

T.C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOCAELİ İLİNDE SAĞLIKLI BİREYLERDE
KAN BİYOKİMYASI PROFİLİ REFERANS
ARALIKLARININ SAPTANMASI**

Melda DALGIÇ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Yüksek Lisans Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2011

T.C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOCAELİ İLİNDE SAĞLIKLI BİREYLERDE
KAN BİYOKİMYASI PROFİLİ REFERANS
ARALIKLARININ SAPTANMASI**

Melda DALGIÇ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Yüksek Lisans Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. Hale Maral KIR

KOCAELİ
2011

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: Kocaeli İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması

Tez yazarı: Melda DALGIÇ

Tez savunma tarihi:

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hale Maral KIR

İşbu çalışma, jürimiz tarafından BİYOKİMYA Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) – DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN:		
ÜYE(DANIŞMAN):		
ÜYE:		
ÜYE:		
ÜYE:		

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../200..

Prof.Dr. Ümit BİÇER

Enstitü Müdürü

ÖZET

Kocaeli İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması

Bölgesel faktörler, genetik, diyet, egzersiz gibi nedenlerle referans değerler toplumlar arası farklılıklar gösterebilir. Bu sebeple öncelikle her laboratuvar kendi referans aralıklarını belirlemeli ve daha sonra bu çalışmalar bölgesel ve toplumsal olarak birleştirilmelidir.

Bu çalışmamızda KOU Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında çalışılan biyokimya parametrelerinden 24 tanesinin, laboratuara başvuran kişiler arasından National Committee for Clinical Laboratory Standards' ın (NCCLS) önerilerine göre hazırlanan anket formu kullanılarak oluşturduğumuz referans bireylerden, referans aralıklarını hesaplamayı amaçladık.

Elde ettiğimiz verileri yeterli sayı olmadığı için yaş gruplarına ayırmadık, sadece cinsiyet farkını belirlemek üzere kadın erkek olarak iki gruba ayırdık. Tüm grup verilerini ve kadın erkek gruplarının verilerini değerlendirdik. Uç değerleri ayıklamak için NCCLS tarafından önerilen Dixon metodunu kullandık. Her test için ortalama, standart deviasyon ve % 95 güven aralığında referans değerleri belirledik. Her parametre için cinsiyetler arası istatistiksel anlamlı farklılık olup olmadığını araştırdık.

Çalışmamız sonucunda bazı biyokimya parametrelerinde, üretici firmanın önerdiği referans değerleri ile anlamlı farklılıklar olduğunu belirledik. Ayrıca bazı parametrelerde de iki cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulduk.

Sonuç olarak bu tarzda çalışmaların yaygınlaşması, klinik laboratuvarların kalitesine katkıda bulunabileceği gibi laboratuvar test sonuçlarının da standardizasyonunu sağlayabilir.

ABSTRACT

Determining the Profile of the Blood Biochemistry Reference Intervals in the City of Kocaeli

Reference values may differ between societies due to reasons such as regional factors, genetics, diet and exercise. For this reason, every laboratory should determine their own reference values first and then these studies should be put together regionally and socially.

In this study, we aimed to calculate the reference values of 24 biochemistry parameters that are studied in the Main Laboratory of KOU Medical Faculty, from the reference individuals that we made using the questionnaire form that was prepared by us due to NCCLS's suggestions between the people who resorted to the laboratory.

We couldn't divide the data into age groups, because there weren't enough number of people. However we made two groups as female and male to determine the sex difference. We evaluated the data of the whole group and female, male groups. We used the Dixon method that is suggested by NCCLS to extract the end values.

We determined the average standart deviation for each test and reference values with a confidence interval of 95%. We researched statistically if there was a significant difference between the sex groups for each parameter.

At the end of our study, we determined that in some biochemistry parameters there were significant differences between the reference values that the manufacturer had suggested. Furthermore, we also found significant differences between two sex groups in some parameters.

In conclusion; prevailing of these kinds of studies may be helpful in increasing the quality of the clinical laboratories and in addition it may provide the standardization of the laboratory test results.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince bilimsel ve sosyal alanda bana yol gösteren, bilgi ve tecrübeleriyle bana her türlü desteği esirgemeyen sevgili danışman hocam Doç. Dr. Hale Maral KIR'a;

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini aktararak eğitimim, mesleki ve kişisel gelişimim için emek veren değerli hocalarım Prof. Dr. Sevinç KUŐKAY, Doç. Dr. Mustafa Baki ÇEKMEN, Doç. Dr. Meltem Özden DİLLİOĞLUGİL ve Doç. Dr. Can DUMAN'a;

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca her konuda yardımlarını ve desteklerini yanımda hissettiğim değerli arkadaşlarım Dr. Berrin ÖZTAŐ, Dr. Mert MUSUL ve Dr. Ümit BİLGİLİ'ye;

Beni her anlamda destekleyen ve yanımda olan, sonsuz bir sevgi ve saygıyla bağlı olduğum canım **AİLEM**'e;

SONSUZ TEŐEKKÜRLER...

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. AMAÇ VE KAPSAM.....	1
2. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Terimler ve Tanımlar	3
2.2. Referans Aralığının Tanımı.....	4
2.3. Referans Bireylerin Seçimi.....	7
2.3.1. Referans Aralık Saptanma Yolunun Belirlenmesi.....	10
2.3.2. Referans Değerlerin Gruplara Ayrılması.....	10
2.4. Kan Örneklerinin Toplanması.....	11
2.5. Kan Örneklerinin Ayrılması.....	12
2.6. Referans Aralığı Tayininde Veri Sayısının Önemi.....	12
2.7. Aşırı Uç Değerlerin Belirlenmesi.....	13
2.8. Referans Sınırların Saptanması.....	14
2.9. Referans Aralığı Tayininde İstatistiksel Yöntemler.....	15
2.9.1. Parametrik Yöntemler.....	15
2.9.2. Parametrik Olmayan Yöntemler.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALB : Albumin

ALP : Alkalen fosfataz

ALT : Alanin transaminaz

AST : Aspartat transaminaz

Ca : Kalsiyum

Cl : Klor

GGT : Gama-glutamil transferaz

HDL : High dansite lipoprotein

IFCC : International Federation of Clinical Chemistry

K : Potasyum

LDL : Low dansite lipoprotein

LDH : Laktat dehidrogenaz

Mg : Magnezyum

Na : Sodyum

NCCLS : National Committe for Clinical Laboratory Standards

P : Fosfor

SD : Standart deviasyon

URE : Üre

WHO : Dünya Sağlık Teşkilatı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. NCCLS' nin önerilerine göre hazırlanan anket formu.....	19
Şekil 2. Glukozun tüm grupta referans dağılımı.....	23
Şekil 3. Ürenin tüm grupta referans dağılımı.....	23
Şekil 4. Kreatininin tüm grupta referans dağılımı.....	23
Şekil 5. Total bilirubinün tüm grupta referans dağılımı.....	24
Şekil 6. Direk bilirubinün tüm grupta referans dağılımı.....	24
Şekil 7. AST'nin tüm grupta referans dağılımı.....	24
Şekil 8. ALT'nin tüm grupta referans dağılımı.....	25
Şekil 9. GGT'nin tüm grupta referans dağılımı.....	25
Şekil 10. LDH'ın tüm grupta referans dağılımı.....	25
Şekil 11. ALP'nin tüm grupta referans dağılımı.....	26
Şekil 12. Amilaz'ın tüm grupta referans dağılımı.....	26
Şekil 13. Total Proteinin tüm grupta referans dağılımı.....	26
Şekil.14. Albuminin tüm grupta referans dağılımı.....	27
Şekil 15. Na'un tüm grupta referans dağılımı.....	27
Şekil 16. K'un tüm grupta referans dağılımı.....	27
Şekil 17. Ca'un tüm grupta referans dağılımı.....	28
Şekil 18. Mg'un tüm grupta referans dağılımı	28
Şekil 19. P'un tüm grupta referans dağılımı.....	28
Şekil 20. Cl'un tüm grupta referans dağılımı.....	29
Şekil 21. Ürik asitin tüm grupta referans dağılımı.....	29
Şekil 22. Trigliseridin tüm grupta referans dağılımı.....	29
Şekil 23. Total kolesterolün tüm grupta referans dağılımı.....	30
Şekil 24. HDL kolesterolün tüm grupta referans dağılımı.....	30
Şekil 25. LDL kolesterolün tüm grupta referans dağılımı.....	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 1. Parametrelerin normalite test sonuçları.....	22
Tablo 2. KOÜ Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında kullanılmakta olan referans değerler.....	31
Tablo 3. Tüm parametrelerde, katılımcı sayısı (N), minimum-maksimum değerler, mean \pm SD ve % 95 güven aralıkları.....	32
Tablo 4. Tüm gruplarda bulduğumuz referans değerler	33
Tablo 5. Normal dağılım gösteren parametrelerde Independent-samples T testi ile kadın ve erkek cinsiyetler arasındaki fark anlamlılığı.....	38
Tablo 6. Normal dağılım göstermeyen parametrelerde Mann-Whitney U testi ile gruplar arası anlamlılığın gösterilmesi.....	39

1. AMAÇ VE KAPSAM

Sağlık göreceli bir kavramdır. Bazı hastalık tablolarıyla hastanın durumunun uyumunun araştırılması ya da sağlıklılık derecesinin belirlenmesi için referans verileri kullanılır. Tanı ister klinik deneyimlere dayandırılarak konulsun, ister nitesel ya da nicesel değerlendirmeleri temel alsın, isterse olasılık ve istatistik bilgilerle formal bilginin birleşiminden yararlanan bilgisayar esaslı metotlarla konsun, gözlenilen durumun ya da verilerin, referans verilerle karşılaştırılması prensibine dayandırılır (Taga ve ark. 2002).

Laboratuvar verilerini yorumlamada güvenilir referans aralıklarının önemli bir yeri vardır (Motor ve ark. 2009). Referans aralıkları tıbbi kararların verilmesinde çok güçlü araçlardan bir tanesidir (Concordet ve ark. 2009). Populasyon, diyet, teknik ve referans grubunun seçimine bağlı olarak laboratuvarlar ve bölgeler arası oluşan farklılıklardan dolayı her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi son derece önemlidir (İlçöl ve Aslan 2004). Laboratuvarların kendi referans aralıklarını hesaplaması oldukça zor olduğu için birçok laboratuvar kendi referans aralıklarını kullanmazlar, bunun yerine üretici firmanın belirlediği referans aralıklarını kullanırlar.

Referans değerlerinin amacı hastanın laboratuvar sonuçlarının yorumlanması için karşılaştırma verileri elde etmektir. Referans değerleri sağlıklı bireylerden ya da bazı durumlarda, belirli hastalığı olan veya tanımlı klinik durumlara sahip olan bireylerden elde edilebilir (Solberg 2004). Güvenilir referans değerlerinin sağlanması, uygun referans bireyleri, bu bireylerin standardize örnek toplanması için hazırlanmasını, bu örneklerin elde edilmesi ve analizini, istatistiksel analizi ve elde edilen bu sonuçların sunulmasını kapsayan majör bir girişimdir. İstatistiksel analiz, genellikle, hasta sonuçlarının referans verilerle kıyaslanmasını sağlamak için 'veri indirgenmesi'ni içerir. Bu bir referans aralığı tahminidir (Solberg 2004).

Referans aralıklarının belirlenmesi, parametrik ve parametrik olmayan yöntemlerle, Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (National Committee for Clinical Laboratory Standards-NCCLS) ve Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbi Fedarasyonu'nun (International Federation of Clinical Chemistry- IFCC) önerilerine göre hesaplanmaktadır (Bjerner 2007, Balcı 2006, İlçöl ve Aslan 2004). Aynı şekilde referans bireylerin seçimi de NCCLS ve IFCC'nin ilgili dökümanlarında standardize edilmiştir.

Referans aralıklarının belirlenmesi hem toplumun tanınması açısından yararlıdır, hem de çok hızla artan testlerin yorumlanmasında kolaylık sağlamaktadır.

Bu çalışmada ki amacımız, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında çalışılan biyokimyasal analitlerden 24 tanesinin referans aralıklarını saptamaktı.

2. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

Referans değerleri ilk önce bir felsefe olarak ortaya atılmıştır, fakat zaman içinde laboratuvar uygulamalarında klinik karara çok önemli etkilerde bulunan uluslararası bir önem kazanmıştır (Geffre ve ark. 2009, Henny ve Hyltoft 2004).

Referans değeri konusu, ilk kez 1969 yılında Grasbeck ve Saris tarafından iyi düzenlenmiş bir çalışma grubunda kan analiti konsantrasyonlarındaki değişiklikleri açıklamak için ortaya atılmıştır (Geffre ve ark. 2009). Bununla amaçlanan şey belirsiz olan değerlerin daha normal hale getirilmesi, daha iyi bir terminoloji oluşturulması ve sahada tavsiye edilen prosedürlere uyumun sağlanmasıydı. Yayımlanan bu ilk çalışmada sağlıklı popülasyonda ölçülen sağlıklı referans değerleriyle, hastalıklı popülasyonda ölçülen hasta referans değerleri arasında belirgin bir ayırım bulunmaktaydı (Geffre ve ark. 2009). Günümüzde, referans bireylerin seçiminde NCCLS ve IFCC nin dökümanlarından faydalanılmaktadır. IFCC ve NCCLS önerilerine göre referans aralıklarının saptama aşamaları:

1. Referans bireylerin seçilme kriterlerinin belirlenmesi;
2. Standart anket formunun oluşturulması;
3. Referans aralıkları saptanacak analitin özelliklerinin belirlenmesi ve analite özgü soruların eklenmesi;
4. Laboratuvar koşullarının hazırlanması;
5. Analitik kontrolün değerlendirilmesi ve sürdürülmesinin sağlanması;
6. Belirlenmiş kriterlere göre verilerin toplanması;
7. Verilerin dağılım grafiklerinin incelenmesi ve istatistiksel analizinin yapılması;
8. Parametrik veya parametrik olmayan yöntemlere göre referans aralıklarının hesaplanması şeklinde yürütülür (İlçöl ve Aslan 2004).

2.1. Terimler ve Tanımlar

Referans birey; iyi tanımlanmış kriterler temel alınarak test edilmek için seçilen kişidir. Referans bireylerin genel olarak sağlıklı kişiler olduğu varsayılır; ancak sağlık görecelidir, kesin ve ölçülebilir tanımlamaları bulunmamaktadır (Geffre ve ark. 2009, Motor ve ark 2009, Burtis ve Ashwood 2005, NCCLS C28-A 1995).

Referans popülasyon; mümkün referans kişilerden oluşan bir gruptur (Geffre ve ark. 2009, Burtis ve Ashwood 2005, NCCLS C28-A 1995).

Referans örnek grup; referans popülasyonu temsil etmek için seçilmiş yeterli sayıdaki kişilerdir (Geffre ve ark. 2009, Burtis ve Ashwood 2005, NCCLS C28-A 1995).

Referans değer; referans kişilerdeki belirli nicelikteki türün ölçüm veya gözlemlerden elde edilen değer ya da test sonucudur (Geffre ve ark. 2009, Burtis ve Ashwood 2005, NCCLS C28-A 1995).

Referans dağılım; referans değer dağılımıdır (Geffre ve ark. 2009, Burtis ve Ashwood 2005, NCCLS C28-A 1995).

Referans limit; referans dağılımdan türetilmiş bir değerdir ve kesin amaçlar için kullanılır (Geffre ve ark. 2009, Burtis ve Ashwood 2005, NCCLS C28-A 1995). Bu kavram sıklıkla ‘karar limiti’ ile karıştırılmaktadır. Biyolojik referans aralığının sağlıklı bireylerden beklenen değerlerin niceliğini etkileyeceği bilinmekle birlikte genellikle göz ardı edilmektedir. Karar limiti bir hastadan elde edilen sonuçların tedavi sonuçlarını etkileyip etkilemeyeceğini anlamak için kullanılmaktadır (Rustad ve Felding 2004).

2.2. Referans Aralığın Tanımı

Biyolojik referans aralıkları, referans popülasyondan rastgele seçilen referans bireylerden toplanan verilerin değerlendirilmesiyle elde edilen analit değerlerinin % 95’ini kapsar ve genellikle laboratuvar tıbbınca belirlenir (Rustad ve Felding 2004).

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO), sağlığı; sadece hastalık durumunun yokluğu şeklinde değil, ‘fiziksel, mental, sosyal refah durumu’ olarak tanımlamaktadır (Balcı 2006, Burtis ve Ashwood 1999).

Bireyde sağlıklılık veya hastalık durumunun tanımlanabilmesi için referans veriler incelenir. Bu referans verileri de tıbbi anamnezlerden, klinik muayenelerden ve destek incelemelerden elde edilir (Burtis ve Ashwood 1999). Referans veriler klinik tanının konmasında yardımcı olduğu gibi, tedavinin takibinde, prognozda, taramada, toksikolojide ve birçok klinik basamakta yer alır.

Referans aralığın tanımı; ‘Klinik Tanı Laboratuvarları’nın, mukayeseye dayanan testleri için, sağlıklı toplumdaki elde edilen ‘Sağlıklı olmakla ilişkili’ değer aralığının, gerekli en az düzeydeki şartları sağlayacak tarzda güvenli ve kullanışlı olacak şekilde belirlenmesi olarak yapılabilir (Burtis ve Ashwood 1999). Referans aralığı yalnızca sağlıklı

bireyleri belirlemek için değil, belirli fizyolojik ve patofizyolojik durumları temsil etmek üzere de yapılabilir (Laleli 2003).

Referans aralığı, referans bireylerin oluşturduğu örnek referans dağılımından belli istatistiksel yöntemlerin kullanılması ile elde edilen referans değerlerinin tanımlandığı aralıktır (Motor ve ark. 2009, Laleli 2003).

Özetleyecek olursak; referans bireylerden elde edilen değer referans değer; referans bireylerden oluşan gruplar referans gruplar; bu gruplardan elde edilen referans değerlerin sınırları arasında kalan aralık referans aralık olarak tanımlanır.

Referans aralık belirlemenin gereklilikleri: yeni bir analitik ölçümün yapılmaya başlanması, daha önce referans veya fizyolojik değerleri bilinen bir analitin, farklı veya yeni bir metotla ölçülmeye başlanması ve referans değeri başka laboratuvarlarca (üretici de olabilir) belirlenmiş bir analitin, aynı veya mukayese edilebilir başka metotlarla ölçülmesi durumunda mevcut verinin transferi şeklinde sıralanabilir (Motor ve ark. 2009).

Örnek bir popülasyondan seçilen referans bireyler bir araya getirilerek referans kitlesi oluşturulabilir. Bu değerler bir dağılım oluşturur ve bu dağılımın istatistiksel analizi yapıldığında, dağılımın belli bir bölümünü sınırlandıran alt ve üst değerler elde edilebilir. Bu alt ve üst değerlerin içine aldığı kesim dağılımın belli bir yüzdesini ifade eder (Balcı 2006). Normal terimi göreceli bir kavramdır; bireyden bireye değişebilir, bu nedenle normal değer ya da normal aralık sözcükleri bu terimlerde kullanılmamaktadır.

1988 yılında IFCC 'Normal Değerler' teriminin karışıklık yarattığını ve kullanılmaması gerektiğini vurgulamıştır. İstatistiksel bir terim olan 'normal dağılım' ile karıştırılabilmektedir. Epidemiyolojik yönden değerlendirildiğinde, % 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 (Fraser 1986). Normal terimini açıklamak için bazı tanımlamalar yapılmıştır:

1. Şahsın kendi normali: Kişinin sağlıklı döneminde elde edilmiş değer.
2. Optimum sağlık kondisyonundaki şahıslardan elde edilmiş verilere dayanan değerler.
3. Cohort (eş grupları) normalleri: Hastanın grubunu temsil eden sağlıklı toplumdaki bireylerden elde edilmiş değerler.

4. Genel toplum normalleri: Hastanın geldiği toplumun tüm fertlerini temsil eden gruptan elde edilmiş normaller.
5. İstatistiksel anlamıyla normal dağılım ya da Gaussian dağılıma uyan veriler grubu (biyolojik veriler her zaman normal dağılım gösteren çan eğrisi grafiğine uymaz) (Taga ve ark. 2002).

Genellikle tüm toplumu yansıtan referans değerler kullanılıyor olsa da yaş, cinsiyet, özgeçmiş, başka sağlık sorunları gibi bireye ait özelliklerin de göz önünde bulundurulması gerekir. Bir test bir bireye daha önce uygulanmamışsa, o testin o birey için normal değerinin ne olduğu bilinemez. Bu değer in önceden biliniyor olması idealdir. Bireyin daha önce sağlıklı zamanında elde edilmiş sonuçları referans değer olarak kullanılabilir (Taga ve ark. 2002).

Bir birey için test değerinde sonradan meydana gelen önemli değişiklikler, referans sınırlar aşılmadığı sürece hastalık lehine değerlendirilmez. Ancak bu değişiklikler şahısta meydana gelen önemli gelişmelerin erken habercisi olabilir (Taga ve ark. 2002). Bu zorluklar göz önünde bulundurulduğunda, referans aralıkları belirlerken normal bireylerin değil, referans bireylerin değerlerinin kullanılmasının daha uygun olacağı anlaşılmaktadır.

Laboratuvarda bilim adamlarının karşılaştığı problem sağlıklı topluluklar için referans aralıkları oluşturmaktır. Yaş, ırk, istisnai durumlar, diyet ve sağlıklı olmayan durumlar (sağlıklı topluluk için) referans aralığı oluşturulurken göz önüne alınmalıdır. Burada iki türlü problemle karşılaşıyoruz. Birincisi; referans aralığının örneklerin belli bir laboratuvardan alınmasıyla belirlenmesi ki bu örnekler tüm sağlıklı bireyleri temsil ediyor ya da etmiyor olabilir. İkincisi ise; örneklemin büyüklüğüdür ve bu durum referans aralığının düzgün bir biçimde belirlenmesi için yeterli olmayabilir. Sonuç olarak da yanlış kararlar yükselen maliyetlere, gereksiz tetkiklere ve hastanın güvenliğini riske sokar (Horn ve Pesce 2003).

2.3. Referans Bireylerin Seçimi

Referans bireylerin seçiminin ideal olması için bireylerin referans popülasyonundan rastgele olarak seçilmesi gerekmektedir. Fakat tam olarak randomize bir seçimin yapılması her zaman kolay değildir ve pratikte de pek nadir uygulanır (Rustad ve Felding 2004).

Biyolojik referans aralığı çalışmasına dahil olan popülasyon genellikle sağlıklı olarak farz edilir. Sağlıklı ve hasta bireyleri birbirinden ayırt etmek her zaman kolay değildir. Fakat; en yaşlı grupta beklenen sağlıklı kavramı diğer gruplardan ayrı tutulabilir. Referans aralığı çalışmasında hastalıklı bireyler çalışmada ölçülen biyokimyasal parametreleri ve tedaviyi ya da hastalığı etkilememesi koşuluyla bazen çalışmaya dahil edilebilir (Rustad ve Felding 2004).

Güvenilir referans aralığının belirlenmesi uygun referans bireylerin seçilmesi, bu bireylerin standardize örnek toplama işlemi için hazırlanması, örneklerin toplanması ve analizi, istatistiksel analiz ve sonuçların sunumu aşamalarından oluşur (Motor ve ark. 2009, Solberg 2004).

Referans aralığı belirlenmesinde en önemli aşama referans bireylerin seçimidir. Seçilen yaş grubu, cinsiyet ve ortaya çıkan diğer alt gruplar için en az 120 birey gerekmektedir. Sayı yanında sağlıklı olduğu düşünülen bireylerin seçimi de önemle üzerinde durulması gerekli bir konudur. Bu nedenle bireylerin seçiminde anket formları hazırlanmalıdır (Rustad ve Felding 2004, Enli ve ark. 2003). Anket formları sağlıklı olduğu düşünülen bireylerin seçilmesine ve referans aralığı saptanacak analiti etkileyen preanalitik etkenlerin hesaba katılmasına olanak sağlamalıdır (Burtis ve Ashwood 1999).

Referans aralık analizi yapılırken en zor aşama bireylerin seçimi ve bireylere uygulanacak kriterlerin belirlenmesidir. Referans bireyler seçilirken dahil edilme kriterleri ve dışlama kriterleri iyi tanımlanmalıdır. Referans aralık analizinin yapılacağı grubun mümkün olduğunca homojen olması gerekir. Pre-analiz faktörlerinin sebep olduğu varyasyonların önüne geçmek için bölgesel proje kontrolörlerinin proje protokollerinde belirtilen talimatların uygulanmasını sağlamaları gerekmektedir (Rustad ve Felding 2004).

Referans popülasyonundan belli kriterler kullanılarak seçilmiş bireylerden oluşturulan kitleye, örnek referans kitlesi denir. Bu bireylerin nasıl seçileceği konusunda çeşitli yöntemler tanımlanmıştır. Bunları genel olarak doğrudan ve dolaylı örneklendirme olmak üzere ikiye ayırabiliriz. Doğrudan örneklendirme IFCC tarafından önerilen bir dizi

kriterin hasta seçiminde kullanılması yolu ile yapılmaktadır (Balcı 2006, Burtis ve Ashwood 2005).

Bu kriterlere dışlama kriterleri denir, bunları şöyle sıralayabiliriz:

- Hastanede yatma (şu anda veya yakın zamanda)
- Gebelik
- Laktasyon
- Stres
- Aşırı egzersiz
- İleri derecede şişmanlık (obesite)
- İlaç kullanımı (reçeteli veya reçete gerektirmeyen)
- İlaç bağımlılığı
- Alkol
- Sigara
- Meslek hastalığı varlığı
- Hipotansiyon veya hipertansiyon
- Genetik faktörler
- Çevresel faktörler
- Son zamanlarda geçirilen ameliyat
- Son zamanlarda yapılan transfüzyon
- Vitamin kullanımı

Bu kriterler IFCC tarafından önerilen ve ayrıca NCCLS dökümanlarında belirtilen dışlama kriterleridir (Balcı 2006, NCCLS C28-A No:4 1995). Bireyler seçilirken bu faktörlerin etkisi altında olup olmadığına bakılır ve bu kriterler seçim esnasında uygulamanın yönüne göre iki şekilde kullanılabilir (Balcı 2006, Burtis ve Ashwood 1999). A priori yöntemde; analiz yöntemi ile ilgili bilgiler çok sayıda ve çok iyi biliniyorsa bireyler tanımlanmış kriterlere göre seçilir ve örnekler toplanır, ileriye dönük bir ayırım işlemidir. A posteriori yöntemde; analiz yöntemi ayrıntılı bilinmiyor ve hakkında yeterli bilgi toplanamıyorsa, bireylerden örnekler alınır. Analiz yapıldıktan sonra, ayırma yapılır ve alt gruplara bölünür (Geffre ve ark. 2009, Burtis ve Ashwood 2005).

A posteriori ayıklamada elimizde çok iyi düzenlenmiş bir demografik veri tabanı olması gerekir (Balcı 2006).

Post-metrolojik dışlama kriterleri; referans birey değerlendirilmesinde ileri ki bir basamak olarak; önceden belirlenmiş biyokimyasal kriterler (hemoglobin ölçümü gibi) kullanılabilir (Rustad ve Felding 2004). Bazı biyokimyasal sağlık göstergelerinde aşırı derecede anormallikler saptanması durumunda o bireyin verilerinin kullanılmaması gerekmektedir (Rustad ve Felding 2004).

Referans bireylerin dışlanması: Bir referans bireyinin çalışmadan dışlanması; o bireyden elde edilmiş tüm ölçüm sonuçlarının çalışmanın dışında tutulması anlamına gelmektedir. Bir ya da birden fazla veride büyük bir tutarsızlık gösteren sonuç alınması böyle bir dışlanmaya neden olabilir (Balcı 2006, Burtis ve Ashwood 2005, Rustad ve Felding 2004).

Populasyona dayalı tek referans aralık: referans değerler tek analit için hazırlandığı zaman “tek değişkenli referans aralık”dır. Populasyona dayalı çok değişkenli – Multivariate referans aralık: tek bir laboratuvar test sonucu bazen bilinen bir klinik durumu değerlendirmeye yetmeyebilir. Referans aralıklar aynı grup ancak birden fazla analit için hazırlandığı zaman “çok-değişkenli referans alanı”ndan bahsedilir. Bu durumlarda, klinik durum ile ilişkili farklı test sonuçları birlikte değerlendirilerek karar verilir (Burtis ve Ashwood 2005).

Direkt yöntemde; belirlenmiş kriterlere göre hazırlanan anket formları ile seçilen bireylerin analizleri yapılır. İndirekt yöntemde; laboratuvara başvuran hastalardan elde edilen sonuçlar kullanılarak referans aralıklar hesaplanır. Bu yöntem tüm koşulları sağlayan bir veri tabanını kullanarak ve geriye dönük olarak referans aralıklarını tespit eder (Motor ve ark. 2009).

Rastgele olan yöntemde; grup üyelerinin hepsinin referans grubun kriterlerini sağladığı düşünülerek örnekler toplanır ve analiz edilir. Elde edilen veriler istatistiksel analiz ile değerlendirilir, referans aralıklar hesaplanır. Rastgele olmayan yöntemde; seçilen popülasyondan grup oluşturmak için bireylerin önceden hangi kriterleri sağladığı saptanır. Rastgele olmayan örnekleme çoğunlukla uygulanan yöntemdir (Motor ve ark. 2009).

Anket: Kan testi için örnek alınmadan önce her referans bireyi adayının bazı tanımlayıcı bilgilerinin yer aldığı (yaş, cinsiyet, ağırlık, boy, etnik köken, tıbbi geçmiş, aile tıbbi geçmişi, fiziksel aktivite, sigara ve içki alışkanlıkları gibi) bir anket doldurulmalıdır. Bu bilgiler daha sonra alt gruplar düzeyinde analizler yapmaya imkan

verecektir. Bilgilerin alındığı zaman ve bu bilgileri ilgilendirebilecek diğer özellikler de yine aynı anket içinde yer alabilir (Motor ve ark. 2009, Burtis ve Ashwood 2005, Rustad ve Felding 2004).

2.3.1. Referans aralık saptanma yolunun belirlenmesi

Referans bireyler açık ve ayrıntılı olarak tanımlanmalı ve kaydedilmelidir. Klinik karar verilirken karşılaştırılan parametreden başka karşılaştırılan grup referans grubuyla benzer olmalıdır. Analiz için örneklerin alındığı ve hazırlandığı koşullar net olarak tanımlanmalıdır ve standardize edilmelidir. Tüm birimler aynı olmalıdır. Tüm laboratuvar sonuçları yeterli analitik kontrol altında mümkün olduğu kadar yüksek derecede standardize edilmiş yöntemlerle elde edilmelidir. Tanı için hastalığın patogenezi evresinin sınırları çizilmelidir (Burtis ve Ashwood 2005).

Tüm testlerin tanısal duyarlılığı, tanısal özgüllüğü, prevalansı ve yanlış kararlara neden olduğu zaman sebep olduğu mali ve klinik zarar mutlaka bilinmelidir (Burtis ve Ashwood 2005).

2.3.2. Referans Değerlerin Gruplara Ayrılması

Referans bireyler yaş, cinsiyet ve diğer karakteristiklere göre alt gruplara ayrılabilirler. Referans gruplarını mümkün alt gruplara ayırmak için kullanılan gruplama kriterlerine örnek olarak:

- Yaş (eşit aralıklarda kategorize edilmesi gerekmez)
- Cinsiyet
- Genetik faktörler
 - ırk (etnik köken)
 - kan grupları (ABO)
 - HLA (insan lökosit antijeni)
- Fizyolojik Faktörler
 - menstrüel döngü evresi
 - gebelik evresi
 - fiziksel durumlar
- Diğer faktörler

- sosyo ekonomik
- çevresel
- kronobiyolojik

Gruplara ayırma tabakalama, kategorizasyon veya alt gruplara ayırma olarak da adlandırılmaktadır. Gruplara ayırmanın amacı bireyler arasındaki varyasyonların en aza indirilmesidir (Burtis ve Ashwood 2005). Sınıf içi varyasyon ne kadar az ise o kadar dar ve duyarlı referans aralık hesaplanır. Genel olarak, sınıflar-arasında istatistiksel olarak farklılık varsa referans değerler alt gruplara ayrılmalıdır (Burtis ve Ashwood 2005, Snedecor ve Cochran 1989).

Referans aralığı tayininde önemli noktalardan biri de veri kitlesinin gruplandırılmasıdır. Yaş ve cinsiyet en fazla kullanılan kriterlerdir. Bir çalışmada dışlama kriteri kabul edilen bir faktör başka bir çalışmada dağılımları gruplara ayırmada kullanılabilir. Çalışmanın sonunda istatistiksel olarak gruplar arasında önemli bir fark olup olmadığına bakılabilir, bu amaçla Student's t-test kullanılan en yaygın analiz yöntemidir. Bu test iki farklı grubu karşılaştırmada kullanılır; ANOVA yöntemi ise ikiden fazla grubun olduğu durumlarda kullanılmaktadır (Balcı 2006, Burtis ve Ashwood 1999, Hayran ve Özdemir 1996, Ash ve Clark 1983).

Ayrı referans aralıkları kullanımı klinisyenler için büyük önem taşır. Değişik gruplar için ayrı referans aralıkları belirlemek yerine bunu tek elden yapmanın belli avantajları vardır. Birincisi çok büyük sayıda ki değerlerin değerlendirilmesini kolaylaştırır. İkincisi de hekim için tek referans aralığı yorumlaması iki aralık yorumlamaya göre çok daha kolaydır (Horn ve Pesce 2003, Haris ve Boyd 1995, Haris ve Boyd 1990).

2.4. Kan Örneklerinin Toplanması

Referans bireylerinin seçimi ve kan örneklerinin toplanması çalışmanın en çok iş gücü gerektiren ve en yoğun kısmıdır. Genel bir kural olarak kan toplama konusundaki iyi belirlenmiş standart prosedürlerin uygulanması gerekmektedir (Rustad ve Felding 2004). Kan alımında standardizasyon önemlidir. Her ölçüm öncesi preanalitik faktörlerin tam olarak ele alınması ve tüm aşamaların standardize edilmesi gerekmektedir. Bunlar yapılmadığı takdirde dağılımların gruplaşması kaçınılmaz olacaktır (Statland ve Winkel 1977).

Kanın alımından santrifüjüne kadar izin verilen maksimum süre ve kanın ayırılmasından saklanması kadar izin verilen maksimum süre belirlenmelidir. Santrifüj sonrasında örneklerin uygun olup olmadığı (özellikle hemoliz açısından), tekrar gözden geçirilmelidir. Saklama için izin verilen maksimum süre ve gerekli sıcaklık da yine belirtilmelidir (Rustad ve Felding 2004).

2.5. Kan Örneklerinin Ayrılması

Kan örneği alındığı andan itibaren 2 saat içinde mutlaka serumu ayrılmalıdır. Serumun zamanından önce ayrılması, fibrin oluşumunun devam etmesi nedeniyle, analiz cihazındaki örnek problemlerinin tıkanmasına yol açabilir. Düz veya silikon kaplı cam tüplerde pıhtılaşma 20-30 dakika içinde tamamlanırken, plastik tüplerde bu süre uzundur (Burtis ve Ashwood 2005, Zhang ve ark. 1998). Kan örneği 2 saat içinde santrifüj edilemeyecekse, hemoliz riskini azaltmak için örnek 4°C’de değil, oda sıcaklığında saklanmalıdır. Örnek, aynı gün içinde analiz edilecekse, ayrılan serum analize kadar ağzı kapatılmış bir tüpün içinde, 4°C’ de tutulmalıdır. Aynı gün içinde analiz edilmeyen örnekler -20°C’ de saklanmalıdır (Burtis ve Ashwood 2005).

2.6. Referans aralığı tayininde veri sayısının önemi

NCCLS dökümanlarında, non-parametrik yöntemlerle 120 verinin % 90 güven aralığı için yeterli olacağı belirtilmektedir (Geffre ve ark. 2009, Balcı 2006, NCCLS C28-A). % 95 güven aralığında 153 veri ve % 99 güven aralığında ise 198 veri gerektiği ortaya konmaktadır. Benzer bir çalışma Horn ve arkadaşları tarafından da yapılmıştır; burada 20, 40, 60, 80, 100, 120 denek sayılarında nonparametrik, parametrik transformasyon ve bu iki metodun modifiye tipleri kullanılmıştır (Horn 1998). Sonuçlara göre 120 veriden yöntemler arasında minimal fark varken veri sayısı düştükçe özellikle non-parametrik yöntemler etkilerini yitirmektedir. 120 verinin altındaki denek sayılarında modifiye nonparametrik yöntemler ise daha iyi sonuçlar vermiştir. Başka bir çalışmada Gaussian istatistiği yani parametrik yöntemlerle, minimum 30 veri ile çalışma yapmanın mümkün olacağı ileri sürülmektedir (Balcı 2006). Veri sayısının artması Gaussian istatistiğini daha kuvvetli kılmaktadır, ancak dağılımda uç değerlerin daha fazla bulunmasına yol

açabilmektedir. Bu konuda yapılmış diğer çalışmalarda da bu durum ele alınmaktadır (Balci 2006, Haris ve Boyd 1995, Lot ve Mitchell 1992).

İstatistiksel olarak da; gruptaki veri sayısı önemlilik testlerinde güçlü bir etmendir. Çünkü:

1. Gruptaki veri sayısı arttıkça kullanılan testin gücü ve güvenilirliği artar.
2. Kullanılacak testin uygun olarak seçiminde önemli bir kriterdir. Gruptaki veri sayısı az olduğunda parametrik olmayan testler kullanılmalıdır. Çünkü veri sayısı azaldıkça parametrik testlerde varsayımların bozulma olasılığı artar (Sümbüloğlu 2007, Özdamar 2003).

2.7. Aşırı Uç Değerlerin Belirlenmesi

Hatalı bir değer izlendiği zaman, ilk önce belirlenen prosedürdeki büyük bir sapmadan kaynaklandığı gözlenebilir. Böyle değerler ya uygun referans değerlerden çok uzak değerdedir (aşırı uç değerler) veya referans dağılımın içinde gizli olabilmektedir. Sadece çok titizlikle hazırlanan ve her aşamada izlenen bir protokol ile gizlenmiş olan hatalar ortaya çıkabilir (Burtis ve Ashwood 2005). Aşağıda belirtilen iki problem en çok karşılaşılanlardır:

- İstatistik testlerinde çoğu testler kullanılmadan önce gerçek dağılımın tipi öngörülebilmektedir. Bazı testler spesifik olarak Gaussian dağılımına gereksinim duyar. Fakat, biyolojik dağılımların çoğu Gaussian dağılımı göstermez ve tipleri nadiren bilinir. Aralık 'range' testi oldukça sağlam bir testtir ve iki en yüksek (veya en düşük) değer arasındaki fark, tüm değerlerin aralık değerinin 1/3'ünü geçiyorsa o değere aşırı uç değer uygulaması yapılır ve hesaba alınmaz (Burtis ve Ashwood 2005, IFCC Part 3 1988, IFCC Part 1 ve Part 2 1987).
- Aşırı uç değer saptama testlerinin bazılarında tek aşırı uç vardır. Bundan dolayı aralık testi birden fazla aşırı uç olduğu durumlarda işe yaramamaktadır (Burtis ve Ashwood 2005).

Sapan değerler aşırı uç eğiliminde olsalar da hemen aşırı uç uygulaması yapılmamalıdır. Değerlerin hesaplamaya alınması veya hesaplamaya alınmaması kararı

mantığa dayalı olmalıdır. Şüpheli değerlerin kayıtları kontrol edilmeli, hata var ise düzeltilmelidir (Burtis ve Ashwood 2005).

Parametrik istatistik kullanılacaksa dağılımın normal dağılıma uygunluğu kabul edildikten sonra, aritmetik ortalamanın ± 3 SD veya ± 4 SD sınırları dışındaki değerler atılır ve hesaplamalara katılmaz. Non-Parametrik istatistik kullanılacaksa aşırı uç değer saptanması Dixon Aralık İstatistiği, D/R Kuralı kullanılarak yapılır.

D; en uçdeğer –yanındaki değer

R ; tüm veriler arasındaki aralık

D/R > 0.33 ise veri hesaba katılmaz.

Dixon metodunda dağılımın alt ve üst noktalarında bulunabilecek uç değerler aranır. Burada veriler küçükten büyüğe doğru sıralanır (Balcı 2006, Reed 1971).

Eğer $x(n)$ 'in uç değer olduğu test edilecekse,

$$r = \frac{x(n) - x(n-1)}{x(n) - x(1)}$$

Yukarıdaki formül ile r bulunur. Bu bir oranı ifade eder; r 'in büyüklüğü $1/3$ ' ün üzerinde ise $x(n)$ bir uç değerdir ve atılmalıdır. Eğer birinci değer test edilecekse, aşağıdaki formül kullanılır:

$$r = \frac{x(2) - x(1)}{x(n) - x(1)}$$

r değeri $1/3$ ' ün üzerinde ise birinci değer, yani $x(1)$ bir uç değerdir ve atılmalıdır. Burada dikkat edilmesi gereken ikisi de uç değer olan iki değeri formüle koyarak kıyaslamamaktır. Bu durumda yanıltıcı olarak ayıklama yapılamayabilir. Hatayı önlemek için mutlaka; en sondan 3. değeri de aynı formülle test etmek gerekir (Balcı 2006, Taga ve ark. 2002).

2.8. Referans Sınırların Saptanması

Klinik yorumlamalarda hastanın laboratuvar sonuçları iki sınır arasındaki referans aralığıyla karşılaştırılır. Bu aralık, farklı yollarla hesaplanırsa da, toplam referans değerleri setinden elde edilir (Burtis ve Ashwood 2005).

Üç çeşit referans aralık önerilmektedir. Bunlar; tolerans aralığı, öngörü aralığı ve yüzdelikler arasındaki aralıktır (Burtis ve Ashwood 2005, IFCC Part 3 1988, IFCC Part 1 ve Part 2 1987). Yüzdelikler arasındaki aralık hesaplanması en kolay olanıdır, oldukça yaygın kullanılır ve IFCC tarafından önerilmektedir (IFCC Part 3 1988, IFCC Part 1 ve Part 2 1987). Referans dağılımın iki yüzdeliği ile belirlenen aralık olarak tanımlanır.

Referans aralığın 2.5 ve 97.5 yüzdeliklerle çevrili olan merkezi % 95'lik alan olarak tanımlanır ve bu tanımlama tam anlamıyla bir temele dayanmamaktadır, fakat geleneksel olarak kabul görmektedir (Burtis ve Ashwood 2005). Diğer bir deyişle, referans dağılımının her iki tarafından % 2.5' luk değerler kesilmiştir (Burtis ve Ashwood 2005).

Popülasyon değeri olarak yüzdelik değerlerin kesinliği verilerin sayısına bağlıdır; veri sayısı azaldıkça kesinlik azalır. Teorik olarak 2.5 ve 97.5 yüzdeliklerin hesaplanabilmesi için gereken en az değer sayısı 40 olmalıdır; fakat uygun ve geçerli referans aralıkların hesaplanabilmesi için en az 120 referans değeri gereklidir (Burtis ve Ashwood 2005).

2.9. Referans Aralığı Tayininde İstatistiksel Yöntemler

Referans aralığı tayininde kullanılan istatistiksel yöntemler parametrik ve parametrik olmayan (nonparametrik) yöntemlerdir. Yüzdelikler arasındaki aralık her iki yöntemle de hesaplanabilir. Parametrik yöntemde yüzdelikler ve güven aralıkları hesaplanırken dağılımın belirli tipte olduğu varsayılır ve hesaplamalarda ortalama ve SD gibi popülasyon parametreleri kullanılır. Örneğin, parametrik yöntemde referans verilerinin Gaussian dağılımına uyduğuna inanılır ve referans sınırları ortalamanın iki SD altında ve üzerinde olarak hesaplanır. Parametrik olmayan yöntemde dağılım için hiçbir varsayımda bulunulmaz ve hesaplamalarda dağılım parametreleri kullanılmaz (Burtis ve Ashwood 2005).

Her iki yöntem ile sonuçlar elde edildikten sonra birbiriyle karşılaştırılır. Tek fark; parametrik yöntem ile elde edilenler, özellikle daha küçük birey sayılı parametrik olmayan yöntemle göre daha kesindir. (Sümbüloğlu 2007, Burtis ve Ashwood 2005)

2.9.1. Parametrik yöntemler

Parametrik yöntem, parametrik olmayan yöntemle göre çok daha komplikedir ve veri sayısı yüksek olunca bilgisayar istatistik programları gerekir (Burtis ve Ashwood 1999, Haris ve Boyd 1995, Solberg 1995, IFCC Part 3 1988, IFCC Part 1 ve Part 2 1987). Parametrik yöntemde yüzdelerinin hesaplanmasında dağılımın Gaussian dağılım olduğu varsayılır. Bundan dolayı parametrik yöntemde, kritik aşama, verilerin dağılımının hipotetik Gaussian dağılımına göre uyum-iyiliği testi ile değerlendirilmesi gerekir. Uyum iyiliği testi yapan birçok istatistik program bulunmaktadır. Bunlar; çarpıklık ve diklik katsayılarına dayalı test, Kolmogorov-Smirnov testi veya Anderson-Darling testidir (Burtis ve Ashwood 2005, Solberg 1995, IFCC Part 3 1988, IFCC Part 1 ve Part 2 1987).

Referans dağılım Gaussian dağılımından anlamlı olarak farklı değilse, 2.5 ve 97.5 yüzdeler ortalamanın her iki tarafına 2 SD eklenerek hesaplanır. Daha kesin hesaplamak için:

$$2.5 \text{ yüzdeler} = \text{mean} - 1.96 \times \text{SD}$$

$$97.5 \text{ yüzdeler} = \text{mean} + 1.96 \times \text{SD}$$

Her iki yüzdeliğin 0.90 güven aralıkları aşağıdaki sınır formülleriyle hesaplanır:

$$\text{Alt güven aralığı} = \text{yüzdeler sınırı} - 2.81 \times \frac{\text{SD}}{\sqrt{n}}$$

$$\text{Üst güven aralığı} = \text{yüzdeler sınırı} + 2.81 \times \frac{\text{SD}}{\sqrt{n}}$$

Referans dağılım Gaussian değil ise, matematiksel transformasyon ile Gaussian dağılımına uyması sağlanabilir (Burtis ve Ashwood 1999, Solberg 1995).

2.9.2. Parametrik Olmayan Yöntemler

Çeşitli sayıda parametrik olmayan yöntem bulunmaktadır. Sıralanmış ve numaralanmış verilerle hesaplanan daha basit ve güvenilir bir yöntemdir. Yüzdelerinin

güven aralıklarının hesaplanma yollarını gösterir (Burtis ve Ashwood 2005, Haris ve Boyd 1995, IFCC Part 3 1988, IFCC Part 1 ve Part 2 1987).

Prosedürü aşağıdaki gibi özetleyebiliriz:

- 1- n sayıdaki referans değeri küçükten büyüğe doğru sıralanır. Her biri birden başlamak üzere numaralanır. Aynı değerlere de sıralı numaralar verilir.
- 2- 2.5 ve 97.5 yüzdelerinin sıra numaraları, sırasıyla $0.025(n+1)$ ve $0.975(n+1)$ formülleriyle hesaplanır.
- 3- Hesaplanan sıra numaralarında ki orijinal referans değerleri yüzdeler olarak belirlenir. Hesaplanan sıra numaraları tam sayı değil ise kurala göre tam sayıya yuvarlanır.
- 4- En son basamakta, her yüzdeliğin güven aralığı binominal dağılım özelliğinden yararlanılarak hesaplanır (Burtis ve Ashwood 2005).

‘Bootstrap’ Hesaplama: Bu yöntem parametrik olmayan yöntemin daha genişletilmiş şeklidir (Haris ve Boyd 1995, Shultz ve ark. 1985). Yöntem aşağıdaki basamaklarla uygulanır:

1. n referans değer setinden, yenisiyle değiştirme yoluyla, n büyüklüğünde rastgele örneklem çekilmelidir.
2. Her örneğin üst ve alt referans sınırları sıralamaya dayalı parametrik olmayan prosedür ile hesaplanmalıdır. Sadece güven aralıklarının hesaplandığı son basamak uygulanmaz.
3. İki referans sınırının yeniden örnekleminin ortalaması hesaplanmalı ve iki ortalama değeri son değerler olarak kullanılmalıdır.
4. Her referans sınırının 0.90 güven aralığı $m \pm 1.645 \times s$ formülü ile hesaplanabilir. m alt ve üst referans aralığının ortalamasıdır, s ortalamasının standart sapmasıdır (Burtis ve Ashwood 2005).

Referans sınırların ve güven aralıklarının hesaplanması yöntemleri arasında en uygun olanı ‘bootstrap’ yöntemi gibi görünmektedir (Solberg 1995).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 01.05.2009 – 27.04.2010 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez laboratuvarına başvuran bireyler arasında yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce Kocaeli Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik kurulundan onay alınmıştır. Hastalar araştırmayla ilgili bilgilendirilmiş ve onam formları alınmıştır.

Bu çalışmada NCCLS' nin önerilerine göre hazırlanan anketler yardımıyla A priori yöntem kullanılarak referans bireyler seçildi.

160 kadın (yaş aralığı 18-74; 40 ± 15.88), 89 erkek (yaş aralığı 18-76; $36,78 \pm 14$) olmak üzere toplam 249 birey çalışmaya katıldı. Katılan bireylere uygulanan anket şekil 1.de gösterilmiştir.

Anketler sonucu uygun olan bireylerin, açlık kan örneklerinden elde edilen sonuçlar, analizler yapıldıktan sonra toplandı.

Bu çalışmada laboratuvarımızda ölçülen biyokimya testlerinden 24 adetini inceledik. Bunlar: glukoz, üre, kreatinin, total bilirubin, direk bilirubin, AST, ALT, GGT, ALP, LDH, amilaz, albümin, total protein, kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum, potasyum, klor, trigliserid, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol ve ürik asittir.

Kan örnekleri laboratuvarımızın kan alma ünitesinde sabah 08:00-12:00 arasında ayaktan başvuran hastalardan oturur pozisyonda antekübital venden kuru tüplere alındı. Alınan örnekler 3500 rpm de 10 dk santrifüj edildikten sonra bekletilmeden Abbott Aeroset otoanalizöründe orijinal kitleri ile çalışıldı.

Albumin, kalsiyum, kolesterol, kreatinin, glukoz, fosfor, total protein, trigliserid, üre ve ürik asit testlerinin kalibrasyonunda Multiconstituent kalibratör kullanıldı. HDL-kolesterolun, Architect/Aeroset HDL kalibratörle, total ve direk bilirubinin, Architect/Aeroset bilirubin kalibratörle, sodyum, potasyum ve klorun Architect/Aeroset ICT serum kalibratörle, magnezyumun, Architect/Aeroset iron/magnezyum kalibratörle, kalibrasyonları yapıldı.

Biyokimyasal parametreler için Bio-Rad Lyphochek Assayed Chemistry Control Levels 1 ve levels 2 kontrol serumları internal kalite kontrolünde kullanılmaktadır. Ayrıca, merkez laboratuvarı biyokimya bölümü analitleri için Equas external kalite kontrolü uygulanmaktadır.

Şekil 1. NCCLS' nin önerilerine göre hazırlanan anket formu

AD:			
SOYAD:			
ÖRNEK NO (dosya no):			
Telefon:			
Yaş:			
Cinsiyet:			
İrk:			
Boy:			
Ağırlık:			
Meslek:			
Kendinizi sağlıklı hissediyormusunuz?	Evet	Hayır	
Düzenli olarak egzersiz yapıyor musunuz?	Evet	Hayır	
Evet ise ne kadar sıklıkta? (saat/hafta)			
Aktivitenin derecesi	hafif	orta	ağır
Son zamanlarda hiç rahatsızlandınız mı?			
Evet ise ne zaman ve neden?			
Reçete edilmiş ilaç alıyormusunuz?			
Eğer evet ise ne kullanıyorsunuz?			
Ne kadar süredir?			
En son ne zaman ilaç aldınız?	Adı:		
Vitamin ilacı alıyormusunuz?			
Hamile misiniz?			
Emzirme varmı?			
Hipotansiyon veya hipertansiyon var mı?			
İlaç bağımlılığı varmı?			
Meslek hastalığınız varmı?			
Ailede bilinen genetik bir hastalık varmı?			
Son zamanlarda ameliyat geçirdiniz mi?			
Son zamanlarda kan nakli yapıldı mı?			
Sigara kullanıyormusunuz?	Günde kaç adet?		

Analitlerin Tayin Yöntemleri:

Glukoz; Hekzokinaz yöntemi ile 340 nm'de,

Üre; Üreaz yöntemi (NH_3 ile α -ketoglutarat reaksiyonunda NADH miktarında azalmanın 340 nm'de kinetik ölçümü) ile,

Kreatinin; Kinetik Alkalın Pikrat yöntemi ile 500 nm'de,

Total bilirubin; Diazonium salt 548 nm 'de,

Direk bilirubin; Diazomium salt 548 nm 'de,

AST; L-aspartat, α -ketoglutarat, NADH ile 340 nm'de (UV without pridoksal-5-fosfat),

ALT; Alanin, α -ketoglutarat, NADH ile 340 nm 'de (UV without pridoksal-5-fosfat),

GGT; L- Gama-glutamil-3-karboksi-4-nitroanilid substratı ile 412 nm' de,

LDH; Laktat to prüvat yöntemiyle 340 nm 'de,

ALP; Para-nitrofenil Fosfat yöntemi ile 404 nm' de,

Amilaz; CNPG3 substratı ile 404 nm'de,

Total protein; Biüret yöntemi ile,

Albümin; Bromcresol green yöntemi ile 628 nm'de,

Na, K, Cl; ISE indirek yöntemi ile,

Ca; Arsenazo yöntemi ile

Mg; Arsenazo yöntemi ile 572 nm

P; Fosfomolibdat yöntemi ile 340 nm

Ürik asit; ürikaz yöntemi ile

Trigliserid; Gliserol fosfat oksidaz yöntemi ile,

Total Kolesterol; kolesterol oksidaz yöntemi ile 500 nm'de,

HDL; direkt:non-immunolojik yöntem ile

olmak üzere tüm testler Abbott Aeroset otoanalizöründe çalışılmıştır.

LDL kolesterol düzeyleri; Friedwald yöntemi ile hesaplanmıştır.

İstatistiksel Değerlendirmeler:

İstatistiksel analizlerde SPSS 13.0 (Statistical Package for Social Sciences) bilgisayar programı kullanıldı. Normalite testleri yapıldı ve histogramları çizildi. Normal dağılıma uygunluk için Shapiro-Wilks testi yapıldı. Ortalama değerler ve standart deviasyon Analyse/ Descriptive Statistics/Explore basamakları uygulanarak hesaplandı. Cinsiyete bağlı referans belirlemede Mann-Whitney U testiyle incelendi.

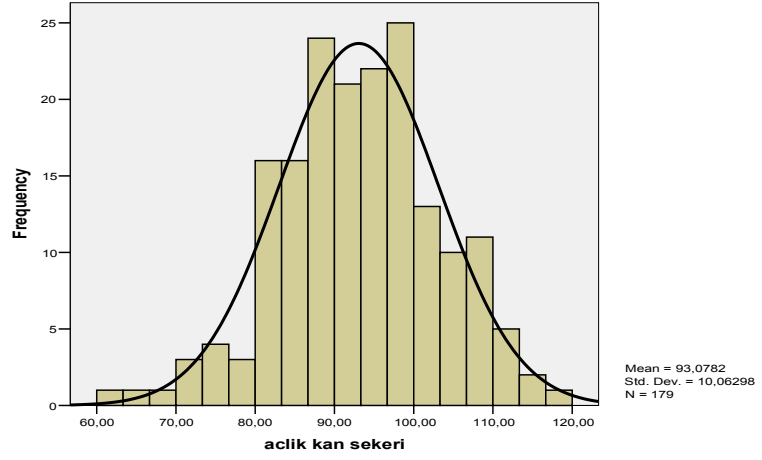
4. BULGULAR

Tüm parametrelerde, normalite test sonuçları tablo 1’de verilmiştir.

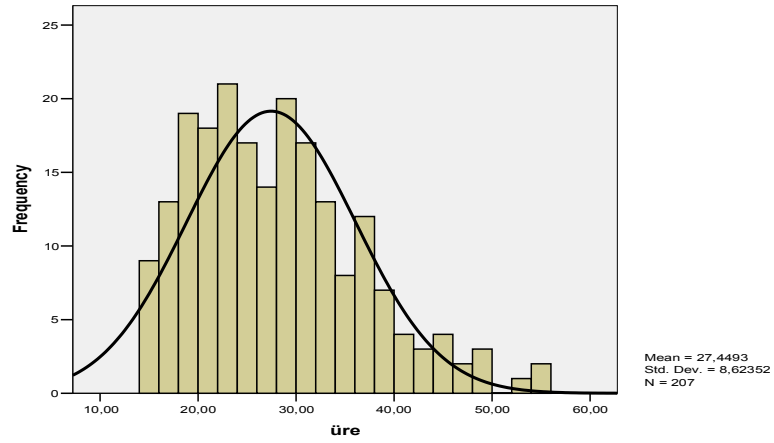
Tablo 1. Parametrelerin normalite test sonuçları

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Glukoz	,343	3	.	,842	3	,220
Üre	,314	3	.	,893	3	,363
Kreatinin	,175	3	.	1,000	3	1,000
Total bilirubin	,226	3	.	,983	3	,752
Direk bilirubin	,314	3	.	,893	3	,363
AST	,211	3	.	,991	3	,817
ALT	,246	3	.	,970	3	,668
GGT	,385	3	.	,750	3	,000
LDH	,369	3	.	,789	3	,089
ALP	,292	3	.	,923	3	,463
Amilaz	,265	3	.	,954	3	,587
Total protein	,385	3	.	,750	3	,000
Albumin	,232	3	.	,980	3	,726
Na	,175	3	.	1,000	3	1,000
K	,343	3	.	,842	3	,220
Ca	,385	3	.	,750	3	,000
Mg	,175	3	.	1,000	3	1,000
P	,253	3	.	,964	3	,637
Cl	,314	3	.	,893	3	,363
Ürik asit	,362	3	.	,803	3	,122
Trigliserid	,233	3	.	,979	3	,721
Total kolesterol	,270	3	.	,948	3	,562
HDL kolesterol	,370	3	.	,786	3	,081
LDL kolesterol	,294	3	.	,920	3	,454

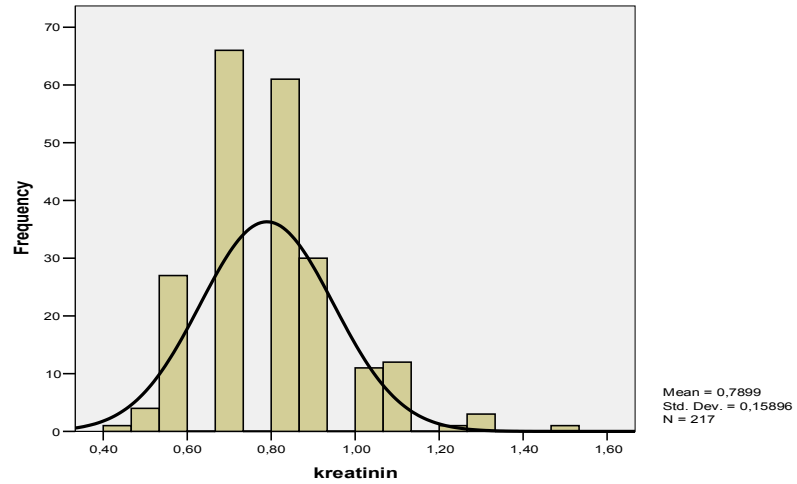
Şekil 2. Glukoz' un tüm grupta referans dağılımı



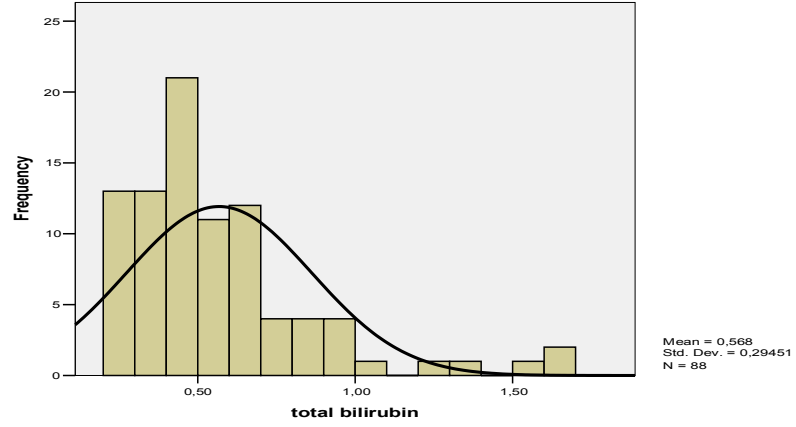
Şekil 3. Üre' nin tüm grupta referans dağılımı



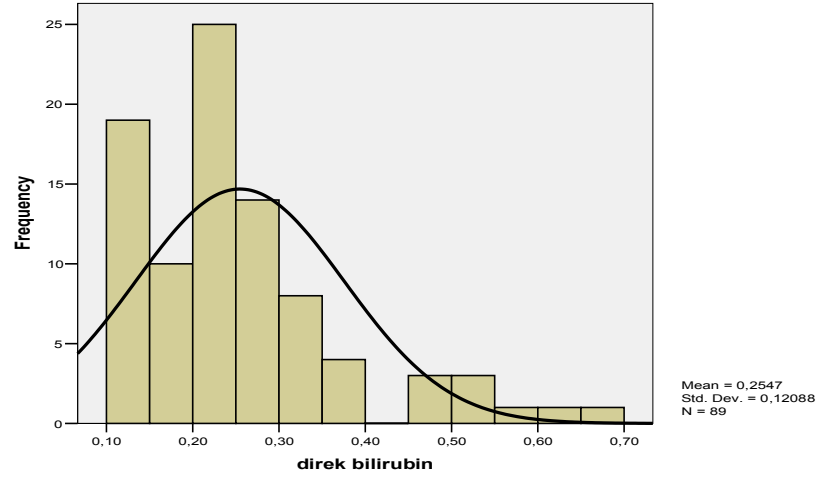
Şekil 4. Kreatinin' in tüm grupta referans dağılımı



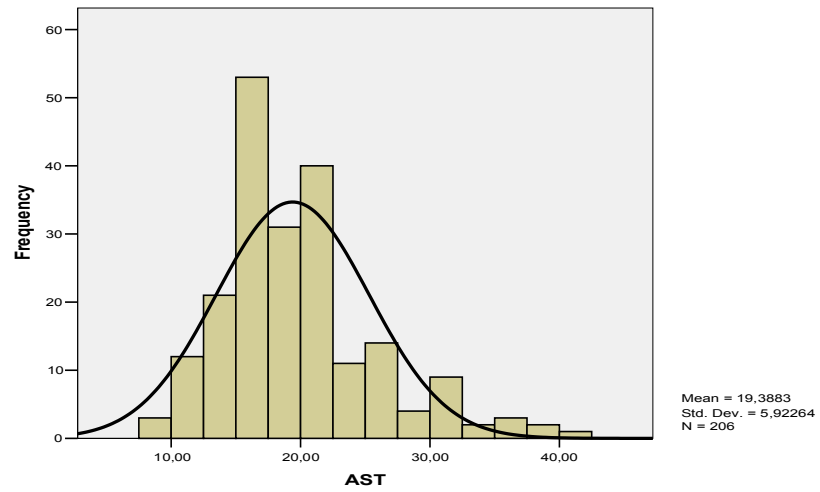
Şekil 5. Total bilirubin' in tüm grupta referans dağılımı



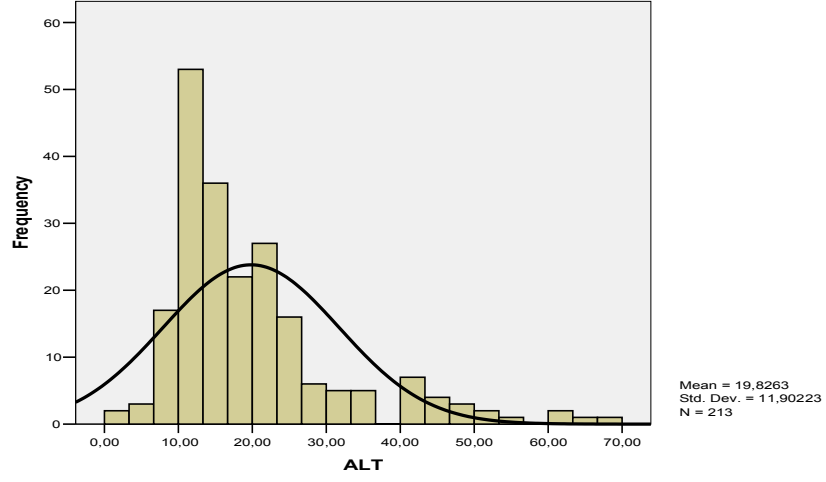
Şekil 6. Direk bilirubin' in tüm grupta referans dağılımı



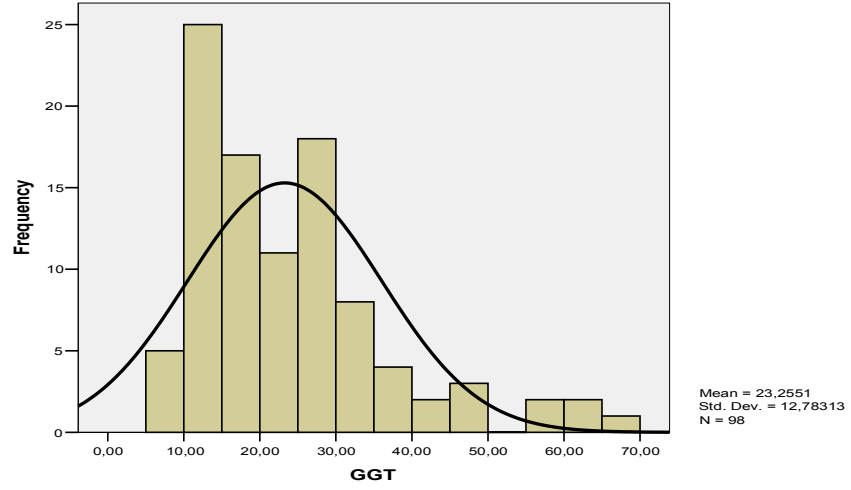
Şekil 7. Aspartat transaminaz'ın tüm grupta referans dağılımı



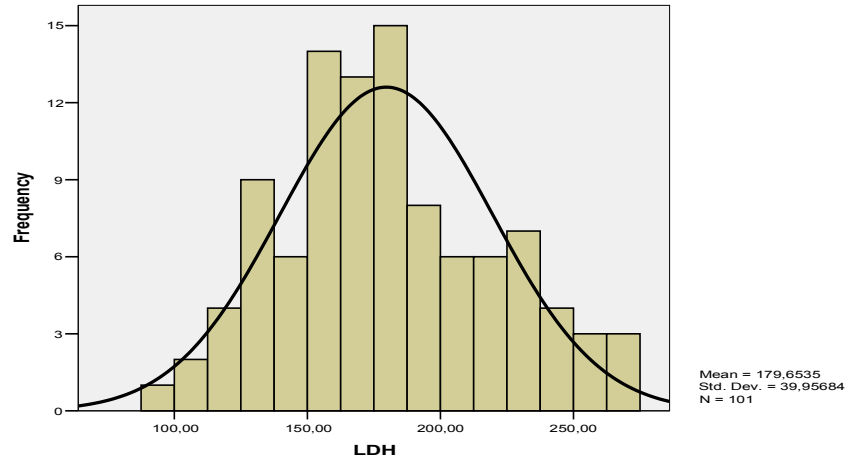
Şekil 8. Alanin transaminaz'ın tüm grupta referans dağılımı



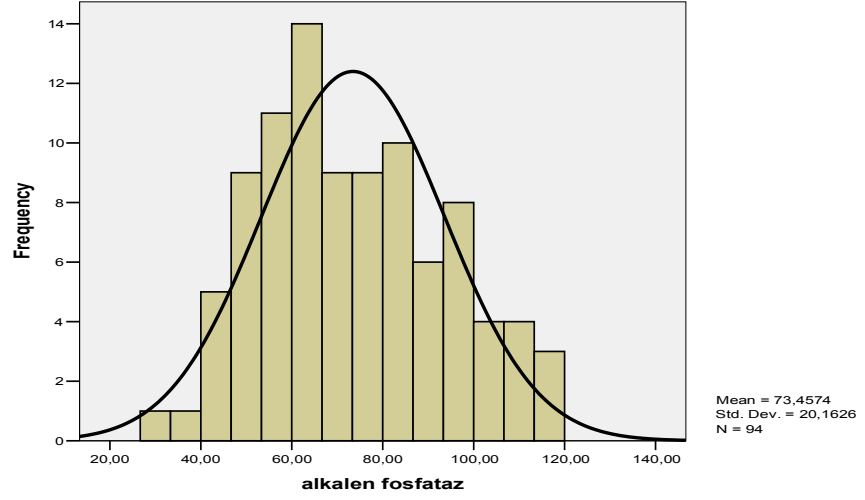
Şekil 9. Gama glutamil transferaz'ın tüm grupta referans dağılımı



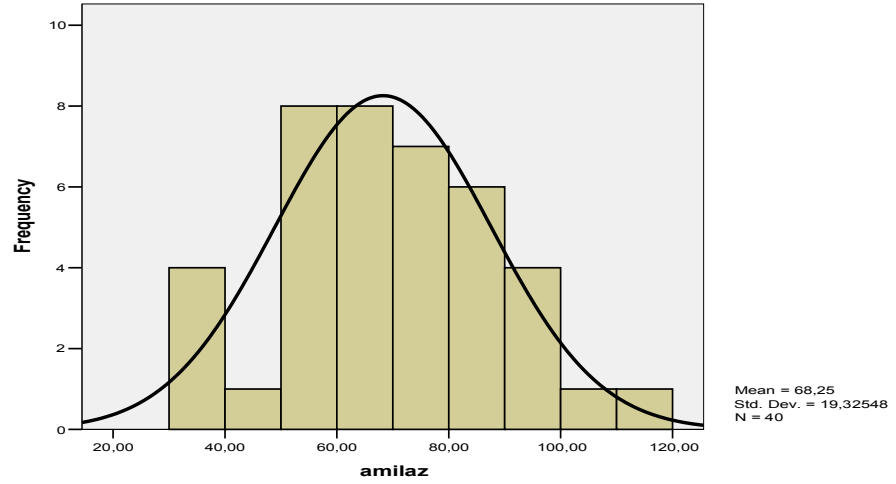
Şekil 10. . Laktat dehidrogenaz'ın tüm grupta referans dağılımı



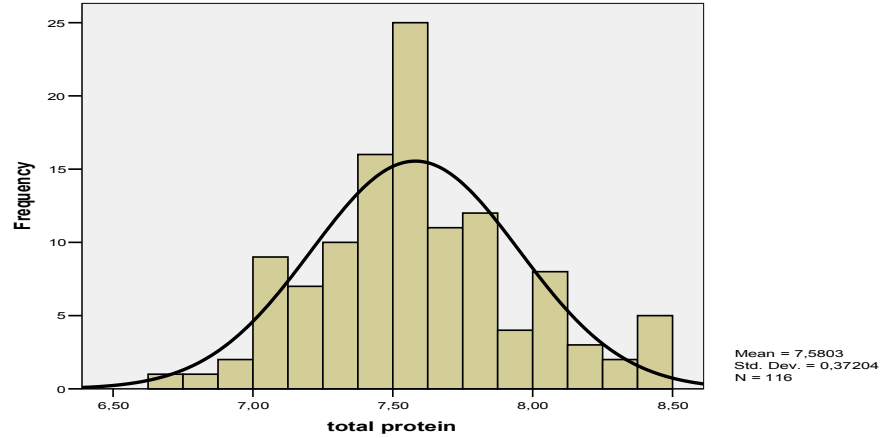
Şekil 11. Alkalen fosfataz 'ın tüm grupta referans dağılımı



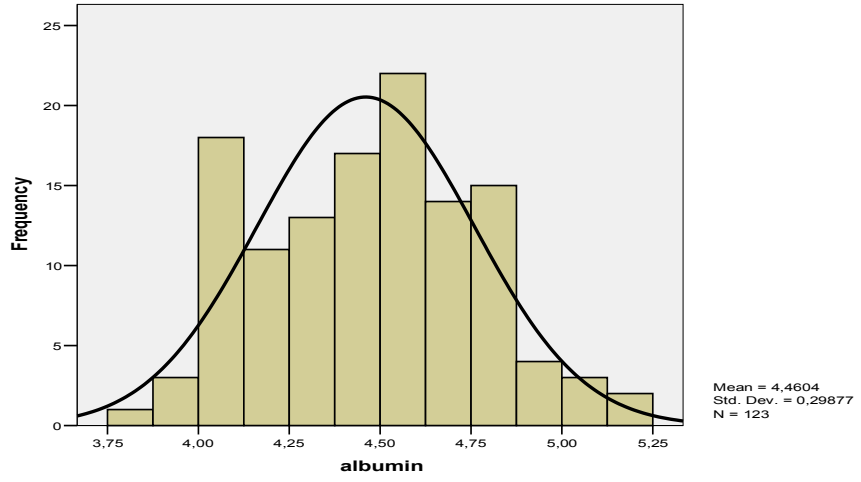
Şekil 12. Amilaz 'ın tüm grupta referans dağılımı



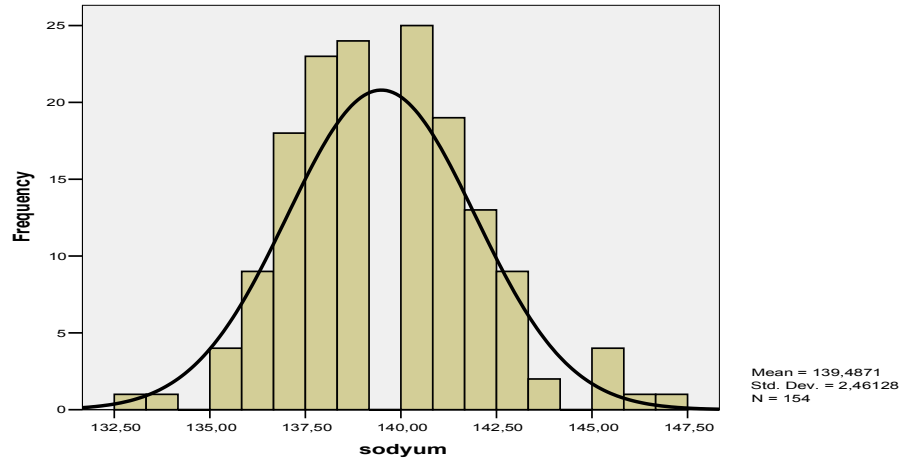
Şekil 13. Total protein'in tüm grupta referans dağılımı



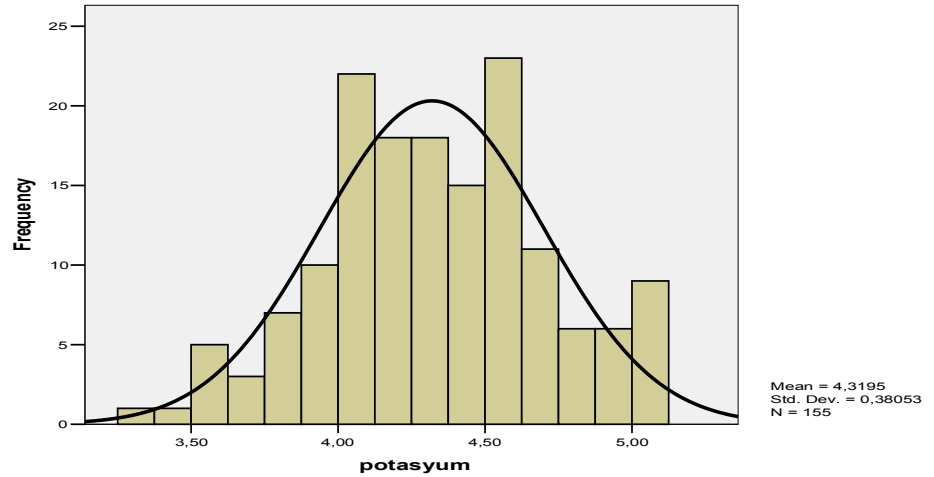
Şekil 14. Albumin'in tüm grupta referans dağılımı



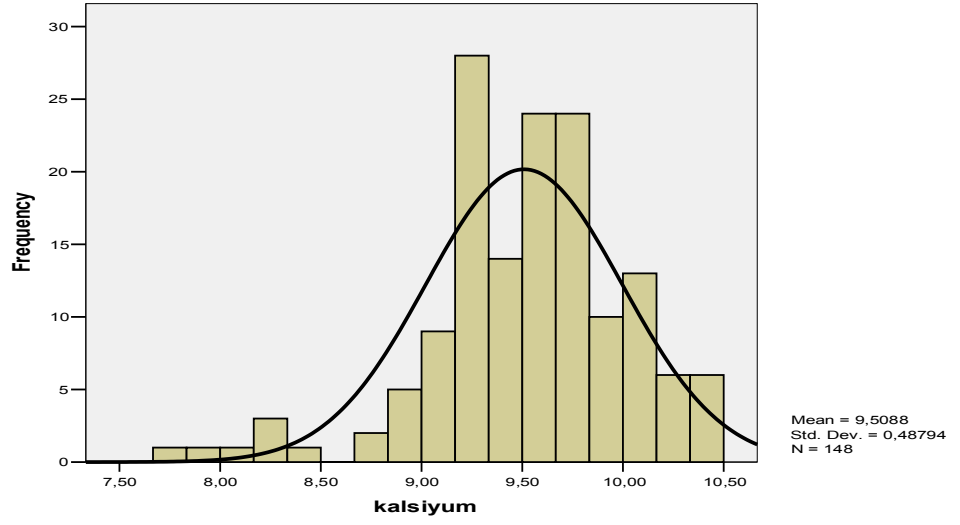
Şekil 15. Sodyum'un tüm grupta referans dağılımı



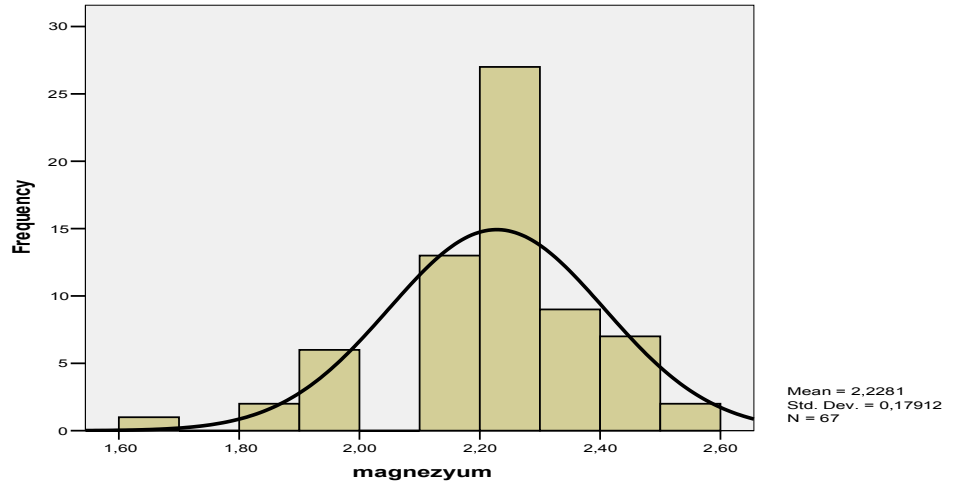
Şekil 16. Potasyum'un tüm grupta referans dağılımı



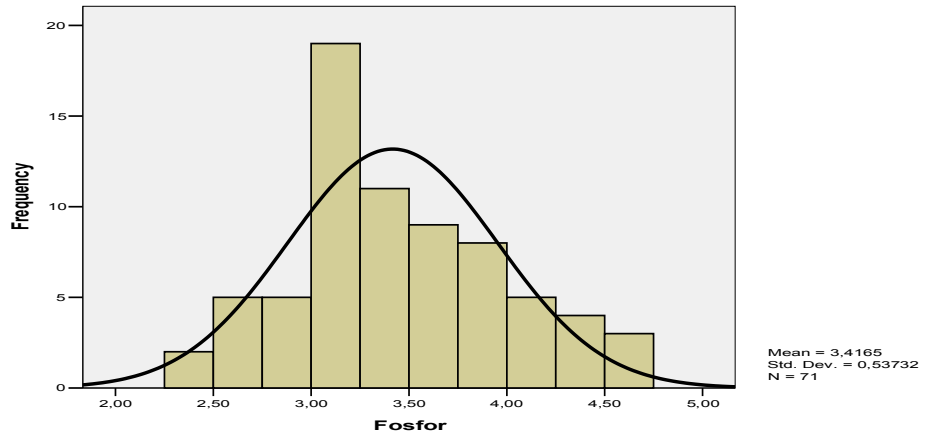
Şekil 17. Kalsiyum'un tüm grupta referans dağılımı



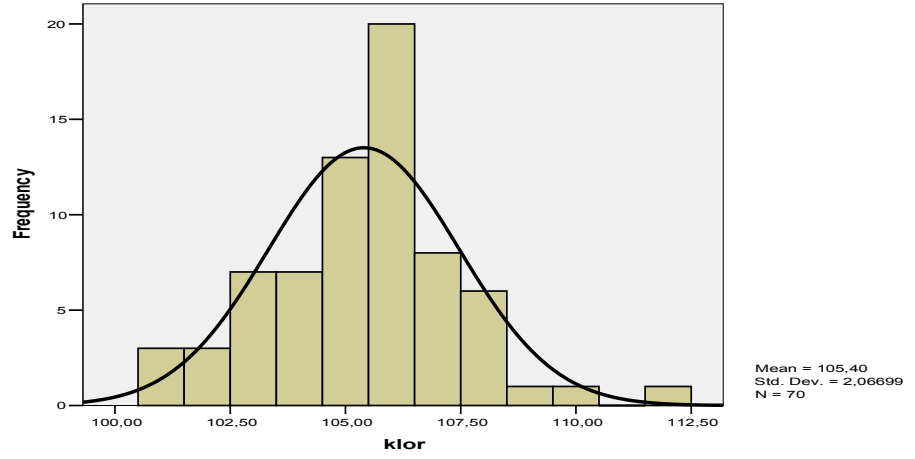
Şekil 18. Magnezyum'un tüm grupta referans dağılımı



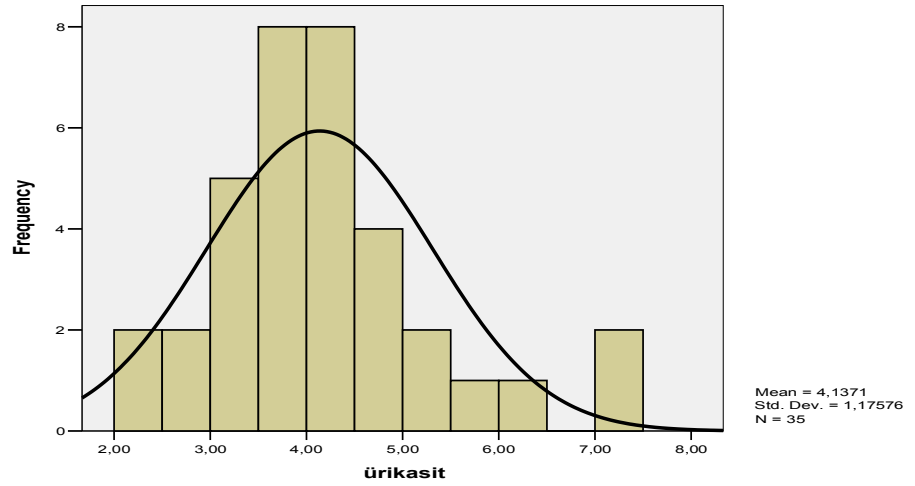
Şekil 19. Fosfor'un tüm grupta referans dağılımı



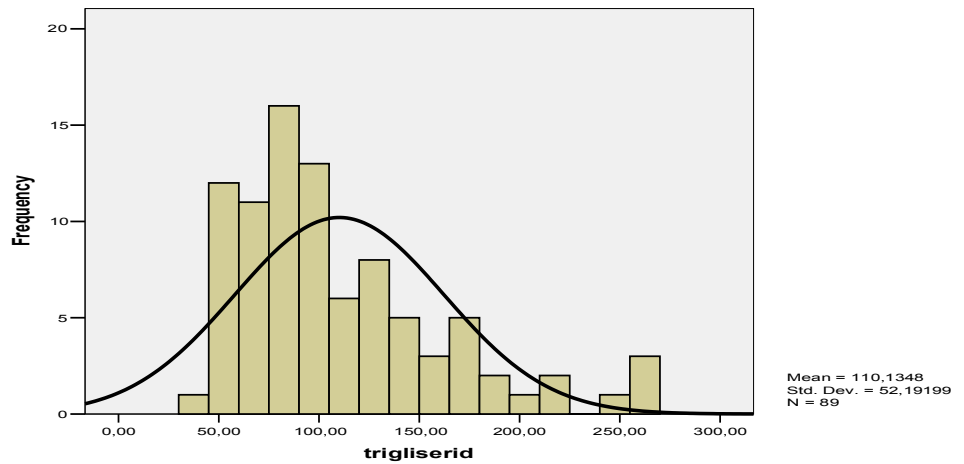
Şekil 20. Klor' un tüm grupta referans dağılımı



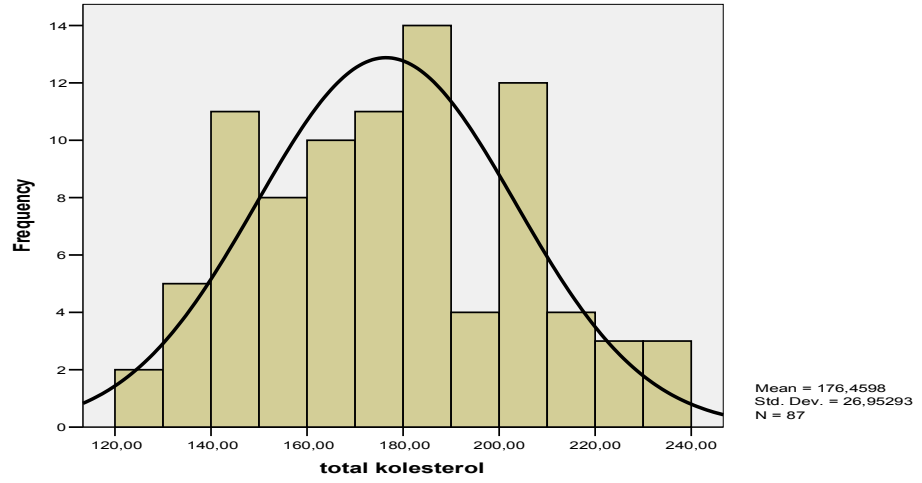
Şekil 21. Ürik asit'in tüm grupta referans dağılımı



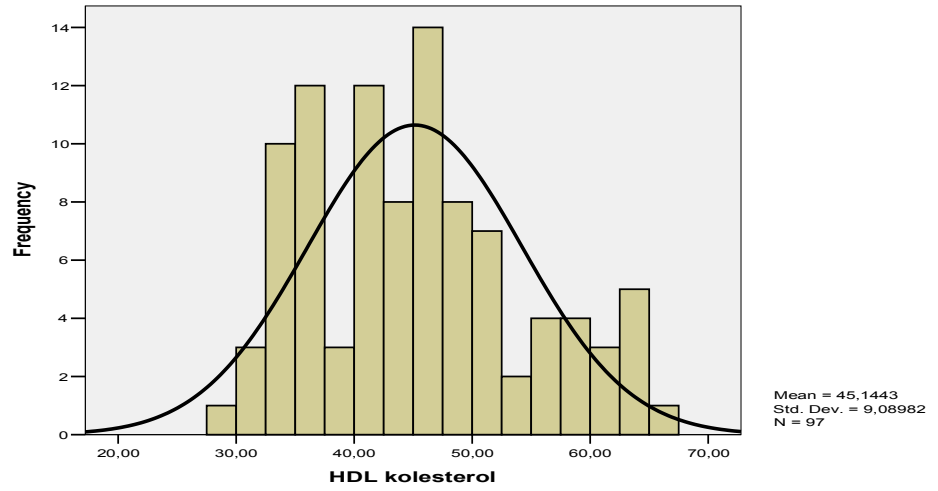
Şekil 22. Trigliserid'in tüm grupta referans dağılımı



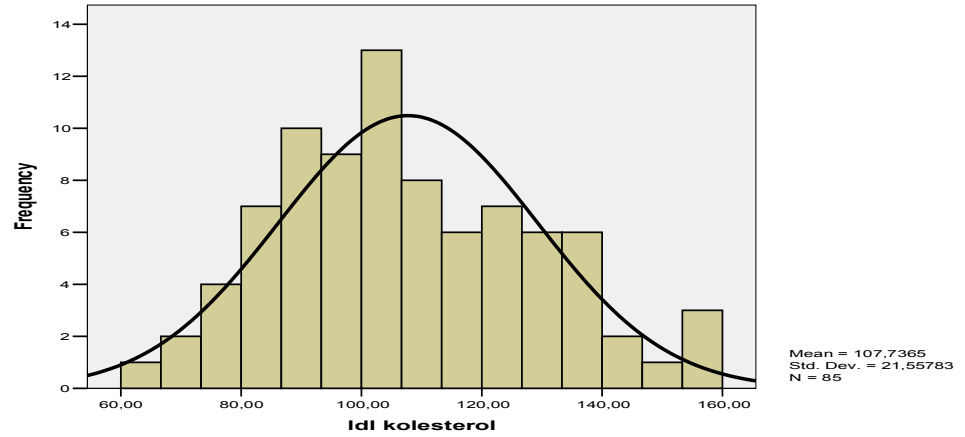
Şekil 23. Total Kolesterol'un tüm grupta referans dağılımı



Şekil 24. HDL kolesterol'un tüm grupta referans dağılımı



Şekil 25. LDL kolesterol'un tüm grupta referans dağılımı



Laboratuvarımızda halen kullanmakta olduğumuz referans aralıkları Tablo 2’de gösterilmektedir.

Tablo 2. KOÜ Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında Kullanılmakta olan Referans Değerler

Test	Referans Aralığı	Birim
Glukoz	70-105	mg/dL
Üre	15-55	mg/dL
Kreatinin	0.6-1.3	mg/dL
Total bilirubin	0.2-1.2	mg/dL
Direk bilirubin	0.0-0.5	mg/dL
AST	5-34	U/L
ALT	0-55	U/L
GGT	9-64	U/L
LDH	125-245	U/L
ALP	40-150	U/L
Amilaz	25-125	U/L
Total protein	6.4-8.3	g/dL
Albumin	3.5-5.0	g/dL
Na	136-145	mEq/L
K	3.5-5.1	mEq/L
Ca	8.4-10.2	mg/dL
Mg	1.6-2.6	mg/dl
P	2.7-4.5	mg/dl
Cl	98-107	mEq/L
Ürik asit	2.6-7.2	mg/dL
Trigliserid	0-150	mg/dL
Total kolesterol	0-200	mg/dL
HDL kolesterol	>60	mg/dL
LDL kolesterol	0-130	mg/dL

Tablo 3. Tüm parametrelerde, katılımcı sayısı (N), minimum-maksimum değerler, mean \pm SD ve % 95 güven aralıkları

	N	Minimum	Maximum	Mean	SD	%95 güven aralığı
Glukoz	179	62	117	93,07	10,06	91,59 - 94,56
Üre	207	14	55	27,44	8,62	26,26 - 28,63
Kreatinin	217	0,4	1,5	0,79	0,158	0,76 - 0,81
Total bilirubin	88	0,21	1,64	0,57	0,29	0,50 - 0,63
Direk bilirubin	89	0,1	0,69	0,25	0,12	0,23 - 0,28
AST	206	8	41	19,38	5,92	18,57 - 20,20
ALT	213	1	68	19,82	11,9	18,21 - 21,43
GGT	98	6	68	23,25	12,78	20,70 - 25,81
LDH	101	99	273	179,65	39,95	171,76 - 187,54
ALP	94	32	118	73,45	20,16	69,32 - 77,58
Amilaz	40	32	111	68,25	19,32	62,06 - 74,43
Total protein	116	6,7	8,5	7,58	0,37	7,51 - 7,64
Albumin	123	3,8	5,2	4,46	0,29	4,40 - 4,51
Na	154	133	147	139,48	2,46	139,09-139,87
K	155	3,3	5,1	4,32	0,38	4,25 - 4,37
Ca	148	7,8	10,5	9,5	0,48	9,42 - 9,58
Mg	67	1,7	2,6	2,22	0,17	2,18 - 2,27
Fosfor	71	2,3	4,57	3,41	0,53	3,28 - 3,54
Cl	70	101	112	105,4	2,06	104,9 - 105,9
Ürikasit	35	2,4	7,4	4,13	1,17	3,73 - 4,54
Trigliserid	89	37	258	110,13	52,19	99,14-121,12
Total kolesterol	87	121	232	176,45	26,95	170,71-182,2
HDL kolesterol	97	29	66	45,14	9	43,31- 46,97
LDL kolesterol	85	66,2	159,4	107,73	21,55	103 - 112

Tablo 4. Tüm gruplarda bulduğumuz referans değerler

Test	Veri sayısı	Mean	SD	Referans Aralık	Birim
Glukoz	179	93,07	10,06	73-113	mg/dL
Üre	207	27,44	8.62	19-45	mg/dL
Kreatinin	217	0,79	0,158	0,47-1.10	mg/dL
Total Bilirubin	88	0,57	0,29	0-1.15	mg/dL
Direk Bilirubin	89	0,25	0,12	0,01-0,49	mg/dL
AST	206	19,38	5.92	7.5-31	U/L
ALT	213	19,82	11,90	0-44	U/L
GGT	98	23,25	12.78	0-49	U/L
LDH	101	179.65	39.95	154-260	U/L
ALP	94	73.45	20.16	33-114	U/L
Amilaz	40	68.25	19.32	30-107	U/L
Total Protein	116	7.58	0.37	6.8-8.3	g/dL
Albumin	123	4.46	0.29	3.9-5.0	g/dL
Na	154	139.48	2.46	135-144	mEq/L
K	155	4.32	0.38	3.6-5.1	mEq/L
Ca	148	9.5	0.48	8.5-10.5	mg/dL
Mg	67	2.22	0.17	1.8-2.6	mg/dl
Cl	70	105,4	2,06	101-110	mEq/L
Fosfor	71	3,41	0,53	2.35-4.5	mg/dl
Ürik asit	35	4.13	1.17	1.80-6.5	mg/dL
Trigliserid	89	110.13	52.19	6-215	mg/dL
Total kolesterol	87	176.45	26.95	123-230	mg/dL
HDL kolesterol	97	45.14	9	28-63	mg/dL
LDL kolesterol	85	107.73	21.55	65-151	mg/dL

Glukoz sonuçları; halen kullanmakta olduğumuz referans değerlerinden farklı bulundu. Üst sınır daha yüksek olduğundan referans aralığı daha geniş bulundu (Tablo 2 ve 4). Cinsiyetler arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmadı (kadın $92,53 \pm 9,78$; erkek $94,20 \pm 10,61$ $p > 0,05$), (Tablo 5).

Üre sonuçları; çalışmamızda üst referans değerini, kullanmakta olduğumuz referans değerlerinden daha düşük bulduk (Tablo 2 ve 4). Kadın ve erkek arasında da istatistiksel açıdan anlamlı yükseklik bulduk (kadın $25,26 \pm 7,99$; erkek $31,45 \pm 8,34$ $p < 0,000$), (Tablo 5).

Kreatinin sonuçları; bulduğumuz sonuçlar halen kullanmakta olduğumuz sonuçlardan farklı idi. Alt sınır daha yüksek, üst sınır daha düşük bulundu, yani referans aralık daha dar idi (Tablo 2 ve 4). Kadın erkek arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (kadın $0,72 \pm 0,10$; erkek $0,90 \pm 0,17$ $p < 0,000$), (Tablo 5).

Total bilirubin sonuçları; halen kullanmakta olduğumuz referans aralıklarına oldukça benzer bulundu (Tablo 2 ve 4). Kadın ve erkek arasında anlamlı bir fark bulunamadı (kadın $0,53 \pm 0,26$; erkek $0,61 \pm 0,32$; $p > 0,05$), (Tablo 5).

Direk bilirubin sonuçları; halen kullanmakta olduğumuz referans aralıklarına oldukça benzer bulundu (Tablo 2 ve 4). Kadın ve erkek arasında anlamlı bir fark bulunamadı (kadın $0,25 \pm 0,13$; erkek $0,26 \pm 0,10$; $p > 0,05$), (Tablo 5).

AST sonuçları; bulduğumuz referans aralığının alt sınırı kullanmakta olduğumuz referans aralığına göre yüksek bulundu (Tablo 2 ve 4). Kadınlarda, erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı düşüklük bulundu (kadın $18,28 \pm 5,28$; erkek $21,32 \pm 6,49$; $p < 0,000$), (Tablo 5).

ALT sonuçları; bulduğumuz üst sınır kullanmakta olduğumuz üst sınırdan düşük idi (Tablo 2 ve 4). Kadın erkek arasında da anlamlı farklılık bulundu (kadın $15,78 \pm 7,69$; erkek $26,68 \pm 14,43$; $p < 0,000$), (Tablo 5).

GGT sonuçları; bulduğumuz değerlerde üst sınır kullanmakta olduğumuz değere göre düşüktü (Tablo 2 ve 4).

Her iki cinste değerlendirdiğimizde kadınlarda anlamlı olarak düşüklük bulundu (kadın $19,12 \pm 9,53$; erkek $29,25 \pm 14,53$; $p < 0,000$), (Tablo 5).

LDH sonuçları; bulduğumuz sonuçlar kullanmakta olduğumuz sonuçlardan farklı bulundu. Alt sınır daha yüksek, üst sınır ise daha düşük bulundu (Tablo 2 ve 4). Kadın ve erkek arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (kadın $181,87 \pm 40,33$; erkek $176,12 \pm 39,60$; $p > 0,05$), (Tablo 5).

ALP sonuçları; bulduğumuz referans değerlerinde üst sınır kullanmakta olduğumuz referans değerlerine göre düşük bulundu (Tablo 2 ve 4). Kadın ve erkek arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulundu (kadın $69,25 \pm 21,84$; erkek $79,65 \pm 15,69$; $p < 0,05$), (Tablo 5).

Amilaz sonuçları; bulduğumuz referans değerlerinde üst sınır kullanmakta olduğumuz referans değerlerine göre düşük bulundu (Tablo 2 ve 4). Kadın erkek arasında anlamlı bir fark bulamadık (kadın $69,63 \pm 15,33$; erkek $67,00 \pm 22,65$; $p > 0,05$), (Tablo 5).

Total protein sonuçları; bulduğumuz sonuçlar kullandığımız referans değerler ile benzerdi (Tablo 2 ve 4). Her iki cins arasında da anlamlı bir fark yoktu (kadın $7,57 \pm 0,38$; erkek $7,58 \pm 0,35$; $p > 0,05$), (Tablo 5).

Albümin sonuçları; kullandığımız referans aralığıyla benzer referans aralığı bulduk (Tablo 2 ve 4). Aynı zamanda, kadın erkek arasında da istatistiksel olarak anlamlılık bulduk (kadın $4,38 \pm 0,29$; erkek $4,56 \pm 0,27$; $p < 0,000$), (Tablo 5).

Na sonuçları; referans aralıklar birbirine benzer bulundu (Tablo 2 ve 4), kadın ve erkek arasında da anlamlı bir farklılık bulunmadı (kadın $139,38 \pm 2,47$; erkek $139,67 \pm 2,45$; $p > 0,05$), (Tablo 5).

K sonuçları; referans aralıklar birbirine benzer bulundu (Tablo 2 ve 4). Aynı zamanda, kadın ve erkek arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulamadık (kadın $4,27\pm 0,36$; erkek $4,39\pm 0,39$; $p>0,05$), (Tablo 5).

Ca sonuçları; bulduğumuz üst referans sınır kullanmakta olduğumuzdan biraz yüksekti (Tablo 2 ve 4). Kadın ve erkek arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmaktaydı (kadın $9,42\pm 0,48$; erkek $9,67\pm 0,45$; $p<0,000$), (Tablo 5).

Cl sonuçları; referans aralıkları benzer bulunmakla birlikte kadın ve erkek arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (kadın $106,02\pm 1,92$;erkek $104,34\pm 1,89$; $p<0,05$), (Tablo 2, 4 ve 5).

Mg sonuçları; referans aralıkları benzerdi (Tablo 2 ve 4), ve kadın erkek arasında anlamlı farklılık yoktu (kadın $2,23\pm 0,18$; erkek $2,21\pm 0,16$; $p>0,05$), (Tablo 5).

Fosfor sonuçları; çalışmamızda fosfor değerlerinin referans alt sınırını daha düşük, üst sınırını aynı bulduk (Tablo 2 ve 4). İki cins arasında da farklılık bulamadık (kadın $3,44\pm 0,53$; erkek $3,36\pm 0,55$; $p>0,05$), (Tablo 5).

Ürik asit sonuçları; çalışmamızda hem alt hem üst referans sınırını daha düşük tespit ettik (Tablo 2 ve 4). Erkeklerde ürik asit değerlerini kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulduk (kadın $3,73\pm 1,03$; erkek $4,82\pm 1,11$; $p<0,05$), (Tablo 5).

Trigliserid sonuçları; çalışmamızda trigliserid referans aralığının üst sınırını kullanmakta olduğumuz referans aralığına göre oldukça yüksek bulduk (Tablo 2 ve 4). İki cins arasında ise istatistiksel bir anlamlılık bulamadık (kadın $107,80\pm 55,75$; erkek $115,76\pm 42,81$; $p>0,05$), (Tablo 5).

Total kolesterol sonuçları; çalışmamızda ki referans aralığının alt ve üst sınırları kullanmakta olduğumuz referans aralığına göre oldukça yüksek bulundu (Tablo 2 ve 4). Cinsler arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu (kadın $176,48\pm 26,72$; erkek $176,41\pm 27,87$; $p>0,05$), (Tablo 5).

HDL kolesterol sonuçları; firmanın temin ettiği referans değerde 60 mg/dl 'den büyük değerler normal kabul edilmekle birlikte çalışmamızda HDL kolesterol referans değerlerini 28 - 63 mg/dl bulduk (Tablo 2 ve 4). Kadınlarda erkeklere göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik bulduk (kadın $47,33\pm 8,71$; erkek $41,25\pm 8,52$; $p<0,000$), (Tablo 5).

LDL kolesterol sonuçları; çalışmamızda alt ve üst referans değerlerini kullanmakta olduğumuz referans değerlerine göre daha yüksek bulduk (Tablo 2 ve 4). Ancak, erkek ve kadın arasında herhangi bir farklılık bulamadık (kadın $108,62\pm 20,81$; erkek $105,92\pm 23,29$; $p>0,05$), (Tablo 5).

Tablo 5. Normal dağılım gösteren parametrelerde Independent-samples T testi ile kadın ve erkek cinsiyetler arasındaki fark anlamlılığı

Parametre	Kadın sayısı	Erkek sayısı	Kadın (mean±SD)	Erkek (mean±SD)	Fark anlamlılığı	Kadın referans aralığı	Erkek referans aralığı
Glukoz	121	58	92,53±9,78	94,20±10,61	0,300	73 - 112	73 - 115
Üre	134	73	25,26±7,99	31,45±8,34	0,000	9,3 - 41	15 - 48
Kreatinin	141	76	0,72±0,10	0,90±0,17	0,000	0,5 - 0,9	0,6-1,24
Total bilirubin	50	38	0,53±0,26	0,61±0,32	0,171	0 - 1,05	0 - 1,25
Direk bilirubin	51	38	0,25±0,13	0,26±0,10	0,672	0 - 0,51	0 - 0,46
AST	131	75	18,28±5,28	21,32±6,49	0,000	7,7 - 28,8	8,3-34
ALT	134	79	15,78±7,69	26,68±14,43	0,000	0,4 - 31	0 - 56
LDH	62	39	181,87±40,33	176,12±39,60	0,485	101 - 263	97 - 255
ALP	56	38	69,25±21,84	79,65±15,69	0,013	26 - 113	48 - 111
Amilaz	19	21	69,63±15,33	67,00±22,65	0,673	39 - 100	22 - 112
Albumin	74	49	4,38±0,29	4,56±0,27	0,001	3,8 - 4,96	4 - 5,1
Na	101	53	139,38±2,47	139,67±2,45	0,485	134 - 144	135 - 145
K	100	55	4,27±0,36	4,39±0,39	0,071	3,5 - 5	3,6 - 5,2
Cl	44	26	106,02±1,92	104,34±1,89	0,001	102 - 110	101 - 108
Mg	44	23	2,23±0,18	2,21±0,16	0,727	1,9 - 2,6	1,9 - 2,53
Fosfor	46	25	3,44±0,53	3,36±0,55	0,579	2,4 - 4,5	2,3 - 4,5
Ürik asit	22	13	3,73±1,03	4,82±1,11	0,006	1,7 - 5,8	2,6 - 7,0
Trigliserid	63	26	107,80±55,75	115,76±42,81	0,516	0 - 219	30 - 201
Total Kolesterol	58	29	176,48±26,72	176,41±27,87	0,991	123 - 230	121 - 232
HDL	62	35	47,33±8,71	41,25±8,52	0,001	30 - 65	24 - 58
LDL	57	28	108,62±20,81	105,92±23,29	0,589	67 - 150	59 - 153

Tablo 6. Normal dağılım göstermeyen parametrelerde Mann-Whitney U testi ile gruplar arası anlamlılığın gösterilmesi

Parametre	Kadın sayısı	Erkek sayısı	Kadın (mean)	Erkek (mean)	Fark anlamlılığı	Kadın referans aralığı	Erkek referans aralığı
GGT	58	40	19,12±9,53	29,25±14,53	0,000	0 - 38	0,19 - 58
Ca	98	50	9,42±0,48	9,67±0,45	0,000	8,5 - 10,4	8,8 - 10,6
Total protein	71	45	7,57±0,38	7,58±0,35	0,746	6,8 - 8,3	6,9 - 8,3

5. TARTIŞMA

Tıpta, laboratuvar analiz sonuçlarına göre hastalığın olup olmadığı, iyileşmenin derecesi veya terapötik yarar konusundaki kararlar tek bir değere göre alınır. Bu değerler bir yandan hekimin kararını etkilerken bir yandan da hastanın durumunu etkiler. Bu sebeplerle laboratuvar test sonuçlarının özellikle kritik karar düzeyleri konusunda tereddütlere neden olmaması gerekmektedir (Enli ve ark. 2003). Referans aralıklarının hesaplanması oldukça zahmetlidir. Bu yüzden her laboratuvar tarafından hesaplanamamaktadır. Fakat hastayı ve hekimi doğru karar vermek konusunda etkilediğinden her toplum için referans değerleri hesaplanmalıdır.

Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında çalışılmakta olan 24 biyokimya parametresini değerlendirdik. Elde ettiğimiz bazı değerler üretici firmanın bize vermiş olduğu referans değerlerinden farklı bulundu.

Glukoz sonuçlarında üst referans değerini çalışmamızda daha yüksek bulduk. Bu belkide şeker hastalığı tanısı için oral glukoz tolerans testine yolladığımız hasta sayısının azaltılmasında önemli olacaktır.

Üre ve kreatinin sonuçlarında üst referans değerini daha düşük bulmamız gelişebilecek böbrek hastalıklarının daha erken dönemde yakalanabilmesi açısından önem arz edebilir. Aynı zamanda kadın ve erkek arasındaki istatistiksel anlamlılık nedeniyle hastaları değerlendirirken cinsiyetlerine göre değerlendirmekte faydalı olacaktır.

Direk ve total bilirubin, total protein, albumin, Na, K, Cl ve Mg referans değerlerimiz kullanmakta olduğumuz referans değerleriyle oldukça yakın bulundu.

AST, ALT ve GGT sonuçlarında kadınlar ve erkekler arasındaki anlamlı farklılık da bu parametrelerin hasta bazında değerlendirilirken cinsiyet açısından değerlerin ele alınmasının da önemli olduğunu göstermektedir. GGT sonuçlarında bulduğumuz üst sınırın kullanmakta olduğumuza göre belirgin şekilde düşük olması hastalıkların erken yakalanmasında önemli olabilir.

LDH, ALP ve amilaz sonuçlarının üst referans değerlerini daha düşük bulmamız hastalıkların değerlendirilmesinde daha dikkatli olmamız gerektiğini ortaya koydu. Enzim sonuçlarında genel olarak bayanlarda daha düşük bulunan sonuçlar yine hastalıkları değerlendirirken enzim düzeylerinde cinsiyete dikkat etmemiz gerektiğini ortaya koydu.

Ca değerlerinde kadınlardaki anlamlı düşüklük hastalıkların değerlendirilmesinde dikkate alınmalı, diye düşünmekteyiz.

Ürik asit referans değerlerini alt ve üst sınırlarda düşük tespit ettik. Erkeklerde de kadınlara oranla anlamlı yüksek bulduk. Buda, bize cinsiyetin ürik asit sonuçlarının değerlendirilmesinde önemli olduğunu düşündürmektedir.

Lipid profiline baktığımızda trigliserid, total kolesterol ve LDL kolesterol sonuçları bulduğumuz referans değerlerde, kullandığımız referans değerlere göre oldukça yüksekti. HDL kolesterol sonuçları ise daha düşük bulundu. Bu sonuçlar Kocaeli yöresinde yaşayan bireylerde diyetle dikkat edilmediğini, HDL sonuçlarının düşük olması nedeniyle de fiziksel aktivitenin ve egzersiz yapmanın ihmal edildiğini göstermektedir. Kocaeli yöresinde göçle gelenler fazla olduğu için genetik faktörlerden çok, yukarıdaki nedenlerle lipid profillerinin yüksek olduğunu düşünmekteyiz. HDL kolesterolde kadınlardaki anlamlı yüksekliğinde hormonal farklılıktan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma bize göstermiştir ki; birçok biyokimya parametresinde üretici firmanın önerdiği referans değerleri ile bizim bulduğumuz referans değerleri örtüşmemektedir. Bu nedenle her ne kadar zorlukları olsa da her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesinin önemli olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızın geliştirilmesi ve daha da güvenilir olması açısından A priori yöntemi ile birey sayımızı arttırmamız ve bu yönde yeni çalışmalar yapmamız uygun olacaktır. Bölgesel faktörler, genetik, diyet, egzersiz gibi nedenlerle referans değerler toplumlar arası farklılıklar gösterebilir. Bu nedenlerle, referans aralıklarının bölgesel olarak hesaplanması da oldukça önemlidir. Referans aralıkları, bölgeler, coğrafi konum ve popülasyona göre belirlenebilir. Bölgesel çalışmalar büyütülüp birleştirilerek Türk toplumunun genel referans değerleri elde edilebilir.

Bu tarzda çalışmaların yaygınlaşması klinik laboratuvarların kalitesine katkıda bulunabileceği gibi laboratuvar test sonuçlarının da standardizasyonunu sağlayabilir. Bu nedenle, referans aralık çalışmaları ulusal projeler şeklinde düzenlenmelidirler.

KAYNAKLAR

Ash, K.O., Clark, S.J. (1983). The influence of sample distribution and age on reference intervals for adult males. *Am. A. J. Clin. Pathol.* 79:574-581.

Bjerner J. (2007). Age-dependent biochemical quantities: an approach for calculating reference intervals. *Scand J Clin Lab Invest.* 67(7):707-22.

Burtis, C. A., Ashwood, E. R., Eds. (1999). Establishment and use of reference values: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B Saunders Company.

Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood. (2005) Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler. 251-261.

Concordet D, Geffré A, Braun JP, Trumel C. A new approach for the determination of reference intervals from hospital-based data (Epub 2009). *Clin Chim Acta.* 2009 Jul;405(1-2):43-8. Apr 5.

Geffré A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP (2009). Reference values: a review. *Vet Clin Pathol. Sep*;38(3):288-98.

Guidelines (1986) for the Preparation of Aims and Objectives for the Teaching of Clinical Chemistry Prepared for publication5 by C. G. Fräser <http://edoc.hu-berlin.de/oa/degruyter/cclm.1988.26.3.163.pdf>.

Haris EK, Boyd JC. (1995). Statistical bases of reference values in laboratory medicine. New York, NY:Marcel Dekker.

Haris EK, Boyd JC (1990). On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem*; 36:265-70.

Henny J, Hyltoft Petersen P. (2004) Reference values: from philosophy to a tool for laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med.*;42(7):686-91.

Horn, P.S. (1998). A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin.Chem.* 44:622-631.

International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of Reference Values: Approved recommendation on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25:337-342.

International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of Reference Values: Approved recommendation on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25:639-644.

International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of Reference Values: Approved recommendation on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988; 26:593-598.

Lot, J.A. (1992). Mitchell, L.C., Estimation of reference ranges: How many subjects are needed? *Clin. Chem.* 38:648-650.

Murat Hayran, Oktay Özdemir (1996). *Bilgisayar, İstatistik ve Tıp.* 291-296.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (1995). How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; proposed guideline. NCCLS Document C28-A. Villanova, PA. NCCLS.

NCCLS Document C28-a Vol.15 No: 41995.

Özdamar K. *SPSS ile Biyoistatistik* 2003; 122

Paul S. Horn, Amadeo J. Pesce (2003). Reference intervals: an update. *Clinica Chimica Acta* 334;5-23.

Reed, H. (1971). Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin. Chem.* 17:275-284.

Rustad P, Felding P, Lahti A (2004) Proposal for guidelines to establish common biological reference intervals in large geographical areas for biochemical quantities measured frequently in serum and plasma.; Nordic Reference Interval Project 2000. *Clin Chem Lab Med.*;42(7):783-91.

Sedat Motor, Yüksel Koca, Turan Turhan, Serpil Erdoğan, Gönül Erden, Sevilay Sezer, Fırat Bulut (2009). 40 Yaş ve Üzeri Sağlıklı Türk Bireylerde Rutin Biyokimyasal Parametrelerin Referans Aralıklarının Belirlenmesi. [Determination of Reference Intervals For Routine Chemistry Assays in Healthy Turkish Individuals Who Are 40 Years of Age or Over] *Turkish Journal of Biochemistry.*34(2);71-81

Shultz EK, Willard KE, Rich SS et al (1985): Improved reference-interval estimation. *Clin Chem* 31:1974-1978.

Snedecor GW, Cochran WG (1989): *Statistical Methods*, 8th edition, Ames, Iowa State University Press.

Solberg HE (2004). The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal program. Clin Chem Lab Med. 42(7):710-4.

Solberg HE:RefVal: a program implementing the recommendation of the International Federation of Clinical Chemistry on the statistical treatment of reference values. Comput Meth Progr Biomed 1995; 48:247-256.

Statland, B. E., Winkel, P. (1977). Effects of preanalytical factors on the intraindividual variation of analytes in the blood of healthy subjects. Consideration of the subject and the time of venipuncture. CRC Crit. Rev., Clin. Lab. Sci. 8:105-144.

Sümbüloğlu K., Sümbüloğlu V. Biyoistatistik 2007.

Yahya Laleli. (2003) Referans kavramı, Ulusal Referans Politikası ve Hasta Verilerinin Kullanımı. Turk J Biochem 28(4);225-227.

Yaşar Enli, Diler Aslan, Nalan Akalın, Yavuz Aydın, Gamze Can Yılmaztürk, İlker Göçhan, Sezgin Tekintürk, Süleyman Demir. (2003). Denizli de yaşayan 18-40 yaş arası bireylerde farklı yöntemlerle referans aralıkların saptanması. Turk J Biochem. 28(4);228-245.

Yavuz Taga, Diler Aslan, Gül Güner, Fatma Z. Kutay. (2002) Tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon ve kalite yönetimi. Sayfa 124-128.

Yeşim Özarda İlçöl, Diler Aslan. Bursa İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması (2004). Turkish Journal of Biochemistry.;29(2);183-192.

Yıldız Balcı. (2006). Laboratuar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr.Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi.

Zhang DJ, Elswick RK, Miller WG et al. (1998): Effect of serumclot contact time on clinical chemistry laboratory results. Clin Chem 44:1325-33.

ÖZGEÇMİŞ

Genel bilgiler

Ad: N. Melda

Soyad: DALGIÇ

Doğum yeri ve tarihi: Erzurum / 21.09.1984

Uyruğu: T.C

Medeni durum: Evli

İletişim adresi: Yunuseli Mah. 689. sokak Türk-Eğitim Sen evleri 1. Etap A Blok D:9

Osmangazi/BURSA

Telefon: 0530 524 97 32

Eğitim

2008-... Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakóltesi
Tıbbi Biyokimya Yüksek Lisans

2002-2007 Uludađ Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakóltesi
Biyoloji – Lisans

1998-2002 Erzurum Lisesi Y.D.A
Lise

Yabancı Dil: İngilizce

YÜKSEK LİSANS	2011	MELDA DALGIÇ
---------------	------	--------------