

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE YÜKSEK İHTİSAS HASTANESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA  
Eğitim Sorumlusu Uzm. Dr. Gülsevım SAYDAM

IMMUNOASSAY TEST SONUÇ DEĞERLENDİRMESİNDE  
ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ, REFERANS DEĞİŞİM DEĞERİ,  
BİREYSELLİK İNDEKSİ

Asistan Kim. Hakan SAYAR

TIBBİ BİYOKİMYA UZMANLIK TEZİ

ANKARA  
2016

T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE YÜKSEK İHTİSAS HASTANESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA  
Eğitim Sorumlusu Uzm. Dr. Gülsevım SAYDAM

IMMUNOASSAY TEST SONUÇ DEĞERLENDİRMESİNDE  
ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ, REFERANS DEĞİŞİM DEĞERİ,  
BİREYSELLİK İNDEKSİ

Asistan Kim. Hakan SAYAR

TIBBİ BİYOKİMYA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı  
Eğitim Görevlisi Uzm. Dr. Mevhibe BALK

ANKARA  
2016

## ÖNSÖZ

Asistanlık Eğitimim ve Tez çalışmam süresince engin bilgi ve deneyimlerini paylaşan, her konuda destekleyici ve hoşgörölü tavrıyla ışık tutan sayın hocam Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvar Eğitim ve İdari Sorumlusu Uzm. Dr. Gülsevım SAYDAM'a, Tez Danışmanım Eğitim Görevlisi Uzm. Dr. Mevhibe BALK'a, sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Ast. Murat Keleş'e, Asistanlığım süresince yanımda olan mesai arkadaşlarıma, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan karşılıksız sevgi ve destekleriyle hep yanımda olan Anneme ve Babama sonsuz teşekkürler ederim.

Asistan Kim. Hakan SAYAR

Ekim 2016

## ÖZET

### IMMUNOASSAY TEST SONUÇ DEĞERLENDİRMESİNDE ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ, REFERANS DEĞİŞİM DEĞERİ, BİREYSELLİK İNDEKSİ

Immunoassay Test Ölçümlerinde konsantrasyonların pikogram düzeyi gibi değerlerde olması, Referans Aralıklarının dar sınırlarda olması, Tıbbi Karar noktasının tanı ve takipte önemli olması nedenleriyle Troponin-I (Tn-I), Prostat Spesifik Antijen (PSA) ve Tiroid Stimulan Hormon (TSH) Test Parametrelerinde Ölçüm Belirsizliği, Referans Değişim Değeri (RDD) ve Bireysellik İndeksinin (BI) test sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmesini amaçladık.

Ölçüm Belirsizliğine neden olan her bir kaynak Ölçüm Belirsizliği İfade Rehberinde (Guide to Expression of Uncertainty in Measurement-GUM) bahsedildiği gibi belirlendi. İç Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik, Dış Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik, Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizlik, Recovery Kaynaklı Belirsizlik, Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik, Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik olmak üzere 6 Belirsizlik Kaynağı belirlendi. Her bir Belirsizlik Kaynağının Rölatif Standart Belirsizliği (RSB) GUM'un önerdiği şekilde hesaplandı. Literatürdeki Birey İçi Biyolojik Varyasyon ( $CV_i$ ) ile Bireyler Arası Biyolojik Varyasyon ( $CV_g$ ) verilerinden Bireysellik İndeksi, 6 aylık Analitik CV ( $CV_a$ ) verilerinden Referans Değişim Değeri hesaplandı.

Tıbbi Kararda önemli olan Immunoassay Test Parametrelerinin ölçüm kalitesini gösteren Ölçüm Belirsizliğinin, yüksek bireysellik gösteren (düşük BI) testlerin RDD'lerinin test sonucuyla raporlanması gerektiği kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Ölçüm Belirsizliği, Biyolojik Varyasyon, Immunoassay.

## **SUMMARY**

### **MEASUREMENT UNCERTAINTY, REFERENCE CHANGE VALUE, INDIVIDUALITY INDEX IN EVALUATION OF IMMUNOASSAY TEST RESULT**

We aimed to assess Troponin-I, Prostate Specific Antigen (PSA), Thyroid Stimulating Hormone (TSH) Test Parameters Measurement Uncertainty, Reference Change Value (RCV) and Individuality Index (II) together with the test results due to value of Immunoassay Test Measurements quantities as picogram level, narrow limits of Reference Ranges and importance of Medical Decision point in the diagnosis and follow-up.

Each source that causes the measurement uncertainty was determined as mentioned in the Guide to Expression of Uncertainty in Measurement (GUM). 6 Uncertainty Resources were identified including Internal Quality Control Source Uncertainty, External Quality Control Source Uncertainty, Repeatability Source Uncertainty, Recovery Source Uncertainty, Calibrator Source Uncertainty, and Calibration Sources Uncertainty. Relative Standard Uncertainty of each Source Uncertainty was calculated as proposed in the GUM. Individuality Index (II) were calculated from data of Intra-Individual Biological Variation ( $CV_i$ ) and Inter-Individual Biological Variation ( $CV_g$ ) in the literature, and Reference Change Value (RCV) was calculated based on 6 months the Analytical CV ( $CV_a$ ) data.

We concluded that Measurement Uncertainty indicating measurement quality of Immunoassay Test Parameters should be reported with test results of RCV of testsshowing high individuality (low II).

**Key Words:** Measurement Uncertainty, Biological Variation, Immunoassay.

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
ÖZET .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
SUMMARY.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
İÇİNDEKİLER .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
KISALTMALAR .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
TABLolar DİZİNİ.....	<b>Error! Bookmark not defined.i</b>
ŞEKİL DİZİNİ .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.GENEL BİLGİLER.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.1. Immunoassay Test Yönteminde Kalite Kontrolün Önemi.....	<b>Error! Bookmark not defin</b>
2.2.1. Klinik Laboratuvarlarda Kalite Kontrol .....	3
2.2.1.1. Analitik Süreçteki Hatalar .....	3
2.2. Ölçüm Belirsizliği .....	4
2.2.1.GUM' un Belirlediği Temele Göre Hazırlanan Rehberler:.....	5
2.2.2.GUM'a göre Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması .....	6
2.3. Total İzin Verilen Hata (TEa) .....	9
2.3.1. TEa' nın Ölçüm Belirsizliğindeki Önemi.....	10
2.4. Bireysellik İndeksi (BI) .....	10
2.4.1.Bireysellik İndeksinin Kullanılmasının Önemi .....	11
2.5. Referans Değişim Değeri (RDD).....	12
2.5.1.RDD'nin Hasta Test Sonuçlarının Yorumlanmasındaki Önemi..	12
2.6. Ölçüm Sonuçlarının Yorumlanmasında Klinik Karar Düzeyi .....	12
2.7. Troponin-I (Tn-I).....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.7.1. Troponin-I Fonksiyonu .....	14
2.7.2. Troponin-I Immunassay Ölçümünde Kullanılan Yöntemler .....	14
2.7.3. Troponin-I Klinik Önemi .....	15
2.7.3.1. Troponin-I 'nın Kritik Kararda Ölçüm Belirsizliğinin Önemi.....	15
2.8. Prostat Spesifik Antijen (PSA) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.8.1 Prostat Spesifik Antijen Fonksiyonu .....	16

2.8.2 Prostat Spesifik Antijen Immunassay Ölçümünde Kullanılan Yöntemler .....	16
2.8.3. Prostat Spesifik Antijen'in Biyolojik Varyasyonu .....	16
2.8.4. Prostat Spesifik Antijen Klinik Önemi.....	17
2.8.4.1. Prostat Spesifik Antijen'in Ölçüm Belirsizliğinin ve Referans Değişim Değerinin Tıbbi Karardaki Rolü .....	17
2.9. Tiroid Stimulan Hormon (TSH).....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.9.1. Tiroid Stimulan Hormon Fonksiyonu.....	18
2.9.2. Tiroid Stimulan Hormon Salınması ve Sirkadiyen Ritmi .....	18
2.9.3. Tiroid Stimulan Hormon Klinik Önemi.....	18
2.9.3.1. Tiroid Stimulan Hormon'un Ölçüm Belirsizliğinin ve Referans Değişim Değerinin Tıbbi Karardaki Rolü .....	18
3. MATERYAL ve METOD .....	19
3.1. Çalışılan Testlerin Ölçüm Metodları.....	19
3.1.1. Troponin-I Ölçüm Metodu.....	19
3.1.2. Prostat Spesifik Antijen Ölçüm Metodu .....	19
3.1.3. Tiroid Stimulan Hormon Ölçüm Metodu.....	20
3.2. Kullanılan Cihazlar .....	21
3.3. Kullanılan İç Kalite Kontrol Verileri.....	21
3.3.1. Troponin-I için İç Kalite Kontrol Verileri.....	21
3.3.2. Prostat Spesifik Antijen için İç Kalite Kontrol Verileri .....	21
3.3.3. Tiroid Stimulan Hormon için İç Kalite Kontrol Verileri .....	21
3.4. Kullanılan Dış Kalite Kontrol Verileri .....	22
3.4.1. Troponin-I için Dış Kalite Kontrol Verileri...	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.4.2. Prostat Spesifik Antijen için Dış Kalite Kontrol Verileri.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.4.3. Tiroid Stimulan Hormon için Dış Kalite Kontrol Verileri.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.5. Kullanılan Kalibratörler.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.5.1. Troponin-I için Kullanılan Kalibratörler.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.5.2. Prostat Spesifik Antijen için Kullanılan Kalibratörler .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.5.3. Tiroid Stimulan Hormon için Kullanılan Kalibratörler .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

3.6. Ölçüm Belirsizliği Kaynaklarının Belirlenmesi	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.6.1. İç Kalite Kontrollerinden Kaynaklı Belirsizlik ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.6.2. Dış Kalite Kontrollerinden Gelen Belirsizlik	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.6.3. Recovery (Geri Kazanım) Kaynaklı Belirsizlik .	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.6.3.1. Troponin-I Geri Kazanım Çalışması....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.6.3.2. Prostat Spesifik Antijen Geri Kazanım Çalışması .	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.6.3.3. Tiroid Stimulan Hormon Geri Kazanım Çalışması	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.6.4. Tekrarlanabilirlikten Kaynaklı Belirsizlik....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.6.5. Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3.6.6. Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik ..	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4. BULGULAR.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.1. Troponin-I Testine Ait Bulgular .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.1.1. Troponin-I İç Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik ...	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.1.2. Troponin-I Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik .....	28
4.1.3. Troponin-I Tekrarlanabilirlikten Kaynaklı Belirsizlik.....	29
4.1.4. Troponin-I Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik .....	30
4.1.5. Troponin-I Testinin Geri Kazanım Kaynaklı Belirsizliği .....	31
4.1.6. Troponin-I Dış Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik.....	34
4.1.7. Troponin-I Testinin Birleşik ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması .....	35
4.2. Prostat Spesifik Antijen Testine Ait Bulgular	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.2.1. Prostat Spesifik Antijen İç Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.2.2. Prostat Spesifik Antijen Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik .....	37
4.2.3. Prostat Spesifik Antijen Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizlik ..	38
4.2.4. Prostat Spesifik Antijen Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik.....	39
4.2.5. Prostat Spesifik Antijen Testinin Geri Kazanım Kaynaklı Belirsizliği .....	40

4.2.6. Prostat Spesifik Antijen Dış Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik .....	42
4.2.7. Prostat Spesifik Antijen Testinin Birleşik ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması.....	43
4.3. TSH Testine Ait Bulgular .....	44
4.3.1. Tiroid Stimülan Hormon İç Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik .....	44
4.3.2 Tiroid Stimülan Hormon Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik.....	45
4.3.3. Tiroid Stimülan Hormon Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizlik .	46
4.3.4. Tiroid Stimülan Hormon Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik .....	47
4.3.5. Tiroid Stimülan Hormon Testinin Geri Kazanım Kaynaklı Belirsizliği .....	48
4.3.6. Tiroid Stimülan Hormon Dış Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik .....	50
4.2.7. Tiroid Stimülan Hormon Testinin Birleşik ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması.....	51
4.4. Troponin-I, Prostat Spesifik Antijen ve Tiroid Stimülan Hormon Testlerinin RDD ve BI Hesaplanması .....	52
5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6. KAYNAKLAR .....	64
7. EKLER .....	72
Ek.1 Troponin-I Testine Ait İç Kalite Kontrol Verileri .....	72
Ek-2. Prostat Spesifik Antijen Testine Ait İç Kalite Kontrol Verileri	<b>Error! Bookmark not d</b>
Ek-3. Tiroid Stimülan Hormon Testine Ait İç Kalite Kontrol Verileri	<b>Error! Bookmark not c</b>

## KISALTMALAR

A2M-PSA	: Alfa-2-Makroglobulin'e bağlı PSA
AACB	: Australasian Association of Clinical Biochemistry
ACT-PSA	: Alfa-1-Antikimotripsin'e bağlı PSA
AHA	: American Heart Association
AMI	: Akut Miyokard Enfarktüsü
ATPaz	: Adenozin Trifosfataz
Bias	: Laboratuvarın % Sapması
BI	: Bireysellik İndeksi
BIPM	: Bureau International des Poids et Mesures
CIPM	: Comité International des Poids et Mesures
C <sub>eklenen</sub>	: Eklenen Konsantrasyonu
C <sub>gözlener</sub>	: Gözlener Konsantrasyonu
C <sub>kalibratör</sub>	: Kalibratör Konsantrasyonu
C <sub>örnek</sub>	: Örnek Konsantrasyonu
cTn	: Kardiyak Troponin
cTn-C	: Kardiyak Troponin-C
cTn-I	: Kardiyak Troponin-I
cTn-T	: Kardiyak Troponin-T
CV	: Coefficient of Variation
CV <sub>a</sub>	: Analitik Varyasyon Katsayısı
CV <sub>i</sub>	: Birey İçi Biyolojik Varyasyon Katsayısı
CV <sub>g</sub>	: Bireyler Arası Biyolojik Varyasyon Katsayısı
EURACHEM	: A Focus for Analytical Chemistry in Europe
ESC	: European Society of Cardiology
GUM	: Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement
HAMA	: Human Anti-mouse Antibody
IFCC	: International Federation of Clinical Chemistry
ISO	: International Organization for Standardization
NORDtest	: Handbook For Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
RDD	: Referans Değişim Değeri
RLU	: Relative Light Unit

$R_m$	: Method Recovery (Geri Kazanım)
RSB	: Relatif Standart Belirsizlik
$RSB_{dkk}$	: Dış Kalite Kontrol Materyalinin Rölatif Standart Belirsizliği
$RSB_{ikk}$	: İç Kalite Kontrol Materyalinin Rölatif Standart Belirsizliği
$RSB_{kal.kons}$	: Kalibratör Materyalinin Rölatif Standart Belirsizliği
$RSB_{kal.abs}$	: Kalibrasyonun Rölatif Standart Belirsizliği
$RSB_1$	: 1. Düzey kontrol materyalinin Rölatif Standart Belirsizliği
$RSB_2$	: 2. Düzey kontrol materyalinin Rölatif Standart Belirsizliği
$RSB_{tekrar}$	: Tekrarlanabilirlik kaynaklı Rölatif Standart Belirsizlik
RSD	: Relative Standard Deviation
$RSD_1$	: 1. Seviye İç Kalite Kontrolün Rölatif Standart Deviasyonu
$RSD_2$	: 2. Seviye İç Kalite Kontrolün Rölatif Standart Deviasyonu
$RDD_{PSA}$	: Prostat Spesifik Antijen Referans Değişim Değeri
$RDD_{Tn-I}$	: Troponin-I Referans Değişim Değeri
$RDD_{TSH}$	: Tiroid Stimulan Hormon Referans Değişim Değeri
s	: Standart Sapma
$s_{lab}$	: Laboratuvara ait Standart Sapma
SD	: Standard Deviation
SI	: Systeme Internationale Units
T3	: Triiyodotironin
T4	: Tetrayodotironin
TAG4	: ISO Technical Advisory Group4 on Metrology
TEa	: Total Allowable Error (Toplam İzin Verilen Hata)
Tn-I	: Troponin-I
TRH	: Tirotropin Salgılatıcı Hormon
TSH	: Tiroid Stimulan (Uyarıcı) Hormon
$u_c$	: Birleşik Standart Belirsizlik
$u_c (PSA)$	: Prostat Spesifik Antijen Birleşik Standart Belirsizliği
$u_c (Troponin-I)$	: Troponin-I Birleşik Standart Belirsizliği
$u_c (TSH)$	: Tiroid Stimulan Hormon Birleşik Standart Belirsizliği
$u(C_{eklenen})$	: Eklenen konsantrasyonun Standart Belirsizliği
$u(C_{gözlenen})$	: Gözlenen konsantrasyonun Standart Belirsizliği
$u_{dışkalite}$	: Dış Kalite Kontrol Değerlendirmesinin Standart Belirsizliği

$U_{içkalite}$	: İç Kalite Kontrol Değerlendirmesinin Standart Belirsizliği
$U_{kalibrasyon}$	: Kalibrasyon Sapmasının Standart Belirsizliği
$U_{kalibratör}$	: Kalibratörün Standart Belirsizliği
$U_{recovery}$	: Geri Kazanım Standart Belirsizliği
$U_{tekrarlanabilirlik}$	: Tekrarlanabilirliğin Standart Belirsizliği
$U_{Rm}$	: Geri Kazanım Standart Belirsizliği
$U_x$	: Genişletilmiş Belirsizlik
$U_{PSA}$	: Prostat Spesifik Antijen Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği
$U_{Tn-I}$	: Troponin-I Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği
$U_{TSH}$	: TSH Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği
VAM	: Valid Analytical Measurement Project 3.2.1 Development and Harmonisation of Measurement Uncertainty Principles
VIM	: International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology
WG3	: Working Group3

## TABLolar DİZİNİ

**Tablo 1.** Student t %95 güven seviyesinde (2-yönlü)

**Tablo 2.** Kardiyak Troponin-I ile çapraz reaksiyon yapabilen analitler (39)

**Tablo 3.** Troponin-I Testinin Kontrol 1. ve 2. Seviye 6 Aylık İç Kalite Kontrol Sonuçları (ng/mL)

**Tablo 4.** Troponin-I Testinin 6 Aylık Kalibrasyon Sonuçları

**Tablo 5.** Troponin-I Testinin Tekrarlanabilirlik Çalışmasının Sonuçları

**Tablo 6.** Troponin-I Testinin Kalibratör Tekrarlanabilirlik Sonuçları

**Tablo 7.** Troponin-I Testinin Recovery Çalışma Sonuçları

**Tablo 8.** Kullanılan Pipetlerin (100 ve 1000mL) Ölçüm Sapmalarından Kaynaklı Belirsizlik

**Tablo 9.** Troponin-I Testinin Recovery ( $R_m$ ) Hesaplaması

**Tablo 10.** Troponin-I Testinin Dış Kalite Kontrol Verileri ile Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması

**Tablo 11.** Troponin-I Testinin Birleşik Standart Belirsizliği ve Genişletilmiş Belirsizliği

**Tablo 12.** Prostat Spesifik Antijen Testinin Kontrol 1. ve 2. Seviye 6 Aylık İç Kalite Kontrol Sonuçları (ng/mL)

**Tablo 13.** Prostat Spesifik Antijen Testinin 6 Aylık Kalibrasyon Sonuçları

**Tablo 14.** Prostat Spesifik Antijen Testinin Tekrarlanabilirlik Çalışmasının Sonuçları

**Tablo 15.** Prostat Spesifik Antijen Testinin Kalibratör Tekrarlanabilirlik Sonuçları

**Tablo 16.** Prostat Spesifik Antijen Testinin Recovery Çalışma Sonuçları

**Tablo 17.** Prostat Spesifik Antijen Testinin Recovery (Rm) Hesaplaması

**Tablo 18.** Prostat Spesifik Antijen Testinin Dış Kalite Kontrol Verileri ile Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması

**Tablo 19.** Prostat Spesifik Antijen Testinin Birleşik Standart Belirsizliği ve Genişletilmiş Belirsizliği

**Tablo 20.** Tiroid Stimülan Hormon Testinin Kontrol 1. ve 2. Seviye 6 Aylık İç Kalite Kontrol Sonuçları ( $\mu\text{IU/mL}$ )

**Tablo 21.** Tiroid Stimülan Hormon Testinin 6 Aylık Kalibrasyon Sonuçları

**Tablo 22.** Tiroid Stimülan Hormon Testinin Tekrarlanabilirlik Çalışmasının Sonuçları

**Tablo 23.** Tiroid Stimülan Hormon Testinin Kalibratör Tekrarlanabilirlik Sonuçları

**Tablo 24.** Tiroid Stimülan Hormon Testinin Recovery Çalışma Sonuçları

**Tablo 25.** Tiroid Stimülan Hormon Testinin Recovery (Rm) Hesaplaması

**Tablo 26.** Tiroid Stimülan Hormon Testinin Dış Kalite Kontrol Verileri ile Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması

**Tablo 27.** Tiroid Stimülan Hormon Testinin Birleşik Standart Belirsizliği ve Genişletilmiş Belirsizliği

**Tablo 28.** Troponin-I, Prostat Spesifik Antijen ve Tiroid Stimülan Hormon Testlerinin RDD ve BI Hesaplaması

## ŞEKİL DİZİNİ

**Şekil 1:** Bias (sistemik hata) ve presizyon (rastgele analitik hata) ilişkisi



## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Ölçülen bir test parametresine ait Ölçüm Belirsizliğinin belirlenip ölçüm sonucu ile birlikte verildiğinde, ölçümün hangi sınırlar içinde yer alabileceğini ve güven/kalite düzeyini gösterdiği bilinmektedir (1). Matriks etkisi, interferanslar, referans materyaller, kütle ve hacimsel belirsizlikler, çevresel etkiler, ölçüm yöntemi ve prosedürü gibi pek çok etken ölçüm sonuçlarının Ölçüm Belirsizliğine katkıda bulunabilmektedir. Bu yüzden Ölçüm Belirsizliğinin, ölçüm sonucuna bağlı tıbbi karar verirken, ölçüm sonuçlarını karşılaştırırken, limitlere uygunluğa karar verirken kullanılmasının önemi anlaşılmaktadır (2).

Yüksek bireysellik gösteren (düşük Bireysellik İndeksi) Immunoassay Testlerde Ölçüm Belirsizliğiyle beraber Referans Değişim Değerinin birlikte raporlanması daha doğru ve anlamlı Laboratuvar sonuçları verilmesini sağlayabilmektedir (1,2).

Immunoassay ölçüm tekniği ile çalışılan Prostat Spesifik Antijen (PSA) ve Tiroid Stimulan Hormon (TSH) test parametreleri alt ve üst referans limitleri, hem Klinik Kararda hem de tedavinin yönünü belirlemede önemli bir yere sahiptir (3,4). Yine Immunoassay tekniği ile çalışılan Kardiyak Troponin-I test parametresi, Akut Miyokard Enfarktüsü (AMI) tanısında en önemli Biyokimyasal Belirteçtir (5).

İmmünolojik yöntemlerle ölçülen bu Testlerin, Tıbbi Karardaki önemi göz önünde bulundurularak, Biyolojik Varyasyonun değerlendirilmesi amacıyla Referans Değişim Değerinin (RDD) ve Bireysellik İndeksinin (BI), Total İzin Verilen Hata (TEa) sınırları içinde olması istenen Ölçüm Belirsizliğinin ölçüm sonucuyla birlikte verilmesinin önemini belirtmeyi amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Immunoassay Test Yönteminde Kalite Kontrolün Önemi

Klinik Biyokimyada Biyobelirteç olarak bilinen ve belli bir hastalıkta özel olarak salgılanan ya da miktarında artış görülen biyomoleküllerin miktarları, hastalıkların erken tanı ve takibindeki önemi bilinmektedir (6).

Klinik Biyokimyada Biyomoleküllerin miktar tayini için geliştirilen tanı yöntemlerinden antikor-antijen etkileşimini temel alan Immünoassay test yöntemi, Analitik Duyarlılığı ve Analitik Özgünlüğü yüksek olduğundan vücut sıvılarında pikogram/mL düzeyine kadar ölçümler için kullanımı en yaygın tekniktir (7).

Immunoassay Teknikler arasında analitik duyarlılığı en yüksek ve ölçüm zamanını minimuma indiren en yaygın kullanılan Heterojen Kemilüminesans yöntemidir (7).

Immünoassay Yöntemler antijen-antikor reaksiyonuna dayandığı için özgünlüğü yüksek olmasına rağmen benzer yapıdaki moleküller ile Çapraz Reaksiyon, Yüksek Doz Hook Etkisi, Numune Carry-Over'ı, Heterofilik Antikorlar veya Human Anti-mouse Antibody (HAMA) gibi etkileşimlerle interferenislara açıktır (7).

Immunoassay Testlerin Kalite Kontrolü ve Güvencesi kapsamında Analitik Süreçteki değişkenlerin kontrol edilmesinin büyük önem taşıdığı bilinmektedir (8).

Immunoassay Ölçümlerin Kalite Planlaması, genellikle çoklu karar düzeylerinin varlığı, bu farklı karar düzeylerinde farklı kalite gereksinimleri ve farklı karar düzeylerinde farklı yöntem varyasyon katsayılarının olması nedeni ile özel zorluklar taşımaktadır. Dolayısıyla çoklu düzey veya çoklu basamaklı, sıklıkla çok kurallı kontrol prosedürleri ve daha yüksek sayıda kontrol ölçümleri kullanılmasını gerektirmektedir (7, 8).

Immunoassay Test Ölçümlerinde prosedür basamakları Rutin Test Otomasyon Ölçüm prosedür basamaklarına göre daha fazladır. Bu basamaklar; antijen veya antikorlara moleküllerin bağlanma basamağı, bağlı ve bağlı olmayan antijen, antikorların ayrılması basamağı, inkübasyon

şartları, pipetleme basamakları, tampon matriks etkisi, sinyal yanıtı basamaklarını içermektedir (7).

Immunoassay Ölçümlerde Kalite Kontrol kapsamında hata kaynaklarının belirlenmesinde prosedürün her bir basamağı önemlidir. Kalite Kontrol işleminden önce ne kadar hataya izin verilebileceği, analitik performansının ve biasının ne olması gerektiği belirlenmelidir (8).

Klinik Laboratuvar Ölçüm Yöntemlerinde, Analitik Prosedürün ölçebileceği Analitik Duyarlılık (En Küçük Değer Saptama Sınırı-LoD-Limit of Detection) ve Kantitasyon Saptama Sınırı (En Küçük Değişim Değeri, Fonksiyonel Saptama Sınırı -LoQ - Limit of Quantitation) tanı ve takipte önemli olduğu bilinmektedir. Çok yüksek duyarlılıkta ölçüm yöntemlerinin geliştirilmesi, ölçüm işlemlerindeki en küçük analit konsantrasyonun belirlenmesinin klinik önemini gündeme getirmiştir (9).

### **2.2.1. Klinik Laboratuvarlarda Kalite Kontrol**

Klinik Laboratuvarlarda hedef kaliteli, doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar vermek ve verilen sonuçların diğer Laboratuvarlarla karşılaştırılabilir olmasını sağlamaktır. Bu amaçla İç Kalite Kontrol çalışmalar ile Rastlantısal Hatalar ve Dış Kalite Kontrol çalışmaları ile Sistemik Hatalar belirlenerek hataların kabul edilebilir hata sınırları içinde gerçek değere en yakın sonuç vermeye çalışılır. Ancak yeni yaklaşıma göre; ölçümü yapılan analite ait tek bir gerçek değer olmadığı, var olan olası gerçek değer dağıldığı bir aralığın olduğu kabul edilmektedir (10).

#### **2.2.1.1. Analitik Süreçteki Hatalar**

**Sistemik Hata (Bias-Inaccuracy):** Analiz sonucunu sabit ve belirli düzeyde değiştiren, nedeni bilinen veya ölçülebilen kesin değerlere sahip hatalardır. Sistemik hatalar analiz sonucunun doğruluğunu etkiler. Ölçülen değerler belirli oranda aynı yönde saptığı için ortalama değer, doğru değerden farklı çıkar (10).

**Doğruluk (Accuracy) :** Gerçek değerle ölçülen değer arasındaki yakınlığı ifade eder. Bu iki değer arasındaki farkın göstergesi ise "Hata" (bias, inaccuracy) dır. Sistemik hatayı ölçmek için kullanılır. Doğruluğu ölçmek için aynı örnekler referans yöntemle eş zamanlı olarak yeni yöntemle de

çalışılır ve bulgular karşılaştırılır. Bu verileri değerlendirmek için istatistiksel olarak regresyon analizi yöntemi kullanılarak iki dizi veri arasındaki ilişkinin doğrusal grafiği elde edilir ve korelasyon katsayısı ( $r$ , correlation coefficient) değeri hesaplanır. Bu değer 1 olmalıdır. Doğruluk ayrıca, Geri Kazanım (Recovery) ve bozucu etki (interferans) çalışmalarlarıyla da ölçülür (10).

**Rastgele Hata (CV-İmpresizyon):** Biyokimyasal ölçümlerin hepsinde bulunan, düzeltilemeyen ve kontrol edilemeyen birçok değişkene bağlı hatalardır. Rastgele hata ne kadar çok ise standart sapma o kadar büyüktür (10).

Standart Sapma (Standart Deviation, SD): Dağılımın yaygınlığını hakkında bilgi verir. Her bir değer için ortalamadan olan uzaklığını gösterir. Sonuçların tekrarlanabilirliğinin ölçüsüdür (10).

Değişkenlik Katsayısı (Varyasyon Katsayısı-Coefficient of Variation, CV): Standart sapmanın aritmetik ortalamaya bölünüp 100 ile çarpılmasıyla hesaplanır. Kısaca elde edilen standart sapmanın konsantrasyondan bağımsız, yüzde olarak ifadesidir (10).

Ölçüm Belirsizliği, Biyokimyasal bir ölçümde rastlantısal ve sistematik hatalar sonucunda ölçülen değer için hangi sınırlarda değişiklik gösterebileceğiyle ilgili bilgi verir. Elde edilen ölçüm değerinin kalitesinin kantitatif bir göstergesi olup; bu değer için gerçek değeri hangi ölçüde temsil ettiğini tahmine olanak sağlar (1).

Immunoassay Test Parametresine ait hesaplanan Ölçüm Belirsizliği, ölçümün hangi sınırlar içinde yer alabileceğini ve güven/kalite düzeyini göstermektedir (1).

Immunoassay Ölçüm Yönteminde Ölçüm Prosedür basamaklarının fazla olması, her bir basamağın hata kaynağını artırabileceği için Immunoassay Ölçümdeki her bir basamağın kontrol değerlendirmesi için Ölçüm Belirsizliğinin belirlenmesi büyük önem taşıdığı bilinmektedir (11).

## 2.2. Ölçüm Belirsizliği

Ölçülen bir test parametresine ait hesaplanan Ölçüm Belirsizliği ölçüm sonucu ile birlikte verildiğinde; ölçümün hangi sınırlar içinde yer alabileceğini göstermektedir (1). Bu yüzden Ölçüm Belirsizliği, ölçüm sonucunu kullanarak

tıbbi karar verirken, ölçüm sonuçlarını karşılaştırırken, limitlere uygunluğa karar verirken kullanılmaktadır (2).

ISO (International Organization for Standardization) 1999 yılındaki yayınında, Laboratuvarlarda Ölçüm Belirsizliğinin ifadesini akreditasyon programı kapsamında teknik bir gereksinimdir olarak ifade etmiştir.

Güncel (2012 edition) ISO 15189 Laboratuvarların Ölçüm Belirsizliği performans gereksinimlerini tanımlamasını ve düzenli olarak Ölçüm Belirsizliği tahminlerini gözden geçirmesi gerekliliğini bildirmektedir (12).

VIM (The International Vocabulary of Metrology) Ölçüm Belirsizliğini "Kullanılan bilgilere dayanarak, bir ölçülene atfedilen büyüklük değerlerinin dağılımını niteleyen parametre" olarak tanımlar.

Matriks etkisi, interferanslar, referans materyaller, kütle ve hacimsel belirsizlikler, çevresel etkiler, ölçüm yöntemi ve prosedürü gibi pek çok etken ölçüm sonuçlarının Ölçüm Belirsizliğine katkıda bulunabilmektedir (2).

Bir analitin ölçümünü pek çok faktör etkileyebilir. Bunlar; ölçüm yöntemi, kütle ve hacimsel belirsizlikler, matriks etkisi, interferanslar, referans materyaller ve çevresel etkiler olabilir. Bu faktörlerin ölçüme etkisinin bir bölümü rastlantısal olabildiği gibi bir bölümü de sistematik olabilir. Sonuçta Toplam Belirsizliğin tahmin edilebilmesi Belirsizliğe katkıda bulunan her bir bileşenin ayrı ayrı ele alınmasını gerektirir (2).

Ölçüm Belirsizliğinin belirlenmesine yönelik ve ölçüm sonuçlarının Uluslararası karşılaştırılmasında temel oluşturmak üzere Uluslararası Ağırlık ve Ölçü Bürosu tarafından ilk olarak 1993 yılında bir Ölçüm Belirsizliği İfade Rehberi "Guide to Expression of Uncertainty in Measurement (GUM)" hazırlanmış ve birçok ülke tarafından benimsenmiştir (13).

### **2.2.1. GUM' un Belirlediği Temele Göre Hazırlanan Rehberler**

- **EURACHEM (A Focus for Analytical Chemistry in Europe- EURACHEM/CITAC Guide CG 4):** İlk olarak 1995 yılında yayınlanmış, 2000 ve 2012 yılında revize edilmiştir. EURACHEM *Tekrarlanabilirlikten Kaynaklı Belirsizlik* için alınan numunenin ardışık çalışmasını önermektedir. Bu Belirsizliğe *Geri Kazanım, Kalibratör ve Kalibrasyon Kaynaklı Standart*

*Belirsizlikler* de dâhil edilerek Kombine Ölçüm Belirsizliği hesaplanmaktadır (14).

- **Valid Analytical Measurement Project (VAM-1998):** İngiliz Kimyasal ve Biyokimyasal Ölçümler için Ulusal Metroloji Enstitüsü, Ölçüm Belirsizliğini belirlemek için *İç Kalite Kontrol* ve *Kalibratör* verilerini kullanmayı önermektedirler (15).

- **NORDtest (Handbook For Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories-NORDtest-2012):** NORDtest rehberinde Ölçüm Belirsizliğinin belirlemek için *İç ve Dış Kalite Kontrol verilerinin* kullanılmasını önermektedirler. *İç Kalite Kontrol verilerinin %CV'leri* ve *Dış Kalite Kontrol verilerinin Biası* Ölçüm Belirsizliği hesabında kullanılmaktadır (16).

- **Avustralyalı Ulusal Klinik Biyokimyacılar Derneği (AACB; Australasian Association of Clinical Biochemists):** 2004 yılında hazırlanan rehberde Ölçüm Belirsizliği belirlenirken *İç Kalite Kontrol Verilerinin* sonuçları kullanılmaktadır. Bunun için en az iki düzey ve 6 aylık İç Kalite Kontrol Sonucu verileri kullanılması gerekmektedir (17).

Bu rehberlerde Ölçüm Belirsizliği hesaplama yöntemleri belirlenmiştir. Ancak her bir rehber Ölçüm Belirsizliği hesabı için farklı kriterleri temel aldığı için bir Laboratuvarda her bir test parametresi için her bir rehber göre belirlenen Ölçüm Belirsizliğinin farklı olabileceği beklenmelidir.

### **2.2.2. GUM'a göre Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması**

Bu hesaplamadaki aşamalar (18):

- **Ölçülenin Tanımlanması**

Ölçülen tanımlanırken ölçüm yapılan sistem, yöntem, ölçülenin birimi belirlenmelidir (18).

- **Ölçüm Belirsizliği Kaynaklarının Belirlenmesi**

Ölçüm Belirsizliği Kaynaklarının Belirlenmesi ile analitik yöntemden kaynaklanan ve ölçümü etkileyen belirsizlik kaynakları belirlenir (18).

Biyokimyasal Analizlerdeki olası Ölçüm Belirsizliği kaynakları; Kalibratörler, Örnek alma süreci, Örneğin maruz kaldığı ön işlemler, Uygun

olmayan santrifüj, saklama, taşıma koşulları, Biyolojik Varyasyon, Günler Arası Kesinlikten Sapma, Doğrulukta Sapmalardır (18).

Günler Arası Kesinlikten Sapma: Standart Sapma ve Değişkenlik Katsayısı (Varyasyon Katsayısı-Coefficient of Variation, CV) ile ifade edilir. Rastgele Hatadan etkilenir. Rastgele Hata (CV-İmpresizyon), her ölçümde bulunan, düzeltilemeyen ve kontrol edilemeyen birçok değişkene bağlı hatalardır. Rastgele hata ne kadar çok ise Standart Sapma (Standart Deviation, SD) o kadar büyüktür (10).

Doğrulukta Sapma: Gerçek Değer ile Ölçülen Değer arasındaki farkın göstergesi "Sistemik Hata" (bias, inaccuracy) dır. Analiz sonucunu sabit ve belirli düzeyde değiştiren, nedeni bilinen veya ölçülebilen kesin değerlere sahip hatalardır. Sistemik hatalar analiz sonucunun doğruluğunu etkiler. Bütün değerler belirli oranda belirli bir yönde saptığı için ortalama değer, doğru değerden farklı çıkar. Bu tip hatalar cihazdan, yöntemden veya kişiden kaynaklanmaktadır (10).

İnterferans yapıcı etmenler: Hemoliz, Lipemi, İkter, Benzer Moleküller, Çapraz Reaksiyon veren maddelerin varlığı interferansa neden olabilir (7).

- **Standart Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması**

Ölçüm Belirsizliğine neden olan her bir kaynaktan gelen Belirsizlik Standart Belirsizlik ( $u_x$ ) olarak ifade edilir. Standart Ölçüm Belirsizliğine neden olan kaynağın çeşidine göre iki tip Belirsizlik mevcuttur (18).

Tip A Belirsizlik: İstatistiksel olarak hesaplanan belirsizliktir. Bu gruba giren Belirsizlik bileşenleri ortalamadan sapma ile belirlenir. Bu nedenle her bir değerlerin ortalamadan farklarının dağılımı A Tipi Ölçümün Belirsizliğini verir (13). Örnek olarak Klinik Laboratuvarlar için kullanılan İç Kalite Kontrol Materyali, normal ölçümde örneğin geçtiği tüm aşamaları geçiyor ise İç Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizliğe Tip A Belirsizlik denir (14).

Bu gruptaki belirsizlikler İstatistiksel yöntemlerle değerlendirilir. Tekrarlanan ölçümlerden elde edilen sonuçlar rastgele hata sebebi ile birbirinden az da olsa farklılık gösterir. Her bir değerlerin ortalamadan farklarının dağılımı ( $s$ ) ile ölçüm belirsizliği hesaplanır (18).

$$u_x (\text{Standart Belirsizlik}) = s / \sqrt{n}$$

s,  $s/X_{ort}$  şeklinde alındığında Relative Standart Deviation (RSD) Rölatif Standart Deviasyon olarak ifade edilir.

Bu durumda Standart Belirsizlik, Rölatif Standart Belirsizlik (RSB) olarak ifade edilir ve aşağıdaki gibi hesaplanır (18).

$$RSB = u_x / X_{ort}$$

$$RSB = s / X_{ort} / \sqrt{n}$$

$$RSB = \%CV / 100 \sqrt{n}$$

**Tip B Belirsizlik:** Doğrudan test kitine ait bilgiler, kalibratörün sertifika değeri gibi raporlardan elde edilen belirsizliktir. İstatistiksel olmayan yöntemlerle hesaplanmaktadır. Örneğin analit miktarını ölçerken kullanılan materyal başka ön hazırlıklardan geçiyorsa, buradaki işlemler ayrıca belirlenip her bir aşama için olası belirsizlikler ek olarak hesaplanmalıdır (14). Bunlar zaman zaman üretici firma tarafından sertifikada '± ' değer olarak verilir. Tip B belirsizlik hesaplanırken belirsizlik kaynakları yaklaşık olarak varyansa karşılık gelecek şekilde karakterize edilir . Elde edilen bilginin ait olduğu dağılıma göre farklı işlemler yapılır. Normal, Dikdörtgen (Uniform), Üçgen, U Dağılım olmak üzere 4 farklı dağılım tipi vardır (14).

- **Birleşik Standart Belirsizliğin (uc) Hesaplanması**

Her kaynak için elde edilen Standart Ölçüm Belirsizliklerden hesaplanır (14).

örneğin;  $u$  kalibrasyon,  $u$  metot ,  $u$  diğer...

$$uc = \sqrt{u^2 \text{ kalibrasyon} + u^2 \text{ metot} + u^2 \text{ diğer} + \dots}$$

$$uc = \sqrt{(RSB_p)^2 + (RSB_q)^2 + (RSB_r)^2 + \dots}$$

- **Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması**

Birleşik Standart Belirsizlik k faktörü ile çarpılması ile Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğini ( $U_x$ ) hesaplanır (14).

Yapılan ölçümlerde serbestlik derecesi ( $n-1$ ;  $n$ : gözlem sayısı) 6'dan büyükse yaklaşık %95 güven seviyesi için k faktörü 2 alınır. Serbestlik derecesi 6 veya bunun altında ise iki yönlü Student  $t$  tablosundaki  $t$  değeri k faktörü olarak kullanılır (14).

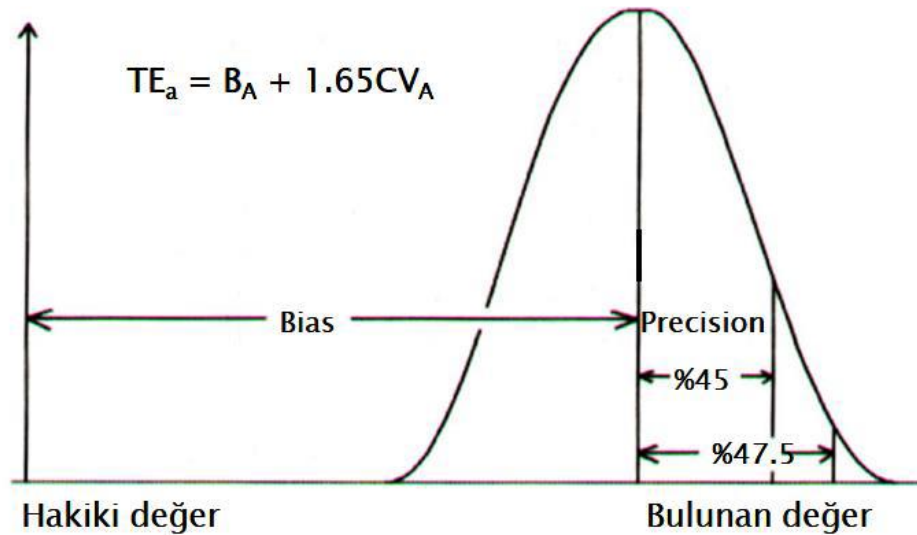
Tablo-1'de altı ve daha düşük serbestlik dereceleri için  $t$  değerleri yer almaktadır (14).

Tablo1. Student t %95 güven seviyesinde (2-yönlü)

Serbestlik Derecesi(n-1)	t
1	12,7
2	4,3
3	3,2
4	2,8
5	2,6
6	2,5

### 2.3. Total İzin Verilen Hata (TEa)

Total İzin Verilen Hata, ölçüm prosedüründeki sistematik ve rastgele hatanın toplamına eşittir. Elde edilen sonuçların Tıbbi Kararda (tanı, izleme, tedavi) yanlışlığa sebep olmayacak sınırlarda olduğunu gösterir. Total İzin Verilebilir Hata (TEa), tek bir test sonucu veya tek bir ölçüme ait Belirsizlik (Rastgele Hata) ve Biası (Sistematik Hata) tolere edilebilen sınırlarını gösterir. Bir analit için Toplam Hata (Rastgele ve Sistematik Hatanın toplamı) o analit için Total İzin Verilen Hata (TEa) sınırları içerisinde ise sistemin tanısal yeterliliğinin kabul edilebilir olduğu söylenebilir (19).



**Şekil1.** Bias (sistematik hata) ve presizyon (rastgele analitik hata) ilişkisi

Toplam Hata (TEa) = Bias+ZxPresizyon

%95 güven aralığı için TEa=Bias+1,65xPresizyon(CVa)

Clinical Laboratory Implementation Amendments, 1988 (CLIA'88) kriterleri, ölçümü yapılan maddenin maksimum hata sınırlarını belirtir. TEa için, Rilibak (Alman Kalite Kılavuzu), Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA) ,CarmenRicos (İspanya) gibi Avrupa ülkelerinde de biyolojik değişkenlik katsayılarını temel alarak hesaplanan farklı öneriler bulunmaktadır.

### **2.3.1. TEa' nın Ölçüm Belirsizliğindeki Önemi**

Rutin Klinik Laboratuvarlarda kullanılan tüm ölçüm prosedürlerinin performansı, asgari sonuçların hassasiyeti ve gerçekliliğini doğrulamalıdır. Bunun için iyi şekilde planlanmış yeterli prosedürler kurulmalıdır. Rutin Klinik Laboratuvarlarda kullanıcıları için pratik, yeterli ve anlaşılır formda prosedürler henüz geliştirilememiştir (20).

Geleneksel olarak Total İzin Verilebilir Hata Bias ve İmprezisyonun toplamı olarak hesaplanır ve Laboratuvar için hedeflenen hata limitlerinin üst sınırı olarak kullanılır (20).

Hesaplanan Ölçüm Belirsizliği geleneksel olarak kullanılan TEa sınırları içinde kalması istenir. Böylece Laboratuvardaki hedeflenen hata limitlerinin aşılmadığı anlaşılmaktadır (13).

Laboratuvar Test sonuçlarının Kalite Kontrol kapsamında değerlendirilmesinde CLIA'88, Rilibak, Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA) veya Carmen Ricos tarafından belirlenen İzin Verilen Hata değerlerinden ( TEa) birisinin seçilmesi gerekmektedir (8).

### **2.4. Bireysellik İndeksi (BI)**

Biyolojik Varyasyon; yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, gebelik, menopoz gibi durumlarla ilişkili Biyolojik Parametrelerdeki değişkenlikleri kapsar (21). Mevsimsel değişim, gece gündüz farkları da ölçümü yapılacak analitlerde varyasyona neden olabilir. Bununla birlikte ölçülecek analitlerin her bir bireyin hemostatik denge noktası etrafında rastgele dalgalanması Birey İçi Varyasyon (CVi) olarak tanımlanır. Dalgalanmalar bireyler arasında farklı olabilir, bu farklılıktan kaynaklanan varyasyon ise Bireyler Arası Varyasyon (CVg) olarak tanımlanır. Bu değerler matematiksel olarak varyasyon katsayısı (Coefficient of Variation, CV) ile gösterilir (21).

Güvenilir Biyolojik Varyasyon modeli anlayışı, Laboratuvar testlerinin en iyi şekilde kullanımının sağlanmasında ve uygun klinik stratejilerin geliştirilmesinde büyük önem taşımaktadır (22).

Tanı ve izlemin genel ihtiyaçlarını karşılaması açısından CV<sub>i</sub> ve CV<sub>g</sub> temelinde kalite özelliklerinin oluşturulması Dünya çapında katılımı Stockholm Konferansı'nda kabul edilmiştir (23).

Herhangi bir testin Birey İçerisindeki Biyolojik Varyasyon (CV<sub>i</sub>) değeri ile Bireyler Arasında Biyolojik Varyasyon (CV<sub>g</sub>) değeri arasındaki orana (CV<sub>i</sub>/CV<sub>g</sub>) o testin bireysellik indeksi (BI) denir (24). Düşük BI testin bireyselliğinin fazla olduğunu, yüksek BI değeri ise testin bireyselliğinin düşük olduğunu gösterir (24). Bireyselliğin kantitatif ölçümü Harris tarafından Bireysellik İndeksi (BI) olarak tanımlanmıştır ve aşağıdaki şekilde formülize edilmiştir (25).

$$BI = (CV_i^2 - CV_a^2)^{1/2} / CV_g$$

Bu formül sıklıkla CV<sub>i</sub>>CV<sub>a</sub> olduğunda CV<sub>a</sub> ihmal edilerek

BI=CV<sub>i</sub>/CV<sub>g</sub>' ye dönüşmektedir.

#### **2.4.1. Bireysellik İndeksinin Kullanılmasının Önemi**

İndeksin kullanılması CV<sub>i</sub>/CV<sub>g</sub>>1,4 olduğunda farkın büyüklüğünü değerlendirmeye izin vermektedir. Bireysellik indeksinin 1,4'den büyük olması ölçülen analitin çok küçük bireysellik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu durumda Toplum Temelli Referans Değerleri hastanın test sonucunu değerlendirmeye uygundur (26).

Bireysellik indeksi CV<sub>i</sub>/CV<sub>g</sub>< 0.6 olduğunda ölçülen analit bireysellik göstermektedir ve Toplum Temelli Referans Değerlerinin kullanımı uygun olmamaktadır. Bu durumda hastanın önceki test sonuçlarını kıyaslamak daha anlamlı klinik bilgi vermektedir (11). Eğer BI 1.4 ile 0.6 arasına düşerse toplum temelli RA kullanılabilir ancak değişikliklerin >1.4 olduğundaki kadar tespit edilmeyeceği bilinmelidir (26).

Testin bireyselliği yüksekse (BI düşükse) bireyselliği azaltmak için test sonuçlarını değerlendirmek için kullanılan Referans Aralıkları yaş, cinsiyet ve varsa diğer özelliklerine göre alt gruplara ayrılması önerilmektedir (27).

## 2.5. Referans Değişim Değeri (RDD)

Referans Değişim Değeri 1983 yılında Harris ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Referans Değişim Değeri hastaların seri ölçümlerini değerlendirmek için kullanılmaktadır (28). Seri ölçümler sonucunda bireyde meydana gelen değişiklikler klinik iyileşme ya da kötüleşmeye bağlı olabildiği gibi, aynı zamanda Analitik Hata ve Bireyiçi Varyasyondan da kaynaklanabilir (29).

RDD, aynı bireye ait aynı analit için seri ölçümlerde izin verilebilir değişim değeridir. RDD ile iki ardışık test sonucu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığına bakılır. Böylece her iki ölçüm sonucu da referans aralığı içinde kalsa bile ardışık iki ölçüm arasındaki farkın anlamlılığı ölçülmüş olmaktadır (29).

$$RDD = z \times \sqrt{2} \times \sqrt{(CVa^2 + CVi^2)}$$

z: Standart sapma katsayısı p<0,05 için 1,96 ve p<0,01 için 2,58'tir (30).

CVa: Analitik CV

CVi: Birey İçi Biyolojik Varyasyon CV

### 2.5.1. RDD'nin Hasta Test Sonuçlarının Yorumlanmasındaki Önemi

Ardışık iki ölçüm arasındaki değişimin klinik anlamlılığını değerlendirmede önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir (30).

Birbirini takip eden iki ölçüm arasındaki farkın önemini en etkili şekilde tanımlar (31).

Seri ölçümler sonucunda tedavinin etkinliğini takip etmek için kullanılabilir. Örneğin hiperkolesterolemi tedavisinde hedeflenen LDL Kolesterol düzeyinin belirlenmesi için kullanılabilir (31).

## 2.6. Ölçüm Sonuçlarının Yorumlanmasında Klinik Karar Düzeyi

Bir test sonucu için Klinik Karar Düzeyi (Tıbbi Karar Düzeyi); tanı, izleme ve tedavi için tıbbi önlemlerin alındığı düzeydir. Tıbbi Karar Düzeyine yakın değerlerde yapılan ölçüm hataları daha kritiktir. Yapılan hatalar temel olarak ölçüm sırasında karşılaşılan zorluklardan kaynaklanmaktadır. Bunun sonucunda yapılan tıbbi masraflar artmakta, yanlış teşhis konabilmekte ve hastanın hayatı tehlikeye girebilmektedir. Bu nedenle hastaya tanı koyduran

Kritik Değere sahip testlerde, Ölçüm Belirsizliğinin sonuçlarla birlikte klinisyene bildirilmesi önemlidir (32).

Tıbbi Karar Değeri çoğunlukla epidemiyolojik çalışmalardan elde edilmiş olan bilimsel verilere dayanmaktadır. Tıbbi Karar Değeri veya referans aralığında tereddüt olmaması ve hastalık prevalansı hakkında yanlış bilgi oluşmaması için bu düzeyde Analitik Hatanın sifıra yakın olması gerekmektedir. Kalite gereksiniminin yüksek olduğu bu grup testlerde hata kaynağı rastgele ve sistematik hatalardan oluşmaktadır (33).

Klinik Karar noktasındaki test sonuçlarının konsantrasyonlarındaki küçük değişiklikler bile Klinik yorumda önem taşımaktadır. Bu yüzden Klinik Karar Düzeyindeki test sonuçlarının güvenilir olması gerekmektedir. Bir test sonucunun kalitesini ve güvenilirliğini gösteren Ölçüm Belirsizliği ve ardışık iki sonuç arasındaki değişikliğin klinik olarak anlamlı olup olmadığının gösteren RDD Klinik Karar Düzeyine sahip test sonuçlarının güvenilirliğini ve klinik anlamını artırmaktadır (10).

Klinik Karar Düzeyi önemli olan Immunassay Test Parametrelerinde Ölçüm Belirsizliğinin belirlenmesi Klinisyene bu testleri yorumlamada kolaylık sağlayabilmektedir (10).

En küçük konsantrasyonun saptanabilmesi çok küçük miktarlardaki Biyobelirteçlerin (PSA, TSH, Troponin-I) ölçülebilmesi, ölçülen analit konsantrasyondaki en küçük değişikliklerin değerlendirilebilmesi ve Tıbbi Karar noktası için önemli olduğu bilinmektedir. Bu nedenlerle Analitik Duyarlılık (LoQ - Limit of Detection) ve Fonksiyonel Duyarlılık (LoQ-Limit Of quantitation) gibi terimlerin kavramları ve hesaplamaları önem kazanmaktadır (9).

## **2.7. Troponin-I (Tn-I)**

Troponin kompleksi üç farklı proteinden oluşur. Troponin C (kalsiyum bağlayıcı protein), Troponin T (Tropomiyozin bağlayan protein) ve Troponin-I (İnhibitör protein). Troponin-I İnhibitör protein, aktin ve miyozinin bağlanmasını inhibe eder. Tn-I iskelet ve kalp kasında bulunur (7).

Kalp kasına spesifik olan Kardiyak Troponin-I (cTn-I), N-terminal ucunda yer alan 31 aminoasit ile kastaki Tn-I izoformundan ayrılmaktadır. cTn-I molekül ağırlığı 23500 daltondur (7).

Kardiyak Troponin-I ile benzer moleküller yöntemde çapraz reaksiyona girebilmektedir. Çapraz reaksiyonların varlığı Ölçüm Belirsizliğine katkıda bulunabilmektedir (7).

Tablo 2. Kardiyak Troponin-I ile çapraz reaksiyon yapabilen analitler (34)

Substance	Analyte Added (ng/mL)	Cross-Reactivity (%)
Skeletal troponin I	1000	0.034
Cardiac troponin C	1000	-0.002
Recombinant human cardiac troponin T	1000	-0.004
Actin (rabbit)	1000	-0.003
Myosin	1000	0.001
Tropomyosin (rabbit)	1000	-0.008
Human CK-MB	1000	-0.001
Myoglobin	1000	-0.002

### 2.7.1. Troponin-I Fonksiyonu

Troponin kompleksinde yer alan Tn-I Aktomiyozin ATPaz'ı inaktive ederek, kas kasılmasını inhibe etmektedir (7).

### 2.7.2. Troponin-I Immunassay Ölçümünde Kullanılan Yöntemler

Kardiyak Troponin-I ölçümü için geliştirilmiş olan 10'un üzerinde kantitatif yöntem mevcuttur. Farklı yöntemlerde, hedef olarak seçilen bölgelerin değişik olabilmesi nedeni ile sonuçlarda farklılıklar gözlenebilmektedir (35). Kardiyak Troponin-I ölçüm yöntemi henüz standardize edilememiştir (36).

Kardiyak Troponin-I Analizini etkileyebilecek temel faktörler (35):

1- Kardiyak Troponin-I'nin büyük bir bölümü cTn-TIC kompleksi veya cTn-IC kompleksi halinde açığa çıkmaktadır. Seçilen antikorlar, cTn-TIC ve cTn-IC komplekslerine ya da serbest cTn-I'ya farklı oranlarda bağlanabileceğinden, bu durum yöntemin duyarlılığını etkilemektedir.

2- Hasarlı kalp kasında cTn-I'nin fosforilasyonu bozulmakta ve buna bağlı olarak şekilsel bir değişiklik görülmektedir. Bu değişikliğin, cTn-I'ya

spesifik olan aminoterminal uçta antikor bağlanışını etkileyip etkilemediği ise bilinmemektedir.

**3-** Kardiyak Troponin-I düzeyleri proteinin okside ya da redükte formda bulunuşuna bağlı olarak da değışkenlik gösterebilmektedir. Kardiyak Troponin-I hasarlı dokudan redükte formda açığa çıksa bile, hava ile teması sonucunda beş saat içinde okside olabilmektedir.

**4-** Kardiyak Troponin-I'nın bir bölümü in situ yıkıma uğramakta ve bu durum antikor bağlanma bölgelerini etkileyerek plazmadaki protein düzeylerini değıştirebilmektedir.

Kardiyak Troponin-I tayin yöntemleri ile ilgili olarak bir standardizasyon komitesi kurulmuş olup, bu komitenin amacı cTnl için uluslararası referans materyalleri belirlemek ve yöntemler arası farklılıkları ortadan kaldırmaktır. Ancak ortak bir kalibratör kullanılması, plazmada çeşitli formlarda bulunabilen cTnl için farklı antikorların kullanımından kaynaklanan sorunlara çözüm getirmemektedir. Kesin çözüm, cTnl analizinde serbest ve kompleks halindeki Tnl'yı eşit derecede tanıyabilecek bir antikor geliştirilmesidir (35).

### **2.7.3. Troponin-I Klinik Önemi**

Kardiyak Troponin-I Miyokard İskemisinden 3-6 saatte yükselmeye başlar, 10-12 saatte pik yapar, 4-6 günde normale döner (7).

European Society of Cardiology (ESC) Akut Miyokard Infarktüsünün (AMI) tanısında Kardiyak Troponin ölçümünün esas alınması gerektiğini belirtmiştir (5).

#### **2.7.3.1. Troponin-I 'nın Kritik Kararda Ölçüm Belirsizliğinin Önemi**

Kardiyak Troponin-I' in yöntemsel farklılıkları (standardize olmaması) ve çapraz reaksiyon veren moleküllerin varlığı Ölçüm Belirsizliğine katkıda bulunur. Kardiyak Troponin-I' in Ölçüm Belirsizliğinin hesaplanması bu farklılıkların ortaya konularak raporlanması Kritik Değerdeki güvenilirliğini arttırabilmektedir (12).

## **2.8. Prostat Spesifik Antijen (PSA)**

Prostata Spesifik Antijen (PSA), 1979 yılında Wang ve arkadaşları tarafından tanımlandı ve saflaştırıldı. PSA, %7 karbonhidrat içeren yaklaşık 34 000 dalton molekül ağırlığında tek zincirli bir glikoproteindir (37).

Prostata Spesifik Antijen serumda temel olarak 3 ayrı moleküler formda bulunmaktadır (38):

- 1) Serbest form olarak 30 kDa ağırlığında,
- 2) Alfa-2- makroglobulin'e bağlı olarak 780 kDa ağırlığında (A2M-PSA)
- 3) Alfa -1-antikimotripsin'e bağlı olarak 90 kDa ağırlığında (ACT-PSA)

### **2.8.1 Prostat Spesifik Antijen Fonksiyonu**

Prostat Spesifik Antijen seminal protein olan semenogelin'in proteolizini sağlayarak seminal sıvının viskozitesini düşürmektedir (7).

### **2.8.2 Prostat Spesifik Antijen Immunassay Ölçümünde Kullanılan Yöntemler**

Alfa-2-makroglobulin-PSA Immunoassay reaktifi olmadığından dolayı Immunoassay yöntemle ölçülememektedir (38).

Serumunda ölçülen toplam PSA'nın % 70-85'i ACT-PSA'dan , % 5-30'u ise serbest PSA'dan ibarettir (38).

Spesifik olarak, PSA formlarına olan bağlı yanıtlarına dayanarak, iki farklı immünoanaliz tipi bulunmaktadır. Eşmolar yanıt testleri serbest ve kompleks PSA formlarını eşit ölçüde tespit eder (43).

Eşmolar olmayan testlerin, serbest PSA moleküllerinin her biri için ACT-PSA ile olduğundan iki ila üç kat daha fazla sinyal ürettiği gösterilmiştir (43).

Access Hybritech PSA testi, örnek geri kazanımının serumdaki serbest PSA formlarının oranı ile etkilenmediği eşmolar bir testtir. Bu nedenle, örnekteki serbest PSA ve PSA-ACT konsantrasyonları bildirilen sonucu değiştirmez (43).

### **2.8.3. Prostat Spesifik Antijen'in Biyolojik Varyasyonu**

Yaşla prostat hacmi arttığı için dolaşımdaki PSA miktarı artmaktadır. Yaşa bağlı beklenen değerler (7).

60 – 69 yaş : 0 – 4.5 ng / ml

70 yaş ve üstü : 0 – 6.5 ng / ml

PSA değeri 4,0-10 ng/ml arasında olan erkeklerden alınan biyopsilerde kanser tespit etme oranının yaklaşık % 25 olması PSA'nın

özgünlüğünü düşürmektedir. Bu nedenle özellikle “gri bölge” olarak adlandırılan 4-10 ng/ml aralığında, PSA testinin güvenilirliğini desteklemek için yaşa özgü PSA, PSA dansitesi, yıllık PSA artış hızı, serbest PSA ve kompleks PSA ölçümü gibi yöntemlere başvurulmaktadır (42).

#### **2.8.4. Prostat Spesifik Antijen Klinik Önemi**

Prostat Spesifik Antijen'nin prostat kanseri için bir belirteç olarak kullanılabileceğini ilk kez 1981 yılında Kuriyama ve arkadaşları ortaya koymuştur (39).

Prostat Spesifik Antijen eşik değerinin 4,0 ng/ml alınması durumunda testin en optimal duyarlılığa ve özgünlüğe yaklaştığı gösterilmiştir (40).

Eşik değer 4,0 ng/ml olarak kabul edildiği zaman PSA'nın duyarlılığı % 72 ile % 90 arasında değişir (41). Fakat PSA'nın özgünlüğü yeterince yüksek değildir. Bunun sebebi prostat kanseri ile ilişkisiz bazı faktörlerin serum PSA seviyesini etkilemesidir. Bu faktörler arasında PSA ölçümleri ile ilgili yöntemsel farklılıklar, hastanın yaşı, prostat hacmi, prostatı etkileyecek manipülasyonlar ve prostatik enflamasyon en fazla görülenlerdir (7).

##### **2.8.4.1. Prostat Spesifik Antijen'in Ölçüm Belirsizliğinin ve Referans Değişim Değerinin Tıbbi Karardaki Rolü**

Ölçüm yöntemleri arasındaki farklar ve yaşla değişen Biyolojik Varyasyonun varlığı ölçüm sonuçları arasında farklılara neden olabilmektedir (7). Prostat Spesifik Antijen testinin seri ölçümleri arasındaki farkın klinik olarak anlamlı olup olmadığını gösteren RDD'nin ve test sonucunun tekrarlanabilirliğinin göstergesi olan Ölçüm Belirsizliğinin test sonucuyla raporlanması sonuçların güvenilirliğini artırmaktadır (12,30).

## **2.9. Tiroid Stimülan Hormon (TSH)**

Tiroid Stimülan Hormon glikoprotein yapısında bir hormon olup; anterior hipofizdeki tirotroplarda yapılır ve salgılanır. 28000-30000 dalton arasında değişen molekul ağırlığına sahiptir. 92 aminoasitten oluşan  $\alpha$  ve 118 aminoasitten oluşan  $\beta$  olmak üzere; iki polipeptit zincirinin non-kovalen bağlarla birleşmesi ve bu zincire karbonhidrat moleküllerinin katılması ile meydana gelmiştir (7).

### **2.9.1. Tiroid Stimülan Hormon Fonksiyonu**

Tiroid Stimülan Hormon, tiroidin morfolojisini ve fonksiyonunu etkileyen bir hormondur. Bir yandan tiroisitlerin gelişmesini kontrol ederken; diğer yandan tiroisitlerde Tiroid peroksidaz ve tiroglobulin yapımını, tiroglobulin proteolizisini, iyodun tutulmasını ve organifikasyonunu, iyodotirozinlerin yapımını, T3(Triiyodotironin)-T4(Tetraiyodotironin) hormonlarının yapım ve salınmasını kontrol eder. Tüm bu fonksiyonları TSH'nin tiroisit membranındaki TSH reseptörüne bağlanması sonucu ortaya çıkmaktadır (7).

### **2.9.2. Tiroid Stimülan Hormon Salınması ve Sirkadiyen Ritmi**

Tiroid Stimülan Hormonun yapım ve salınmasına etki eden birçok uyarıcı vardır. Bunlardan Tirotropin Salgılatıcı Hormon (TRH),  $\alpha$  reseptör etkili katekolaminler ve vasopressin uyarıcı etkiye sahiptir. Somatostatin, dopamin ve tiroid hormonları baskılayıcı etkiye sahiptir. TSH'nin salınması belirli bir ritim içindedir. Sağlıklı bir insanda; uykudan bir kaç saat önce serum TSH düzeyi yükselmeye başlar. Gece maksimum düzeye ulaşır ve sabaha doğru azalarak öğleye doğru minimum düzeye düşer. Buna TSH'nin sirkadiyen ritmi denir (7).

### **2.9.3 Tiroid Stimülan Hormon Klinik Önemi**

Tiroid Stimülan Hormon, Tiroid fonksiyonlarını belirlemek ve hastalıklarının teşhisini koymak için kritik öneme sahiptir (44). HipoTiroidli hastalarda T3-T4 seviyeleri düşük olduğu için TSH düzeyi artmıştır. Hipertiroidli hastalarda ise tam tersi olarak T3-T4 yükselmiş TSH düzeyi normal değerlerin altında düşmüştür (7).

#### **2.9.3.1. Tiroid Stimülan Hormon'un Ölçüm Belirsizliğinin ve Referans Değişim Değerinin Tıbbi Karardaki Rolü:**

Tiroid Stimülan Hormonun Sirkadiyen Ritmi ölçüm sonuçları arasında farklara neden olabilmektedir (7). Tiroid Stimülan Hormonunun testinin seri ölçümleri arasındaki farkın klinik olarak anlamlı olup olmadığını gösteren RDD'nin ve test sonucunun tekrarlanabilirliğinin göstergesi olan Ölçüm Belirsizliğinin, test sonucuyla raporlanması sonuçların güvenilirliğini artırmaktadır (12,30).

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Çalışılan Testlerin Ölçüm Metotları

##### 3.1.1. Troponin-I Ölçüm Metodu

Kardiyak Troponin-I (cTn-I) Beckman Coulter Access 2 İmmunoassay System cihazında Immunoenzimatik sandviç yöntemi ile ölçülmektedir. Ölçümde Alkalen Fosfataz (ALP) ile işaretlenmiş monoklonal Anti cTn-I antikoru ve paramanyetik partikül ile kaplanmış monoklonal Anti cTn-I Antikoru kullanılmaktadır. Numunedeki cTn-I paramanyetik partikülle kaplanmış antikorla katı faza sabitlenir. ALP ile işaretlenmiş antikor ilave edilir ve 37°C inkübasyondan sonra bağlanmayan moleküller yıkanarak atılır. Daha sonra Kemilüminesans substrat Lumi-Phos\* 530 kaba eklenir ve reaksiyonun oluşturduğu ışık bir Luminometre kullanılarak ölçülür. Işık üretimi örnekteki Tn-I konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Örnekteki analit miktarı kayıtlı olan, çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden hesaplanır (34).

##### **İnterferanslar:**

Antikor içeren testler için, hasta örneğindeki heterofil antikorların etkileşim potansiyeli mevcuttur. Rutin olarak hayvanlara maruz kalan veya immünooglobülinlerin ya da immünooglobülin fragmanlarının kullanıldığı immünoterapiye tabi tutulan hastalar, immünoanalizlerle etkileşime girebilecek antikorlar, örn. HAMA üretebilir. Ayrıca, hasta örneklerinde insan anti-keçi gibi heterofil antikorlar da bulunabilir. Etkileşime giren bu tür antikorlar hatalı sonuçlar verilmesine neden olabilir (34).

**Referans Aralığı:** 0,0-0,06 ng/ml

**Analitik Sensitivite:** 0,01 ng/ml

**Ölçülebilen üst sınır:** 100 ng/ml' dir. 1920 ng/ml ye kadar "Hook Etkisi" gözükmemektedir.

##### 3.1.2. Prostat Spesifik Antijen Ölçüm Metodu

Numunedeki PSA, immobilize monoklonal anti PSA antikoru ile katı faza bağlanırken, aynı zamanda monoklonal Alkalın Fosfatazla işaretlenmiş anti PSA antikoru numunedeki PSA'nın farklı antijen bölgesiyle reaksiyona girer. Reaksiyon küvetindeki inkübasyonun ardından, bağlanmamış maddeler yıkanarak atılır. Daha sonra Kemilüminesans substrat Lumi-Phos\* 530

reaksiyon kuvetine eklenir ve reaksiyonun oluşturduğu ışık bir Luminometre kullanılarak ölçülür. Işık üretimi örnekteki PSA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Örnekteki analit miktarı kayıtlı olan, çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden hesaplanır (43).

#### **İnterferanslar:**

Antikor içeren testler için, hasta örneğindeki heterofil antikorların etkileşim potansiyeli mevcuttur. Rutin olarak hayvanlara maruz kalan veya immünoglobülinlerin ya da immünoglobülin fragmanlarının kullanıldığı immünoterapiye tabi tutulan hastalar, immünoanalizlerle etkileşime girebilecek antikorlar, örn. Human Anti-Mouse Antikor (HAMA) üretebilir. Ayrıca, hasta örneklerinde insan anti-keçi gibi heterofil antikorlar da bulunabilir. Etkileşime giren bu tür antikorlar hatalı sonuçlar verilmesine neden olabilir. Bu antikora sahip olduğundan şüphe duyulan hastaların sonuçları dikkatli değerlendirilmelidir (43).

500 mg/dL'ye (5 g/L) kadar hemoglobin, 20 mg/dL (0,2 g/L) bilirubin, 1,500 mg/dL (15 g/L) trigliserit ve 4,2–12,1 g/dL (42–121 g/L) arasındaki total protein konsantrasyonları test edilen Access Hybritech PSA konsantrasyonunu etkilemez (43).

**Referans Aralığı:** 0,0-4,0 ng/ml

**Ölçülebilen Alt ve Üst Limit Değerleri:** 0,008-150 ng/mL

#### **3.1.3. Tiroid Stimulan Hormon Ölçüm Metodu**

Access HYPERSensitive hTSH testi iki bölgeyi immünoenzimatik "sandviç" bir testtir. Keçi anti hTSH antikorunu alkaline fosfatase ile işaretlenmiş, fare monoklonal anti hTSH antikorunu paramanyetik partikülle kaplanmış. Keçi anti hTSH Alkaline Fosfatase konjugatı hTSH üzerindeki farklı bir antijenik bölgeyle reaksiyona girerken, hTSH katı faz üzerindeki immobilize monoklonal anti-hTSH'e bağlanır. Bir reaksiyon kabındaki inkübasyonun ardından maddeler katı faza bağlanır ve bağlanmamış maddeler yıkanırken, manyetik bir alanda tutulur. Daha sonra kemilüminesans substrat Lumi-Phos\* 530 kaba eklenir ve reaksiyonun oluşturduğu ışık bir Luminometre kullanılarak ölçülür. Işık üretimi, örnekteki insan Tiroid uyarıcı hormon

konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Örnekteki analit miktarı çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden hesaplanır (45).

**İnterferanslar:**

5–9 g/dL (50–90 g/L) albümin, 10 mg/dL'e kadar (171 µmol/L) bilirubin içeren örnekler, 1,800 mg/dL'e (20,32 mmol/L) eşdeğer triolein içeren lipemik örnekler ve 500 mg/dL'e kadar (5 g/L) hemoglobin içeren hemolize örnekler test edilen hTSH konsantrasyonunu etkilemez (45).

**Referans Aralığı:** 0,34-5,60 mIU/L

**Analitik Hassasiyet:** 0,003 mIU/L

**3.2. Kullanılan Cihazlar**

Troponin-I testi ile ilgili çalışmalar Laboratuvarımızda kullanılmakta olan Beckman Coulter Access 2 İmmunoassay System cihazında yapıldı.

Prostat Spesifik Antijen ve Tiroid Stimülan Hormon testleri ile ilgili çalışmalar Laboratuvarımızda kullanılmakta olan Beckman Coulter UniCel Dxl 800 Access İmmunoassay System cihazında yapıldı.

**3.3. Kullanılan İç Kalite Kontrol Verileri**

**3.3.1. Troponin-I için İç Kalite Kontrol Verileri**

Laboratuvarımızda Troponin-I testinin İç Kalite Kontrolü BIO-RAD Liquichek Cardiac Markers Plus Control LT ile yapılmaktadır. 23611 ve 23612 lot numaralı iki düzeydeki İç Kalite Kontrolü sabah 08:00 ve akşam 16:00 saatlerinde günde iki kez çalışılmaktadır. Çalışmamızda 01.10.2015 ile 01.04.2016 tarihleri arasındaki 6 aylık Tn-I İç Kalite Kontrol sonuçları kullanıldı.

**3.3.2. Prostat Spesifik Antijen için İç Kalite Kontrol Verileri**

Laboratuvarımızda PSA testinin İç Kalite Kontrolü BIO-RAD Lyphocek İmmunoassay Plus Control ile yapılmaktadır. 40301 ve 40302 lot numaralı iki düzeydeki İç Kalite Kontrolü sabah 08:00 de günlük olarak çalışılmaktadır. Çalışmamızda 01.10.2015 ile 01.04.2016 tarihleri arasındaki 6 aylık PSA İç Kalite Kontrol sonuçları kullanıldı.

**3.3.3. Tiroid Stimülan Hormon için İç Kalite Kontrol Verileri**

Laboratuvarımızda TSH testinin İç Kalite Kontrolü BIO-RAD Lyphocek İmmunoassay Plus Control ile yapılmaktadır. 40301 ve 40302 lot

numaralı iki düzeydeki İç Kalite Kontrolü sabah 08:00 de günlük olarak çalışılmaktadır. Çalışmamızda 01.10.2015 ile 01.04.2016 tarihleri arasındaki 6 aylık TSH İç Kalite Kontrol sonuçları kullanıldı.

### **3.4. Kullanılan Dış Kalite Kontrol Verileri**

#### **3.4.1. Troponin-I için Dış Kalite Kontrol Verileri**

Troponin-I testinin Dış Kalite Kontrol Kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini hesaplamak için, Laboratuvarımızın dâhil olduğu RANDOX-RIQAS Cardiac Programme Dış Kalite Kontrol Programının verileri kullanıldı. Tn-I Dış Kalite Kontrolü Laboratuvarımızda 15 günde bir yapılmaktadır. Cycle 29 ve 28' e ait son bir yıllık veriler ile Dış Kalite Kontrol kaynaklı Ölçüm Belirsizliği hesaplandı.

#### **3.4.2. Prostat Spesifik Antijen için Dış Kalite Kontrol Verileri**

PSA Dış Kalite Kontrol Kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini hesaplamak için Laboratuvarımızın dâhil olduğu RANDOX-RIQAS Monthly Immunoassay Programme Dış Kalite Kontrol Programının verileri kullanıldı. PSA Dış Kalite Kontrolü Laboratuvarımızda ayda bir kez yapılmaktadır. Cycle 13-12' e ait son bir yıllık veriler ile Dış Kalite Kontrol kaynaklı Ölçüm Belirsizliği hesaplandı.

#### **3.4.3. Tiroid Stimulan Hormon için Dış Kalite Kontrol Verileri**

TSH Dış Kalite Kontrol Kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini hesaplamak için Laboratuvarımızın dâhil olduğu RANDOX-RIQAS Monthly Immunoassay Programme Dış Kalite Kontrol Programının verileri kullanıldı. TSH Dış Kalite Kontrolü Laboratuvarımızda ayda bir kez yapılmaktadır. Cycle 13-12'e ait son bir yıllık veriler ile Dış Kalite Kontrol kaynaklı Ölçüm Belirsizliği hesaplandı.

### **3.5. Kullanılan Kalibratörler**

#### **3.5.1. Troponin-I için Kullanılan Kalibratörler**

Laboratuvarımızda Tn-I için kullanılan kalibratör Beckman Coulter Access Calibrators Access AccuTnI+3 Calibrators 523013 Lot numaralı kalibratördür. Kalibratör altı farklı seviyede (S0-S5) ölçüm için altı farklı konsantrasyon içermektedir. Kalibratörlerin içerdiği konsantrasyonlar S0 =0

S1= 0,3 ng/mL ( $\mu\text{g/L}$ ), S2= 1,2 ng/mL, S3=5,0 ng/mL, S4=25 ng/mL ve S5=100 ng/mL' dir.

### **3.5.2. Prostat Spesifik Antijen için Kullanılan Kalibratörler**

Laboratuvarımızda PSA için kullanılan kalibratör Beckman Coulter Access Hybritech PSA Calibrators 533232-533233 Lot numaralı kalibratördür. Kalibratör altı farklı seviyede (S0-S5) ölçüm için altı farklı konsantrasyon içermektedir. Kalibratörlerin içerdiği konsantrasyonlar S0 =0 S1= 0,5 ng/mL ( $\mu\text{g/L}$ ), S2= 2,0 ng/mL, S3=10 ng/mL, S4=75 ng/mL ve S5=150 ng/mL' dir.

### **3.5.3. Tiroid Stimulan Hormon için Kullanılan Kalibratörler**

Laboratuvarımızda TSH için kullanılan kalibratör Beckman Coulter Calibrators Access HYPERSensitive hTSH Calibrators 470044 Lot numaralı kalibratördür. Kalibratör altı farklı seviyede (S0-S5) ölçüm için altı farklı konsantrasyon içermektedir. Kalibratörlerin içerdiği konsantrasyonlar S0 =0 S1= 0,1  $\mu\text{IU/mL}$ , S2= 0,5  $\mu\text{IU/mL}$ , S3=4,0  $\mu\text{IU/mL}$ , S4=10,0  $\mu\text{IU/mL}$  ve S5=100,0  $\mu\text{IU/mL}$ ' dir.

## **3.6. Ölçüm Belirsizliği Kaynaklarının Belirlenmesi**

Ölçüm Belirsizliği ifade rehberi GUM her bir belirsizlik kaynağının ayrı ayrı tanımlanmasını önermektedir (18). Bu doğrultuda Laboratuvarımızdaki ölçüm belirsizliği kaynakları aşağıdaki gibi belirlenmiştir.

- İç Kalite Kontrollerinden Kaynaklı Belirsizlik (Günler Arası Tekrarlanabilirlik)
- Dış Kalite Kontrollerinin Belirsizliği (Doğruluk-Accuracy)
- Recovery (Geri Kazanım) Kaynaklı Belirsizlik
- Tekrarlanabilirlikten Kaynaklı Belirsizlik
- Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik
- Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik

### **3.6.1. İç Kalite Kontrollerinden Kaynaklı Belirsizlik**

İç Kalite Kontrol üretici firma tarafından sağlanan ve konsantrasyonları bilinen kontrol serumları kullanılarak, ölçüm sonucunun güvenilirliğini kontrol

etmek aynı zamanda da Laboratuvarın performansını belirlemek için yapılan günlük değerlendirme çalışmalarıdır (46).

İç Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik günler arası tekrarlanabilirlikten kaynaklı ölçüm belirsizliğini göstergesidir (47).

### 3.6.2. Dış Kalite Kontrollerinden Gelen Belirsizlik

Dış Kalite Kontrol çalışmasında bir yıl içinde belirli aralıklarla programa katılan Laboratuvarlara gönderilen ortak örnekler, Laboratuvarlarca rutin hasta örnekleri gibi çalışılarak elde edilen sonuçlar Dış Kalite Kontrol programına girilir. Programa katılan Laboratuvarların sonuçlarının ortalaması gerçek değer olarak kabul edilir. Her bir Laboratuvarın performansı kapsamlı veri analizleri, istatistik özetleri ve grafikleri içeren raporlarla değerlendirilerek katılımcı Laboratuvarlara bildirilmektedir (48).

Laboratuvara gönderilen Dış Kalite Kontrol Sonuçlarında Katılan Laboratuvarların sayısı (n), ortalaması (mean), Coefficient of Variation (%CV), Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği ( $U_m$ ), Standard Deviation for Performance Assessment (SDPA) ve Standard Deviation Index (SDI) kullanılarak değerlendirme yapılmaktadır (48).

$$U_m = 1,25 \times SD / \sqrt{n} ,$$

SDPA=  $TDP \times \text{Mean} / t \times 100$  (TDP=Target Deviation for Performance Assessment) formülü ile hesaplanmaktadır.

Dış kalitede hesaplanan Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği ( $U_m$ ) SDPA raporlanmasında kullanılmaktadır (48).

$$\text{Eğer } U_m > (0,3 \times \text{SDPA}) \text{ ise } \text{SDPA}_{\text{adjusted}} = \sqrt{(U_m^2 + \text{SDPA}^2)}$$

Eğer  $U_m < (0,3 \times \text{SDPA})$  ise  $\text{SDPA}_{\text{adjusted}} = \text{SDPA}$  şeklinde raporlanmaktadır (48).

Dış kalite kontrol kaynaklı ölçüm belirsizliğini hesaplamak için 2015 yılına ait bir yıllık dış kalite kontrol verilerinden Rölatif Standart Belirsizliği (RSB) hesaplandı. Hesaplanan RSB'lerin ortalaması alındı ve dış kalite kontrol verilerinin belirsizliği olarak gösterildi.

$$\text{RSB}_{\text{dkk}} = (s_{\text{lab}} / \sqrt{n}) / x_{\text{ortalama}}$$

$$\text{RSB}_{\text{dkk}} = \text{Dış Kalite Kontrol Rölatif Standart Belirsizliği}$$

$s_{\text{lab}}$ : Laboratuvara ait standart sapma

n: Katılımcı Laboratuvar sayısı

$x_{\text{ortalama}}$ : Aynı yöntemi kullanan katılımcıların ortalaması

### 3.6.3. Recovery (Geri Kazanım) Kaynaklı Belirsizlik

Geri kazanım kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini belirlemek için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$u(R_m) = R_m \sqrt{\left[ \frac{u(C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}})}{C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}} \right]^2 + \left[ \frac{u(C_{\text{eklenen}})}{C_{\text{eklenen}}} \right]^2}$$

$$R_m = (C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}) / C_{\text{eklenen}}$$

$C_{\text{örnek}}$ : Üzerine ekleme yapılan örneğin konsantrasyonudur.

$C_{\text{eklenen}}$ : Eklenen örneğin konsantrasyonudur.

$C_{\text{gözlenen}}$ : Eklemeden sonra 10 defa arka arkaya yapılan ölçümün ortalama konsantrasyonudur.

Geri Kazanım Simgesi:  $R_m$  (Method Recovery)

#### 3.6.3.1. Troponin-I Geri Kazanım Çalışması

1,3333 ng/mL Troponin-I içeren numuneden 0,9 ml (1,2 ng/mL) alındı. Üzerine 25 ng/mL Tn-I içeren numuneden 0,1 ml (2,5 ng/mL) ilave edildi. 3,7 ng/mL Troponin-I içeren yeni numune ardışık olarak 10 kere çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan Troponin-I için Geri Kazanımdan gelen Ölçüm Belirsizliği olarak hesaplandı.

#### 3.6.3.2. Prostat Spesifik Antijen Geri Kazanım Çalışması

2,07 ng/mL PSA içeren numuneden 0,9 ml (1,863 ng/mL) alındı. Üzerine 75,33 ng/mL PSA içeren numuneden 0,1 ml (7,533 ng/mL) ilave edildi. 9,4 ng/mL PSA içeren yeni numune ardışık olarak 10 kere çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan PSA için Geri Kazanımdan gelen Ölçüm Belirsizliği olarak hesaplandı.

#### 3.6.3.3. Tiroid Stimülan Hormon Geri Kazanım Çalışması

0,444  $\mu$ IU/mL TSH içeren numuneden 0,9 ml (0,4  $\mu$ IU/mL) alındı. Üzerine 9  $\mu$ IU/mL TSH içeren numuneden 0,1 ml (0,9  $\mu$ IU/mL) ilave edildi. 1,30  $\mu$ IU/mL TSH içeren yeni numune ardışık olarak 10 kere çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan TSH için Geri Kazanımdan gelen Ölçüm Belirsizliği olarak hesaplandı.

#### **3.6.4. Tekrarlanabilirlikten Kaynaklı Belirsizlik**

Aynı örnekten arka arkaya yapılan 10 ölçüm sonucunun ortalaması, standart sapması ve Rölatif Standart Deviasyonu (RSD) hesaplandı.

Rölatif Standart Deviasyon (RSD),  $\sqrt{n}$ ' e bölünerek Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Rölatif Standart Belirsizlikler (RSB) hesaplandı.

$$RSD = s/X_{ort}$$

$$RSB = RSD/\sqrt{n}$$

#### **3.6.5. Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik**

Kalibratör kaynaklı belirsizliği hesaplamak için kalibratör on defa arka arkaya çalışıldı. Sonuçların ortalaması, standart sapması ve RSD' si hesaplandı.

RSD'nin  $\sqrt{n}$ 'e bölünmesiyle Kalibratörden gelen Rölatif Standart Belirsizlikler hesaplandı.

$$RSD = s/X_{ort}$$

$$RSB = RSD/\sqrt{n} \text{ (n=çalışma tekrarı)}$$

#### **3.6.6. Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik**

Kalibrasyon eğrisindeki kayma belirli değeri aştığında yeniden kalibrasyon yapmak gerekir. Kalibrasyon eğrisinin kaymasından gelen belirsizlik maksimum kayma değerinin  $\sqrt{3}$ 'e bölünmesiyle (dikdörtgen dağılım) bulunur.

Kalibrasyon kaynaklı belirsizliği hesaplamak için altı aylık Kalibrasyon verileri kullanıldı. Kalibrasyon verilerindeki RLU' ların (Relative Light Unit) Standart Sapması ve RSD' si hesaplandı. RSD yardımıyla Rölatif Standart Belirsizliği (RSB) hesaplandı. Hesaplanan RSB Belirsizliğin bir bileşeni olarak Birleşik Standart Belirsizliğe ilave edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Troponin-I Testine Ait Bulgular

#### 4.1.1. Troponin-I İç Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik

Troponin-I testinin İç Kalite Kontrol sonuçları 01.10.2015 ile 01.04.2016 tarihleri arasındaki 6 aylık BIO-RAD Liquichek Cardiac Markers Plus Control LT (2 düzey) İç Kalite Kontrol sonuçlarından alındı.

Troponin-I İç Kalite Kontrol verileri Ek-1'de verilmiştir.

Tablo 3. Troponin-I Testinin Kontrol 1. ve 2. Seviye 6 Aylık İç Kalite Kontrol Sonuçları(ng/mL)

1. Düzey	2.Düzey
Ölçüm sayısı (n): 246	222
Ortalaması: 0.045	0.666
SD: 0.003	0.039
%CV: 6.43	5.82

1.Seviye İç Kalite Kontrol  $RSD_1 = sd/X_{ort} = 0,003 / 0,045 = 0,066$   $n_1 = 246$

2.Seviye İç Kalite Kontrol  $RSD_2 = sd/X_{ort} = 0,039 / 0,666 = 0,058$   $n_2 = 222$

$$RSD_{havuz} = \sqrt{\frac{RSD^2 * (n-1) + RSD^2 * (m-1)}{(n-1) + (m-1)}}$$

$$RSD_{Havuz} = 0,0623$$

$$RSB = RSD_{Havuz} / \sqrt{n} = 0,0623 / \sqrt{468} = \mathbf{0,0028}$$

#### 4.1.2. Troponin-I Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik

6 farklı konsantrasyondan yapılan Tn-I kalibrasyonu için her bir konsantrasyonun RLU'larının (Relative Light Unit) RSD'leri hesaplandı. RSD'ler kullanılarak Kalibrasyon Kaynaklı Standart Belirsizlik (RSB) hesaplandı.

Tablo 4. Troponin-I Testinin 6 Aylık Kalibrasyon Sonuçları

	Troponin-I (RLU-Relative Light Unit)					
	1. düzey	2. düzey	3. düzey	4. düzey	5. düzey	6. düzey
1.kalibrasyon	11169	84695	324337	1362100	6026270	19315500
2.kalibrasyon	11471	79366	284798	1247430	5482910	17275400
3.kalibrasyon	10952	78663	284723	1251950	5628110	16700700
4.kalibrasyon	10438	78016	319970	1376980	5490640	16474600
5.kalibrasyon	11169	79273	286924	1254810	5655490	16508100
6.kalibrasyon	11360	78255	289627	1238840	5506250	17221400
7.kalibrasyon	11124	83343	298288	1296790	5673530	16755700
8.kalibrasyon	11500	83680	318233	1369910	6334910	18446300
9.kalibrasyon	10039	86808	321719	1395920	6159260	18282100
10.kalibrasyon	11100	86334	315888	1354260	6293760	18708100
11.kalibrasyon	11130	80221	297092	1257210	5695170	17174500
12.kalibrasyon	11528	81850	302881	1266960	6121070	18760200
<b>Ortalama:</b>	<b>11081,67</b>	<b>81708,75</b>	<b>303706</b>	<b>1306092</b>	<b>5838947</b>	<b>17635216</b>
<b>SD:</b>	<b>441,20</b>	<b>3181,80</b>	<b>15508</b>	<b>60131</b>	<b>324041</b>	<b>1004245</b>
<b>% CV:</b>	<b>3,98</b>	<b>3,89</b>	<b>5,1</b>	<b>4,6</b>	<b>5,55</b>	<b>5,69</b>
<b>RSD:</b>	<b>0,0398</b>	<b>0,0389</b>	<b>0,051</b>	<b>0,046</b>	<b>0,0555</b>	<b>0,0569</b>

$$RSD_{\text{havuz}} = \sqrt{\frac{RSD^2 * (n-1) + RSD^2 * (m-1)}{(n-1) + (m-1)}}$$

$$RSD_{\text{Havuz}} = 0,0485$$

$$RSB = RSD_{\text{Havuz}} / \sqrt{n} = 0,0485 / \sqrt{72} = \mathbf{0,0057} \text{ (n=72 ölçüm sayısı)}$$

#### 4.1.3. Troponin-I Tekrarlanabilirlikten Kaynaklı Belirsizlik

Troponin-I gün içi Tekrarlanabilirlikten kaynaklı Ölçüm Belirsizliğinin hesaplanması için aynı numune ardışık olarak 10 kez çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan Tekrarlanabilirliğin Ölçüm Belirsizliği hesaplandı.

Tablo 5. Troponin-I Testinin Tekrarlanabilirlik Çalışmasının Sonuçları

	<b>Tn-I Tekrarlanabilirlik</b>
1. Ölçüm	0,70 ng/mL
2. Ölçüm	0,65 ng/mL
3. Ölçüm	0,69 ng/mL
4. Ölçüm	0,69 ng/mL
5. Ölçüm	0,70 ng/mL
6. Ölçüm	0,71 ng/mL
7. Ölçüm	0,66 ng/mL
8. Ölçüm	0,72 ng/mL
9. Ölçüm	0,65 ng/mL
10. Ölçüm	0,72 ng/mL
	<b>Ortalama: 0,689</b>
	<b>SD:0,0268</b>
	<b>RSD: 0,0388</b>

Ölçümlerin Ortalaması= 0,689

Ölçümlerin SD = 0,0268

Ölçümlerin RSD=0,0388

Ölçümlerin RSB= RSD/  $\sqrt{n}$ =0,0388 /  $\sqrt{10}$ = **0,012**

#### 4.1.4. Troponin-I Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik

Kalibratörün tekrarlanabilirliği için Tn-I'nın 3. düzey kalibratörü (5 ng/mL) ardışık olarak 10 defa çalışıldı. Elde edilen sonuçların RSD'lerinden kalibratör kaynaklı ölçüm belirsizlikleri hesaplandı.

Tablo 6. Troponin-I Testinin Kalibratör Tekrarlanabilirlik Sonuçları

	<b>Tn-I Cal Tekrarlanabilirlik (5,0 ng/ml)</b>
1. Ölçüm	5,04 ng/mL
2. Ölçüm	4,98 ng/mL
3. Ölçüm	5,30 ng/mL
4. Ölçüm	5,30 ng/mL
5. Ölçüm	4,93 ng/mL
6. Ölçüm	5,27 ng/mL
7. Ölçüm	5,24 ng/mL
8. Ölçüm	5,03 ng/mL
9. Ölçüm	5,14 ng/mL
10. Ölçüm	4,93 ng/mL
	<b>Ortalama: 5,116</b>
	<b>SD:0,152</b>
	<b>RSD: 0,029</b>

Ölçümün ortalaması=5,116

Ölçümün SD=0,152

$RSD_{Tn-I Kal} = SD/X_{ort} = 0,152 / 5,116=0,029$

$RSB_{Tn-I Kal} = RSD_{Tn-I Kal}/\sqrt{n}=0,029/\sqrt{10}= \mathbf{0,009}$

#### 4.1.5. Troponin-I Testinin Geri Kazanım Kaynaklı Belirsizliği

1,3333 ng/mL Tn-I içiren numuneden 0,9 ml (1,2 ng/mL) alındı. Üzerine 25 ng/mL Tn-I içeren numuneden 0,1 ml (2,5 ng/mL) ilave edildi. 3,7 ng/mL Tn-I içeren yeni numune ardışık olarak 10 kere çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan Tn-I için Geri Kazanımdan gelen Ölçüm Belirsizliği olarak hesaplandı.

Tablo 7. Troponin-I Testinin Recovery Çalışma Sonuçları

	<b>Tn-I Gözlenen</b>	<b>Eklenen (2,5ng/ml)</b>
1. Ölçüm	3,68 ng/mL	2,58 ng/mL
2. Ölçüm	3,80 ng/mL	2,55 ng/mL
3. Ölçüm	3,89 ng/mL	2,60 ng/mL
4. Ölçüm	3,90 ng/mL	2,45 ng/mL
5. Ölçüm	3,83 ng/mL	2,47 ng/mL
6. Ölçüm	3,89 ng/mL	2,41 ng/mL
7. Ölçüm	3,79 ng/mL	2,42 ng/mL
8. Ölçüm	3,88 ng/mL	2,44 ng/mL
9. Ölçüm	3,67 ng/mL	2,45 ng/mL
10. Ölçüm	3,77 ng/mL	2,55 ng/mL
	<b>Ortalama: 3,81</b>	<b>Ortalama: 2,492</b>
	<b>SD:0,084</b>	<b>SD:0,070</b>
	<b>RSD:0,022</b>	<b>RSD:0,028</b>
	<b>RSB:0,007</b>	<b>RSB:0,0088</b>

$$u(R_m) = R_m \sqrt{\left[ \frac{u(C_{gözlenen} - C_{örnek})}{C_{gözlenen} - C_{örnek}} \right]^2 + \left[ \frac{u(C_{eklenen})}{C_{eklenen}} \right]^2}$$

$$R_m = (C_{gözlenen} - C_{örnek}) / C_{eklenen}$$

$u(C_{eklenen})$  hesaplamak için kullanılan pipetten gelen ölçüm belirsizliği hesaplandı.

Tablo 8. Kullanılan Pipetlerin (100 ve 1000mL) Ölçüm Sapmalarından Kaynaklı Belirsizlik

	1000ml Pipet	100ml Pipet
1. Ölçüm	1005	99,9
2. Ölçüm	1006	98,5
3. Ölçüm	995	99,5
4. Ölçüm	1004	101
5. Ölçüm	1006	101,5
6. Ölçüm	998	99,8
7. Ölçüm	1000	100,6
8. Ölçüm	998	101
9. Ölçüm	1004	99,8
10. Ölçüm	1005	99,7
	Ortalama: 1002,1	Ortalama: 100,13
	SD:3,984	SD:0,8895
	RSD:0,0039	RSD:0,0088
	Upipet1: 0,0012	Upipet2: 0,0027

$$u(C_{\text{eklenen}}) = \sqrt{(U_{\text{pipet1}})^2 + (U_{\text{pipet2}})^2 + (U_{C_{\text{eklenen}} \text{ tekrar}})^2}$$

$$u(C_{\text{eklenen}}) = \sqrt{(0,0012)^2 + (0,0027)^2 + (0,0088)^2}$$

$$u(C_{\text{eklenen}}) = \mathbf{0,0092}$$

$$(C_{\text{gözlener}} - C_{\text{örnek}}) = 3,81 - 1,2 = \mathbf{2,61}$$

Tablo 9. Troponin-I Testinin Recovery (R<sub>m</sub>) Hesaplaması

Ölçüm Sayısı	Örnek Konsantrasyonu	Eklener Konsantrasyonu	Gözlener Konsantrasyonu	Geri Elde (C <sub>göz-</sub> C <sub>örn</sub> )	R <sub>m</sub>
1	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,68 ng/mL	2,48 ng/mL	0,992
2	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,80 ng/mL	2,60 ng/mL	1,04
3	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,89 ng/mL	2,69 ng/mL	1,076
4	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,90 ng/mL	2,70 ng/mL	1,08
5	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,83 ng/mL	2,63 ng/mL	1,052
6	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,89 ng/mL	2,69 ng/mL	1,076
7	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,79 ng/mL	2,59 ng/mL	1,036
8	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,88 ng/mL	2,68 ng/mL	1,072
9	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,67 ng/mL	2,47 ng/mL	0,988
10	1,2 ng/mL	2,5 ng/mL	3,77 ng/mL	2,57 ng/mL	1,028
Ortalama				2,61	1,044
SD				0,084	

$$R_{m \text{ ort}} = 1,044$$

$$u(C_{\text{gözlener}} - C_{\text{örnek}}) = SD/\sqrt{n} = 0,084/\sqrt{10} = \mathbf{0,0265}$$

$$u(R_m) = 1,044 \sqrt{\left[\frac{0,0265}{2,61}\right]^2 + \left[\frac{(0,0092 \times 2,5)}{2,5}\right]^2}$$

$$u(R_m) = \mathbf{0,0143}$$

#### 4.1.6. Troponin-I Dış Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik

Laboratuvarımızın dâhil olduğu RANDOX-RIQAS Cardiac Programme Dış Kalite Kontrol Programının Cycle 29 ve 28' e ait son bir yıllık verileri ile Dış Kalite Kontrol kaynaklı Ölçüm Belirsizliği hesaplandı.

Tablo 10. Troponin-I Testinin Dış Kalite Kontrol Verileri ile Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması

	Sonuç	SD	n	Xortalama	RSB
1	2,24	0,19	11	1,842	0,031
2	0,13	0,01	9	0,118	0,028
3	1,18	0,12	10	1,12	0,033
4	0,30	0,03	12	0,271	0,031
5	1,00	0,10	14	0,913	0,029
6	0,13	0,01	13	0,113	0,024
7	0,48	0,05	12	0,441	0,035
8	1,20	0,12	11	1,114	0,032
9	1,990	0,20	13	1,874	0,029
10	0,750	0,08	11	0,736	0,032
11	9,88	1,01	12	9,519	0,030
12	2,15	0,22	15	2,108	0,026
RSB <sub>odkk</sub>					<b>0,032</b>

$$RSB_{odkk} = \sqrt{\frac{[(RSB_1)^2 \times (n_1 - 1)] + [(RSB_2)^2 \times (n_2 - 1)] + \dots}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1) + \dots}}$$

$$RSB_{odkk} = \sqrt{\frac{[(0,031)^2 \times (10)] + [(0,028)^2 \times (8)] + [(0,033)^2 \times (9)] + [(0,031)^2 \times (11)] + \dots}{109}}$$

$$RSB_{odkk} = \sqrt{0,11751 / 109} = \mathbf{0,032}$$

#### 4.1.7. Troponin-I Testinin Birleşik ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması

Birleşik belirsizliği hesaplamak için tüm Standart Belirsizlik Bileşenlerinin kareleri alınarak toplandı ve karekök dışarısına alınıp Birleşik Standart Belirsizlik hesaplandı.

Tablo11. Troponin-I Testinin Standart Belirsizlikleri, Birleşik Standart Belirsizliği ve Genişletilmiş Belirsizliği

Ölçüm Belirsizliği Kaynakları	
İç Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik (Günler arası tekrarlanabilirlik)	0,0028
Dış Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik (Doğruluk-Accuraccy)	0,0320
Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizlik (Gün içi ardışık çalışma)	0,0120
Recovery Kaynaklı Belirsizlik (Geri Kazanım)	0,0143
Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik	0,0090
Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik	0,0057
Birleşik Standart Belirsizlik	%3,86
Genişletilmiş Belirsizlik	%7,73

$$uc_{(Troponin-I)} = \sqrt{(RSB_{ikk})^2 + (RSB_{dkk})^2 + (RSB_{tekrar})^2 + u(R_m)^2 + (RSB_{kal.kons})^2 + (RSB_{kal.abs})^2}$$

$$uc_{(Troponin-I)} = \sqrt{(0,0028)^2 + (0,032)^2 + (0,012)^2 + (0,0143)^2 + (0,009)^2 + (0,0057)^2}$$

$$uc_{(Troponin-I)} = 0,0386 \times 100 = \%3,86$$

Genişletilmiş ölçüm belirsizliğini hesaplamak için Birleşik Belirsizlik Genişletme Faktörü olan k ile çarpıldı. (%95 güven aralığında k=2)

$$U_{Tn-I} = k \times Uc = \%3,86 \times 2 = \%7,73$$

## 4.2. Prostat Spesifik Antijen Testine Ait Bulgular

### 4.2.1. Prostat Spesifik Antijen İç Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik

Prostat Spesifik Antijen testinin İç Kalite Kontrol sonuçları 01.10.2015 ile 01.04.2016 tarihleri arasındaki 6 aylık BIO-RAD Lyphocek İmmunoassay Plus Control (2 düzey) İç Kalite Kontrol sonuçlarından alındı.

Prostat Spesifik Antijen İç Kalite Kontrol verileri Ek-1'de verilmiştir.

Tablo 12. Prostat Spesifik Antijen Testinin Kontrol 1. ve 2. Seviye 6 Aylık İç Kalite Kontrol Sonuçları (ng/mL)

1. Düzey	2. Düzey
Ölçüm sayısı (n): 133	133
Ortalaması: 0.829	3.575
SD: 0.043	0.180
%CV: 5,186	5.034

1. Seviye İç Kalite Kontrol  $RSD_1 = sd/X_{ort} = 0,043 / 0,829 = 0,0518$   $n_1 = 133$

2. Seviye İç Kalite Kontrol  $RSD_2 = sd/X_{ort} = 0,18 / 3,575 = 0,0503$   $n_2 = 133$

$$RSD_{havuz} = \sqrt{\frac{RSD^2 * (n-1) + RSD^2 * (m-1)}{(n-1) + (m-1)}}$$

$$RSD_{havuz} = 0,0026$$

$$RSB = RSD_{havuz} / \sqrt{n} = 0,0026 / \sqrt{264} = \mathbf{0,00016}$$

#### 4.2.2. Prostat Spesifik Antijen Kalibrasyon Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik

6 farklı konsantrasyondan yapılan PSA kalibrasyonu için her bir konsantrasyonun RLU'larının (Relative Light Unit) RSD'leri hesaplandı. RSD'ler kullanılarak Kalibrasyon Kaynaklı Standart Belirsizlik (RSB) hesaplandı.

Tablo 13. Prostat Spesifik Antijen Testinin 6 Aylık Kalibrasyon Sonuçları

	PSA (RLU-Relative Light Unit)					
	1. düzey	2. düzey	3. düzey	4. düzey	5. düzey	6. düzey
1.kalibrasyon	9077	83714	294462	1349999	8052106	13983998
2.kalibrasyon	9504	80826	328889	1404054	9206602	15224537
3.kalibrasyon	9275	88062	314171	1353640	8572625	14975109
4.kalibrasyon	9028	80676	322479	1331743	8708149	15283991
5.kalibrasyon	9320	86152	311686	1417512	8915409	15309774
6.kalibrasyon	9183	86148	326452	1325016	8927759	14861886
7.kalibrasyon	9273	78725	283032	1251637	8628972	14149405
8.kalibrasyon	9038	81597	275790	1329963	7638540	13856355
9.kalibrasyon	8908	83587	289206	1288779	7787029	13867163
10.kalibrasyon	8902	75041	291845	1272866	7821327	13775593
11.kalibrasyon	9110	80830	283166	1326429	7737542	13693969
12.kalibrasyon	8706	78903	289028	1327077	8072396	13340417
13.kalibrasyon	9351	82579	287339	1358597	8588242	14313971
14.kalibrasyon	8968	76419	282526	1321751	7912622	13476312
15.kalibrasyon	9548	77055	275222	1293255	7862184	13341573
16.kalibrasyon	8661	77462	277725	1259221	7879806	13558176
17.kalibrasyon	8275	76291	295350	1384231	8020457	13355156
18.kalibrasyon	8518	78423	290772	1365016	8510225	14201379
<b>Ortalama</b>	<b>9035,8</b>	<b>81693,9</b>	<b>295507</b>	<b>1331155</b>	<b>8269000</b>	<b>14142709</b>
<b>SD</b>	<b>337,74</b>	<b>3767,2</b>	<b>17468,9</b>	<b>46427,3</b>	<b>485660</b>	<b>698258</b>
<b>% CV</b>	<b>3,73</b>	<b>4,66</b>	<b>5,911</b>	<b>3,49</b>	<b>5,87</b>	<b>4,93</b>
<b>RSD</b>	<b>0,0373</b>	<b>0,0466</b>	<b>0,0591</b>	<b>0,0349</b>	<b>0,0587</b>	<b>0,0493</b>

$$RSD_{\text{havuz}} = \sqrt{\frac{RSD^2 * (n-1) + RSD^2 * (m-1)}{(n-1) + (m-1)}}$$

$$RSD_{\text{Havuz}} = 0,0486$$

$$RSB = RSD_{\text{Havuz}} / \sqrt{n} = 0,486 / \sqrt{108} = \mathbf{0,0046} \quad (n=108 \text{ ölçüm sayısı})$$

#### 4.2.3. Prostat Spesifik Antijen Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizlik

PSA gün içi Tekrarlanabilirlikten kaynaklı Ölçüm Belirsizliğinin hesaplanması için aynı numune ardışık olarak 10 kez çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan Tekrarlanabilirliğin Ölçüm Belirsizliği hesaplandı.

Tablo 14. Prostat Spesifik Antijen Testinin Tekrarlanabilirlik Çalışmasının Sonuçları

	PSA Tekrarlanabilirlik
1. Ölçüm	0,81 ng/mL
2. Ölçüm	0,81 ng/mL
3. Ölçüm	0,84 ng/mL
4. Ölçüm	0,80 ng/mL
5. Ölçüm	0,84 ng/mL
6. Ölçüm	0,87 ng/mL
7. Ölçüm	0,77 ng/mL
8. Ölçüm	0,86 ng/mL
9. Ölçüm	0,83 ng/mL
10. Ölçüm	0,83 ng/mL
	<b>Ortalama: 0,826</b>
	<b>SD: 0,029515</b>
	<b>RSD: 0,0357</b>

$$\text{Ölçümlerin Ortalaması} = 0,826$$

$$\text{Ölçümlerin SD} = 0,029515$$

$$\text{Ölçümlerin RSD} = 0,0357$$

$$\text{Ölçümlerin RSB} = RSD / \sqrt{n} = 0,357 / \sqrt{10} = \mathbf{0,011}$$

#### 4.2.4. Prostat Spesifik Antijen Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik

Kalibratörün tekrarlanabilirliği için PSA'nın 3. düzey kalibratörü (10 ng/mL) ardışık olarak 10 defa çalışıldı. Elde edilen sonuçların RSD'lerinden kalibratör kaynaklı ölçüm belirsizlikleri hesaplandı.

Tablo 15. Prostat Spesifik Antijen Testinin Kalibratör Tekrarlanabilirlik Sonuçları

	<b>PSA Cal Tekrarlanabilirlik (10ng/ml)</b>
1. Ölçüm	10,29 ng/mL
2. Ölçüm	10,80 ng/mL
3. Ölçüm	10,27 ng/mL
4. Ölçüm	10,43 ng/mL
5. Ölçüm	9,80 ng/mL
6. Ölçüm	10,82 ng/mL
7. Ölçüm	9,94 ng/mL
8. Ölçüm	9,99 ng/mL
9. Ölçüm	10,20 ng/mL
10. Ölçüm	10,36 ng/mL
	<b>Ortalama: 10,29 ng/mL</b>
	<b>SD: 0,3377</b>
	<b>RSD: 0,032</b>

Ölçümün ortalaması=10,29

Ölçümün SD=0,3377

$RSD_{PSA\ Kal} = SD/X_{ort} = 0,3377 / 10,29 = 0,032$

$RSB_{PSA\ Kal} = RSD_{PSA\ Kal}/\sqrt{n} = 0,032/\sqrt{10} = \mathbf{0,01}$

#### 4.2.5. Prostat Spesifik Antijen Testinin Geri Kazanım Kaynaklı Belirsizliği

2,07 ng/mL PSA içeren numuneden 0,9 ml (1,863 ng/mL) alındı. Üzerine 75,33 ng/mL PSA içeren numuneden 0,1 ml (7,533 ng/mL) ilave edildi. 9,4 ng/mL PSA içeren yeni numune ardışık olarak 10 kere çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan PSA için Geri Kazanımdan gelen Ölçüm Belirsizliği olarak hesaplandı.

Tablo 16. Prostat Spesifik Antijen Testinin Recovery Çalışma Sonuçları

	PSA Gözlenen	Eklenen (75,33ng/ml)
1. Ölçüm	9,37 ng/mL	75,35 ng/mL
2. Ölçüm	9,58 ng/mL	74,85 ng/mL
3. Ölçüm	10,24 ng/mL	75,65 ng/mL
4. Ölçüm	10,14 ng/mL	74,62 ng/mL
5. Ölçüm	10,17 ng/mL	74,72 ng/mL
6. Ölçüm	9,34 ng/mL	74,22 ng/mL
7. Ölçüm	9,47 ng/mL	75,42 ng/mL
8. Ölçüm	9,53 ng/mL	75,38 ng/mL
9. Ölçüm	9,78 ng/mL	75,54 ng/mL
10. Ölçüm	9,94 ng/mL	75,06 ng/mL
	<b>Ortalama: 9,756</b>	<b>Ortalama: 75,081</b>
	<b>SD: 0,345</b>	<b>SD: 0,465</b>
	<b>RSD: 0,0353</b>	<b>RSD: 0,006</b>
	<b>RSB: 0,0111</b>	<b>RSB: 0,0018</b>

$$u(R_m) = R_m \sqrt{\left[ \frac{u(C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}})}{C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}} \right]^2 + \left[ \frac{u(C_{\text{eklenen}})}{C_{\text{eklenen}}} \right]^2}$$

$$R_m = (C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}) / C_{\text{eklenen}}$$

$$u(C_{\text{eklenen}}) = \sqrt{(U_{\text{pipet1}})^2 + (U_{\text{pipet2}})^2 + (U_{C_{\text{eklenen}} \text{ tekrar}})^2}$$

$$u(C_{\text{eklenen}}) = \sqrt{(0,0012)^2 + (0,0027)^2 + (0,0018)^2}$$

$$u(C_{\text{eklenen}}) = \mathbf{0,0034}$$

$$(C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}) = 9,756 - 1,86 = \mathbf{7,896}$$

Tablo 17. Prostat Spesifik Antijen Testinin Recovery (R<sub>m</sub>) Hesaplaması

Ölçüm Sayısı	Örnek Konsantrasyonu	Eklene Konsantrasyonu	Gözlenen Konsantrasyonu	Geri Elde (C <sub>göz-</sub> C <sub>örn</sub> )	R <sub>m</sub>
1	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	9,37 ng/mL	7,51 ng/mL	0,996
2	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	9,58 ng/mL	7,72 ng/mL	1,024
3	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	10,24 ng/mL	8,38 ng/mL	1,110
4	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	10,14 ng/mL	8,28 ng/mL	1,099
5	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	10,17 ng/mL	8,21 ng/mL	1,089
6	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	9,34 ng/mL	7,48 ng/mL	0,992
7	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	9,47 ng/mL	7,61 ng/mL	1,010
8	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	9,53 ng/mL	7,67 ng/mL	1,018
9	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	9,78 ng/mL	7,92 ng/mL	1,051
10	1,86 ng/mL	7,533 ng/mL	9,94 ng/mL	8,08 ng/mL	1,073
Ortalama				7,88	1,046
SD				0,333	

$$R_{m \text{ ort}} = 1,046$$

$$u(C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}) = SD / \sqrt{n} = 0,333 / \sqrt{10} = \mathbf{0,105}$$

$$u(R_m) = 1,046 \sqrt{\left[\frac{0,105}{7,88}\right]^2 + \left[\frac{(0,0034 \times 7,533)}{7,533}\right]^2}$$

$$u(R_m) = \mathbf{0,0144}$$

#### 4.2.6. Prostat Spesifik Antijen Dış Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik

Laboratuvarımızın dâhil olduğu RANDOX-RIQAS Monthly Immunoassay Programme Dış Kalite Kontrol Programının Cycle 13-12' e ait son bir yıllık verileri ile Dış Kalite Kontrol kaynaklı Ölçüm Belirsizliği hesaplandı.

Tablo 18. Prostat Spesifik Antijen Testinin Dış Kalite Kontrol Verileri ile Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması

	Sonuç	SD	n	Xortalama	RSB
1	26,65	1,92	71	24,05	0,001
2	12,46	0,99	85	12,40	0,009
3	1,74	0,14	88	1,70	0,009
4	14,47	1,48	99	18,53	0,008
5	13,31	1,02	109	12,805	0,007
6	7,37	0,57	95	7,111	0,008
7	30,48	2,19	97	29,301	0,007
8	14,33	1,06	108	14,13	0,007
9	1,70	0,13	104	1,763	0,007
10	16,09	1,16	110	15,52	0,007
11	8,21	0,59	111	7,918	0,007
12	21,42	1,58	114	21,190	0,007
RSB <sub>odkk</sub>					<b>0,0046</b>

$$RSB_{odkk} = \sqrt{\frac{[(RSB_1)^2 \times (n_1 - 1)] + [(RSB_2)^2 \times (n_2 - 1)] + \dots}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1) + \dots}}$$

$$RSB_{odkk} = \sqrt{\frac{[(0,001)^2 \times (70)] + [(0,009)^2 \times (84)] + [(0,009)^2 \times (87)] + [(0,008)^2 \times (98)] + \dots}{1181}}$$

$$RSB_{odkk} = \sqrt{0,025485 / 1181} = \mathbf{0,0046}$$

#### 4.2.7. Prostat Spesifik Antijen Testinin Birleşik ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması

Birleşik belirsizliği hesaplamak için tüm Standart Belirsizlik Bileşenlerinin kareleri alınarak toplandı ve karekök dışarısına alınıp Birleşik Belirsizlik hesaplandı.

Tablo 19. Prostat Spesifik Antijen Testinin Standart Belirsizlikleri, Birleşik Standart Belirsizliği ve Genişletilmiş Belirsizliği

Ölçüm Belirsizliği Kaynakları	
İç Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik (Günler arası tekrarlanabilirlik)	0,00016
Dış Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik (Doğruluk-Accuracy)	0,0046
Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizlik (Gün içi ardışık çalışma)	0,011
Recovery Kaynaklı Belirsizlik (Geri Kazanım)	0,0144
Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik	0,01
Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik	0,0046
Birleşik Standart Belirsizlik	%2,17
Genişletilmiş Belirsizlik	%4,34

$$uc_{(PSA)} = \sqrt{(RSB_{ikk})^2 + (RSB_{dkk})^2 + (RSB_{tekrar})^2 + u(R_m)^2 + (RSB_{kal.kons})^2 + (RSB_{kal.abs})^2}$$

$$uc_{(PSA)} = \sqrt{(0,00016)^2 + (0,0046)^2 + (0,011)^2 + (0,0144)^2 + (0,01)^2 + (0,0046)^2}$$

$$uc_{(PSA)} = 0,0217 \times 100 = \%2,17$$

Genişletilmiş ölçüm belirsizliğini hesaplamak için Birleşik Belirsizlik Genişletme Faktörü olan k ile çarpıldı. (%95 güven aralığında k=2)

$$U_{PSA} = k \times U_c = \%2,17 \times 2 = \%4,34$$

### 4.3. Tiroid Stimülan Hormon Testine Ait Bulgular

#### 4.3.1. Tiroid Stimülan Hormon İç Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik

Tiroid Stümilan Hormon testinin İç Kalite Kontrol sonuçları 01.10.2015 ile 01.04.2016 tarihleri arasındaki 6 aylık BIO-RAD Lyphocek İmmunoassay Plus Control (2 düzey) İç Kalite Kontrol sonuçlarından alındı.

Tiroid Stümilan Hormon İç Kalite Kontrol verileri Ek-1'de verilmiştir.

Tablo 20. Tiroid Stümilan Hormon Testinin Kontrol 1. ve 2. Seviye 6 Aylık İç Kalite Kontrol Sonuçları (µIU/mL)

1. Düzey	2. Düzey
Ölçüm Sayısı (n): 123	123
Ortalaması: 0,376	4.490
SD: 0,0244	0.285
%CV: 6.489	6.347

1. Seviye İç Kalite Kontrol  $RSD_1 = sd/X_{ort} = 0,0244 / 0,376 = 0,0648$   $n_1 = 123$

2. Seviye İç Kalite Kontrol  $RSD_2 = sd/X_{ort} = 0,285 / 4,490 = 0,0634$   $n_2 = 123$

$$RSD_{havuz} = \sqrt{\frac{RSD^2 * (n-1) + RSD^2 * (m-1)}{(n-1) + (m-1)}}$$

$$RSD_{Havuz} = 0,0641$$

$$RSB = RSD_{Havuz} / \sqrt{n} = 0,0641 / \sqrt{246} = \mathbf{0,004}$$

### 4.3.2. Tiroid Stimulan Hormon Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik

6 farklı konsantrasyondan yapılan TSH kalibrasyonu için her bir konsantrasyonun RLU'larının (Relative Light Unit) RSD'leri hesaplandı. RSD'ler kullanılarak Kalibrasyon Kaynaklı Standart Belirsizlik (RSB) hesaplandı.

Tablo 21. Tiroid Stümlan Hormon Testinin 6 Aylık Kalibrasyon Sonuçları

	TSH (RLU-Relative Light Unit)					
	1. düzey	2. düzey	3. düzey	4. düzey	5. düzey	6. düzey
1.kalibrasyon	9745	17233	47074	312749	738532	5223562
2.kalibrasyon	9632	17050	44746	301950	791594	5655959
3.kalibrasyon	9681	17452	46437	303730	734879	5451696
4.kalibrasyon	10362	16535	46960	287021	697591	5228820
5.kalibrasyon	9247	17360	47295	310049	732641	5714874
6.kalibrasyon	9446	17808	48461	310502	771494	5548524
7.kalibrasyon	9507	18112	50330	318615	813222	5716631
8.kalibrasyon	9429	16115	43781	286595	694933	5290089
9.kalibrasyon	9334	17569	42204	285520	715258	5272452
10.kalibrasyon	9709	17218	46022	295186	713711	5180418
11.kalibrasyon	9441	16784	47041	289458	698792	5132282
12.kalibrasyon	9662	17028	46380	287174	707285	5111584
13.kalibrasyon	9657	16626	43663	285613	669989	5177302
14.kalibrasyon	9750	16352	45317	298355	682223	4957818
15.kalibrasyon	9583	16851	44127	272764	683830	5392365
16.kalibrasyon	9807	16324	44505	286666	688541	5079495
17.kalibrasyon	10025	17342	48380	310491	740770	5471279
18.kalibrasyon	9452	16495	42814	294315	667273	4944953
Ortalama	<b>9637,2</b>	<b>17014</b>	<b>45683</b>	<b>296486</b>	<b>719031</b>	<b>5308339</b>
SD	<b>260,5</b>	<b>548</b>	<b>2142</b>	<b>12471</b>	<b>40885</b>	<b>241359</b>
% CV	<b>2,7</b>	<b>3,22</b>	<b>4,68</b>	<b>4,2</b>	<b>5,68</b>	<b>4,55</b>
RSD	<b>0,027</b>	<b>0,0322</b>	<b>0,0468</b>	<b>0,042</b>	<b>0,0568</b>	<b>0,0455</b>

$$RSD_{\text{havuz}} = \sqrt{\frac{RSD^2 * (n-1) + RSD^2 * (m-1)}{(n-1) + (m-1)}}$$

$$RSD_{\text{Havuz}} = 0,0428$$

$$RSB = RSD_{\text{Havuz}} / \sqrt{n} = 0,0428 / \sqrt{108} = \mathbf{0,0041}$$
 (n=108 ölçüm sayısı)

### 4.3.3. Tiroid Stimulan Hormon Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizlik

Tiroid Stimulan Hormon Gün içi Tekrarlanabilirlikten kaynaklı Ölçüm Belirsizliğinin hesaplanması için aynı numune ardışık olarak 10 kez çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan Tekrarlanabilirliğin Ölçüm Belirsizliği hesaplandı.

Tablo 22. Tiroid Stümilan Hormon Testinin Tekrarlanabilirlik Çalışmasının Sonuçları

	<b>TSH Tekrarlanabilirlik</b>
1. Ölçüm	0,38 $\mu\text{IU/mL}$
2. Ölçüm	0,35 $\mu\text{IU/mL}$
3. Ölçüm	0,38 $\mu\text{IU/mL}$
4. Ölçüm	0,38 $\mu\text{IU/mL}$
5. Ölçüm	0,39 $\mu\text{IU/mL}$
6. Ölçüm	0,40 $\mu\text{IU/mL}$
7. Ölçüm	0,37 $\mu\text{IU/mL}$
8. Ölçüm	0,39 $\mu\text{IU/mL}$
9. Ölçüm	0,38 $\mu\text{IU/mL}$
10. Ölçüm	0,38 $\mu\text{IU/mL}$
	<b>Ortalama: 0,38</b>
	<b>SD: 0,0133</b>
	<b>RSD: 0,0351</b>

$$\text{Ölçümlerin Ortalaması} = 0,38$$

$$\text{Ölçümlerin SD} = 0,0133$$

$$\text{Ölçümlerin RSD} = 0,0351$$

$$\text{Ölçümlerin RSB} = RSD / \sqrt{n} = 0,0351 / \sqrt{10} = \mathbf{0,011}$$

#### 4.3.4. Tiroid Stimulan Hormon Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik

Kalibratörün tekrarlanabilirliği için TSH'ın 3. düzey kalibratörü (3,5 µIU/mL) ardışık olarak 10 defa çalışıldı. Elde edilen sonuçların RSD'lerinden kalibratör kaynaklı ölçüm belirsizlikleri hesaplandı.

Tablo 23. Tiroid Stümilan Hormon Testinin Kalibratör Tekrarlanabilirlik Sonuçları

	<b>TSH Cal Tekrarlanabilirlik (3,5 µIU/mL)</b>
1. Ölçüm	3,42 µIU/mL
2. Ölçüm	3,60 µIU/mL
3. Ölçüm	3,44 µIU/mL
4. Ölçüm	3,46 µIU/mL
5. Ölçüm	3,45 µIU/mL
6. Ölçüm	3,53 µIU/mL
7. Ölçüm	3,35 µIU/mL
8. Ölçüm	3,40 µIU/mL
9. Ölçüm	3,53 µIU/mL
10. Ölçüm	3,53 µIU/mL
	<b>Ortalama: 3,471</b>
	<b>SD: 0,075</b>
	<b>RSD: 0,021</b>

Ölçümün ortalaması=3,471

Ölçümün SD=0,075

$RSD_{TSH\ Kal} = SD/X_{ort} = 0,075 / 3,471 = 0,021$

$RSB_{TSH\ Kal} = RSD_{PSA\ Kal} / \sqrt{n} = 0,021 / \sqrt{10} = 0,0066$

#### 4.3.5. Tiroid Stimulan Hormon Testinin Geri Kazanım Kaynaklı Belirsizliği

0,444 µIU/mL TSH içiren numuneden 0,9 ml (0,4 µIU/mL) alındı. Üzerine 9 µIU/mL TSH içeren numuneden 0,1 ml (0,9 µIU/mL) ilave edildi. 1,30 µIU/mL TSH içeren yeni numune ardışık olarak 10 kere çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan TSH için Geri Kazanımdan gelen Ölçüm Belirsizliği olarak hesaplandı.

Tablo 24. Tiroid Stümilan Hormon Testinin Recovery Çalışma Sonuçları

	<b>TSH Gözlenen</b>	<b>Eklenen (0,90 uIU/mL)</b>
1. Ölçüm	1,34 µIU/mL	0,94 µIU/mL
2. Ölçüm	1,40 µIU/mL	0,93 µIU/mL
3. Ölçüm	1,26 µIU/mL	0,91 µIU/mL
4. Ölçüm	1,27 µIU/mL	0,91 µIU/mL
5. Ölçüm	1,28 µIU/mL	0,87 µIU/mL
6. Ölçüm	1,31 µIU/mL	0,87 µIU/mL
7. Ölçüm	1,29 µIU/mL	0,88 µIU/mL
8. Ölçüm	1,27 µIU/mL	0,92 µIU/mL
9. Ölçüm	1,32 µIU/mL	0,87 µIU/mL
10. Ölçüm	1,27 µIU/mL	0,88 µIU/mL
	<b>Ortalama: 1,30</b>	<b>Ortalama: 0,898</b>
	<b>SD:0,043</b>	<b>SD:0,0269</b>
	<b>RSD:0,033</b>	<b>RSD:0,0299</b>
	<b>RSB: 0,0104</b>	<b>RSB: 0,009</b>

$$u(R_m) = R_m \sqrt{\left[ \frac{u(C_{gözlenen} - C_{örnek})}{C_{gözlenen} - C_{örnek}} \right]^2 + \left[ \frac{u(C_{eklenen})}{C_{eklenen}} \right]^2}$$

$$R_m = (C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}) / C_{\text{eklenen}}$$

$$u(C_{\text{eklenen}}) = \sqrt{(U_{\text{pipet1}})^2 + (U_{\text{pipet2}})^2 + (U_{C_{\text{eklenen}} \text{ tekrar}})^2}$$

$$u(C_{\text{eklenen}}) = \sqrt{(0,0012)^2 + (0,0027)^2 + (0,009)^2}$$

$$u(C_{\text{eklenen}}) = \mathbf{0,0094}$$

$$(C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}) = 1,30 - 0,4 = \mathbf{0,9}$$

Tablo 25. Tiroid Stümlan Hormon Testinin Recovery (R<sub>m</sub>) Hesaplaması

Ölçüm Sayısı	Örnek Konsantrasyonu	Eklene Konsantrasyonu	Gözlenen Konsantrasyonu	Geri Elde (C <sub>göz-</sub> C <sub>örn</sub> )	R <sub>m</sub>
1	0,4	0,9	1,34 µIU/mL	0,94	1,04
2	0,4	0,9	1,40 µIU/mL	1,00	1,11
3	0,4	0,9	1,26 µIU/mL	0,86	0,95
4	0,4	0,9	1,27 µIU/mL	0,87	0,96
5	0,4	0,9	1,28 µIU/mL	0,88	0,97
6	0,4	0,9	1,31 µIU/mL	0,91	1,01
7	0,4	0,9	1,29 µIU/mL	0,89	0,98
8	0,4	0,9	1,27 µIU/mL	0,87	0,96
9	0,4	0,9	1,32 µIU/mL	0,92	1,02
10	0,4	0,9	1,27 µIU/mL	0,87	0,96
Ortalama				0,901	0,996
SD				0,043	

$$R_m \text{ ort} = \mathbf{0,996}$$

$$u(C_{\text{gözlenen}} - C_{\text{örnek}}) = SD / \sqrt{n} = 0,043 / \sqrt{10} = \mathbf{0,0135}$$

$$u(R_m) = 0,0996 \sqrt{\left[ \frac{0,0135}{0,901} \right]^2 + \left[ \frac{(0,0094 \times 0,9)}{0,9} \right]^2}$$

$$u(R_m) = \mathbf{0,0176}$$

#### 4.3.6. Tiroid Stimulan Hormon Dış Kalite Kontrol Sonuçlarına Göre Belirsizlik

Laboratuvarımızın dâhil olduğu RANDOX-RIQAS Monthly Immunoassay Programme Dış Kalite Kontrol Programının Cycle 13-12' e ait son bir yıllık verileri ile Dış Kalite Kontrol kaynaklı Ölçüm Belirsizliği hesaplandı.

Tablo 26. Tiroid Stümilan Hormon Testinin Dış Kalite Kontrol Verileri ile Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması

	Sonuç	SD	n	Xortalama	RSB
1	16,21	1,16	36	16,04	0,012
2	2,00	0,15	54	2,059	0,010
3	0,13	0,01	45	0,13	0,011
4	8,07	0,54	53	7,44	0,010
5	5,84	0,45	64	6,276	0,009
6	1,22	0,08	55	1,094	0,010
7	18,01	1,41	49	18,722	0,011
8	2,01	0,17	60	2,195	0,010
9	0,13	0,01	48	0,123	0,012
10	7,78	0,49	54	6,446	0,010
11	1,1	0,09	55	1,168	0,010
12	7,2	0,56	54	7,373	0,010
RSB <sub>odkk</sub>					<b>0,010</b>

$$RSB_{odkk} = \sqrt{\frac{[(RSB_1)^2 \times (n_1 - 1)] + [(RSB_2)^2 \times (n_2 - 1)] + \dots}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1) + \dots}}$$

$$RSB_{odkk} = \sqrt{\frac{[(0,012)^2 \times (35)] + [(0,010)^2 \times (53)] + [(0,011)^2 \times (44)] + [(0,010)^2 \times (52)] + \dots}{617}}$$

$$RSB_{odkk} = \sqrt{0,065943 / 617} = \mathbf{0,010}$$

### 4.3.7. Tiroid Stimulan Hormon Testinin Birleşik ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğinin Hesaplanması

Birleşik belirsizliği hesaplamak için tüm Standart Belirsizlik Bileşenlerinin kareleri alınarak toplandı ve karekök dışarısına alınıp Birleşik Belirsizlik hesaplandı.

Tablo 27. Tiroid Stümilan Hormon Testinin Standart Belirsizlikleri, Birleşik Standart Belirsizliği ve Genişletilmiş Belirsizliği

Ölçüm Belirsizliği Kaynakları	
İç Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik (Günler arası tekrarlanabilirlik)	0,004
Dış Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik (Doğruluk-Accuracy)	0,010
Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizlik (Gün içi ardışık çalışma)	0,011
Recovery Kaynaklı Belirsizlik (Geri Kazanım)	0,0176
Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik	0,0066
Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik	0,0041
Birleşik Standart Belirsizlik	%2,46
Genişletilmiş Belirsizlik	%4,92

$$uc_{(TSH)} = \sqrt{(RSB_{ikk})^2 + (RSB_{dkk})^2 + (RSB_{tekrar})^2 + u(R_m)^2 + (RSB_{kal.kons})^2 + (RSB_{kal.abs})^2}$$

$$uc_{(TSH)} = \sqrt{(0,004)^2 + (0,010)^2 + (0,011)^2 + (0,0176)^2 + (0,0066)^2 + (0,0041)^2}$$

$$uc_{(TSH)} = 0,0246 \times 100 = \% 2,46$$

Genişletilmiş ölçüm belirsizliğini hesaplamak için Birleşik Belirsizlik Genişletme Faktörü olan k ile çarpıldı. (%95 güven aralığında k=2)

$$U_{TSH} = k \times Uc = \%2,17 \times 2 = \%4,92$$

#### 4.4.Troponin-I, Prostat Spesifik Antijen ve Tiroid Stimulan Hormon Testlerinin RDD ve BI Hesaplanması

Tablo 28. Troponin-I, Prostat Spesifik Antijen ve Tiroid Stimulan Hormon Testlerinin RDD ve BI Hesaplanması

	CV <sub>a</sub>	CV <sub>i</sub>	CV <sub>G</sub>	RDD	BI	%TE <sub>a</sub>	%U
<b>Tn-I</b>	6,125	14,05	63,75	42,48	0,220	27,91	7,73
<b>PSA</b>	5,11	18,1	72,4	52,11	0,250	33,6	4,38
<b>TSH</b>	6,418	19,3	24,6	56,35	0,785	23,7	4,92

**CV<sub>a</sub>**: Analitik %CV (Laboratuvar verilerinden hesaplanmıştır.)

**CV<sub>i</sub>**: Birey İçi Biyolojik Varyasyon CV ([www.westgard.com/biodatabase1.html](http://www.westgard.com/biodatabase1.html)ındı.)

**CV<sub>G</sub>**: Bireyler Arası Biyolojik Varyasyon CV([www.westgard.com/biodatabase1.htm](http://www.westgard.com/biodatabase1.htm))

**%TE<sub>a</sub>**: Total İzin Verilen Hata ([www.westgard.com/biodatabase1.htm](http://www.westgard.com/biodatabase1.htm))

RDD hesaplamak için;

$RDD = z \times \sqrt{2} \times (\sqrt{CV_a^2 + CV_i^2})$  formülü ( $z = p < 0,05$  için 1,96 alınmıştır.) kullanılmıştır.

$$RDD_{Tn-I} = 1,96 \times \sqrt{2} \times \sqrt{(6,125)^2 + (14,05)^2} = \mathbf{42,48}$$

$$RDD_{PSA} = 1,96 \times \sqrt{2} \times \sqrt{(5,11)^2 + (18,1)^2} = \mathbf{52,11}$$

$$RDD_{TSH} = 1,96 \times \sqrt{2} \times \sqrt{(6,418)^2 + (19,3)^2} = \mathbf{56,35}$$

BI hesaplamak için;

BI =  $CV_i / CV_g$  formülü kullanılmıştır.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Ölçüm Belirsizliğinin, ölçüm sürecinin kendi teknik sınırları içinde oluşan ve ölçüm sonucunu etkileyen faktörleri kapsadığı kabul edilmektedir. Bir ölçümün sonucu; örneğin alım şekli, çevre ve ölçüm koşulları gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilmektedir. Dolayısıyla gerçekte tek bir ölçüm sonucunun olmadığı, ölçüm sonucunun belirli bir aralıkta olabileceği anlaşılmaktadır. Ölçüm Belirsizliği ölçülen büyüklüğün gerçek değer etrafında bulunabileceği ölçüm aralığını tanımlayan değerdir. Böylece Ölçüm Belirsizliği, test sonucunun gerçek değeri ne ölçüde temsil ettiğini göstermektedir (13,18).

Antijen-Antikor birleşmesi esasına dayanan İmmunoassay Yöntemlerde ölçülen Analitlerin miktarları nanogram (ng) ve pikogram (pg) düzeyindedir (7). İmmunoassay yöntemlerde Heterofil Antikorlar, Human Anti-Mause Antikor (HAMA), çapraz reaksiyon veren maddelerin varlığı, çevresel koşulların değişmesi gibi birçok nedenle ölçüm sonucu hatalı olabilmektedir (8). Bu nedenle İmmunoassay Yöntemlerde Ölçüm Belirsizliğinin hesaplanıp test sonucu ile beraber raporlanmasının, test sonucunun kalitesini ve güvenilirliğini artırabileceği belirtilmektedir (8).

### **Ölçüm Belirsizliğinin Standardizasyonu**

Ölçüm Belirsizliğinin hesaplanması ve İzin Verilebilir Limitlerinin belirlenmesi ile ilgili henüz standardizasyon sağlanamamıştır (49). Belirsizlik faktörlerinin çok sayıda olması ve hesaplamının kompleks olması standardizasyonu sağlamadaki güçlüğü nedeniyle nedenlerindedir.

Ölçüm Belirsizliğini hesaplamak için rehberler (EURACHEM, VAM, AACB, NORDTEST) birbirinden farklı hesaplama yöntemleri önermektedir. Ölçüm Belirsizliğine neden olan kaynakları her rehber farklı değerlendirmektedir. Bu farklılıklar aynı Laboratuvardaki aynı test için farklı Ölçüm Belirsizliği sonuçları bulunmasına neden olmaktadır. Tüm belirsizlikleri kapsayan bir hesaplama yöntemi Ölçüm Belirsizliğini standardize ederek daha kullanışlı hale gelmesini sağlayabilmektedir. Bu nedenle biz Ölçüm Belirsizliğinin hesaplamasını yaparken Ölçüm Belirsizliğine neden olan tüm

bileşenleri GUM' un önerdiği şekliyle belirledik. Tüm belirsizliklerin dâhil olduğu Bileşik ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğini hesapladık.

Ölçüm Belirsizliğinin İzin Verilebilir Limitlerde olup olmadığına klasik olarak Total İzin Verilebilir Hata ile bakılmaktadır. Haeckel ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Ölçüm Belirsizliğinin İzin Verilebilir Limitlerinin belirlenmesi için yeni bir yaklaşım ortaya konulmuştur (49). Ölçüm Belirsizliğinin İzin Verilebilir limitlerinin belirlenmesiyle Laboratuvarlarda aşılması gereken hata hedefleri de belirlenmiş olacaktır (49). Hedeflerin belirlenmesi Laboratuvarlar arasındaki uyum ve Ölçüm Belirsizliğinin standardizasyonuna katkı sağlayabilecektir.

### **Ölçüm Belirsizliği Kaynaklarının Belirlenmesi ve Ölçüm Belirsizliklerinin Hesaplanması**

ISO 15189; 5.2.6'ya göre her Laboratuvar, Ölçüm Sonuçlarında Belirsizliğe neden olabilecek kaynaklarını belirlemelidir. Belirlenen Ölçüm Belirsizliği kaynaklarından Önemli olan Belirsizlik Bileşenleri Ölçüm Belirsizliği hesabına ilave edilmelidir. Ölçüm Belirsizliğine etki eden kaynaklar; örnekleme, örnek hazırlama aşamaları, kalibratörler, referans materyaller, cihazlar, çevresel faktörler ve personel değişimleri olabilir (50).

Teorikte analitik olarak yapılan ölçümün gerçek değerinin bilinmediği kabul edilir (51). Bu kapsamda Ölçüm Belirsizliği İfade Kılavuzu (GUM) hata kavramının dışında farklı bir bakış ile ölçüm sonucu ile birlikte olan, ölçülene makul ölçüde dâhil olabilen değerlerin dağılımı olarak tanımladığı "Ölçüm Belirsizliği" kavramını geliştirdi, yöntem ve prensiplerini açıkladı. Ölçüm Belirsizliğinin ölçüm prosedürünün kendi teknik sınırları içinde meydana gelen ve ölçüm sonucunu etkileyen faktörleri kapsadığı kabul edilir. Matriks etkisi, interferanslar, referans materyaller, kütle ve hacimsel belirsizlikler, çevresel etkiler, ölçüm yöntemi ve prosedürüne dâhil olan varsayım ve yaklaşımlar gibi pek çok neden ölçüm sonuçlarının belirsizliğine katkıda bulunabilir. Bunların bir bölümü rastlantısal olabildiği gibi bir bölümü de sistematik olabilir. Sonuçta toplam belirsizliğin tahmin edilebilmesi belirsizliğe katkıda bulunan her bir bileşenin ayrı ayrı ele alınmasını gerektirir.

Ölçüm Belirsizliği kaynaklarının belirlenmesinde GUM' un yaklaşımı; test prosedüründeki her bir basamağın belirsizlik tahmininin yapılmasının ardından bunların bileşimi ile test sonucu ile birlikte olan Total Belirsizliğin hesabını içerir (13). Çalışmamızda, bu doğrultuda belirlediğimiz Ölçüm Belirsizliği kaynakları; İç Kalite Kontrol Sonuçları (günler arası tekrarlanabilirlik), Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizlik, Kalibratör Kaynaklı Belirsizlik, Gün İçi Tekrarlanabilirlik, Dış Kalite Kontrol Sonuçları (Doğruluk-Accuracy) ve Recovery (geri kazanım) Kaynaklı Belirsizlikler olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamıza İmmunoassay Yöntemle ölçülen ve Tıbbi Karar düzeyi önemli olan Tn-I, PSA, TSH dâhil edilmiştir. Bu testlerin Ölçüm Belirsizliği, Referans Değişim Değeri (RDD) ve Bireysellik İndeksleri hesaplanıp Analitik süreç performansı değerlendirilmiştir.

#### **İç Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizliğin Değerlendirilmesi**

İç Kalite Kontrol Sonuçlarındaki sapmadan kaynaklı Ölçüm Belirsizliği günler arası tekrarlanabilirlikten kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini göstermektedir (17).

İç Kalite Kontrol Kaynaklı Rölatif Ölçüm Belirsizliğini (RSB) hesaplamak için her bir testin 6 aylık kontrol sonuçları kullanıldı. İç Kalite Kontrol Sonuçlarının sapmalarından Rölatif Ölçüm Belirsizliği (RSB) hesaplandı. Hesaplanan RSB' ler İç Kalite Kontrol nedenli Ölçüm Belirsizliğinin kaynağı olarak Birleşik Belirsizliğe ilave edildi.

Hesaplanan İç Kalite Kontrol kaynaklı en büyük RSB 0,004 ile TSH' da bulunmuştur. Troponin-I RSB'si 0,0028 ve en düşük RSB 0,00016 ile PSA' da bulunmuştur. Hesaplanan Belirsizlik bileşenleri içinde en düşük Belirsizlik Kaynağı İç Kalite Kontrollerinden geldiği görülmüştür.

Avustralyalı Ulusal Klinik Biyokimyacılar Derneği (AACB; Australasian Association of Clinical Biochemists) sadece İç Kalite Kontrol Sonuçlarının CV' lerini kullanarak Ölçüm Belirsizliği hesabını önermektedir (17). Bu hesaplama yönteminde Rölatif Belirsizlik kullanılmadığından Ölçüm Belirsizliğinin yüksek çıkması beklenmektedir. Ancak bizim hesaplama yöntemimizde GUM'un önerdiği şekilde Birleşik Belirsizliğin bir bileşeni olarak

alınan İç Kalite Kontrol Sonuçlarının Rölatif Belirsizliği hesaplanmıştır. Bu nedenle Laboratuvarımızda hesapladığımız İç Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizlik değerleri düşük bulunmuştur.

### **Kalibrasyon Kaynaklı Belirsizliğin Değerlendirilmesi**

Kalibrasyon, ölçümü yapılacak madde miktarı bilinen bir materyalin (kalibratör), cihazda oluşturduğu sinyal ile ölçülen maddenin konsantrasyonu arasındaki orantıdan oluşmaktadır (52).

Birçok çalışmada kalibrasyondan kaynaklanan belirsizlik bileşeni için bir lineer kalibrasyon denklemi oluşturularak hesaplama yapılmıştır (52,53,54).

İnal ve arkadaşları ise bu bileşen için, üreticinin verdiği kalibrasyon kaymasının düzeltilmesi gereken değerini, kalibrasyon kayması belirsizliği olarak hesaplamışlardır (55).

Üretici firma Ölçüm Belirsizliğini hesapladığımız Tn-I, PSA ve TSH için kitin lotu değiştiğinde, kontrol sonuçlarında büyük sapmalar olduğunda, cihaz bakımı yapıldıktan sonra kalibrasyon yenilenmesi önermektedir (34, 43, 45).

Referans materyalin testin kalibrasyonundaki olası belirsizliklerini hesaplamak için Tn-I 12, PSA ve TSH 18 ardışık kalibrasyon sonucu alındı. Kalibrasyon sonuçlarının RLU' ların (Relative Light Unit) kaymalarından Rölatif Ölçüm Belirsizliği (RSB) hesaplandı. Hesaplanan RSB' ler Kalibrasyon nedenli Ölçüm Belirsizliğinin kaynağı olarak Birleşik Belirsizliğe ilave edildi.

Hesaplanan Kalibrasyon kaynaklı en büyük RSB 0,0057 ile Tn-I' da bulunmuştur. PSA RSB'si 0,0046 ve en düşük RSB 0,0041 ile TSH' da bulunmuştur. Kalibrasyonlar 6 farklı konsantrasyonda 6 noktadan yapıldığından her noktanın sapmaları Ölçüm Belirsizliğine ek katkıda bulunmuştur. Kalibrasyon yapılan noktaların sayısı artıkça kalibrasyondan kaynaklı Ölçüm Belirsizliğin de artış beklenmektedir (8).

Türkmen ve arkadaşları hesapladıkları Ölçüm Belirsizliğinde Kalibrasyon Kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini TSH için 0.0028 ve PSA için 0.023 bulmuşlardır (59). Türkmen ve arkadaşlarının hesapladığı Kalibratör Kaynaklı Ölçüm Belirsizliği TSH için Laboratuvarımızda hesapladığımız değerden

düşük, PSA için Laboratuvarımızda hesapladığımız değerden yüksek çıkmıştır. Türkmen ve arkadaşlarının kullandıkları cihaza ve çevresel koşullardaki değişimlere bağlı hesapladıkları değer farklı çıktığını düşünmekteyiz.

### **Kalibratör Kaynaklı Belirsizliğin Değerlendirilmesi**

Tıbbi Biyokimyada ölçüm sonucu, konsantrasyonu bilinen bir materyalin belirli bir kimyasal reaksiyona verdiği cevabın, konsantrasyonu bilinmeyen örneğin verdiği cevapla karşılaştırmasından elde edilir. Bu nedenle analitik ölçümlerde kullanılan kalibratör materyalinden kaynaklanan Belirsizliğin, Ölçüm Belirsizliğine eklenmesi gerekmektedir (18).

Liyofilize kalibratörleri hazırlarken yapılan pipetleme hatası kalibratörün yanlış sonuç vermesinde kritik öneme sahiptir. Bundan dolayı sıvı kalibratörlerin hata oranı liyofilize kalibratörlere göre daha düşüktür (56).

Çalışmamızda kullanılan Tn-I, PSA ve TSH kalibratörleri sıvı kalibratörlerdir.

Kalibratör Kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini hesaplamak için EURCHEM ve VAM rehberlerinde önerildiği şekilde kalibratörler ardışık olarak 10 defa çalışıldı. Kalibratörlerin sapmalarından kaynaklı RSB' ler hesaplandı ve Birleşik Belirsizliğe ilave edildi.

Hesaplanan Kalibratör kaynaklı en büyük RSB 0,01 ile PSA' da bulunmuştur. Tn-I RSB'si 0,009 ve en düşük RSB 0,0066 ile TSH' da bulunmuştur.

Türkmen ve arkadaşları hesapladıkları Ölçüm Belirsizliğinde Kalibratörden gelen Ölçüm Belirsizliğini TSH için 0.017 ve PSA için 0.0176 bulmuşlardır (59). Türkmen ve arkadaşlarının TSH ve PSA için hesapladığı Kalibratör Kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini, Laboratuvarımızda hesapladığımız değerden daha yüksek bulmuşlardır. Türkmen ve arkadaşlarının kullandıkları cihaza ve çevresel koşullardaki değişimlere bağlı hesapladıkları değer yüksek çıktığını düşünmekteyiz.

### **Gün İçi Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizliğin Değerlendirilmesi**

Gün İçi Tekrarlanabilirlik aynı yolla elde edilen sonuçların bir birine yakınlığını gösterir (10). Tekrarlanabilirliği iyi olan bir testin doğruluğu iyi

olmayabilir. Gün İçi Tekrarlanabilirlik testin kesinliğinin göstergesi olarak kabul edilir. Tekrarlanabilirlikten kaynaklı sapma ve hatalar ölçüm belirsizliğine katkıda bulunur. Bundan dolayı Gün İçi Tekrarlanabilirlikteki sapmayı GUM' un önerdiği şekilde hesapladık ve Birleşik Ölçüm Belirsizliğimize ekledik.

Gün içi Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini hesaplamak için EURACHEM in önerdiği gibi taze örnekleri ardışık olarak 10 defa çalıştık. Gün İçi Tekrarlanabilirlik sapmalarından kaynaklı RSB' ler hesaplandı ve Birleşik Belirsizliğe ilave edildi.

Hesaplanan Gün İçi Tekrarlanabilirlik kaynaklı en büyük RSB 0,012 ile Tn-I' da bulunmuştur. PSA ve TSH' ın RSB' si ise 0,011 bulunmuştur. Gün İçi Tekrarlanabilirlikten kaynaklı belirsizlik, çalışılan PSA ve TSH testlerinde Geri Kazanımdan sonra en büyük belirsizlik bileşeni olmuştur. Troponin-I da Dış Kalite ve Geri Kazanım sonra üçüncü büyük Belirsizlik bileşeni olmuştur.

Türkmen ve arkadaşları hesapladıkları Ölçüm Belirsizliğinde Gün İçi Tekrarlanabilirlikten gelen Ölçüm Belirsizliğini TSH ve PSA için 0.0081 bulmuşlardır (59). Çalışmamızda Gün İçi Tekrarlanabilirlik Kaynaklı Belirsizliğin, daha yüksek bulunmasının cihaza ve çevresel faktörlere bağlı değişimlerden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

### **Recovery (Geri Kazanım) Kaynaklı Belirsizliğin Değerlendirilmesi**

Bir test sonucunun doğruluğunun (accuracy), Kesinlik (Prezisyon) ve Gerçeklik (trueness) olmak üzere iki göstergesi bulunmaktadır (57).

Bir test sonucunun Gerçekliğini değerlendirmek için Recovery (Geri Kazanım) çalışması yapılmalıdır. Gerçeklikteki sapma Ölçüm Belirsizliğinin bileşenlerinden birini oluşturur (58). Biz de Gerçeklikten kaynaklı Ölçüm Belirsizliğini bulmak için Geri Kazanım çalışması yaptık. Geri Kazanım kaynaklı sapmanın Belirsizliğini hesapladık ve Birleşik Belirsizliğe ekledik.

Geri Kazanım çalışmasında, hazırlık aşamasındaki belirsizliği de hesaba katmak için kullanılan pipetlerin Ölçüm Belirsizlikleri hesaplanıp EURACHEM' in önerdiği şekilde u(ceklenen) Ölçüm Belirsizliğine ilave edildi.

Geri Kazanım çalışması sonucu hesaplanan Ölçüm Belirsizliğinde ( $u(R_m)$ ) en yüksek değer 0,0176 ile TSH' da bulunmuştur. PSA' nın  $u(R_m)$  0,0144 ve Tn-I ' nın  $u(R_m)$  0,0143 bulunmuştur.

Geri Kazanım çalışması sonucu elde edilen Ölçüm Belirsizliği TSH ve PSA testlerinde Birleşik Belirsizliğin en büyük bileşenini oluşturmaktadır. Troponin-I testinde Geri Kazanım Kaynaklı Belirsizlik Dış Kalite Kaynaklı Belirsizlikten sonra Birleşik Belirsizliğin en büyük bileşenini oluşturmaktadır. Geri Kazanım çalışması yapılırken Ölçüm Belirsizliğine katkıda bulunabilecek çok sayıda ölçüm yapılması ve kullanılan pipetlerin ölçüm belirsizliklerinin de ilavesiyle Geri Kazanım kaynaklı Ölçüm Belirsizliği diğer belirsizlik kaynaklarından daha yüksek çıkmıştır.

### **Dış Kalite Kontrol Kaynaklı Belirsizliğin Değerlendirilmesi**

Dış Kalite Kontrolün Laboratuvarımıza ait standart sapması ve ortalama değeri, aynı yöntemi ve aynı cihazı kullanan katılımcıların bulunduğu sonuçların ortalamasından ve sapmasından hesaplandı. Katılımcılardan elde edilen ortalama değer ve standart sapmadan RSB'ler hesaplandı.

Hesaplanan Dış Kalite Kontrol kaynaklı en büyük RSB 0,032 ile Tn-I' da bulunmuştur. PSA ve TSH' ın RSB' si ise 0,0046 ve 0,010 bulunmuştur. Dış Kalite Kontrol kaynaklı belirsizlik, Troponin-I da en büyük belirsizlik bileşeni olmuştur. TSH da Geri Kazanım ve Gün İçi Tekrarlanabilirlikten sonra en büyük üçüncü belirsizlik bileşeni olmuştur.

Türkmen ve arkadaşları hesapladıkları Ölçüm Belirsizliğinde Dış Kalite Kontrolde gelen Ölçüm Belirsizliğini TSH için 0.00302, PSA için 0.001812 bulmuşlardır. Türkmen ve arkadaşları Dış Kalite Kontrol Belirsizliği için 8 aylık verileri kullanmışlardır (59). Bizim kullandığımız veriler daha uzun bir süreyi kapsadığı için (1 yıllık) PSA ve TSH'ın Dış Kaliteden gelen belirsizliğinin daha yüksek bulunduğunu düşünüyoruz.

Dış Kalite Kontrol örneklerinin analit konsantrasyonu genellikle, bir hedef değer yerine, aynı yöntemi kullanan katılımcı Laboratuvarların sonuçlarının ortalaması alınarak belirlendiği için, hesaplanan sapmada diğer Laboratuvarların sapması da alınmış olur. Bu sapmanın yüksek olması,

Troponin-I testinin Dış Kalite Kontrol Kaynaklı Ölçüm Belirsizliğinin yüksek bulunmasını açıklamaktadır.

### **Birleşik ve Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğinin Değerlendirilmesi**

Her bir kaynaktan gelen Rölatif Standart Belirsizliklerinin (RSB) kareleri toplanıp, karekök dışına çıkarılarak Birleşik Belirsizlik hesaplanmıştır. Birleşik belirsizliğin k faktörü ile çağrılmasıyla Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği hesaplanmıştır.

Rastgele etkilerin değerlendirilmesi için yapılan ölçümlerde yeterli serbestlik derecesi ( $n-1 > 6$ ; n:gözlem sayısı) sağlanmış olduğundan yaklaşık %95 güven seviyesi için k faktörü 2 alınmıştır (14).

Çalışmamızda Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği Troponin-I için % 7.72, PSA için %4.34, TSH için %4.92 olarak hesaplandı. Türkmen ve arkadaşları PSA ve TSH testlerinin kendi Laboratuvarları için belirsizlik kaynaklarını belirleyip Ölçüm Belirsizliklerini hesaplamışlardır. Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğini PSA için %11.92, TSH%14.46 olarak hesaplamışlardır (59). Oğul ve arkadaşları sadece Nordtest Kılavuzunu kullanarak TSH, T3 ve T4 testlerinin Ölçüm Belirsizliğini hesaplamışlardır. TSH'ın Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğini %17.93 olarak hesaplamışlardır. Oğul ve arkadaşları TSH için Nordtest yöntemi ile yaptıkları hesaplamada, Dış Kalitenin biasına diğer Laboratuvarların sapması da eklendiği için Ölçüm Belirsizliğini yüksek bulmuşlardır (60).

Ölçüm Belirsizliği hesaplanırken standart bir yöntem olmadığından her Laboratuvarın aynı test için farklı sonuçlar bulması beklenen bir durumdur. Klinik Laboratuvarlarda yapılan çalışmalarda, TSH ve PSA testleri için hesaplanan farklı Ölçüm Belirsizlik değerleri, kullanılan cihaz ve yöntemlere bağlı olabileceği gibi Belirsizlik hesabında farklı yöntem, formüllerin kullanılmasından da kaynaklanabilir. Çalışmamızda, Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği en yüksek Troponin-I testi için bulunmuştur. Troponin-I testinin Dış kalitesinden gelen belirsizliğin yüksek olmasından dolayı Troponin-I testinin Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği yüksek çıkmıştır.

Hesaplanan Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliğinin Total İzin Verilebilir Hata (%TEa) sınırları içinde kalması istenir (61). Total İzin Verilebilir Hata

sınırları için Ricos C. ve arkadaşları tarafından 2 yılda bir güncellenip Westgard tarafından yayınlanan Kriterler ve Rilibak Kriterleri kullanılmıştır (62, 63).

Troponin-I için %TEa, Westgard' da %27.91, Rilibak' da %33 olarak belirtilmiştir. Laboratuvarımızda Troponin-I için hesaplanan Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği %7.72' dir. Bu değer hem Westgard hem de Rilibak tarafından belirtilen sınırlar içerisinde bulunmaktadır.

Prostat Spesifik Antijen için %TEa Westgard' da %33.6, Rilibak'da %25 olarak belirtilmiştir. Laboratuvarımızda PSA için hesaplanan Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği %4.34' dir. Bu değer hem Westgard hem de Rilibak tarafından belirtilen sınırlar içerisinde bulunmaktadır.

Tiroid Stimülan Hormon için %TEa Westgard' da %23.7, Rilibak' da %24 olarak belirtilmiştir. Laboratuvarımızda TSH için hesaplanan Genişletilmiş Ölçüm Belirsizliği %4.49' dir. Bu değer hem Westgard hem de Rilibak tarafından belirtilen sınırlar içerisinde bulunmaktadır.

Çalışılan tüm testlerin %TEa içinde olması, ölçüm belirsizliğinden kaynaklı hataların kabul edilebilir sınırlarda olduğunu göstermektedir.

Miyokard Enfarktüsü için Troponin-I Kritik Değeri 0.060 ng/ml'dir. Laboratuvarımızda Troponin-I için hesapladığımız Ölçüm Belirsizliği %7.72 olduğundan, Troponin-I için  $0.060 \pm 0.005$  ng/ml ölçülen değer, gerçekte 0.055 ile 0.065 ng/ml aralığındadır.

Prostat kanseri için PSA'nın Kritik Değer 4 ng/ml'dir. Laboratuvarımızda PSA için Hesapladığımız Ölçüm Belirsizliği %4.34 olduğundan, PSA için  $4 \pm 0.17$  ng/ml ölçülen değer, gerçekte 4.17 ile 3.83 ng/ml aralığındadır.

Laboratuvarımızda TSH için Referans Aralıklar 0.34-5.60 mIU/L'dir. Hesapladığımız Ölçüm Belirsizliği %4.49 olduğundan HipoTiroidi için Kritik olan  $5.60 \pm 0.25$  mIU/L değeri ölçüldüğünde, 5.35 ile 5.85 mIU/L aralığında değerlendirilmelidir. Hipertiroidi için Kritik olan  $0.34 \pm 0.016$  mIU/L değeri ölçüldüğünde, gerçekte 0.32 ile 0.36 mIU/L aralığındadır.

Ölçüm Belirsizliğini hesaplamak için birden fazla yöntem ve rehber olduğu için Ölçüm Belirsizliği henüz standardize edilememiştir (64). Ölçüm

Belirsizliğinin pratik uygulaması için kolay hesaplanabilir bir yöntemle standardize edilmesi gerekmektedir. Özellikle Tıbbi Kararda önemli olan Immunoassay testlerin Ölçüm Belirsizliğini her Laboratuvarın hesaplayarak test sonucuyla raporlanması ile test sonucunun kalite ve güvenilirliğini artıracakđını düşünmekteyiz.

### **Analitik Performansın RDD ve BI ile Değerlendirilmesi**

Laboratuvar tıbbında, doğru sonuç verebilmek için Biyolojik Varyasyon (BV) bileşenlerinin kullanılması önerilmektedir. Birçok klinik Laboratuvar için yararlı bir referans olarak yaklaşık 320 analite ait BV bileşenlerine ait kapsamlı veriler, her iki yılda bir güncellenmektedir (65). Ricos ve arkadaşları tarafından oluşturulan bu veriler, Westgard'ın web sayfasında yayınlanmaktadır (65, 66).

Analitik süreçte BV kaynaklı hedefler, Laboratuvar performansının değerlendirilmesi ve iç kalite kontrol prosedürlerinin tasarlanması için gerekmektedir. Postanalitik süreçte ise bireydeki seri ölçü sonuçlarının, CVi değerlerinden elde edilen RDD veya delta kontrollerle yorumlanması ve doğrulanması için kullanılmaktadır (67).

Çalıştığımız testlerin Analitik Performansını etkileyen BV katkısını görmek için Bireysellik İndeksi (BI) ve Referans Değişim Değerlerini (RDD) hesapladık.

Bireysellik İndeksi Troponin-I için 0.220, PSA için 0.250, TSH için 0.785 hesaplanmıştır. Bu değerler Troponin-I ve PSA için düşük bireysellik indeksi ( $BI < 0,6$ ) yani yüksek bireyselliğe sahip olduğunu göstermektedir. TSH'ın bireysellik indeksi ise ( $0,6 < BI$ ) yüksek hesaplanmıştır. Yüksek Bireysellik İndeksi TSH'ın düşük bireyselliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Laboratuvarımızda Referans Değişim Değerini Troponin-I için % 42.48, PSA için %52.11, TSH için %56,35 hesapladık. Cinpolat ve arkadaşları tarafından İmmunoassay Parametrelerinin Referans Değişim Değerleri Troponin-I için % 39.24, PSA için %51.00, TSH için %53,74 hesaplanmıştır (68). Wu ve arkadaşları, Troponin-I için BI 0.21 ve RDD %46.0 olarak bulmuşlardır (69). Laboratuvarımızda hesapladığımız RDD ve

BI değerleri, diğer Laboratuvarlarda hesaplanan RDD ve BI değerlerine yakın ve uyumludur.

Ardışık iki hasta sonucunu değerlendirme olanağı sunan RDD, çalıştığımız testlerin ardışık sonuçlarındaki değişimlerin Klinik anlamlılığı ortaya koymaktadır (70). Ayrıca düşük bireysellik indeksine yani yüksek bireyselliğe sahip olan testlerin sonuçları raporlanırken, Referans Değişim Değerlerinin de test sonucu ile birlikte raporlanması önerilmektedir (71). Laboratuvarımızda Troponin-I, PSA testlerinin düşük bireysellik indeksine (Tn-I 0.220, PSA 0.250) yani yüksek bireyselliğe sahip olduğu bulunmuştur. Bu nedenle Troponin-I, PSA testlerinin sonuçları raporlanırken RDD ile birlikte raporlanmasının daha uygun olabileceğini düşünmekteyiz.

Tıbbi Karar Düzeyinde önem teşkil eden İmmunoassay Test Parametrelerinde, Ölçüm Belirsizliği ile birlikte hasta sonuçlarında değişikliklere neden olan Biyolojik Varyasyonun birlikte değerlendirilmesi daha kaliteli ve doğru Laboratuvar sonuçlarının verilmesini sağlayabilecektir. Bu nedenle, Tıbbi Karar noktasında önem teşkil eden İmmunoassay Test Parametrelerinin sonuçları raporlanırken, Ölçüm Belirsizliği ve RDD ile birlikte test sonucunun verilmesini önermekteyiz. Ayrıca, Ölçüm Belirsizliği konusunda Klinisyenlerin de bilgilendirilmesi gerekmektedir. Bu da Klinisyenlere test sonucunun güvenilirliği açısından değerli bilgiler sağlayacaktır.

Klinik Laboratuvarların Uluslararası Standartlara göre test sonuçlarının Belirsizliğini hesaplayacak prosedürlere sahip olması gerekmektedir. Ülkemizde Ölçüm Belirsizliğinin belirlenmesinde Klinik Biyokimya Laboratuvarları tarafından aynı kılavuzun kullanılmasını sağlayacak standardizasyon, Laboratuvarın performansını iyileştirecektir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Paulo Pereira, James O. Westgard, Pedro Encarnacao, Jerard Seghatchian Evaluation of the measurement uncertainty in screening immunoassays in blood establishments: Computation of diagnostic accuracy models *Transfusion and Apheresis Science* 52 (2015) 35–41
2. American Association for Laboratory Accreditation G104 - Guide for Estimation of Measurement Uncertainty In Testing December 2014
3. Polascik TJ, Oesterling JE, Partin AW.: Prostate specific antigen: a decade of discovery - what we have learned and where we are going. *J Urol*, 162:293,1999.
4. Iliallowell JG, Staebling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, Braverman LE. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 111), *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 489.
5. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care *European Heart Journal* (2010) 31, 2197–2206
6. Hayashi Y., Matsuda R., Maitani T., Ito K., Nishimura W., Imai K., Maeda M., *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 36 (2004): 225–22.
7. Burtis C, Ashwood E, Bruns D. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics* 2013
8. Mugan K, Carlson IH, Westgard JO. Planning QC procedures for immunoassays. *J Clin Immunoassay* 1994; 17:216-222.
9. Ambruster DA, Pry T. Limit Of Blank, Limit of Detection and Limit Of quantitation. *Clin. Biochem. Rev.* 2008;29(Suppl-i):S49-s52.

- 10.** Westgard JO, Basic Planning For Quality, Training in Analytical Quality Management For Healthcare laboratories, Westgard QC Inc., Madison WI, 2000.
- 11.** International Organization for Standardization. ISO 15189 medical laboratories – requirements for quality and competence. 3rd ed. Geneva: ISO; 2012.
- 12.** International Organization for Standardization. ISO 15189 medical laboratories – requirements for quality and competence. 3rd ed. Geneva: ISO; 2012.
- 13.** Technical Guide 4 A Guide on Measurement Uncertainty in Medical Testing 2013
- 14.** EURACHEM/CITAC GuideCG4.Quantifying Uncertaintyin Analytical Measurement. Third Edition 2012.  
[https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012\\_P1.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf)
- 15.** Barwick VJ, Ellison SLR. VAM Project 3.2.1. Development and harmonisation of measurement uncertainty principles.Part(d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data. January2000LGC/ VAM /1998/088.  
  
[http://www.sadcmet.org/waterpt/disc%202/measurement%20uncertainty/at01\\_VAM\\_uncertainty.pdf](http://www.sadcmet.org/waterpt/disc%202/measurement%20uncertainty/at01_VAM_uncertainty.pdf)
- 16.** Bertil Magnusson, Havard Hovind, Mikael Krysell Nordtest Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty Based On Quality Control and Method Validation 2007
- 17.** White GH, Farrancel, AACB Uncertaintyof MeasurementWorking Group.Uncertainty of measurement in quantitative medicaltesting–A laboratory implement ation guide.ClinBiochemRev2004;25Suppl(ii)

- 18.** JCGM100:2008.GUM 1995 with minor corrections. Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement. First Edition 2008.
- 19.** Oosterhuis WP. Gross overestimation of total allowable error based on biological variation. *Clin Chem* 2011;57:1334-6.
- 20.** Anders Kallner Is the combination of trueness and precision in one expression meaningful? On the use of total error and uncertainty in clinical chemistry DOI 10.1515/cclm-2015-0975 Received October 7, 2015; accepted December 1, 2015
- 21.** Fraser CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42(7):758-64.
- 22.** Ricos C, Arbos MA. Quality goals for hormone testing. *Ann Clin Biochem* 1990;8:353-8.
- 23.** Peterson PH, Fraser CG, Kallner A, Kenny D. Editors: strategies to set global quality specifications in laboratory medicine. Proceedings of a international consensus conference in which guidelines incorporating within-subject variation were developed. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59(7): 475-585.
- 24.** Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1989;27(5):409-37.
- 25.** Harris EK. Statistical aspects of reference values in clinical pathology. *Prog Clin Pathol* 1981;8:45-66.
- 26.** Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1989;27(5):409-37.
- 27.** Walton RM. Subject-based reference values: biological variation, individuality, and reference change values *Vet Clin Pathol* 2012;41(2):175-81.

- 28.** Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a “ reference change ’ for comparing two consecutive measurements. Clin Chem 1983;29:25-30.
- 29.** Plebani M, Lippi G. Biological variation and reference change values: an essential piece of the puzzle of laboratory testing. Clin Chem Lab Med 2012;50(2):189-90.
- 30.** Iglesias N, Peterson PH, Jensen E, Ricos C, Joergensen P. Reference change values and power functions. Clin Chem Lab Med 2004;42:415- 22.
- 31.** Fraser CG. Reference change values: the way forward in monitoring. Ann Clin Biochem 2009;46:264-5.
- 32.** Aytekin M, Cevlik T, Emerk K. Describing an ideal model for calculating the uncertainty of measurements in a clinical laboratory. Clin Biochem 2009; 42(4-5):321-2.
- 33.** Kenny D, Fraser C.G , Hyltoft Petersen P, Kallner A. Strategies to set Global Analytical Quality Specifications in Laboratory Medicine – Consensus agreement. Scan J Clin Lab Invest 1999; 59: 585.
- 34.** Beckman Coulter, Access Immunoassay Systems, AccuTnl Ref: A78803
- 35.** Troponin T and troponin I at acut coron art sendrom Mehmet A, Canan T, Fatih B Turk hij den biyoloji derg. 2011;68 (3) 127-34.
- 36.** Incorporating high-sensitivity cardiac troponin assays into clinical practice 2015 (2015) 67:9-14
- 37.** Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. Purification of a human prostate specific antigen. Invest Urol 1979; 17: 159-163.
- 38.** McCormack RT, Rittenhouse HG, Finlay JA, Sokoloff RL, Wang TJ, Wolfert RL, Lilja H, Oesterling JE. : Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: a new era. Urology, 45 729, 1995.

- 39.** Kuriyama M, Wang MC, Lee CI, Papsidero LD, Lillian CS, Inaji H, et al.: Use of human prostate-specific antigen in monitoring of prostate cancer. *Cancer Res*, 41: 3874, 1981.
- 40.** Brawer MK, Benson MC, Djavan B, Lilja H, Semjonow A, Su S, et al: Prostate serum markers. In: *Proceedings of the 2nd International Consultation on Prostate Cancer*. Edited by G. Murphy, S. Khoury, A. Partin and L. Denis. Paris, France: Health Publication Ltd., June 27–29, 1999
- 41.** Guidelines on Prostate Cancer European Association of Urology 2015
- 42.** Semjonow A, De Angeles G, Oberpenning F, Schmidt HP, Brandt B, Hertle L. : The clinical impact of different assays for prostate specific antigen. *BJU Int*, 86: 590, 2000.
- 43.** Beckman Coulter, Access Immunoassay Sistem, Access Hybritech PSA testi Ref: 37200
- 44.** Iliallowell JG, Staebling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, Braverman LE. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 111), *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 489.
- 45.** Beckman Coulter, Access Immunoassay Sistem, HYPERsensitive hTSH Ref:33820
- 46.** Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 6th edition. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, and David E. Bruns, editors. St Louis, MO: Saunders/Elsevier, 2008
- 47.** Evaluation of measurement data – The role of measurement uncertainty in conformity assessment JCGM 106: 2012
- 48.** NCCLS C24-A2. Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guideline—Second Edition. NCCLS, Wayne PA, 2003.

- 49.** Rainer Haeckel, Werner Wosniok, Ebrhard Gurr and Burkhard Peil  
Permissible limits for uncertainty of measurement in laboratory medicine  
2015 DOI 10.1515/cclm-2014-0874
- 50.** [www.edma-ivd.be/fileadmin/upl\\_documents/Position\\_Papers/  
Estimation\\_of\\_uncertainty.pdf](http://www.edma-ivd.be/fileadmin/upl_documents/Position_Papers/Estimation_of_uncertainty.pdf)
- 51.** Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, Jansen R, Jones G, Oosterhuis W, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Clin Chem Lab Med 2015;53: 833–5.
- 52.** Currie LA. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (UIPAC Recommendations 1995). Pure & Appl Chem 1995; 67: 1699-1723.
- 53.** EA-4/02 Evaluation of the Uncertainty of Measurement in Calibration 2013
- 54.** Su YC, Chang CC, Wang JL. Construction of an automated gas chromatography / mass spectrometry system for the analysis of ambient volatile organic compounds with on-line internal Standard calibration. J Chromatogr A 2008; 1201: 134-40.
- 55.** İnal BB, Koldaş M, İnal H, Coşkun C, Gümüş A, Doventaş Y. Evaluation of measurement uncertainty of glucose in clinical chemistry. Ann N Y Acad Sci 2007; 1100: 223-6.
- 56.** Batista E, Pinto L, Filipe E, Van der Veen AMH. Calibration of micropipettes: Test methods and uncertainty analysis. Measurement 2007; 40: 338-42.
- 57.** Medical laboratories – Requirements for quality and competencen EN/ISO 15189. 2011-09-22 3.

- 58.** JCGM200:2008.International vocabulary of metrology-Basic and general concepts and associated terms (VIM)
- 59.** Sakine Türkmen, Sembol Türkmen Yıldırım, Murat Yekrek, Burak Çimen, Sacide Atalay İyi klinik laboratuvar uygulamaları kapsamında TSH ve PSA parametrelerinin ölçüm belirsizliğinin değerlendirilmesi doi: 10.5505/tjb.2014.49358 2014
- 60.** Yasemin Oğul, Mahmut Şenyurt, Konca Altınkaynak TSH, FT4 ve FT3 Testlerinin Ölçüm Belirsizliğinin Değerlendirilmesi Türk Klinik Biyokimya Derg 2015; 13(3)
- 61.** Ceylan Bal Biyokimya parametrelerinin ölçüm belirsizliğinin hesaplanması Turk J Biochem 2014; 39(4):538-543 doi: 10.5505/tjb.2014.04127
- 62.** This most recent and extensive listing of biologic goals has been provided by 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. This database was most recently updated in 2014. <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
- 63.** An unofficial English translation of the RiliBÄK (Richtlinien der Bundesärztekammer). The term 'RiliBÄK' is an abbreviation meaning literally the Guidelines ("Rili") of the German Federal Medical Council (BÄK).<http://www.westgard.com/rilibak.htm>
- 64.** Anders Kallner Is the combination of trueness and precision in one expression meaningful? On the use of total error and uncertainty in clinical chemistry DOI 10.1515/cclm-2015-0975 Clin Chem Lab Med 2016; aop
- 65.** Ricos C, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biological variation: Pros, cons and progress. Scand J Clin Lab Invest 1999;59:491-500.

- 66.** Ricos C, Garcia-Lario JV, Alvarez V, Caval F. Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). The 2014 update.
- 67.** Queralto JM. Intraindividual reference values. Clin Chem Lab Med 2004; 42: 765-77
- 68.** Havva Yasemin Cinpolat, Guler Bugdayci, Hamdi Oguzman, M. Ozgur Yis İmmun Analiz Parametrelerinin Referans Değişim Değerinin (RDD) Hesaplanması GMJ26: 85-87; 2015
- 69.** Wu AHB, Lu A, Todd J, Moecks J, Wians F. Short- and long-term biological variation in cardiac troponin I with a high-sensitivity assay: implications for clinical practice. Clin Chem 2009;55:52–8
- 70.** Plebani M, Lippi G. Biological variation and reference change values: an essential piece of the puzzle of laboratory testing. Clin Chem Lab Med 2012;50(2):189-90.
- 71.** Walton RM. Subject-based reference values: biological variation, individuality, and reference change values Vet Clin Pathol 2012;41(2):175-81.

## 7.EKLER

### Ek.1 Troponin-I Testine Ait İç Kalite Kontrol Verileri

Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye	Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye	Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye
1	0,05	0.68	47	0.05	0.62	93	0.05	0.63
2	0.05	0.69	48	0.05	0.63	94	0.05	0.62
3	0.05	0.72	49	0.04	0.66	95	0.04	0.60
4	0.05	0.64	50	0.04	0.63	96	0.04	0.60
5	0.05	0.63	51	0.04	0.63	97	0.04	0.68
6	0.05	0.62	52	0.04	0.60	98	0.04	0.64
7	0.05	0.62	53	0.05	0.63	99	0.04	0.66
8	0.04	0.66	54	0.05	0.62	100	0.05	0.66
9	0.04	0.64	55	0.05	0.64	101	0.04	0.69
10	0.05	0.66	56	0.04	0.65	102	0.05	0.74
11	0.05	0.63	57	0.04	0.64	103	0.05	0.63
12	0.04	0.66	58	0.05	0.62	104	0.05	0.67
13	0.05	0.63	59	0.04	0.64	105	0.05	0.71
14	0.05	0.64	60	0.04	0.62	106	0.05	0.68
15	0.04	0.65	61	0.04	0.65	107	0.05	0.64
16	0.05	0.68	62	0.04	0.62	108	0.05	0.66
17	0.04	0.66	63	0.04	0.65	109	0.04	0.66
18	0.05	0.65	64	0.04	0.62	110	0.05	0.69
19	0.04	0.71	65	0.04	0.62	111	0.04	0.74
20	0.04	0.63	66	0.04	0.67	112	0.05	0.63
21	0.04	0.64	67	0.05	0.67	113	0.04	0.67
22	0.04	0.63	68	0.04	0.62	114	0.04	0.71
23	0.05	0.62	69	0.05	0.64	115	0.04	0.68
24	0.04	0.61	70	0.05	0.65	116	0.04	0.64
25	0.05	0.63	71	0.05	0.60	117	0.04	0.72
26	0.04	0.68	72	0.04	0.62	118	0.04	0.69
27	0.04	0.63	73	0.04	0.66	119	0.04	0.67
28	0.05	0.62	74	0.05	0.66	120	0.04	0.71
29	0.05	0.62	75	0.04	0.66	121	0.05	0.76
30	0.05	0.62	76	0.04	0.62	122	0.05	0.71
31	0.04	0.65	77	0.05	0.62	123	0.05	0.68
32	0.05	0.63	78	0.04	0.62	124	0.05	0.67
33	0.05	0.61	79	0.04	0.66	125	0.05	0.68
34	0.05	0.61	80	0.04	0.61	126	0.04	0.66
35	0.05	0.58	81	0.04	0.62	127	0.05	0.74
36	0.04	0.58	82	0.04	0.67	128	0.04	0.72
37	0.05	0.63	83	0.04	0.63	129	0.04	0.68
38	0.05	0.65	84	0.04	0.63	130	0.04	0.69
39	0.04	0.63	85	0.04	0.72	131	0.05	0.66
40	0.04	0.62	86	0.05	0.67	132	0.04	0.64
41	0.05	0.65	87	0.05	0.66	133	0.04	0.74
42	0.04	0.63	88	0.05	0.67	134	0.04	0.70
43	0.04	0.61	89	0.05	0.65	135	0.05	0.75
44	0.04	0.64	90	0.04	0.63	136	0.04	0.70
45	0.04	0.63	91	0.04	0.66	137	0.05	0.68
46	0.04	0.63	92	0.04	0.67	138	0.04	0.71

**Ek.1 Troponin-I Testine Ait İç Kalite Kontrol Verileri**

Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye	Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye	Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye
139	0.05	0.66	176	0.04	0.71	213	0.05	0.70
140	0.05	0.64	177	0.04	0.72	214	0.05	0.67
141	0.05	0.67	178	0.04	0.65	215	0.05	0.75
142	0.05	0.64	179	0.05	0.62	216	0.05	0.69
143	0.04	0.68	180	0.04	0.62	217	0.05	0.77
144	0.04	0.70	181	0.05	0.70	218	0.04	0.75
145	0.05	0.71	182	0.04	0.68	219	0.05	0.66
146	0.05	0.67	183	0.04	0.74	220	0.04	0.71
147	0.04	0.64	184	0.05	0.71	221	0.04	0.69
148	0.05	0.63	185	0.04	0.67	222	0.04	0.68
149	0.04	0.62	186	0.04	0.68	223	0.04	
150	0.05	0.67	187	0.04	0.70	224	0.04	
151	0.05	0.71	188	0.04	0.70	225	0.05	
152	0.05	0.68	189	0.04	0.70	226	0.04	
153	0.05	0.66	190	0.04	0.68	227	0.04	
154	0.05	0.65	191	0.04	0.72	228	0.04	
155	0.05	0.69	192	0.04	0.71	229	0.05	
156	0.05	0.68	193	0.04	0.73	230	0.04	
157	0.05	0.73	194	0.04	0.72	231	0.05	
158	0.04	0.70	195	0.05	0.73	232	0.04	
159	0.05	0.68	196	0.05	0.73	233	0.05	
160	0.04	0.69	197	0.04	0.67	234	0.04	
161	0.05	0.69	198	0.04	0.70	235	0.04	
162	0.05	0.73	199	0.04	0.73	236	0.05	
163	0.04	0.69	200	0.04	0.74	237	0.05	
164	0.05	0.71	201	0.04	0.69	238	0.04	
165	0.05	0.70	202	0.05	0.72	239	0.05	
166	0.04	0.64	203	0.05	0.69	240	0.04	
167	0.04	0.64	204	0.04	0.72	241	0.04	
168	0.05	0.67	205	0.05	0.72	242	0.05	
169	0.05	0.70	206	0.05	0.71	243	0.05	
170	0.05	0.71	207	0.04	0.69	244	0.04	
171	0.05	0.70	208	0.04	0.67	245	0.04	
172	0.04	0.69	209	0.05	0.67	246	0.04	
173	0.05	0.67	210	0.05	0.69			
174	0.05	0.64	211	0.05	0.69			
175	0.05	0.75	212	0.05	0.70			

**Ek-2. Prostat Spesifik Antijen Testine Ait İç Kalite Kontrol Verileri**

Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye	Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye	Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye
1	0.80	3.64	46	0.93	3.81	91	0.78	3.49
2	0.85	3.64	47	0.91	4.01	92	0.87	3.59
3	0.79	3.67	48	0.91	4.05	93	0.87	3.52
4	0.81	3.43	49	0.79	3.83	94	0.84	3.4
5	0.81	3.50	50	0.84	3.64	95	0.83	3.67
6	0.83	3.67	51	0.84	3.64	96	0.78	3.53
7	0.88	3.55	52	0.81	3.56	97	0.81	3.46
8	0.81	3.49	53	0.80	3.57	98	0.76	3.67
9	0.79	3.30	54	0.79	3.55	99	0.86	3.31
10	0.80	3.56	55	0.86	3.52	100	0.78	3.59
11	0.78	3.46	56	0.79	3.60	101	0.77	3.35
12	0.81	3.58	57	0.83	3.47	102	0.82	3.46
13	0.79	3.57	58	0.74	3.30	103	0.77	3.69
14	0.81	3.30	59	0.80	3.51	104	0.71	3.29
15	0.83	3.26	60	0.80	3.62	105	0.81	3.36
16	0.81	3.36	61	0.86	3.6	106	0.75	3.41
17	0.82	3.80	62	0.82	3.5	107	0.80	3.66
18	0.86	3.50	63	0.83	3.38	108	0.79	3.44
19	0.84	3.65	64	0.82	3.42	109	0.81	3.58
20	0.84	3.53	65	0.83	3.57	110	0.88	3.70
21	0.86	3.52	66	0.79	3.33	111	0.89	3.55
22	0.79	3.80	67	0.77	3.42	112	0.82	3.71
23	0.89	3.50	68	0.86	3.60	113	0.80	3.47
24	0.84	3.65	69	0.76	3.61	114	0.84	3.59
25	0.92	3.55	70	0.86	3.27	115	0.76	3.45
26	0.83	3.52	71	0.78	3.48	116	0.75	3.43
27	0.89	3.74	72	0.91	3.50	117	0.73	3.23
28	0.85	3.64	73	0.91	4.10	118	0.80	3.57
29	0.81	3.60	74	0.83	3.68	119	0.86	3.42
30	0.87	4.22	75	0.87	3.70	120	0.87	3.91
31	0.87	3.69	76	0.85	3.66	121	0.85	3.65
32	0.89	3.66	77	0.87	3.70	122	0.84	3.36
33	0.87	3.69	78	0.84	3.59	123	0.82	3.37
34	0.90	3.40	79	0.86	3.37	124	0.88	3.52
35	0.87	3.50	80	0.92	3.65	125	0.82	3.64
36	0.88	3.52	81	0.86	3.67	126	0.86	3.65
37	0.85	3.36	82	0.84	3.87	127	0.80	3.74
38	0.76	3.36	83	0.89	3.87	128	0.78	3.48
39	0.88	3.95	84	0.85	3.69	129	0.84	3.91
40	0.82	3.78	85	0.87	3.66	130	0.85	3.65
41	0.85	3.78	86	0.80	3.43	131	0.84	3.36
42	0.86	3.99	87	0.88	3.48	132	0.82	3.37
43	0.80	3.76	88	0.82	3.45	133	0.76	3.52
44	0.82	3.63	89	0.85	3.36			
45	0.82	3.81	90	0.83	3.38			

**Ek-3. Tiroid Stimulan Hormon Testine Ait İç Kalite Kontrol Verileri**

Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye	Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye	Ölçüm Sayısı	1.Seviye	2.Seviye
1	0.35	4.60	43	0.37	4.90	85	0.41	4.33
2	0.40	4.78	44	0.35	4.40	86	0.38	4.72
3	0.35	4.16	45	0.33	4.95	87	0.39	4.50
4	0.35	4.61	46	0.36	4.89	88	0.35	4.28
5	0.41	4.92	47	0.36	4.31	89	0.38	4.26
6	0.37	4.94	48	0.38	4.89	90	0.37	4.56
7	0.39	4.70	49	0.40	4.27	91	0.40	4.45
8	0.40	4.51	50	0.38	4.39	92	0.38	4.93
9	0.41	5.07	51	0.37	4.38	93	0.35	4.75
10	0.37	4.84	52	0.40	4.20	94	0.36	4.01
11	0.39	4.40	53	0.36	4.73	95	0.36	3.95
12	0.40	4.30	54	0.36	4.12	96	0.37	3.84
13	0.36	4.64	55	0.39	4.14	97	0.39	4.12
14	0.35	4.03	56	0.40	4.31	98	0.40	4.08
15	0.39	4.76	57	0.39	3.94	99	0.42	4.26
16	0.39	4.53	58	0.41	4.23	100	0.40	4.52
17	0.38	4.60	59	0.40	5.59	101	0.40	4.51
18	0.34	4.66	60	0.38	4.67	102	0.39	4.85
19	0.37	4.57	61	0.35	4.07	103	0.38	4.24
20	0.36	4.56	62	0.38	4.91	104	0.38	4.69
21	0.36	4.10	63	0.35	4.18	105	0.40	4.62
22	0.33	4.53	64	0.34	4.61	106	0.40	4.83
23	0.31	4.00	65	0.37	4.58	107	0.40	4.55
24	0.38	4.07	66	0.36	4.85	108	0.37	4.28
25	0.38	4.51	67	0.38	4.65	109	0.37	4.83
26	0.37	4.27	68	0.39	4.57	110	0.42	4.34
27	0.33	4.20	69	0.36	4.72	111	0.37	4.55
28	0.35	4.55	70	0.37	4.61	112	0.38	4.48
29	0.33	4.13	71	0.37	4.48	113	0.42	4.23
30	0.36	4.15	72	0.37	4.73	114	0.36	4.45
31	0.33	4.64	73	0.38	4.72	115	0.35	4.64
32	0.36	4.34	74	0.39	4.77	116	0.38	4.61
33	0.40	4.87	75	0.37	4.87	117	0.34	4.69
34	0.39	4.59	76	0.39	4.40	118	0.37	4.23
35	0.35	4.17	77	0.39	4.79	119	0.38	4.65
36	0.32	4.57	78	0.42	4.67	120	0.40	4.74
37	0.36	4.32	79	0.42	4.50	121	0.43	4.48
38	0.38	4.46	80	0.35	4.30	122	0.37	4.34
39	0.43	4.69	81	0.40	4.60	123	0.38	4.68
40	0.37	4.04	82	0.39	4.50			
41	0.40	4.31	83	0.42	4.43			
42	0.37	4.21	84	0.42	4.70			