

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KLİNİK LABORATUVARLARDA VERİ YÖNETİM SİSTEMİ İLE REFERANS  
ARALIK TEMELLİ VERİ ANALİZ YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ;  
TRABZON DENEYİMİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Mustafa TAT

Trabzon – 2018

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KLİNİK LABORATUVARLARDA VERİ YÖNETİM SİSTEMİ İLE REFERANS  
ARALIK TEMELLİ VERİ ANALİZ YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ;  
TRABZON DENEYİMİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Mustafa TAT  
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Asım ÖREM

Trabzon - 2018

## ÖNSÖZ

Uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmada, bilgi ve deneyimlerini bana aktaran ve her konuda bana yardımcı olmaya çalışan tez danışmanım Sayın Prof.Dr. Asım ÖREM başta olmak üzere, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof.Dr. E.Edip KEHA'ya, Sayın Prof.Dr. Orhan DEĞER'e, Sayın Prof.Dr. Yüksel ALIYAZICIOĞLU'na, Sayın Prof.Dr. S.Caner KARAHAN'a, Sayın Prof.Dr. Birgül VANİZÖR KURAL'a, Sayın Prof.Dr.Ahmet ALVER'e, Sayın Doç.Dr. Ahmet MENTEŞE'ye, Sayın Dr.Öğr.Üyesi Fulya BALABAN YÜCESAN'a, Sayın Dr.Öğr.Üyesi Hüseyin YAMAN'a

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Dr. Hatice BOZKURT YAVUZ'a, Dr. Mehmet Akif BİLDİRİCİ'ye, Uzm.Dr. Mehtap ESEN'e, Uzm.Dr. Sevim KAHRAMAN YAMAN'a, Uzm.Dr. Nazime ÇEBİ'ye, Uzm.Dr. Selçuk YAMAN'a, Uzm.Dr. Süret AĞAÇ'a, Uzm.Dr. Ayşegül YILMAZ'a, Dr. Merve KATKAT'a

Çalışmalarım boyunca katkıları bulunan Uludağ Üni. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Yeşim ÖZARDA'ya, KTÜ Fen fakültesi İstatistik ve Bilgisayar bilimleri bölümü Bilgisayar Bilimleri Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr.Üyesi Tolga BERBER'e

Biyokimya Anabilim Dalı'nda görevli tüm araştırma görevlisi, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma, Biyokimya Merkez Laboratuvarı çalışanlarına,

Çalışmam süresince yardımları, sabrı, fedakârlığı ve desteğiyle yanımda olan, değerli eşim Rukiye TAT'a

Hayatımın her alanında bana her zaman destek olan ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan aileme en içten duygularıyla teşekkür eder, saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Mustafa TAT

## ÖZET

### KLİNİK LABORATUVARLARDA VERİ YÖNETİM SİSTEMİ İLE REFERANS ARALIK TEMELLİ VERİ ANALİZ YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ; TRABZON DENEYİMİ

**Giriş:** Referans aralık kavramı laboratuvar testlerinin yorumlanmasında kullanılan temel araçtır. Her laboratuvar kendi popülasyonunu yansıtan referans aralık değerlerini belirlemelidir.

**Amaç:** Bu çalışmada laboratuvarımızda çalışılan 26 adet klinik kimya parametresinin laboratuvarımıza ve bölgemize ait referans aralıklarının hesaplanması amaçlandı.

**Metot:** Laboratuvarımızda 4 yıl boyunca (2013-2016) çalışılan klinik kimya testlerine ait sonuçlar excel programına aktarıldı. Anormal sonuçların dışlanması için verilere filtrasyon uygulandı. Klinik laboratuvarlarda üretilen sonuçlar genellikle Gaussian dağılıma uygun olmadığı için verilere Box-cox transformasyon yapıldı. Elde edilen verilerden Bhattacharya yöntemine göre indirekt olarak referans aralık değerleri hesaplandı. Harris-Boyd ve Effect Size değerlerine göre parametreler cinsiyet açısından alt gruplara ayrıldı.

**Sonuçlar:** ALT, BUN, CK, GGT, HDL-K, Kreatinin, T.Demir ve Ürik asit parametrelerinde kadın ve erkek referans değerleri arasında anlamlı fark gözlemlendi. Bu çalışmada Albümin, D.Bil, PO<sub>4</sub>, T.Kalsiyum ve Sodyum alt limitleri, Albümin, AST (Erkek), GGT, Glukoz, HDL-K (Erkek), Klor, T.Bil, Magnezyum, T.Demir (Erkek) ve PO<sub>4</sub> parametrelerinin üst limitleri dışındaki değerlerin üretici firma tarafından sunulan değerlerden farklı olduğu tespit edildi. Diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında da bölgeler arasında farklı değerlerin olduğunu belirledik.

**Tartışma:** Bu çalışma hastane verileri kullanılarak İndirekt metotla referans aralık hesaplanabileceğini göstermiştir. Fakat gerekli veri sayısı, dışlanacak veriler, alt gruplara ayırma ve aşırı uç değerlerin atılması kriterleri ile referans aralığı hesaplanırken seçilecek yöntemin ne olacağı hakkında literatürde yeterli çalışma mevcut değildir. İndirekt yöntemin, bu konu hakkındaki çalışmaların artması ve standardizasyonun sağlanması ile gelecekte direkt yöntemin yerini alacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Referans aralık, Bhattacharya yöntemi, Box-cox transformasyon

## SUMMARY

### DEVELOPMENT OF REFERENCE RANGE BASED DATA ANALYSIS METHODS WITH DATA MANAGEMENT SYSTEM IN CLINICAL LABORATORIES; TRABZON EXPERIENCE

**Introduction:** The reference range is the primary tool used to interpret laboratory test results. Each laboratory should determine reference range values that reflect their population.

**Aim:** In this study, it was aimed to calculate the reference intervals of our laboratory and our region for 26 clinical chemistry parameters which are performed in our laboratory.

**Method:** The results of the clinical chemistry tests performed in our laboratory for 4 years (2013-2016) were transferred to the excel program. Filtration was applied to exclude abnormal results. Because the results produced in clinical laboratories are generally not normally distributed, Box-cox transformation was used. From the data obtained, reference interval values were calculated indirectly according to the Bhattacharya method. According to the Harris-Boyd and Effect Size values, the parameters were divided into subgroups in terms of sex.

**Results:** Significant differences were found between male and female reference values for ALT, BUN, CK, GGT, HDL-C, Creatinine, T. Demir and Uric Acid parameters. In this study, other than lower limits of Albumin, D.Bil, PO<sub>4</sub>, T. Calcium and Sodium, and upper limits of Albumin, AST (Male), GGT, Glucose, HDL-C (Male), Chlorine, T. Bil, Magnesium, and PO<sub>4</sub> parameters are different from the values provided by the manufacturer. When compared to other studies, we also found that there are different values between regions.

**Discussion:** The results of this study suggest that the reference intervals could be calculated by the indirect method by using hospital data. However, in the literature there doesn't exist enough studies about the necessary data number, separating into subgroups, criteria of omitting extreme values and selecting the methods to estimate the reference intervals. We suggest that the indirect method will be using in the future as studies on this issue increase and as the standardization is ensured.

**Key words:** Reference range, Bhattacharya method, Box-cox transformation

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
<b>ÖNSÖZ</b>	<b>i</b>
<b>ÖZET</b>	<b>ii</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>iv</b>
<b>KISALTMALAR</b>	<b>vi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>viii</b>
<b>TABLolar</b>	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>2</b>
2.1. Tanım ve Terminoloji	2
2.2. Tarihçe	4
2.3. Referans Değer Çeşitleri	6
2.3.1. Bireye ait referans aralıklar	6
2.3.2. Toplumdan köken alan referans aralıklar	7
2.4. Referans Bireylerin Seçimi	7
2.4.1. Referans Birey Seçim Yöntemleri	7
2.4.2. Referans Birey Seçim Kriterleri	8
2.4.3. Referans Bireylerin Seçimi	10
2.4.3.1. Direkt (Doğrudan) Örnekleme Yöntemi	10
2.4.3.2. İndirekt (Dolaylı) Örnekleme Yöntemi	11
2.5. Numunelerin Toplanması	14
2.6. Numunelerin Analiz Edilmesi	14
2.7. Referans Aralıkların Hesaplanması	15
2.7.1. Referans değer için gereken minimum ve maksimum kişi sayısı	15
2.7.2. Aşırı Uçlarda Gözlenen Değerlerin (Sapan Değer) Belirlenmesi	16
2.7.3. Alt gruplara ayırma kararı	18

2.7.4. Referans Kitlesinin Dağılım Tipinin Değerlendirilmesi	20
2.7.5. Referans Değerlerin Sınırlarının Belirlenmesi	23
2.7.5.1. Parametrik Yöntemler	23
2.7.5.2. Non-parametrik Yöntemler	23
2.7.6. Veri Transformasyonu	24
2.7.7. Güven Aralıkları	24
<b>3. MATERYAL VE METOT</b>	<b>25</b>
3.1. Etik konular	25
3.2. Analitlerin seçilmesi	25
3.3. Verilerin eldesi	25
3.4. Analitik sürecin değerlendirilmesi	26
3.5. Verilerin değerlendirilmesi ve referans aralık eldesi	28
<b>4. BULGULAR</b>	<b>34</b>
4.1. Çalışma Grubuna Ait Demografik Veriler	34
4.2. Çalışılan Parametrelerin Alt gruplara ayrılması	37
4.3. Çalışılan Parametrelerin Histogramları	42
4.3.1. Alt Gruba Ayrılmayan Parametrelerin Histogramları	42
4.3.2. Cinsiyete Göre Alt Gruba Ayrılan Parametrelerin Histogramları	50
4.4. Çalışılan Parametrelerin Referans Aralıkları	57
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>71</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>96</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>99</b>

## KISALTMALAR

ALP: Alkalen Fosfataz

ALT: Alanin Aminotransferaz

AST: Aspartat Aminotransferaz

BUN: Kan Üre Azotu

CK: Kreatinin Kinaz

D.Bil: Direkt Bilirubin

T.Demir: Total Demir

PO<sub>4</sub>: İnorganik Fosfat

GGT: Gama Glutamiltransferaz

HDL-K: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol

T.Kalsiyum: Total Kalsiyum

T.Kolesterol: Total Kolesterol

LDH: Laktat Dehidrogenaz

LDL-K: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol

T.Bil: Total Bilirubin

T.Protein: Total Protein

LBYS: Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi

IFCC: Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu

CLSI: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü

CV: Varyasyon Katsayısı

SD: Standart Sapma

EPTRV: Referans Değerler Teorisi Uzman Paneli

ICSH: Hematoloji Standardizasyonu Uluslararası Konseyi

IFCC-LM: Laboratuvar Tıbbı Alt Komisyonu

C-RIDL: Referans Aralıkları ve Sınırları Karar Komitesi

RCV: Referans Değişim Değeri

CVa: Analitik Değişkenlik



CVi: Bireysel Değişkenlik

HBYS: Hastane Bilgi Yönetim Sistemi

E: Erkek

K: Kadın

RA: Referans Aralık



## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Şekil

Şekil-1. Normal Dağılım Grafiği

Şekil-2. Negatif ve pozitif yönlü asimetrik dağılım grafikleri

Şekil-3. Negatif ve pozitif yönlü dikey çarpıklık grafikleri

Şekil-4. Kreatinin Box-plot grafiği

Şekil-5. Kreatinin histogramı

Şekil-6. Transformasyon sonrası Kreatinin histogramı

Şekil-7. Kreatinin Bhattacharya Grafiği

Şekil-8-15. Cinsiyet ayrımı yapılan parametrelerin karşılaştırmalı Box-plot grafikleri

Şekil-16 (a-o). Alt gruba ayrılmayan parametrelerin transformasyon öncesi histogramları

Şekil-17 (a-o). Alt gruba ayrılmayan parametrelerin transformasyon sonrası histogramları

Şekil-18 (a-g). Erkeklerle ait transformasyon öncesi histogramlar

Şekil-19 (a-g). Erkeklerle ait transformasyon sonrası histogramlar

Şekil-20 (a-g). Kadınlara ait transformasyon öncesi histogramlar

Şekil-21 (a-g). Kadınlara ait transformasyon sonrası histogramlar

Şekil-22. Albümin (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-23. ALP (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-24. Amilaz (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-25. AST (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-26. T.Kalsiyum (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-27. D.Bil.(Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-28. PO<sub>4</sub> (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-29. Glukoz (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-30. Klor (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-31. T.Kolesterol (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-32. LDH (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-33. LDL-K (Genel) Bhattacharya Grafiği

Şekil-34. Magnezyum (Genel) Bhattacharya Grafiği

- Şekil-35.** Potasyum (Genel) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-36.** Sodyum (Genel) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil 37.** T.Bil. (Genel) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil 38.** Trigliserit (Genel) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil 39.** T.Protein (Genel) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-40.** ALT (Erkek) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-41.** BUN (Erkek) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-42.** T.Demir (Erkek) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-43.** GGT (Erkek) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-44.** HDL-K (Erkek) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-45.** Kreatinin (Erkek) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-46.** Ürik asit (Erkek) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-47.** CK (Erkek) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-48.** ALT (Kadın) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-49.** BUN (Kadın) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-50.** T.Demir (Kadın) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-51.** GGT (Kadın) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-52.** HDL-K (Kadın) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-53.** Kreatinin (Kadın) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-54.** Kreatinin (Kadın) Bhattacharya Grafiği  
**Şekil-55.** CK (Kadın) Bhattacharya Grafiği

## TABLolar DİZİNİ

### Tablo

**Tablo-1.** Klinik kimya parametreleri ölçüm yöntemleri ve alt ve üst okuma limitleri

**Tablo-2.** Hastane Verilerinden Taranan Birey Sayıları

**Tablo-3.** Çalışılan parametrelerin transformasyon öncesi medyan ve mean değerleri

**Tablo-4.** Çalışılan parametrelerin transformasyon sonrası medyan ve mean değerleri

**Tablo-5.** Çalışılan parametrelerin Z değerleri ve Effect Size değerleri

**Tablo-6.** Alt gruplara ayrılmayan parametrelerin skewness ve kurtosis değerleri

**Tablo-7.** Alt gruba ayrılan parametrelerin skewness ve kurtosis değerleri

**Tablo-8.** Çalışılan parametrelerin referans aralık değerleri

**Tablo-9.** Cinsiyete göre alt gruba ayrılan parametrelerden erkeklere ait referans aralık değerleri, SD ve varyans değerleri

**Tablo-10.** Cinsiyete göre alt gruba ayrılan parametrelerden kadınlara ait referans aralık değerleri, SD ve varyans değerleri

**Tablo-11.** Bu çalışmada elde edilen referans aralıklar ile üreticinin sunduğu referans aralıkların karşılaştırılması

**Tablo-12.** Bu çalışmada elde edilen referans aralıklar ile laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasının karşılaştırılması

**Tablo-13.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen ALT, AST ve GGT referans aralıklarının karşılaştırılması

**Tablo-14.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen ALP, LDH, CK ve Amilaz referans aralıklarının karşılaştırılması

**Tablo-15.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen T.Bil, D.Bil ve T.Demir referans aralıklarının karşılaştırılması

**Tablo-16.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen BUN, Kreatinin ve Ürik asit referans aralıklarının karşılaştırılması

**Tablo-17.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen Glukoz, Albümin ve T.Protein referans aralıklarının karşılaştırılması

**Tablo-18.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen Sodyum, Potasyum ve Klor referans aralıklarının karşılaştırılması

**Tablo-19.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen PO<sub>4</sub>, T.Kalsiyum ve Magnezyum referans aralıklarının karşılaştırılması

**Tablo-20.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen T.Kolesterol, HDL-K, LDL-K ve Trigliserit referans aralıklarının karşılaştırılması



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Klinik laboratuvarlarda yapılan ölçümler hastalıkların tanı, tedavi ve takibinde belirleyici rol oynar. Laboratuvarlarda ölçülen değerlerin referans değerlerle karşılaştırılması tıbbi karar sürecinde yol göstericidir. Klinisyen hastası hakkında yorum yaparken fizik muayene bulgularını, anamnezi değerlendirir ve laboratuvar sonuçlarını verilen referans değerlere göre yorumlar. Böylece elindeki bulguların referans değerlerle uygunluğunu değerlendirir, uymuyorsa bilinen bir hastalığın tanımıyla uyumlu olup olmadığına bakarak tanı koyabilir. Fizyolojik olan tam olarak bilinirse patolojik olana tanı koymak kolaylaşır. İnsanları farklı özelliklerinden (yaş, kilo, ırk, cinsiyet, boy vb.) dolayı ortak tanımlara sığdırmak zordur. Bu amaçla toplumun çeşitli kesimlerini (yaş, cinsiyet, ırk, gebelik, beslenme alışkanlıkları, genetik yapı vb.) temsil edebilecek referans aralıkları belirlemek fikri ortaya atılmıştır. Yıllarca birçok araştırmacının katkısıyla günümüzdeki haline ulaşmıştır (1).

“Referans aralığı” kavramı laboratuvar testlerinin yorumlanmasında kullanılan temel bir araçtır. Günümüzde laboratuvarlarda genellikle referans aralık olarak üreticinin reaktif prospektüslerindeki referans aralıkları kullanılmaktadır. Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (The International Federation of Clinical Chemistry: IFCC), referans değerlerinin ve aralıklarının her laboratuvar tarafından belirlenmesi gerektiğini önermiş ve bunun belirlenmesine yönelik uyulacak kural ve yöntemlerle ilgili bir seri kılavuz düzenlemiştir (2). Fakat laboratuvarların kendi referans aralıklarını belirlemesi yüksek maliyetli ve yoğun emek gerektiren bir işlemdir. Bu çalışmanın amacı;

- a) Laboratuvarımıza ve bölgemize ait klinik kimya testlerindeki parametrelerin indirekt yöntemle referans değerlerini elde etmek,
- b) Elde edilen verileri mevcut literatür ile karşılaştırmak, bölgesel farklılıkları araştırmak, eğer farklılıklar varsa bunların coğrafya, genetik, beslenme alışkanlığı vb. ne gibi faktörlerden kaynaklanabileceğini tartışmaya sunmak,
- c) Elde edeceğimiz verilerin laboratuvarımızda referans değerler olarak kullanılmasıyla hastanemizde sunulan teşhis ve tedavi hizmetlerinin kalitesine katkıda bulunmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan referans aralık değerleri sağlıklı popülasyondan hasta bireylerin ayrılmasına imkân sağlar. Test çeşitliliği ve yorumlanmasındaki güçlükler referans aralıklarının önemini artırmaktadır. Klinisyen laboratuvar sonuçlarını değerlendirirken verilen referans aralık değerlerine göre yorumlar. Bu nedenle tedavi, tanı ve prognoz açısından güvenilir referans aralıkları, hastaya ait sonuçların doğru değerlendirilmesi için bir araçtır. Referans değer kavramı başlığı altında pek çok tanımlama mevcuttur. Bu nedenle konunun daha kolay anlaşılması için terminolojiye kısaca değinilmesi faydalı olacaktır.

### 2.1. Tanım ve Terminoloji

Önceden hasta sonuçlarının yorumlanmasında kullanılan değerler için “normal değer” terimi kullanılmaktaydı. 1960’lı yılların sonlarında, “normal aralık (normal değerler)” olarak adlandırılmış ve istatistiksel hesaplama yolları tartışılmıştır. Fakat normal kelimesi farklı anlamları da çağrıştırdığı için bu terim karışıklığa yol açmıştır (3). 1980’li yıllarda “normal değer” yerine “Referans değer” kavramı, kullanılmaya başlanmıştır. “Referans değerler” belirli bir nicelik için tanımlanmış bir bireyde veya grupta gözlenen veya ölçülen değerlerdir(4).

Çeşitli hastalık gruplarından elde edilen değerler tanı, tedavi ve prognozun belirlenmesinde kullanılır. Referans değerler tanımlanırken elde edilen değerlerin hangi gruba ait olduğu belirtilmelidir. Eğer belirtilmemiş ise referans değerlerin sağlıklı gruba ait olduğunu gösterir (5).

Referans değerinin tanımı NCCLS’nin ilgili dokümanında şu şekilde yapılmaktadır: “Bir referans bireyinde belirli bir fenotipin gözlenmesi ya da ölçülmesi yolu ile elde edilen değerdir”(2). IFCC ise “referans değerler” terimini,

“belirli bir kantite için tanımlanmış tek bir bireyden veya gruptan elde edilen değerlerdir” olarak tanımlar ve bu terimin kullanılmasını önerir. Bununla ilişkili olarak referans birey, referans değer, referans dağılım, referans sınır, referans aralık ve gözlenen değerler terimlerini de önermiştir (6).

Yukarıda adı geçen terimlerin terminolojiye göre tanımını yapmak faydalı olacaktır.

**Referans değeri:** Referans örnek popülasyonundaki bireylerde yapılan özel ölçümler veya gözlemlerin sonucunda elde edilen değerlerdir (5).

**Referans sınırları:** Referans dağılımından hesaplanan referans aralığının sınırlarını belirleyen değerlerdir (5).

**Alt ve üst referans sınırı:** Bir analitin referans aralığı referans grubun değerlerinin merkezi % 95’ini oluşturan istatistiksel değer aralığıdır. Bu aralıktaki % 2,5 değerine “alt referans sınırı” ve % 97,5 değerine “üst referans sınırı” denir (5).

**Referans birey:** Tanımlı kriterlere göre karşılaştırma amacıyla seçilmiş bireydir (5).

**Gözlenen değer (Hasta laboratuvar test sonucu):** Gözlem ve ölçüm yapılarak belirlenen, tıbbi referans değerler, referans dağılım, referans sınırları ve aralıklarıyla karşılaştırılarak tıbbi karar vermek için kullanılan sayısal değerdir. Diğer bir deyimle bir gözlenen (observed) değer, klinik inceleme altındaki bir bireyden alınan numunenin analiziyle elde edilen laboratuvar sonucudur (4).

**Referans toplum:** Tüm referans bireyleri içeren topluluktur (7).

**Referans örnek grubu:** Referans toplumu temsil edecek sayıda seçilen referans bireyler topluluğudur (7).

**Referans dağılımı:** Referans bireylerden elde edilen değerlerin dağılımıdır.

**Klinik karar sınırı:** Tedavide klinik kılavuz olarak kullanılan, sağlıklı bireylerle birlikte ilgili hastalığın tanısını almış kişilerin sonuçlarının da incelenmesiyle bulunan ya da bilimsel çalışmaların sonucu elde edilen sınır değerleridir (4).

Referans sınır ile klinik karar sınırı arasındaki en önemli fark, referans sınırlarında ideal olan her laboratuvarın kendi sınırlarını belirleyip kullanmasıyken,



linik karar sınırlarında klinisyenin ulusal veya uluslararası olan değerleri kullanmayı tercih etmesidir (4). Referans aralık yerine klinik karar sınırlarının kullanıldığı parametrelere örnek olarak HbA1c, glukoz, kolesterol ve trigliserit gösterilebilir.

## 2.2. Tarihçe

Tarih boyunca birçok araştırmacının çalışmalarıyla zenginleşen referans aralık çalışmalarındaki önemli gelişmeleri şöyle özetleyebiliriz.

1969’da Grasbeck ve Saris isimli araştırmacılar referans aralık terimini ilk kez “İyi karakterize edilmiş katılımcıların kan analit konsantrasyonlarındaki dalgalanmalar” olarak tanımlamış ve normal değerlerin yerine kullanımını tavsiye etmişlerdir (8).

1972 yılında T.P. Whitehead başkanlığında, Grasbeck, G. Siest, G. Z. Williams ve P. Wilding’in katılımıyla gerçekteşen Expert Panel on Theory of Reference Values (EPTRV) panelinde referans değerlerin tanımlamaları, prensip ve prosedürleri belirlendi (1).

1987 yılında, Standing Committee on Reference Values of the International Council for Standardization in Hematology (ICSH) ve International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)’nin toplantılarından elde edilen bulgular bir dizi makale olarak yayınlandı (9-10).

Klinisyenler, 1990’lı yılların başlarında referans aralık terimini daha iyi tanıyıp yaygın olarak kullanmaya başladılar. Ancak bu dönemde referans aralıklar tüm laboratuvarlar tarafından maliyeti yüksek ve yoğun emek gerektiren yöntemlerle elde ediliyordu. Referans aralık kavramının uygulanabilirliğin arttırılması için referans değer elde edilme yöntem ve prosedürlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardı (1).

2005 yılında IFCC'nin laboratuvar tıbbı alt komisyonu (IFCC-LM) Ceriotti, Boyd, Henny, Kairisto, Klein ve Queralto'dan oluşan "Referans aralıkları ve sınırları karar komitesini" (C-RIDL) kurdu ve çalışmalara başladı (1).

Bu komitenin daha sonra Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından oluşturulan çalışma grubuyla birleşmesiyle XIX. Uluslararası IFCC-LM Kongresinde CLSI ve IFCC-LM'nin birleşik çalışma grubu oluşturuldu. Oluşturulan bu yeni grubun amacı, 1995'te yayınlanan ve 2000 yılında revize edilen CLSI C28-A kılavuzunu yeniden düzenlemektir. Bu amaçla 2008 yılında IFCC ve CLSI tarafından C28-A3 "Klinik Laboratuvarlarda Referans Aralıkların Tanımlanması, Tespiti ve Verifikasyonu" kılavuzu yayınlandı. Bu kılavuzda daha önce yayınlanan kılavuzlardan farklı olarak robust metodu (120'nin altında referans bireyle de aralık belirlemeyi sağlar), referans aralık transferi, referans aralık verifikasyonu ve çok merkezli referans aralık çalışmaları tanıtıldı (1).

Her laboratuvarı kendi referans aralıklarını oluşturmaktan kurtarmak için ortak veya çok merkezli referans aralıklar konsepti ortaya atılmış ve günümüzde gelişmeye devam etmektedir. Ancak toplumlar arası farklılıklar bulunan analitler için (Örneğin GGT) ortak referans aralık tespiti mümkün değildir (11).

2011'de C-RIDL, Ichihara başkanlığında Armbruster D, Barth J, Klee G, Özarda Y, Pekelharing M ile çok merkezli çalışmalar yapılarak ülkelere özgü referans aralık belirlenmesi amaçlanmış ve bu doğrultuda çalışmalar devam etmektedir (12).

2014'te Özarda Y ve arkadaşları tarafından ülkemize özgü biyokimya analitlerinin referans aralıkları saptanmıştır (13).

Günümüzde referans aralık çalışmalarının güncel olmasının nedenleri, genellikle beyaz kökenli nüfus için belirlenen referans aralıklarının kullanılıyor olması ve birçok laboratuvarın hizmet verdiği çeşitli popülasyonlar için uygun olmaması, kullanıma giren her bir analit için referans aralıklarına ihtiyaç duyulması,

mevcut referans aralıklarının yıllar öncesinin metotlarıyla belirlenmiş olmasından dolayı doğrulanması veya onaylanmasının gerekliliğidir (14).

### 2.3. Referans Değer Çeşitleri

Referans değer çeşitleri elde edildiği kaynağa göre bireye ait ve toplumdan köken alan olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

#### 2.3.1. Bireye ait referans aralıklar

Sağlıklı bir bireyin farklı zamanlarda yapılan ölçümleri arasında farklılıklar olabilir. Bu farkın 3 temel nedeni vardır (4):

- 1) Kişinin biyolojik varyasyonu,
- 2) Preanalitik varyasyon,
- 3) Analitik varyasyon

Bazı testler için birey içi değişkenlikler oldukça azdır. Böyle testlerde kişinin farklı zamanlarda yapılan iki ölçümü arasında belirgin bir fark olsa da, her iki ölçüm de toplumdan belirlenen referans aralığına göre “referans sınırlar içinde” kalabilir ve bu durum kişinin sağlık durumundaki bir değişikliğe işaret etmesine rağmen gözden kaçırılabilir. Referans aralıklar toplumun %95’ini kapsayacak şekilde oluşturulduğundan referans aralıkların dışında kalan sonuçların değerlendirilmesinde sağlıklı olan bireylerin de varlığı göz ardı edilmemelidir.

Reference Change Value (RCV): Aynı bireyin farklı zamanlarda yapılan ölçüm değerleri arasındaki farkın anlamlı olup olmadığını saptayan değerdir (15).

Bu değer,

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CVa^2 + CVi^2)^{1/2}$  formülüyle belirlenir. Burada Z,  $p < 0,05$  için 1,96’dir. (CVa: analitik değişkenlik, CVi: bireysel değişkenlik) (16,17).

### **2.3.2. Toplumdan köken alan referans aralıklar**

Toplumdan temel alan referans aralıklar, hedef popülasyondan seçilen referans bireylerden belirlenen verilerden elde edilir.

### **2.4. Referans Bireylerin Seçimi**

Referans bireyler grubuna hangi bireylerin seçileceği bir takım kriter ile belirlenir. Bu kriterler referans popülasyonun tanımını, sağlık durumu veya ilgilenilen hastalık için spesifikasyonları içerir (4). Hedeflenen referans grubu oluşturacak kişiler seçilmelidir. IFCC ve NCCLS'nin referans değerlerinin belirlenmesi ilgili standartları referans bireylerin direkt yöntemle seçilmelerini önermektedir. Ancak, yüksek maliyetli ve pratiğinin de zor olması nedeniyle başka yollar da önerilmektedir (2-4). Genel olarak 3 farklı sınıflama vardır. Bunlar; direkt-indirekt, rastgele-rastgele olmayan ve priori (test öncesi) - posteriori (test sonrası) yöntemleridir (18).

#### **2.4.1. Referans Birey Seçim Yöntemleri**

Referans birey seçiminde kullanılan yöntemler aşağıda tanımlanmıştır (5-18).

- a) Direkt örnekleme: Bireyler belli kriterler kullanılarak ana popülasyondan seçilir.
- b) İndirekt örnekleme: Bireyler dikkate alınmaz, bunun yanında veriler elde etmek için özel kriterler doğrultusunda bir laboratuvar bilgi sisteminden analitik değerlere belli istatistiksel metotlar uygulanır.
- c) Rastgele örnekleme: Seçim süreci her birey ya da test sonucu için eşit bir seçilme şansı vermektedir.
- d) Rastgele olmayan örnekleme: Bireylerin seçiminde belirli kriterlerin kullanılmasıyla her bireye eşit olmayan seçilme olasılığı veren yöntemdir.
- e) Test öncesi (priori) örnekleme: Numune toplama ve analiz işlemleri için katılım kriterlerinin tam olarak yerine getirildiği ve bireylerin seçildiği direkt metottur.

f) Test sonrası (posteriori) örnekleme: Analiz sonuçlarını ve çok sayıda bireyden alınan bilgiyi içeren mevcut veri tabanından yararlanılan direkt metottur. Birey değerleri istenen katılım kriterlerini tam olarak yerine getirmektedir.

Kriterler tam olarak uygulandığında hem priori yöntemle hem de posteriori yöntemle güvenilir referans aralıklar belirlemek mümkündür. Örnek sayısının az olduğu çalışmalarda özellikle priori yöntem daha iyi sonuç vermektedir (4). IFCC'nin önerisi, referans aralığın direkt ve priori yöntemle seçilen en az 120 numunenin non-parametrik metotla hesaplanmasıdır (7).

#### **2.4.2. Referans Birey Seçim Kriterleri**

Referans aralığı belirlenmeye çalışılan referans topluma ait referans bireyin çok iyi tanımlanması ve sadece bu tanımlamaya uygun bireylerin referans birey olarak çalışmaya dâhil edilmesi çok önemlidir. Bu tanımlamalar dışlama ve dâhil edilme kriterlerini belirler. Her popülasyonun dışlama kriterleri o popülasyonun taşıdığı özelliklere göre belirlenmelidir. Hedef popülasyona özel farklı biyolojik varyasyon sebepleri varsa bunlar da dışlama kriterleri belirlenirken dikkate alınmalıdır.

Dışlama kriterlerine örnek olarak aşağıdakiler verilmiştir (4,18):

Açlık-Tokluk

Çevresel faktörler

Genetik Faktörler

Obezite

Hipertansiyon

Alkol tüketimi

Sigara tüketimi

Ağır egzersiz

Stres

Gebelik

Emzirme

Mesleki faktörler

Yakın zamanda geçirilen cerrahi operasyon,

Yakın zamanda geçirilen hastalık öyküsü

Yakın zamanda yatarak tedavi öyküsü

Yakın zamanda kan transfüzyonu yapılmış olması

Kan transfüzyon donörü olması

İlaçlar (Oral kontraseptifler, vitaminler, bitkisel kaynaklı destek ürünleri, ağrı kesiciler, çeşitli ilaç kötüye kullanımları vb.)

### ***Alt gruplara ayırma (partition) kriterleri***

Referans bireyleri kendi içinde alt gruplara ayırarak daha homojen gruplar elde etmek mümkündür. Bu ayırma kullanılacak kriterler aşağıda sıralanmıştır (4,7,18):

Yaş

Cinsiyet

Açlık-tokluk

Beslenme özellikleri

Coğrafi bölge

Egzersiz

Gebelik dönemi

İrk

Kan alımı sırasındaki duruş

Kan grubu

Menstruel siklusun dönemi

Sigara kullanımı

Sirkadiyen değişiklikler

Alt gruplar belirlenirken en çok cinsiyet ve yaş kullanılmaktadır. Bazen yaş gruplarını infant, çocuk, ergen, erişkin ve geriatric gibi alt gruplara ayırarak kullanmak daha uygun olabilir (4).

### 2.4.3. Referans Bireylerin Seçimi

#### 2.4.3.1. Direkt (Doğrudan) Örneklem Yöntemi

Bireyler ana toplumdan tanımlanmış kriterlere göre seçilir. IFCC ve NCCLS'nin referans değerlerinin hesaplanmasıyla ilgili standartları, referans bireylerin direkt örneklem ile seçilmelerini önermektedir. Bu yöntemde, tanımlanmış kriterler doğrultusunda hazırlanan anket formları doldurulur ve sonra bireylerin analizleri yapılır. Kriterler seçim esnasında uygulamanın yönüne göre iki şekilde kullanılabilir.

**a- Test öncesi örneklem (Priori):** Örneklem içinden belirlenmiş katılım kriterlerine uygunluklarına göre bireyler direkt metotla seçilir (19). Analiz yöntemi ile ilgili bilgiler çok sayıda ve çok iyi biliniyorsa bu yöntem tercih edilir (20).

**b- Test sonrası örneklem (Posteriori):** Çok sayıda bireye ait analiz sonuçlarını içeren iyi düzenlenmiş, elimizdeki tüm şartları sağlayan demografik bir veri tabanından belirlenmiş katılım kriterlerine uyan bireylerin direkt metotla seçilmesidir (4,19). Analiz yöntemi ayrıntılı bilinmiyor ve hakkında yeterli bilgi toplanamıyorsa bu yöntem tercih edilir. Önce bireylerden örnek alınır, analiz yapıldıktan sonra, ayırma ve alt gruplara bölme işlemi yapılır (20).

Priori ve posteriori örneklem yaparken bireyler iki şekilde seçilir:

**a- Rastgele örneklem:** Her bireye eşit oranda seçilme şansı veren bir işlemdir. Referans grup oluşturulmasında bireylerin rastgele olması daha uygundur. Çünkü grubun tümünün referans grubunun kriterlerini sağladığı düşünülür. Elde edilen veriler istatistiksel analizlerle değerlendirilir (21).

**b- Rastgele olmayan örneklem:** Bireylere eşit olmayan seçilme şansı veren bir işlemdir. Genellikle bu yöntem kullanılmaktadır.

### 2.4.3.2. İndirekt (Dolaylı) Örnekleme Yöntemi

Direkt yöntem örneklendirme yönteminin uygulama zorluğu ve yüksek maliyetli olması sebebiyle yaygın bir kullanım kazanamamış ve birçok araştırmacıyı uygulama açısından daha kolay olan yöntemler bulmaya zorlamıştır. İlk olarak 1999 yılında Ferré-Masferrer ve arkadaşları hasta verilerinin istatistiksel olarak aşırı karışık ve geniş dağılım göstermediği durumda, referans aralık belirlenmesinde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir (22). Nitekim daha sonra yapılan çalışmalarda, klinik laboratuvarların hizmet verdikleri hasta kitlelerini kendi referans popülasyonları olarak almalarının daha güvenilir olacağını savunan araştırmacıların sayısı da artmıştır (4,23).

Bu sistem, bireyler dikkate alınmaksızın, laboratuvarından test istemi yapılmış bireylere ait test sonuçlarının kayıtlı bulunduğu laboratuvar işletim sisteminden belli kurallara uygun şekilde seçimi işlemidir (19). Bu yöntem daha pratik bir yöntem olmasına rağmen elde edilen büyük verinin istatistiksel analizi daha farklı işlemler gerektirir (4).

İndirekt örneklendirmenin temel prensibi şu şekildedir: Klinik laboratuvarlarda elde edilen analit sonuçların çoğunluğu tam olarak Gaussian bir dağılım göstermezler. Ancak dağılımları normale yakındır. Çok sayıda sapma veya herhangi bir gruplaşma olmamak şartı ile bu dağılımın içinde gerçekte Gaussian tipe uyan bölümleri kullanılarak hesaplamalar yapılabilir. Bu amaçla, İndirekt örneklendirme ile toplanan verileri değerlendirebilen birtakım istatistiksel analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Bu metotlar bilişim sistemleri sayesinde kolay uygulanabilir hale gelmiş ve yaygınlaşmışlardır (20,21). Ancak bu yöntemlerin de bazı dezavantajları vardır. Çünkü bu konuda tanımlanmış birden fazla yöntem bulunmaktadır. Elde edilen alt ve üst referans limitleri bütünüyle o yöntemde kullanılan matematiksel metoda bağlı kalmaktadır. Bazı araştırmacılar tarafından belirtilen bir diğer dezavantaj ise elde edilen referans aralıklarının o hastanenin belli bir dönemini yansıtması ve değerlerin hastaneden hastaneye farklılıklar



gösterebilmesidir (24). Bu şekilde saptanan referans aralıklarının daha genel bir hasta popülasyonuna uygulanması sakıncalı görülmektedir.

İndirekt örneklendirme yoluyla veri toplanmasında da uyulması gereken bazı önemli noktalar vardır (23):

1. Kullanılan örnek dağılımı, referans popülasyonunun bir parçası olmalıdır. Bunun için en uygun yöntem hasta verileri seçilirken hastane kayıtlarının kullanılmasıdır. Buradan hareketle taburcu edildiği andaki tanısı ve demografik bilgileri kullanılabilir.

2. Örnek referans dağılımı ünimodal olmalıdır; fakat dağılım yatık bir dağılım olabilir. Dağılımın içinde homojeniteyi bozacak gruplaşmalar bulunmamalıdır.

3. Verilerin yoğun olduğu bölge, dağılımın moduna uymalıdır. Moddan uzak bölgedeki veriler büyük olasılıkla hastalıkla ilişkili verilerdir.

4. Total dağılım ile örnek dağılımın modları birbirlerine yakın olmalıdır.

Görüldüğü gibi indirekt yöntem, direkt yönteme göre daha kolaydır. Çünkü herhangi bir veri seçimi yapılmamaktadır. Fakat dağılımda bimodal görünüm ortaya çıkarsa, kesinlikle hasta tanısı ve demografisi kullanılarak muhtemel gruplaşmaların önüne geçilmelidir. Referans değerler belirlenirken projenin amacına göre bu örneklem stratejilerinden biri, diğerlerine üstün olabilir. Buna göre hangi metodun kullanıldığı, uygulama sonrası mutlaka belirtilmelidir (19).

Sonuç olarak, her iki yolla da örneklendirme yapılabilir ve bunlara göre seçilen referans bireyler farklı istatistiksel yöntemlerle değerlendirilebilir. Doğru bir veri seçimi yapılırsa daha sonraki basamaklarda, dağılımlarda gruplaşmaya ve uç değerlere çok daha az rastlanır. Sıklıkla kullanılan bir diğer kriter de hastanın taburcu olduğu andaki tanısıdır. Genellikle bu tanı kullanılarak hastanın tüm analiz sonuçları yerine, bu tanı ile ilgili analiz sonuçları dışlanmakta ve o tanıda belirtilen patolojinin etkilemediği test sonuçları örnek referans kitlesine dâhil edilebilmektedir (25). Bu yöntem aslında bir çeşit posteriori örneklendirmedir ve yapılan şey hastanın demografik bilgilerinin yanı sıra tanısının da kullanılmasıdır.

Günümüzde hastaneye başvuran kişilerin tüm analit sonuçları, yaş, tanı, başvurduğu klinik, cinsiyet vb. pek çok bilgileri Hastane Bilgi Yönetim Sistemi (HBYS) ve Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi (LBYS) üzerinde dijital olarak depolanmaktadır. Hoffmann 1963 yılında hastane verilerinin içerisinde normal değerlerin de bulunabileceğini öne sürmüştür (26,27). 1967 yılında Bhattacharya'nın indirekt referans aralık yöntemi, hastaneye başvuran kişilerin büyük çoğunluğunun aslında normal değerlere sahip olabileceği fikrine dayanmaktadır (28). Buna göre verilerin daha yoğun toplandığı bölgenin normal dağılıma uyduğu düşünülmektedir. Bu yöntem ucuz ve basit bir yöntemdir fakat sağlıklı olmayan bireylere ait sonuçların çalışma dışı tutulmasına özen gösterilmelidir. Kadın doğum, onkoloji, ortopedi gibi dal hastanelerinde bu yöntemle hasta verilerinden belirlenecek referans aralıkları hastaneler arasında anlamlı fark gösterebilir (26). Toplam verilerden dışlama ve ayırma kriterleri uygulanarak elde edilen verilere çeşitli istatistiksel yöntemler kullanılarak referans aralık belirlenir (7). Bazı bilgisayar programları kullanılarak referans aralıklar tespit edilebilir (29).

#### ***Bhattacharya yöntemi:***

Bhattacharya yöntemine göre, seçilmiş birey verilerinin çoğunluğunun olduğu bölüm, sağlıkla ilişkili verilerden oluşmaktadır (28). 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 (30).

## 2.5. Numunelerin Toplanması

Referans aralıkların genişliğine etki edebilecek, birey içi ve bireyler arası biyolojik değişkenler, preanalitik değişkenler, ölçüm sisteminden kaynaklanan analitik değişkenler standardize edilmelidir (31). Araştırılacak referans popülasyonu ve ölçümü yapılacak testleri etkileyen preanalitik faktörler belirlenmeli ve standardize edilmelidir. Çalışmada kullanılacak referans bireyler, anket yöntemiyle daha önceden belirlenen dışlama, dâhil etme ve ayırma kriterlerine göre gönüllüler içerisinden seçilir. Örnek alım şartları önceden belirlenmeli ve çalışmaya dâhil edilen bütün gönüllülerden aynı koşullarda örnek alınmalıdır. Böylece analiz öncesi değişkenlerin sonuçlar üzerindeki etkisi en az düzeye indirgenmiş olur.

Örnek alınmadan önceki istirahat postürü ve süresi, kan alımı anındaki postür, kanın ne zaman kim tarafından alınacağı ve alınan bölge (ön kol, el sırtı vb.), örnek tipi (venöz, arteriyel, plevral mayi vb.), örneğin alınacağı tüp tipi (jelli, sitratlı vb.), alım şekli (kateter, holder, enjektör), turnike süresi, örnek alındıktan sonra bekleme süresi, örneğin beklediği ortamın sıcaklığı, eğer santrifüj edilecekse; santifüjün tipi, süresi, santrifüj kuvveti (relative centrifugal force), santrifüj sonrası hemen analiz edilmeyecekse; saklama koşulları ve süresi belirlenir ve tüm gönüllülere aynı işlemler uygulanır.

## 2.6. Numunelerin Analiz Edilmesi

Ölçüm yöntemlerinin analitik değişkenliklerinden kaynaklanan farklılıklar referans aralıkların belirlenmesini etkiler. Bu nedenle referans aralık ölçümü yapan laboratuvarın analitik geçerliliğini ispatlaması gerekmektedir. Reaktifler, kalibratörler, ortam sıcaklığı gibi analitik performansı etkileyen tüm faktörler kontrol edilmelidir. Reaktif lotlarının ve laboratuvar şartlarının değişkenliği de kontrol altında olmalıdır. Ölçüm farklı günlerde yapılmalı, ölçüm öncesi kalite kontrol yapılmalı, günler arası varyasyon da dikkate alınmalıdır (7).

## 2.7. Referans Aralıkların Hesaplanması

Öncelikle verilerin dağılım grafiği incelenir ve normal dağılıma uyup uymadığı belirlenir. Normal dağılıma uyan veriler parametrik, uymayan veriler nonparametrik olarak değerlendirilir (11). Biyolojik analitlerin dağılımı genellikle normal dağılıma uymamaktadır. Bu yüzden çoğunlukla nonparametrik yöntem tercih edilir. Normal dağılıma uymayan veriler veri transformasyonu yapılarak parametrik yöntemle hesaplanabilir (31). CLSI ve IFCC, nonparametrik yöntemi önermektedir. Ayrıca 2008’de bu konseyler az sayıda örnek varlığında Robust (32) ve Bootstrap (15,18,33-34) yöntemlerinin kullanılabilceğini bildirmişlerdir (4,7).

### 2.7.1. Referans değer için gereken minimum ve maksimum kişi sayısı

Referans grupları değerlendirilirken veri sayısı ne kadar çok olursa kullanılacak metodun güvenirliliği o kadar yüksek olacaktır. Dağılımı etkileyen faktörler uç değerler ve veri sayısıdır. Özellikle uç değerler veri sayısının az olduğu çalışmalarda dağılıma olumsuz etki ederler. Dağılımın iyi tanımlandığı Gaussian dağılımlarda kullanılan veri sayısı daha düşük olabilir. Fakat laboratuvar verileri genelde Gaussian dağılımına uymaz. Bu durumda düşük veri sayıları anormal sonuçlara neden olabilmektedir (35).

Referans sınırlarının saptanmasında kullanılan yöntemlerde NCCLS, kaç veri olması gerektiğini ilgili dokümanında belirtmektedir. Buna göre 2,5 ve 97,5 persentilleri tanımlayabilmek için en az 40 veriye ihtiyaç vardır (36). Parametrik veya nonparametrik yöntemin %90 güven aralığında uygulanabilmesi için en az 120 veri gereklidir (31,36,24). Güven aralığının yüzdesi arttıkça bu sayı artar. %95 güven aralığı için 153, %99 güven aralığında ise 198 verinin gerektiği ileri sürülmektedir (7).

Farklı referans aralık ihtiyacı olan alt grupların varlığında araştırılacak her alt grup için de en az 120 verinin olması önerilmiştir (7). Referans birey sayısı ne kadar fazla ise güven aralığı o kadar dardır ve belirlenen referans aralık da o kadar

güvenilirdir (36). 120'nin altındaki veri sayılarında Robust (37) ve Bootstrap (38) yöntemleri ile referans aralık hesaplanabilir (4).

Hastane verileri kullanılarak yapılan indirekt referans aralığı çalışmalarında ise veri sayısının ne olması gerektiği hususunda net bir görüş yoktur. Dikkat edilmesi gereken nokta ise hastane verileri hasta popülasyonunu yansıttığı için bu veriler içinde çok miktarda aşırı uç değerler bulunur. Bu nedenle aşırı uç değerlerin çok iyi tespit edilip veri setinden çıkarılması gerekmektedir.

### **2.7.2. Aşırı Uçlarda Gözlenen Değerlerin (Sapan Değerler) Belirlenmesi**

Dağılımlar değerlendirilirken gözlenen, dağılımdan uzaklaşmış aşırı uç değerler değerlendirmeye alındığında sonuçlar olumsuz etkilenir (20). Dağılımlarda aşırı uç değerler bulunabilir. Çok iyi ayıklanmış verilerde dahi bu mümkündür. Özellikle hastane verilerinden alınan bireylere ait sonuçları olduğu gibi alındığından yüksek ihtimalle uç değerler bulunur.

Referans kitlesinin dağılımında uç değerlerin bulunup, çıkarılması için bazı yöntemler belirlenmiştir (39):

#### ***Dixon D/R kuralı:***

En çok tercih edilen uç değer tespit yöntemlerinden birisidir. Veriler küçükten büyüğe doğru sıralanır. Dağılımın alt ve üst noktalarındaki uç değerler Dixon formülü ile aranır.

D: Uç değer olup olmadığı araştırılan değer kendinden bir önceki değerle arasındaki farktır.

R: Tüm verilerin (dışlanması araştırılanlarda dâhil) en küçüğü ile en büyüğü arasındaki farktır.

$D/R > 0.33$  ise araştırılan değer uç değer olarak kabul edilir ve değerlendirme dışı bırakılır. Bu işlemten sonra veri dağılımında uç değerlerin varlığı tekrar incelenmelidir (33,40).

### ***Horn Algoritmi (Tukey metodu):***

Horn ve arkadaşları tarafından tarif edilen Tukey yönteminde Box-Cox transformasyonu ile veri dağılımı düzenlenir. Daha sonra inter quartil range (IQR ) Tukey-Robust (41) istatistiğiyle hesaplanır.

$$Q3-Q1=IQR$$

Burada Q3: 75. persentili, Q1: 25. persentili gösterir.

$$\text{Alt limitin uç değeri sınırı} = Q1 - 1,5 \times IQR$$

$$\text{Üst limitin uç değeri sınırı} = Q3 + 1,5 \times IQR$$

Bu sınırların dışında kalan değerler uç değer olarak atılır ve veriler tekrar transforme edilir.

### ***Latent Abnormal Value Exclusion (LAVE) Yöntemi:***

Uç değerlerin çok değişkenli bir yaklaşımla değerlendirilmesini öneren LAVE yönteminde metabolik sendrom, diyabet veya anemi gibi sık görülen hastalıkların tanısında kullanılan Glukoz, Trigliserit, HDL-K, LDL-K, Hemoglobin gibi bazı test sonuçlarının dışlama kriteri olarak kullanılması önerilmektedir. Sodyum, Potasyum, Klor, Kreatinin, ALP, BUN gibi sağlıklı bireylerde anormal sonuçların sık görülmediği parametreler önerilen listede yer almamaktadır (33).

### ***Blok prosedürü:***

Aynı yönde (düşük veya yüksek) ardışık olarak çok sayıda uç değer bulunabilir. Fakat en son uç değer kendisinden önceki değere çok yakın olduğu zaman aşırı uç değerleri bloke edebilir. Bu durumda en yüksek veya en düşük iki değer arasındaki fark, 1/3 oranından daha fazla ise bu değere aşırı uç değer uygulaması yapılır ve bulunan en düşük farklı uç değerden sonra gelen tüm uç değerler atılır (39,42).

### ***Grubbs T İstatistiği:***

Veriler küçükten büyüğe doğru sıralanır. Her bir alt ve üst veri için bir T değeri saptanır ve önceden belirlenmiş T istatistik tablolarına göre alt ve üst T değerlerinin derecesine bakılır. Kritik değerleri aştığı takdirde, veri uç değer olarak kabul edilir ve dışlanır (39).

### **2.7.3.Alt gruplara ayırma kararı**

Referans değerler yaş, cinsiyet ve diğer karakteristiklere göre alt gruplara ayrılabilirler. Gruplara ayırmanın amacı; bireyler arasındaki varyasyonların en aza indirilmesidir. 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 (36).

### ***Parametrik Yöntem:***

Student's t testi ile iki alt grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığına bakılırken, nested ANOVA testi ile çok sayıda alt grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığına bakılabilir (33).

### ***Nonparametrik Yöntem:***

Sinton, Crowley ve Bryant alt grupların ortalamalarının farkına bakılmasını tavsiye etmişlerdir. Bu farkın tüm gruptan elde edilen aralığın  $\frac{1}{4}$ 'ünden fazla olduğu durumda alt gruplar birleştirilmez (43).

Eğer İki alt grup arasındaki fark araştırılıyorsa, Harris-Boyd yöntemi tercih edilmelidir (33). Ayırma kararı, alt grupların ortalamaları arasındaki fark, standart sapmaları ve kişi sayıları değerlendirilerek verilir (34,44). Örneğin, kadın ve erkek için farklı aralıkların hesaplanmasının gerekliliği araştırılıyorsa her iki grubun

ortalamaları ( $\bar{X}_1, \bar{X}_2$ ) standart sapmaları ( $S_1, S_2$ ) ve kişi sayıları ( $n_1, n_2$ ) alınır. Bu veriler Harris-Boyd denkleminde yerleştirilerek z değeri hesaplanır.

Ayırma kararı hesaplanan z değerinin kritik değer ile karşılaştırılmasıyla verilir (44).

$$Z_{\text{Hesaplanan}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad \text{ve} \quad Z_{\text{Kritik}} = 3,0 \times \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{240}}$$

$Z_{\text{hesaplanan}} > Z_{\text{kritik}}$  ise iki alt grup arasında fark vardır ve alt grupların referans aralığı ayrı ayrı hesaplanmalıdır.

Lahti yönteminde ise, alt grupların referans aralığının alt ve üst limiti dışında kalan yüzdeleri hesaplanır (45,46). Bu yöntem, alt grup sayısı fazla ve veri sayısı az olan çalışmalarda kullanılmalıdır. Standart sapma değeri büyük olan alt grup küçük olan alt grupla karşılaştırıldığında standart sapma değeri küçük olana göre 1,5 kat büyükse alt gruplar ayrı ayrı hesaplanır (33).

Fraser yönteminde ise ayırım kararı, standart sapma cinsinden ifade edilen biyolojik varyasyonun büyüklüğüne göre değerlendirilir (33,47).

İchihara yönteminde, değişkenler araştırılırken standart sapmadan elde edilen veriler değerlendirilir. Normal olmayan dağılımlara logaritmik transformasyon uygulanmalıdır (33).

Alt gruplara ayırma kararında Effect Size (Etki Büyüklüğü) değerlerinin kullanılması da önerilmektedir. Effect Size iki grup ortalaması arasındaki farkın hesaplandığı istatistiksel bir yöntemdir. Cohen's d formülü ile grup ortalamaları ve standart sapma değerleri kullanılarak hesaplanır ve  $d=0.2$  küçük etki,  $d=0.5$  orta etki,  $d=0.8$  büyük etkiyi ifade etmektedir. Effect Size değeri 0.5 veya daha yüksek olan parametreler arasında fark vardır ve alt gruplara ayrılması gerekmektedir (48).



Mann Whitney U testi ile iki alt grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığına bakılırken, Kruskal Wallis testi ile çok sayıda alt grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığına bakılabilir (31,33).

#### 2.7.4. Referans Kitesinin Dağılım Tipinin Değerlendirilmesi

Referans kitesinin dağılımı Gaussian veya non-Gaussian olabilir. Dağılım tipinin belirlenmesi referans kitesine uygulanacak referans aralığı belirleme metodunun hangisi olacağının belirlenmesi için gereklidir. Çünkü Gaussian dağılımlarda parametrik, non-gaussian dağılımlarda ise non-parametrik yöntemler kullanılmaktadır. Normal dağılıma uygunluğun belirlenmesi için çeşitli istatistiksel yöntemlere ihtiyaç vardır. Referans aralığının belirlenmesinde genellikle kullanılan normal dağılıma uygunluğun test edildiği yöntemler şu şekildedir:

***Chi-Square (Ki-kare ) Uygunluk testi:*** İlk olarak 1900'lü yılların başında kullanılmaya başlanan bu test homojen olmayan ve gruplandırılmış dağılımlarda yetersiz sonuçlar verdiği için özellikle referans aralığı hesaplamalarında artık kullanılmamaktadır (21).

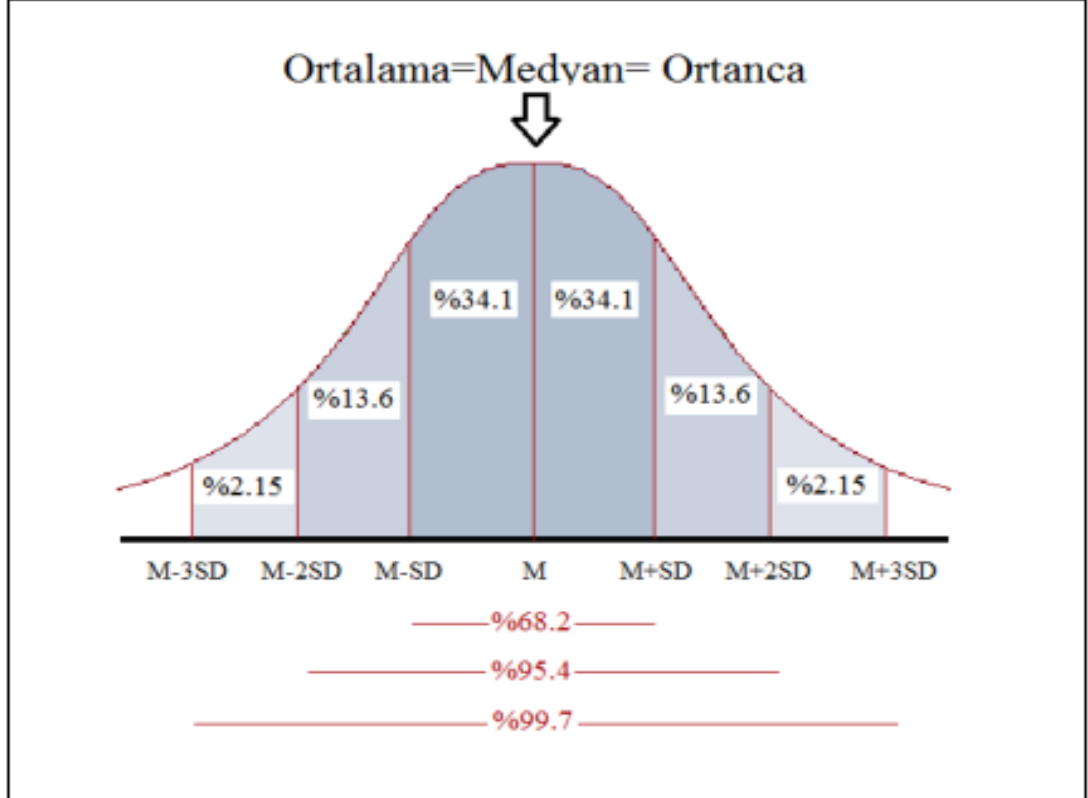
***Kolmogorov-Simirnov (K-S) Testi:*** K-S testi, Kolmogorov tarafından 1933 yılında önerilen tek örnek için uyum iyiliği testidir. 1939 yılında ise bir matematikçi olan Simirnov tarafından iki bağımsız örnek için uyum iyiliği testi geliştirilmiştir. Ki-kare testinin uygulanabilmesi için beklenen frekansların 5'den büyük olması istenir. K-S testi böyle bir şarta dayanmadığı için kolayca uygulanabilmektedir. Özellikle yaş, cinsiyet gibi faktörler sonucu dağılım gruplar halinde tanımlanmış ise, K-S testini kullanmamız daha uygun olacaktır. Bu test daha güvenilir ve kuvvetli bir analiz yöntemidir ve dağılımın gruplandırılmasından etkilenmemektedir (49).

***Shapiro-Wilk testi:*** Bu testin K-S testinden tek farkı veri sayısı ihtiyacıdır. Düşük veri sayılarında K-S testinden daha güvenli sonuçlar üretebilmektedir (39).

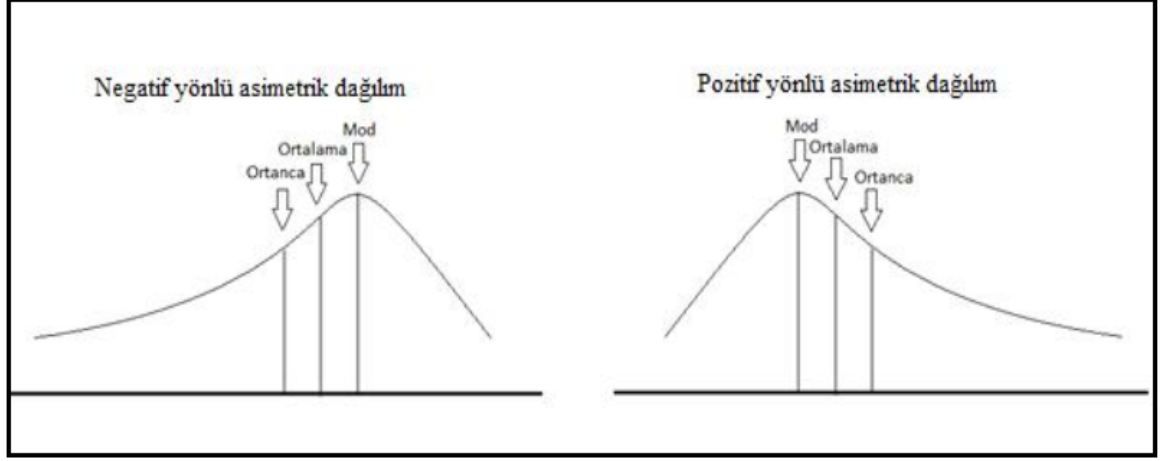
**Katsayı tabanlı testler:** IFCC eğer veri transformasyon yapıyorsa, bu durumda dağılımdaki değişimin, katsayı tabanlı testler ile takip edilmesini önermektedir (50). Katsayı tabanlı testler çarpıklık ve sivrilik olarak iki şekilde ifade edilmektedir.

Teorik olarak olması gereken normal bir dağılımdır ve bu dağılımın özelliği olarak ortalamanın her iki tarafında homojen ve eşit sayıda dağılmış veriler bulunur. Oysa yatık dağılımlarda grafiğe bakıldığında bir orta nokta tanımlanamaz, çünkü değerler histogramda eşit olarak dağılmamışlardır. Böyle bir durumda dağılımları tanımlamanın en iyi yolu medyan değer kullanılmasıdır. Yine çok basık dağılımlar ortaya çıkabilir ve böyle dağılımlarda hemen hemen her değer frekansı birbirine çok yaklaşmıştır, en uçtaki değer frekansı en ortadaki değer frekansına oldukça yakındır.

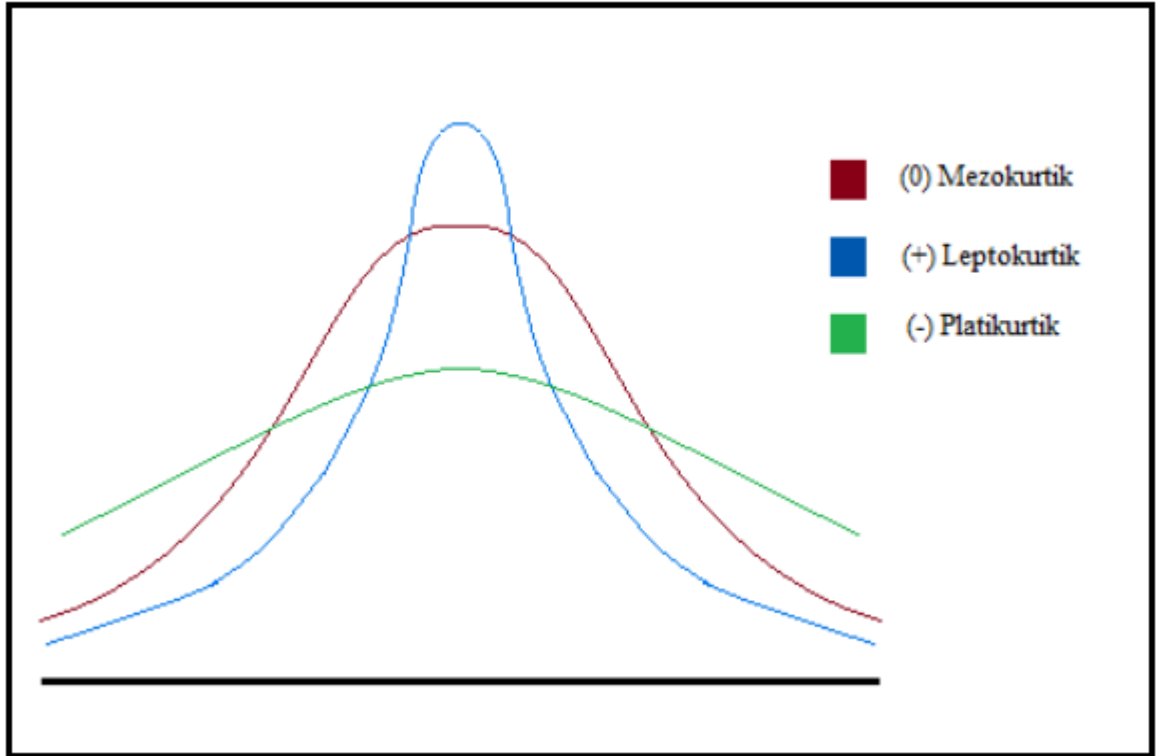
**Şekil-1.** Normal Dağılım Grafiği



Şekil-2. Negatif ve pozitif yönlü asimetrik dağılım grafikleri



Şekil-3. Negatif ve pozitif yönlü dikey çarpıklık grafikleri



### 2.7.5. Referans Değerlerin Sınırlarının Belirlenmesi

Klinisyen test sonuçlarını yorumlarken hastanın laboratuvar sonuçlarını referans aralığıyla karşılaştırılır. Bu aralık farklı yöntemlerle hesaplanabilir. Üç çeşit referans aralık önerilmektedir: a) Tolerans aralığı, b) Öngörü aralığı, c) Yüzdeler arasındaki aralık (6). Yüzdeler arasındaki aralık hesaplanması en kolay olanıdır; oldukça yaygın kullanılır ve IFCC tarafından önerilmektedir. Referans aralığının değerleri %2.5 ve %97.5 düzeyleri arasında kalan %95'lik merkezi alandır.

Yüzdeler arasındaki aralık hesaplama iki ana istatistiksel yöntemle belirlenir.

Bunlar: 1) Parametrik yöntemler, 2) Non-parametrik yöntemler.

#### 2.7.5.1. Parametrik Yöntemler

Parametrik yöntem non-parametrik yöntemle göre çok daha karmaşıktır ve veri sayısı yüksek olunca bilgisayar istatistik programları gerekir. Parametrik yöntemde yüzdelerin hesaplanmasında dağılımın Gaussian dağılım olduğu varsayılır. Referans dağılım, Gaussian dağılımından anlamlı olarak farklı değilse, 2.5 ve 97.5 yüzdeler ortalamasının her iki tarafına iki SD eklenerek hesaplanır. Daha kesin hesaplamak için,

$$2.5 \text{ yüzdeler (Alt sınır)} = \text{Aritmetik ortalama} - (1.96 \times \text{SD}),$$

$$97.5 \text{ yüzdeler (Üst sınır)} = \text{Aritmetik ortalama} + (1.96 \times \text{SD})$$

formülleri kullanılır.

Referans dağılım Gaussian değil ise, matematiksel transformasyon ile Gaussian dağılımına uyması sağlanabilir.

#### 2.7.5.2. Non-Parametrik Yöntemler

Bu yöntemler özellikle hastane kayıtlarının kullanıldığı Gaussian olmayan dağılıma uyan veri setlerinde tercih edilirler. Fakat dikkat edilmesi gereken nokta her bir alt grup için gerekli veri sayısı en az 120 olmalıdır. Bu sayının altındaki veri

setlerinde ise modifiye yöntemler kullanılır. Burada dağılımın % 95'lik kısmını kapsayan % 2,5 ile % 97,5'luk alana eşdeğer noktalar aranır.

Bunun için veriler küçükten büyüğe doğru sıralandıktan sonra aşağıdaki formüller kullanılır:

$$\text{Alt değer} = 0.025 \times (n+1)$$

$$\text{Üst değer} = 0.975 \times (n+1)$$

Burada n veri sayısını belirtmektedir. Eğer küsuratlı rakamlar çıkarsa yuvarlama yapılır. Örneğin, 9.5 çıkan bir alt değer 10'a yuvarlanır. Böylece 10. sıradaki veri dağılımının alt noktası olarak tanımlanır, aynı şekilde üst nokta da belirlenir (50).

### **2.7.6 Veri Transformasyonu**

Veri transformasyonu Gaussian forma uymayan dağılımlara uygulanan bir yöntemdir. Bu tip dağılımlarda parametrik yöntemlerin kullanılması büyük hatalara yol açmaktadır. Data transformasyonu ile dağılım Gaussian forma yaklaştırılabilir. Bu yaklaştırma da belli ölçüde bir hata payı içerecektir; bu nedenle transformasyon sonrası dağılımın tipi yeniden test edilmelidir. Yeni ortaya çıkan verilerin oluşturduğu dağılımda, skewness (çarpıklık) ve kurtosis (sivrilik) katsayılarına bakılarak değerlendirme yapılmalıdır.

### **2. 7.7. Güven Aralıkları**

Güven aralıkları, 120 kişiden daha az çalışma grubundan elde edilen referans aralığın belirsizliğinin saptanmasında yararlıdır (51). Güven aralıkları; veri sayısının az olduğu durumlarda anlamlı referans aralık elde etmek için kullanılabileceği gibi, veri sayısı fazla olduğunda referans aralığının hassasiyeti hakkında fikir verir. Güven aralığı nonparametrik veya parametrik olarak hesaplanabilir. The International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) ve IFCC güven aralığının nonparametrik yöntemle hesaplanmasını önermişlerdir (51).

## **3. MATERYAL VE METOT**

### **3.1. Etik konular**

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı'nda, 2017-39 no'lu etik kurul onayı ile gerçekleştirilen retrospektif bir çalışmadır.

### **3.2. Analitlerin seçilmesi**

Bu çalışmada, Ocak 2013-Aralık 2016 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesine başvuran hastaların (ayaktan ve yatan hastalar) Klinik Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılan test sonuçları kullanıldı.

Çalışmaya klinik kimya parametrelerinden; Albümin, ALP, ALT, Amilaz, AST, D.bil, T.bil, T.Kalsiyum, Klor, HDL-K, LDL-K, T.kolesterol, CK, Kreatinin, GGT, Glukoz, T.Demir, LDH, Magnezyum, PO<sub>4</sub>, Potasyum, T.protein, Sodyum, Trigliserit, BUN ve Ürik asit testleri dâhil edilmiştir. Bu testler Beckman Coulter AU-5800 otoanalizöründe (Shizuoka, Japonya) çalışılmıştır.

### **3.3. Verilerin eldesi**

01.01.2013- 31.12.2016 tarihleri arasında Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında çalışılan klinik kimya test sonuçları LBYS'den alınarak excel programına aktarıldı. Veriler yaş, cinsiyet, hastanın başvurduğu poliklinik/ klinik, test adı, testin çalışıldığı tarih ve test sonucu bilgilerini içerecek şekilde alındı. Ayaktan ve yatan hasta ayrımı yapılmadı.

Hastane verilerinden indirekt yöntemle referans aralık hesaplanmasında en büyük dezavantaj veri kümelerindeki yatan veya ayaktan hastaların anormal sonuçlarının çok olmasıdır. Bu etkiyi en aza indirmek için hastane verileri filtreleme işlemine tabi tutuldu. Filtreleme işlemi aşağıdaki gibi uygulandı.

1. Acil servis, yoğun bakım üniteleri, nefroloji, endokrinoloji, gastroenteroloji ve onkoloji bölümlerine ait veriler değerlendirme dışı bırakıldı.
2. Bir yıl içerisinde aynı testi bir defadan fazla çalışılan hastaların sadece ilk test sonuçları kullanılarak diğer sonuçlar dışlandı.
3. Numerik olmayan veriler ( <, > vs. ) dışlandı.
4. Cinsiyet ve yaş bilgisi bulunmayan hasta verileri dışlandı.

Veriler 0-17, 18-65 ve 65 yaş ve üzeri olarak 3 gruba ayrıldı. Bhattacharya yöntemine göre büyük veri kümeleri gerektiğinden yeterli veri olmamasından dolayı 0-17 yaş (pediatrik) ve 65 ve üzeri yaş (geriatrik) grubu değerlendirme dışı bırakılarak sadece 18-65 yaş grubuna ait referans aralık değerleri belirlendi.

#### **3.4. Analitik sürecin değerlendirilmesi**

Verilerin kullanıldığı tarihler arasında laboratuvarımızda cihaz ve yöntem değişikliği olmamıştır. Hasta verileri, hastanemiz biyokimya laboratuvarında kullanılan Beckman Coulter AU-5800 (Shizuoka, Japonya) biyokimya otoanalizöründen elde edilen sonuçlardan toplanmıştır. Kitlerin kalibrasyonu ve iç kalite kontrolü yine aynı firma tarafından sağlanan kalibratör ve kontrol serumları ile yapıldı. Dış kalite kontrolü ise BİO-RAD firması tarafından sağlanan kontrol serumları kullanılarak EQAS (External Quality Assessment Schemes; Dış Kalite Değerlendirme Projesi) programı ile bir aylık periyotlarla gerçekleştirildi.

LDL-K için Friedewald formülüne göre hesaplama yapılmıştır. Trigliserit değeri 400 mg/dl üzerinde olan hastaların LDL-K testleri kitten çalışılarak raporlanmıştır.

Tablo-1’de bu çalışmada referans aralıkları hesaplanan klinik kimya testlerinin ölçüm yöntemleri ve alt-üst okuma limitleri sunuldu.

**Tablo-1:** Klinik kimya parametreleri ölçüm yöntemleri ve alt- üst okuma limitleri

Analit	Yöntem	Alt ve Üst Okuma Limitleri	Birim
Albümin	Fotometrik Kolorimetrik (BCG)	1,5-6	g/dL
ALP	Kinetik Kolorimetrik (IFCC)	5-1500	U/L
ALT	Kinetik-U.V, Pridoksal-5'-fosfatsız	3-500	U/L
Amilaz	Kolorimetrik Kinetik (IFCC)	10-1500	U/L
AST	Kinetik-U.V, Pridoksal-5'-fosfatsız	3-1000	U/L
BUN*	Kinetik UV ( Üreaz/Glutamat Dehidrogenaz)	5-140	mg/dL
CK	Kinetik UV (IFCC)	10-2000	U/L
D.Bil	Fotometrik Kolorimetrik (3,5 Diklorofenil Diazonyum Tetrafloroborat)	0-10	mg/dL
T.Demir	Fotometrik Kolorimetrik (TPTZ (2,4,6-Tri-(2-piridil)-5-triazin))	10-1000	mg/dL
PO <sub>4</sub>	Fotometrik UV Test (Molibdat)	1-20	mg/dL
GGT	Kolorimetrik Kinetik (IFCC)	5-1200	U/L
Glukoz	Enzimatik UV (Hekzokinaz/Glukoz-6-P Dehidrogenaz)	10-800	mg/dL
HDL-K	Enzimatik Kolorimetrik ( Kolesterol Oksidaz Peroksidaz) ve İmmün inhibisyon	2-180	mg/dL
Klor	İyon Spesifik Elektrod ile İndirekt	50-200	mEq/L
T.Kalsiyum	Fotometrik Kolorimetrik (Arsenazo III)	4-20	mg/dL
T.Kolesterol	Enzimatik Kolorimetrik ( Kolesterol Oksidaz - Peroksidaz)	20-700	mg/dL
Kreatinin	Kinetik Kolorimetrik Jaffe (IFCC-izlenebilir)	0,2-25	mg/dL
LDH	Kinetik UV Test (IFCC)	25-1200	U/L
LDL-K	Enzimatik Kolorimetrik ( Kolesterol Oksidaz - Peroksidaz)	10-400	mg/dL
Magnezyum	Fotometrik Kolorimetrik Test (Ksilidil mavisi)	0,5-8	mg/dL
Potasyum	İyon Spesifik Elektrod ile İndirekt	1-10	mEq/L
Sodyum	İyon Spesifik Elektrod ile İndirekt	50-200	mEq/L
T.Bil	Fotometrik Kolorimetrik (3,5 Diklorofenil Diazonyum Tetrafloroborat)	0-30	mg/dL
Trigliserit	Enzimatik Kolorimetrik (Gliserol Fosfat Oksidaz - Peroksidaz)	10-1000	mg/dL
T.Protein	Fotometrik Kolorimetrik Test (Biüret)	3-12	g/dL
Ürik Asit	Enzimatik Kolorimetrik ( Üreaz/ Glutamat Dehidrogenaz)	1,5-30	mg/dL

\*Laboratuvarımızda Üre ölçülmektedir. Sonuç 2,14’e bölünerek BUN olarak raporlanmaktadır.



### 3.5.Verilerin değerlendirilmesi ve referans aralık eldesi

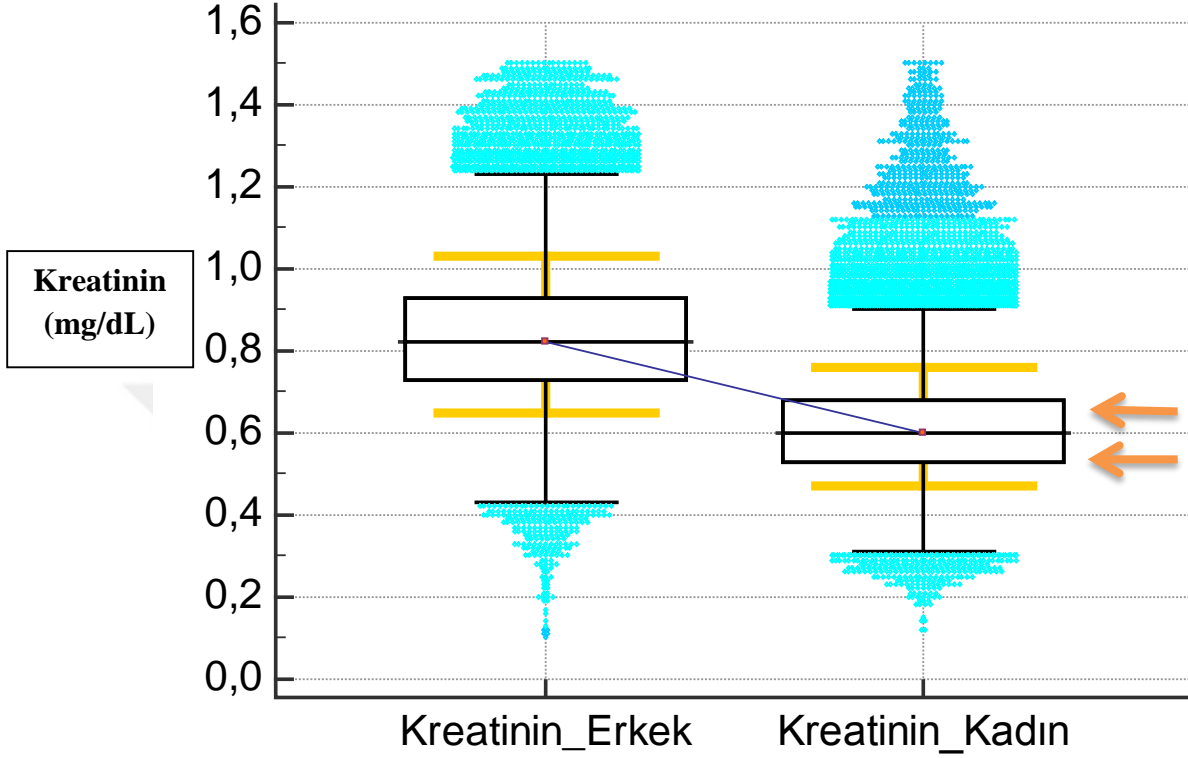
Çalışmaya alınan her test için veri filtrasyonu yapıldıktan sonra sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı (Kreatinin parametresi için yapılan işlemler örnek olarak sunulmuştur. Tüm testler için aynı işlemler uygulanmıştır).

Cinsiyete göre ayırım kararının verilmesinde Harris-Boyd yöntemi ve Effect size değerleri kullanıldı (44, 48). Kreatinin için standart sapma, aritmetik ortalama ve veri sayısı Harris-Boyd denkleminde yerine konduğunda  $Z_{hesaplanan} = 207.4$ ,  $Z_{kritik} = 69$  olarak bulundu.  $Z_{hesaplanan} > Z_{kritik}$  olduğu için iki alt grup arasında fark bulundu ve alt grupların referans aralığı ayrı ayrı hesaplandı.

$$Z_{Hesaplanan} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad \text{ve} \quad Z_{kritik} = 3,0 \times \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{240}}$$

Kreatinin için standart sapma, aritmetik ortalama ve veri sayısı Cohen's d formülünde yerine konduğunda Effect Size değeri 1.26 olarak tespit edildi. Bu değer Harris-Boyd formülünü desteklemektedir ve iki alt grup arasında anlamlı fark olduğunu, alt grupların referans aralığının ayrı ayrı hesaplanması gerektiğini ifade etmektedir. Ayrıca parametrelerin karřılařtırılmalý Box-plot grafikleri (Medyan değerleri ve Error bars: %10 - %90 percentil değerleri) Medcalc programı kullanılarak çizildi. Kreatinin için çizilen Box-plot grafiği Őekil-4'te gösterildi.

Şekil-4. Kreatinin (mg/dL) Box-plot grafiği

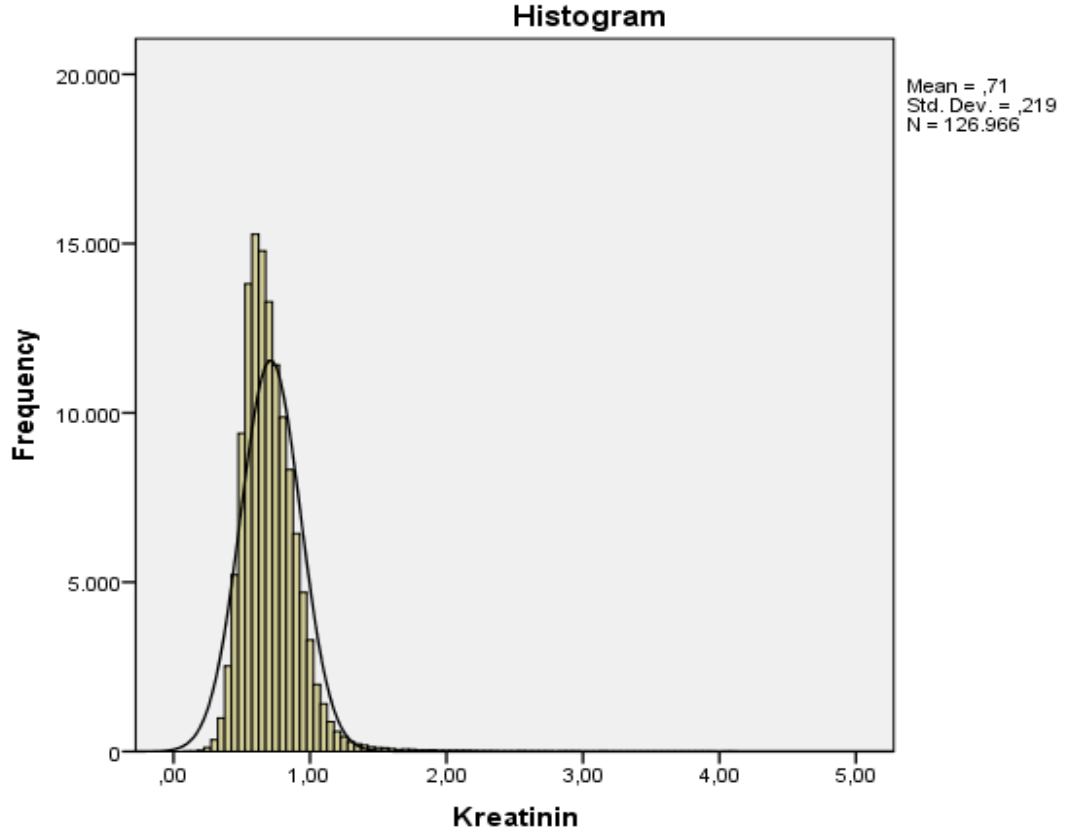


Grafikte orta noktalar medyan değerlerini, ok ile gösterilen bölgeler %25 ve %75 percentil değerlerini, altındaki ve üstündeki çizgiler ise %10 ve %90 percentil değerlerini göstermektedir. Grafik incelendiğinde erkek ve kadın medyan değerlerinin birbirini kapsamadığı görülmektedir. Bu grafik Harris-Boyd yöntemini ve Cohen's d formülünü desteklemekte ve erkek-kadın referans aralığının ayrı ayrı hesaplanması gerektiğini ifade etmektedir.

Klinik laboratuvarlarda üretilen sonuçlar genellikle Gaussian dağılıma uygun değildir ve skewness (çarpıklık), kurtosis (sivrilik) katsayıları yüksektir. Normal dağılımlarda skewness ve kurtosis katsayıları sıfır veya sıfıra yakındır. Statistical Package for Social Sciences (SPSS) programı kullanılarak Kreatinin histogramı

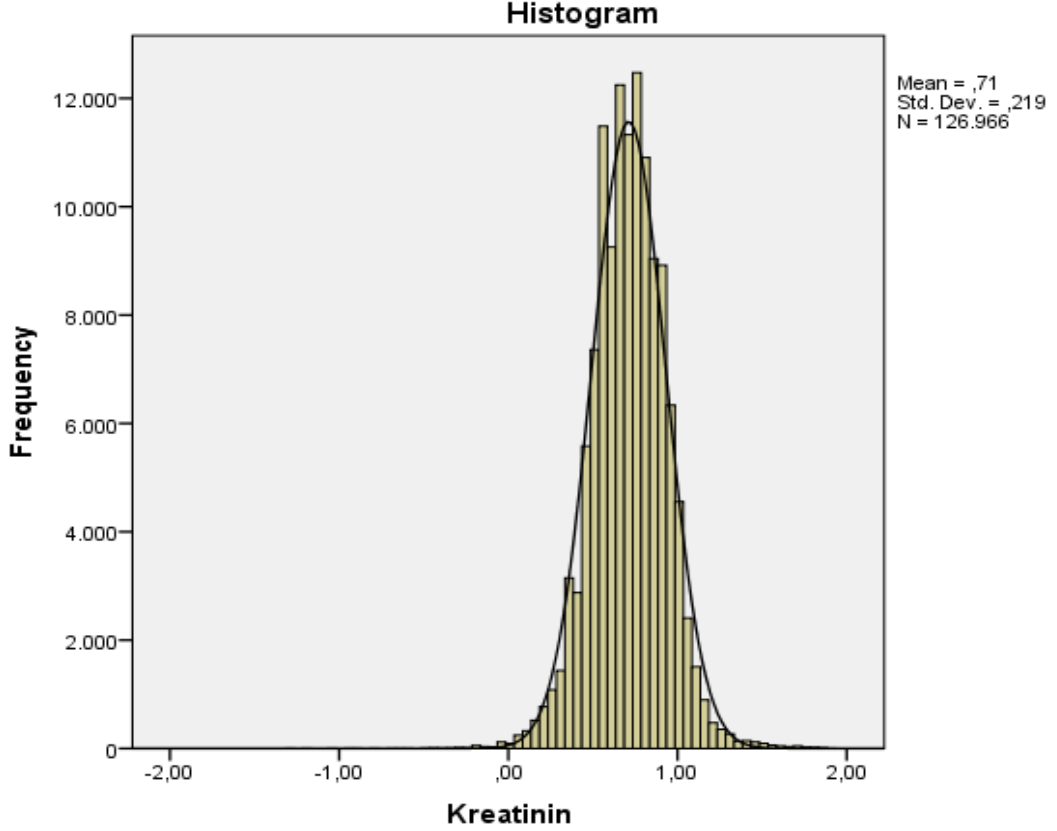
izildi ve skewness değeri= 3.048, kurtosis değeri = 25.601 olarak tespit edildi. Kreatinin için çizilen histogram Şekil-5'de gösterildi.

**Şekil-5.** Kreatinin histogramı



Veri transformasyonu ile dağılım Gaussian forma yaklaştırılabilir. Veri transformasyonu için farklı metotlar tanımlanmıştır. Bu alıŐmada R yazılım programı kullanılarak filtre edilen verilere Box-cox transformasyonu uygulandı. Transformasyon sonrası Kreatinin histogramı çizildi ve skewness değeri= -0.036, kurtosis değeri= 1.693 olarak tespit edilerek dağılımın Gaussian forma yaklaŐtıęı görüldü. Transformasyon sonrası Kreatinin için çizilen histogram Şekil-6'da gösterildi.

**Şekil-6.** Transformasyon sonrası Kreatinin histogramı



Transformasyon sonrası veriler eşit aralıklar oluşturularak sınıflandırıldı ve frekansları hesaplandı. Elde edilen değerler ve frekanslar Bhattacharya makrosuna aktarılarak referans aralıklar belirlendi. Bhattacharya yönteminde ilk olarak elde edilen tüm veriler h sınıf aralığı olmak üzere, eşit aralıklı olarak sınıflandırılır. Her sınıfın orta noktası belirlenir. Her sınıfa karşılık gelen frekansların logaritma veya  $\ln$  ( $\log y$  veya  $\ln y$ ) değerleri alınır. Her sınıfa karşılık gelen frekansların logaritmaları ya da  $\ln$  değerleri bir sonraki sınıfa karşılık gelen frekansların logaritmaları veya  $\ln$  değerlerinden çıkartılarak delta ( $\Delta \log y$  veya  $\Delta \ln y$ ) değerleri elde edilir. Her bir orta değer ile elde edilen delta değerleri için saçılım grafiği çizilir. Elde edilen grafikte noktalardan kendi içinde doğrusal özellik gösterenler, sağlıkla ilişkili veriler olarak kabul edilir. Bu noktalara ait eğimi veren doğrunun y-ekseninde 0'ı kestiği x noktası  $\lambda$  değerini verir.  $\lambda$  değeri yardımıyla metoda ait ortalama ve varyans değerleri, Eşitlik 1 ve Eşitlik 2'de verilmiştir.

Eşitlik 1 :  $\mu_i = \lambda + h/2$ ,

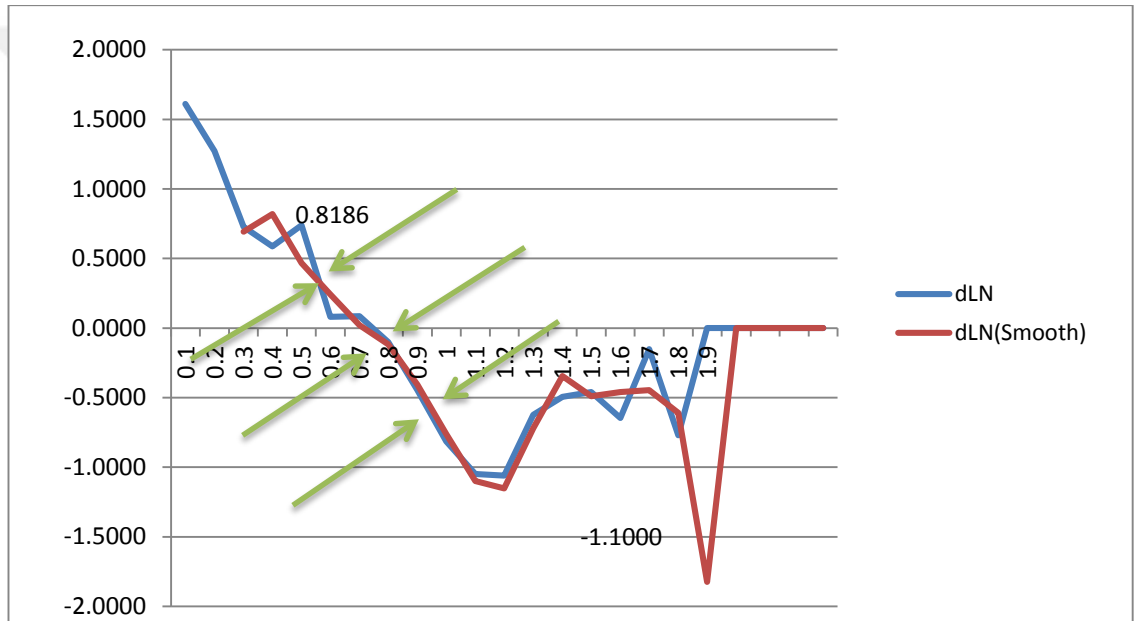
Eşitlik 2 :  $\sigma^2 = h/eğim - h^2 / 12$  ( $\mu$ : ortalama;  $\sigma$ : standart sapma).

Bu şekilde oluşturulan artık sağlıklı olduğu kabul edilen referans aralıkları parametrik yöntem kullanılarak Eşitlik 3 yardımı ile hesaplanır.

Eşitlik 3 :  $(\mu_i - 2\sigma_i - \mu_i + 2\sigma_i) \diamond$  (alt sınır - üst sınır)

Kreatinin için oluşturulan Bhattacharya grafiği Şekil-7’de gösterildi.

**Şekil-7.** Kreatininin Bhattacharya Grafiği



Grafikte ok ile gösterilen ve kendi içinde doğrusallık gösteren noktalar sağlıklı ilişkili veriler olarak kabul edilir. Sağlıklı ilişkili verilerin aritmetik ortalamasının  $\pm 2$  standart sapma uzaklığındaki veriler, referans aralık alt ve üst sınırları olarak saptanır.

Güven aralıkları bootstrap yöntemi ile hesaplandı. Ancak veri sayısının fazla olmasından dolayı güven aralıkları çok dar bulunduğundan ( yaklaşık olarak  $\pm 0.01$  birim) çalışmamızda kullanılmadı.

Verilerin ayıklanması, grafiklerinin çizilmesi ve cinsiyete göre ayırım kararının verilmesinde Microsoft Excel 2010 ve Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 13 (lisans numarası: 9069727), Box-cox transformasyon için R yazılım programı, referans aralıkların belirlenmesinde Bhattacharya makrosu, Box-plot grafiklerinin oluşturulmasında Medcalc programının 15.2.0.0 ücretsiz deneme sürümü kullanıldı.



## 4.BULGULAR

### 4.1. Çalışma Grubuna Ait Demografik Veriler

Bu çalışmada 18-65 yaş aralığındaki bireylere ait 5.812.170 adet ham veri incelendi. Veri filtrasyonundan sonra bu verilerin 1.398.851 (%24) tanesi çalışmaya dâhil edildi. Bu verilerin 576.532'si (% 41.2) erkeklere, 822.319'u (%58.8) kadınlara aitti.

**Tablo-2.** Hastane Verilerinden Taranan Birey Sayıları

TEST	Erkek(n)	Kadın(n)	Toplam(n)
Albümin	24513	35082	59595
ALP	15829	19821	35650
ALT	45754	70474	116228
Amilaz	8939	12434	21373
AST	42706	67326	110032
BUN	37857	56351	94208
CK	7114	8343	15457
D.Bil	18015	25122	43137
T.Demir	8155	16277	24432
PO <sub>4</sub>	13996	22238	36234
GGT	15576	21715	37291
Glukoz	42971	64857	107828
HDL-K	13691	14938	28629
Klor	13437	16477	29914
T.Kalsiyum	25266	35615	60881
T.Kolesterol	16251	16989	33240
Kreatinin	50789	76177	126966
LDH	13830	21524	35354
LDL-K	16336	16063	32399
Magnezyum	12515	16845	29360
Potasyum	34195	49884	84079
Sodyum	31639	47561	79200
T.Bil	15282	22285	37567
Trigliserit	16886	18356	35242
T.Protein	19286	27576	46862
Ürik Asit	15704	21989	37693

Çalışılan parametrelerin veri transformasyonu yapılmadan önceki medyan ve mean değerleri Tablo-3'te gösterildi.

**Tablo-3.** Çalışılan parametrelerin transformasyon öncesi medyan ve mean değerleri

Test Adı	MEDYAN				MEAN		
	Erkek	Kadın	Genel		Erkek	Kadın	Genel
Albümin	4,4	4,3	4,3		4,3	4,2	4,2
ALP (U/L)	82	76	79		91	86	88
ALT (U/L)	22	14	17		26	17	21
Amilaz (U/L)	70	64	67		74	68	71
AST (U/L)	23	20	21		27	22	23
BUN (mg/dL)	14	11	13		15	12	13
CK	93	72	80		101	80	90
D.Bil (mg/dL)	0.12	0.10	0.11		0,15	0,12	0,13
T.Demir (mg/dL)	83	67	72		88	74	79
PO <sub>4</sub> (mg/dL)	3,3	3,4	3,4		3,4	3,5	3,4
GGT (U/L)	26	17	20		30	20,74	24,6
Glukoz (mg/dL)	89	87	88		90	89	89
HDL-K (mg/dL)	42	51	46		43	52	47
Klor (mmol/L)	103	104	103		103	104	103
T.Kalsiyum (mg/dL)	9,5	9,4	9,4		9,4	9,4	9,4
T.Kolesterol (mg/dL)	187	191	189		186	192	189
Kreatinin (mg/dL)	0,83	0,6	0,68		0,85	0,62	0,71
LDH (U/L)	189	184	186		199	192	195
LDL-K (mg/dL)	122	123	122		120	123	122
Magnezyum (mg/dL)	2	2	2		2	2	2
Potasyum (mmol/L)	4,3	4,3	4,3		4,3	4,3	4,3
Sodyum (mmol/L)	139	138	138		139	138	138
T.Bil (mg/dL)	0,6	0,5	0,5		0,8	0,6	0,7
Trigliserit (mg/dL)	135	109	121		153	127	140
T.Protein (g/dL)	7,3	7,3	7,3		7,3	7,3	7,3
Ürik Asit (mg/dL)	5,5	4	4,6		5,5	4,2	4,7



Çalışılan parametrelerin veri transformasyonu yapıldıktan sonraki medyan ve mean değerleri Tablo-4'te gösterildi.

**Tablo-4.** Çalışılan parametrelerin transformasyon sonrası medyan ve mean değerleri

Test Adı	MEDYAN				MEAN		
	Erkek	Kadın	Genel		Erkek	Kadın	Genel
Albümin	4,3	4,3	4,3		4,3	4,2	4,2
ALP (U/L)	92	86	89		91	86	88
ALT (U/L)	26	17	21		26	17	21
Amilaz (U/L)	70	64	67		74	68	71
AST (U/L)	26	23	24		27	23	24
BUN (mg/dL)	15	12	14		15	12	13
CK	101	80	89		101	80	90
D.Bil (mg/dL)	0,14	0,12	0,13		0,15	0,12	0,13
T.Demir (mg/dL)	89	74	79		88	74	79
PO <sub>4</sub> (mg/dL)	3,4	3,4	3,5		3,4	3,4	3,4
GGT (U/L)	30	21	24		30	21	25
Glukoz (mg/dL)	90	88	89		90	89	89
HDL-K (mg/dL)	43	52	47		43	52	47
Klor (mmol/L)	103	104	103		103	104	103
T.Kalsiyum (mg/dL)	9,5	9,4	9,4		9,4	9,4	9,4
T.Kolesterol (mg/dL)	187	191	189		186	192	189
Kreatinin (mg/dL)	0,86	0,62	0,71		0,85	0,62	0,71
LDH (U/L)	197	191	193		199	192	195
LDL-K (mg/dL)	121	123	121		120	123	122
Magnezyum (mg/dL)	2	2	2		2	2	2
Potasyum (mmol/L)	4,3	4,3	4,3		4,3	4,3	4,3
Sodyum (mmol/L)	139	138	138		139	138	138
T.Bil (mg/dL)	0,7	0,6	0,7		0,8	0,6	0,7
Trigliserit (mg/dL)	152	127	139		153	127	140
T.Protein (g/dL)	7,3	7,3	7,3		7,3	7,3	7,3
Ürik Asit (mg/dL)	5,5	4,2	4,7		5,5	4,2	4,7

#### 4.2. Çalışılan Parametrelerin Alt gruplara ayrılması

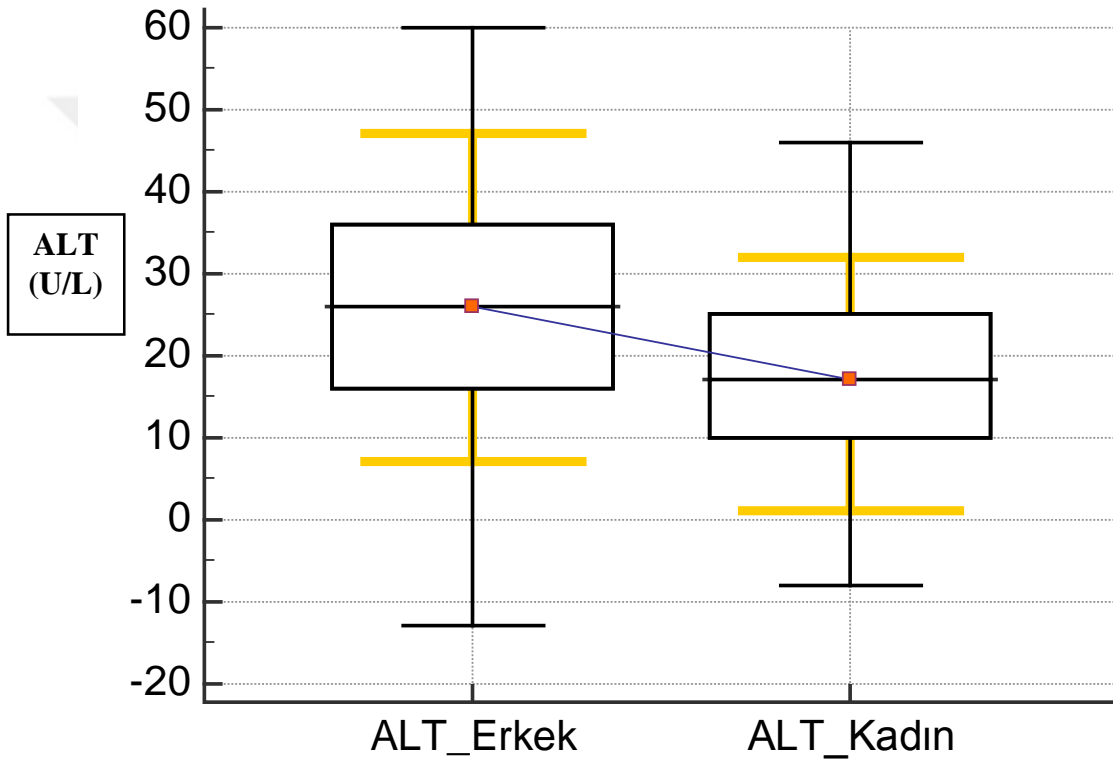
Çalışılan parametreler Harris-Boyd denklemi ve Effect Size değerlerine göre cinsiyet açısından alt gruplara ayrıldı. Effect Size değerleri ve Harris-Boyd denklemine göre hesaplanan Z değerleri Tablo-5 ' de sunuldu.

**Tablo-5.** Çalışılan parametrelerin Z değerleri ve Effect Size değerleri

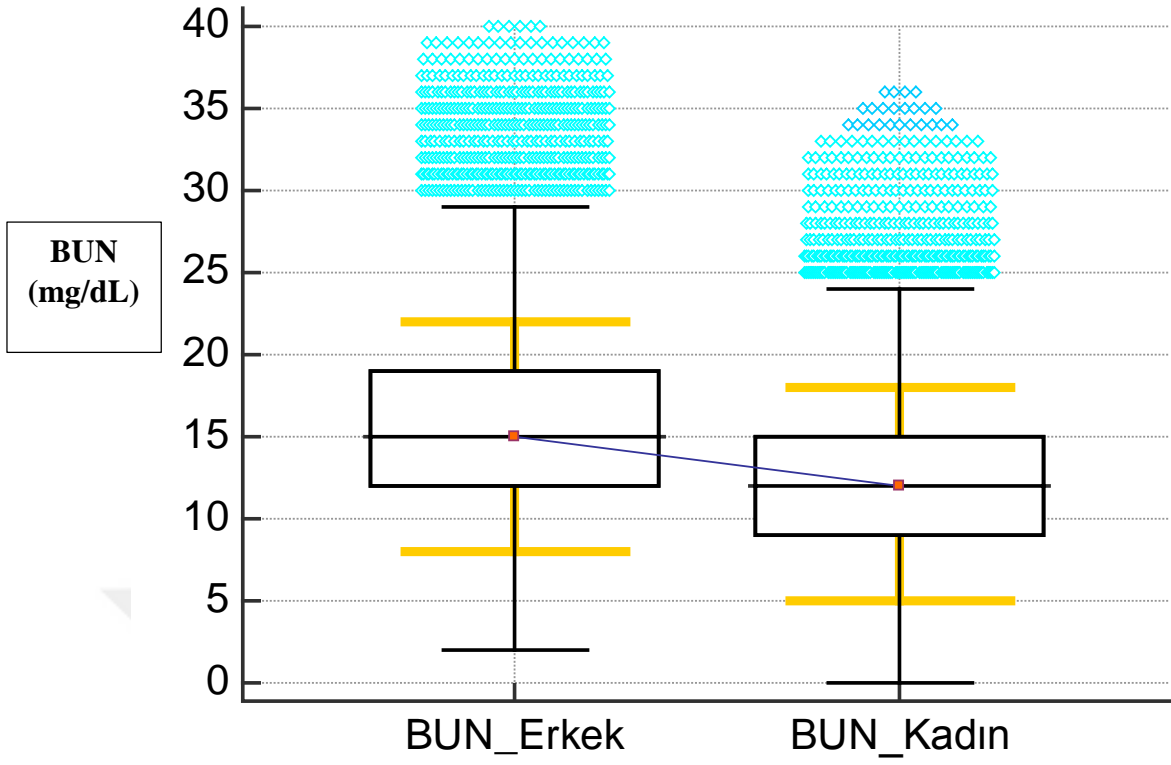
<b>Analit</b>	<b>ES</b>	<b>Z hesaplanan</b>	<b>Z kritik</b>
Albümin	0,15	17,7	47,3
ALP	0,16	14,7	36,6
<b>ALT</b>	<b>0,67</b>	<b>105,1</b>	<b>66</b>
Amilaz	0,22	15,6	28,3
AST	0,38	58,5	64,2
<b>BUN</b>	<b>0,59</b>	<b>85,5</b>	<b>59,4</b>
<b>CK</b>	<b>0,46</b>	<b>28,2</b>	<b>24,1</b>
D.Bil	0,39	39,3	40,2
<b>T.Demir</b>	<b>0,43</b>	<b>30,6</b>	<b>30,3</b>
PO <sub>4</sub>	0,13	9,8	36,9
<b>GGT</b>	<b>0,68</b>	<b>62,7</b>	<b>37,4</b>
Glukoz	0,11	18,4	63,6
<b>HDL-K</b>	<b>0,93</b>	<b>57,7</b>	<b>32,8</b>
Klor	0,26	21,8	33,5
T.Kalsiyum	0,12	13,8	47,8
T.Kolesterol	0,14	12,8	35,3
<b>Kreatinin</b>	<b>1,26</b>	<b>207,4</b>	<b>69</b>
LDH	0,14	12,7	36,4
LDL-K	0,08	7,3	34,9
Magnezyum	0,08	6,6	33,2
Potasyum	0,07	10,7	56,2
Sodyum	0,25	34,9	54,5
T.Bil	0,36	32,4	37,5
Trigliserit	0,35	32,3	36,4
T.Protein	0,09	9,7	41,9
<b>Ürik Asit</b>	<b>1,06</b>	<b>99,7</b>	<b>37,6</b>

Cinsiyet ayrımı yapılan parametrelerin karşılaştırmalı Box-plot grafikleri (Medyan değerleri ve Error bars: %10 - %90 percentil değerleri) Şekil-8-15'de gösterildi.

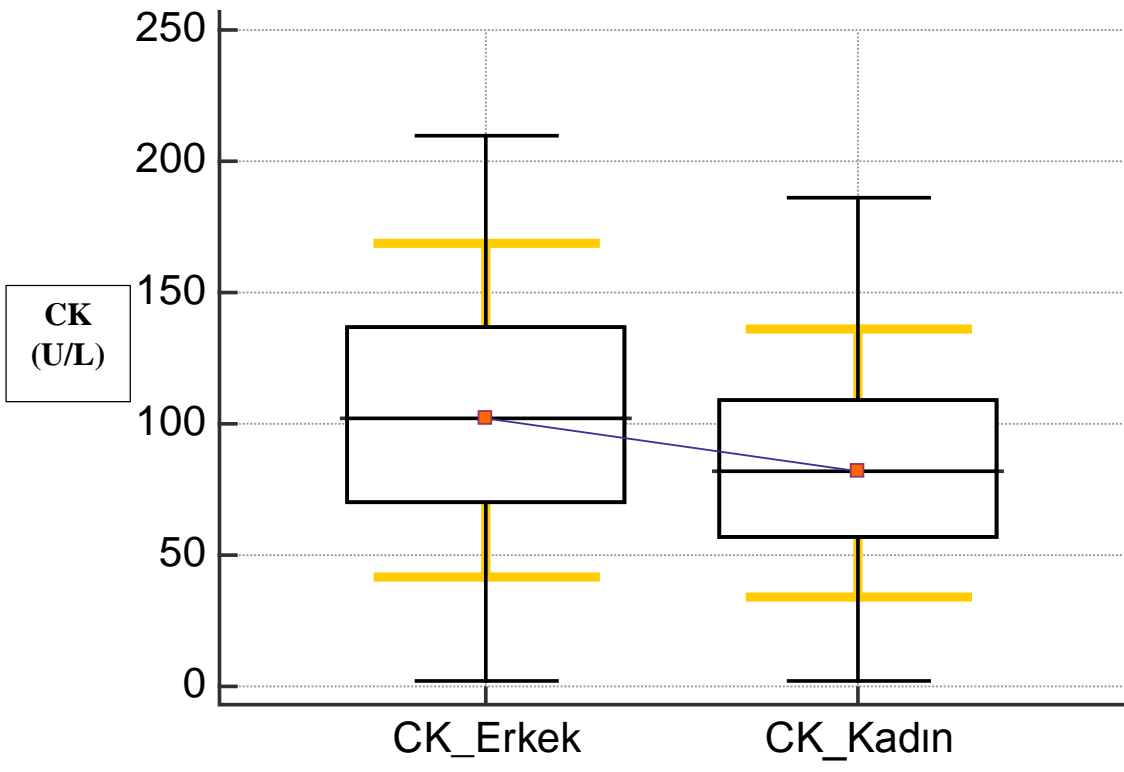
**Şekil-8-15.** Cinsiyet ayrımı yapılan parametrelerin karşılaştırmalı Box-plot grafikleri



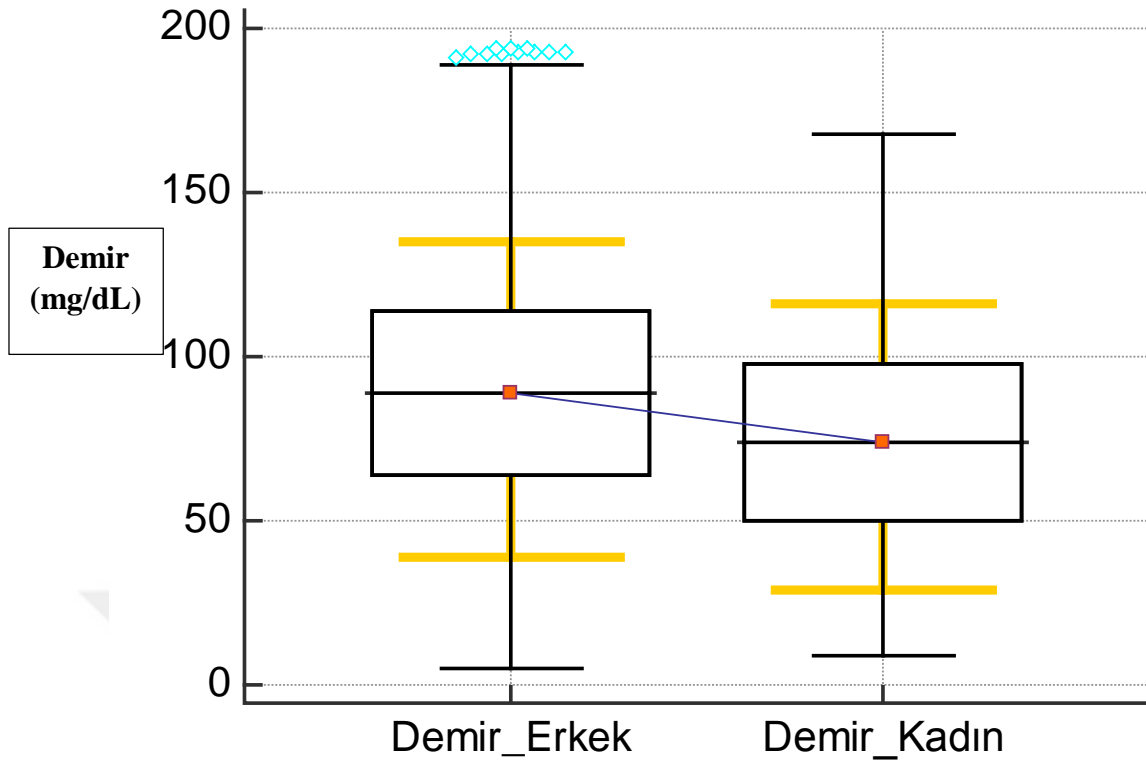
**Şekil-8**



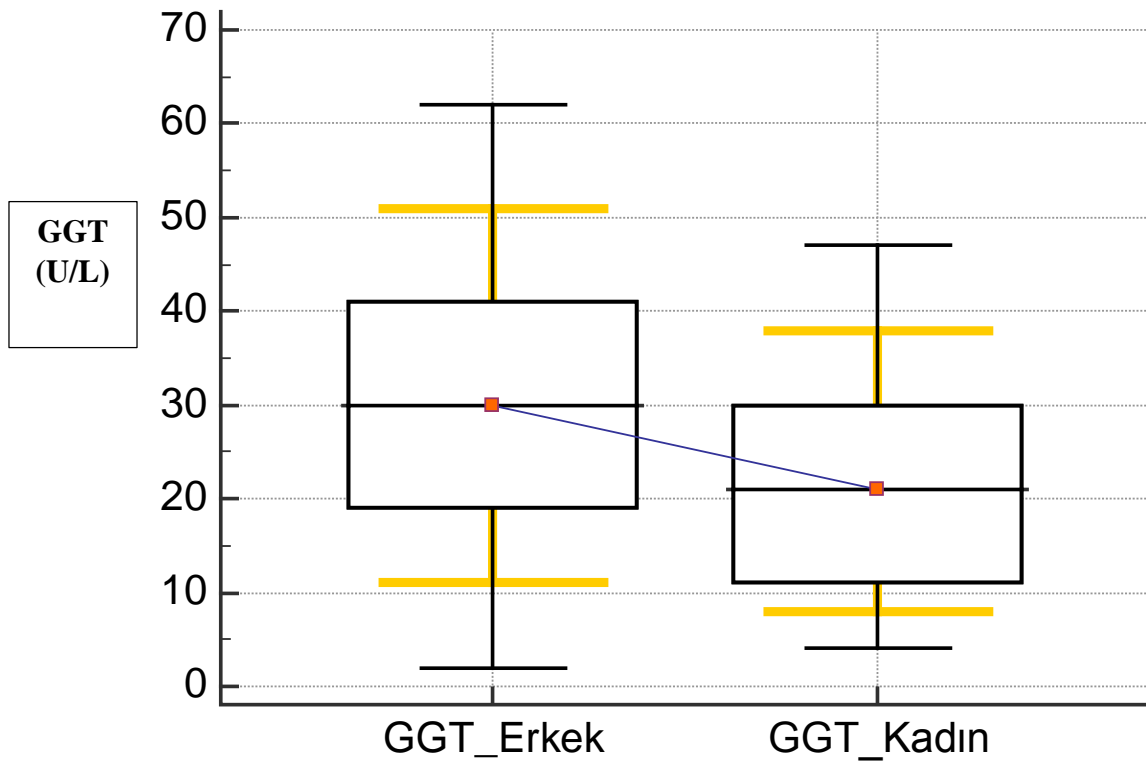
Şekil-9



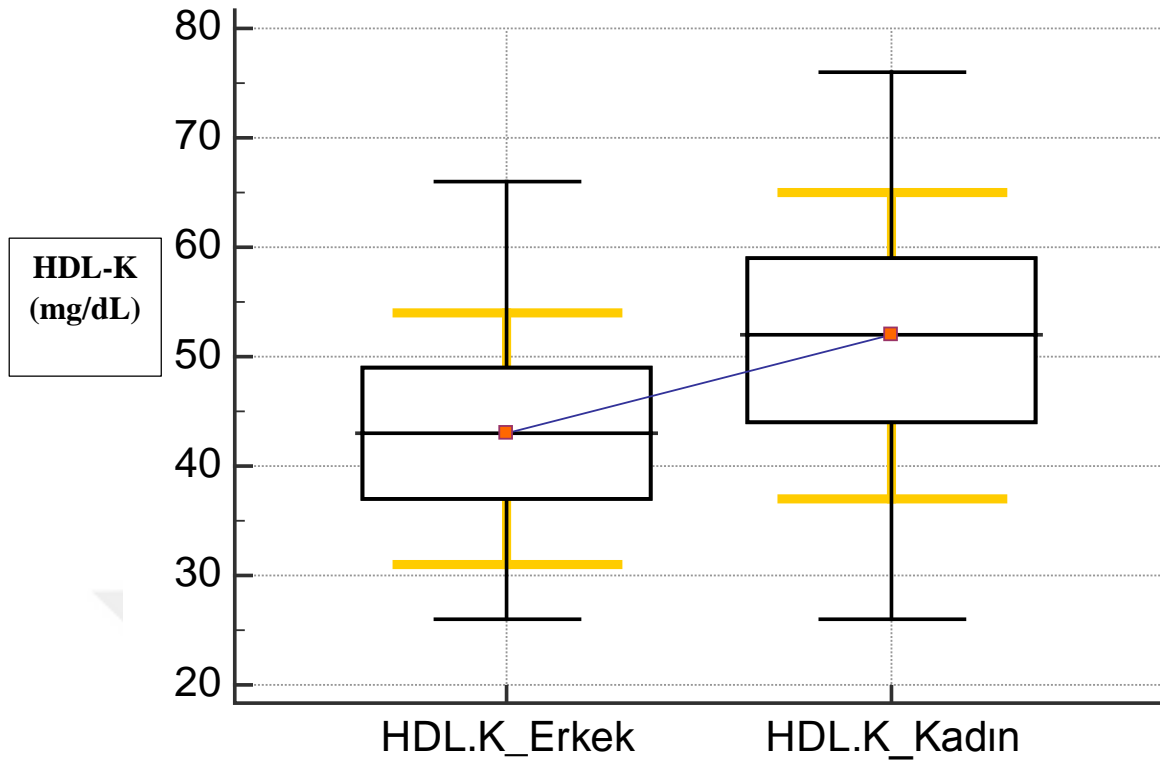
Şekil-10



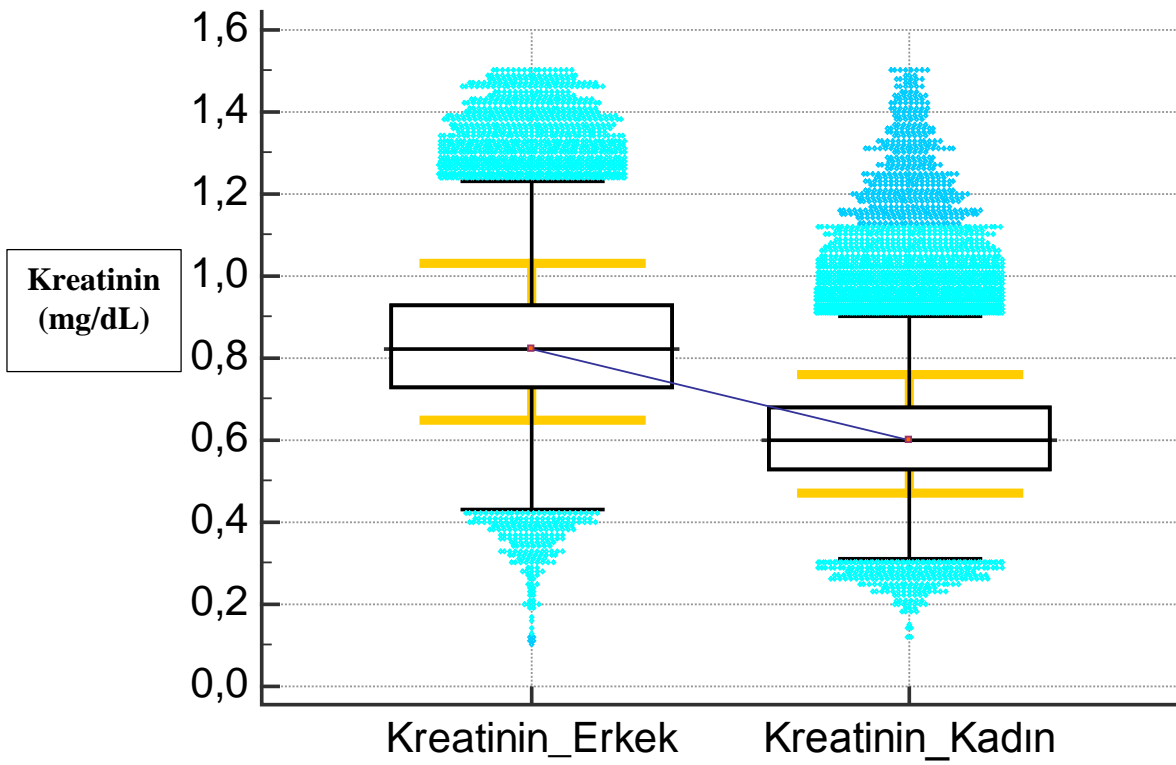
Şekil-11



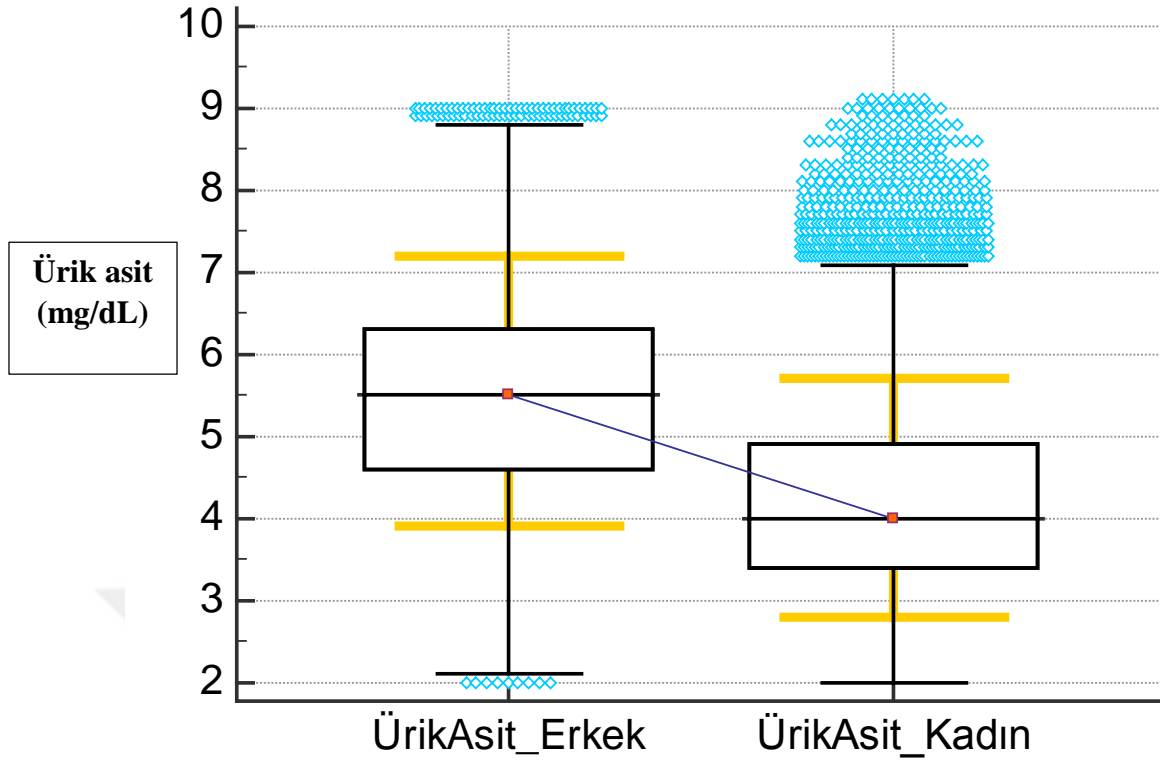
Şekil-12



Şekil-13



Şekil-14



Şekil-15

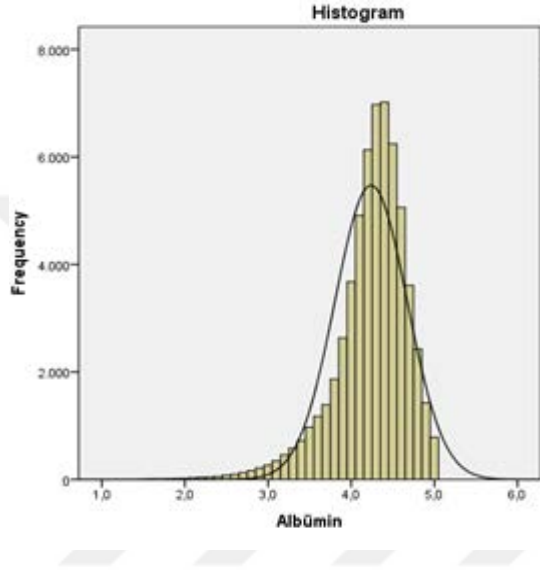
### 4.3. Çalışılan Parametrelerin Histogramları

#### 4.3.1. Alt Gruba Ayrılmayan Parametrelerin Histogramları

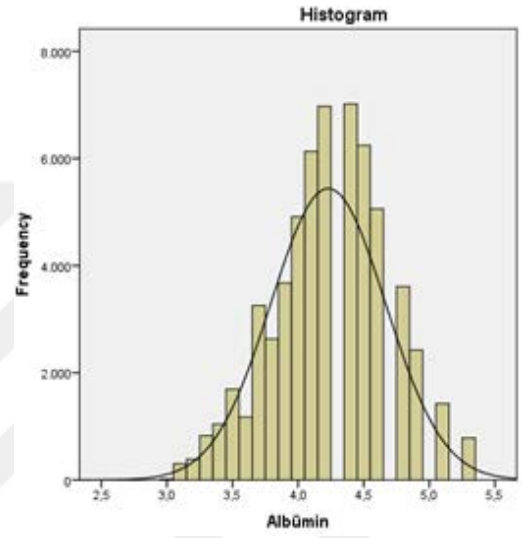
Harris-Boyd denkleminde göre  $Z_{\text{hesaplanan}} < Z_{\text{kritik}}$  olan ve ES değerleri 0.5' den düşük olan 18 parametrede (Albümin, ALP, Amilaz, AST, D.Bil, PO<sub>4</sub>, Glukoz, Klor, T.Kalsiyum, T.Kolesterol, LDH, LDL-K, Magnezyum, Potasyum, Sodyum, T.Bil, Trigliserit, T.Protein) erkek ve kadın arasında anlamlı fark olmadığı görüldü. Bu parametrelerin histogramları Şekil-16 (a-o)'da ve Şekil-17 (a-o)'de gösterildi.

**Şekil-16 (a-o).** Alt gruba ayrılmayan parametrelerin transformasyon öncesi histogramları

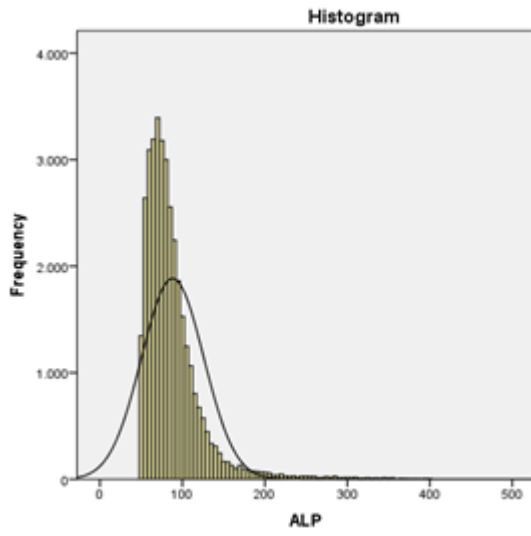
**Şekil-17 (a-o).** Alt gruba ayrılmayan parametrelerin transformasyon sonrası histogramları



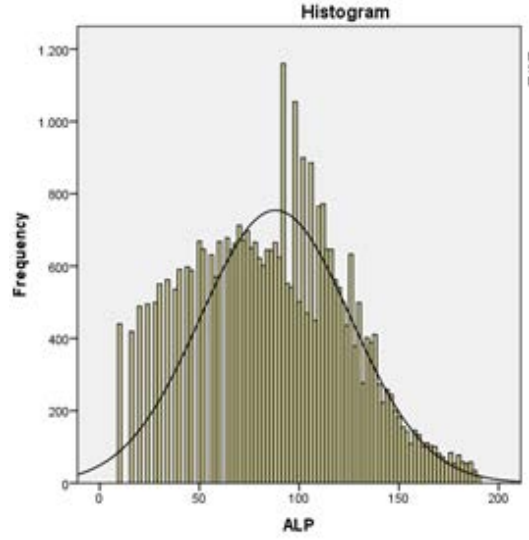
Şekil 16 (a)



Şekil 17 (a)

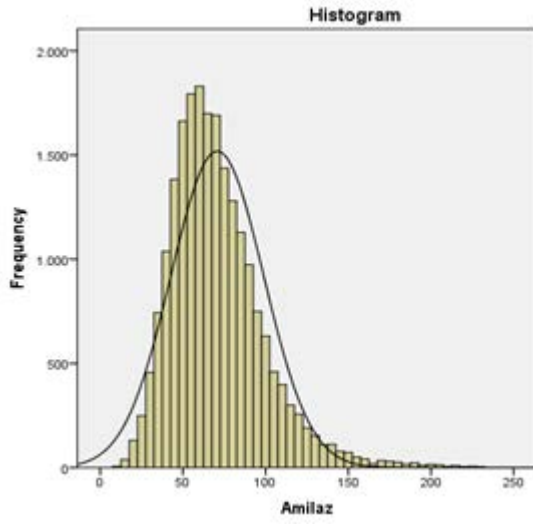


Şekil 16 (b)

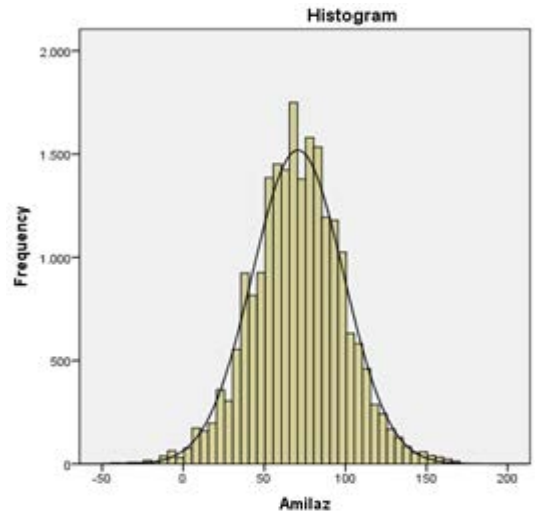


Şekil 17 (b)

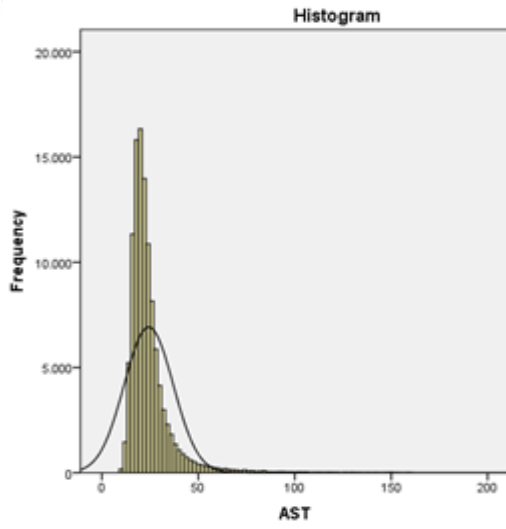




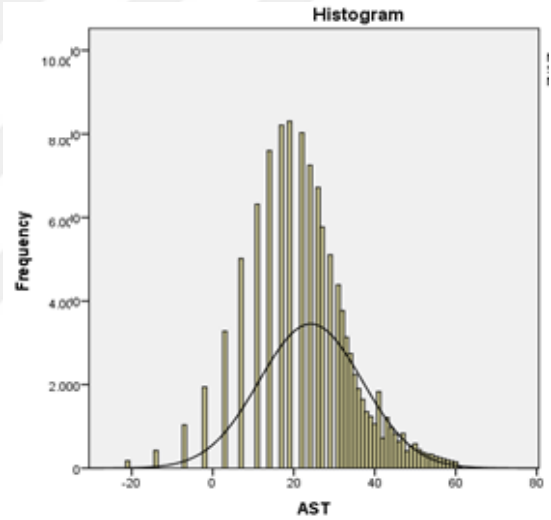
Şekil 16 (c)



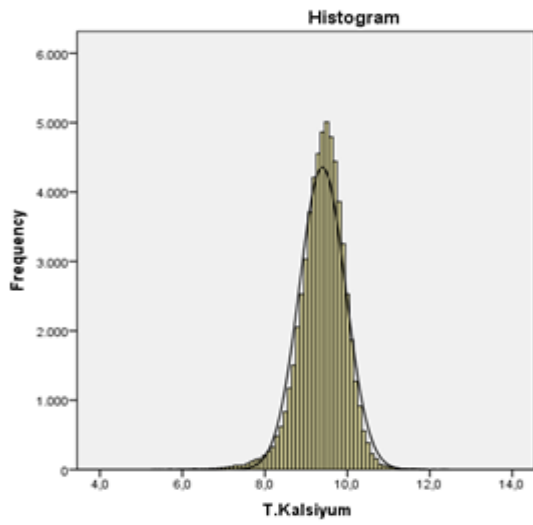
Şekil 17 (c)



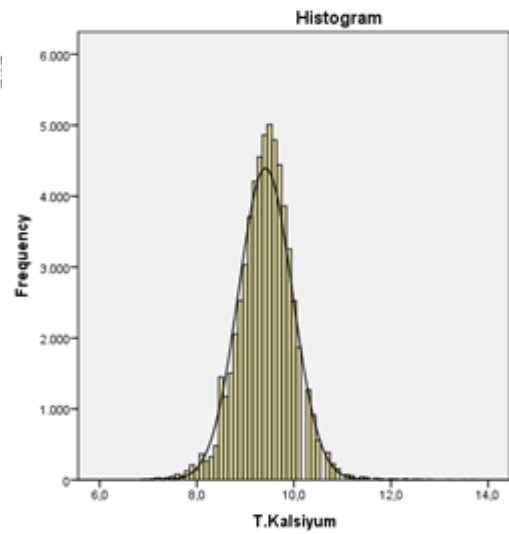
Şekil 16 (ç)



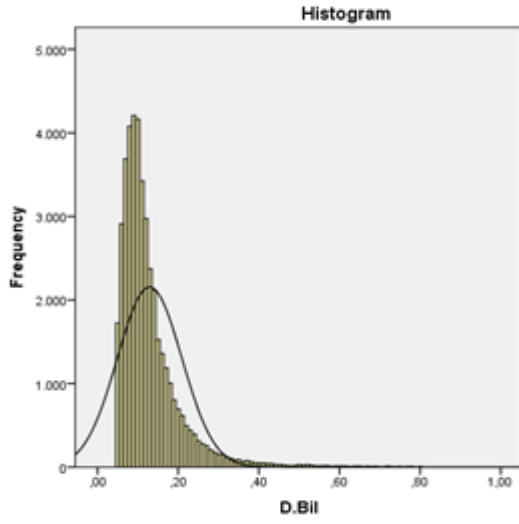
Şekil 17 (ç)



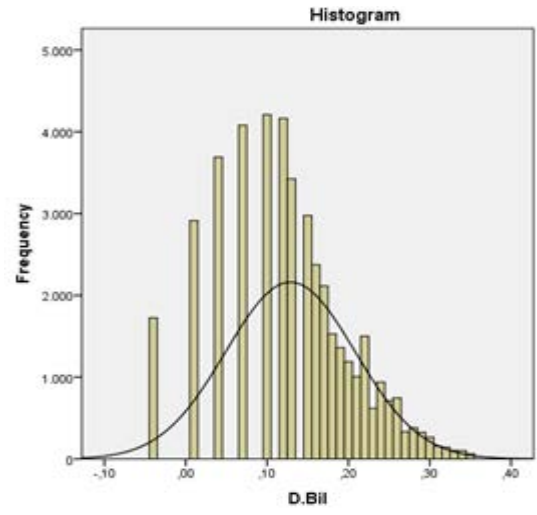
Şekil 16 (d)



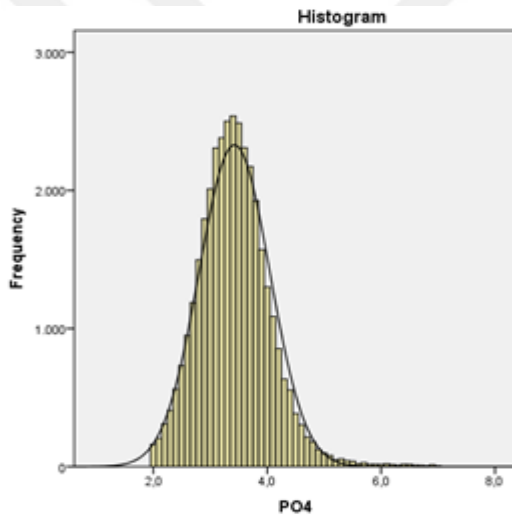
Şekil 17 (d)



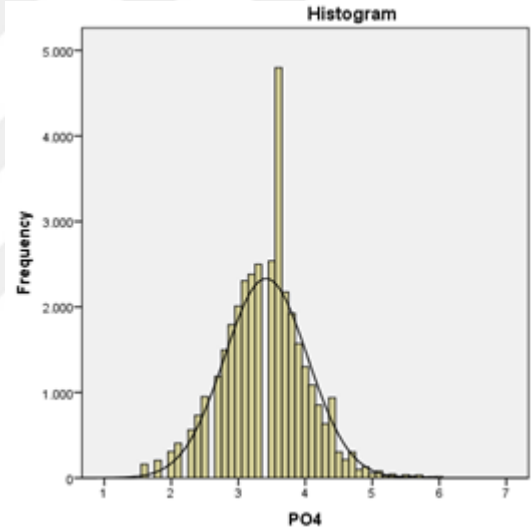
Şekil 16 (e)



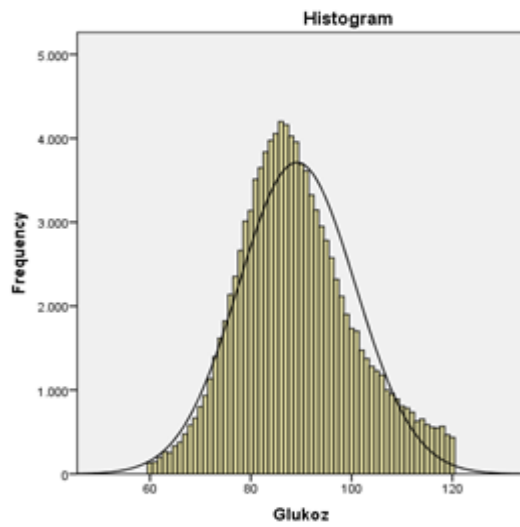
Şekil 17 (e)



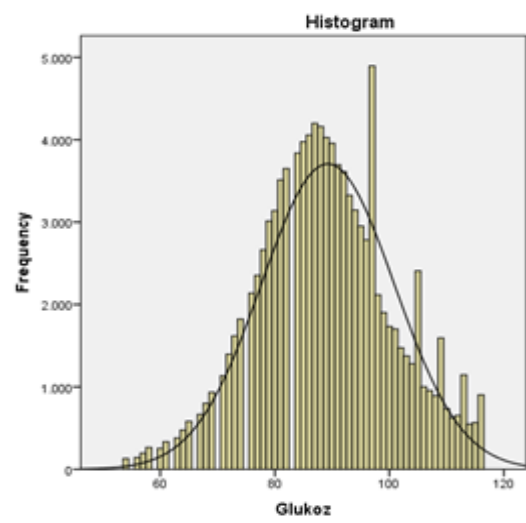
Şekil 16 (f)



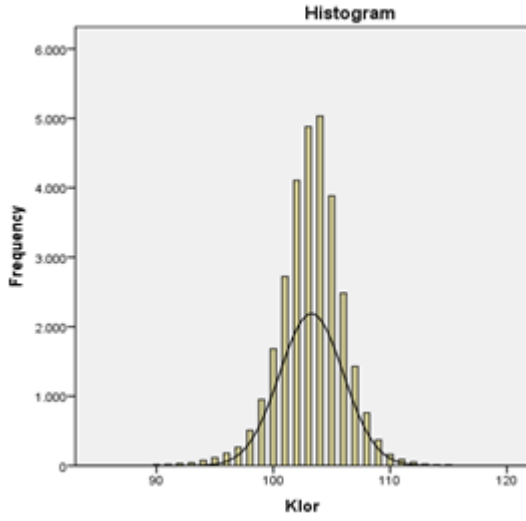
Şekil 17 (f)



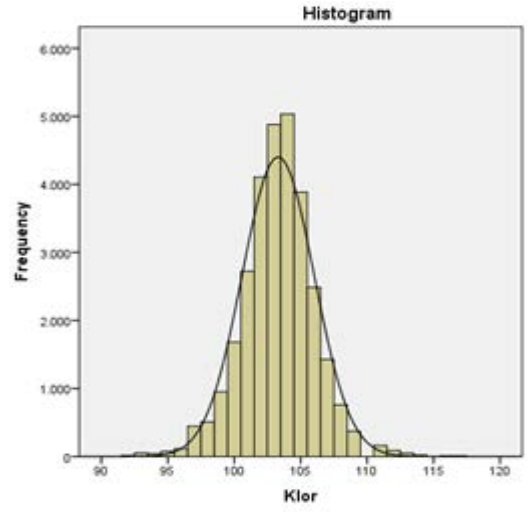
Şekil 16 (g)



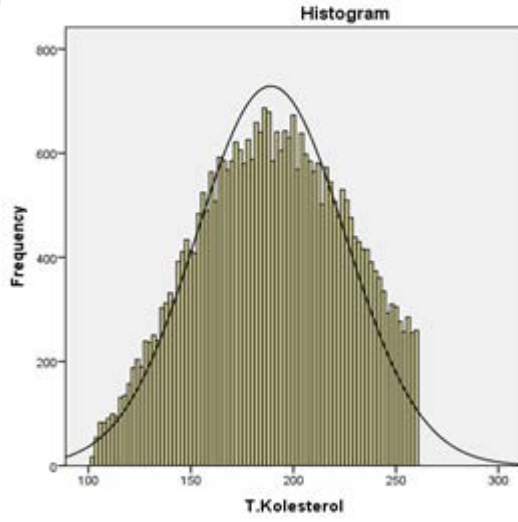
Şekil 17 (g)



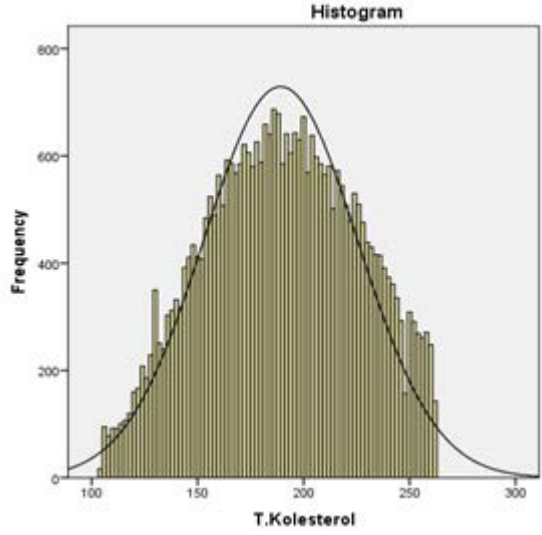
Şekil 16 (ğ)



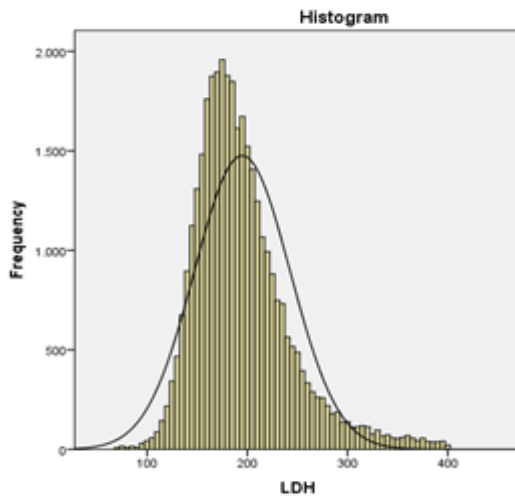
Şekil 17 (ğ)



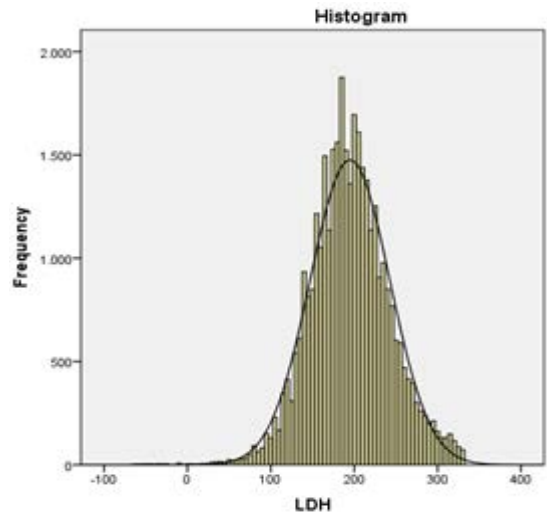
Şekil 16 (h)



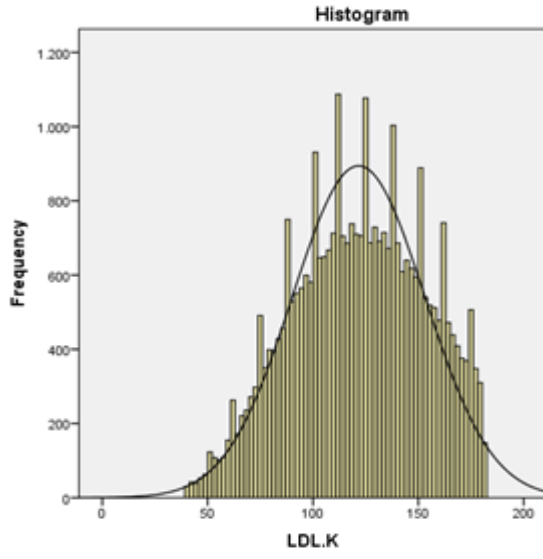
Şekil 17 (h)



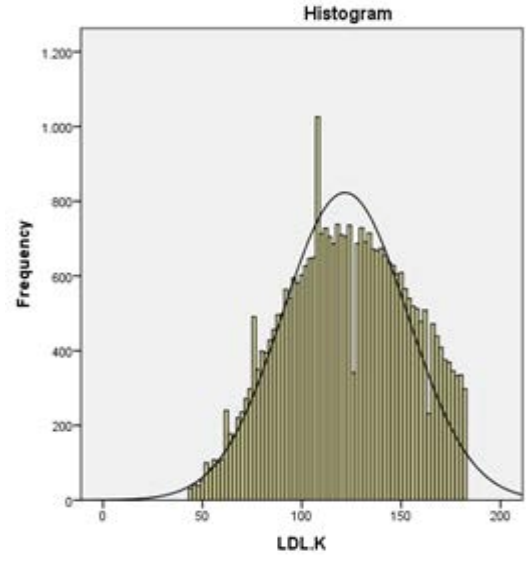
Şekil 16 (i)



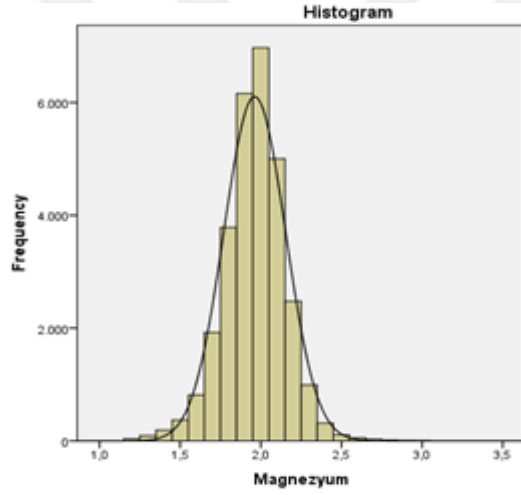
Şekil 17 (i)



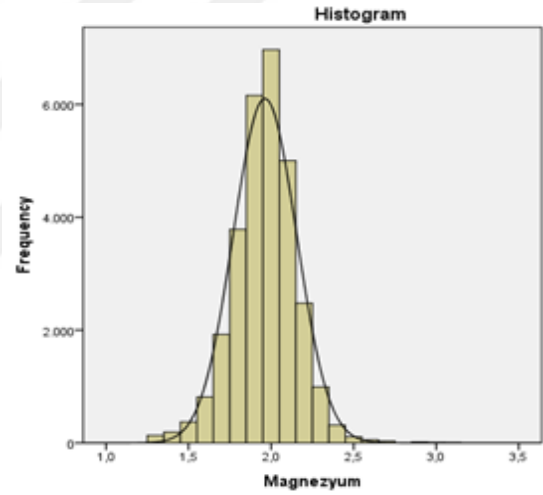
Şekil 16 (i)



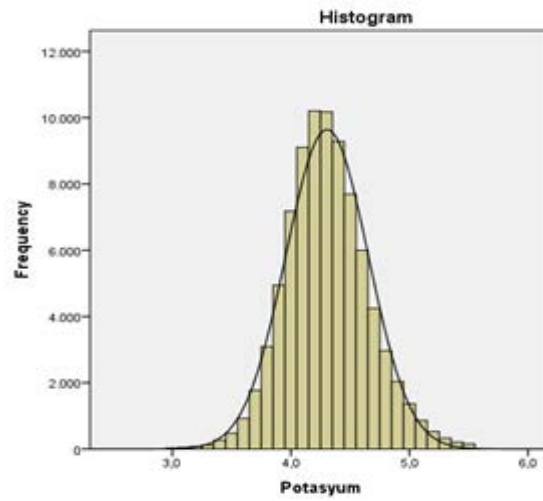
Şekil 17 (i)



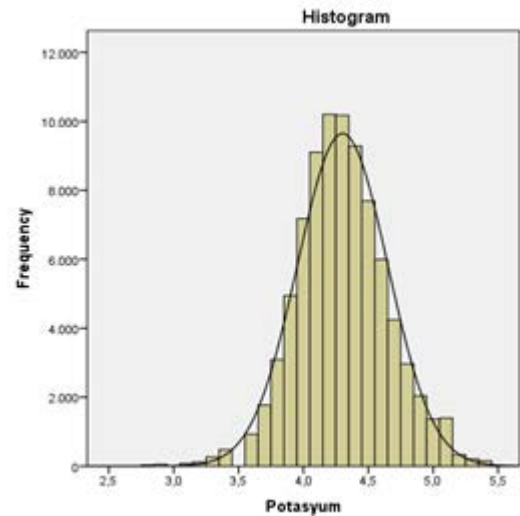
Şekil 16 (j)



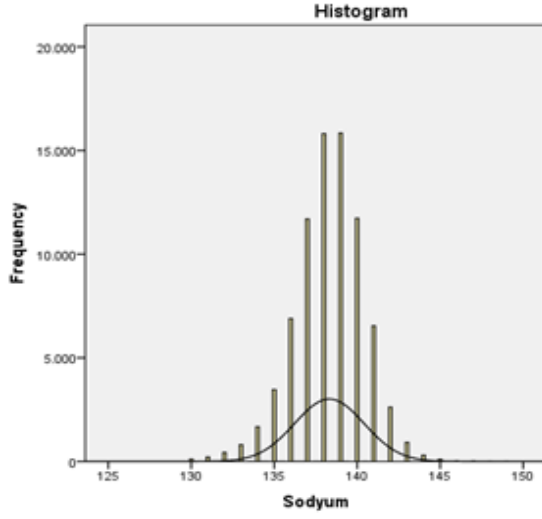
Şekil 17 (j)



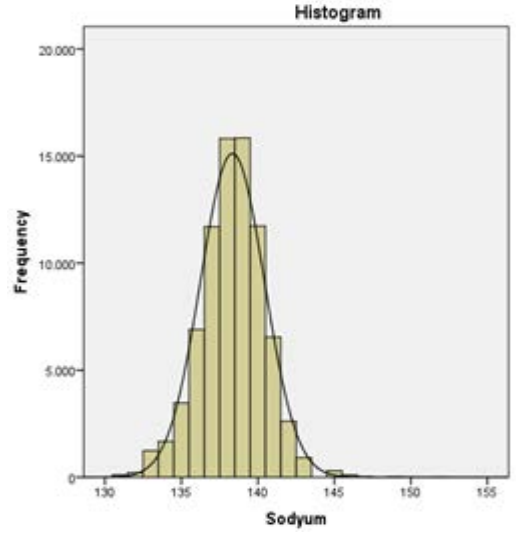
Şekil 16 (k)



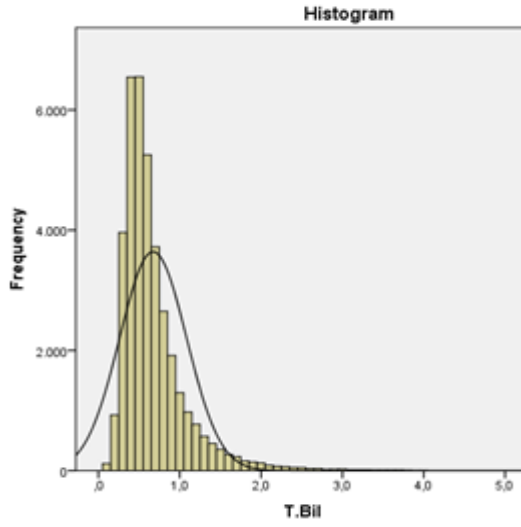
Şekil 17 (k)



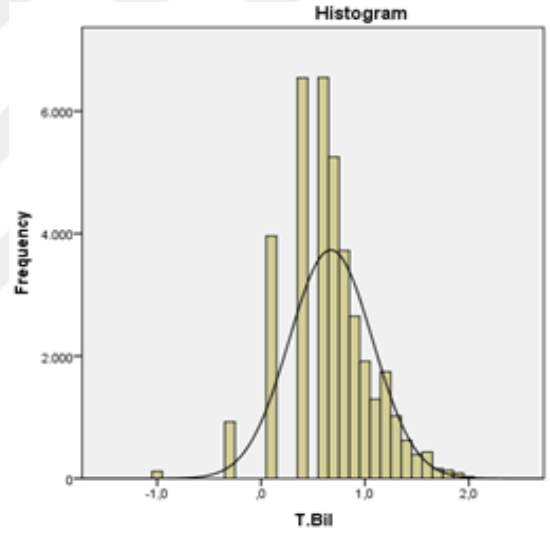
Şekil 16 (l)



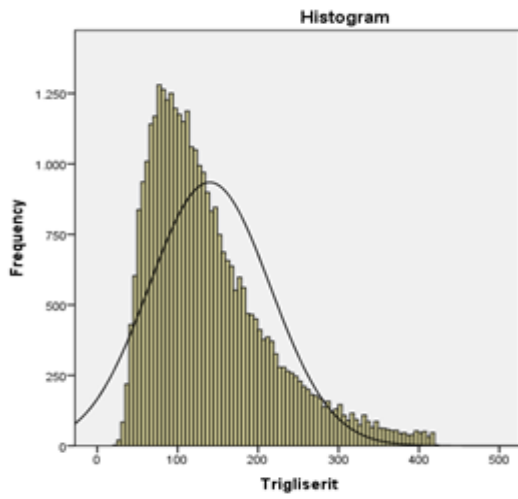
Şekil 17 (l)



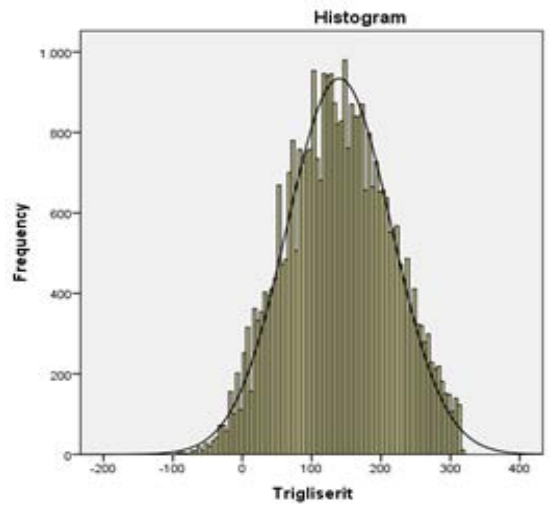
Şekil 16 (m)



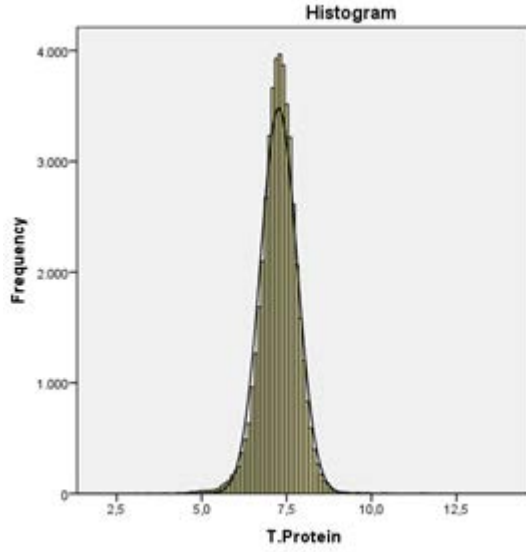
Şekil 17 (m)



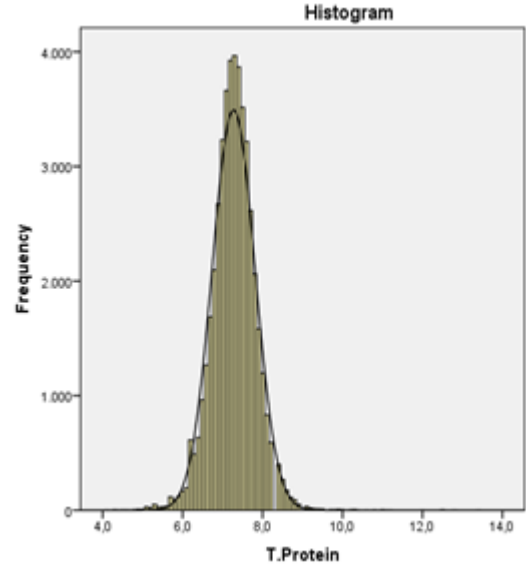
Şekil 16 (n)



Şekil 17 (n)



Şekil 16 (o)



Şekil 17 (o)

Cinsiyet açısından alt gruplara ayrılmayan parametrelerin transformasyon öncesi ve sonrası skewness (çarpıklık), kurtosis (sivrilik) değerleri Tablo-6'da sunuldu.

**Tablo-6.** Alt gruplara ayrılmayan parametrelerin skewness ve kurtosis değerleri

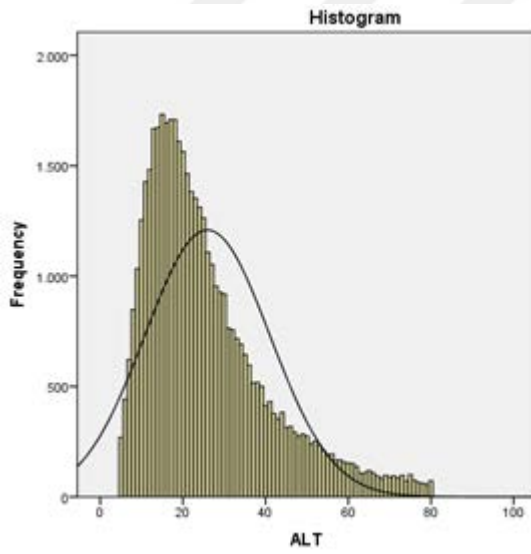
Test Adı	Transformasyon Öncesi		Transformasyon Sonrası	
	Skewness	Kurtosis	Skewness	Kurtosis
Albümin (g/dL)	-1,3	3	0	-0,2
ALP (U/L)	3,1	14,6	0	-0,5
Amilaz (U/L)	1,2	2,8	0	0,4
AST (U/L)	3,7	19,7	0	0,5
D.Bil (mg/dL)	3	13,5	0	-0,3
PO <sub>4</sub> (mg/dL)	0,7	2	0	0,6
Glukoz (mg/dL)	0,4	0	0	-0,1
Klor (mEq/L)	-0,3	1,6	0	1,5
T.Kalsiyum (mg/dL)	-0,7	2,8	0	1,9
T.Kolesterol (mg/dL)	0	0,7	0	-0,7
LDH (U/L)	1,2	2,2	0	0,8
LDL-K (mg/dL)	-0,1	-0,7	0	-0,7
Magnezyum (mg/dL)	-0,1	1,4	0	1,5
Potasyum (mEq/L)	0,2	0,4	0	0,4
Sodyum (mEq/L)	-0,3	0,8	-0,1	0,8
T.Bil (mg/dL)	2,6	10,3	0	1
Trigliserit (mg/dL)	1,2	1,2	0	-0,5
T.Protein (g/dL)	-0,3	2,8	0	3,2

#### 4.3.2. Cinsiyete göre alt gruba ayrılan parametrelerin histogramları

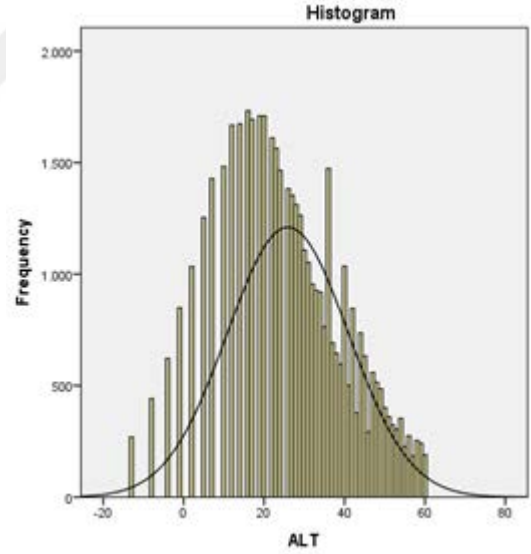
Harris-Boyd denkleminde  $Z_{\text{hesaplanan}} > Z_{\text{kritik}}$  olan ve ES değerleri 0.5'e yakın veya yüksek olan 8 parametrede (ALT, BUN, CK, Kreatinin, T.Demir, HDL-K, GGT, Ürik Asit) erkek ve kadın arasında anlamlı fark bulundu. Bu parametrelerin histogramları Şekil-18 (a-g), Şekil-19 (a-g), Şekil-20 (a-g) ve Şekil-21 (a-g)'de gösterildi.

Şekil-18 (a-g). Erkekler için transformasyon öncesi histogramlar

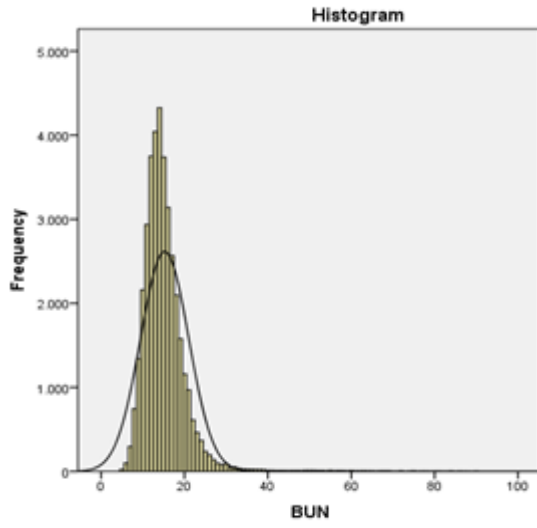
Şekil-19 (a-g). Erkekler için transformasyon sonrası histogramlar



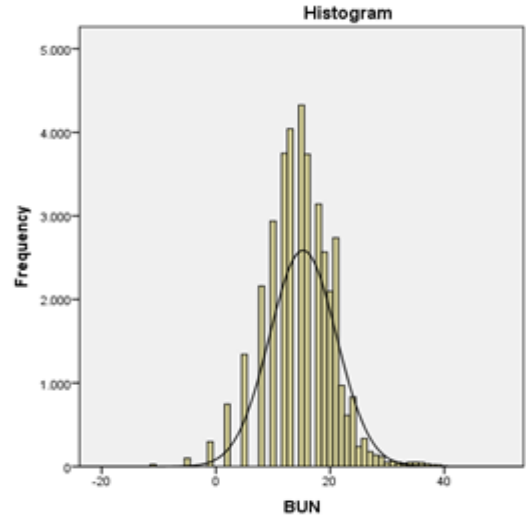
Şekil 18 (a)



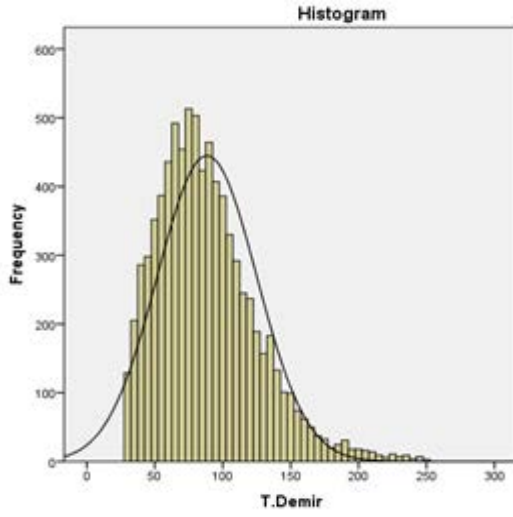
Şekil 19 (a)



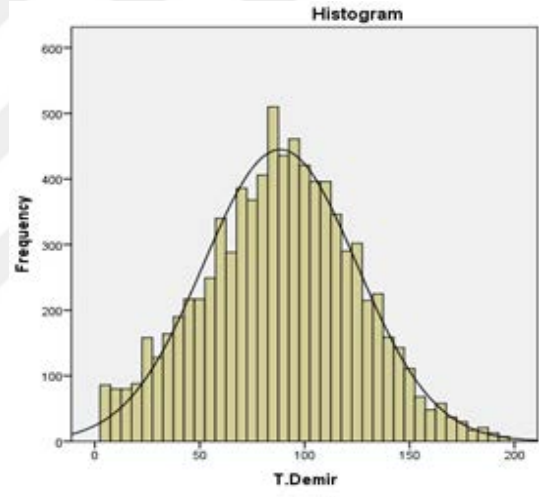
Şekil 18 (b)



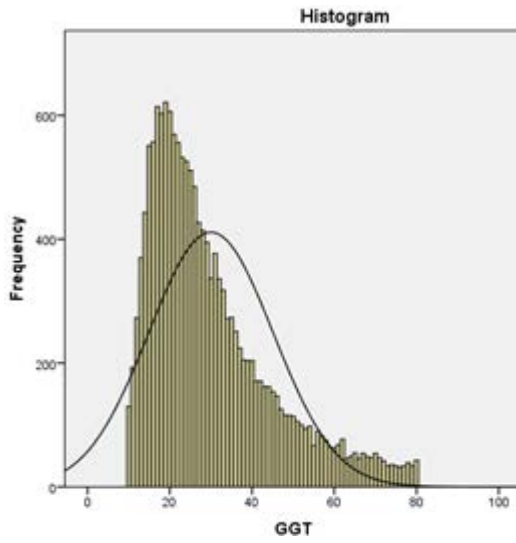
Şekil 19 (b)



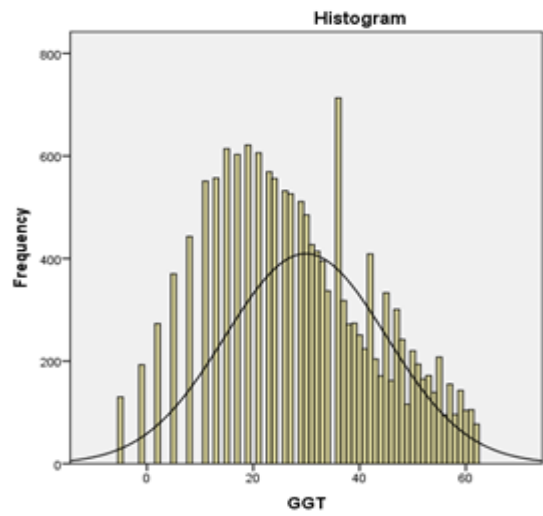
Şekil 18 (c)



Şekil 19 (c)

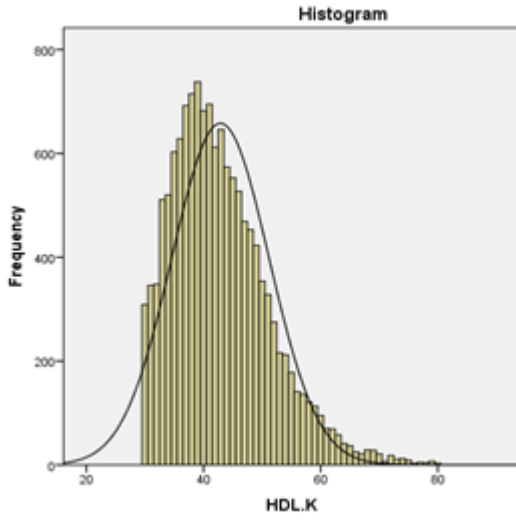


Şekil 18 (ç)

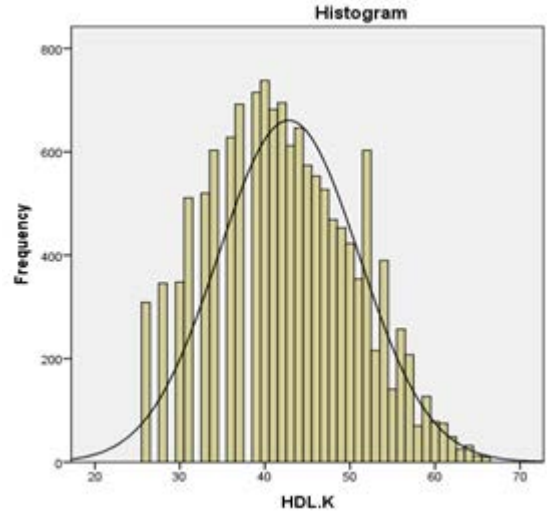


Şekil 19 (ç)

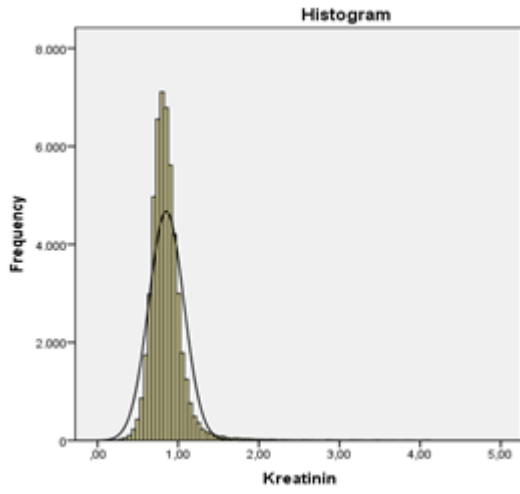




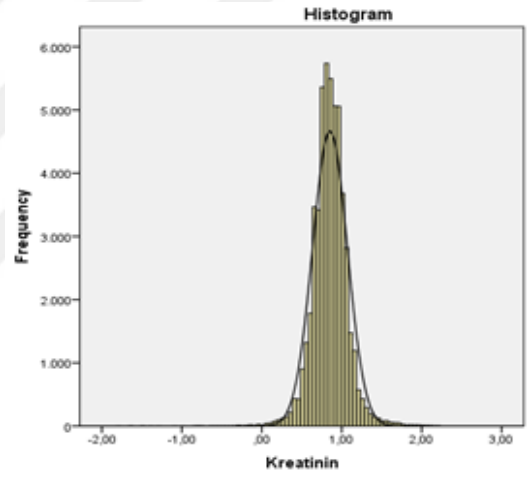
Şekil 18 (d)



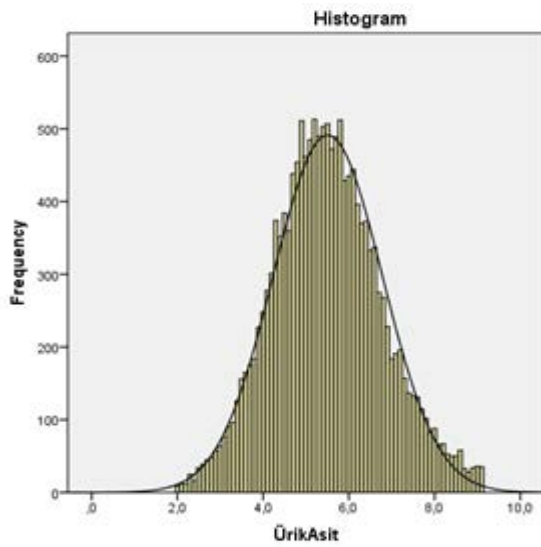
Şekil 19 (d)



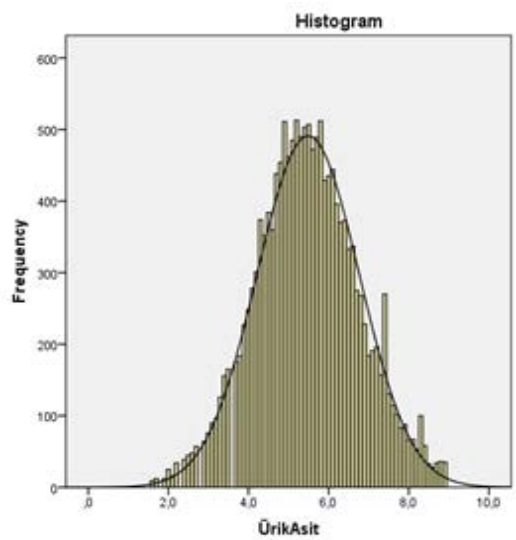
Şekil 18 (e)



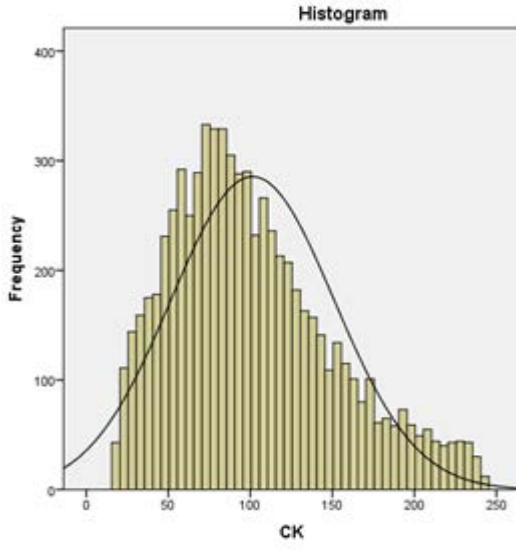
Şekil 19 (e)



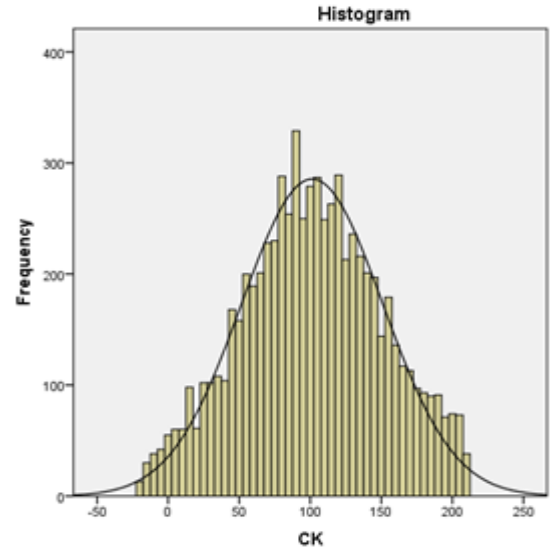
Şekil 18 (f)



Şekil 19 (f)



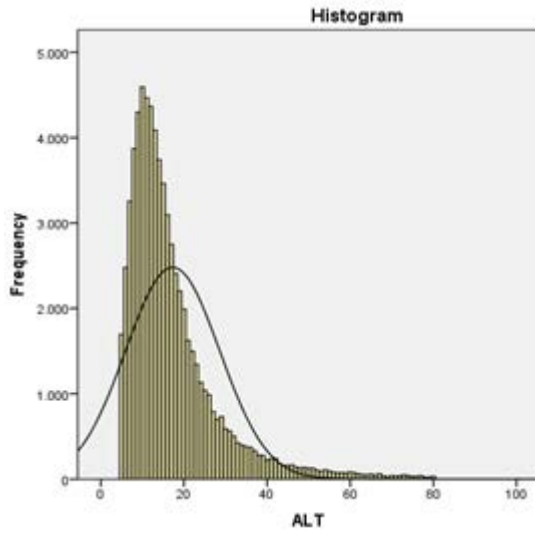
Şekil 18 (g)



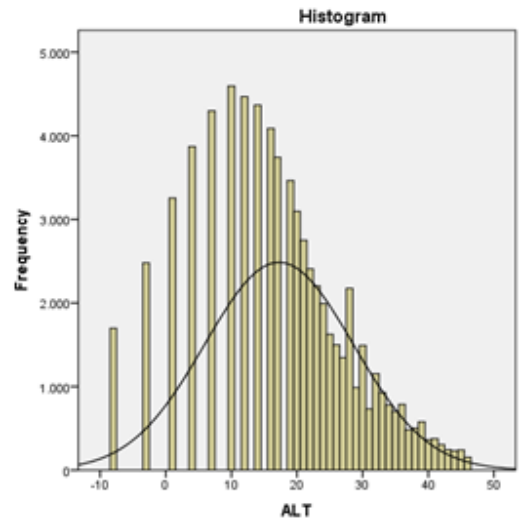
Şekil 19 (g)

Şekil-20 (a-g). Kadınlara ait transformasyon öncesi histogramlar

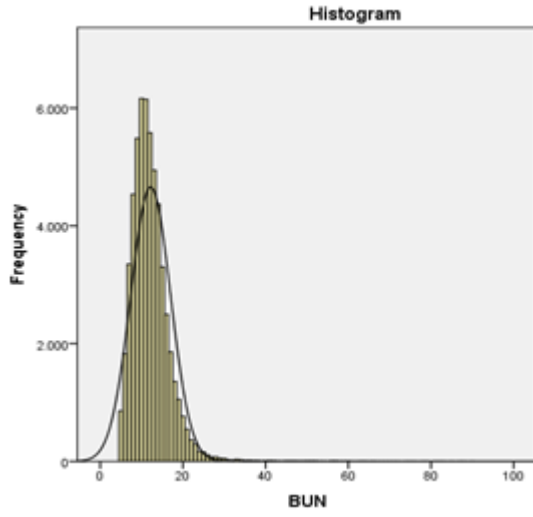
Şekil-21 (a-g). Kadınlara ait transformasyon sonrası histogramlar



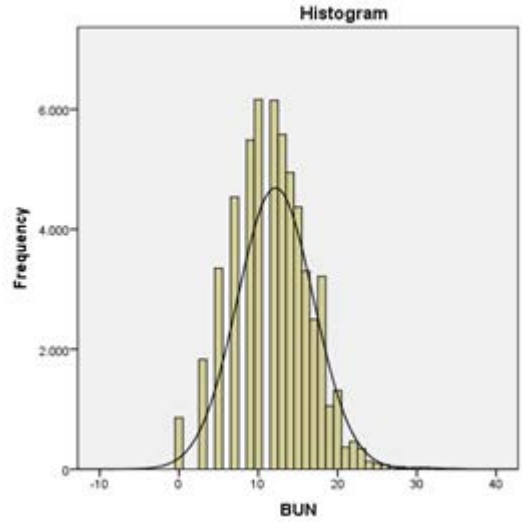
Şekil 20 (a)



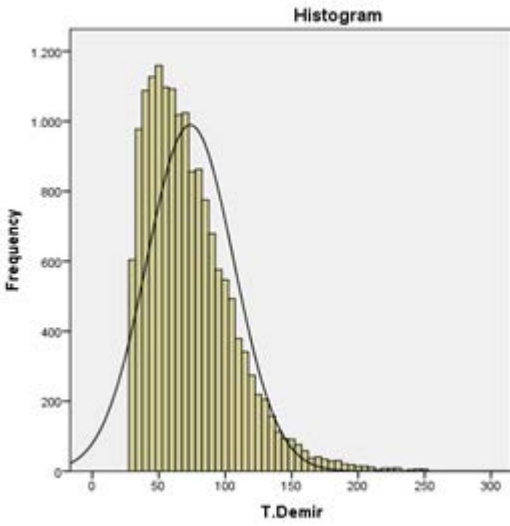
Şekil 21 (a)



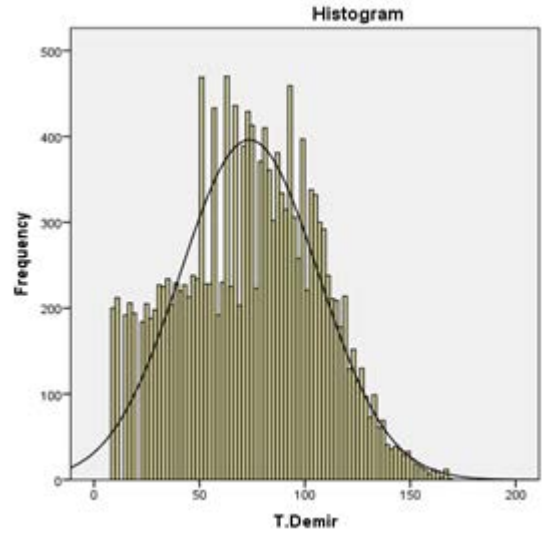
Şekil 20 (b)



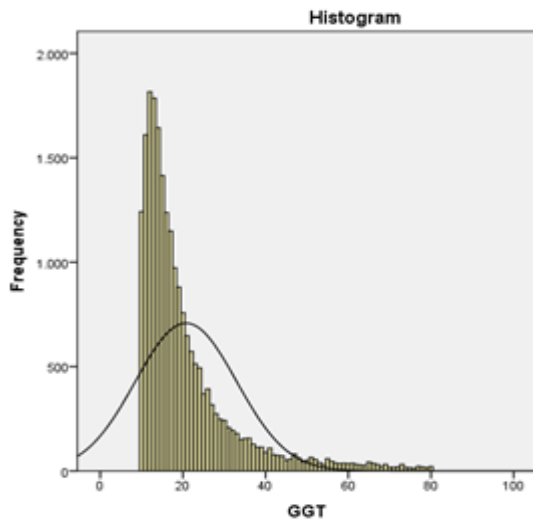
Şekil 21 (b)



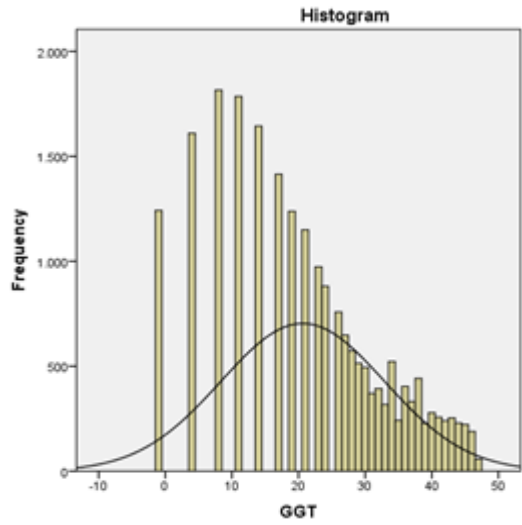
Şekil 20 (c)



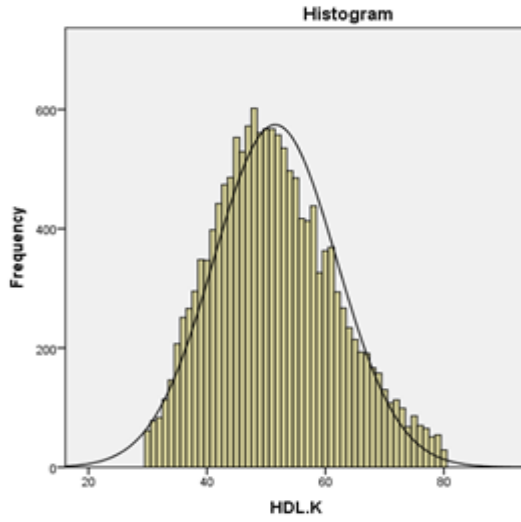
Şekil 21 (c)



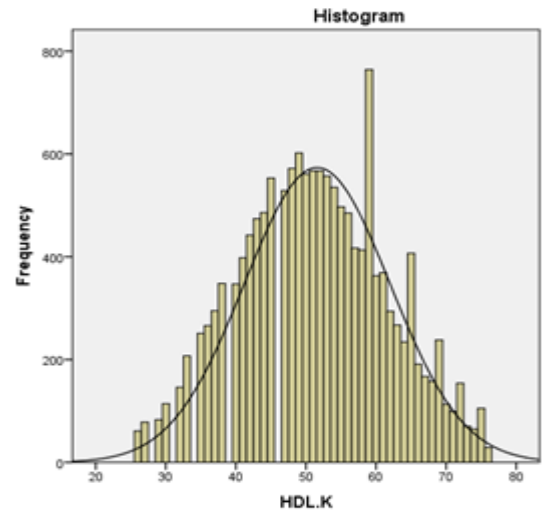
Şekil 20 (ç)



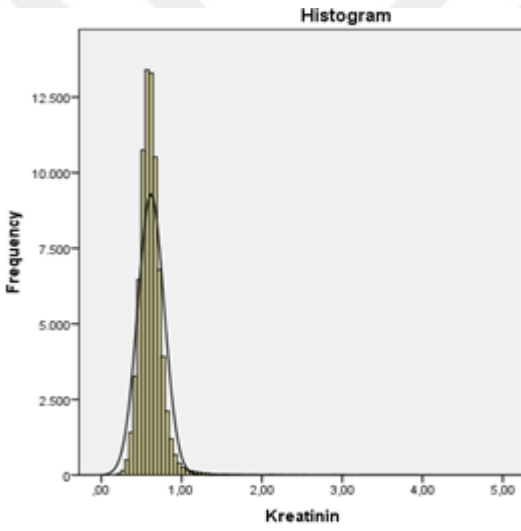
Şekil 21 (ç)



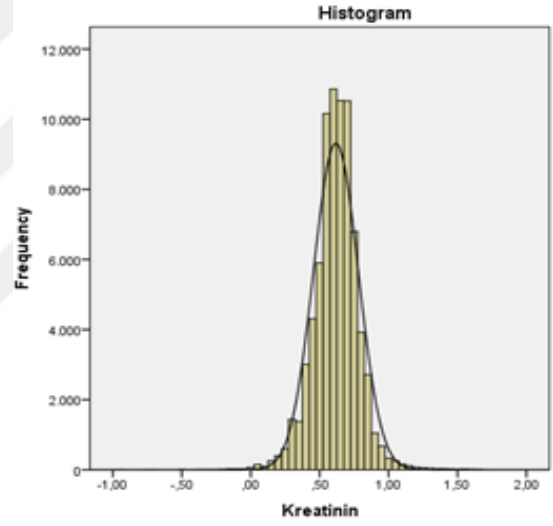
Şekil 20 (d)



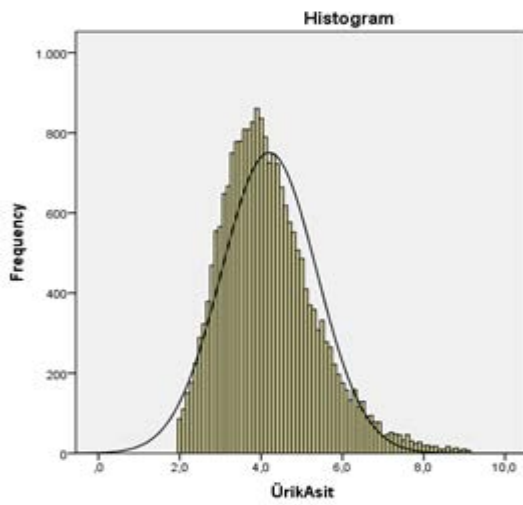
Şekil 21 (d)



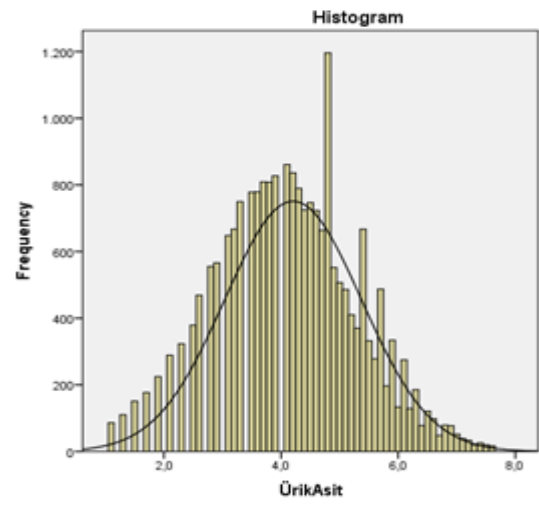
Şekil 20 (e)



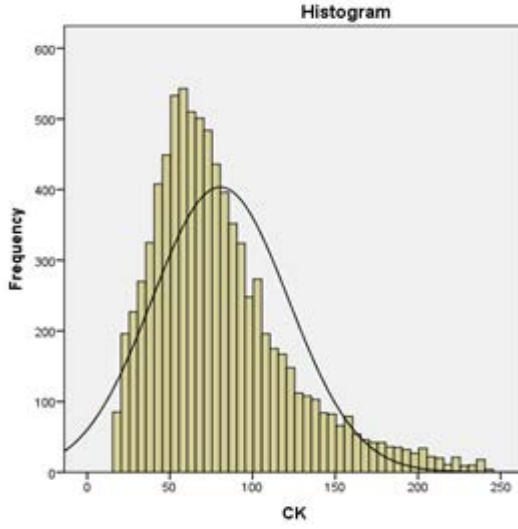
Şekil 21 (e)



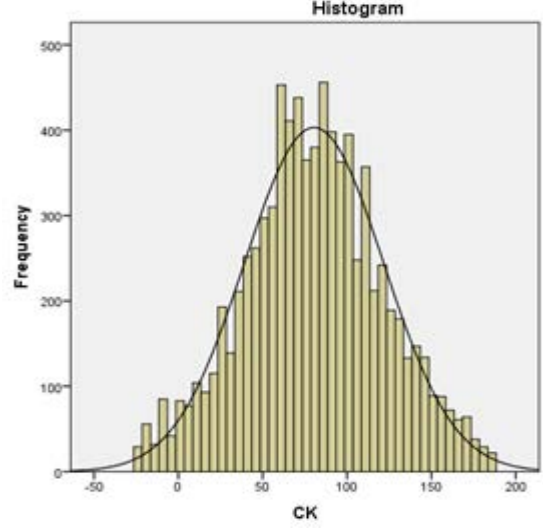
Şekil 20 (f)



Şekil 21 (f)



Şekil 20 (g)



Şekil 21 (g)

Cinsiyet açısından alt gruplara ayrılan parametrelerin transformasyon öncesi ve sonrası skewness (çarpıklık), kurtosis (sivrilik) değerleri Tablo-7’de sunuldu.

**Tablo-7.** Alt gruba ayrılan parametrelerin skewness ve kurtosis değerleri

Test Adı	Transformasyon öncesi		Transformasyon sonrası	
	Skewness	Kurtosis	Skewness	Kurtosis
ALT (U/L) (K)	2,2	5,9	0	-0,3
ALT (U/L) (E)	1,2	1,3	0	-0,4
BUN (mg/dL) (K)	3,3	28,7	0	0,4
BUN (mg/dL) (E)	4	30,5	0	1,2
CK (U/L) (K)	1,2	1,5	0	-0,2
CK (U/L) (E)	0,7	0,1	0	-0,4
T.Demir (mg/dL) (K)	1,2	2,2	0	-0,6
T.Demir (mg/dL) (E)	1	1,3	0	-0,3
HDL-K (mg/dL) (K)	0,4	-0,3	0	-0,5
HDL-K (mg/dL) (E)	0,9	0,9	0	-0,5
GGT (U/L) (K)	2,2	5,3	0,1	-0,8
GGT (U/L) (E)	1,2	0,9	0	-0,7
Kreatinin (mg/dL) (K)	5	63,3	0	3,6
Kreatinin (mg/dL) (E)	3,7	31,9	0	6,4
Ürik Asit (mg/dL) (K)	0,8	0,9	0	-0,1
Ürik Asit (mg/dL) (E)	0,2	0	0	0

K: Kadın , E: Erkek

#### 4.4. Çalışılan Parametrelerin Referans Aralıkları

Çalışılan parametrelerin Bhattacharya yöntemine göre hesaplanan referans aralık değerleri Tablo-8' de sunuldu.

**Tablo-8.** Çalışılan parametrelerin referans aralık değerleri

Test Adı	GENEL		ERKEK		KADIN	
	AL	ÜL	AL	ÜL	AL	ÜL
Albümin	3,6	5	3,7	5,1	3,6	5
ALP (U/L)	22,4	167,7	30,9	168,9	13,4	166,2
ALT (U/L)	4,9	42,1	6,7	55,5	1,4	44,1
Amilaz (U/L)	24,5	126	18,6	135,2	25,2	122
AST (U/L)	2,5	52,9	3	55,6	2,4	49
BUN (mg/dL)	5,2	25,4	6,5	26,6	4,7	23
CK (U/L)	5,2	184,3	6,3	189,4	1,8	181,2
D.Bil (mg/dL)	0	0,3	0	0,31	0	0,26
T.Demir (mg/dL)	23,7	158,4	32,5	171,6	14,7	153,5
PO <sub>4</sub> (mg/dL)	2,57	4,71	2,06	4,86	2,66	4,68
GGT (U/L)	3,5	58,7	3,5	58,6	5,2	41
Glukoz (mg/dL)	65,5	106,5	67,7	107,9	65	105,8
HDL-K (mg/dL)	28,8	69,4	26,4	63,3	30,9	72,2
Klor (mmol/L)	98,6	108,7	97,7	108,8	98,9	108,9
T.Kalsiyum (mg/dL)	8,8	10,3	8,8	10,6	8,5	10,7
T.Kolesterol (mg/dL)	100,7	253,7	95,3	262	104,9	242
Kreatinin (mg/dL)	0,37	1,17	0,52	1,27	0,32	1,03
LDH (U/L)	106,1	296,9	103,3	298,1	108	293,6
LDL-K (mg/dL)	80	177,5	78,9	178,2	79,9	175,2
Magnezyum (mg/dL)	1,61	2,35	1,61	2,37	1,61	2,36
Potasyum (mmol/L)	3,8	4,9	3,91	4,92	3,82	4,85
Sodyum (mmol/L)	134,6	142,3	135,2	143,2	134,1	142,2
T.Bil (mg/dL)	0,14	1,3	0,12	1,42	0,14	1,17
Trigliserit (mg/dL)	76,1	282	80,6	296,7	70,6	267,4
T.Protein (g/dL)	6,2	8,7	6,3	8,8	6,2	8,7
Ürik Asit (mg/dL)	2,4	7,6	2,9	8,3	2,2	6,6

AL: Referans aralığın alt limiti, ÜL: Referans aralığın üst limiti

Cinsiyete göre ayrılması gereken parametrelerin erkekler için Bhattacharya yöntemine göre hesaplanan referans aralık değerleri Tablo-9’da sunuldu.

**Tablo-9.** Cinsiyete göre alt gruba ayrılan parametrelerden erkeklere ait referans aralık değerleri, SD ve varyans değerleri

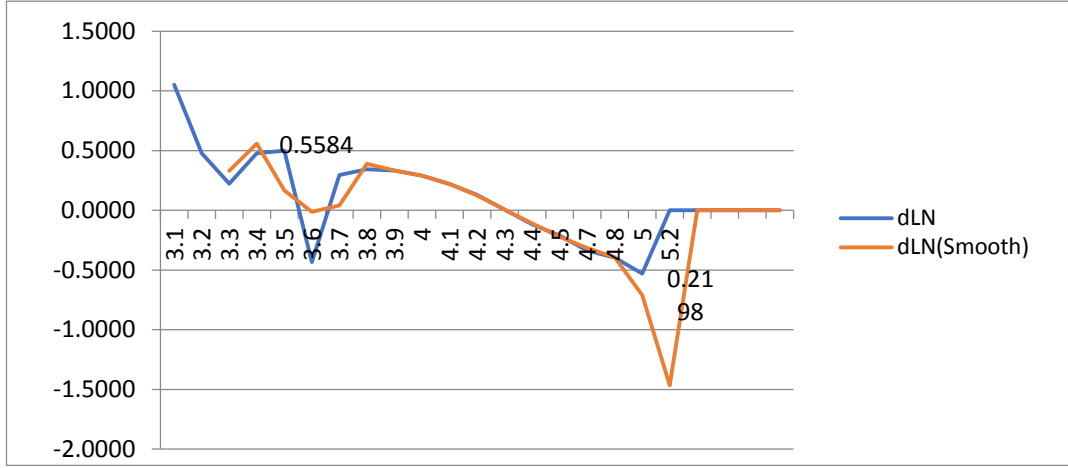
Test Adı	Alt sınır	Üst sınır	SD	Varyans
ALT (U/L)	6,7	55,5	15	227,6
BUN (mg/dL)	6,5	26,6	5,8	34
CK (U/L)	6,3	189,4	49,7	2468,3
T.Demir (mg/dL)	32,5	171,6	36,6	1337,2
GGT (U/L)	3,5	58,6	15,2	239,2
HDL-K (mg/dL)	26,4	63,3	8,3	68,3
Kreatinin (mg/dL)	0,52	1,27	0,22	0,047
Ürik Asit (mg/dL)	2,9	8,3	1,27	1.628

Cinsiyete göre ayrılması gereken parametrelerin kadınlar için Bhattacharya yöntemine göre hesaplanan referans aralık değerleri Tablo-10’da sunuldu.

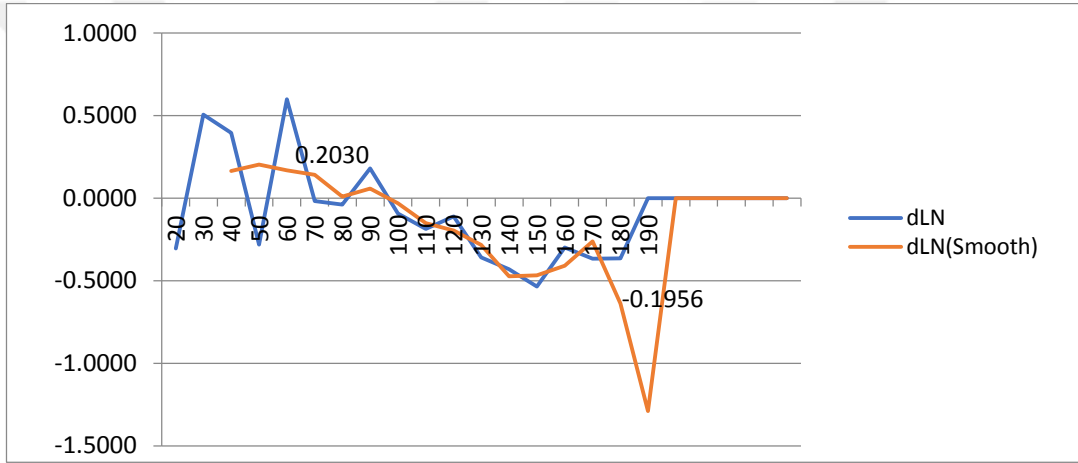
**Tablo-10.** Cinsiyete göre alt gruba ayrılan parametrelerden kadınlara ait referans aralık değerleri, SD ve varyans değerleri

Test Adı	Alt sınır	Üst sınır	SD	Varyans
ALT (U/L)	1,4	44,1	11,3	127,9
BUN (mg/dL)	4,7	23	4,8	23
CK (U/L)	1,8	181,2	41,3	1704,1
T.Demir (mg/dL)	14,7	153,5	32,8	1075,9
GGT (U/L)	5,2	41	12,3	151,6
HDL-K (mg/dL)	30,9	72,2	10,4	107,93
Kreatinin (mg/dL)	0,32	1,03	0,16	0,027
Ürik Asit (mg/dL)	2,2	6,6	1,16	1.365

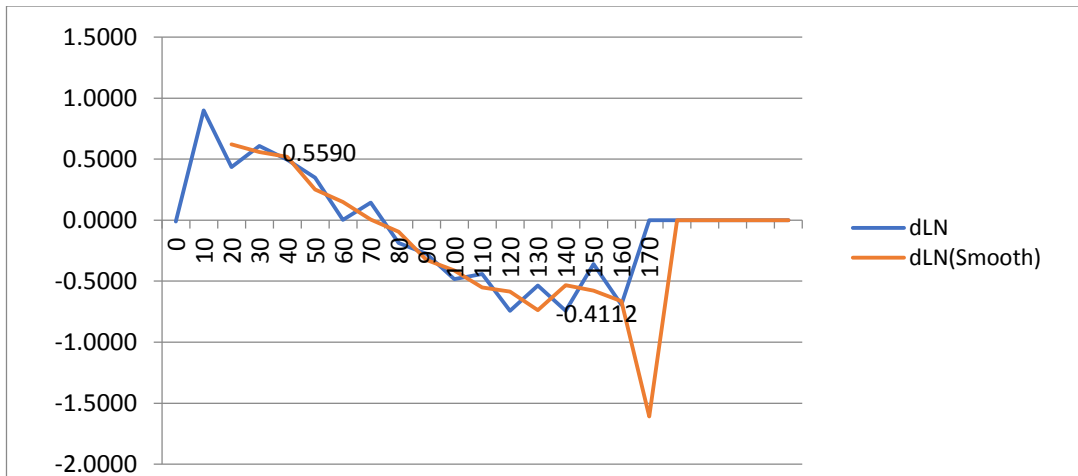
Cinsiyete göre ayırım yapılmayan parametrelerin Bhattacharya grafikleri Şekil 22-39’da gösterildi.



Şekil-22. Albümin (Genel) Bhattacharya Grafiği

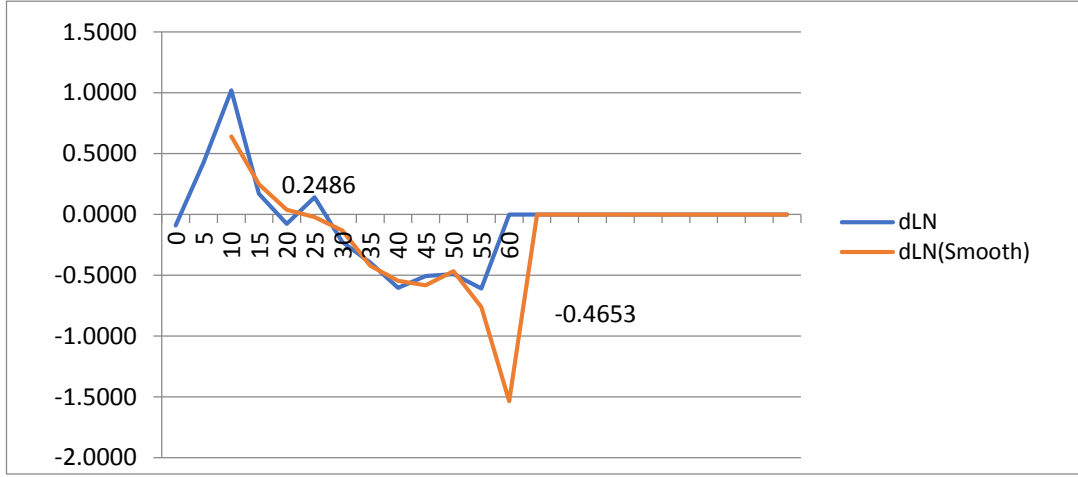


Şekil-23. ALP (Genel) Bhattacharya Grafiği

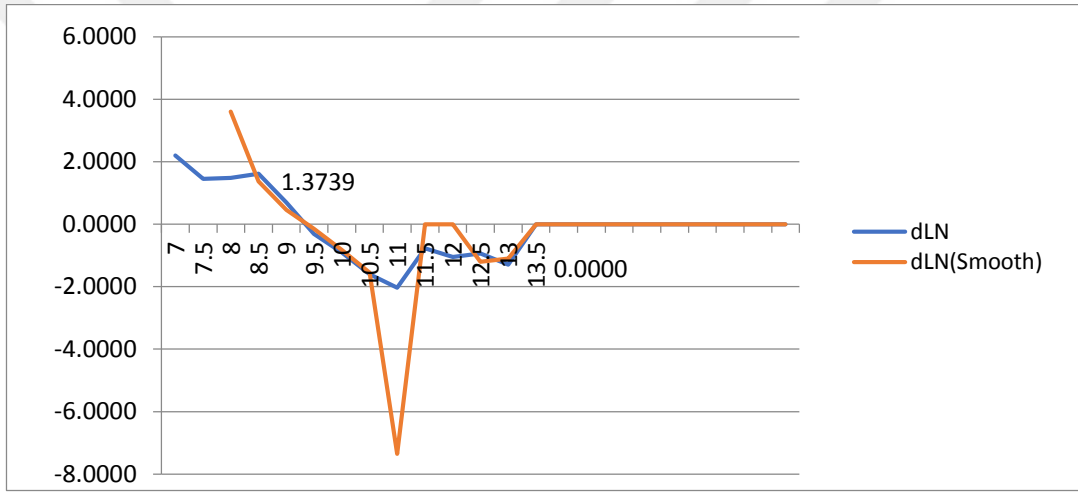


Şekil-24. Amilaz (Genel) Bhattacharya Grafiği

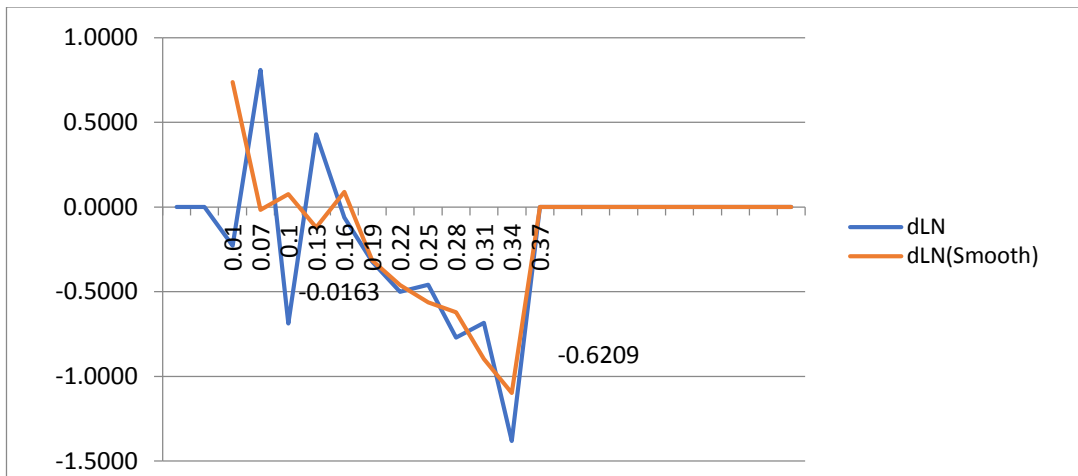




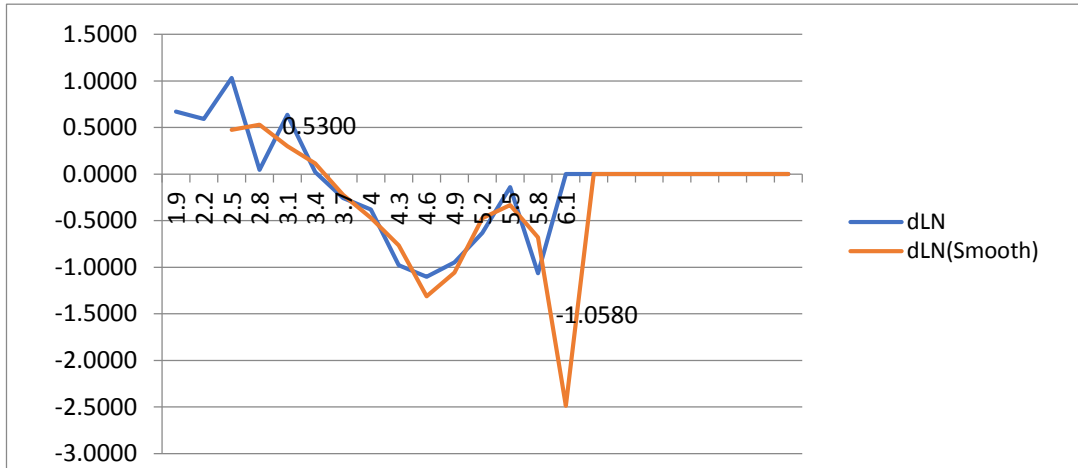
Şekil-25. AST (Genel) Bhattacharya Grafiği



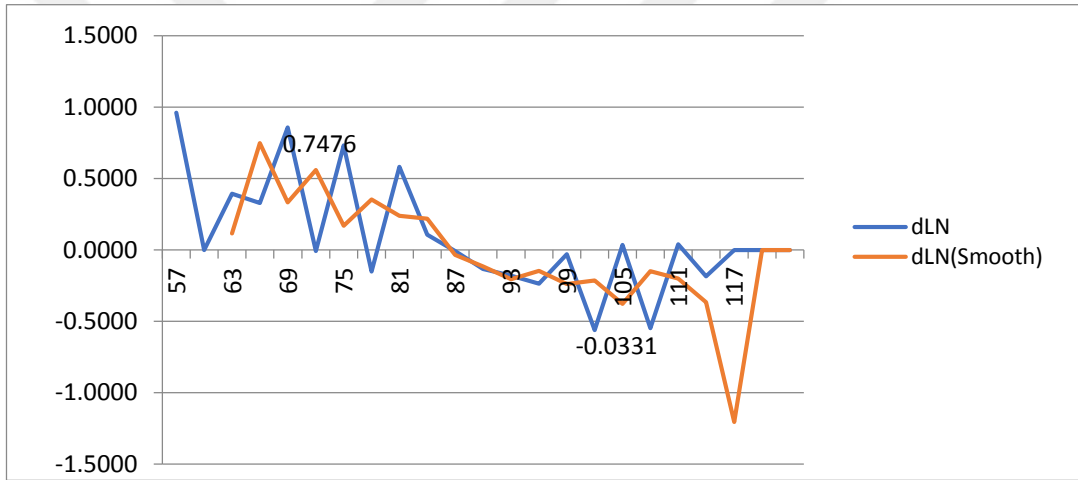
Şekil-26. T.Kalsiyum (Genel) Bhattacharya Grafiği



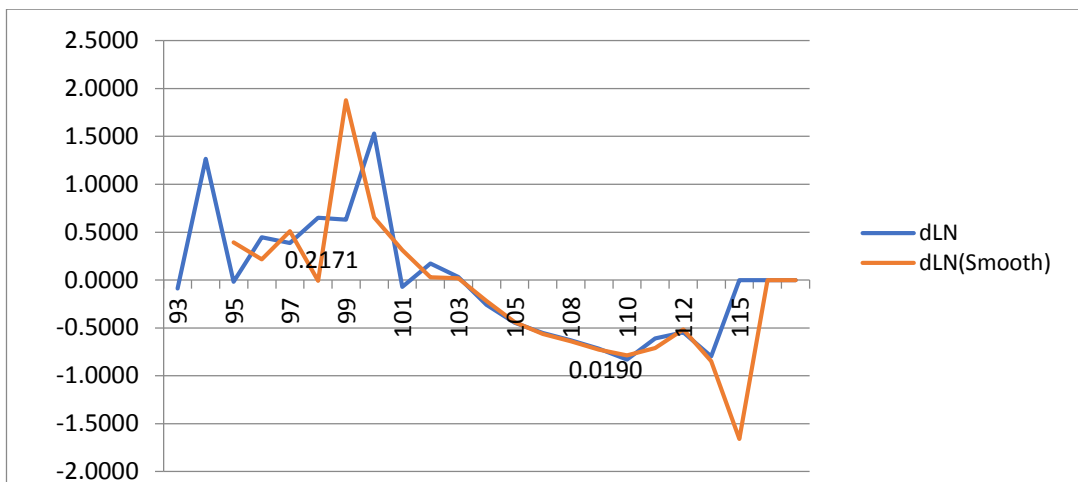
Şekil-27. D.Bil.(Genel) Bhattacharya Grafiği



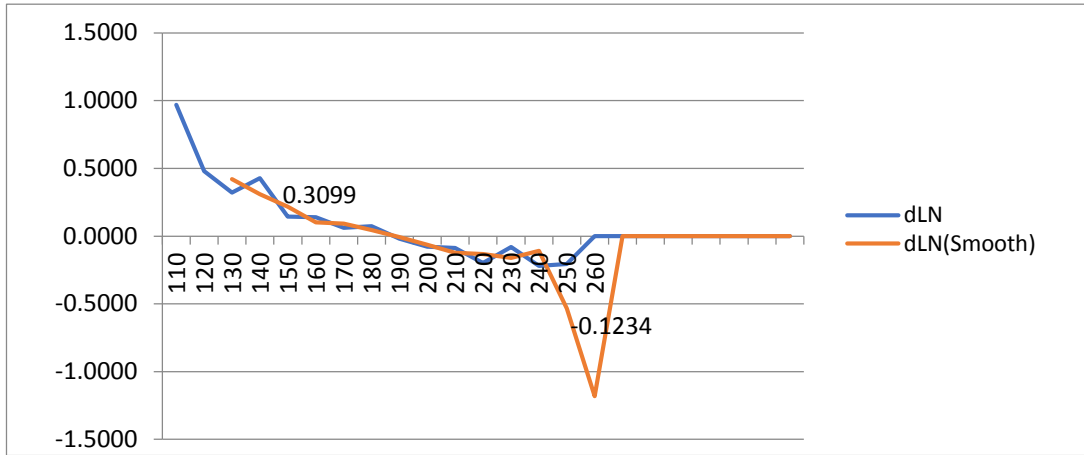
Şekil-28. PO<sub>4</sub> (Genel) Bhattacharya Grafiği



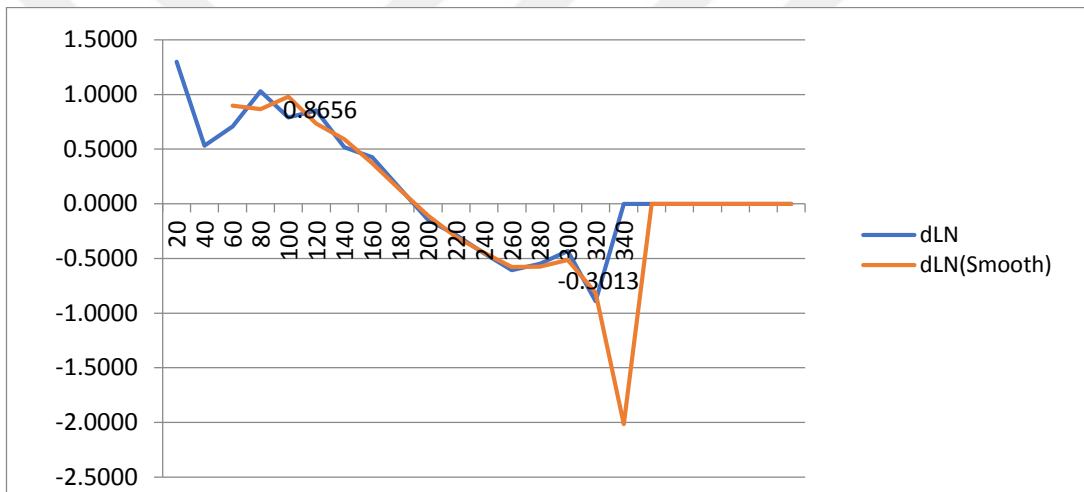
Şekil-29. Glukoz (Genel) Bhattacharya Grafiği



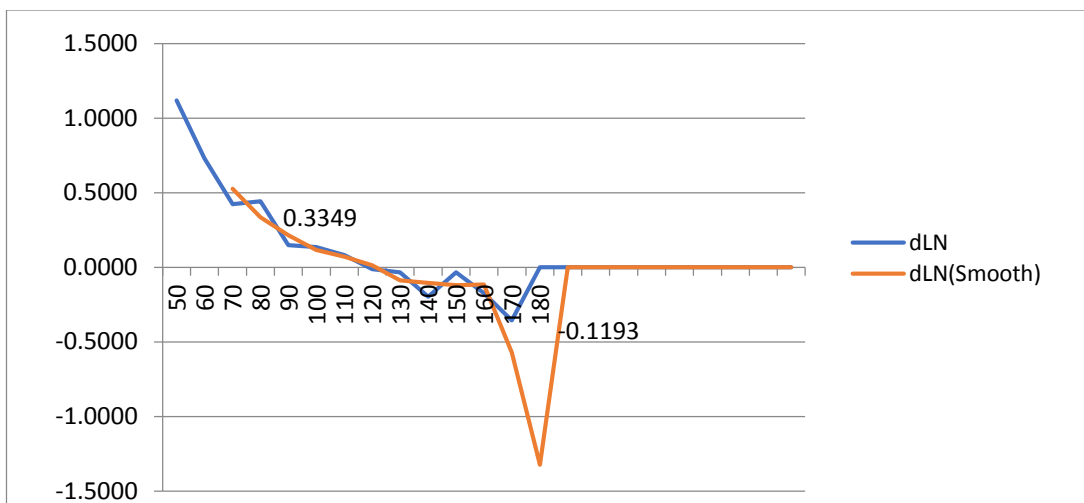
Şekil-30. Klor (Genel) Bhattacharya Grafiği



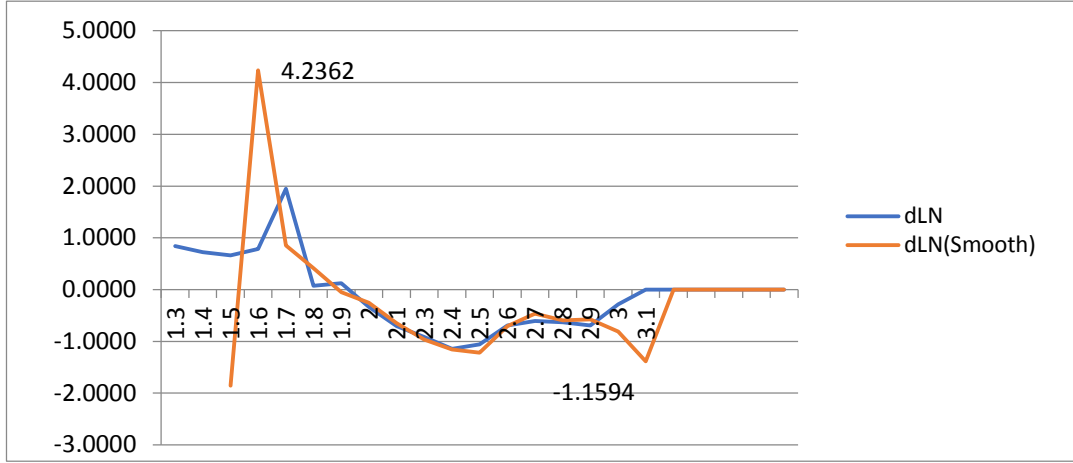
Şekil-31. T.Kolesterol (Genel) Bhattacharya Grafiği



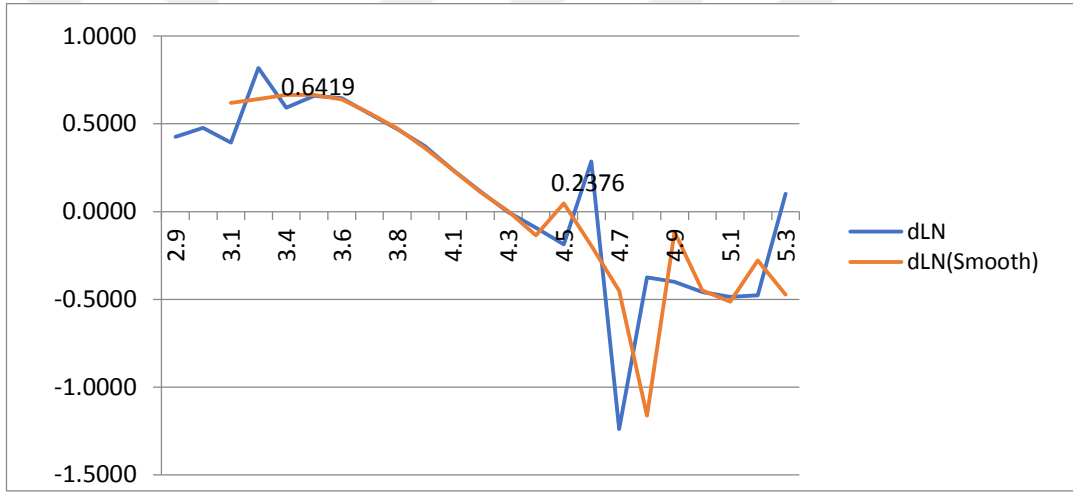
Şekil-32. LDH (Genel) Bhattacharya Grafiği



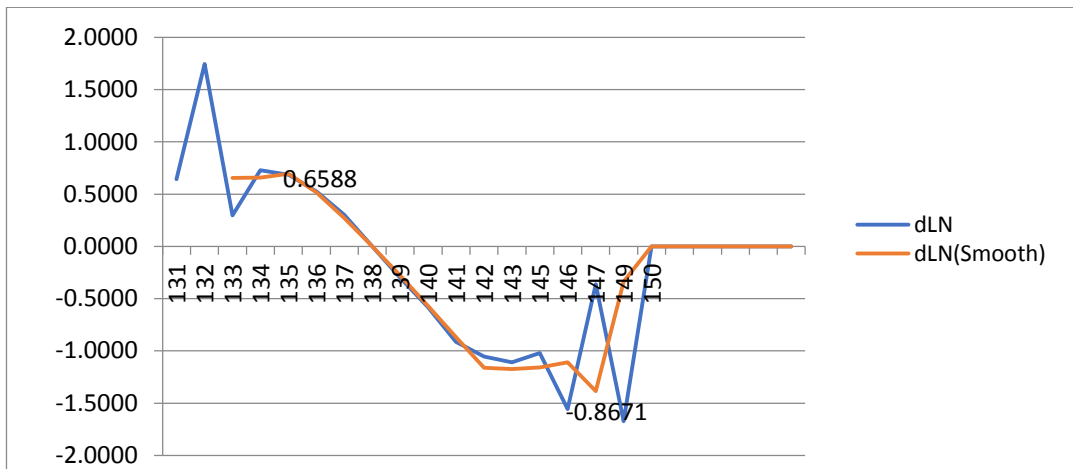
Şekil-33. LDL-K (Genel) Bhattacharya Grafiği



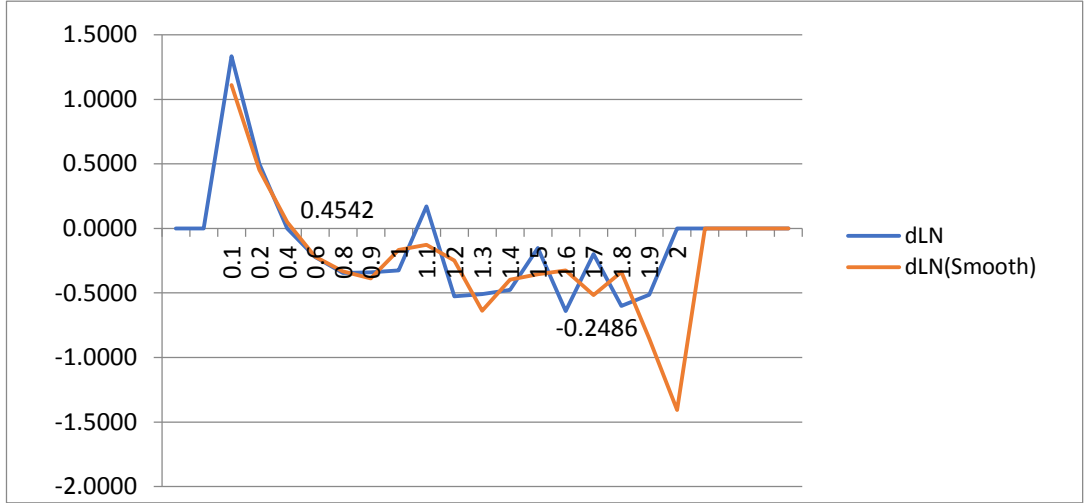
Şekil-34. Magnezyum (Genel) Bhattacharya Grafiği



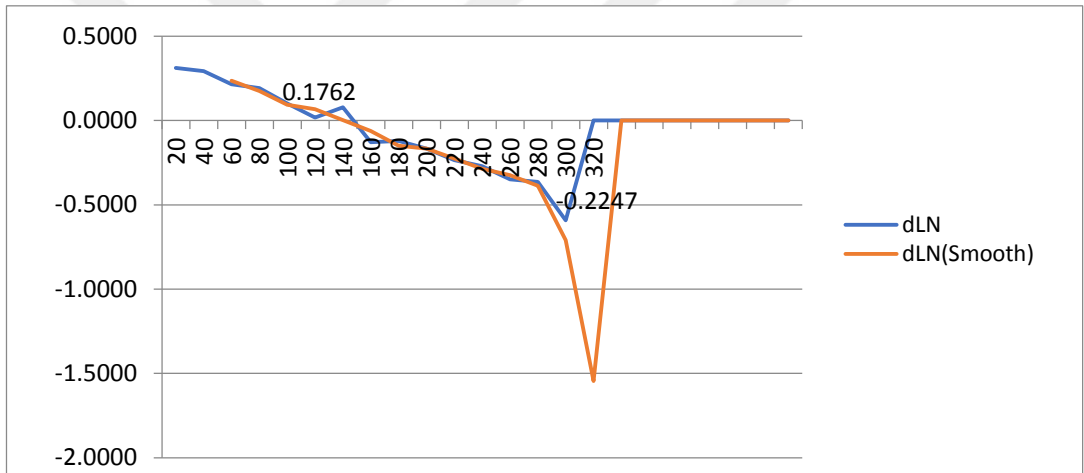
Şekil-35. Potasyum (Genel) Bhattacharya Grafiği



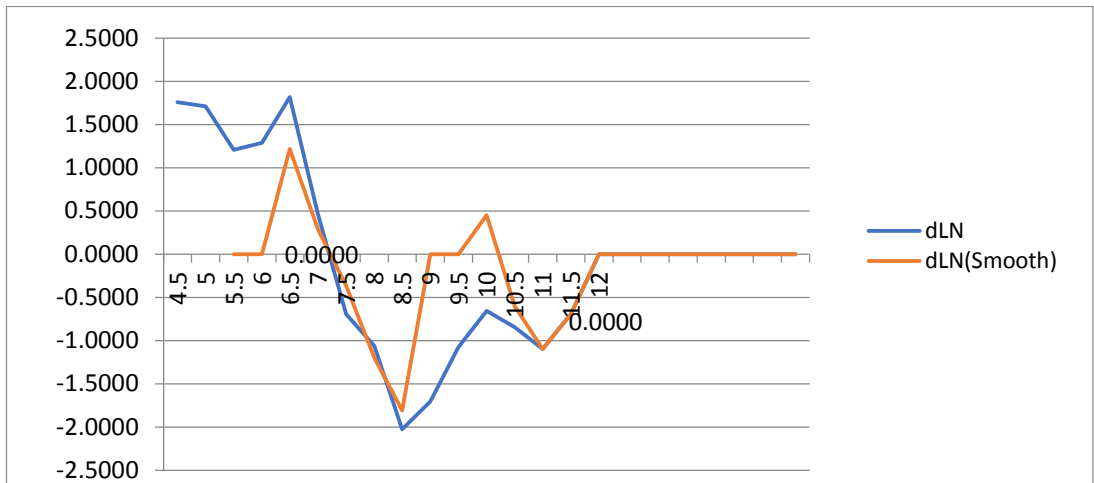
Şekil-36. Sodyum (Genel) Bhattacharya Grafiği



Şekil 37. T.Bil. (Genel) Bhattacharya Grafiği

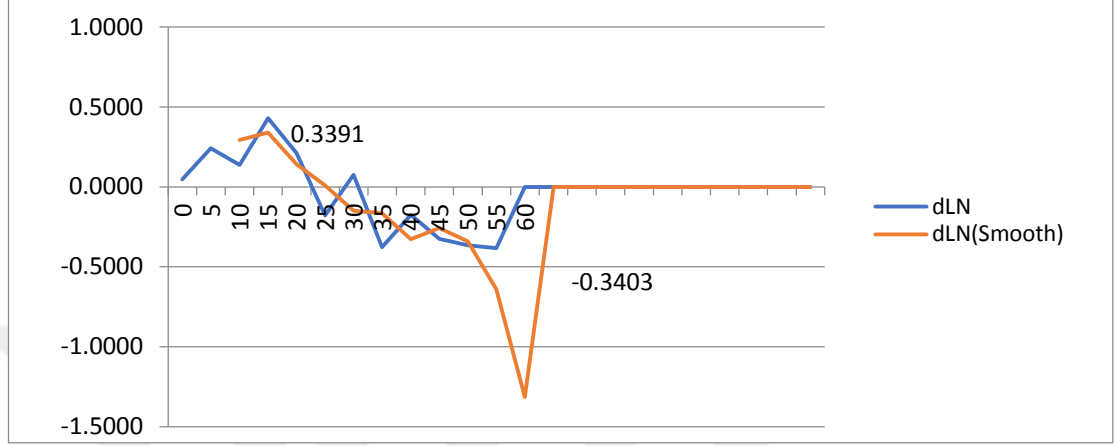


Şekil 38. Trigliserit (Genel) Bhattacharya Grafiği

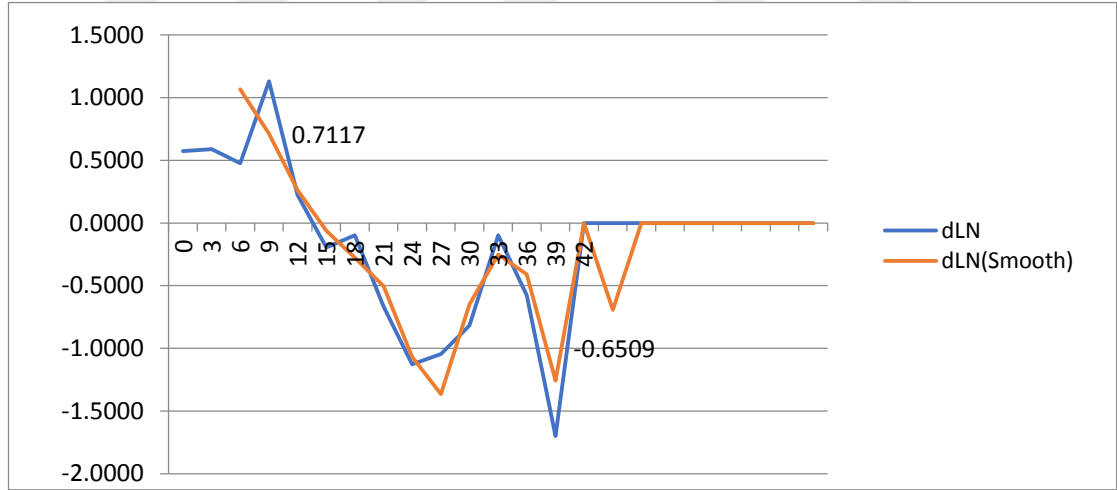


Şekil 39. T.Protein (Genel) Bhattacharya Grafiği

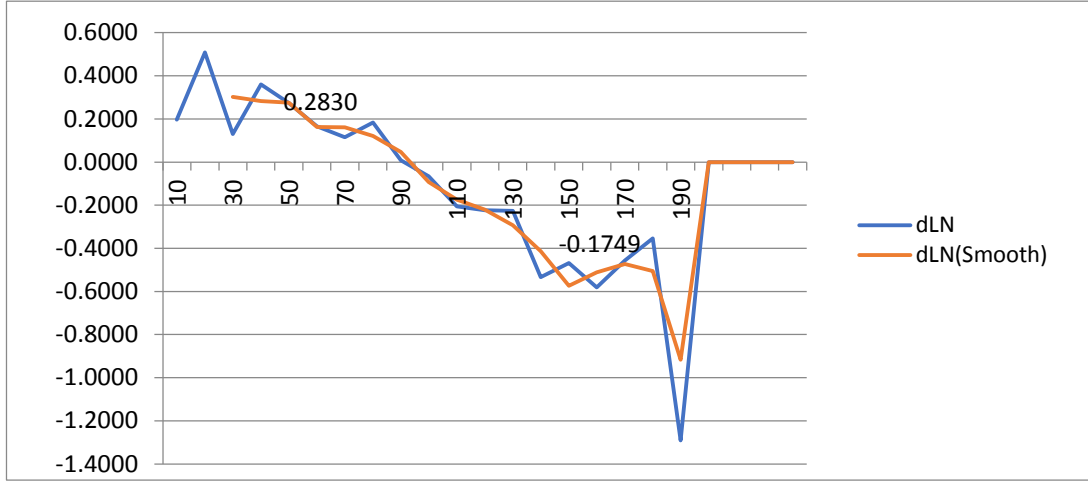
Cinsiyete göre ayırım yapılan parametrelerin erkeklere ait Bhattacharya grafikleri Şekil 40-47' de gösterildi.



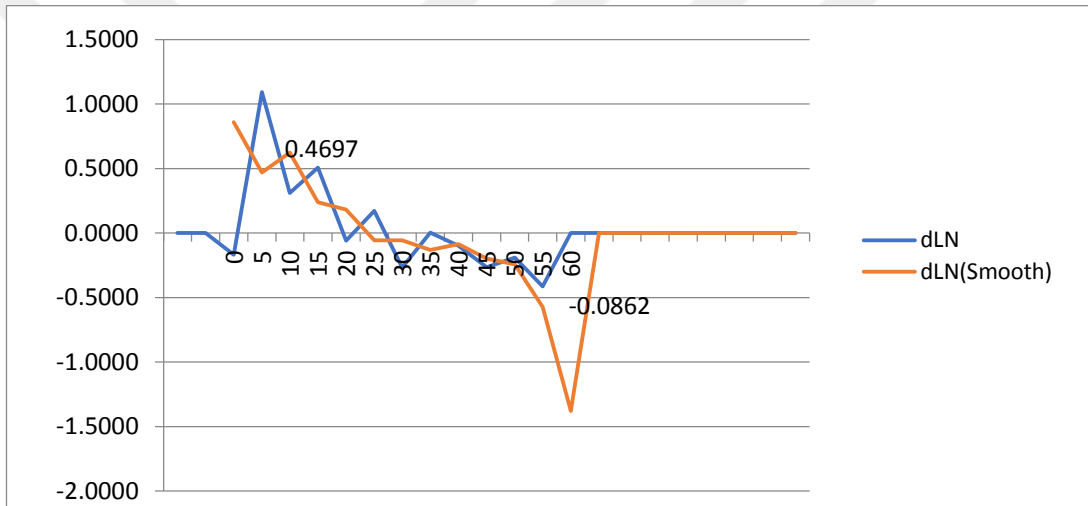
Şekil-40. ALT (Erkek) Bhattacharya Grafiği



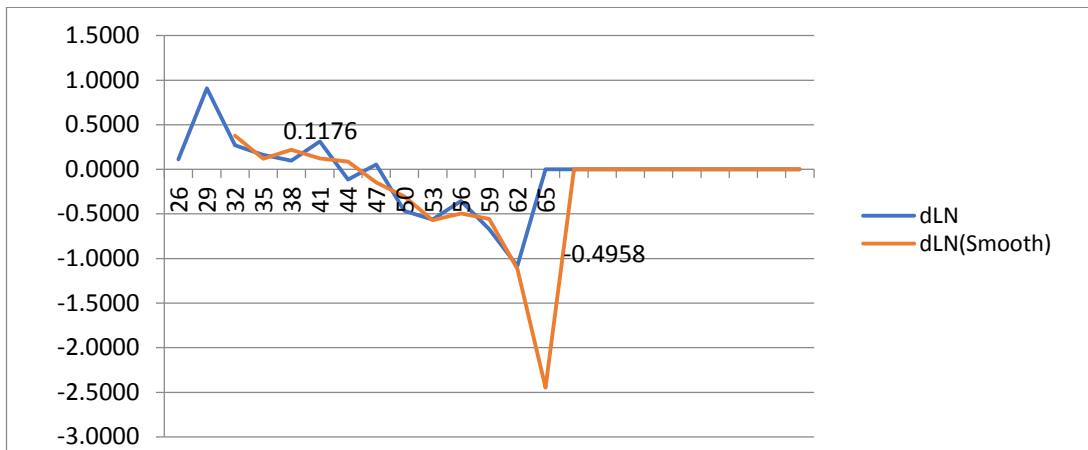
Şekil-41. BUN (Erkek) Bhattacharya Grafiği



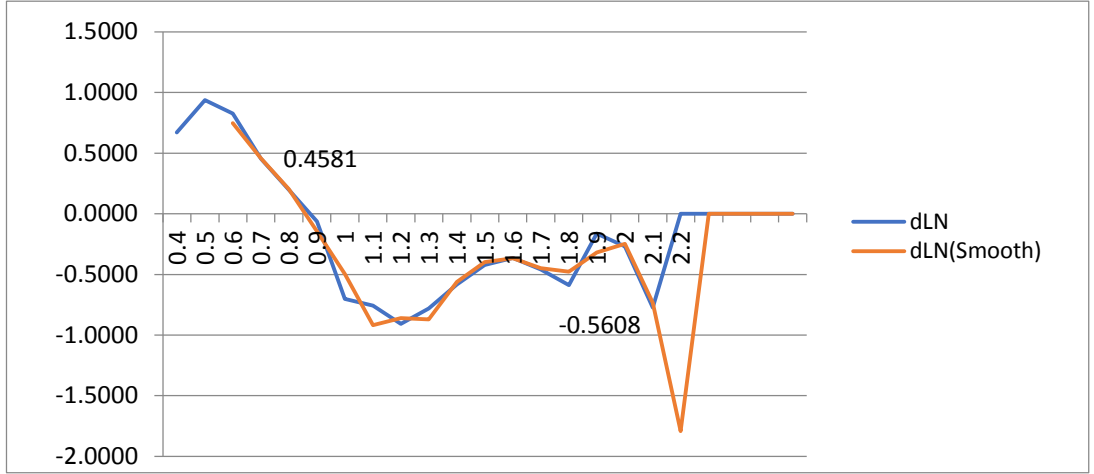
Şekil-42. T.Demir (Erkek) Bhattacharya Grafiği



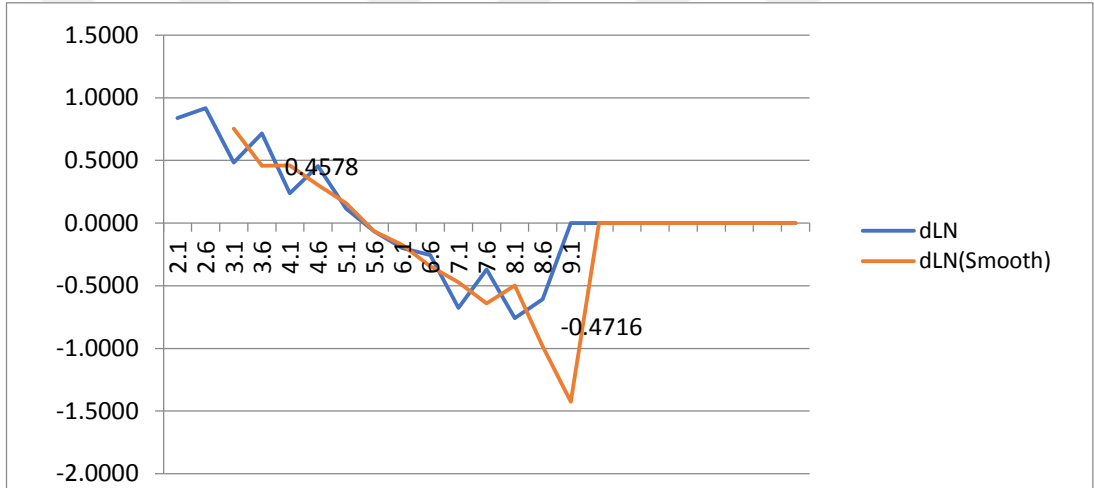
Şekil-43. GGT (Erkek) Bhattacharya Grafiği



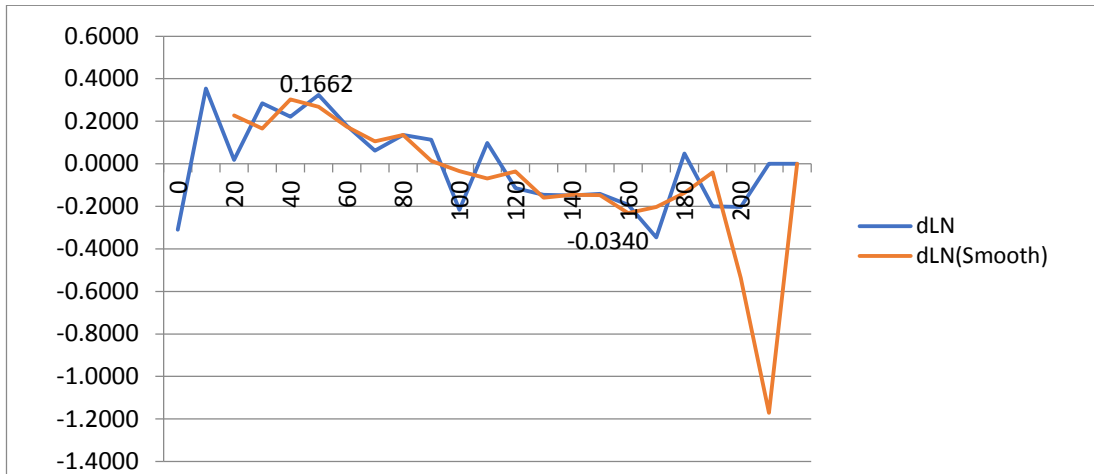
Şekil-44. HDL-K (Erkek) Bhattacharya Grafiği



Şekil-45. Kreatinin (Erkek) Bhattacharya Grafiği



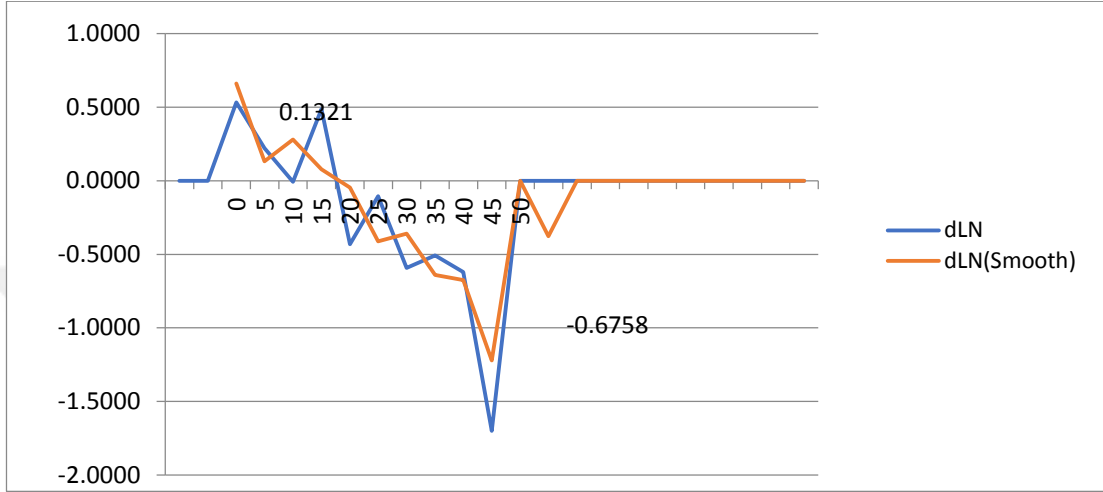
Şekil-46. Ürik asit (Erkek) Bhattacharya Grafiği



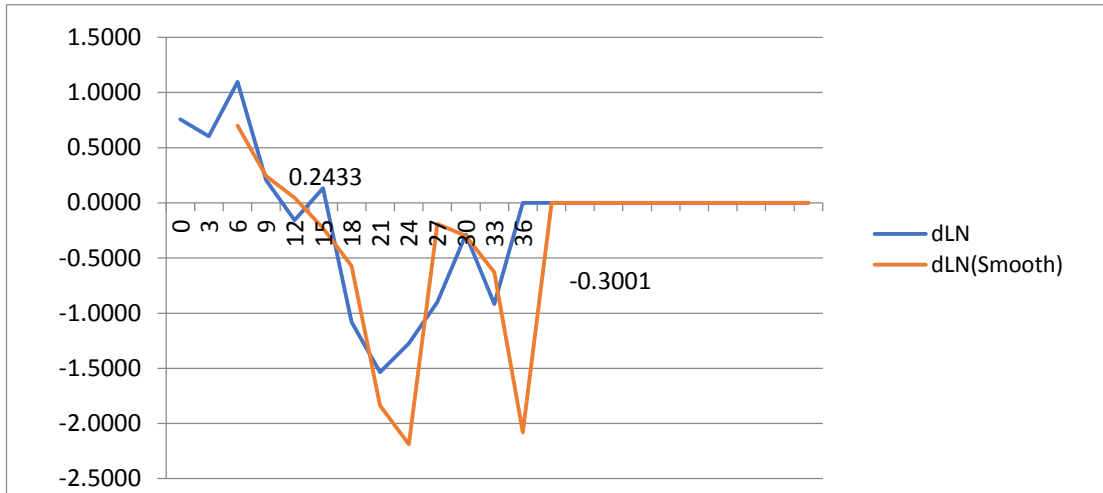
Şekil-47. CK (Erkek) Bhattacharya Grafiği



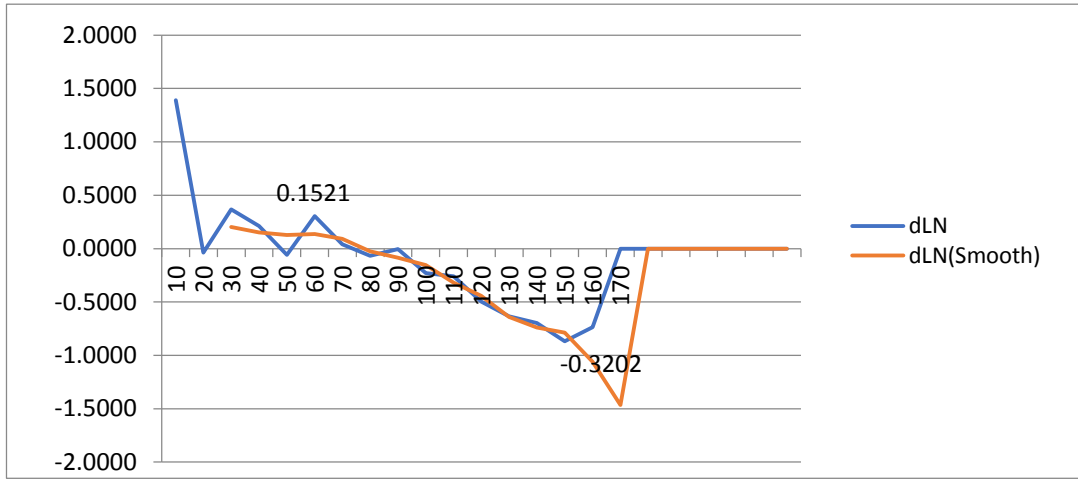
Cinsiyete göre ayırım yapılan parametrelerin kadınlara ait Bhattacharya grafikleri Şekil 48-55' de gösterildi.



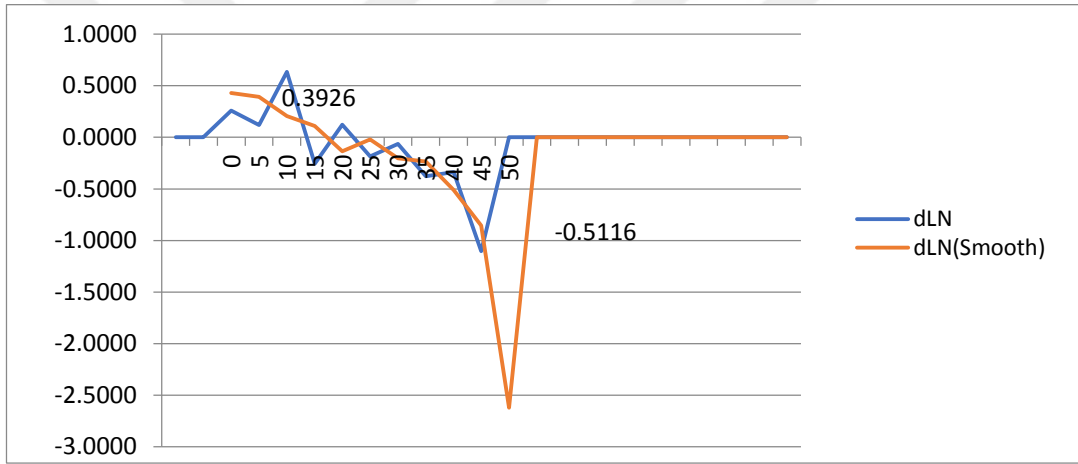
Şekil-48. ALT (Kadın) Bhattacharya Grafikği



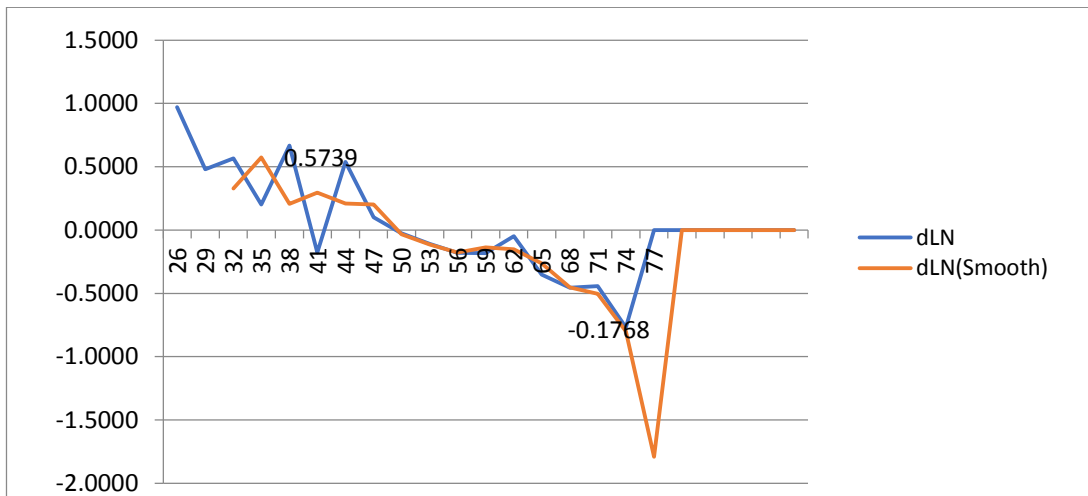
Şekil-49. BUN (Kadın) Bhattacharya Grafikği



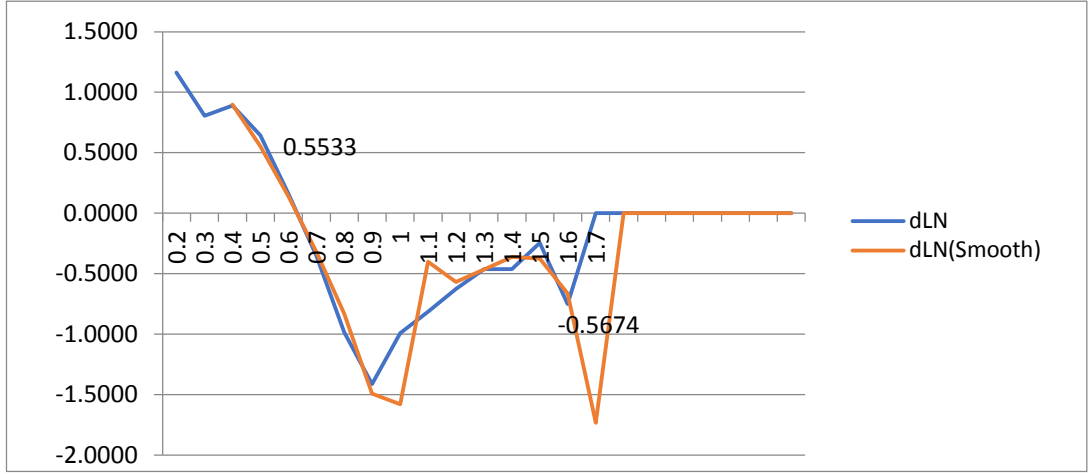
Şekil-50. T.Demir (Kadın) Bhattacharya Grafiği



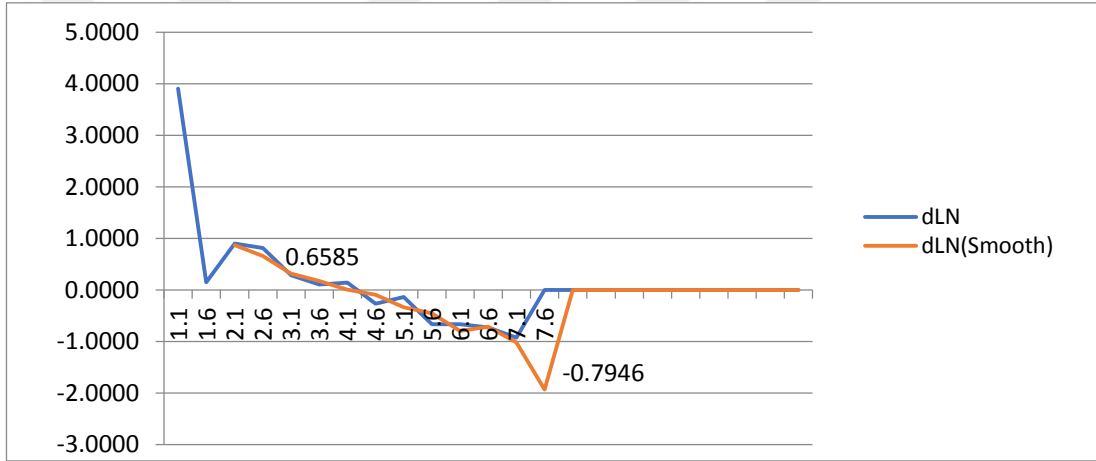
Şekil-51. GGT (Kadın) Bhattacharya Grafiği



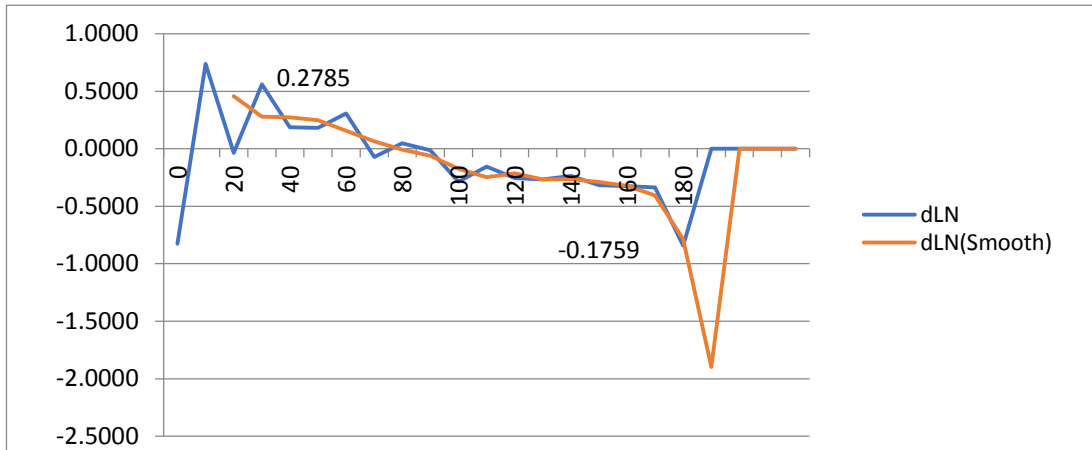
Şekil-52. HDL-K (Kadın) Bhattacharya Grafiği



Şekil-53. Kreatinin (Kadın) Bhattacharya Grafiği



Şekil-54. Ürik asit (Kadın) Bhattacharya Grafiği



Şekil-55. CK (Kadın) Bhattacharya Grafiği

## 5. TARTIŞMA

Referans aralık değerlerinin hesaplanması maliyet gerektiren oldukça zahmetli ve zor bir süreçtir. Bu yüzden her laboratuvar tarafından hesaplanamamaktadır. Fakat her toplum için hesaplanması önerilmektedir. Günümüzde pek çok laboratuvar kendi referans aralıklarını belirlemek yerine literatürde belirtilmiş veya üretici firma tarafından öne sürülmüş referans aralıklarını kullanmaktadır. Bu referans aralıkları çoğunlukla metodolojik ya da etnik köken farklılıkları içermektedir. Bu yüzden üretici firmalar da ürettikleri her kit için kullanıcı laboratuvarın kendi referans aralık değerlerini belirlemesini önermektedir.

Referans aralıklarının belirlenmesi aşamasında en büyük zorluk referans bireylerin seçimidir. Referans toplumu en iyi şekilde temsil eden referans bireylerin seçiminde direkt ve indirekt yöntem kullanılmaktadır. Direkt yöntem, bireylerin ana toplumdan belirlenmiş kriterlere göre seçimidir ve bu yöntemde, tanımlanmış kriterlere göre hazırlanan anket formları doldurulup, dikkat edilmesi gereken ve ölçüm sonucunu etkileyebileceği düşünülen durumları engellemeye yönelik hazırlık döneminin ardından örnek alımı gerçekleştirilir. IFCC, indirekt yöntem ile elde edilen sonuçların yaklaşık sonuçlar olduğunu belirtmiş ve örneklemin direkt olarak gerçekleştirilmesini tavsiye etmiştir (2). Direkt yöntem için toplumu yansıtan ve sağlıklı olduğu bilinen, aydınlatılmış onam alınmış 120 referans bireye ihtiyaç vardır. Bu sayı hem dağılımın orta %95'ini hem de alt ve üst limit değerlerinin %90 güven aralığını belirlemede önemlidir. Ancak oluşturulmuş her grubun içindeki alt grupların her biri için 120 sağlıklı gönüllüyü bir araya getirme zorunluluğu ve maliyet gerektirmesi direkt yöntemin en önemli dezavantajlarıdır.

İndirekt yöntem ise maliyet gerektirmemesi ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle laboratuvarlar tarafından kendi referans aralıklarını belirlemede tercih edilmektedir. Bu yöntemde laboratuvarında ölçümü yapılmış testlerin sonuçları sağlıklı ilişkili olarak "patolojik" ve "patolojik olmayan" şeklinde ayrıştırıldıktan sonra istatistiksel prosedürler uygulanarak indirekt referans aralık değerleri hesaplanır.

Bu çalışmada indirekt yöntemle klinik kimya testlerine ait referans aralık değerleri belirlendi. 01.01.2013 ile 31.12.2016 tarihleri arasında klinik biyokimya laboratuvarında çalışılan 5.812.170 adet klinik kimya testi sonucundan veri filtrasyonu işlemi sonucunda elde edilen 1.398.851 adet veri kullanıldı. Bu çalışmadaki en büyük dezavantajı seçilecek değerlerin çok sayıda anormal hasta sonuçlarının içinde karışık bir şekilde bulunması oluşturdu. Bu etkiyi en aza indirmek için çeşitli dışlama kriterleri kullanılarak sağlıklı bireylerin sonuçlarına ulaşılmaya çalışıldı.

Referans aralık konusu gelişen yeni testler ve ölçüm yöntemleri nedeniyle oldukça güncel bir konudur. Yıllar içinde çok aşama kaydedilmesine rağmen çalışmaların standardizasyonunda ve kullanılan yöntemler konusunda yeni çalışmalara gereksinim vardır. Örneğin bu çalışmada elde edilen sonuçları yapılan diğer çalışmalarla kıyasladığımızda her çalışmada kullanılan referans birey dâhil etme, uç değer atılımı, cinsiyet açısından alt gruplara ayırma ve referans aralık hesaplamada kullanılan istatistik yöntemlerin birbirinden farklı oluşu çalışmalar arası karşılaştırma yapmayı güçleştirmektedir.

İlk olarak Ferré-Masferrer ve ark. 1999 yılında yaptıkları çalışmada hasta verilerinin skewness (çarpıklık) ve kurtosis'e (sivrilik) bağlı aşırı karışık, geniş dağılım göstermediği takdirde, belirli kısıtlamalarla referans aralık değerlerinin belirlenmesinde kullanılabileceğini göstermişlerdir. 1995 yılı boyunca laboratuvarlarında tetkikleri yapılan hasta verileri kullanılarak indirekt metotla referans aralıkları hesaplamışlardır. Çalışmada yatan ve ayaktan hasta ayırımı yapılmamıştır ve hastaların sadece ilk sonuçları çalışmaya dâhil edilmiştir (22).

Grossi ve ark. 2005 yılında İtalya'da yaptıkları çalışmada 1997 - 1999 yılları arasındaki 3 yıllık dönemde laboratuvarlarına başvuran 197.350 hastanın 23 adet klinik kimya testinin referans aralıklarını indirekt yöntemle belirlemişlerdir. Fakat 3 yıllık dönemde sadece bir kez başvuranları çalışmaya dâhil ettiklerinden dolayı bu sayı 61.246'ya düşmüştür. Bu çalışmada da ayaktan ve yatan hasta ayırımı yapılmamıştır. 0-90 yaş arasındaki hastalara ait veriler kullanılmış ve alt gruplara ayırma yapılmamıştır (52).

Ülkemizde de bu tarz çalışmalar 2000 yılından itibaren yapılmaya başlanmıştır. Toprakçı tarafından 2000 yılında yapılan tez çalışmasında 13 klinik kimya testinin referans aralığı belirlenmiştir. Laboratuvara başvuran bireyler herhangi bir kritere göre sınıflandırma yapılmadan rastgele seçilmişlerdir. Veriler 3-20, 21-60, 61 ve üzeri olarak üç gruba bölünmüştür. Her grupta veri sayısı en az 53, en çok 775'dir (39).

Benzer bir çalışmayı Balcı' da yapmıştır. Çalışma gruplarını Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarına 01.06.2005 ile 30.09.2005 tarihleri arasında 3 aylık sürede ayaktan başvuran hastaların bulguları ile oluşturmuşlardır. Hasta seçimi yaparken aynı kişiye ait yinelenmiş ve patolojik sonuçları elimine etmek için yatan hastalar; ayrıca acil, hemodiyaliz, organ nakli, gebe polikliniği ve diyabet ünitesinde takip edilen hastaları çalışmaya dâhil edilmemiştir. 15805 veri ile çalışılmış, 3-12 yaş grubu için cinsiyet ayrımı yapılmamış, diğer yaş grupları ise kadın ve erkek olarak ayrılmıştır. Bu gruplar 13-24, 25-44, 45-64 ve 65 ve üstü olarak ayrılmış ve toplam 18 adet biyokimya testinin referans aralığı hesaplanmıştır (53).

Enli ise 2001 yılında "Denizli'de Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle Referans Aralıklarının Saptanması" adlı çalışmasında direkt ve indirekt metodu karşılaştırmış ve hastane verilerinin bazı özel şartlar yerine getirildiğinde referans aralıklarının belirlenmesinde kullanılabileceği yorumunu yapmıştır (20).

Ülkemizdeki en büyük çalışmayı 2006 yılında Özarda İlçöl ve Aslan Bursa ilinde 40 biyokimyasal parametrenin indirekt yöntemle referans aralığını hesaplayarak yapmışlardır. Yaş grubu olarak 18-45 yaş aralığını seçmişler, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında 2004-2005 yılları arasında başvuran hastalardan 148.453 kişinin sonuçlarını incelemişlerdir. Dışlama kriteri olarak onkoloji, endokrinoloji, hepatoloji ve nefroloji ünitelerine başvuran hastalar elimine edilmiştir. Ayrıca bir yıllık dönemde son altı ay içinde bir kez başvuran hastaları çalışmaya dâhil etmişlerdir (54).

2014 yılında Polat tarafından yapılan "Bazı biyokimyasal testlerin referans aralık belirleme çalışması" adlı tez çalışmasında Nisan 2011 ve Nisan 2012 tarihleri arasında poliklinikten müracaat etmiş ve herhangi bir sistematik hastalığı olmayan hastaların verileri alınarak indirekt referans aralık hesaplanmıştır. Çalışmada bir ay içinde aynı testi çalışılan birey hasta kabul edilerek dışlanmıştır (55).

Bu çalışmada ise 01.01.2013- 31.12.2016 yılları arasında Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında çalışılan klinik kimya test sonuçları kullanıldı. Ayaktan ve yatan hasta ayırımı yapılmadı. Acil servis, yoğun bakım üniteleri, nefroloji, endokrinoloji, gastroenteroloji ve onkoloji bölümlerine ait veriler değerlendirme dışı bırakıldı. Bir yıl içerisinde aynı testi bir defadan fazla çalışılan hastaların sadece ilk test sonuçları kullanılarak diğer sonuçlar dışlandı.

Görüldüğü gibi çalışmaların hepsinde hastane verileri kullanılmakla beraber ortak bir standardizasyon yoktur. Referans aralıklarını hesaplamada kullanılan yöntemlerin standardizasyonu yönünde birbirlerinden farkları ve üstünlükleri incelenerek çalışmalar yapılması yararlı olacaktır. Bu durumda farklı bölgelerde yapılan çalışmaların karşılaştırılmasının daha sağlıklı ve faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Tablo-11'de bu çalışmada elde edilen referans aralık değerleri ile üretici firmanın sunduğu referans aralık değerleri bir arada gösterilmiştir.

**Tablo-11.** Bu çalışmada elde edilen referans aralıklar ile üreticinin sunduğu referans aralıkların karşılaştırılması

Test Adı	Cinsiyet	Elde edilen RA	Firma Referans Aralıkları
Albümin (g/dL)	K+E	3,6 - 5	3,5 - 5,2
ALP (U/L)	K+E	22,4 - 167,7	30 - 120
ALT (U/L)	K	1,4 - 44,1	0 - 35
	E	6,7 - 55,5	0 - 50
Amilaz (U/L)	K+E	24,5 - 126	28 - 100
AST (U/L)	K		0 - 35
	E		0 - 50
	K+E	2,5 - 52,9	
BUN (mg/dL)	K	4,7 - 23	
	E	6,5 - 26,6	
	K+E		7,9 - 20
CK (U/L)	K	1,8 - 181,2	0 - 146
	E	6,3 - 189,4	0 - 172
D.Bil (mg/dL)	K+E	0 - 0,3	0 - 0,2
T.Demir (mg/dL)	K	14,7 - 153,5	60 - 180
	E	32,5 - 171,6	70 - 180
PO <sub>4</sub> (mg/dL)	K+E	2,6 - 4,7	2,5 - 4,5
GGT (U/L)	K	5,2 - 41	0 - 38
	E	3,5 - 58,6	0 - 55
Glukoz (mg/dL)	K+E	65,5 - 106,5	74 - 106
HDL-K (mg/dL)	K	30,9 - 72,2	
	E	26,4 - 63,3	
	K+E		**
Klor (mEq/L)	K+E	98,6 - 108,7	101 - 109
T.Kalsiyum (mg/dL)	K+E	8,8 - 10,3	8,8 - 10,6
T.Kolesterol (mg/dL)	K+E	100,7 - 253,7	<200*
Kreatinin (mg/dL)	K	0,32 - 1,03	0,51 - 0,95
	E	0,52 - 1,27	0,67 - 1,17
LDH (U/L)	K+E	106,1 - 296,9	0 - 248
LDL-K (mg/dL)	K+E	80 - 177,5	<100*
Magnezyum (mg/dL)	K		1,9 - 2,5
	E		1,8 - 2,6
	K+E	1,6 - 2,4	
Potasyum (mEq/L)	K+E	3,8 - 4,9	3,5 - 5,1
Sodyum (mEq/L)	K+E	134,6 - 142,3	136 - 146
T.Bil (mg/dL)	K+E	0,14 - 1,3	0,3 - 1,2
Trigliserit (mg/dL)	K+E	76,1 - 282	<150*
T.Protein (g/dL)	K+E	6,2 - 8,7	6,6 - 8,3
Ürik Asit (mg/dL)	K	2,2 - 6,6	2,6 - 6
	E	2,9 - 8,3	3,5 - 7,2

\*National Cholesterol Education Program (NCEP) tarafından önerilen karar sınırlarıdır.

\*\*NCEP önerisi < 40 mg/dl düşük HDL-K , ≥ 60 mg/dl yüksek HDL-K



Tablo-11 incelendiğinde Albümin, D.Bil, PO<sub>4</sub>, T.Kalsiyum ve Sodyum parametrelerinin alt limitleri üretici firma ile uyumlu bulundu. Potasyum parametresinin alt limiti üretici firmadan yüksek bulundu. ALP, BUN, T.Demir, Glukoz, HDL-K, Kreatinin, Magnezyum, T.Bil, T.Protein, Ürik asit ve Amilaz parametrelerinin alt limiti üretici firmaya göre düşük bulundu. Albümin, AST (Erkek), GGT, Glukoz, HDL-K ( Erkek ), Klor, T.Bil, Magnezyum, T.Demir (Erkek) ve PO<sub>4</sub> parametrelerinin üst limitlerinin üretici firma ile uyumlu olduğu gözlendi. T.Demir (Kadın), Magnezyum, Potasyum ve Sodyum parametrelerinin üst limitleri üretici firmadan düşük bulundu. ALP, ALT, Amilaz, AST (Kadın), BUN, CK, D.Bil, T.kolesterol, Kreatinin, LDH, LDL-K, Trigliserit, T.Protein ve Ürik asit parametrelerinin üst limitleri üretici firmaya göre yüksek bulundu.

Elde edilen bu sonuçlar üretici firma tarafından sunulan referans aralık değerlerinin toplumumuzu tam olarak yansıtmadığını göstermektedir. Üretici firmanın referans aralık çalışmaları ülkemiz dışında farklı toplumlarda yapılmış olup çalışmamızla farklılıkların sebebinin büyük ölçüde ırk, sosyoekonomik düzey, beslenme şartları ve yaşanılan bölgenin konumu ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

Ülkemizde bu konuda yapılan fazla bir çalışma yoktur. Bölgesel farklılıkların analitler üzerine etkisinin incelenmesi için referans aralık konusunda daha çok çalışmalar yapılması gerektiğine inanıyoruz.

Tablo-12’de bu çalışmada elde edilen referans aralık değerleri ile laboratuvarımızda 2012 yılında Ağaç tarafından yapılan direkt referans aralık çalışmasından elde edilen referans aralık değerleri bir arada sunulmuştur.

**Tablo-12.** Bu çalışmada elde edilen referans aralıklar ile laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasının karşılaştırılması

Test Adı	Cinsiyet	Elde edilen RA	Ağaç (56)
Albümin (g/dL)	K+E	3,6 - 5	3,9 - 4,9
ALP (U/L)	K+E	22,4 - 167,7	33 - 96
Amilaz (U/L)	K+E	24,5 - 126	29 - 112
D.Bil (mg/dL)	K+E	0 - 0,3	0,05 - 0,2
PO <sub>4</sub> (mg/dL)	K+E	2,57 - 4,71	2,61 - 4,35
Glukoz (mg/dL)	K+E	65,5 - 106,5	78 - 105
Klor (mmol/L)	K+E	98,6 - 108,7	100 - 107
T.Kalsiyum (mg/dL)	K+E	8,8 - 10,3	9,01 - 10,3
LDH (U/L)	K+E	106,1 - 296,9	125 - 229
Magnezyum (mg/dL)	K+E	1,6 - 2,4	1,73 - 2,23
Potasyum (mmol/L)	K+E	3,8 - 4,9	3,9 - 5,1
Sodyum (mmol/L)	K+E	134,6 - 142,3	136 - 142
T.Bil (mg/dL)	K+E	0,14 - 1,3	0,3 - 1,2
T.Protein (g/dL)	K+E	6,2 - 8,7	6,7 - 7,97
AST (U/L)	K		12 - 25,4
	E		12 - 37
	K+E	2,5 - 52,9	
BUN (mg/dL)	K	4,7 - 23	
	E	6,5 - 26,6	
	K+E		6,4 - 18,6
T.Kolesterol (mg/dL)	K		107 - 253
	E		112 - 236
	K+E	100,7 - 253,7	
LDL-K (mg/dL)	K		66 - 197
	E		79 - 181
	K+E	80 - 177,5	
Trigliserit (mg/dL)	K		18 - 137
	E		14 - 187
	K+E	76,1 - 282	

**Tablo-12.** Bu çalışmada elde edilen referans aralıklar ile laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasının karşılaştırılması ( Devamı )

Test Adı	Cinsiyet	Elde edilen RA	Ağaç (56)
ALT (U/L)	K	1,4 - 44,1	3,8 - 23
	E	6,7 - 55,5	4 - 42
T.Demir (mg/dL)	K	14,7 - 153,5	17 - 115
	E	32,5 - 171,6	34 - 152
GGT (U/L)	K	5,2 - 41	3 - 24
	E	3,5 - 58,6	3,4 - 41
HDL-K (mg/dL)	K	30,9 - 72,2	27 - 67
	E	26,4 - 63,3	24 - 56
Kreatinin (mg/dL)	K	0,32 - 1,03	0,45 - 0,7
	E	0,52 - 1,27	0,55 - 1,06
Ürik Asit (mg/dL)	K	2,23 - 6,58	2,39 - 5,3
	E	2,9 - 8,3	3,57 - 7,22

Tablo-12 incelendiğinde Klor, T.Kalsiyum, Sodyum ve LDL-K (Erkek) parametrelerinin alt ve üst limitleri direkt referans aralık çalışması ile uyumlu bulundu. Alt limitler incelendiğinde PO<sub>4</sub>, Potasyum, BUN (Erkek), T.Demir (Erkek), GGT (Erkek) ve Kreatinin (Erkek) parametreleri uyumlu bulundu. Albümin, ALP, Amilaz, Glukoz, LDH, Magnezyum, T.Bil, T.Protein, AST, BUN (Kadın), T.Kolesterol, ALT (Kadın), T.Demir (Kadın), Kreatinin (Kadın) ve Ürik asit parametrelerinin alt limitleri direkt referans aralık çalışmasına göre düşük bulundu. Diğer parametrelerin alt limitleri ise daha yüksek bulundu. Üst limitler incelendiğinde ise Albümin, Glukoz, T.Bil, T.Kolesterol (Kadın) parametrelerinin birbiri ile uyumlu olduğu gözlemlendi. LDL-K üst limiti direkt referans aralık çalışmasına göre daha düşük bulunurken diğer parametrelerin üst limitleri daha yüksek bulundu.

Bu çalışma ile 2012 yılında yapılan direkt referans aralık çalışması arasında cihaz ve yöntem farkı bulunmamaktadır. Genel olarak bakıldığında birkaç parametre dışında (ALP, Trigliserit, LDH, AST ve Ürik asit) direkt referans aralık çalışması ile uyumlu referans aralıklar elde edildi. Direkt referans aralık çalışmasında referans bireylerin beslenme alışkanlıkları, açlık tokluk durumları, sigara içme alışkanlıkları, vücut kitle indeksi gibi değişkenlerinin kontrol edilebilmesi aradaki farkın nedeni olabilir. Özellikle Trigliserit

parametresindeki farkın, çalışmamızda verileri kullanılan bireylerin açlık tokluk durumlarının tespit edilememesine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Direkt referans aralık çalışmasında gönüllülerden 10-12 saatlik açlık sonrası kan alınmıştır. Bu çalışmada ise ayaktan ve yatan hasta ayrımı yapılmadığı için özellikle yatan hastaların verilerinin Trigliserit sonuçlarında yüksekliğe sebep olabileceğini düşünmekteyiz. Ülkemizde ve yurt dışında yapılan diğer indirekt referans aralık çalışmalarında, çalışmamızda elde edilen referans değere yakın değerlerin elde edilmiş olması bu görüşümüzü desteklemektedir.

Maliyet gerektirmemesi, kolay uygulanabilir olması ve literatür ile uyumlu değerlerin elde edilmiş olması nedeniyle belirli koşullar sağlandığında referans aralıkların direkt yonteme alternatif olarak indirekt yontemle belirlenebileceğini düşünmekteyiz.

Tablo-13' de bu çalışma ile diğer indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen ALT, AST ve GGT parametrelerine ait referans aralık değerleri birlikte sunulmuştur.

**Tablo-13.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen ALT, AST ve GGT referans aralıklarının karşılaştırılması

	ALT (U/L)		AST(U/L)			GGT (U/L)	
	K	E	K	E	K+E	K	E
<b>Elde edilen RA</b>	1,4 - 44,1	6,7 - 55,5			2,5 - 52,9	5,2 - 41	3,5 - 58,6
<b>Polat (55)</b>	4,6 - 25,9	5,1 - 28,4			9,8 - 28,5	<35,5	7,8 - 37,8
<b>Özarda İlçöl ve Aslan (54)*</b>	3 - 32,4	5,9 - 40,8	5,9 - 36	10,6 - 37,2		4,8 - 34,2	6,6 - 51
<b>Grossi ve ark.(52)*</b>	1 - 30	1 - 49	1 - 26	1 - 30,1		1 - 34	1 - 54
<b>Lykkeboe ve ark.(57)*</b>	10 - 43	13 - 69				8 - 48	11 - 50
<b>Balcı (53)**</b>	3 - 28	7 - 34	12 - 29	10 - 32		6 - 39	6 - 44

\*Makaledeki veriler birim dönüşümü yapılarak alınmıştır.

\*\*Çalışmadaki 25-44 yaş verileri alınmıştır.

Tablo-13 incelendiğinde ALT için üst referans aralık limiti olarak belirlenen değer, üretici firma, Polat, Özarda İlçöl ve Aslan, Balcı, Grossi ve ark.'nın çalışmalarına göre daha yüksek bulundu. Lykkeboe ve ark. tarafından Danimarka'da yapılan indirekt referans aralık çalışmasında elde edilen referans aralık üst limitinin ise kadınlarda çalışmamızla uyumluken erkeklerde çalışmamızdan daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Üretici firma tarafından AST için erkek ve kadınlarda ayrı referans aralık belirtilmesine rağmen bu çalışmada erkek ve kadın arasında anlamlı bir fark saptanamadı. Üretici firmanın erkekler için belirlediği üst referans aralık limiti çalışmamızla uyumluken kadınlar için belirlediği üst referans aralık limitinin çalışmamızdan daha düşük olduğu gözlemlendi. Tablo-13'de sunulan ulusal ve yurtdışı çalışmalarda ise bu çalışmada elde edilen referans aralık üst limiti değerinden daha düşük değerlerin elde edildiği gözlemlendi.

GGT parametresi için elde edilen referans aralık üst limit değerleri üretici firma referans aralık değerleri ile uyumlu bulundu. Tablo-13 İncelendiğinde kadınlar için belirlenen referans aralık değeri Balcı'nın çalışmasıyla uyumlu bulundu. Diğer ulusal ve yurt dışı çalışmalarda ise daha düşük referans aralık değerlerinin elde edildiği gözlemlendi.

ALT, AST, GGT için hesaplanan referans aralık değerleri laboratuvarımızda Ağaç tarafından yapılan direkt referans aralık çalışmasına göre belirgin şekilde yüksek bulundu. Alkol ve sigara kullanımı, ilaç kullanımı, beslenme alışkanlıkları, obezite gibi bu parametrelerin düzeyini etkileyebilecek değişkenlerin kontrol edilememesi ve bir dışlama kriteri olarak kullanılamaması bu duruma neden olmuş olabilir. Çünkü alkol, penisilin, salisilat, fenitoin, fenobarbital gibi ilaçlar bu testlerin değerlerini hafif orta derecede arttırmaktadır.

Özarda ve ark. tarafından ülkemizde yapılan çok merkezli direkt referans aralık çalışmasında ALT parametresinde erkekler için elde edilen üst referans aralık limiti (9 – 57 U/L) çalışmamızla uyumlu bulunurken, kadınlarda elde edilen referans aralık üst limitinin çalışmamıza göre düşük olduğu gözlemlendi (7 – 28 U/L). AST için elde edilen referans aralık üst limiti değerlerinin ise çalışmamıza göre düşük olduğu gözlemlendi (E: 13 – 30 U/L , K: 11-25 U/L). GGT parametresinde erkekler için elde edilen referans aralık üst limiti çalışmamıza göre yüksek bulunurken (11 – 70 U/L), kadınlar için elde edilen referans aralık üst limiti çalışmamıza göre düşük bulundu (7 – 33 U/L) (13).

Tablo-14' te bu çalışma ile diğer indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen ALP, LDH, CK ve Amilaz parametrelerine ait referans aralık değerleri birlikte sunulmuştur.

**Tablo-14.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen ALP, LDH, CK ve Amilaz referans aralıklarının karşılaştırılması

	ALP (U/L)			Amilaz (U/L)	CK (U/L)		LDH (U/L)
	K	E	K+E	K+E	K	E	K+E
<b>Elde edilen RA</b>			22,4 - 167,7	24,5 - 126	1,8 - 181,2	6,3 - 189,4	106,1 - 296,9
<b>Polat (55)</b>			35,6 - 120,2	20 - 117,5	16,9 - 146,7	21,7 - 173	138,8 - 260,8
<b>Özarda İlçöl ve Aslan (54)*</b>	54,6 - 142,8	57 - 145,8		20,7 - 111	16,8 - 255	21 - 276	142,8 - 268,8
<b>Grossi ve ark.(52)*</b>	65 - 284	80 - 271			35 - 147	33 - 234	94 - 422
<b>Lykkeboe ve ark.(57)*</b>			36 - 114	13 - 53	32 - 247	45 - 507	132 - 242
<b>Balcı (53)**</b>	84 - 259	89 - 282			18 - 99	25 - 177	

\*Makaledeki veriler birim dönüşümü yapılarak alınmıştır.

\*\*Çalışmadaki 25-44 yaş verileri alınmıştır.

ALP için elde edilen referans aralık değeri üretici firma tarafından sunulan değerden farklılık gösterdi. Tablo-14 incelendiğinde ulusal ve yurt dışı tüm çalışmalarda elde edilen referans aralık değerlerinin birbirinden farklı oluşu dikkat çekmektedir. Bu durum ALP için anlamlı bölgesel farklılığın olduğunu düşündürmektedir ve her laboratuvar kendi toplumuna ait referans aralık değerlerini belirlemelidir görüşünü desteklemektedir. Laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışması ile karşılaştırdığımızda elde edilen referans aralık üst limitinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bilindiği gibi gebelerde plasenta ALP'si nedeniyle ALP değerlerinde fizyolojik yükseklik görülmektedir. Bu çalışmada gebeliğin dışlama kriteri olarak kullanılmaması bu durumun bir sebebi olabilir.

Amilaz için elde edilen referans aralık üretici firma tarafından sunulan değerden farklılık gösterdi. Laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasına göre elde

ettiğimiz referans aralık üst limitinin yüksek olduğu gözlemlendi. Tablo-14 incelendiğinde ulusal ve yurt dışı çalışmalarda elde edilen referans aralık değerlerinin çalışmamıza göre düşük olduğu görülmektedir. Alkol kullanımının amilaz değerlerini arttırdığı bilinmektedir. Alkol kullanımının indirekt referans aralık çalışmalarda dışlanamaması bu durumun bir sebebi olabilir.

CK için elde edilen referans aralık değeri üretici firma ve literatür verilerine benzer şekilde erkeklerde kadınlardan daha yüksek bulundu. Üretici firma tarafından sunulan referans aralık değerlerine göre daha yüksek bir değer hesaplandı. Tablo-14 incelendiğinde ülkemizde Özarda İlçöl ve Aslan'ın çalışması ve Danimarka'da Lykkeboe ve ark. tarafından yapılan çalışmada elde edilen referans aralık değerlerinin çalışmamızdan yüksek bulunduğu gözlemlendi. Ülkemizde Polat ve Balcı'nın çalışmaları, İtalya'da Grossi ve ark. çalışmasında elde edilen referans aralık üst limiti değerlerinin ise çalışmamıza göre daha düşük olduğu gözlemlendi. Laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasında CK referans aralık değeri hesaplanmamıştır. Dolayısıyla CK parametresi için laboratuvarımıza ait referans aralık değeri bu çalışmada ilk defa hesaplandı.

LDH için elde edilen referans aralık değeri üretici firma tarafından sunulan referans aralık değerine göre ve laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasına göre yüksek bulundu. Bu durumun bir sebebi olarak hemoliz gösterilebilir. Çünkü eritrositler serum ve plazmadan 150 kat daha fazla LDH aktivitesi içermektedir. Dolayısıyla hemolizli bir örnekte LDH düzeyi yanlış yüksek ölçülebilmektedir. Direkt referans aralık çalışmasında hemolizli örnekler dışlanırken, bu çalışma indirekt referans aralık çalışması olduğu için hemolizli bir dışlama kriteri olarak kullanılamamıştır. Tablo-14 incelendiğinde ulusal ve yurt dışı indirekt referans aralık çalışmalarında elde edilen referans aralık değerlerinin çalışmamızdan ve birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Preanalitik faktörler (hemoliz vs.), cihaz ve yöntem farklılıkları, çalışmalarda kullanılan dâhil etme kriterlerinin birbirinden farklı oluşu gibi etkenler bu durumun sebebi olabilir.

Tablo-15' de bu çalışma ile diğer indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen T.Bil, D.Bil ve T.Demir parametrelerine ait referans aralık değerleri birlikte sunulmuştur.



**Tablo-15.** Çalışmamız ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen T.Bil, D.Bil ve T.Demir referans aralıklarının karşılaştırılması

	T.Bil (mg/dL)			D.Bil (mg/dL)			T.Demir (mg/dL)	
	K	E	K+E	K	E	K+E	K	E
<b>Elde edilen RA</b>			0,14 - 1,3			<0,3	14,7 - 153,5	32,5 - 171,6
<b>Polat (55)</b>			<0,99			<0,33	10,9 - 131,7	15,4 - 150,9
<b>Özarda İlçöl, Aslan (54)*</b>			0,35 - 1,1			0,05 - 0,48	23 - 165,2	23,5 - 176,4
<b>Grossi ve ark. (52)*</b>	0,2 - 1,1	0,3 - 1,3		0,04 - 0,27	0,05 - 0,29		34 - 159,6	43,1 - 162,4
<b>Balcı (53)**</b>	0,13 - 0,79	0,15 - 1,1					10 - 93	27 - 173

\*Makaledeki veriler birim dönüşümü yapılarak alınmıştır.

\*\*Çalışmadaki 25-44 yaş verileri alınmıştır.

T.Bil için elde edilen referans aralık alt limiti üretici firma tarafından sunulan değerden ve laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasında elde edilen değerden düşük bulundu. Referans aralık üst limiti ise her ikisiyle de uyumlu bulundu. Tablo-15 incelendiğinde elde edilen referans aralık alt limiti İstanbul ilinde Balcı tarafından yapılan çalışma ile uyumlu bulundu. Referans aralık üst limiti ise Grossi ve ark. çalışmasında erkekler için elde ettiği değerle uyumlu bulundu.

D.bil için elde edilen referans aralık değeri üretici firma tarafından sunulan değerden ve laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasında elde edilen değerden daha yüksek bulundu. Tablo-15 incelendiğinde elde edilen referans aralık değerinin ülkemizde Polat tarafından yapılan çalışma ile ve İtalya’da Grossi ve ark. tarafından yapılan çalışma ile uyumlu olduğunu gözlemlendi. Bursa ilinde Özarda İlçöl ve Aslan tarafından yapılan çalışmada ise bu çalışmada elde edilen değerden daha yüksek bir sonuç bulunduğu gözlemlendi.

T.Demir için elde edilen referans aralık değeri üretici firma tarafından sunulan değerden düşük bulundu. Laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasından elde edilen referans aralık alt limiti çalışmamızla uyumluysen, üst limitin daha düşük olduğu gözlemlendi. Bu durum bölgemizde demir eksikliğinin yaygın olduğunu ve bir toplum sağlığı sorunu olduğunu düşündürmektedir. Ancak Tablo-15’de sunulan, ülkemizde Erzurum, Bursa ve İstanbul illerinde yapılan çalışmalarda çalışmamıza benzer veya daha düşük değerlerin bulunması dikkat çekicidir. Üretici firmanın sunduğu bu değerler ülkemiz dışında farklı toplumlarda yapılan çalışmalardan elde edildiğini ve büyük ölçüde ırk, sosyoekonomik düzey, beslenme şartları ve yaşanan bölgenin konumu ile ilgili farklılıklar gösterdiğini ve toplumumuzu yansıtmadığını düşünmekteyiz. Tablo-16’ da bu çalışma ile diğer indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen BUN, Kreatinin ve Ürik asit parametrelerine ait referans aralık değerleri birlikte sunulmuştur.

**Tablo-16.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen BUN, Kreatinin ve Ürik asit referans aralıklarının karşılaştırılması

	BUN (mg/dL)		Kreatinin (mg/dL)		ÜrikAsit (mg/dL)	
	K	E	K	E	K	E
<b>Elde edilen RA</b>	4,7 - 23	6,5 - 26,6	0,32 - 1,03	0,52 - 1,27	2,2 - 6,6	2,9 - 8,3
<b>Polat (55)</b>	2,2 - 9,9**	3,6 - 10**	0,4 - 0,92	0,55 - 1,17	1,5 - 7,5	2,5 - 8,3
<b>Enli Y ve ark.(20)</b>	6 - 24	6 - 24	0,7 - 1,4	0,7 - 1,6	2,3 - 6,8	3 - 8,3
<b>Özarda İlçöl, Aslan (54)*</b>	6,5 - 18,2	7,9 - 20,6	0,59 - 1,03	0,67 - 1,36	1,9 - 5,6	2,7 - 7,7
<b>Grossi ve ark.(52)*</b>	3,7 - 11,5**	4,9 - 11,9**	0,63 - 1,04	0,8 - 1,25	2,4 - 6,1	3,6 - 7,7
<b>Lykkeboe ve ark.(57)*</b>			0,52 - 0,95	0,69 - 1,17	2,4 - 6,1	3,9 - 8,7
<b>Balcı (53)***</b>	4,2 - 18,2**	6 - 21,5**	0,4 - 0,85	0,6 - 1,13	1,8 - 5,9	2,6 - 7,5

\*Makaledeki veriler birim dönüşümü yapılarak alınmıştır.

\*\*BUN değerini elde etmek için çalışmadaki Üre değeri 2.14’e bölünerek alınmıştır.

\*\*\*Çalışmadaki 25-44 yaş verileri alınmıştır.

BUN parametresi için üretici firma kadın, erkek ayrımı yapmadan tek referans aralık belirtse de bu çalışmada kadın ve erkek arasında anlamlı fark saptandı. Üretici firma ile karşılaştırıldığında her iki cinsiyet için alt limitler daha düşük üst limitler daha yüksek tespit edildi. Tablo-16 incelendiğinde Denizli ilinde Enli Y ve ark. tarafından yapılan indirekt referans aralık çalışmasında elde edilen referans aralık değerleri çalışmamızla uyumlu bulunurken diğer çalışmalarda elde edilen değerlerin çalışmamıza göre daha düşük olduğu gözlemlendi.

Ürik asit için elde edilen referans aralık değerleri üretici firma referans aralık değerlerinden farklı bulundu. Alt referans aralık değerleri incelendiğinde kadınlarda Enli Y ve ark., Grossi ve ark., Lykkeboe ve ark. çalışmaları, erkeklerde ise Enli Y ve ark. ile Özarda İlçöl ve Aslan'ın çalışmalarında elde ettiği değerler çalışmamızla uyumlu bulundu. Üst referans limitleri incelendiğinde kadınlarda Enli Y ve ark. çalışmasında elde ettiği değer çalışmamızla uyumlu bulunurken, erkeklerde Polat ve Enli Y ve ark. çalışmalarında bizimle aynı değeri buldukları gözlemlendi.

Kreatinin alt referans aralık değerleri incelendiğinde kadın ve erkekte elde edilen değerlerin Tablo-16'da sunulan çalışmalar ve üretici firma tarafından sunulan değerlere göre düşük olduğu görüldü. Ağaç tarafından laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışması ile erkeklerde uyumlu değer bulundu. Üst referans aralık değeri incelendiğinde ise kadınlarda Özarda İlçöl ve Aslan, Grossi ve ark. , erkeklerde Grossi ve ark. çalışmalarında elde ettiği değerler çalışmamız ile uyumlu bulundu. Özellikle Kreatinin değerlerinde ortaya çıkan bu farklılığın ölçüm yönteminin standardizasyonundaki güçlüklerden kaynaklanabileceğini düşünüyoruz. Referans aralık değerleri hesaplanan popülasyonun spor yapma alışkanlığı, kas kitlesi, beslenme alışkanlıkları gibi değişkenlerin BUN, Kreatinin ve Ürik asit sonuçlarında farklılıklara neden olduğunu düşünmekteyiz.

Tablo-17'de bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen Glukoz, Albümin ve T.Protein referans aralık değerleri birlikte sunulmuştur.

**Tablo-17.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen Glukoz, Albümin ve T.Protein referans aralıklarının karşılaştırılması

	Glukoz (mg/dL)			Albümin (g/dL)			T.Protein (g/dL)
	K	E	K+E	K	E	K+E	K+E
<b>Elde edilen RA</b>			65,5 - 106,5			3,6 - 5	6,2 - 8,7
<b>Polat (55)</b>			65,5 - 107,8			3,3 - 5,9	6,3 - 8,4
<b>Enli Y ve ark.(20)</b>			74 - 120				
<b>Özarda İlçöl, Aslan (54)*</b>			72,9 - 109,8			3,8 - 5,5	6,8 - 8,7
<b>Grossi ve ark.(52)*</b>	72,9 - 105,8	76,9 - 111,8		4 - 5,5	4,3 - 5,6		6,6 - 8,4
<b>Lykkeboe ve ark.(57)*</b>			77,4 - 127,8			3,4 - 4,5	
<b>Balcı (53)**</b>	66 - 107	64 - 108		3,4 - 5	3,4 - 5		

\*Makaledeki veriler birim dönüşümü yapılarak alınmıştır.

\*\*Çalışmadaki 25-44 yaş verileri alınmıştır.

Glukoz için elde edilen referans aralık üst limiti üretici firma ve Ağaç tarafından laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışması ile uyumlu bulunurken referans aralık alt limiti ikisine göre de düşük bulundu. Tablo-17 incelendiğinde Erzurum ilinde Polat tarafından yapılan ve İstanbul ilinde Balcı tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen değerlerin çalışmamızla uyumlu bulunduğu gözlemlendi. Enli Y ve ark., Özarda İlçöl ve Aslan, Grossi ve ark. , Lykkeboe ve ark. tarafından yapılan indirekt referans aralık çalışmalarında ise elde edilen değerlerin çalışmamıza göre yüksek olduğu gözlemlendi. Laboratuvar verileri kullanılarak yapılan bu çalışmalar arasındaki fark; referans birey dâhil etme kriterlerinde ki farklılıktan, çalışmaya dahil edilen bireylerin beslenme alışkanlıkları, ırk ve sosyoekonomik düzey gibi farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Bilindiği gibi literatürde Glukoz için üst limit değeri 100 mg/dL olarak belirtilmiş ve bu değer üzerinde sonuçlarda oral glukoz

testi yapılması önerilmiştir. Ancak hem bu çalışmada hem de diğer bölgelerde ki referans aralık çalışmalarında daha yüksek sonuçların elde edildiği görülmektedir. Bu bulgulara göre glukoz için literatürde önerilen karar sınır değerinin yeniden değerlendirilmesi kanaatindeyiz.

Albümin için elde edilen referans aralık değeri üretici firmanın sunduğu referans aralık değeri ile uyumlu bulundu. Elde edilen üst referans aralık değeri Ağaç tarafından laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışması ile uyumlu bulunurken alt referans aralık değeri çalışmamızda daha düşük hesaplandı. Tablo-17 incelendiğinde Balcı tarafından yapılan çalışmada elde edilen verilerin çalışmamızla uyumlu olduğu görüldü. Diğer çalışmalarla bu çalışmada elde edilen değer arasında fark gözlemlendi.

T.Protein için elde edilen referans aralık değeri alt limiti firma referans aralık alt limitine göre düşük bulunurken, referans aralık üst limiti daha yüksek bulunmuştur. Tablo-17 incelendiğinde elde edilen referans aralık alt limiti Erzurum ilinde Polat tarafından yapılan çalışma ile uyumlu bulunurken, üst limit Bursa ilinde Özarda İlçöl ve Aslan tarafından yapılan çalışma ile uyumlu bulunmuştur.

Ülkemizde Erzurum ilinde Polat ve Bursa ilinde Özarda İlçöl ve Aslan tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen Albümin referans aralık değerlerinin hem bu çalışmaya göre hem de laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasına göre yüksek bulunması ‘bölgemizde proteinden fakir diyet ile mi besleniliyor?’ sorusunu akla getirmektedir. Ancak protein referans aralık değerlerine bakıldığında benzer bir durum görülmemektedir.

Tablo-18’ de bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen Sodyum, Potasyum ve Klor referans aralık değerleri bir arada sunulmuştur.

**Tablo-18.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen Sodyum, Potasyum ve Klor referans aralıklarının karşılaştırılması

	Sodyum (mEq/L)	Potasyum (mEq/L)	Klor (mEq/L)
	K+E	K+E	K+E
<b>Elde edilen RA</b>	134,6 - 142,3	3,8 - 4,9	98,6 - 108,7
<b>Polat (55)</b>	134,8 - 145,7	3,5 - 5,1	98,3 - 111,6
<b>Özarda İlçöl, Aslan (54)*</b>	136 - 149	3,6 - 5,1	98 - 110
<b>Grossi ve ark.(52)*</b>	136 - 144	K: 3,8 - 5,1 E: 3,9 - 5,2	K: 98,4 - 109 E: 98,1 - 108
<b>Lykkeboe ve ark.(57)*</b>	137 - 145	3,5 - 4,6	

\*Makaledeki veriler birim dönüşümü yapılarak alınmıştır.

Sodyum için elde edilen referans aralık alt limiti üretici firma ile uyumlu bulunurken, referans aralık üst limiti üretici firmaya göre düşük bulundu. Laboratuvarımızda Ağaç tarafından yapılan direkt referans aralık çalışması ile uyumlu sonuçlar elde edildi. Tablo-18 incelendiğinde elde edilen referans aralık alt limiti Polat, Özarda İlçöl ve Aslan, Grossi ve ark. çalışmalarında elde ettikleri değerlerle uyumlu bulundu. Referans aralık üst limiti ise Grossi ve ark. çalışması ile uyumlu bulundu.

Potasyum için elde edilen referans aralık üst limiti üretici firma ile uyumlu bulunurken, referans aralık alt limiti üretici firmaya göre yüksek bulundu. Laboratuvarımızda Ağaç tarafından yapılan direkt referans aralık çalışması ile uyumlu sonuçlar elde edildi. Tablo-18 incelendiğinde elde edilen referans aralık alt limiti Grossi ve ark. çalışması ile uyumlu bulunurken, referans aralık üst limiti Polat, Özarda İlçöl ve Aslan'ın çalışmaları ile uyumlu bulundu.

Klor için elde edilen referans aralık değeri üretici firma referans değeri ve laboratuvarımızda Ağaç tarafından yapılan direkt referans aralık çalışmasında elde edilen referans aralık değeri ile uyumlu bulundu. Tablo-18 incelendiğinde elde edilen referans aralık değerinin diğer çalışmalarla uyumlu olduğu gözlemlendi.

Sodyum, Potasyum ve Klor için elde edilen referans aralık değerleri laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışması ile uyumlu bulundu. Bu durum elektrolit testlerinin referans aralık çalışmalarında indirekt yöntemin iyi bir alternatif olduğunu gösterdi. Ülkemizde Erzurum ilinde Polat tarafından yapılan çalışmada ve Bursa ilinde Özarda İlçöl ve Aslan tarafından yapılan çalışmada Sodyum referans aralık üst limitinin, hem bu çalışmaya göre hem de direkt referans aralık çalışmasına göre yüksek bulunması bölgemizde Sodyum değerlerinin diğer bölgelere göre daha düşük olduğunu düşündürmektedir. Ancak Özarda ve ark. tarafından ülkemizde yapılan çok merkezli direkt referans aralık çalışmasında elde edilen Sodyum referans aralık değerleri çalışmamızla benzer bulundu (E: 137 – 144 mEq/L , K: 136 – 144 mEq/L). Özarda ve ark. tarafından yapılan çalışmada elde edilen Potasyum (3.7 – 4.9 mEq/L) ve Klor (E: 98 – 106 mEq/L , K: 99 – 107 mEq/L) referans aralık değerleri de çalışmamızla uyumlu bulundu (13).

Tablo-19' da bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen PO<sub>4</sub>, T.Kalsiyum ve Magnezyum referans aralık değerleri bir arada sunulmuştur.

**Tablo-19.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen PO<sub>4</sub>, T.Kalsiyum ve Magnezyum referans aralıklarının karşılaştırılması

	PO <sub>4</sub> (mg/dL)	T.Kalsiyum (mg/dL)		Magnezyum (mg/dL)
	K+E	K	E	K+E
<b>Elde edilen RA</b>	2,6 - 4,7			8,8 - 10,3
<b>Polat (55)</b>	2,1 - 4,7			8,2 - 10,8
<b>Özarda İlçöl, Aslan (54)*</b>	2,3 - 5			8,5 - 10,4
<b>Grossi ve ark.(52)*</b>		8,6 - 10,4	8,8 - 10,4	
<b>Lykkeboe ve ark.(57)*</b>				8,9 - 10,2
<b>Balcı (53)**</b>		9,2 - 10,8	8,5 - 10,7	

\*Makaledeki veriler birim dönüşümü yapılarak alınmıştır.

\*\*Çalışmadaki 25-44 yaş verileri alınmıştır.

PO<sub>4</sub> için elde edilen referans aralık değeri üretici firma referans aralık değeri ile uyumlu bulundu. Laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışması ile karşılaştırıldığında alt limit uyumluyken üst limit daha yüksek bulundu. Erzurum ilinde Polat tarafından yapılan çalışmada referans aralık üst limiti çalışmamız ile aynı bulunurken alt limitin daha düşük olduğu gözlemlendi. Özarda İlçöl ve Aslan tarafından Bursa ilinde yapılan çalışmada elde edilen değerlerin çalışmamızdan farklı olduğu gözlemlendi. Bu durum bölgesel farklılıklardan veya yöntem farklılığından kaynaklanabilir.

T.Kalsiyum için elde edilen referans aralık alt limiti üretici firma değeriyle uyumluyken üst limiti daha düşük bulundu. Laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışması ile karşılaştırıldığında değerler uyumlu bulundu. Tablo-19 incelendiğinde İtalya'da yapılan Grossi ve ark. çalışması ile Danimarka'da yapılan Lyykeboe ve ark. çalışması sonucu elde edilen referans aralıklar çalışmamızla uyumlu bulundu. Ülkemizde Bursa ilinde Özarda



İlçöl ve Aslan, Erzurum ilinde Polat ve İstanbul ilinde Balcı tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen referans aralık değerleri çalışmamız ile farklılık gösterdi. Bu durum bölgeler arası beslenme alışkanlıkları, sosyoekonomik düzey, cihaz ve yöntem farklılıklarından kaynaklanabilir.

Magnezyum için elde edilen referans aralık alt limiti üretici firma tarafından sunulan referans aralık değerine göre düşük bulunurken üst limiti uyumlu bulundu. Laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışması ile karşılaştırıldığında elde edilen referans aralıklar uyumlu bulundu. Tablo-19 incelendiğinde Polat ve Balcı tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen değerler çalışmamız ile uyumlu bulundu. Özarda İlçöl ve Aslan tarafından yapılan çalışmada ise referans aralık alt limiti uyumlu bulunurken, üst limiti çalışmamızda daha düşük bulundu.

T.Kalsiyum, Magnezyum ve  $PO_4$  için bu çalışmada elde edilen referans aralık değerlerinin laboratuvarımızda yapılan direkt referans çalışmasında bulunan referans aralık değerleriyle uyumlu veya yakın bulunması indirekt yöntemin direkt yöntemle iyi bir alternatif olduğunu göstermektedir.

Tablo-20' de bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen T.Kolesterol, HDL-K, LDL-K ve Trigliserit referans aralık değerleri bir arada sunulmuştur.

**Tablo-20.** Bu çalışma ve başka indirekt referans aralık çalışmalarından elde edilen T.Kolesterol, HDL-K, LDL-K ve Trigliserit referans aralıklarının karşılaştırılması

	T.Kolesterol (mg/dL)			LDL-K (mg/dL)			Trigliserit (mg/dL)			HDL-K (mg/dL)	
	K+E	E	K	K+E	E	K	K+E	E	K	E	K
<b>Elde Edilen RA</b>	100,7 - 253,7			80 - 177,5			76,1 - 282			26,4 - 63,3    30-9 - 72,2	
<b>Polat (55)</b>	100,3 - 278,5			40,3 - 160,4			12 - 254,6			20,6 - 60,6    24,8 - 67,3	
<b>Enli Y ve ark. (20)</b>	110 - 278			50 - 182			37 - 289    42 - 259			24 - 65    29 - 74	
<b>Özarda İlçöl, Aslan (54)*</b>	120,5 - 268						37,2 - 198,2    33,6 - 195,6			29,1 - 60,1    31,8 - 73,3	
<b>Grossi ve ark. (52)*</b>	126,7 - 259,1    132,4 - 267,2			<188,6    <189,7			39,8 - 178,8    39,8 - 141,6				
<b>Lykkeboe ve ark. (57)*</b>	127,1 - 265,7			54,3 - 178,5			44,3 - 336,3			31 - 81,5    34,9 - 97	
<b>Balcı (53)**</b>	94 - 241    95 - 237						18 - 226    11 - 178			21 - 65    23 - 73	

\*Makaledeki veriler birim dönüşümü yapılarak alınmıştır.

\*\*Çalışmadaki 25-44 yaş verileri alınmıştır.

T.kolesterol ve LDL-K parametrelerine bakıldığında, üst referans limiti T.Kolesterol için 253.7 mg/dL, LDL-K için 177.5 mg/dL olarak belirlendi. Üretici firma ise üst referans limitini T.Kolesterol için 200 mg/dL, LDL-K için 100 mg/dL olarak belirtmektedir. Üretici firmanın sunduğu bu değerler bir referans aralık çalışmasının sonucu olmayıp National Cholesterol Education Program (NCEP) tarafından önerilen karar sınırlarıdır (58). Laboratuvarımızda 2012 yılında Ağaç tarafından yapılan direkt referans aralık çalışması ve Tablo-20’de sunulan ulusal ve yurt dışı çalışmalara bakıldığında çalışmamıza yakın veya daha yüksek değerlerin elde edildiği görülmektedir ve bu değerler belirlenen karar sınırlarının çok üzerindedir. Elde edilen bu değerler ‘sağlıklı olan bireylere gereksiz ilaç tedavisi mi uygulanıyor?’ sorusunu akla getirmektedir. Yoksa toplumunun yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak yüksek kan kolesterol değerlerine sahibiz ve sağlıklı bir insan için bu değerler referans olamaz sonucuna mı varacağız? Bu aşamada genel karar sınırları üzerine daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

HDL-kolesterol için üretici firma referans aralıklarında kadın-erkek ayrımı gözetmeksizin <40 mg/dL düşük HDL-K (Koroner kalp hastalığı için büyük risk faktörü) ,  $\geq$  60 mg/dL yüksek HDL-K (Koroner kalp hastalığı için negatif risk faktörü) olarak sunulmuştur. Bu referans aralık değerleri de NCEP tarafından tavsiye edilen değerlerdir. Oysaki hem bu çalışmada, hem laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasında hem de Tablo-20’de sunulan ulusal ve yurt dışı indirekt referans aralık çalışmalarında kadın ve erkeklerde HDL kolesterol değerlerinin anlamlı derecelerde farklı olduğu görülmektedir. Referans değer alt limiti incelendiğinde, Enli Y ve ark. İle Özarda İlçöl ve Aslan’ ın çalışmaları çalışmamızla uyumlu bulunmuştur. Üst limitlere bakıldığında ise kadınlarda Enli Y ve ark, Özarda İlçöl ve Aslan, Balcı ve ark. çalışmaları, erkeklerde ise Enli Y ve ark ile Balcı ve ark. elde ettiği değerler çalışmamızla uyumlu bulunmuştur. Bu sonuçlar referans değerlerin cinsiyetin yanı sıra, aynı toplumun farklı bölgelerinde yaşayan bireylerinde yaşam tarzı, beslenme alışkanlıkları ve sosyoekonomik düzeyine bağlı olarak farklılaştığını göstermektedir.

Trigliserit için üretici firmanın belirlediği referans aralık üst limit NCEP’ in belirlediği karar sınırı olan 150 mg/dL dir. Bu çalışmada ise 282 mg/dL olarak belirlenmiştir ve bu değer

karar sınırının oldukça üzerindedir. Laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasında ise kadınlar için 137 mg/dL erkekler için 187 mg/dL olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma indirekt bir çalışma olduğu için seçilen bireylere ait açlık tokluk durumları, beslenme alışkanlıkları, obezite, vücut kitle indeksi gibi değişkenlerin kontrol edilememiş olması buna neden olmuş olabilir. Tablo-20'de sunulan Polat, Enli Y ve ark, Özarda İlçöl ve Aslan'ın ülkemizde yaptığı indirekt referans aralık çalışmaları ve Lykkeboe ve ark. tarafından Danimarka'da yapılan indirekt referans aralık çalışmasında çalışmamızla benzer şekilde yüksek sonuçların belirlenmesi görüşümüzü desteklemektedir.



## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma laboratuvarımızda 4 yıllık dönemde (01.01.2013 – 31.12.2016) depolanan hasta verilerinin Bhattacharya yöntemine göre (indirekt yöntem) değerlendirilmesi sonucu elde edilen referans değerlerini kapsamaktadır. Bu değerler 26 klinik kimya testi için belirlenmiştir.

1. Tıbbi laboratuvarlarda analiz edilen test sonuçlarının karar verme sürecinde klinisyenler tarafından kullanılabilmesi için her testin referans aralıkları bilinmelidir. Referans aralık değerleri coğrafi bölge, ırk, sosyoekonomik düzey, cinsiyet, yaş, metodolojik farklılıklar ve beslenme alışkanlıkları gibi faktörlere bağlı olarak değişir. Bu yüzden her laboratuvar kendi referans aralık değerlerini belirlemelidir.
2. Bu çalışmada Klor, Potasyum, Sodyum, T.Kalsiyum parametreleri için elde edilen referans aralık değerleri direkt referans aralık çalışması ile uyumlu bulundu. Albümin, Glukoz, T.Bil, T.kolesterol üst limitleri ile D.bil, PO<sub>4</sub>, BUN, LDL-K, T.Demir(E), GGT(E), HDL-K, Kreatinin(E), parametrelerinin alt limitleri direkt referans aralık çalışması ile uyumlu bulundu. Diğer parametrelerde farklılıklar tespit edildi.
3. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde üretici firma tarafından sunulan referans aralıkların, bizim bölgemizin referans değerlerini tam olarak yansıtmadığı görülmektedir.
4. Direkt yöntemle referans aralık değerlerini belirlemek maliyetli ve son derece zor bir işlemdir. Fakat son yıllarda bilgisayar teknolojisinin gelişmesi ile laboratuvar bilgi yönetim sistemlerinin kurulması, laboratuvarında üretilen verilerinin dijital ortamda kayıt altına alınabilmesini sağlamıştır. Bu da yeteri

kadar birikmiş hasta verisi ile indirekt yöntemle referans aralıklarının hesaplanabilmesine olanak tanımıştır. Bu yöntem direkt yöntemle göre kolay uygulanabilir ve maliyet gerektirmeyen bir yöntemdir.

5. HBYS ve LBYS'ye sahip laboratuvarlarda saklanan hasta verilerinden istatistik programları ve ara yüz yazılımları yardımıyla IFCC ve NCCLS'nin önerileri doğrultusunda indirekt yöntemle referans aralıklar belirlenebilir. Bu işlem için yaklaşık üç aylık bir veri de yetebilir ve bu verilerin kullanılabilmesi için uygun bir filtrasyon işlemi uygulanmalıdır.
6. Hem direkt hem de indirekt yöntemde alt gruplara ayırma işleminde kesin bir fikir birliği olmadığı görüldü. Bu çalışmada alt gruplara ayırma kararı için Harris-Boyd yöntemi ve Effect Size değerleri kullanıldı. Ayrıca bu yöntemlere göre cinsiyet farkı bulunan parametrelerin Box-plot grafikleri çizilerek karşılaştırıldı. Alt gruba ayırmada klinik ihtiyaçların da dikkate alınması genel kabul görmeye birlikte subjektif bir değerlendirmeye sebep olmaktadır. Alt gruba ayırma kriterleri standardize edilmelidir.
7. ALT, BUN, CK, GGT, HDL-K, Kreatinin, T.Demir ve Ürik asit parametrelerinde kadın ve erkek referans değerleri arasında anlamlı fark gözlemlendi.
8. Genel olarak bakıldığında birkaç test dışında (ALP, Trigliserit, LDH, AST ve Ürik asit) laboratuvarımızda daha önceden yapılan direkt referans aralık çalışması ile uyumlu referans aralıklar elde edildi. Böylece dijital ortamda saklanan verilerin, uygun bir filtrasyon işlemi yapılarak sağlıklı hasta verilerine ulaşıldığı takdirde referans aralık hesaplanmasında kullanılabilmesi tespit edildi.
9. Çalışmalarda kullanılan uç değer atılımı, referans birey dâhil etme, alt gruplara ayırma ve referans aralık elde etme yöntemlerinin farklılığı çalışmalar arasında karşılaştırma yapmayı güçleştirmektedir.

10. Bu çalışmada veri sayısının yetersizliği nedeniyle pediatrik ve geriatric gruba ait referans aralık değerleri belirlenemedi. Bhattacharya prosedüründe büyük veri setlerine ihtiyaç vardır ( $n \approx 8000$ ) (59). Laboratuvarımıza başvuran bireylerin tamamına ait referans değerler hakkında bilgi sahibi olabilmek için yaş grubuna pediatrik ve geriatric grubu da dâhil edecek yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.
11. Bu çalışmada elde edilen referans aralık değerleri ve diğer indirekt referans aralık çalışmalarında elde edilen değerler gösterdi ki özellikle glukoz, total kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserit vb. testlerin tıbbi karar sınırları değerlerinde yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.
12. Referans aralık çalışmaları pahalı, zahmetli, zaman gerektiren ve emek isteyen çalışmalar olması sebebiyle her laboratuvar tarafından yapılamamaktadır. Ancak yapılması halinde elde edilen referans aralık değerlerinin yanında, toplumun demografik ve sosyoekonomik verileri hakkında bilgiler vermesi bu çalışmaları çok daha değerli kılmaktadır.
13. İndirekt yöntemle referans aralık değerlerini belirleyebilmek için gerekli veri sayısı, alt gruplara ayırma kriterleri, aşırı uç değerlerin atılması kriterleri ve dışlanacak veriler ile referans aralığı hesaplarken seçilecek yöntemin ne olacağı hakkında literatürde henüz yeteri kadar çalışma bulunmamaktadır. İndirekt yöntemin, bu konu hakkındaki çalışmaların artması, bilgisayar bilgi yönetim sistemlerinin gelişmesi ve standardizasyonun sağlanması ile ileride direkt yöntemin yerini alacağını düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queraltó JM, Petersen PH: The theory of reference values: an unfinished symphony. *Clin Chem Lab Med.* 51(1):47-64, 2013.
2. CLSI, Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline CLSI Document C28-A3, fourth ed. Pennsylvania, USA, 2008.
3. Murphy E. The normal and the perils of the sylleptic argument. *Perspectives in Biology and Medicine*, 1972, 15: 566-82.
4. Horowitz GL: Establishment and use of reference values. In Burtis CA, Ashwood ER, Burns DE eds: *Tietz Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, Elsevier Saunders Pub., St.Louis, 5th ed. 2012 , pp 95-118.
5. Solberg HE: Referans değerlerin belirlenmesi ve kullanılması. In Burtis CA and Ashwood ER: *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler* (çev. D Aslan), Palme yay., Ankara, 2005, s.251-261
6. Aslan D. Referans Değerlerin belirlenmesi ve Kullanılması. İçinde: Solberg H, (editor) *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*. 5 Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2005: 251-261.
7. CLSI. Defining, establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; approved guideline. Third ed., CLSI Document C28-A3. Wayne, USA, 2008
8. Geffré A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. Reference values: a review. *Vet Clin Pathol.* 38(3):288-98, 2009.
9. Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values, and International Committee for Standardization in Haematology (ICSH), Standing Committee on Reference Values. Approved Recommendation (1986) on the theory 69 of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem.* 25(5):337-42, 1987.



10. Dybkær R, Solberg HE. Approved Recommendation on the Theory of Reference Values Part6. Presentation of Observed Values Related to ReferenceValues. *J Clin Chem Clin Biochem.* 25:657–62, 1987.
11. Ceriotti F, Henny J, Queraltó J, Ziyu S, Özarda Y, Chen B, Boyd JC, Panteghini M; IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL); Committee on Reference Systems for Enzymes (C-RSE). Common reference intervals for aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT) in serum: results from an IFCC multicenter study. *Clin Chem Lab Med.* 48(11):1593-601, 2010.
12. Ozarda Y, Ichihara K, Barth JH, Klee G; Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL), International Federation for Clinical Chemistry and 70 Laboratory Medicine. Protocol and standard operating procedures for common use in a worldwide multicenter study on reference values. *Clin Chem Lab Med.* 51(5):1027-40, 2013.
13. Özarda Y, Ichihara K, Aslan D, Aybek H, Ari Z, Taneli F, Coker C, Akan P, Sisman AR, Bahceci O, Sezgin N, Demir M, Yucel G, Akbas H, Ozdem S, Polat G, Erbagci AB, Orkmez M, Mete N, Evliyaoglu O, Kiyici A, Vatansev H, Ozturk B, Yucel D, Kayaalp D, Dogan K, Pinar A, Gurbilek M, Cetinkaya CD, Akin O, Serdar M, Kurt I, Erdinc S, Kadicesme O, Ilhan N, Atali DS, Bakan E, Polat H, Noyan T, Can M, Bedir A, Okuyucu A, Deger O, Agac S, Ademoglu E, Kaya A, Nogay T, Eren N, Dirican M, Tuncer G, Aykus M, Gunes Y, Ozmen SU, Kawano R, Tezcan S, Demirpence O, Degirmen E: A multicenter nationwide reference intervals study for common biochemical analytes in Turkey using Abbott analyzers. *Clin Chem Lab Med,* 52(12):1823-33, 2014.
14. Aytekin M, Emerk K. Accurate reference intervals are required for accurate diagnosis and monitoring of patients. *eJIFCC.* 19(2), 2008.
15. Guidi GC, Sdlvagno GL. Reference intervals as a tool for total quality management. *Biochem Med.* 20(2):165-72, 2010.
16. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a “reference change ” for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem.* 29(1):25-30, 1983.
17. Pineda-Tenor D, Laserna-Mendieta EJ, Timón-Zapata J, Rodelgo-Jiménez L, Ramos-Corral R, Recio-Montealegre A, Reus MG. Biological variation and reference change values of common clinical chemistry and haematologic laboratory analytes in the elderly population. *Clin Chem Lab Med.* 51(4):851-62, 2013.
18. PetitClerc C, Solberg HE. Approved recommendation on the theory of reference values: Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem.* 25:639-44, 1987.

19. Kutay F. Laboratuvar Verilerinin İstatistiksel Değerlendirmesi. İçinde: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay F, (editörler) Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi Kitabı İstanbul, Palme Yayıncılık, 2004:53-70
20. Enli Y. Denizli’de Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle Referans Aralıkların Saptanması. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Denizli: Pamukkale Üniversitesi, 2001.
21. Kalafat H. Klinik Biyokimya Testlerinin Mersin İli’ndeki Referans Aralıklarının Endirekt Yöntemle Belirlenmesi. Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Mersin: Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi 2008.
22. Ferré-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Puchal-Ané R. Indirect Reference Limits Estimated From Patients’ Results By Three Mathematical Procedures. *Clinica Chimica Acta*, 1999, 279: 97-105.
23. Kairisto V, Poola A. Software For Illustrative Presentation Of Basic Clinical Characteristics Of Laboratory Test, Graphroc For Windows. *Scandinavian Journal Of Clinical And Laboratory Investigation*, 1995, 222: 43-60.
24. Reed H. Influence Of Statistical Method Used On The Resulting Estimate Of Normal Range. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 1971, 17: 275-284.
25. Martin H, Hologgites J. Reference Values Based On Populations Accessible To Hospitals. In: Markus, H, Smith J, Moreland RL, Reference Values In Laboratory Medicine. 3rd ed. Chichester, England, Wiley, 1981: 233-262.
26. Solber HE. Using a hospitalized population to establish reference intervals: pros and cons. *Clin Chem*. 40(12):2205-6, 1994.
27. Hoffmann RG. Statistics in the practice of medicine. *JAMA*. 185:864-73, 1963.
28. Bhattacharya CG. A simple method of resolution of a distribution into gaussian components. *Biometrics*. 23(1):115-35, 1967.
29. 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*. 23(12):829-39, 1985.
30. Baadenhuijsen H, Smit J. Indirect Estimation Of Clinical Chemical Reference Intervals From Total Hospital Patient Data: Application Of A Modified Bhattacharya Procedure. *Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry*, 1985, 23: 829-839.
31. Özarda Y, Aslan D (Ed.): Referans Aralıkları Hesaplama Kursu Kitabı, Türk Biyokimya Derneği Yayınları, İzmir, 2012.

32. Horn PS, Pesce AJ. Reference Intervals. A User's Guide. Washington, DC: AACC Press; 2005.
33. Ichihara K, Boyd JC; IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL). An appraisal of statistical procedures used in derivation of reference intervals. *Clin Chem Lab Med.* 48(11):1537-51, 2010.
34. Harris EK, Boyd JC. Statistical basis of reference values in laboratory medicine. New York: Marcel Dekker, 1995.
35. Lot J, Mitchell L. Estimation Of Reference Ranges: How Many Subjects Are Needed? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 1992, 38: 648-650.
36. Solberg HE. Approved recommendation on the theory of reference values: Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem.* 25:645-56, 1987
37. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin Chem.* 44(3):622-31, 1998.
38. Linnet K. Nonparametric estimation of reference intervals by simple and bootstrapbased procedures. *Clin Chem.* 46(6 Pt 1):867-9, 2000
39. Toprakçı M. Hastane Laboratuvar Test Verileri Kullanılarak Klinik Testlerin Referans Aralıklarının Saptanması. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, 2000.
40. Dixon WJ. Processing data for outliers. *Biometrics.* 9:74-89, 1953.
41. Horn PS, Feng L, Li Y, Pesce AJ. Effect of outliers and nonhealthy individuals on reference interval estimation. *Clin Chem.* 47(12):2137-45, 2001.
42. Barret V, Lewis TE. Outliers In Statistical Data. 1nd ed. Chichester, England., Wiley Press, 1978: 68-73.
43. Sinton TJ, Cowley DM, Bryant SJ. Reference intervals for calcium, phosphate, and alkaline phosphatase as derived on the basis of multichannel-analyzer profiles. *Clin Chem.* 32(1):76-9, 1986.
44. Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem.* 36(2):265-70, 1990.
45. Lahti A. Are the common reference intervals truly common? Case studies on stratifying biochemical reference data by countries using two partitioning methods. *Scand J Clin Lab Invest.* 64(4):407-30, 2004.

46. Lahti A, Petersen PH, Boyd JC, Rustad P, Laake P, Solberg HE: Partitioning ofnongaussian-distributed biochemical reference data into subgroups. Clin Chem. 50(5):891-900, 2004.
47. Fraser CG, Hytloft Petersen P, Libeer JC, Ricos C: Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology. Ann Clin Biochem. 34 (Pt 1):8-12, 1997.
48. Gail M. Sullivan , Richard Feinn , Using Effect Size – or Why the P value is Not Enough , Journal of Graduate Medical Education , September 2012
49. Massey F. The Kolmogorov-Simirnov Test For Goodness-Of-Fit The Journal of the American Statistical Association, 1951, 46: 69-78.
50. Solberg HE, Stamm D. FCC recommendation: Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation on the theory of reference values. Part1. The concept of reference values. Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry, 1987, 25: 337-342.
51. International Union Of Pure And Applied Chemistry Clinical Chemistry Division Commission On Toxicology: Calculation and application of coverage intervals for biological reference values. Pure & Appl. Chem. 69(7):1601-1611, 1997
52. Grossi N , Colombo R , Cavuto S , Franzini C , The REALAB Project: A New Method fort the Formulation of Reference Intervals Based on Current Data , American Association for Clinical Chemistry , 2005
53. Balcı Y. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,Uzmanlık Tezi, İstanbul: Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi , 2006
54. Ozarda Ilcol Y, Aslan D. Use of total patient data for indirect estimation of reference intervals for 40 clinical chemical analytes in Turkey , Clin Chem Lab Med 2006;44(7):867–876 , 2006
55. Polat H. Bazı Biyokimyasal Testlerin Referans Aralık Belirleme Çalışması, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2014
56. Ağaç S. Erişkin Sağlıklı Bireylerde Bazı Klinik Kimya Testlerinin Referans Aralıkları, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,Uzmanlık Tezi, Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi , 2014
57. Lykkeboe S , Indirect Method for Validating Transference of Reference Intervals, Clin Chem Lab Med , 2017

58. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program ( NCEP ) Expert Panel on Detection , Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults ( Adult Treatment Panel III ). JAMA. 285(19):2486-97, 2001.

59. Temel Örekici G, Hastane Biyokimyasal Verilerinden Sağlıklı Alt grubun Belirlenmesi: Bhattacharya Prosedürü, Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Düzce. 2015

