

ANALİTİK ÖLÇÜM
YÖNTEMLERİNİN
LABORATUVARA KURULMASI
İLE İLGİLİ HESAPLAMALAR

Doç.Dr. Mustafa ALTINIŞIK

ADÜTF Biyokimya AD

2005

Yöntem Seçiminde Göz Önünde Bulundurulacak Özellikler 1

*Yönteme ilişkin prensipler saptanmalıdır.

*Reaktif ve standartlar için:

-Kimyasal bileşim

-Birim test için gereken miktarlar

-Ambalajın açılmasından önce ve sonra depolama koşulları belirlenmelidir.

*Reaktif ve standartların uygun koşullarda saklandıklarında raf ömürleri belirlenmelidir.

Yöntem Seçiminde Göz Önünde Bulundurulacak Özellikler 2

*Olası hasarlar ve güvenlik önlemleri konusunda kullanıcı uyarılmalıdır.

*Atık madde tipi ve miktarı belirlenmelidir.

*Örneğe ilişkin bilgiler:

-Örnek toplama koşulları

-Örnek hacmi

-Antikoagullanlar ve koruyucular

-Saklama koşulları belirlenmelidir.

Yöntem Seçiminde Göz Önünde Bulundurulacak Özellikler 3

- *Doğruluk (accuracy) saptanmalıdır.
- *Kesinlik (precision) saptanmalıdır.
- *Analitik aralık saptanmalıdır.
- *Linearite saptanmalıdır.
- *Referans aralığı belirlenmelidir.
- *Yönteme ilişkin tam ve ayrıntılı çalışma şeması yapılmalıdır.

Yöntem Seçiminde Göz Önünde Bulundurulacak Özellikler 4

- *Ölçümün yapılacağı cihazın özellikleri, performansı ve uygulamaya ilişkin sınırlamalar tartışılmalıdır.
- *Teknik destek, yedek parça ve teknik servis sağlanması konuları dikkate alınmalıdır.
- *Laboratuvar koşulları da değerlendirmeye alınmalıdır:
 - Laboratuvarda uygun ve yeterli alan
 - Teknisyenlerin deneyim düzeyi ve ayıracakları zaman
 - Laboratuvar çalışanlarına verilecek eğitim

Yöntem Seçiminde Göz Önünde Bulundurulacak Özellikler 5

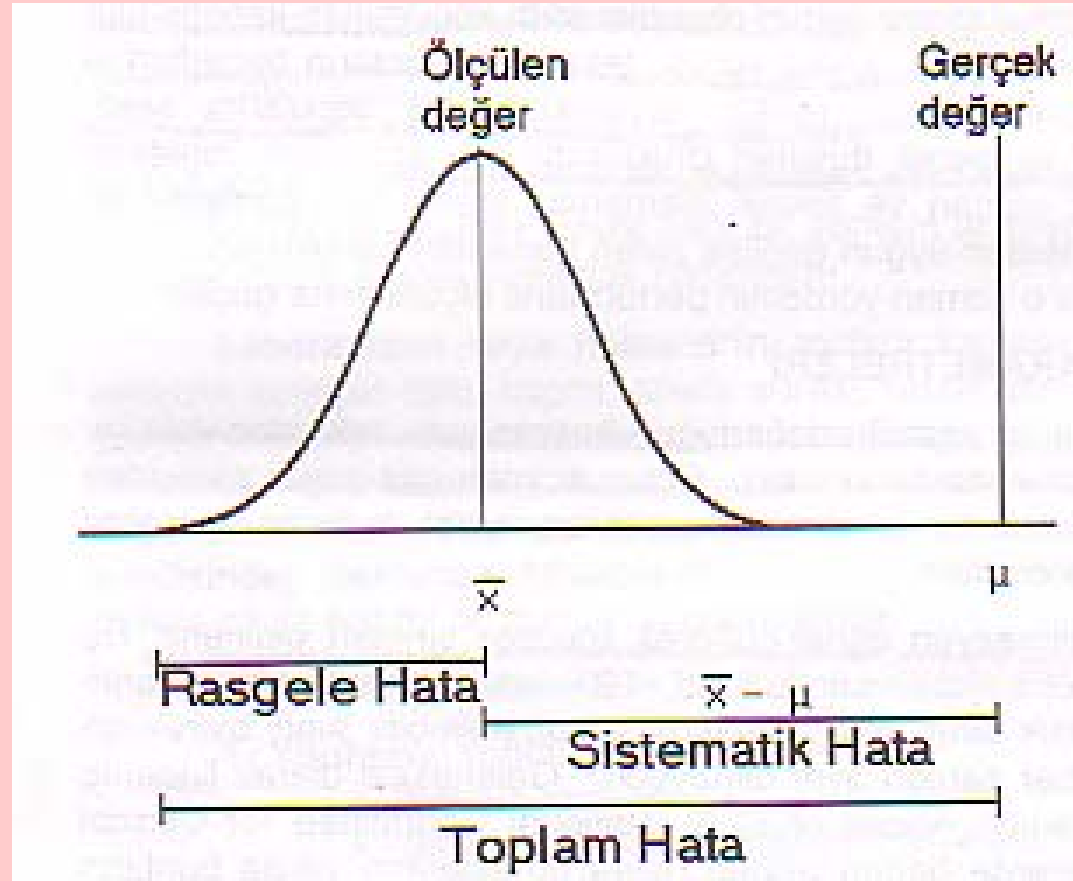
*Kalite kontrol ve kalibrasyon örnekleri ile birlikte birim test maliyeti hesaplanmalıdır.

*Verilerin klinisyene ulaştırılmasında kullanılacak rapor şekli belirlenmeli ve kullanılmakta olan rapor formatı ile karşılaştırılmalıdır.

Doğruluk (Accuracy) 1

Doğruluk, gerçek değerle ölçülen değer arasındaki yakınlığı ifade eder.

Gerçek değerle ölçülen değer arasındaki fark hatadır (bias, inaccuracy).



Sistemik hatanın, sabit hata ve oransal hata olmak üzere iki türü vardır.

Doğruluk (Accuracy) 2

Sabit hata interferans çalışmalarıyla, oransal hata ise recovery (geri elde) çalışmalarıyla saptanır.

Rasgele hata, kesinlik (precision, tekrarlanabilirlik) deneyleri ile saptanır.

İnterferans deneyleri için örnek: Glukoz için kreatinin interferansı

Örnek hazırlama:

1.örnek: 1,0 ml serum + 0,1 ml su (bazal konsantrasyon için)

2.örnek: 1,0 ml serum + 0,1 ml 50 mg/dl kreatinin standardı

3.örnek: 1,0 ml serum + 0,1 ml 100 mg/dl kreatinin standardı

Hesaplamalar:

Eklenen kons. = St. kons. x [ml st. / (ml st. + ml serum)]

İnterferans = Kons._(test) - Kons._(bazal)

(CE = bias = Kons._(test) - Kons._(bazal))

| Ölçülen glukoz | Eklenen Krea. | İnterferans |
|-----------------------|----------------------|--------------------|
| 140 mg/dl | - | - |
| 144 mg/dl | 4,5 mg/dl | 4 mg/dl |
| 151 mg/dl | 9.1 mg/dl | 11 mg/dl |

(Glukoz için: $X_c = 140$ mg/dl $E_A = 14$ mg/dl)

Karar:

4,5 mg/dl kreatinin eklendiğinde;

$CE = \text{bias} = \text{interferans} = 4 \text{ mg/dl} < E_A = 14 \text{ mg/dl}$
olduğundan performans yeterlidir.

9,1 mg/dl kreatinin eklendiğinde;

$CE = \text{bias} = \text{interferans} = 11 \text{ mg/dl} < E_A = 14$
mg/dl olduğundan performans yeterlidir.

Geri elde deneyleri için örnek: Kalsiyum için geri elde deneyleri

Örnek hazırlama:

1.örnek: 2,0 ml serum + 0,1 ml su (bazal konsantrasyon ölçümü için)

2.örnek: 2,0 ml serum + 0,1 ml 15 mg/dl kalsiyum standardı

3.örnek: 2,0 ml serum + 0,1 ml 100 mg/dl kalsiyum standardı

Hesaplamalar:

Eklenen kons. = St. kons. x [ml st. / (ml st. + ml serum)]

Geri elde kons. = Kons._(test) - Kons._(bazal)

Geri elde %'si = (Geri elde kons. / Eklenen kons.)
x 100

[PE = (|Ortalama geri elde %'si - 100|/100) x X_c]

| Ölçülen kons. | Eklenen kons. | Geri elde kons. | Geri elde %'si |
|----------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|
| 6,43 mg/dl | - | - | - |
| 7,10 mg/dl | 0,71 mg/dl | 0,67 mg/dl | %94 |
| 10,8 mg/dl | 4,76 mg/dl | 4,37 mg/dl | %92 |
| Ortalama | | | %93 |

(Kalsiyum için: $X_c = 10,8 \text{ mg/dl}$

$E_A = 1,0 \text{ mg/dl}$)

Karar:

$PE = (|Ortalama\ geri\ elde\ \% 'si - 100|/100) \times X_c = (|93 - 100|/100) \times 10,8 = 0,07 \times 10,8 = 0,76\ mg/dl < E_A = 1,0\ mg/dl$ olduğundan performans yeterlidir.

Kesinlik (precision) deęerlerini belirleme

Çoklu ölçümler: Rastgele hatayı (RE) saptamak için yapılır.

1. Süre : Grup içi, gruplar arası, günler arası
2. Örnek sayısı : En az 20 örnek
3. Örnek matriksi : Hasta örneęi matriksi
4. Analit konsantrasyonu: Tıbbi karar düzeyi (X_c)
5. Hesaplanan ölçütler: Aritmetik ortalama, s , CV

Çoklu ölçümler için örnek: Glukoz

$$X_c = 140 \text{ mg/dl}$$

$$E_A = 14 \text{ mg/dl}$$

Sonuçlar: Aritmetik ortalama = 139 mg/dl, $s = 2,3$ mg/dl, %CV = 1,6 (N=20) ise

$RE = 4 \times s = 4 \times 2,3 = 9,2 \text{ mg/dl} < E_A = 14 \text{ mg/dl}$ olduğuna göre performans yeterlidir.

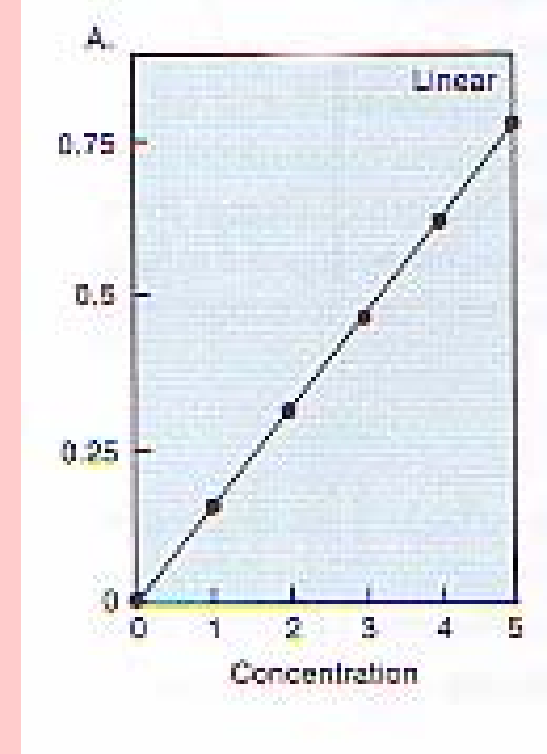
$$s = \sqrt{\frac{\sum(\bar{x} - x)^2}{n - 1}}$$

$$CV (\%) = \frac{100s}{\bar{x}}$$

Analitik aralık tayini

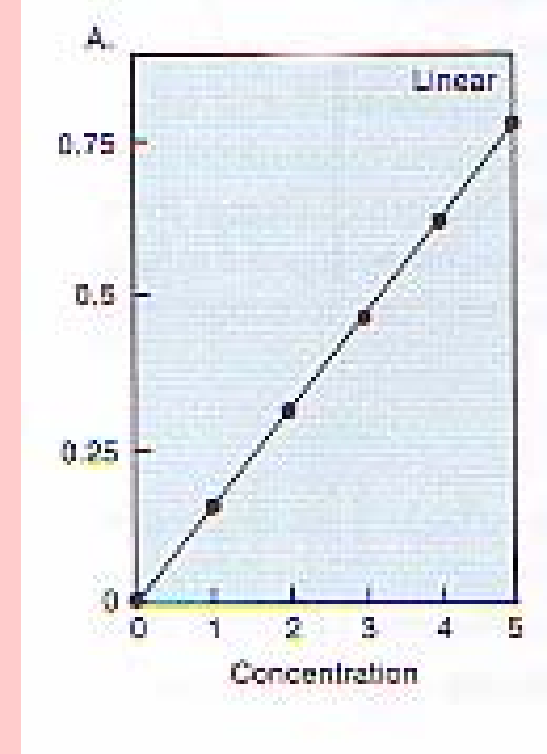
Bir dizi standart kullanılarak yapılan ölçüm sonuçlarıyla çizilen kalibrasyon eğrisi ile analitik aralık tayini yapılır.

Analitik aralık, örneklerin %90-95'inde sulandırılmadan ölçüm yapılacak konsantrasyonu kapsamalıdır.



Linearite tayini

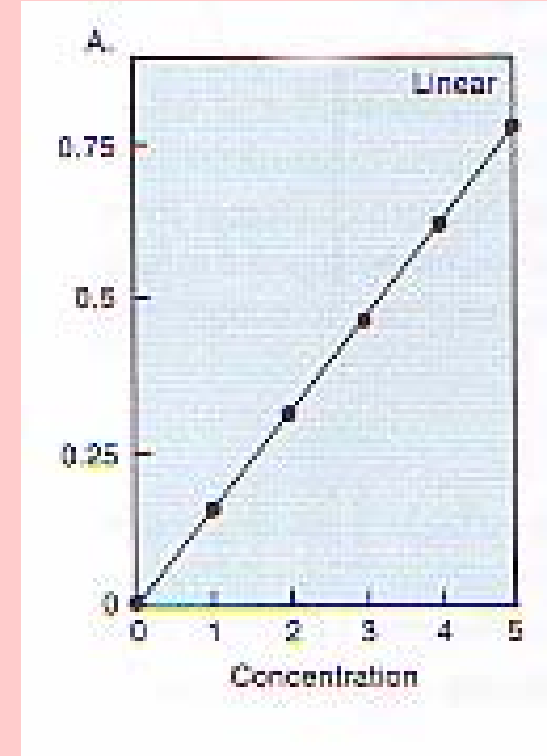
Bir dizi standart kullanılarak yapılan ölçüm sonuçlarıyla çizilen kalibrasyon eğrisi aynı zamanda linearite sınırlarını belirlemek için kullanılır.



Analitik hassasiyet tayini

Analitik hassasiyet, analizi yapılan maddenin örnekteki konsantrasyonu değiştiğinde ölçüm sinyalinde meydana gelen değişikliklerdir.

Analitik hassasiyet, kalibrasyon eğrisinin eğimi ile ilişkilidir.



Tayin limiti tayini

Tayin limiti, bir yöntemin ölçebildiği en düşük konsantrasyonu belirler. Bunun altındaki bir değer sayısal olarak rapor edilmez.

Tayin limiti, yöntemin tekrarlanabilirliği ve kör ölçümlerine bağlı olarak değişir:

X, kör ölçümlerin ortalaması (n=10)

SD, standart sapma

K, faktör (2 veya 3) olmak üzere

Tayin limiti = $X+k.SD$

Analitik spesiflik

Analitik spesiflik, yöntemin sadece tayini yapılan maddeyi mi ölçtüğünün bir göstergesidir.

Analitik spesiflik, yöntemin doğruluğu ile ilgilidir ve yüksek olması istenir.

Yöntemin spesifliğini belirlemek için interferans çalışmaları yapılır.

Referans aralığı tayini

Referans aralığı, kontrol grubu cinsiyet ve yaşa göre sınıflara ayrılarak belirlenmelidir.

Üç tip referans aralığı tanımlanır:

-Tolerans aralığı

-Tahmin edilen aralık

-%95 interpercentile aralığı

-%95 interpercentile aralık, belirlenmesi kolay, genelde en çok kullanılan metoddur. Bu metodda %2,5 ve %97,5 aralıkları arasındaki dağılım referans aralığını belirler. En az 120 denek olmalıdır.