

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA  
ANABİLİM DALI

107725

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
TEZ YAKUTASYON MERKEZİ

DENİZLİ'DE YAŞAYAN 18-40 YAŞ ARASI  
BİREYLERDE FARKLI YÖNTEMLERLE REFERANS  
ARALIKLARIN SAPTANMASI

T 107725

UZMANLIK TEZİ

Dr. YAŞAR ENLİ

DENİZLİ 2001

İş bu çalışma, Jürimiz tarafından BİYOKİMYA ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

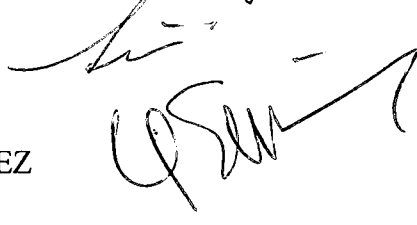
Başkan Prof.Dr.Diler ASLAN



Üye Doç.Dr.Bünyamin KAPTANOĞLU



Üye Doç.Dr.Simin ROTA



Üye Doç.Dr.Yurdaer SERMEZ

Üye Yrd.Doç.Dr.Süleyman DEMİR



Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

12.12.2002



Prof.Dr.Hüseyin BAĞCI  
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Dekani

## TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel çalışmayı öğreten, tez çalıŐmam boyunca da bilgi ve desteğini esirgemeyen Sn. Prof. Dr. Diler Aslan'a, ihtisas eğitimime katkılarından dolayı Sn. Doç. Dr. Bünyamin Kaptanoğlu, Sn. Doç. Dr. Simin Rota ve Sn. Yrd. Doç. Dr. Süleyman Demir ile, bir süre önce bizden ayrılan Sn. Doç. Dr. Mehmet Köseoğlu'na, Biyokimya A.D. Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma ve Biyokimya Laboratuvarı çalıŐanlarına teŐekkür ederim.

İhtisasım süresince ve özellikle tez aşamasında, bana gösterdikleri sabır ve desteklerinden dolayı sevgili eşim Dr. Havane Enli ile biricik kızım Sinem Enli'ye sonsuz sevgi ve teŐekkürlerimi sunarım.

Dr. Yaşar ENLİ

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
1. Referans Aralıkların Saptanması.....	2
1.1. Referans Verilerinin Elde Edilme Yolları.....	6
1.2. Referans Bireylerinin Seçilme Kriterleri.....	6
1.2.1. Direkt ve İndirekt Yöntem.....	7
1.2.2. Test Öncesi ve Test Sonrası Örnekleme Yöntemi.....	8
1.2.3. Rastgele ve Rastgele Olmayan Yöntem.....	8
1.3. Referans Birey Bilgilerinin Kaydedilmesi İçin Anket Formlarının Oluşturulması.....	9
2. Laboratuvar Koşullarının Sağlanması.....	12
2.1. Preanalitik Evre.....	12
2.2. Analitik Evre.....	13
3. Verilerin Toplanması.....	15
4. Referans Değerleri Hesaplama Yöntemleri.....	16
4.1. Dağılımın İncelenmesi.....	17
4.2. Aşırı Uçlarda Gözlenen Verilere Yaklaşım (Sapan Değerler)....	18
4.3. Referans Değerlerin Sınırlarının Belirlenmesi.....	19
4.4. Referans Değerlerin Hesaplanmasında Alt Grup Değerlerinin Karşılaştırılması.....	21
5. Seçilmiş Referans Birey Verilerinden Referans Aralık Saptanması	23
6. Laboratuvara Başvuran Bireylerin Verilerinden Referans Aralık Saptanması.....	25
7. Referans Değerlerin Hesaplanmasında En Az Kaç Veri Yeterli Olmaktadır?.....	26
8. Referans Aralıkların Transferi ve Geçerli Kılınması.....	27
9. Referans Aralıkların Belirtilmesi ve Bildirilmesi.....	28
10. Terminoloji.....	29
GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
1. Çalışma Grubu.....	30
1.1. Seçilmiş Bireyler.....	30
1.2. Laboratuvara Başvuran Bireyler.....	33
1.3. Analiz Örneklerinin Toplanması.....	35
2. Analitik Sistem.....	35
2.1. Enstrumantasyon.....	35
2.2. Reaktifler.....	35
2.3. Analiz Yöntem İlkeleri.....	37
2.3.1. Glukoz.....	37
2.3.2. BUN.....	37
2.3.3. Kreatinin.....	37
2.3.4. Total Kolesterol.....	38
2.3.5. HDL-Kolesterol.....	38
2.3.6. LDL-Kolesterol.....	38
2.3.7. Trigliserid.....	39
2.3.8. Ürik Asit.....	39

2.3.9. Alkalen Fosfataz.....	39
2.3.10. Serbest T3.....	40
2.3.11. Serbest T4.....	40
2.3.12. TSH.....	41
2.3.13. Total T3.....	41
2.3.14. Total T4.....	42
2.4. Kalibrasyon.....	42
2.5. Analitik Kalite Kontrol.....	43
2.5.1 Tekrarlanabilirlik.....	43
2.5.2. İnternal Kalite Kontrol.....	43
3. Referans Aralıkların Hesaplanması.....	43
3.1. Seçilmiş Birey Verilerinden.....	43
3.2. Laboratuvara Başvuran Birey Verilerinden.....	44
4. İstatistik.....	46
BULGULAR.....	47
1. Analitik Kalite Kontrol.....	47
1.1. Tekrarlanabilirlik.....	47
2. Referans Aralıkların Hesaplanması.....	51
2.1. Seçilmiş Bireyler.....	51
2.1.1. Nonparametrik Yöntem İle Referans Aralıkların Hesaplanması.....	51
2.1.2. Parametrik Yönteme Göre Referans Aralıkların Hesaplanması.....	66
2.1.3. Seçilmiş Bireylerde Analitler ile Yaş ve BMI Arasındaki Korelasyon.....	69
2.2. Laboratuvara Başvuran Birey Verilerinden Referans Aralık Hesaplanması.....	70
TARTIŞMA.....	88
SONUÇ.....	98
ÖZET.....	101
SUMMARY.....	104
KAYNAKLAR.....	107

## TABLolar ÇİZELGESİ

Tablo I. Referans aralıkların saptanma aşamaları.....	5
Tablo II. Referans aralık saptama anket formu (çekirdek form).....	10
Tablo III. Gruptan ayırma (dışlama) kriterleri.....	9
Tablo IV. Altgruplara bölme kriterleri.....	9
Tablo V. Analizi etkileyen koşullar.....	13
Tablo VI. Örneklerin toplanmasında dikkat edilecek koşullar .....	14
Tablo VII. Analitik sistem geçerliliğinin kanıtlanması (kalite güvence)...	14
Tablo VIII. 2,5'uncu yüzdeliikteki %90 güven aralığını belirleyen sıra numaraları.....	21
Tablo IX. z değerleri için formüller.....	22
Tablo X: Referans aralık anket formuna (Tablo II'deki) analit özelliklerine göre eklenen sorular.....	30
Tablo XI: Analitleri etkileyen başlıca faktörler (dışlama kriterleri).....	32
Tablo XII. Seçilmiş bireylerden oluşan referans aralık popülasyonunun genel özellikleri.....	33
Tablo XIII: Laboratuvara başvuran bireylerin özellikleri.....	34
Tablo XIV: laboratuvara başvuran bireylerin analitlere göre dağılımı....	34
Tablo XV. Biyokimyasal testlerin analitik performansı (gün içi değişkenlikleri).....	47
TabloXVI. Biyokimyasal testlerin analitik performansı (günler arası değişkenlikleri).....	48
Tablo XVII. Hormon (immünoölçüm) parametrelerinin analitik performansı (gün içi değişkenlikleri).....	49
Tablo XVIII. Hormon (immünoölçüm) parametrelerinin analitik performansı (günler arası değişkenlikleri).....	50
Tablo XIX: Tüm değişkenlerin analitler üzerine etkileri (uç değerler atılmadan).....	58
Tablo XX-A: Referans Aralıkların Değişik Yöntemlere Göre Hesaplanması.....	60
Tablo XX-B: Referans Aralıkların Değişik Yöntemlere Göre Hesaplanması (cinsiyetler arasında anlamlı fark olmayan analitlerin referans aralıkları, kadın ve erkek verileri birleştirilerek hesaplanmıştır).....	63
Tablo XXI: Seçilmiş bireylerin referans aralık verilerinin Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmesi.....	67
Tablo XXII: Logaritmik transformasyon yapılmış verilerin Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmesi.....	67
Tablo XXIII: Analit düzeylerinin yaş ve BMI ile ilişkileri.....	70
Tablo XXIV: Laboratuvara başvuran bireylerin verilerinin tüm uç değerler atıldıktan sonra, Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmesi....	79
Tablo XXV: Cinsiyetin analitler üzerine etkileri (laboratuvara başvuran bireylerden elde edilen verilerden).....	81
Tablo XXVI: Yaş ile analitler arasındaki korelasyon (laboratuvara başvuran bireylerden elde edilen verilerden).....	81

<b>Tablo XXVII: Referans aralık çalışmalarında kullanılan cihazlar, analiz ve referans aralık saptama yöntemleri.....</b>	<b>90</b>
<b>Tablo XXVIII: Genel kontrol paneli testlerinden olan ALP, glukoz, BUN, kreatinin ve ürik asit için farklı çalışmalarda bulunmuş olan referans aralık değerleri (18-40 yaşlar için).....</b>	<b>91</b>
<b>Tablo XXIX: Lipid paneli testlerinden olan total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid için farklı çalışmalarda bulunmuş olan referans aralık değerleri (18-40 yaşlar için).....</b>	<b>92</b>
<b>Tablo XXX: Tiroid paneli testlerinden olan TSH, total T3, total T4, serbest T3 ve serbest T4 için farklı çalışmalarda bulunmuş olan referans aralık değerleri (18-40 yaşlar için).....</b>	<b>93</b>



## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Şekil 1. Referans değerler hesaplama akış şeması.....	4
Şekil 2. Erkek ve kadın referans bireylerden elde edilen verilerin histogramları.....	51
Şekil 3. Uç değerler atıldıktan sonra kalan verilerin histogramları....	56
Şekil 4. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerden elde edilen verilerin histogramları.....	71
Şekil 5. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerin verilerinden uç değerler atıldıktan sonraki elde edilen verilerin histogramları.....	75
Şekil 6: Referans aralık hesapladığımız veri grupları (her yöntem için, o yöntem göre belirlenen uç değerler atıldıktan sonra kalan verilerden oluşan).....	84





## GİRİŞ

Laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesinde hastalık var/yok kararının verilmesinde temel alınan değerler, referans aralıklardır.

Klinik laboratuvarlarda, hasta sonuç raporlarında yazılan referans aralıkların belirlenmesinde, sağlıklı olduğu düşünülen toplumun verilerinden yararlanılır. Sağlıklı toplumdan elde edilen verileri etkileyen faktörlerden başlıcaları yaş, cinsiyet, ırk, diyet, egzersiz, örneğin alındığı zamandaki açlık tokluk durumu, gebelik evresi, sigara ve alkol kullanımınıdır. Bu nedenle, sağlıklı olsalar da, referans toplumu oluşturmak için, dikkatli bir seçim gereklidir. Referans toplumu oluşturmak ve referans aralığını saptamak oldukça zordur. Referans toplumu oluşturulmasında, önceden belirlenmiş kriterlere göre seçilen bireylerden yararlanılabileceği gibi, zaman ve masraf açısından daha avantajlı olduğu düşünülen laboratuvara başvuran hasta verileri de kullanılabilir. Referans aralığının saptanmasında ise, nonparametrik yöntem, parametrik yöntem gibi değişik yöntemler kullanılabilir. Referans aralık belirlenirken dikkat edilmesi gereken bir diğer unsur, cihaz ve yöntem uygunluktur. Günümüzde birçok klinik laboratuvar, üretici firmaların kendi cihazları için tanımladığı referans aralıklarını kullanmaktadır. Bir toplumdan diğer bir topluma referans aralık değerleri değişmekte olup, her klinik laboratuvar kendi koşullarında, kendi referans aralıklarını saptamalı ve bu değerleri kullanmalı görüşü yaygındır.

Biz de, kendi popülasyonumuzdan seçtiğimiz sağlıklı olduğunu düşündüğümüz ve laboratuvara başvuran bireylerden oluşan iki farklı referans örnek grubunda genel kontrol paneli (alkalen fosfataz, glukoz, kan üre nitrojeni (BUN), kreatinin, ürik asit), lipid profili (total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid), tiroid paneli testleri (TSH, total T3, total T4, serbest T3, serbest T4) için elde ettiğimiz verilerden, referans aralıkları parametrik ve nonparametrik olarak ayrı ayrı hesaplamak ve bu farklı yöntemleri birbirleriyle karşılaştırarak hangisinin daha kolay uygulanabilir olduğunu saptamak için bu çalışmayı yaptık.

## GENEL BİLGİLER

### 1. REFERANS ARALIKLARIN SAPTANMASI

Çalışmama konu olan referans aralıklar, tıbbi kararda referans alınan sağlık göstergesi olan değerlerin aralıklarıdır. Analit düzeyine göre hastalık var veya yok tanısı; hastalık yoksa, hastalık için risk grubunda olup olmadığı kararı; risk grubunda ise izleme kararı; hastalık varsa tedavi kararı; ilaç tedavisi için karar; komplikasyon riski; metastaz varlığı kararları tıbbi kararlar olarak adlandırılır (1). Hastalık var veya yok kararında, sağlıklı toplumdan elde edilmiş referans değerlerden yararlanılır.

Referans değerlerin hesaplanmasıyla ilgili kaynaklar oldukça eski yıllara dayanmaktadır. 1960 sonlarında başlayan yayınlarda, "normal aralık (normal değerler)" olarak adlandırılmış ve istatistiksel hesaplama yolları tartışılmıştır. Ancak, "normal değerler" terimi bazı sakıncalar nedeniyle terkedilmiş bulunmaktadır (1, 2). Bu sakıncalar:

- Normal teriminin tanımlarına göre; bireyin kendi normali, sağlıklı döneminde belirtilen bireyden elde edilmiş değer; optimum sağlık koşullarındaki bireylerden elde edilmiş verilere dayanan değerler; Cohort (eş grupları) normalleri, hastanın grubunu temsil eden sağlıklı toplumdan elde edilmiş değerler; genel toplum normalleri, hastanın geldiği toplumun tüm fertlerini temsil eden gruptan elde edilmiş normaller; istatistikteki anlamıyla, normal dağılım ya da Gaussian dağılıma uyan veriler grubu (biyolojik veriler her zaman normal dağılım gösteren çan eğrisi grafiğine uymaz).
- Epidemiyoloji yönünden değerlendirildiği zaman, %95 aralıktaki değerler normal olarak alındığında, %5'lik dış alanlardaki normal bireylerin mutlaka hasta olduğu kabul edilmektedir.
- Klinik yönden değerlendirildiğinde, sağlığın göreceli bir kavram olduğu düşüncesine ters düşmektedir. Örneğin; normal ürik asit değeri, yaş, cinsiyet, ırk, fiziksel aktivite, ilaç, genetik faktörler gibi, birçok etken altındadır. Bireyden bireye değişebilen değerlerin

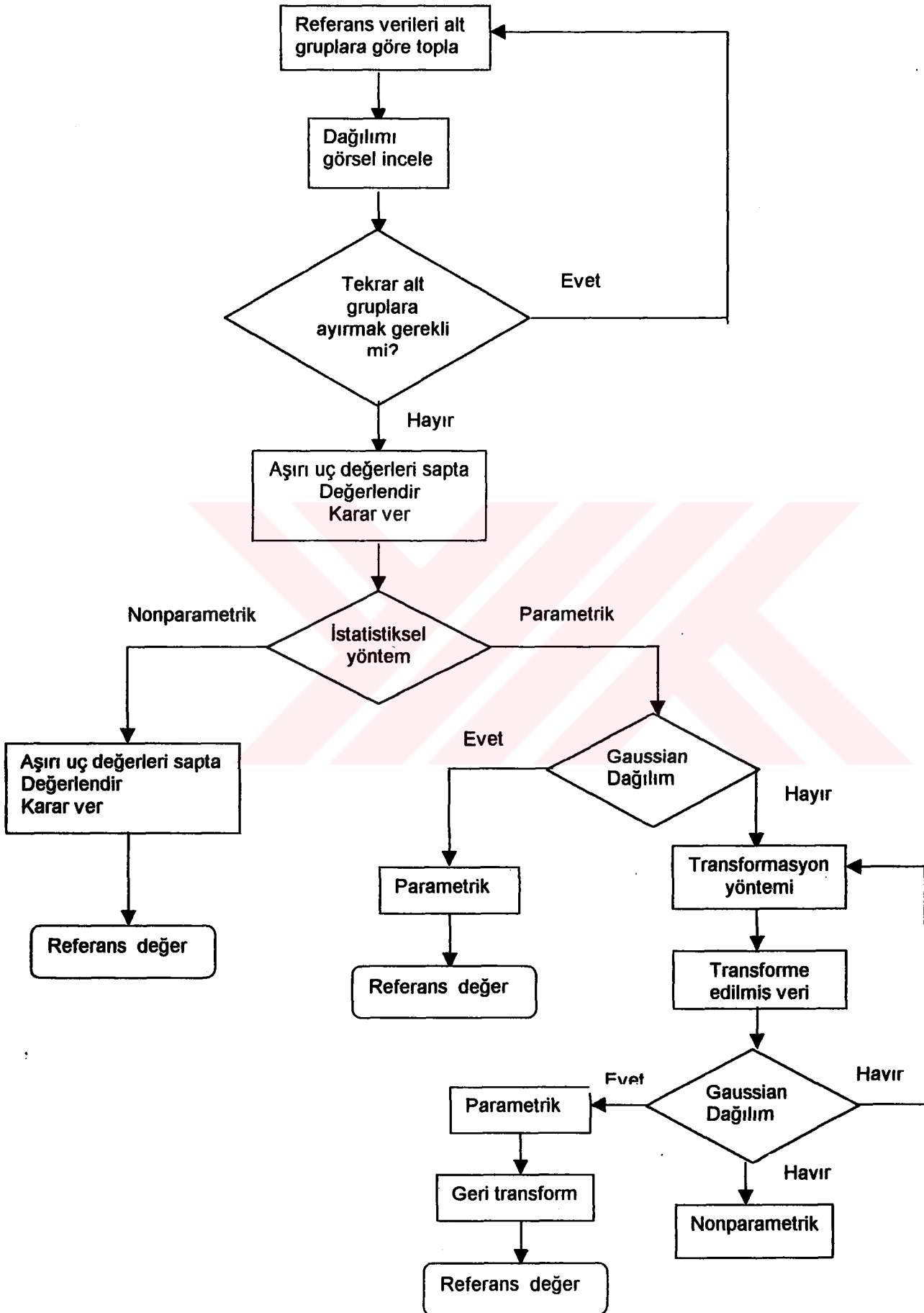
hangilerinin normal olarak tanımlanması gerektiğini belirlemek çok zor, hatta imkansızdır. Bireyin hangi sağlık durumlarında normal olduğunu belirlemek, yine çok zor işlemdir. Çünkü, aynı kişi bile, hayatının farklı dönemlerinde farklı sağlık durumlarında bulunabilmektedir.

Bu nedenlerden dolayı, "normal" terimi terk edilerek, karşılaştırmada temel alındığı için, "referans" teriminin daha uygun olacağı görüşü yaygın olarak benimsenmiş bulunmaktadır (1, 2).

Referans değerler bireyin kendisine veya belirli bir topluma ilişkindirler. Örneğin; sağlıklı görünen bireyler, sigara kullanmayan bireyler, sigara kullanan bireyler, bütün hastanedeki hastalar, tek bir hastalığı olan bireyler gibi. Şüphesiz en güzel örnek her bireyin kendi referans aralığının belirlenmesidir. İkinci sırada, genetik olarak ikiz olan kişilerde çalışmaktadır. Fakat sonuçlar, kişi aynı koşullar altında ve aynı yöntemler kullanılarak çalışılmadıkça karşılaştırılmaz (3).

Hastalık yönetiminde her bireyin yaşadığı topluma göre değerlendirmeye alınmasının önemi vurgulanmakta, her laboratuvarın kendi toplumunun referans değerlerini saptaması gerektiği savunulmakta ve önerilmektedir. Fakat, her laboratuvarın uygulaması oldukça zordur. Bu nedenle, belirli kriterlere göre seçilmiş bölgelerde (coğrafi bölgeler gibi), homojen referans grupları oluşturularak, referans aralıklar hesaplanabilir. Laboratuvarlar arasında kullanılan analiz yöntemlerine ve enstrümanlara göre birbirlerine çevrilebilirler. Önemli olan, referans aralıkların, kullanıldıkları toplumu temsil etmeleridir (1).

Referans aralıkların saptanma aşamaları oldukça çok basamağı kapsamaktadır. Referans aralık hesaplama akış şeması (Şekil 1) (1) ve genel olarak referans aralıkların saptanma aşamaları verilmiştir (Tablo I) (1).



Şekil 1. Referans değerler hesaplama akış şeması

Tablo I. Referans aralıkların saptanma aşamaları

1. Referans aralık saptanması yolunun belirlenmesi
2. Referans bireylerin seçilme yönteminin belirlenmesi
3. Standart anket formunun oluşturulması
4. Referans aralığı saptanacak analitin özelliklerinin belirlenmesi <ul style="list-style-type: none"><li>• Örnek alınmadan önce referans bireylerin nasıl hazırlanacağı</li><li>• Örneğin alınma ve saklanması için hangi koşullarda yapılacağı</li><li>• Analit ölçüm yöntemine girişim oluşturan etkenlerin saptanması</li></ul>
5. Laboratuvar koşullarının hazırlanması
6. Analitik kontrolün değerlendirilmesi ve sürdürülmesinin sağlanması
7. Belirlenmiş kriterlere göre verilerin toplanması
8. Verilerin istatistiksel analizinin değerlendirilmesi
9. İstatistiksel yöntemlere göre referans aralıklarının hesaplanması

Referans aralığı hesaplanacak toplumu temsil eden bilgiler derlenerek, bu toplum için alınacak referans toplumun özellikleri belirlenir. Bireyler bu özelliklere göre seçilir veya rastgele seçilen bireylerin verileri toplanır, daha sonra belirlenen özelliklere uyanlar hesaplamaya alınırlar. Bu yaklaşım, kullanılan yöntemlere göre çeşitli adlandırmalar alır. Hesaplama temel alınan kriterlere göre popülasyona dayalı, bireye dayalı veya referans bireylerin seçimine göre direkt-indirekt, priori-posteriori gibi adlandırılırlar (1).

Klinik laboratuvarlardaki günlük uygulamalarda, laboratuvar test sonuçlarında yazılan referans aralık değerleri, çoğunlukla sağlıklı bireylerden elde edilen değerlerdir. Sağlıklı bireylerin seçimi, önceden belirlenmiş kriterlere göre hazırlanan anket formunun doldurulması, fizik muayenelerinin ve gerekli tetkiklerinin yapılmasından sonra gerçekleştirilir.

Sağlıklı bireylerden referans aralıklar, Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan "Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi" (National Committee for Clinical Laboratory Standards-NCCLS) (4) ve "Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu" nun (International

Federation of Clinical Chemistry-IFCC) (5) önerilerine göre hesaplanmaktadır.

Laboratuvara başvuran bireylerden referans aralık saptamak için farklı yöntemler vardır (6-12).

### **1.1. REFERANS VERİLERİNİN ELDE EDİLME YOLLARI**

Referans değerler "sağlıkla ilişkili", "diabetik", "yatan hastalara ilişkin" ve "ayaktan tedavi gören hastalarla ilişkili" gibi tanımlanmaktadır.

Ayrıca hesaplanmalarında temel alındıkları bireylere göre de adlandırılmaktadırlar:

- Popülasyona dayalı
- Bireye dayalı referans değerler

Popülasyona dayalı referans değerler, belirli kriterlere göre seçilen gruptan elde edilen verilerden oluşmaktadır.

Bireye dayalı referans değerler ise, bireyin önceden tanımlanmış belirli bir durumunda elde edilen değerdir (1).

Referans değerler tek analit için bulunabileceği gibi, birden fazla analitin için de bulunabilir. Tek analit için yapıldığı zaman "tek-değişkenli referans aralık", aynı grup fakat birden fazla analit için yapıldığı zaman "çok-değişkenli referans aralıktan" bahsedilir. Aynı referans grubunda, referans değerleri ayrı ayrı hesaplanmışsa "tek değişkenli referans aralık"; birlikte değerlendirilerek aynı grup için bir referans alanı oluşturulmuşsa, "popülasyona dayalı, çok değişkenli referans alanı" denir (1).

### **1.2. REFERANS BİREYLERİNİN SEÇİLME KRİTERLERİ**

Referans bireylerinin seçimi, referans aralığı saptamasında en önemli basamaklardan birini oluşturmaktadır. Öncelikle, referans

popülasyonunun iyi belirlenmesi gerekmektedir. Bu popülasyon kişinin kendisi (kişinin sağlıklı dönemlerinde elde edilmiş olan test sonuçları), hastane dışı (yani sağlıklı varsaydığımız popülasyon) veya hastane popülasyonu olabilir. Hatta, daha spesifik değerlere ulaşmak hedefleniyorsa, hasta grupları bile ayrı popülasyonlar olarak ele alınabilirler (13, 14).

IFCC ve NCCLS'nin referans değerlerin hesaplanmasıyla ilgili standartları referans bireylerin direkt yöntemle seçilmelerini önermektedir. Fakat, masraflı ve pratikte zor olması nedeniyle başka yollar da önerilmektedir. Bu yollar da dikkate alınarak, üç temele göre altı seçme yöntemi önerilmektedir (1, 2, 4):

- Direkt - İndirekt
- Test Öncesi Örneklem - Test Sonrası Örneklem (Priori-Posteriori)
- Rastgele - Rastgele olmayan

### **1.2.1. DİREKT VE İNDİREKT YÖNTEM**

Direkt yöntemde, belirlenmiş kriterlere göre hazırlanan anket formları doldurulup, sonra bireylerin tetkikleri yapılır. Direkt yöntemde, "priori" ve "posteriori" olarak iki farklı şekilde ayıklama yapılabilir. Analiz yöntemi ile ilgili bilgiler çok sayıda ve çok iyi biliniyorsa, bireyler tanımlanmış kriterlere göre seçilir ve örnek toplanır (priori). Bu yöntem, ileriye dönük bir ayıklamadır. Analiz yöntemi ayrıntılı bilinmiyor ve hakkında yeterli bilgi toplanamıyorsa, bireylerden örnekler alınır. Analiz yapıldıktan sonra, ayırma ve alt gruplara bölme işlemleri yapılır (posteriori). Bu yöntem, geriye dönük bir ayıklamadır. Bu yöntemi kullanabilmek için elimizde tüm koşulları sağlayan bir veri tabanının olması gerekmektedir (1).

İndirekt yöntemde, laboratuvara başvuran hastaların sonuçlarına tanımlanmış kriterler uygulanarak, istatistiksel analizler sonucunda, referans değerler elde edilebilir. Bu yöntem çok önerilmemekle birlikte, bazı laboratuvarlar tarafından kullanılmaktadır (1).

### **1.2.2. TEST ÖNCESİ VE TEST SONRASI ÖRNEKLEME YÖNTEMİ**

Her ikisi de direkt örnekleme stratejisini uygular. Farkları referans birey seçimindedir.

Kriterleri tam olarak sağlayan bireylerde yapılan referans aralık saptama yöntemine "test öncesi örnekleme (priori)" denir.

"Test sonrası örnekleme (posteriori)" yönteminde ise, bireylerden standardize koşullarda örnekler toplanırken, kriterlere göre hazırlanmış anketler doldurulur. Daha sonra seçim yapılır. Bu şekilde uygulamayla, referans grupları oldukça fazla sayıda birey içerebilir. Hasta veri tabanının kullanılması bu yöneme girmektedir.

Her iki yöntemin de avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Koşullara ve geçerlilik derecelerine göre değerlendirilmelidir (1).

### **1.2.3. RASTGELE VE RASTGELE OLMAYAN YÖNTEM**

Referans grup oluşturulmasında bireylerin seçiminin rastgele olması daha uygundur. Grubun hepsinin, referans grubu kriterlerini sağladığı düşünülerek örnekler toplanır ve analiz edilir. Elde edilen veriler istatistiksel analiz ile değerlendirilir. Referans aralıklar hesaplanır. Fakat, bu şekildeki çalışmanın gerçek hayatta uygulanması zordur. Referans aralıklarının saptanması için, kan donörlerinden ve hastane çalışanlarından grup oluşturularak referans aralık hesaplanması rastgele örnekleme tanımına girmemektedir.

Rastgele olmayan örneklemede, seçilen popülasyondan grup oluşturmak için, bireylerin önceden hangi kriterleri sağladığı saptanır. Rastgele olmayan örnekleme çoğunlukla uygulanan yöntemdir (1).



### 1.3. REFERANS BİREY BİLGİLERİNİN KAYDEDİLMESİ İÇİN ANKET FORMLARININ OLUŞTURULMASI

Referans verilerinin toplanması sırasında dikkate alınması ve kaydedilmesi gerekli olan tüm bilgiler (preanalitik etkenler gibi) analit özellikleri de dikkate alınarak belirlenir. Özel anket formları hazırlanır. "Referans aralık saptama anket formu" (Tablo II) olarak adlandırılabilir (4).

Referans grubuna alınmayacak bireylerin belirlenebilmesi için, gruptan ayırma kriterleri belirlenerek (Tablo III) bunlar anket formunda yer almalıdır (4).

Tablo III. Gruptan ayırma (dışlama) kriterleri

Alkol alımı	Son geçirilen hastalık
Kan donörü olma	Laktasyon
Hipotansiyon veya hipertansiyon durumu	Şişmanlık
İlaç bağımlılığı	Meslek
İlaç kullanımı (reçeteli)	Oral kontraseptifler
İlaç kullanımı (reçete gerektirmeyen)	Gebelik
Çevresel faktörler	Ameliyat: Son zamanlarda
Açlık ve tokluk durumu	Tütün kullanımı
Genetik faktörler	Transfüzyon: Son zamanlarda
Hastanede yatma (şu anda veya önceki)	Vitamin kullanımı

Grupların içinde homojenliğin sağlanabilmesi, dolayısıyla standardizasyon için, altgruplara bölme kriterleri de (Tablo IV) dikkate alınarak bilgiler toplanır (4, 15-20).

Tablo IV. Altgruplara bölme kriterleri

Yaş	Cinsiyet
Kan grubu	Menstrüel döngü evresi
Sirkadyan değişim	Örneğin alındığı saat
Diyet	Gebelik evresi
Egzersiz	İrk
Açlık veya tokluk	Ömek alınırken postür
Etnik durum	Tütün kullanımı durumu (sıklık ve miktar)
Coğrafik yerleşim	

Tablo II. Referans aralık saptama anket formu (çekirdek form)

<b>REFERANS ARALIK SAPTAMA ANKET FORMU</b>												
<b>TÜM BİLGİLER KESİNLİKLE GİZLİ TUTULACAKTIR VE SİZİN KAN ÖRNEĞİNİZDEN ELDE EDİLEN SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN KULLANILACAKTIR.</b>												
ÖRNEK NO:	(LABORATUVAR TARAFINDAN DOLDURULACAKTIR)											
ÖRNEK ALINDIĞI SAAT:												
İSİM (ADI,SOYADI):												
MEDENİ HALİ:					TELEFON:							
YAŞ:	(YIL)	CİNSİYET:				IRK:						
BOY:	(m)	(cm)	AĞIRLIK:	(kg)								
MESLEK:												
KENDİNİZİ SAĞLIKLI HİSSEDİYOR MUSUNUZ?	(E)	(H)										
DÜZENLİ OLARAK EGZERSİZ YAPIYOR MUSUNUZ?	(E)	(H)										
EVET İSE NE KADAR SIKLIKTA? (SAAT/HAFTA)												
AKTİVİTENİN DERECEŚİ?	(HAFİF)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	(AĞIR)
SON ZAMANLARDA HİÇ RAHATSIZLANDINIZ MI?	(E)	(H)										
EĞER EVET İSE NE ZAMAN?						VE NEDEN?						
REÇETE EDİLMİŞ İLAÇ ALIYOR MUSUNUZ?	(E)	(H)										
EĞER EVET İSE NE?												
SÜRESİ:												
EN SON İLAÇ NE ZAMAN ALDINIZ?						ADI:						
VİTAMİN İLACI ALIYOR MUSUNUZ?	(E)	(H)										
EĞER EVET İSE NE?												
İŐİNİZDE TEHLİKELİ KİMYASAL MADDELERE	(E)	(H)										
MARUZ KALİYOR MUSUNUZ?												
EĞER EVET İSE NE?												
SÜRESİ:												
SİGARA KULLANIYOR MUSUNUZ?	(E)	(H)										
EĞER EVET İSE NE ŞEKİLDE?												
NE KADAR?												
SÜRESİ:												
ÖZEL DİYET UYGULUYOR MUSUNUZ?	(E)	(H)										
EĞER EVET İSE LÜTFEN TANIMLAYINIZ												
SÜRESİ:												

ALKOL KULLANMA ALIŞKANLIĞINIZ VAR MI? (E) (H)  
EĞER EVET İSE NE ŞEKİLDE?  
HANGİ SIKLIKTA?  
SÜRESİ:  
EN SON ALKOL NE ZAMAN ALDINIZ?  
BİR DOKTOR KONTROLÜ ALTINDA MİSİNİZ? (E) (H)  
EĞER EVET İSE NEDEN?  
RAHATLATICI İLAÇ KULLANIYOR MUSUNUZ? (E) (H)  
EVET İSE NE? HANGİ SIKLIKTA?  
SÜRESİ:  
SON ZAMANLARDA HASTANEYE YATTINIZ MI? (E) (H)  
NE ZAMAN?  
NEDEN?  
AİLENİZDE KALITSAL BİR HASTALIK VAR MI? (E) (H)  
EĞER VAR İSE TANIMLAYIN:  
SON GÜNLERDE ASİRİN YADA AĞRI KESİCİ ALDINIZ MI? (E) (H)  
EĞER EVET İSE NE? NE ZAMAN?  
SON GÜNLERDE SOĞUK ALGINLIĞI VE ALLERJİ TEDAVİSİ GÖRDÜNÜZ MÜ? (E) (H)  
EĞER EVET İSE NE? NE ZAMAN?  
SON GÜNLERDE HİÇ ANTİASİT VEYA MİDE İLACI ALDINIZ MI? (E) (H)  
EĞER EVET İSE NE? NE ZAMAN?  
DİYET HAPI KULLANIYOR MUSUNUZ? (E) (H)  
SÜRESİ:

KADINLAR İÇİN:

ADET GÖRÜYOR MUSUNUZ? (E) (H)  
EĞER EVET İSE, EN SON ADET TARİHİNİZ NEDİR?  
EĞER HAYIR İSE, HORMON REPLASMAN TEDAVİSİ ALIYOR MUSUNUZ? (E) (H)  
EĞER VARSA, BEBEĞİNİZİ EMDİRİYOR MUSUNUZ? (E) (H)  
HAMİLE MİSİNİZ? (E) (H)  
EĞER EVET İSE, TAHMİNİ DOĞUM TARİHİNİZ NEDİR?  
ORAL KONTRASEPTİF KULLANIYOR MUSUNUZ? (E) (H)  
EĞER EVET İSE HANGİSİ?

Tablo I'de dördüncü maddede belirtildiği gibi, referans aralığı saptanacak olan analitin ölçüm yöntemiyle girişim oluşturabilecek etkenler belirlenerek, bu konuda bilgi toplayabilecek sorular da, anket formunda bulunur.

Gerektiğinde referans bireye ulaşabilmek için, anket formunda hastanın adı soyadı, telefon numarası, adresi bulunmalıdır. Anket formu konusunda, referans birey bilgilendirilir ve izni alınır (4).

## **2. LABORATUVAR KOŞULLARININ SAĞLANMASI**

Tablo I'deki beşinci maddede belirtildiği gibi, laboratuvar koşulları analit özellikleri, ölçüm yöntemi ve ölçüm cihazına göre düzenlenir. Testi etkileyebilecek olan tüm preanalitik ve analitik (ölçüm yöntemi, cihazlar, sistemler) etkenler standardize edilmelidir (1).

### **2.1. PREANALİTİK EVRE**

Preanalitik faktörler, biyolojik (metabolik ve hemodinamik kaynaklı biyolojik değişkenler, ilaç etkileşimleri, başka hastalıklarla etkileşimler) ve metodolojik (hasta örneği toplanması, örnek alma teknikleri, eklenen koruyucular, kan alma tüplerine aktarma şekli) faktörler başlıkları altında toplanılarak değerlendirilir.

Analiz sonuçlarını etkileyen faktörler gözönüne alınarak, koşullar sonuçların en az etkileneceği duruma getirilir. Bunlar örnek alınırken hastaya verilecek pozisyon, örnek alınacak bireyin hazırlanması, örnek alınırken dikkat edilecek koşullar ve örneğin analize hazırlanması aşamasındaki işlemlerdir. Hangi durumlarda, hangi koşulların düzenlenebileceği Tablo V'te belirtilmektedir (1).

Tablo V. Analizi etkileyen koşullar

Standardizasyon	Örnekler
Hasta pozisyonu	<ul style="list-style-type: none"><li>• Yatar pozisyonda</li><li>• Oturarak</li></ul>
Bireyin hazırlığı	<ul style="list-style-type: none"><li>• En son yediği yemek içeriği ve ne zaman yediği</li><li>• Farmakolojik ajan alıyor mu? Ne zamandır?</li><li>• Biyolojik ritmlere göre örnek zamanı</li><li>• Fiziksel aktivite</li></ul>
Örnek alınması	<ul style="list-style-type: none"><li>• Örnek toplamadan önceki istirahat süresi</li><li>• Stres durumu</li><li>• Toplama sırasındaki çevre koşulları</li><li>• Zaman</li><li>• Örnek alma bölgesi</li><li>• Ekipman</li><li>• Teknik</li></ul>
Örneğin işlenmesi (analize hazırlık)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Taşınması</li><li>• Pıhtılaşma süresi</li><li>• Serum / plazmanın ayrılması</li><li>• Korunması</li><li>• Analize hazırlık</li></ul>

Laboratuvarda örneklerin tiplerine göre toplanma / alınma, analize hazırlık ve korunmaları konusunda prosedürler oluşturulmalı, referans bireylerden örnekler prosedürlere uygun alınmalıdır (Tablo VI). Analitlere göre değişiklik gösteren işlemler de ayrıca not edilmelidir (1).

## 2.2. ANALİTİK EVRE

Referans değerlerin elde edilme çalışmaları süresince, laboratuvarın analitik sisteminin geçerliliği kanıtlanmalıdır. Gün içi ve günler arası değişkenlikler belirlenir.

Analitik performansı etkileyen diğer faktörler de (ekipman, enstrumantasyon, su da dahil reaktifler, kalibrasyon standartları ve hesaplama yöntemleri) sürekli olarak kontrol edilir (Tablo VII). "Eksternal

Kalite Değerlendirme Programları” sonuçları ile doğruluk verileri de değerlendirilir veya doğruluğu kanıtlayıcı bilgiler kaydedilir (1).

Tablo VI. Örneklerin toplanmasında dikkat edilecek koşullar

<b>Anaerobik koşullarda saklanması</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kan gazları ölçümlerinde olduğu gibi</li></ul>
<b>Örnek alınacak vakumlu tüplerin belirtilmesi</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Plazma veya serum seperatörleri veya silikon enjektörler girişim oluşturabilir</li></ul>
<b>Analiz örneği sıvıları, fibrinojenden ve diğer hücre artıklarından arınmış olmalı</b>
<b>Örnek kan ise</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kanın arteryel, venöz veya kapiller mi olacağı</li><li>• Antikoagülanlı mı, düz tüpe mi alınacağı</li><li>• Ven veya deri yoluyla alma prosedürleri belirlenmeli</li></ul>
<b>Diğer vücut sıvıları (BOS, idrar, plevra, perikardiyal sıvılar)</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Çoğunlukla laboratuvar dışında alınır</li><li>• Toplanması, korunması, gönderilmesi ve işlenmesi ile ilgili prosedürler yazılarak ilgili birimler bilgilendirilmelidir</li><li>• Özellikle toplanma zamanları ve laboratuvara ulaşma süreleri belirlenmeli ve kaydedilmelidir</li><li>• Gerekğinde koruyucuların ve antikoagülanların seçimi</li><li>• İdrar analizlerinde, özellikle 24 saatlik idrarın miktar kontrolü için kreatinin ölçülmelidir</li></ul>
<b>Sıcaklık</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bazı analitler için örneklerin özel koşullarda alınması, saklanması, gönderilmesi ve işlenmesi gerekebilir. Örneğin: 37°C, oda sıcaklığı veya buz içinde.</li></ul>

Tablo VII. Analitik sistem geçerliliğinin kanıtlanması (kalite güvence)

• Reaktifler	:	Üretim numaralarına göre değişkenlikler
• Operatör	:	Operatörler arasındaki değişkenlikler
• Enstruman	:	Enstrumanlar arasındaki değişkenlikler
• Ölçüm yöntemleri:		Belirsizlik (internal kalite kontrol verileri)
		Gün içi – Grup içi
		Günler arası – Gruplar arası
		Doğruluk
		Bias (yöntem karşılaştırma ve eksternal kalite değerlendirme)
		Girişim
		Günlük etkenler

### 3. VERİLERİN TOPLANMASI

Referans değerler hangi bireylerden oluşursa oluşsun, tıbbi geçerlilik için, tanımlanmış uygun koşullarda elde edilen uygun verilerden hesaplanmalıdır. Referans değerlerin kullanılabilmesi için, aşağıdaki koşullara mutlaka uyulmalıdır (1):

1. Referans bireyler açık ve ayrıntılı olarak tanımlanmalı ve kaydedilmelidir.
2. Klinik karar verilirken, karşılaştırılan parametreden başka, karşılaştırılan grup referans grubuyla benzer olmalıdır. Örneğin: Hastalık var / yok kararında, hasta, sağlıklı olduğuna karar verilmiş olan referans grubuyla karşılaştırılırken; terapötik ilaç izlemede doz ayarlanırken, aynı hastalığı geçirmiş, semptomları ilaçla yok edilmiş grup referans alınır.
3. Birey örneklerinin alındığı, analiz örneklerinin hazırlandığı koşullar standardize edilmelidir.
4. Ölçü birimleri aynı olmalıdır.
5. Sonuçların elde edildiği analiz yöntemleri mümkün olduğu kadar standardize olmalı ve analitik kalite kontrolü kanıtlanmış olmalıdır.
6. Tanı için hastalığın patogenez evresinin sınırları çizilmelidir (kestirim değerleri).
7. Tüm testlerin tanısal duyarlılığı, tanısal özgüllüğü, prevalansı ve yanlış kararlara neden olduğu zaman sebep olduğu mali ve klinik zarar mutlaka bilinmelidir.

Referans bireylerinden oluşan referans grupları, kendi içlerinde de altgruplara ayrılabilir. Altgruplar bazı değişkenlere göre homojenliğin sağlanabilmesi için oluşturulur. Seçilen bireylerin içerisinde çok homojen alt grupların oluşturulması için bazı kriterlerin olması gerekmektedir. Altgruplara bölünmesinde temel alınan kriterlerin başında yaş ve cinsiyet gelmektedir. Tablo IV'te altgruplara ayırma kriterleri özetlenmektedir (4).

Faktörlerin etkileri değişebilmektedir. Bazı durumlarda daha da artabilmekte ve eğer etkilenen veri sayısı da fazla ise dağılımda farklılığa yol açabilecek dereceye ulaşmaktadır. Önemli olan bunların dışlanabilmesidir. Bir çalışmada dışlama kriteri olarak kabul edilen bir faktör, başka bir çalışmada dağılımı gruplara ayırmada kullanılabilir.

Yaş, eşit zaman dilimlerine veya puberte ve menapoz gibi periyodlara ayrılabilir. Sıklıkla postnatal, infant, premenapozal, menapozal ve yaşlılık şeklinde sınıflandırılır. Kemik yaşı, boy ve vücut kütle indeksi gibi kriterler, çocukların sınıflandırılması için, gerçek yaştan daha iyi belirleyicilerdir (21).

Bazı durumlarda, bireylerin sosyoekonomik durumları ve yaşadığı çevre adaptasyonlarından dolayı bazı parametrelerde değişiklikler olmaktadır (22).

Örnek, oturur veya yatar pozisyonda alındığında hemodinamik, böbrek perfüzyonu ve hormonal dengede farklılıklar olur (23).

Sağlıkla ilişkili referans aralıklar hesaplanırken gebelik gruba alınmama kriteridir. Halbuki, hamilelik ile ilişkili çalışmalarda gebeler trimestrelerine göre altgruplara ayrılırlar (1).

#### **4. REFERANS DEĞERLERİ HESAPLAMA YÖNTEMLERİ**

Hazırlanmış protokol ve prosedürlere göre referans bireylerden analiz materyalleri toplanır. Analiz edilir ve sonuçlar toplanır. İstatistiksel olarak incelenir. Hesaplama yöntemine karar verilir.

Referans değerlerin hesaplanmasında iki istatistik yöntem kullanılmaktadır (1):

1. Parametrik
2. Nonparametrik



Parametrik yöntemde, referans grup verilerinin olasılık dağılımının, matematiksel formunun "Gaussian / Normal" dağılıma uyduğu kabul edilir. Hesaplamalarda parametrik istatistik yöntemler kullanılır (24). Nonparametrik yöntemde ise, referans grup verilerinin, olasılık dağılım grafiğinin Gaussian dağılımına uyduğu varsayımı temel alınmaz. Nonparametrik istatistik yöntemlerinden yararlanılır (1, 25).

Gerçekte referans bireylerinin analit düzeyleri ile ilgili verileri Gaussian formuna uymamaktadır. Parametrik yöntem kullanılması için transformasyon yapılması gerekmektedir (1, 26, 27, 28).

IFCC parametrik yöntem ile referans aralık hesaplamayı önerirken, NCCLS nonparametrik yöntemle göre hesaplamayı temel almaktadır (4, 5).

#### 4.1. DAĞILIMIN İNCELENMESİ

Referans grup verilerinin histogramları çizilir. Manuel olarak veya bilgisayar programlarıyla oluşturulabilmektedir. Sütun grafikleriyle birlikte, normal dağılım eğrisi de çizdirilebilir.

Dağılım aşağıda belirtilen hususlar dikkate alınarak değerlendirilmelidir (1):

1. Dağılım sınırlarından çok fazla sapan değerler araştırılmalıdır. Aşırı uç değerlerin araştırılarak, hesap dışı bırakılması gereklidir.
2. İki tepeli veya "bimodal" veya çok tepeli "polymodal" dağılımlar, seçilen grubun homojen olmadığını göstergesidir. Referans verileri, alt gruplara bölme kriterlerine göre yeniden değerlendirilmelidir.
3. Dağılım eğrisinin görüntüsü değerlendirilir. Çan eğrisi şeklinde olan Gaussian dağılım eğrisine göre daha sağa çarpık ( $g_s > 0$ ) veya sola çarpık ( $g_s < 0$ ) ve daha dik ( $g_k > 0$ ) veya daha basık ( $g_k < 0$ ) olabilir. Asimetri ve normalden farklı

tepeleşmelerde, diklik veya basıklık birlikte değerlendirilmelidir.

4. Dağılım grafiğinin öncelikle değerlendirilmesi, hesaplamaların geçerliliği kararına da yardımcı olabilmektedir.

#### **4.2. AŞIRI UÇLARDA GÖZLENEN VERİLERE YAKLAŞIM (SAPAN DEĞERLER)**

Dağılımlar değerlendirilirken gözlenen, dağılımdan ayrılmış aşırı değerler hesaplamalara alındığı zaman sonuçlar olumsuz etkilenmektedir.

Parametrik dağılımlarda, veriler normal dağılım gösterdiğinden, aşırı uç değerler aritmetik ortalamanın  $\pm 3$  SD (standart sapma) veya  $\pm 4$  SD sınırları dışındaki değerler olarak alınır ve hesaplamalara katılmaz. Fakat biyolojik veriler, çoğunlukla normal dağılıma uymamaktadırlar (1, 29).

Nonparametrik dağılımlarda, aşırı uç değerlerin saptanması ve hesaba alınmaması konusunda çeşitli hesaplar önerilmekte ve uygulanmaktadır. D/R kuralı, referans aralıkların hesaplanmasında aşırı uçlar için önerilen yöntemlerden biridir (30). 120 veri içinde uygunluğu araştırılarak saptanmış, NCCLS standardında yer almıştır. Dixon tarafından önerilen D/R oranına göre karar için kestirim değeri,  $1/3$  olarak kabul görmüştür (1). D değeri, aşırı olduğu test edilen değerle, ona en yakın değer arasındaki farktır. R değeri ise, test edilen gözlemler de dahil, tüm veriler arasındaki aralık değeridir. Bu kurala göre, D değeri R değerinin  $1/3$ 'üne eşit veya  $1/3$ 'ünden yüksek ise, test edilen veri hesaba alınmaz. Bu kurala karşıt görüşler bulunmasına rağmen, nonparametrik yöntemle yapılan hesaplamalarda D/R kuralının ve kestirim değerinin yararlı olduğu denemelerde gözlenmektedir (4).

### 4.3. REFERANS DEĞERLERİN SINIRLARININ BELİRLENMESİ

Referans düzeyler tek değer olarak kullanılmazlar. Referans grup verilerinin dağıldıkları alanın, %95 merkezi alanındaki sonuçlar referans değerleri temsil ederler (1, 2, 31, 32).

Bu nedenle, alt sınır 2.5'uncu yüzdilik, üst sınır 97.5'uncu yüzdilik değeri olarak alınır. Bu alt ve üst sınırların hesaplanması için üç yaklaşım vardır (1):

1. Tolerans aralığı
2. Öngörü (prediction) aralığı
3. Yüzdellikler arasındaki aralıklar.

IFCC, yüzdellikler arasındaki aralığın kullanılmasını önermektedir (1). Yaygın olarak kabul görmüştür(3, 5).

Referans aralık sınırları verilirken, hangi yüzdellikler arasının kabul edildiği belirtilmelidir. Tanımlanan yüzdelikteki değer, o yüzdelikteki konsantrasyonu belirtir.

Referans aralıklar için yaygın olan sınırlar, merkezi %95 aralığı sınırlayan 2.5 ve 97.5'uncu yüzdelliklerdir. Yani, referans dağılımın her iki ucundan %2.5'lük veri hesap dışı bırakılır (1, 33, 34).

Parametrik yöntemle referans aralık alt ve üst sınırları (merkezi %95) aşağıdaki şekilde hesaplanır (5):

$$\begin{aligned} &(\text{Aritmetik ortalama}) - \{1,96 \times (\text{standart sapma})\} \dots 2.5'uncu \text{ yüzdellik} \\ &(\text{Aritmetik ortalama}) + \{1,96 \times (\text{standart sapma})\} \dots 97.5'uncu \text{ yüzdellik} \end{aligned}$$

Nonparametrik yöntemle referans aralık alt ve üst sınırlarına karşılık gelen sıra numaralarının saptanması (1, 35):

- Alt sınır:  $r_1 = 0.025 (n+1)$  .....2.5'uncu yüzdellik
- Üst sınır:  $r_2 = 0.975 (n+1)$  .....97.5'uncu yüzdellik

Diğer önemli karar da, referans aralıkların alt ve üst sınırlarının belirsizlik derecesidir. Bu alt ve üst sınırlar için de güven aralığının hesaplanması gerekmektedir. Hesaplanan her referans aralığının alt ve üst sınırları belirli sınırlar arasında değişir.

Bir referans grubundan referans aralıklar hesaplanır. Aynı popülasyondan seçilen farklı referans grupları için, hesaplanan referans aralıkların alt ve üst sınırları, ilk hesaplananın alt ve üst sınırlarıyla aynı olmadığı gibi, her grupta farklı sınırlar elde edilebilir. Bu farklılıkların hoşgörüldüğü sınırların bilinmesi gerekir. Bu sınırlarda %90 veya %95 güvenle hesaplanır ve "%90 veya %95 güven aralığı" olarak adlandırılır. Referans grupların aynı popülasyonu temsil edip etmedikleri hakkında bilgi verir (36, 37 38).

Yararlanıldığı alanlar iki ana başlık altında belirtilebilir. Birincisi araştırmacıya hesaplamalar arasındaki değişkenlik hakkında bilgi sağladığı gibi, bu değişkenliğin, nicel değeri hakkında da bilgi sağlar. Ayrıca örneklemdeki birey sayısı arttıkça, güven aralığı daha daralır. Diğer deyişle bireyler arasındaki değişkenlik azalır. Referans aralık değerleri daha güvenilir olur.

Parametrik yöntemde, %90 güven aralıkları aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır (5):

%90 Güven Aralığı = (Alt veya üst referans sınır) ± {2,81. (standart sapma) /  $\sqrt{\text{veri sayısı}}$ }

Nonparametrik güven aralıklarının hesaplanmasında aşağıdaki (Tablo VIII) belirlenmiş değerlerden yararlanır (5).

Tablo VIII. 2,5'uncu yüzdelerdeki %90 güven aralığını belirleyen sıra numaraları.

Örnek sayısı, n		Sıra	
En az	En çok	a	b
120	131	1	7
132	159	1	8
160	187	1	9
188	189	1	10
190	216	2	10
217	246	2	11
247	251	2	12
252	276	3	12
277	307	3	13
308	310	3	14
311	338	4	14
339	366	4	15
367	369	5	15

Not: "a" hedef popülasyonun 2.5'uncu yüzdelerdeki sınırın %90 güven aralığının alt sınırını temsil eden verinin numarasını gösterir. "b" hedef popülasyonun 2.5'uncu yüzdelerdeki sınırın %90 güven aralığının üst sınırını temsil eden verinin numarasını gösterir. 97.5 yüzdeler için, a ve b için bulunan sıra numaraları, n+1'den çıkarılır.

#### 4.4. REFERANS DEĞERLERİN HESAPLANMASINDA ALT GRUP DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Biyolojik örneklerdeki ölçüm sonuçları çok fazla sayıda faktörün etkisi altındadır. Referans bireyler bu etkenler dikkate alınarak seçilir ve referans gruplar oluşturulur. Bu etkenlerin bazıları standardize edilerek, mümkün olduğu kadar homojen gruplar oluşturulur. Her alt grup değerleri elde edildikten sonra, gruplar arasındaki farklılıklar test edilir, klinik kullanıma sunulur (1, 4).

İki dağılım ya lokasyonları (ortalamalar farkı) veya grup içi değişkenliklerindeki (standart sapmaları arasındaki fark) farklılıkları bakımından karşılaştırılırlar. Ortalamalar arasındaki farklar, iki alt grup için "Student's t-testi" ile, çok sayıda alt grup için "varyans analizi" ile test edilebilir. Bu testlere nonparametrik alternatifler, "Mann-Whitney U testi",

“Wilcoxon’un rank-sum testi” ve “Kruskal-Wallis çoklu örneklem” testleridir. Grup içi varyasyonların farkları, iki varyans oranı için “Fisher’s F-testi”, ikiden fazla varyans için “Bartlett’s testi” ve normal dağılım varsayımına az duyarlı olan “Levene’s testi” gibi parametrik testlerden yararlanılabilir (1).

Öncelikle, alt grupların hangi kriterlere göre oluşturulacağına karar verilir. Bunun için, çalışma konusu olan analit ile ilgili fizyolojik bilgiler elde edilir, klinik yararlılık saptanır.

Alt grup gerekiyorsa ve analitin klinik anlamlılığı da biliniyorsa, her alt grup 120 bireyden oluşmalıdır (1, 3, 4, 39, 40).

Alt gruplar arasında ortalamalar arasındaki farkın, tıbben önemli olan anlamlılık derecesi iki yolla incelenebilir (1):

#### 1. Standart normal sapma testi:

Tablo IX’da belirtildiği gibi, “z değeri” ve “kritik z değeri” hesaplanır. Hesaplanan “z değeri”, “kritik z değeri”nden büyük ise, alt grupların referans aralıkları ayrı ayrı hesaplanır (1).

Tablo IX. z değerleri için formüller

$$z = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{[(s_1^2 / n_1) + (s_2^2 / n_2)]^{1/2}}$$

( $\bar{x}_1, \bar{x}_2$  : Alt grupların aritmetik ortalamaları,  $s_1, s_2$  : Alt grupların standart sapmaları,  $n_1, n_2$ : Alt grupların veri sayıları)

$$z_{\text{kritik}} = 3 (n_{\text{ort}} / 120)^{1/2} \dots\dots\dots n_{\text{altgrup}} = 60 \text{ için}$$

$$z_{\text{kritik}} = 3 [(n_1 + n_2 / 240)]^{1/2} \dots\dots\dots n_{\text{altgrup}} = 120 \text{ için}$$

## 2. Standart sapmalar arasındaki oran:

Standart sapması büyük olan alt grubun standart sapma değeri, küçük olanın 1.5 katı veya daha fazla ise, alt grupların referans aralıkları ayrı ayrı hesaplanır (1).

$$s_2 > s_1$$

$$s_2 > (1.5) s_1 \text{ veya } s_2 / (s_2 - s_1) < 3$$

Her iki teste göre alt gruplar arasında tıbben önemli farklılık yok kararı verilirse, veriler birleştirilerek referans aralık hesaplanır.

Birden fazla alt grup karşılaştırılması gerektiği durumlarda, problem daha komplike hale gelmektedir. İstatistiksel yardım gerekir. 3 veya daha fazla alt grup için ANOVA önerilmektedir. Eşleştirilerek, ANOVA ve F-test yapılır, sonra eşleşmiş ortalamalar Tukey testi (0.05 olasılıkla) ile karşılaştırılır. Bilgisayar istatistik programında eşit olmayan alt gruplar genel ANOVA ile test edilerek, eşleşmiş ortalamalar Tukey testi ile karşılaştırılır. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan alt gruplar, tıbben önemli anlamlılık için z kriterine göre karşılaştırılır. Yukarıda açıklanan kriterler, referans aralıklarının laboratuvarlar arasında transferinde de kullanılabilir (1).

## **5. SEÇİLMİŞ REFERANS BİREY VERİLERİNDEN REFERANS ARALIK SAPTANMASI**

NCCLS C28-A standardına göre, referans aralığının saptanmasında önerilen protokol şu şekildedir (4, 22):

- 1- Tıbbi ve bilimsel literatürlerden analitik interferanslar ve biyolojik değişkenlerin uygun bir listesi saptanır,
- 2- Potansiyel referans bireylerde, referans toplumuna seçilmeyi veya referans toplumundan dışlanmayı belirleyecek olan kriterleri belirlemek için uygun sorular ve özel kriterler belirlenir,

- 3- Referans aralık çalışmasının yazılı prosedürü hazırlanır ve referans bireylerinin tamamına anket uygulanır,
- 4- Anket bulguları üzerinden potansiyel referans bireyleri kategorize edilir,
- 5- Çıkarma kriterlerine göre belirlenen bireyler referans örnek grubundan çıkarılır,
- 6- İstenen özelliklere sahip yeterli sayıda referans bireyine karar verilir,
- 7- Seçilen referans bireyleri hazırlanır,
- 8- Biyolojik örnekler belirlenmiş koşullarda toplanır ve çalışılır,
- 9- Belirlenmiş analitik metodlara göre, referans değerleri elde edilir,
- 10- Referans değer verileri incelenir ve histogramları çizilir,
- 11- Olası veri hataları ve/veya uç değerleri belirlenir ve atılır (D/R kuralına göre),
- 12- Referans aralığı, referans sınırları ve bu sınırların güven aralıkları belirlenir (genel bilgiler 3.3'te belirtildiği gibi).
- 13- Bütün belirtilen basamak ve prosedürler kaydedilir.

IFCC' nin önerilerine göre (5);

1. Referans verileri için bireyler seçilir,
2. Referans bireyleri hazırlanır ve örnekler toplanır,
3. Analitik değişkenlerin kontrolü yapılır,
4. Referans verileri elde edilir,
5. Eğer gerekirse, bu veriler alt gruplara ayrılır,
6. Dağılım incelenir,
7. Olası veri hataları belirlenir. Uç değerler (aritmetik ortalamanın  $\pm 3$  standart sapma sınırları dışındaki değerler) varsa, düzeltilir veya atılır.
8. Referans aralık hesaplama yöntemi seçilir,
  - a. Verilerin dağılımı, normal dağılıma uyuyorsa, parametrik yöntem seçilir,



- b. Verilerin dağılımı, normal dağılıma uymuyorsa, veri transformasyonu yapılır ve tekrar değerlendirilir,
- c. Veri transformasyonu sonrası, dağılım normal dağılıma yine uymuyorsa, nonparametrik yöntem seçilir,

## **6. LABORATUVARA BAŞVURAN BİREYLERİN VERİLERİNDEN REFERANS ARALIK SAPTANMASI**

Laboratuvara başvuran bireylerden referans aralık saptamak için farklı yöntemler vardır (6-11). Bu yöntemlerin hepsi indirekt yöntem olup, tüm verilerden sağlıkla ilişkili olan verilerin ayırt edilmesi gereklidir (10).

Bhattacharya yöntemini kullanarak referans aralıklar saptanabilmektedir. Buna göre, seçilmemiş birey verilerinin çoğunluğunun olduğu bölüm, sağlıkla ilişkili verilerden oluşmaktadır. Eğer hasta ve sağlıklı grupların verileri birbirinin içine çok fazla girmemişse, hastalıkla ilişkili veriler ile sağlıkla ilişkili veriler birbirinden matematiksel olarak ayrılabilirler. Sağlıkla ilişkili veriler, "gama fonksiyon" adı verilen işlemle, hastalıkla ilişkili verilerden ayrılmaktadır. Bu işlemde, analitler için elde edilen verilerin histogramları çizilir. Histogramlardan yararlanılarak, logaritmik bazı hesaplamalar yardımıyla elde edilen noktalardan, doğrusal özellik gösteren aralıkta olanları sağlıkla ilişkili veriler olarak kabul edilir. Sağlıkla ilişkili verilerin aritmetik ortalamasının  $\pm 2$  standart sapma uzaklığındaki veriler, referans aralık alt ve üst sınırları olarak saptanır (7).

Yapılan başka bir çalışmada referans aralıkların saptanmasında ortalama, standart sapma ve yatıklıktan yararlanarak sağlıkla ilişkili veriler ayırt edilerek, bu verilerden nonparametrik yöntemle referans aralık saptanmaktadır (6).

Başka bir yöntem ise, sağlıkla ilişkili verilerin elde edilmesinde, dağılımın "mod" etrafında olan bölümünün alınması temeline

dayanmaktadır. Daha sonra bu verilerden, GraphRoc bilgisayar programı kullanılarak, indirekt olarak olarak referans aralıklar saptanmaktadır (6).

Laboratuvar verilerinden referans aralık saptanırken kullanılan diğer bir yöntem de, bireylerin "taburcu tanılarına" göre, referans aralığı saptanacak olan analitleri etkilemeyecek olan bireylerin verileri, referans aralık hesaplanmasında kullanılır (8, 9, 11). Daha sonra bu bireylerin verilerinden, IFCC'nin önerilerine göre (gerekirse logaritmik transformasyon yapılarak) referans aralıklar saptanabildiği gibi (8), nonparametrik yöntem kullanılarak da referans aralıklar saptanabilir (9).

## **7. REFERANS DEĞERLERİN HESAPLANMASINDA EN AZ KAÇ VERİ YETERLİ OLMAKTADIR?**

İstatistikte verilerin analiz edilmeleri için gerekli veri sayısını hesaplama yöntemleri belirlenmiştir. Bu bilgilerden yararlanarak yapılan çalışmalara göre, referans değerlerinin sınırlarının hesaplanabilmesi için, 120 referans verisinin yeterli olabileceğini kanıtlamıştır (4, 5). Bu sayı, nonparametrik yöntemle hesaplamalar için geçerli kabul edilmektedir. Nonparametrik dağılımdaki, merkezi %95 alan içindeki verilerin, hem referans aralık sınırları, hem de referans aralık sınırlarının %90 güven aralıklarının hesaplanması için yeterli olduğu kabul edilmektedir (1, 3, 4).

Yaş ve cinsiyet grupları gibi ana alt gruplar için de bu sayı geçerlidir. Her iki cinsiyetten de 120'şer bireyin sonucu gerekmektedir. Fakat, yenidoğan, pediatrik ve geriatrik hastalar gibi, bazı alt gruplar için, bu kadar fazla sayı bulmak zor olabilmektedir. Bu gibi durumlarda, ne kadar veri elde edilirse edilsin, veriler analiz edilebilir ve nonparametrik yöntem kullanılır. Toplanan veri sayısına uygun yüzdeler sınır olarak alınır. Örneğin; 10 birey sonucu kullanılırken, 10. ve 90. yüzdeler değeri sınır olarak alınır (1).

## **8. REFERANS ARALIKLARIN TRANSFERİ VE GEÇERLİ KILINMASI**

Referans aralıklarının hesaplanmasında analit sayıları ve yeni yöntemler gittikçe artmaktadır. Bu nedenle her laboratuvarın kendisinin her analit için referans değeri hesaplaması gerçekçi görünmemektedir.

Klinik laboratuvarlar çoğunlukla üretici firmaların ve başka laboratuvarların hesapladığı referans aralıklarını kullanırlar. Laboratuvardan ayrı olarak hesaplanmış bu referans aralıkları, laboratuvarların kendi koşullarına göre transfer edilmelidir. Bu işlem de oldukça komplekstir. Genel olarak iki faktör temel alınır (1):

1. Aynı analitik sistemde (aynı yöntem ve enstruman) hesaplanmış olan referans aralıklarının transferi
  - a. Aynı laboratuvarda olabildiği gibi
  - b. Bir laboratuvardan diğerine,
    - i. Aynı coğrafik alanda ve aynı demografik popülasyondaki bireyler için
    - ii. Farklı coğrafik alanda veya farklı demografik popülasyondaki bireyler için;
2. Farklı analitik sistemde (farklı yöntem ve enstruman) hesaplanmış referans aralık transferi
  - a. Aynı laboratuvarda
  - b. Bir laboratuvardan diğerine,
    - i. Aynı coğrafik alanda ve aynı demografik popülasyondaki bireyler için
    - ii. Farklı coğrafik alanda veya farklı demografik popülasyondaki bireyler için yapılmaktadır.

Bu farklı durumlar, ya analitik sistemden, ya da bireylerin popülasyonlarından kaynaklanmaktadır.

Aynı laboratuvara yeni bir analiz yöntemi veya enstrüman kurulduysa, bu durumda transferlerde analitik sistemler dikkate alınır. Hasta örnekleri kullanılarak yapılan yöntem karşılaştırma deneylerinin sonuçlarına göre transfer edilir. Genel olarak, iki analitik sistem benzer belirsizlik ve bilinen girişimlerin etkisindeyse ve aynı veya karşılaştırılabilir standart ve kalibratörler kullanıyorsa, sonuçlar aynı birimlerde ise ve yöntem karşılaştırma deneylerinden kabul edilebilir sonuçlar elde edildiye transfer edilebilir. Aksi durumlarda, referans aralıklarının yeniden saptanması gereklidir (1).

Eğer, bir laboratuvar, üretici firma veya diğer laboratuvarın aynı analitik sistem için saptadığı referans aralıklarını kullanacaksa, bu durumda referans popülasyonun farkı gündeme gelir. Ayrıca, bunlara ek olarak preanalitik faktörler de referans değer hesaplama çalışmaları kapsamına alınmalıdır. Bu tür transfer, klinik laboratuvarlarda sıklıkla karşılaşılan referans aralık transfer tipidir (1).

Referans aralıkların transferinden sonraki aşama, kendi toplumumuzdaki geçerliliğinin kanıtlanmasıdır. Ya popülasyon ve analitik sistem özellikleri ve ölçütleri değerlendirilerek karar verilir, ya da 20 veya 60 bireylik referans gruplar oluşturulur, referans aralıklar hesaplanıp, belirli kriterlere göre değerlendirilir (1).

## **9. REFERANS ARALIKLARIN BELİRTİLMESİ VE BİLDİRİLMESİ**

Her analit için hesaplanan referans aralıklar ya laboratuvar sonuç raporlarında ya da üretici firmalar tarafından hazırlanan kit kullanma kılavuzlarında belirtilir. Referans aralıklar laboratuvar sonuç raporlarında belirtilirken, özellikle yaş ve cinsiyetten kaynaklanan farklılıklara dikkat çekilmelidir. Bu aralık dışında ölçülen değerler, "Yüksek" veya "Düşük" şeklinde uyarılır. Üretici firma referans aralıklarını belirtirken, dikkate alınan her faktörün etkileri hakkında da bilgilere erişilebilmelidir (1).

## 10. TERMİNOLOJİ

IFCC' nin önerdiği terminolojiye göre (4):

**Referans Birey:** Referans toplum için tanımlanmış kriterlere göre seçilen kişidir. Genellikle kişinin sağlık durumunun belirlenmiş olması önemlidir .

**Referans Popülasyonu:** Tüm referans bireylerinden oluşur.

a. Referans popülasyon saptama kriterlerine göre seçilen referans bireylerin bir grubudur .

b. Referans olarak tek bir birey alınabilir. Yani, kişinin kendi referansı belirlenir.

**Referans Örnek Grubu:** Referans toplumunu ifade edecek yeterli sayıda seçilmiş bireylerden oluşur. Bunlar referans toplumundan rastgele seçilir ve referans toplumunun alt grubudur.

**Referans Değer:** Referans örnek grubundaki bireylere yapılan özel ölçümler veya gözlemlerin sonucunda elde edilen değerlerdir.

**Referans Dağılımı:** Referans değer verilerinin istatistiksel dağılımıdır.

**Referans Sınır:** Referans dağılımdan bulunur ve tanımlayıcı amaç için kullanılır.

**Referans Aralık:** Alt ve üst referans sınırları içine alan aralıktır. Bazı durumlarda tek bir referans sınır önemli olabilir. Bu durumlarda, genellikle üst sınır (x) önemlidir ve referans aralık, sıfır ile üst sınır arasındadır (0-x).

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 1. ÇALIŞMA GRUBU

#### 1.1. SEÇİLMİŞ BİREYLER

Mayıs 2000- Ağustos 2000 arasında Pamukkale Üniversitesi Eğitim Uygulama Araştırma Hastanesinde görevli ve Biyokimya Laboratuvarına başvuran bireyler arasından anket yanıtlarına göre belirlenmiş olan 18-40 yaş arasındaki bireylerdir (toplam n=282 yaş=29.7 ± 6.3; erkek n=140, yaş=30.2 ± 6.1 (aritmetik ortalama ± standart sapma); kadın n=142, yaş=29.2 ± 6.4). Anket formu, Tablo II'de gözlenen, C28-A (Klinik Laboratuvarlarda Referans Aralık Saptanması) standardına göre hazırlanmış olup, referans aralığı ölçülecek olan analitlerin özelliklerine göre Tablo X'deki sorular eklenmiştir.

Tablo X: Referans aralık anket formuna (Tablo II'deki) analit özelliklerine göre eklenen sorular.

Genel kontrol paneli testlerinden	
ALP Glukoz Kreatinin BUN Ürik asit	Çekirdek forma eklenti yapılmadı.
Lipid paneli testlerinden	
Total kolesterol HDL-kolesterol LDL-kolesterol Trigliserit	Yiyeceklerinizde ne tip yağ kullanıyorsunuz? A) Katı B) Sıvı Rahatlatici ilaçlar kullanıyor musunuz? Eğer evet ise ilacın adı ve süresi nedir? Hormon tedavisi görüyor musunuz?
Tiroid paneli testlerinden	
TSH Total T3 Total T4 Serbest T3 Serbest T4	Yiyeceklerinizde ne tip tuz kullanıyorsunuz? A) İyotlu B) İyotsuz Epilepsi, guatr ya da kronik hastalığınız var mı? Eğer evet ise ilaç kullanıyor musunuz? Adı nedir? Son zamanlarda ilaçlı film çektirdiniz mi?

Analitleri etkileyen faktörler Tablo XI'de belirtildi (3, 11, 23, 41).

Analit düzeylerini etkileyen ilaçları (steroid, antidepresan, antihiperlipidemik ilaç, antiasit) kullanan bireyler (erkek n=3; kadın n=5); hematolojik verilere göre, WBC > 11000 olan bir erkek, Hb < 4 gr/dl olan iki kadın ve WBC < 4000 olan bir kadın ile, obez olan (vücut kütle indeksi>30) bireyler (erkek n=5; kadın n=6) çalışma grubuna alınmadı.

Analit düzeylerini etkilemeyen ilaçları kullananlar, günde 1-2 tane sigara içenler, 3 gün ve öncesinde alkol alanlar (alkolik olmayan), ölçtüğümüz analitleri etkilemeyen kronik hastalığı olan bireyler çalışma grubuna alındılar.

Değerlendirme ve elemelerden sonra kalan referans bireyler aşağıda belirtilmiş olup, erkek ve kadın gruplarının yaşları arasında fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ):

	n	Yaş
Erkek	131	30.2 ± 6.1
Kadın	128	28.7 ± 6.2
Toplam	259	29.4 ± 6.2

Tablo XI: Analitleri etkileyen başlıca faktörler (dışlama kriterleri).

ALP;	Intrahepatik ve ekstrahepatik tıkanıklıklar, ilaçlar (klorpromazin), hepatit, paget hastalığı, osteomalazi, osteoporoz, riketsia hastalığı, akromegali, fanconi sendromu, renal osteodistrofi, hiperparatiroidizm, kemik tümörleri, kemik kırıkları, fizyolojik kemik büyümesi, gebelik, preeklampsi, tirotoksikoz
Glukoz;	İlaçlar (insülin, oral hipoglisemik ajanlar, dilantin, pentamidin, glukokortikoidler, tiazidler, beta adrenerjikler), toksinler (alkol, hipoglisinler), ilerlemiş hepatik disfonksiyon, hormon eksikliği (glukokortikoid, büyüme hormonu), insülinoma, insülin antikoru, pankreas dışı kaynaklı neoplazmlar, sepsis, kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, cushing hastalığı, glukagonoma, akromegali, enfeksiyon, genetik sendromlar (Down sendromu, Klinefelter sendromu, porfiriler)
BUN;	Kronik böbrek yetmezliği, açlık (uzun süreli), yaralanma, immobilizasyon, enfeksiyon
Kreatinin;	Böbrek yetmezliği, gebelik, diyet, akut enfeksiyon, yaralanma, stress, ağır egzersiz
Ürik Asit;	Artmış pürin sentezi, metabolik hastalıklar (gut hastalığı, Lesch-Nyhan sendromu), diyetle artmış pürin alımı, malignansiler, psöriazis, sitotoksik ilaçlar, alkol, kronik böbrek yetmezliği, kurşun zehirlenmesi, ilaçlar (Salisilatlar, tiazidler), organik asitler (laktat, asetoasetat)
Lipid Profili Testleri (Total Kolesterol, HDL-Kolesterol, LDL-Kolesterol, Trigliserit);	İlaçlar (steroid, tiazid, antikonvülzan ilaçlar, beta blokör, oral kontraseptifler), alkol, obezite, porfiriler, diabetes mellitus, hipopituitarizm, hipotiroidizm, gebelik, depo hastalıkları (Gaucher, Niemann Pick), kronik böbrek yetmezliği, hemolitik üremik sendrom, nefrotik sendrom, konjenital bilier atrezi, yanıklar, hepatit, akut travma (ameliyat), miyokard enfarktüsü, enfeksiyonlar, anoreksia nervosa, açlık, sistemik lupus eritematozus
Tiroid Paneli Testleri (TSH, Total T3, Total T4, Serbest T3, Serbest T4);	Hashimoto tiroiditi, subakut tiroidit, endemik iyot eksikliği, ilaçlar (lityum, iyot, antitiroidler, dopamin, L-dopa, glukokortikoidler, somatostatin, amiodarone, propranol, propiltiourasil, fenitoin, salisilat, karbamazepin, furosemid, heparin, fenobarbital, rifampisin, alüminyum hidroksit, ferröz sülfat, kolestimamin, kolestipol, sukralfat, kayexalat, östrojen preparatları, klofibrat, opiatlar, ferpenazin, 5-fluorürasil, androjen preparatları), radyoaktif iyot alımı, cerrahi tiroid bezi rezeksiyonu, radyasyona maruz kalma, pitüiter hastalıklar, hipotalamik hastalıklar, graves hastalığı, plummer hastalığı, soliter toksik adenom, TSH sentezleyici pitüiter adenom, hCG sentezleyen trofoblastik tümör, hiperemesis gravidarum, subakut tiroidit, sessiz lenfositik tiroidit, tirotoksikozis faktis, struma ovarii, metastatik tiroid tümörü



Referans aralık anket formuna göre belirlenen, seçilmiş referans bireylerinden oluşan referans aralık popülasyonunun özellikleri Tablo XII'de görülmektedir:

Tablo XII. Seçilmiş bireylerden oluşan referans aralık popülasyonunun genel özellikleri.

	Erkek	Kadın
n	131	128
Yaş* (yıl)	30.2 ± 6.1	28.7 ± 6.2
Vücut kütle indeksi*	21.9 ± 2.7	24.5 ± 2.8
Sigara içenler (%)	40	24
Alkol alanlar (%)	7	0
İyotlu / iyotsuz tuz kullananlar (%)	74 / 26	80 / 20
Katı / sıvı yağ kullananlar (%)	7 / 93	2 / 98
Ailesinde kalıtsal hastalık olanlar (%) (Hipertansiyon, Diabetes Mellitus, Kalp Hastalığı)	37 (%15, %10, %12)	34 (%9, %12, %13)
Kronik hastalığı olanlar (%)	2	4

\* :Ortalama ± SD

(BMI: Vücut kütle indeksi "Body Mass Index", SD: Standart sapma "Standart Deviation")

## 1.2. LABORATUVARA BAŞVURAN BİREYLER

Mayıs 2000- Ağustos 2000 arasında Pamukkale Üniversitesi Eğitim Uygulama Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarına başvuran 18-40 yaşlar arasındaki bireylerin özellikleri Tablo XIII'te belirtilmektedir.

Tablo XIII: Laboratuvara başvuran bireylerin özellikleri.

	n		Yaş * (yıl)	
	Biyokimyasal analizler **	Hormonlar ***	Biyokimyasal analizler **	Hormonlar ***
Erkek	1210	322	30.1 ± 6.9	30.6 ± 6.5
Kadın	1787	791	29.9 ± 6.6	29.6 ± 6.4
Toplam	2997	1113	30.0 ± 13.6	29.8 ± 13

\* : Ortalama ± standart sapma.

\*\* : Genel kontrol paneli testleri (alkalen fosfataz, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit) ve lipid paneli testleri (total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid) ölçümü için laboratuvara başvuran bireyler.

\*\*\*: Tiroid paneli testlerinin (TSH, total T3, total T4, serbest T3, serbest T4) ölçümü için laboratuvara başvuran bireyler.

Bireylerin analitlere göre dağılımları Tablo XIV'teki gibidir.

Tablo XIV: laboratuvara başvuran bireylerin analitlere göre dağılımı.

Testler	n		Yaş *	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
ALP	609	907	29.91±6.9	29.91±6.7
Glukoz	1020	1558	30.12±6.9	29.74±6.1
BUN	1076	1505	29.92±6.9	29.89±6.1
Kreatinin	1063	1463	29.93±7.0	29.88±6.1
Ürik Asit	342	506	30.06±6.7	30.24±6.5
Total Kolesterol	493	731	30.18±6.8	30.38±6.6
HDL-Kolesterol	394	605	30.30±6.6	30.23±6.6
LDL-Kolesterol	384	585	30.27±6.5	30.15±6.6
Trigliserit	484	719	30.18±6.7	30.40±6.6
TSH	269	689	30.43±6.4	29.48±6.5
Total T3	136	160	30.43±6.3	29.64±5.7
Total T4	136	167	30.43±6.3	29.49±5.6
Serbest T3	248	571	30.33±6.5	29.69±6.3
Serbest T4	265	591	30.45±6.4	29.62±6.4

\* : Ortalama ± standart sapma.

### 1.3. ANALİZ ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI

Seçilmiş referans bireylerinden, kan örnekleri sabah saat 08.30-11.00 arası, 8-12 saatlik açlıktan sonra toplandı. Kan örnekleri oturur pozisyonda vakumlu tüplere alındı. Örnekler 1500 g'de 15 dk santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve hemen analiz edildi.

Serum alkalin fosfataz, glukoz, kreatinin, BUN, ürik asit, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserit ölçümleri "ILAB 900" kimya analizöründe; TSH, total T3, total T4, serbest T3 ve serbest T4'ün ölçümleri ise, "Immulate One" immunoölçüm analizöründe yapıldı. Bütün bireylerin tam kan sayımı "Cell Dyn 3700" hematoloji analizöründe yapıldı.

## 2. ANALİTİK SİSTEM

### 2.1. ENSTRUMENTASYON

Enstruman	Tipi	Üretici Firma
Kimya Analizörü	ILAB 900	Instrumentation Laboratory
Immunoölçüm Analizörü	Immulate One	Bio DPC
Hematoloji Analizörü	Cell Dyn 3700	Abbott
Santrifüj	Labofuge 400	Heraus
Buzdolabı	727 S	Arçelik
Kan Alma Tüpleri	Vakumlu, jelli, 9 ml	Dio-tube

### 2.2. REAKTİFLER

Analit Adı	Kit Bilgileri	Kalibratör	Kontrol Standardı ve Değerleri
Genel Kontrol Paneli Testlerinden:			
Alkalin Fosfataz (ALP)	IL Test Alkaline Phosphatase <sup>a</sup>	Reaktif körü	K1 <sup>b</sup> : 28-42 U/L K1 <sup>ba</sup> : 62-93 U/L K2 <sup>c</sup> : 145-197 U/L K2 <sup>ca</sup> : 284-384 U/L
Glukoz	IL Test Glucose (Oxidase) <sup>a</sup>	ReferrIL G Calibrator (Cat No: 181635-10)	K1 <sup>b</sup> : 71-86 mg/dl K1 <sup>ba</sup> : 73-89 mg/dl K2 <sup>c</sup> : 229-303 mg/dl K2 <sup>ca</sup> : 232-308 mg/dl
BUN	IL Test Urea Nitrogen <sup>a</sup>	ReferrIL G Calibrator (Cat No: 181635-10)	K1 <sup>b</sup> : 12-18 mg/dl K1 <sup>ba</sup> : 14-20 mg/dl K2 <sup>c</sup> : 44-54 mg/dl K2 <sup>ca</sup> : 41-51 mg/dl
Kreatinin	IL Test Creatinine <sup>a</sup>	ReferrIL G Calibrator (Cat No: 181635-10)	K1 <sup>b</sup> : 0.76-1.36 mg/dl K1 <sup>ba</sup> : 1.07-1.67 mg/dl K2 <sup>c</sup> : 5.95-7.27 mg/dl K2 <sup>ca</sup> : 5.59-7.27 mg/dl

Analit Adı	Kit Bilgileri	Kalibratör	Kontrol Standardı ve Değerleri
Ürik Asit	IL Test Uric Acid <sup>a</sup>	ReferrIL G Calibrator (Cat No: 181635-10)	K1 <sup>b</sup> : 3.6-4.4 mg/dl K1 <sup>ba</sup> : 4.7-5.7 mg/dl K2 <sup>c</sup> : 7.0-8.6 mg/dl K2 <sup>ca</sup> : 8.2-10.0 mg/dl
Lipid Paneli Testlerinden :			
Total Kolesterol	IL Test Cholesterol <sup>a</sup>	ReferrIL G Calibrator (Cat No: 181635-10)	K1 <sup>b</sup> : 148-181 mg/dl K1 <sup>ba</sup> : 246-300 mg/dl K2 <sup>c</sup> : 80-102 mg/dl K2 <sup>ca</sup> : 110-140 mg/dl
HDL-Kolesterol	IL Test HDL Cholesterol <sup>a</sup>	ReferrIL HDL Cholesterol Calibrator (Cat No: 182552-00)	K1 <sup>b</sup> : 23-53 mg/dl K1 <sup>ba</sup> : 38-88 mg/dl K2 <sup>c</sup> : 11-34 mg/dl K2 <sup>ca</sup> : 15-45 mg/dl
Trigliserit	IL Test Triglycerides <sup>a</sup>	ReferrIL G Calibrator (Cat No: 181635-10)	K1 <sup>b</sup> : 87-118 mg/dl K1 <sup>ba</sup> : 175-237 mg/dl K2 <sup>c</sup> : 50-75 mg/dl K2 <sup>ca</sup> : 73-110 mg/dl
Tiroid Paneli Testlerinden:			
TSH	Immulite Third Generation TSH <sup>d</sup>	TSH Adjustors (LTSL, LTSH)	L1 <sup>e</sup> : 0.30-0.42 µIU/ml L2 <sup>e</sup> : 3.1-4.1 µIU/ml L3 <sup>e</sup> : 16.5-20.9 µIU/ml
Total T3	Immulite Total T3 <sup>d</sup>	Total T3 Adjustors (LT3L, LT3H)	L1 <sup>e</sup> : 66-114 ng/dl L2 <sup>e</sup> : 150-222 ng/dl L3 <sup>e</sup> : 332-452 ng/dl
Total T4	Immulite Total T4 <sup>d</sup>	Total T4 Adjustors (LT4L, LT4H)	L1 <sup>e</sup> : 2.2-3.0 ug/dl L2 <sup>e</sup> : 7.3-9.5 ug/dl L3 <sup>e</sup> : 11.1-14.5 ug/dl
Analit Adı	Kit Bilgileri	Kalibratör	Kontrol Standardı ve Değerleri
Serbest T3	Immulite Free T3 <sup>d</sup>	FT3 Adjustors (LF3L, LF3H)	L1 <sup>e</sup> : 2.5-4.3 pg/ml L2 <sup>e</sup> : 4.3-6.7 pg/ml L3 <sup>e</sup> : 9.3-12.9 pg/ml
Serbest T4	Immulite Free T4 <sup>d</sup>	FT4 Adjustors (LF4L, LF4H)	L1 <sup>e</sup> : 0.38-0.86 ng/dl L2 <sup>e</sup> : 1.0-1.6 ng/dl L3 <sup>e</sup> : 2.0-3.0 ng/dl

<sup>a</sup> : Instrumentation Laboratory, MA, USA.

<sup>b</sup> : Sera Chem Control Level 1 (Mayıs, Haziran, Temmuz 2000 tarihlerinde kullanılan).

<sup>ba</sup> : Sera Chem Control Level 1 (Ağustos 2000'den itibaren kullanılan).

<sup>c</sup> : Sera Chem Control Level 2 (Mayıs, Haziran, Temmuz 2000 tarihlerinde kullanılan).

<sup>ca</sup> : Sera Chem Control Level 2 (Ağustos 2000'den itibaren kullanılan).

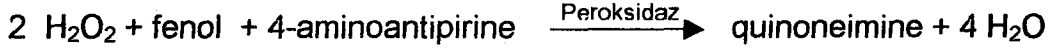
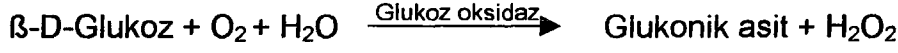
<sup>d</sup> : Metra Biosystems, CA, USA.

<sup>e</sup> : CON 6 Multivalent Control Module (Düzey 4, Düzey 5, Düzey 6)

## 2.3. ANALİZ YÖNTEM İLKELERİ

### 2.3.1. GLUKOZ

Glukoz oksidaz yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde, aşağıdaki reaksiyonlar gerçekleşmektedir.



Oluşan kırmızı renk, 510 nanometrede, spektrofotometrik olarak okunur.

### 2.3.2. BUN

BUN ölçümü, üreaz yöntemi ile yapılmaktadır. Bu yöntemde, aşağıdaki reaksiyonlar gerçekleşmektedir.



340 nanometrede, spektrofotometrik olarak ölçüm yapılır.

### 2.3.3. KREATİNİN

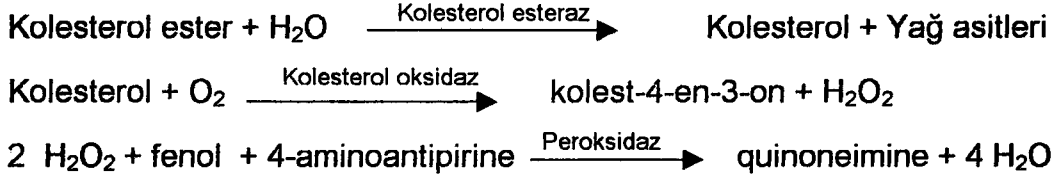
Jaffe yöntemi ile, kreatinin ölçümü yapılmaktadır. Bu yöntemde, aşağıdaki reaksiyonlar gerçekleşmektedir.



Bazik ortamda, kreatinin pikrat ile reaksiyona girer ve kırmızı renkli bir kompleks oluşur. Bu kompleks 510 nanometrede absorban verir.

### 2.3.4. TOTAL KOLESTEROL

Enzimatik kolesterol ölçüm yöntemi kullanılmakta olup, reaksiyonlar aşağıda verilmiştir:



Oluşan kırmızı renk, 510 nanometrede spektrofotometrik olarak okunur.

### 2.3.5. HDL-KOLESTEROL

Direkt yöntemle ölçüm yapılır (çöktürme yapılmadan). Reaktifin birinin içinde, serumdaki HDL-kolesterol partiküllerini spesifik olarak çözebilen deterjan bulunmaktadır. Diğerinde ise, LDL-kolesterol, VLDL-kolesterol ve şilomikron lipoproteinleri ile kompleks oluşturan polianyon vardır. Böylece, sadece serum HDL-kolesterolü ile oluşan, kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz reaksiyonları, kromojenlerin de varlığı ile renk oluşturur. Oluşan renk 600 nanometrede spektrofotometrik olarak okunur.

### 2.3.6. LDL-KOLESTEROL

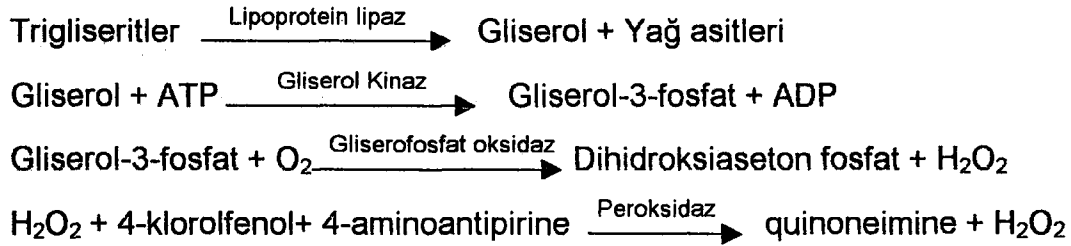
Friedewald formülüne göre hesaplama ile, LDL-kolesterol düzeyi saptanır.

$$\text{LDL-Kolesterol} = \text{Total kolesterol} - \{(\text{HDL-kolesterol}) + (\text{Trigliserit} / 5)\}$$

Serum trigliserit düzeyi 400 mg/dL' nin üzerinde olduğu zaman, bu formül geçersizdir.

### 2.3.7. TRİGLİSERİT

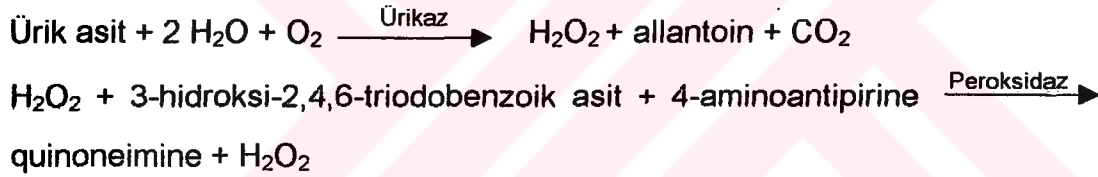
Enzimatik trigliserit ölçüm yöntemi kullanılmaktadır.



Oluşan kırmızı renk, 510 nanometrede spektrofotometrik olarak okunur.

### 2.3.8. ÜRİK ASİT

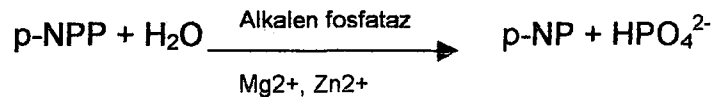
Ürikaz yöntemi kullanılmaktadır.



Oluşan kırmızı renk, 510 nanometrede spektrofotometrik olarak okunur.

### 2.3.9. ALKALEN FOSFATAZ

Bowers ve McComb tarafından ilk olarak tanımlanmış bir yönteme dayanır. Bu yöntem serumdaki tüm alkalen fosfataz izoenzimlerine cevap verir. Alkale fosfataz, p-nitrofenil fosfat (p-NPP) ile reaksiyona girer. Oluşan tepkime sonucu p-NPP, p-NP' ye (p-nitrofenol) dönüşür. Reaksiyon alkali bir ortamda gerçekleşir (pH=10.4) ve Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> iyonları gerekmektedir. Absorbans ölçümü, 410 nanometrede yapılır.



### **2.3.10. SERBEST T3**

Immulate serbest T3, bir solid faz, yarışmalı, kemiluminesans immunoölçüm yöntemidir. Bu yöntemde Immulate Test Ünitesi içine yerleştirilen polistiren boncuk, T3 için spesifik monoklonal bir antikor ile kaplanmıştır. Hasta örneği ve ligand ile işaretlenmiş T3 analogları bu test ünitesi içine alınır ve 37°C'de 30 dakika bekletilir. Bu süre içinde hasta örneğindeki serbest T3, boncukta sınırlı miktarda bulunan antikor bağlama bölgeleri için, ligand işaretli T3 analogları ile yarışır. Bağlanmamış analog santrifugal yıkama ile atılır. Daha sonra, alkalin fosfataz bağlı anti-ligand, test ünitesi içine alınır. 37°C'de 30 dakika bekletilir. Bağlanmamış enzim konjugatı santrifugal yıkama ile atılır. Kemiluminesans substrat eklenir ve test ünitesi 10 dakika daha 37°C'de bekletilir. Kemiluminesans substrat, adamanil dioksetan fosfattır. Alkalin fosfataz substratı hidrolize eder ve stabil olmayan ürün oluşur. Oluşan ürün, etrafına ışın yayar. Yayılan ışın miktarı (fotonlar), luminometrede okutulur. Luminometrede okunan ışın miktarı ile örnek içindeki serbest T3 miktarı ters orantılıdır.

### **2.3.11. SERBEST T4**

Immulate serbest T4, bir solid faz, yarışmalı, kemiluminesans immunoölçüm yöntemidir. Bu yöntemde Immulate Test Ünitesi içine yerleştirilen polistiren boncuk, T4 için spesifik monoklonal bir antikor ile kaplanmıştır. Hasta örneği ve ligand ile işaretlenmiş T4 analogları bu test ünitesi içine alınır ve 37°C'de 30 dakika bekletilir. Bu süre içinde hasta örneğindeki serbest T4, boncukta sınırlı miktarda bulunan antikor bağlama bölgeleri için, ligand işaretli T4 analogları ile yarışır. Bağlanmamış analog santrifugal yıkama ile atılır. Daha sonra, alkalin fosfataz bağlı anti-ligand, test ünitesi içine alınır. 37°C'de 30 dakika bekletilir. Bağlanmamış enzim konjugatı santrifugal yıkama ile atılır. Kemiluminesans substrat eklenir ve test ünitesi 10 dakika daha 37°C'de bekletilir. Kemiluminesans substrat, adamanil dioksetan fosfattır. Alkalin fosfataz substratı hidrolize eder ve stabil olmayan ürün oluşur. Oluşan ürün, etrafına ışın yayar. Yayılan ışın



miktarı (fotonlar) luminometrede okutulur. Luminometrede okunan ışın miktarı ile örnek içindeki serbest T4 miktarı ters orantılıdır.

### **2.3.12. TSH**

Serum TSH düzeyleri, "Immulate Third Generation TSH" ticari kiti ile ölçüldü. Immulate TSH solid faz kemiluminesans immunoölçüm yöntemidir. Bu yöntemde Immulate Test Ünitesi içine yerleştirilen polistiren boncuk, TSH için spesifik monoklonal murin antikoru ile kaplanmıştır. Hasta örneği ve bir protein/tampon matriksi Test Ünitesine eklenir ve 37°C'de yaklaşık 30 dakika bekletilir. Bu sürede hasta örneğindeki TSH monoklonal antikor kaplı boncuğa bağlanır, bağlanmayan serum santrifugal yıkama ile ayrılır. Daha sonra alkalin fosfataz bağlı poliklonal keçi anti-TSH antikoru eklenir ve Test Ünitesi 30 dakika daha bekletilir. Bağlanmayan enzim konjugatı santrifugal yıkama ile ayrılır. Test Ünitesine substrat eklenir ve 10 dakika bekletilir. Kemiluminesans substrat (adamanil dioksetan fosfat) alkalin fosfataz ile hidrolize olur ve ürün oluşur. Oluşan ürün luminometrede okutulur. Bulunan sonuç örnekteki TSH düzeyi ile orantılıdır.

### **2.3.13. TOTAL T3**

Total T3, serumda Immulate Total T3 ticari kiti ile ölçüldü. Immulate Total T3, yarışmalı kemiluminesans immunoölçüm yöntemidir. Bu yöntemde Immulate Test Ünitesi içine yerleştirilen polistiren boncuk, T3 için spesifik monoklonal murin antikoru ile kaplanmıştır. Hasta örneği ve alkalin fosfataz ile konjuge edilmiş T3 bu test ünitesi içine alınır ve 37°C'de 30 dakika bekletilir. Bu süre içinde hasta örneğindeki total T3, boncukta sınırlı miktarda bulunan antikor bağlama bölgeleri için enzim ile işaretlenmiş T3 ile yarışır. Bağlanmamış enzim konjugatı santrifugal yıkama ile atılır. Kemiluminesans substrat eklenir ve test ünitesi 10 dakika daha bekletilir. Kemiluminesans substrat adamanil dioksetan fosfattır. Alkalin fosfataz substratı hidrolize eder ve ürün oluşur. Oluşan ürün

luminometrede okutulur. Bulunan sonuç örnekteki total T3 düzeyi ile ters orantılıdır.

#### **2.3.14. TOTAL T4**

Total T4, serumda Immulite Total T4 kiti ile ölçüldü. Immulite Total T4, bir yarışmalı kemiluminesans immunoölçüm yöntemidir. Bu yöntemde Immulite Test Ünitesi içine yerleştirilen polistiren boncuk, T4 için spesifik monoklonal murin antikoru ile kaplanmıştır. Hasta örneği ve alkalin fosfataz ile konjuge edilmiş T4 bu test ünitesi içine alınır ve 37°C'de 30 dakika bekletilir. Bu süre içinde hasta örneğindeki total T4, boncukta sınırlı miktarda bulunan antikor bağlama bölgeleri için enzim ile işaretlenmiş T4 ile yarışır. Bağlanmamış enzim konjugatı santrifugal yıkama ile atılır. Kemiluminesans substrat eklenir ve test ünitesi 10 dakika daha bekletilir. Kemiluminesans substrat adamanil dioksetan fosfattır. Alkalin fosfataz substratı hidrolize eder ve ürün oluşur. Oluşan ürün luminometrede okutulur. Bulunan sonuç örnekteki total T4 düzeyi ile ters orantılıdır.

#### **2.4. KALİBRASYON**

Alkalin fosfataz, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, total kolesterol, HDL kolesterol, trigliserit kalibrasyonları, ILAB-900 analizöründe, kitte belirtilen prosedürlere uygun olarak "Referril" standardı ve "reaktif körü" ile yapıldı.

TSH, total T3, total T4, serbest T3 ve serbest T4 Immulite One immunoölçüm cihazında çalışıldı. Her bir analitin kalibrasyonu, firma tarafından sağlanan kalibratörler (adjustors) ile yapıldı. Her analit için düşük ve yüksek düzeyli standartlar ile ardarda dört ölçüm yapılarak, kalibrasyon grafiği elde edildi. Bu grafik, üretici firma tarafından cihazın hafızasına yüklenmiş bulunan grafik ile karşılaştırıldı. Elde edilen "eğim" ve "y kesişim" değerlerine göre kalibrasyonun geçerliliğine karar verildi.

## **2.5. ANALİTİK KALİTE KONTROL**

### **2.5.1. TEKRARLANABİLİRLİK**

Çalışılan tüm parametreler için, gün içi ve günler arası değişkenlik katsayıları (%CV) saptandı. Kontrol serumları, aynı gün içinde 5 kere ölçülerek gün içi, çalışma sürdüğü sürece ölçülerek günler arası %CV'ler hesaplandı.

### **2.5.2. İTERNAL KALİTE KONTROL**

Biyokimyasal parametreler için iki düzeyli (Sera Chem Control Level 1, Sera Chem Control Level 2), immunoölçüm parametreleri için üç düzeyli (CON 6 -düzey 4, düzey 5, düzey 6-) kontrol serumları ile analitik kalite kontrol çalışıldı.

## **3. REFERANS ARALIKLARIN HESAPLANMASI**

1. Seçilmiş bireyler
2. Laboratuvara başvuran bireyler

### **3.1. SEÇİLMİŞ BİREY VERİLERİNDEN**

NCCLS'nin C28-A (Klinik Laboratuvarlarda Referans Aralık Saptanması) standardı (4) ile Şekil 1'de gözlenen akış şemasına göre:

1. Veriler cinsiyetlere göre alt gruplara ayrıldı.
2. Her analitin verilerinin dağılımı görsel incelendi.
3. Cinsiyetten başka alt gruplara ayrılıp ayrılmayacağı değerlendirildi.
4. Aşırı uç değerler incelendi (D/R kuralına göre).
5. Nonparametrik yöntemle göre referans aralık sınırları hesaplandı.
6. Alt ve üst sınırların %90 güven aralıkları saptandı.

Modifiye NCCLS (SPSS) yöntemine göre hesaplamada:

1. Veriler cinsiyetlere göre alt gruplara ayrıldı.
2. Her analitin verilerinin dağılımı görsel incelendi.
3. Cinsiyetten başka alt gruplara ayrılıp ayrılmayacağı değerlendirildi.

4. Aşırı uç değerler incelendi (SPSS 9.0: Analyze→ Descriptive Statistics→ Explore...→ Statistics (Outliers)).
5. Nonparametrik yöntemle göre referans aralık sınırları hesaplandı.
6. Alt ve üst sınırların %90 güven aralıkları saptandı.

IFCC'ye (5) ve Şekil 1'de gözlenen akış şemasına göre:

1. Veriler cinsiyetlere göre alt gruplara ayrıldı.
2. Her analitin verilerinin dağılımı görsel incelendi.
3. Cinsiyetten başka alt gruplara ayrılıp ayrılmayacağı değerlendirildi.
4. Aşırı uç değerler incelendi (aritmetik ortalamanın  $\pm 3$  standart sapma dışındaki veriler uç değerler olarak kabul edildi).
5. Verilerin normal dağılıma uyumu test edildi (Nonparametrik Kolmogorov-Smirnov testi).
6. Normal dağılıma uyan verilerden parametrik yöntem ile referans aralıklar hesaplandı.
7. Normal dağılıma uymayanlara logaritmik transformasyon uygulandı.
8. Normal dağılıma uyum testi yapıldı (Nonparametrik Kolmogorov-Smirnov testi).
9. Transformasyondan sonra, normal dağılıma uyan verilerden parametrik yöntem ile referans aralıklar hesaplandı.
10. Geri transformasyon yapıldı.
11. Transformasyondan sonra da, normal dağılıma uymayan verilerin, orijinal (nontransforme) değerlerinden, nonparametrik olarak referans aralıklar saptandı.

### **3.2. LABORATUVARA BAŞVURAN BİREY VERİLERİNDEN**

Laboratuvara başvuran birey verilerine aşağıdaki basamaklar uygulanarak referans aralıklar saptandı:

1. Veriler cinsiyetlere göre alt gruplara ayrıldı.
2. Referans değer verilerinin histogramları çizildi. Veri dağılımı görsel olarak incelendi.

3. Tanımlayıcı istatistik ölçütleri hesaplandı (aritmetik ortalama, medyan, mod, standart sapma, minimum değer, maximum değer, 2,5 ve 97,5 yüzdelerik değerleri). SPSS 9.0: Analyze→ Descriptive Statistics→ Frequencies... → Statistics (Mean, Median, Mode, Standart Deviation, Minimum, Maximum, Percentiles (Add:2,5 ; 97,5)).
4. Aşırı uç değerler saptandı. SPSS 9.0: Analyze→ Descriptive Statistics→ Explore...→ Statistics (Outliers). Hiç aşırı uç değer kalmayınca kadar tekrarlandı. Örneğin; kadınlardan elde edilen TSH verilerinde ilk olarak 4,1 ve üzeri değerler uç değerler olarak saptandı. Bu değerler atıldıktan sonra, kalan veriler tekrar incelendi. 3,7 ve üzeri değerler uç değerler olarak belirlendi. Bu değerler atıldıktan sonra, kalan veriler tekrar incelendi. 3,6 ve üzeri değerlerin uç değerler olduğu görüldü. Bu değerler atıldıktan sonra, kalan verilerin tekrar incelenmesi sonucunda uç değer kalmadığı saptandı.
5. Verilerin Gaussian dağılımına uyumu test edildi. Bunun için nonparametrik Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. SPSS 9.0: Analyze→ Nonparametric Tests→ 1-Sample K-S.
6. Dal yaprak grafiği incelendi. SPSS 9.0: Analyze → Descriptive Statistics→ Explore...→ Plots→ Descriptive: Stem-and-leaf.
7. Histogramlar görsel incelendi.
8. Verilerin dağılım özelliğine göre a, b veya c'ye göre devam edildi.
  - a. Histogram eğrisinin çarpıklık durumuna göre verilerin uzantı gösterdiği taraftan ve/veya her iki taraftan 2,5 ve 97,5 persentil değerlerine aşırı uç değer uygulaması yapıldı. Üçüncü basamaktan itibaren işlemler tekrar edildi.
  - b. Dağılım birden fazla tepeli ise, her tepe ayrı ayrı değerlendirildi. Medyan ve aritmetik ortalamaya en yakın tepe veren dağılıma göre işlem yapıldı. Üçüncü basamaktan itibaren veriler tekrar gözden geçirildi.

- c. Aşırı uç değer kalmadığına karar verilince; dağılımın normal olup olmadığı nonparametrik Kolmogorov-Smirnov ile test edildi. Normal dağılıma uyum gösteren verilerden parametrik yöntem ve normal dağılıma uymayan verilerden nonparametrik yöntem ile referans aralıklar hesaplandı.

#### 4. İSTATİSTİK

İstatistiksel analizler için kullanılan yöntemler, NCCLS tarafından belirtilen nonparametrik yöntem ve IFCC tarafından belirtilen parametrik yöntemdir (4, 5).

Dağılımların, normal dağılıma uyup-uymadıklarını "Kolmogorov-Smirnov testi" ile belirlendi (42).

Referans bireyleri verilerinin, değişkenlere göre analizinde "Mann-Whitney U testi" kullanıldı (42).

Erkek ve kadın verilerinden uç değerler atıldıktan sonra kalanlar arasındaki farklılık "ANOVA testi" ile saptandı (42).

Değişkenlerin analitlerle olan ilişkilerinin saptanmasında, "Pearson Korelasyon testinden" yararlanıldı (42).

İstatistiksel hesaplamalarda, veri transformasyonunda, dizin işlemlerinde ve histogramların çizilmesinde SPSS 9.0 (Statistical Packages for Social Sciences) bilgisayar programından yararlanıldı.

## BULGULAR

Referans aralığını saptadığımız testlerin analitik geçerlilikleri ile, seçilmiş referans bireylerden ve laboratuvara başvuran bireylerden oluşan iki farklı referans örnek grubundan parametrik ve nonparametrik yöntemlerle elde ettiğimiz referans aralık sonuçları ayrı ayrı verilmektedir.

### 1. ANALİTİK KALİTE KONTROL

#### 1.1. TEKRARLANABİLİRLİK

Genel kontrol paneli testlerinden olan alkalin fosfataz, glukoz, BUN, kreatinin ve ürik asit ile lipid paneli testlerinden olan total kolesterol, HDL kolesterol ve trigliseridin analitik geçerliliği Tablo XV (gün içi değişkenlikleri) ve Tablo XVI'da (günler arası değişkenlikleri) gösterilmektedir.

Tablo XV. Biyokimyasal testlerin analitik performansı (gün içi değişkenlikleri).

Düzyey 1 (Sera Chem Control Level 1)						
	Hedef *	n	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
Alkalin fosfataz (ALP) (U/L)	62-93	5	86.80	6.79	7.82	78-97
Glukoz (mg/dl)	73-89	5	81.60	5.17	6.33	77-90
BUN (mg/dl)	14-20	5	16.06	0.61	3.77	15.3-17
Kreatinin (mg/dl)	1.07-1.67	5	1.52	0.14	9.21	1.3-1.7
Ürik asit (mg/dl)	4.7-5.7	5	5.38	0.10	1.85	5.3-5.5
T. Kolesterol (mg/dl)	246-300	5	281.8	5.06	1.79	275-287
HDL-kolesterol (mg/dl)	38-88	5	70.4	2.4	3.4	67-73
Trigliserid (mg/dl)	175-237	5	230.6	4.39	1.9	225-237

Düzyey 2 (Sera Chem Control Level 2)						
	Hedef**	n	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
Alkalin fosfataz (ALP) (U/L)	284-384	5	381.80	27.28	7.14	344-410
Glukoz (mg/dl)	232-308	5	274.20	8.34	3.04	265-284
BUN (mg/dl)	41-51	5	45	2.35	5.21	42-47
Kreatinin (mg/dl)	5.59-7.27	5	6.18	0.13	2.10	6.0-6.3
Ürik asit (mg/dl)	8.2-10.0	5	8.70	0.23	2.64	8.5-9.0
T. Kolesterol (mg/dl)	110-140	5	129.2	4.2	3.25	125-136
HDL-kolesterol (mg/dl)	15-45	5	35	2.23	6.37	32-38
Trigliserid (mg/dl)	73-110	5	102.1	3.42	3.35	98-107

\* : Firmanın belirttiği hedef değerler (Sera Chem Control Level 1 -Ağustos 2000'den itibaren kullanılan-).

\*\* : Firmanın belirttiği hedef değerler (Sera Chem Control Level 2 -Ağustos 2000'den itibaren kullanılan-).

Biyokimyasal parametrelerin günler arası değişkenlikleri, referans verilerinin toplandığı aylar olan Mayıs, Haziran, Temmuz ayları için kümülatif olarak ve Ağustos ayı için ayrı olarak Tablo XVI'da saptanmıştır.

TabloXVI. Biyokimyasal testlerin analitik performansı (günler arası değişkenlikleri).

Düzyey 1 (Sera Chem Control Level 1)							
	Ay *	Hedef**	n	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
ALP (U/L)	M-H-T	28-42	88	36	3.2	10.6	28-44
	A***	62-93	39	68	8.1	11.9	53-96
Glukoz (mg/dl)	M-H-T	71-86	99	74.1	3.3	4.4	69-85
	A	73-89	31	78.6	6	7.6	69-89
BUN (mg/dl)	M-H-T	12-18	95	14.9	1.1	7.4	13-19
	A	14-20	38	16.4	1.9	12.0	12-21
Kreatinin (mg/dl)	M-H-T	0.76-1.36	87	1.1	0.10	12.4	0.8-1.3
	A	1.07-1.67	32	1.4	0.16	11.5	1.1-1.7
Ürik asit (mg/dl)	M-H-T	3.6-4.4	75	4.2	0.18	4.9	3.7-4.6
	A	4.7-5.7	30	5.2	0.45	8.5	4.5-5.9
T. Kolesterol (mg/dl)	M-H-T	148-181	73	163	8.0	3.6	148-181
	A	246-300	27	265	7.9	3	246-282
HDL-kolesterol (mg/dl)	M-H-T	23-53	65	37	2.3	6.4	31-43
	A	38-88	26	50	2.9	5.7	48-63
Trigliserid (mg/dl)	M-H-T	87-118	72	103	3.3	2.7	92-115
	A	175-237	26	199	5.4	2.7	185-209

Düzyey 2 (Sera Chem Control Level 2)							
	Ay *	Hedef**	N	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
ALP (U/L)	M-H-T	145-197	98	171	13.1	7.7	140-207
	A***	284-384	47	308	23.8	7.7	281-359
Glukoz (mg/dl)	M-H-T	229-303	117	263.8	8.7	3.3	234-299
	A	232-308	41	263.7	8.7	3.3	243-275
BUN (mg/dl)	M-H-T	44-54	115	49.1	2.1	3.8	42-55
	A	41-51	36	46.6	2.7	5.7	42-52
Kreatinin (mg/dl)	M-H-T	5.95-7.27	109	6.8	0.26	3.9	6.0-7.4
	A	5.59-7.27	38	6.2	0.26	4.3	5.4-6.7
Ürik asit (mg/dl)	M-H-T	7.0-8.6	86	8.0	0.42	6.8	6.9-8.7
	A	8.2-10.0	28	9.0	0.67	7.4	7.8-10.4
T. Kolesterol (mg/dl)	M-H-T	80-102	93	89	4.9	5.2	81-102
	A	110-140	32	118	4.1	3.4	109-125
HDL-kolesterol (mg/dl)	M-H-T	11-34	75	24	1.5	6.2	22-27
	A	15-45	30	25	1.2	4.7	22-27
Trigliserid (mg/dl)	M-H-T	50-75	82	60	3.3	6.6	50-70
	A	73-110	31	83	4.2	5.0	76-90

\* : M, H, T, A sırası ile Mayıs, Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarını belirtmektedir.

\*\* : Firmanın belirttiği hedef değerler.

\*\*\* : Ağustos ayından itibaren kullanılmaya başlanan yeni lot numaralı kontrol serumlarında değerler değişmiştir.



Tiroid paneli testlerinin (TSH, total T3, total T4, serbest T3, serbest T4) gün içi değişkenlikleri Tablo XVII ve günler arası değişkenlikleri Tablo XVIII'de belirtilmektedir.

Tablo XVII. Hormon (immünoölçüm) parametrelerinin analitik performansı (gün içi değişkenlikleri).

Düzyey 1						
	Hedef *	n	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
TSH (ulU/ml)	0.30-0.42	5	0.32	0.01	3.5	0.31-0.34
Total T3 (ng/dl)	66-114	5	61.8	2.53	4.1	57.6-64.5
Total T4 (ug/dl)	2.2-3.0	5	2.54	0.20	8.2	2.2-2.7
Serbest T3 (pg/ml)	2.5-4.3	5	2.78	0.32	11.7	2.4-3.3
Serbest T4 (ng/dl)	0.38-0.86	5	0.67	0.04	5.9	0.6-0.7
Düzyey 2						
	Hedef *	n	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
TSH (ulU/ml)	3.1-4.1	5	3.83	0.08	2.2	3.7-3.9
Total T3 (ng/dl)	150-222	5	200.8	15.4	7.7	183-221
Total T4 (ug/dl)	7.3-9.5	5	9.32	0.54	5.8	8.4-9.7
Serbest T3 (pg/ml)	4.3-6.7	5	6.32	0.45	7.2	5.8-7.0
Serbest T4 (ng/dl)	1.0-1.6	5	1.50	0.07	4.7	1.4-1.6
Düzyey 3						
	Hedef *	n	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
TSH (ulU/ml)	16.5-20.9	5	19.8	0.35	1.76	19.4-20.2
Total T3 (ng/dl)	332-452	5	406.4	27.37	6.7	376-451
Total T4 (ug/dl)	11.1-14.5	5	13.3	0.42	3.2	12.6-13.6
Serbest T3 (pg/ml)	9.3-12.9	5	11.08	0.58	5.2	10.5-11.9
Serbest T4 (ng/dl)	2.0-3.0	5	2.46	0.09	3.63	2.4-2.6

\* : Firmanın belirttiği hedef değerler.

Hormon parametrelerin günler arası değişkenlikleri, referans verilerinin toplandığı aylar olan Mayıs, Haziran, Temmuz ve Ağustos ayları için kümülatif olarak olarak Tablo XVIII'de belirtilmektedir.

Tablo XVIII. Hormon (immünoölçüm) parametrelerinin analitik performansı (günler arası değişkenlikleri).

Düzeş 1						
	Hedef *	n	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
TSH (uIU/ml)	0.30-0.42	9	0.38	0.04	11.4	0.30-0.42
Total T3 (ng/dl)	66-114	4	83.6	11.6	13.9	73.6-99.6
Total T4 (ug/dl)	2.2-3.0	4	2.42	0.29	11.8	7.1-9.2
Serbest T3 (pg/ml)	2.5-4.3	6	3.36	0.51	15.3	2.9-4.2
Serbest T4 (ng/dl)	0.38-0.86	6	0.62	0.08	13.9	0.52-0.73
Düzeş 2						
	Hedef *	n	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
TSH (uIU/ml)	3.1-4.1	9	3.56	0.12	3.3	3.4-3.8
Total T3 (ng/dl)	150-222	4	180.5	20.07	11.1	155-204
Total T4 (ug/dl)	7.3-9.5	4	8.1	0.93	11.5	7.1-9.2
Serbest T3 (pg/ml)	4.3-6.7	6	6.3	0.57	9.1	5.5-6.9
Serbest T4 (ng/dl)	1.0-1.6	6	1.32	0.05	3.8	1.3-1.4
Düzeş 3						
	Hedef *	n	$\bar{x}$	$\pm$ SD	%CV	Min-max
TSH (uIU/ml)	16.5-20.9	9	18.4	1.11	6.0	17.2-20.3
Total T3 (ng/dl)	332-452	4	373.3	27.51	7.4	336-400
Total T4 (ug/dl)	11.1-14.5	4	12.12	1.96	16.2	10.8-15.0
Serbest T3 (pg/ml)	9.3-12.9	6	12.04	1.13	9.3	10.7-13.7
Serbest T4 (ng/dl)	2.0-3.0	6	2.28	0.22	9.7	2.0-2.5

\* : Firmanın belirttiği hedef değerler.

## 2. REFERANS ARALIKLARIN HESAPLANMASI

### 2.1. SEÇİLMİŞ BİREYLER

NCCLS, modifiye NCCLS ve IFCC yöntemlerine göre hesaplanmıştır.

#### 2.1.1. NONPARAMETRİK YÖNTEM İLE REFERANS ARALIKLARIN HESAPLANMASI

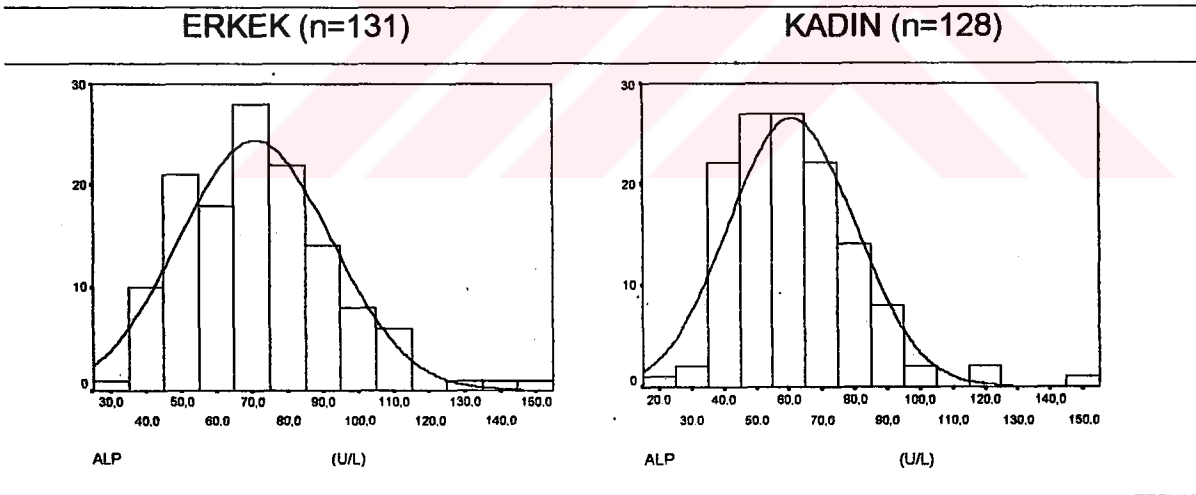
(NCCLS'nin Önerdiği Nonparametrik Yönteme Göre Hesaplamalar)

##### Referans Verilerinin Alt Gruplara Göre Toplanması

Referans bireyler 18-40 yaşlar arasında olup, cinsiyetlere göre gruplandırıldı.

##### Dağılımın İncelenmesi

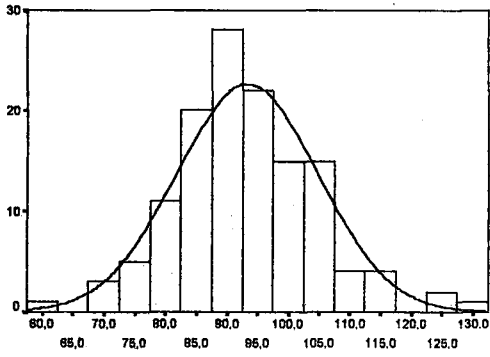
Erkek ve kadın referans bireylerden elde edilen verilerin histogramları Şekil 2'de gösterilmektedir.



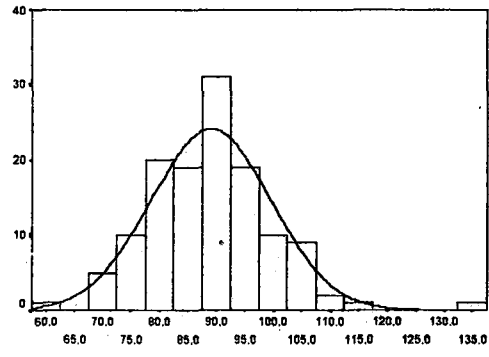
Şekil 2. Erkek ve kadın referans bireylerden elde edilen verilerin histogramları.

ERKEK (n=131)

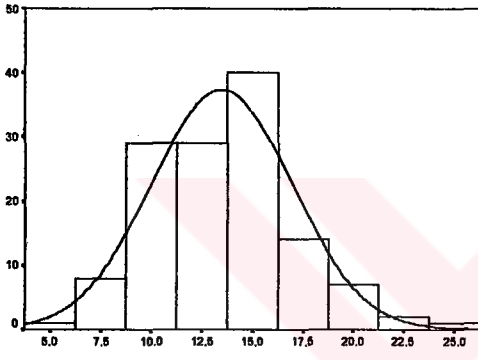
KADIN (n=128)



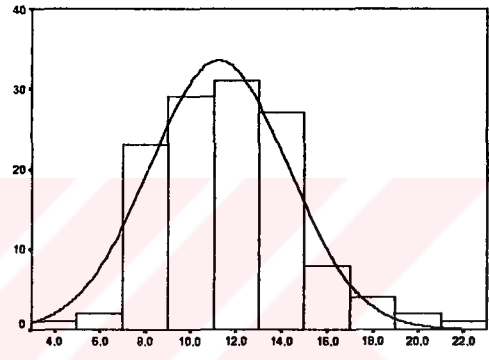
GLUKOZ (mg/dl)



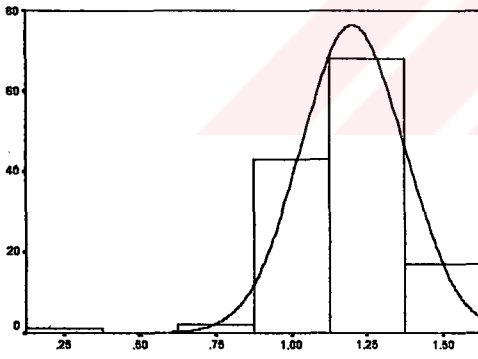
GLUKOZ (mg/dl)



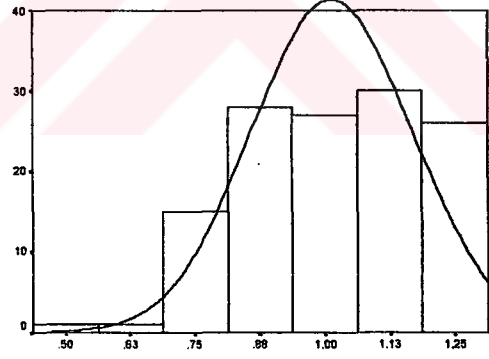
BUN (mg/dl)



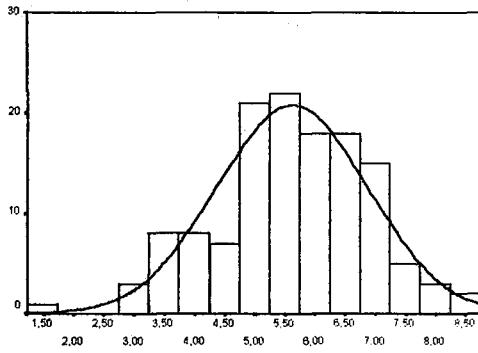
BUN (mg/dl)



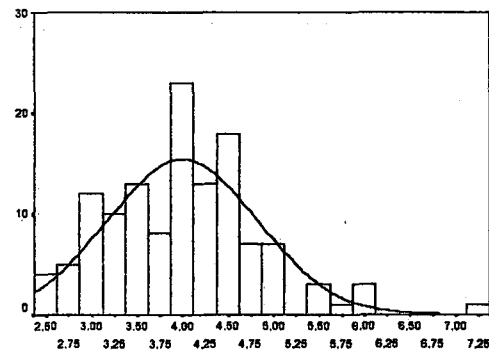
KREATİNİN (mg/dl)



KREATİNİN (mg/dl)

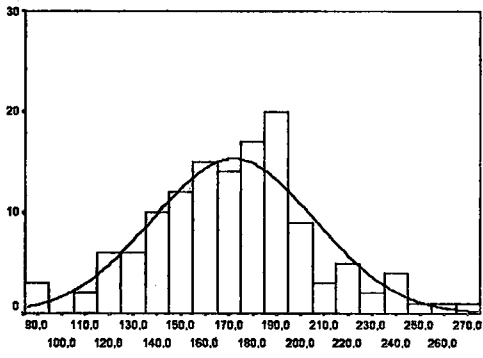
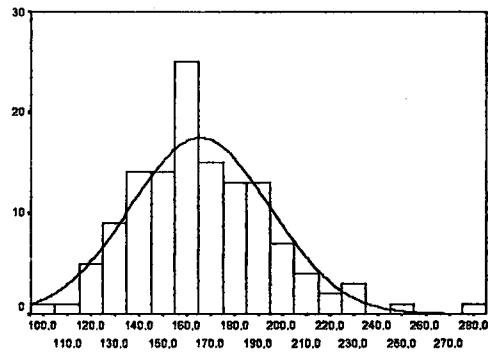
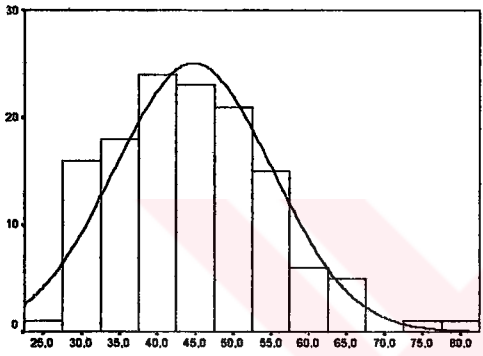
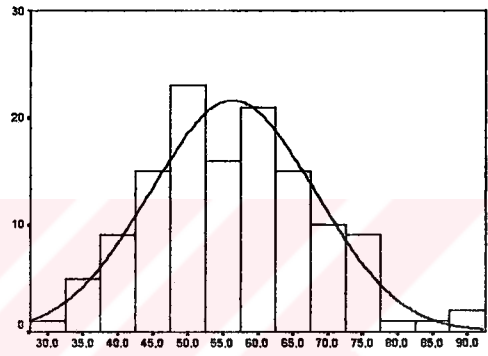
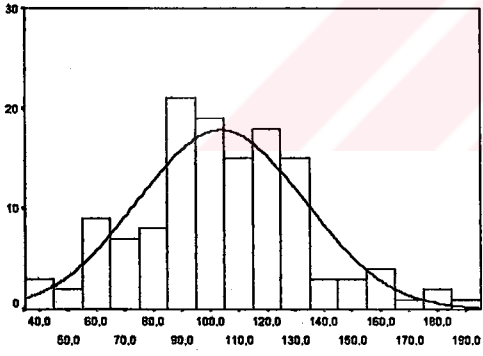
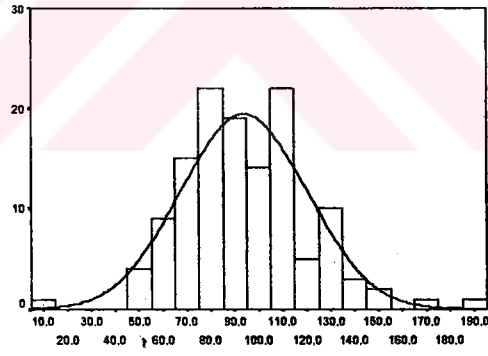
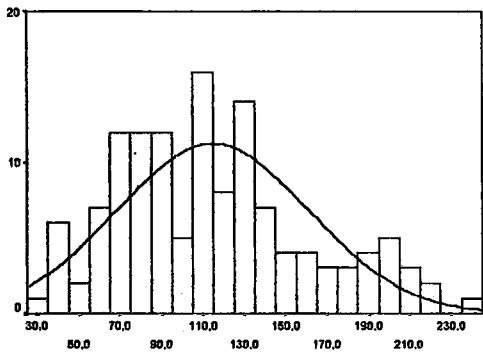
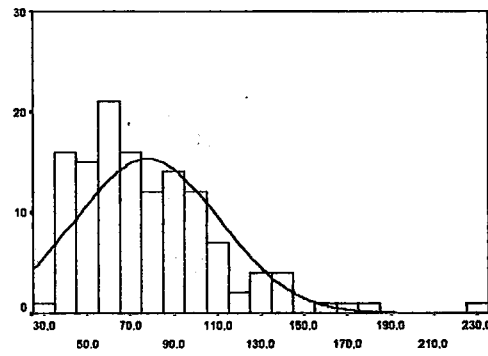


URİK ASİT



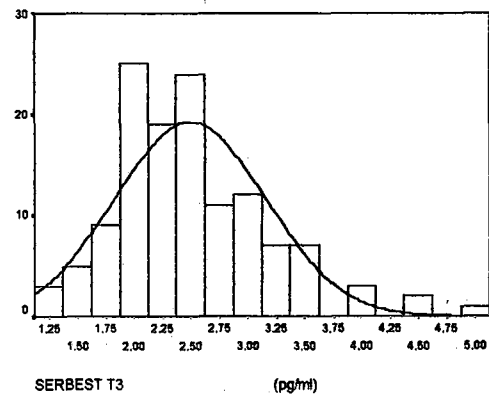
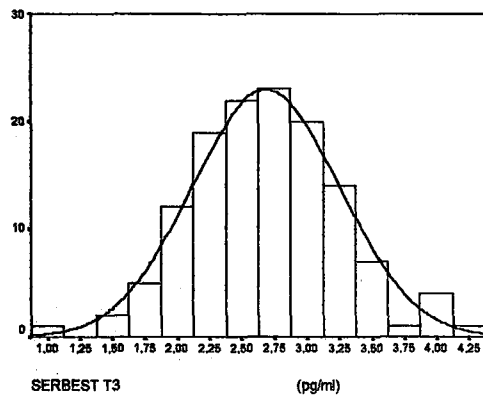
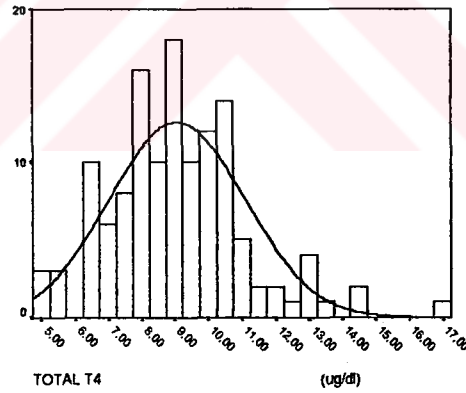
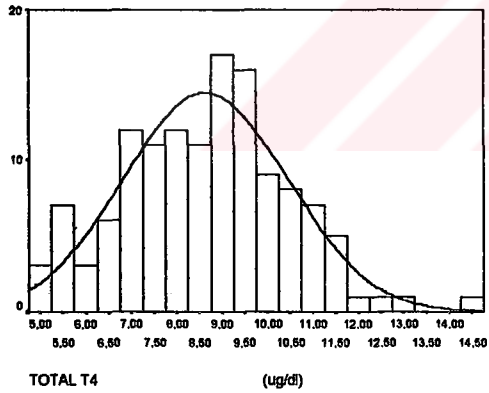
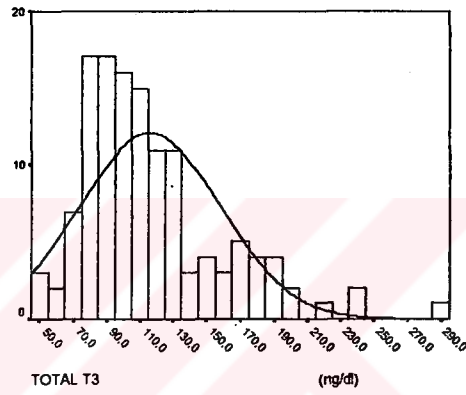
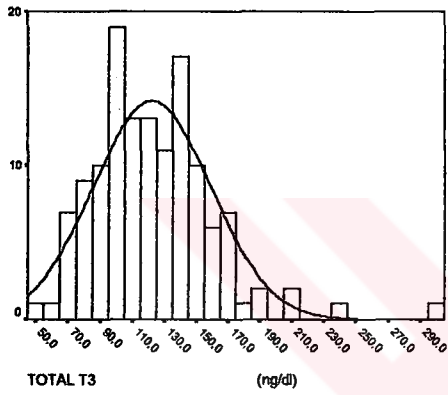
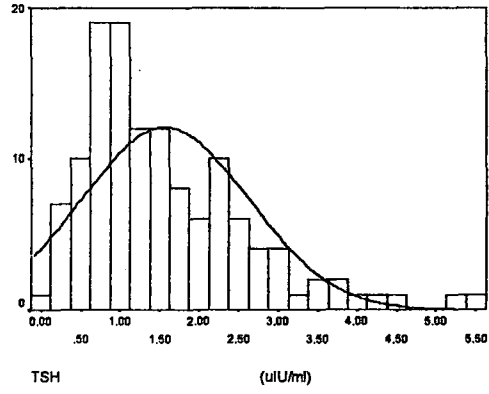
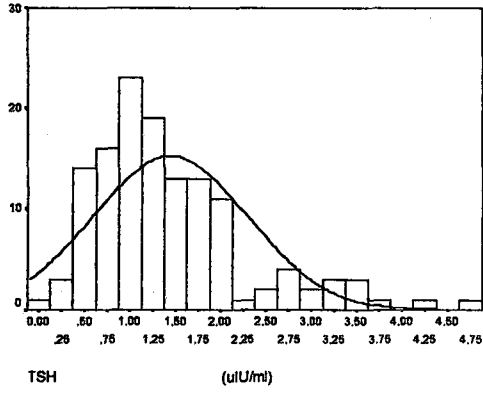
URİK ASİT (mg/dl)

Şekil 2. Erkek ve kadın referans bireylerden elde edilen verilerin histogramları.

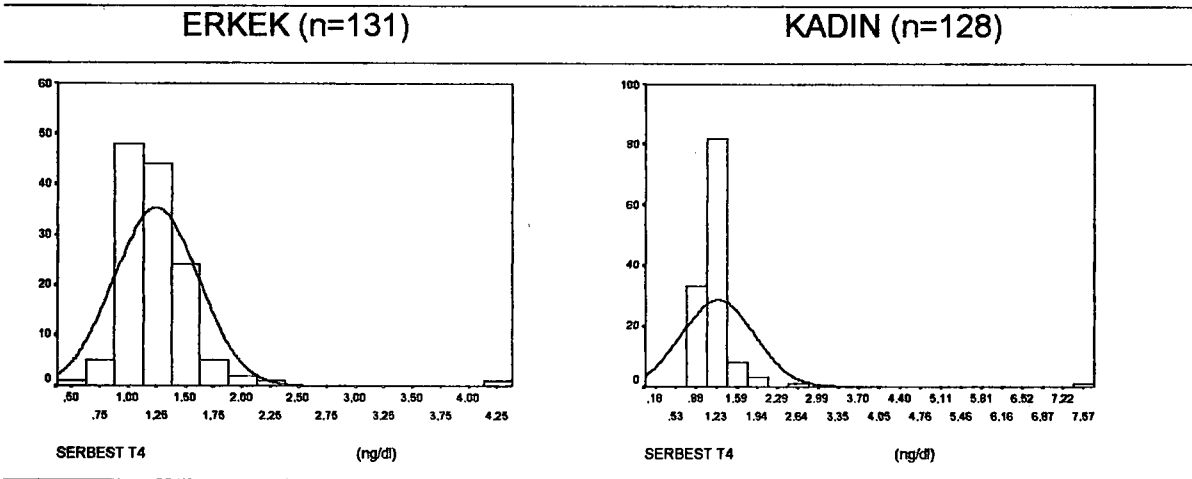
**ERKEK (n=131)****KADIN (n=128)****TOTAL KOLESTEROL (mg/dl)****TOTAL KOLESTEROL (mg/dl)****HDL-KOLESTEROL (mg/dl)****HDL-KOLESTEROL (mg/dl)****LDL-KOLESTEROL (mg/dl)****LDL-KOLESTEROL (mg/dl)****TRİGLİSERİD (mg/dl)****TRİGLİSERİD (mg/dl)****Şekil 2. Erkek ve kadın referans bireylerden elde edilen verilerin histogramları.**

ERKEK (n=131)

KADIN (n=128)



Şekil 2. Erkek ve kadın referans bireylerden elde edilen verilerin histogramları.



Şekil 2. Erkek ve kadın referans bireylerden elde edilen verilerin histogramları.

Erkek ve kadın referans birey verilerinin incelenmesi sonucu;

1. Çift tepeli dağılım gözlenmedi,
2. Anket formundaki sorulara alınan yanıtlardan elde edilen bilgilerin (değişkenlerin), veriler üzerine etkileri, Mann-Whitney U testi ile, incelendi.

Tablo XIX'da anket formundaki soruların yanıtlarından yararlanılarak, değişkenlerle ilgili bilgiler özetlenmektedir. Erkeklerde iyotlu tuz kullanımının HDL-kolesterol ( $p=0.027$ ) üzerine anlamlı etkisi olduğu dışında, her iki cinsiyette değişkenlerin analitler üzerine anlamlı etkisi olmadığı saptandı.

### Cinsiyetler Arasındaki Farklılık

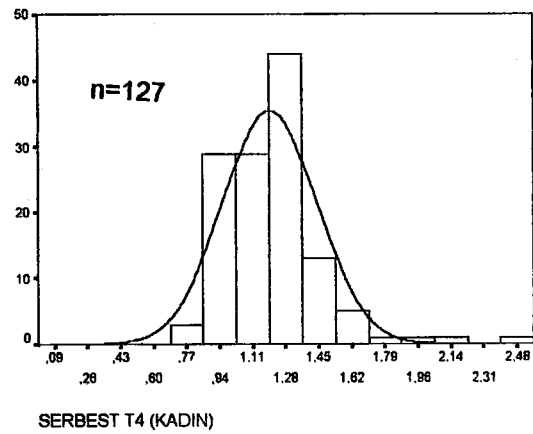
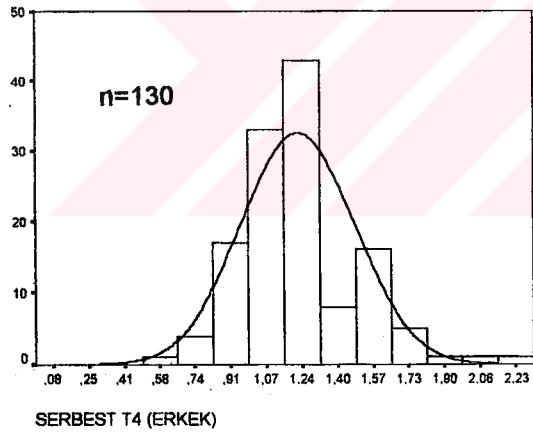
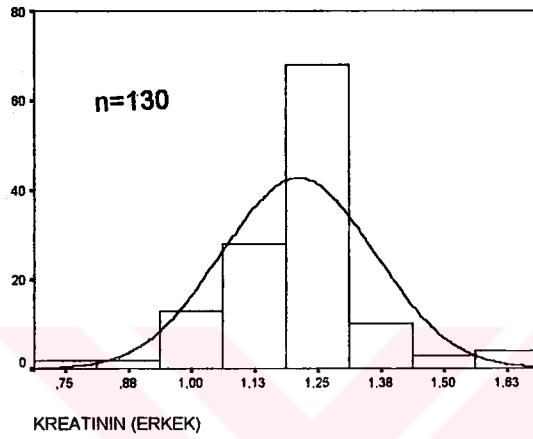
Veriler incelendiğinde (Tablo XIX); erkeklerde ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, LDL kolesterol, trigliserid, TT3 ve ST3 düzeyleri kadınlara göre yüksek bulunurken; kadınlarda HDL kolesterol değerleri erkeklere göre yüksek olarak saptandı ( $p<0,05$ ). Total kolesterol, total T4, TSH, serbest T4 değerleri için fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

### Aşırı Uç Değerlerin İncelenmesi

Histogramlarda gözlemlendiği gibi; erkek referans aralık verilerinden kreatinin ( $n=1$ ; 0,3 mg/dl) ve serbest T4'teki ( $n=1$ , 4.2 ng/dl) uç değerler

ile, kadın referans aralık verilerinden serbest T4'teki (n=1, 7.7 ng/dl) uç değer "D/R kuralına" göre saptandı ve atıldı.

Her aşırı uç değer atıldıktan sonra veriler, uç değer yönünden, tekrar gözden geçirildi. Uç değerler kalmadığı anlaşıldıktan sonra, geri kalan verilerin histogramları Şekil 3'te gösterilmektedir.



Şekil 3. Uç değerler atıldıktan sonra kalan verilerin histogramları.



### **Referans Aralık Sınırlarının Belirlenmesi**

Nonparametrik yöntem ile referans aralık alt ve üst sınırları saptandı. Tablo XX-A ve Tablo XX-B'nin REFARAL-NCCLS kolonunda görülmektedir.

### **Alt ve Üst Sınırların Güven Aralıklarının Belirlenmesi**

Alt ve üst sınırların, Tablo VIII yardımıyla saptanan, %90 güven aralıkları Tablo XX-A ve Tablo XX-B'de REFARAL-NCCLS kolonunda referans aralık alt ve üst düzeyler kolonlarında parantez içinde belirtilmektedir.

## **NONPARAMETRİK MODİFİYE NCCLS (SPSS) YÖNTEMİ İLE REFERANS ARALIKLARIN HESAPLANMASI**

Uç değerlerin hesaplanması dışındaki tüm basamaklar NCCLS'nin nonparametrik referans aralık saptama yöntemiyle aynıdır.

### **Referans Verilerinin Alt Gruplara Göre Toplanması**

Referans bireyler 18-40 yaşlar arasında olup, cinsiyetlere göre gruplandırıldı.

### **Dağılımın İncelenmesi**

Erkek ve kadın referans bireylerden elde edilen verilerin histogramları Şekil 2'de gösterilmektedir.

### **Aşırı Uç Değerlerin İncelenmesi**

Aşırı uç değerlerin incelenmesi (SPSS 9.0: Analyze→ Descriptive Statistics→ Explore...→ Statistics (Outliers)) sonucunda; ALP (erkek, n=3; kadın, n=3), glukoz (erkek, n=4; kadın, n=2), BUN (erkek, n=7; kadın, n=3), kreatinin (erkek, n=7; kadın, n=1), ürik asit (erkek, n=1; kadın, n=1), total kolesterol (erkek, n=2; kadın, n=2), HDL kolesterol (erkek, n=2; kadın, n=0), LDL kolesterol (erkek, n=4; kadın, n=3), trigliserid (erkek, n=1; kadın, n=4), TSH (erkek, n=8; kadın, n=3), total T3 (erkek, n=2; kadın, n=5), total

Tablo XIX: Tüm değişkenlerin analitler üzerine etkileri (uç değerler atılmadan).

Değişken	Yanıt	Grup*	p**																
			Glukoz	BUN	Kreatinin	Total kolesterol	Trigliserid	HDL kolesterol	LDL kolesterol	Ürik asit	ALP	TT4	TT3	TSH	ST4	ST3			
Cinsiyet	Kadin: 128 Erkek: 131	K+E	0,002	0,000	0,000	0,060	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,130	0,026	0,640	0,460	0,002
Kronik hastalığı var mı?	Evet: 5 Hayır: 123	K	0,601	0,591	0,812	0,424	0,971	0,703	0,698	0,689	0,698	0,689	0,386	0,719	0,253	0,322	0,386	0,719	0,182
Kronik hastalığı var mı?	Evet: 3 Hayır: 128	E	0,230	0,546	0,158	0,712	0,860	0,095	0,908	0,348	0,908	0,348	0,800	0,135	0,146	0,285	0,800	0,135	0,884
Aspirin veya ağrı kesici aldınız mı?	Evet: 22 Hayır: 106	K	0,483	0,629	0,794	0,544	0,068	0,845	0,726	0,955	0,726	0,955	0,605	0,157	0,138	0,378	0,605	0,157	0,364
Aspirin veya ağrı kesici aldınız mı?	Evet: 4 Hayır: 127	E	0,616	0,652	0,399	0,763	0,168	0,267	0,841	0,733	0,841	0,733	0,312	0,133	0,407	0,534	0,312	0,133	0,578
Soğuk algınlığı, allerji tedavisi aldınız mı?	Evet: 1 Hayır: 127	K	0,110	0,124	0,879	0,133	0,304	0,542	0,213	0,228	0,213	0,228	0,148	0,405	0,525	0,350	0,148	0,405	0,357
Soğuk algınlığı, allerji tedavisi aldınız mı?	Evet: 4 Hayır: 127	E	0,449	0,427	0,727	0,743	0,872	0,399	0,403	0,836	0,403	0,836	0,805	0,455	0,236	0,805	0,805	0,455	0,429
Mide ilacı veya antiasit aldınız mı?	Evet: 0 Hayır: 128	K																	
Mide ilacı veya antiasit aldınız mı?	Evet: 5 Hayır: 126	E	0,895	0,316	0,730	0,881	0,652	0,683	0,741	0,665	0,741	0,665	0,482	0,248	0,705	0,259	0,482	0,248	0,075
Reçete edilmiş ilaç alıyor mu?	Evet: 11 Hayır: 117	K	0,727	0,257	0,179	0,569	0,628	0,699	0,702	0,472	0,702	0,472	0,872	0,165	0,546	0,643	0,872	0,165	0,652
Reçete edilmiş ilaç alıyor mu?	Evet: 7 Hayır: 124	E	0,058	0,614	0,302	0,072	0,123	0,735	0,172	0,056	0,172	0,056	0,344	0,134	0,294	0,914	0,344	0,134	0,637
Sigara içiyor mu?	Evet: 31 Hayır: 97	K	0,322	0,309	0,266	0,621	0,329	0,481	0,512	0,073	0,512	0,073	0,526	0,781	0,216	0,650	0,526	0,781	0,779
Sigara içiyor mu?	Evet: 53 Hayır: 78	E	0,537	0,348	0,202	0,127	0,269	0,707	0,118	0,077	0,118	0,077	0,488	0,546	0,914	0,577	0,488	0,546	0,814

Değişken	Yanıt	Grup*	p**															
			Glukoz	BUN	Kreatinin	Total kolesterol	Trigliserid	HDL kolesterol	LDL kolesterol	Ürik asit	ALP	TT4	TT3	TSH	ST4	ST3		
Ailko alıyor mu?	Evet: 0 Hayır:128	K																
Ailko alıyor mu?	Evet: 6 Hayır:125	E	0,996	0,929	0,787	0,088	0,852	0,194	0,165	0,384	0,563	0,471	0,415	0,684	0,416	0,396		
Hangi tip tuz kullanıyor?	lyotlu: 102 lyotsuz:26	K	0,206	0,469	0,681	0,475	0,323	0,296	0,345	0,571	0,241	0,084	0,532	0,294	0,121	0,305		
Hangi tip tuz kullanıyor?	lyotlu: 97 lyotsuz:34	E	0,821	0,642	0,914	0,119	0,541	0,027	0,392	0,495	0,733	0,505	0,281	0,266	0,338	0,910		
Hangi tip yağ kullanıyor?	Katı:2 Sıvı: 126	K	0,431	0,246	0,732	0,062	0,022	0,392	0,205	0,532	0,617	0,751	0,176	0,205	0,497	0,729		
Hangi tip yağ kullanıyor?	Katı:9 Sıvı:122	E	0,935	0,156	0,526	0,792	0,639	0,542	0,982	0,339	0,545	0,554	0,551	1,00	0,537	0,560		
Ailesinde kalıtsal hastalık var mı?	Evet: 44 Hayır:84	K	0,147	0,280	0,506	0,870	0,459	0,189	0,519	0,731	0,509	0,761	0,699	0,583	0,742	0,369		
Ailesinde kalıtsal hastalık var mı?	Evet: 49 Hayır: 82	E	0,456	0,893	0,531	0,752	0,797	0,181	0,656	0,430	0,684	0,379	0,896	0,079	0,108	0,052		

\* : K (sadece kadınlar), E (sadece erkekler), K+E (kadınların ve erkeklerin tamamı).

\*\* : Karşılaştırma "Mann-Whitney U testi" kullanılarak yapıldı. p<0.05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo XX-A. Referans Aralıkların Değişik Yöntemlere Göre Hesaplanması (Genel Kontrol Paneli Testleri).

ANALİT	CİNS	BİRİM	REFARAL-NCCLS		SPSS		REFARAL-IFCC		HASTA-REFARAL		YÖNTEM-ALET
			Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	
ALP	K	U/L	31 (19-38)	120 (93-145)	31 (19-38)	94 (68-97)	32 (28-36)	94 (90-98)	35 (33-37)	94 (92-96)	AACC ve provisional IFCC metodu, ILAB 900
ALP	E	U/L	36 (29-39)	129 (105-146)	36 (29-39)	106 (101-114)	36 (21-41)	111 (106-115)	33 (31-36)	110 (108-113)	
Glukoz	K	mg/dl	70 (62-74)	109 (106-137)	70 (62-74)	108 (106-109)	70 (68-72)	108 (105-110)	75 (74-76)	120 (119-121)	Glukoz oksidaz, ILAB 900
Glukoz	E	mg/dl	72 (59-76)	126 (115-132)	72 (70-76)	116 (109-117)	72 (69-75)	117 (114-119)	75 (74-76)	122 (121-123)	
BUN	K	mg/dl	6 (4-7)	19 (17-21)	6 (4-7)	17 (16-18)	6 (5-7)	18 (17-19)	7	18	Üreaz yöntemi, ILAB 900
BUN	E	mg/dl	8 (5-8)	23 (21-25)	8 (7-8)	19 (18-19)	8 (7-9)	21 (20-22)	6 (5-7)	24 (23-24)	
Kreatinin	K	mg/dl	0,7 (0,5-0,8)	1,3 (1,2-1,3)	0,7 (0,6-0,8)	1,3 (1,2-1,3)			0,6	1,4	Jaffe metodu, ILAB 900
Kreatinin	E	mg/dl	0,9 (0,8-1,0)	1,6 (1,5-1,6)	1,0 (0,9-1,0)	1,5 (1,4-1,5)			0,7 (0,6-0,7)	1,6 (1,6-1,6)	
Ürik Asit	K	mg/dl	2,5 (2,4-2,8)	60 (5,4-7,2)	2,5 (2,4-2,8)	59 (5,4-6,1)	2,5 (2,3-2,7)	59 (5,7-6,1)	2,3 (2,2-2,4)	69 (6,8-7,0)	Ürikaz yöntemi, ILAB 900
Ürik Asit	E	mg/dl	3,1 (1,6-3,4)	8,2 (7,6-8,6)	3,2 (3,1-3,4)	8,2 (7,6-8,6)	3,2 (3,0-3,6)	8,2 (7,9-8,5)	3,0 (2,8-3,2)	8,3 (8,1-8,5)	

Tablo XX-A. Referans Aralıkların Değişik Yöntemlere Göre Hesaplanması (Lipid Profili Testleri).

ANALİT	CİNS	BİRİM	REFARAL-NCCLS		SPSS		REFARAL-IFCC		HASTA-REFARAL		YÖNTEM-ALET
			Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	
Total kolesterol	K	mg/dl	120 (96-123)	231 (219-278)	120 (96-123)	225 (213-231)	120 (114-127)	224 (218-231)	122 (118-126)	246 (242-250)	Enzimatik kolesterol ölçüm yöntemi, ILAB 900
Total kolesterol	E	mg/dl	94 (92-117)	252 (240-268)	94 (92-117)	243 (225-252)	99 (90-107)	249 (241-258)	117 (113-122)	258 (253-263)	
HDL-kolesterol	K	mg/dl	35 (29-38)	83 (76-89)	35 (29-38)	83 (76-89)	35 (32-38)	83 (80-85)	29 (28-30)	74 (73-75)	Direkt HDL ölçüm yöntemi, ILAB 900
HDL-kolesterol	E	mg/dl	28 (27-30)	67 (64-81)	28 (27-30)	66 (59-67)	28 (26-31)	67 (64-69)	24 (22-26)	65 (63-67)	
LDL-kolesterol	K	mg/dl	48 (9-59)	149 (136-190)	49 (47-59)	142 (132-149)	50 (44-55)	145 (139-151)	53 (49-57)	172 (168-176)	Hesaplanarak, ILAB 900
LDL-kolesterol	E	mg/dl	41 (37-59)	176 (157-188)	52 (40-59)	162 (148-166)	44 (37-51)	173 (166-180)	40 (35-45)	168 (163-173)	
Trigliserid	K	mg/dl	36 (33-37)	173 (136-230)	36 (33-37)	136 (128-144)	36 (28-44)	157 (149-164)	40 (36-42)	141 (138-143)	Enzimatik trigliserid ölçüm yöntemi, ILAB 900
Trigliserid	E	mg/dl	40 (34-44)	216 (204-240)	40 (34-44)	210 (202-224)	40 (29-51)	214 (203-226)	44 (38-50)	192 (186-198)	

Tablo XX-A. Referans Aralıkların Değişik Yöntemlere Göre Hesaplanması (Tiroid Paneli Testleri).

ANALİT	CİNS	BİRİM	REFARAL-NCCLS		SPSS		REFARAL-IFCC		HASTA-REFARAL		YÖNTEM-ALET
			Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	
TSH	K	uIU/ml	0,20 (0,10-0,34)	4,58 (3,64-5,60)	0,20 (0,10-0,34)	3,83 (3,30-4,17)	0,27 (0,23-0,32)	4,50 (3,78-5,34)	0,30 (0,26-0,33)	2,87 (2,80-2,91)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
TSH	E	uIU/ml	0,35 (0,10-0,50)	3,66 (3,20-4,75)	0,35 (0,10-0,50)	2,91 (2,60-3,17)	0,36 (0,32-0,42)	3,65 (3,17-4,19)	0,32 (0,19-0,46)	2,93 (2,80-3,06)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
TT3	K	ng/dl	51,7 (50,0-68,6)	239 (192-290)	51,7 (50,0-68,6)	187 (181-198)	53,4 (49,1-58,0)	235,6 (216,8-256,0)	66,3 (57-75)	208,0 (199-217)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
TT3	E	ng/dl	68,7 (51,3-71,8)	212 (175-296)	68,7 (51,3-71,8)	191 (172-212)	68,9 (60,1-76,8)	190,8 (182,8-198,7)	76 (68-83)	190 (182-198)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
TT4	K	ug/dl	5,2 (4,8-6,3)	14,3 (13,0-17,2)	5,2 (4,8-6,3)	13,2 (12,0-13,5)	5,3 (4,8-5,7)	13,4 (13,0-13,9)	6,7 (6,3-7,1)	13,6 (13,2-14,0)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
TT4	E	ug/dl	5,1 (4,9-5,5)	12,3 (11,5-14,3)	5,1 (4,9-5,5)	12,1 (11,5-13,2)	5,2 (4,8-5,6)	12,0 (11,6-12,4)	5,8 (5,4-6,2)	13,0 (12,6-13,4)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
ST3	K	pg/ml	1,3 (1,3-1,5)	4,4 (3,6-4,9)	1,3 (1,3-1,5)	3,9 (3,5-4,1)	1,3 (1,2-1,5)	4,1 (3,9-4,2)	1,5 (1,4-1,6)	4,1 (4,0-4,2)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
ST3	E	pg/ml	1,5 (1,0-1,8)	4,0 (3,6-4,2)	1,7 (1,4-1,8)	4,0 (3,6-4,2)	1,6 (1,4-1,7)	4,0 (3,8-4,1)	1,4 (1,2-1,5)	4,2 (4,1-4,4)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
ST4	K	ng/dl	0,85 (0,80-0,88)	1,90 (1,60-2,50)	0,85 (0,80-0,88)	1,60 (1,50-1,70)	0,85 (0,80-0,88)	1,60 (1,50-1,70)	0,76 (0,71-0,83)	1,90 (1,90-2,00)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
ST4	E	ng/dl	0,72 (0,60-0,88)	1,90 (1,70-2,30)	0,72 (0,60-0,88)	1,60 (1,60-1,80)	0,72 (0,60-0,92)	1,60 (1,60-1,80)	0,80 (0,68-0,92)	1,90 (1,80-2,00)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One

Tablo XX-B. Referans Aralıkların Değişik Yöntemlere Göre Hesaplanması (cinsiyetler arasında anlamlı fark olmayan analitlerin referans aralıkları, kadın ve erkek verileri birleştirilerek hesaplanmıştır) (Genel Kontrol Paneli Testleri).

ANALİT	CİNS	BİRİM	REFARAL-NCCLS		SPSS		REFARAL-IFCC		HASTA-REFARAL		YÖNTEM-ALET
			Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	
ALP	K	U/L	31 (19-38)	120 (93-145)	31 (19-38)	94 (88-97)	32 (28-36)	94 (90-98)	35 (33-37)	94 (92-96)	AACC ve provisional IFCC metodu, ILAB 900
ALP	E	U/L	36 (29-39)	129 (105-146)	36 (29-39)	106 (101-114)	36 (21-41)	111 (106-115)	33 (31-36)	110 (108-113)	
Glukoz	K	mg/dl	70 (62-74)	109 (106-137)	70 (62-74)	108 (106-109)	70 (68-72)	108 (105-110)	75 (74-76)	120 (119-121)	Glukoz oksidaz, ILAB 900
Glukoz	E	mg/dl	72 (59-76)	126 (115-132)	72 (70-76)	116 (109-117)	72 (69-75)	117 (114-119)	75 (74-76)	122 (121-123)	
BUN	K	mg/dl	6 (4-7)	19 (17-21)	6 (4-7)	17 (16-18)	6 (5-7)	18 (17-19)	7	18	Üreaz yöntemi, ILAB 900
BUN	E	mg/dl	8 (5-8)	23 (21-25)	8 (7-8)	19 (18-19)	8 (7-9)	21 (20-22)	6 (5-7)	24 (23-24)	
Kreatinin	K	mg/dl	0,7 (0,5-0,8)	1,3 (1,2-1,3)	0,7 (0,6-0,8)	1,3 (1,2-1,3)			0,6	1,4	Jaffe metodu, ILAB 900
Kreatinin	E	mg/dl	0,9 (0,8-1,0)	1,6 (1,5-1,6)	1,0 (0,9-1,0)	1,5 (1,4-1,5)			0,7 (0,6-0,7)	1,6 (1,6-1,6)	
Ürik Asit	K	mg/dl	2,5 (2,4-2,8)	6,0 (5,4-7,2)	2,5 (2,4-2,8)	5,9 (5,4-6,1)	2,5 (2,3-2,7)	5,9 (5,7-6,1)	2,3 (2,2-2,4)	6,9 (6,8-7,0)	Ürikaz yöntemi, ILAB 900
Ürik Asit	E	mg/dl	3,1 (1,6-3,4)	8,2 (7,6-8,6)	3,2 (3,1-3,4)	8,2 (7,6-8,6)	3,2 (3,0-3,6)	8,2 (7,9-8,5)	3,0 (2,8-3,2)	8,3 (8,1-8,5)	

Tablo XX-B. Referans Aralıkların Değişik Yöntemlere Göre Hesaplanması (cinsiyetler arasında anlamlı fark olmayan analitlerin referans aralıkları, kadın ve erkek verileri birleştirilerek hesaplanmıştır) (Lipid Profili Tesleri).

ANALİT	CİNS	BİRİM	REFARAL-NCCLS		SPSS		REFARAL-IFCC		HASTA-REFARAL		YÖNTEM-ALET
			Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	
Total kolesterol	K	mg/dl	111 (94-120)	243 (228-257)	111 (94-120)	229 (220-242)	111 (106-116)	241 (236-246)	110 (107-113)	261 (258-264)	Enzimatik kolesterol ölçüm yöntemi, ILAB 900
HDL-kolesterol	K	mg/dl	35 (29-38)	83 (76-89)	35 (29-38)	83 (76-89)	35 (32-38)	83 (80-85)	29 (28-30)	74 (73-75)	Direkt HDL ölçüm yöntemi, ILAB 900
HDL-kolesterol	E	mg/dl	28 (27-30)	67 (64-81)	28 (27-30)	66 (59-67)	28 (26-31)	67 (64-69)	24 (22-26)	65 (63-67)	
LDL-kolesterol	K	mg/dl	48 (9-59)	149 (136-190)	49 (47-59)	142 (132-149)	50 (44-55)	145 (139-151)	50 (47-53)	182 (179-185)	Hesaplanarak, ILAB 900
LDL-kolesterol	E	mg/dl	36 (33-37)	173 (157-188)	36 (40-59)	162 (148-166)	44 (37-51)	173 (166-180)	40 (36-42)	141 (138-143)	
Trigliserid	K	mg/dl	40 (34-44)	216 (204-240)	40 (34-44)	210 (202-224)	40 (29-51)	214 (203-226)	44 (38-50)	192 (186-198)	Enzimatik trigliserid ölçüm yöntemi, ILAB 900



Tablo XX-B. Referans Aralıkların Değişik Yöntemlere Göre Hesaplanması (cinsiyetler arasında anlamlı fark olmayan analitlerin referans aralıkları, kadın ve erkek verileri birleştirilerek hesaplanmıştır) (Tiroid Panelli Testleri).

ANALİT	CİNS	BİRİM	REFERAL-NCCLS		SPSS		REFERAL-IFCC		HASTA-REFERAL		YÖNTEM-ALET
			Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	Alt sınır (90% GA)	Üst sınır (90% GA)	
TSH	K	uIU/ml	0,30 (0,20-0,37)	4,17 (3,60-4,75)	0,26 (0,10-0,37)	3,20 (2,91-3,43)			0,09 (0,05-0,12)	2,95 (2,90-3,07)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
TSH	E	uIU/ml									
TT3	K	ng/dl	51,7 (50,0-68,6)	239 (192-290)	51,7 (50,0-68,6)	187 (181-198)	53,4 (49,1-58,0)	235,6 (216,8-256,0)	65 (59-72)	212 (206-219)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
TT3	E	ng/dl	68,7 (51,3-71,8)	212 (175-296)	68,7 (51,3-71,8)	191 (172-212)	68,9 (60,1-76,8)	190,8 (182,8-198,7)			
TT4	K	ug/dl	5,4 (4,9-5,5)	13,2 (12,3-14,3)	5,2 (4,9-5,5)	12,4 (11,6-13,2)	5,3 (5,0-5,6)	13,2 (12,9-13,5)	6,2 (5,9-6,5)	13,7 (13,4-14,0)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
TT4	E	ug/dl									
ST3	K	pg/ml	1,3 (1,3-1,5)	4,4 (3,6-4,9)	1,3 (1,3-1,5)	3,9 (3,5-4,1)	1,3 (1,2-1,5)	4,1 (3,9-4,2)	1,3 (1,2-1,5)	4,2 (4,1-4,3)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
ST3	E	pg/ml	1,5 (1,0-1,8)	4,0 (3,6-4,2)	1,7 (1,4-1,8)	4,0 (3,6-4,2)	1,6 (1,4-1,7)	4,0 (3,8-4,1)			
ST4	K	ng/dl	0,80 (0,72-0,88)	1,90 (1,70-2,30)	0,83 (0,72-0,88)	1,60 (1,50-1,70)			0,77 (0,72-0,84)	1,90 (1,90-2,00)	Kemilüminesans immün ölçüm yöntemi, Immulite One
ST4	E	ng/dl									

T4 (erkek, n=1; kadın, n=3), serbest T3(erkek, n=1; kadın, n=3) ve serbest T4 (erkek, n=4; kadın, n=5) için saptanan "uç değerler (extreme values)" atıldı.

#### **Referans Aralık Sınırlarının Belirlenmesi**

Nonparametrik yöntem ile, referans aralık alt ve üst sınırları saptandı. Tablo XX-A ve Tablo XX-B'nin SPSS kolonunda görülmektedir.

#### **Alt ve Üst Sınırların Güven Aralıklarının Belirlenmesi**

Alt ve üst sınırların, Tablo VIII yardımıyla saptanan, %90 güven aralıkları Tablo XX-A ve Tablo XX-B'de SPSS kolonunda referans aralık alt ve üst düzeyler kolonlarında parantez içinde belirtilmektedir.

### **2.1.2. PARAMETRİK YÖNTEME GÖRE REFERANS ARALIKLARIN HESAPLANMASI**

(IFCC'nin Önerdiği Parametrik Yönteme Göre Hesaplamalar)

#### **Referans Verilerinin Alt Gruplara Göre Toplanması**

Referans bireyler 18-40 yaşlar arasında olup, cinsiyetlere göre gruplandırıldı.

#### **Dağılımın İncelenmesi**

IFCC'nin önerileri doğrultusunda, hiçbir uç değer atılmadan, referans aralık verilerinin "Normal (Gaussian)" dağılıma uyup uymadığına bakıldı. Bu işlemde, "Kolmogorov-Smirnov testinden" yararlanıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo XXI'de belirtilmektedir.

Tablo XXI: Seçilmiş bireylerin referans aralık verilerinin Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmesi.

	p (erkek)	p (kadın)
Alkale fosfataz (ALP)	0.860	0.189
Glukoz	0.598	0.418
BUN	0.019 <sup>a</sup>	0.227
Kreatinin	0.003 <sup>a</sup>	0.006 <sup>a</sup>
Ürik asit	0.786	0.632
Total Kolesterol	0.723	0.536
HDL-kolesterol	0.408	0.764
LDL-kolesterol	0.596	0.748
Trigliserid	0.550	0.147
TSH	0.025 <sup>a</sup>	0.013 <sup>a</sup>
Total T3	0.485	0.014 <sup>a</sup>
Total T4	0.981	0.408
Serbest T3	0.858	0.157
Serbest T4	0.000 <sup>a</sup>	0.000 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> : Dağılım, Gaussian dağılımına uymamaktadır (p<0.05).

### Verilerin Transformasyonu

Gaussian dağılıma uymayan verilerin (erkeklerde BUN, kreatinin, TSH, serbest T4; kadınlarda kreatinin, TSH, total T3, serbest T4) logaritmik transformasyonu yapıldı ve bu transforme verilerin dağılımı incelendi (Tablo XXII).

Tablo XXII: Logaritmik transformasyon yapılmış verilerin Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmesi.

	p (erkek)	p (kadın)
log (BUN)	0.162	
log (kreatinin)	0.000 <sup>a</sup>	0.004 <sup>a</sup>
log (TSH)	0.919	0.902
log (total T3)		0.331
log (serbest T4)	0.043 <sup>a</sup>	0.000 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> : Dağılım, Gaussian dağılımına uymamaktadır (p<0.05).

Erkeklerde BUN ve TSH verileri, logaritmik transformasyon sonucunda Gaussian dağılımına uygun hale gelirken; kreatinin ve serbest T4 verileri Gaussian dağılımına uygun bulunmadı.

Kadınlarda da, logaritmik transformasyon sonucunda TSH ve total T3 verileri normal dağılıma uygun hale gelirken, kreatinin ve serbest T4 verileri normal dağılıma uygun bulunmadı.

Gaussian dağılımına uygun hale gelmeyen verilerin orijinal (nontransforme) değerleri kullanılarak, nonparametrik olarak referans aralıkları saptandı.

Logaritmik transformasyon sonucunda, Gaussian dağılımına uygun hale gelen verilerin logaritmik değerlerinden, parametrik olarak, referans aralıklar hesaplandı. Elde edilen değerlerin, "geri transformasyonu" (antilogaritması alınarak) yapıldı.

#### **Aşırı Uç Değerlerin İncelenmesi**

IFCC'nin önerdiği parametrik yöntemde,  $\pm 3$  standart deviasyon dışındaki değerler "uç değer" olarak tanımlanmaktadır.

Buna göre, erkek referans aralık verilerinden ALP (n=2; 140 U/L, 146 U/L), glukoz (n=1; 132 mg/dl), log(BUN) (n=1; 0.70), ürik asit (n=1; 1.6 mg/dl), HDL-kolesterol (n=1; 81 mg/dl), log(TSH) (n=1; -1.00), total T3 (n=2; 240 ng/dl, 296 ng/dl) ve total T4'te (n=1; 14.3  $\mu$ g/dl) uç değerler belirlenirken; kadın referans aralık verilerinden ise ALP (n=3; 120 U/L, 122 U/L, 145 U/L), glukoz (n=1; 137 mg/dl), BUN (n=1; 21 mg/dl), ürik asit (n=1; 7.2 mg/dl), total kolesterol (n=2; 254 mg/dl, 278 mg/dl), LDL-kolesterol (n=2; 9 mg/dl, 190 mg/dl), trigliserid (n=1; 230 mg/dl), log(TSH) (n=1; -1.00), total T4 (n=1; 17.2  $\mu$ g/dl) ve serbest T3'te (n=1; 4.9 pg/ml) uç değerler saptandı ve atıldı.

#### **Referans Aralığı Değerleri Sınırlarının Belirlenmesi**

Parametrik yöntem ile, referans aralık alt ve üst sınırları saptandı. Tablo XX-A ve Tablo XX-B'nin, REFARAL-IFCC kolonunda görülmektedir.

### **Alt ve Üst Sınırların Güven Aralıklarının Belirlenmesi**

%90 güven aralıkları aşağıdaki formüle göre hesaplandı (4):

$$(\text{Alt veya üst referans sınır}) \pm \{2,81. (\text{standart sapma}) / \sqrt{(\text{veri sayısı})}\}$$

Alt ve üst sınırların %90 güven aralıkları Tablo XX-A ve Tablo XX-B'de REFARAL-IFCC kolonunda referans aralık alt ve üst sınır kolonlarında parantez içinde belirtilmektedir.

### **2.1.3. SEÇİLMİŞ BİREYLERDE ANALİTLER İLE YAŞ VE BMI ARASINDAKİ KORELASYON**

Seçilmiş referans birey verilerinin incelenmesi sonucunda elde edilen, yaş ve BMI ile, analitler arasındaki korelasyon Tablo XXIII'te gösterilmektedir.

Erkeklerden oluşan referans aralık grubunda total kolesterol ve LDL kolesterol ile yaş arasında pozitif bir ilişki ( $p < 0.05$ ) saptandı. BMI ile ürik asit, total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid arasında pozitif bir ilişki saptandı ( $p < 0.05$ ).

Kadınlardan oluşan referans aralık grubunda ise, yaş ile total kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid arasında pozitif bir ilişki ( $p < 0.05$ ) saptandı. BMI ile ürik asit, total kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid arasında pozitif bir ilişki ( $p < 0.05$ ) saptanırken; BMI ile HDL-kolesterol arasında negatif bir ilişki saptandı ( $p < 0.05$ ).

Tablo XXIII: Analit düzeylerinin yaş ve BMI ile ilişkileri.

Analit	Yaş				BMI			
	Erkek		Kadın		Erkek		Kadın	
	r*	p**	r*	p**	r*	p**	r*	p**
Genel Kontrol Paneli								
ALP	-0.098	0.268	-0.187	0.055	-0.045	0.608	0.055	0.535
Glukoz	0.157	0.073	0.167	0.060	0.136	0.121	0.130	0.144
Kreatinin	-0.087	0.322	-0.046	0.602	0.057	0.520	0.076	0.391
BUN	0.148	0.092	-0.055	0.536	0.015	0.862	0.034	0.707
Ürik asit	-0.129	0.142	0.034	0.703	0.179	0.041	0.187	0.034
Lipid Paneli								
Total Kolesterol	0.369	0.000	0.270	0.002	0.302	0.000	0.239	0.007
HDL-Kolesterol	0.036	0.680	-0.143	0.108	-0.126	0.150	-0.265	0.002
LDL-Kolesterol	0.363	0.000	0.299	0.001	0.306	0.000	0.296	0.001
Trigliserid	0.163	0.063	0.266	0.002	0.272	0.002	0.358	0.000
Tiroid Paneli								
TSH	-0.021	0.816	-0.054	0.547	-0.013	0.879	0.141	0.113
Total T3	-0.104	0.237	-0.107	0.228	-0.096	0.276	0.080	0.368
Total T4	-0.039	0.657	-0.045	0.612	0.009	0.920	0.055	0.535
Serbest T3	-0.145	0.841	-0.019	0.834	0.022	0.801	0.060	0.501
Serbest T4	0.018	0.098	-0.093	0.297	0.004	0.964	0.062	0.490

\* : "r" korelasyon katsayısını göstermektedir.

\*\* : Korelasyon, "pearson korelasyon testine" göre saptandı (p<0.05 korelasyon olduğunu göstermektedir).

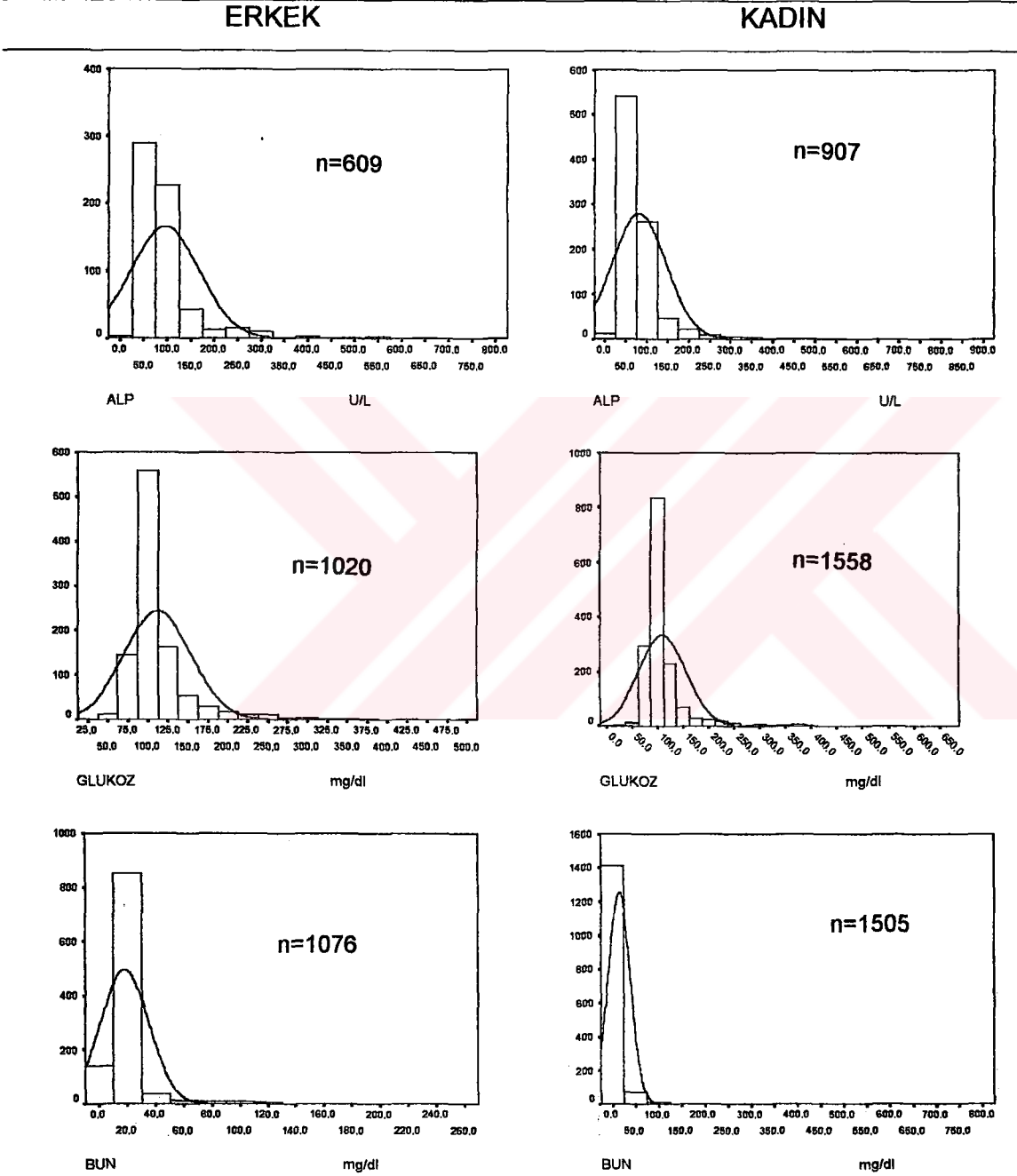
## 2.2. LABORATUVARA BAŞVURAN BİREY VERİLERİNDEN REFERANS ARALIK HESAPLANMASI

### Referans Verilerinin Alt Gruplara Göre Toplanması

Laboratuvara başvuran bireyler 18-40 yaşlar arasında olup, cinsiyetlere göre gruplandırıldı.

## Dağılımın İncelenmesi

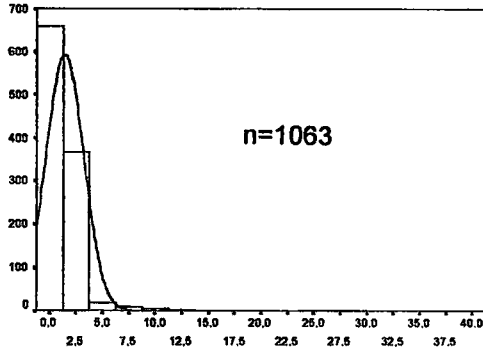
Erkek ve kadın bireylerden elde edilen verilerin uç değerler atılmadan önceki ilk histogramları Şekil 4'te gösterilmektedir.



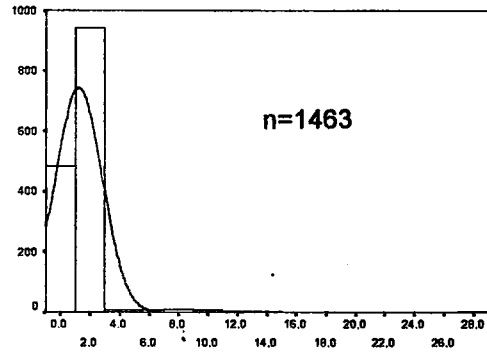
Şekil 4. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerden elde edilen verilerin histogramları.

## ERKEK

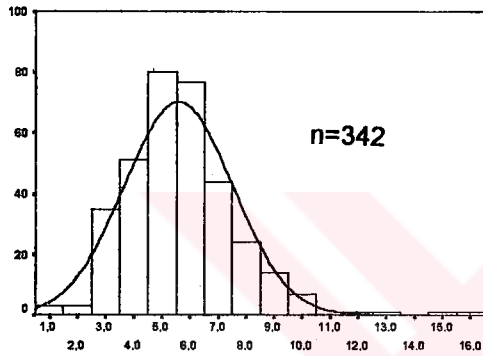
## KADIN



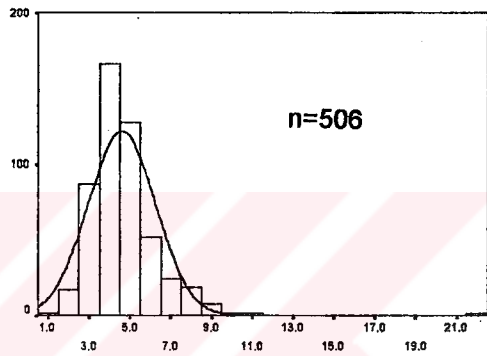
KREATİNİN mg/dl



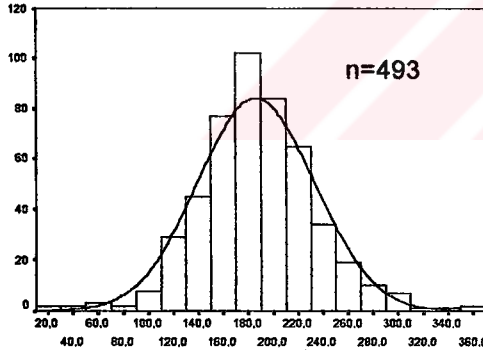
KREATİNİN mg/dl



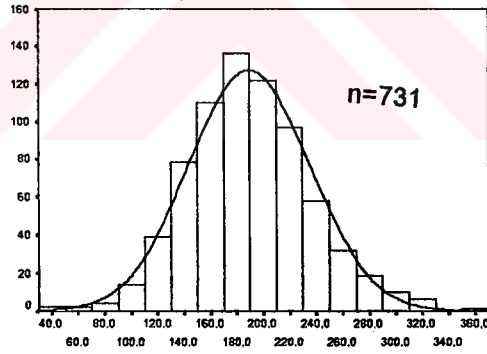
URİK ASİT mg/dl



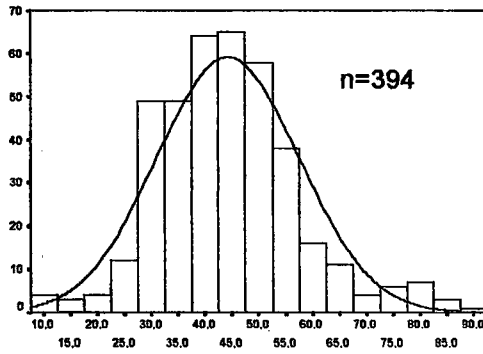
URİK ASİT mg/dl



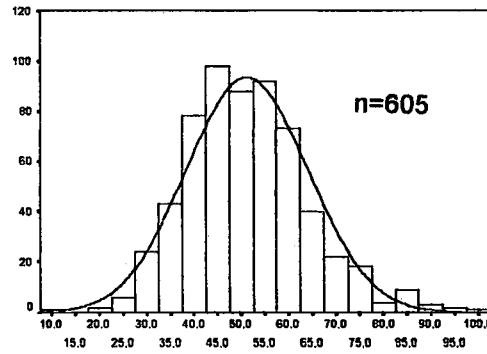
TOTAL KOLESTEROL mg/dl



TOTAL KOLESTEROL mg/dl



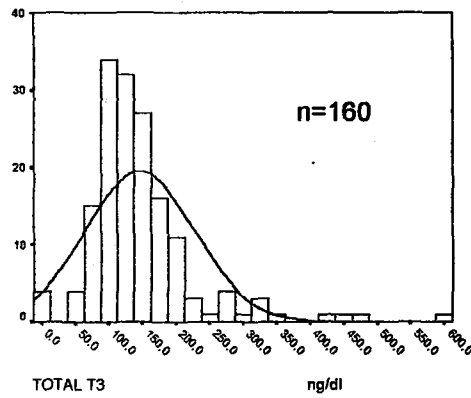
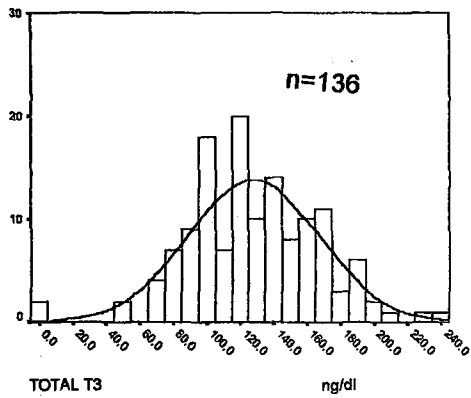
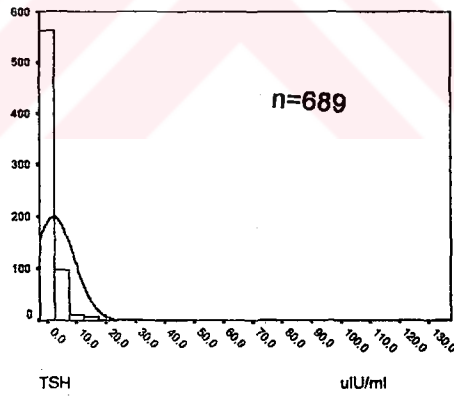
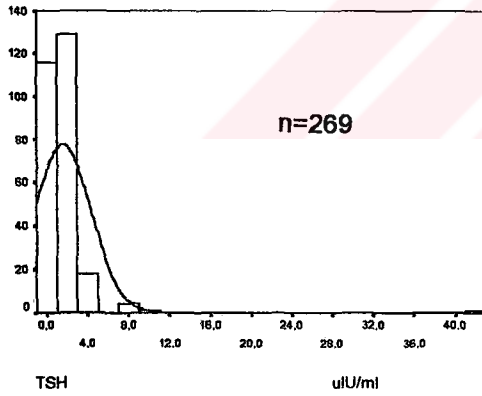
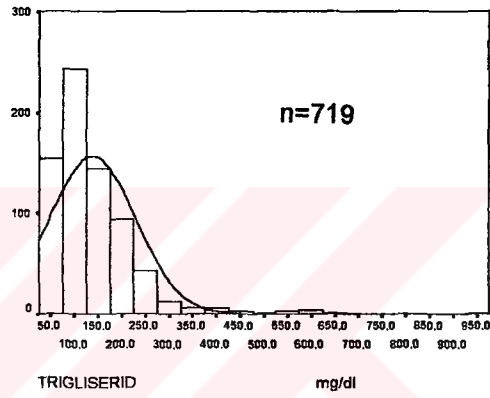
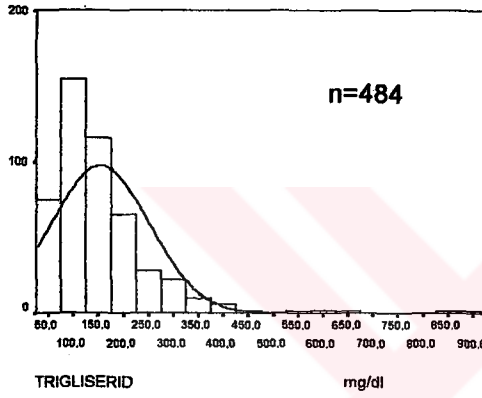
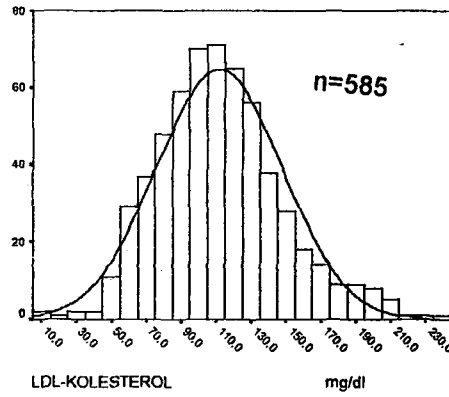
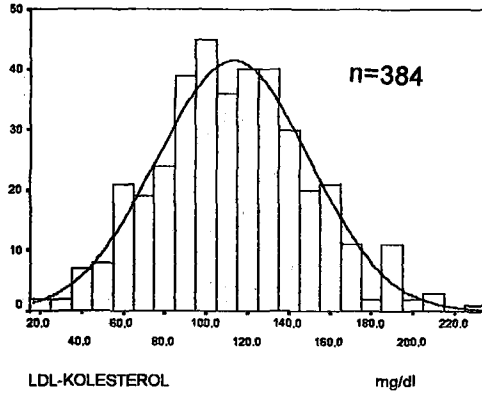
HDL-KOLESTEROL mg/dl



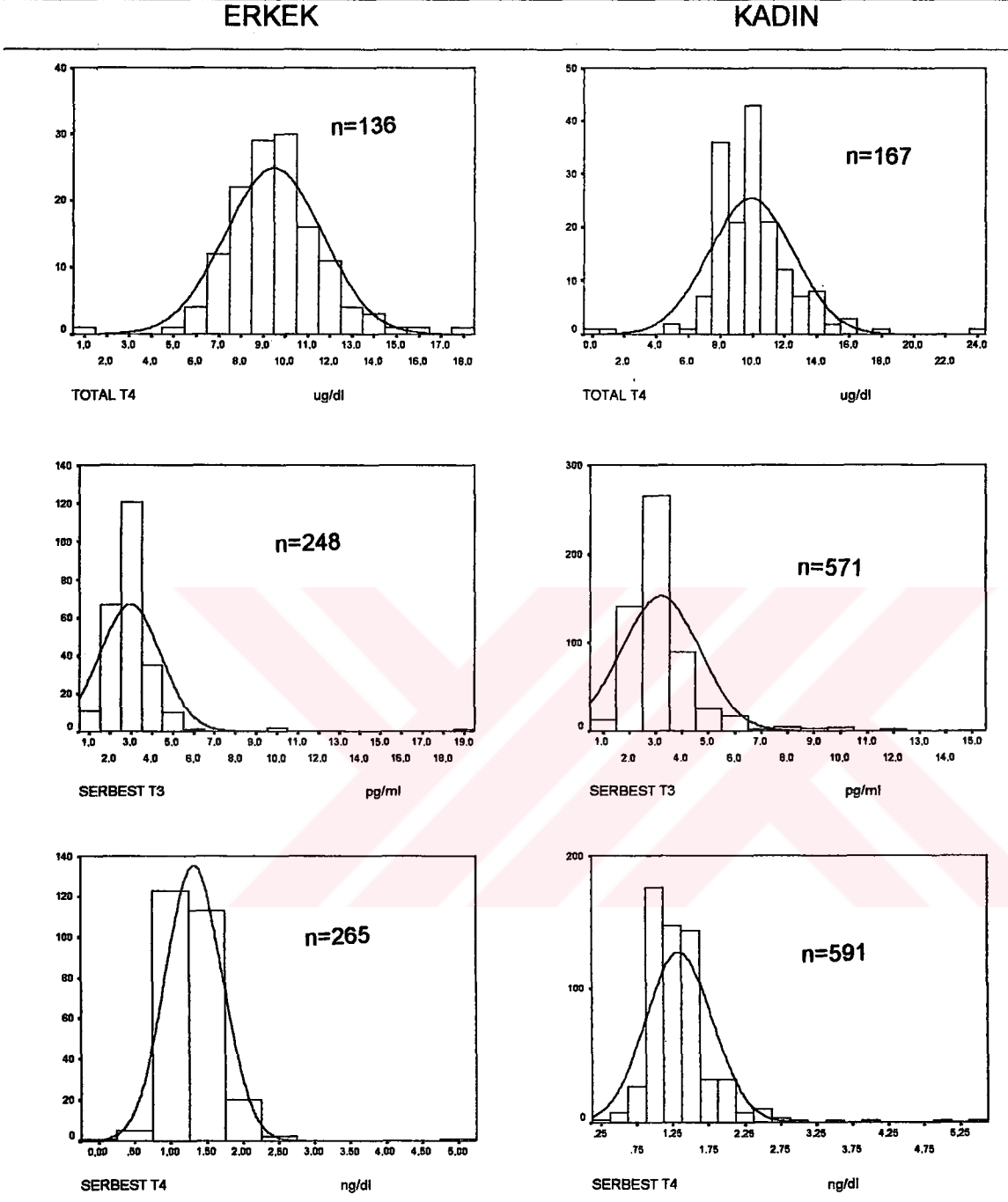
HDL-KOLESTEROL mg/dl

Şekil 4. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerden elde edilen verilerin histogramları.



**ERKEK****KADIN**

Şekil 4. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerden elde edilen verilerin histogramları.



Şekil 4. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerden elde edilen verilerin histogramları.

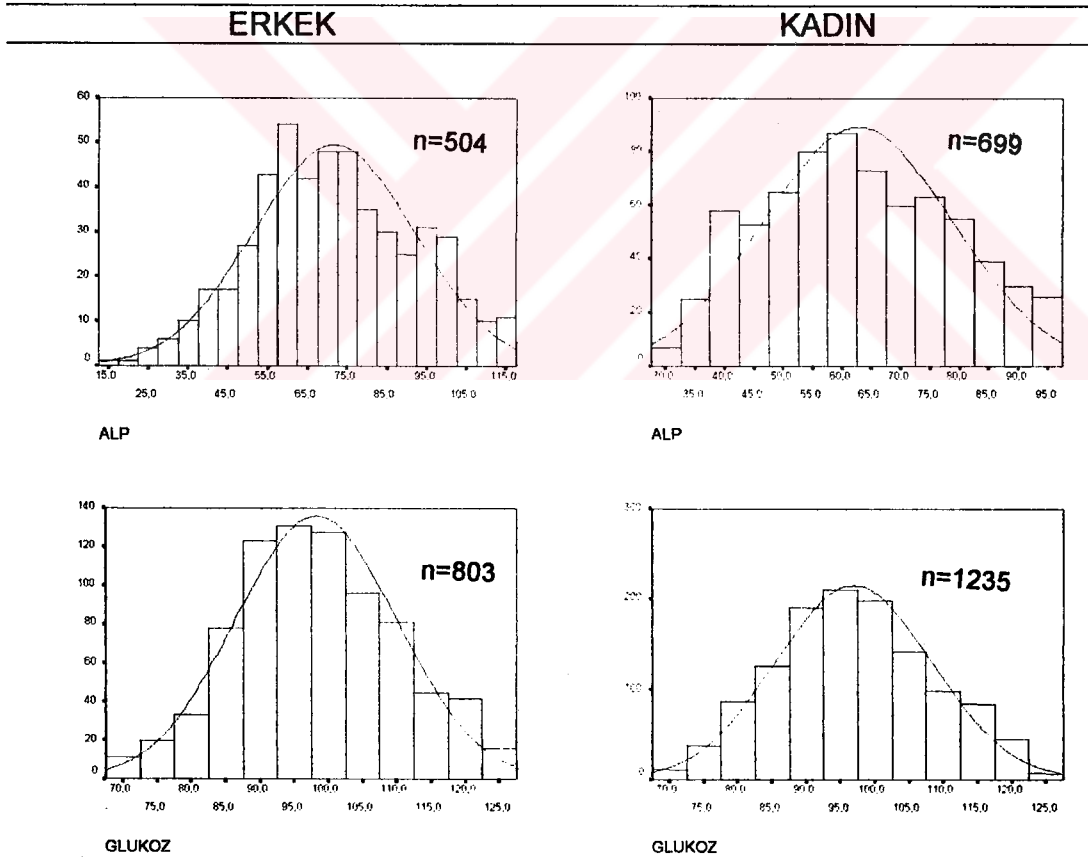
### Aşırı Uç Değerlerin İncelenmesi

Aşırı uç değerlerin incelenmesi sonucunda; ALP (erkek, n=105; kadın, n=208), glukoz (erkek, n=217; kadın, n=323), BUN (erkek, n=102; kadın, n=208), kreatinin (erkek, n=104; kadın, n=119), ürik asit (erkek, n=30; kadın, n=33), total kolesterol (erkek, n=38; kadın, n=84), HDL

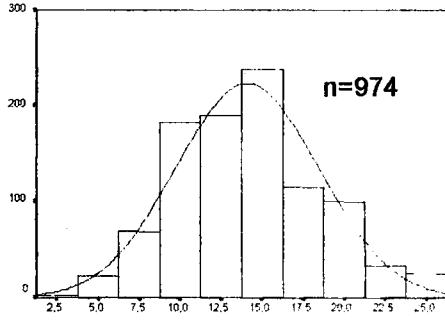
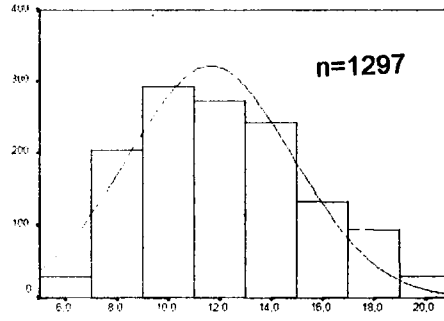
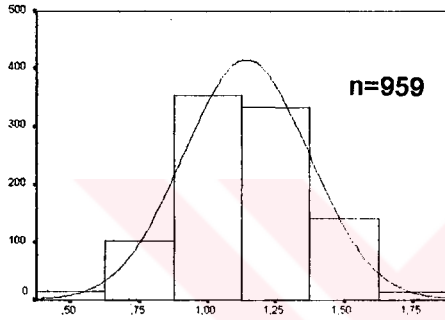
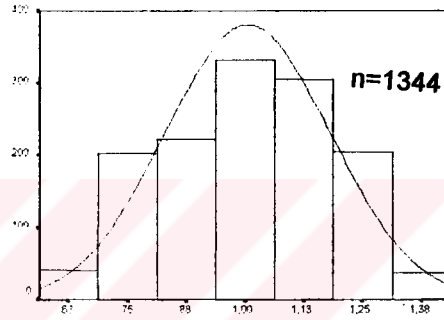
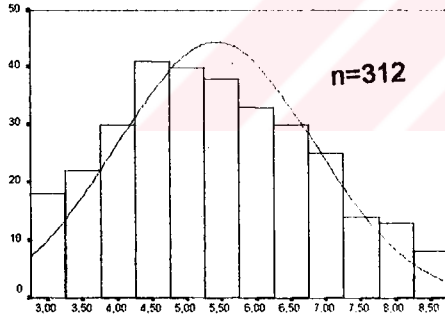
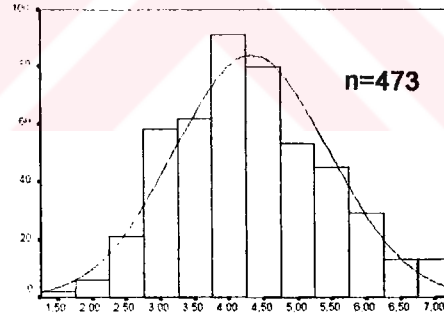
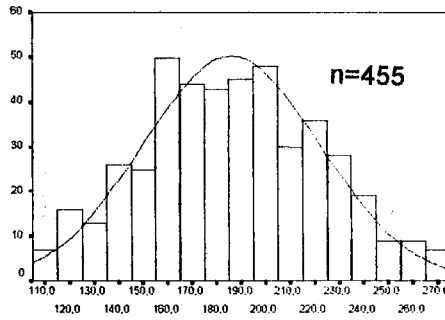
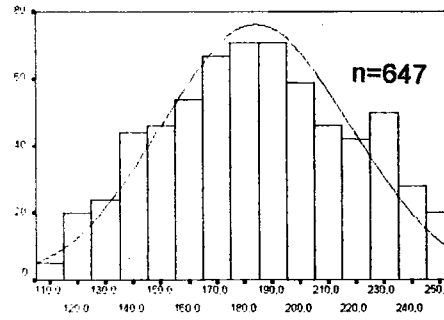
kolesterol (erkek, n=21; kadın, n=21), LDL kolesterol (erkek, n=17; kadın, n=28), trigliserid (erkek, n=107; kadın, n=253), TSH (erkek, n=26; kadın, n=157), total T3 (erkek, n=9; kadın, n=22), total T4 (erkek, n=7; kadın, n=15), serbest T3 (erkek, n=17; kadın, n=67) ve serbest T4 (erkek, n=9; kadın, n=34) için saptanan uç değerler atıldı.

Uç değerler kalmadığı anlaşıldıktan sonra, geri kalan verilerin histogramları Şekil 5'te gösterilmektedir.

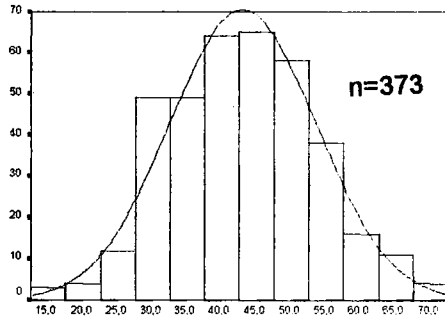
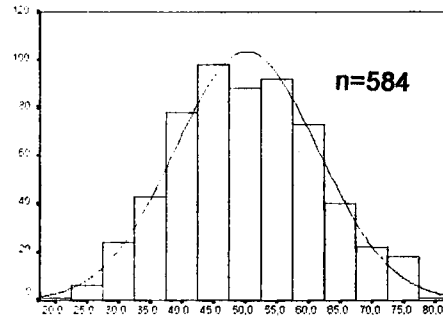
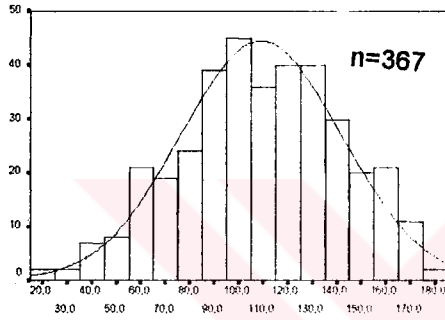
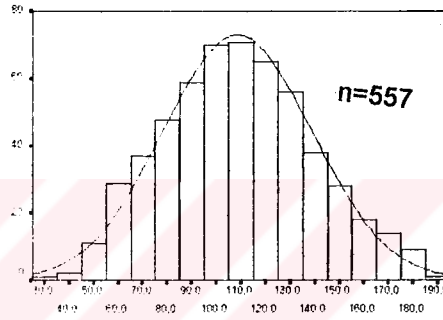
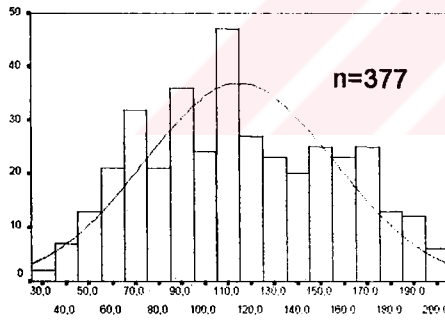
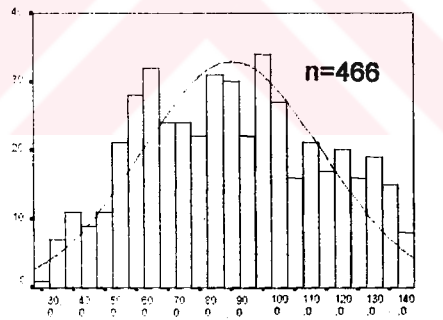
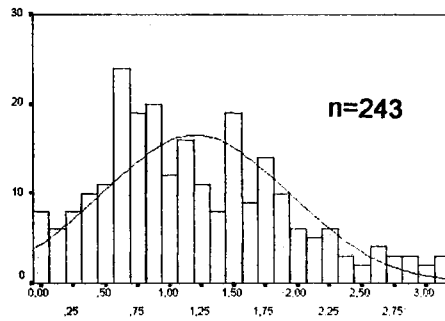
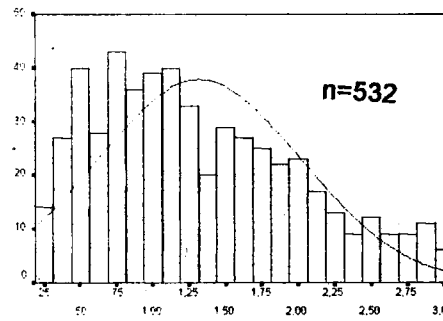
Birden fazla tepeli dağılım gösteren testler; erkeklerde LDL kolesterol ve trigliserid, kadınlarda trigliserid'dir.



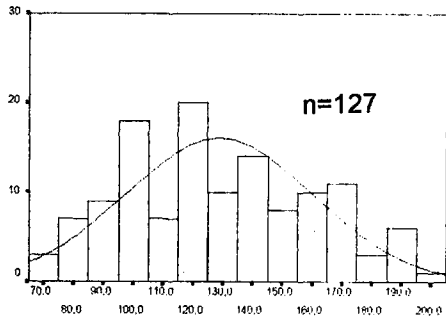
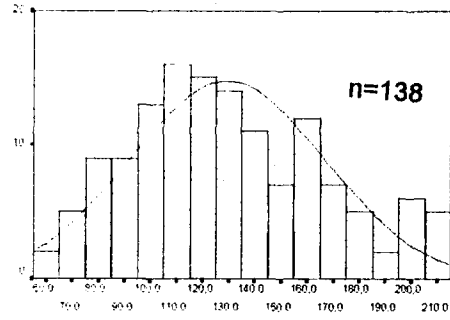
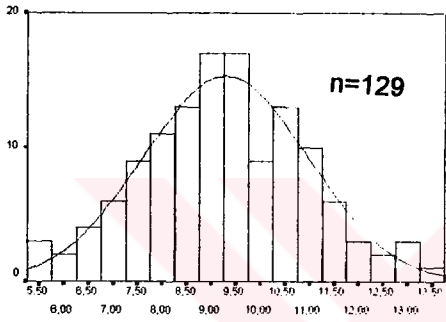
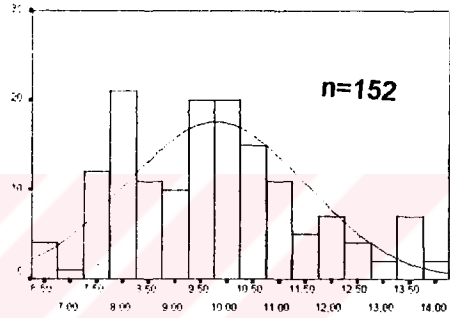
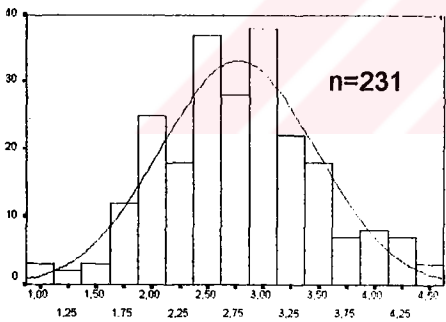
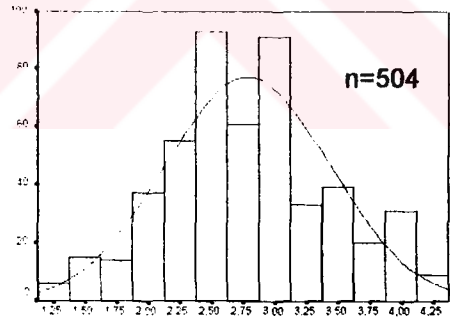
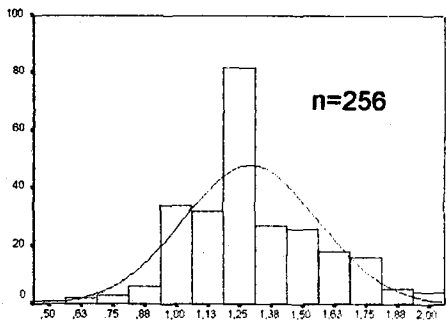
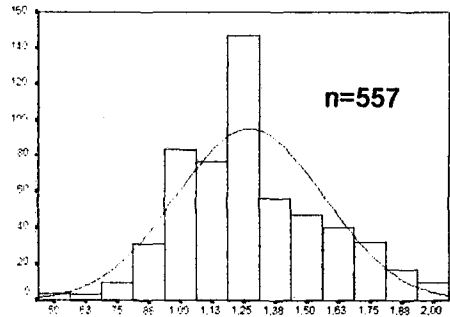
Şekil 5. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerin verilerinden uç değerler atıldıktan sonraki elde edilen verilerin histogramları.

**ERKEK****KADIN****BUN****BUN****KREATININ****KREATININ****URİK ASIT****URİK ASIT****TOTAL KOLESTEROL****TOTAL KOLESTEROL**

**Şekil 5. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerin verilerinden uç değerler atıldıktan sonraki elde edilen verilerin histogramları.**

**ERKEK****KADIN****HDL-KOLESTEROL****HDL-KOLESTEROL****LDL-KOLESTEROL****LDL-KOLESTEROL****TRİGLİSERİD****TRİGLİSERİD****TSH****TSH**

**Şekil 5. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerin verilerinden uç değerler atıldıktan sonraki elde edilen verilerin histogramları.**

**ERKEK****KADIN****TOTAL T3****TOTAL T3****TOTAL T4****TOTAL T4****SERBEST T3****SERBEST T3****SERBEST T4****SERBEST T4**

**Şekil 5. Laboratuvara başvuran erkek ve kadın bireylerin verilerinden uç değerler atıldıktan sonraki elde edilen verilerin histogramları.**

### Referans Aralığı Değerleri Sınırlarının Belirlenmesi

Gereç Yöntem 3.2'de belirtildiği gibi, verilerin incelenmesinin bittiğine ve atılacak veri kalmadığına karar verildiğinde; Kolmogorov-Smirnov testi sonucuna göre (Tablo XXIV), kalan veriler normal (Gaussian) dağılıma uyuyorsa parametrik, normal dağılıma uymuyorsa nonparametrik yöntem kullanılarak referans aralık saptandı. Buna göre, erkeklerde ALP, glukoz, ürik asit, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, TSH, total T3, total T4, serbest T3 referans aralık değerleri parametrik olarak; BUN, kreatinin ve serbest T4 referans aralık değerleri nonparametrik olarak saptandı. Kadınlarda ise, ALP, glukoz, ürik asit, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, total T3, total T4 referans aralık değerleri parametrik olarak; BUN, kreatinin, trigliserid, TSH, serbest T3 ve serbest T4 referans aralık değerleri nonparametrik olarak belirlendi.

Tablo XXIV: Laboratuvara başvuran bireylerin verilerinin tüm uç değerler atıldıktan sonra, Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmesi.

	p (erkek)	p (kadın)
Alkale fosfataz (ALP)	0.287	0.108
Glukoz	0.088	0.060
BUN	0.000 <sup>a</sup>	0.000 <sup>a</sup>
Kreatinin	0.000 <sup>a</sup>	0.000 <sup>a</sup>
Ürik asit	0.346	0.113
Total Kolesterol	0.594	0.099
HDL-kolesterol	0.605	0.061
LDL-kolesterol	0.736	0.652
Trigliserid	0.209	0.039 <sup>a</sup>
TSH	0.086	0.002 <sup>a</sup>
Total T3	0.467	0.549
Total T4	0.924	0.423
Serbest T3	0.516	0.023 <sup>a</sup>
Serbest T4	0.000 <sup>a</sup>	0.000 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> : Dağılım, Gaussian dağılımına uymamaktadır (p<0.05).

Laboratuvara başvuran bireylerin verilerinde elde edilen referans aralık değerleri Tablo XX-A ve Tablo XX-B'nin HASTA-REFARAL kolonunda belirtilmektedir.

Laboratuvara başvuran bireylerin verilerden yararlanılarak cinsiyetin analitler üzerine etkileri Tablo XXV'te gösterilmektedir.

Veriler incelendiğinde (Tablo XXV), erkekler ve kadınlar arasında ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, HDL kolesterol, trigliserid değerleri için anlamlı fark saptanırken ( $p<0.05$ ); total kolesterol, LDL kolesterol, total T3, total T4, TSH, serbest T3, serbest T4 değerleri için fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Laboratuvara başvuran bireylerin verileri kullanılarak elde edilen, yaş ile analitler arasındaki korelasyon Tablo XXVI'da belirtilmektedir.



Tablo XXV: Cinsiyetin analitler üzerine etkileri (laboratuvara başvuran bireylerden elde edilen verilerden).

Değişken	Grup	p*													
		Glukoz	BUN	Kreatinin	Total kolesterol	Trigliserit	HDL kolesterol	LDL kolesterol	Ürik asit	ALP	TT4	TT3	TSH	ST4	ST3
Cinsiyet	K+E	0.002	0.000	0.000	0.415	0.000	0.000	0.372	0.000	0.000	0.125	0.354	0.248	0.652	0.059

\*: Karşılaştırma "Mann-Whitney U testi" kullanılarak yapıldı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo XXVI: Yaş ile analitler arasındaki korelasyon (laboratuvara başvuran bireylerden elde edilen verilerden).

Yaş	Grup	Glukoz	BUN	Kreatinin	Total kolesterol	Trigliserit	HDL kolesterol	LDL kolesterol	Ürik asit	ALP	TT4	TT3	TSH	ST4	ST3
K+E		0.157	0.331	0.243	0.032	0.000	0.346	0.088	0.642	0.105	0.606	0.110	0.122	0.041	0.214
		0.028	0.058	0.023	0.061	0.111	-0.030	0.055	-0.016	0.042	0.030	-0.093	-0.050	0.070	0.043

\* : Korelasyon, "pearson korelasyon testine" göre saptandı ( $p < 0.05$  korelasyon olduğunu göstermektedir).

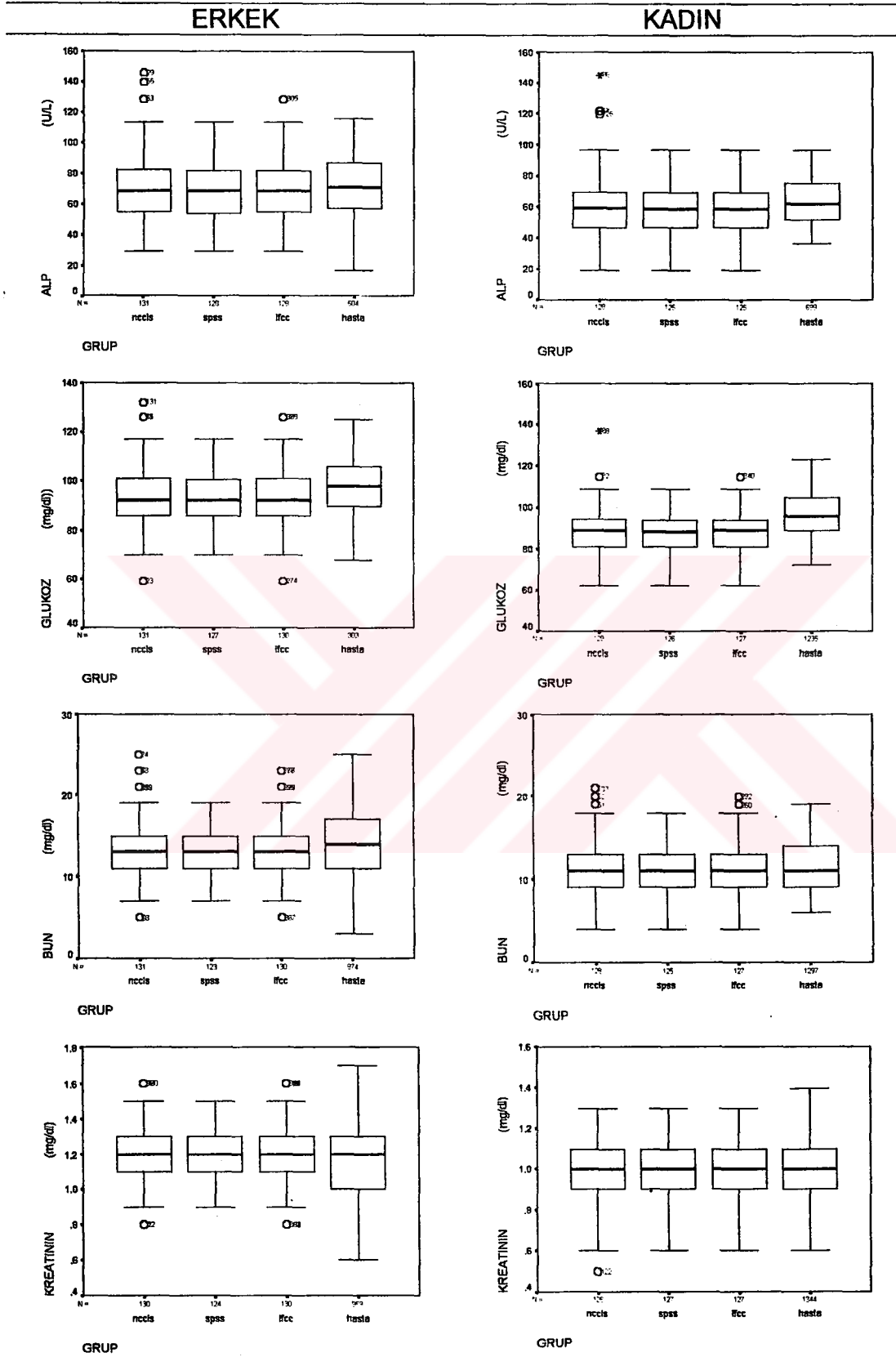
\*\* : " r " korelasyon katsayısını göstermektedir.

Referans aralık hesapladığımız veri grupları (her yöntem için, o yönteme göre belirlenen uç değerler atıldıktan sonra kalan verilerden oluşan) Şekil 6'da görülmektedir.

Referans aralık hesapladığımız veri gruplarının karşılaştırılması sonucunda seçilmiş birey verilerinin ortalamalarıyla (NCCLS, SPSS, IFCC), laboratuvara başvuran birey verilerinin (hasta) ortalamaları arasındaki farklılık aşağıda gösterilmektedir ( $p < 0.05$  ise, farklılık vardır):

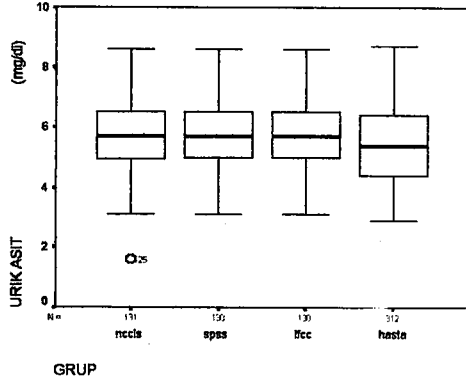
ERKEK:	ALP	hasta	NCCLS	p= 0.980
			SPSS	p= 0.639
			IFCC	p= 0.777
	GLUKOZ	hasta	NCCLS	p=0.000
			SPSS	p=0.000
			IFCC	p=0.000
	BUN	hasta	NCCLS	p=0.344
			SPSS	p=0.034
			IFCC	p=0.232
	KREATİNİN	hasta	NCCLS	p=0.003
			SPSS	p=0.009
			IFCC	p=0.003
	ÜRİK ASİT	hasta	NCCLS	p=0.442
			SPSS	p=0.315
			IFCC	p=0.315
	TOTAL KOLESTEROL	hasta	NCCLS	p=0.000
			SPSS	p=0.000
			IFCC	p=0.000
	HDL KOLESTEROL	hasta	NCCLS	p=0.322
			SPSS	p=0.627
			IFCC	p=0.480
	LDL KOLESTEROL	hasta	NCCLS	p=0.355
			SPSS	p=0.175
			IFCC	p=0.355
	TRİGLİSERİD	hasta	NCCLS	p=1.000
			SPSS	p=0.995
			IFCC	p=1.000
	TSH	hasta	NCCLS	p=0.024
			SPSS	p=0.754
			IFCC	p=0.114
	TOTAL T3	hasta	NCCLS	p=0.434
			SPSS	p=0.172
			IFCC	p=0.172
	TOTAL T4	hasta	NCCLS	p=0.013
			SPSS	p=0.007
			IFCC	p=0.007

KADIN:	SERBEST T3	hasta	NCCLS	p=0.524
			SPSS	p=0.649
			IFCC	p=0.524
	SERBEST T4	hasta	NCCLS	p=0.036
			SPSS	p=0.004
			IFCC	p=0.036
	ALP	hasta	NCCLS	p=0.298
			SPSS	p=0.028
			IFCC	p=0.028
	GLUKOZ	hasta	NCCLS	p=0.000
			SPSS	p=0.000
			IFCC	p=0.000
	BUN	hasta	NCCLS	p=0.461
			SPSS	p=0.134
			IFCC	p=0.313
	KREATİNİN	hasta	NCCLS	p=0.962
			SPSS	p=0.880
			IFCC	p=0.880
	ÜRİK ASİT	hasta	NCCLS	p=0.004
			SPSS	p=0.002
		IFCC	p=0.002	
TOTAL KOLESTEROL	hasta	NCCLS	p=0.000	
		SPSS	p=0.000	
		IFCC	p=0.000	
HDL KOLESTEROL	hasta	NCCLS	p=0.000	
		SPSS	p=0.000	
		IFCC	p=0.000	
LDL KOLESTEROL	hasta	NCCLS	p=0.000	
		SPSS	p=0.000	
		IFCC	p=0.000	
TRİGLİSERİD	hasta	NCCLS	p=0.000	
		SPSS	p=0.000	
		IFCC	p=0.000	
TSH	hasta	NCCLS	p=0.012	
		SPSS	p=0.197	
		IFCC	p=0.101	
TOTAL T3	hasta	NCCLS	p=0.022	
		SPSS	p=0.001	
		IFCC	p=0.009	
TOTAL T4	hasta	NCCLS	p=0.007	
		SPSS	p=0.001	
		IFCC	p=0.003	
SERBEST T3	hasta	NCCLS	p=0.000	
		SPSS	p=0.000	
		IFCC	p=0.000	
SERBEST T4	hasta	NCCLS	p=0.018	
		SPSS	p=0.000	
		IFCC	p=0.018	

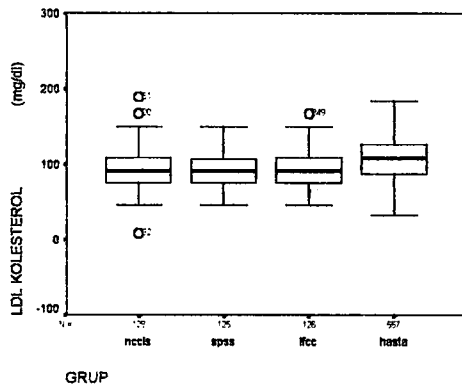
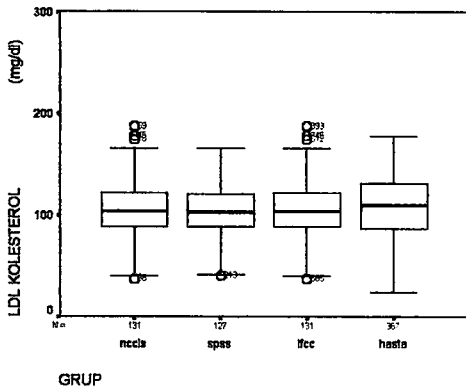
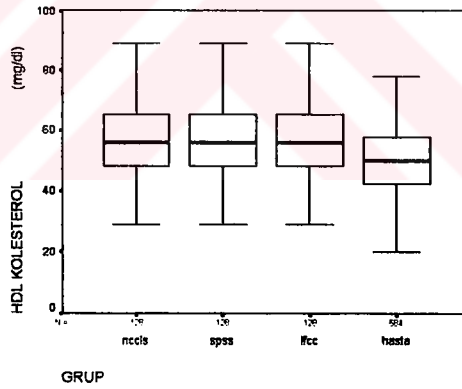
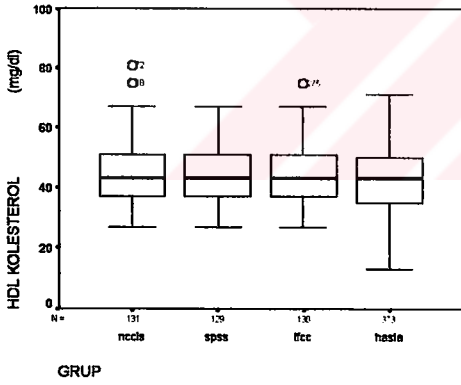
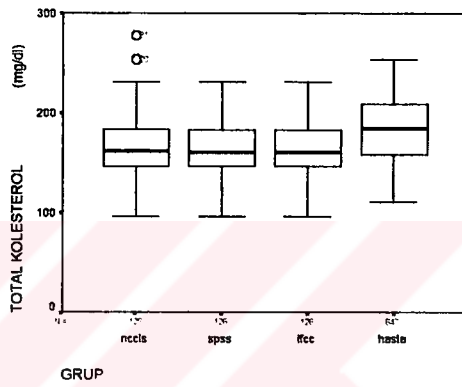
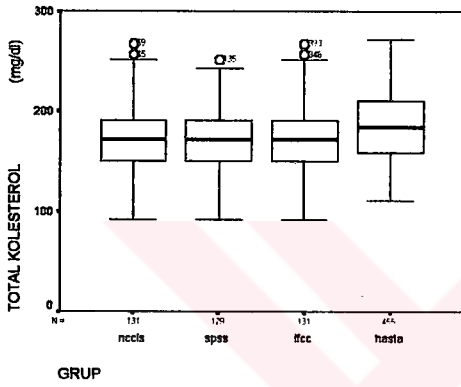
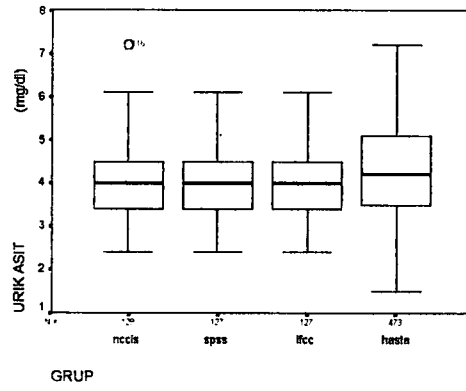


Şekil 6: Referans aralık hesapladığımız veri grupları (her yöntem için, o yöntemle göre belirlenen uç değerler atıldıktan sonra kalan verilerden oluşan).

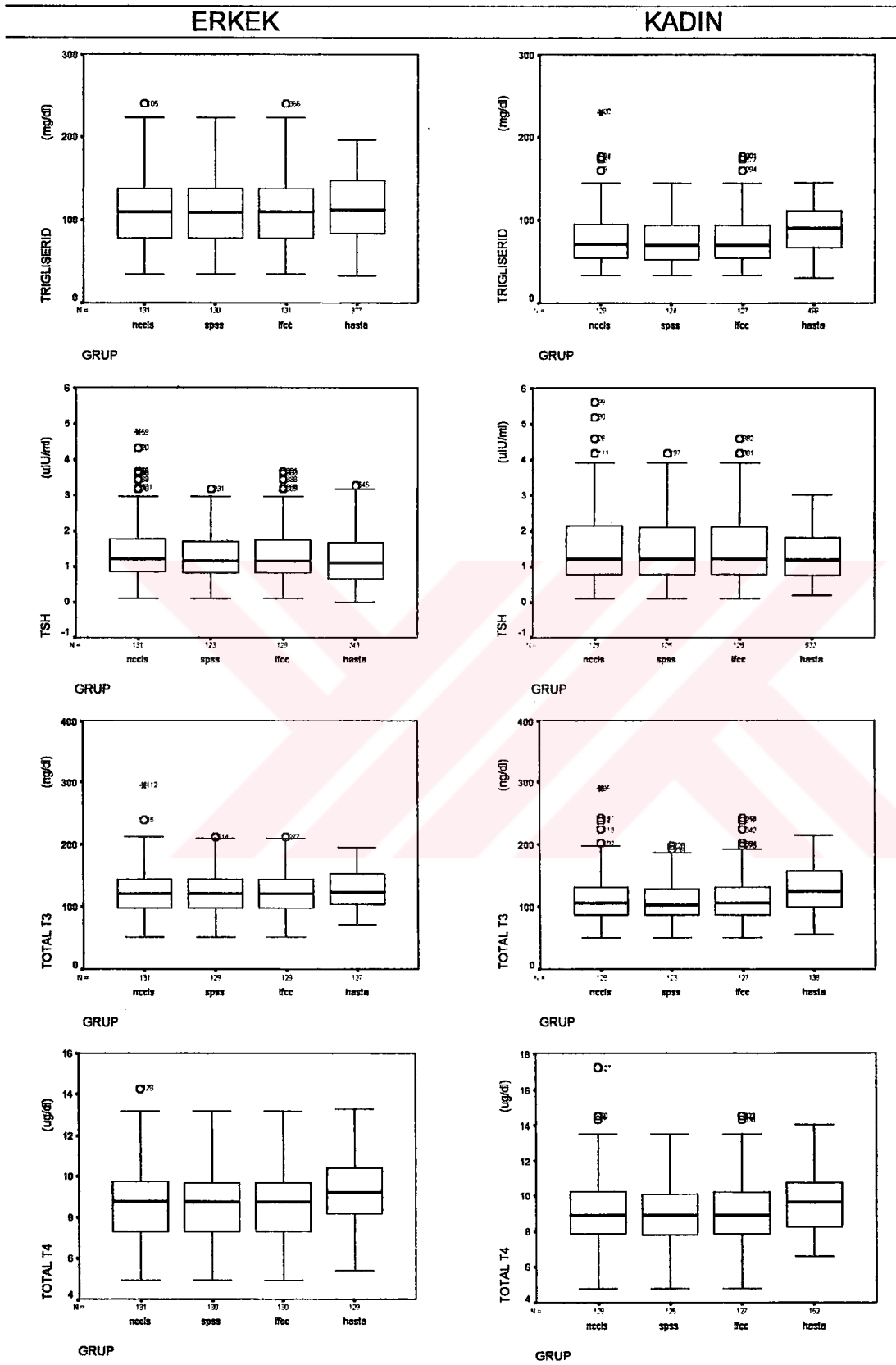
## ERKEK



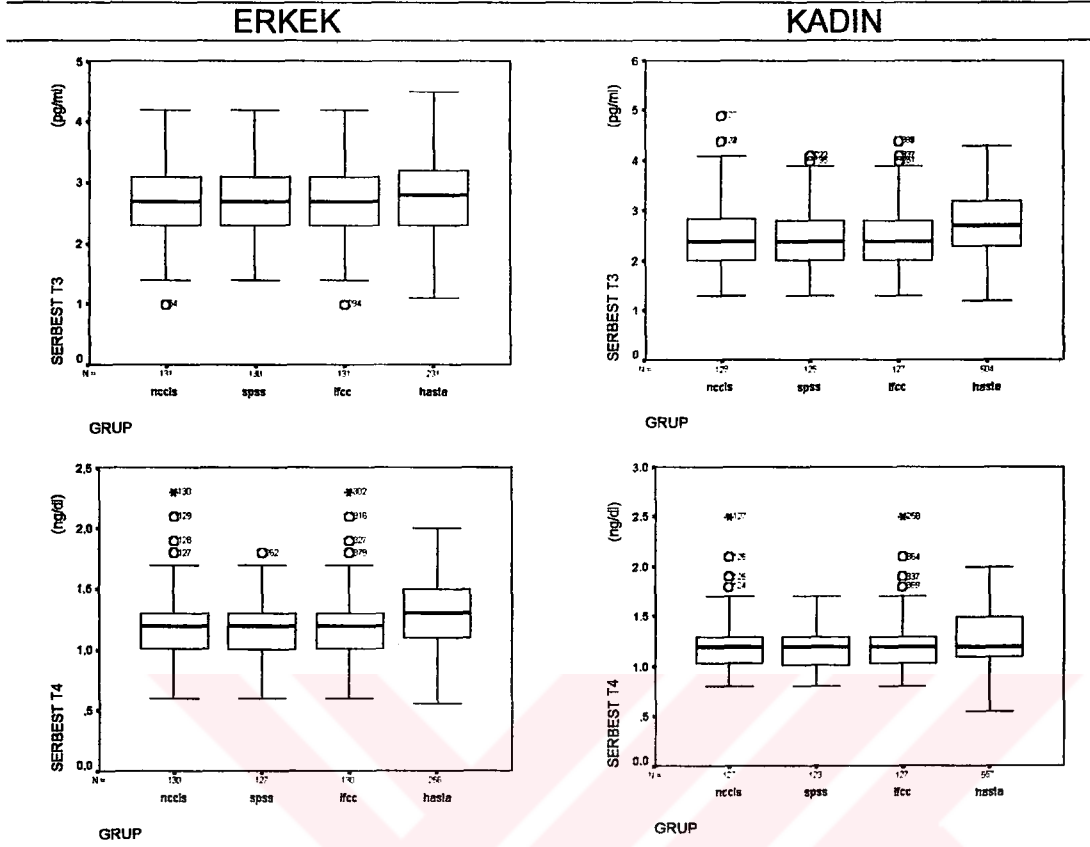
## KADIN



Şekil 6: Referans aralık hesapladığımız veri grupları (her yöntem için, o yönetime göre belirlenen uç değerler atıldıktan sonra kalan verilerden oluşan).



Şekil 6: Referans aralık hesapladığımız veri grupları (her yöntem için, o yönetime göre belirlenen uç değerler atıldıktan sonra kalan verilerden oluşan).



Şekil 6: Referans aralık hesapladığımız veri grupları (her yöntem için, o yöntemle göre belirlenen uç değerler atıldıktan sonra kalan verilerden oluşan).

## TARTIŞMA

Teknolojik gelişmeler çok duyarlı analiz yöntemlerini sağlamaktadır. Bunun sonucunda da laboratuvar testlerinin sayısı hızla artmaktadır. Artan bu testlerin referans aralıklarının popülasyona özgün olarak hesaplanması klinik kullanım için gereklidir.

Hesaplama en önemli kısıt, verilerin toplanmasındadır. Ayrıca çok fazla değişkenin olması da önemli etkenlerdendir. Sağlıklı olduğu kanıtlanan birey verilerine göre (23, 44-52) veya hastane laboratuvarına başvuran birey verilerine göre hesaplama yöntemleri önerilmektedir (6-11).

Önerilen hesaplama yöntemlerine göre (seçilmiş sağlıklı bireyler için 3 farklı yöntem -NCCLS, SPSS, IFCC- ; laboratuvara başvuran bireyler için kendimizin geliştirdiği yöntem) bulduğumuz sonuçlar karşılaştırıldığı zaman aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

Önerilen hesaplama yöntemlerinin herbiri için kullanılan veri gruplarının (yöntemlere göre belirlenen uç değerler atıldıktan sonra kalan) ortalamalarının "ANOVA testi" ile karşılaştırılması sonucunda (laboratuvara başvuran birey verileri -hasta- ile, seçilmiş sağlıklı bireylerin 3 farklı yöntemle göre kullanılan verilerinin -NCCLS, SPSS, IFCC-); erkeklerde ALP, ürik asit, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, total T3, serbest T3 (hasta ile NCCLS, SPSS ve IFCC arasında), BUN (hasta ile NCCLS arasında), TSH (hasta ile SPSS ve IFCC arasında); kadınlarda ALP (hasta ile NCCLS arasında), BUN, kreatinin (hasta ile NCCLS, SPSS ve IFCC arasında), TSH (hasta ile SPSS ve IFCC arasında) veri grupları arasında farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). Bunların dışındaki veri grupları arasında farklılık saptandı ( $p<0.05$ ) (Şekil 6).

Tablo XIX'da görüldüğü gibi, anket formu düzenleyerek elde ettiğimiz seçilmiş referans bireylerinin verilerine göre ALP, glukoz, BUN, kreatinin,



ürük asit, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, TT3 ve ST3 için, kadınlar ile erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) farklılıklar saptandı. Erkeklerde ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, LDL kolesterol, trigliserid, TT3 ve ST3 düzeyleri yüksek bulunurken; kadınlarda HDL kolesterol değerleri yüksek olarak saptandı.

Tablo XXV'te belirtildiği gibi, laboratuvara başvuran bireylerden elde edilen verilere göre ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, HDL kolesterol ve trigliserid değerleri için, kadınlar ile erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ) farklılıklar saptandı. Erkeklerde ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit ve trigliserid düzeyleri yüksek olarak saptanırken; kadınlarda HDL kolesterol düzeyleri yüksek olarak saptandı.

Çalışmamızdaki seçilmiş referans bireylerinden oluşan gruptan elde ettiğimiz verilerin incelenmesi sonucunda; erkeklerde yaş ile total kolesterol ve LDL kolesterol arasında pozitif korelasyon saptanırken, kadınlarda yaş ile total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid arasında pozitif korelasyon saptandı (Tablo XXIII).

Erkeklerde BMI ile ürik asit, total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid arasında pozitif korelasyon saptanırken, kadınlarda BMI ile ürik asit, total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid arasında pozitif ve BMI ile HDL kolesterol arasında negatif korelasyon saptandı (Tablo XXIII).

Laboratuvara başvuran bireylerden elde edilen verilere göre ise, yaş ile total kolesterol, trigliserid ve ST4 arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (Tablo XXVI).

Literatürde yapılmış olan (18-40 yaş veya bu yaşlara yakın) referans aralık çalışmalarında kullanılan cihazlar, analiz yöntemleri ve referans aralık hesaplama yöntemleri Tablo XXVII'de özetlenmektedir.

Tablo XXVII: Referans aralık çalışmalarında kullanılan cihazlar, analiz ve referans aralık saptama yöntemleri.

Çalışma (*)	Analit	Analiz Yöntemi	Cihaz	Referans Aralık Hesaplama Yöntemi
Aydemir (23)	TSH, TT3, TT4, ST3, ST4	Kemilüminesans	Immulate 2000	Parametrik
Eriandson (44)	Kreatinin	Enzimatik Yöntem	Vitros	Nonparametrik
Sugita (45)	Kreatinin	Jaffe yöntemi	Hitachi 736	Parametrik
Andrew (46)	TSH, TT3, TT4, ST3, ST4	Kemilüminesans	ACS 180	Parametrik
Paşaoğlu (47)	HDL kolesterol	Sodyum fosfotungstat-Mg çöktürme yöntemi	Encore	Student T testi
Jarvisalo (48)	ALP		Olli 3000	Parametrik
Nevalainen (49)	ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, total kolesterol, trigliserid			
Back (50)	ALP Glukoz Kreatinin Ürik asit Total kolesterol HDL kolesterol Trigliserid TSH ST3 ST4	Spektrofotometrik Spektrofotometrik Jaffe Spektrofotometrik Spektrofotometrik Spektrofotometrik (çöktürmeli) Spektrofotometrik Flouresans immunoassay Flouresans immunoassay Flouresans immunoassay	Hitachi 717 Hitachi 717 Hitachi 717 Hitachi 717 Hitachi 717 Dax 48 Hitachi 717 Auto Delfia Gamma counter Auto Delfia	Parametrik " " " " " " " " "
Jaganirec (51)	ALP Glukoz Kreatinin Total kolesterol HDL kolesterol LDL kolesterol Trigliserid	Optimize standart metod Glukoz oksidaz Jaffe Enzimatik metod Fosfotungstik asit, MgCl Hesaplama (Fried wald) Enzimatik kolorometrik	Hitachi " " " " " "	Nonparametrik " " " " " "
Taimela (52)	TSH, ST3, ST4	Flouresans immunoassay	Auto Delfia	Nonparametrik

\* : Literatürün, kaynaklarda belirtilen sıra no'su.

Tablo XXVIII, XXIX ve XXX'da belirtilmiş olan referans aralık değerlerinin farklı olması kullanılan cihazın, analiz yönteminin ve referans aralık hesaplama yönteminin farklılığından kaynaklanabilir.

Ayrıca firmanın verdiği referans aralık değerlerinde yaş grubu belirtilmemekte olup, sadece erişkin yaş grubu olarak belirtilmektedir.

**Tablo XXVIII: Genel kontrol paneli testlerinden olan ALP, glukoz, BUN, kreatinin ve ürik asit için farklı çalışmalarda bulunmuş olan referans aralık değerleri (18-40 yaşlar için).**

Çalışma (*)	ALP (U/L)		Glukoz (mg/dl)		BUN (mg/dl)		Kreatinin (mg/dl)		Ürik asit (mg/dl)	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
Erlandsen (44)							0.8-1.2	0.6-1.1		
Sugita (45)							0.8-1.2	0.7-0.9		
Jarvisalo (48)	97-254	75-231								
Back (50)			70-103				0.9-1.3	0.7-1.1	3.7-7.6	2.4-7.1
Nevalainen (49)	30-175		59-115		5-25		0.5-1.4		1.7-8.5	
Jaganirec (51)	82-199	62-147	68-112	79-114			0.9-1.3	0.7-1.2		
Tietz (3)	53-128	42-98	74-106		6-20		0.7-1.3	0.6-1.1	3.3-7.2	2.6-6.0
Firma**	53-128	42-141	70-105		7-18		0.7-1.3	0.6-1.1	3.5-7.2	2.6-6.0
NCCLS***	36-129	31-120	72-126	70-109	8-23	6-19	0.9-1.6	0.7-1.3	3.1-8.2	2.5-6.0
SPSS***	36-106	31-94	72-116	70-108	8-19	6-17	1.0-1.5	0.7-1.3	3.2-8.2	2.5-5.9
IFCC***	36-111	32-94	72-117	70-108	8-21	6-18			3.2-8.2	2.5-5.9
HASTA****	33-110	35-94	75-122	75-120	6-24	7-18	0.7-1.6	0.6-1.4	3.0-8.3	2.3-6.9

\* : Literatürün, kaynaklarda belirtilen sıra no'su.

\*\* : Üretici firmanın kit prospektüsünde verdiği referans aralıkları.

\*\*\* : Seçilmiş referans birey verilerinden, farklı yöntemler kullanarak saptadığımız referans aralık değerleri.

\*\*\*\*: Laboratuvara başvuran birey verilerinden saptadığımız referans aralık değerleri.

Bizim yaptığımız çalışmada ALP düzeyleri, erkeklerde kadınlara göre yüksek saptandı. Bu sonuç, yapılan diğer çalışmalarla uyumlu bulundu (3, 48, 51). Bu durum, erkeklerdeki ALP düzeyinin yüksekliğinin, iskelet dokusunun kadınlara oranla daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır.

Tablo XXVIII'de belirtildiği gibi, glukoz için seçilmiş bireylerden bizim saptadığımız referans aralık değerlerinde erkeklerde yükseklik görülmektedir. Jorgensen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, açlık plazma glukozu referans aralığının, erkeklerde kadınlara oranla daha yüksek bulunduğu belirtilmektedir (43). Bu sonuç, bizim elde ettiğimiz sonuçla benzerdir. Diğer çalışmalarda böyle bir sonuç yoktur (49, 50, 51).

BUN için saptadığımız referans aralık değerlerinde de erkeklerde yükseklik görülmektedir. Diğer çalışmalarda erkekler ile kadınlar arasında farklılık saptanmamıştır (3, 49).

Kreatininin referans aralığında ise yapılan tüm çalışmalarda erkeklerde yükseklik saptanmaktadır. Bu sonuç, erkeklerde kas kütlesinin kadınlara oranla daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır (3, 44, 45, 50, 51).

Ürik asit referans aralık değerlerinde de, tüm çalışmalarda erkeklerde yükseklik belirlenmiştir (3, 50).

Tablo XXIX: Lipid paneli testlerinden olan total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid için farklı çalışmalarda bulunmuş olan referans aralık değerleri (18-40 yaşlar için).

	Total kolesterol (mg/dl)		HDL-kolesterol (mg/dl)		LDL-kolesterol (mg/dl)		Trigliserid (mg/dl)	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
Back (50)	124-286	127-301	27-72	30-92			53-301	44-318
Nevalainen (49)	116-274						27-186	
Jaganirec (51)	131-263	131-231	31-69	35-73	77-181	73-166	53-274	35-150
Tietz(3)	124-270	119-242	30-63	33-83	66-189	57-172	44-321	37-176
Firma **	140-220		30-70	30-85			40-160	35-135
NCCLS***	94-252	120-231	28-67	35-83	41-176	48-149	40-216	36-173
SPSS***	94-243	120-225	28-66	35-83	52-162	49-142	40-210	36-136
IFCC***	99-249	120-224	28-67	35-83	44-173	50-145	40-214	36-157
HASTA****	117-258	122-246	24-65	29-74	40-168	53-172	44-192	40-141

\* : Literatürün, kaynaklarda belirtilen sıra no'su.

\*\* : Üretici firmanın kit prospektüsünde verdiği referans aralıklar.

\*\*\* : Seçilmiş referans birey verilerinden, nonparametrik yöntem kullanarak saptadığımız referans aralık değerleri.

\*\*\*\*: Laboratuvara başvuran birey verilerinden saptadığımız referans aralık değerleri.

Tablo XXIX'da görüldüğü gibi, total kolesterol için saptanan referans aralık değerleri incelendiğinde, yapılan çalışmalarda genelde erkeklerde yükseklik saptanmaktadır (3, 51).

HDL-kolesterol için yapılan referans aralık çalışmaları, kadınlardaki yüksekliği göstermektedir (3, 50, 51).

LDL kolesterol ve trigliserid referans aralıklarını saptamak için yapılan çalışmalarda, total kolesterole benzer biçimde, erkeklerde yükseklik gözlenmektedir (3, 51).

Lipid profilini oluşturan bu testlerin referans aralıklarındaki farklılık, kadınlardaki hormonal dengenin (özellikle östrojen) bir sonucu olarak düşünülebilir. Bu bize, kardiyovasküler hastalıkların, erkekler için, menapoz öncesi yaşlardaki kadınlara göre daha yüksek bir oranda görülmesini açıklamaya yardımcı olmaktadır.

Tablo XXX: Tiroid paneli testlerinden olan TSH, total T3, total T4, serbest T3 ve serbest T4 için farklı çalışmalarda bulunmuş olan referans aralık değerleri (18-40 yaşlar için).

	TSH (uIU/ml)		Total T3 (ng/dl)		Total T4 (ug/dl)		Serbest T3 (pg/ml)		Serbest T4 (ng/dl)	
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın
Andrew (46)	0.64-3.77	0.49-4.26	91-149	67-182	5.0-9.3	5.2-11.4	2.3-3.5	2.1-3.1	0.8-1.4	0.8-1.3
Back (50)	0.3-4.7						2.4-3.7		0.8-1.4	
Aydemir (23)	0.43-5.41	0.51-8.88	80-184	72-183	5.2-10.8	5.3-11.4	1.6-4.3	1.3-4.4	1.0-2.2	0.8-2.0
Taimela (52)	0.6-4.3						2.8-4.9		0.74-1.33	
Tietz(3)	0.4-4.2		70-204		4.6-10.5	5.5-11.0	2.6-4.8		0.8-2.7	
Firma**	0.4-4.0		82-179		4.5-12.5		1.5-4.1		0.8-1.9	
NCCLS***	0.35-3.66	0.20-4.58	69-212	52-239	5.1-12.3	5.2-14.3	1.5-4.0	1.3-4.4	0.7-1.9	0.9-1.9
SPSS***	0.35-2.91	0.20-3.83	69-191	52-187	5.1-12.1	5.2-13.2	1.7-4.0	1.3-3.9	0.7-1.6	0.9-1.6
IFCC***	0.36-3.65	0.27-4.50	69-191	53-236	5.2-12.0	5.3-13.4	1.6-4.0	1.3-4.1		
HASTA****	0.32-2.93	0.30-2.87	76-190	66-208	5.8-13.0	6.7-13.6	1.4-4.2	1.5-4.1	0.8-1.9	0.8-1.9

\* : Literatürün, kaynaklarda belirtilen sıra no'su.

\*\* : Üretici firmanın kit prospektüsünde verdiği referans aralıklar.

\*\*\* : Seçilmiş referans birey verilerinden, nonparametrik yöntem kullanılarak saptadığımız referans aralık değerleri.

\*\*\*\*: Laboratuvara başvuran birey verilerinden saptadığımız referans aralık değerleri.

Tablo XXX'da görüldüğü gibi, bazı çalışmalarda TSH'nin referans aralıkları kadınlarda erkeklere oranla biraz yüksek saptanmıştır (23, 46). Biz de, seçilmiş bireylerde TSH referans aralığını kadınlarda erkeklere göre yüksek saptadık. TSH için laboratuvara başvuran bireylerden elde ettiğimiz referans aralık değerleri seçilmiş bireylerinkine oranla daha düşük saptandı.

Total T4 referans aralıkları çalışmalarının hemen hemen hepsinde, kadınlarda yükseklik gözlenmektedir (3, 23, 46). Bizim çalışmamızda da böyle bir sonuç bulundu.

Bizim yaptığımız çalışmada, serbest T3 ve serbest T4 referans aralık düzeylerinde, erkek ve kadınlar arasında farklılık gözlenmemiş olup, literatürdeki diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur (23, 46, 50).

Literatürdeki hastaneye başvuran bireylerden elde edilen referans aralık çalışmalarına bakıldığında; Masferrer ve arkadaşları 20-45 yaş arasındaki 5711 kadın için kreatinin (Jaffe yöntemi) referans aralığını 0.7-1.1 mg/dl olarak saptamışlardır. Hesaplama yöntemi olarak Bhattacharya metodunu kullanmışlardır (6). Yine, hesaplama yöntemi olarak Bhattacharya metodunu kullanan Baadenhuijsen ve Smit, 30-40 yaşlar arasında hastaneye başvuran bireylerin verilerinden yararlanarak ALP (erkek, 30-123 U/L; kadın, 30-100 U/L), glukoz (erkek, 60-113 mg/dl; kadın, 60-103 mg/dl), kreatinin (erkek, 0.6-1.2 mg/dl; kadın, 0.5-1.0 mg/dl), ürik asit (erkek, 2.2-9.1 mg/dl; kadın, 1.7-6.4 mg/dl) ve total kolesterol (erkek, 108-305 mg/dl; kadın, 120-251 mg/dl) için referans aralıklarını saptamışlardır (7). Bizim çalışmamızda, total kolesterol için hastaneye başvuran bireylerin verilerinden elde ettiğimiz referans aralıklarda, seçilmiş bireylerden elde edilen referans aralıklara göre, bir miktar yükseklik gözlenmiştir (Tablo XXIX). ALP, glukoz, kreatinin, ürik asit için belirgin bir yükseklik yoktur (Tablo XXVIII). Davey yaptığı çalışmada, verilerin 5 ve 95 yüzdeliğindeki değerlerinden yararlanarak, hastaneye başvuran 20-39 yaş arasındaki 154 bireyin verilerinden, TSH (erkek+kadın, 0.5-5.0 uIU/ml) için referans aralığını saptamıştır (11). Bizim, hastaneye başvuran bireylerden, TSH için saptadığımız referans aralık ise, erkekler (n=269) için 0.32-2.93 uIU/ml, kadınlar (n=689) için 0.30-2.87 uIU/ml'dir.

Hastaneye başvuran bireylerin verilerinden referans aralıklarının saptanmasında, sağlıklı bireylerin verilerine ulaşmak için çok sayıda

verinin atılması gerekmektedir. Bu verilerin atılmasının nasıl yapılacağı ile ilgili, literatürde farklı çalışmalar bulunmaktadır (6, 7). Bu yöntem oldukça karmaşık ve zor olup, özel bilgi ve eğitim gerektirmektedir.

Diğer bir yöntemde, hastaneye başvuran bireylerin taburcu tanılarına göre seçim yapılmasıdır (8, 9, 11). Eğer, hastane veri sistemi iyi çalışıyorsa, daha kolay ve güvenilir olan bu yöntem seçilmelidir.

Bu sonuçlar, topluma özgü referans aralıklarının hesaplanmasında hastaneye başvuran bireylerin laboratuvar sonuçlarının kullanılmasının bazı şartlar yerine getirilirse daha yararlı olacağını göstermektedir. Bunlar;

- Hasta bilgileri ve klinik bulgular bilgisayara eksiksiz yüklenmeli, hastane kayıtları çok dikkatli tutulmalı ve saklanmalıdır.
- Belirli sürelerle bilgisayar sonuçları incelenmelidir.
- En uygun istatistiksel analiz yöntemi seçilmelidir.
- Referans aralık grubundan ayırma kriterleri çok dikkatli seçilmeli ve titizlikle uygulanmalıdır.

Jorgensen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, açlık plazma glukozu düzeylerinin BMI ve yaş ile arttığı saptanmıştır (43). Biz ise, yaş ve BMI ile glukoz arasında, kadın ve erkeklerde böyle bir korelasyon saptamadık.

Collier ve arkadaşları, bizim elde ettiğimiz sonuçlarla benzer olarak, kadın ve erkeklerde yaş ile total kolesterol düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu belirtmişlerdir (53). Bu, ileri yaşlarda aterosklerotik hastalık riskinin artması ile uyumludur.

Aydemir'in Samsun'da yaptığı çalışmada, ST3 ile yaş arasında istatistiksel olarak negatif bir korelasyon bulunmuştur (23). Biz, böyle bir korelasyon saptamadık.

Referans aralıklarının hesaplanmasında, dağılımlar değerlendirilirken gözlenen, dağılımdan ayrılmış aşırı değerler hesaplamalara alındığı zaman sonuçlar olumsuz etkilenmektedir. Dağılımın uçlarındaki bu değerlerin gerçekten aşırı uç olup olmayacağı kararını vermenin de sakıncaları vardır. Referans aralık çalışmalarında toplanan 120 verinin her biri çok değerlidir. Çarpıklık gözlenen bir dağılımda, aşırı uca karar vermek çok zordur. Dağılımın uç sınırlarında bulunması gereken bir değer, analitik hata nedeniyle veya başka bir nedenle orta alana düşmüş olabilir. O zaman uçlardaki değerler aslında dağılım alanında olması gereken değerlerdir. Dikkat edilmesi gerekli bazı durumlar vardır. Dağılımın aynı tarafında birden fazla aşırı veri görsel olarak belirlendiği zaman, kuralın hangi veriye uygulanması gerektiği tartışmaya neden olmuştur. En uçtaki veriye uygulanması, gerçekten aşırı uç olabilecek diğer verileri gizleyebilmektedir. Bu durumda önerilen yol; dağılımdan ayrılmış verilerden, dağılım ucuna en yakın veriden başlanmasıdır. Bu veri aşırı uç olarak saptanırsa, diğer verilerde aşırı uç olarak alınacaktır. Bu veri aşırı uç olarak saptanmazsa, aşama aşama dış tarafa doğru veriler test edilebilir. Bu prosedür "blok" prosedürü olarak adlandırılır. Aşırı uçlar saptandıkça, bu değerler veri grubundan çıkarılarak, tekrar dağılım grafiği çizilir ve sapan veriler açısından değerlendirilir (1,4).

Nonparametrik ve parametrik yöntemle elde ettiğimiz referans aralık değerleri karşılaştırıldığında; Tablo XX'de görüldüğü gibi, nonparametrik olarak hesaplanan değerlerin daha geniş aralıkta olduğu gözlenmektedir. Bu nedenle, biz nonparametrik yöntemde aşırı uç değerlerin belirlenmesini modifiye ettik. Gereç ve Yöntem'de belirtildiği gibi, SPSS ile (SPSS 9.0: Analyze→ Descriptive Statistics→ Explore...→ Statistics (Outliers)) elde edilen "extreme values", uç değerler olarak kabul edildi ve atıldı. Geri kalan verilerden alt ve üst sınırlar ile güven aralığı nonparametrik yöntem kullanılarak belirlendi (Tablo VIII'den bakılarak). Elde edilen sonuçlar, Tablo XX'nin SPSS sütununda belirtilmiştir. SPSS kullanarak belirlenen uç değerler, Dixon D/R kuralına göre belirlenen uç değerlerden farklılıklar



göstermekte olup; parametrik yöntem ile belirlenen uç değerler ile benzerlik göstermektedir. Alt ve üst sınırların değerleri de parametrik yöntem ile belirlenen değerlere daha yakındır. Ayrıca, 90% güven aralığı da, nonparametrik yöntem ile elde edilen güven aralığına göre, daha dar bir aralıkta belirlenmektedir. Bu yönüyle de, parametrik yöntem kullanılarak elde edilen güven aralığı değerlerine benzerlik gösterir (Tablo XX).

Referans bireylerinin analit düzeyleri ile ilgili verileri Gaussian formuna uymadığında, parametrik yöntem kullanılması için transformasyon yapılması gerekmektedir (54). Bu da ek istatistik yöntemlerin kullanılmasını gerektirir. Nonparametrik yöntem göreceli olarak daha basittir. Referans grup verilerinin küçükten büyüğe doğru sıralanması ve komplike olmayan matematiksel işlemlerden oluşmaktadır.

Bu çalışmanın sonucunda, referans aralıklarının saptanmasında NCCLS'nin önerdiği nonparametrik yöntemin daha kolay uygulanabilir olduğunu saptadık. Bu nonparametrik yöntemde, karmaşık hesaplamalara gerek duyulmadan sıra numaralarının esas alındığı işlemler yapılmaktadır.

## SONUÇ

Klinik laboratuvar testlerinin tıbbi karar amacıyla kullanılabilmesi için her testin hastalık var-yok kararının verilmesinde kullanılan referans aralıklarının ve diğer kritik tıbbi karar kestirim düzeylerinin bilinmesi gereklidir. Bu düzeylerin saptanması klinik laboratuvar yöneticisinin görevleri arasındadır.

Referans aralıklar her analit için analiz yöntemine, kullanılan ölçüm cihazına göre farklılık gösterdiği gibi toplumlara, coğrafi bölgelere, mevsimlere göre de farklılık göstermektedir.

Referans aralıklarla ilgili diğer zorluk da, sağlıklı olduğu düşünülen bireylerin saptanması, verilerin toplanması ve verilerin işlenerek hesaplanmasındadır.

Bu çalışmada Denizli ilinde ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid, TSH, total T3, total T4, serbest T3, serbest T4 analitlerinin referans aralıklarının saptanması ve hesaplama yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmış olup, laboratuvara başvuran hasta verilerinin analizine göre hesaplanan referans aralıklarının geçerliliği tartışılmıştır. Çalışmamızda edinilen sonuçlar:

Referans aralıkların hesaplanmasında;

- Literatür ile farklı bulunan analitler için (total kolesterol, trigliserid, LDL kolesterol gibi) her laboratuvarın / bölgenin referans aralıkları hesaplanmalıdır;
- Her laboratuvar için zor olduğu düşünülmekte; belirli bölgeleri temsil eden laboratuvarlar kapasitelerine göre seçilmeli; hesaplanan referans aralık değerleri laboratuvarlar arasında transfer edilebilmelidir.

Aşırı uç değerlerin saptanması ve atılması;

- NCCLS'nin önerdiği D/R kuralının tartışılması gerektiği, fakat veri kaybı ve geçerli sonuç açısından titizlik gerektiği;
- SPSS ile yapıldığı zaman veri kaybının çok olabileceği;
- IFCC'nin önerdiği parametrik yöntem için, bilgisayar ve istatistik bilgisinin gerekli olduğu;
- Laboratuvara başvuran bireylerin verileri için uygulanan yöntemin daha çok denenerek kanıtlanması gerektiği düşünülmektedir.

Hesaplama yöntemleri açısından;

- Anket formuna göre seçilen ve sağlıklı olduğu düşünülen bireylerden elde edilen verilerin dağılımı, laboratuvara başvuran bireylerin verilerine göre daha dar alandadır;
- Laboratuvara başvuran bireylerin verilerinden elde edilen referans aralık değerleri sağlıklı olduğu düşünülen bireylerin referans aralıklarıyla uyumlu saptanmıştır;
- Laboratuvara başvuran birey verileri, laboratuvara başvuran populasyon hakkında yeterli bilginin olması durumunda kullanılabilir.

Saptanan referans aralıklarının incelenmesinde;

- Sağlıklı olduğu düşünülen referans bireylerinin verilerine göre; erkeklerde ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, LDL kolesterol, trigliserid, TT3 ve ST3 düzeyleri kadınlara göre yüksek bulunurken; kadınlarda HDL kolesterol değerleri erkeklere göre yüksek olarak saptandı ( $p<0,05$ );
- Laboratuvara başvuran bireylerden elde edilen verilere göre; erkeklerde ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit ve trigliserid düzeyleri kadınlara göre yüksek saptanırken; kadınlarda HDL kolesterol düzeyleri erkeklere oranla yüksek olarak bulundu ( $p<0,05$ );

- Sađlıklı olduđu dűřűnűlen referans bireylerinin verilerine gűre, her iki cinsiyette de yařa ve BMI'e (vűcut kűtle indeksi) gűre deđiřim gűsteren analitler arasından; yařa gűre total kolesterol, LDL kolesterol hem erkek hem kadında, trigliserid sadece kadında; BMI'e gűre erkek ve kadında űrik asit, total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid arasında pozitif iliřki, kadında HDL kolesterol ile negatif iliřki saptandı.
- Laboratuvara bařvuran bireylerden elde edilen verilere gűre ise, yař ile total kolesterol, trigliserid ve ST4 arasında pozitif korelasyon saptanmıřtır.

Klinik açıdan;

- Çalıřmamızda lipid profili testlerinin (total kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid) referans aralıkları yűksek saptanıldıđından, kardiyovaskűler hastalık riskinin yűkseldiđi ve bunu űnlemek için nelerin yapılabileceđi ile ilgili eđitimin yapılmasının yararlı olacađı dűřűnűlmektedir.

Sonuç olarak, laboratuvar test sonuçlarının istatistiksel deđerlendirilmesinin hem referans aralıkların hesaplanmasında, hem kalite kontrolde, hem de laboratuvarın içinde bulunduđu kurumda veri yűnetimi açısından çok deđerli bilgiler sađlayacađı ve biz kendi laboratuvar kořullarımızda sađlıklı bireylerden elde edilen verilerle NCCLS'nin yűnteminin kullanılmasının daha kolay olacađı gűrűřűnű savunmaktayız.

## ÖZET

Klinik laboratuvar testlerinin tıbbi karar amacıyla kullanılabilmesi için her testin hastalık var-yok kararının verilmesinde kullanılan referans aralıklarının ve diğer kritik tıbbi karar kestirim düzeylerinin bilinmesi gereklidir. Bu düzeylerin saptanması klinik laboratuvar yöneticisinin görevleri arasındadır.

Bu noktadan hareketle planlanan çalışmada, Denizli toplumunda genel kontrol paneli (alkalen fosfataz, glukoz, kan üre nitrojeni (BUN), kreatinin, ürik asit), lipid paneli (total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid), tiroid paneli (TSH, total T3, total T4, serbest T3, serbest T4) testlerinin referans aralıklarının saptanması, elde edilen verilerin parametrik ve nonparametrik olarak ayrı ayrı hesaplanması ve bu farklı yöntemlerin birbirleriyle karşılaştırılarak hangisinin daha kolay uygulanabilir olduğunun saptanması amaçlandı.

Mayıs 2000 ile Ağustos 2000 tarihleri arasında, "Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Uygulama Araştırma Hastanesi" nde toplanan veriler iki ayrı gruptan elde edildi: 1) Sağlıklı olduğu düşünülen bireyler, NCCLS (ABD Ulusal Klinik Kimya Laboratuvarları Standartları) C28A (Referans Aralıkların Saptanması) standardına ve analit özelliklerine göre oluşturuldu (Toplam n=259, yaş:18-40; erkek n=131, yaş: 30.2 ± 6.1; kadın n=128, yaş: 28.7 ± 6.2); 2) Laboratuvara başvuran bireylerden oluşan grup (Toplam n=4110, yaş:18-40; genel kontrol paneli testleri için n=2968; lipid paneli testleri için n=1256; tiroid paneli testleri için n=1113).

Sağlıklı olduğu düşünülen referans bireylerinden saptanan (C28A standardına göre hesaplanan) referans aralık değerleri (erkek n=131, kadın n=128): ALP (36-129 U/L; 31-120 U/L), glukoz (72-126 mg/dl; 70-109 mg/dl), BUN (8-23 mg/dl; 6-19 mg/dl), kreatinin (0.9-1.6 mg/dl; 0.7-1.3 mg/dl), ürik asit (3.1-8.2 mg/dl; 2.5-6.0 mg/dl), total kolesterol (94-252 mg/dl; 120-231 mg/dl), HDL kolesterol (28-67 mg/dl; 35-83 mg/dl),

LDL kolesterol (41-176 mg/dl; 48-149 mg/dl), trigliserid (40-216 mg/dl; 36-173 mg/dl), TSH (0.35-3.66 µIU/ml; 0.20-4.58 µIU/ml), total T3 (69-212 ng/dl; 52-239 ng/dl), total T4 (5.1-12.3 µg/dl; 5.2-14.3 µg/dl), serbest T3 (1.5-4.0 pg/ml; 1.3-4.4 pg/ml), serbest T4 (0.7-1.9 ng/dl; 0.9-1.9 ng/dl).

Laboratuvara başvuran bireylerden saptanan referans aralık değerleri: ALP (erkek n= 609, 33-110 U/L; kadın n= 907, 35-94 U/L), glukoz (erkek n= 1020, 75-122 mg/dl; kadın n= 1558, 75-120 mg/dl), BUN (erkek n= 1076, 6-24 mg/dl; kadın n= 1505, 7-18 mg/dl), kreatinin (erkek n= 1063, 0.7-1.6 mg/dl; kadın n= 1463, 0.6-1.4 mg/dl), ürik asit (erkek n= 342, 3.0-8.3 mg/dl; kadın n= 506, 2.3-6.9 mg/dl), total kolesterol (erkek n= 493, 117-258 mg/dl; kadın n= 731, 122-246 mg/dl), HDL kolesterol (erkek n= 394, 24-65 mg/dl; kadın n= 605, 29-74 mg/dl), LDL kolesterol (erkek n= 384, 40-168 mg/dl; kadın n= 585, 53-172 mg/dl), trigliserid (erkek n= 484, 44-192 mg/dl; kadın n= 719, 40-141 mg/dl), TSH (erkek n= 269, 0.32-2.93 µIU/ml ; kadın n= 689, 0.30-2.87 µIU/ml), total T3 (erkek n= 136, 76-190 ng/dl ; kadın n= 160, 66-208 ng/dl), total T4 (erkek n= 136, 5.8-13.0 µg/dl ; kadın n= 167, 6.7-13.6 µg/dl), serbest T3 (erkek n= 248, 1.4-4.2 pg/ml ; kadın n= 571, 1.5-4.1 pg/ml), serbest T4 (erkek n= 265, 0.8-1.9 ng/dl ; kadın n= 591, 0.8-1.9 ng/dl).

Denizli toplumu için saptadığımız referans aralık değerlerinin bazıları (özellikle lipid profili), firmanın verdiği veya değişik kaynaklarda bulunan referans aralık değerlerinden farklı olarak saptandı.

Sağlıklı olduğu düşünülen referans bireylerinin verilerine göre; erkeklerde ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit, LDL kolesterol, trigliserid, TT3 ve ST3 düzeyleri kadınlara göre yüksek bulunurken; kadınlarda HDL kolesterol değerleri erkeklere göre yüksek olarak saptandı (p<0,05). Laboratuvara başvuran bireylerden elde edilen verilere göre; erkeklerde ALP, glukoz, BUN, kreatinin, ürik asit ve trigliserid düzeyleri kadınlara göre

yüksek saptanırken; kadınlarda HDL kolesterol düzeyleri erkeklere oranla yüksek olarak bulundu ( $p<0,05$ ).

Sağlıklı olduğu düşünölen referans bireylerinin verilerine göre, her iki cinsiyette de yaşa ve BMI'e (vücut kütle indeksi) göre değişim gösteren analitler arasından; yaşa göre total kolesterol, LDL kolesterol hem erkek hem kadında, trigliserid sadece kadında; BMI'e göre erkek ve kadında ürik asit, total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid arasında pozitif ilişki, kadında HDL kolesterol ile negatif ilişki saptandı.

Denizli toplumunu yansıttığını düşündüğümüz referans birey gruplarından sağlıklı olduğu düşünölen gruptan NCCLS C28A standardına göre nonparametrik yöntemle referans aralık hesaplamasının daha uygun olduğu, diğer kaynak bilgileriyle karşılaştırıldığı zaman bölgesel olarak hesaplamasının gerektiği konusundaki düşünceler paylaşılmaktadır.

## SUMMARY

For making medical diagnosis of clinical laboratory test results, reference interval values and other critical medical decision levels must be known. Determination of these values is one of the tasks of laboratory manager.

In this respect, we planned this study, in order to determine the reference intervals of general control profile (alkaline phosphatase, glucose, BUN, creatinine, uric acid), lipid profile (total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides) and thyroid profile tests (TSH, total T3, total T4, free T3, free T4) for our population and estimating the reference interval by using both of parametric and nonparametric methods, and also finding of which method is more useful and easily used.

The data of the two groups were obtained from the results of Clinical Chemistry Laboratory of Pamukkale University Hospital between May 2000 and August 2000: 1) Healthy people who were selected according to NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, USA) C28A standards and properties of analytes (total n=259, age:18-40; males n=131, age: 30.2 ± 6.1; females n=128, age: 28.7 ± 6.2); 2) People who were submitted to our laboratory (total n=4110, age:18-40; for general control profile tests n=2968; for lipid profile tests n=1256; for thyroid profile tests n=1113).

Reference interval values (determined according to C28A standards) obtained from data of selected healthy reference individuals (males n=131, females n=128): ALP (36-129 U/L; 31-120 U/L), glucose (72-126 mg/dl; 70-109 mg/dl), BUN (8-23 mg/dl; 6-19 mg/dl), creatinine (0.9-1.6 mg/dl; 0.7-1.3 mg/dl), uric acid (3.1-8.2 mg/dl; 2.5-6.0 mg/dl), total cholesterol (94-252 mg/dl; 120-231 mg/dl), HDL cholesterol (28-67 mg/dl; 35-83 mg/dl), LDL cholesterol (41-176 mg/dl; 48-149 mg/dl), triglycerides (40-216 mg/dl; 36-173 mg/dl), TSH (0.35-3.66  $\mu$ IU/ml; 0.20-4.58  $\mu$ IU/ml), total



T3 (69-212 ng/dl; 52-239 ng/dl), total T4 (5.1-12.3 µg/dl; 5.2-14.3 µg/dl), free T3 (1.5-4.0 pg/ml; 1.3-4.4 pg/ml), free T4 (0.7-1.9 ng/dl; 0.9-1.9 ng/dl).

Reference interval values obtained from data of people who were submitted to our laboratory: ALP (males n= 609, 33-110 U/L; females n= 907, 35-94 U/L), glucose (males n= 1020, 75-122 mg/dl; females n= 1558, 75-120 mg/dl), BUN (males n= 1076, 6-24 mg/dl; females n= 1505, 7-18 mg/dl), creatinine (males n= 1063, 0.7-1.6 mg/dl; females n= 1463, 0.6-1.4 mg/dl), uric acid (males n= 342, 3.0-8.3 mg/dl; females n= 506, 2.3-6.9 mg/dl), total cholesterol (males n= 493, 117-258 mg/dl; females n= 731, 122-246 mg/dl), HDL cholesterol (males n= 394, 24-65 mg/dl; females n= 605, 29-74 mg/dl), LDL cholesterol (males n= 384, 40-168 mg/dl; females n= 585, 53-172 mg/dl), triglycerides (males n= 484, 44-192 mg/dl; females n= 719, 40-141 mg/dl), TSH (males n= 269, 0.32-2.93 µIU/ml ; females n= 689, 0.30-2.87 µIU/ml), total T3 (males n= 136, 76-190 ng/dl ; females n= 160, 66-208 ng/dl), total T4 (males n= 136, 5.8-13.0 µg/dl ; females n= 167, 6.7-13.6 µg/dl), free T3 (males n= 248, 1.4-4.2 pg/ml ; females n= 571, 1.5-4.1 pg/ml), free T4 (males n= 265, 0.8-1.9 ng/dl ; females n= 591, 0.8-1.9 ng/dl).

Some of reference intervals (especially, lipid profile) in our study for Denizli population of reference individuals are different from the reference intervals of the by manufacturer and Clinical Chemistry textbooks and literature.

According to the data of selected healthy reference individuals; alkaline phosphatase, glucose, BUN, creatinine, uric acid, LDL cholesterol, triglycerides, total T3 and free T3 values are higher for males than females; HDL cholesterol values are higher for females than males ( $p < 0.05$ ). According to the results of people who were submitted to our laboratory; alkaline phosphatase, glucose, BUN, creatinine, uric acid and

triglycerides are higher for males than females; HDL cholesterol values are higher for females than males ( $p < 0.05$ ).

According to the data of selected healthy reference individuals, it was found that there is a positive correlation between age and total cholesterol, LDL cholesterol for males, and positive correlation between age and total cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides for females. Also, it was found that there is a positive correlation between BMI (body mass index) and uric acid, total cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides for males, and positive correlation between BMI and uric acid, total cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides and negative correlation between BMI and HDL cholesterol for females.

Nonparametric method (according to C28A standards), for determination of reference interval values of healthy people in Denizli, is easier and more appropriate method, and regional reference interval values must be determined.

## KAYNAKLAR

1. Aslan D. Referans aralıklarının hesaplanması. In: Gezer S, Güner G, Tuncel P, eds. Klinik laboratuvarlarda yöntem seçimi değerlendirilmesi ve laboratuvara uygulanması kurs kitabı. İzmir, 2000: 80-119.
2. Laleli Y, Akbay A. Referans aralık analizi. In: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ, eds. Tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon ve kalite yönetimi. Ankara, 2000: 124-137.
3. Solberg ES. Establishment and Use of Reference Values. In: Burtis AC, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry (3<sup>rd</sup> Edition). USA: WB Saunders, 1999: 336-356.
4. C28-A How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; Approved guideline. NCCLS , 1995: Vol.17. No:18
5. Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. J Clin Chem Clin Biochem 1987; 25: 645-656.
6. Masferrer MF, Arderiu XF, Ane RP. Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures. Clinica Chimica Acta 1999; 279: 97-105.
7. Baadenhuijsen H, Smit JC. Indirect estimation of clinical chemical reference intervals from total hospital patient data: Application of a modified Bhattacharya procedure. J Clin Chem Clin Biochem 1985; 23: 829-839.

8. Kairisto V, Hanninen KP, Leino A, Pulkki K, Peltola O, Nantö V, Pulkki LM, Irjala K. Generation of reference values for cardiac enzymes from hospital admission laboratory data. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994; 32: 789-796.
9. Kouri T, Kairisto V, Virtanen A, Uusipaikka E, Rajamaki A, Finneman H, Juva K, Koivula T, Nantö V. Reference intervals developed from data for hospitalized patients: Computerized method based on combination of laboratory and diagnostic data. *Clin Chem* 1994; 40 (12): 2209-2215.
10. Solberg HE. Using a hospitalized population to establish reference intervals: Pros and cons. *Clin Chem* 1994; 40 (12): 2205-2206.
11. Davey R. Thyroxine, thyrotropin, and age in a euthyroid hospital patient population. *Clin Chem* 1997; 43 (11): 2143-2148.
12. Toprakçı M. Hastane laboratuvar test verileri kullanılarak klinik testlerin referans aralıklarının saptanması. Uzmanlık Tezi; İstanbul, 2000.
13. Solberg HE, Grasbeck R. Reference values. *Adv Clin Chem* 1989; 27: 1-79.
14. Nagayama I, Yamamoto K, Saito K, Kuzuya T, Saito T. Subject-based reference values in thyroid function tests. *Endocrine Journal* 1993; 40 (5); 557-562.
15. Ash OK, Clark SJ, Sandberg LB, Hunter E, Woodward SC. The influences of sample distribution and age on reference intervals for adult males. *Am J Clin Path* 1983; 79 (5); 574-581.

16. Ooi DS, Innanen VT, Wang D, Chong GL, Donnelly JG, Arseneault JJ, Pronovist C, Wells G. Establishing reference intervals for DPC's free testosterone radioimmunoassay. *Clin Biochem* 1998; 31(1); 15-21.
17. Al-Tamer YY, Hadi EA. Age dependent reference intervals of glucose, urea, protein, lactate and electrolytes in thermally induced sweat. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994; 32 (2); 71-77.
18. Erfurth EM, Norden NE, Hedner P, Nilsson A, Ek L. Normal reference interval for thyrotropin response to thyroliberin: Dependence on age, sex, free thyroxin index and basal concentrations of thyrotropin. *Clin Chem* 1984; 30 (2); 196-199.
19. Virtanen A, Kairisto V, Irjala K, Rajamaki A, Uusipaikka E. Regression-based reference limits and their reliability: example on hemoglobin during the first year of life. *Clin Chem* 1998; 44 (2); 327-335.
20. Harris EK, Wong ET, Shaw ST. Statistical criteria for separate reference intervals: Race and gender groups in creatine kinase. *Clin Chem* 1991; 37 (9); 1580-1582.
21. Young DS. Determination and validation of reference intervals. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 704-709.
22. Sasse EA. Determination of reference intervals in the clinical laboratory using the proposed guideline national committee for clinical laboratory standards C28-P. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 710-713.
23. Aydemir M. Samsun ili erişkin popülasyonunda tiroid hormonlarının referans aralıklarının belirlenmesi. *Uzmanlık Tezi; Samsun, 1999.*

24. Duncanson GO, Worth HGJ. Determination of reference intervals for serum magnesium. *Clin Chem* 1990; 36 (5); 756-758.
25. Beyer C. Creatine measurement in serum and urine with an automated enzymatic method. *Clin Chem* 1993; 39 (8); 1613-1619.
26. Bechtel JM. Simplified estimation of normal ranges from routine laboratory data. *Clin Chim Acta* 1970; 28; 119-125.
27. Szabolcs I, Ploenes C, Beyer M, Bernard W, Herrmenn J. Reference intervals for serum thyrotropin: Dependence on the population investigated. *Exp Clin Endocrinol* 1991; 98 (1); 23-31.
28. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. Reference interval computation using robust vs parametric and nonparametric analyses. *Clin Chem* 1999; 45 (12); 2284-2285.
29. Kroll J, Saxtrup O. On the use of patient data for the determination of reference intervals in clinical chemistry. *Scand J Clin Lab Invest* 1998; 58; 469-474.
30. Erlandsen EJ, Randers E. Reference interval for serum C-reactive protein in healthy blood donors using the Dade Behring N Latex CRP mono assay. *Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60; 37-43.
31. Gonzales M, Martin FJ, Lopez S, Garcia N, Linares AO Arranz ML. Reference values and methods comparison of a new testosterone assay on the AxSYM system. *Clin Biochem* 2000; 33; 175-179.
32. Spichiger UE, Vonderschmitt DJ. A self-consistent set of reference values for 23 clinical chemical analytes. *Clin Chem* 1989; 35 (3); 448-452.

33. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersenn HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem* 1997; 43 (7); 1209-1214.
34. Rasmussen K, Moller J, Lyngbak M, Pedersen AH, Dybkjer L. Age and gender specific reference intervals for total homocystein and methylmalonic acid in plasma before and after vitamin supplementation. *Clin Chem* 1996; 42 (4); 630-636.
35. Linnet K. Nonparametric estimation of reference intervals by simple and bootstrap-based procedures. *Clin Chem* 2000; 46 (6); 867-869.
36. Virtanen A, Kairisto V, Uusipaikka E. Regression-based reference limits: determination of sufficient sample size. *Clin Chem* 1998; 44 (11); 2353-2358.
37. Miller WG, Chinchilli VM, Gruemer HD, Nance WE. Sampling from a skewed population distribution as exemplified by estimation of the creatine kinase upper reference limit. *Clin Chem* 1984; 30 (1); 18-23.
38. Ezeamuzie CI, Al-ali SF, Al-Dowaisan A, Khan M, Hijazi Z, Thomson MS. Reference values of total serum IgE and their significance in the diagnosis of allergy among the young adult Kuwaiti population. *Clin Exp Allergy* 1999; 29; 375-381.
39. Petersen PH, Gowans EMS, Blaabjerg O, Horder M. Analytical goals for the estimation of non-Gaussian reference intervals. *Scand J Clin Lab Invest* 1989; 49; 727-737.
40. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin Chem* 1998; 44 (3); 622-631.

41. Zurakowski D, Canzio J, Majzaub A. Pediatric reference intervals for serum thyroxine, triiodothyronine, and free thyroxine. Clin Chem 1999; 45: 1087-1091.
42. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. Biyoistatistik (8. baskı). Ankara: Hatiboğlu yayınevi, 1998.
43. Jorgensen LGM, Stahl M, Brandslund I, Hyltoft Petersen PH, Borch-Johnsen K, Olivarius NF. Plasma glucose reference interval in a low-risk population. 2. Impact of the new WHO and ADA recommendations on the diagnosis of diabetes mellitus. Scand J Clin Lab Invest 2001; 61: 181-190.
44. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH. Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. Clin Chem Lab Med 1998; 36(6): 393-397.
45. Sugita O, Uchiyama K, Yamada T, Sato T, Okada M, Takeuchi K. Reference values of serum and urine creatinine, and of creatinine clearance by a new enzymatic method. Ann Clin Biochem 1992; 29: 523-528.
46. Andrew CE, Hanning I, McBain AM, Moody D, Price A. A model for a multicentre approach to the derivation of reference intervals for thyroid hormones and testosterone for laboratories using identical analysers. Clin Chem Lab Med 2000; 38(10): 1013-1019.
47. Paşaoğlu H, Yiğitbaşı T, Yücesoy M, Üstdal M. Sağlıklı kişilerde HDL-kolesterol, apolipoprotein A1 değerlerinin yaş ve cinsiyetle değişimi. Erciyes Tıp Dergisi 1992; 14(4): 475-479.



48. Jarvisalo J, Maatela J, Maki J Marniemi J, Reunanen A. Health based reference values of the Mini-Finland health survey: 1. Serum gamma-glutamyltransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase. Scand J Clin Lab Invest 1989; 49: 623-632.
49. Nevalainen TJ. Blood chemistry profile of a South Pasific Island population. New Zealand Med J 2000; 23 June: 251-253.
50. Back SE, Nilsson JE, Fex G, Jeppson JO, Rosen U, Trjding N, Schenck H, Norlund L. Towards common reference intervals in clinical chemistry. Clin Chem Lab Med 1999; 37(5): 573-592.
51. Jaganirec N, Mestric ZF, Surina B, Hebrand DV, Kerekovic VP. Pediatric reference intervals for 34 biochemical analytes in urban school children and adolescents. Clin Chem Lab Med 1998; 36(5): 327-337.
52. Taimela E, Kairisto V, Koskinen P, Leino A, Irjala K. Reference intervals for serum thyrotropin free thyroxine and free triiodothyronine in healthy adults in Finland, measured by an immunoautomate based on time-resolved fluorescence. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35(11): 889-890.
53. Collier JF, Maguire S, McGing P, Codd MB, Kyne F, Wrigth E, Halton K, Uaconaill D, Sugrue DD. Cholesterol levels in Irish adults: The matter hospital cholesterol screening survey. Ir J Med Sci 1996; 165(3): 177-181.
54. Grasbeck R. Reference values, why and how. Scand J Clin Lab Invest 1990; 50 suppl 201: 45-53.