

## İnternal Kalite ve Eksternal Kalite Kontrol ve Tıbbi Laboratuvarlarda İstatistiğin Önemi:

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında henüz çok yaygın olarak kullanılmamasına rağmen, klinik biyokimya laboratuvarlarında hem internal hem de eksternal kalite kontrol uygulamaları yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında daha yaygın olarak kullanılmaya başlanan kalite kontrol çalışmalarını test performansını ve dolayısıyla hastaya doğru sonuç vermeyi direkt etkilemektedir.

### İnternal Kalite Kontrol:

J. O. Westgard İnternal kalite kontrol (İKK) kurallarının oluşturulmasına büyük katkıları sağlamıştır. Kızının akşam partiden geç dönmesi üzerine koyduğu kuralları şöyle sıralamıştır; 1 kere saat 03<sup>00</sup>'den, 2 kere saat 02<sup>00</sup>'den, yada 4 kere 01<sup>00</sup>'den daha geç kalırsan başın derde girer. İşte bu çok kurallı kontrole güzel bir örnektir.

Çok kurallı kalite kontrolü, bir dizi karar verme kriterini veya kontrol kurallarını içeren ve analitik sonuçların kontrol altında olup olmadığını değerlendirmeye yarayan bir işlemdir. Amaç, analiz sırasında oluşacak hataları tespit etmek ve hastaya hatalı sonuç vermeyi engellemektir. Çok kurallı kalite kontrolü ile hatanın rastgele veya sistematik olduğu anlaşılabilir.

### Westgard'ın oluşturduğu sık kullanılan kurallardan örnekler

1 <sub>2s</sub> kuralı :	Kontrol sonucunun $\pm 2$ standart sapmayı aşması. Uyarı kuralı olarak değerlendirilir ve diğer kurallarda problem yoksa hasta sonucu verilir.
1 <sub>3s</sub> kuralı :	Bir kontrol sonucunun $\pm 3$ standart sapmayı aşması
2 <sub>2s</sub> kuralı :	İki ardışık kontrol sonucunun aynı yönde 2 standart sapmayı aşması
R <sub>4s</sub> kuralı :	İki ardışık kontrol sonucu toplamının 4 standart sapmayı aşması
4 <sub>1s</sub> kuralı :	Dört ardışık kontrol sonucunun aynı yönde 1 standart sapmayı aşması
10 <sub>x</sub> kuralı :	Son 10 ardışık kontrol sonucunun ortalamasının aynı yönünde bulunması

Bu kurallar dışında çok çeşitli modifikasyonlar kullanılabilir. Kalite kontrol numunelerinin seçimi ve kalite kontrol grafiklerinin doğru olarak oluşturulmasını takiben bu sonuçların nasıl yorumlanacağı önemlidir. Çok kurallı kontrol kriterleri, kontrol kuralları arasına kesme işareti konarak (1<sub>3s</sub> / 2<sub>2s</sub> / R<sub>4s</sub> / 10<sub>x</sub>) gösterilir ve bu terminoloji laboratuvarlarda standart olarak kullanılır. Birden fazla kontrol düzeyi kullanıldığında, kuralların tüm düzeylerde nasıl uygulanacağı sorun olabilir. Ayrıca farklı düzeylerde serumlar kullanıldığında bunların ardışık ölçüm olarak hangisinin nasıl değerlendirileceği problem olabilir. Örneğin iki farklı düzeyde (ör: A ve B) kontrol kullanılırsa iki farklı değerlendirme yapılmalıdır; Materyal içi kontrol (aynı kontrol düzeyi içinde) ve materyaller arası kontrol (iki farklı düzey arasında). Çok değişik şekillerde değerlendirme yapmak mümkündür, bu nedenle bir protokol hazırlanmalı ve yorumlamada standardizasyon böylece sağlanmalıdır. Ayrıca bu standardize protokoller yorum yapan kişiye bağlı sapmaları da kontrol altına alacaktır.

1<sub>3s</sub> kural ihlali; farklı A ve B kontrol düzeyleri için ayrı ayrı izlenir.

2<sub>2s</sub> ve R<sub>4s</sub> kuralları; ise materyal içi ve materyaller arası değerlendirilebilir.

2<sub>2s</sub> kuralı; biri A diğeri B düzeyine ait son iki ölçüm arasında değerlendirilebilir.

4<sub>1s</sub> kuralı; ikisi A, ikisi B düzeyi veya sadece bir düzeyin son dört ölçümü arasında değerlendirilebilir.

10<sub>x</sub> kuralı; beşi A, beşi B düzeyi yada sadece tek bir düzeyin son on ölçümü arasında değerlendirilebilir.

İnternal kalite kontrol prosedürleri uygulanırken, kurulu sistemin doğru olduğu kabul edilmiştir ve bu doğrudan sapmalar araştırılır. Eğer sistemin kurulması esnasında bazı hatalar varsa bu yöntemle bunu ortaya çıkarmak mümkün değildir. Ayrıca uzun bir zaman içinde ortaya çıkan sistematik hatalar gözden kaçabilir. İşte bu durumlarda eksternal kalite kontrol programları tamamlayıcı olarak ortaya çıkar.

İnternal kalite kontrol materyalleri ticari olarak temin edilebileceği gibi, laboratuvar da hazırlanabilir.

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan serolojik yöntemlere dayanan testler çoğunlukla standardize edilmiştir. Genellikle paketler içinde kontrol materyalleri içerir ve çalışma sonucunda belirli değerler elde edilince test geçerli olarak kabul edilerek, hasta sonuçları rapor edilir. Standardize edilmiş otomatize sistemler de hata oranları da azaltılmıştır. Moleküler yöntemler kullanılırken iyi standardize edilmemiş laboratuvar da hazırlanan testler ile kalite kontrolü kurmak ve süreklilik sağlamak büyük önem taşır. Bu tür testler her basamakta gözden kaçabilecek çok küçük hatalar ile sonuçları değişebilecek testlerdir. Standardize edilmiş ve iç kalite kontrole sahip hazır otomatize sistemde çalışan kitlerin kullanımı hatalı sonuç verilmesini azaltır. Bakteriyoloji laboratuvarlarında ise materyalin geliş basamakları, besiyeri kalitesinin kontrolü, inkübasyon şartlarının yerine getirilmesi, inokulumun konsantrasyonu, ve elde edilen mikroorganizmanın yorumlanmasına kadar bir çok standardize edilmesi gereken basamak vardır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde ek olarak uygun yöntemin seçilmeli ve uygun protokollere göre antibiyotik duyarlılık testleri yapılmalıdır. Disklerin performansı kontrol suşları ile test edilmelidir. Antibiyogram sonrası, elde edilen sonuçların yorumlanması ise tedaviyi yanlış yönlendirmemek için oldukça önemlidir ve kişi faktörü ortadan kalkacak şekilde bunların da kurallara bağlanması gerekir. Ekspert sistemleri bulunan otomatize sistemler hem tanımlamada hem de direncin doğru yorumlanarak rapor edilmesinde yararlı olabilir.

### **Eksternal Kalite Kontrol:**

Eksternal Kalite Kontrol (EKK), bağımsız organizatör kuruluşlar tarafından, yürütülen ve laboratuvarların analitik performanslarının karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği bir sistemdir. Bu sistemde kontrolü yürüten kuruluş, sisteme dahil olmuş laboratuvarlara belirli aralıklarla kontrol örnekleri gönderir ve bu örneklerin değerlendirilmesi sonunda gelen veriler EKK merkezinde analiz edilir. Elde edilen sonuçlar ilgili laboratuvarlara gönderilerek laboratuvarların kendi performansları hakkında bilgi sahibi olmaları sağlanır. EKK sisteminde laboratuvarlar örneklerdeki konsantrasyonları da bilmedikleri için, performanslarını daha objektif değerlendirme imkanı yakalarlar.

EKK, Belk ve Sunderman adlı araştırmacıların 1947 yılındaki çalışması ile başlangıç yapmış ve 1950 yılında 'The College of American Pathologist' (CAP) laboratuvarlar arası değerlendirme çalışmalarını başlatmıştır. 1960'lı yılların ortalarında da laboratuvar akreditasyonu için zorunlu hale getirilmiştir. Hemen her ülkede, o ülkenin özelliklerine uygun laboratuvarların bu tür bir EKK sistemine dahil olmaları yönünde çalışmalar yürütülmekte, bu tür kalite kontrol sistemleri olmayan ülkelerde, bazı laboratuvarlar uluslararası EKK sistemlerine üye olmaktadır.

İKK ile EKK birbirlerinden farklıdır ve birbirlerinin yerine kullanılmaları da uygun değildir. Zira İKK ile bir tek laboratuvar da analitik testlerin kesinlik ve doğruluk performansı iç kontrol ile izlenirken, EKK ile laboratuvarların performansları objektif olarak dışarıdan, diğer laboratuvarlar ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilir. İKK ile kurulmuş olan yöntemin bazal durumundan sapmalar ile değerlendirme yapılırken, EKK'da kurulmuş yöntem, aynı yöntemi kullanan diğer yerlerle kıyaslanarak bazal değerlerinin doğruluğu denetlenir. Bu iki

kontrol yöntemi birbirini tamamlamaktadır. Eksternal kontrol materyalleri analitik işlemlerin matris ve konsantrasyon duyarlılığını diğer yöntemlerle karşılaştırarak izler ve internal kontrolün kalitesini değerlendirir.

EKK programına katılan laboratuvarlara aynı lot numaralı örnekten gönderilir ve rutin çalışma da herhangi bir hasta örneği gibi çalışması istenir. Elde edilen sonuçlar merkeze bildirilir ve karşılaştırmalı değerlendirme sonuçları bilgilendirme için laboratuvarlara gönderilir. EKK merkezinin gönderdiği numuneler homojen ve stabil olmalıdır. Ayrıca numuneler rutinde karşılaşılabilecek gerçek durumları yansıtmalıdır, örneğin BOS küçük hacimlerde takdim edilmelidir.

Önceleri doğru sonuç ürettiği kabul edilen merkezi bir laboratuvarın sonuçları ile diğer laboratuvar sonuçları kıyaslanırdı. 1960'lı yıllarda programa katılan tüm laboratuvarların sonuçlarının ortalamasının 'doğru' yu yansıtacağı görüşü benimsendi. Bu gün bu; tüm katılımcılar-tüm yöntemler (all participants-all methods mean ) olarak adlandırılan bir yöntemle analiz edilmektedir.

Bugün en geçerli değerlendirme yöntemi; hedef değer ile laboratuvarın ortalaması arasındaki farkın Standart Deviasyon İndeksi (SDİ) olarak ifade edilmesidir. SDİ parametresinde -3 ile +3 arasında, pozitif yada negatif yönde sapmalar belirtilir. Pozitif yönde sapma hedef değerden daha yüksek, negatif yönde sapma ise daha düşük değerlerin bulunduğuna işaret eder. Buna göre basitçe sonuçlar; a)Kabul edilebilir, b)İyileştirilmesi gerekli, c)Kabul edilemez olarak rapor edilir. Örneğin  $\pm 3$ 'den büyük sapmalar 'kabul edilemez' olarak değerlendirilirken,  $\pm 3$  ile  $\pm 2$  arasındaki sapmalar 'iyileştirilmesi gerekli',  $\pm 2$ 'den küçük sapmalar ise 'kabul edilebilir' olarak değerlendirilebilir. Tüm katılımcı laboratuvarların elde ettiği SDİ değerlerinin yer aldığı Youden grafikleri görsel değerlendirmeyi kolaylaştırabilir. SDİ'den kullanılan yöntemin performansını uzun süreli takip için de yararlıdır. Program boyunca o laboratuvardan gelen sonuçlara ait herhangi bir testin değerleri Levey-Jennings grafiğinde  $\pm 3$  SD aralığı içinde izlenir. Çeşitli kurallara göre yorumlanır, bu kurallar içinde Cembrowski ve ark. tarafından tarif edilen çoklu kural sistemi sık olarak kullanılmaktadır. Bu sistemde bir tarama, bir sistematik hata, ve iki random hata saptama kuralı olmak üzere 4 kural vardır.

a-) Tarama kuralı ( $^{2/5}1$  SDİ): En az 5 SDİ değerinin bulunduğu bir grafikte 2 veya daha fazla değer aynı + 1 veya - 1 SDİ sınırının dışında ise, diğer kurallar ile sistematik veya random hata aranmalıdır.

b-) Ortalama kuralı ( $^x1.5$  SDİ): Eğer 5 SDİ değerinin ortalaması  $\pm 1.5$  SDİ sınırını geçiyorsa kullanılan yöntemde sistematik bir hata vardır. Ortalamanın büyüklüğü ile hatanın büyüklüğü doğru orantılıdır.

c-) Random hata kuralı ( $^13$  SDİ): Eğer bir veya daha fazla değer  $\pm 3$  SDİ sınırını geçiyorsa random hata olasılığı fazladır.

d-) Random hata kuralı ( $^R4$  SDİ): Eğer elde edilen en büyük ve en küçük SDİ değerleri arasındaki fark 4 SDİ'i geçiyorsa yine random hata olasılığı yüksektir.

Eksternal kalite kontrol için bir çok merkezden yararlanılabilir. Serolojik testler için çeşitli konsantrasyonlarda kalite kontrol serumları kullanılır. Moleküler yöntemlerde de içinde farklı miktarlarda genetik materyal içeren numuneler kullanılabilir. Bunlar hem tanım, hem de düzey tespiti için sağlanabilir. Bakteriyoloji laboratuvarlarında hem bakterinin tanımlanması hem de dirençlerinin belirlenmesine yönelik kontrol suşları kullanılacaktır. Bu arada metisilin dirençli S. aureus, genişlemiş spektrumlu betalaktamaz üreten suşlar, yüksek düzey gentamisin dirençli enterekoklar gibi rutin laboratuvarlarda atlanabilecek bakterilerin tespit edilip edilmediğini araştırarak kontrol suşlarının da kullanılmasına gerek vardır.

**İstatistiğin Önemi:**

Bugün bilimin bütün dallarında istatistik bir şekilde kullanılmaktadır. Deney düzenleme; gözlem yöntemlerini ve sayıları derleyip özetleme; anlamını belirtme ve sayılara güven derecesini belirlemede; elde edilen sonuçlardan genellemelere gitmede, örneklemeler arasındaki ilişkileri araştırmada istatistik yöntemlerden yararlanır. Laboratuvarlarda analitik yöntemlerin performans karakteristiğinin belirlenmesi önemlidir ve bunun için testlerin performansını değerlendirmede iki temel özellik olan *Precision* (=kesinlik: aynı yol ile elde edilen sonuçların birbirlerine yakınlığını gösteren, tekrarlanabilirlik ölçütüdür.) ve *Accuracy* (=doğruluk: bir sonucun gerçek değere ne kadar yaklaştığının ölçütüdür.) istatistiksel yöntemler ile ortaya konabilir. İstatistik yöntemlerin bir değerinde elde edilen sonuçlardan, sebep-sonuç ilişkisine geçiş ve mikroorganizma-hastalık-direnç verilerinin elde edilmesidir. Bu da tanı ve tedavi protokollerinin şekillenmesine önemli katkıda bulunmaktadır.

**Kaynaklar:**

1. Çolak D. Hepatit etkeni virusların serolojisinde internal kalite kontrol uygulamaları. 5. Ulusal Viral Hepatit Simpozyumu Kongre Kitabı, Ankara 2000:103-106
2. Felmingham D, Brown D.FJ. Instrumentation in antimicrobial susceptibility testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2001) 48, suppl.S1 81-85
3. Haklar G, Şirikçi Ö, Tağa Y. Eksternal kalite kontrol. In: Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ.(Eds) *Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi*. Türk Biyokimya Derneği yayını(ISBN:975-97069-2-X) :201-205
4. Hayran M, Özdemir O. Bilgisayar-İstatistik ve Tıp. Hekimler Yayın Birliği Medikal Araştırma Grubu. Medikomat Basım Yayın. Ankara, 1995
5. İnal TC. İnternal kalite kontrol kuralları ve yorumlanması. In: Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ.(Eds) *Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi*. Türk Biyokimya Derneği yayını(ISBN:975-97069-2-X) :157-161
6. King A, Brown DFJ. Quality assurance of antimicrobial susceptibility testing by disc diffusion. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2001) 48, suppl.S1 71-76
7. Kırkalı G. Temel istatistik kavramlar. In: Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ.(Eds) *Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi*. Türk Biyokimya Derneği yayını(ISBN:975-97069-2-X) :40-52
8. Kutay FZ. Laboratuvar verilerinin istatistiksel değerlendirmesi. In: Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ.(Eds) *Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi*. Türk Biyokimya Derneği yayını(ISBN:975-97069-2-X) :53-70
9. Snella JJS, Brown DFJ. External quality assessment of antimicrobial susceptibility testing in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2001) 47, 801-810
10. Straus SE. Human Herpesvirus type 6 and 7. In: Mandell Gl, Bennett JE, Dolin R. (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Churchill Livingstone, New York. 2000:1613-1618
11. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. Biyoistatistik. Hatipoğlu yayınevi, Ankara, 1990
12. Türker R. Laboratuvarlarda Temel İstatistik Kavramlar. Tıp Laboratuvarlarında Kalite Güvencesi Eğitim ve Uygulama Toplantısı-I Kurs Kitabı, Ed:Güner G, Aslan D. İzmir 1998:1-21