

İmmün Analiz Parametrelerinin Referans Değişim Değerinin (RDD) Hesaplanması

Calculation of Reference Change Values of Immün Analysis Parameters

Havva Yasemin Cinpolat¹, Guler Bugdayci¹, Hamdi Oguzman¹, M. Ozgur Yis²

¹ Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Bolu, Türkiye

² Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, Bolu, Türkiye

ÖZET

Amaç: Klinik laboratuvarlarda, Referans Değişim Değerinin (RDD) kullanımı, bireysel takip için en uygun yöntem olarak düşünülmektedir. Bu çalışmada, 24 immün analiz parametresinde RDD hesaplanması amaçlandı.

Yöntemler: Yirmi dört serum analiti (kortizol, DHEA-S, östradiol, foliküler stimulan hormon (FSH), lüteinleştirici hormon (LH), prolaktin, testosteron, troponin I, NT-proBNP, parathormon (PTH), insülin, ferritin, folat, tiroid stimulan hormon (TSH), serbest T3, serbest T4, tiroglobulin antikor (anti TG), tiroid peroksidaz antikor (anti TPO), alfa fetoprotein (AFP), CA 15-3, CA 19-9, CA 125, karsinoembriyonik antijen (CEA) ve total PSA) Roche kitleriyle (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya), immün analizör Cobas®6000 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) cihazında ölçüldü. Analitik varyasyon katsayısı (CVa) iç kalite kontrol verilerinden elde edilmiştir. Birey içi varyasyon katsayısı (CVw) Westgard'ın 2014'te güncellenen web sitesinden elde edilmiştir. RDD'yi $2^{1/2} \times Z \times (CVa^2 + CVw^2)^{1/2}$ formülü ile hesaplanmıştır (Z=1.65, %95 olasılıkla, tek yönlü; Z=2.33, %99 olasılıkla, tek yönlü; Z=1.96, %95 olasılıkla, iki yönlü; Z=2.58, %99 olasılıkla, iki yönlü).

Bulgular: Hesaplanan RDD'yi (Z=1.96) kortizol için %44.30, DHEA-S için %31.25, östradiol için %64.34, FSH için %35.14, LH için %64.58, prolaktin için %65.24, total testosteron için %27.28, troponin I için %39.24, NT-proBNP için %29.00, PTH için %71.93, insülin için %59.22, ferritin için %40.51, folat için %68.04, TSH için %53.74, serbest T3 için %23.07, serbest T4 için %17.38, anti TG için %29.27, anti TPO için %42.52, AFP için %35.42, CA 15-3 için %21.58, CA 19-9 için %44.99, CA 125 için %68.92, CEA için %36.83 ve total PSA için %51.00 olarak bulunmuştur.

Sonuç: RDD'nin, popülasyona dayalı referans aralık ile birlikte kullanımı tarafımızdan önerilmektedir. RDD, özellikle takipli hastalarda, klinik karar için değerli bir araç olarak kullanılabilir.

Anahtar Sözcükler: Referans değerler, immün analiz, veri yorumlama, istatistik

Geliş Tarihi: 18.11.2014

Kabul Tarihi: 26.02.2015

ABSTRACT

Objective: The use of reference change values (RCV) has been advocated as a most appropriate for monitoring individuals in clinical laboratories. The aim of this study was to calculate of RCV of 24 analytes of immün analysis parameters.

Methods: Twenty four serum analytes (cortisol, DHEA-S, estradiol, follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), prolactin, testosterone, troponin I, NT-proBNP, parathormone (PTH), insulin, ferritin, folate, thyroid stimulating hormone (TSH), free T3, free T4, thyroglobulin antibody (anti TG), thyroid peroxidase antibody (anti TPO), alpha fetoprotein (AFP), CA 15-3, CA 19-9, CA 125, carcinoembryonic antigen (CEA) and total PSA) were analyzed with Roche kits (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), which were manufactured to use immün analyzer Cobas®6000 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). We used analytic coefficient of variation (CVa) from internal quality control programme. Intra-individual biological variation (CVw) were obtained from Ricos current updated published in Westgards website. This database was updated in 2014. We calculated RCV using this formula $RCV=2^{1/2} \times Z \times (CVa^2 + CVw^2)^{1/2}$ (Z=1.65, 95% probability, unidirectional; Z=2.33, 99% probability, unidirectional; Z=1.96, 95% probability, bidirectional; Z=2.58, 99% probability, bidirectional).

Results: RCVs (Z=1.96) of these analytes were calculated as 44.30% for cortisol, 31.25% for DHEA-S, 64.34% for estradiol, 35.14% for FSH, 64.58% for LH, 65.24% for prolactin, 27.28% for total testosterone, 39.24% for troponin I, 29.00% for NT-proBNP, 71.93% for PTH, 59.22% for insulin, 40.51% for ferritin, 68.04% for folate, 53.74% for TSH, 23.07% for free T3, 17.38% for free T4, 29.27% for anti TG, 42.52% for anti TPO, 35.42% for AFP, 21.58% for CA 15-3, 44.99% for CA 19-9, 68.92% for CA 125, 36.83% for CEA and 51.00% for total PSA.

Conclusion: We suggest to use RCV as well as to use population-based reference interval. RCV could be a valuable tool for clinical decision in especially monitoring individuals.

Key Words: Reference values, analytical chemistry methods, data interpretation, statistical

Received: 11.18.2014

Accepted: 02.26.2015

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Doç.Dr.Güler Bugdayci, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı 14280 Bolu, Türkiye Tel: +90 374 253 4656/3064 Faks: +90 374 253 4615 E-posta: gbugdayci@gmail.com

©Telif Hakkı 2015 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi - Makale metnine <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/> web adresinden ulaşılabilir.

©Copyright 2015 by Gazi University Medical Faculty - Available on-line at web site <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/>

doi:<http://dx.doi.org/10.12996/gmj.2015.27>

GİRİŞ

Klinik laboratuvarlarda test sonuçları tarama, tanı, araştırma ve hastanın monitörize edilmesi gibi amaçlar için kullanılmaktadır (1). Test sonuçlarını yorumlama yöntemleri arasında popülasyona dayalı referans aralıkları, klinik davranışların belirlenmesi için kararlaştırılmış protokoller, uzman kişiler, gruplar veya komiteler tarafından önerilen değerler ve üst referans limitin katları yer almaktadır (2,3).

Günümüzde klinik laboratuvarlar her yaş grubundan ve farklı cinsiyette en az 120 sağlıklı bireyin sonuçlarının dağılımından elde edilen popülasyona dayalı referans aralığı bulunan sonuçları raporlamaktadır. Referans aralık, bir bireyin daha önceki verilerine ulaşamadığı durumlarda test sonuçlarının yorumlanmasının temelini oluşturmaktadır (4). Oysa bireyin seri ölçümlerindeki farklılıklar hastalığındaki ilerlemeden kaynaklanabileceği gibi, birey içi ve analitik varyasyonla da ilgili olabilmektedir.

Bu nedenle son yıllarda laboratuvarlarda Referans Değişim Değeri (RDD)'nin, referans aralığının yanı sıra hasta sonuç raporlarına eklenmesi tartışılmaktadır. RDD, analitik ve biyolojik varyasyon kaynaklarını hesaba katarak seri ölçümler arasındaki anlamlı farklılıkların değerlendirilmesi için kullanılmaktadır (5).

Çalışmamızın amacı, 24 adet immün analiz testlerinin RDD'nin hesaplanmasını açıklamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurul onayı alındı (2014/74-165). İki seviye iç kalite kontrol materyali (kortizol, DHEA-S, östradiol, foliküler stimulan hormon [FSH], lüteinleştirici hormon [LH], prolaktin, testosteron, tiroid stimulan hormon [TSH], serbest T3 ve serbest T4 için PreciControl Universal; ferritin, folat ve parathormon [PTH] için PreciControl Varia; alfa fetoprotein [AFP], CA 15-3, CA 19-9, CA 125, karsinoembriyonik antijen [CEA] ve total PSA için PreciControl Tumor Markers; troponin I için PreciControl Troponin; NT-proBNP için PreciControl Cardiac; insülin için PreciControl Multi Marker; tiroglobulin antikoru [anti TG] ve tiroid peroksidad antikoru [anti TPO] için PreciControl ThyroAB Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) haftada iki defa aynı kişi tarafından, 1-31 Ağustos 2014 tarihlerinde, sabah saat 08:00'de Roche kitleri (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) ile immün analizör Cobas®6000 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) cihazında çalışıldı. Aynı lot numarasına sahip kontrol kullanıldı. Kortizol, DHEA-S, estradiol, testosteron, folat, serbest T3, serbest T4, anti TG ve anti TPO testleri elektrokemilüminesans immün assay (ECLIA) yarışma prensibi ile; AFP, CA 15-3, CA 19-9, CA 125, CEA, total PSA, TSH, troponin I, NT-proBNP, PTH, insülin, ferritin, FSH, LH ve prolaktin testleri ECLIA sandviç prensibi ile orijinal Roche kitleri kullanılarak çalışıldı. Kabul ve ret kriterleri için Westgard kuralları kullanıldı (6).

Microsoft Office Excel 2013 programı kullanılarak hesaplamalar yapıldı. Analitik varyasyon katsayısı (CVa) retrospektif olarak iç kalite kontrol verilerinden Standart Sapma/Ortalama*100 formülü kullanılarak hesaplandı. İki kontrol seviyesi değerleri için varyasyon katsayısı hesaplandıktan sonra ortalaması alınarak CVa bulundu. Birey içi varyasyon katsayısı (CVw) ve bireyler arası varyasyon katsayısı (CVg) <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>'de yayınlanan 2014'de güncellenen veritabanı kullanılarak elde edildi (7). Bireysellik indeksi (BI), CVw/CVg formülü ile hesaplandı (8).

BULGULAR

Her analit için hesaplanan CVa ve BI değerleri, Westgard'ın sitesinden alınan CVw ve CVg değerleri, Z=1,65, Z=2,33, Z=1,96, ve Z=2,58 skorlarına göre hesaplanan RDD'leri Tablo 1'de özetlendi.

TARTIŞMA

Çalışmamızda, klinik laboratuvarlarda iç kalite kontrolden elde edilen CVa ve veritabanından alınan CVw değerlerini kullanarak 24 farklı immün ölçüm analitinin RDD'nin hesaplanması gösterilmiştir. Tek yönlü ve iki yönlü olmak üzere toplam dört farklı RDD hesaplanmıştır. RDD kullanımı, klinik laboratuvarlarda farklı zamanlarda rapor edilen sonuçların neden değiştğine cevap bulmak ve bu sonuçlarda ki yükselme ve düşüşlerin anlamlı olup olmadığına karar vermek açısından yararlıdır.

Tablo 2'de RDD kullanımı, levotiroksin kullanan bir hastada TSH sonucunun takibi örneğinden yola çıkılarak açıklanmıştır. TSH sonucu 19.2 µU/mL olan bir hastanın levotiroksin tedavisini takiben 6.ayda TSH değeri 6.5 µU/mL olarak ölçülmüştür.

Hastanın takip sonucu laboratuvarımızın belirlemiş olduğu referans değerinin dışında yer almasına rağmen %95 (%45,24) ve %99 (%63,89) güven aralığına göre TSH değerindeki azalma (%66,15) anlamlıdır.

Tablo 1. İmmün analiz laboratuvarında çalışılan testler ve bu testlerin CVa, CVw, CVg, BI ve RDD değerleri

TEST	CVa	CVw	CVg	BI	TEK YÖNLÜ RDD		İKİ YÖNLÜ RDD	
					p<0.05 %95	p<0.01 %99	p<0.05 %95	p<0.01 %99
KORTİZOL	4.94	15.2	38.1	0.4	37.30	52.67	44.30	58.32
DHEA-S	9.32	6.35	30.7	0.21	26.31	37.15	31.25	41.13
ESTRADIÖL	5.7	22.5	24.4	0.92	54.16	76.48	64.34	84.69
FSH	6.3	11	47.2	0.23	29.58	41.77	35.14	46.25
LH	3.72	23	27.4	0.84	54.37	76.77	64.58	85.01
PROLAKTİN	5	23	35	0.66	54.92	77.56	65.24	85.88
TESTOSTERON	3.36	9.25	22.05	0.42	22.96	32.43	27.28	35.91
TROPONİN I	1.74	14.05	63.75	0.22	33.03	46.65	39.24	51.65
NT-Pro BNP	3.08	10	16	0.63	24.42	34.48	29.00	38.18
PTH	1.61	25.9	23.8	1.09	60.55	85.51	71.93	94.68
İNSÜLİN	3.36	21.1	58.3	0.36	49.86	70.40	59.22	77.96
FERRİTİN	3.46	14.2	15	0.95	34.10	48.16	40.51	53.32
FOLAT	5.15	24	73	0.33	57.28	80.88	68.04	89.56
TSH	1.85	19.3	24.6	0.78	45.24	63.89	53.74	70.74
Serbest T3	2.62	7.9	17.6	0.45	19.42	27.43	23.07	30.37
Serbest T4	2.61	5.7	12.1	0.47	14.63	20.66	17.38	22.87
Anti TG	6.27	8.5	82	0.1	24.64	34.80	29.27	38.54
Anti TPO	10.37	11.3	147	0.08	35.80	50.55	42.52	55.97
AFP	3.8	12.2	45.6	0.27	29.82	42.11	35.42	46.63
CA 15-3	4.84	6.1	62.9	0.1	18.17	25.66	21.58	28.41
CA 19-9	2.72	16	130.5	0.12	37.87	53.48	44.99	59.22
CA 125	2.85	24.7	54.6	0.45	58.02	81.93	68.92	90.72
CEA	3.91	12.7	55.6	0.23	31.01	43.78	36.83	48.48
Total PSA	3.31	18.1	72.4	0.25	42.93	60.63	51.00	67.13

Tablo 2. Levotiroksin kullanan bir hastada TSH sonucunun RDD'ne göre yorumlanması

	İlk Sonuç	İkinci Sonuç (6.ay)	Değişim	Değişim (%)	Tek yönlü RDD (%95)	Tek yönlü RDD (%99)	Referans aralığı
TSH	19.2	6.5	12.7	66.15	45.24	63.89	0.27-4.2 µU/mL

Popülasyona dayalı referans aralığı yanı sıra RDD kullanımı literatürde çeşitli çalışmalarla önerilmiştir. Garner ve ark.'nın çalışmalarında (9), meme kanseri takibinde 22 sağlıklı kadından periyodik olarak alınan kan örneklerinde CA 15-3, CEA, doku polipeptit antijen (TPA) testlerinin RDD'leri sırasıyla %30, %32 ve %72; Sölétormos ve ark.'nın 1993'te 49 sağlıklı bireyde yapmış olduğu bir başka çalışmada (10), CA19-9, CEA ve AFP testlerinin RDD'leri sırasıyla %65, %73 ve %63 olarak bulunmuştur. Bu iki çalışmada da Z değeri 1,65 alınarak, tek yönlü değişiklik (artış ya da azalış), p<0.05 olarak hesaplanmıştır.

Lund ve ark. (11), CVa ve CVw ile farklı Z skorlarını kullanarak, sağlıklı bireylerde 20'den fazla ardışık sonucu inceleyerek 10000 veri üstünde bir çalışma yapmışlardır. Klinik karar aşamasında anlamlı bir artış ya da azalış olduğunda RDD tek yönlü olarak raporlanmıştır. Yayınlarında tek yönlü %95 olasılık (p<0.05) kullanıldığı gibi tek yönlü %99 olasılık (p<0.01) da yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle RDD hesabında anlamlı değişiklikleri değerlendirmek için en uygun Z skoru 1.65 ve 2.33'tür.

Erden ve ark. (12), 49 sağlıklı bireyde, CA 19-9, CEA ve AFP için RDD hesaplamışlar ve sırasıyla %65, %73 ve %63 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada Z değerinin 1.65 olarak (tek yönlü, p<0.05) kullanmışlardır. Biosca ve ark. (13), üç yıldır stabil olan 57 hasta ve akut rejeksiyonu olan 18 hasta olmak üzere toplam 75 postransplant hastasının ürat ve kreatinin parametrelerini kullanarak yaptıkları bir çalışmada Z değerini 1,04 olarak almışlardır. Farklı Z değerlerinde gösterdikleri duyarlılık, pozitif ve negatif prediktif değer olasılıklarında %85 güven aralığında en yararlı bilgiyi aldıklarını iddia etmişlerdir. Fokkema ve ark. (14), 43 kronik kalp yetmezliği olan hastada yaptıkları RDD hesaplamalarında Z değerini 1,96 olarak hesaplayarak, bu değerleri log-normal yaklaşımla hesapladıkları alt ve üst değerlerle kıyaslamışlardır. Standart hesaplamada, gün iç değişimlerde, BNP için RDD'yi %32'lik bir artış veya azalışını anlamlı bulurken, log-normal hesaplamada BNP için %39 artış ve %28 azalışın anlamlı olduğunu hesaplamışlardır. NT-proBNP için ise aynı hesaplamaları gün iç değişimlerde standart hesaplama %25 ve log-normal hesaplama ise %29 artış ve %22 azalışın hastanın önceki sonucuyla kıyaslandığında, anlamlı değişikliği ifade ettiğini göstermişlerdir. Bu verileri gün içi, günler arası ve haftalar arası sonuçlarla kıyasladıklarında farklı sonuçlara ulaşmışlardır. Bu sonuçlara göre, süre uzadıkça daha yüksek değişimlerin anlamlı olduğunu öngörmüşlerdir.

Tüm bu çalışmalarda, seçilen grubun hasta ve sağlıklı olması, seçilen parametrelerin özelliği nedeniyle kullanılan Z değerleri ve yorumları kendi içinde farklılıklar arz etmektedir. Bizim çalışmamızda ise, Tablo 1'de, hem tek yönlü hem çift yönlü, $p < 0,01$ ve $p > 0,05$ için farklı Z değerleri için RDD hesaplanması gösterildi.

Bu çalışmada kullanılan veritabanında 400 kadar testin birey içi ve bireylerarası varyasyon katsayısı bulunmaktadır. Bu listede bulunmayan bir testin RDD'sini hesaplamak için ek bir çalışmaya gereksinim olabilir, bu durum çalışmanın kısıtlılıkları içinde yer almaktadır. Bununla birlikte nadir çalışılan bir testin RDD'sini hesaplamak isteyen araştırmacılar, literatürden birey içi ve bireyler arası analitik varyasyon değerlerini bulabilecekleri gibi kendileri bu verileri ek bir çalışma ile elde edebilirler (7).

Bireysellik indeksi (CVw/CVg), 0.6 değerinden düşük olduğu zaman popülasyona dayalı referans değerleri bireylerin çok az bir kısmını kapsayacaktır. Özellikle sonuçlarda değişiklik olup olmadığının değerlendirilmesinde referans aralığının çok sınırlı bir kullanımı olacaktır (15). Böyle bir durumda bir önceki sonuçla karşılaştırma yapılması daha uygun olacaktır. Bununla birlikte, BI 1,4'ten büyük olduğu zaman, popülasyona dayalı referans değerleri kullanımı daha uygun olmaktadır. Tablo 1'de gösterildiği gibi immün analiz laboratuvarında kullandığımız analitlerin 17 tanesinin (kortizol, DHEA-S, FSH, testosteron, troponin I, insülin, folat, serbest T3, serbest T4, anti TG, anti TPO, AFP, CA 15-3, CA19-9, CA 125, CEA ve total PSA) BI değeri 0,6'dan düşüktür.

SONUÇ

Laboratuvarların güvenilir sonuç verebilmesi için biyolojik ve analitik varyasyon kaynaklarını göz önünde bulundurması gerekmektedir. Bu çalışma ile iç kalite kontrol verilerinden elde edilen CVa ve güncel veritabanlarında birçok analit için hesaplanmış olan CVw değerleri ile her laboratuvar kendi RDD'ini hesaplanması gösterilmiştir. RDD popülasyona dayalı referans aralığı yanında rapor edilmesi, objektif bir kriter olarak hasta test sonuçlarının yorumlanmasına katkıda bulunacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Monach PA. Repeating tests: different roles in research studies and clinical medicine. *Biomark Med* 2012; 6: 691-703.
2. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a "reference change" for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem* 1983; 29: 25-30.
3. Fraser CG. Reference change values. *Clin Chem Lab Med*: 2012; 50: 807-12.
4. Fraser CG. *Biological Variation: From Principles to Practice*. 1st ed. Washington: AACC Press; 2001.
5. Ozturk OG, Paydas S, Balal M, Sahin G, Karacor ED, Ariyurek SY et al. Biological variations of some analytes in renal posttransplant patients: A different way to assess routine parameters. *J Clin Lab Anal* 2013; 27: 438-43.
6. Westgard JO, Groth T. Design and evaluation of statistical control procedures: Applications of a computer "quality control simulator" program. *Clin Chem* 1981; 27: 1536-45.
7. <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (erişim tarihi: 12.11.2014)
8. Fraser CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 758-64.
9. Garner AE, Lewington AJ, Barth JH. Detection of patients with acute kidney injury by the clinical laboratory using rises in serum creatinine: Comparison of proposed definitions and a laboratory delta check. *Ann Clin Biochem* 2012; 49: 59-62.
10. Sölétormos G, Schiøler V, Nielsen D, Skovsgaard T, Dombernowsky P. Interpretation of results for tumor markers on the basis of analytical imprecision and biological variation. *Clin Chem* 1993; 39: 2077-83.
11. Lund F, Petersen PH, Fraser CG, Sölétormos G. Calculation of limits for significant unidirectional changes in two or more serial results of a biomarker based on a computer simulation model. *Ann Clin Biochem* 2014; doi: 10.1177/0004563214555163
12. Erden G, Barazi A, Tezcan G, Yildirimkaya MM. Biological variation and reference change values of CA 19-9, CEA, AFP in serum of healthy individuals. *Scand J Clin Lab Invest* 2008; 68: 212-8.
13. Biosca C, Ricós C, Lauzurica R, Galimany R, Hyltoft Petersen P. Reference change value concept combining two delta values to predict crises in renal posttransplantation. *Clin Chem* 2001; 47: 2146-8.
14. Fokkema MR, Herrmann Z, Muskiet FA, Moecks J. Reference change values for brain natriuretic peptides revisited. *Clin Chem* 2006; 52: 1602-3.
15. Young DS. Preanalytical variables and biological variation. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns D, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5th ed. St. Louis: Elsevier Health Sciences; 2012. p.119-44.