

EVALUASI TOTAL EROR DAN VALIDASI NILAI RUJUKAN PADA ALAT HEMATOLOGY ANALYZER

EVALUATION OF TOTAL ERROR AND VALIDATION OF REFERENCE VALUE ON HEMATOLOGY ANALYZER

Zulfikar Husni Faruq, Muji Rahayu

Poltekkes Kemenkes Yogyakarta

Korespondensi: faruq@poltekkesjogja.ac.id

ABSTRACT

Complete blood count (CBC) is a screening test as the initial door diagnosis, therefore good quality equipment is needed. This study aims to evaluate the Total Error and Reference Value of the Hematology Analyzer. Total Error (TE) measurement was conducted using commercial control materials with known concentrations. Twenty data were collected using the day-to-day method and then calculated using the Total Error (TE) formula. Evaluation of reference values was performed using the reference value validation method with a small sample. Blood with K₂EDTA was collected as a sample from 22 adult men and 22 healthy adult women and not pregnant. The results of this study showed that the value of Total Error (TE) has the greatest value on the platelet parameter and the Mean Platelet Volume (MPV). The evaluation of reference values for tools showed in adult males, the unapproved parameters were WBC, HCT, MCV, RDW, RDW-SD, and MPV. On the other hand, the unapproved parameters for adult women were MCH, RDW-SD and MPV.

Keywords: Complete blood count (CBC), Total Error (TE), Validation reference value

ABSTRAK

Pemeriksaan darah lengkap merupakan pemeriksaan *screening* atau merupakan uji saring sebagai pintu awal diagnosis sehingga dibutuhkan peralatan yang baik dan berkualitas. Penelitian ini bertujuan untuk Mengevaluasi Total Error dan Nilai Rujukan *Hematology Analyzer*. Pengukuran *Total Error* (TE) dilakukan dengan menggunakan bahan kontrol komersial yang sudah diketahui konsentrasinya dan dilakukan pengambilan data sebanyak 20 data dengan menggunakan metode *day to day* kemudian dihitung menggunakan rumus *Total Error* (TE). Evaluasi nilai rujukan dilakukan menggunakan metode validasi nilai rujukan dengan sampel kecil (*small sample*) menggunakan sampel darah K₂EDTA sebanyak 22 sampel laki laki dewasa dan 22 Wanita Dewasa sehat dan tidak dalam keadaan hamil. Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa nilai *Total Error* (TE) memiliki nilai terbesar adalah pada parameter trombosit dan *Mean Platelet Volume* (MPV). Untuk hasil evaluasi nilai rujukan pada alat untuk laki laki dewasa yang belum disetujui adalah pada parameter WBC, HCT, MCV, RDW, RDW-SD dan MPV. Sedangkan parameter yang belum disetujui untuk nilai rujukan wanita dewasa adalah MCH, RDW-SD dan MPV. Kesimpulan penelitian ini adalah nilai total error sebagian besar parameter diterima dan validasi nilai rujukan pada laki laki sebagian besar ditolak dan pada wanita sebagian besar diterima.

Kata Kunci : Darah Lengkap, Total Error (TE), validasi nilai rujukan

PENDAHULUAN

Uji Screening yang dilakukan salah satunya adalah uji darah lengkap atau *complete blood count* (CBC). Uji Darah Lengkap merupakan uji yang paling umum didunia kedokteran. Pemeriksaan ini dilaksanakan biasanya awal ketika pasien datang sebelum dilakukan pemeriksaan selanjutnya. Pemeriksaan darah lengkap atau disebut juga dengan CBC (*Completed Blood Count*) merupakan pemeriksaan yang sangat penting untuk pengobatan dan diagnose.^[1] Untuk menghasilkan pemeriksaan yang baik diperlukan peralatan yang baik. Peralatan yang digunakan untuk pemeriksaan komponen darah lengkap adalah Hematology Analyzer. Peralatan ini merupakan peralatan otomatis yang sudah banyak dipakai di laboratorium klinik. Penggunaan alat otomatis tersebut dapat mengurangi kesalahan terutama faktor analitis menjadi 10%. Walaupun kesalahan tersebut adalah paling kecil diantara 3 faktor mutu lain tetap dibutuhkan pemantauan^[2].

Alat otomatisasi *Hematology Analyzer* erat kaitannya dengan ketelitian (diwakili dengan CV) dan ketepatan (diwakili dengan bias (d%)). Ketelitian merupakan representasi

kesalahan sistemik dan ketelitian representasi dari kesalahan acak. Kedua komponen tersebut merupakan salah satu indikator kelayakan alat untuk beroperasi.^[3] Kedua komponen tersebut harus dimonitor ketika alat baru, ataupun ketika hasil dipertanyakan. Ketika kedua hasilnya baik maka alat tersebut layak untuk digunakan.^[2]

Total Error atau disebut dengan TE merupakan komponen yang menggabungkan kesalahan sistemik dan acak. FDA merekomendasikan penggunaan TE untuk mengevaluasi perkiraan kualitas prosedur pemeriksaan.^[4] Penggunaan TE lebih praktis digunakan karena dapat mengevaluasi dalam kesatuan nilai.

Pengujian *complete blood count* (CBC) yang dihasilkan oleh alat *Hematology Analyzer* kemudian diinterpretasikan hasilnya dengan adanya nilai rujukan. Nilai rujukan adalah berbagai nilai hasil tes biologis yang diproduksi oleh populasi besar orang sehat. Nilai tersebut muncul dalam bentuk interval dengan batas bawah dan batas atasan ditentukan berdasarkan rekomendasi dari konsep baru nilai referensi yang berasal dari berbagai penelitian. Rekomendasi ini bertujuan untuk menyelaraskan dan

membuat presentasi hasil yang lebih ketat sehingga dapat membantu klinisi.

Nilai rujukan parameter hematologi dari subyek sehat ini melihat perubahan sesuai dengan variabilitas analitik dan pra-analitis karena penggunaan sistem pengukuran yang berbeda atau beberapa faktor seperti usia, jenis kelamin, tinggi, lingkungan, ras, kehamilan, status gizi, etnis asal, gaya hidup, bioritme atau konsumsi tembakau, alkohol atau obat-obatan. Atas dasar itu penting setiap negara memiliki nilai rujukan sendiri.^[5]

Penggunaan nilai rujukan di Indonesia diambil berdasarkan dari produsen alat dan juga berasal dari kit reagen. Produsen alat dan kit reagen yang masuk di Indonesia sebagian besar berasal dari bahan import atau berasal dari luar negeri sehingga nilai rujukan yang terdapat didalam reagen dan alat biasanya hanya berdasarkan dari negara produsen alat dan kit reagen. Petunjuk dari *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) merekomendasikan bahwa setiap negara memiliki nilai rujukan populasi dewasa yang sudah ditetapkan

Pembentukan nilai rujukan di beberapa rumah sakit dan laboratorium klinik sangat sulit

dikarenakan pembentukan nilai rujukan membutuhkan biaya yang besar dan membutuhkan populasi yang besar. Pemilihan paling mudah adalah mentransfer nilai rujukan dengan cara memverifikasi nilai rujukan yang sudah ada.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi total error dan validasi nilai rujukan darah lengkap pada alat Hematology Analyzer.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif dengan pendekatan *cross sectional*. Pengambilan data untuk penilaian *Total Error* dengan cara *day to day* dengan data berjumlah sampai 20 data. Sebelum dilakukan untuk penilaian TE dilakukan perhitungan *coefficient variation* dan *Bias* dilakukan menggunakan Bahan Kontrol Komersial yang sudah diketahui kadarnya. Kontrol yang digunakan untuk evaluasi nilai rujukan dengan 3 level yaitu, *low*, *normal*, *high*.

Data kemudian dihitung menggunakan rumus *Coefficient Variation* (CV):

$$CV = \frac{SD}{Mean} \times 100\% \quad (1)$$

Dimana

CV = Nilai *Coeffisien Variation*

Mean = Rata rata

SD = Simpangan Baku

Sedangkan untuk menghitung akurasi dengan menggunakan rumus Bias yaitu:

$$d\% = \frac{x - NA}{NA} \times 100\% \quad (2)$$

d(%) = Bias

x = Rata rata

NA = Nilai Benar Bahan Kontrol

$$TE = \%BIAS + (1,96 \times \%CV) \quad (3)$$

TE = *Total Error*

CV = *Coeffisient Variation*

Populasi dan Sampel yang digunakan untuk validasi metode berdasarkan *Clinical & Laboratory Standar Institute (CLSI)* yaitu untuk validasi nilai rujukan menggunakan sampel kecil (*small sample*) yaitu sejumlah minimal 40 sampel masing masing untuk minimal 20 pria dan minimal 20 wanita dengan rentang umur 18-59 yang masuk dalam katagori dewasa yang tinggal menetap di Provinsi DI Yogyakarta. Kriteria tolakan untuk sampel adalah wanita hamil, dan terdapat bekuan didalam darah.

Untuk Evaluasi Nilai Rujukan menggunakan metode validasi nilai rujukan. Nilai rujukan yang digunakan berasal dari alat *Hematology Analyzer merk X*. Data sampel yang sudah dikumpulkan kemudian di evaluasi dalam rentang rujukan alat. Jika dari 20 data terdapat lebih dari 2 titik keluar dari rentang rujukan maka hasil tersebut maka rentang rujukan belum bisa digunakan untuk pasien.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan di pada bulan November 2020 yang bertempat di Laboratorium Hematologi, Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Penelitian ini berlangsung selama 1 bulan.

Sampel untuk menguji *Total Error* (TE) adalah menggunakan darah kontrol dengan 3 level (*High, Normal, Low*) yang berasal dari Perusahaan produsen alat dengan masing masing lot number 362011612, penggunaan lot number untuk bahan kontrol rendah (*low*) adalah 352011611 dan untuk bahan kontrol tinggi (*high*) menggunakan lot number 372011613. Alasan penggunaan bahan kotrol komersial tersebut merupakan rekomendasi dari produsen alat.

Pendekatan yang digunakan untuk mengukur *Total Error* (TE) menggunakan bahan kontrol yang dilaksanakan dalam waktu 20 hari (*day to day*) sebanyak 20 sampel. Penggunaan *day to day* memungkinkan untuk merekam kesalahan harian yang terjadi sehingga metode ini dapat mewakili gambaran umum kemampuan alat. Hasil data tersebut digunakan untuk menghitung *Total Error* (TE).

Tabel 1. Gambaran Total Error (TE) pada berbagai parameter pada alat hematologi Analyzer merk X

Parameter	%TE		
	<i>Low</i>	<i>Normal</i>	<i>High</i>
WBC	8,54%	4,46%	5,79%
RBC	6,67%	4,91%	4,41%
HGB	5,76%	3,33%	1,80%
HCT	8,63%	7,69%	7,90%
MCV	6,73%	8,14%	7,37%
MCH	6,39%	4,48%	4,94%
MCHC	5,30%	6,65%	7,48%
RDW	7,91%	5,30%	1,00%
PLT	14,66%	21,50%	22,10%
MPV	15,81%	16,07%	16,21%

Sampel untuk validasi nilai rujukan adalah pria atau wanita dengan

kriteria orang sehat, berumur 18-65 tahun tidak demam, tidak dalam keadaan hamil, tidak memiliki penyakit terkait dengan darah (anemia, Leukimia). Pada pengambilan sampel untuk uji evaluasi diawali dengan pengisian absensi terlebih dahulu, kemudian mengisi kuisioner yang telah disediakan. Pengisian kuisioner kemudian dievaluasi untuk melihat kelayakan untuk dijadikan sampel. Jika layak dijadikan sampel maka dilakukan pengambilan sampel darah dengan antikoagulan EDTA.

Pada sampel manusia yang digunakan untuk evaluasi validasi nilai rujukan didapatkan jumlah sampel Pria berjumlah 22 orang sedangkan jumlah sampel wanita berjumlah 22 orang. Pada tabel dijelaskan bahwa Usia rata rata pasien untuk wanita adalah 34,5 tahun dengan umur terendah adalah 23 tahun dan tertinggi adalah 54 tahun. Pada pria rata rata umur adalah 44,6 tahun dengan umur terendah adalah 18 tahun dan umur tertinggi 64 tahun. Untuk mengevaluasi nilai rujukan pada alat menggunakan pendekatan CLSI dengan menggunakan sampel kecil (*small sampel*) dengan minimal 20 sampel untuk 1 kelompok nilai rujukan.^[5]

Pada evaluasi nilai rujukan pendekatan yang dilakukan adalah dengan menggunakan *small sample*, yaitu pendekatan dengan mengambil populasi sehat sebanyak 20 orang, jika nilai jatuh diluar nilai rujukan yang telah ditentukan maka nilai rujukan tersebut tidak dapat digunakan. Namun sebaliknya jika nilai rujukan tersebut jatuh pada rentang rujukan yang telah ditentukan maka nilai rujukan tersebut bisa digunakan untuk pemeriksaan.^[6]

Tabel 2. Validasi nilai rujukan Wanita pada parameter darah lengkap

Parameter	Mean	SD	Median	Range	Obs Outside	Range	Grade
WBC	6,5125	2,21	6,305	2,44-11,6	10%	3,71-10,67	Acceptable
RBC	4,458	0,40	4,49	3,76-5,63	5%	3,87-5,68	Acceptable
HGB	13,324	0,8	13,345	11,41-14,52	5%	12,00-16,75	Acceptable
HCT	43,875	9,74	42,25	36,5-83,9	5%	35,1-48,7	Acceptable
MCV	91,965	5,74	94,45	80,7-98,5	5%	78,4-97,6	Acceptable
MCH	30,41	1,68	30,5	26,9-34	5%	26,5-33,5	Acceptable
MCHC	31,52	0,77	31,4	29,6-33,4	95%	32,9-35,4	Unacceptable
RDW	14,905	0,84	14,9	13,3-17	5%	12,7-15,6	Acceptable
PLT	281,085	46,14	276,65	211,9-395,9	5%	150,5-366,8	Acceptable
MPV	7,143	0,71	7,335	5,76-8,4	55%	7,42-10,77	Unacceptable

Sampel didapatkan pada penelitian ini hasil ditabulasikan sehingga mendapatkan data yang kemudian dipergunakan untuk evaluasi nilai rujukan. Pada hasil evaluasi nilai rujukan didapatkan bahwa untuk keberterimaan nilai rujukan adalah dengan grade *Acceptable* (terima) sedangkan untuk penolakan adalah *Unacceptable* (tidak diterima).

Pada evaluasi nilai rujukan Wanita dewasa didapatkan bahwa terdapat 3 parameter yang tidak dapat diterima yaitu pada parameter MCHC dan MPV dengan masing masing yang keluar dari nilai rujukan alat berturut turut adalah 95% dan 55%. sedangkan pada parameter lainnya disetujui

Pada hasil yang didapatkan parameter darah lengkap yang tidak diterima untuk katagori Pria dewasa adalah WBC, HCT, MCV, RDW, MPV dengan masing masing nilai yang keluar pada pada nilai rujukan alata berturut turut adalah 25%, 45%, 40%, 100%, 49%, 60%.

Tabel 3. Validasi nilai rujukan Pria pada parameter darah lengkap

Parameter	Mean	SD	Median	Range	Obs Outside	Range	Grade
WBC	7,643	1,71	6,93	5,39-11,06	25%	3,55-9,52	Unacceptable
RBC	5,212	0,42	5,205	4,47-6,17	10%	4,33- 5,72	Acceptable
HGB	15,39	1,08	15,36	13,27-17,57	5%	12,55-16,9	Acceptable
HCT	48,23	3,35	48,15	43,3-55,8	45%	38,3-49,3	Unacceptable
MCV	92,15	6,98	94,65	70,1-99,6	40%	78,3-95,5	Unacceptable
MCHC	29,46	2,40	30,25	21,3-31,9	5%	25,9-33,2	Acceptable
RDW	31,72	0,55	31,15	30,3-32,5	100%	33,0-35,3	Unacceptable
PLT	238,135	38,23	230,35	187,1-334,5	0%	146,5-334,8	Acceptable
MPV	7,17	0,76	7,055	61,15-8,72	60%	7,42-10,65	Unacceptable

Penilaian akurasi dan presisi sangat penting untuk langkah evaluasi selanjutnya yaitu nilai rujukan. Akurasi dan presisi adalah bagian dari *Quality Control* (QC) yang bertujuan untuk mendeteksi kesalahan yang didapatkan dari kegagalan sistem pengujian, lingkungan dan variasi.^[7]

Pada hasil diatas didapatkan bahwa terdapat beberapa parameter yang melewati batas CLIA yaitu Hematokrit pada kontrol high dan normal. Sedangkan pada kontrol low hampir semua parameter terutama leukosit, eritrosit dan Hemoglobin cenderung lebih tinggi dari standar CLIA. Untuk trombosit berdasarkan standar CLIA terbaru tidak masuk dalam standar yaitu sebesar 5% sedangkan pada hasil didapatkan rata rata lebih dari 20%. Perubahan bahan kontrol komersial mempengaruhi pengukuran dikarenakan masa kadaluarsa yang singkat serta diiringi variasi yang besar.^[8]

Selain itu perubahan tersebut mungkin disebabkan karena penyimpanan yang terlalu lama atau penggunaan bahan kontrol yang mendekati masa kadaluarsa ketika dibuka. Bahan kontrol komersial cenderung mahal, memiliki sensitifitas

tinggi terhadap kesalahan dan cenderung bersifat tidak stabil.^[9]

Pada penelitian ini penggunaan bahan komersial yang berasal dari pabrikan sehingga mempengaruhi akurasi yang merupakan bagian dari TE. Penggunaan akurasi ini sangat dipengaruhi oleh bahan kontrol komersial tersebut. Penentuan akurasi pada suatu alat HA yang terbaik adalah dengan membandingkan metode referensi. Namun cara ini masih kurang karena hanya beberapa parameter saja yang dapat digunakan dan tidak praktis. Selain itu metode referensi memiliki kelemahan seperti kesalahan perhitungan, kesalahan pembacaan dan lain sebagainya Metode yang digunakan untuk penentuan akurasi adalah dengan cara membandingkan alat HA yang akan diuji dengan HA yang lain.^[10]

Untuk Evaluasi yaitu berupa verifikasi nilai rujukan pada pria diketahui ada 5 parameter yang belum bisa dijadikan nilai rujukan pada alat, yaitu WBC, HCT, MCV, RDW, dan MPV. Tidak diterimanya nilai rujukan ini juga disebabkan karena beberapa sampel tidak dilakukan pemeriksaan lebih spesifik seperti pemeriksaan C-Reaktif Protein untuk menentukan adanya inflamasi. Selain itu gaya faktor

gaya hidup dan konsumsi seperti merokok pada objek penelitian dapat merubah beberapa nilai pemeriksaan darah lengkap terutama pada parameter Leukosit, Eritrosit, Trombosit, Hematokrit, MCH dan MCHC.^[11] Penggunaan sampel kecil dikarenakan keterbatasan waktu peneliti untuk menyelesaikan penelitian dan terdapat pandemi Covid 19 sehingga dalam melakukan pemilihan sampel belum maksimal.

SIMPULAN

Pada penelitian ini Hasil Evaluasi Pemeriksaan darah lengkap menggunakan alat Hematology Analyzer Merk X tidak seluruhnya baik dilihat dari standar *Total Error* (TE) dan untuk validasi nilai rujukan pada Pria pada parameter WBC, HCT, MCV, RDW dan MPV belum bisa digunakan, sedangkan pada Wanita pada parameter MCV dan MPV belum bisa layak untuk digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Serena, Vita et al. 2019. *Baseline haematological and biochemical reference values for healthy male adults from Mali*, Pan African Medical Journal, Vol 32,
2. Dasgupta, Amitava & Sepulveda. 2013. *Accurate Results in The Clinical Laboratory*, Elsevier, San Diego
3. Keohone, Elaine, Cathrine Otto, Jeanine Walenga. 2016. *Rodaks's Hematology*, Elsevier Saunders
4. Oosterhuis, W., Bayat, H., Armbruster, D., Coskun, A., Freeman, K., & Kallner, A. et al. 2017. *The use of error and uncertainty methods in the medical laboratory*. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 56(2).
5. Zhang et al. 2013. *Biological Variation of Hematologic Parameter Determined by Unicel DxH 800 Hematology Analyzer*, Arc Pathol Lab Med, Vol 2013
6. CLSI. 2000. *How to Define and Determine Reference Interval in The Clinical Laboratory; Approved Guideline 2nd Edition*, NCCLS Consensus Process
7. Purnomo, Joachim. 2019. *A Practical Guide to Validation and Verification of Analytical Method in the Clinical Laboratory*, Advance in Clinical Chemistry Vol 90, Elsevier
8. Turgeon, Mary Louie. 2012. *Clinical Hematology: Theory and Procedure 5th edition*, Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia
9. Zhao, Lei, Xiaoying Tang, & Xiao Yan. 2007. *The Study in Whole Blood Control Material of Hematology Analyzer*, IEEE/ICME International Conference on Complex Medical Engineering.

10. Cembrowsky, G.S, B. Smith, D. Tung. 2010. *Rationale for using insensitive quality control rules for today's hematology analyzers*, International Journal of Laboratory Hematology, John Wally & Son
11. Vis, J.V & Huisman. 2016. *Verification and Quality Control Routine Hematology Analyzer*, Journal Lab Med Vol 38
12. Sherke, Bharati Anil, et al. 2016. *Effect of number of cigarettes smoked per day on red blood cell, leucocyte and platelet count in adult Indian male smokers – A case control study*, International Journal of Medical Research and Health Science Vol: 5