

## İyon değiştirici kromatografi yöntemi ile ölçülen HbA2 ve HbA1c'nin ölçüm belirsizliğinin tespiti

### Evaluation of measurement uncertainty of HbA2 and HbA1c measured by ion exchange chromatography

Yakup DÜLGEROĞLU<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışma ile Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda ölçülen HbA2 ve HbA1c parametrelerinin ölçüm belirsizliği hesaplanarak, test sonucunun yorumlanmasında ve klinik kararın ortaya çıkmasında ölçüm belirsizliğinin etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** GUM ve EURACHEM kılavuzları temelinde; HbA2 ve HbA1c parametrelerinin her biri için kalibratörden, kalibrasyondan, dış kalite kontrol sonuçlarından ve iç kalite kontrol sonuçları kullanılarak hesaplanan tekrarlanabilirlikten kaynaklanan belirsizlik bileşenleri kullanılarak standart birleşik belirsizlik ve genişletilmiş belirsizlik hesaplanmıştır. Çalışma, BIO-RAD D10 HPLC cihazında katyon değiştirici kromatografi yöntemi ile HbA1c ve HbA2/HbF/A1c dual kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular:** HbA1c için kalibratörden kaynaklanan belirsizlik 0,0024; kalibrasyon kayma belirsizliği 0,0047; dış kalite kontrol verilerinden hesaplanan belirsizlik 0,0013 ve tekrarlanabilirlikten kaynaklanan belirsizlik 0,004 olarak hesaplanmıştır. HbA1c için standart birleşik belirsizlik 0,037 ve genişletilmiş belirsizlik %7,4 olarak hesaplanmıştır. HbA2 için

#### ABSTRACT

**Objective:** It has been aimed to evaluate measurement uncertainty's effect on interpreting the result of test and on clinical decision as measurement uncertainty of HbA2 and HbA1c parameters which are measured on Bilecik Public Health Laboratory is calculated, on this study.

**Methods:** On the base of GUM and EURACHEM guidelines; combined standard uncertainty and expanded uncertainty have been calculated for each of HbA2 and HbA1c by used uncertainty components which arise from calibrator, calibration, results of external quality control (EQC) and repeatability that is calculated by the use of results of internal quality control (IQC). The study has been done by the usage of HbA1c and HbA2/HbF/A1c dual kit on the device of BIO-RAD D10 HPLC cation exchange chromatography.

**Results:** Measurement uncertainty which arises from calibrator, calibration bias, EQC and repeatability for HbA1c has been calculated as 0,0024; 0,0047; 0,0013 and 0,004 respectively. Combined standard uncertainty has been calculated as 0,037 and expanded uncertainty has been calculated as 7,4% for HbA1c. Measurement uncertainty which arises from calibrator,

<sup>1</sup>Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı, Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı, Bilecik



İletişim / Corresponding Author : Yakup DÜLGEROĞLU

Bahçelievler M. Gündüz S. No: 1 Bilecik - Türkiye

Tel : +90 505 733 19 65 E-posta / E-mail : dulgerogluyakup@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 29.02.2016

Kabul Tarihi / Accepted : 11.08.2017

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2017.80488

Dülgeroğlu Y. İyon değiştirici kromatografi yöntemi ile ölçülen HbA2 ve HbA1c'nin ölçüm belirsizliğinin tespiti. Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(4): 299-306

kalibratörden kaynaklanan belirsizlik 0,0092; kalibrasyon kayma belirsizliği 0,02; dış kalite kontrol verilerinden hesaplanan belirsizlik 0,0178 ve tekrarlanabilirlikten kaynaklanan belirsizlik 0,0093 olarak hesaplanmıştır. HbA2 için standart birleşik belirsizlik 0,148 ve genişletilmiş belirsizlik %29,6 olarak hesaplanmıştır.

**Sonuç:** Yapılan bu çalışma ile HbA1c için %6 olan tıbbi karar düzeyinde  $\pm 0,4$  ölçüm belirsizliği olduğu ve klinik kararı etkileyebileceği görülmüştür. Böylelikle; HbA1c sonucu bu seviyelerde olan ve özellikle diyabet tanısı almamış hastaları değerlendirirken daha dikkatle yaklaşılması gerektiği, açlık kan şekeri, anamnez bilgileri ve hastanın yakınmaları da dikkate alınarak hastaya oral glukoz tolerans testi önerilebileceği değerlendirilmiştir. Ayrıca talasemi taraması kapsamında ölçülen HbA2 için %3,7 olan tıbbi karar düzeyinde  $\pm 1,1$  gibi nispeten yüksek bir ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır. Bu ölçüm belirsizliğini içine alan HbA2 değerleri olan hastaların değerlendirilmesinde hemogram bulguları daha dikkatle incelenmeli ve şüpheli durumlarda ileri tetkik için yönlendirilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Ölçüm belirsizliği, HbA2, HbA1c, diyabet, talasemi

calibration bias, EQC and repeatability for HbA2 has been calculated as 0,0092; 0,02; 0,0178 and 0,0093 respectively. Combined standard uncertainty has been calculated as 0,148 and expanded uncertainty has been calculated as 29,6% for HbA2.

**Conclusion:** On this study which has been made, It has been seen that there is  $\pm 0,4$  measurement uncertainty on medical decision level which is 6% for HbA1c and it would affect on clinical decision. Thus; It has been evaluated that it requires to be approached with much more care while evaluating patients who has these levels as the result of HbA1c and who has not had especially diagnosis of diabetes and oral glucose tolerance test would be suggested to patient in consideration with fasting blood glucose and patient's complaints. Moreover, relatively high measurement uncertainty such as  $\pm 1,1$  has been calculated on medical decision level which is 3,7% for HbA2 that has been measured within thalassemia screening. Hemogram findings should be examined with more care on the evaluation of patients who have got HbA2 values which involves this measurement uncertainty and they should be guided for further investigation on doubtful cases.

**Key Words:** Measurement uncertainty, HbA2, HbA1c, diabetes, thalassemia

## GİRİŞ

Tıbbi laboratuvarlar, günümüz tıbbında hastaya tanı konulması, hastalığın tedavisi ve takibinde oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Bu noktada tıbbi laboratuvarların görevi klinisyen hekimde test isteme fikrinin oluşması ile başlayıp, bu test sonucunun hasta yararına kullanılması ile sona ermektedir. Hiçbir test sonucunun mutlak doğruyu yansıtamayacağı düşünüldüğünde, ölçüm belirsizliği kavramı, test sonucunun hasta yararına kullanılması için oldukça önemlidir. Özellikle tıbbi karar sınırlarında ölçülen bir

sonucun ne kadarlık bir belirsizlik ile ölçüm yapıldığının bilinmesi, test sonucunun yorumlanmasına değerli katkılar yapacaktır.

Ölçüm belirsizliği, bir analiz sırasında rastlantısal etkilerin sonucunda ölçülen değer hangi sınırlarda değişiklik gösterebileceği hakkında bilgi verir ve elde edilen ölçüm sonucunun kalitesinin kantitatif bir göstergesidir. Bir ölçüm sonucunun gerçek değeri hangi ölçüde temsil ettiğinin tahmin edilmesine olanak sağlar (1). ISO 15189 tıbbi laboratuvarların

kalite standartları gereği belirsizlik bileşenlerini dikkate alarak ölçüm belirsizliğini hesaplamalarını tavsiye etmektedir (2).

Ölçüm belirsizliğine; ölçüm öncesi (örnek alımı, taşıma, biyolojik varyasyon gibi), ölçüm sırasında (reaktif, kalibratör, operatör gibi) ve ölçüm sonrası (raporlama, yazılım gibi) birçok faktör katkı yapabilmektedir (3). Bu nedenle ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında bir görüş birliği olmayıp, farklı öneriler mevcuttur. Ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında kullanılacak yöntemler, ISO tarafından yayınlanan "Guide to the expression of uncertainty of measurements (GUM)" adlı kılavuzda yer almaktadır (4). Ancak konu ile ilgili Nordest ya da EURACHEM "Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" gibi başka kılavuzlar da bulunmaktadır (5, 6).

HbA2 ölçümü, halk sağlığı laboratuvarlarında talasemi taraması kapsamında evlilik öncesi çiftlerde ya da aile taraması olarak oldukça yoğun çalışılan bir testtir. Ölçüm yöntemi olarak sıklıkla HPLC ya da kapiller elektroforez kullanılmaktadır. Talasemi, hemoglobin zincirlerinden birisi ya da daha fazlasının azlığı ya da yokluğu ile karakterize olan genetik geçişli bir hastalıktır (7). Kesin tedavisinin olmaması, talasemi ile mücadelede tarama programlarını daha da önemli hale getirmektedir. Bu nedenle verilen sonucun ölçüm belirsizliğinin bilinmesi, tıbbi karar düzeylerindeki bir değer için ileri araştırmaya gidilip gidilmemesinde rehber niteliğinde olacaktır.

Halk sağlığı laboratuvarlarında ölçülen bir diğer önemli test olan HbA1c, diyabet tedavisinin etkinliğinin izleminde günümüzde asıl parametreyi teşkil etmektedir. Amerikan Diyabet Derneği (ADA), diyabet tedavisinde temel amacın HbA1c seviyelerinin %7'nin altında tutulması olduğunu ve %8'in üzerindeki bir HbA1c sonucunun, tedavinin yeniden gözden geçirilmesini gerektireceğini önermektedir. HbA1c ölçümünde kullanılan metodun bu karar limitlerinde en fazla %3 CV (varyasyon katsayısı) değerini sağlaması gerektiği ve daha yukarıdaki %CV değerlerinin uygun

olmadığı bildirilmektedir (8). Bu nedenle HbA1c'nin ölçüm belirsizliğinin bilinmesi diyabet tedavisinin izleminde oldukça önemlidir.

Bu çalışma kapsamında Bilecik Halk Sağlığı Laboratuvarı'nda ölçülen HbA2 ve HbA1c testlerinin ölçüm belirsizliği hesaplanarak, test sonucunun yorumlanması ve hasta yararına kullanılmasında ölçüm belirsizliğinin katkısının araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma GUM ve EURACHEM rehberlerinde tanımlanan ölçüm belirsizliği hesaplamaları temel alınarak yapılmıştır (4,5). Bu çalışmaya dahil edilen örnekler için hasta ya da hastalıklara ilişkin klinik bir yorumda bulunulmamış olup, iyi laboratuvar uygulamaları ve kaliteli sonuç üretimi temelinde istatistiksel hesaplamalar yapılmıştır. Çalışma, ortalama 22-23 °C oda ısısında BIO-RAD D10 yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında, katyon değiştirici kromatografi tekniği temelinde HbA1c ve HbA2/HbF/A1c dual kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, 4 mm ID (iç çap) x 30 mm katyon değiştirici kolon kullanılarak yapılmıştır (REF: 220-0212).

### Belirsizlik Bileşenlerinin Tespiti ve Hesaplanması

Laboratuvarımızda HbA1c ve HbA2 için ölçüm belirsizliğine kaynak teşkil edebilecek aşağıdaki 4 aşama tespit edilerek standart ölçüm belirsizliği hesaplandı.

#### 1. Kalibratörden kaynaklanan belirsizlik

Kalibrasyon sırasında kullanılan kalibratörden kaynaklanan belirsizliğinin hesaplanması için ticari olarak mevcut olan ve karar limitlerine en yakın düzeyde analit içeren %5.6 değerindeki HbA1c kalibratörü (Bio-rad D10 Dual Program HbA1c calibrator, AA40277) ve %2.6 değerindeki HbA2 kalibratörü (Bio-rad D10 Dual Program HbA2 calibrator, AA40278) kullanıldı. Kullanılan kalibratörlere ait sertifikalarda belirtilen bir ölçüm belirsizliği değeri olmadığından, bu kalibratörler 10'ar defa çalışılarak kalibrasyon belirsizliği hesaplandı. Öncelikle her bir test için ayrı ayrı olmak üzere kalibratörlerin 10 defa çalışılmasıyla elde edilen aritmetik ortalama (Xort) ve standart sapma (SD) belirlendi. Daha

sonra aşağıdaki formüle göre standart belirsizlik hesabı yapıldı (n= ölçüm sayısı).

$$u \text{ (kalibratör)} = (SD/\sqrt{n}) \times (1/X_{ort})$$

$$HbA2 \text{ u (kalibratör)} = (0.073/\sqrt{10}) \times (1/2.51) = 0.0092$$

$$HbA1c \text{ u (kalibratör)} = (0.042/\sqrt{10}) \times (1/5.55) = 0.0024$$

## 2. Kalibrasyon kayma belirsizliği

Kalibrasyon eğrisinde meydana gelebilecek kaymadan kaynaklı belirsizliğin hesaplanmasında, HbA1c (%5.6) ve HbA2 (%2.6) için kullanılan kalibratörün 10'ar defa çalışılması ile elde edilen aritmetik ortalama ( $X_{ort}$ ) kullanılarak, yanlılık (bias) hesaplandı. Daha sonra dağılımın dikdörtgen dağılıma uyduğu kabul edilerek, bulunan yanlılık değerinin  $\sqrt{3}$ 'e bölünmesiyle belirsizlik hesaplandı. Buna göre;

$$u \text{ (kalib. yanlılık)} = [(kalibratörün \text{ değeri} - X_{ort}) / kalibratörün \text{ değeri}] / \sqrt{3}$$

$$HbA2 \text{ u (kalib. yanlılık)} = [(2.6 - 2.51) / 2.6] / \sqrt{3} = 0.02$$

$$HbA1c \text{ u (kalib. yanlılık)} = [(5.6 - 5.55) / 5.6] / \sqrt{3} = 0.0047.$$

## 3. Dış kalite kontrol verilerinden kaynaklanan belirsizlik

Dış kalite kontrollerinden kaynaklanan belirsizlik ( $u_{dkk}$ ), External Quality Assessment System (EQAS, Biorad, California, USA) dış kalite kontrol programından 2015 yılına ait son üç kontrol sonucu kullanılarak belirlendi (Tablo 1). Belirsizlik hesabında aşağıdaki formül kullanıldı.

$$u_{dkk}^2 = (\Sigma\%sapma^2) / n$$

$$HbA2 (u_{dkk}^2) = [(-0.14)^2 + (-0.07)^2 + (-0.17)^2] / 3 \\ = (0.0196 + 0.0049 + 0.0289) / 3 = 0.0178$$

$$HbA1c (u_{dkk}^2) = [(0.049)^2 + (0.035)^2 + (-0.021)^2] / 3 \\ = (0.0024 + 0.0012 + 0.0004) / 3 = 0.0013.$$

## 4. Tekrarlanabilirlikten kaynaklanan belirsizlik

Ölçüm belirsizliği hesabında; HbA2 için bio-rad marka 34401 ve 34402 lot numaralı iki seviye kontrol numuneleri, HbA1c için ise bio-rad marka 33881 ve 33882 lot numaralı iki seviye kontrol numunelerine ait son 60 günlük iç kalite kontrol sonuçları kullanıldı. Ölçüm sonuçlarından aritmetik ortalama ( $X_{ort}$ ) ve standart sapma değerleri bulundu (Tablo 2). Daha sonra her bir seviye için aşağıdaki formülle standart ölçüm belirsizliği hesaplandı. İki farklı seviyeden elde edilen belirsizlik değerlerinin ortalaması alınarak birleşik belirsizlik hesabında kullanıldı (n= ölçüm sayısı).

$$u \text{ (tekrar)} = (SD/\sqrt{n}) \times (1/X_{ort}) \text{ ya da } (SD/X_{ort}) \times (1/\sqrt{n}) = (CV)/\sqrt{n}$$

$$HbA1c \text{ u (tekrar)} = [(0.201/\sqrt{60}) \times (1/5.518) + (0.249/\sqrt{60}) \times (1/10.167)] / 2 \\ = (0.0047+0.0032) / 2 \\ = 0.004$$

$$HbA2 \text{ u (tekrar)} = [(0.2/\sqrt{60}) \times (1/2.78) + (0.43/\sqrt{60}) \times (1/6.02)] / 2 \\ = (0.0094+0.0091) / 2 \\ = 0.0093.$$

Tablo 1. HbA2 ve HbA1c dış kalite kontrol kaynaklı belirsizlik hesabı

HbA2			HbA1c		
Örnek	% sapma	% sapma <sup>2</sup>	Örnek	% sapma	% sapma <sup>2</sup>
1. Ay	-0.14	0.0196	1. Ay	0.049	0.0024
2. Ay	-0.07	0.0049	2. Ay	0.035	0.0012
3. Ay	-0.17	0.0289	3. Ay	-0.021	0.0004
$\Sigma\%sapma^2$		0.0534	$\Sigma\%sapma^2$		0,004
$u_{dkk}^2$		0.0178	$u_{dkk}^2$		0,0013

Tablo 2. HbA1c ve HbA2 iç kalite kontrol sonuçlarından elde edilen veriler

Parametre		Ortalama (Xort)	Standart Sapma (SD)	% CV
HbA1c	Seviye 1	5.518	0.201	3.647
	Seviye 2	10.167	0.249	2.447
HbA2	Seviye 1	2.780	0.197	7.096
	Seviye 2	6.023	0.433	7.184

#### Standart birleşik belirsizliğin hesaplanması

Tespit edilen belirsizlik kaynaklarından hesaplanan belirsizliklerden faydalanarak aşağıdaki formüle göre standart birleşik belirsizlik (uc) hesaplandı.

$$uc = \sqrt{u(\text{kalibratör})^2 + u(\text{kalib. yanlılık})^2 + u_{\text{dkk}}^2 + u(\text{tekrar})^2}$$

$$\text{HbA1c uc} = \sqrt{(0.0024)^2 + (0.0047)^2 + (0.0013)^2 + (0.004)^2} = 0.037$$

$$\text{HbA2 uc} = \sqrt{(0.0092)^2 + (0.02)^2 + (0.0178)^2 + (0.0093)^2} = 0.148.$$

#### Genişletilmiş belirsizliğin hesaplanması

Standart birleşik belirsizlik %95 güven aralığında k faktörü ile çarpılarak genişletilmiş belirsizlik (U) hesaplandı (k= 2 olarak kabul edildi). Buna göre;

$$UHbA1c = 2 \times 0.037 = 0.074 = \%7.4$$

$$UHbA2 = 2 \times 0.148 = 0.296 = \%29.6.$$

#### BULGULAR

Bu çalışma ile HbA2 ve HbA1c için BIO-RAD D10 HPLC cihazında dual kit kullanılarak yapılan analizlerdeki çeşitli kaynaklardan gelen ölçüm belirsizliği, standart birleşik belirsizlik ve genişletilmiş belirsizlik hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 3'de yer almaktadır.

Bu sonuçlara göre HbA1c için %95 güven aralığında genişletilmiş belirsizlik değeri %7.4 olarak hesaplanmıştır. Laboratuvarımızda HbA1c referans aralığı %4-6 olarak raporlanmaktadır. Bu durumda tıbbi karar düzeyi olan %6 seviyesinde ölçülen bir hasta sonucu için ölçüm belirsizliği  $\pm 0.4$ 'tür. Yani  $\pm 6 \pm 0.4$  şeklinde raporlanmalıdır.

Çalışmamızda ölçüm belirsizliği değeri hesaplanan bir diğer parametre olan HbA2 için %95 güven

Tablo 3. HbA1c ve HbA2 ölçüm belirsizlikleri

Parametre	u(kalibratör)	u(kalib. yanlılık)	$u_{\text{dkk}}^2$	u(tekrar)	uc	U (%)
HbA1c	0.0024	0.0047	0.0013	0.004	0.037	7.4
HbA2	0.0092	0.02	0.0178	0.0093	0.148	29.6

aralığında genişletilmiş ölçüm belirsizliği değeri %29.6 olarak tespit edilmiştir. Laboratuvarımızda HbA2 için referans aralık %1.5 - 3.7 arasındadır. Yapılan ölçümde %3.7 çıkan bir HbA2 sonucu için ölçüm belirsizliği  $\pm 1.1$ 'dir. Yani %3.7 $\pm$ 1.1 şeklinde raporlanmalıdır.

### TARTIŞMA

Ölçüm belirsizliği, ölçülen büyüklüğe mantıklı olarak atfedilebilecek bütün değerlerin dağılımıyla karakterize olan, ölçüm sonucu ile ilişkili bir parametredir. Her ölçüm sonucu; örnekleme, analiz ya da eksik bilgi gibi çeşitli aşamalardan kaynaklanan ve sonucu etkileyen bir ölçüm belirsizliğine sahiptir. Bu nedenle ISO17025 ve ISO 15189 laboratuvarların ölçüm belirsizliğini hesaplamalarını gerekli görmektedir. Yakın gelecekte ise ölçüm belirsizliklerinin ölçülen sonuç ile birlikte raporlanmasının yaygın kullanım haline gelmesi muhtemeldir (2, 5).

İlk bakışta ölçüm belirsizliğinin bilinmesinin klinik bir katkısından ziyade laboratuvar analiz sürecinin değerlendirilmesi ile ilişkili olduğu söylenebilir. Ancak, hasta sonuç raporlarıyla birlikte ölçüm belirsizliğinin belirtilmesi, özellikle tıbbi karar düzeylerindeki ölçümlerde test sonucunun klinik yorumunu doğrudan etkileyebilecektir (8). Henüz sonuç raporlarında ölçüm belirsizliğinin belirtilmesi bir zorunluluk olmasa da talep üzerine bilgilendirme yapılabilmesi için klinik laboratuvarların çalıştıkları testlerle ilgili ölçüm belirsizliği bilgisine sahip olması gereklidir (3).

Çalışmamızda Bio-rad D10 HPLC cihazında katyon değiştirici kromatografi yöntemi ile ölçülen HbA2 ve HbA1c'nin ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır. Buna göre; genişletilmiş ölçüm belirsizliği HbA1c için %7.4 ve HbA2 için %29.6 olarak bulunmuştur.

Tıbbi karar düzeylerindeki değerlerde bu belirsizliklerin hesaba katılması ile tanı ve tedavinin şekli değişebilecektir. Şöyle ki; referans

aralığımızın %4.0 - 6.0 arasında değiştiği HbA1c testinde %6 olarak ölçülen bir sonuç,  $\pm 0.4$  düzeyinde bir ölçüm belirsizliği içermektedir. Yani bu ölçülen sonuç %5.6 - 6.4 arasında değişmektedir. Bu değerler bize göstermektedir ki belirsizlik sınırları içerisinde diyabet olmayan bir hastaya diyabet tanısı konması mümkün olduğu gibi diyabeti olan bir hastanın diyabet tanısının atlanması da mümkündür. Bu nedenle özellikle diyabet tanısı almamış bir hastada %6 civarında bir HbA1c sonucu mutlaka açlık kan şekeri ile birlikte değerlendirilmeli ve gerekirse oral glukoz tolerans testi ile hastada diyabet tanısı dışlanmalı ya da kesinleştirilmelidir.

HbA2 ölçümleri açısından bakıldığında, literatürde Ellidağ ve ark. Tosoh HLC 723 G8 cihazında HbA2 ölçüm belirsizliğini %12.4 olarak hesaplamışlardır (9). Buna göre çalışmamızda hesapladığımız %29.6 düzeyindeki bir ölçüm belirsizliği nispeten yüksek görünmektedir. Bu belirsizlik değerine göre; laboratuvarımızın referans aralığının %1.5 - 3.7 arasında olduğu düşünüldüğünde, %3.7'lik HbA2 sonucu  $\pm 1.1$  ölçüm belirsizliği içermekte ve %2.6 - 4.8 arasında bir belirsizlik sınırına sahip olmaktadır. Aynı şekilde %3 olan bir HbA2 sonucunun ölçüm belirsizliği  $\pm 0.8$ 'dir. Bu durumda hasta sonucu 2.2 - 3.8 arasında değişmekte ve tıbbi karar düzeyinin üstüne çıkmaktadır. Bu belirsizlik düzeyinde hasta sonuçları yorumlanırken mutlaka hemogram sonucuyla birlikte değerlendirilmeli ve referans aralığımızın üst limiti %3.7 dahi olsa %3'ün üzerindeki değerleri olan hastalarda talasemi taşıyıcılığı ile uyumlu bulgu ve anamnez bilgisi olanlar gerekirse ileri tetkik için yönlendirilmelidir.

Çalışmamızda HbA2 belirsizliğinin nispeten yüksek bir değerde olmasının asıl kaynağı dış kalite kontrol değerlendirme sonuçlarıdır. Öyle ki belirsizlik bileşeni olarak sadece dış kalite kontrol sonuçlarını çalışmaya dahil etsek

dahi %26 gibi yüksek bir belirsizlik oranıyla karşılaşmaktayız. Oysa çalışmaya dahil edilen son 3 aylık dış kalite kontrol sonucunun hiçbirinde z skoru  $\pm 2$ 'nin dışına çıkmamıştır. Bu da bize dış kalite kontrol sonuçlarında sadece z skoru üzerinden bir değerlendirmenin doğru olmadığı fikrini vermektedir. Bilindiği gibi z skorunun  $\pm 2$  dışında olması düzenleyici önleyici faaliyet yapılması yönünde yorumlanmaktadır. Z skoru hesaplanmasında “(katılımcı laboratuvar sonucu - grup ortalaması) / standart sapma” formülü kullanılmaktadır. Yani standart sapma z skoruna doğrudan etkilidir. Örneğin, çalışmaya dahil edilen Nisan 2015 dış kalite kontrol sonuçlarına göre HbA2'nin aynı cihaz ortalaması %2.23, bizim ölçüm değerimiz %1.9, standart sapma 0.262, %sapma -14.8 ve z skoru -1.26'dır. Sadece z skoru üzerinden değerlendirildiğinde ölçüm sonucumuz  $\pm 2$  aralığında ve kabul edilebilir sınırlardadır. Oysa aynı ölçüm için standart sapma 0.15 olsaydı z skoru -2.2 olacak ve düzenleyici önleyici faaliyet yapılması gerekecekti. Sonuçta, katılımcı laboratuvarların ortalamadan uzakta ve birbirlerinden farklı ölçüm

yapıyor olmaları, ölçüm sonucumuzun doğruluğunu etkileyebilmektedir. Bu nedenle, dış kalite kontrol sonuçları değerlendirilirken %sapma değerleri kullanılarak ölçüm belirsizliğinin hesaplanması ve z skoru ile birlikte ölçüm belirsizliğinin de göz önünde bulundurulması daha uygun olabilir.

Sonuç olarak; klinik laboratuvarlarda ölçüm belirsizliğinin hesaplanması, sonuçların yorumlanması ve klinik kararı doğrudan etkileyebilecek önemdedir. Ölçüm sonucuna etkisi muhtemel bileşenlerin belirlenerek, bu bileşenlerden kaynaklanan belirsizliğin hesaplanması, kaliteli sonuç üretme ideali olan klinik laboratuvarlar için mutlaka yapılması gereken bir uygulamadır. Ölçüm belirsizliğinin bilinmesi aynı zamanda ölçüm sonucu üzerine hangi bileşenin daha fazla belirsizlik yüklediğini değerlendirmek ve buna göre önlem almak için de değerli bilgiler sağlamaktadır. Bizim çalışmamızda özellikle HbA2 için dış kalite kontrol sonuçlarından kaynaklı bir belirsizlik olduğu görülmüştür. Bu bulgu doğrultusunda ölçüm kalitesinin artırılması için gerekli uygulamalar yapılacaktır.

**KAYNAKLAR**

1. Türkmen S., Yıldırım ST., Yekrek M. ve ark., “İyi klinik laboratuvar uygulamaları kapsamında TSH ve PSA parametrelerinin ölçüm belirsizliğinin değerlendirilmesi”, *Turkish Journal of Biochemistry*, 2014, 39(4):476-481.
2. Anonymous, “P903: Policy on Estimating Measurement Uncertainty for ISO 15189 Testing Laboratories”, *American Association for Laboratory Accreditation*, 2014.
3. Eddie Ang Han San (Chairman), “Technical Guide 4: A Guide on Measurement Uncertainty in Medical Testing”, *The SAC Accreditation Programme by SPRING Singapore*, 2013.
4. Anonymous, “JCGM 2008: Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement”, *Corrected version 2010*.
5. S.L.R. Ellison, A. Williams (Editors), “EURACHEM/ CITAC Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement”, 2012.
6. B. Magnusson, H. Hovind, M. Krysell, T. Naykki, “Nordest Handbook for calculation of measurement uncertainty based on quality control and method validation”, *The first international proficiency testing conference, Sinaia, Romania*, 2007.
7. S.A. Sarnaik, “Thalassemia and Related Hemoglobinopathies”, *Indian Journal of Pediatrics* 2005, 72 (4), 319-327.
8. G.H. White, I. Farrance, “Uncertainty of Measurement in Quantitative Medical Testing”, *Clin Biochem Rev*, Vol 25, Suppl (ii), November, 2004.
9. H.Y. Ellidağ, E. Eren, Ö. Aydın, F. Savaş, N. Yılmaz, “Talasemi Taramasında HbA2'nin Ölçüm Belirsizliği”, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2014; 12(1): 31-35.