarşiyi ve modellerin çıktılarının gerçek anlamını ele almadan önce toplam hatanın nasıl hesaplandığını incelemek oldukça önemlidir.

Tablo 2.1 Kalite Spesifikasyonlarının Düzenlenmesi ile ilgili Stratejilerin Hiyerarşisi

Sıra	Strateji	Alt sınıflar
1	Analitik performansın spesifik klinik karar verme üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi	Spesifik klinik durumlardaki kalite spesifikasyonları
2	Analitik performansın genel klinik karar verme üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi	A. Biyolojik varyasyona dayalı genel kalite spesifikasyonları B. Tıbbi görüşlere dayalı genel kalite spesifikasyonları
3	Uzmanların önerileri	A. Ulusal ya da uluslararası uzman grupların hazırladıkları kılavuzlar B. Bireysel ya da kurumsal grupların hazırladıkları kılavuzlar
4	Yönetmelik ya da EQAS organizasyonları tarafından ortaya konulan kalite spesifikasyonları	A. Yönetmelikle ortaya konulan kalite spesifikasyonları B. EQAS organizasyonlarının ortaya koydukları kalite spesifikasyonları
5	Teknolojik olarak yapılabilirlikle ilgili yayınlar	A. PT ve EQAS'ın yayımladığı veriler B. Yayımlanmış biereysel metodoloji

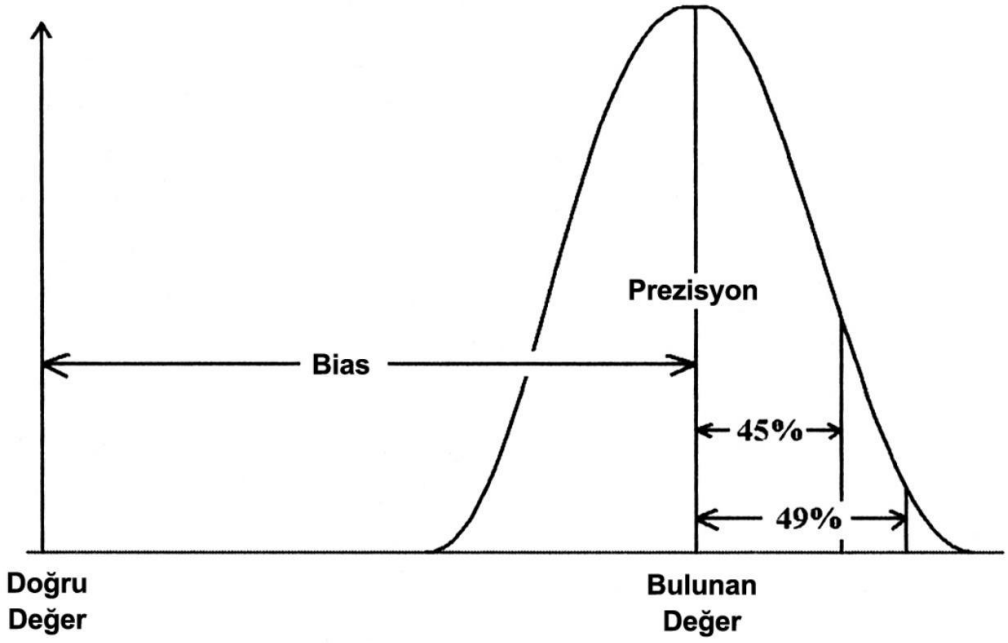
TOPLAM HATA KAVRAMI

Toplam hata (Total error, TE) çok farklı yollardan hesaplanabilir. En çok kullanılan yöntem bias ve presizyonun 'doğrusal' yöntemle toplanmasıdır. Bu hesaplamada biasın mutlak değerinin kullanıldığı unutulmamalıdır. Bias'ın pozitif ya da negatif olmasının bir önemi yoktur. Literatürde, toplam hatanın hesaplanması için çok farklı yöntemler bulunmaktadır. Bunlardan bazıları aşağıda verilmiştir:

- Presizyonun iki katı ve bias'ın toplamı, TE= bias + 2SD (veya CV)
- Presizyonun üç katı ve bias'ın toplamı, TE= bias + 3SD (veya CV)
- Presizyonun dört katı ve bias'ın toplamı, TE= bias + 4SD (veya CV)

Bununla birlikte, kalite planlamasının teori ve pratiği ile ilgili temel literatürün büyük çoğunluğu toplam kabul edilebilir hata için aşağıdaki formülü kullanmaktadır.

- Presizyonun 1.65 katı ve biasın toplamı, TE_a = bias +1.65SD (veya CV). (Bu formülün temel prensibi Şekil 2.2'de gösterilmiştir).



Şekil 2.2. Toplam Hata Kavramı

Test sonuçları esas alınarak ve sonuçlar birim cinsinden rapor edildiği zaman SD, varyasyon ve hatalar yüzde cinsinden ifade edildiği zaman ise CV kullanılır. CV aşağıda gösterildiği gibi hesaplanır:

CV = (SD/Ortalama)x100

Toplam kabul edilebilir hata için kullandığımız formül aşağıda açıklandığı gibi elde edilir. Genellikle çalışmalarımızda %5 hatanın var olabileceğini %95 olasılıkla kabul ederiz. Şekilde gösterildiği gibi dışlamak istediğimiz değer dağılımın sadece bir tarafında bulunmaktadır. Bunu yapmakla aslında dağılımın alt ve üst uçlarında %5 olmak üzere toplamda %10 kadar veriyi dışlamış oluruz. Bu durumda dağılımın sadece %90 kadarını işleme almış oluyoruz ve buna karşılık gelen katsayı çarpanı ise 1.65 dır. Bu çarpanlar Z-skor olarak bilinir ve bunların kullanımını daha sonra açıklayacağız.

Bu bilgiler ışığında toplam kabul edilebilir hata aşağıda gösterildiği gibi hesaplanır.

Toplam kabul edilebilir hata = bias + Z x Presizyon, veya

Toplam kabul edilebilir hata = bias + 1.65 x Presizyon %95 olasılık için, ya da

$TE_A = B_A + 1.65xCV_A$

KALİTE SPESFİKASYONLARININ BELİRLENMESİ İÇİN STRATEJİLER

Kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi için tüm stratejiler hiyerarşiye dâhil edilmemiştir. Literatürde bulunan bazı modellerin, özellikle standart ders kitaplarında bulunanların pek çok dezavantajları vardır ve bunlar geçersiz kabul edilmektedir.

Uzmanlara göre hala bazı yararlarının olduğu düşünülen modeller Tablo 2.1'de gösterildiği gibi hiyerarşiye dâhil edilmiştir. Bununla birlikte, herhangi bir stratejinin dâhil edilmesi onun herhangi bir dezavantajının olmadığını göstermez. Hiyerarşiye dâhil edilen modellerin temelleri ve bunların pozitif ve negatif yönleri bu bölümün konusunu teşkil etmektedir.

Spesifik Klinik Durumlardaki Kalite Spesifikasyonları İdeal olanı, kalite spesifikasyonlarının analitik performansın spesifik klinik kararlara etkisinin sayısal değerlendirilmesinden türetilmesidir. Bu nedenle her bir test ve her bir klinik duruma göre kalite spesifikasyonlarını direkt olarak klinik çıktılara göre türetmeliyiz. Bu yaklaşımın hiyerarşinin tepesinde bulunması sürpriz değildir. Ne yazık ki, bu yaklaşım çok zordur ve hesaplamalar sadece sınırlı sayıda farklı klinik durumlardaki birkaç analit için yapılmıştır.

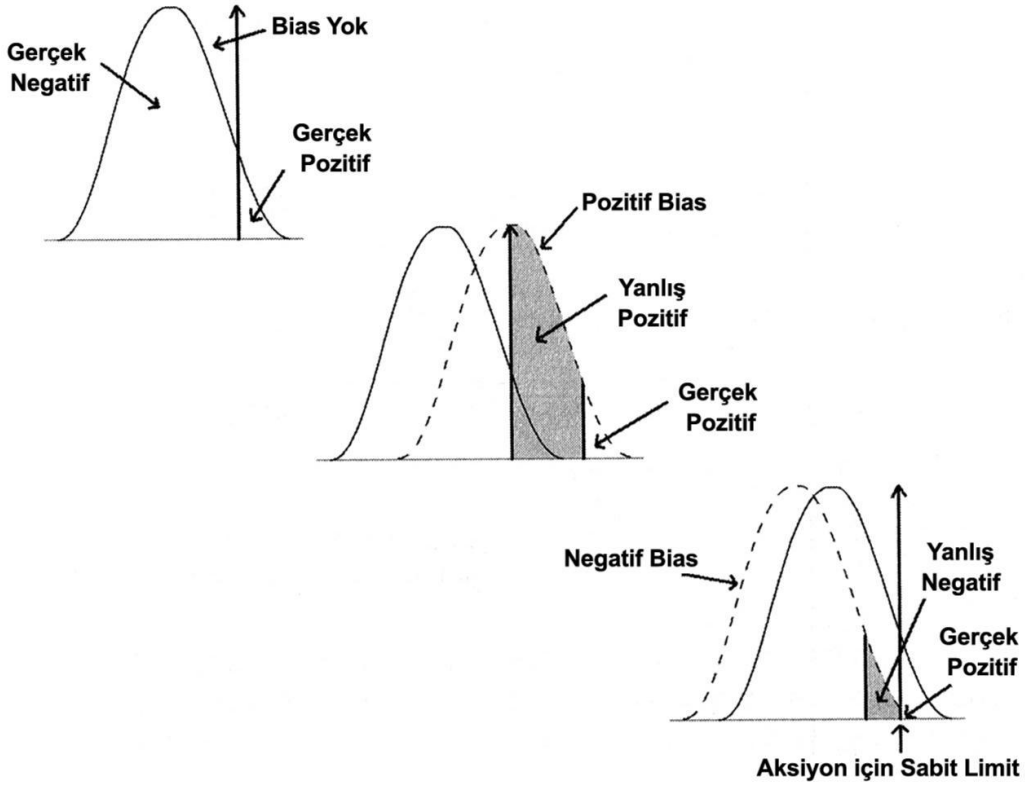
İskandinavya'da Per Hyltoft Peterson ve çalışma arkadaşları tarafından incelenen bir modeli burada uyarlamaya çalışacağız. Serum kolesterolünün tarama testi olarak kullanıldığı durumu teorik bir örnek olarak ele alalım (bunun da avantaj ve dezavantajları olmakla birlikte) ve Şekil 2.3'ün tepesindeki diyagramda görüldüğü gibi gerçek bir popülasyon dağılımına sahip olduğunu varsayalım. Serum kolesterolünün Gaussian dağılıma uyduğunu varsaydık ve klinik karar için sabit bir konsantrasyonun olduğu büyük çoğunlukla kabul edilmektedir.

Şimdi eğer laboratuvarın analitik bias'ı pozitif ise Şekil 2.3'ün ortasındaki diyagramda gösterildiği gibi eğri sağa kayacaktır. Bu durumda popülasyonda daha fazla sayıda kişi, klinik karar verme için seçilen sabit sınırın üzerinde bulunacaktır. Bu grupta, kolesterol düzeyi gerçekten seçilen sabit sınırın üzerinde olan bireyler bulunduğu gibi sadece pozitif analitik bias'tan dolayı kolesterolü yüksek görünen bireyler de bulunmaktadır. Bu nedenle 'yalancı pozitif' sonuçlar bulunacaktır.

Bu nedende analizin kendisine ait performans karakteristikleri klinik sonuçları etkileyecektir. Örneğin, üzerinde uzlaşı sağlanmış bir klinik kılavuza

göre serum kolesterolü belirli sabit bir sınırın üzerinde olan herkesin tedavi edilmesi gerekir. Bu uygulama diyet alımı ve daha sonra kliniğe geri çağırma, ilaçlar, ileri laboratuvar testleri ve takip veya basitçe testlerin tekrarı şeklinde olabilir. Belirlenen sınırın üzerindeki sonuçlar, sağlık kaynaklarının harcamasında gerekli veya uygun olanın ötesinde olabilir. Popülasyonun beklenenden daha büyük bir kısmı 'büyük risk altında' şeklinde gruplandırılacak ve bunların bir kısmı sadece analitik biastan dolayı yanlış gruplandırılacaktır.

Bunun aksine, eğer laboratuvarın biası negatif olsaydı, eğri sola kayacaktı. Sonuçlar Şekil 2.3'ün altındaki diyagramda gösterilmiştir. Serum kolesterol konsantrasyonu klinik müdahale için belirlenen sabit sınırın üzerinde olan bazı insanlar biastan dolayı daha düşük değerde olacaktır. Bu nedenle 'yanlış negatif'lerin sayısı artmış olacaktır. Bu durum, kısa sürede ek testlerin yapılmaması ve ilaçların alınmamasından dolayı maliyetin azalmasına neden olacaktır ancak uzun vadede popülasyondaki bazı bireylerin ilk testlerdeki düşük okuma nedeniyle atlanması sonucu erken koroner kalp hastalığı gelişecek ve maliyet çok daha yüksek olacaktır.



Şekil 2.3 Serum kolesterol metodu kullanılarak biasın klinik sonuçlara etkisinin incelenmesi. (Hyltoft Peterson P, Horder M. Influence of analytical quality on test results. Scand J Clin Lab Invest 1992:52 (Suppl 208):65-87, izin alınarak uyarlanmıştır.)

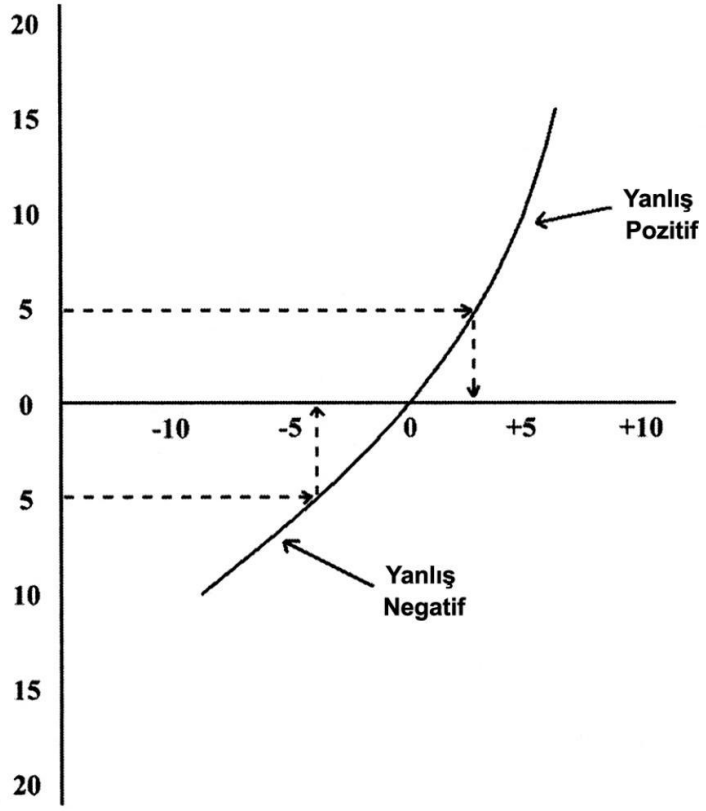
Pozitif ve negatif biasların popülasyonun yüksek risk grubunda bulunan bireylere etkisi Gaussian dağılımla ilgili basit matematik bilgilerinden kolayca anlaşılabilir: Bu işlem için belirlenen sabit sınırın içinde ve dışında kalanların yüzdesi hesaplanır ve daha sonra aynı işlem verilen bias değeri için tekrarlanır. Daha sonra analitik bias ile yüksek risk grubundaki popülasyonda azalma ve artma yüzdesi arasındaki ilişki hesaplanabilir ve bu ilişki Şekil 2.4'te gösterildiği gibi çizimle belirtilebilir.

Daha sonra eğer tıbbi gereksinimleri kabul edilebilir yanlış sınıflandırma yüzdesi cinsinden tanımlayabilirsek, kabul edilebilir analitik biası da – kalite spesifikasyonunu- kolaylıkla belirleyebiliriz. Bu örnekte, eğer (ve bu büyük bir 'eğer'dir) klinisyenler %5 yanlış sınıflandırmanın kabul edilebileceği konusunda hem fikir iseler, biz de analitik biasın ±%3-4 civarında olmasına izin verebiliriz.

Bu yaklaşımın bias için bir kalite spesifikasyonunu verdiğini belirtelim. Benzer (fakat daha zor) hesaplamalar, presizyonun klinik sonuçlara etkisini analiz etmek için yapılabilir. Bununla birlikte, daha sonra göreceğimiz gibi, test sonuçlarının yorumlanmasında sabit sınırlar kullanıldığında bias en önemli performans karakteristiğidir.

Bu örnekte olduğu gibi, klinik stratejilerin açıkça belirlenmesi, kalite spesifikasyonlarının oluşturulmasında muhtemelen en iyi yaklaşımdır.

Bununla birlikte, pek çok testin sonuçlarının farklı klinik durumlarda kullanılması büyük bir dezavantajdır. Sadece birkaç test, doğrudan test sonucuna bağlı standart ve iyi kabul görmüş tıbbi stratejilerle iyi tanımlanmış tek bir klinik durumda kullanılmaktadır. Diğer önemli bir sakınca da, hesaplanan kalite spesifikasyonlarının klinisyenlerin test sonuçlarını nümerik olarak nasıl kullandıkları varsayımlarına çok bağlı olmasıdır. Diyabetin takibinde hemoglobin A1c'nin kullanılması gibi, çok sınırlı sayıdaki klinik durumda, klinisyenlere test sonuçlarını nasıl yorumladıklarını sormaya çalıştık. Fakat klinisyenlerin, test sonuçlarının klinik pratikte gerçekten nasıl kullandıklarını spesifik terimlerle açıklamakta isteksiz ya da yetersiz oldukları görülmektedir.



Şekil 2.4. Pozitif ve negatif bias ve yanlış pozitif ve yanlış negatif sayıları arasındaki ilişki ile kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi (Hyltoft Peterson P, Horder M. Influence of analytical quality on test results. Scand J Clin Lab Invest 1992:52 (Suppl 208):65-87, izin alınarak uyarlanmıştır.)

Test Sonuçlarının Genel Klinik Kullanımına Dayanan Kalite Spesifikasyonları Klinik laboratuvarların test sonuçlarının çok farklı amaçlar için kullanıldığını biliyoruz. Test sonuçlarının kullanılmasına bağlı olarak ortaya çıkan iki ana klinik durum, (1) bireysel hastaların takibi ve (2) referans aralıkları kullanılarak hastaların tanısının konulması ya da olgu bulma işlemleridir. Bu iki durum incelendiğinde genel olarak kullanılabilecek kalite spesifikasyonlarının bireysel ve bireyler arası varyasyon olarak bilinen biyolojik varyasyon bileşenleri üzerine kurulabileceğini söyleyebiliriz.

Bu gruptaki ikinci yaklaşım (hiyerarşide ikinci düzey) klinisyenlerin verilerine dayalı genel kalite spesifikasyonlarının üretilebileceği tezine dayanmaktadır. Geçmişte bu uygulama sadece birkaç çalışmada yapıldı ve genel olarak oldukça kötü idi. Bununla birlikte bu kavram uygun görünmektedir; çünkü klinisyenler laboratuvarda ürettiğimiz test sonuçlarını kullanmaktalar ve hangi düzeyde kaliteye gereksinim duyduklarını söyleyebilmeleri lazım. Bu yüzden, bu strateji tıbbi gereksinimlere dayanan kalite spesifikasyonlarını üretebilmelidir. Klinisyenlerin test sonuçlarının genel yorumuna göre bir seri

kısa rapor ve klinik vakaya verdikleri cevaplara dayanarak kalite spesifikasyonlarını hesaplayabiliriz. Aşağıda bir örnek verilmiştir.

63 yaşında yüksek tansiyonu olan bir erkek hastanın, serum kolesterol konsantrasyonu 6.60 mmol/L'dir. Kendisine, beslenme dâhil yaşam biçiminde değişiklik önerilmektedir. İki ay sonra hastayı değerlendiriyorsunuz.

Hangi konsantrasyondaki serum kolesterolü, hastanın önerilerinize uyduğunu göstermektedir?

Klinisyenleri değerlendirmek için optimum yaklaşım, bir seri basamağı kapsamalıdır:

- İdeal olarak, kalite spesifikasyonlarına gereksinim duyulan bir test ve bir temel klinik durumu seçiniz.
- Daha sonra bu analizleri düzenli olarak kullanan bir grup klinisyen seçiniz.
- Analizi yapılan analitin tedavinin önemli bir parçası olduğu, klinik durumları iyi tanımlanmış bir seri olgu sunumunu yazınız.
- Anket formlarını klinisyenlere dağıtınız, ya da onlarla bire bir görüşmelerde klinik hikâyeleri sununuz.

Vaka sunumları klinik koşulları iyi tanımlanmış bir hastayla ilgilidir. İlk sonuç bu özellikli hasta için verilir. Daha sonra klinisyenden klinik kararını değiştirebilmesi için ilk değerden yeterince farklı özel bir değer istenir. İlk değer klasik referans aralığının içinde ya da dışında bir değer olabilir, ya da popülasyon bazlı referans limit olabilir.

Klinik Hikâyelere Verilen Yanıtlara Göre Presizyon İçin Kalite Spesifikasyonlarının Hesaplanması Veri analizi için gerekli olan detaylı hesaplamaları yapmak kolaydır (Bu konu 3. Bölümde tartışılacaktır). Burada zamanla bir bireydeki değişimi incelediğimiz için, performans karakteristiğinde önemli olan bias'tan ziyade presizyondur. Bununla birlikte, daha sonra görebileceğimiz gibi bias da dâhil edilebilir. Daha önce sunulan 63 yaşındaki erkek hasta hikâyesi ile ilgili basamaklar aşağıda verilmiştir:

- Klinisyenlerin verdikleri yanıtları toplayınız
- 6.60 ile verilen yanıtlar arasındaki farkı hesaplayınız
- Farkların dağılım frekanslarını hesaplayınız
- Farkların median, 25. ve 75. persentillerini hesaplayınız
- Elde edilen sonucun doğru olma olasılığını ve ona uygun z-skorunu belirleyiniz (Anlam, olasılık ve z-skoru arasındaki ilişki 3. Bölümde açıklanacaktır).

- 1. Bölümde detaylı bir şekilde verildiği gibi, kolesterolün bireysel biyolojik varyasyon değerini literatürde bulunuz.
- İstenilen olasılık düzeyine uygun klinik kararı verebilmek için gereken analitik performansı hesaplayınız.
- Median, 25. ve 75. persentilleri kullanarak kalite spesifikasyonu için üç basamak oluşturunuz: İstenilen düzey, optimum ve minimum.

Klinisyenler bize hangi değişimlerin klinik olarak anlamlı olabileceğini söylediler. Klinisyenlere sorulan soruların içeriğine uygun olasılığı hesaba katmak zorundayız. Çünkü farklı sözcükler olasılığın farklı düzeylerini göstermektedir. Buna ilaveten, anlamlı olduğu düşünülen farklar bir bireyin seri ölçümlerinden elde ediliyorsa, bu farkların biyolojik varyasyonu da içerdiği unutulmamalıdır. Geniş bir literatüden derlenen bireysel biyolojik varyasyon değeri hesaba katılmalıdır.

Klinisyenlerden çok farklı cevaplar alırız. Hatta tek bir analit ve bir klinik durum için de bu durum geçerlidir. Genellikle verilen cevapların medyan değerlerini arzulanan kalite spesifikasyonu olarak kullanıyoruz. Daha sonra verilen cevapların 25. ve 75. persentilleri sırasıyla optimum ve minimum kalite spesifikasyonu olarak alınabilir. Bu kalite spesifikasyonları genellikle istenilen presizyonla ilişkili olacaktır.

Yapılacak illeri düzey (sofistike) çalışmalarla, aslında ilginç sayılan değişimlerin toplam hatadan kaynaklandığını ve bunun da presizyon ve bias gibi bileşenlerine ayrıldığını varsayabiliriz. (3. Bölümde bunu nasıl yapabileceğimizi göreceğiz).

Geçmişte yapılan vinyet tipi çalışmaların pek çoğu yukarıda açıklananlara göre yetersiz bir düzeyde yapılmıştır (bu çalışmaların dizayn ve uygulamalarında anlamlı eksikler bulunmaktadır). Buna rağmen bazıları hala – oldukça yanlış bir biçimde – bu çalışmalardan hesaplanan kalite spesifikasyonlarından alıntı yapmaktadır. Yine de bu yaklaşım önemli bir potansiyele sahiptir ve umarız gelecekte uygun şekilde dizayn edilen ve gerçekleştirilen çok sayıda çalışma yapılır. Yakın zamanda Norveç'te yukarıda belirtilen ideal yaklaşıma yakın çok ilginç bir çalışma yapıldı. Bu çalışmada diyabetik hastaların kendi takip ettikleri kan glukoz sonuçları hakkında fikirleri alındı. Bu araştırma, ileride yapılacak çalışmalar için model olarak alınabilir.

Uzmanların Önerilerine dayanan Kalite Spesifikasyonları Az sayıda ulusal ya da uluslararası uzman gruplar detaylı kalite spesifikasyonları önermişlerdir. Bunlardan bazıları presizyonla, bazıları biasla ve diğerleri de kabul edilebilir

toplam hata ile ilgilenmişlerdir. Bu önerilere dayanan ve yaygın kullanılan kalite spesifikasyonları aşağıda verilmiştir:

- Amerika Birleşik Devletlerindeki (ABD) Ulusal Kolesterol Eğitim Paneli lipit analizleri ile ilgili önerilen presizyon, bias ve kabul edilebilir toplam hatayı yayımladı.
- Amerikan Diyabet Cemiyeti glike hemoglobin analizi ve kendi kan glukozunu izleme (self-monitoring) ile ilgili kalite spesifikasyonlarını belirlediler.
- ABD'deki Ulusal Klinik Biyokimya Akademisi'ndeki bir grup uzman tiroid hormonları, terapötik ilaç analizleri, diabetes mellitus tedavi ve takibinde kullanılan testler ve karaciğer fonksiyon testleri için kalite spesifikasyonlarını önerdiler. Hormon testleri ile ilgili kılavuz değerlendirme aşamasındadır ve ilginç olarak yeni kılavuza göre presizyon, bias ve kabul edilebilir toplam hata ile ilgili kalite spesifikasyonlarının diyabet ve karaciğer fonksiyonları kılavuzunda verildiği gibi, en iyi şekilde biyolojik varyasyondan elde edilebileceği belirtilmektedir.
- Avrupa'dan bir çalışma grubu, analitik sistemlerin presizyon ve bias'larının değerlendirilmesinde kullanılmak üzere, yine biyolojik varyasyon bileşenlerine dayanan kalite spesifikasyonları önerdiler.
- Avrupa'dan başka bir çalışma grubu rutin metotların validasyonu ve PT ve EQAS'da kullanılan materyallerin değerlerini belirlemede kullanılan referans metotlar için yine biyolojik varyasyon bileşenlerine dayanan kalite spesifikasyonları önerdiler.

Bu kalite spesifikasyonları, önerileri yapan kişilerin laboratuvar ve klinikteki önemli tecrübelerine dayanmaktadır ve ayrıca yayımlanmadan önce mevcut kanıtlara göre detaylı olarak tartışılmaktadır. Spesifikasyonların kullanıcıları da, karar vermek için kullanılan proseslerin objektifliğini değerlendirebilirler. Çünkü üzerinde uzlaşı sağlanan metotlar literatürde verilmektedir.

Bir Konsensüs Dokümanının Hazırlanmasındaki Basamaklar Kalite spesifikasyonları ile ilgili kılavuz hazırlamak için, uzman grupların tavsiyeleri kullanılarak önerilen bir stratejinin (tüm basamakların dâhil edilmesi gerekli değildir) yaklaşımı aşağıda verilmiştir:

- Profesyonel kuruluş gereksinimlere karar verir ve uzman panel ataması yapar.
- Uzman panel önerilerin kapsamına karar verir.
- Profesyonel kuruluş kapsamı kabul eder ve illeri çalışmalar için onay verir.

- Uzmanlar dokümanın bileşenlerini yazarlar.
- Dışarıdan bir grup doküman bileşenlerini değerlendirir.
- Dokümanlar karşılaştırılarak değerlendirilir (harmanlanır).
- Geri bildirimler için doküman bir konferansta (ve internet üzerinden) sunulur.
- Doküman modifiye edilir.
- Yeniden düzenlenmiş doküman dışarıdan bir grup tarafından tekrar değerlendirilir.
- Yeniden düzenlenmiş doküman incelenmek için internet üzerinden yayımlanır.
- Uygun görüşler değerlendirmeye alınır.
- Sonuç dokümanı hazırlanır.
- Sonuç dokümanı uygun bir dergide bir bütün olarak yayımlanır.
- Kısa bir tanıtım özeti geniş kitlelere ulaştırılmaya çalışılır.
- Doküman belirtilen bir zamanda değerlendirilir.

Yayımlanmış kılavuzlarda 'en iyi uygulama' veya 'iyi laboratuvar uygulaması' kılavuzları şeklinde önerilen kalite spesifikasyonlarının kullanımı daha az yaygındır. Bunlar genellikle yeterince tartışılmadan geliştirilen veya sadece bir konsensus konferansında sunulan kalite spesifikasyonlarıdır. Bunların, genellikle bir enstitü ya da kurumdan bir veya bir grup uzmanın bilgi ve tecrübelerine dayandığı için bazı yararları da vardır. Bununla birlikte bu kılavuzlar sübjektif olup ve genellikle kabul edilen modellere, yeni yaklaşımlara ve deneysel verilere dayanmamaktadır. Bu kalite spesifikasyonları ulusal ya da uluslararası uzman gruplar tarafından önerilen hiyerarşiden daha alt düzeyde bulunmaktadır.

Kalite spesifikasyonları çok farklı tiplerde sunulmaktadır. Bazıları presizyon, bias ve kabul edilebilir toplam hata için ayrı ayrı veriler sunarken, diğerleri bu karakteristiklerden sadece bir ya da ikisi için veriler sunmaktadır. Bu nedenle, uygulamadan önce önerilen kalite spesifikasyonlarının çok iyi okunması gerekir.

Ulusal Yönetmelikler ve Eksternal Kalite Değerlendirmeye Dayanan Kalite Spesifikasyonları Sadece birkaç ülkede, laboratuvarların kabul edilebilir olmalarını sağlamak veya akredite olmak ya da akredite olmuşsa mevcut durumlarını korumak için karşılaması gereken analitik performans standartlarını tanımladılar. ABD'nin CLIA'88 yönetmeliği özellikle yaygın çalışılan bazı analitler için presizyon ve bias'ın toplamı olan 'kabul edilebilir toplam hata'yı belirlemektedir. Bunların bir kısmı Tablo 2.2'de gösterilmiştir. Benzer

yönetmelik Almanya'da da bulunmaktadır. Fakat Almanya'nın benimsediği kalite spesifikasyonları ABD'den çok farklıdır. (Örneğin, Alman Federal kanununa göre 'presizyon (CV_A) < 1/12 referans aralık' olmalıdır).

Bu stratejinin avantajı, CLIA'88 kalite spesifikasyonlarının çok iyi bilinmesi, anlaşılması ve hatta Internet üzerinden yaygın olarak ulaşılabilir olmasıdır (www.westgard.com./clia.htm). Bununla birlikte, CLIA'88 kalite gereksinimlerinin nelerin kabul edilebilir olmasından ziyade nelerin ulaşılabilir olmasına dayanıyor gibi görünmesi önemli bir dezavantajdır. Dahası yönetmeliğin bulunması ve performans için 'kabul edilebilir' standartları belirlemesi, laboratuvarların diğer kalite spesifikasyonlarını kullanmak yerine bunlara ulaşmayı istenilen hedef olarak görmesine neden olabilir. Kalite planlaması ile ilgili çok yakın dönemdeki literatürlerde, modelin temeli olarak, kabul edilebilir toplam hata için CLIA'88'in belirlediği kalite spesifikasyonu kullanılmaktadır.

Dünya genelindeki çok sayıda farklı EQAS organizasyonu, kabul edilebilirliği ya da katılımcı laboratuvarlardan elde edilen performans kriterlerini değerlendirmek için farklı teknikler kullanmaktadır. Bazı ülkeler katılımcı laboratuvarlardan gelen verileri analiz ederek tüm grup ya da metotlar için ortalama değerler elde ederler. Daha sonra bu ortalamalara göre biası değerlendirirler ve elde edilen SD ya da CV değerlerini kullanarak genellikle 3 SD ya da 3 CV cinsinden kabul edilebilirlik için bir pencere oluştururlar. Bu uygulamanın önemli bir dezavantajı bulunmaktadır. Çünkü SD ya da CV mevcut metodoloji ve teknoloji ile yalnızca neyin başarılabileceğini göstermektedir.

Neyse ki, pek çok laboratuvar uzmanının kabul edilebilirlik kriteri olarak sabit sınırları kullandığı görülmektedir. Bunlar, CLIA'88 kriterleri gibi, genellikle kabul edilebilir toplam hata olarak ifade edilir. Kalite spesifikasyonu olarak EQAS sabit sınırlarını kullanmanın en önemli dezavantajı, çoğunlukla uzman görüşlerine dayanmasına rağmen bu sınırların daha çok ampirik olma eğilimi göstermesidir. Farklı ülkeler çok farklı sabit sınırlar kullanmaktadır. Bu durum sabit sınırların tamamen objektif olmadığı görüşünü desteklemektedir. Bunlar ayrıca 'state of the art' olarak da bilinen mevcut teknoloji ve metodoloji ile ulaşılabilen durumların fazlasıyla etkisi altındadır.

Bu zorluklara rağmen, PT ya da EQAS verileri ile desteklenen 'state of the art' kalite spesifikasyonu olarak geçmişte yaygın bir şekilde kabul görmüştür. Özellikle bu performans daha iyi laboratuvarlar tarafından başarıldığında, tipik olarak bunların en iyi %20'sinin performansı 'hedef' olarak alınmıştır. Burada temel olarak, eğer her beş laboratuvardan biri bu düzeydeki kaliteyi başarabiliyorsa, mevcut teknoloji ve metodolojiye sahip tüm laboratuvarların aynı düzey analitik performansa ulaşması esas alınmıştır.

Tablo 2.2 Kabul Edilebilir Performans İçin CLIA'88 Kalite Spesifikasyonlarından Örnekler

Analit	Kabul edilebilir performans
ALT	Hedef değer ± 20%
Albümin	Hedef değer ± 10%
ALP	Hedef değer ±30%
Amilaz	Hedef değer ± 30%
AST	Hedef değer ±20%
Bilirübin	Hedef değer ±0.4 mg/dL veya ± 20%
Kalsiyum	Hedef değer ± 1.0 mg/dL
Klor	Hedef değer ± 5%
Kolesterol	Hedef değer ±10%
HDL-Kolesterol	Hedef değer ± 30%
CK	Hedef değer ± 30%
Kreatinin	Hedef değer ± 0.3 mg/dL veya ± 15%
Glikoz	Hedef değer ± 6 mg/dL veya ±10%
Demir	Hedef değer ± 20%
LD	Hedef değer ± 20%
Magnezyum	Hedef değer ±25%
Potasyum	Hedef değer ± 0.5 mmol/L
Sodyim	Hedef değer ± 4 mmol/L
Total protein	Hedef değer ± 10%
Trigliserid	Hedef değer ± 25%
BUN (üre azotu)	Hedef değer ± 2 mg/dL veya ± 9%
Ürat	Hedef değer ± %17
Hematokrit	Hedef değer ± %6
Hemoglobin	Hedef değer ± %7
Lökosit sayımı	Hedef değer ± %6
Eritrosit sayımı	Hedef değer ± 15%
Trombosit sayımı	Hedef değer ±25%
Fibrinojen	Hedef değer ±20%
PIT	Hedef değer ±15%
PT	Hedef değer ±15%

Teknolojik Olarak Yapılabilirliğe Dayanan Kalite Spesifikasyonları Analitik olarak nelerin başarılabildiği ile ilgili veriler PT ve EQAS organizasyonlarından elde edilebilir. Kalite spesifikasyonu olarak eğer başka bir şey mevcut olmasaydı, genellikle elde edilebilen bu değerleri (state of the art olarak) kullanabilirdik. Bununla birlikte, katılımcı laboratuvarlara gönderilen numuneler, matriks etkisinden dolayı, tam anlamıyla hasta numuneleri gibi olmadığından bunların kullanılmasıyla elde edilen analitik performans gerçek anlamda 'yapılabilirliği' yansıtmayabilir. Buna ek olarak laboratuvar personeli performanslarını yüksek göstermek için bu numuneleri daha özenle ve

dikkatle işleme alabilirler. PT ve EQAS'a göre dokümante edilen 'yapılabilirlik' zamanla değişim gösterir (ve her zaman iyi yönde değil), ve ulaşılan performansın gerçek tıbbi gereksinimlerle ilişkisi olmayabilir.

Hakemli dergileri kapsayan literatürdeki orijinal makaleleri okuyarak 'yapılabilirlik' ile ilgili gereken bilgileri toplayabiliriz. Burada bir uyarıya dikkat etmemiz gerekir: Literatürdeki bilgilere dayanan performans kriterleri, günlük uygulamalardaki verilerden ziyade, (ideal koşullara yakın çalışmalardan dolayı) çalışmanın yapıldığı laboratuvarın en iyi verileri olabilir. Bir kez daha belirtmekte yarar vardır, analitik olarak ulaşılan performans kriterleri gerçek tıbbi gereksinimlerle ilişkili olmayabilir.

Nitekim bu yaklaşımlar hiyerarşide alt sıralarda görünmektedirler ve kuşkusuz biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonlarının altındadır.

BİYOLOJİK VARYASYONA DAYALI KALİTE SPESİFİKASYONLARI İÇİN STRATEJİLER

Laboratuvar tıbbında presizyon, bias ve kabul edilebilir toplam hata gibi kalite spesifikasyonlarına ulaşmak için kullanılan tüm stratejilerin avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Temel prensip olarak kalite spesifikasyonları şüphesiz, aşağıdaki niteliklere sahip olmalıdır:

- Tam olarak tıbbi gereksinimlere dayanmalıdır.
- Büyüklük, tip ve yerleşim yerinden bağımsız olarak tüm laboratuvarlar tarafından kullanılabilir olmalıdır.
- Anlaşılması ve elde edilmesi kolay olmalıdır ve
- Sahadaki profesyonel kullanıcılar için inandırıcı olmalı ve yaygın kabul görmelidir.

Biyolojiye dayalı kalite spesifikasyonları bu kriterleri karşılıyor gibi görünmektedir ve bu bölümde detaylı olarak incelenecektir.

Klinik Laboratuvarların Test Sonuçlarının Kullanılması Laboratuvarların test sonuçları pek çok amaç için kullanılmaktadır. Biz bu sonuçları eğitim, öğretim, araştırma, temel ve uygulamalı tüm projelerin geliştirilmesi için kullanıyoruz. Ayrıca test sonuçlarını klinik olarak, birbirinden oldukça farklı dört durum için de kullanıyoruz:

Tanı, semptomları inceleyerek hastalıkların varlığını belirlemektir. Doğru tanı genellikle çok farklı klinik laboratuvar testlerini yaptırmayı gerektirir.

Olgu Bulma Sağlık merkezine başvuran bireylerin sundukları ve genellikle çok sayıda laboratuvar testini kapsayan bir panelin incelenmesiyle hastalığın ortaya çıkarılması performansıdır.

Tarama görünürde sağlıklı olan bir bireye uygulandığında fark edilmeyen bir hastalık ya da bozukluğun ortaya çıkarılmasıdır.

Takip laboratuvar test sonuçlarının zamanla takip edilip değerlendirilmesidir. Takip süreci kısa (örneğin, akut bir hastalığın hastanede tedavi edilen bölümü); orta (örneğin, nüksetme durumunu değerlendirmek için tümör belirteçlerinin ölçümü); veya uzun dönem (örneğin, Diabetes Melitus'ta glisemik kontrolün takip edilmesi) olabilir.

Presizyon ve bias için önerilen kalite spesifikasyonları bu klinik hedeflerin ulaşılabilir olduğunu garanti etmelidir. Eğer biz presizyon ve bias için ayrı ayrı kalite spesifikasyonlarını geliştirebilirsek, kabul edilebilir toplam hata için spesifikasyonları hesaplamak kolay olacaktır.

Presizyon İçin Kalite Spesifikasyonları: Toplam Varyasyonun Hesaplanması Rastgele varyasyon ya da presizyon, öngörülen koşullar altında yapılan ölçümlerin birbirlerinden bağımsız sonuçları arasındaki yakınlık ölçüsü olarak tanımlanabilir. Pratik olarak, iç kalite kontrol programındaki bir numunenin tekrarlanan ölçümleriyle presizyon hesaplanabilir.

'Presizyon ne kadar düşük olmalı' (Kitapta her ne kadar presizyon ifadesi kullanılmışsa da bunun bazen impresizyon olması gerektiğinin bilinmesi gerekir. Ç.N) sorusuna cevap verebilmek için 'presizyonun test sonuçlarına ve klinik karar vermeye etkisi ne kadardır' sorusunu sormamız gerekir.

Bu durumu sayısal olarak tespit etmeden önce, toplam varyasyonu daha objektif ve matematiksel olarak hesaplamanın yolunu bulmak zorundayız. Bu bağlamda konuyla ilgili iki genel formül bulunmaktadır:

Birincisi, eğer test sonuçları toplama ya da çıkarma işlemiyle hesaplanıyorsa, toplam varyans, standart varyasyon cinsinden varyansların toplamına eşittir. Yani

Eğer C = A + B veya C = A – B ise ve A ve B'nin ölçümleriyle elde edilen analitik presizyonlar sırasıyla SD_A ve SD_B ise,

$SD_C^2 = SD_A^2 + SD_B^2$ böylece $SD_C = (SD_A^2 + SD_B^2)^{1/2}$.

'Anyon açığı'nın hesaplanması iyi bir örnek olacaktır.

Anyon Açığı = (Sodyum + Potasyum) – (Klorür + Bikarbonat)

Şimdi eğer yapılan ölçümlerde sodyum, potasyum, klorür ve bikarbonatın SD değerleri sırasıyla 1.0mmol/L, 0.1 mmol/L, 1.0 mmol/L ve 0.5 mmol/L olarak hesaplanmışsa anyon açığının SD değeri

$(1.0^2 + 0.1^2 + 1.0^2 + 0.5^2)^{1/2} = (1.00 + 0.01 + 1.00 + 0.25)^{1/2} = 2.26^{1/2} = 1.50$

Denklemin SD değerinin her zaman bileşenlerin SD değerinden daha yüksek olduğunun bilinmesi gerekir. Fakat bu değer bileşenlerin SD değerlerinin

aritmetik olarak birbirlerine eklenmesiyle elde edilmez. Toplama işleminin mutlaka varyanslar cinsinden (SD^2, Ç.N) yapılması gerekir.

Tüm bileşenlerin ortalaması aynı olduğunda - bu çok önemli bir koşuldur – ancak o zaman yukarıdaki formülde SD yerine CV kullanılabilir.

İkincisi, eğer sonuçlar çarpma ya da bölme işlemiyle hesaplanıyorsa toplam varyans yine varyansların toplamına eşittir fakat bu işlem CV cinsinden yapılmalıdır. Yani,

Eğer C = A x B ya da eğer C = A/B, ve yapılan ölçümlerde A ve B'nin analitik presizyonu sırasıyla CV_A ve CV_B ise,

$CV_C^2 = CV_A^2 + CV_B^2$ ve böylece CV_C $(CV_A^2 + CV_B^2)^{1/2}$ elde edilir.

1. Bölüm'de detaylı olarak açıkladığımız gibi, klinik laboratuvarlarda analiz edilen tüm analitler aşağıdaki nedenlerden dolayı doğal olarak değişim gösterirler:

- Preanalitik varyasyon
- Analitik varyasyon ve
- Bireysel biyolojik varyasyon

Tüm bu değişimler (varyasyonlar) rastgeledir (random). Bu nedenle Gaussian dağılıma uyduğunu varsayabiliriz. Daha önce gördüğümüz gibi Gaussian dağılımın genişliği (yaygınlığı) standart sapma (SD) cinsinden tanımlanabilir. Bu aşamada, analizi mümkün olduğunca basite indirgemek için, preanalitik varyasyonun ihmal edilebilir olduğunu varsayacağız ve bunun nasıl sağlanacağını da 3. Bölüm'de detaylı olarak açıklayacağız.

Eğer analitik ve bireysel biyolojik varyasyon sırasıyla SD_A ve SD_I olarak alınırsa, toplam varyasyon (SD_T) aşağıda verildiği gibi hesaplanabilir:

$SD_T^2 = SD_A^2 + SD_I^2$ veya $SD_T = (SD_A^2 + SD_I^2)^{1/2}$

Eğer CV_A değerini CV_I düzeyinde bulursak, bu durumda ortalamalar aynı olacaktır ve toplam varyasyon aşağıda verildiği gibi hesaplanabilir:

$CV_T^2 = CV_A^2 + CV_I^2$

veya

$CV_T = (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$

Presizyonun Test Sonuçlarındaki Değişime Etkisi Analiz sonuçlarımızı tek bir sayı olarak rapor ediyoruz fakat her bir sayıda doğal bir varyasyon bulunmaktadır. Eğer preanalitik varyasyonu ihmal edecek olursak test sonuçlarındaki varyasyonun bireysel biyolojik varyasyon ve rastgele analitik varyasyon ve biastaki değişimlerden (örneğin kalibrasyon değişimlerinden dolayı) kaynaklandığını söyleyebiliriz. Rastgele varyasyonu presizyon içinde değerlendiriyoruz ve biasında mümkün olduğunca küçük olmasına gayret ediyoruz.

Nitekim, bireysel biyolojik varyasyonun sabit olduğunu kabul edebiliriz ve biyolojik 'sinyal'e eklenen analitik 'gürültü'nün sadece analitik presizyondan kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Presizyondaki değişimin test sonuçlarındaki doğal varyasyona katkısını hesaplayabiliriz. Aşağıdaki denklemi daha önce görmüştük:

$CV_T = (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$

Eğer analitik varyasyonun büyüklüğü tam olarak bireysel biyolojik varyasyon kadar ise, başka bir ifade ile sinyal ve gürültü büyüklük olarak birbirlerine eşit ise $CV_A = CV_I$ olacak ve yukarıdaki denklem yeniden düzenlenecek olursa

$CV_T = (CV_I^2 + CV_I^2)^{1/2} = (2CV_I^2)^{1/2} = 1.414\ CV_I$ elde edilir. Buna göre test sonuçlarındaki asıl varyasyon (biyolojik nedenlerden dolayı) analitik varyasyondan dolayı %41.4 kadar artmıştır. Gerçek test sonuçlarındaki değişkenlik analizden dolayı %41.4 kadar artmıştır.

Benzer şekilde, eğer presizyon bireysel biyolojik varyasyonun iki katı kadar olmuş olsaydı bu durumda

$CV_A = 2CV_I$ olacaktı ve

$CV_T = [(2CV_I)^2 + CV_I^2]^{1/2} = (4CV_I^2 + CV_I^2)^{1/2} = (5CV_I^2)^{1/2} = 2.236\ CV_I$

Elde ettiğimiz sonuca göre test sonuçlarındaki asıl varyasyon (biyolojik nedenlerden kaynaklı) analitik varyasyondan dolayı %123,6 kadar artmıştır. Yani gerçek test sonuçlarındaki değişkenlik analizden dolayı %123,6 kadar artmıştır.

Diğer yandan eğer presizyon bireysel biyolojik varyasyonun sadece yarısı kadar olsaydı, bu durumda

$CV_A = ½\ CV_I$ ve

$CV_T = [(1/2CV_I)^2 + CV_I^2]^{1/2} = (1/4CV_I^2 + CV_I^2)^{1/2} = (5/4CV_I^2)^{1/2} = 1.118\ CV_I$

Daha önceki değerlendirmelere benzer şekilde, elde edilen bu sonuca göre test sonuçlarındaki asıl varyasyon (biyolojik nedenlerden kaynaklı) analitik varyasyondan dolayı %11.8 kadar artmıştır. Gerçek test sonuçlarındaki değişkenlik analizden dolayı %11.8 kadar artmıştır.

Benzer hesaplamaları çok geniş bir aralıktaki presizyon değerleri için yaparak gerçek test sonuçlarındaki değişkenliğin ne kadar arttığını inceleyebiliriz. Bu değerler Tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Gerçek test sonuçlarındaki değişkenliğe eklenen varyasyon miktarı ile CV_A/CV_I oranı arasındaki ilişki doğrusal değildir. Presizyon arttığında, biyolojik 'sinyal'e eklenen analitik 'gürültü' nispeten daha fazla artmaktadır. Özellikle presizyon sayısal olarak bireysel biyolojik varyasyondan daha büyük olduğunda bu artışın daha belirgin olduğunun unutulmaması gerekir.

Presizyonun Kolesterol Sonuçlarındaki Varyasyona Etkisi Presizyonun artması (burada kast edilen impresizyondur. Ç.N) – yani test performansının bozulması – test sonuçlarındaki değişkenlik miktarını artırmaktadır. Şimdi yukarıda teorik olarak ele aldığımız konuyu klinik bağlamda değerlendirelim.

Hipertansiyonu olan 63-yaşındaki hastamızın (daha önceki olgumuz) serum kolesterol düzeyi 6.60 mmol/L'dir. Kolesterolün bireysel biyolojik varyasyonunun %6.0 olduğunu biliyoruz. Böylece hastanın serum kolesterolündeki doğal varyasyonun CV cinsinden %6.0 veya SD cinsinden de 0.40 mmol/L olduğunu söyleyebiliriz.

Gaussian dağılımın özelliklerinden aşağıda verilenlerin doğru olduğunu biliyoruz, yani:

- Ortalama ± 1 SD sonuçların %68.3'ünü kapsar
- Ortalama ± 2 SD sonuçların %95.5'ini kapsar ve
- Ortalama ± 3 SD sonuçların %99.7'sini kapsar

Sadece biyolojik perspektiften değerlendirdiğimizde,

- %68.3 olasılıkla veriler 6.6 ± 0.40mmol/L = 6.20 - 7.00 mmol/L aralığında bulunmaktadır
- %95.5 olasılıkla veriler 6.6 ± 0.80 mmol/L = 5.80 -7.40 mmol/L aralığında bulunmaktadır
- %99.7 olasılıkla veriler 6.6 ± 1.20 mmol/L = 5.40 -7.80 mmol/L aralığında bulunmaktadır

Tablo 2.3 Bireysel Biyolojik Varyasyonla Karşılaştırıldığında Presizyonun Artmasıyla Gerçek Test Değişkenliğine Eklenen Varyasyon Miktarı

Presizyonun Bireysel Varyasyona Oranı (CVA/CVi)	Gerçek test sonucunun varyasyonuna eklenen varyasyon (gerçek varyasyon yüzdesi olarak)
0.25	3.1
0.50	11.8
0.75	25.0
1.00	41.4
1.50	80.3
1.73	100.0
2.00	123.6
2.50	129.3
3.00	216.2
4.00	312.3
5.00	409.9

ABD'deki Ulusal Kolesterol Eğitim Programı'nda önerildiği gibi eğer analitik presizyon %3 olsaydı, o zaman toplam varyasyon

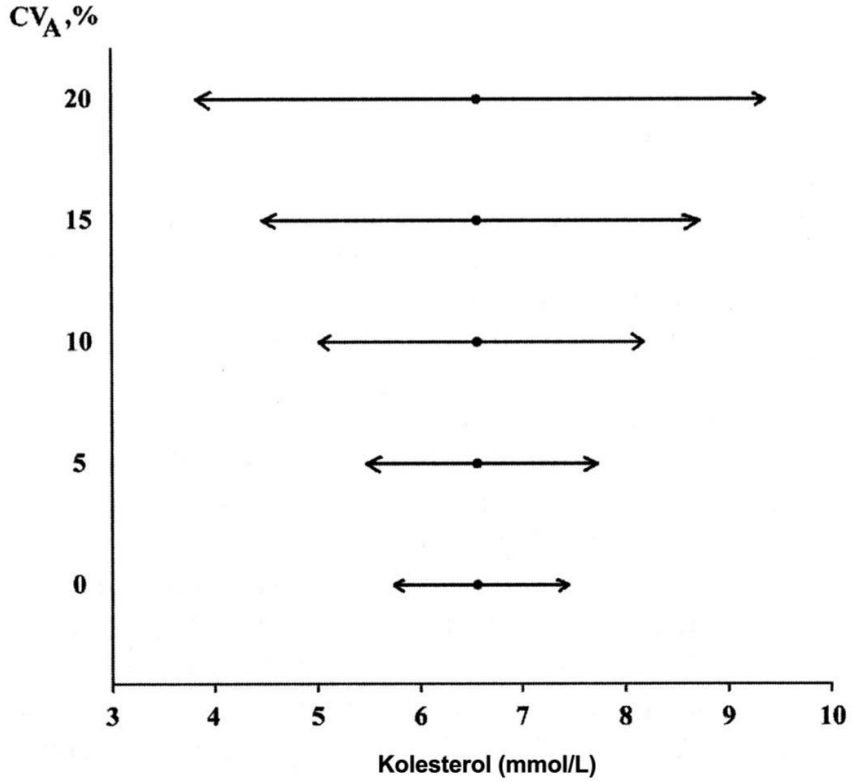
$CV_T = (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2} = (6^2+3^2)^{1/2} = \%6.7$ olacaktı.

Bu durumda

%95.5 olasılıkla kolesterol 6.6 ± 0.88 mmol/L = 5.72 - 7.48 mmol/L aralığında bulunacaktır.

Eğer presizyon %5 ise %95.5 olasılıkla kolesterol 6.60 ± 1.03 mmol/L = 5.57 - 7.63 mmol/L aralığında bulunacaktır.

Eğer presizyon %10 ise %95.5 olasılıkla kolesterol 6.60 ± 1.54 mmol/L = 5.06–8.14 mmol/L aralığında bulunacaktır.



Şekil 2.5 6.60 mmol/L konsantrasyonundaki serum kolesterolünün analitik presizyonun farklı düzeylerindeki dağılımı (%95.5 olasılıkla).

Tek bir kolesterol sonucunun artan presizyonla birlikte %95.5 olasılıkla bulunabileceği bölge (dağılım aralığı) Şekil 2.5'de gösterilmiştir. Bozulan presizyonun test sonuçlarına etkisinin doğrusal olmadığını (non-lineer) tekrar hatırlatmakta yarar vardır. Şekil 2.5 kenarları doğrusal olan ikizkenar bir üçgen değildir. Kenarlar merkeze doğru içbükeydirler. Presizyonun giderek kötüleşmesi, dağılımın da giderek büyümesine neden olur.

Bir bireyin seri ölçümü yapılan test sonuçlarındaki zamanla değişiminin preanalitik, analitik (presizyon ve biastaki değişim) ve bireysel biyolojik varyasyondan kaynaklandığını daha önce belirtmiştik. Bu nedenle, bir noktanın tekrar belirtilmesinde yara vardır: Hatalar birbirlerine eklenerek arttığından, düşük presizyon bireylerin zaman içindeki test sonuçlarının takibini zorlaştırmaktadır. Çünkü ölçülen büyük değişimlerin nedeni, gerçekten iyileşme ya da bozulmadan ziyade basitçe analitik varyasyondan kaynaklanabilir. Klinik 'sinyal' analitik 'gürültü' tarafından boğulmaktadır (maskelenmektedir). Bireylerin seri ölçülen sonuçlarının yorumuna presizyonun gerçek etkisi 3. Bölüm'de detaylı olarak ele alınacaktır.

Popülasyona bağlı referans değerler (4. Bölüm'de detaylı olarak anlatılacaktır) test sonuçlarının yorumlanmasına yardımcı olmak için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Referans aralıklar referans bireylerden alına numunelerin ölçülen sonuçlarından hesaplanmaktadır. Bu sonuçların her birinde analitik varyasyondan kaynaklanan bir varyasyon bileşeni vardır. Presizyonu zayıf olan bir metodun kullanılmasıyla elde edilen referans aralığın, presizyonu iyi olan bir metodun kullanılmasıyla elde edebilecek değerlere göre daha geniş olacağını kolaylıkla söyleyebiliriz. Bireylerin test sonuçları sıklıkla yanlış değerlendirileceğinden ve yanlış tanı konulabileceğinden analitik varyasyondan dolayı daha geniş olan referans aralıklarının klinik yararı da daha düşük olacaktır.

Presizyon İçin Biyolojik Varyasyona Dayalı Kalite Spesifikasyonları Düşük presizyon (burada kast edilen impresizyondur. Ç.N). tüm bireylerin test sonuçlarındaki değişkenliği azaltmaktadır. (Düşük presizyonun, bir bireyin seri ölçüm sonuçlarındaki değişimin anlamlı olma olasılığını nasıl artırdığını ve popülasyona dayalı referans aralıklarının nasıl daha dar olmasına neden olduğunu ve daha iyi tanısal doğruluk sağladığını daha sonra açıklamaya çalışacağız).

Eğer presizyonun düşük olduğunu biliyorsak her bir analitik çalışma için daha az iç kalite kontrol numunesini kullanacağız ve/veya fazla sıkı olmayan kalite kontrol kurallarını uygulayacağız. Hataları yakalama olasılığını artırıp sonuçları yanlışlıkla reddetme olasılığını da azaltacağız. Kalite planlama için bu önemli bir kavramdır.

Fakat çok önemli olan soru durmaktadır: Ne kadar düşük yeterince iyidir? Presizyonun (impresizyon Ç.N) artmasının test sonuçlarındaki değişkenliğe eklenen değişkenlik miktarını artırdığını biliyoruz. CV_A'nın artmasıyla

birlikte eklenen varyasyonun arttığını ve bu artışın basitçe doğrusal olmadığını detaylı olarak hesapladık.

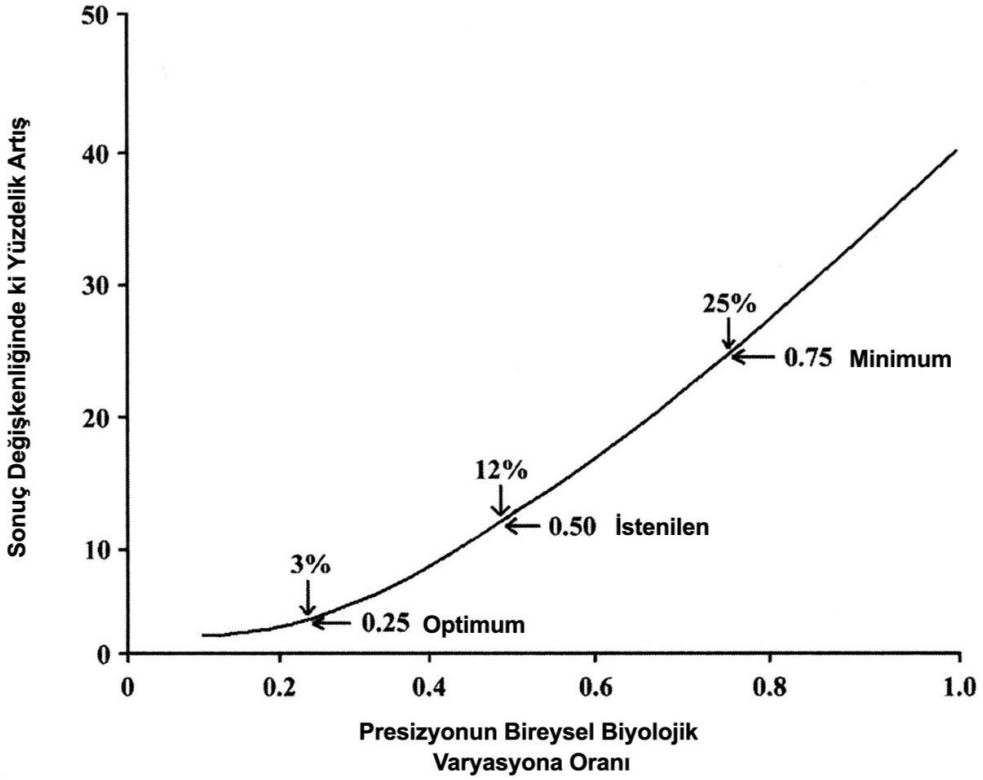
Analitik varyasyonun ortalama bireysel biyolojik varyasyonun yarısından daha düşük olmasının gerekli olduğu kavramı yeni olmayıp 30 yıl kadar önce (45 yıl önce. Ç.N.) geliştirilmiştir. Eğer analitik varyasyon ortalama bireysel biyolojik varyasyonun yarsından daha düşük ise gerçek test sonuçlarındaki değişkenliğe eklenen varyasyonun yaklaşık %10 olduğunu zaten hesaplamıştık. Sadece %10 analitik 'gürültü' gerçek biyolojik 'sinyal'e eklenir. Analitik değişkenlik olarak eklenen bu miktar makul görünmektedir (bunun daha çok ampirik bir değerlendirme olduğunun kabul edilmesine rağmen) ve ayrıca presizyon için en iyi kalite spesifikasyonunun presizyon < bireysel biyolojik varyasyonun yarısı, ya da

$CV_A < 0.50\ CV_I$ olması gerektiği varsaymamıza neden olmaktadır.

Bu model kalite spesifikasyonunun hiyerarşisinde çok üst sıralarda bulunmaktadır (ikinci sırada). Analizin etkisinin klinik karar vermeye etkisi birinci sırada bulunmaktadır. Klinik sonuçlara göre yapılan yaklaşımların değerlendirilmesindeki pek çok zorluk dikkate alındığında biyolojik varyasyonun bileşenlerine dayalı kalite spesifikasyonunun çok tercih edildiği ve uzun yıllardır kullanılmakta olduğu görülmektedir. Biyolojik varyasyon bileşenlerinin değerleri sabit olup coğrafik bölgelerden de bağımsız olduğu için bunların kalite spesifikasyonunda kullanılması tercih edilmektedir. Buna ek olarak, ortalama bireysel biyolojik varyasyon verilerinin kolaylıkla bulunabilmesi de kalite spesifikasyonlarının hesaplanmasını kolaylaştırmaktadır. Dahası, ulusal ya da uluslararası kılavuzlarda önerilen pek çok kalite spesifikasyonu da – hiyerarşide 3. sırada – biyolojik varyasyona dayanmaktadır.

Temel bakış açısı daha da genişlemiştir: Bireysel biyolojik varyasyona kıyasla analitik presizyonun artması test sonuçlarındaki değişkenliği artırmaktadır. Aşağıda belirtilen basit hesaplamaları daha önce yapmıştık. Buna göre:

- $CV_A < 0.75\ CV_I$ olduğu zaman, test sonuçlarındaki değişkenliğe en çok %25 değişkenlik eklenir.
- $CV_A < 0.50\ CV_I$ olduğu zaman, %12 den fazla değişkenlik eklenmez.
- $CV_A < 0.25\ CV_I$ olduğu zaman, maksimum %3 değişkenlik eklenir.



Şekil 2.6 Presizyon için kalite spesifikasyonu. Test sonuçlarındaki değişkenliğe eklenen miktarın, presizyonun bireysel biyolojik varyasyona oranının bir fonksiyonu olarak göstermektedir (Fraser CG, et al. Proposals for setting general applicable quality goals solely based on biology. Ann Clin Biochem 1997;34:8-12. Yazarın izniyle alıntı yapılmış olup uyarlanmıştır).

Şekil 2.6'da gösterildiği gibi aşağıda belirtilen öneriler yapılabilir.

- *Arzu edilen performans* için $CV_A < 0.50\ CV_I$ olarak tanımlanır. Bu formül kullanılarak geliştirilen kalite spesifikasyonlarının genel olarak kabul edilebilir olduğu görülmelidir. Bu formülde benimsenen biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonları yaklaşımı orijinal olup yaygın kabul görmekte ve sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonları çok 'zayıf' ya da çok 'sıkı' olan analitler için aşağıdaki modifikasyonlar yapılabilir:
- *Optimum performans* için $CV_A < 0.25\ CV_I$ olarak tanımlanabilir. Bu formül kullanılarak geliştirilen ve daha sıkı olan kalite spesifikasyonu, mevcut teknoloji ve metodoloji ile istenilen performansın kolayca elde edilebileceği testler için kullanılmalıdır.
- *Minimum performans* için $CV_A < 0.75\ CV_I$ olarak tanımlanabilir. Bu formül kullanılarak geliştirilen ve daha zayıf görünen kalite spesifikasyonu,

mevcut teknoloji ve metodoloji ile istenilen performansın kolayca elde edilmediği testler için kullanılmalıdır.

Çok sayıda farklı analitin presizyonu için arzu edilen kalite spesifikasyonları Ek 2'de gösterilmiştir. Ek 1'de gösterildiği gibi, gerek görüldüğünde, bunların biyolojik varyasyonu presizyon için optimum ve minimum kalite spesifikasyonlarının hesaplanmasında kullanılabilir.

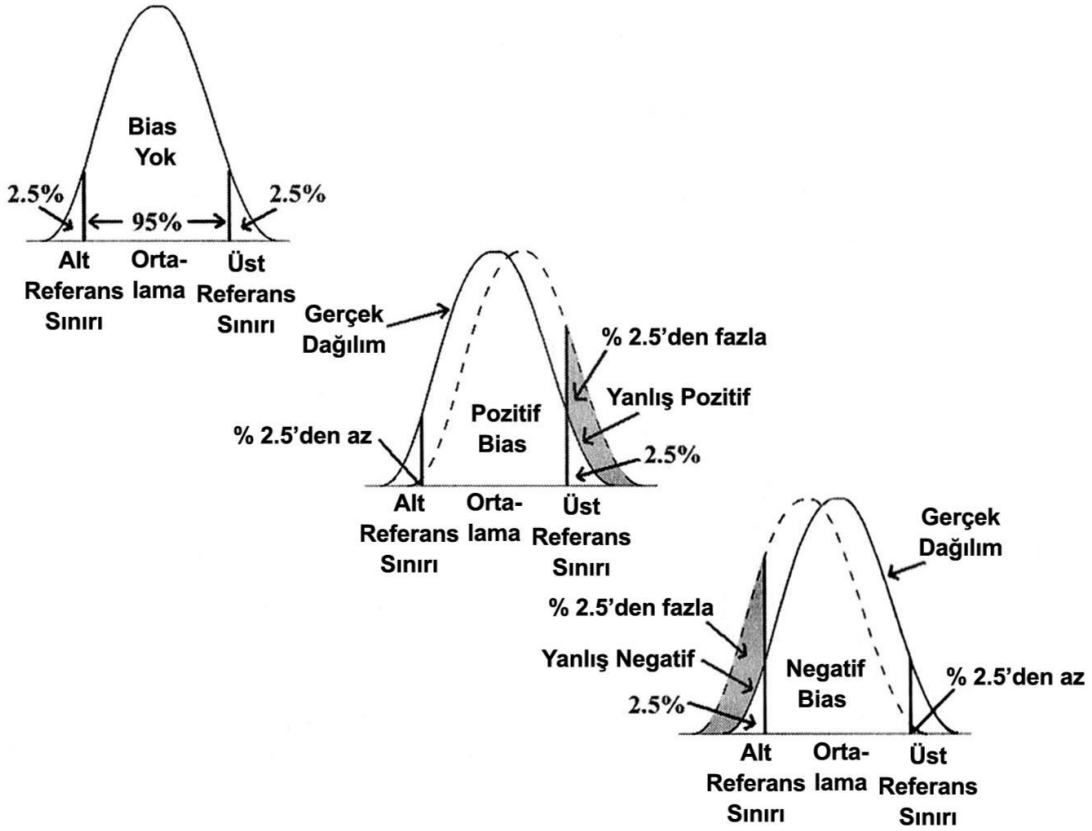
Performansın Referans Değerlere Etkisi Referans aralığının genişliğinin analitik prosedürün presizyonuna bağlı olduğunu açıkça söyleyebiliriz. Daha önce gördüğümüz gibi, presizyon ne kadar kötü olursa aralık o kadar geniş olacaktır. Daha önce gösterdiğimiz gibi varyansları ekleyerek bunu kolayca hesaplayabiliriz.

Bununla birlikte bias daha önemlidir. Referans sınırlar analitik biasa çok bağlıdır. Bu durum Şekil 2.7'de gösterilmiştir.

Şeklin en üst kısmında bulunan diyagram hatasız bir Gaussian dağılımı göstermektedir. Tanım olarak – ve mevcut uygulamada – popülasyon değerlerinin %95'lik kısmının referans aralığında bulunacağından emin olunacak şekilde referans sınırlar belirlenir. Böylece, grubun %2.5 kısmı referans aralığın üst sınırından daha büyük değerlere sahip olacak ve benzer şekilde %2.5 kısmı da referans aralığın alt sınırından daha küçük değerlere sahip olacaktır.

Şimdi eğer bir metodun pozitif yönde bias'ı varsa, şeklin orta diyagramında gösterildiği gibi eğri sağa doğru kayacaktır. Bu durumda grubun %2.5'den büyük bir kısmının değerleri referans aralığın üst sınırından daha büyük olacaktır. Referans aralığın alt sınırından daha küçük değerlere sahip olanlar da %2.5'den daha az olacaktır. Eğri çan şeklinde olduğu için, referans üst sınırını geçen %2.5 bölgesindeki artışın, referans alt sınırını geçen %2.5 bölgesindeki azalıştan daha fazla olacağı unutulmamalıdır.

Pozitif biasın etkileri hakkında göz önünde bulundurulması gereken önemli bir konu da klinik yanlış pozitiflerin sayısının klinik yanlış negatiflerin sayısından daha fazla olacağıdır. Buradan çıkarılacak önemli sonuç, %5'den fazla kişi hasta olarak tanımlanacaktır. %5'den (uygun görülen oran) daha fazla değerler referans aralığın dışında bulunacaktır.



Şekil 2.7 Bias'ın referans değerlere etkisi

Benzer şekilde, eğer bir metodun negatif bias'ı varsa, alt diyagramda gösterildiği gibi eğri sola kayacaktır. Bu durumda, grubun %2.5'den daha büyük bir kısmı alt referans sınırından daha düşük değerlere sahip olacaktır. Grubun %2.5'den daha az bir kısmının değerleri üst referans sınırından yüksek olacaktır. Şu noktanın tekrar belirtilmesinde yarar vardır: dağılımın çan şeklinde olmasından dolayı alt referans sınırının altında bulunan %2.5 bölgesindeki artış, üst referans sınırının üstünde bulunan %2.5 bölgesindeki azalmadan daha fazla olacaktır.

Negatif bias'ın etkisini düşünmenin diğer bir yolu da referans aralığın üst sınırını aşan hatalı test sayılarından daha çok hatalı sonucun alt referans sınırının altında bulunacağıdır. Popülasyonun %5'inden fazlası anormal değerlere sahip olacaktır - istenilen %5 değerinden daha fazla birey referans aralığı dışında kalacaktır.

Biyolojik Varyasyona Dayalı Bias İçin Kalite Spesifikasyonları Pozitif bir bias üst referans sınırının üstünde kalanların yüzdesini artırırken, alt referans sınırının altında kalanların yüzdesinde azalmaya neden olmaktadır. Negatif bir bias aynı etkiye sahip olacaktır fakat ters yöndeki referans sınırlarında bu etki görülecektir. Gaussian dağılımın matematiği dikkate alındığında, bias'ın varlığında her bir referans sınırının dışında kaç kişinin bulunacağını hesaplayabiliriz.

Tıbbi açıdan değerlendirdiğimizde temel konsept, homojen bir popülasyonun olduğu bölgelerde aynı referans aralıklarının kullanılması gerekliliğidir. Yani hastaların her farklı hastane ziyaretlerinde, testlerinin gereksiz yere tekrarlanmaması için laboratuvar verileri laboratuvarlar arasında transfer edilebilmelidir. Hatta farklı laboratuvarları kullanan farklı hekimlere giden hastaların laboratuvar sonuçları, eğer bias çok küçük ise, karşılaştırılabilir olmalıdır. Buna ilaveten ideal olanı, laboratuvarlar kullandıkları analitik sistemleri ya da metotları değiştirdiklerinde, mevcut referans aralıklarını (ki bunların elde edilebilmesi için zaman, efor ve kaynak harcanması gerekir) değişiklik yapmadan kullanabilmelidir.

Fakat referans aralıklarının farklı bölgelerde ve zamanlarda transfer edilebilmesi için ne kadarlık biası kabul etmeliyiz?

Referans aralığı bireysel biyolojik varyasyon (CV_I) ve bireyler arası biyolojik varyasyondan (CV_G) oluşur ve eğer analitik presizyonun ihmal edilebileceği düşünülüyorsa 'grup' biyolojik varyasyonu varyansların basitçe toplanmasıyla $(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ hesaplanabilir. Bileşenlerin ortalama değerleri aynı olduğu için bu formülde (SD yerine Ç.N.) CV kullanabileceğimizi tekrar hatırlatalım.

Aynı referans değerlerini kullanabilmemiz için, analitik bias'ın grup biyolojik varyasyon değerinin dörtte birinden daha düşük olması gerekir veya

$B_A < 0.250\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

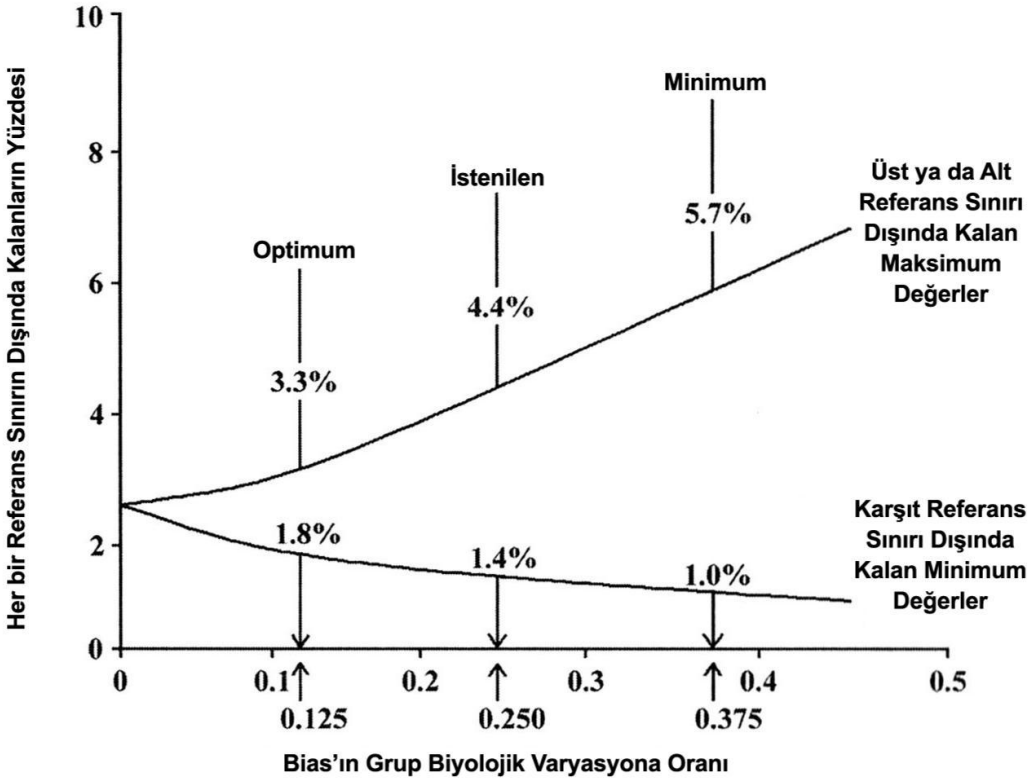
Analitik bias için $B_A < 0.250\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ olduğu zaman %1.4'ün bir referans sınırının dışında ve %4.4'ün de diğer referans sınırı dışında bulunduğunu hesaplayabiliriz. Bu nedenle %5 olarak tanımlanan referans aralığın dışında bulunma oranına, grubun %1'den daha düşük (%0.8) bir kısmı eklenecektir. Referans aralığı dışında bulunan bireylerin sayısında 0.8/5.0 = %16 gibi bir artış olacaktır. Arzu edilen presizyon değeri için uygun görülen kalite spesifikasyonlarına benzer şekilde bu oran genel bir kalite spesifikasyonu için 'makul' görülebilir.

Analitik bias için $B_A < 0.375\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ olduğu zaman %1.0'in bir referans sınırının dışında ve %5.7'nin de diğer referans sınırının dışında bulunduğunu hesaplayabiliriz. Bu nedenle arzu edilen %5 değerine ek olarak, grubun yaklaşık olarak %1.7'si de referans aralığı dışında bulunacaktır (Referans aralığı dışında bulunan bireylerin sayısındaki artış 1.7/5.0 = %34 olacaktır).

Analitik bias için $B_A < 0.125(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ olduğu zaman %1.8'in bir referans sınırının dışında ve %3.3'ün de diğer referans sınırının dışında bulunduğunu hesaplayabiliriz. Bu nedenle arzu edilen %5 değerine ek olarak, grubun yaklaşık olarak %0.1'i de referans aralığı dışında bulunacaktır (Referans aralığı dışında bulunan bireylerin sayısındaki artış 0.1/5.0 = %2 olacaktır).

Tüm bunlardan şu sonucu çıkarabiliriz. Şekil 2.8'de gösterildiği gibi, tam da presizyon gibi üç düzeyli kalite spesifikasyonuna sahip olmalıyız.

- Arzu edilen performans için $B_A < 0.250\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ olmalıdır. Bu formül kullanılarak geliştirilen kalite spesifikasyonlarının genel olarak uygulanabilir olduğunu söyleyebiliriz. Biyolojik varyasyona dayalı bu kalite spesifikasyonu özgün olup, yaygın kabul görmekte ve sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak, genel kalite spesifikasyonlarının çok 'zayıf' ya da çok 'sıkı' olduğu analitler için aşağıdaki formülleri önerebiliriz.
- Optimum performans için $B_A < 0.125\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ olmalıdır. Bu formülde elde edilen, daha sıkı kalite spesifikasyonları, arzu edilen performans standartlarının mevcut teknoloji ve metodoloji ile kolaylıkla elde edilebildiği testlere uygulanmalıdır.
- Minimum performans için $B_A < 0.375\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ olmalıdır. Bu formülde elde edilen kalite spesifikasyonu daha zayıf olup, mevcut teknoloji ve metodoloji ile arzu edilen performans standardına ulaşılamayan analitler için kullanılmalıdır.



Şekil 2.8. Bias için kalite spesifikasyonu. Referans sınırlarının dışında kalan popülasyonun yüzdesi, biasın grup biyolojik varyasyonuna oranının bir fonksiyonu olarak gösterilmiştir. (Fraser CG, et al. Proposals for setting general applicable quality goals solely based on biology. Ann Clin Biochem 1997;34:8-12. Yazarın izniyle alıntı yapılmış olup uyarlanmıştır).

Çok sayıda farklı analit için arzu edilen kalite spesifikasyonları Ek 2'de verilmiştir. Ek 1'de verilen bu testlerin biyolojik varyasyon değerleri, bias için gerekli ve uygun olduğunda optimum ve minimum kalite spesifikasyonlarının hesaplanmasında kullanılabilir.

Toplam Kabul Edilebilir Hata İçin Kalite Spesifikasyonları Kalite spesifikasyonlarının en iyi şekilde biyolojik varyasyona dayalı verilerden elde edilebileceği yaygın kabul görmektedir. Biyolojik varyasyon genel hiyerarşide ikinci sırada bulunmaktadır. Arzu edilen kalite spesifikasyonu aşağıdaki formüllerden hesaplanabilir:

$CV_A < 0.50\ CV_I$

$B_A < 0.250\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

Bu iki denklemden toplam kabul edilebilir hata için (daha önce elde edilen formül kullanılarak) arzu edilen kalite spesifikasyonu aşağıda gösterildiği gibi hesaplanabilir.

$TEa < 1.65\ (0.50\ CV_I) + 0.250\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

'Üç aşamalı model' serum kalsiyum ve sodyum metotları örneğinde olduğu gibi, mevcut metodoloji ve teknoloji ile genel kalite spesifikasyonlarının elde edilemediği analitler için hesaplamanın yapılmasına olanak vermektedir. Bu zor analitler için

$CV_A < 0.75\ CV_I$

$B_A < 0.375\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

Buna göre toplam kabul edilebilir hata için minimum kalite spesifikasyonu aşağıdaki formülde gösterildiği gibi hesaplanabilir:

$TEa < 1.65\ (0.75\ CV_I) + 0.375\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

Örneğin klorür için CV_I = %1.2 ve CV_G = %1.5'dir. Buna göre arzu edilen kalite spesifikasyonları aşağıda hesaplandığı gibi elde edilebilir.

$CV_A < 0.50\ CV_I$ = %0.6

$B_A < 0.250\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} = 0.250\ (1.2^2 + 1.5^2)^{1/2}$ = %0.5 ve

$TEa < 1.65\ (0.50\ CV_I) + 0.250\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} = 1.65\ (0.6) + 0.5$ = %1.5

Bu kadar sıkı kalite spesifikasyonları laboratuvarda elde edilemeyebilir. Metodoloji ve teknoloji uygun olduğunda arzu edilen kalite spesifikasyonları ulaşılması gereken hedef olarak alınmalıdır. Ancak, kalite planlama ve yönetiminde kullanmak için gerçeğe uygun spesifikasyonlara sahip olmak daha iyi olacaktır. Bu durumda minimum kalite spesifikasyonları formülü esas alınmalıdır.

$CV_A < 0.75\ CV_I = \%0.9$

$B_A < 0.375\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} = 0.375\ (1.2^2 + 1.5^2)^{1/2} = \%0.7$ ve

$TEa < 1.65\ (0.75\ CV_I) + 0.375\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} = 1.65(0.9) + 0.7 = \%2.2$

Mevcut metodoloji ve teknoloji ile genel kalite spesifikasyonlarının kolaylıkla elde edilebildiği örneğin serum trigliserit ve CK aktivitesi gibi analitler için de bu yöntemi kullanabiliriz. Bu analizler için aşağıdaki formülü kullanabiliriz.

$CV_A < 0.25\ CV_I$

$B_A < 0.125\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

Toplam kabul edilebilir hata için optimum kalite spesifikasyonu aşağıdaki formülden hesaplanabilir.

$TEa < 1.65\ (0.25\ CV_I) + 0.125\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

Örneğin, üre için $CV_I = \%12.3$ ve $CV_G = \%18.3$ olduğundan arzulanan kalite spesifikasyonları aşağıda hesaplandığı gibidir:

$CV_A < 0.5\ CV_I = \%6.2$

$B_A < 0.250\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} = 0.250\ (12.3^2 + 18.3^2)^{1/2} = \%5.5$

ve

$TEa < 1.65\ (0.5\ CV_I) + 0.250\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} = 1.65(6.2) + 5.5 = \%15.7$

Bu düzeyde kalite spesifikasyonlarını elde etmek oldukça kolaydır ve tüm laboratuvar çalışmalarında bu hedeflere ulaşılabilir. Ancak, kalite planlama ve yönetiminde kullanılmak üzere daha sıkı spesifikasyonlara sahip olmak gerekir. Bu spesifikasyonlar aşağıda verildiği gibi optimum kalite spesifikasyonlarının fomülleri kullanılarak elde edilebilir.

$CV_A < 0.25\ CV_I = \%3.1$

$B_A < 0.125\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} = 0.125\ (12.3^2 + 18.3^2)^{1/2} = \%2.8$

ve

$TEa < 1.65\ (0.25\ CV_I) + 0.125\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} = 1.65(3.1) + 2.8 = \%7.9$

Çok sayıda farklı test için arzu edilen kalite spesifikasyonları Ek 2'de verilmiştir. Bu testlerin, Ek 1'de gösterilen biyolojik varyasyon değerleri, kabul edilebilir toplam hata için optimum ve minimum kalite spesifikasyonlarının hesaplanması için gerekli olduğunda kullanılabilir.

Biyolojik Varyasyona Dayalı Diğer Kalite Spesifikasyonları Yaygın olarak kullanılmamakla birlikte ilginç olan bazı kalite spesifkasyonları biyolojik varyasyon bileşenlerinin verileri kullanılarak elde edilebilir.

Bazen aynı laboratuvar bir analiti farklı teknikler kullanarak analiz edebilir. Örneğin STAT ve rutin üniteler, rutin ve back-up sistemleri, laboratuvar ve hasta başı (POCT) cihazları gibi. Sıklıkla aynı hastanın bu farklı sistemler tarafından analiz edilen numuneleri bulunmaktadır. Bu sistemlerin farklı presizyon ve biasları olabilir.

Modern düşünceye göre eğer bias değeri biliniyorsa, test sonuçları rapor edilmeden önce, düzeltilmelidir (Bu bilimsel olarak iyi bir uygulama olup IFCC ve IUPAC gibi uluslararası kuruluşlar tarafından savunulmaktadır). Dahası, sistemlerden biri (genellikle rutin sistem) 'altın standart' olarak kabul edilmektedir ve mümkün olduğunda diğer tüm sistemlerin kalibrasyonları da bu sisteme bağlanmaktadır.

Bununla birlikte metotların kendilerine has presizyonları, belli bir düzey biası ve bias değişimlerinin olması olasıdır. Sonuç olarak bir bireyin sonuçlarının karşılaştırılabilir olduğundan emin olmak önemlidir. Genellikle aynı iç kalite kontrol numunesini farklı sistemlerde analiz ediyoruz (fakat çalışma başına farklı sayıda kalite kontrol numunesi çalışıyoruz ve kabul/ret için farklı kriterleri kullanıyoruz). Seri ölçümlerdeki değişimlerin anlamlı olup olmadığı matematiksel olarak modellenebilir. Bu modele göre bir laboratuvarda aynı analitin iki metodla elde edilen sonuçları arasında kabul edilebilir fark için kalite spesifikasyonu belirlenebilir. Buna göre,

Kabul edilebilir fark < 0.33 CV_I olmalıdır.

Pek çok analit için performansın bu düzeyi mevcut metod ve teknolojilerle ulaşılabilir. Örneğin, üre için CV_I %12.3'tür ve buna göre metotlar arasında kabul edilebilir fark %4.1'dir. Dundee'de merkez laboratuvarında 3 adet Hitachi 917 analitik sistemi bulunmaktadır ve bu analit için aylık kalite kontrol ortalamaları arasındaki fark genellikle < %1'dir. Buna karşılık, sodyum sonuçlarımızın ortalamaları arasındaki fark sadece 0.4 mmol/L olmasına rağmen performansımız, kabul edilebilir fark için %0.2 olan kalite spesifikasyonunu karşılayamamaktadır. Çünkü sodyum için CV_I sadece %0.7'dir.

Analitik sistemlerin çok farklı metodoloji ve kalibrasyon teknikleri olduğu zaman pratikte istenen düzeydeki kalite spesifikasyonlarının karşılanması oldukça zor olacaktır. Pek çok laboratuvarın ayrı olan STAT birimlerini kaldırmalarının nedenlerinden biri de budur. Bunun yerine merkez laboratuvarlarında hızlı takip edilen ve iyi yönetilen iş akışlarını uygulayarak numunelerin hızlı işlenmesi sağlanır. Böylece laboratuvar sonuçlarının farklı bölgelere transferi kolaylaşır. Dahası, numunelerin laboratuvara ulaştırılmasından

kaynaklanan zaman kaybını azaltmak için vakumlu sistemleri devreye alıp mümkün olduğunca hasta başı cihazları (POCT) az kullanarak farklı analitik sistemlerden elde edilen sonuçların karşılaştırılmasından doğan pek çok sorun aşılabilir.

Terapötik ilaç izlemede (TDM), ilaç düzeylerinin kalite spesifikasyonları hesaplamak için biyolojik varyasyona dayalı modellere benzer bir model kullanılabilir. Bu modelde ilaç konsantrasyonunun denge durumundaki minimum ve maksimum düzeyleri arasındaki dalgalanma bir tür 'biyolojik varyasyon' olarak kabul edilebilir. Aynı zamanda bias'ın da ihmal edilebilir düzeyde olduğunu kabul ediyoruz. Farmakokinetik teori kullanılarak terapötik ilaç izlemede presizyonun kalite spesifikasyonu aşağıdaki denkleme göre hesaplanabilir:

$CV_A < 0.25\ [(2^{T/t} -1)/(2^{T/t}+1)]*100$

Burada T doz aralığını ve t ise ilacın yarılanma ömrünü göstermektedir. Bu model, ilaç konsantrasyonunun zamanla değişimi ile uyumlu görünmektedir. Doz aralığının kısa ve yarılanma süreleri uzun olan ilaçlar için sıkı kalite spesifikasyonları gerkir. Bu ilaçlar denge durumunda çok az değişim göstermektedir.

Digoksin genellikle günde tek doz olarak alınmaktadır. Renal fonksiyonları bozulmamış bireylerde, digoksinin ortalama yarılanma ömrü 38.4 saattir. Yukarıdaki model kullanılarak digoksin için arzulanan presizyon aşağıda gösterildiği gibi hesaplanabilir:

$CV_A < 0.25\ [(2^{24/38.4} -1)/(2^{24/38.4}+1)]*100 = 0.25\ [(1.54 -1)/(1.54+1)]*100 = \%5.3$

Yarılanma ömrü daha kısa olan bir ilaç da karbamazepin'dir (ortalama yarılanma süresi 16 saattir) fakat bu ilaç genellikle günde iki kez verilmektedir. Yukarıdaki modele göre karbamazepinin kalite spesifikasyonunun digoksine benzeyeceği tahmin edilebilir. Çünkü yarılanma ömrü kısa olmakla birlikte doz aralığı da kısadır.

$CV_A < 0.25\ [(2^{12/16} -1)/(2^{12/16}+1)]*100 = 0.25\ [(1.68 -1)/(1.68+1)]*100 = \%6.4$

Avrupa EQAS Organizasyonları Grubu'nun bir Çalışma Grubu, kalite spesifikasyonları için objektif araçlar belirledi. PT ve EQAS'da kabul edilebilirliğin sabit sınırlarını belirlemek için bu araçlar kullanılmaktadır. Belirlenen model aşağıda verildiği gibi TEa için kullanılan kalite spesifikasyonlarının aynısını kullanmaktadır (%99 olasılık için).

Tablo 2.4 PT ve EQAS'da TEa için Önerilen Avrupa Kalite Spesifikasyonları

Analit	PT ve EQAS için Tea
Sodyum	0.9
Potastyl	7.2
Kalsiyum	2.8
Magnezyum	4.2
Glikoz	7.0
Kreatinin	7.9
Kolesterol	10.4
Üre	20.8

Kabul edilebilir hata < $0.25\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} + 2.33\ (0.05\ CV_I)$

Bu presizyon ve bias için arzu edilen kalite spesifikasyonlarının basit bir kombinasyonudur. Daha önce gösterilen TEa hesaplamasının aynısıdır. Avrupa Grubu tarafından savunulan bazı kalite spesifikasyonlarının değerleri Tablo 2.4'te gösterilmiştir.

Başka bir Avrupa Çalışma Grubu, referans metotlar için kalite spesifikasyonlarının belirlemesini sorgulamaktadır. Bu çalışma grubunun önerisine göre referans metotlar rutin metotların validasyonunda kullanıldığından biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonları kullanılabilir ancak bu uygulama için yarı değerler alınmalıdır. Bunlar aşağıda gösterildiği gibi biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonlarının minimum değerlerine göre düzenlenebilir.

$CV_A < 0.25\ CV_I$

ve

$B_A < 0.125\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$

Bununla birlikte, EQAS'da kullanılacak değerler bu metotlarla belirlenecekse, TEa için kabul edilebilirliğin sabit sınırları %99 limitine göre hesaplanmalı, fakat bu değerler de 5'e bölünmelidir.

TEa < $0.20\ [0.25\ (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2} + 2.33\ (0.05\ CV_I)]$

Bu oldukça farklı iki uygulamada kullanılacak olan referans metotların TEa için kalite spesifikasyonları Tablo 2.5'de gösterilmiştir.

Kalite spesifikasyonları için en iyi temel dayanak biyolojik varyasyon bileşenlerinin dahil edildiği hesaplamalardır. Profesyonel konsensüsün de bu olduğu açıkça görülmektedir.

Tablo 2.5 Referans Metotlar için Kalite Spesifikasyonları

Analit	Rutin metot çalışmalarının validasyonu için kullanılan TEa	EQAS için dağıtılan materyallere değer verme sırasında kullanılan TEa
Sodyum	0.1	0.2
Potasyum	0.8	1.4
Kalsiyum	0.4	0.6
Magnezyum	0.6	0.8
Glikoz	1.0	1.4
Kreatinin	1.1	1.6
Kolesterol	1.4	2.1
Kortizol	4.1	5.6

Uygulamada Kalite Spesifikasyonları Kalite spesifikasyonlarını belirlemek için şimdilik bir hiyerarşiye sahibiz. Bu hiyerarşinin mümkün olduğunca en üst sıralarındaki modellerini tercih etmeliyiz. Bununla birlikte en iyi yaklaşımın (yani testlerin analitik performanslarının klinik karar vermeye etkisini analiz etmek) belirlenmesi zor bir iştir. Çünkü testler farklı klinik durumlarda kullanılmaktadır ve dahası klinisyenler test sonuçlarını nasıl değerlendireceklerini objektif olarak belirlemekte zorluk çekmektedirler.

Genel olarak biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonları (klinik kullanım için) uygundur. Presizyon, bias, toplam kabul edilebilir hata, iki metot arasında kabul edilebilir fark, ilaçlar, PT ve EQAS'ta kullanılan sabit sınırlar ve referans metodolojiler gibi konularda gerekli olan bilgiler literatürden ve internet ortamından kolaylıkla temin edilebilmektedir. Kalite planlamada presizyon, bias ve toplam kabul edilebilir hatanın karakteristikleri kuşkusuz son derece önemlidir.

Klinik biyokimya, idrar analizi, hematoloji ve hemostazda en sık istenilen testlerin arzu edilen kalite spesifikasyonları Ek 2'de verilmiştir. Bu testlerin optimum ve minimum spesifikasyonları da Ek 1'deki verilerden kolaylıkla hesaplanabilmektedir.

Laboratuvarların presizyon (iç kalite kontrol programı verilerinden) ve bias değerlerini (bias değerleri bilinen metotlarla karşılaştırma yaparak, ya da daha yaygın bir yöntem olan PT ve EQAS değerleri ile karşılaştırarak) bilmeleri gerekir. Bu aşamada şu soru sorulmalıdır: Hangi düzeydeki performans

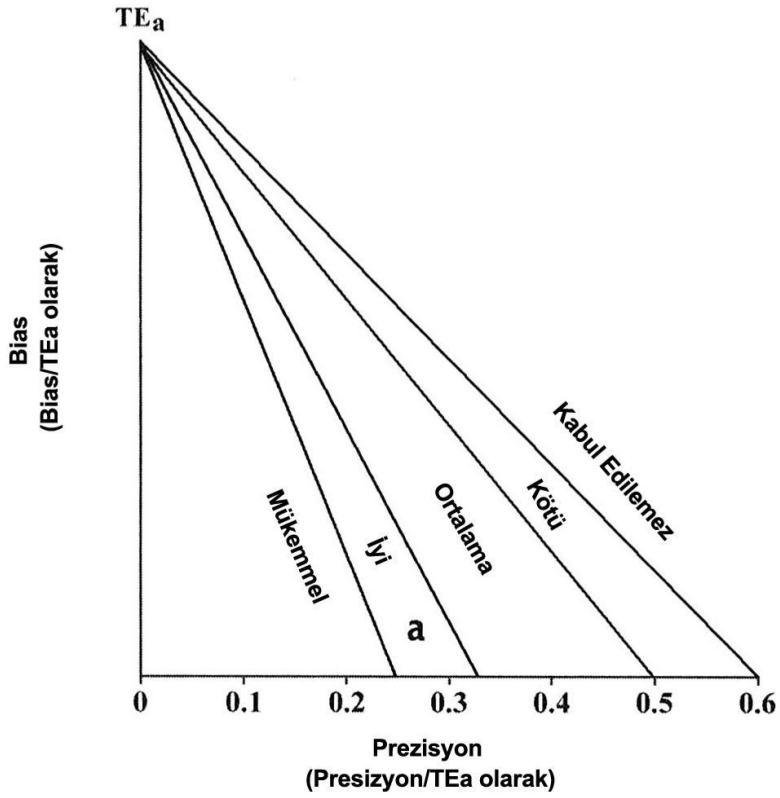
kalite spesifikasyonlarının karşılandığını garanti eder? Birkaç yıl önce şu düşünce hakimdi: eğer presizyon kalite spesifikasyonunun üçte birinden daha düşükse metodun güvenilir olduğu kabul ediliyordu. Bu oldukça basit (ve aynı zamanda kullanışlı) yaklaşıma göre biasın problem olmadığı varsayılıyordu.

Westgard, bir metodun performansının yeterli olup olmadığının değerlendirilmesinde daha kolay bir yöntem önerdi. Buna *metot karar verme grafiği* deniliyor (www.westgard.com/lesson25.htm):

- Öncelikle kabul edilebilir toplam hata kalite spesifikasyonunu hesaplamanız gerekir.
- Daha sonra bias'ın y-ekseni üzerinde olduğu ve presizyonun da x-ekseni üzerinde gösterildiği bir grafik hazırlayınız. Y-ekseninin aralığı sıfırdan TEa'a kadardır ve skalası da biasın TEa'a oranıdır (B_A/TE_A). X-ekseninin aralığı da TEa/2'dir ve skalası da presizyonun TEa'a oranıdır (CV_A/TE_A).
- Daha sonra x-ekseni üzerinde TEa/3 ve TEa/4 noktalarını işaretleyiniz. Y-eksenindeki TEa noktasından x-eksenindeki TEa/4, TEa/3 ve TEa/2 noktalarına doğrular çiziniz. Bu doğrular grafikteki alanı 4 segmente ayırmaktadır: Mükemmel performans, iyi performans, marjinal performans ve yetersiz performans.

Aslında Westgard bu doğruları çizmek için farklı olası toplam hata formüllerini kullanmaktadır (B_A + 4SD, B_A + 3SD, ve B_A + 2SD). Daha sonra gerçek presizyon ve bias'ın TEa'a oranını grafiğe çizmektedir.

Bu grafik kitapta kullandığımız formüller eklenerek daha sofistike ve kullanışlı hale getirilebilir. Bu formüller ile x eksenini TEa/1.65 (0.6TEa)'a kadar uzatarak ve y eksenindeki TEa'yi x eksenindeki TEa/1.65'e bir doğru ile bağlayabiliriz (bakınız Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Modifiye edilmiş metod karar verme grafiği.

Burada Westgard'ın modelinin kullanıldığı bir örnek verilmiştir. Serum albüminin arzu edilen kalite spesifikasyonu için toplam hatanın %3.9 olduğunu (biyolojik varyasyon verilerinden) biliyoruz. EQAS'ın genel ortalaması ile karşılaştırıldığında laboratuvar metodumuzun genellikle %0.4 pozitif biasının olduğunu (konsensüs ile) biliyoruz (yani TEa'nın 1/10'u). Metodumuzun presizyonu referans limitin alt tarafı için %1.0 dır (yani TEa'ın ¼'ü). X-ekseninde ki ¼'e karşılık (presizyonumuz) Y eksenini 1/10 (bias değerimiz) ile işaretlediğimiz zaman şekildeki ***a*** noktasını elde ederiz. Bu nedenle albümin metodumuzun ***'iyi'*** olduğu söylenebilir. Bias ya da presizyon parametrelerinden herhangi birindeki artışın metodu düşük kaliteli kategorisine düşürebileceğini bilmekte yarar vardır. Bu durumun kalite yönetiminde önemli sonuçları olacaktır.

Bu modele göre üstün performansı olan bir metot 'kabul edilebilir 'den daha fazlasına sahip olacaktır. Çünkü bu metodun rutinde kullanımı ve kalite kontrolü kolay olacaktır. Performansı iyi olan bir metot kalite gereksinimlerini karşılayacaktır ve dikkatli bir kalite planlama ile rutin kullanıma alınabilecektir. Marjinal performansı olan bir metot eğer her şey doğru çalışırsa arzu edilen kaliteyi verebilir fakat kalite yönetim çemberindeki tüm etkenler dikkate alınmadığı sürece rutin uygulamada idare edilmesi çok zor olacaktır. Zayıf performansı olan bir metot kalite spesifikasyonlarını karşılayamaz ve günlük rutin uygulama için kabul edilemez. Eğer burada önerilen ve Şekil 2.9'da gösterilen modifikasyon kullanılacak ise zayıf performansı olan

bir metot kalite spesifikasyonlarını zar zor karşılayabilecektir ve günlük rutin uygulama için muhtemelen uygun bulunmayacaktır. Son segmentin anlamı açıktır: Bu metot kabul edilemez.

Moda olan 'Altı Sigma Kalite Yönetimi' modelini kullanarak *Metot Karar Verme Grafiğini* daha da sofistike hale getirebiliriz, böylece kalite spesifikasyonunun altıda birine denk gelen bölüme ulaşmayı başaracak performansı gösterebilmeliyiz. Ortalama ± 2SD'nin dağılımın yaklaşık %95'lik kısmını kapsadığını biliyoruz, ancak metot mükemmel çalışsa bile bu tanıma göre verilerin %4.5'lik kısmı dışarıda kalacaktır. Eğer ortalama ± 6SD aralığını kullanırsak dışarıda kalan veriler ihmal edilecek düzeyde olacaktır, yani sadece 500 milyarda bir. Bu nedenle eğer biz bu proses standardına ulaşmayı başarırsak, prosesteki varyasyonlar kalite spesifikasyonlarının başarısızlığına neden olmayacaktır.

Altı sigma kalite yönetimini basitçe şu şekilde uygulayabiliriz: Kalite spesifikasyonunu altıya bölerek (biasın ihmal edildiğini varsayarak) ve laboratuvarımızın presizyonunu bu veri ile karşılaştırarak değerlendirme yapabiliriz. Alternatif olarak, *metot karar grafiği*mizde y eksenindeki TEa'dan x eksenindeki TEa/6'ya bir doğru çizebiliriz. Eğer metodun karakteristikleri bu doğrunun solundaki bölgede kalıyorsa metodun altı sigma kalite beklentilerini karşıladığını ve muhtemelen mükemmel (superb) olduğunu söyleyebiliriz.

Bu ilginç konseptin temel prensipleri Westgard tarafından internette tartışılmıştır. Görünüşte fazla takdir edilmeyen fakat kalite planlamanın altında yatan varsayım şudur: Eğer bir metot mükemmel ise nadiren hatalara neden olacaktır ve belirlenen kalitenin garanti edilmesi için çok az kalite kontrole gereksinim olacaktır.

Analitik tekniklerin kalite spesifikasyonlarını karşılayıp karşılamadığını değerlendirmek için daha basit bir yol ise **Kritik Sistematik Hatanın** hesaplanmasıdır (ΔSEc). Mevcut bilgilerden ΔSEc'nin hesaplanması oldukça kolaydır. TEa için kalite spesifikasyonumuzu tanımlamıştık. Yukarıda tartışılan kaynaklardan presizyon (CV_A) ve bias (B_A) değerlerimizi biliyoruz. Buradan aşağıdaki denklemi kullanarak ΔSEc'yi hesaplayabiliriz.

$$\Delta SEc = [(TEa - B_A)/CV_A] - 1.65$$

ΔSEc kalite spesifikasyonlarına göre metodun performansını gösteren iyi bir belirteçtir. ΔSEc tek bir istatistiksel veri ile toplam kabul edilebilir kalite spesifikasyonunu aşmadan önce ortalamanın kaç SD kayabileceğini göstermektedir. Bu nedenle eğer metodun ΔSEc değeri = 10 ise ortalamanın kalite spesifikasyonlarını aşmadan 10 SD, buna karşılık ΔSEc değeri = 2 ise sadece

2 SD kayabilecektir. ΔSEc konsepti dört temel parametreyi tek bir istatistiksel veride toplayarak nerde olmamız gerektiğinden ziyade nerede olduğumuzu göstermektedir.

Örneğin Ek 1'de verilen değerlerden magnezyum testi için bireysel ve bireyler arası biyolojik varyasyon değerlerinin sırasıyla %3.6 ve %6.4 olduğunu biliyoruz. Bu iki veriden TEa değerinin de %4.8 olacağını söyleyebiliriz. Şimdi eğer bias %0.2 ve presizyon da %1.2 ise ΔSEc = [(4.8-0.2)/1.2] - 1.65 = 2.2 olacaktır.

Diğer taraftan serum fosfat testi için bireysel ve bireyler arası biyolojik varyasyon değeri sırasıyla %8.5 ve %9.4 olup bu verilerden TEa = %10.2 olarak hesaplanır. Eğer bias ve presizyon için aynı performans karakteristiklerine sahipsek yani bias ve presizyon sırasıyla %0.2 ve %1.2 ise ΔSEc = [(10.2-0.2)/1.2] - 1.65 = 6.7 olacaktır.

Yüksek ΔSEc (>3) değerinde sahip olan metotlar kolaylıkla kalite gereksinimlerini karşılayabilirler ve basit kalite kontrol ile rutinde kullanılabilirler. Orta düzeyde ΔSEc değerine (2.0 – 3.0) sahip olan metotlar, eğer laboratuvarda her şey doğru çalışıyorsa, arzu edilen performansı sağlayabilirler fakat internal kalite kontrollerini istenilen düzeyde tutmak zor olacaktır. Bunu sağlamak için muhtemelen daha çok kontrol numunesi çalışmak ya da kabul ve ret için daha katı kurallar koymak gerekecektir. Düşük ΔSEc (< 2.0) değerine sahip metotların, eğer kalite yönetimindeki tüm faktörlere dikkat edilmezse, rutinde kullanımları kolay olmayacaktır ve en iyisi bunların rutin kullanıma alınmaması olacaktır.

Eğer laboratuvar kalite spesifikasyonlarına ulaşmayı başaramayacaksa, pek çok başka yaklaşım benimsenebilir:

- Kaygılanmaya gerek yok, mevcut metotların ve geleneksel istatistiksel kalite kontrol yaklaşımlarının kullanımına devam edilmelidir. Bu zayıf bir stratejidir, çünkü laboratuvar aslında neyin performansının yeterli olmadığını takip etmektedir.
- Performansı düşük olduğunda testin çalışılması durdurulabilir. Bununla birlikte böyle bir uygulama pek çok laboratuvarda çok sayıda kullanışlı testin eliminasyonuna neden olacaktır.

Aşağıda sıralanan daha pozitif yaklaşımlardan birinin seçilmesi önerilmektedir:

- Hiyerarşide daha düşük basamaklardaki kalite spesifikasyonlarını uygulamayı düşünebilirsiniz. Özellikle laboratuvarın akredite kalmasını sağlayacak düzeyde olan ve PT katılımında yeterli sonuç alınan ya da

EQAS'da sabit sınırlar için daha düşük standartları karşılayan kalite spesifikasyonlarını tercih edilebilirsiniz.

- Laboratuvar pratiği için kalite tekniklerini kullanarak kalitenin gelişimini kurumsallaştırın.
- Metotların geliştirilmesi için aşama kaydedin.
- Kalite spesifikasyonlarını karşılayabilecek alternatif metodoloji ve teknolojileri kullanın.

Minimum kalite spesifikasyonları uygulandığında bile eğer laboratuvarın performansı iyi ise bu performansın bozulmasına izin verilmemeli ve aksine iç kalite kontrol kaynaklarını koruyacak şekilde ve kalite spesifikasyonlarını karşılamayı garantiye alacak şekilde kalite planlaması yapılmalıdır.

Kalite spesifikasyonlarının kalite planlamasında kullanılması bu kitapta anlatılamayacak kadar komplekstir. Birkaç farklı yaklaşım vardır. Kalite planlamasının prensipleri aşağıda sıralandığı gibi özetlenebilir:

- Presizyon, bias ve toplam kabul edilebilir hata için kalite spesifikasyonlarını belirleyerek dokümante ediniz.
- İç kalite kontrol verilerinden presizyonu hesaplayınız. Metot karşılaştırma, PT veya EQAS ya da kalite kontrol numuneleri için karşılaştırma programlarını kullanarak bias'ı belirleyiniz.
- Belirlenen kalitenin garanti edilebilmesi için her bir çalışmada kullanılacak kontrol sayısını ve uygulanacak kontrol kurallarını belirlemek için bu verileri kullanarak gerekli karşılaştırmaları yapınız. Bu proses çok detaylı ve kapsamlı bir internet sitesinde (www.westgard.com) ve Zoe Brooks'un hazırladığı detaylı tekst (Performance-Driven Quality Control, Washington, DC: AACC Press, 2001) gibi bazı kaynaklarda açıklanmıştır.

Burada esas olan nokta, kalite spesifikasyonları için gerekli olan tüm yaklaşımların başlangıçta açıkça tanımlanması gerekliliğidir.

ÖZET

Bu bölüm aşağıdaki anahtar noktaları kapsamaktadır:

- Laboratuvar testlerinin arzu edilen karakteristikleri konusunda farklı bireyler farklı görüşlere sahip olabilirler. Klinik karar vermeyi kolaylaştırmak için gerekli olan performans düzeyi kalite spsesifikasyonudur.

- Tüm metotlar performans karakteristikleri cinsinden tam olarak tanımlanabilirler: Bunlar uygulanabilirlik ve güvenilirlik karakteristikleridir.
- Kalite spesifikasyonları, rutine alınacak yeni analitik sistemlerde ve günlük kalite yönetiminde özellikle presizyon, bias ve toplam hata gibi pek çok amaç için gereklidir.
- Toplam hata, presizyon ve bias'ın basit doğrusal toplamı şeklinde kolayca hesaplanabilir: Çeşitli formüller vardır.
- Presizyon ve bias için sayısal kalite spesifikasyonlarının belirlenmesinde pek çok sıkıntılı nokta dokümante edilmiştir.
- Global bir strateji olarak, laboratuvar tıbbının kalite spesifikasyonları için mevcut modeller belli bir hiyerarşi içinde sıralanmışlardır. Bu hiyerarşi uzman profesyoneller tarafından konsensüs olarak kabul edilmiştir.
- Kalite spesifikasyonları için belirlenen tüm modellerin avantaj ve dezavantajları vardır.
- İdeal olarak, kalite spesifikasyonları analitik perfromansın klinik sonuçlara etkisinin incelenmesiyle belirlenir. Bununla birlikte, az sayıda test belirli klinik durumlarda kullanıldığından ve ayrıca klinisyenlerin test sponuçlarını nasıl kullandıklarını belirlemek de zor olduğundan bu modeli uygulmak zordur.
- Biyolojik varyasyon, olasılık ve klinisyenlerin bakış açılarını belirlemek için kullanılan vinyet çalışmalarının sonuçları kullanılarak kalite spesifikasyonları üretilebilir. Genel olarak bu çalışmalar geçmişte iyi dizayn edilmemiş ya da iyi yönetilmemiş olsalar da kullanım potansiyelleri var gibidir.
- Ulusal ya da uluslararası uzman gruplar ya da bireysel uzmanlar kalite spesifikasyonlarını önermişlerdir. Bunların çoğu biyolojik varyasyonu temel almaktadırlar.
- Kalite spesifikasyonları, PT ve EQAS'da elde edilen sabit sınırlardan türetilebilir, fakat bunlar laboratuvar olanaklarından (state of the art) çok etkilenirler.
- Eğer elde başka bir şey yoksa PT ve EQAS'ın değerlendirmeleri, ya da yayınların verileri kalite spesifikasyonlarını belirlemek için kullanılabilir. Fakat bunların klinik gereksinimlerle ilişkileri azdır.
- Hiyerarşide ilk sıralarda bulunan modeller diğerlerine tercih edilmelidir.

- Varyasyonlar SD ya da CV'ninnin karesi olan varyanslar cinsinden toplanmalıdır.
- Presizyon test sonuçlarının varyasyonunu etkiler fakat bu etki doğrusal değildir.
- Düşük presizyon, bireylerin seri ölçüm sonuçları arasındaki farkın anlamlılığını azaltır ve referans aralıklarının genişlemesine neden olur.
- Presizyon için kalite spesifikasyonu, en iyi şekilde biyolojik varyasyona göre bellirlenir. Presizyonun, bireysel biyolojik varyasyonun yarısından az olması yaygın olarak kabul görmektedir.
- Biyolojik varyasyon, arzulanan pefromansı elde etmenin zor olduğu analitlerin minimum kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi ve arzulanan pefromansı elde etmenin kolay olduğu analitlerin optimum kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi için de kullanılabilir.
- Referans değerlerin kullanımı bias'tan çok etkilenmektedir.
- Bias için kalite spesifikasyonu en iyi şekilde genellikle biyolojik varyasyona göre belirlenir. Bias, grup olarak biyolojik varyasyonun (bireysel artı bireyler arası) dörtte birinden düşük olmalıdır.
- Biyolojik varyasyon, arzulanan pefromansı elde etmenin zor olduğu analitlerin minimum kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi ve arzulanan pefromansı elde etmenin kolay olduğu analitlerin optimum kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi için kullanılabilir.
- Kalite planlama modellerinde kullanılacak toplam kabul edilebilir hata için kalite spesifikasyonu, bias ve presizyon spesifikasyonlarının lineer toplamı ile elde edilebilir.
- Diğer amaçlar için gerekli olan kalite spesifikasyonu da biyolojik varyasyondan türetilebilir.
- 300'den fazla testin presizyon, bias ve toplam kabul edilebilir hata parametrelerinin arzu edilen kalite spesifikasyonu için (biyolojik varyasyona dayalı) veriler mevcuttur ve kolayca ulaşılabilir.
- Biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonu karşılanamıyorsa, hiyerarşideki diğer kalite spesifikasyonları kullanılabilir ancak kalite gelişim işi kurumsallaştırılmalıdır.
- Performans karakteristiğinin kabul edilebilirliği, *metot karar verme grafiği* kullanılarak ya da kritik sistematik hata hesaplanarak değerlendirilebilir.
- Biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonları kolayca karşılanabildiğinde, kalite planlama kurumu kaynaklardan tasarruf edecektir.

EK OKUMA LİSTESİ

1. Brooks Z. Performance-driven quality control. Washington, DC: AACC Press, 2001.
2. C24-A2. Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guidelines, 2nd Edition. Wayne, PA (USA): National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
3. Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Libeer JC, Ricos C. Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology. Ann Clin Biochem 1997;34:8-12.
4. Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Ricos C, Haeckel R. Proposed quality specifications for the imprecision and inaccuracy of analytical systems in clinical chemistry. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992;30:311-317.
5. Fraser CG, Hyltoft Petersen P. Analytical performance characteristics should be judged against objective quality specifications. Clin Chem 1999;45:321-323.
6. Fraser CG, Hyltoft Petersen P. The importance of imprecision. Ann Clin Biochem 1991;28:207-211.
7. Fraser CG, Judgment on analytical quality requirements from published clinical vignette studies is flawed. Clin Chem Lab Med 1999;37:167-168.
8. Gowans EMS, Hyltoft Petersen P, Blaabjerg O, et al. Analytical goals for the acceptance of common reference intervals for laboratories throughout a geographical area. Scand J Clin Lab İnvest 1988;48:757-764.
9. Hyltoft Petersen P, deVerdier CH, Groth T, Fraser CG, et al. The influence of analytical bias on diagnostic misclassifications. Clin Chim Acta 1997;260:189-206.
10. Hyltoft Petersen P, Fraser CG, Kallner A, Kenny D, eds. Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine. Scan J Clin Lab Invest 1999;57:475-585.
11. Skeie S, Thue G, Sandberg S. Patient-derived quality specifications for instruments used in self-monitoring of blood glucose. Clin Chem 2001;47:67-73.
12. Thienpont L, Franzini C, Kratochvila J, et al. Analytical quality specifications for reference methods and operating specifications for networks of reference laboratories. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995;33:949-957.
13. U.S. Dept. of Health and Human Services. Medicare, Medicaid, and CLIA Programs: Regulations implementing the Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA). Final rule. Fed Regist 1992;57:7002-7186.
14. Westgard JO. Six sigma management and desirable laboratory precision. Available online at www.westgard.com/essay35.htm.

3. Bölüm
Seri Ölçüm Sonuçlarındaki Değişimler

Klinik laboratuvarlarda çalışılan test sonuçları pek çok amaç için kullanılmaktadır. Test sonuçları eğitim, öğretim, araştırma ve geliştirmenin yanı sıra 4 farklı klinik kullanım alanı olan teşhis, vaka bulma, tarama ve hasta takibinde kullanılmaktadır.

Pek çok test sonucu insan sağlığının kısa, orta veya uzun vadeli takiplerinde kullanılmaktadır. Kalite hizmetinin bir üyesi olarak, laboratuvarda rapor ettiğimiz test sonuçlarının yorumlanmasında klinisyenlere yardımcı olmak zorundayız. Hastaların klinik takiplerinde seri ölçümlerdeki anlamlı değişimlerin değerlendirilmesi için objektif kriterler sunmamız gerekir.

REFERANS DEĞİŞİM DEĞERİ VE OLASILIĞIN HESAPLANMASI

Klinik Laboratuvar Test Sonuçları ile Takip 63 yaşında erkek hastanın daha önce doktoruna sunduğu raporda 'yüksek riskli' düzeyde serum kolesterol konsantrasyonu olduğu tespit edilmiştir. Hastanın baş ağrısı, baş dönmesi, sinirlilik, yorgunluk ve uykusuzluk şikâyetleri bulunmaktadır. Oldukça non-spesifik olan bu şikayetler hastanın doktorunun ölçtüğü yüksek tansiyon ile açıklanabilmektedir. Doktor daha sonra böbrek fonksiyonları, karaciğer fonksiyonları, lipidler ve tiroid fonksiyonlarını içeren bir dizi laboratuvar testleri istemiştir. Sonuçlar Tablo 3.1'in ilk sonuçlar kısmında gösterilmiştir.

Doktor, hastanın yüksek kolesterolünden endişelenmiştir. Tedavi olarak sigarayı kesmesini, kilo vermesini, alkol tüketimini azaltmasını, fiziksel olarak aktif olmasını ve diyetini değiştirmesini içeren yeni bir yaşam biçimini önermiştir. Bir ay sonra testler yeniden istenmiştir. Sonuçlar Tablo 3.1'in son sütununda verilmiştir (2. sonuçlar).

Tüm değerlerin değiştiği görülmektedir. Kolesterol konsantrasyonunun şimdi 5.82 mmol/L olduğunu görüyoruz ve bu değer 6.6 mmol/L'den düşüktür. Her bir bir testin sonucunu etkileyen pek çok doğal vasyasyonun olduğunu zaten biliyoruz, fakat burada görünen klinik soru şudur: Test sonuçları

arasındaki herhangi bir değişim anlamlı mıdır, özellikle hastanın yaşam biçimini değiştirmeyi içeren tedaviden sonra elde edilen yeni kolesterol konsantrasyonu önceki değere göre anlamlı olarak düşme göstermiş midir?

Bu soruyu daha bilimsel bir soruya dönüştürebiliriz. Klinik laboratuvarlarda çalışılan tüm analitlerin doğal bir varyasyonunun olduğunu biliyoruz. Bu durumda soruyu şu şekilde sorabiliriz: Serum kolesterol konsantrasyonundaki değişim test sonuçlarındaki varyasyondan büyük mü, ya da daha genel bir ifade ile tek tek hastalardan elde edilen seri ölçümleri nasıl yorumlamalıyız?

Değişimleri Sabit Kriterlere Karşı Yorumlamak Laboratuvarın nümerik sonuçlarını yorumlamak için pek çok yardımcı yöntem vardır. Örneğin, test sonuçları aşağıdakilerle karşılaştırılabilir:

- Popülasyona dayalı referans değerler (4. Bölüm'de klasik popülasyona dayalı referans değerlerin hastaların klinik takiplerinde kullanılmasının avantaj ve dezavantajlarını detaylı olarak tartışacağız).
- Klinik aksiyonlar için yerel olarak kabul görmüş protokoller
- Uzman bireyler, gruplar ya da komitelerin önerdiği değerler
- Risk'e dayalı değerler ve
- Referans aralığın üst sınırının katları ile

Tablo 3.1 Hipertansiyonu Olan 63 Yaşındaki Erkek Hastanın Test Sonuçları

Analit	1.sonuç	Birim	Referans Aralığı	2.sonuç
Sodyum	144	mmol/L	135-147	142
Potasyum	4.6	mmol/L	3.5-5.0	4.4
Üre	5.2	mmol/L	3.3-6.6	5.4
Kreatinin	102	umol/L	64-120	97
ALT	18	U/L	13 - 43	14
Bilirübin	10	umol/L	0-17	12
ALP	89	U/L	30-105	81
GGT	35	U/L	11 - 82	39
Kalsiyum	2.49	mmol/L	2.10-2.55	2.43
Albümin	38	g/L	35-50	42
Kolesterol	6.60	mmol/L	Ideal < 5.00	5.92
Trigliserid	1.08	mmol/L	2.30'a kadar	1.32
TSH	2.03	mU/L	0.4-4.0	2.19
Ürat	0.28	mmol/L	0.24 - 0.46	0.32

Yukarıda sıralanan son dört yardımcı yöntem, nasıl geliştirildiklerine bakılmaksızın, 'klinik sabit sınırlar' olarak tanımlanabilir ve bazen bunlara cut-off noktalar (kesim noktaları) denir. Bazı yönleriyle klinik sonuçlarla ilişkili olduğu ve genellikle iyi kanıtlara dayandığı ya da 'uzman' bakışlarını yansıttığı için bunların avantajları vardır. Ancak hastaların klinik takiplerinde kullanıldığında bu yöntemlerin dezavantajları vardır.

63 yaşındaki erkek hastayı artmış kolesterol düzeyiyle ele alalım. Serum kolesterol konsantrasyonunu düşürmek için statin ilacını aldığını düşünelim. Karaciğer hastalığı olanların ya da yüksek düzeyde alkol alanların statinleri dikkatlice kullanmaları gerekir. Dahası, tedaviden önce karaciğer fonksiyon testlerinin çalışılması gerekir ve daha sonra bu testler düzenli olarak takip edilmelidir. British National Formulary'ye göre eğer 'serum transaminaz aktivitesi referans sınırının üç katını geçerse' tedavi kesilmelidir. Bu bir başka 'sabit sınır'ın kullanımını içeren 'sabit sınır'dır.

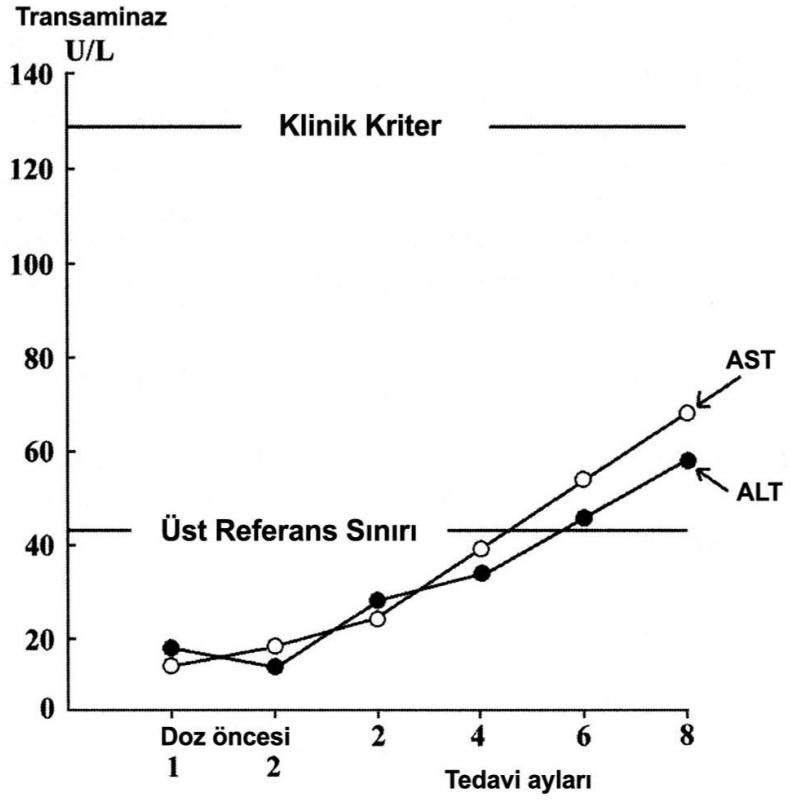
Karaciğer fonksiyon testlerinin sonuçları Tablo 3.2'de verildiği gibidir.

Serum AST ve ALT aktivitelerinde zamanla görülen değişim Şekil 3.1 de grafik şeklinde gösterilmiştir. Bu yaştaki erkekler için hem AST ve hem de ALT için referans aralık 13-43 U/L dir. Bu nedenle referans limitinin üç katı 129 U/L'dir. Beklenildiği gibi, Tablo 3.2 ve Şekil 3.1'deki veriler, tüm analitlerin zamanla değiştiğini göstermektedir. Serum albümin, alkalen fosfataz ve bilirübin için değişimler rasgele gibi görünmektedir. Kuşkusuz durumun böyle olması beklenmektedir. Serum AST ve ALT aktivitelerinde de değişim meydana gelmektedir. Bu değişimler rastgele gibi görünmemektedir. Her iki enzimin aktivitesinde artış olduğu görülmektedir. Bu beklenen bir durum değildir. Her iki aktivite de uygun yaş ve cinsiyete göre belirlenen referans limitlerinden daha yüksek olmaktadır. Bununla birlikte, bu değerler klinik olarak belirlenen kriterler olup tedavinin durdurulmasını gerektiren referans aralığın üst sınırının üç katını geçmemektedir.

Tablo 3.2 Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Bazı Sonuçları

Zaman	Albümin (g/L)	ALP (U/L)	Bilirübin (umol/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)
Doz öncesi 1	38	89	10	18	16
Doz öncesi 2	42	81	12	14	18
2 ay sonra	40	86	9	27	24
4 ay sonra	41	94	13	35	40
6 ay sonra	39	85	8	45	54
8 ay sonra	42	91	14	58	69

Klinisyenler, bu olağan olmayan değişim hakkında endişelenmeli mi? Laboratuvarlar bu noktaya dikkat çekmeli mi? Bu bölümde, sabit sınırlardan başka, popülasyona dayalı referans limitler veya klinik olarak belirlenen limitler olup olmadığına bakılmaksızın, bireylerin seri ölçümlerinin yorumlanmasında daha fazla objektif yolların olup olmadığını araştıracağız. Bu yollar genellikle ampiriktirler.



Şekil 3.1. Serum ALT ve AST Aktivitesinde Zamanla Görülen Değişimler

Toplam Varyasyonun Hesaplanması Klinik laboratuvarlarda analiz edilen tüm analitlerin preanalitik, analitik ve bireysel biyolojik varyasyondan kaynaklanan doğal varyasyonlarının olduğunu biliyoruz. Tüm bu varyasyonlar rastgele olup Gaussian dağılım gösterdikleri kabul edilebilir. Gaussian dağılımın genişliği standart sapma (SD) cinsinden ifade edilebilir. Varyasyon kaynakları birbirlerine eklenir ve bu ekleme sırasında, toplam varyasyonu elde etmek için bileşenlerin SD değerlerinin karelerini toplamalıyız.

Eğer

preanalitik varyasyon SD_P

analitik varyasyon SD_A

ve bireysel biyolojik varyasyon da SD_I olarak ifade edilecekse

toplam varyasyon aşağıda gösterildiği gibi hesaplanır:

$SD_T^2 = SD_P^2 + SD_A^2 + SD_I^2$ ve ya $SD_T = (SD_P^2 + SD_A^2 + SD_I^2)^{1/2}$

Laboratuvar tıbbında sıklıkla varyasyonların CV cinsinden ((SD/Aritmetik ortalama)x100) toplanmasının avantajları bulunmaktadır. Bileşenlerin aritmetik ortalaması aynı olduğu için, bu durumda varyasyonları CV cinsinden toplayabiliriz. Toplam varyasyon aşağıdaki gibi olacaktır.

$CV_T^2 = CV_P^2 + CV_A^2 + CV_I^2$ ve ya $CV_T = (CV_P^2 + CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$.

Eğer bir bireyin seri ölçümlerinde değişim olduğunu güvenle söylemek istiyorsak, ölçüm sonuçları arasındaki farkın bu üç faktörden kaynaklanan doğal varyasyondan daha büyük olması zorunludur. Klinik açıdan bakıldığında, küçük değişimleri daha anlamlı kılmak için, başka bir ifade ile 'gürültü'yü azaltarak klinik 'sinyal'i daha berrak yapmak için varyasyon kaynaklarını azaltmamız gerekir.

Preanalitik Varyasyonun Minimum Değere Düşürülmesi Toplam varyasyon, bileşenlerin varyasyonlarının toplamına eşittir. Laboratuvar test sonuçları için toplam varyasyonu aşağıda gösterildiği gibi hesaplamıştık:

$CV_T = (CV_P^2 + CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$.

Bir bireydeki küçük değişimleri daha anlamlı kılmak için varyasyon kaynaklarını azaltmamız gerektiğini biliyoruz. 1. Bölüm'den hatırladığımız gibi, preanalitik fazdaki varyasyonların olasılığı önemlidir ve aşağıdaki faktörleri dikkate almamız gerekir:

- işlem zamanı
- yeme/acıkma durumu
- önceki ve mevcut ezersizler
- önceki ve mevcut uyaranlar
- postür
- numunenin kaynağı
- antikoagülan, koruyucular ya da stabilizatörlerin tipi
- turnike uygulama süresi
- numune taşıma zamanı ve sıcaklığı
- santrifüj süresi ve kuvveti, ve
- depolama koşulları

Eğer aşağıda sıralananları gerçekleştirebilirsek preanalitik varyasyonu minimuma indirebiliriz:

- Özellikle numune alım zamanı ve postür dahil hasta hazırlama koşulları standardize edilmeli.

- alınan numunenin tipine göre standart flebotomi teknikleri uygulanmalı, kullanılan numune tüpü (kabı) ve turnike uygulama süresi standart olmalı.
- numune taşıma, işleme ve santrifüj işlemlerinde standartlara uyulmalı.

Eğer preanalitik varyasyon minimuma indirgenmişse, CV_P artık anlamsız olacağı için toplam varyasyon denklemini aşağıdaki gibi basitleştirebiliriz:

$CV_T = (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$.

Bu formül, şimdiki laboratuvar uygulamalarında olduğu gibi, tek bir numunenin alındığı ve bir kez analiz edildiği durumda geçerli olur. Birden fazla numunenin, birden fazla analiz edilmesi CVT değerini düşürür, fakat bu durum pratikte nadiren gerçekleşir. Radyoimmünoassay'de olduğu gibi numunelerin çift çalışılması manüel çalışmalarda sıklıkla yapılmaktadır. Ancak buradaki gerçek amaç, rastgele varyasyonu azaltmaktan ziyade çok önemli bir reaktifin eklenmesinin unutulması gibi yanlışlıkları yakalayıp düzeltmektir. Eğer birden fazla numuneyi alırsak veya bir ya da daha fazla numunede tekrarlanan analizler yaparsak, toplam varyasyonu hesaplamak için, farklı ve biraz da kompleks formülleri kullanmak zorunda kalırız. Bu durumda CVT değerini hesaplamak için, aşağıdaki formülde verildiği gibi, uygun CV değerlerini alınan toplam numune sayısının ya da yapılan analiz sayısının karekökünü bölmek gerekir.

$CV_T = (CV_A^2/n_1 + CV_I^2/n_2)^{1/2}$.

burada n_1 tekrarlanan analitik ölçüm sayısını ve n_2'de aynı anda alınan numune sayısını göstermektedir. İlginç olan nokta, analizlerin tekrarlanarak yapılması, varyasyonları doğrusal olarak düşürmemektedir. Analizin çift yapılması tek yapılmasına göre varyasyonu %70 ($1/2^{1/2}$ x100) (%30 oranında azalma görülür), üç kez yapılması %58 ve dört kez yapılması %50 düzeyine getirmektedir.

Referans Değişim Değerleri İyi eğitim, iyi laboratuvar uygulaması ve iyi yazılmış standart çalışma prosedürlerini uygulamak suretiyle preanalitik varyasyonu minimuma indirdiğimizi varsayalım. Bu durumda, her bir laboratuvar sonucu için (tek numune ve tek analiz) toplam varyasyon

$CV_T = (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$.

olacaktır.

Bu varyasyon rastgele olup Gaussian dağılım göstermektedir. Bu nedenle belli bir olasılıkla, değerlerin alt ve üst sınırlarını belirlemek kolay olacaktır.

Gaussian dağılım için aşağıdakilerin geçerli olduğunu biliyoruz.

- Ölçülen değer %68.3 olasılıkla ortalama ± 1 CV aralığında bulunacaktır.
- Ölçülen değer %95.5 olasılıkla ortalama ± 2 CV aralığında bulunacaktır.
- Ölçülen değer %99.7 olasılıkla ortalama ± 3 CV aralığında bulunacaktır.

1, 2 ve 3 çarpanları *Standart Normal Sapmalar* ve aynı zamanda Z-skoru olarak da bilinir. Bu nedenle herhangi bir analit için bulunan değer Z-skoru için uygun olan bir olasılıkla (Z skorları hakkında daha fala bilgi için standart istatistiksel tablolara bakınız)

$\pm Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$ aralığında bulunur.

Yukarıda gösterildiği gibi sınırları hesaplarken ± simgesini kullandığımıza dikkat ediniz. Bu simge Z-skorunu iki yönlü yapmaktadır. Kuşkusuz kolaylıkla +1 CV, +2 CV ya da +3 CV aralıkları dışında çalışabiliriz ve bunlar için standart istatistiksel tablolarda tek yönlü Z skorları kolaylıkla bulunabilir. Bunun önemli olduğunu bilerek seri ölçümleri değerlendirmeliyiz. Tablo 3.3'te tek yönlü ve çift yönlü durumlarda sıklıkla kullanılan olasılıklar için basitleştirilmiş Z skoru değerleri liste halinde verilmiştir (olasılık ve Z değeri arasındaki doğrusal olmayan ilişkiye dikkat ediniz).

Tablo 3.3. Z skorları ve Olasılık

Olasılık (%)	Tek yönlü Z-skor	Çift yönlü Z-skor
99	2.33	2.58
98	2.05	2.33
97	1.88	2.17
96	1.75	2.05
95	1.65	1.96
90	1.28	1.65
85	1.04	1.44
80	0.84	1.28
75	0.68	1.15
70	0.52	1.04
60	0.25	0.84

Seri ölçümler arasındaki farkları dikkate aldığımız zaman her bir sonucun $Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$ kadar bir varyasyonu bulunmaktadır.

İki sonucumuz var: Biri önceki diğeri de sonraki ölçüm sonuçlarıdır. Toplam varyasyon, bireysel varyasyonların toplamı olduğu için (toplama işleminde varyans değerleri kullanılmalı), aşağıdaki denklemi yazabiliriz:

Toplam varyasyon = $[(\text{birinci testin varyasyonu})^2 + (\text{ikinci testin varyasyonu})^2]^{1/2}$

simgeler kullanıldığında

Toplam varyasyon = $\{Z \times [(CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}]^2 + Z \times [(CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}]^2\}^{1/2}$

bu denklemi aşağıda gösterildiği gibi basitleştirebiliriz.

Toplam varyasyon = $2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$

Böylece seri ölçümlerin birbirlerinden anlamlı derecede farklı olabilmesi için, sonuçların sayısal değerleri arasındaki fark, her iki sonucun kombine edilen doğal varyasyonlarından daha büyük olmak zorunda olduğunu söyleyebiliriz. Bu değere geleneksel olarak *kritik fark* diyoruz fakat uluslararası terminoloji ile uyumlu olabilmesi için *Referans Değişim Değeri* (RCV) ifadesini kullanmak daya uygun olacaktır (4. Bölüm'de detaylı olarak tartışılmıştır). RCV değerini

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$ denklemini kullanarak hesaplamak kolaydır.

RCV'nin Hesaplanması Aşağıdaki formülü kullanarak referans değişim değerini hesaplayabiliriz.

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$

Z-skoru değerleri kolaylıkla bulunabilir ve yaygın olarak kullanılan değerler Tablo 3.3'te verilmiştir. Tek yönlü ya da çift yönlü RCV değerini isteyip istemediğimizi sorabiliriz. Sormamız gereken soru şudur: Sonucun değişip değişmediği ile mi (artmış ya da azalmış, yani çift yönlü), ya da artıp azaldığı ile mi (tek yönlü) ilgileniyoruz? Beklendiği gibi çift yönlü aralık tek yönlü aralıktan daha geniş olacaktır.

Olağan uygulamada genel değişim hakkında bilgi edinmek isteriz ve bu durumda çift yönlü Z-skorunu kullanırız. Az sayıda insan çift yönlü yaklaşım dışında herhangi bir şey kullanmıştır (bu kitaptaki örneklerde kullandığımız budur). Buna ilaveten, geleneksel olarak %95 olasılık anlamlı olarak kabul edilmektedir ve %99 olasılık da yüksek derecede anlamlı olarak kabul edilmektedir. Sonuç olarak, genellikle kullanılan uygun Z skoru değerleri 1.96 ve 2.58'dir.

CV_A analitik varyasyondur (analitik kesinlik). Her laboratuvarın iç kalite kontrol programı yardımıyla çalıştığı tüm analitlerin presizyonunu bildiğini

kabul etmemiz gerekir. İdeal olan, formülde birinci ve ikinci sonuçlar arasındaki ortalama değer için uygun CV_A değerinin kullanılmasıdır. Bununla birlikte, iç kalite kontrol genellikle analitlerin az sayıdaki düzeyleri için çalışılmaktadır. Bu düzeyler kritik karar verme noktaları olmalıdır çünkü buralarda en iyi performansı göstermemiz gerekir.

CV_I bireysel biyolojik varyasyondur (1. Bölüm'de verilen kaynaklardan ve yaygın kullanılan analitler için Ek 1'de kolaylıkla bulunabilir). Hesaplanan biyolojik varyasyon değerlerinin oldukça sağlam olduğunu söyleyebiliriz. Bu değerler farklı zamanlarda kullanılabilir ve coğrafik bölgeler arasında transfer edilebilir. Böylece her laboratuvar literatürde verilen değerleri kullanarak kendisi için uygun olan RCV değerini elde edebilir.

Anlamlı ve yüksek derecede anlamlı değişimler için RCV değerini hesaplamak aşağıda gösterildiği gibi gerçekten kolaydır.

- $2^{1/2}$ değerini kullan, çünkü iki numunemiz var.
- Anlamlı ve yüksek derecede anlamlı RCV için Z-skoru değeri olarak 1.96 ve 2.58 kullan.
- İç kalite kontrol programında uygun karar verme düzeyinde elde edilen CV_A değerini kullan.
- En güncel veri bankasındaki CV_I değerini kullan.

63 yaşındaki erkek hastayı hatırlayınız. Yaşam biçimdeki değişiklikler sonucu serum kolesterol konsantrasyonu 6.60 mmol/L'den 5.82 mmol/L'ye düşmüştü. Fakat gerçek soru şudur? 'Kolesterol konsantrasyonu anlamlı olarak değişti mi?'

Bu sorunun cevabını aşağıda verildiği gibi hesaplayabiliriz:

İlk değer = 6.60 mmol/L

İkinci değer = 5.82 mmol/L

Değişim = 6.60 - 5.82 = 0.78 mmol/L

Yüzde olarak (0.78/6.60)x100 =11.8'e eşdeğerdir.

Değişimin, ilk değerden farkın yüzde değeri olduğunu unutmayalım.

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$

$2^{1/2} = 1.414$

ve

Z = 1.96 anlamlı değişim için. Yani %95 olasılıkla meydana gelen bir değişim ($p<0.05$).

Z = 2.58 yüksek derecede anlamlı değişim için. Yani %99 olasılıkla meydana gelen bir değişim ($p<0.001$).

CV_A değeri laboratuvarın iç kalite kontrol çalışmalarından elde edilir. Bu kolesterol çalışmaları sırasında 6.91 mmol/L olan kontrol numunesi ile 201 çalışma yapıldı ve SD değeri 0.11 mmol/L olarak hesaplandı. Buradan

CV_A değeri (0.11/6.91) x 100 = %1.6 değeri elde edilir.

CV_I en son basılan veri bankasından elde edilmeli ve bu değer %6.0'dır. Böylece anlamlı bir değişim için

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$

$RCV = 1.414 \times 1.96 \times (1.6^2 + 6.0^2)^{1/2} = \%17.2$

ve yüksek derecede anlamlı değişim için

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$

$RCV = 1.414 \times 2.58 \times (1.6^2 + 6.0^2)^{1/2} = \%22.6$

Nitekim, iki sonuç farklı olduğu halde ve ikinci sonucun değeri birinciden düşük olmakla birlikte, en azından objektif istatistiksel bakış açısıyla, serum kolesterol düzeyinin anlamlı olarak ($p<0.05$) ya da yüksek derecede anlamlı olarak ($p<0.001$) değişmediğini söyleyebiliriz.

Test sonuçlarının dağılımı sayısal olarak göz önüne alındığında, bu bulgunun (serum kolesterol düzeyinin 6.60 mmol/L olması) 5.82 mmol/L olan bir serum kolesterol konsantrasyonundan anlamlı ya da yüksek derecede anlamlı olarak farklı olmadığını 'görebiliriz'. %95 dağılımın ± 1.96 SD ve %99 dağılımın da ± 2.58 SD olduğunu zaten gördük. Nitekim bu dağılım $(SD_A^2 + SD_I^2)^{1/2}$ bileşenlerinden oluştuğundan ve SD değeri CV'den kolaylıkla hesaplanabildiğinden, SD = (CV x ortalama değer)/100, aşağıdaki hesaplanmaları yapabiliriz:

- 6.60 mmol/L olan serum kolesterolünün %99 dağılımı 5.54 - 7.66 mmol/L'dır.
- 6.60 mmol/L olan serum kolesterolünün %95 dağılımı 5.80 - 7.40 mmol/L'dır.
- 5.82 mmol/L olan serum kolesterolünün %95 dağılımı 5.11 - 6.53 mmol/L'dır.
- 5.82 mmol/L olan serum kolesterolünün %99 dağılımı 4.89 - 6.75 mmol/L'dır.

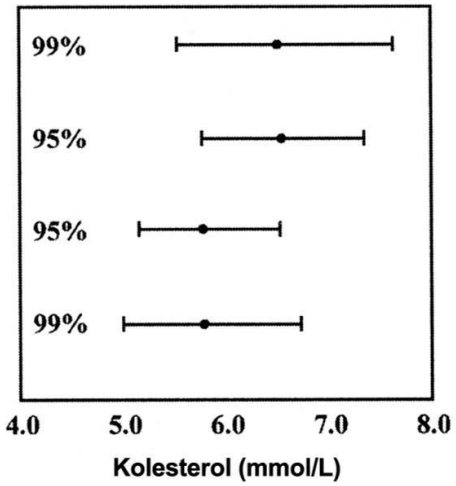
Dağılımlar presizyon ve bireysel biyolojik varyasyondan dolayı önemli ölçüde çakışmaktadır (Şekil 3.2'ye bakınız). Sonuçlar anlamlı ya da yüksek derecede anlamlı düzeyde farklı değildir.

'Rastgele' Bias Sorunu Örneğin, yeniden kalibrasyon, reaktiflerin lot numaralarının değişimi gibi etkenlerden kaynaklanan bias'taki rastgele değişimler zamanla test sonuçlarındaki varyasyona katkıda bulunmaktadır. Modern analitik sistemlerde bias'taki bu değişimler bazen presizyondan daha büyük olmaktadır. Kuşkusuz, mümkün olduğu zaman bias'ı elimine etmeliyiz ve biası kesin olarak minimum düzeye indirmek için yeniden kalibrasyonda kalite prosedürlerine titizlikle dikkat etmeliyiz.

Eğer iki ölçüm arasındaki bias değişimini belirleyebiliyorsak (bu değişime ΔB diyelim) bias'ı presizyona doğrusal olarak ekleyerek (toplam hata gibi) daha önce kullandığımız RCV formülünü daha sofistike hale getirebiliriz. Bu durumda RCV formülü aşağıda gösterildiği gibi olacaktır:

$$RCV = \Delta B + 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}.$$

Bununla birlikte, bias'taki bu değişimi zaman içinde sayısal olarak belirlemek gerçekten güçtür ve uzun zaman içinde 'rastgele bias' olarak adlandırılabilen bu değişimler iç kalite kontrol numunelerinin analizi sonucu elde edilen verilerin kullanılmasıyla hesaplanan presizyona sıklıkla dâhil edilmektedir.



Şekil 3.2 6.60 ve 5.82 mmol/L olan Serum Kolesterol Sonuçlarının %95 ve %99'luk Yayılımları

%95 ve %99'luk yayılımları ile birlikte test sonuçları. Sonuçlar anlamlı ya da yüksek derecede anlamlı değiller.

Karaciğer Fonksiyon Testleri için RCV Daha önceki örnekte kolesterol için yaptığımız gibi, RCV'yi kullanarak test sonuçlarının statin kullanmadan önceki değerleri ile kullandıktan 2 ay sonraki değerleri arasında fark olup olmadığını inceleyebiliriz.

Aşağıdaki formülü kullanarak RCV değerini hesaplayabiliriz ve karaciğer fonksiyon testleri için hesaplamaları kolaylaştıracak bir işlem tablosu hazırlayabiliriz.

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$.

Tablo 3.4'e gösterildiği gibi hesaplama için gerekli olan öğeleri ilgili bölümlere yazabiliriz.

Statin tedavisi alan 63 yaşındaki hastanın test sonuçları daha önceki Tabloda (Tablo 3.2) verilmiştir. Şimdi anlamlı değişimi Tablo 3.5'de gösterildiği gibi hesaplayabiliriz.

AST ve ALT aktivitelerindeki değişim anlamlı ($p<0.05$) ve yüksek derecede anlamlıdır ($p<0.01$). Tedaviden 2 ay sonraki aktiviteler (post-doz) tedavi öncesine göre (pre-doz) anlamlı değişim göstermiştir. Tedaviden sonraki değerler referans sınırları üzerinde değildir. Bu değerler tedaviyi kesmeye neden olacak klinik kriterlerin üzerinde değildir. Nitekim, seri ölçümlerin değerlendirilmesinde yorumlayıcı bir araç olarak RCV'nin kullanılması ile giderek artan bir değişimi önceden haber vermeyi sağladık ve bu artış sonraki 4., 6. ve 8. aylarda yapılan ölçümlerle de teyit edildi.

Tablo 3.4 Karaciğer Fonksiyon Testleri İçin RCV'nin Hesaplanmasında Kullanılan Verilerin İşlem Tablosu

Analit	2½	%95 için Z	%99 için Z	CVA (iç QC'den)	CVA (veri tabanından)	RCV: %95	RCV: %99
Albümin	1.414	1.96	2.58	0.8	3.1	8.6	11.7
ALP	1.414	1.96	2.58	1.4	6.4	18.1	23.9
Bilirübin	1.414	1.96	2.58	1.0	25.6	70.9	93.4
ALT	1.414	1.96	2.58	0.9	24.3	67.3	88.7
AST	1.414	1.96	2.58	1.1	11.9	33.2	43.8

Bir Değişimin Anlamlı Olma Olasılığı 63 yaşındaki erkek hastanın 6.60 mmol/L olan serum kolesterol konsantrasyonu, yaşam biçimindeki modifikasyonlarla, 'değişim' göstererek 5.82 mmol/L değerine düştü. Değişimin anlamlı olup olmadığını araştırırken kolesterol konsantrasyonunun ne anlamlı ($p<0.05$) ne de yüksek derecede anlamlı ($p<0.01$) düzeyde değişmediğini gösterdik.

Sonuçlar farklı görünmektedir. O zaman şu soruyu sormalıyız, herhangi bir değişimin anlamlı olma olasılığı nedir?

RCV değerini aşağıdaki formülü kullanarak hesaplıyoruz.

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$.

Şimdi, seri ölçümlerdeki değişimi bildiğimiz zaman, eğer olasılığı öğrenmek istiyorsak yapmamız gereken tek şey formülü basitçe yeniden düzenleyerek Z değerini bilinmeyen konumuna getirmektir.

$Z = \text{Değişim}/[2^{1/2} \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}]$.

Tablo 3.5 Seçilmiş Karaciğer Fonksiyon Testleri için Değişimin Anlamlılığının Hesaplanması

Zaman	Albümin (g/L)	ALP (U/L)	Bilirübin (umol/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)
Doz öncesi 2	42	82	12	14	18
2 ay sonra	40	86	9	27	24
Değişim (birim)	2	5	3	13	6
Değişim (%)	4.8	6.2	25.0	92.9	33.3
Anlam	NS	NS	NT	Çok Anlamlı	Anlamlı

63 yaşındaki hasta için yaşam biçiminin modifikasyonu ile kolesterol için aşağıdaki değerlendirme yapılabilir.

İlk değer = 6.60 mmol/L

İkinci değer = 5.82 mmol/L

Değişim = 6.60 - 5.82 = 0.78 mmol/L

Yüzde olarak (0.78/6.60)x100 =11.8'e eşdeğerdir.

Şimdi

$2^{1/2} = 1.414$

ve daha önce gördüğümüz gibi, CV_A laboratuvarın iç kalite kontrol değerlerinden elde edildi ve %1.6 idi ve CV_I de en güncel veri bankasından alındı ve %6.0 idi.

Bu durumda $Z = 11.8/[2^{1/2} \times (1.6^2 + 6.0^2)^{1/2}] = 1.35$

ve istatistik tablolarına baktığımızda yukarıdaki Z değeri (1.35) için değişimin gerçekten anlamlı olma olasılığının oldukça yüksek olduğunu görüyoruz: %82

Şu noktayı fark etmemiz gerekiyor: İstatistikçiler ve laboratuvar çalışanları geleneksel olarak %95 ($p<0.05$) ve %99 ($p<0.001$) düzeydeki olasılıkları kullanmayı seviyorlar ve bunlara *anlamlı* ve *yüksek derecede anlamlı* diyorlar. Klinik tıp, gerçek uygulamada çok geniş bir olasılık aralığını kullanmaktadır.

Örneğin, hoş olmayan bir tedaviye hatta pahalı bir incelemeye başlamadan önce serumdaki bir belirtecin konsantrasyonunda değişim meydana geldiğinden emin olmak isteyebiliriz. Çok yüksek düzeydeki olasılıklarla birlikte

diğer terimler *ikna, güvence, neden ve ispat*'tır. Bunlara, %99 olasılık gözüyle bakılabiliriz.

Diğer yandan, sadece yaşam biçimindeki modifikasyonlarla, 63 yaşındaki erkek hastamızın serum kolesterolünün değiştiğinin işaret edildiğinden mutluluk duyabiliriz. Bu durum, tedavinin hem risklerini hem de maliyetini elimine edeceğinden, hastanın bu yaklaşımını sürdürmesi konusunda kendisine tavsiyelerde bulunmamızı sağlayabilir. Düşük olasılık için önerilen diğer terimler *işaret etmek* ve *dikkat çekmek*'tir. Bunlara, %80 olasılık gözüyle bakılabiliriz.

Zamanında, önermek, tavsiye etmek, ileri sürmek gibi aradaki terimlere, %95 olasılığa eşdeğer gözüyle bakılabiliriz.

Olası ve *birini inandırmaya yöneltme* gibi diğer terimler %90 olasılık için kullanılabilir.

Buradaki sorun, farklı insanların, farklı ortamlar, farklı durumlar, farklı düzeylerdeki olasılıklar için farklı anlamlara gelen terimler kullanmalarıdır. Sonuç olarak, test sonuçlarındaki bir değişimin sadece istatistiksel olarak anlamlı olmadığı için klinik olarak da önemli olmadığını iddia etmemeliyiz. Diğer yandan test sonuçlarındaki bir değişim istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı olabildiği halde klinik bir işlemin yapılmasını zorunlu kılmayabilir.

UYGULAMADA HASTA TAKİBİNİN KALİTESİ

Bir bireyin seri ölçümlerindeki değişimlerin anlamlı olup olmadığını belirlemek için RCV'yi kullanıyoruz. Seri ölçümlerdeki değişimin anlamlı olma olasılığını belirlemek için RCV formülünü yeniden düzenleyebiliriz. Kolaylıkla elde edilebilen verilerden bunları hesaplamak oldukça basittir. Laboratuvarların bu basit araçları günlük çalışmalarda kullanmaları gerekir. Bu nedenle RCV'yi etkileyen faktörleri ve laboratuvar hizmetlerinden faydalananların test sonuçlarını yorumlamak için bu araçları gerçekten kullandıklarından emin olmak için elimizdeki stratejileri incelememizde yarar vardır.

Presizyon ve RCV Referans değişim değeri için kullandığımız formülü hatırlayınız.

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}$.

$2^{1/2}$ faktörünün sabit olduğunu biliyoruz (1.414). Z değeri kullanılan olasılığa bağlı olan bir sabittir. CV_I'nın, en azından görünürde sağlıklı olan ve stabil olan kronik hastalarda, sabit olduğu kabul edilebilir. Bu durumda eğer RCV değerini düşürmek istiyorsak, başka bir ifade ile seri ölçümlerdeki küçük

bir değişimin anlamlı olmasını istiyorsak, sahip olduğumuz tek seçenek olan CV_A'nın düşürülmesidir. Analitik presizyonu düşürmek zorundayız. Bunu yaparken 'sinyal'e oranla 'gürültü'yü daha az önemli yapıyoruz.

63 yaşındaki erkek hastanın serum kolesterol düzeyinin ilk analizde 6.60 mmol/L ve ikinci analizde de 5.82 mmol/L olduğunu ve laboratuvarda ulaşılan presizyona göre hesaplanan RCV değerinin de (%95 olasılık için) kolesterol için %17.2 olduğunu hatırlayınız. Tablo 3.6, kolesterol için presizyonun RCV'ye etkisini göstermektedir. Bunu hesaplamak kolaydır, çünkü kolesterol için $2^{1/2}$ değeri 1.414, $p<0.05$ için Z 1.96 ve CV_I değeri de %6 olduğundan

$$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2} = 2.77 \times (CV_A^2 + 36)^{1/2}$$

bu denklemden aşağıdaki sonuçları çıkarabiliriz:

- Zayıf presizyon RCV'yi artırır.
- İyi presizyon RCV'yi düşürür.
- RCV presizyonla doğrusal olarak ilişkili değildir.
- İhmal edilebilir düzeydeki düşük presizyonda bile RCV, CV_I tarafından sınırlandırılmaktadır. RCV çok yüksek olabilir.
- Doğal olarak CV_I değeri yüksek olan analitlerin RCV değerleri de yüksek olacaktır.

Tablo 3.6 Presizyon ve Referans Değişim Değeri

CV_A	RCV
0.0	16.6
1.0	16.8
2.0	17.5
3.0	18.6
4.0	20.0
5.0	21.6
6.0	23.5
7.0	25.5
8.0	27.7
9.0	30.0
10.0	32.3

63 yaşındaki hastanın kolesterolündeki %11.8 olan değişimin anlamlı olma olasılığı oldukça yüksekti. %82 olasılıkla ($p<0.18$) bu değişim anlamlı idi. RCV formülünü basitçe yeniden düzenleyerek bu olasılığı hesapladık. Tekrar belirtmekte yarar vardır, bir değişimin anlamlı olma olasılığı presizyona bağlıdır.

Bu örnek için, kolesteroldeki değişimin %20 olduğunu ele alalım ve aşağıdaki formülü kullanalım.

$Z = \text{Değişim}/[2^{1/2} \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}]$.

$2^{1/2}$ faktörü bir sabittir (1.414), CV_I de bir sabittir ve %6.0'a eşittir. Değişim %20 de sabittir. Bu durumda, presizyona bağlı olarak değişken olan Z değeridir ve olasılık değeri değişkenlik gösterecektir. Tablo 3.7'de impresizyonun %20'lik değişimin anlamlı olma olasılığı üzerindeki etkisini göstermektedir. Z değeri aşağıdaki denklemin kullanılmasıyla hesaplandı.

$Z = 20/[1.414 \times (CV_A^2 + 36)^{1/2}]$.

Tüm bu bilgilerden aşağıdaki sonuçları çıkarabiliriz:

- Zayıf presizyon değişimin anlamlı olma olasılığını düşürür.
- İyi presizyon değişimin anlamlı olma olasılığını artırır.
- Değişimin olasılığı, presizyonla direkt ve doğrusal olarak ilişkili değildir.
- Değişimin olasılığı CV_I ile sınırlandırılmaktadır ve presizyon ihmal edilecek düzeyde olsa bile olasılık %100 olmayacaktır.
- CV_I değeri yüksek olan analitlerde küçük değişimlerin anlamlı olma olasılığı düşük olacaktır.

Tablo 3.7 Serum Kolesterolündeki %20'lik Değişimin Anlamlı Olması Durumunda Presizyon ve Olasılık Değerleri

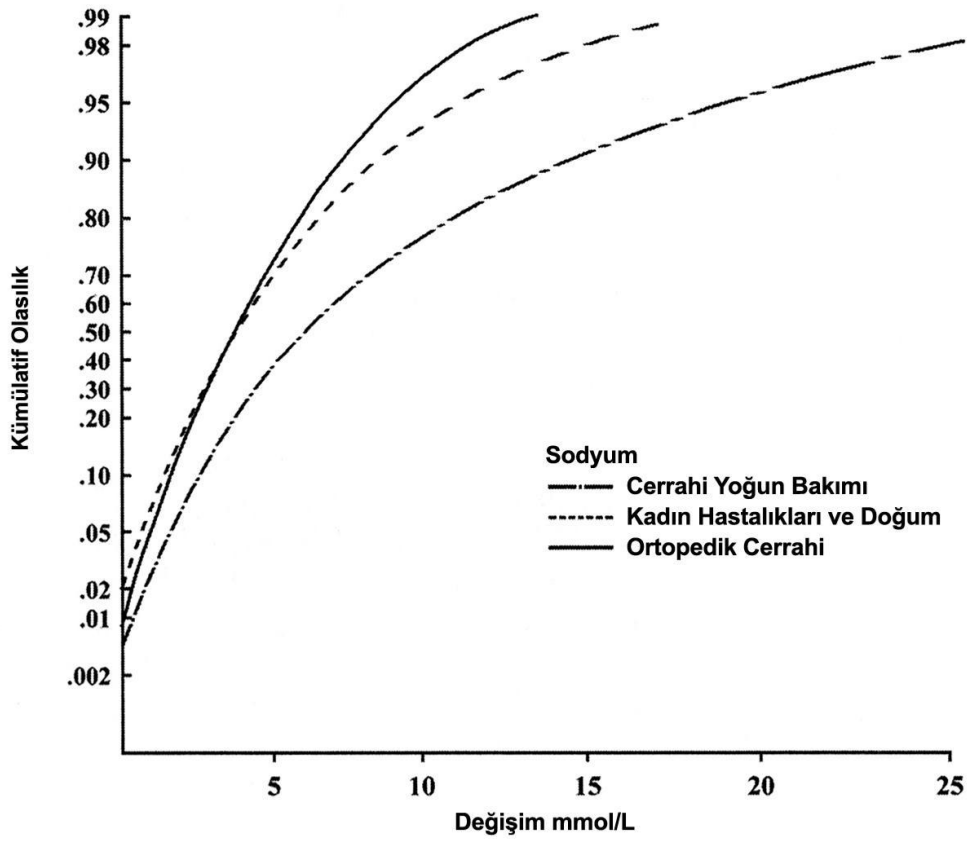
CVA	Z	Olasılık
0	2.36	98.2
1.0	2.33	98.0
2.0	2.24	97.5
3.0	2.11	96.5
4.0	1.96	95.0
5.0	1.81	93.0
6.0	1.66	90.3
7.0	1.53	87.4
8.0	1.41	84.1
9.0	1.31	81.0
10.0	1.21	77.4

RCV ile İlgili Potansiyel Problemler RCV değerini hesaplamak için sağlıklı görünen kişilerden elde edilen bireysel biyolojik varyasyonun ortalama değerlerini kullandık. Genel olarak, zaten literatürde bulunan değerleri kullanıyoruz.

Bu yaklaşımın bazı teorik dezavantajları vardır. Birincisi takiplerin çoğu hastanede yatan hastalarda yapılmaktadır. Gerçekten hasta olan bu kişiler sıklıkla yoğun bir tedavi almaktadır. Gerçek hasta olan insanlar üzerinde yapılan az sayıda çalışmanın sonuçlarına göre, gerçek hastalardaki bireysel biyolojik varyasyon değerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olması şaşırtıcı değildir.

Hastanelerin farklı birimlerinde yatan hastaların bireysel biyolojik varyasyonu, hastaların hastalık durumu ve aldıkları tedavinin yoğunluğuna bağlı olarak değişim göstermektedir. Şekil 3.3'te bir örnek gösterilmiştir. Grafikte, hastaların beklenen oranı kümülatif olasılık olarak gösterilmiştir, başka bir ifade ile serum sodyumundaki bir değişimin %95 olasılıkla anlamlı olma olasılığına sahip hastaların toplam içindeki değeri.

En az 4 gün boyunca günlük alınan numuneler, cerrahi yoğun bakımdaki hastaların serum sodyumunun ortopedik cerrahi ya da obstetrik ve jinekoloji hastalarına göre daha fazla değiştiğini göstermiştir.



Şekil 3.3 Farklı klinik birimlerde, serum sodyumundaki bir değişimin %95 olasılıkla anlamlı olması beklenen hastaların toplam hastalara oranı (toplamın fraksiyonu olarak). (Boyd JC, Harris EK. Utility of reference changes for the monitoring on inpatient data. In: Zinder, O, ed. Optimal use of clinical laboratory. Basel, Switzerland, Karger, 1986. yazarların izni ile uyarlanmıştır)

Sonuç olarak sağlıklı popülasyonun RCV değerlerinin kullanılması hastanelerde yatan pek çok hastanın test sonuçlarındaki değişimin anlamlı görünmesine yol açacaktır. Bu değişimler 'yanlış pozitif' olarak değerlendirilebilir, çünkü bu hastalardaki gerçek RCV değerleri sağlıklı bireylere göre daha yüksek olacaktır. Bununla birlikte, genellikle bir değişime dikkat çekmek ve daha sonra değişim kriteri olarak popülasyona dayalı referans değerlerinin ya da sabit limitlerin kullanılmasına göre bu değişimin klinik olarak önemli olmadığına kara vermek - sonuçlardaki ilginç değişimi kaçırmaya göre daha doğru olduğu kabul edilmektedir.

Literatürde basılı olan RCV'nin kullanılmasının ikinci bir dezavantajı da çalışılan bireylerden elde edilen değerlerin Gaussian dağılım gösterdiğinin genel olarak kabul edilmesidir. Bu model varyasyonun gerçek anlamda rastgele olduğunu varsayar. Bunun anlamı, sonuçlar arasında herhangi bir korelasyonun bulunmadığını kabul etmemizdir.

Eğer analizlerin yapıldığı numunelerin alımları orta ya da uzun süreli ise bu varsayım makul sayılabilir. Bununla birlikte eğer analizler günde bir kaç kez ya da günlük alınan numunelerde yapılıyorsa - bu durum hastanede yatan ve gerçekten hasta olan kişilerde yapılan analizlerde görülür -seri korelasyonların görülmesi (bu varsayımı destekleyen veriler vardır) muhtemeldir.

Buna ilaveten, bazı çalışmalar özellikle ardışık ölçümler arasındaki korelasyonu incelemiş ve oto-korelasyonun bulunduğunu göstermiştir. Oto-korelasyon CV_I değerinin ve buna bağlı olarak da RCV'nin daha düşük görünmesine neden olur. 'Sağlıklı' bireylerin RCV değerlerinin kullanılması bu hastaların testlerinde daha az sıklıkla anlamlı değişimlerin olduğunu gösterecektir. Bu değişimlere 'yanlış negatifler' diyebiliriz.

Bu iki etki birbirlerini dengeleme eğiliminde olacaktır. Böylece, bu kitapta detaylı olarak anlatılan kolay yöntemle hesaplanan RCV'nin geniş kapsamlı olarak kabul gördüğünü söyleyebiliriz.

RCV'nin hesaplanması ile ilgili olası üçüncü bir sorun da genellikle bireysel biyolojik varyasyonun ortalamasını kullanmamızdan kaynaklanıyor. Fakat insanların CV_I değerleri farklıdır, bazılarının büyük, bazılarının da küçüktür. Bireysel biyolojik varyasyonun 'heterojen'liğini çok farklı istatistiksel tekniklerle inceleyerek bu durumu araştırabiliriz. Neyse ki, pek çok analit için CV_I değerlerinde gözlenen varyasyonun sadece bekleyebileceğimiz değerler olduğunu söyleyebiliriz: Bu varyasyonlar basit istatistiksel düzensizlikleri yansıtmaktadır.

Bununla birlikte, RCV'yi hesaplamak için CV_I'nin ortalaması dışındaki değerleri kullanabiliriz: Örneğin bazı araştırmacıların önerdiği gibi 90.

persentili kullanabiliriz. Kuşkusuz bu durum RCV değerinin yükselmesine neden olacaktır. Böylece, eğer daha büyük olan RCV'yi kullanacak olursak '*yanlış pozitif*'lerin sayısı azalacak ve anlamlı görünen herhangi bir değişim çok önemli olacaktır. Olağan olan ortalama değere göre hesaplanan (ve bu nedenle daha küçük) RCV'yi kullandığımız zaman ise '*yanlış pozitif*'leri elde etme eğiliminde olacağız. Bununla birlikte bir değişime dikkat çekmenin ve daha sonra büyük olan RCV'lere göre bunun önemli olmadığına karar vermenin (ve ilginç değişimleri kaçırmanın) daha yararlı olduğunu düşünüyoruz.

Uygulamada RCV Kolaylıkla ulaşılabilen verilerden RCV'yi hesaplamak kolaydır. Birkaç yolla bunu uygulamaya sokabiliriz.

Kullanıcı Kılavuzları veya Laboratuvar El Kitapları. Ulusal ve uluslararası kılavuzlar bu tür kitap ve kılavuzların neleri içermesi gerektiği hakkında bilgiler vermektedir. Sofistike Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemlerine (LBYS) sahip olmayan laboratuvarlar için, bireylerin seri ölçümlerindeki değişimlerin anlamlılığı hakkında bilgi elde etmek amacıyla kullanıcı kılavuzlarının hazırlanması en kolay yol olabilir. Tüm laboratuvarların %95 ve %99 olasılık için basit RCV listelerini hazırlamaları kolay olacaktır.

RCV genellikle değişimin yüzdesi olarak hesaplanır. Sorunlardan biri de test sonuçlarının kullanıcılara uygun birimlerle birlikte basit sayılar olarak verilmesidir. Hasta başında, klinikte ya da cerrahi servislerinde bu yüzdeleri hesaplamaları kullanıcılara zor gelmektedir.

RCV'yi hesaplamak için SD'yi kullanabiliriz. Laboratuvarın impresizyonu, klinik karar verme düzeyindeki iç kalite kontrol programından elde edilir. Bu değerler sodyum, klorür, potasyum veya kalsiyum gibi düşük ve yüksek değerlerin klinik olarak eşdeğer önem taşıdığı testler için referans aralığın orta noktası; Alkalen fosfataz, ALT ve amilaz gibi enzim aktivitelerinde ve bilirübin gibi yüksek değerlerin çok daha önemli olduğu testler için üst referans sınır; albüminde olduğu gibi analit düzeyindeki azalmanın klinik olarak daha önemli olduğu testler için de alt referans sınırı olmalıdır. Kolesterolde olduğu gibi test sonuçlarının yorumlanmasında sabit sınırların kullanıldığı durumlarda bu sınırların klinik karar verme için uygun olmaları gerekir.

Formülde kullanılan CV_A'nın sabit olduğu kabul edilmektedir. Oysa uygulamada, özellikle yeniden kalibrasyon yapıldığında bias'ta anlamlı değişiklik meydana geldiğinde, bu öyle olmayabilir. RCV değerimizi yeniden değerlendirmeyi ve değiştirmeyi istemeyiz. Bu durum presizyonu minimuma indirgenmek ve zaman içinde bias'daki değişimleri elimine etmek için yapılan

çalışmaların başka bir nedenidir. Daha sonra veri tabanından alınan CV_I klinik karar verme düzeyi için kolaylıkla SD değerine dönüştürülür.

$$SD = \frac{CV\ x\ Seçilen\ düzey}{100}$$

Son aşamada bu veriler kullanılarak RCV elde edilir.

Bu yaklaşımı kullanarak farklı karar verme düzeyleri için birim cinsinden RCV değerlerini hesaplayıp Laboratuvar El Kitabımız için kapsamlı listeler hazırladık. Tablo 3.8'de bu çalışmanın bir kısmı gösterilmiştir.

Tablo 3.8 Seri Ölçümlerdeki Anlamlı Değişimler: Kullanıcı Kılavuzu ya da Laboratuvar El Kitabı İçin Hazırlanan Kapsamlı Tablodan Bir Örnek.

		Artış ya da Azalışın Anlamlı Olma Olsaılığı (%)					
Analit	**Birim**	**60**	**70**	**80**	**90**	**95**	**99**
Albümin	g/L	<1	1	2	3	4	6
ALP	U/L	4	9	13	20	26	36
ALT	U/L	3	5	8	13	16	23
Amilaz	U/L	2	5	8	13	16	23
Bilirübin	umol/L	<1	1	2	3	4	6
Kalsiyum	mmol/L	0.02	0.04	0.06	0.09	0.12	0.17
Klor	mmol/L	1	2	3	4	5	7
Kolesterol	mmol/L	0.2	0.3	0.5	0.8	1.1	1.5

Bu tablonun pek çok kullanıcı için çok kompleks olduğunu düşünüyorum. Bu nedenle %95 ve %99 olasılığı kapsayan (klinik olarak anlamlı ve yüksek derecede anlamlı) basit bir listenin pek çok avantajının olacağını ve daha yaygın kullanılacağını söyleyebilirim.

Grafiksel yaklaşım. Genellikle grafikler tablolardaki sayısal verilerle aynı bilgiyi verirler fakat format olarak daha kullanışlı ve kullanıcı için daha kolay ve anlaşılır araçlardır. Herhangi bir analit için değişim olasılığına karşı değişimi gösteren grafikler hazırlamak oldukça kolaydır (herhangi bir değişimin olasılığını, RCV formülünü yeniden düzenleyerek kolaylıkla hesaplayabiliriz). Olasılıkla ilgili bir grafik (kolesteroldeki değişim yüzdesinin anlamlı olması olasılığına karşı) Şekil 3.4'e gösterilmiştir. CV_A'nın %3.0 ve CV_I'nın da %6.0 olduğu kabul edilmiştir.

Böyle bir grafik, daha önce de gösterildiği gibi SD kullanılarak mmol/L cinsinden düzenlenebilir. Tüm hesaplamaları sabit klinik karar verme sınırı olan 5 mmol/L için gerçekleştirerek bu grafiği oldukça kullanışlı hale getirebiliriz.

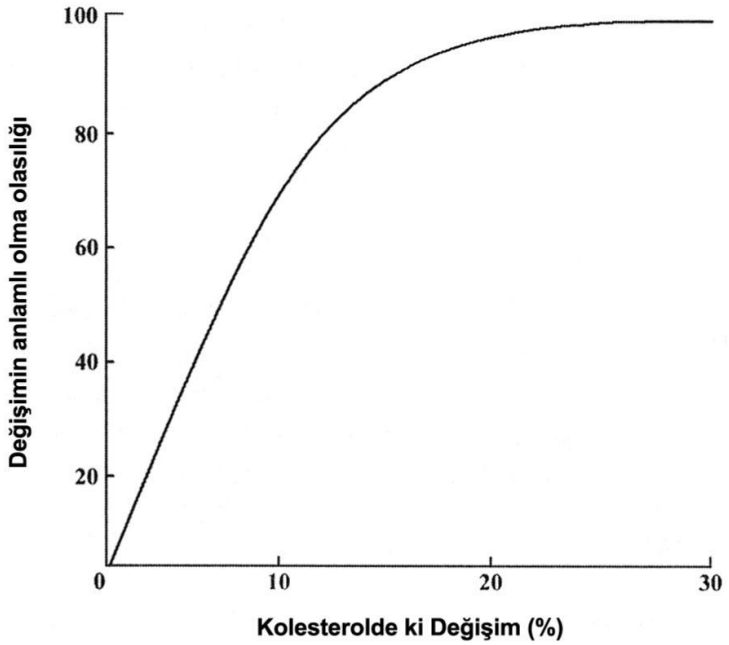
Bununla birlikte bu yaklaşımın sorunu şudur: Y-ekseni için birim cinsinden hesaplanan değişim, X-eksenindeki sadece 5 mmol/L'deki değişim için gerçekten doğru olacaktır. Grafikler için yüzdelikler ve CV'nin kullanılmasının daha çok avantajları bulunmaktadır.

Bu tür grafiklerin yararları kullanımlarının kolay olmasıdır. Buna ilaveten bu tür grafikler çok daha önemli bir konuya dikkat çekmektedirler: Değişimin anlamlı olma olasılığı değişimle doğru orantılı değildir. Sonuçlardaki değişimin ikiye katlanması, değişimin anlamlı olma olasılığını iki kat değiştirmez.

En önemli dezavantajı, klinisyenler ilgilendikleri analitlerin sadece bir kısmı için bu tür yaklaşımları kullanabileceklerdir.

Raporların Yorumunda RCV. Laboratuvar El Kitapları veya Kullanıcı Kılavuzları için tablolar hazırlamak kolaydır. Benzer şekilde yüzdelik değişime karşı değişimin anlamlı olma olasılığını gösteren grafikler hazırlamak da kolaydır. Bununla birlikte bunların dezavantajları vardır. Her gün kullandığımız klasik popülasyona dayalı referans değerler ve klinik olarak anlamlı olduğunda kullandığımız sabit sınırlar gibi RCV değerlerini kullanma gereksinimi de duyarız.

Ninewells Hastanesi ve Tıp Fakültesinde (Dundee, İskoçya) klinisyenlerin laboratuvar sonuçlarını yorumlamalarına yardımcı olmak amacıyla raporlarda işaretler kullanıyoruz (Bakınız Şekil 3.5).



Şekil 3.4. Test sonuçlarındaki değişimlerin anlamlı olma olasılığını gösteren grafik.

BIOCHEMICAL MEDICINE DMR 374

NINEWELLS HOSPITAL AND MEDICAL SCHOOL Telephone 660111 Ext 32601/2

Name: Sex: PID DoB:
Lab No:

N/W Ward 20 Clinician: Dr

SODIUM	138	*	mmol/L	(	135-147)
POTASSIUM	5.0		mmol/L	(	3.5-5.0)
UREA	9.5	**	mmol/L	(	3.3-6.6)
CREATININE	137	>	umol/L	(	50-100)
ALT	19		U/L	(	12-41)
BILIRUBINS	100	>>	umol/L	(	0-15)
ALKALINE PHOSPHATASE	130	>	U/L	(	20-80)
ALBUMIN	23	<<	g/L	(	36-50)
CALCIUM	2.27	**	mmol/L	(	2.10-2.55)
CALCIUM (CORRECTED)	2.68	*	mmol/L	(	2.10-2.55)
MAGNESIUM	0.82	**	mmoL/L	(	0.70-1.15)
PHOSPHATE	0.93		mmoL/L	(	0.90-1.70)
C-REACTIVE PROTEIN	192.0	*	mg/L	(	up to 5)

Lab.Comments: Sample Date/Time
30 Aug 2000

Request Entered: 30 Aug 2000 08:51 Report Printed:

REPORT RECEIVED

DOCTOR'S INITIALS

Şekil 3.5 RCV kullanımını gösteren laboratuvar raporlarından bir örnek.

Bu sonuçlar yoğun bakım servisinde yatan ve ciddi subaraknoid kanaması olan 50-yaşındaki bir kadına aittir. Tavsiye edildiği gibi raporlarımızda testlerin tam adını, sonucunu, kullanılan birimlerini ve yaş ve cinsiyet uyumlu referans aralıklarını vermekteyiz.

Raporlarda aşağıdaki işaretleri kullanmaktayız:

- > Sayısal olarak üst referans sınırından yüksek olmakla birlikte klinik olarak anlamlı olmayabilir.
- < Sayısal olarak alt referans sınırından düşük olmakla birlikte klinik olarak anlamlı olmayabilir.
- >> Sayısal olarak üst referans sınırından yüksek olup muhtemelen klinik olarak anlamlıdır.
- << Sayısal olarak alt referans sınırından düşük olup muhtemelen klinik olarak anlamlıdır.
- * değişim anlamlı (%95)
- ** değişim yüksek derecede anlamlı (%99)

Bu işaretler laboratuvar bilgi sistemleri tarafından raporlarda gösterilmektedir. * ve ** daha önce gösterildiği gibi RCV formülü kullanılarak hesaplanmaktadır.

Bu tür işaretlerin kullanılmasının bazı önemli avantajları bulunmaktadır:

- Çok sayıda hastadan elde edilen büyük veriler içinde önemli olan bilgileri kolaylıkla seçmemize yardımcı olur.
- Klinisyenlerin farklı zamanlarda alınan numunelerde yapılan ölçümlerin sonuçlarında görülen aşağıdaki değişimleri anlamalarına yardımcı olur:
  - Tüm seri ölçüm sonuçları referans aralık içinde olduğu halde anlamlı değişimler görülebilir.
  - Test sonuçlarındaki herhangi bir değişim anlamlı olmayabilir.
  - Test sonuçları referans aralığın içinden dışına ya da dışından içine doğru anlamlı olmayan değişim gösterebilir.

Bu tür işaretlerin kullanılmasının şöyle bir dezavantajı da olabilir: İşaretler laboratuvarlar tarafından testler için yüksek, düşük ve normal (işaretsiz) şeklinde uyarlanmış ve pek çok LBYS programlarında bulunmaktadır. Bu işaretler, zorlukla elde ettiğimiz iyi presizyon ve düşük bias ile test sonuçlarını basitçe üç kategoriye ayırmaktadır. Dundee'de uyguladığımız sistem test sonuçlarını daha çok sınıfa ayırarak basit yorumlamayı güçleştirmektedir.

Ancak test sonuçlarındaki anlamlı değişimler hakkında klinisyeni objektif olarak bilgilendirmek laboratuvar sonuçlarının klinik değerlerini artıracaktır.

Delta Çek ve RCV Hastaların verileri, test sonuçlarının üretiminde kullanılan sistemlerin kalitesini izlemek için çok farklı şekillerde kullanılabilir. Bu yöntemler Cembrowski ve Carey tarafından çok iyi tanımlanmış olup 'Delta-Çekleri' içermektedir. Günümüzde, Delta Çek'in (Δ Çek) bazı türleri pek çok LBYS programına uyarlanabilmektedir.

Delta Çek'in temel prensipleri aşağıda sıralanmıştır:

- Eğer hasta stabil ise sonuçlardaki değişim yani delta değerleri (Δ değerleri) küçük olmalıdır.
- Eğer Δ değeri büyük ve önceden tanımlanmış sınırdan yüksek ise Δ Çek'in kusurlu olduğu kabul edilir ve bu durumda
  - Hastanın test sonucunda gerçek bir değişimin meydana geldiği ya da numunelerden birinin (birinci ya da ikinci numune) hatalı olduğu kabul edilir.

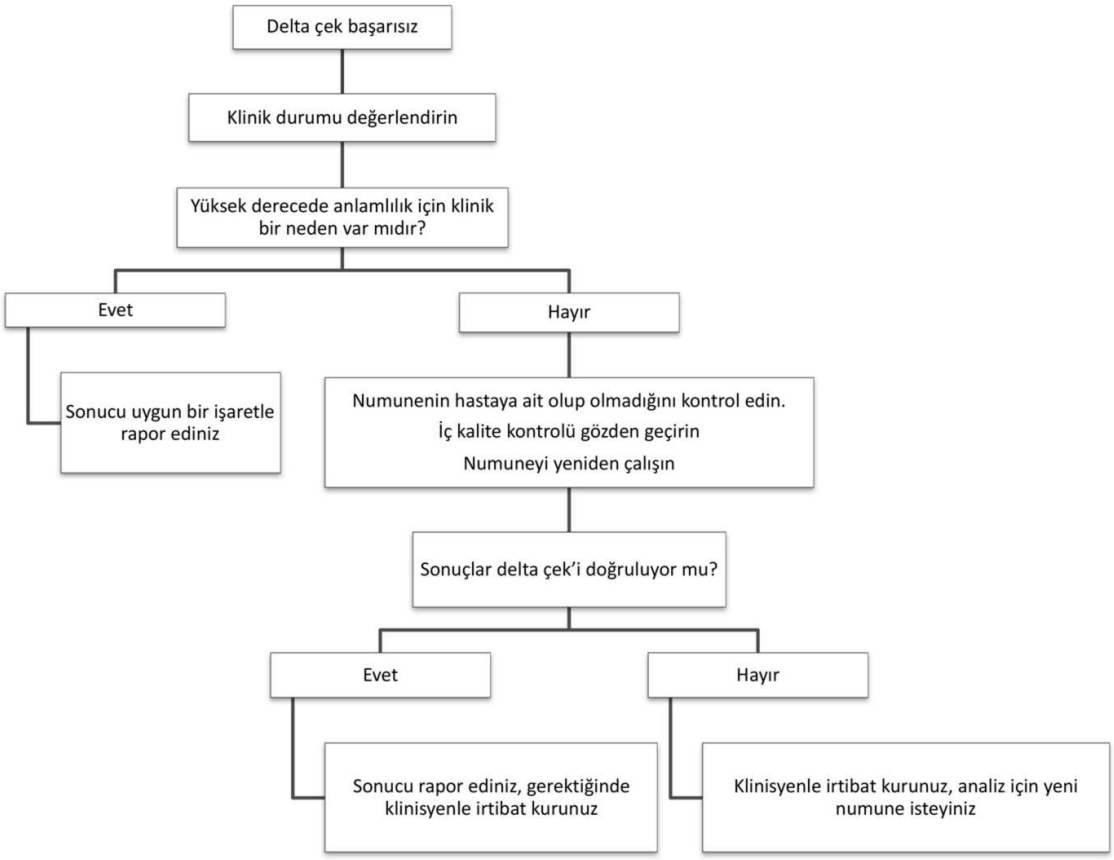
Delta çek değeri klasik olarak iki yöntemle elde edilir. Birincisi 'bilimsel' olandır ve çok sayıda ardışık çift çalışılan hasta değerleri içermektedir. Bu veriler delta çek değerlerini uygulayacağımız hasta verilerine benzemektedir. Daha sonra delta değerlerini hesaplayarak fekans dağılım histogramında göstermeliyiz. Bu arada %5 ya da %1 Δ-değerlerini vurgulamak için kullanacağımız Δ-çek değerlerini hesaplamalıyız. İkinci yaklaşımda ise Δ-çek değerleri ampirik olarak deneyimlere dayanarak belirlenir. Bu değerler zamanla çok sayıda Δ-çek başarısızlığına neden olmamak için kullanılabilir.

Daha önce bahsedildiği gibi bireylerin seri ölçümlerdeki değişimlerin anlamlı (%95) ya da önemli derecede (%99) değiştiğini göstermek için RCV değerini kullanmanın çok önemli avantajları bulunmaktadır. RCV değerini Δ-çek için de kullanabiliriz. Dundee'deki laboratuvarımızda RCV klinik işaretlerini Δ-çekler için kullanıyoruz. CV değerindeki değişimle yüzedelik olarak ve SD değerindeki değişimle de nümerik olarak RCV değerini hesaplayabiliriz. Pek çok LBYS programı bu formatların herhangi birinde hesaplanan Δ-çekleri kabul etmektedirler.

Kendi LBYS programımızda * işaretini sonuçlardaki anlamlı değişim için ve ** işaretini de önemli derecede değişim için kullanıyoruz. ** (<< ya da >>) işaretleri bulunan testlerin sonuçları klinik biyokimyacı tarafından değerlendirilmektedir. * işaretli testlerin sonuçları (< ya da > işaretli veya referans aralığında bulunup ve anlamlı değişim olmayan işaretsiz sonuçlar) herhangi bir işlem yapılmadan kullanıcıya verilmektedir. Normal, hafif anormal ve %95 anlamlı değişim olan sonuçların otomatik raporlanması 'muafiyet raporlaması' olarak kabul edilmektedir ve bu uygulama sayesesinde incelemeye gereksinim duyulan testlerin sayıları azalmıştır.

Eğer bir testin sonucu ** işaretli ise Δ-çek sınırının aşıldığı kabul edilir. Hasta değişmiş olabilir veya sonuçlardan birinde bir hata olabilir. Cembrowski ve Carey Δ-çek başarısızlığını değerlendirmek için çok kapsamlı bir algoritma geliştirdiler. Bu algoritmanın temel basamaklarını gösteren çok basit bir versiyonu Şekil 3.6'da verilmiştir.

Aslında, eğer Δ-çek değeri klinik durumla uyumlu ise en son sonucu rapor ederiz. Aksine eğer Δ-çek değeri klinik durumla uyumlu değilse, numune yeniden analiz edilmelidir. Bu durumda porsiyonlanmış numune değil, hastadan alınan orijinal tüpteki numune analiz edilmelidir. Eğer uygun olmayan Δ değeri konfirme edilirse RCV'ye göre değişim önemli derecede anlamlı olacaktır ve bu durumda konu testin istemini yapan ile laboratuvar çalışanı arasında tartışılmalıdır. Klinik durum ve laborartuvar test sonucu arasında görünen sorunu çözmek için yeni bir numunenin alınması sıklıkla tavsiye edilmektdir.



Şekil 3.6 Delta çek başarısızlığı durumunda izlenecek yol için basit bir algoritma.

Kullanımda olan LBYS programlarının kapasitelerini Δ-çek işlemlerini gerçekleştirecek şekilde kapasitelerini kullanmaları için gerekli girişimlerde bulunmalıyız. %99 olasılıktaki RCV değerini Δ-çek olarak kullanmalıyız. Kullandığımız LBYS programının seri ölçümlerdeki değişimleri işaretle göstermesi için Δ-çek değerini kullanmasını sağlamalıyız. Bu işaretler laboratuvar çalışanlarının bu verileri kalite yönetimi amacıyla kullanmasından ziyade hastaların test sonuçlarını gösteren raporlarda bulunmalıdır.

Zaman Serileri Analizi Daha önce, serum kolesterol konsantrasyonunu düşürmek amacıyla statin kullanan 63 yaşındaki hastanın karaciğer fonksiyon testlerindeki değişimi incelemiştik.

Test sonuçlarının zaman içinde sabit olmadığını gözlemlemiştik. Rastgele varyasyon beklemiştik. Sanki serum AST aktivitesi artıyor gibi görünüyordu. Serum AST aktivitesi için RCV değerini %95 olasılık için (anlamlı değişim) %33.2 ve %99 olasılık için (yüksek derecede anlamlı değişim) de %48.3 olarak hesaplamıştık.

Serum AST aktivitesinin sonuçları Tablo 3.9'da verilmiştir. Seri ölçümlerde, ardışık sonuçlar arasındaki değişimlerin anlamlılığı da tabloda gösterilmiştir.

AST aktivitesinin sonuçları zaman içinde artarak 8 ay sonra bazal değer olan 16 U/L'den 69 U/L'ye çıkmasına rağmen bu değişimlerden ikisinin anlamsız, ikisinin anlamlı ve sadece birinin önemli derecede anlamlı olduğu görülmektedir.

Fakat açıkça yukarı doğru bir artış trendinin olduğu görülmektedir. Eğer 4, 6 ve 8. aylardaki sonuçları bazal değerlerle karşılaştıracak olursak değişimlerin önemli derecede anlamlı olduğu görülecektir. Burada şu soruyu sormamız gerekir: Zaman içindeki değişimleri değerlendirmek için RCV'den daha sofistike teknikleri kullanabilir miyiz?

Bireylerin seri ölçüm sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılmak özere matematiksel modeller geliştirilmiştir. Buna bazen zaman serileri analiz metodu da diyoruz. Eugene Harris bu metotları inceleyerek özellikle kısa serilere uyarlanabilen ikisinin dikkate değer olabileceğini belirtti.

Modellerden biri 'homeostatik model' olarak bilinmektedir. Bu model, analitin rastgele bir davranış gösterdiğini ve bireyin homeostatik karar noktasına sahip olduğunu varsaymaktadır. Buna karşılık diğer model 'rastgele seyir' (random walk) olarak bilinir ve analitin rastgele bir davranış gösterdiğini fakat gerçek bir homeostatik karar noktasının bulunmadığını varsaymaktadır.

Tablo 3.9 Statin Tedavisi Alan Bir Hastanın Serum AST Aktivitesi

Zaman	AST (U/L)	Değişim (U/L)	Değişim yüzdesi	Anlamlı	İşaret
Doz öncesi 1	16		-	-	-
Doz öncesi 2	18	+2	12.5	<95%	yok
2 ay sonra	24	+6	33.3	>95%	*
4 ay sonra	40	+16	66.7	>99%	**
6 ay sonra	54	+14	35.0	>95%	*
8 ay sonra	69	+15	27.8	<95%	yok

Bu modeller yaygın bir şekilde kullanılmadı. Düzenli olarak sağlık kontrolünden geçen bireyler gibi görünürde sağlıklı olanlar üzerinde bu modelleri uygulayanlar çok sayıda yanlış pozitif sonucun olduğunu gördüler. Pek çok sonucun anlamlı olarak değiştiğini gösteren işaretler olmasına rağmen bu bireylerin sağlık durumlarının değiştiğini ya da hastalıkların bulunduğuna dair bir kanıt bulunamadı. Genel kanı bu metotların çok kompleks olduğu, günlük laboratuvar ve klinik pratiklerde kullanımının çok zaman alıcı olduğu yönündedir.

ÖZET

Aşağıda sıralanan anahtar noktaları bu bölümde inceledik:

- Test sonuçları çoğunlukla bireylerin zaman içindeki takipleri olmak üzere pek çok amaç için kullanılmaktadır.
- Takip, bireylerin seri ölçüm sonuçları arasındaki farkın değerlendirilmesini içerir. Hem klasik popülasyona dayalı referans değerleri, hem de sabit sınırları kullanmanın dezavantajları bulunmaktadır.
- Herhangi bir test sonucunun toplam varyasyonu preanalitik, analitik ve biyolojik kaynaklardan gelmektedir. Toplam varyasyon varyansların eklenmesi ile elde edilir. SD değerlerinin karesi ya da eğer bileşenlerin ortalamaları eşit ise CV değerlerinin karesi alınarak toplam varyasyon hesaplanır.
- Preanalitik varyasyonu minimuma indirmek için hastanın hazırlanması, numunenin toplanması, taşınması ve işlenmesi gibi tüm aşamalarda katı protokoller uygulanmalıdır. Personelin eğitimi, iyi laboratuvar pratiği ve standart prosedürlerinin uygulanması son derece önemlidir.
- Referans değişim değerlerinin (RCV) hesaplanması kolaydır ve seri ölçümlerdeki değişimleri değerlendirmede en uygun araçtır. Anlamlı değişim için %95 ve yüksek derecede anlamlı değişim için de %99 olasılık değerleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu olasılıklar için Z değeri sırasıyla 1.96 ve 2.58 alınmaktadır.
- RCV formülü yeniden düzenlenerek herhangi bir özel değişimin meydana gelme olasılığı hesaplanabilir.
- Klinik karar vermeyi tanımlamak için pek çok terim kullanılmaktadır. Klinik olarak önemli olan olasılık her zaman %95 ya da %99 olmayabilir. Değişim için düşük olan olasılık, klinik olarak oldukça önemli olabilir.
- RCV değeri, presizyonun iyileştirilmesi ile düşürülebilir. Daha iyi presizyon (düşük CV Ç.N) kullanıldığında değişimlerin anlamlı olma olasılıkları daha yüksek olacaktır. RCV ve olasılık presizyonla doğru orantılı değildir.
- Analitik presizyon ve bias'taki değişim durumunda RVC değerinde farklılık olacaktır. Bu analitik varyasyonlar mümkünse elimine edilmelidir. Özellikle yeniden kalibrasyon gibi kalite yönetim pratiklerinin dikkatlice uygulanması ile varyasyonlar minimuma indirilmeye çalışılmalıdır.

- RCV'nin bazı teorik dezavantajları bulunmaktadır: CV_I ile ilgili verilerin çoğu sağlıklı bireylerden elde edilmiştir ve bu nedenle klasik RCV'nin hastalarda kullanılması 'yanlış pozitif' değerlendirmelere neden olacaktır. Eğer testler sık sık çalışılıyorsa seri ölçümler rastgele olmayacak, oto-korelasyon meydana gelecek ve bu nedenle 'yanlış negatif' değerlendirmeler yapılabilecektir. Klinik yorumlara yardımcı olmak amacıyla RCV'nin kullanılmasının avantajları dezavantajlarına göre daha ağır basmaktadır.
- Laboratuvarlar, Kullanım Kılavuzu ya da Laboratuvar El Kitaplarında RCV değerlerini verebilirler. Yaygın olarak kullanılmamakla birlikte analitler için değişime karşı değişim olaslıklarını gösteren garfikleri hazırlamak kolaydır.
- Laboratuvarlar hazırladıkları raporlarda anlamlı ve önemli derecede anlamlı değişimler için uygun işaretler kullanmalıdır.
- Delta çek ile kontrol oldukça yaygındır. Delta çek değerleri sıklıkla ampirik olarak elde edilmektedir. Objektif olarak hesaplanan RCV, laboratuvar verilerinin delta çek hesaplamaları için kullanılabildiği gibi yorumlamaya da yardımcı olabilmektedir.
- Kullanımda olan pek çok LBYS programlarının Δ-çek işlemlerini gerçekleştirecek şekilde olanaklarını kullanmaları önemle tavsiye edilmektedir. Bu programlar, sonuçlar raporlanırken kullanılan verileri işaretlemek için RCV'nin uygulanmasına izin vermelidir.
- Zaman serileri analizi için modeller bulunmaktadır, fakat bunlar yaygın olarak uygulanmamaktadır. Bu modeller çok sayıda yanlış pozitif değerlendirmelere neden olmaktadır. Ayrıca çok kompleks olup günlük kullanım için gereğinden fazla zaman almaktadırlar.

EK OKUMALAR

1. Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory quality management: QC=QA. Chicago: ASCP Press, 1989.
2. Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. Crit Rev Clin Lab Sci 1989;27:409-437.
3. Harris EK, Boyd JC. Statistical bases of reference values in laboratory medicine. New York: Marcel Dekker Inc., 1995.
4. Harris EK. Some theory of reference values. II. Comparison of some statistical models of intra-individual variation in blood constituents. Clin Chem 1976;22:1343-1350.

5. Harris EK. Statistical aspects of reference values in clinical pathology. Prog Clin Pathol 1981;8:45-66.
6. Lacher DA, Conelly DP. Rate and delta checks compared for selected chemistry tests. Clin Chem 1988;34:1966-1970.
7. Queralto JM, Boyd JC, Harris EK. On the calculation of reference change values, with examples from a long-term study. Clin Chem 1993;39:1398-1403.
8. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcio-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. Current databases on biologic variation: pros, cons, and progress. Scand J Clin Lab Invest 1999;59:491-500. Available online at www.westgard.com/guest17.htm.

4. Bölüm

Popülasyona Dayalı Referans Değerlerin Yararı

Laboratuvar test sonuçları pek çok amaç için kullanılmaktadır. Bu nedenle test sonuçlarının klinikteki kullanımına bakılmaksızın laboratuvarda üretilen verileri objektif olarak değerlendirebilmeliyiz. Bu yorumlama genellikle test sonuçlarının aşağıda sıralanan değerlerle karşılaştırılmasını içermektedir:

- Popülasyona dayalı referans değerler
- Klinik aksiyon için kabul edilen yerel protokoller
- Uzman bireyler, gruplar, ya da komiteler tarafından önerilen değerler
- Risk örneğinde olduğu gibi sonuca dayalı veriler
- Üst referans limitlerinin katları, veya
- Bireylerin önceki sonuçları

Popülasyona dayalı referans değerler, teşhis ve vaka bulmada en yaygın kullanılan karşılaştırma aracıdır. Test sonuçlarını kullanan pek çok kişi, popülasyona dayalı referans değerlerinin çok sayıdaki eksikliğinin farkında olmadan başka amaçlarla da kullanmaktadır. Bu bölümde popülasyona dayalı referans değerlerinin elde edilmesi ve klinikte doğru kullanımını inceleyeceğiz.

Popülasyona dayalı referans değerler laboratuvardaki kalite spesifikasyonları ile birlikte yeniden profesyonel ilgiyi üzerine çekmeye başlamıştır. Yakın dönemde yayımlanan bazı yayınlarda sözü edilen geleneksel yaklaşımın yeniden değerlendirilmesinin gerekliliği ile ilgili bazı sorunlar bu bölümde ele alınacaktır. Dahası Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi, klinik laboratuvarlarda referans değerlerin tanımlanması ve elde edilmesi ile ilgili çok kapsamlı bir doküman yayımladılar.

‘REFERANS DEĞER’ KAVRAMI

‘Referans değerler’ terimi çok yaygın olarak kullanılan ‘normal aralık’ terimine tercih edilmektedir. ‘Normal’ teriminin tıpta çok yaygın kullanımı bulunmaktadır. İstatistiksel bağlamda normal değerler, verilerin çan şeklinde

simetrik Gaussian dağılıma uygun olarak dağıldığı anlamına gelmektedir. Bununla birlikte laboratuvar tıbbının ilgi alanına giren pek çok analit bu tip (normal) bir dağılım göstermemektedir. Bazıları normal dağılım yerine Gaussian dağılım teriminin kullanılmasını önermektedirler.

Klinik açıdan bakıldığında normal değerler bireyin sağlıklı olduğu ve hastalık riskinin düşük olduğu anlamına gelebilmektedir. Bazen kolesterolde olduğu gibi - özellikle İskoçya da - toplumda elde edilen değerler düşük risk grubundaki bireylere göre oldukça yüksektir. Bu durumlarda normal terimi olağan ile yer değiştirmelidir.

Epidemiyolojik anlamda, normal değerler, ölçülen değerlerin büyük popülasyonlardaki değerlerle benzerlik gösterdiği anlamına gelmektedir. Bu durumda normal ifadesi, aralığın belirlendiği ve bu aralığın dışında kalanların anormal olduğu anlamına gelmektedir. Bu durumlarda 'atipik' ya da 'alışılmadık' terimleri 'normal' terimine tercih edilmelidir. Çünkü bu terimler bu tür değerlerin zararlı olduğu anlamına gelmemektedir.

IFCC 'normal range', 'normal değerler' ve 'normal referans değerler' gibi terimlerin kullanımını önermemektedir. Sorunlu bir terim olan 'normal değerler'in daha uygun bir terim olan 'referans değerler'le yer değiştirmesi için çalışmaktadır ve aşağıdakileri kapsayan altı onaylanmış öneri yayımlamıştır.

- Referans değerler kavramı
- Referans değerlerin üretimi için bireylerin seçimi
- Referans değerlerin elde edilmesi için bireylerin (katılımcıların) hazırlanması ve numunelerin toplanması
- Referans değerlerin üretimi, transferi ve uygulanması için analitik varyasyonun kontrol edilmesi
- Elde edilen referans verilerin istatistiksel incelenmesi, -referans limitlerin belirlenmesi ve
- Referans değerlerle ilişkili gözlenen sonuçların (test sonuçları) sunumu

Uluslararası Hematolojide Standardizasyon Komitesi, Dünya Sağlık Örgütü ve NCCLS (ABD) (şimdiki adı CLSI Ç.N.) gibi kuruluşların tümü bu altı geniş kapsamlı öneriyi onaylamıştır. Bu bölümde yukarıdaki önerileri ve biyolojik varyasyonun referans değerlerin türetilmesi ve kullanımına etkilerini inceleyeceğiz.

REFERANS DEĞER TERMİNOLOJİSİ

Referans birey daha önce belirlenmiş kriterleri kullanarak karşılaştırma için seçilmiş bireydir. IFCC referans bireyin sağlıklı olmasını şart koşmamaktadır.

Referans popülasyonu tüm olası referans bireyleri içeren popülasyondur.

Referans numune grubu referans popülasyonu temsil eden ve yeterli sayıda referans bireylerden oluşan gruptur. Bu grup referans popülasyonu temsil etmektedir ve bu nedenle en azından teorik olarak popülasyondan rastgele seçilerek oluşturulmalıdır. Pratikte, referans popülasyon grubunu oluşturmak için seçilen referans bireylerin, tüm referans popülasyonu temsil etmesini bekleriz.

Referans değerler bir analit için referans bireylerden elde edilen değerlerdir. Referans değerler tüm referans bireyler için aynı olmayacaktır. Bu değerler, referans dağılım denilen istatistiksel bir dağılıma sahiptir.

Bir sonraki adımda referans limitlerinin hesaplanması gerekir ve bu sırada referans verilerinin önceden belirlenmiş bir bölümünün bu limitlerden küçük ya da eşit olmasına dikkat edilmelidir.

Referans bireyler
Referans popülasyonunu
oluşturur, bu popülasyondan
Referans numune grubu
seçilir, bu gruptan
Referans değerler
elde edilir, bu değerlerden
Referans dağılımı
gözlenir, bu dağılımdan
Referans limitler
belirlenir, ve bu limitler
Referans aralığını
tanımlar

Şekil 4.1. Referans değer konsepti

Alt ve üst referans limitleri, referans aralığı tanımlamak için kullanılır. Şekil 4.1'de farklı terimler arasındaki ilişki sözcüklerin akış diyagramı şeklinde gösterilmiştir.

IFCC 'referans range' terimi yerine 'referans aralığı' teriminin kullanılmasını önermektedir. Range (kapsam) iki sayı arasındaki farktır. Örneğin sodyumun referans limitleri 135 ve 147 mmol/L ise, referans range 135-147 mmol/L değil, 12 mmol/L olacaktır.

REFERANS BİREYLERİN SEÇİMİ

IFCC referans değerlerin sadece referans bireylerden doğrudan elde edilmesine izin vermektedir. Literatürün önemli bir kısmı referans bireylerin dolaylı yollardan seçilmesi konusunda stratejiler sunmaktadır. Bu stratejiler, laboratuvar sonuçlarının matematik ve grafiklerle incelenerek mevcut verilerin hangilerinin popülasyonun 'normal' kısmına ait olduğunu belirlemeye çalışırlar. Stockholm'da (İsveç) yapılan bir çalışma ilk basamak hekimlikteki numunelerin bu açıdan çok kullanışlı olabileceğini göstermektedir.

Bazı yeni yayınlarda, aynı metodolojiyi kullanan laboratuvarların kendi aralarında yaptıkları işbirliği ile referans değerlerin nasıl elde edileceği gösterilmektedir. Bu yaklaşımı tercih edenler, bu yöntemin IFCC'nin çok zaman alan ve zahmetli olan yöntemine göre daha ucuz ve kolay olduğunu iddia etmektedirler.

İzin verilen 'direkt' yöntemi kullandığımızda, referans popülasyonunu temsil eden ve referans numune grubunu oluşturan referans bireylerin seçiminde iki yol olduğunu bilmekte yarar vardır. IFCC bu yaklaşımlara *a priori* (önce) ve *a posteriori* (sonra) demektedir. A posteriori yaklaşımda tıbbi olarak muayene edilmiş, başka bir ifade ile tıbbi takip ve koruyucu hekimlik programlarına katılan ya da 'sağlıklı kişi' muayenesinden geçen çok sayıda bireylerden verileri alınır. Daha sonra, veri alım basamağında sadece referans bireylerin çalışmaya dahil edildiğinden emin olmak için önceden belirlenmiş dahil etme ya da dışlama kriterlerini kullanmak gerekir.

Az sayıda araştırmacı bu teknik için gerekli olan çok sayıda kişiye ulaşıyor. Fakat başka bazı araştırmacılar, İngiltere'deki BUPA Tıbbi Araştırma Merkezi'nde muayene edilen 31.000 sağlıklı kadın ve 51.000 sağlıklı erkekten elde edilen verilerden yaygın olarak kullanılan biyokimya ve hematoloji testleri için hesaplanan referans aralıkları gibi, bu yöntemle elde edilmiş çok kullanışlı referans aralıkları elde ettiler.

A priori yaklaşım daha çok tercih edilmektedir. Bu yöntemde referans bireyleri popülasyondan seçiyoruz ve daha sonra seçilen bireylere çalışmaya dahil edilme ya da dışlama kriterleri uyguluyoruz. Sağlıklı görünen bireyleri çalışmaya alabiliriz. Katılımcılar sağlık durumları için formel olarak değerlendirilebilir, yüzeysel olarak incelenebilir ya da hiç muayene edilmeyebilirler.

Eğer hastalık incelenen analiti etkilemiyorsa, hastaları da çalışmaya alabiliriz ancak bu uygulama pek yaygın değildir.

Genel uygulamada pragmatik olmamız gerekir. Bu amaçla göreceli olarak genç, hareketli ve öğrenci, hastane personeli veya fabrika çalışanları gibi ulaşılması kolay olan referans bireyleri kullanmalıyız. NCCLS dokümanı, referans bireyleri seçerken iyi dizayn edilmiş anket formlarının kullanılmasını önermektedir. Anketler basit olmalı, korkutucu olmamalıdır. Ayrıca seçilen bireyin referans numune grubuna alınması ya da alınmaması hakkında bilgilere ek olarak aynı zamanda daha sonraki aşamalarda tabaka ya da bölümlere ayırmada kullanılmak üzere yaş ve cinsiyet bilgileri de içermelidir. NCCLS dokümanı, bu amaçla kullanılmak üzere örnek bir anket içermektedir.

Hangi referans bireyleri seçersek seçelim, dışlama kriterlerini tam olarak uygulamalıyız. Bireyler,

- görünürde sağlıklı olmalıdır
- oral kontraseptif almamalıdır
- reçete edilen ya da edilmeyen ilaç almamalıdır
- fazla alkol almamalıdır, ve
- tercihen tütün ürünleri ya da keyif verici maddeleri kullanmamalıdır.

Uygun referans değerleri elde etmek için kaç referans bireyi çalışmaya dahil etmemiz gerekir? IFCC 120 bireyin dahil edilmesini önerir. Referans limitleri istatistiksel olarak belirlerken, hesapladığımız sayılarda değişkenlik olduğunu görürüz. Bu değişkenliğin büyüklüğü güven aralığı olarak hesaplanabilir. En azından teorik olarak da olsa referans limitlerinin güven aralığını bilmemiz gerekir. NCCLS kılavuzu, çok basit bir non-parametrik yöntemle güven aralığının nasıl hesaplanacağının detaylarını vermektedir. Buna rağmen güven aralığı test sonuçlarının raporlarında nadiren belirtilmektedir.

Referans limitlerin güven aralığı referans verilerin sayısına bağlıdır ve bu aralığın makul derecede düşük olmasını sağlamak için '120' verinin kullanılması önerilmiştir. Bu kadar referans bireyin toplanması ve çalışmaya alınması, özellikle yaş ve/veya cinsiyete göre gruplar oluşturulduğunda, zor olabilir. Bununla birlikte bu özel sayının zorunlu olmasını gerektirecek bir şey yoktur: Referans değerler, daha büyük ya da daha küçük referans numune gruplarından da elde edilebilir. Bu durumda sadece referans limitlerinin güven aralıkları daha küçük ya da daha büyük olacaktır.

Numunelerin Toplanması, İşlenmesi ve Analizi Çok sayıda preanalitik kaynaklı hataları minimum düzeye indirmek için numune toplanması ve işlenmesi aşamalarını standardize etmemiz gerekir. Standardizasyon işlemleri aşağıdakileri içermektedir:

- Diğer farklı zamanlar için referans aralıklar üretilmediği sürece numuneler genellikle sabah saatlerinde olmak üzere günün aynı saatinde alınmalıdır.
- Referans bireylerin numuneleri aynı koşullarda verdiğinden emin olmalıyız: Numune alımından bir gün önce alkol alımının bir ünite ile sınırlandırılması, önceki dönemlere benzer gıda alımı, numune alımından önce aşırı egzersiz yapılmaması, numune alımından önceki 10 saat içinde sadece bir bardak su dışında bir şeyin alınmaması ve numune alımından önce 15 dakika oturulması.
- Kan numuneleri standart flebotomi tekniği ile alınmalıdır. Flebotomistin tecrübeli olması ve staza neden olmadan aynı tüplere kan alınması tercih edilmelidir.
- Numuneler, aynı sıcaklık ve zaman periyodu içinde, laboratuvara ulaştırılmalıdır.
- Eğer gerekli ise santrifüj işlemi aynı sıcaklık, devir ve zaman periyodunda yapılmalıdır.

Çalışılan referans değerlerin kan ya da diğer vücut sıvıları olup olmadığına bakılmaksızın numunelerin toplanması ve işlenmesi prensiplerinin tutarlı olması gerekir. Örneğin, eğer 24 saatlik idrardaki bir analitin referans aralığını çalışıyorsak, katılımcılara verilen talimatların (bilgi notu) aynı olması gerekir. Numune toplama süresinin başlangıç ve sonuç saatleri standart olmalı, kullanılan koruyucu ve stabilizatörlerin miktarları sabit olmalıdır.

Referans değerler günlük uygulamalardaki pek çok analite uygulandığı için biyolojik varyasyon çalışmalarında yaptığımız gibi numunelerin depolanmasına gerek yoktur. Referans değerler için toplanan numuneleri, rutindeki prensipleri uygulayarak bir dizi çalışmada analiz etmeliyiz. Numuneleri, kalite kontrolü yapılmış metotlar kullanarak ve gerçekçi koşullarda analiz etmeliyiz. Metodun herhangi bir bias'ının olmadığından emin olmak için gayret göstermeliyiz. (Bu prensip, kuşkusuz laboratuvar tıbbındaki tüm metotlara uygulanmalıdır). Presizyonu, iyi laboratuvar pratiği ile kontrol altında tutulan ve yürürlükteki kalite güvencesi teknikleri ile yapılan analizlerin presizyonu ile aynı düzeyde tutmalıyız.

UÇ DEĞERLERİN İNCELENMESİ

Bir kez referans numune grubumuzdan test sonuçlarını elde ettikten sonra, klinik olarak en kullanışlı referans limitleri ve referans değerleri elde etmek için verileri analiz etmek zorundayız. Bununla birlikte, analizleri yapmadan

önce verileri, açıkça referans dağılıma ait olmayan uç değerler açısından analiz etmeliyiz. Eğer uç değerler çalışmaya dahil edilirse, referans aralıklar yapay olarak geniş olacaktır ve bu aralıkların klinik kullanımı da sınırlı olacaktır.

İlk işlem, sonuçların frekanslarını gösteren bir grafiğin çizilmesidir (Frekanslar Y ekseninde, sonuçları da X ekseninde gösterilmelidir). İstatistiksel inceleme için paket programlara yükleme yapılmadan önce tüm verileri gözden geçirmek zorundayız. Grafiklerin gözle değerlendirilmesi, verilerin nasıl dağılım gösterdiği ve uç değerlerin olup olmadığı hakkında hızlıca çok değerli bilgiler elde etmemizi sağlayacaktır.

Referans verileri üretenler, sonuçlardan herhangi birisinin uç değer olup olmadığı konusunda karar verirken sıklıkla ciddi sorunlar yaşamaktadır. Oysa uç değerleri belirlemek oldukça kolaydır. 1. Bölüm'de biyolojik varyasyonun bileşenlerini belirlerken yaptığımız gibi burada da Reed kriterini kullanıyoruz. Çok kolay olan bu test, veri setindeki uç değer ile bir sonraki en büyük (ya da en küçük) arasındaki farkı alarak bu farkın tüm veri setindeki en büyük değer ile en küçük değer arasındaki farkın üçte birinden büyük olması durumunda ekstrem değeri çalışmadan çıkartmayı gerektirir.

Referans değerler ana veri yığını ile karşılaştırıldığında bazen iki ya da üç değerin oldukça farklı (düşük ya da yüksek) olduğu görülür. Bu durumlarda Reed testinin ardışık uygulaması ile bu değerleri uç değerler olarak tespit edemeyebiliriz. İlk önce uç değer olması en düşük gibi görünen veriyi test etmeliyiz. Eğer bu veri uç değer ise (bu değer ile takip eden değer arasındaki fark > bu değer ile dağılımın diğer yanındaki uç değer arasındaki farkın üçte biri) diğer potansiyel tüm uç değerler ret edilmelidir.

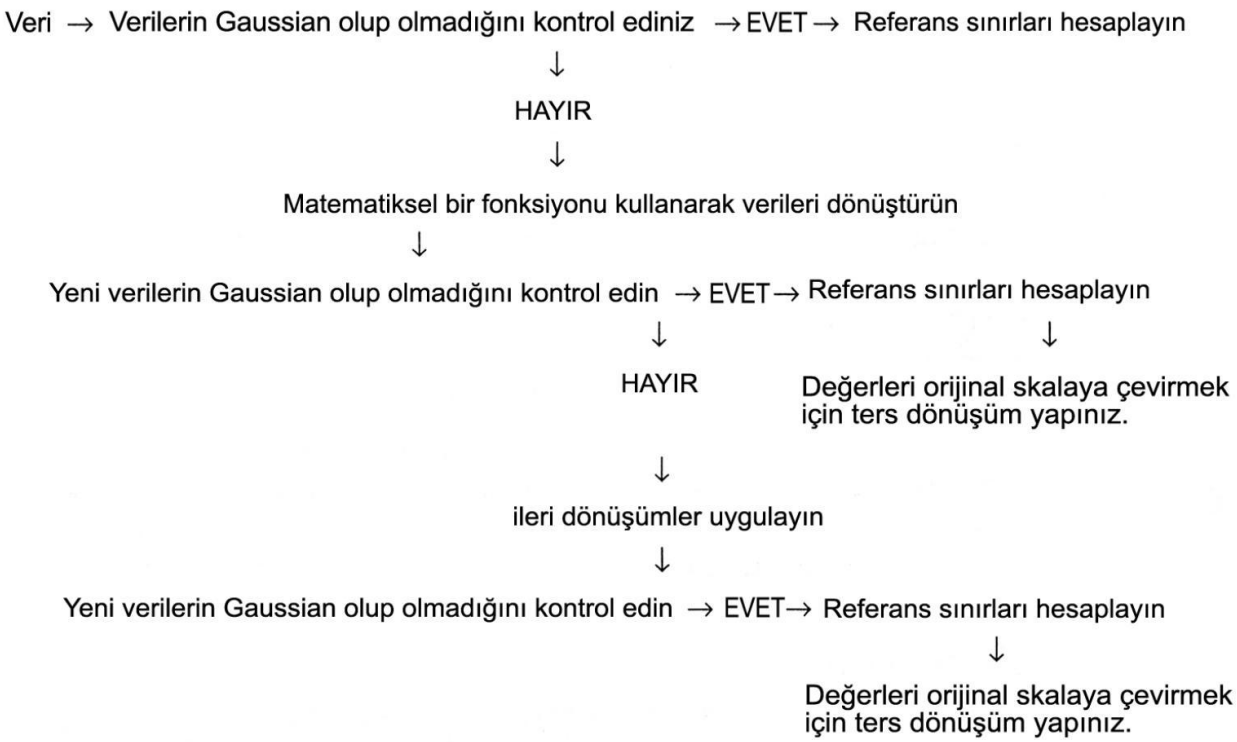
REFERANS SINIRLAR VE REFERANS ARALIKLARININ ELDE EDİLMESİ

IFCC'nin benimsediği öneriler istatistiksel metodu detaylı olarak açıklamakatadır. Referans limitler ve aralıklar için istatistiksel meot olarak iki yaklaşım - parametrik ve non-parametrik- uygulanmaktadır. IFCC, basit ve dağılımın tipi hakkında herhangi bir varsayımda bulunmayan ikincisini (non-parametrik yöntem) önermektedir. Örneğin en sık kullanılan (sadece adet olduğu üzere) ve popülasyonun %95'ini içeren referans aralıklarının hesaplanmasını istiyorsak aşağıdaki basamakları gerçekleştirmeliyiz:

- Verileri artan değerlere göre sırala ve her birine ardışık bir sıra numarası ver. 1, 2, 3, v.b. son veriye kadar. En son değere n diyelim.

- Alt referans limitine eşdeğer olan verinin numarasını hesaplayınız -0.025x(n+1)
- Bu numaraya karşılık gelen veriyi bulunuz. Eğer bulduğunuz bu değer sayı tamsayı ise sorun yoktur. Anca hesaplanan sayı tam sayı ve küsurat içeriyorsa iki uygun sayı arasında interpolasyon yapınız. Bu alt referans sınırıdır.
- Üst referans limitine eşdeğer olan verinin numarasını hesaplayınız -0.975x(n+1).
- Bu numaraya karşılık gelen veriyi bulunuz. Eğer bulduğunuz bu değer tamsayı ise sorun yoktur. Ancak bu hesaplanan sayı küsuratlı ise iki uygun sayı arasında interpolasyon yapınız. Bu üst referans limitidir.

Dağılımın Gaussian olup olmadığını görmek için verilerin analizini gerektiren parametrik yöntem çok kompleks olup tavsiye edilmemektedir. Bu yöntem uygulanabilir ancak çok sayıda istatistiksel testin uygulanması gerekir. Bunlardan dağılımın Gaussian olup olmadığını değerlendirmek için Anderson-Darling veya Kolmogorov Smirnov gibi normalite testleri uygulanmalıdır. Ayrıca dağılımın şeklini değerlendirmek için çarpıklık ve basıklık değerlerini hesaplayan katsayı (coefficient) testleri uygulanabilir.



Şekil 4.2 Toplanan verilerden referans sınırları hesaplamak için parametrik yaklaşım.

IFCC'nin önerilerinde ve Solberg ve Grassbek'ın mükemmel ve kolay okunabilir derlemelerinde bu testler detaylı olarak açıklanmıştır. Eğer dağılım Gaussian değilse, verilere transformasyon uygulayarak normal dağılıma dönüştürmeye çalışmalıyız. En yaygın kullanılan transformasyon tekniği logaritmik yaklaşımdır, ancak pek çok farklı transformasyon teknikleri de bulunmaktadır. Parametrik yaklaşım Şekil 4.2'de görülmektedir, buradan da görüleceği gibi non-parametrik yaklaşım oldukça kolaydır.

REFERANS DEĞERLERİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Bu faktörler 5 grupta incelenebilir: Endojen, egzojen, genetik/etnik, laboratuvar ve istatistiksel faktörler.

Endojen faktörler bireyin doğasında olduğu için modifiye edilemezler. En önemli iki endojen faktör yaş ve cinsiyettir. Pek çok analit yaşam boyunca değişim gösterirler (1. Bölüm'e bakınız). Bununla birlikte kronolojik yaş ve biyolojik yaş aynı olmayabilir. Bunlara ek olarak pek çok analit için referans değerler, özellikle kadınların üreme olarak aktif olduğu dönem boyunca, cinsiyete bağlıdır.

Egzojen faktörler perhiz (oruç tutma), açlık, egzersiz, yüksek rakımlı yerlerde yaşam, gebelik, sigara ve diğer keyif verici maddelerin kullanım alışkanlığı, vücut büyüklüğü, ilaç uygulaması ya da immobilizasyon gibi tıbbi ya da cerrahi bakımı içermektedir. Bu faktörler serum kreatinin değeri gibi belirli testleri etkilemektedir.

Genetik veya etnik faktörler laboratuvarın bulunduğu bölge ve çalışılan popülasyona göre önemli olabilir. Bununla birlikte farklı gruplarda dokümante edilen pek çok etkenler, gerçekte egzojen nitelikte olabilir. Örneğin Afrika'da yaşayan insanlarda serum immünoglobülin düzeyleri yüksektir, fakat bu insanlar Avrupa ülkelerine göç ettiklerinde immünglobülin düzeylerinde düşme görülür. Göçmenlerin serum kolesterol düzeyleri yerlilerin düzeylerine benzeyecek şekilde değişim göstermektedir. Bazıları bu değişimin sadece diyet ve yaşam şeklinden değil aynı zamanda kış dönemindeki güneş ışınlarının şiddetinden de kaynaklandığını iddia etmektedir.

Sonuçları etkileyebilen *laboratuvar faktörler* kullanılan numune tipi (serum veya plazma), uygulanan standart flebotomi tekniği (turnikenin olup olmaması), numunelerin laboratuvara ulaştırılması için geçen süre, santrifüj süresi ve hızı, ve kullanılan metodolojiyi içermektedir. Laboratuvar metodolojisinin referans değerlere etkisini gösteren bir örnek laktat dehidrojenaz aktivitesinin ölçümüdür. Pirüvattan laktata dönüşüm reaksiyonunu ölçen

metotların elde ettiği değer laktattan pirüvata olan dönüşümü ölçen metotlara göre çok daha yüksektir.

Referans limitleri belirlemek için kullandığımız istatistiksel yaklaşım test sonuçlarını değerlendirmek için kullandığımız referans aralıkları etkileyebilmektedir.

REFERANS DEĞERLERİ TABAKALARA (ALT GRUPLARA) AYRIMAK

Kitap ve makalelerde sıklıkla referans aralıkları için verileri tabakalara ayırmanın karmaşık bir problem olduğu belirtildiği halde, gerçekten bu işlem oldukça basit olup klinik kullanımda da yararlı olduğu kanıtlanabilir.

Sinton ve arkadaşları çok basit bir teknik önermektedir. Tabakalara ayırmak ne zaman gereklidir? Eğer potansiyel alt grupların ortalamaları arasındaki fark, tabakalara ayrılmamış tüm grubun referans aralığının (tüm grubun %95 aralığı) %25'ini (bir çeyrek kadar) geçmiyorsa, referans aralık için grubu tabakalara ayırmaya gerek yoktur. Örneğin, serum kreatinini için tüm referans bireyleri kapsayan grubun referans aralığı 50-120 µmol/L olarak hesaplandı. Kadınlar ve erkekler için ortalama sırasıyla 75 µmol/L ve 95 µmol/L olarak tespit edildi. Buna göre 95 – 75 = 20 değeri 17.5'tan büyük (120-50 arasındaki farkın %25'i) olduğu için cinsiyetlere göre verileri tabakalara ayırmak gerekir.

Buna karşılık, serum sodyumu için tüm referans bireyleri kapsayan grubun referans aralığı 135-145 mmol/L idi. Kadınlar ve erkekler için ortalama sırasıyla 140 mmol/L ve 139 mmol/L olarak tespit edildi. Buna göre 140 - 139 = 1 değeri 2.5'ten küçük (145-135 arasındaki farkın %25'i) olduğu için cinsiyetlere göre verileri tabakalara ayırmaya gerek yoktur.

Hem dağılımların genişliğini ve hem de ortalamaları inceleyen daha kompleks bir yöntem Harris ve Boyd tarafından ortaya atıldı. NCCLS diğer metotlar içinde bu metodu önermektedir. Metot zor gibi görünmektedir ancak gerekli hesaplanmaları yapmak gerçekten kolaydır.

- Öncelikle aşağıdaki formülde verildiği gibi Z değerini hesaplayınız.

  Z = (Grup 1'in ortalaması – Grup 2'nin ortalaması) / (SD_1^2/Grup 1'deki veri sayısı + SD_2^2/Grup 2'deki veri sayısı)$^{1/2}$

  Bu hesaplama basit standart normal deviasyon testidir.
- Daha sonra hesaplanan Z değerinin, Harris ve Boyd tarafından önerilen kritik istatistiksel değeri geçip geçmediğini kontrol ediniz.

  Aşağıda verildiği gibi kritik Z değerini kolayca hesaplayabiliriz:

$3[(\text{Grup 1'deki veri sayısı} + \text{Grup 2'deki veri sayısı})/240]^{1/2}$

Yani referans değerlerinin sayısını 240'a bölüyoruz. Daha sonra elde ettiğimiz bu değerin karekökünü alıyoruz. En son elde ettiğimiz değerin de 3 katını alıyoruz. Eğer Z değeri kritik değerden yüksek ise tabakalara ayırmak zorunlu olmaktadır.

- Daha sonra potansiyel alt grupların standart deviyasyonlarını hesaplayınız. Eğer büyük olan SD küçük olanın 1.5 katından büyük ise, tabakalara ayırmak zorunlu olmaktadır

KLASİK REFERANS DEĞERLERLE İLGİLİ SORUNLAR

Daha önce de belirtildiği gibi mevcut dogma *her laboratuvar kendi referans değerlerini tayin etmelidir.* Reaktiflerin ve analitik sistemlerin üreticileri ve tedarikçilerinin hemen hemen tümü bu öneride bulunmaktadırlar. Laboratuvarlar aynı zamanda tüm testler için referans aralıklarını sağlamalıdır veya en azından Kullanıcı Kılavuzu ya da Laboratuvar El Kitabında bunların detaylı listelerini vermelidir.

Bölüm 6'da yer verilen tavsiyelerinden de anlaşılacağı gibi IFCC referans değerlerin sunumunda pek çok seçenek önermesine rağmen çoğu laboratuvar basitçe referans aralıklarının sayısal değerlerini vermektedir. Analitik kalite ile birlikte kalitenin yorumlanmasıyla ilgilenen biz uzmanların, test sonuçlarını kullananların yani klinisyenlerin ders kitapları, 'normal değerlerin' el kitapları, günlükler, diagnostik ya da ilaç firmalarının sağladıkları broşürler ve diğer benzeri materyallere göre karar vermelerinin önüne geçmemiz gerekir.

Buna ilaveten yaş ve cinsiyet gibi önemli faktörler için yakarıda açıklandığı gibi basit yöntemler kullanarak referans değerleri alt gruplara ayırmamız gerekebilir. Eğer yukarıda önerilen teknikleri kullanarak elde edilen verileri çok sayıda alt gruba bölmeye çalışırsak her bir grupta çok az sayıda referans birey kalacaktır ve bu durum referans aralıklarını belirleyen sınırların güven aralıklarının genişlemesine neden olacaktır (belirsizliği yüksek olan sınırlar elde edilecektir).

Referans değerleri üretmek için önerilen minimum referans birey sayısı 120'dir. Buna göre gerekli referans birey sayısını hesaplamak için en azından teorik olarak 120 ile alt grup sayısını çarpmak gerekir. Gördüğünüz gibi referans değerlerini elde etmek çok fazla zaman ve efor istemektedir. Aynı zamanda organizasyonel, analitik ve istatistiksel beceri de gerektirmektedir. Kısıtlı laboratuvar olanaklarını bu amaçla kullanmak ne derece verimli ve doğru olur?

Pek çok testin sonucu hastaların teşhisi için değil takibi için kulanıldığından popülasyona dayalı referans aralıklarının hastaların takibinde kullanımı genellikle yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle yorumumuz anlamlı bir değişimin olup olmadığıyla ilgili olmalıdır. Analitik ve bireysel biyolojik varyasyona dayalı RCV'yi kullanmalıyız. RCV'yi kolayca elde edebileceğimiz verilerden basitçe hesaplayabiliriz.

Pek çok test bellirgin bireysellik göstermektedir ve bu nedenle bireyler için olağan dışı olan test sonuçları hala referans aralıklar içinde bulunabilir. Sonuç olarak, referans değerler vaka bulma veya tarama amacıyla latent, subklinik ya da erken evrelerde hastalıkları yakalamak için uygun kriterler değildir.

Kullanıcılar, genellikle referans aralıkların popülasyonun %95'ini kapsadığını ve %2.5 bireyin referans aralıklarını belirleyen sınırların dışında kaldığını biliyorlar. Buna ek olarak eğer bir birey için ne kadar çok test istemi yapılacak ise anormal bir sonuçla karşılaşma olasılığı da o denli yüksek olacaktır.

Deneyimli klinisyenler sadece referans aralıklarına göre değil aynı zamanda bilgi birikimi ve tecrübelerine göre de karar verirler. Bununla birlikte sağlık ve hastalık durumlarında elde edilen verilere de gereksinim duyarlar.

Yerel kılavuzlar ve protokoller genellikle katı referans değerlerden ziyade profesyonel deneyim ve klinik kararlara dayanırlar.

Sadece klinik laboratuvarları kullansak bile, karar verme testin yalnızca bir sonucuna göre yapılmaz. Karar verme çok değişkenli analizi gerektirir fakat laboratuvarlar testlerin çok değişkenli analizlerini yapmıyorlar.

Test sonuçlarının yorumu genellikle popülasyona dayalı değerlerden ziyade ulusal ya da uluslararası uzman gruplar tarafından belirlenen (ve kanıta dayalı tıbbi prensiplere göre geliştirilen) sabit kriterlere göre yapılmaktadır. Buna örnek olarak kolesterol ve diğer lipitler, glukoz, terapötik ilaçlar ve asetaminofen (parasetamol) gibi yüksek dozlarda alınan maddeler verilebilir.

Bununla birlikte, tüm bu dezavantajlarına rağmen popülasyona dayalı referans aralıklarını laboratuvarımızda elde etmek için bir strateji geliştirmemiz gerekir.

REFERANS DEĞERLERİN ELDE EDİLMESİ – PRAGMATİK BİR YAKLAŞIM

Yukarıda listelenen faktörleri dikkate aldığımızda laboratuvarda çalıştığımız tüm testler için sıfırdan referans aralık çalışmasının gerekli olmadığını söyleyebiliriz. Bu nedenle referans aralık analizi için pragmatik bir yaklaşımı benimsememiz gerekir.

Referans değerleri elde etmek için aşağıdaki hiyerarşiyi uygulayabiliriz. Kolaylık, pratiklik ve uygun maliyet açısından en uygun olan yaklaşımı benimsemeliyiz.

1. Eğer mümkünse IFCC'nin Referans Değer Teorisi Uzman Paneli tarafından yayımlanan ve burada dokümante edilen stratejisi kullanılmalıdır.
2. Referans numune grubunu seçerken yukarıdaki kuralları sıkı sıkıya uygulmak yerine daha toleranslı davranabiliriz. Örneğin laboratuvar çalışanları, hastane çalışanları, öğrenciler, kan donörleri, ya da çalışılan testi etkilemeyecek durumdaki hastalar referans aralık çalışmasına alınabilir.
3. Referans değerlerle ilgili iyi derlenmiş veriler içeren ve özellikle laboratuvara uyarlanan özellikli metodolojileri kullanan bireysel çalışmaların olduğu spesifik literatürü kullanabiliriz.
4. Referans değerlerle ilgili iyi çalışılmış bilgiler içeren kitapları kullanmalıyız. Bunlar özellikle yenidoğan, çocukluk ve yaşlılık dönemlerini kapsayan referans değerlerle ilgili kullanışlı kaynaklardır. Bu dönemlerle ilgili laboratuvarların kendileri için referans değer çalışmaları yapmaları zordur. Buna ilaveten, eğer yerel olarak yaş ve cinsiyete dayalı referans aralıkları isteniyorsa, yukarıdaki ilk üç kaynaktan elde edilen verilere direkt ya da orantılı olarak bu kaynaklardaki bilgiler doğrultusunda gerekli uyarlamaları yaparak yeni referans aralıklarını elde edebilirsiniz.
5. Referans değerlerle ilgili bilgi veren diğer literatürleri ya da laboratuvar test sonuçlarının yorumlanmasıyla ilgili diğer stratejileri kullanabiliriz.
6. Son olarak, özellikle daha çok ezoterik testlerle ilgili üreticilerin verilerin kullanabiliriz.

3-6. yaklaşımlar için referans değerlerin laboratuvara transfer edilebileceği ile ilgili objektif çalışmalar yapmalıyız.

REFERANS DEĞERLERİN TRANSFER EDİLMESİ

Kalitesi yüksek referans değerlerin elde edilmesi çok zor olduğundan dolayı laboratuvarlar sıklıkla diğer kaynaklardan veri transfer etmek zorundadırlar. Bu kaynaklar farklı analitik sistemlerde elde edilen değerler, diğer laboratuvarların verileri, hakemli dergilerdeki makalelerin verileri, kitaplardaki veriler ve hatta üreticiler tarafından sağlanan literatürdeki verileri içermektedir.

Kaynağı ne olursa olsun, veriler kullanılmadan önce validasyonu yapılmalıdır. Yakın geçmişte yayımlanan NCCLS'nin kılavuzlarında bu işlemlerin nasıl yapılacağına dair gayet iyi öneriler bulunmaktadır. Üç olası teknik kullanılabilir.

1. Orijinal verilerin detaylarını inceleyerek validasyonu sübjektif olarak gerçekleştirip transfer işlemini yapabiliriz. Endojen, eksojen, etnik/genetik laboratuvar ve istatistik gibi referans değerleri etkileyen tüm faktörleri inceleyebiliriz. Eğer incelenen faktörler laboratuvarımız ile verilerin alınacağı kaynak arasında uyumlu ise ileri deneysel çalışmalar yapmadan bu verileri kabul edebiliriz. Kuşkusuz, ilgili laboratuvarın alacağı tüm referans değerlerin kaynaklarını dikkatlice dokümante etmesi gerekir.
2. İkinci teknik klinisyenlere hitap eder. Çünkü bu teknik basit, kolay ve birinci tekniğe göre daha az sübjektiftir. Bu amaçla laboratuvarın öncelikle küçük bir grup referans bireyi (20) dikkatlice seçerek referans değerleri elde etmesi gerekir. Daha sonra Reed kriterini kullanarak veriler içinde uç değerlerin bulunup bulunmadığı araştırılmalıdır. Uç değerler varsa çıkartılıp yerine yenileri konulmalı ve böylece 20 sayısı korunmaya çalışılmalıdır. Eğer bu 20 veri içinde 2'den fazla değer referans aralığın dışında kalmıyorsa ilgili referans aralık kabul edilir. Eğer 3 ve daha fazlası referans aralığın dışında kalıyorsa bu prosedür başka bir 20 kişilik grupla tekrarlanmalıdır. Eğer bu ikinci geçişte 2'den fazla veri referans aralığın dışında kalmıyorsa bu aralık kabul edilir. Eğer 3'den fazla değer dışarıda kalıyorsa referans aralık için başka bir kaynağın gerekliliği aşikârdır.
3. Bu yaklaşım IFCC önerilerine göre yapılacak küçük bir çalışmayı kapsamaktadır. Referans popülasyonunu gerçekten temsil edebilecek 60 referans birey seçilir ve daha sonra bu bireylerden elde edilen referans değerler, transfer edilmesi istenilen referans değerler ile karşılaştırılır. Harris ve Boyd'un metodu kullanılarak iki referans değer grubunun ortalama ve standart sapmaları karşılaştırılır.

Dördüncü bir yaklaşım da basit validasyon ya da kapsamlı değerlendirmelerden elde edilip edilmediğine bakılmaksızın metot karşılaştırma çalışmalarının verilerini kullanır. Eğer laboratuvarın iyi kurulmuş metotları varsa, iyi referans değerler üretmişse ve yeni bir cihaz ya da metodolojiyi kuracağı zaman bu verileri transfer etmek istiyorsa bu teknik (pek çok kişi tarafından savunulan ve tartışılan fakat NCCLS'nin mükemmel kılavuzları arasında onaylanmayan) iyidir. Metot karşılaştırma çalışmalarında aşağıdakine benzer basit bir matematiksel ilişki vardır.

Yeni Sonuçlar = faktör x Eski sonuçlar + Kesim değeri (y eksenini kestiği değer Ç.N.)

Bu denklem aşağıda gösterildiği gibi bir lineer regresyon denklemidir.

$Y = a^{*}X + b$

Burada *a* orantılı bias'tır ve 1'den büyük ya da küçük olabilir, *b* ise sabit bias'tır ve pozitif ya da negatif olabilir. Bu basit denklemi ve mevcut referans değerleri kullanarak yeni metot için referans değerleri kolayca hesaplayabiliriz.

Referans değerleri nasıl elde ettiğimize bakmaksızın, referans limitlerin dışında kalan test sonuçlarının sayılarını izleyerek yeni referans değerlerin uygunluğunu değerlendirebiliriz. Daha da önemlisi, anormal laboratuvar sonuçları ya da laboratuvar sonuçları ile uyumlu olmayan klinik durumların sayıları ile ilgili kullanıcıdan gelen her türlü şikayet ve yorum dikkate alınarak laboratuvarın alıntı yaptığı referans değerlerlerin ciddi ve detaylı değerlendirmesi yapılmalıdır.

BİREYSELLİĞİN REFERANS DEĞERLERE ETKİSİ

Geleneksel referans değerlerin pek çok sorunu olmasına rağmen çoğu klinisyen çalışmalarında ve değerlendirmelerinde 'kutsal metin'miş gibi bu değerleri kullanırlar.

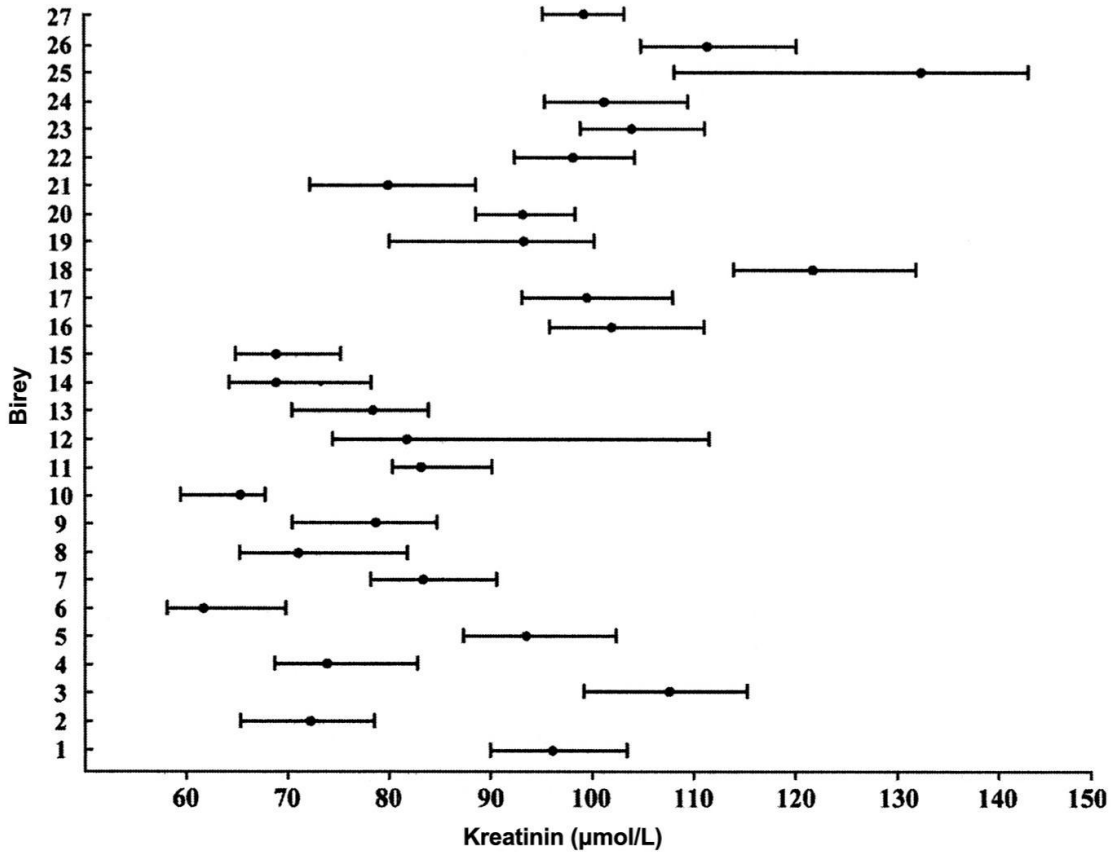
Temel problem bireysellikten kaynaklanmaktadır. Serum kreatinini bu konuda iyi bir örnektir. Az sayıda erkek ve kadında zaman içinde serum kreatinin değerlerindeki değişimi incelediğimiz zaman (bakınız 1. Bölüm) bireylerin gerçekten birey olduğunu görürüz. Bu durum klasik referans değerlerin kullanılabilirliğini kısıtlamaktadır.

YAŞLI POPÜLASYONDA SERUM KREATİNİNİ

Birkaç yıl önce kreatinin dahil birkaç analit için 27 yaşlı kişiyi içeren bir çalışma yaptık. Bu 27 kişide buluğumuz kreatinin değerlerinin ortalama ve mutlak sınırları Şekil 4.3'te verilmiştir. 1-13 numaralı bireyler kadın, 14-27 numaralı bireyler ise erkektir.

70 yaşın üzerinde olan, sağlıklıl görünen, bağımsız yaşayan, daha önce herhangi bir tıbbi sorunu bulunmayan ve referans numune grubunun hemen hemen tüm özelliklerini taşıyan erkek ve kadınların değerleri genç olanlara göre daha yüksek görünmektedir. Bu nedenle referans aralıklarını yaşa göre gruplara ayırmak büyük ithtimalle gerekli olacaktır. Genel olarak kadınların değerleri erkeklere göre daha düşüktür fakat bazı çakışmalar görülmektedir.

Çünkü sağlıklı kişilerde kreatinin düzeyi kas kütlesi ile ilişkilidir. Kadınların değerleri erkeklere göre düşük olmaya meyilli iken bazı iri kadınlar ve ufak erkekler bulunmaktadır. Bu nedenle referans değerlerini cinsiyete göre gruplara ayırmak gerekli olacaktır.



Şekil 4.3 27 yaşlı kişide serum kreatinin düzeylerinin ortalaması ve mutlak sınırları (1-13: kadın; 14-27: erkek). (Fraser CG. Biological variation in elderly: implication for the use of reference values. In: Faulkner WR, Meites S, eds. Geriatric clinical chemistry reference values. Washington, DC: AACC Press. 1994;44. Figure 4.1. İzin alınarak kullanılmıştır).

55 yaşından büyükler için yaş ve cinsiyete göre referans değerlerini çalıştık ve şu değerleri elde ettik: Kadın: 60 – 98 µmol/L, erkek: 66 – 128 µmol/L.

Şekil 4.3'ü detaylı incelediğimizde aşağıdaki bilgileri elde ederiz.

- Hiçbir bireyin tüm referans aralığını kapsayan değerleri bulunmamaktadır.
- Her bir bireyin değerleri referans aralık dağılımının sadece küçük bir kısmını kapsamaktadır.
- Bireylerin büyük çoğunluğunun tüm değerleri referans aralığı içinde bulunmaktadır.
- Bireylerin büyük çoğunluğunun ortalama değerleri referans aralığı içinde bulunmaktadır ve birbirlerinden farklıdır.

- Bazı bireylerin değerleri referans aralığın alt sınırları civarında bulunmaktadır. Bu bireylerin zaman içinde normalden anormal düzeylere geçen (değişen) değerleri bulunmaktadır.
- Bazı bireylerin değerleri referans aralığın üst sınırları civarında bulunmaktadır. Bu bireylerin de zaman içinde normalden anormal düzeylere geçen (değişen) değerleri bulunmaktadır.
- Kadınlardan birisinin ortalama değeri ve verilerin dağılım sınırları yaş ve cinsiyete göre tabakalara ayrılmış referans aralığın dışında bulunmaktadır.
- Erkeklerden birisinin ortalama değeri yaş ve cinsiyete göre tabakalara ayrılmış referans aralığın dışında bulunmaktadır.

BİYOLOJİK BİREYSELLİK

Şekil 4.3'teki veriler için aşağıdaki sonuçları çıkarabiliriz.

- Hiçbir bireyin tüm referans aralığını kapsayan değerleri bulunmamaktadır.
- Referans aralığının geniş dağılımı ile karşılaştırıldığında her bir bireyin değerleri sadece küçük bir aralığı kapsamaktadır.
- Bir bireyin değerleri referans sınıra yayılmışsa ya da tümüyle referans sınırı geçmişse bile bu bireyin verilerinin bulunduğu aralık tüm referans aralığa göre küçük kalmaktadır.

Bu nedenle, bireysel varyasyonun göreceli daha küçük olduğunu, bireylerin ortalama değerlerinin birbirlerinden farklı olduğunu ve bireyler arası biyolojik varyasyonun göreceli daha yüksek olduğunu biliyoruz.

Kreatinin için bireysel biyolojik varyasyon bireyler arası biyolojik varyasyona göre daha düşüktür. Bu özel grup için bireysel biyolojik varyasyon (CV_I) %4.3 ve bireyler arası biyolojik-varyasyon (CV_G) da %18.3 olarak hesaplandı.

Bu durum $CV_I << CV_G$ şeklinde açıklanabilir ve bu tür analitler için belirgin *bireysellik* olduğunu söyleyebiliriz. Bir analitin bireyselliğini genellikle II şeklinde kısaltılan *bireysellik indeksi* ile hesaplayabiliriz. Bu fikir Eugene Harris'den geldi. Harris aşağıdaki denklemde gösterildiği gibi *bireysellik indeksini* toplam bireysel varyasyonun bireyler arası biyolojik varyasyona oranı şeklide hesaplayabileceğimizi önerdi.

$$II = [CV_A^2 + CV_I^2]^{1/2}/CV_G$$

Bu denklem genellikle aşağıdaki gibi sadeleştirilebilir.

$$CV_I/CV_G$$

$CV_A < CV_I$ yukarıdaki denklem için yeterli olmaktadır. Bu durum mevcut teknoloji ve metodolojilerle sıklıkla sağlanabilmektedir.

Bireysellik indeksinin düşük olması ilgili analitte belirgin bireysellik olduğunu gösterir. Aksine *bireysellik indeksinin* yüksek olması ilgili analitin bireyselliğinin düşük olduğu anlamına gelmektedir.

Sıklıkla incelenen bazı analitlerin bireysellik indisleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1 Örnek Bazı Analitlerin Bireysellik İndeksi (II)

Analit	Bireysel varyasyon (%)	Bireyler arası varyasyon (%)	II
ALT	24.3	41.6	0.58
Albümin	3.1	4.2	0.74
ALP	32.6	39.0	0.84
Bilirübin	25.6	30.5	0.84
Kalsiyum	1.9	2.8	0.68
Klor	1.2	1.5	0.80
CK	22.8	40.0	0.57
Kreatinin	4.3	12.9	0.33
LD	6.6	14.7	0.45
Magnezyum	3.6	6.4	0.56
Fosfat	8.5	9.4	0.90
Potasyum	13.6	13.4	1.02
Protein	2.7	4.0	0.68
Sodyum	0.7	1.0	0.70
Ürat	8.6	17.2	0.50
Üre	12.3	18.3	0.67

BİYOLOJİK BİREYSELLİK VE REFERANS DEĞERLER

Analitlerin bireyselliği referans değerleri anlamlı derecede etkilemektedir. Serum kreatinin ve demir düzeyini çalıştığımız 6 erkek bireyin değerlerini inceledik. Şekil 4.4'te bu 6 erkeğin serum kreatinin ve demir düzeylerinin ortalaması ve mutlak sınırları gösterilmektedir.

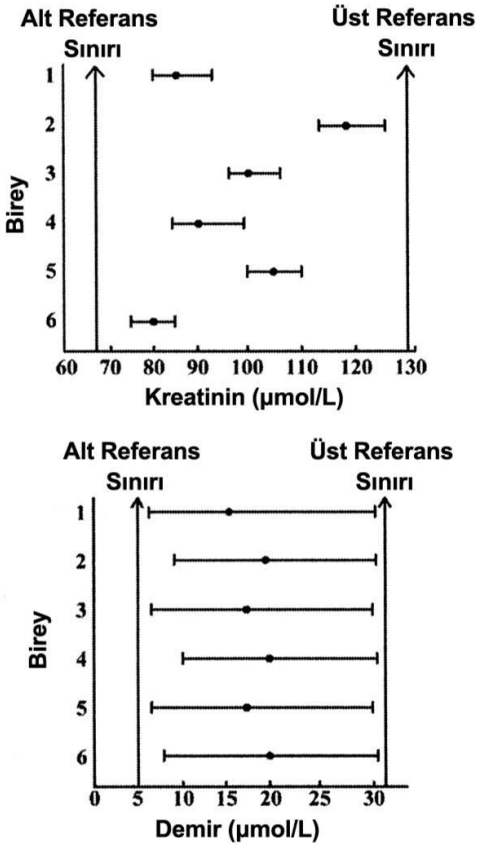
Yaşlı erkeklerin serum kreatinin referans aralığı 66 – 128 µmol/L'dir. Yaşlı erkeklerin serum demiri referans aralığı ise 5 – 32 µmol/L'dir.

Kreatinin için hiçbir bireyin değerleri tüm referans aralığını karşılamamaktadır ve her bir bireyin değerlerinin bulunduğu aralık tüm dağılımın sadece küçük bir kısmını kapsamaktadır. Bununla birlikte tüm bireylerin demir değerleri referans aralığının neredeyse tümünü kapsamaktadır.

Eğer bireyler hasta olursa ve test sonuçları da anormal duruma gelirse nasıl bir tablo ile karşı karşıya kalacağız? Kreatinin için bireylerin test sonuçları kendileri için oldukça anormal olduğu halde klinik olarak önemli olan bu sonuçlar hala klasik referans aralıkları içinde bulunacaktır. Genel olarak

laboratuvarlar bu sonuçları anormal olarak işaretlemeyeceklerdir. Çünkü laboratuvarlar RCV değil, popülasyon bazlı referans aralıklarını kullanmaktadırlar. Daha da önemlisi klinisyenlerin çoğu test sonuçlarını yorumlamada önemli gördükleri referans değerleri kullanacaklardır ve bu tür değişimleri anlamlı olarak değerlendirmeyeceklerdir.

Buna karşılık, demir için, eğer bireylerin sonuçları kendileri için hafif derecede dahi anormal olursa bu sonuçların klasik referans aralıkları dışında bulunma olasılıkları oldukça yüksek olacaktır. Genellikle laboratuvarlar bir şekilde bu sonuçları anormal olarak işaretleyeceklerdir. Çok sayıda klinisyen bu tür sonuçları anlamlı olarak değerlendireceklerdir ve yapılacaklara karar vermek için bu teste, diğer ilişkili testlere, diğer laboratuvar disiplinlerindeki sonuçlara ve diğer çalışma ve incelemelere çok dikkat edeceklerdir.



Şekil 4.4 Altı erkekte serum kreatinin ve demir değerlerinin ortalaması ve mutlak aralıkları

BİREYSELLİK İNDEKSİ

Kreatinin ve demir arasındaki fark analitin biryselliğidir. Kreatininde belirgin bireysellik bulunmaktadır. Demirde ise bireysellik daha azdır. Kreatininin bireysellik indeksi düşüktür demirinki ise yüksektir. Kreatinin için pek çok kişide anormal değerleri yakalamak için klasik referans aralıklarının kullanılabilirliği sınırlıdır. Buna karşılık klasik referans aralıkları demir için yararlıdır. Çünkü tüm bireyler için anormal değerler referans sınırların dışında

olacaktır. Popülasyonun tümü dikkate alındığında kreatinin için bireysellik indeksi 0.33 iken, demir için 1.14'tür.

Biryesellikle ilgili çığır açan çalışmalarında, Harris bu farkın sonuçlarını detaylı olarak araştırdı. Bir testin II'si düşük olduğunda, özellikle 0.6'dan küçük olduğu zaman herhangi bir bireyin verilerinin dağılımı referans aralığın sadece küçük bir kısmını kapsamaktadır. Bu durumda referans aralıklarının kullanılabilirliği, özellikle herhangi bir değişimi değerlendirmede, düşük olacaktır. Belirgin bireyselliği olan analitlerde test sonuçlarını önceki değerlerle karşılaştırmanın çok önemli avantajları bulunmaktadır.

Buna karşılık II yüksek olduğu zaman özellikle 1.4'ten büyük olduğunda herhangi bir bireyin değerlerinin dağılımı referans bireylerden elde edilen referans aralıklarının büyük bir kısmını kapsayacaktır. Bu nedenle klasik referans değerlerin kullanımı pek çok klinik durumu değerlendirmede çok yararlı olacaktır. Çok az analit 1.4'ten yüksek bireysellik indeksine sahiptir. Çoğunlukla 0.6'dan düşüktür. Bu nedenle, değişimleri değerlendirmede, popülasyon bazlı referans aralıkları genellikle iyi kılavuzlar değildir.

Verileri tabakalara ayırarak II değerini yükseltebiliriz. Böylece referans değerleri daha kullanışlı olabilir. Örneğin idrar kreatinin değerini ele alalım. Bireysel ve bireyler arası biyolojik varyason bileşenlerinin değerleri Tablo 4.2'de verilmiştir. Çalışılan bireylerde (8 kadın, 7 erkek) günlük idrar kreatinin atılımı Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Beklendiği gibi kadınlarda genellikle idrar kreatinin atılımı daha düşük olmaktadır.

Tüm grup için II 0.46'dır ve bu durumda referans değerler pek kullanışlı değildir. Oysa kadınlar ve erkekler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, II değerinin sırasıyla 1.42 ve 1.83 olduğu görülmektedir. Bu durumda referans değerler oldukça yararlı olmaktadır. Cinsiyete göre verileri tabakalar ayırmak, klasik popülasyon bazlı referans değerlerinin kullanılabilirliğini büyük ölçüde artırmaktadır. Analitlerin büyük çoğunluğu için II düşük olduğunda, tabakalara ayırma II değerini artıracaktır ve bu uygulamanın referans aralık çalışmaları yapılırken göz önünde bulundurulması gerekir.

BİREYSELLİK İNDİSLERİ VE TEŞHİS

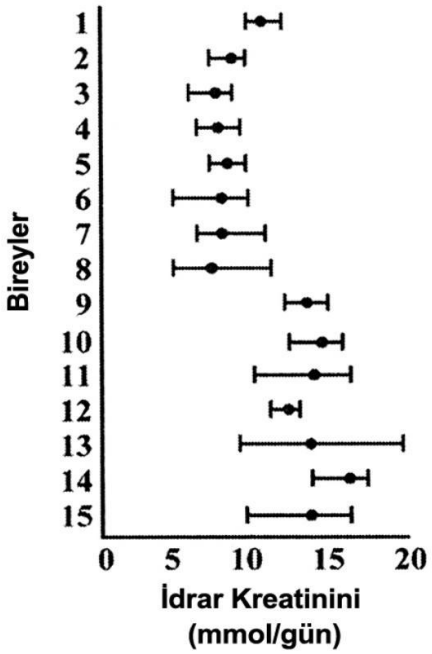
Biyolojik varyasyon açısından baktığımız zaman ideal testin bireysel biyolojik varyasyonu küçük olmalıdır. Bireylerin seri ölçümlerindeki hafif değişimlerin gerçekten anlamlı olabilmesi için RCV küçük olmalıdır. Dahası, ideal testin bireyselliği düşük olmalı ki popülasyana dayalı referans aralıkları pek çok klinik durumda yararlı olabilsin ve referans değerlerini tabakalara ayırmaya gerek kalmasın.

Bununla birlikte testlerin büyük çoğunluğunun belirgin bireyselliği vardır. Bu durum sadece hasta takiplerinde referans değerlerin kullanılabilirliğini azaltmakla kalmaz aynı zamanda teşhis, vaka bulma ve tarama üzerinde de etkileri bulunmaktadır. Çünkü klinisyenler sıklıkla test sonuçlarını yorumlarken referans aralıklarını kullanırlar.

Tablo 4.2 Kadın ve Erkeklerde İdrar Kreatinini İçin CV_I, CV_G ve II Değerleri

Grup	Bireysel varyasyon (%)	Bireyler arası varyasyon (%)	II
Tümü	13.0	28.2	0.46
Kadın	15.7	11.0	1.42
Erkek	11.0	6.0	1.83

Birkaç yıl önce immünoglobülinlerin biyolojik varyasyonlarını çalıştık. Çalışmanın sonunda, serum IgG, IgA, IgM, ve κ ve λ zincirlerinin konsantrasyonunu basit ve direkt olarak otomatize sistemlerle ölçtüğümüzde immünoglobülinlerin sentezindeki bozuklukları kolayca tanımlayabileceğimizi anladık. Bunun çok önemli avantajları olacaktı. Protein elektroforezi ve daha sonra immünoelektroforez veya immünofiksasyon popüler metotlar idi. Bunlar zaman alıcı, çelışma ve yorum için uzmanlık gerektiren metotlardır.



Şekil 4.5 8 kadın (1-8 bireyler) ve 7 erkek (9-15 bireyler) bireyin idrar kreatinini ortalama ve dağılım sınırları. (Gowans EMS, Fraser CG. Biological variation of serum and urine creatinine and creatinine clearance ramifications for interpretation of results and patient care. Ann Clin Biochem 1988;25:259-263 makalesindeki Şekil 3. İzin alınarak uyarlanmıştır.)

Ağır zincirlerin hafif zincirlere oranını

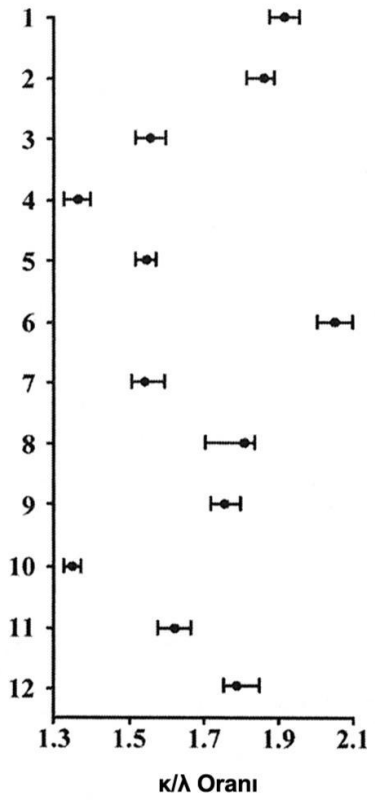
(IgG + IgA + IgM) / (κ + λ)

ve κ/λ oranını hesaplayabileceğimiz fikrini ortaya attık. Böylece anormal proteinlerin var olup olmadığını ve eğer varsa daha sonra konsantrasyon

ölçümü yaparak tipini belirleyebileceğimizi düşündük. 12 sağlıklı birey için κ/λ oranının ortalama ve dağılım aralıkları Şekil 4.6'da verilmiştir.

Bu oran aşırı bireysellik göstermektedir. Gerçekten bu test şimdiye kadar gördüğümüz en bireysel testtir. Tablo 4.3'te görüldüğü gibi tüm immünoglobülinler ve oranları düşük II değerlerine sahiptirler. Bunun anlamı şudur: Bireyler kendileri için çok anormal değerlere sahip oldukları halde test sonuçları referans aralık içinde bulunacaktır ve ne laboratuvar ne de klinisyen daha ileri çalışma yapmayacaktır. Elektroforezdeki küçük bantları çıkarabiliriz ancak uygun ve kolayca otomatize edilebilmesine rağmen bu anomalileri önerilen tekniklerle yakalayamayız.

Diğer çalışmalar bu tekniğin belirlenen paraproteinlerin sadece %71-95'ini yakalayabileceğini göstermiştir. Biyolojik varyasyonla ilgili basit çalışmamız bu klinik duyarsızlığın nedenini açıkça ortaya koymaktadır. Bireyler kendileri için anormal değerlere sahip oldukları halde, bu değerler hala referans sınırlar içinde bulunmaktadır. Bireysellik -alışılmadık bulgu- laboratuvar testlerinin latent, erken, ya da pre-semptomatik hastalıkları yakalamada neden iyi olmadıklarının mantıklı bir açıklamasını sunmaktadır. Benzer şekilde tarama ya da vaka bulmada neden çok sayıda laboratuvar testini kullanmanın da gerçekten anlamlı bir faydasının olmadığını bireysellikle açıklayabiliyoruz.



Şekil 4.6 Sağlıklı 12 bireyin κ/λ oranının ortalama ve dağılım aralıkları (Ford RP, Mitchel PEG, Fraser CG. Desirable performance characteristics and clinical utility of immunoglobulin and light-chain assays derived from data on biological variation. Clin Chem 1988;34:1733-1736. Resim 2. İzin alınarak kullanılmıştır)

HEMATOLOJİDE BİREYSELLİK

Bu kitapta kullanılan örneklerin çoğunluğu klinik biyokimyadan seçilmiş olmakla birlikte (çalışma alanımı yansıtmaktadır) bireyselliğin laboratuvar tıbbının tümünde olağan bir durum olduğunu belirtmekte yarar vardır.

Görünürde sağlıklı olan yaşlı bireylerde tam kan sayımı testlerinin biyolojik varyasyonunu çalıştık. Diğerleri hematoloji laboratuvarlarında ölçülen pek çok testin biyolojik varyasyonunu çalıştılar.

Hemoglobin ve hematokritin ortalama ve mutlak dağılım aralıkları Şekil 4.7'de gösterilmiştir. 1-12 numaralı bireyler erkek ve 13-24 numaralı bireyler kadın.

Görsel değerlendirmede aşağıdakileri görebiliriz.

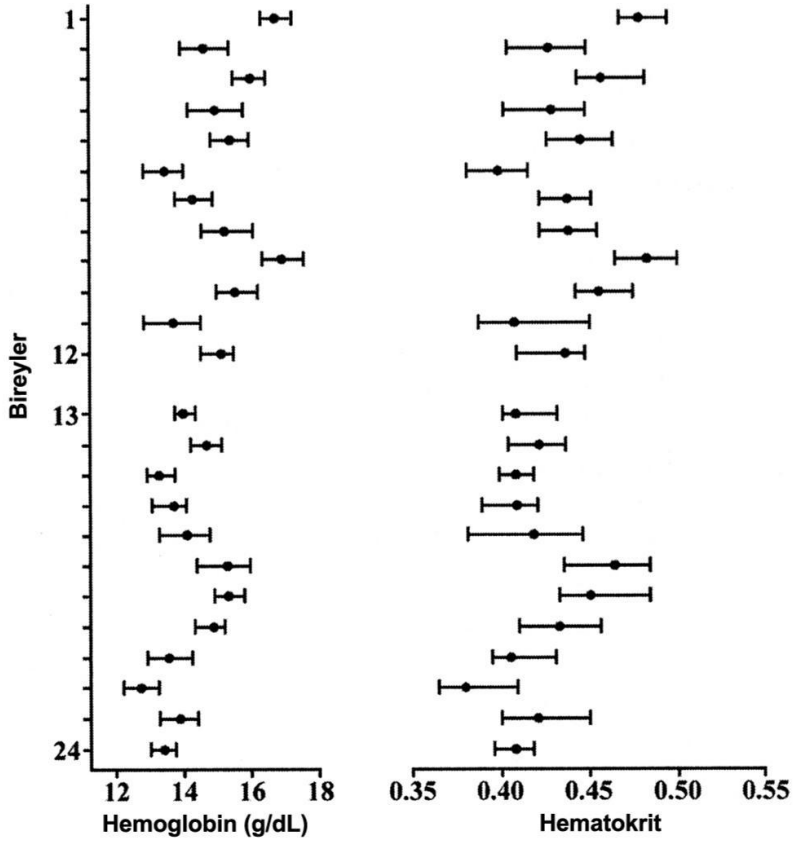
- Hemoglobin ve hematokrit belirgin bireysellik göstermektedir ve düşük bireysellik indisleri olacaktır.
- Genel olarak, erkeklerin değerleri kadınlardan yüksektir. Referans değerlerini cinsiyete göre tabakalara ayırmak birerysellik indeksini artırarak klasik referans aralıklarının daha fazla kullanışlı olmasını sağlayacaktır.
- Herhangi bir bireydeki değişimi değerlendirmek için referans aralıklarını kullanmak RCV'ye göre daha az yararlı olacaktır.
- Tabakalaşmaya rağmen bireysellik hala yüksektir ve bu durumda insanların kendileri için çok anormal olan test sonuçları hala klasik referans aralıkları içinde bulunabilir. Bu durumda tarama ve vaka bulma için hematoloji testlerini çalışmak %100 istenen duyarlılığı sağlamayacaktır ve yanlış negatifler yaygın olacaktır.

Tablo 4.3 İmmünoglobülinler, Hafif Zincirler ve Oranları İçin CV_I, CV_G ve II Değerleri.

Analit	Bireysel varyasyon (%)	Bireyler arası varyasyon (%)	II
IgG	4.4	13.0	0.34
IgA	5.0	35.0	0.14
IgM	5.9	48.5	0.12
κ	4.8	15.3	0.31
λ	4.8	17.3	0.28
κ/λ oranı	0.7	12.1	0.06
H/L oranı	4.2	4.8	0.87

En son veri tabanından alınan tam kan sayımı parametrelerinin biyolojik varyasyon değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

Bireysellik şimdiye kadar çalışılan tüm hematolojik analitler ve indisler için belirgindir. Hücre sayımı dahil klinik immünoloji laboratuvarlarında çalışılan testler için de bireysellik belirgindir.



Şekil 4.7 Yaşlı bireylerin hemoglobin ve hematokrit değerlerinin ortalaması ve mutlak dağılım aralıkları. (Fraser CG, et al. Biological variation of common hematologic laboratory quantities in the elderly. Am J Clin Pathol 1989;92:465-470. Şekil 1. İzin alınarak kullanılmıştır.)

Tablo 4.4 Sıklıkla Çalışılan Hematolojik Analitlerin ve Oranlarının CV_I, CV_G ve II değerleri.

Analit	Bireysel varyasyon (%)	Bireyler arası varyasyon (%)	II
Hemoglobin	2.8	6.6	0.42
Hematokrit	2.8	6.6	0.42
MCV	1.3	4.8	0.27
MCH	1.6	5.2	0.31
MCHC	1.7	2.8	0.61
Eritrosit	3.2	6.1	0.52
Lökosit	10.4	27.8	0.37
Trombosit	9.1	21.9	0.42

BİREYSELLİK VE SAĞLIKTA TESTLERİN TEKRARI

Klasik popülasyona dayalı referans aralıkları popülasyonun %95'ini kapsamaktadır. Bu durum kısmen yaygın kabullere göre olmakla birlikte aynı zamnada IFCC ve diğer ulusal ve uluslararası otoriteler tarafından da önerilmektedir.

Bu durumda %2.5'i üst referans sınırından yüksek ve %2.5'i alt referans sınırından düşük olmak üzere popülasyonun toplam %5'i referans sınırların dışında kalacaktır.

Bu insanlar rahatsız ya da hasta değildirler. Bunlar sadece referans popülasyonun oluşturduğu dağılımın büyük bir kısmından farklıdırlar. Laboratuvar hizmetlerini kullananların çoğunluğu anormal bir sonucun her zaman önemli klinik bir sorunun bulunduğu anlamına gelmediğini bilirler. Bununla birlikte laboratuvar sonuçlarını kullanan diğerleri çok fazla düşünmeden sıklıkla 'anormal' sonuçları olan testlerin tekrarını isterler.

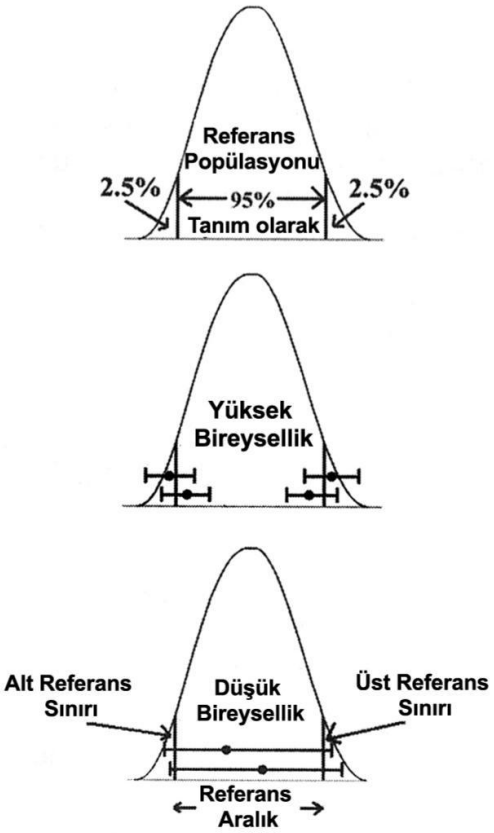
Sıklıkla tekrarlanan sonuçlar referans aralığı içine girmektedir ve testi isteyen kişi için bu yeterlidir ve muhtemlen 'laboratuvar hata yapmıştır' diye düşünür ya da büyük olasılıkla test sonucundaki değişimin nedeni hakkında pek fazla kafa yormaz.

Bir analit belirgin bireyselliğe sahip olduğu zaman, her bir birey için bulunan değerler referans popülasyonu için gözlenen dağılımın sadece küçük bir kısmını kapsayacaktır. Şekil 4.8'de orta diyagramda gösterildiği gibi doğal olarak bazılarının homeostatik karar noktası referans sınırlarına yakın olacaktır. Bu karar noktaları referans sınırlarının içinde ya da dışında olabilir.

Bununla birlikte, varyasyonun doğasından dolayı, referans sınırların sadece az ötesinde olan sonuçları (borderline, sınır değer) tekrarladığımızda yeni sonuç genellikle referans aralıkları içinde olur. Neyseki referans aralıkları içinde olan sonuçları sıklıkla tekrarlamıyoruz. Çünkü homeostatik karar noktası referans aralıkları içinde olan insanların tekrarlanan test sonuçları, varyasyonun doğasından dolayı, anormal görülebilir ve bu durum klinisyenlerin yeni bir hastalığın var olduğunu düşünmesine neden olabilir.

Analitin bireyselliği düşük olduğu zaman, tüm bireylerin homeostatik karar noktaları referans aralık içinde olacaktır ve Şekil 4.8 alt diyagramda görüldüğü gibi bu bireylerin sonuçları dağlımın hemen hemen tümünü kapsayacaktır. Kuşkusuz referans popülasyon içinde anormal bir sonuçla karşılaşma olasılığı %5 olacaktır. Bununla birlikte eğer anormal bir sonucu tekrarlarsak (özellikle sınır değer) elde edeceğimiz yeni sonuç genellikle referans aralık içinde olacaktır. Eğer referans aralık içindeki sonuçları bazı nedenlerden dolayı

tekrarlarsak bulunan yeni sonuçlar da büyük olasılıkla yine aralık içinde olacaktır ve anormal sonuç elde etme olasılığı düşük olacaktır.



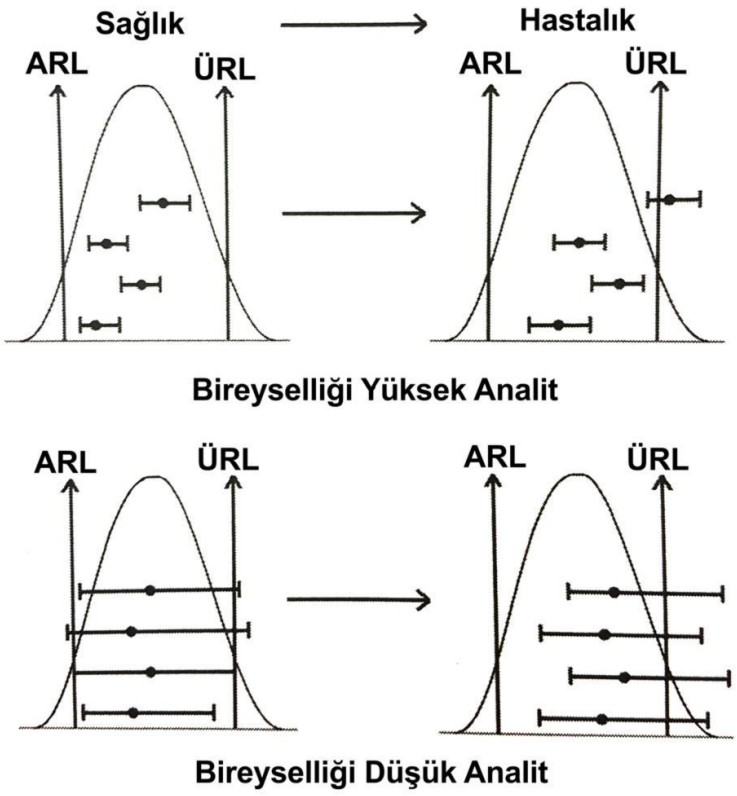
Şekil 4.8 Sağlıklı bireylerde referans sınırın hemen ötesinde bulunan bir testin tekrarının sonuçları

Bu nedenle, bir analitin yüksek ya da düşük bireyselliği olup olmadığına bakılmaksızın, popülasyonun %5'ini oluşturan ve referans aralıklarının dışında kalan kişilerin testlerini tekrar çalışırsak, tekrarlanan sonuçlar çoğunlukla referans sınırlar içinde olacaktır. Vaka bulma ve taramada bu durum bir avantajdır. Çünkü tekrar çalışmakla anormal sonuçları normal olan kişilerde araştırma yapmaya gerek kalmayacaktır.

BİREYSELLİK VE HASTALIKTA TESTLERİN TEKRARI

Sağlıklı kişilerde elde ettiğimiz anormal sonuçları tekrarladığımızda (tanım olarak bu tür sonuçların popülasyonun %5'inde bulunabileceğini biliyoruz) genellikle yeni sonuçlar referans aralık içinde olacaktır. Analitin biryselliğine bakılmaksızın bunun doğru olduğunu söyleyebiliriz. Değerlerin çoğunluğu referans aralık içinde bulunduğundan ve bireyler de kendi ortalama değerlerine yaklaşmaya meyilli olduğundan yeni sonuçlar da referans aralıkta bulunacaktır.

Şimdi bireyin hasta olduğunu düşünelim ve bu durumda nelerin olabileceğini yakından inceleyelim. Şekil 4.9 üst diyagramda bireyselliği yüksek bir analitin homeostatik karar noktaları oldukça faklı olan 4 kişide yapılan ölçümlerin dağılımı gösterilmektedir. Bu örnekte insanlar hasta olduğunda analitlerin konsantrasyonları artmaktadır. Bu 4 kişinin ortalama ve dağılım aralıkları da artmaktadır.



Şekil 4.9 Hasta kişilerde bireyselliğin test tekrarına etkisi

Bununla birlikte, bireysellikten dolayı, değerlerin büyük çoğunluğu sürekli olarak hala referans aralık içinde bulunmaktadır. Homeostatik karar noktası referans limitlere yakın olan çok az sayıdaki birey gerçekten şanslı olacaktır. Örneğin üst diyagramda en üstteki bireyin karar noktası üst referans limitine yakındır ve bu durumda hastalığın illerlemesinin bir göstergesi olarak testin sonucunda değişim başladığında homeostatik karar noktası üst referans limitinin ötesine kayacaktır.

Anaormal bulguyu 'teyit etmek' için bu testi tekrarladığımızda muhtemelen yeni sonuç da hala anormal olacaktır. 'Belirgin olarak anormal' olan (sınır değer olmayan) test sonuçlarını tekrarlamak sadece kaynak israfı olabilir.

Analitlerin belirgin bireyselliği olduğunda, hastalığın illerlemesi ile (bu analitleri kullanarak) hastalığı yakalama şansı yüksek olacaktır. Homeostatik karar noktası referans sınıra yakınlaşacak ve daha sonra geçecektir.

Şekil 4.9 alt diyagramda bireyselliği düşük olan bir analit gösterilmektedir. Bu örnekte de insanlar hasta olduklarında analitlerinin ortalama ve dağılılm aralıkları artacaktır. Fakat, bireyselliğin düşük olmasından dolayı, tüm bireylerin bazen refrerans sınırı geçen değerleri bulunmasına rağmen, hemen hemen her zaman ölçüm sonuçlarının çoğunluğu referans aralık içinde bulunacaktır.

Nitekim belirgin bireyselliği olan analitlere karşın (birkaçında anormal fakat anlamlı değişimin olması) bazen tüm bireylerin test sonuçları anormal olur. Tüm bireylerin hasta olarak tespit edilme şansı vardır fakat bu şans oldukça küçüktür. Hastalık ilerleyince ve analit de giderek daha anormal olunca hastalığı yakalama olasılığı yüksek olacaktır. Bu olasılık herkes için aşağı yukarı aynı olacaktır.

Eğer bireyselliği düşük olan bir analitin anormal olan sonucunu 'teyit etmek' amacıyla tekrarlarsak - Gaussian dağılımın şeklinden dolayı - yeni sonucu da muhtemelen referans aralık içinde olacaktır.

Sadece test sonucu gerçekten çok farklı olduğunda tekrarı da muhtemelen anormal olacaktır. Sonuçta hastalık şiddetli olmadıkça test tekrarı bize yanlış sonuç verecektir. Tekrarlı ölçümlerin ortalamasının bulunabilceği alan tek ölçüme göre daha dardır ve bu nedenle ölçüm tekrarının az da olsa yararı vardır. Buna rağmen anormal bir sonucun tekrarı diyagnostik olarak çok yararlı bir yöntem değildir.

Bu nedenle, hastalarda anormal bir sonucu 'teyit etmek' için testin tekrar edilmesinin fazla bir yararı yoktur. Çünkü bireysellik yüksek olduğunda test sonucu da anormal kalacaktır. Benzer şekilde bireysellik düşük olunca bu kez test sonucu büyük olasılıkla normal aralıkta bulunacaktır. Bireysellik indeksine bakılmaksızın test tekrarının çok efektif olmadığını söyleyebiliriz.

ÖZET

Bu bölüm aşağıdaki anahtar noktaları kapsamaktadır:

- Klinik laboratuvarların test sonuçlarını pek çok amaç için kullanıyoruz.
- Test sonuçlarını yorumlamak için kılavuz olarak genellikle popülasyona dayalı referans aralıklarını kullanıyoruz.
- 'Normal' ve 'anormal' sözcüklerinin pek çok anlamı vardır ve bu yüzden laboratuvar sonuçlarının yorumlanmasında kullanılması uygun değildir.
- Referans değer kavramı ve terminolojisi kullanılmalıdır. Referans bireyler referans popülasyonunu oluştururlar. Referans popülasyonundan referans numune grubu seçilir ve bu gruptan referans değerler elde edilir. Referans değerlerin oluşturduğu dağılım incelenerek referans sınırlar hesaplanır. Son olarak referans sınırlar kullanılarak referans aralıklar belirlenir.

- Uluslararası organizasyonlar hasta verilerini kullanarak referans aralıklarının elde edilmesini tavsiye etmemektedirler.
- Referans aralıklar *a priori* ya da *a posteriori* olarak seçilebilir. A priori'de çalışmaya alınma ya da dışlama kriterleri testler çalışmadan önce belirlenir. A posteriori'de ise testler büyük bir grupta çalışıldıktan sonra kriterler uygulanır.
- Preanalitik varyasyonların kaynaklarını minimuma indirmemiz gerekir ve analizleri de kalitesi kontrol altında olan analitik çalışmalarda yapmalıyız.
- Referans aralık, verilerin non-parametrik olarak %95'lik merkezi bölgesini kapsamalıdır.
- Referans değerler endojen, eksojen, genetik/etnik, laboratuvar ve istatistiksel faktörlerden etkilenir. Yaş ve cinsiyete göre alt grupların oluşturulması gerekebilir.
- Referans değerleri alt gruplara ayırmanın gerekli olup olmadığına karar vermek için kullanılabilecek basit teknikler mevcuttur.
- Klasik referans değerlerinin elde edilmesinde ve uygulanmasında çok sayıda problemle karşılaşıyoruz. Bu nedenle laboratuvarda referans değerlerin elde edilmesi için pragmatik bir yaklaşımı tavsiye ediyoruz.
- Bireylerin çoğunluğunda zamanla görülen varyasyon referans aralığının oluşturduğu dağılımdan daha küçüktür ve genellikle bireysel biyolojik varyasyon bireyler arası biyolojik varyasyondan daha küçüktür.
- Bireysel biyolojik varyasyonun bireyler arası biyolojik varyasyona oranına bireysellik indeksi diyoruz. Analitlerin büyük çoğunluğunda bireysellik indeksi düşüktür yani belirgin bireysellik söz konusudur.
- Popülasyona dayalı referans aralıkları bireysellik indeksi küçük olan analitlerde, özellikle < 0.6 olduğunda, hastaların takibinde kullanılmasının yararı sınırlıdır.
- Popülasyona dayalı referans aralıklarının bireysellik indeksi yüksek olan analitlerde, özellikle > 1.4 olduğunda, hastaların takibinde kullanılması yararlıdır.
- Stratifikasyon (verilerin tabakalara ayırılması) bireysellik indeksini artırır ve referans aralıklarının hastaların takibinde olduğu gibi teşhisinde de çok kullanışlı olmasını sağlar.
- Belirgin bireysellik, laboratuvar testlerinin vaka bulma ve taramada neden zayıf kaldığını açıklamaktadır. Çünkü bu tür testlerde bireylerin test sonuçları kendileri için oldukça anormal olduğu halde referans aralıkları içinde bulunabilir.

- Önemli hastalıklarda bile eğer analitin bireyselliği yüksek ise sadece homeostatik karar noktaları referans sınırlara yakın olan durumlarda hastalığı yakalayabiliriz. Bu analitlerde anormal olan sonuçların tekrarı muhtemelen aynı sonucu verecektir.
- Eğer bir analitin bireyselliği düşük ise hastalığın illerlemesi durumunda tüm bireylerde hastalığın tespit edilmesi olasılığı benzer olacaktır: Doğal varyasyondan dolayı tekrarlanan test sonuçlarının referans aralık içinde bulunması olasılığı az da olsa vardır.

EK OKUMA LİSTESİ

1. Faulkner WR, Meites S. Geriatric clinical chemistry reference values. Washington, DC: AAC, 1993. *(Source of reference values for the elderly)*
2. Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into sub-groups to produce separate reference ranges. Clin Chem 1990;36:265-270.
3. Harris EK. Statistical aspects of reference values in clinical pathology. Prog Clin Pathol 1981;8:45-66.
4. Henny J, Peticlerc C, Fuentes-Arderiu X, et al. Need for revisiting the concept of reference values. Clin Chem Lab Med 2000;38:589-595.
5. Hyltoft Petersen P, Fraser CG, Sandberg S, Goldschmidt H. The index of individuality is often a misinterpreted quantity characteristic. Clin Chem Lab Med 1999;37:655-661.
6. Meites S. Pediatric clinical chemistry reference (normal) values, 3rd ed. Washington, DC: AACC, 1989. *(Source of reference values for children.)*
7. NCCLS C28-A: How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline—2nd edition. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000.
8. Siest G, Henry J, Schiale F, Young DS. Interpretation of clinical laboratory tests. Basle: Karger, 1985. *(Excellent for age and sex stratified values.)*
9. Sinton TJ, Crowley D, Bryant SJ. Reference values of calcium, phosphate, and alkaline phosphatase as derived on the basis of multi-analyzer profiles. Clin Chem 1986;32:76-79.
10. Solberg HE, Grassbeck R. Reference values. Adv Clin Chem 1989;27:1-79. *(A detailed review of all six IFCC Approved Guidelines.)*
11. Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests. Philedelphia: Saunders, 1988. *(Good for rarely performed assays and very compherensive regarding drugs, hematology, microbiology).*
12. Whitehead TP, Robinson D, Hale AC, Bailey AR. Clinical chemistry and haematology: adult reference values. London: BUPA Medical Research and Development Ltd,. 1994.

5. Bölüm

Biyolojik Varyasyonun Diğer Kullanım Alanları

Analitik ve biyolojik varyasyon bileşenleri ile ilgili verilerin temel kullanım alanları: (1) kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi, (2) bireylerin seri ölçümlerindeki değişimin değerlendirilmesi ve (3) popülasyona dayalı referans değerlerin kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi. Bununla birlikte aşağıda belirtildiği gibi biyolojik varyasyon verileri diğer pek çok ilginç amaç için de kullanılabilir.

EPİDEMİYOLOJİ

Bir testin bireyselliğini ve buna bağlı olarak teşhis, vaka bulma, tarama ve takip aşamalarındaki belirgin bireyselliğin sonuçlarınıinceledik. Epidemiyologlar, biraz farklı bir yöntemle, benzer bilgileri kullanmaktadır. Aşağıda gösterildiği gibi formüle edilen *Güvenilirlik Katsayısını* kullanırlar.

$CV_G^2 /(CV_A^2 + CV_I^2 + CV_G^2)$

Güvenilirlik katsayısı bireyler arası varyansın toplam varyansa oranı ile elde edilir. Güvenilirlik katsayısı, genellikle R ile ifade edilir ve sayısal olarak tekrarlanan ölçümlerin korelasyon katsayısına eşittir. R değeri 0 – 1 arasında değişmektedir (bireysellik indeksi 0 ile …arasında bulunabilir).

Eğer R değeri 1'e yaklaşırsa bireysellik indeksi oldukça düşük olacaktır (CV_A/CV_G düşük olacaktır). Bu nedenle testin bireyselliği oldukça yüksek olacaktır. Yani bireylerin kendi homeostatik karar noktaları etrafındaki değişimleri düşük olacaktır, fakat karar noktalarının bireyler arasındaki değişimi çok yüksek olacaktır. Bu durumda bir testin herhangi bir sonucu o bireyin homeostatik karar noktası hakkında makul düzeyde bilgi verecektir. Buna ilaveten zamanla test sonucunda değişimler görülecektir fakat bu değişim tüm referans aralığını kapsamayacaktır.

Bunun aksine, eğer R değeri sıfıra yaklaşırsa bu durum çok yüksek bireysellik indeksine sahip olmakla aynı olacaktır. Böylece test düşük bireysellik gösterecektir. Bireylerin kendi homeostatik karar noktaları etrafındaki değişimleri yüksek olacaktır, farklı bireylerin karar noktaları benzer olacaktır ve bir testin herhangi bir sonucu o bireyin homeoststatik karar noktası hakkında ancak kaba bir bilgi verebilecektir. Bununla birlikte zamanla her birey için test sonuçları önemli derecede değişim gösterecektir ve bu değişim referans aralığın büyük bir kısmını kapsayacaktır.

Bu nedenle, epidemiyolojide kullanılan ve bazen laboratuvar tıbbının literatüründe hesaplanan R, yaygın olarak kullanılan bireysellik indeksine benzer bilgiler vermektedir. Daha önce gördüğümüz gibi bireysellik kandaki analitler için doğal bir özelliktir: R değeri de genellikle yüksek olacaktır.

GEREKLİ OLAN NUMUNE SAYISI

Rutin klinik uygulamada genellikle sadece bir numune ile ölçüm yaparız. Bununla birlikte, analitin bireysellik indeksi yüksek olsa bile ve tek bir test sonucu bireyin homeostatik karar noktasını makul sınırlar içinde verebilirse de, test sonucunun analitik ve bireysel biyolojik varyasyonunun bulunduğu unutulmamalıdır. Daha öncede bahsedildiği gibi varyasyon çoklu numune alımı ya da çoklu analiz ile azaltılabilir ve varyasyon tekrarlı ölçümlerin sayısının kareköküyle orantılı olarak küçülür. Sayısal olarak ifade etmek gerekirse uygun SD ya da CV, $1/n^{1/2}$ ile basitçe çarpılır. Tek bir numunenin çift çalışılması sadece analitik hataları yakalamakla kalmaz, aynı zamanda varyasyonun analitik bileşenini de (CV_A) $1/2^{1/2}$ kadar, yani %70'e kadar düşürür.

Belirtilen bir olasılıkla homeostatik karar noktasının gerçek değerin etrafındaki belli bir yüzde aralığında bulunduğundan emin olmak için gerekli olan numune sayısını hesaplamak amacıyla ortalamanın standart hata formülünü yeniden düzenledik:

$$n = [Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}/D]^2$$

Z, verilen olasılığa uygun Z skorudur. Bu değer genellikle $P<0.05$ için 1.96'dır. D değeri ise homeostatik karar noktasına yakınlığın istenilen yüzde değeridir.

Örnek olarak serum kolesterolünü alalım. Kolesterol ile ilgili ulusal kılavuzları hazırlayan pek çok yazar, kolesterol testinin tek bir sonucunun varyasyonu olduğunu ve bu nedenle iki numunenin alınmasını önermektedirler. Daha önce tartıştığımız gibi bireysel biyolojik varyasyon değeri %6 idi. Eğer

laboratuvar, ABD ulusal kolesterol eğitim programında önerilen maksimum presizyona ulaşmayı başarmışsa CV_A %3 olacaktır.

Bu nedenle, eğer elde edeceğimiz sonucun %95 olasılıkla gerçek homeostatik karar noktasının %10'u içinde bulunmasını istiyorsak,

$n = [Z \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2}/D]^2$

$n = [1.96 \times (3^2 + 6^2)^{1/2}/10]^2$

$n = 2$

Olasılığı düşürmek (Z değerini düşürmek) veya kabul edilebilir aralığı genişletmek (D değerinin artması) analiz için gerekli olan numune sayısını azaltacaktır.

Analitik rastgele varyasyon ya da presizyon da burada önemli bir rol almaktadır. Eğer presizyon CV_A = %1 ise sadece bir numune yeterli olacaktır, fakat bazı hasta başı cihazlarda görüldüğü gibi CV_A %10 ise gerçekçi olmayan bir sayı olan 5 numune gerekli olacaktır. Bu durum günlük uygulamada ulaşılan rasyonel düşük presizyona bağlıdır.

SONUÇLARIN RAPORLANMASI

Bazen laboratuvar sonuçlarını farklı şekillerde rapor ederiz. Örneğin 24 saatlik idrar toplamasını inceleyelim. Genellikle idrar hacmini ya da ağırlığını ölçeriz ve daha sonra bir porsiyonu analiz ederiz. Elde edilen sonucunu konsantrasyon (ünite/litre) cinsinden ifade ederiz. Daha sonra günlük atılımı (ünite/gün) hesaplarız. Burada hangi sonucun rapor edilmesi gerektiğini sorgulamamız gerekir.

Biyolojik varyasyon açısından baktığımızda, ideal analit düşük bireysel biyolojik varyasyona sahip olan analittir, öyle ki, bu durumda tek bir ölçümün bireyin gerçek değerini daha doğru tahmin edebileceğini söyleyebiliriz. Dahası, böyle bir durumda RCV değeri daha düşük olacağı için takip işlemleri de kolaylaşacaktır. Buna ilaveten, bu kitaptaki basit bir formülün herkesi kapsaması için, ideal testin bireysel varyasyonda heterojenlik göstermemsi gerekir. Dahası, tanı konulması ve vaka bulmada popülasyona dayalı referans aralığının başarılı bir şekilde kullanılabilmesi için bireysellik indeksinin yüksek olması beklenir.

Verilerin bu ideal özelliklere en çok uyduğu koşullarda sonuçlar rahatlıkla rapor edilebilir.

Sıklıkla incelenen idrar anaitlerinin biyolojik varyasyon bileşenlerinin belirlendiği pek çok çalışma bulunmaktadır. Ek 1'de görüldüğü gibi sonuçların

atılım, ünite bölü gün, olarak ifade edilmesinin avantajları bulunmaktadır. Örneğin kreatinin üzerine yaptığımız yoğun çalışmada, test sonucu konsantrasyon cinsinden ifade edildiği zaman CV_I %23.8 iken, atılım olarak ifade edildiğinde ise CV_I %13 olarak belirlendi.

SAKLAMAK İÇİN EN İYİ NUMUNENİN SEÇİMİ

Bazen aynı klinik kullanım için farklı numuneler toplayabiliriz. Biyolojik varyasyon açısından değerlendirildiğinde ideal test için hangi numunenin seçilmesi gerektiğine karar verebiliriz. Örneğin diyabet bakımı için idrarda düşük konsantrasyondaki albümin ölçümü çok işe yarar. Bununla birlikte sabahki ilk idrarı, hastalar sağlık merkezine geldikleri zamanki rastgele spot idrarı, ya da 24 saatlik idrar örneğini toplayarak sonucu konsantrasyon ya da atılım olarak ifade edebiliriz. Bazı verilerimiz Tablo 5.1'de verilmiştir.

Sabah alınan ilk idrarın CV_I değeri en düşük olduğu için en iyi numune olabilir. Sabah alınan ilk numunenin verilerinin kadın ve erkek için çok benzer olması ve bireylerin benzer CV_I değerlerine sahip olması gerçeği bu öneriyi desteklemektedir.

Kreatinin atılımı 'sabit' kaldığı için tüm analitlerin 'kreatinin ile doğrulanması'nın yapılmasının (birim kreatinin başına birim analit oranı şeklinde ifade edilir) gerekli olduğunu düşündürmektedir. NCCLS referans verilerle ilgili dokümanında 24 saatlik idrar toplama işleminde doğrulama için kreatininle kontrolün yapılmasını önermektedir.

Bununla birlikte idrar kreatinini kendi içinde anlamlı derecede varyasyon göstermektedir. İdrar albüminin mg/mmol kreatinin şeklinde ifade edilmesinin önemli dezavantajları bulunmaktadır. Çünkü bu oranlama genellikle CV_I değerini düşürmez, erkeklerdeki değeri kadınlara benzer hale getirmez ve tüm bireylerin CV_I değerlerini aynı yapmaz. Bununla birlikte bu durum tüm analitler için doğru değildir ve bu nedenle analitleri birim kreatinin başına oranlarken dikkatli olmalıyız ve bu durumu bir dogma gibi kabul etmemeliyiz.

Tablo 5.1 Kadın ve Erkek İçin Birleştirilmiş Mikroalbüminin Biyolojik Varyasyonu

Numune tipi	CVI (%)	CVG (%)
Ilk sabah	36	35
Rasgele spot	86	61
24 saat - konsantrasyon olarak	61	53
24 saat - çıktı olarak	70	55

EN İYİ TESTİN SEÇİMİ

Aynı ya da benzer klinik amaçlar için bazen farklı testleri seçeriz. Birden fazla testi seçmek yerine sadece tek bir testi çalışmayı düşündüğümüz zaman ideal test seçiminde biyolojik varyasyon bize yardımcı olabilir. Bazen bir testi diğerine tercih etmenin fazla nedeni olmayabilir, örneğin sağlıklı bireylerde lipaz ve amilaz çalıştığımız zaman birinin diğerine avantaj ya da dezavantajını söylemek zor olabilir.

Bununla birlikte bazı kardiyak belirteçleri değerlendirdiğimizde CK-MB kütle RCV değerinin CK-MB aktivitesine göre çok daha düşük olduğunu görüyoruz. Bu sonuca göre hastaların takibinde CK-MB kütlenin CK-MB aktiviteye göre daha iyi olduğunu söyleyebiliriz.

Keevil ve arkadaşları çok güzel bir örnek sundular. Renal yetmezlik için iki test çalıştılar: Yeni bir test olan serum sistatin C ve yaygın olarak kullanılan serum kreatinini. Bu testlerin biyolojik varyasyonu ve bireysellik indeksi Tablo 5.2'de verilmiştir. Bu iki testin oldukça farklı karakteristikleri bulunmaktadır. Kreatinin çok bireysel bir test iken sistatin C daha azdır. Kreatinin için bireysellik indeksi 0.27 iken sistatin C için 1.64'tür. Bu verilere göre popülasyona dayalı referans aralıklarının kreatinine göre sistatin C için daha yararlı olabileceğini söyleyebiliriz. Daha da önemlisi kreatininin RCV değeri sistatin C'ye göre çok daha düşüktür (çünkü hem analitik hem de bireysel biyolojik varyasyonu düşüktür). Bu nedenle sistatin C'nin daha çok teşhis, kreatininin ise daha çok takip için yararlı olabileceğini söyleyebiliriz. Bu küçük çalışma ancak büyük klinik çalışmalardan elde edilecek ilginç bilgileri vermektedir.

Tablo 5.2. Sistatin C ve Kreatinin'in Biyolojik Varyasyonu

Analit	CVI (%)	CVG (%)	II
Sistatin C	13.3	8.1	1.64
Kreatinin	4.9	18.2	0.27

Sistatin C'nin renal fonksiyon testi olarak kullanılmadan önce, aynı amaç için kreatinin klirensi ve serum kreatinini incelemiştik ve benzer bir sonuca ulaşmıştık: Serum kreatininin CV_I değeri düşüktü ve düşük RCV değeri bu testi takip için uygun kılmaktaydı. Bununla birlikte, erkek ve kadın olarak ayrı ayrı değerlendirildiğinde bu testin bireysellik indeksi düşüktü ve küçük renal yetmezlikleri yakalamada popülasyona dayalı referans aralıklarının yararı fazla olmayacaktı.

Bunla birlikte kreatinin klirensinin aksi yönde bir karakteristiği bulunmaktadır ve kullanılabilir bir referans değer seti vardır. Bu özellik, en azından

teorik olarak, küçük renal kayıpları yakalamada kreatinin klirensini daha yararlı kılmaktadır. Benzer şekilde, sağlıklı bireylerden alınan birkaç numune üzerinde yapılan küçük bir çalışma ile ancak kompleks ve büyük klinik çalışmalardan elde edilebilecek bilgilere ulaşabileceğimizi düşünebiliriz.

METOT GELİŞTİRME VE DEĞERLENDİRME

Yeni test prosedürlerinin tanımlanması ve kullanılması, pek çok klinik laborartuvarlarda süregelen bir iştir. Birkaç yıl önce, Zweig ve Robertson yeni bir prosedürün kullanıma alınmasını yeni bir ilacın faz denemelerindeki gelişmeye benzettiler. Aşağıdaki fazları önerdiler:

- Faz I. Analitik inceleme. Güvenilirlik ve pratiklik karakteristiklerinin değerlendirilmesi
- Faz II. Çakışma incelemeleri. Referans değerlerin üretimi ve bu verilerin sağlıkta ve hastalıkta değerlendirilmesi
- Faz III. Klinik incelemeler. Duyarlılık, özgüllük ve öngörü verilerinin değerlendirilmesi
- Faz IV. Sonuç (outcome) incelemesi. Bireylerin avantaj sağlayıp sağlamadığının incelenmesi
- Faz V. Yararlılık incelemesi. Bireysel ve büyük topluluklar açısından maliyet-yarar analizi.

Test prosedürünün ilk gelişim aşamalarında, biyolojik varyasyon verilerinin üretilmesi ve uygulamasının gerekliliği bu kılavuzlarda bulunmamaktadır. Sağlıklı küçük bir gruptan alınan numunelerin çift analizi gibi basit bir deneysel çalışma ile biyolojik varyasyon bileşenlerine ait verileri üretebiliriz. Bu verilerin elde edilmesi ile kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi (Faz 1 incelemesi için gereklidir), bir bireydeki değişimin anlamlılığının hesaplanması (başka metotlarla elde edilemeyen ve yukarıda sözü edilen çerçevenin dışında), ve popülasyona dayalı referans verilerinin yararlılığının değerlendirilmesi (Faz II'de üretildiği gibi) mümkün kılınmaktadır.

Dahası, biyolojik varyasyon verileri testin kendisi ve diğer prosedürlerle nasıl karşılaştırılabileceği konusunda başka yararlı bakış açıları da sunabilir. Biyolojik varyasyonla ilgili verilerinin üretimi ve uygulaması yeni prosedürlerin kullanımı için temel önkoşuldur.

ÖZET

Bu bölüm aşağıdaki önemli noktaları kapsamaktadır:

- Hesaplanması kolay olan ve epidemiyolojide kullanılan güvenilirlik katsayısı bireysellik indeksine benzer bilgiler vermektedir.
- Z skoru, yüzdelik, presizyon ve bireysel biyolojik varyasyon değerlerini kullanarak verilen bir olasılıkla belli bir yüzdelik içinde homeostatik karar noktasını elde etmek için gerekli olan numune sayısını hesaplayabiliriz.
- Biyolojik varyasyonla ilgili veriler, test sonuçlarını raporlamak için en iyi yöntemin seçiminde ve en iyi numunenin toplanmasında karar vermek için kullanılabilir.
- Tek bir klinik durumun değerlendirilmesinde farklı test prosedürlerinin kullanılması düşünüldüğünde biyolojik varyasyon verilerini göz önünde bulundurmalıyız.
- Yeni bir test prosedürünün gelişiminde biyolojik varyasyon verilerinin üretilmesi ve uygulanması temel ön şarttır.

EK OKUMA LİSTESİ

1. Fraser CG. Data on biological variation; essential prerequisites for introducing new procedures. Clin Chem 1994;40:1671-1673.
2. Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. Crit Rev Clin Lab Sci 1989;27:409-437.
3. Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW. Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. Clin Chem 1998;44:1535-1539.
4. Zweig MH, Robertson EA. Why we need better test evaluations. Clin Chem 1982;28:1272-1276.6

6. Bölüm
Sonraki Adımlar

İlgilenen okuyucular biyolojik varyasyonla ilgili bilgilerini daha üst düzeye çıkarabilirler. Bu bölümde ileri çalışmalara başlarken okunması gereken en uygun makaleleri seçtim ve bu alandaki bilgi ve becerilerinizi derinleştirmek için atmanız gereken öncelikli adımları önerdim. Aynı zamanda yeni bilgilerinizi kendi laboratuvarınızda nasıl kullanacağınız konusunda da bazı fikirler verdim.

Arzu ederseniz biyolojik varyasyon değerlerinin gösterildiği Ek 1 ve veri tabanının en son versiyonunu (www.westgard.vom/guest17.htm adresinde bulunabilir) inceleyebilirsiniz. Bu incelemede aşağıdaki anahtar noktaları fark edeceksiniz:

- Sodyum, klorür ve kalsiyum gibi çok iyi homeostatik kontrol mekanizmalarına sahip olan analitlerin bireysel biyolojik varyasyon değerleri de çok düşüktür.
- Trigliserit, CK ve üre gibi zayıf homeostatik kontrol mekanizmalarına sahip olan analitlerin bireysel biyolojik varyasyon değerleri yüksektir.
- İdrardaki analitlerin bireysel biyolojik varyasyon değerleri daha yüksek olmaya yatkındır.
- Hücresel yapıların bireysel biyolojik varyasyon değerleri hücre tiplerinin yarı ömürleri ile ilişkilidir.
- Yüksek bireysellik (bireysel < bireyler arası) olağan bir durumdur. (Kişisel düşüncem, bu durum bende popülasyona dayalı referans aralıkları geliştirmek için harcanan büyük zaman, gayret ve kaynağın gerekli olup olmadığı konusunda ciddi kuşkular uyandırmaktadır).
- Biyolojik varyasyona dayalı arzulanan kalite düzeyi için yapılan önerilerin büyük bir kısmını mevcut metodoloji ve teknolojilerle gerçekleştirmek zor değildir.

DERLEME, SONRAKİ ADIMLAR VE EK OKUMALAR

1. Bölüm. *Biyolojik Varyasyonun Doğası,* Bu bölüm'de, aşağıdakileri öğrendik.

- Preanalitik varyasyon test sonuçlarındaki varyasyonun önemli bir kaynağıdır.
- Eğer herhangi bir testin sonucundaki belirsizliği düşürmek, seri ölçümlerdeki değişimi mümkün olduğunca anlamlı kılmak, referans aralıkların mümkün olduğunca dar olmasını istiyorsak varyasyonların bazı kaynaklarını düşürmek zorundayız.
- Aynı anda tekrarlı numune alınmadığı sürece biyolojik varyasyonu düşürmek mümkün değildir. Aynı anda birden fazla numune almak hem pahalı ve hem de pratik değildir. Tekrarlı numuneler ile biyolojik varyasyonu $1/n^{1/2}$ oranında düşürmek mümkündür.
- Presizyonu düşürmek zor olabilir. Bu nedenle varyasyonun preanalitik kaynaklarına odaklanmamız gerekir.

Sonraki basamaklar aşağıdakileri içerebilir:

- Hastanın hazırlanması için kılavuzlara tekrar bakınız.
- Flebotomistler tarafından numunelerin toplanması için kılavuzları inceleyiniz.
- Gerekirse bu kılavuzları güncelleyiniz.
- Eğer gerekli görülürse eğitimler veriniz.
- Doğru numunelerin uygun zamanda uygun teknikle ve doğru numune kabına alınması için Kullanıcı Kılavuzu ve Laboratuvar El Kitabındaki materyali gözden geçirerek kullanıcıları eğitip onlara yardımcı olunuz.
- Laboratuvardaki numune alımı ve işleme prosedürünü inceleyerek varyasyonları minimuma düşürmek için işlem zamanının, santrifüj tekniğinin, ve saklama koşullarının standardize edildiğinden emin olunuz.
- Preanalitik işlemlerle ilgili laboratuvar standart operasyon prosedürlerini geliştirerek ya da var olanı güncelleyerek, mevcut tüm işlemlerin bu prosedüre göre yapıldığından emin olunuz.

1. Bölüm için Önerilen Okuma Listesi

Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. Crit Rev Clin Lab Sci1989;27:409-437.

2. Bölüm *Kalite Spesifikasyonları,* Bu bölümde özellikle presizyon, bias ve toplam kabul edilebilir hata için kalite spesifikasyonlarını belirlemek üzere mevcut modellerin hiyerarşik yapısını inceledik ve aşağıda sıralananları öğrendik.

- Arzu edilen, minimum ve optimum kalite spesifikasyonlarını muhtemelen en iyi şekilde bireysel ve bireyler arası biyolojik varyasyondan türetebiliriz.
- Kalite spesifikasyonlarını belirlemek için CLIA'88'de olduğu gibi başka kullanışlı yollar da vardır.
- Objektif olarak uygun olduğunda hiyerarşideki tüm modeller kullanılabilir.

Sonraki aşama kalite planlamasının kurumsallaştırılmasını içerebilir. Bu aşama aşağıdakileri içerir:

- Presizyon, bias ve toplam kabul edilebilir hatanın biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonlarını içeren Ek 2'yi inceleyiniz.
- Klinik olarak önemli düzeydeki presizyonunuzu iç kalite kontrol programınızdan, bias'ınızı da PT ya da EQAS ya da QC programı değerlendirme grubunuzdan ya da kullanılan metodolojinin orijinal değerlendirilmesinden (metotların karşılaştırılması ve geri kazanım deneyleri) elde ediniz.
- Daha sonra her bir çalışmada kaç adet kalite kontrol numunesini çalışacağınızı ve kabul ve ret için kullanacağınız kalite kontrol kurallarını belirleyiniz.

Özellikle klinisyenlerle çok interaktif olmak istiyorsak ve tüm çalışma bitmedensonuçları rapor ediyorsak, tek bir analitik sistem üzerinde tümü farklı kurallar gerektiren çok sayıda analitimiz varsa veya faklı çalışma birimleri tek bir sistemde toplanmışsa, bunları yazmak uygulamaktan daha kolaydır.

Mevcut bazı araçlar kalite planlamada yardımcı olabilir ancak bu araçların detaylı tartışılması bu kitabın kapsamı dışındadır. Kapsamlı kalite planlaması için zamanı ve kaynağı olmayan ilgili okuyucular aşağıdaki pragmatik yaklaşımı değerlendirebilirler:

- Yukarıda bahsedildiği gibi preszyon, bias ve kabul edilebilir toplam hata için biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonlarını belirleyiniz.
- Kendi bias ve presizyon değerlerinizi belirleyiniz ve toplam hatanızı hesaplayınız (çok sayıda testin varyasyonunu etkilediği için ilk örnekte presizyon üzerinde yoğunlaşmak daha iyi olabilir).

- Daha sonra 2. Bölümde gösterilen modifiye tıbbi karar diyagramını kullanarak kalite spesifikasyonlarına olan uyumlarına göre analitleri sıralayınız, ya da analitleri basitçe iki gruba ayırınız: Herhangi bir düzeyde kalite spesifikasyonlarını karşılayanlar ve karşılamayanlar.
- Her bir kontrolün kalite spesifikasyonunu aşmadan önce, ortalamanın kaç SD kayabileceğini gösteren kritik sistematik hatayı (ΔSE_C) hesaplayınız.
- Kalite spesifikasyonlarını en az düzeyde karşılayan analitlerin metotlarını geliştirmek için çaba ve zaman harcayınız.
- Bu analitler için metot ile ilgili problemleri tespit edebileceği ve uygun olmayan sonuçları rapor edemeyeceğinden emin olduğunuz bir iç kalite kontrol programını belirleyiniz.

2. Bölüm için Önerilen Okuma Listesi

Fraser CG, Hyltoft Petersen P. Analytical performance characteristics should be judged against objective quality specifications. Clin Chem 1999;45:321-323.

Hyltoft Petersen P, Fraser CG, Kallner A, Kenny D, eds. Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine. Scan J Clin Lab Invest 1999;57:475-585.

3. Bölüm *Seri Ölçümlerdeki Değişimler,* Bu bölümde aşağıdakileri öğrendik:

- Test sonuçlarının büyük çoğunluğu hasta takipleri için kullanılmaktadır.
- Hem popülasyona dayalı referans aralıklar hem de sabit sınırlar klinik takip için yeterli değildirler.
- RCV'yi kullanarak seri ölçümleri karşılaştırmak kolaydır.

Sonraki aşamada aşağıdakileri uygulayarak kendi laboratuvarınızda RCV'yi değerlendirebilirsiniz.

- Bireysel biyolojik varyasyon için Ek 1'de verilen en güncel verileri kullanınız.
- İç kalite kontrol programından uygun klinik düzey için kendi presizyonunuzu belirleyiniz.
- Aşağıdaki basit formülü kullanarak %95 olasılık için (daha kesin değerlendirme için %99) RCV değerini hesaplayınız.

$$RCV = 2^{1/2} \times Z \times [CV_A^2 + CV_I^2]^{1/2}$$

Z değeri 1.96 (ya da 2.58) alınmalıdır.

Hasta sonuçlarındaki anlamlı ve yüksek derecede anlamlı değişimleri belli bir işaret ya da simge ile raporda belirtmek için RCV'yi kullanabilirsiniz. Bu uygulama pek çok laboratuvar için büyük bir aşama olacaktır. Bunun kolaylaştırılması için yerel yazılım uzmanları ya da LBYS firmaları ile konuşabilirsiniz. Dahası hem laboratuvar çalışanları hem de test sonuçlarını kullananlar (klinisyenler) için illeri eğitimler gerekebilir.

Bunu yapmak istemeyen, ya da bu konsepti tam olarak uygulamak için zamanı ve kaynağı olmayan okuyucular, halihazırda delta çek değeri bulunan ve yaygın olarak kullanılan analitler için en azından RCV değerini hesaplayabilirler. Daha sonra gerçekten delta çek verilerinin analitik ve biyolojik varyasyondan büyük olan değişimleri yakalamak için gerekli olan işlevleri yerine getirip getirmediğini değerlendirebilirsiniz. Bu özel durumda RCV için %99 olasılığın kullanılması çok değerli olabilir.

3. Bölüm için Önerilen Okuma Listesi

Queralto JM, Boyd JC, Harris EK. On the calculation of reference change values, with examples from a long-term study. Clin Chem 1993;39:1398-1403.

4. Bölüm *Popülasyona Dayalı Referans Değerlerinin Yararı,* Bu bölümde referans aralıklarının laboratuvarlar tarafından nasıl elde edileceği ile ilgili uluslararası önerileri değerlendirdik ve aşağıdakileri öğrendik:

- Bu önerilerin tam olarak uygulanabilmesi ve sonuç alınabilmesi için yeterli zaman, uzmanlık ve kaynak gereklidir.
- Çok iyi dizayn edilmiş çalışmalardan elde edilen referans aralıklarının bariz yetersizlikleri bulunmaktadır.

Olası sonraki aşamalar aşağıdakileri içermelidir.

Okuyucular kendi laboratuvarlarına özgü referans değerleri üretebilmelidir. Referans değerlerinde stratifikasyon (alt gruplara ayırma) yapabilmeliler ve daha sonra şüpheli ya da kaynağı şüpheli referans değerleri ele alıp inceleyebilmelidirler.

Bölüm 4'te detaylı olarak anlatılan hiyerarşik yaklaşım aşağıda açıklandığı gibi bu tür değerlendirme ve veri üretimine katkıda bulunabilir (aşağıdakiler hiyerarşik sıraya göre uygulanmalıdır Ç.N):

1. IFCC önerilerini tam olarak (yayımlandığı gibi) uygulayın,

2. Modifiye IFCC önerilerini laboratuvar ya da hastane personeli, kan donörleri, hatta hasta verileri ile kullanınız
3. Hakemli dergilerdeki literatürü, özellikle metodoloji aynı ya da benzer ise, kullanınız
4. Özellikle gençler ve yaşlılarla ilgili olmak üzere, stratifikasyonda yardımcı olduğu gibi, referans değerlerle ilgili kitapları kullanınız
5. Diğer literatürleri kullanınız ve son olarak
6. Cihaz veya reaktif üreticilerinin verilerini kullanınız.

Herhangi bir kaynaktan belli aralıklarla referans aralıklarının transferinin yararlarını değerlendirebilirsiniz. Bu amaçla NCCLS'nin önerdiği gibi 20 numunenin çalışılması ve değerlendirilmesi gerekir.

4. Bölüm için Önerilen Okuma Listesi

Solberg HE, Grassbeck R. Reference values. Adv Clin Chem 1989;27:1-79.

5. Bölüm, *Biyolojik Varyasyon Verilerinin Diğer Kullanım Alanları,* Bu bölümde biyolojik varyasyon verilerinin diğer küçük kullanım alanlarını inceledik ve aşağıda sıralananları öğrendik:

- Epidemiyolojide kullanılan güvenilirlik indeksinin hesaplanması kolaydır ve bireysellik indeksine benzer bilgiler vermektedir.
- Verilen bir olasılıkla belli bir yüzdelik içinde homeostatik karar noktasını belirlemek için gerekli olan numune sayısını hesaplamakta yararlanılan formülde Z skoru, yüzde değer, presizyon ve bireysel biyolojik varyasyon değerleri kullanılır.
- Biyolojik varyasyon verileri, test sonuçlarını raporlamak için en iyi yöntemin belirlenmesi ve en iyi numunenin toplanması için yaralı olabilir.
- Farklı test prosedürlerini karşılaştırırken biyolojik varyasyon verilerinin göz önünde bulundurulmasının potansiyel yararı vardır.
- Yeni bir test prosedürünün gelişiminde biyolojik varyasyon verilerinin üretimi ve uygulamasının önemli yeri vardır.

SON BİR NOT

Umarım siz de biyolojik varyasyonu benim gibi büyüleyici ve ilginç bulmuşsunuzdur ve aşağıdakileri yapmak için gerekli enerji ve merakınız vardır:

- Henüz çalışılmamış pek çok analitin biyolojik varyasyon bileşenlerini belirlemek
- Biyolojik varyasyon bileşenlerinin mevcut ve yeni verilerini kullanmak için yeni yolların keşfedilmesi
- Direkt olarak klinisyenlerin düşüncelerinden kalite spesifikasyonlarını üretmek için, olasılık ve biyolojik varyasyon ile birlikte simülasyon çalışmaların kullanılabileceği alanlar geliştirmek,
- Referans değişim değerlerini kullanmanın gerçek klinik yararının olup olmadığının objektif olarak incelenmesi,
- Objektif kalite planlamasında kullanılmak üzere daha basit yolların bulunması.

Ayrıca siz ve meslektaşlarınızın gerekli duyuruları yapacağınızı ve klinik kimya dışındaki profesyonellerin de biyolojik varyasyon verilerinin üretimi ve uygulamasının prensiplerini öğrenmeleri ve bunları günlük hayata geçirmeleri için cesaretlendireceğinizi ümit etmekteyim.

Sözlük

A Posteriori ölçümden sonra bireylerin seçimi.

A Priori ölçümden önce bireylerin seçimi.

Aktarılabilirlik başka bir kaynaktan elde edilen bir veri kümesinin (referans değerler) laboratuvarda kullanımının geçerli kılınma becerisi.

Analit bir numunenin ölçümü yapılan bileşeni.

Analiz bir numunedeki analit miktarını ölçebilmek için gerçekleştirilen prosedürel basamaklar.

Anlamlı genellikle %95 olasılığa denk gelen anlamlılık düzeyi ($p < 0.05$).

Ayırma (partisyon) grubu alt gruplara ayırma.

B_A Analitik bias. Toplam hatanın hesaplanmasında bias'ın bir işareti (pozitif ya da negatif) yoktur ve her zaman pozitiftir.

Bias (ölçümün) ölçülen büyüklüğün gerçek değeri ile ölçülen değeri arasındaki fark; pratikte bias, ölçülen sonuç ile belirlenen doğru değer arasındaki farktır.

Bireyler Arası Biyolojik Varyasyon Bireylerin homeostatik karar noktaları arasındaki fark.

Bireysel biyolojik varyasyon homeostatik karar noktası etrafındaki biyolojik doğal değişim (varyasyon).

Bireysellik belirli bir kişi için karakteristik olan özellik.

Bireysellik indeksi bireysel biyolojik varyasyonun bireyler arası biyolojik varyasyona oranı. Sıklıkla varyasyonun biyolojik bileşenlerinin (CV_I/CV_G) şeklinde gösterilen basit oranı ile hesaplanır.

CV_A analitik varyasyon katsayısı.

CV_G bireyler arası biyolojik varyasyon katsayısı.

CV_I bireysel biyolojik varyasyon katsayısı.

CV_P preanalitik varyasyon katsayısı.

CV_T toplam varyasyon katsayısı.

Çıktı (Outcome) spesifik bir müdahaleden sonra sağlık durumunda ya da yaşam kalitesinde görülen değişim.

Delta çek kalite güvencesi için hasta verilerini kullanan bir tekniktir. Bireyin iki ölçüm sonucu arasındaki farkın daha önce belirlenen değerden büyük olmasına dayanmaktadır.

Eksojen bireyden etkilenebilen.

Endojen bireyin özgül biyolojik yapısıyla ilgili.

EQAS external quality assessment scheme – belirlenen kriterlere göre bireysel laboratuvarlardan gelen sonuçların uygunluğununun ve laboratuvarlar arası karşılaştırma ile laboratuvarın ölçüm performansının değerlendirilmesi.

Gaussian dağılım tanımlanmış bir matematiksel fonksiyon ile ifade edilen simetrik ve çan şeklinde dağılım.

Gerçek negatifler sağlıklı kişilerden elde edilen normal sonuçlar.

Gerçek pozitifler hastalıklı kişilerden elde edilen anormal sonuçlar.

Güvenilirlik katsayısı bireyler arası varyasyonun toplam varyasyona oranı – bireysellik ölçüsü.

Güvenilirlik katsayısı karakteristikleri presizyon ve bias dâhil bir analitik metodun bilimsel yönleri ile ilgili nitelikler.

Hiyerarşi ideale en yakın değerin en üstte ve an az iyi olanın da en altta olduğu bir yaklaşım listesi.

Homeostatik model bireyin bir homeostatik karar noktasının olduğu ve analitin rastgele bir davranış gösterdiğini kabul eden zaman serileri analizi için model.

Homeostatik karar noktası bir bireyin sonuçlarının zaman içinde etrafında değişim gösterdiği değer.

İşaret (Flag) bir veriyi vurgulamak için kullanılan sembol.

İzleme genellikle zamanla yapılan seri ölçümlerdeki değişimleri değerlendirmek için laboratuvar sonuçlarının yorumunu içeren takip işlemi.

Kalite güvencesi belirlenmiş bir kalitenin başarıldığını ve sürdürüldüğünü garanti eden tüm prosedür ve aktiviteleri kapsayan uygulama.

Kalite kontrol ölçüm sonuçları ve analiz işlemlerinin sürekli izlenmesi için uygulanan prosedürler dizisi.

Kalite planlama kalite spesifikasyonlarını kullanarak analiz edilen kalite kontrol numunelerinin sayısı ve kabul ya da ret için kullanılan kurallar hakkında karar vermek için işleme alınan prosedürler.

Kalite spesifikasyonları bir testin istenilen ya da belirtilen amaçları karşıladığını garanti etmek için gerekli olan performans düzeyi. Kalite hedefleri,

kalite standartları, analitik hedefler, analitik performans hedefleri olarak da bilinir.

Kritik Sistematik hata, ya da $\Delta SE_C = [(TE_a - B_A)/CV_A - 1.65]$ Metodumuzun performansının iyi bir göstergesidir. Tek bir istatistiksel değerlendirme ile ortalamanın toplam kabul edilebilir hata kalite spesifikasyonunu geçmeden önce kaç SD sapma yapabileceğini belirtir.

Laboratuvar pratiği kalitesi belirlenmiş bir kalitenin başarıldığını ve sürdürüldüğünü garanti etmek için laboratuvara uyarlanmış teknikler.

LIMS (laboratory information management system) laboratuvar bilgi yönetim sistemi, LBYS.

Negatif bias gerçek değerden daha düşük sonuç verilmesine neden olan metotta görülen bias.

Niktemeral uyku/uyanıklık döngüsüne bağlı.

Non-parametrik dağılımın tipi hakkında herhangi bir varsayımda bulunmayan istatistiksel teknik.

Normal çok fazla anlamı olan ve kullanılması tavsiye edilmeyen terim.

Olgu Bulma Bir bireyin sağlık merkezine sunduğu ve genellikle çok sayıda laboratuvar testini kapsayan bir panelin incelenmesiyle hastalığının ortaya çıkarılması performansı.

Parametrik sonuçların dağılımının Gaussian olduğunu varsayan istatistiksel teknik.

Performans karakteristikleri bir analitik metodun nitelikleri.

Performans karakteristiklerinin pratikliği prosedürün uygulaması ile ilgili analitik metodun nitelikleri.

Pozitif bias metotta görülen ve gerçek değerden daha yüksek sonuç verilmesine neden olan bias.

Preanalitik varyasyon analitik prosesin analizden önceki bölümünden kaynaklanan varyasyon.

Presizyon (ölçümün) öngörülen şartlar altında elde edilen bağımsız ölçüm sonuçları arasındaki yakınlık derecesinin ölçütü.

PT (proficiency testing) belirlenen kriterlere göre bireysel laboratuvarlardan gelen sonuçların uygunluğununun ve laboratuvarlar arası karşılaştırma ile laboratuvarın ölçüm performansının değerlendirilmesi.

Random walk model (Rastgele seyir modeli) analitin rastgele bir davranış gösterdiğini fakat bu değişimin homeostatik bir karar noktası etrafında olmadığını kabul eden zaman serileri analizi için model.

Rastgele varyasyon sabit bir yönde olmayan değişim.

Referans aralık alt ve üst referans sınırlarının kapsadığı aralık.

Referans birey karşılaştırma için belirlenen kriterlere göre seçilen birey.

Referans dağılım referans değerlerin istatistiksel dağılımı.

Referans değerler bir analit için referans bireylerden elde edilen değerler.

Referans değişim değeri önceden belirlenmiş bir olasılığa göre bir bireyin seri ölçüm sonuçlarındaki değişimin anlamlı olabilmesi için aşması gereken değer.

Referans numune grubu referans popülasyonu temsil etmesi için seçilen yeterli sayıdaki referans bireylerden oluşan grup.

Referans popülasyon tüm olası referans bireyleri kapsayan popülasyon.

Referans sınır referans verilerinin önceden belirlenen bir kısmının eşit ya da daha düşük olduğunu gösteren sınır değer.

Sabit sınır (limit) bazı ortalamalar alınarak elde edilen bir değerin klinik karar amacıyla ya da PT ve EQAS'ın kabul edilebilirliğini değerlendirmek amacıyla kullanılması.

SD standart sapma.

SD_A analitik standart sapma.

SD_G bireyler arası biyolojik standart sapma.

SD_I bireysel biyolojik standart sapma.

SD_P preanalitik standart sapma.

SD_T toplam standart sapma.

Sirkadiyen günün saatine bağlı olma.

Sistematik varyasyon sabit bir yöndeki değişim (varyasyon).

Standart sapma varyansın karekökü. Aynı numunede yapılan bir seri ölçümün yaygınlığını tahmin etmede kullanılır.

Tabakalara ayırmak grubu alt gruplara bölmek (partisyon gibi).

Tarama henüz tanı konulmamış bir hastalık ya da defektin tanımlanması.

Teknik olarak yapılabilirlik (State of the art) mevcut metodoloji ve teknolojilerle elde edilebilen performans düzeyi.

Teşhis semptomların incelenmesiyle hastalıkların belirlenmesi işlemidir. Genellikle bir dizi klinik laboratuvar testinin performansına dayanmaktadır.

Toplam hata (TE) genellikle bias+1.65*presizyon şeklinde tanımlanır. Fakat diğer formülleri de vardır. Genel formül bias+n*presizyon şeklindedir.

Toplam kabul edilebilir hata (TE_a) toplam hata için kalite spesifikasyonu.

Transformasyon sabit bir matematik fonksiyonunu kullanarak bir grup verinin modifiye edilmesi.

Varyasyon katsayısı (CV) Standart sapmanın (SD) aritmetik ortalamaya bölünmesiyle hesaplanan göreceli kesinlik ölçüsü. Sıklıkla 100 ile çarpılarak yüzde olarak ifade edilir.

Vinyet klinik vakanın geçmişini özetleyen kısa bilgi.

Yanlış negatif anormal olmayan hasta sonuçları.

Yanlış pozitif sağlıklı bireylerde görülen anormal sonuçlar.

Yüksek derece anlamlı genellikle %99 olasılığa denk gelen anlamlılık düzeyi ($p < 0.01$).

Zaman serileri analizi bir bireyin seri ölçüm sonuçlarındaki değişimin anlamlılığını değerlendirmek için kullanılan teknikler.

Z-skoru *standart normal sapma*: seçilen olasılık için uygun olan standart sapmaların sayısı.

Ek 1

Biyolojik Varyasyon Bileşenlerinin Tahmini Değerleri

Biyolojik varyasyon bileşenleri ile ilgili verilerinin en kapsamlı ve güncel listesini ve bu verilerden türetilen pek çok yararlı indisleri İspanyadan Carmen Ricos ve grubu tarafından sağlandı. Tam liste aşağıdaki makalede yayımlandı.

Ricós C, Alvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV, Minchinela J, Perich C, Simón M. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. Scand J Clin Lab Invest. 1999;59:491-500.

Verilerin orijinal referansları ile birlikte veritabanının tümü www.westgard.com/guest17.htm internet sitesinde bulunmaktadır.

Bu üç Tablo aşağıdaki matrikslerde yaygın olarak istenilen analitlerin bireysel (CV_I) ve bireyler arası (CV_G) biyolojik varyasyon değerlerini içermektedir.

1. Serum ya da kan (parantez içinde gösterilmiştir)
2. İdrar ve
3. Hematoloji ve hemostaz

Çok nadir çalışılan testlerin biyolojik varyasyonları ile ilgi veriler de mevcuttur. Bu nedenle aşağıda verilen üç tabloda istenilen testin biyolojik varyasyonu ile ilgili veriler mevcut değilse, bu alanda bir çalışma yapmadan önce orijinal veritabanını inceleyerek istenilen testin verilerinin bulunup bulunmadığını kontrol ediniz.

Tablo A1.1 Serum ya da tam kan analitleri

Analit	CVI (%)	CVG (%)
Alanin aminotransferaz	24.3	41.6
Albümin	3.1	4.2
Aldosteron	29.4	40.1
Alkalen fosfataz	6.4	24.8
Amilaz	9.5	29.8
Androstenedion	11.5	51.1
Anjiyotensin konverting enzim (ACE)	12.5	27.7
Apolipoprotein -A1	6.5	13.4
Apolipoprotein-B	6.9	22.8
Askorbik Asit	25.8	22.9
Aspartat Aminotransferaz	11.9	17.9
Beta-2 Mikroglobulin	5.9	15.5
Beta-karoten	36.0	39.0
Bilirübin (total)	25.6	30.5
Bilirübin (konjuge/direkt)	36.8	43.2
CA-125 Antijen	13.6	46.5
CA-15.3 Antijen	5.7	42.9
CA-19.9 Antijen	24.5	93.0
CA-549 Antijen	9.1	33.4
Kalsiyum	1.9	2.8
Carbohydrate deficient transferrin (CDT)	7.1	38.7
Karsinoembriyonik antijen (CEA)	9.3	55.6
Serüloplazmin	5.7	11.1
Klor	1.2	1.5
Kolesterol	6.0	15.2
Kolinesteraz	7.0	10.4
C3 kompleman	5.2	15.6
C4 kompleman	8.9	33.4
Bakır (serum)	4.9	13.6
Kortizol	20.9	45.6
C-peptid	9.3	13.3
C-reaktif protein	52.6	84.4
Kreatin kinaz	22.8	40.0
Kreatin kinaz MB%	6.9	42.8
Kreatin kinaz MB, activite	19.7	24.3
Kreatin kinaz MB, kütle	18.4	61.2
Kreatinin	4.3	12.9
Dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS)	3.4	30.0

Tablo A1.1 Serum ya da tam kan analitleri (Devam)

Analit	CVI (%)	CVG (%)
Estradiol	22.6	24.4
Ferritin	14.9	13.5
Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)	10.1	32.0
Serbest Estradiol	22.8	-
Serbest Testosteron	9.3	-
Serbest tiroksin (T4)	7.6	12.2
Serbest Triiyodotironin (T3)	7.9	-
Fruktozamin	3.4	5.9
Gama glutamil transferaz	13.8	41.0
Globulin (total)	5.5	12.9
Glukoz	6.5	7.7
Glike albümin	5.2	10.3
Glike total protein	0.9	11.6
Glike hemoglobin (kan)	5.6	-
Haptoglobin	20.4	36.4
HDL-Kolesterol	7.1	19.7
Hidroksibütirat dehidrogenaz	8.8	-
Homosistein	7.7	29.9
İmmünoglobulin A	5.0	36.8
İmmünoglobulin G	4.5	16.5
İmmünoglobulin M	5.9	47.3
İmmünoglobulin K-zinciri	4.8	15.3
İmmünoglobulin λ-zinciri	4.8	18.0
Insülin	21.1	58.3
Demir	26.5	23.2
Laktat dehidrojenaz 1	6.3	10.2
Laktat dehidrojenaz 2	4.9	4.3
Laktat dehidrojenaz 3	4.8	5.5
Laktat dehidrojenaz 4	9.4	9.0
Laktat dehidrojenaz 5	12.4	13.4
Laktat (kan)	27.2	16.7
Laktat dehidrojenaz	6.6	14.7
LDL-kolesterol	8.3	25.7
Lipaz	23.1	33.1
Lipoprotein (a)	8.5	85.8
Luteinizan hormon	14.5	27.8
Magnezyum	3.6	6.4
MCA (Mucinous carcinoma-associated antigen)	10.1	39.3

Tablo A1.1 Serum ya da tam kan analitleri (Devam)

Analit	CVI (%)	CVG (%)
Miyoglobin	13.9	29.6
Osmolalite	1.3	1.2
Osteokalsin	6.3	32.1
pCO2 (kan)	4.8	5.3
pH (kan)	3.5	2.0
Fosfat	8.5	9.4
Fosfolipit	6.5	11.1
Potasyum	4.8	5.6
Prealbumin	10.9	19.1
Prolaktin (erkek)	6.9	61.2
Protein (total)	2.7	4.0
Prostat spesifik antijen (PSA)	14.0	72.4
Pirüvat (kan)	15.2	13.0
Romatoid faktör (RF)	8.5	24.5
Seks Hormonu Bağlayıcı Globulin (SHBG)	12.1	42.7
Sodyum	0.7	1.0
T3 alımı	4.5	4.5
Testosteron	8.8	21.3
Tiroglobulin	13.0	25.0
Doku polipeptid antijeni (TPA)	28.7	40.4
Doku Polipeptid Spesifik Antijeni (TPSA)	36.1	108.0
Tirotropin (TSH)	19.7	27.2
Tiroksin Bağlayıcı Globulin (TBG)	6.0	6.0
Tiroksin (T4)	6.0	12.1
Transferrin	3.0	4.3
Trigliserid	21.0	37.2
Triiyodotironin (T3)	8.7	14.4
Ürat	8.6	17.2
Üre	12.3	18.3
VLDL-Kolesterol	27.6	-
Çinko (serum)	9.3	9.4

Tablo A1.2 İdrar analitleri

Analit	CVI (%)	CVG (%)
Alfa-1 mikroalbumin, konsantrasyon, gecelik	33.0	58.0
Alfa-2 mikroglobulin, atılım, gecelik	29.0	32.0
Albümin, konsantrasyon, sabah ilk	36.0	55.0
Aldosteron, konsantrasyon	32.6	39.0
Amonyak, atılım	24.7	27.3
Amilaz aktivitesi, rasgele	94.0	46.0
Kalsiyum, konsantrasyon	27.5	36.6
Kalsiyum, atılım	26.2	27.0
Katekolamin (total), konsantrasyon	24.0	32.0
Tip 1 kollajen C-terminal telopeptit/kreatinin, ilk idrar	35.1	-
Kreatinin, konsantrasyon	24.0	24.5
Kreatinin, atılım	11.0	23.0
Deoksipiridinolin/kreatinin	14.7	15.1
Estradiol	30.4	-
Serbest estradiol	38.6	-
Serbest testosteron	51.7	-
Hidroksiindolasetik asit, konsantrasyon, 24 saat	20.3	33.2
Hidroksiprolin/dakika, gece idrarı	36.1	38.8
Magnezyum, konsantrasyon	45.4	37.4
Magnezyum, atılım	38.3	37.6
N-asetilglukozaminidaz, konsantrasyon	52.5	33.5
N-asetilglukozaminidaz, atılım	42.4	18.2
Azot, atılım	13.9	24.2
Tip 1 kollajen N-terminal telopeptit/Kreatinin, ilk idrar	23.1	-
Oksalat,konsantrasyon	44.0	18.0
Oksalat,a tılım	42.5	19.9
Fosfat,konsantrasyon	26.4	26.5
Fosfat, atılım	18.0	22.6
Potasyum, konsantrasyon	27.1	23.2
Potasyum, atılım	24.4	22.2
Protein, konsantrasyon	39.6	17.8
Protein, atılım	35.5	23.7
Sodyum, konsantrasyon	24.0	26.8
Sodyum, atılım	28.7	16.7
Ürat, konsantrasyon	24.7	22.1
Ürat, atılım	18.5	14.4
Üre, konsantrasyon	22.7	25.9
Üre, atılım	17.4	25.4
VMA, konsantrasyon	22.2	47.0

Tablo A1.3 Hematoloji ve hemostaz analitleri

Analit	CVI (%)	CVG (%)
Hemoglobin	2.8	6.6
Hematokrit	2.8	6.4
Ortalama eritrosit hemoglobini	1.6	5.2
Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu	1.7	2.8
Ortalama eritrosit hacmi	1.3	4.8
Eritrosit dağılım genişliği	3.5	5.7
Eritrosit sayımı	3.2	6.1
Lökosit sayımı	10.9	19.6
Nötrofil sayımı	16.1	32.8
Monosit sayımı	17.8	49.8
Eozinofil sayımı	21.0	76.4
Bazofil sayımı	28.0	54.8
Trombosit sayımı	9.1	21.9
Ortalama trombosit hacmi	4.3	8.1
Trombosit dağılım aralığı	2.8	-
Plateletikrit	11.9	-
Aktive parsiyel tromboplastin zamanı	2.7	8.6
Protrombin zamanı	4.0	6.8
Fibrinojen - plazma	10.7	15.8
Antitrombin III - plazma	5.2	15.3
Protein C- plazma	5.8	55.2
Protein S- plazma	5.8	63.4
Faktör V - plazma	3.6	-
Faktör VII - plazma	6.8	19.4
Faktör VIII - plazma	4.8	19.1
Faktör X - plazma	5.9	-
Plazminojen - plazma	7.7	-
Von Willebrand faktörü	0.001	28.3

Ek 2

Presizyon, Bias ve Toplam Kabul Edilebilir Hata İçin Kalite Spesifikasyonları

Aşağıdaki üç tabloda yaygın olarak istenilen analitlerin arzu edilen presizyon (CV_A), bias (B_A) ve kabul edilebilir toplam hata (TEa) verileri bulunmaktadır. Bu analitlerin bulundukları numune türleri:

1. Serum ya da kan (parantez içinde gösterilmiştir)
2. İdrar ve
3. Hematoloji ve hemostaz

Çok nadir çalışılan testlerin biyolojik varyasyonları ile ilgi veriler de mevcuttur. Bu nedenle aşağıda verilen üç tabloda istenilen testin biyolojik varyasyonu ile ilgili veriler mevcut değilse, bu alanda bir çalışma yapmadan önce orijinal veritabanını inceleyerek sözkonusu testin verilerinin bulunup bulunmadığını kontrol ediniz.

Arzu edilen kalite spesifikasyonlarının aşağıdaki formüllere göre hesaplandığını hatırlatmakta yarar vardır.

$CV_A < 0.50\ CV_I$

$B_A < 0.250\ (CV_A^2 + CV_G^2)^{1/2}$

$TEa < 0.250\ (CV_A^2 + CV_G^2)^{1/2} + 1.65\ (0.5\ CV_I)$

Bununla birlikte mevcut metodoloji ve teknolojinin bu kriterleri karşılamada yetersiz kaldığı durumlarda 'üç-seviyeli model'i uygulayarak sorun yaşanan analitlerin kalite spesifikasyonlarını hesaplayabiliriz. Bu tür analitlerden olan sodyum, klorür ve kalsiyum için *minimum* kalite spesifikasyonları aşağıda verilmiştir.

$CV_A < 0.75\ CV_I$

$B_A < 0.375\ (CV_A^2 + CV_G^2)^{1/2}$

$TEa < 0.375\ (CV_A^2 + CV_G^2)^{1/2} + 1.65\ (0.75\ CV_I)$

Genel kalite spesifikasyonlarının mevcut metodoloji ve teknolojilerle kolaylıkla karşılandığı analitlerin (trigliserit, tirotropin ve C-reaktif protein gibi) *optimum* kalite spesifikasyonları aşağıda verilmiştir.

$CV_A < 0.25\ CV_I$

$B_A < 0.125\ (CV_A^2 + CV_G^2)^{1/2}$

$TEa < 0.125\ (CV_A^2 + CV_G^2)^{1/2} + 1.65\ (0.25\ CV_I)$

Ek 1'de verilen değerleri kullanarak bu kalite spesifikasyonlarını bizzat hesaplamanızı öneriyorum.

Tablo A2.1 Serum ya da tam kan analitleri için arzu edilen kalite spesifikasyonları.

Analit	CVA (%)	BA (%)	TEa (%)
Alanin aminotransferaz	12.2	2.0	32.1
Albümin	1.6	1.3	3.9
Aldosteron	14.7	12.4	36.7
Alkalen fosfataz	3.2	6.4	11.7
Amilaz	4.8	7.8	15.7
Androstenedion	5.8	13.1	22.6
Anjiyotensin Konverting Enzim (ACE)	6.3	7.6	17.9
Apolipoprotein -A1	3.3	3.7	9.1
Apolipoprotein-B	3.5	6.0	11.6
Askorbik Asit	12.9	8.6	29.9
Aspartat Aminotransferaz	6.0	5.4	15.2
Beta-2 Mikroglobulin	3.0	4.1	9.0
Beta-karoten	18.0	13.3	43.0
Bilirübin (total)	12.8	10.0	31.1
Bilirübin (konjuge/direkt)	18.4	14.2	44.5
CA-125 Antijen	6.8	12.1	23.3
CA-15.3 Antijen	2.9	10.8	15.5
CA-19.9 Antijen	12.3	24.0	44.3
CA-549 Antijen	4.6	8.7	16.2
Kalsiyum	1.0	0.8	2.4
Carbohydrate deficient transferrin (CDT)	3.6	9.8	15.7
Karsinoembriyonik antijen (CEA)	4.7	14.1	21.8
Serüloplazmin	2.9	3.1	7.8
Klor	0.6	0.5	1.5
Kolesterol	3.0	4.1	9.0
Kolinesteraz	2.7	2.9	7.4
C3 kompleman	2.6	4.1	8.4
C4 kompleman	4.5	8.6	16.0
Bakır (serum)	2.5	3.6	7.7

Tablo A2.1 Serum ya da tam kan analitleri için arzu edilen kalite spesifikasyonları (Devam).

Analit	CVA (%)	BA (%)	TEa (%)
Kortizol	10.5	12.5	29.8
C-peptid	4.7	4.1	11.7
C-reaktif protein	26.3	24.9	68.3
Kreatin kinaz	11.4	11.5	60.3
Kreatin kinaz MB%	3.5	10.8	16.5
Kreatin kinaz MB, activite	9.9	7.8	24.1
Kreatin kinaz MB, kütle	9.2	16.0	31.2
Kreatinin	2.2	3.4	6.9
Dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS)	1.7	7.5	10.4
Estradiol	11.3	8.3	27.0
Ferritin	7.5	5.0	17.3
Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)	5.1	8.4	16.7
Serbest Tri-iyodotironin (FT4)	3.8	3.6	9.9
Serbest Triiyodotironin (T3)	4.0	N/A	N/A
Fruktozamin	1.7	1.7	4.5
Gama glutamil transferaz	6.9	10.8	22.2
Globulin (total)	2.8	3.5	8.0
Glukoz	3.3	2.3	7.9
Glike hemoglobin (kan)	2.8	N/A	N/A
Haptoglobin	10.2	10.4	27.3
HDL-Kolesterol	3.6	5.2	11.1
Homosistein	3.9	7.7	14.1
İmmünoglobulin A	2.5	9.3	13.4
İmmünoglobulin G	2.3	4.3	8.0
İmmünoglobulin M	3.0	11.9	16.8
İmmünoglobulin K-zinciri	2.4	4.0	8.0
İmmünoglobulin λ-zinciri	2.4	4.7	8.6
Insülin	10.6	15.5	32.9
Demir	13.3	8.8	30.7
Laktat(kan)	13.6	8.0	30.4
Laktat dehidrojenaz	4.3	4.3	11.4
Laktat dehidrojenaz 1	3.2	3.0	8.2
Laktat dehidrojenaz 2	2.5	1.6	5.7
Laktat dehidrojenaz 3	2.4	1.8	5.8
Laktat dehidrojenaz 4	4.7	3.3	11.0
Laktat dehidrojenaz 5	6.2	4.6	14.8
LDL-kolesterol	4.2	6.8	13.6
Lipaz	11.6	10.1	29.1
Lipoprotein (a)	4.3	21.6	28.6

Luteinizan hormon	7.3	7.8	19.8

Tablo A2.1 Serum ya da tam kan analitleri için arzu edilen kalite spesifikasyonları (Devam).

Analit	CVA (%)	BA (%)	TEa (%)
Magnezyum	1.8	1.8	4.8
MCA (Mucinous carcinoma-associated antigen)	5.1	10.1	18.5
Miyoglobin	7.0	8.2	19.6
Osmolalite	0.7	0.4	1.5
Osteokalsin	3.2	6.0	11.2
pCO2 (kan)	2.4	1.8	5.7
pH (kan)	1.8	1.0	3.9
Fosfat	4.3	3.2	10.2
Fosfolipit	3.3	3.2	8.6
Potasyum	2.4	1.8	5.8
Prealbumin	5.5	2.5	14.5
Prolaktin (erkek)	3.5	15.4	21.1
Protein (total)	1.4	1.2	3.4
Prostat spesifik antijen (PSA)	7.0	18.4	30.0
Pirüvat (kan)	7.6	5.0	17.5
Romatoid faktör (RF)	4.3	6.5	13.5
Seks Hormonu Bağlayıcı Globulin (SHBG)	6.1	11.1	21.1
Sodyum	0.4	0.3	0.9
T3 alımı	2.3	1.6	5.3
Testosteron	4.4	5.8	13.0
Tiroglobulin	6.5	7.0	17.8
Doku polipeptid antijeni (TPA)	14.4	12.4	36.1
Doku Polipeptid Spesifik Antijeni (TPS)	18.1	28.5	58.3
Tirotropin (TSH)	9.9	8.4	24.6
Tiroksin Bağlayıcı Globulin (TBG)	3.0	2.1	7.1
Tiroksin (T4)	3.0	3.4	8.3
Transferrin	1.5	1.3	3.8
Trigliserid	10.5	10.7	27.9
Triiyodotironin (TT3)	4.4	4.2	11.4
Ürat	4.3	4.8	11.9
Üre	6.2	5.5	15.7
Çinko (serum)	4.7	3.3	11.0

Tablo A2.2 İdrar analitleri için arzu edilen kalite spesifikasyonları.

Analit	CVA (%)	BA (%)	TEa (%)
Alfa-1 mikroalbumin, konsantrasyon, gecelik	16.5	16.7	43.9
Alfa-2 mikroglobulin, atılım, gecelik	14.5	10.8	34.7
Albümin, konsantrasyon, sabah ilk	18.0	16.4	46.1
Aldosteron, konsantrasyon	16.3	12.7	39.6
Amonyak, atılım	12.4	9.2	29.6
Amilaz aktivitesi, rasgele	47.0	26.2	100
Kalsiyum, konsantrasyon	13.8	11.4	34.1
Katekolamin (total),konsantrasyon	12.0	10.0	29.8
Tip 1 kollajen C-terminal telopeptit/kreatinin, ilk idrar	17.6	N/A	N/A
Kreatinin, konsantrasyon	12.0	8.6	28.4
Deoksipiridinolin/kreatinin	7.4	5.3	17.4
Estradiol	15.2	N/A	N/A
Hidroksiindolasetik asit, konsantrasyon, 24 saat	10.2	9.7	26.5
Hidroksiprolin/dakika, gece idrarı	18.1	13.2	43.0
Magnezyum,konsantrasyon	22.7	14.7	52.2
N-asetilglukozaminidaz,konsantrasyon	26.3	15.6	58.9
Azot, atılım	7.0	7.0	18.4
Tip 1 kollajen N-terminal telopeptit/Kreatinin, ilk idrar	11.6	N/A	N/A
Oksalat,konsantrasyon	22.0	11.9	48.2
Fosfat,konsantrasyon	13.2	9.4	31.1
Potasyum,konsantrasyon	13.6	8.9	31.3
Protein,konsantrasyon	19.8	10.9	43.5
Sodyum,konsantrasyon	12.0	9.0	28.8
Ürat,konsantrasyon	12.4	8.3	28.7
Üre,konsantrasyon	11.4	8.6	27.3
VMA,konsantrasyon	11.1	13.0	31.3

Tablo A2.3 Hematoloji ve hemostaz analitleri için arzu edilen kalite spesifikasyonları.

Analit	CVA (%)	BA (%)	TEa (%)
Hemoglobin	1.4	1.8	4.1
Hematokrit	1.4	1.7	4.1
Ortalama eritrosit hemoglobini	0.8	1.4	2.7
Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu	0.9	0.8	2.2
Ortalama eritrosit hacmi	0.7	1.2	2.3
Eritrosit dağılım genişliği	1.8	1.7	4.6
Eritrosit sayımı	1.6	1.7	4.4
Lökosit sayımı	5.3	5.6	14.6
Nötrofil sayımı	8.1	9.1	22.4
Monosit sayımı	8.9	13.2	27.9
Eozinofil sayımı	10.5	19.8	37.1
Bazofil sayımı	14.0	15.4	38.5
Platelet sayımı	4.6	5.9	13.4
Ortalama trombosit hacmi	2.2	2.3	5.8
Trombosit dağılım aralığı	1.4	N/A	N/A
Plateletikrit	6.0	N/A	N/A
Aktive parsiyel tromboplastin zamanı	1.4	4.5	4.5
Protrombin zamanı	2.0	5.3	5.3
Fibrinojen-plazma	5.4	13.6	13.6
Antitrombin III - plazma	2.6	8.3	8.3
Protein C- plazma	2.9	18.7	18.7
Protein S- plazma	2.9	20.7	20.7
Faktör V - plazma	1.8	N/A	N/A
Faktör VII - plazma	3.4	10.7	10.7
Faktör VIII - plazma	2.4	8.9	8.9
Faktör X - plazma	3.0	N/A	N/A
Plazminojen - plazma	3.9	N/A	N/A
Von Willebrand faktörü	<0.1	7.1	7.1

İndeks

A posteriori yaklaşım
referans değerlere 114, 139
A priori yaklaşım
biyolojik varyasyon 41
referans değerler 114, 139
Açlık etkisi 3, 119
Ağır zincirler 131
Ağır/hafif zincir oranı 131
Altı sigma kalite yönetimi 75
Amerikan Diabet Cemiyetinden
kalite spesifikasyonları 50, 55
Analitik hedefler 35,
Analitik performans hedefleri 35
Analitik performans karakteristikleri 35, 42, 44
Analitik varyasyon 2, 4, 9
biyolojik varyasyon verilerinin üretimi 154
referans değerlerin üretimi 112
Analizlerin tekrarlanması 86
Anderson-darling testi 118
Antikoagülan etkisi 6, 85
Arzu edilen kalite spesifikasyonu
bias için 64
presizyon için 60
toplam hata için 67
vinyet çalışmalarından 49
Arzu edilen standartlar 35
Avrupa çalışma grupları
kalite spesifikasyonları 71
PT ve EQAS için kalite spesifikasyonları 70
referans metot için kalite spesifikasyonları 71
Aylık varyasyon 10, 14, 15
Bias
Eleminasyonu 25
için arzu edilen kalite spesifikasyonu 64
için biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonu 64
için optimum kalite spesifikasyonu 66
için minimum kalite spesifikasyonu 65
kalibrasyonun bias'a etkisi 9, 99
rastgele 91
referans değerlere etkisi 64
sonuçlardaki seri değişimlere etkisi 91
tahmin edilmesi 64, 65
tanımı 6
yanlış pozitif, yanlış negatif ve 47, 63, 98, 99, 106, 108
Bilirübin
Gilbert sendromu ve 2
için numune toplanması 3, 6
referans değerler 18
Birey
biyolojik varyasyon çalışmaları için seçimi 23
referans değer çalışmaları için seçimi 60
Birey sayısı
biyolojik varyasyon çalışmaları için 24
referans değer çalışmaları için 121
Bireyler arası biyolojik varyasyon
Tanımı 11
verilerin üretimi 21, 28
Bireysel biyolojik varyasyon
Heterojenite 27
İdrarda 24, 149
Sabitliği 29
Tanımı 11
verilerin üretilmesi 28, 29
yaşlılıkta 11
Bireysellik
Biyolojik 127
hastalıkta test tekrarı ve 136

hematolojide 133
referans değerlerin tabakalara ayrılması ve 130
referans değerler ve 128
sağlıkta test tekrarı ve 135
vaka bulma ve 131
Bireysellik indeksi 129
hematolojiden örnekler 133
hesaplanması 127
klinik kimyadan örnekler 128
tarama ve 131
teşhis ve 130
Biyolojik döngüler 10,15, 16
Biyolojik ritimler 12, 13
Biyolojik varyasyon
en iyi numune toplanması ve 144
en iyi testin seçimi ve 145
epidemiyoloji ve 141
güvenilirlik katsayısı ve 141
hakkında veri bulma 11, 22, 23
hakkında veri üretimi 22, 23, 24, 26, 27
kalite spesifikasyonları 10, 32, 35
metot değerlendirme ve 39
numune sayısı ve 22, 86, 142
test sonuçları raporlamanın en iyi yolu ve 143
veri tabanı 100, 133, 149
yeni metotlar ve 125,
Cinsiyet
referans değerlere etkisi 126
(cinsiyete göre) tabakalara ayırma 128, 129, 130
CLIA'88
kalite spesifikasyonları 51,52, 53
Cochran testi 27, 28
Delta çek
aşımı için algoritma 104, 105
Delta çek değerleri 32, 103
biyolojik varyasyon ve 103, 104, 105
LBYS ve 103, 104, 105, 108
referans değişim değerleri olarak 103, 104
üretimi 103
Demirin biryselliği 128, 129
Dış kalite değerlendirme planları (EQAS)
EQAS için kalite spesifikasyonu 41, 42
kalite spesifikasyonu için 39
Dinamik fonksiyon testleri XIII
Döngüler
Aylık 14
günlük 12
mevsimlik 15
Egzersiz etkisi 24, 116
Egzojen faktörler
referans değerlere etkisi 119
En iyi numunenin toplanması
biyolojik varyasyon 144
Endojen faktörler
referans değerlere etkisi 119
Epidemiyoloji 141
güvenilirlik katsayısı 141
Etnik faktörler
referans değerlere etkisi 119
F-testi 26
Gaussian dağılım
Karakteristikleri 8
Gerçek değer 8, 142
Grafik yaklaşımlar
RCV kullanımı için 100
Grafiksel analiz
uç değerleri yakalamak için 117
Grup biyolojik varyasyonu 65, 66
Günlük varyasyon 11, 12
Güvenilirlik karakteristikleri 36, 38
Güvenilirlik katsayısı
hesaplanması 141
tanımı 141
Hafif zincirler 131, 133
Hematolojik analitlerin bireyselliği 133
Heterojenlik
bireyler arası biyolojik varyasyonun 143
Hiyerarşi
referans değerlerin üretiminde yaklaşımın 123,
kalite spesifikasyonları modellerinin 40, 41, 42, 44
Homeostatik model 106
Homeostatik karar noktasının
belirlenmesi için gerekli olan numune sayısı 142
İlaçlar için kalite spesifikasyonları 70

İleri çalışma ve araştırma 149, 150
İmmünoglobülinler 133
İstatistiksel faktörler
referans değerler ve 119, 120
Kabul edilebilir fark
metotlar arasında 69
kalite spesifikasyonları için 72
Kalibrasyon
biasa etkisi 9, 99
Kalisyum
mevsimsel etkinin metabolizmasına etkisi 17
Kalite güvencesi 35, 116
Kalite kontrol 9, 36
Kalite iyileştirme XV
Kalite yönetimi
ve altı sigma 75
Kalite planlama
Tanıtımı 35, 36
Kalite spesifikasyonları
belirlemede zorluklar 35, 39
belirlemek için konsensüs konferansı 40, 41
bir spesifikayonun hazırlanmasında 37
biyolojik varyasyona dayalı bias için 64
biyolojik varyasyona dayalı presizyon için 60
biyolojik varyasyondan 54
EQAS'da kullanım için 70,71, 72, 74
EQAS sabit sınırlarından 52
genel klinik kullanıma dayalı 47
gereksinimlerin belirlenmesinde 37
için modeller hiyerarşisi 40
ilaçlar için 70
kalite planlamada 39, 40
karşılanıp karşılanmadığına karar vermek 37, 38
kısa listenin hazırlanmasında 38
klinik sonuç çalışmalarından 44
metotlar arasında kabul edilebilir fark için 69
mevcut sistemlerin değerlendirilmesinde 37
PT gereksinimlerinden 39
PT'de kullanım için 39
referans metotlar için 71
tanımı 35
teknolojik yapılabilirlikten 42
toplam kabul edilebilir hata için 43, 67
ulaşılmadığında stratejiler 44
uygulamada 35, 36, 37
uzman gruplardan 49
uzmanların hazırladığı kılavuzlardan 49, 50
üzerinde görüş 39, 40
verilerin değerlendirilmesinde
vinyet çalışmalarından 48
yeni analitik sistemlerin sunumunda 38
Kalite standartları 35
Kappa/lambda oranı 131
Klinik Biyokimya Ulusal Akademisinden
kalite spesifikasyonları 50
Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi 111
referans değerler klavuzu 115
referans değerlerin transfer metotları 112, 123
Klinik sabit sınırlar 83
Kolmogorov- Smirnov testi 118
Konsensüs dokümanının oluşturulması 37, 38
Kreatinin
Erkeklerde 129, 131
İdrarda 130
Kadınlarda131
yaşlılarda 125
Kreatinin klirensi 145
Kritik fark 88
Kritik sistematik hata
metot değerlendirmede 76, 77
tanımı 76, 77
yorumu 76, 77
Laboratuvar faktörleri
referans değerlere etkisi 119
LBYS
delta çek ve 103
Metot değerlendirme
biyolojik varyasyon ve 39
Metot karar garfiği
modifiye edilmiş 74

Mevsimsel varyasyon 15
Mikroalbümin 144
Minimum kalite spesifikasyonları
bias için 68, 169
presizyon için 68, 169
toplam hata için 68, 169
vinyet çalışmalarından 49, 78
Niktemeral ritimler 12, 14
Numune
Biyolojik varyasyon çalışmaları için işleme 23
Biyolojik varyasyon çalışmaları için saklanması 24, 144
Biyolojik varyasyon çalışmaları için toplama 24
Referans değer çalışmaları için işleme 115, 123
Referans değer çalışmaları için toplama 115, 123
Numune alımı için hazırlık
biyolojik varyasyon çalışmaları için 3, 24
referans değerler için 115
Numunelerin saklanması
biyolojik varyasyon çalışmaları için 24
etkisi 115
Numune sayısı
Toplanacak 115
Numune tipi
Etkisi 1, 36, 119, 144
Olasılık
değişimin anlamlı olduğu 60, 92,
Z skorları ve 87
Optimal koşullar altında analiz 25, 29, 32
Optimum kalite spesifikasyonları
bias için 68, 170
presizyon için 68, 170
toplam hata için 68, 170
vinyet çalışmalarından 49
Partisyon
referans değerlerin 120
Performans karakteristikleri 36, 37, 38, 39
Postür
Etkisi 3, 5, 12, 85
Pratiklik karakteristikleri 36
Preanalitik varyasyon
minimuma indirgeme 13, 23, 24, 85, 86
numune alma için hazırlık 3
numune toplama ve 3, 24
Presizyon
analitik koşulların etkisi 4
değişim olasılığı ve 100, 101
için arzu edilen kalite spesifikasyonu 60, 61, 62
için biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonu 60
için minimum kalite spesifikasyonu 60, 61, 62
için optimum kalite spesifikasyonu 60, 61, 62
optimum koşullar 25
referans değişim değeri ve 95
seri ölçüm sonuçlarındaki değişime etkisi 60,
tanımı 4
test sonuçlarındaki değişime etkisi 56
vinyet tipi çalışmalardan kalite spesifikasyonu ve 48, 49
Rakım etkisi 3, 119,
Raporlama
referans değişim değeri ve 103, 104
Raporların işaretlenmesi 101, 102, 103
Rastgele analitik varyasyon
Kaynakları 5, 11, 26
Rastgele bias 91
Rastgele seyir modeli 106
Reed kriteri 28
Referans aralık
Hesaplanması 118, 120
tanımı 113,
Referans bireyler
biyolojik varyasyon çalışmaları için seçimi 23
gereken sayı 23
numune alımı için hazırlama 24
referans değer çalışmaları için seçimi 113,
tanım 113
Referans değerlerin doğrusal regresyon transferi 123, 124, 125
Referans değişim değerleri
bias'daki değişim ve 91

delta çekte 103
hesaplanması 88
farklı klinik birimlerde 81, 94
formülü 88
hastalıkta 94, 98
için grafik yaklaşım 100
karaciğer fonksiyon testleri için 91, 92
kullanarak raporların işaretlenmesi 101, 102, 103
Laboratuvar El Kitaplarında/Kullanıcı Kılavuzlarında 101
olasılık ve 87, 94, 96, 97
presizyon ve 94
problemler ile 96
sonuçların raporlanması ve 99, 101
sunumunda 101
Refrerans dağılım
tanım 113
Referans sınırlar
Hesaplanması 118
tanımı 117
Referrans metotlar
için kalite spesifikasyonları 50, 71, 72
Referans popülasyon
Tanımı 113
Referans numune gurubu
Tanımı 113
Referans değerler
ayın zamanı ve XVI, 14
bias'ın etkisi
bireysellik ve 125
döngülerde 11
etkileyen faktörler 119
günün saati ve XVI, 12
ilgili problemler 121
konsept 111
mevsim ve 15, 16
partisyonu 120
performansın etkisi
stratifikasyonu 120
transferi 123
üretimi 122
üretimi için metotların hiyerarşisi 123
yararı 111
yeniden değerlendirilmesi 111, 112
Santrifüj 6, 24, 85
Sabit kriterler
sonuçların yorumu için 122
Seri sonuçlar
değişme olasılığı ve 92
referans değişim değeri ve 81, 85
Sirkadiyen ritim 12
Sistatin C 145,
Sistematik analitik varyasyon 6
Kaynağı 9
Standart çalışma prosedürleri 86
Standart normal sapma 87
Standart sapma
çift çalışmalardan hesaplama 25
Gaussian dağılım ve 84, 86
Tanımı 4
Stratifikasyon
referans değerlerin 139, 153, 154
Takip
sabit sınırlar ve 46
tanım 55
takipte referans değişim değeri 143
Tarama
bireyselliğin etkisi 136
tanımı 55
Teknik yapılabilirlik (state of the art) 52
kalite spesifikasyonları 53
Test sonuçları
Kullanımı 11
yorumu için sabit sınırlar 83, 84, 99
Test sonuçları değişkenliği
presizyonun etkisi XIII, 2
Test sonuçlarını raporlamanın en iyi yolu 154
biyolojik varyasyon 103, 104, 143
Testlerin tekrarı
Hastalıkta 136
sağlıkta 135
Teşhis
bireyselliğin etkisi 130
Toplam hata
biyolojik varyasyona dayalı kalite spesifikasyonu için
hesaplanması 68, 73
için arzu edilen kalite spesifikasyonu 68
için minimum kalite spesifikasyonu 68

için optimum kalite spesifikasyonu 68
tanımı 42, 43
Toplam kalite yönetimi 35
Toplam varyasyon
Hesaplanması 55, 56
Transport zamanı 6
Turnike etkisi 6
Uç değerler
cochran testini kullanarak yakalama 27
grafik analizi ve 116, 117
reed kriterini kullanarak tanımlama 27, 28, 117, 124
Ulusal Kolesterol Eğitim Programından kalite spesifikasyonları 59, 143
Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu Referans değerler önerileri 117, 119
Uzman gruplar
kalite spesifikasyonları 49, 50
kalite spesifikasyonları için strateji üretimi 50, 51
Uzman bireyler
kalite spesifikasyonları 49, 50
Uyarıcılar
etkisi 3
Vaka bulma
bireyselliğin etkisi 136
tanımı XVI
Varyans
Eklenmesi 55, 56
Tanımı 26
Varyans analizi XIV, 32
Varyansların eklenmesi 55, 56
Varyasyon katsayısı formülü 4
Vinyet çalışmaları
dizayn 49,
(vinyet çalışmalarından) kalite spesifikasyonu 49
Vitamin D
mevsimlerin etkisi 17
Yaş
referans değerlere etkisi 118
yaşa göre tabakalara ayırma 125
Yeterlilik testi
için kalite spesifikasyonları 39, 41, 42
(yeterlilik testlerinden) kalite spesifikasyonu 35, 38
Z skorları
olasılık ve 87
tablosu 87
toplam hata hesaplanması ve 43
Zaman serileri analizi 105

BİYOLOJİK VARYASYON:

İLKELERDEN UYGULAMAYA

YAZAR HAKKINDA Callum G Fraser, PhD., 30 yıldan fazla üçüncü basamak eğitim hastanelerinin klinik biyokimya bölümünde çalıştı. Kendisi Ninewells Hastanesinde ve Tıp Fakültesinde – Dundee, İskoçya – Biyokimyasal Tıbbın Klinik lideri ve Dundee Üniversitesinde Onursal Kıdemli Öğretim Üyesidir. Dr Fraser kalite spesifikasyonları ve biyolojik varyasyonla ilgili çok sayıda çalıştaylar organize edip gerçekleştirdi ve sağlıkla ilgili ulusal ve uluslararası meslek gruplarına ve devlet kurumlarına yardımcı oldu. Çalışmaları, diğerlerinin yanında, Association of Clinical Biochemists, the Australasian Association of Clinical Biochemists, ve International Federation of Clinical Chemistry tarafından takdirle karşılanmıştır.

BU KİTAP biyolojik varyasyon ile ilgi sayısal verilerin üretilmesini, bu verilerin literatüre eklenmesini ve bu bilgilerin günlük klinik laboratuvar pratiğinde uygulanması konusunda basit ancak kapsamlı olarak yardımcı olmaktadır. Kalite spesifikasyonları ile birlikte, popülasyon kaynaklı ve kişiye özgü referans değerlerin belirlenmesiyle ilgili stratejilere olan ilgi son zamanlarda giderek artmaktadır. Konuyla ilgili güncel bilgiler ders kitaplarından ziyade daha çok literatürde ve dağınık vaziyette bulunmaktadır. Bu bilgiler elinizdeki kitapta toplandı.

Laboratuvar tıbbında kalite ile ilgilenenler, hasta numuneleri ile ilgili tüm işlemleri gerçekleştirenler, özellikle kalitenin idare ve yönetimi ile ilgilenen laboratuvar uzmanları, laboratuvar tıbbında mezuniyet öncesi ve mezuniyet sonrası eğitim alanlar ve sınava girecek ya da sertifika alacak stajyerler kitabın hedef kitlesini oluşturmaktadır.