

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**ERİŞKİN SAĞLIKLI BİREYLERDE  
BAZI KLİNİK KİMYA TESTLERİNİN  
REFERANS ARALIKLARI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Süret AĞAÇ

Trabzon – 2014

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**ERİŞKİN SAĞLIKLI BİREYLERDE  
BAZI KLİNİK KİMYA TESTLERİNİN  
REFERANS ARALIKLARI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Süret AĞAÇ

TEZ Danışmanı: Prof. Dr. Orhan DEĞER

Trabzon – 2014

Bu tez Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (KTÜ BAP) Birimi tarafından desteklenmiştir.

(BAP-01 proje no: 9720)

## ÖNSÖZ

Uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmada, değerli katkılarından dolayı başta tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Orhan DEĞER Hocam başta olmak üzere, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım saygıdeğer Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. E. Edip KEHA'ya , Prof. Dr. Asım ÖREM'e , Prof. Dr. Caner KARAHAN'a, Prof Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU'na, Prof. Dr. Birgül VANİZÖR KURAL'a, Doç. Dr. Ahmet ALVER'e, Doç. Dr. Ahmet MENTEŞE'ye, Yrd. Doç. Dr. Fulya BALABAN YÜCESAN'a,

Çalışmam sırasındaki yardımlarından ötürü Uzm. Dr. Tuba ESEN'e, Uzm. Dr. Sabiha KAMBUROĞLU'na, Uzm. Dr. Ayşegül YILMAZ'a, Dr. Selçuk YAMAN'a, Dr. Hüseyin YAMAN'a, Dr. Nazime Çebi'ye, Dr. Sevim KAHRAMAN'a, Dr. Mehtap DOĞRU'ya, Dr. Mustafa TAT'a,

Biyokimya Anabilim Dalında görevli tüm araştırma görevlisi arkadaşlarım ve Merkez Laboratuvarı çalışanlarına ,

Çalışmamıza katılan tüm gönüllülere ,

Ve son olarak fedakarlıkları, anlayışları, sabırları ve her zaman yanımda oldukları için Sevgili Anneme, Babama, Kardeşime, Eşime ve Oğluma en içten duygularıyla teşekkür eder, saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Trabzon , 2014

Dr. Süret Ağaç

**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa No</u>
<b>ÖNSÖZ</b>	II
<b>İÇİNDEKİLER</b>	III
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	V
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	VII
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b>	VIII
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	2
2.1.Tanım ve Terminoloji	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	6
2.4.Referans Bireylerin seçimi	7
2.4.1. Referans Birey Seçim Yöntemleri	7
2.4.2. Referans Bireyin Seçim Kriterleri	8
2.4.3. Referans Bireyin Seçimi	10
2.4.3.1.İndirekt Yöntem	10
2.4.3.2.Direkt Yöntem	11
2.5.Örneklerin Toplanması	12
2.6. Numunelerin Analiz Edilmesi	12
2.7.Referans Aralıkların Hesaplanması	13
2.7.1. Referans Değer İçin Gereken Minimum ve Maksimum Kişi Sayısı	13
2.7.2. Uç Değerlerin tespiti	15
2.7.3.Alt Gruplara Ayırma Kararı	16

2.7.4.Referans Değerlerin Sınırlarının Belirlenmesi	17
2.7.5.Güven Aralıkları	18
2.8.Diğer Referans aralık elde yöntemleri	18
<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	<b>20</b>
3.1.Analitlerin Seçilmesi	20
3.2.Adayların Seçilmesi	20
3.3. Etik Konular	21
3.4.Numunelerin Kabulü ve Saklanması	21
3.5.Analitik Sürecin Değerlendirilmesi	22
3.6.Verilerin Değerlendirilmesi ve Referans Aralık Eldesi	26
3.6.1.Dağılımın Değerlendirilmesi	26
3.6.2.Uç Değerlerin Atılması	26
3.6.3.Referans Aralıkları ve Güven Aralıklarının Tespiti	27
<b>4. BULGULAR</b>	<b>28</b>
4.1.Çalışma Grubuna Ait Demografik Veriler	28
4.2. Çalışılan Parametrelere Ait Analitik Performans Verileri	28
4.3. Çalışılan Parametrelerin Dağılım Verileri	33
4.4. Çalışılan Parametrelerin Referans Aralıkları	44
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>49</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>63</b>
<b>7. TÜRKÇE ÖZET</b>	<b>66</b>
<b>8. SUMMARY</b>	<b>67</b>
<b>9. KAYNAKLAR</b>	<b>68</b>
<b>EKLER</b>	
Ek-1 Referans aralık Çalışması Anket Formu	77
Ek-2 Referans aralık Çalışması Onam Formu	79

## TABLULAR LİSTESİ

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

Tablo-2:Hormonlar ve Tümör Belirteçleri ölçüm yöntemleri ve alt ve üst okuma limitleri

Tablo-3: Parametrelerin analitik performans verileri

Tablo-4: Parametrik ve alt gruba ayrılmayan analitlerin referans intervalleri

Tablo-5: Nonparametrik ve alt gruba ayrılmayan parametrelerin referans aralıkları

Tablo-6:Cinsiyete göre alt gruba ayrılan parametrelerden kadınlara ait referans aralıkları

Tablo-7:Cinsiyete göre alt gruba ayrılan parametrelerden erkeklere ait referans aralıkları

Tablo-8: Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz referans aralıklar ile üreticinin sunduğu referans aralıkların karşılaştırılması

Tablo-9: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen ALT, AST, GGT referans aralıklarının karşılaştırılması

Tablo-10: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen KOL, HDL-K, LDL-K, TRIG referans aralıklarının karşılaştırılması

Tablo-11: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen CREA referans aralıklarının karşılaştırılması

Tablo-12: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen Fe, Ferritin referans aralıklarının karşılaştırılması

Tablo-13: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen TSH referans aralıklarının karşılaştırılması

Tablo-14: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen F.PSA, T.PSA referans aralıklarının karşılaştırılması

Tablo-15: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen ATG referans aralıklarının karşılaştırılması

Tablo-16: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen B12 referans aralıklarının karşılaştırılması



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil-1(a...l) Normal dağılıma uygun parametrelerin histogramları

Şekil-2 (a...m)Normal dağılıma uymayan parametrelerin histogramları

Şekil-3 (a...v) Cinsiyete göre ayrılan parametrelerin histogramları

**KISALTMALAR**

AFP: Alfa Feto Protein

ALB: Albumin

ALP: Alkalen Fosfataz

ALT: Alanin Aminotransferaz

AST: Aspartat Aminotransferaz

ATA: Anti Tiroidperoksidaz antikoru

ATG: Anti Tiroglobulin Antikor

B12: Vitamin B 12

BUN: Kan Üre Azotu

CA 125: Karbohidrat Antijen 125

CA 15.3: Karbohidrat Antijen 15.3

CA 19.9: Karbohidrat Antijen 19.9

Ca: Kalsiyum

CEA: Karsino Embriyonik Antijen

Cl: Klor

CRE : Kreatinin

CRP: C-Reaktif Protein

CV: Varyasyon katsayısı

DBİL: Direkt Bilirübin

Fe: Demir

FER: Ferritin

FOL: Folat

FT3: Serbest Triiyodotironin

FT4: Serbest Tiroksin

FPSA: Serbest Prostat Spesifik Antijen

GGT: Gama Glutamiltransferaz

GLU: Glukoz

HDL-K: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol

K: Potasyum

KOL: Kolesterol

KOR: Kortizol

LDH: Laktat Dehidrogenaz

LDL-K: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein-Kolesterol

Mg: Magnezyum

Na: Sodyum

PO<sub>4</sub>: İnorganik Fosfat

SD: Standart Sapma

TPSA: Total Prostat Spesifik Antijen

TBİL: Total Bilirübin

TES: Testesteron

TG: Tiroglobulin

TP: Total Protein

TRİG: Trigliserid

TSH: Tiroid Stimulan Hormon (Tirotropin)

UIBC: Demir Bağlama Kapasitesi

ÜA: Ürik Asit

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bir klinisyen hastasının anamnez, fizik muayene bulgularını ve diğer tetkik sonuçlarını ancak elindeki referanslarla karşılaştırarak yorumlayabilir. Bu referanslarla, elindeki hastaya ait bulguların birbirine uygunluğuna, uymuyorsa bilinen bir hastalığın tanımıyla uyum gösterip göstermediğine bakarak tanı koyar. Patolojik olanı tanıyabilmek ancak fizyolojik olanı iyi ve doğru tanımlayabilmek ile mümkündür. Yani hastalıkları tanımlamak için önce sağlığı tanımlamak gerekir. Bu sebeple tıp öğrencilerine sağlıklı insanın anatomi, fizyoloji, histolojisi ve biyokimyası öğretildikten sonra hastalıklar ve patolojilerinin eğitimine başlanır. Ancak farklı ırk, cinsiyet, yaş, kilo, boy vb. özellikleriyle her biri tek ve biricik olan insanoğlunu ortak tanımlara sığdırmak kolay değildir. Toplumun çeşitli kesimlerini (ırk, yaş, cinsiyet, gebelik, yaşlılık v.b.) temsil edebilecek referans aralıkları belirlemek fikri bu amaçla ortaya atılmış ve yıllar yılı pek çok araştırmacının katkısıyla günümüzdeki haline gelmiştir (1).

Günümüzde otoanalizör ve reaktif üreticileri ürünleri için referans aralıkları sunmaktadır. Ancak bu aralıkların fikir verme amaçlı olduğu ve her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi gerektiği vurgulanmaktadır. Bununla birlikte, laboratuvarlara özgün referans aralık belirlemenin yoğun emek ve yüksek maliyet gerektirdiği gözardı edilmemelidir.

Bu çalışmanın amacı; çeşitli klinik kimya, hormon ve tümör belirteci parametrelerinin KTÜ Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarının hizmet verdiği coğrafyada yaşayan erişkin topluma ait referans aralıklarını belirlemektir.

Literatürdeki güncel öneriler doğrultusunda planlanan çalışmadan elde edilen verilerin kullanıma girmesinin fakültemizin hizmet ve kalite standartlarına artı değer katacağına inanıyoruz.

## 2. GENEL BİLGİLER

Klinik laboratuvarlarda yapılan ölçümler hastalıkların tanı, tedavi ve takibinde kullanılır. Laboratuvarlarda ölçülen değerlerin, referans değerlerle karşılaştırılması tıbbi karar sürecinde belirleyicidir. Referans değer kavramı içinde pek çok tanımlama barındırır. Terminolojiye kısaca değinmek konunun daha kolay anlaşılmasını sağlayacaktır.

### 2.1. Tanım ve Terminoloji

Hastanın sonuçlarının karşılaştırılmasında kullanılan değerlere ilk başlarda “normal değer” denilmiştir. Tıbbın her alanında olduğu gibi biyokimyasal parametrelerde de normalin ne olduğu sorusu uzun bir müddet araştırmacıları peşinden sürüklemiştir. 1980 'li yıllarda kavram karmaşasına neden olan “normal değer” yerine “referans değer” terimi kullanılmaya başlanmıştır. “Referans değerler” belirli bir nicelik için tanımlanmış bir bireyde veya grupta gözlenen veya ölçülen değerlerdir (2).

Referans değerler sadece sağlıklılardan elde edilmemektedir. Bu nedenle de ‘normal’ tanımı eksik kalmaktadır. Çeşitli hastalık popülasyonlarından elde edilen değerler de tanı tedavi ve prognozun belirlenmesinde önem taşır. Bu durumda terimin önüne değerlerin hangi gruptan elde edildiğini belirten bir sıfat eklenmektedir. Referans değerlerin başına sıfat konulmaması sağlıklı popülasyona ait olduğunu gösterir (3).

1976'da Wilding ve Siest, referans aralıklı ilgili tanımları içeren şemayı yapmışlardır (1). Bu tanımlamaya göre, referans bireylerin oluşturduğu referans topluluktan bir referans örnek grubu seçilir. Bu gruptan referans değerler elde edilir. Elde edilen referans

değerlerden referans dağılım oluşur. Bu dağılımdan referans sınırlar hesaplanır. Bu sınırlar da referans aralıkları tanımlar.

**Referans sınırları:** Referans bireylerin değerlerinden oluşan referans dağılımından hesaplanan referans aralığının sınırlarını belirleyen değerlerdir (3).

**Alt ve üst referans sınırı:** Bir analitin referans aralığı referans populasyonun değerlerinin merkezi % 95'ine karşılık gelen istatistiksel değerler aralığını gösterir. Buna göre % 2,5 değerine “alt referans sınırı” ve % 97,5 değerine “üst referans sınırı” denir (3).

**Referans birey:** İyi tanımlanmış kriterler temelinde seçilmiş, test sonuçları referans değeri tanımlamakta kullanılan bireydir. Sağlık durumunun iyi bir şekilde tanımlanması gereklidir (3).

**Referans değeri:** Referans bireyde gözlem ve ölçümle belirlenen belli bir sayısal değerdir (3).

**Gözlenen değer (Hasta laboratuvar test sonucu):** Bir bireyin (veya hastanın) gözlem ve ölçümle belirlenen, tıbbi referans değerleri, referans dağılımı, referans sınırları ve aralıklarıyla karşılaştırılarak tıbbi karar vermek için kullanılan sayısal değeri olarak tanımlanmaktadır (4).

**Referans toplumu:** Tüm referans bireyleri içine alan topluluktur (5).

**Referans örnek grubu:** Referans toplumu temsil edecek sayıda seçilmiş referans bireyler topluluğudur (5).

**Referans dağılımı:** Referans bireylerden elde edilen değerlerin bir araya gelmesiyle oluşan dağılımdır.

**Klinik karar sınırı:** Sağlıklı bireylerin yanı sıra, ilgili hastalığın tanısını almış bireylerin sonuçları da incelenerek elde edilen ya da yapılan bilimsel çalışmaların sonucundan çıkarılan ve tedavide klinik kılavuz olarak kullanılan sınırlardır (2).

Klinik karar sınırı ile referans sınır arasındaki belirgin bir diğer fark da referans sınırlarında ideal olan her laboratuvarın kendi sınırını tespit edip kullanması iken, klinik karar sınırlarında klinisyen ulusal veya uluslar arası olan değerleri kullanmayı tercih eder

(2). Referans aralık yerine klinik karar sınırlarının kullanıldığı parametrelere glukoz, HbA1c, kolesterol örnek verilebilir.

## 2.2. Tarihçe

Sayırsız araştırmacının çalışmalarıyla zenginleşen referans aralık çalışmalarındaki belli başlı kilometre taşlarını şöyle özetleyebiliriz.

Referans aralık kavramı ilk olarak 1969’da Grasbeck ve Saris tarafından “İyi karakterize edilmiş katılımcıların kan analit konsantrasyonlarındaki dalgalanmalar” olarak tanımlanmış olup normal değerlerin yerine kullanımı önerilmiştir (6).

1972 yılında T.P. Whitehead başkanlığında, Grasbeck, G. Siest, G. Z. Williams ve P. Wilding’in katılımıyla gerçekleşen EPTRV (Expert Panel on Theory of Reference Values) panelinde tanımlamaları, prensip ve prosedürleri ortaya koyan bir referans değerler teorisi geliştirildi (1).

IFCC’nin (Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu) ve ICSH’nin (Standing Committee on Reference Values of the International Council for Standardization in Haematology) konseyinin toplantılarından elde edilen bulgular 1987 yılında bir dizi makale olarak yayınlandı (7-12) .

1990’lı yıllar referans aralıkların klinisyenlerce benimsenip yaygın olarak kullanıldığı senelerdi. Ancak tüm laboratuvarlar tarafından uygulanabilir olmaktan uzak, pahalı ve zahmetli yöntemlerle referans aralık elde ediliyordu. Kavramın uygulamasındaki güçlüklerin aşılması için referans değer elde edilme prosedürlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardı (1).

IFCC-LM (IFCC’nin laboratuvar tıbbı alt komisyonu) 2005’te Ceriotti, Boyd, Henny, Kairisto, Klein ve Queralto’dan oluşan “Referans aralıkları ve sınırları karar komitesini” (C-RIDL) kurdu (1).



Eşzamanlı olarak CLSI (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü) tarafından oluşturulan çalışma grubu ile birleşerek XIX. Uluslararası IFCC-LM Kongresinde CLSI ve IFCC- LM'nin birleşik çalışma grubunu oluşturdular. Grubun amacı 1995'te basılıp 2000'de revize edilen CLSI C28-A dökümanını güncellemektir. 2008 yılında IFCC ve CLSI tarafından C28-A3 "Klinik Laboratuvarlarda Referans Aralıkların Tanımlanması, Tespiti ve Verifikasyonu" kılavuzu yayınlandı. Bu kılavuzda öncekilerden farklı olarak 120'nin altında referans bireyle de aralık belirlemeyi sağlayan robust metodu, referans aralık transferi, referans aralık verifikasyonu ve çok merkezli referans aralık çalışmaları tanıtıldı. C-RIDL bu çalışmalardan bağımsız olarak 2005-2010 arası kreatinin standardizasyonu ile ilgili ve ortak referans aralıklarla ilgili bir dizi çalışma yayınladı (1).

Ortak veya çok merkezli referans aralıklar konsepti laboratuvarları kendi referans aralıklarını oluşturmaktan kurtarmak için ortaya atıldı ve gelişmeye devam etmektedir. Örneğin AST, ALT ve GGT için Türkiye'den de katılımın olduğu uluslararası çok merkezli bir çalışmada AST ve ALT' de ortak referans aralığı tespitinin mümkün olabileceği, GGT için ise toplumlar arası farkların bulunduğu bildirilmiştir (13). Buradaki dezavantaj elde edilen aralığın sadece kullanılan mevcut analitik sistem için kullanılabilir olmasıdır (1).

2011' de C-RIDL Ichihara başkanlığında, yeni üyeleri Armbruster D., Barth J., Klee G., Özarda Y., Pekelharing M. ile çok merkezli çalışmalar yaparak ülkelere spesifik referans aralık tespitini hedeflediği çalışmalar devam etmektedir. Komite, bu çalışmalarla ilgili bir protokol de yayınladı (14).

Son yıllarda referans aralık konusunda tıbbi literatür sürekli gelişmektedir. Sürekli pek çok yeni çalışmanın eklendiği bu dinamik saha, bir çok otorite tarafından 'bitmeyen senfoni' olarak nitelendirilmektedir (1).

Günümüzde referans aralıkları çalışmalarının güncel oluşunun nedenleri; üretilen her biyobelirteçle birlikte yeni referans aralıklarına ihtiyaç duyulması, kullanılan referans aralıklarının genellikle beyaz kökenli nüfus için tespit edilmiş olması ve birçok laboratuvarın hizmet verdiği çeşitli nüfus grupları için uygun olmaması, mevcut referans aralıklarının dekattlar öncesinin metodlarıyla ve enstrümanlarıyla tespit edilmiş olmasından dolayı doğrulanması veya onaylanmasının gerekliliğidir (15).

### 2.3. Referans Değer Çeşitleri

Referans değer çeşitleri kaynağına göre bireye ait ve toplumdaki köken alan olarak ikiye ayrılmaktadır.

#### 2.3.1. Bireye ait referans aralıklar

Sağlıklı bir kişinin farklı zamanlardaki ölçümlerinden farklı sonuçlar elde edilebilir. Bu farkın 3 temel sebebi vardır: 1) Kişinin biyolojik varyasyonu, 2) Preanalitik varyasyon, 3) Analitik varyasyon (2). Bazı parametrelerin birey içi değişkenliği çok azdır. Bu durumda kişinin farklı zamanlarda yapılan iki ölçümü arasında belirgin bir fark olsa dahi her iki ölçüm de popülasyondan elde edilen referans aralığına göre 'referans sınırlar içinde' kalıyorsa iki değer arasındaki fark kişinin sağlık durumundaki bir değişikliğe işaret etmesine rağmen gözden kaçırılabilir. Ayrıca referans aralıklar toplumun %95'ini içine alacak şekilde oluşturulduğundan referans aralıkların dışında kalmasına rağmen sağlıklı olan kişilerin de varlığı göz ardı edilmemelidir.

RCV (Reference Change Value): Aynı kişinin farklı zamanlardaki ölçümleri arasındaki farkın anlamlı olup olmadığını gösteren değerdir (16).

$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$  formülüyle hesaplanır. Burada Z,  $p < 0,05$  için 1,96'dır. ( $CV_a$ : analitik değişkenlik,  $CV_i$ : bireysel değişkenlik) (17,18)

#### 2.3.2. Toplumdan köken alan referans aralıklar

Popülasyondan temel alan referans aralıklar, hedef popülasyondan seçilen referans bireylerden elde edilen verilerle oluşturulurlar.

## 2.4. Referans Bireylerin Seçimi

Referans birey seçimi önemli bir süreçtir. Hedeflenen referans grubu temsil eden bireylere ulaşılmalıdır. Bunun için; direkt-indirekt, rastgele-rastgele olmayan ve *a priori* (Test öncesi) - *a posteriori* (Test sonrası) olmak üzere 3 farklı sınıflama oluşturulmuştur (8).

### 2.4.1. Referans Birey Seçim Yöntemleri:

Referans bireyin seçiminde kullanılan çeşitli yöntemler aşağıda sıralanmıştır:

- a) Direkt örnekleme: Bireyler toplumdan tanımlanmış kriterlere göre seçilir.
- b) İndirekt örnekleme: Bireylerin analiz sonuçlarının kayıtlı olduğu veri tabanından belirli kurallara uygun bir şekilde test sonuçları seçilir.
- c) Rastgele örnekleme: Her bireye eşit seçilme şansı veren bir yöntemdir.
- d) Rastgele olmayan örnekleme: Her bireye eşit olmayan seçilme şansı veren, seçimde belirli kriterlerin gözetildiği bir yöntemdir.
- e) Test öncesi (*a priori*) örnekleme: Toplumdan seçilecek bireylerin önce tanımlanması sonra bu tanımlamaya uygun bireylerin seçilmesidir.
- f) Test sonrası (*a posteriori*) örnekleme: Çok sayıda bireylerin sonuçlarını içeren veri tabanından tanımlanmış katılım kriterlerine uyan bireylerin sonuçlarının seçildiği indirekt yöntemdir (3,8).

Dikkatle uygulandığında test öncesi yöntemle de test sonrası yöntemle de güvenilir referans aralıklar elde etmek mümkündür. Test öncesi yöntem, özellikle az sayıda örnekli çalışmalarda iyi sonuç verir (2).

IFCC direkt ve test öncesi yolla seçilen en az 120 numunenin non-parametrik yolla değerlendirilmesini önermektedir (4,5).

Test öncesi yolla referans interval tayininde tavsiye edilen adımlar şunlardır: (4,8)

a) Sonuçları etkileyebilecek preanalitik, analitik ve biyolojik faktörler iyi tanımlanıp kayıt altına alınmalıdır.

b) Dahil edilme, dışlama ve gruplandırma kriterleri ile referans birey tanımlanmalıdır.

c) Uygun bir referans birey sayısı belirlenmelidir.

d) Örnek alımı, numunelerin hazırlanması ve saklanması prosedürleri standardize edilmelidir.

e) Analizler analitik kalitenin kontrol edildiği ve kanıtlanabildiği bir laboratuvarında ölçülmelidir.

f) Elde edilen veriler incelenerek uygun yöntemlerle analiz edilmelidir.

#### **2.4.2.Referans Bireyin Seçim Kriterleri**

Referans aralığını tanımlamayı amaçladığımız referans topluluğa ait referans bireyin çok iyi tanımlanması ve sadece bu tanımlamaya uygun kişilerin referans birey olarak çalışmaya dahil edilmesi önem arz etmektedir. Hedeflenen referans grubunu elde edebilmek için gönüllülerde aranan özelliklerin iyi tanımlanmış olması gerekmektedir. Bu tanımlamalar dışlama ve dahil edilme kriterlerini oluşturur. Hedeflenen referans topluluğa özel farklı biyolojik varyasyon nedenleri varsa bunlarda dışlama kriterleri belirlenirken dikkate alınmalıdır. Her topluluğun dışlama kriterleri o topluluğun özelliklerine göre tasarlanmalıdır. Aşağıda örnek olarak çeşitli dışlama kriterleri sıralanmıştır:

Dışlama kriterlerine örnekler (2,8):

Açlık-Tokluk

Çevresel faktörler

Genetik Faktörler

Obezite

Hipertansiyon

Alkol tüketimi

Sigara tüketimi

Ağır egzersiz

Stres

Gebelik

Emzirme

Mesleki faktörler

Yakın zaman içinde cerrahi operasyon geçirmiş olmak,

Yakın zaman içinde hastalık geçirmiş olmak

Yakın zaman içinde hastanede yatmak

Yakın Zaman içinde kan transfüzyonu geçirmek

Kan transfüzyon dönörü olmak

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

*Alt gruplara ayırma (partition ) kriterleri*

Daha homojen gruplar elde etmek için referans bireyleri kendi içinde alt gruplara ayırmak mümkündür. Bunun için en çok cinsiyet ve yaş kriterleri için ayırma yapılır.

Ayırmada kullanılacak kriterler (2,5,8):

Açlık tokluk

Beslenme özellikleri

Cinsiyet

Coğrafi bölge

Egzersiz

Etnik köken

Gebeliğin dönemi

İrk

Kan alımı sırasındaki postür

Kan grubu

Menstruel siklusun dönemi

Sigara kullanımı

Sirkadian değişiklikler

Yaş

Bazen ayrıştırmada yaş gruplarını (postnatal, infant, çocuk, ergenlik, erişkin, premenapozal, post menapozal, geriatrik gibi) kullanmak daha uygun olabilir (2).

Araştırılan referans topluluğu tanımlamakta yararlı olan dışlama, dahil etme ve ayırma kriterleri çalışmanın başında seçilerek bir anket ile gönüllüler içerisinde araştırılan referans bireyler seçilir.

Kişilerin erişim bilgileri de kaydedilmelidir. Çalışmanın tüm aşamalarında olduğu gibi anketlerde de kişisel bilgilerinin gizliliğine dikkat edilmelidir. Katılımcılardan sözlü ve yazılı olarak aydınlatılmış onam alınmalıdır. Ulusal ve uluslararası etik kurallara uyulmalıdır(5).

### **2.4.3. Referans Bireylerin Seçimi**

### 2.4.3.1. İndirekt Yöntem

Referans aralık tespitinin sağlıklı bireyler ile yapılması tercih edilmekle birlikte bunun masraflı ve zahmetli oluşu laboratuvarların önündeki bir zorluktur. Ayrıca bazı özel yaş gruplarında referans aralık tespitinde sınırlamalar vardır (Geriatrik, pediatrik yaş grupları v.b.). Günümüzde hastaneler hastaların tüm test sonuçlarını, yaş, tanı v.b. pek çok bilgisini Hastane Bilgi Yönetim Sistemi (HBYS) ve Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi (LBYS) üzerinde dijital olarak depolamaktadır. 1963 yılında Hoffmann hastane verilerinin toplam dağılımında normal değerlerin de saklı olduğunu önermiştir (19,20). 1967 yılında Bhattacharya'nın (21) indirekt referans aralık yöntemi, hastaneye başvuranların çoğunluğunun aslında o kadar da hasta olmadığı fikrine dayanmaktadır. Yüksek sayılardaki kümülatif verilerin daha yoğun olduğu bölgenin normal dağılıma uyduğu görüşünü savunur. Yöntem göreceli olarak ucuz ve basit olmasına rağmen hastane verilerinden sağlıklı kişilerin verilerinin de çalışmaya dahil edilmemesi için azami dikkat gerektirir. Özel hasta popülasyonuna sahip hastanelerden (kadın doğum, onkoloji, ortopedi dal hastaneleri gibi) indirekt metodu elde edilecek hasta verileri hastaneler arasında büyük farklılıklar gösterebilir (19). Dışlama, ayırma kriterleri ve istatistik prosedürleri ile toplam verilerden ayrıştırılan verilerle referans aralığı elde edilir (5). İndirekt tespiti mümkün kılan bilgisayar programları da vardır (22).

### 2.4.3.2. Direkt Yöntem:

Çalışmanın tüm aşamaları detaylı bir şekilde tanımlanarak gerekli hazırlıklar yapılır: Araştırılacak referans topluluk ve analitlerin özellikleri araştırılır. Analitik ve preanalitik değişkenler belirlenir ve standardize edilir. Dışlama, dahil etme ve alt gruplara ayırma kriterleri belirlenerek referans bireyi tanımlayan bir anket hazırlanır. Postanalitik istatistik yaklaşım belirlenerek çalışmanın referans birey sayısı planlanır. Çalışma için gerekli izinler alınır, ekipman ve mali kaynak temin edilir.

Hazırlanan çalışma prosedürüne uygun şekilde numuneler alınır. Analitik safha, kalite kontrolleri yapılarak ve analitik değişkenler kontrol altında tutularak tamamlanır.

Elde edilen test sonuçlarında alt grupların varlığı ve uç değerler araştırılır. Verilerin dağılımı ve kişi sayısı dikkate alınarak referans aralıklar hesaplanır. Güven aralıkları hesaplanır.

## **2.5. Örneklerin Toplanması**

Birey içi ve bireyler arası biyolojik değişkenler, preanalitik değişkenler, ölçüm sisteminin analitik değişkenleri, referans aralıkların genişliğini etkileyen ana değişkenlerdir ve standardize edilmelidirler (4).

İncelenecek analitlerin ve referans topluluğun etkilendikleri preanalitik faktörler belirlenir ve standardize edilir. Önceki bölümde bahsedilmiş olan dahil etme ve dışlama kriterlerine göre hazırlanmış bir anket ve örnek alım prosedürü belirlenip tüm referans bireylere aynı tanımlanmış koşullar hazırlanmalıdır. Böylece sonuçlarda preanalitik değişkenlerden doğacak varyasyonların etkisi en aza indirilmiş olur. Anket ile numune alım öncesi hazırlık sorgulanır.

Numune alım zamanı, alındığı bölge (önkol, scalp vb.), örnek alınan bölgenin hazırlanması, alım şekli (kateter, holder, enjektör), turnike süresi, numune tipi (venöz, arteriel, peritoneal mayi vb.), numunenin toplandığı tüp tipi (jelli, heparinli vb.), alım öncesi istirahat pozisyonu ve süresi, alım anındaki postür, numune alındıktan sonra bekleme süresi, beklediği ortamın sıcaklığı, eğer santrifüj edilecekse; santrifüjün tipi, süresi, göreceli santrifüj kuvveti (rcf), santrifüj sonrası hemen analiz edilmeyecekse; saklama koşulları, süresi belirlenir ve tüm gönüllülere aynı işlemler uygulanır.

## **2.6. Numunelerin Analiz Edilmesi**

Referans aralıklar ölçüm yönteminin analitik çeşitliliğinden de etkilenecektir. Bu yüzden referans aralık ölçümü yapan laboratuvarın analitik geçerliliğini ispatlaması



gerekmektedir. Analitik performansı etkileyebilecek tüm faktörler (reaktifler, kalibratörler vb.) kontrol altında olmalıdır. Lotlar arası ve laborantlar arası çeşitliliği de içermelidir. Kalite kontrol materyali kullanılmalı, ölçüm günlere bölünmeli günlerarası varyasyon da çalışma sonuçlarına yansımalıdır (5).

## **2.7. Referans Aralıkların Hesaplanması**

Verilerin dağılım grafiği incelenir. Normal dağılıma uygun veriler parametrik, normal dağılıma uymayan veriler nonparametrik olarak değerlendirilir (11).

Biyolojik analitlerin dağılımı genellikle normal dağılıma uygun olmamaktadır. Bu nedenle çoğu zaman nonparametrik yöntem tercih edilir. Normal dağılıma uymayan veriler logaritmik transformasyona tabi tutulursa parametrik yöntem kullanılabilir (4).

IFCC ve CLSI nonparametrik yöntemi tavsiye etmektedir. Bununla birlikte 2008'den bu yana parametrik ve nonparametrik yöntemlere ek olarak düşük sayıda örnek varlığında Robust (23) ve Bootstrap'ı (8,16,24,25,26) da kullanılabilecek yöntemler arasına almıştır (2,5).

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

0,025 ve 0,975 persentilleri tanımlayabilmek için en az 40 veriye ihtiyaç vardır (11).

Parametrik veya non parametrik yöntemin % 90 güven aralığında uygulanabilmesi için gerekli minimum veri sayısı 120 olarak bildirilmektedir (4,11,27). Bu sayı güven aralığının yüzdesi arttıkça artar. Alt gruplar için farklı referans aralık ihtiyacı varsa bu gruplardan da en az 120 veri elde edilmesi önerilmiştir (5). Yapılan bir çalışmadan güvenilir ve stabil aralıkların %99 güven aralığıyla eldesi için yaklaşık 200 veriye ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (28). Referans birey sayısı ne kadar çok olursa güven aralığı o kadar dar olur ve elde edilen referans aralık da o kadar güvenilir olur (11).

Ancak Robust (29) ve Bootstrap (30) yöntemleri ile 120'nin altındaki veri sayılarında da referans aralık eldesi mümkündür (2). Robust metod, parametrik metoda benzer ancak parametrik metoddaki gibi ortalama ve SD'yi değil konum ve yayılımı kullanır (2). Horn ve arkadaşları parametrik, nonparametrik yöntem ile robust yöntemi karşılaştırdıkları makalelerinde robustun düşük numune sayılarında daha iyi bir güvenilirlik seviyesinde referans intervaller hesaplanmasına olanak verdiğini bildirmiştir (31).

Bootstrap metoda 'n' sayıdaki esas veri öbeğinden 'm' sayıda veri rastgele çekilerek (aynı veri birden çok seçilebilir) oluşturulan 'm' sayıdaki yeni örneklemin referans aralıkları hesaplanır (2). Bu yeniden örnekleme işlemi defalarca (500 kez gibi) tekrarlanır (2). Tüm hesaplanan alt ve üst limitlerin ortalaması alınarak nihai referans aralık ve güven aralığı hesaplanır (2).

RMSE (Root Mean Squared Error): Referans aralık elde yöntemlerinin bias, imprecizyonunun derecelendirilmesinde ve performanslarının değerlendirilmesinde kullanılan bir ölçektir.

Coşkun ve arkadaşları, hafif bir presizyon kaybı ile az örnek sayılarında 120 örnekli nonparametrik yöntemle çok yakın referans intervaller ve güven sınırları elde etmenin mümkün olduğunu bildirmiştir (32).

Linnet nonparametrik referans aralık eldesinde basit ve bootstrap yöntemini karşılaştırdığı çalışmasında örnek sayısı azaldıkça güven aralığı genişleyeceğinden (n=40'ta %70 güven aralığı hesaplanabilmiş) bootstrap yönteminin 100 civarındaki veri sayılarında uygulamasını önermiştir. Yöntem veri sayısında %10 -15 tasarruf yapılabilmesine olanak verir (30).

Bootstrap yönteminde 120 'den az veri sayısında %90 güven aralığını hesaplamak mümkündür (30).

Fazla referans birey sayısına ulaşılamazsa, kesin referans limitler elde edilemezse bile az sayıdaki verilerin liste halindeki sunumu da klinik amaçlara hizmet edebilir (11).

Bir referans aralık çalışmasında veri sayısının artmasının hesaplanacak referans aralığın kalitesine artık katkı sağlamayacağı en üst veri sayısının hesaplanması için Hawkins ve Badrick'in önerdiği bir formül de mevcuttur (33)

### 2.7.2. Uç Değerlerin Tespiti

Dağılım simetrik olduğundan uç değer eliminasyonu  $\pm a$  SD sınırının dışında kalan değerler uç değer olarak değerlendirilerek atılabilir. Burada a, 3 veya üzeri bir değer belirlenmelidir. Aksi takdirde uç değerler atıldıkça veri sayısı çok düşer ve toplumu yansıtmakta yetersiz kalabilir (24). Ayrıca uç değerlerin belirlenmesinde kullanılan, normal dağılımlı verilerde iyi sonuç veren, Healy, Smirnov, Ichihara ve Kawai 'nin de yöntemleri mevcuttur (24).

*Dixon D/R kuralı* : (24,34)

En çok kullanılan yöntemlerdendir.

D: Aşırı uç olup olmadığı araştırılan değer kendinden bir önceki değere uzaklığıdır.

R: Tüm verilerin (dışlanması araştırılanlarda dahil) en küçüğü ile en büyüğü arasındaki aralıktır.

$D/R > 0.33$  ise araştırılan değer uç değer olarak kabul edilip çıkartılır. Bu işlemde sonra histogram yenilenerek uç değerlerin varlığı tekrar araştırılmalıdır.

*Horn Algoritmi* (Tukey metodu): Eğer verilerin dağılımı normal değilse transformasyona ihtiyaç vardır. Power transformasyon ailesinden (Box-Cox transformasyonu vb.) uygun bir transformasyon ile parametrik hale getirilir. Sonra Tukey Robust (35) istatistiğine göre inter quartil range (IQR) hesaplanır.

$$Q3 - Q1 = IQR$$

Burada Q3: 75. persantili, Q1: 25. Persantili temsil eder.

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

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

Bu sınırların dışında kalanlar uç değer olarak atılır. Veriler tekrar transforme edilir.

Solberg ve Lahti, Horn algoritmini sınadıkları çalışmada sonuçların verilerin dağılım tipine ve uç değerlerin yerine bağlı olarak fazlaca değişkenlik gösterdiğini, uçdeğer eliminasyonunun hala üzerinde çalışılması gerekli bir alan olduğunu belirtmişlerdir (36) .

*LAVE (Latent Abnormal Value Exclusion) Yöntemi:* Uç değerlerin çok değişkenli bir yaklaşımla incelenmesini önerir (24). LAVE metodunda sık görülen hastalıkların (metabolik sendrom, diyabet veya anemi gibi) tanısında kullanılan bazı test sonuçlarının (GLU, TRİG, HDL-K, LDL-K, Hemoglobin vb.) dışlama kriteri olarak kullanılması önerilmektedir. Bu arada sağlıklı bireylerde anormal sonuçların seyrek görüldüğü parametreler (Na, K, Cl, CRE, ALP, Üre vb) önerilen listeye dahil edilmemiştir (24) .

### 2.7.3.Alt gruplara ayırma kararı

Oluşabilecek alt grupların varlığı göz önüne alınarak veri sayısı ve çalışma planı belirlenmelidir. Alt grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olup olmadığı araştırılırken ve ayırma kararı verilirken klinik yararlılık da göz önünde tutulur (2).

Parametrik Yöntem:

İki alt grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığına Student's t testi, çok sayıda alt grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığına ise nested ANOVA ile bakılabilir (24).

Nonparametrik Yöntem:

*Sinton, Crowley ve Bryant' in önerisi:* Alt grupların ortalamalarının farkına bakılmasıdır. Eğer bu fark tüm gruptan elde edilen aralığın  $\frac{1}{4}$  'ünden büyükse alt gruplar birleştirilmez (37).

*Harris ve Boyd yöntemi:* Eğer iki alt grup arasındaki fark araştırılıyorsa kullanılabilir (24). Alt grupların ortalamaları arasındaki fark ve standart sapmaları değerlendirilerek ayırma kararı verilir(26)(38). Örneğin kadın ve erkek için farklı aralıkların tespit edilmesi gerekip gerekmediği araştırılıyorsa her iki grubun ortalamaları ( $x_1$  ,  $x_2$ ) standart sapmaları ( $S_1$  , $S_2$ ) ve kişi ( $n_1$  , $n_2$ ) sayıları alınır. Bu veriler Harris-Boyd denklemine yerleştirilerek z

değeri hesaplanır. Hesaplanan z değeri kritik değer ile karşılaştırılarak ayırma kararı verilir (38).

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

$Z_{Hesaplanan} > Z_{kritik}$  ise fark vardır ve alt grupların referans aralığı ayrı ayrı hesaplanır.

*Lahti yöntemi:* Alt grupların, referans aralığın alt ve üst limiti dışında kalan yüzdeleri hesaplanarak ayırma kararı verilir (39,40). Alt grupların, alt gruplara ayırmadan önce elde edilen referans aralığın alt ve üst limiti dışında kalan yüzdelerine bakılır (24). Çok sayıda alt grubu olan ve az sayıda verisi olan çalışmalarda uygulanabilirliği düşüktür (24). Standart sapması büyük olan alt grubun standart sapma değeri, küçük olanın 1,5 katından büyükse alt gruplar ayrı ayrı hesaplanır (24).

*Fraser yöntemi:* (24,41) Standart sapma cinsinden ifade edilen biyolojik varyasyonun büyüklüğüne göre ayırım yapıp yapılmayacağı kararı verilir.

*Ichihara metodu:* Varyasyonları araştırırken standart sapmadan elde edilen verileri kullanır. Dağılım eğer normal değilse, verilere logaritmik transformasyon uygulanması gerekir (24).

Ayrıca iki alt grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığına Mann Whitney U testi, çok sayıda alt grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığına ise Kruskal Wallis analizi ile bakılabilir(4,24).

#### 2.7.4.Referans Değerlerin Sınırlarının Belirlenmesi

Parametrik Yöntem:

Simetrik dağılımdan ötürü aşağıdaki formüller ile hesaplanır (2).

Alt sınır = (Aritmetik Ortalama) - (1,96 SD)

Üst sınır = (Aritmetik Ortalama) + (1,96 SD)

Nonparametrik Yöntem (4,24,30) :

Alt sınırın sıra numarası =  $0,025 (n+1)$

Üst sınırın sıra numarası =  $0,975 (n+1)$

Ayrıca alt ve üst sınırların tespiti için önerilmiş  $0,025n+0,5$  ve  $0,975n+0,5$  şeklinde bir alternatif formül de mevcuttur (4,30). Linnet, 120'nin altındaki veri sayılarında bu formülün bootstrap yöntemiyle birlikte daha iyi sonuç verdiğini belirtmiştir (30).

### 2.7.5.Güven Aralıkları

IFCC'nin önerdiği 120 ve üzeri birey sayısına çeşitli nedenlerle ulaşılamadığında güvenlik aralıkları, elde edilen referans aralığının belirsizliğinin tespitinde faydalıdır (42). Güven aralıkları; az referans değer varlığında anlamlı referans intervaller elde etmek için kullanılabileceği gibi, fazla referans değer varlığında da intervalin presizyonu hakkında bilgi verir (42). Nonparametrik veya parametrik olarak hesaplanabilir. IUPAC (The International Union of Pure and Applied Chemistry) ve IFCC nonparametrik güven aralığı eldesini önermiştir (42).

Nonparametrik yöntemde güven aralığını belirleyen sıra numaraları IFCC'nin ilgili tablolarından bulunan değerlerden hesaplanabilir (4).

### 2.8.Diğer referans aralık elde yöntemleri

Ayrıca metod veya otoanalizör değiştiğinde mevcut referans aralığının transferi yoluna da gidilebilir (2). Özellikle etik kaygılarla (pediatrik yaş grupları gibi) referans birey sayısının kısıtlandığı durumlarda farklı bir laboratuvarında üretilen referans aralığın

transfer edilerek kullanımı pratiktir (2). Referans aralıkların transferinde öncelikli şart iki popülasyonun etnik, sosyal, çevresel vb. faktörler bakımından benzerliğinin incelenmesidir (2). Benzerlik tespit edilse dahi transfer işlemi pek çok analitik prosedür gerektirir (2). Doğrudan referans aralıkların tespit edilemediği durumlarda mevcut bir referans aralığın hedef popülasyona uygunluğunun denetlendiği verifikasyon yapılabilir (4). CLSI' nın önerisine göre verifikasyon şöyle yapılır; farklı bir laboratuardan, çok merkezli bir çalışmadan veya üreticiden alınacak referans aralık transfer edileceği zaman 20 adet referans değerden en fazla 2 tanesi önerilen referans aralığın dışına çıkıyorsa bu değerler transfer edilebilir (2).

### **3.MATERYAL VE METOD**

CLSI ve IFCC'nin önerileri doğrultusunda preanalitik, analitik ve postanalitik faktörlerin standardize edilmesi için prosedürler net bir şekilde oluşturuldu ve bu prosedürlere dikkatle uyuldu.

#### **3.1.Analitlerin seçilmesi**

Referans aralık eldesi zor ve masraflı bir süreçtir. Bir bireyden tek seferde alınacak kan miktarının sınırlı tutulması gerekliliği ve maliyetler laboratuvarımızda çalışılan tüm testlerin referans aralığının tek seferde teminine olanak vermemektedir. Bu yüzden laboratuvarımızdan en çok istenen testler incelendi. Çalışıldığı numune çeşidine göre serum dışında numunelerden çalışılan parametreler elendi. Böylece en az numune hacmi ile en çok parametreyi çalışabilmek hedeflendi. Numunelerin bir süre saklanıp çalışılması planladığından analitleri etkileyen preanalitik değişkenler ve stabiliteleri incelenerek stabilitesi düşük analitler (PTH gibi) elendi. Çok fazla alt grup oluşturabilecek parametreler (FSH, LH gibi) elendi.

Sonuç olarak numune hacmi, referans birey sayısı ve maliyet göz önüne alınarak çalışabilecek en fazla analit sayısına ulaşılmaya çalışıldı.

#### **3.2.Adayların seçilmesi**

18-65 yaş arası 158 sağlıklı gönüllüye anket (Bkz. Ek-1) yapılarak çalışmaya uygunlukları denetlendi.

Gönüllülerin, parametrelerin düzeylerini etkileyebilecek diyet, egzersiz, hastalık, ilaç kullanımı v.b. bir durumu olup olmadığı bu anketle sorgulandı.



Beden Kitle İndeksi >30 ve <18,5 olanlar, alkol veya sigara kullananlar, düzenli ilaç (vitamin v.b.) ve bitkisel destek kullananlar, son iki hafta içinde grip, soğuk algınlığı geçiren veya hastanede yatanlar, son iki hafta içinde analjezik, ağrı kesici kullananlar, HBV, HCV veya HIV taşıyıcıları çalışmaya dahil edilmedi. Ayrıca kadın gönüllülerden; gebe olanlar, son bir yıl içinde doğum yapanlar, emziren veya oral kontraseptif kullananlar kabul edilmedi.

Bilinen bir hastalığı (guatr, anemi, diyabet v.b.) olanlar ve tıbbi özgeçmişinde guatr olanlar da çalışmaya alınmadı. Aile geçmişinde anemi, koroner arter hastalığı, guatr vb öyküsü bulunanlar ankete not düşülerek alındı.

150 gönüllünün yaş gruplarına göre dengeli bir dağılımda olmasına özen gösterildi.

### **3.3. Etik konular**

Çalışmamız KTÜ Tıp Fakültesi Etik kurulundan (Etik kurul no: 2012/168) onay almıştır. Araştırmacılar Helsinki Bildirgesini okuyup onaylamıştır. Gönüllüler çalışma hakkında sözlü ve yazılı olarak bilgilendirilerek varsa soruları cevaplanmış ve aydınlatılmış onam vermişlerdir. Çalışmamız K.T.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi (No: 9720) tarafından desteklenmeye layık görülmüş, proje giderleri bu fon tarafından karşılanmıştır. Araştırmacıların bildirecekleri bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### **3.4. Numunelerin kabulü ve saklanması**

Bilgilendirilmiş gönüllü onamı (Bkz. Ek 2) imzalayan ve anket uygulanıp, çalışmaya katılmaya uygun bulunan gönüllülerden randevu verilen gün ve saatte 10-12 saat açlığı takiben sabah saat 08:00-10:00 arası, 15-20 dakikalık oturarak istirahat sonrası, ön koldan, vakumlu, jelli (Becton Dickinson Vacutainer, Cat no: 367953 ) biyokimya tüplerine, turnike kan alım bölgesinden 5-10 cm yukarıya uygulanarak, turnike süresi 1 dakikayı aşmayacak şekilde kan alındı. Numune verilmesinden 3 gün öncesine kadar ağır egzersiz yapmamış kişiler çalışmaya alındı. Gece vardiyası sonrası gelen gönüllülerden numune kabul edilmedi. Alınan numuneler 30 dakika oda ısısında pıhtılaşma için bekletildikten

sonra santrifüj (Eppendorf 5810, soğutmalı santrifüjde, 10 dakika, 1500 g) edildi. Dört aliquot bölünerek  $-80^{\circ}\text{C}$  de saklandı.

### 3.5. Analitik sürecin değerlendirilmesi

Analitik safha planlanırken çalışma süresince yetecek miktarda aynı lot nolu kontrol temin edildi.

Hedeflenen numune sayısına ulaşıldığında numuneler 4 güne bölüştürüldü.

Cihazların bakım, kalibrasyon, internal ve eksternal kalite kontrol süreçleri incelendi.

Her çalışma gününde o gün çalışılması planlanan numuneler  $-80^{\circ}\text{C}$ ' den çıkartılarak 5 saat  $-20^{\circ}\text{C}$ ' de, 5 saat  $+4^{\circ}\text{C}$ ' de bekletilerek kademeli olarak çözdürüldü. Numuneler yaklaşık 2 saat içinde oda sıcaklığına getirilip vorteksenerek (Stuart Scientific Autovortex Mixer Sa2) ve ependorflar el ile 10 defa alt üst edilerek otoanalizörde ticari reaktiflerle çalışıldı. Örnekler Beckman Coulter serum indeksi kiti ile hemoliz, lipemi ve ikter açısından değerlendirildi.

Çalışmamızda KTÜ Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında bulunan

*Beckman Coulter Unicel DXI 800 Access* (AFP, FER, FOL, CA 125, CA 15.3, CA19.9, CEA, KOR, B12, FPSA, FT3, FT4, TES, TSH, TPSA),

*Siemens Immulyte 2000* (ATA, TG ve ATG ) ve

*Beckman Coulter AU5800*: (ALT, ALB, ALP, Amilaz, AST, CRP, DBİL, GGT, GLU,  $\text{PO}_4$ , HDL-K, LDL-K, Üre, KOL, Na, K, Cl, CRE, LDH, Mg, UIBC, TRİG, TBİL, Fe, Ca, TP, ÜA) otoanalizörleri ile bunların orijinal kitleri kullanılmıştır.

*Kullanılan kalibratörler:*

System Serum Calibrator (ALT, ALB, ALP, Amilaz, AST, DBİL, GGT, GLU,  $\text{PO}_4$ , Üre, KOL, CRE, LDH, Mg, UIBC, TRİG, TBİL, Fe, Ca, TP, ÜA) (OE66300),

Beckman Coulter HDL-Cholesterol Calibrator (ODC0011),

Beckman Coulter LDL-Cholesterol Calibrator (ODC0012),

Beckman Coulter CRP Latex Calibrator Normal Set (ODC0026),

Beckman Coulter ISE High/ Low Serum Standard (Na, K, Cl ) (OE66316/OE66317),

Beckman Coulter Access AFP Calibrator (33215),

Beckman Coulter Access Ferritin Calibrator(33025),  
 Beckman Coulter Access Folate Calibrator (A98033),  
 Beckman Coulter Access Cortisol Calibrator (33605),  
 Beckman Coulter Access FREET3 Calibrator (A13430),  
 Beckman Coulter Access FREET4 Calibrator (33885),  
 Beckman Coulter Access CEA Calibrator (33205),  
 Beckman Coulter Access Vitamin B12 Calibrator (33005),  
 Beckman Coulter Access BR Monitor Calibrator (CA 15.3) (387647),  
 Beckman Coulter Access OV Monitor Calibrator (CA 125) (386358),  
 Beckman Coulter Access GI Monitor Calibrator (CA19.9) (387688),  
 Beckman Coulter Access Hybritech FREEPSA Calibrator (37215),  
 Beckman Coulter Access Testosteron Calibrator (33565),  
 Beckman Coulter Access Hypersensitive hTSH Calibrator (33825) ,  
 Beckman Coulter Access Hybritech PSA Calibrator (37205),  
 Immulite Systems ATA Adjustor Low/High (LTOL 127 / LTOH 127),  
 Immulite Systems ATG Adjustor Low/High (LTGL 125/ LTGH 125),  
 Immulite Systems TG Adjustor Low/High (LTYL 122/ LTYH 122).

*Kullanılan kalite kontrol materyalleri:*

Beckman Coulter ITA Control Serum (ODC0015): CRP  
 Beckman Coulter HDL/ LDL Control Serum (ODC0005): HDL-K, LDL-K  
 Beckman Coulter Control Serum (ODC0003, ODC0004): GLU, CRE, ÜA, TP, ALB, TBİL, DBİL, ALP, ALT, AST, GGT, Amilaz, Ca, PO<sub>4</sub>, KOL, TRİG, LDH, Na, K, Cl, Mg, Fe, UIBC  
 Biorad Lyphocheck® Immunassay Plus Control (Cat 371.372): TSH, FT3, FT4, TES, KOR, T.PSA, F.PSA, B12, FOL, FER  
 Biorad Lyphocheck®Tumor Marker Plus Control (Cat 367.368): CA 19.9, CA 125, CA15.3, CEA, AFP;  
 Siemens Immulyte Systems TG Control (LTYCM): TG  
 Siemens Immulyte Systems TAD Control (LAACM): ATA ve ATG

Klinik kimya parametrelerinin tayin yöntemleri ve özellikleri Tablo-1 de, hormonlar ve tümör belirteçlerinininkiler tablo-2 de verilmiştir.

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

Analit	Yöntem	Alt ve Üst Okuma limitleri	Birim
ALB	Fotometrik Kolorimetrik (BCG)	1,5 – 6	g/dL
ALP	Kinetik Kolorimetrik (IFCC)	5-1500	U/L
ALT	Kinetik-U.V, Piridoksal-5'-fosfatsız (IFCC)	3 – 500	U/L
Amilaz	Kolorimetrik Kinetik (IFCC)	10 - 1500	U/L
AST	Kinetik-U.V, Piridoksal-5'-fosfatsız(IFCC)	3 - 1000	U/L
Ca	Kolorimetrik (Arsenazo III)	4 – 20	mg/dL
Cl	İyon Spesifik Elektrod ile İndirekt	50-200	mEq/L
CRE	Kinetik Kolorimetrik Jaffe (IFCC-izlenebilir)	0,2-25	mg/dL
CRP	İmmuno-Türbidimetrik	0,02-48	mg/dL
DBİL	Kolorimetrik (3,5 Diklorofenil Diazonyum Tetrafloroborat)	0-10	mg/dL
Fe	Kolorimetrik (TPTZ (2,4,6-Tri-(2-piridil)-5-triazin))	10-1000	ug/dL
GGT	Kolorimetrik Kinetik (IFCC)	5-1200	U/L
GLU	Enzimatik UV (Hekzokinaz/ Glukoz-6-P Dehidrogenaz)	10-800	mg/d
HDL-K	Enzimatik Kolorimetrik (Kolesterol Oksidaz-Peroksidaz) ve İmmun inhibisyon	2-180	mg/dL
K	İyon Spesifik Elektrod ile İndirekt	1 -10	mEq/L
KOL	Enzimatik Kolorimetrik (Kolesterol Oksidaz-Peroksidaz)	20 - 700	mg/dL
LDH	Kinetik UV Test (IFCC ; L->P)	25 - 1200	U/L
LDL-K	Enzimatik Kolorimetrik (Kolesterol Oksidaz-Peroksidaz)	10-400	mg/dL
Mg	Kolorimetrik Test (Ksilidil mavisi)	0,5 – 8	mg/dL
Na	İyon Spesifik Elektrod ile İndirekt	50-200	mEq/L
PO <sub>4</sub>	UV Test (Molibdat)	1 – 20	mg/dL
TBİL	Kolorimetrik Test (3,5-diklorofenildiazonyum tetrafloroborat)	0 – 30	mg/dL
TP	Kolorimetrik Test (Biüret)	3-12	g/dL
TRİG	Enzimatik Kolorimetrik (Gliserol Fosfat Oksidaz/Peroksidaz)	10-1000	mg/dL
UIBC	Kolorimetrik Test (Nitroso-PSAP)	55 - 550	µg/dL
ÜA	Enzimatik kolorimetrik (Ürikaz/ Peroksidaz)	1,5-30	mg/dL
Üre *	Kinetik UV ( Üreaz /Glutamat Dehidrogenaz)	5-300	mg/dL

\*BUN(mg/dl); Üre / 2,14 formülü ile hesaplanarak raporlanmaktadır.

Tablo-2 : Hormonlar ve Tümör Belirteçleri ölçüm yöntemleri ve alt ve üst okuma limitleri

Analit	Yöntem	Alt ve Üst Okuma limitleri	Birimi
AFP	Kemilüminesans İmmünassay	0,5 - 3000	ng/mL
B12	Kemilüminesans İmmünassay	50 – 1500	pg/mL
CA 19.9	Kemilüminesans İmmünassay	0,8 – 2000	U/mL
CA125	Kemilüminesans İmmünassay	0,5 – 5000	U/mL
CA15.3	Kemilüminesans İmmünassay	0,5 – 1000	U/mL
CEA	Kemilüminesans İmmünassay	0,1 – 1000	ng/mL
FPSA	Kemilüminesans İmmünassay	0,005 – 20	ng/mL
FER	Kemilüminesans İmmünassay	0,2 – 1500	ng/mL
FOL	Kemilüminesans İmmünassay	0,5 – 20	ng/mL
FT3	Kemilüminesans İmmünassay	0,88–30	pg/mL
FT4	Kemilüminesans İmmünassay	0,15 – 6	ng/dL
KOR	Kemilüminesans İmmünassay	0,4 – 60	µg/dL
TPSA	Kemilüminesans İmmünassay	0,008 – 150	ng/mL
TES	Kemilüminesans İmmünassay	0,1 – 16	ng/mL
TSH	Kemilüminesans İmmünassay	0,015- 100	µIU/mL
ATA	Kemilüminesans İmmünassay	10-1000	IU/mL
ATG	Kemilüminesans İmmünassay	20-3000	IU/mL
TG	Kemilüminesans İmmünassay	0,2-300	ng/mL

Yaklaşık 160 numune 40'arlı 4 gruba ayrılarak, 4 çalışma gününde okutuldu. Her sabah çalışmaya başlarken ve 10 numunede bir en az iki seviye kalite kontrol serumu okutuldu. Her seviyeden günde 5-7 adet, 4 çalışma gününde toplam 20-25'er adet kalite kontrol sonucu elde edildi.

Analizler süresince elde edilen iç kalite kontrol sonuçlarından oluşturulan istatistik veriler ile gün içi ve günler arası değişkenlik değerlendirildi. Bu değerlendirmeden elde edilen veriler, bulgular bölümünde sunulmuştur.

Ayrıca testlerin laboratuvarımızın dahil olduğu Biorad EQAS ve KBUDEK dış kalite kontrol programlarındaki performansları izlendi.

ATA ve ATG alt okuma sınırları sırasıyla 10 IU/mL ve 20 IU/mL' dir. Numunelerin büyük çoğunluğu bu değerlerin altında olup <10 ve <20 şeklinde raporlanmıştır. '<' ve '>' işareti olan değerlerin istatistik hesaplamalarda kullanılabilmesi mümkün değildir. Bu nedenle ATA için 10'nun altında, ATG için 20'nin altındaki değerler , CPS (Count per scatter) değerleri alınıp oranlanarak elde edilen değerlerdir. Bu değerlerden elde edilen verilerin her ne kadar istatistik olarak alt sınırları hesaplanabilmişse de '< üst sınır' şeklinde sunulmasının daha doğru olacağını düşünmekteyiz.

### **3.6.Verilerin değerlendirilmesi ve referans aralık eldesi**

Sonuçların istatistik değerlendirilmesinde ve uç değerlerin, referans aralıklarının ve güven aralıklarının tespitinde MedCalc programı 12.7'nin 15 günlük deneme versiyonu kullanıldı. Toplamda 120 üzerinde veriye sahip parametrelerde analiz sonuçlarının dağılımı normal dağılıma uygun ise parametrik yöntem , değilse nonparametrik yöntem kullanıldı. 120'den az veri içeren testlerde robust yöntemi uygulandı.

#### **3.6.1.Dağılımın değerlendirilmesi**

Verilerin normal dağılıma uygunlukları histogramları çizilerek ve Kolmogrov Smirnov (K-S) testi ile incelendi.

#### **3.6.2.Uç değerlerin atılması**

Verilerin histogramı çizildi ve Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı. İki testin sonuçları da dikkate alınarak analitler normal dağılıma uyan ve uymayanlar şeklinde iki gruba ayrıldı. Analitlerde normal dağılıma uyan verilerin uç değeri  $\pm 3$  SD yöntemine göre atıldı. Normal dağılıma uymayan verilerin uç değerleri Tukey yöntemi ile atıldı. Uç değerler atıldıktan sonra tekrar histogram ve K-S testi uygulandı. Sadece BUN ve TPSA nonparametrik iken, uçları atıldıktan sonra parametrik bir hale geldi. Cinsiyet açısından alt gruplara ayırma kararı için Harris-Boyd yöntemi, Lahti yöntemi uygulandı. Ayrıca normal dağılıma uygunluklarına göre Student t ve Mann Whitney U testi ile cinsiyetler arası fark

olup olmadığına bakıldı. Bu 3 yöntemden elde ettiğimiz veriler ve klinik ihtiyaçlar dikkate alınarak cinsiyet bakımından alt gruba ayrılacaklar belirlendi.

### **3.6.3.Referans aralıkları ve güven aralıklarının tespiti**

Cinsiyet bakımından alt gruba ayrılanlarda ve sadece erkeklerde bakılan FPSA ve PSA'da veri sayısı 120'nin altında olduğu için bunlarda Robust yöntemi ile referans aralık ve güven aralıkları belirlendi. Diğer parametrelerde dağılım özelliğine göre parametrik veya nonparametrik yöntem ile referans aralıklar ve güven aralıkları belirlendi.

## 4.BULGULAR

### 4.1.Çalışma Grubuna Ait Demografik Veriler

Gönüllülerin 81'i (%51,2) kadın, 77'si (%48,8) erkek katılımcılardan oluşmaktadır. Yaş ortalaması  $38,7 \pm 13,1$  (kadın yaş ortalaması:  $38,9 \pm 12,5$  (min:19, max:78) ve erkek yaş ortalaması:  $38,3 \pm 13,8$  (min:18, max:74)) idi. Çalışmaya katılan kişilerin %93'ü Doğu Karadeniz Bölgesinde %7'si diğer bölgelerde doğmuştur. Katılımcıların tümü Doğu Karadeniz Bölgesinde yaşamaktadır. Katılımcıların vücut kitle indeksi ortalaması  $25,6 \pm 3,1$  (min:18,0 , max:29,8) idi ve gönüllülerin 25'i (%15) düzenli spor yapma alışkanlığına (ortalama 3,3 saat /hafta) sahiptir. Katılımcılar ortalama  $12,6 \pm 1,6$  saat açlığı takiben kan vermişlerdir.

### 4.2.Çalışılan Parametrelere Ait Analitik Performans Verileri

Hastalar her gün için 40'ar kişilik gruplara ayrıldı. Her 10 numunede bir kalite kontrol çalışıldı. Bir kontrol,  $\pm 2$  SD dışında gelirse gerekli müdahale (kalite kontrol tekrarı, kalibrasyon, kit değişimi, kontrol değişimi vb.) yapıldı. Müdahale ile düzeltme yapılırsa geçerli sayılan son kontrol ile geçersiz gelen kontrol arasındaki çalışılmış numuneler tekrarlandı ve geçersiz olan kontrol analitik performans verilerinden çıkarıldı. Bu şekilde 4 gün içindeki toplam elde edilmiş analitik performans verileri ile günler arası değerler hesaplanırken, okumaların yapıldığı günlerden rastgele bir günün kalite kontrol sonuçlarıyla da gün içi veriler hesaplandı. Parametreler üretici tarafından verilen hedef değerle biyokimya parametrelerinde  $\pm 1$  SD, hormon ve tümör markerlarındaysa  $\pm 2$  SD sınırları arasında dağılmaktaydı. Analitik performans verileri Tablo-3' te sunulmuştur.



Tablo-3: Parametrelerin analitik performans verileri

Analitler	Birim	Üreticiden elde edilen			Laboratuardan elde edilen değerler					
		(Beklenen) değerler			Gün içi değişkenlik			Günler Arası Değişkenlik		
		Düzyey	Ortalama	SD	(n: 5)			(n: 20)		
				Ortalama	SD	%CV	Ortalama	SD	%CV	
ALB	g/dL	1	2,35	0,27	2,28	0,05	1,96	2,27	0,05	2,2
		2	4,5	0,52	4,5	0,05	1	4,5	0,08	1,8
ALP	U/L	1	123	15,4	129	2,9	2,2	122	8,86	7,2
		2	536	67	575	12	2	550	33	6
ALT	U/L	1	41,6	4,8	43,6	1,1	2,6	43,3	1	2,3
		2	128	14,6	131	2,1	1,6	131	2,4	1,8
Amilaz	U/L	1	85,8	8,6	87,8	1,5	1,7	88	1,3	1,5
		2	238	24	246	3	1,3	247	3,4	1,37
AST	U/L	1	44,3	5,25	46,4	1,14	2,45	46,4	1,35	2,92
		2	146	17	153	2,17	1,42	154	2,6	1,7
Üre*	mg/dL	1	37,7	4,15	36,8	0,84	2,3	37,6	0,94	2,5
		2	160	17,5	161	2,1	1,3	164	2,7	1,6
Cl	mEq/L	1	89,6	4	92,4	0,89	0,97	91,7	1,3	1,38
		2	114	5	116	1,3	1,16	115	1,6	1,4
CRE	mg/dL	1	1,12	0,13	1,08	0,07	6,64	1,09	0,04	3,67
		2	5,15	0,77	5,04	0,14	2,82	4,96	0,16	3,23
CRP	mg/dL	1	1,31	0,13	1,33	0,03	2,41	1,33	0,03	2,26
		2	2,45	0,25	2,55	0,056	2,2	2,53	0,05	1,98
		3	7,29	0,73	7,35	0,08	1,15	7,36	0,15	1,98
DBİL	mg/dL	1	1,12	0,15	1,14	0,017	1,46	1,14	0,02	1,76
		2	4,73	0,615	4,82	0,08	1,61	4,81	0,07	1,4
GGT	U/L	1	53,4	5,85	54,8	0,84	1,53	55,5	0,89	1,6
		2	156	17	158	2,97	1,88	159	2,04	1,3
GLU	mg/dL	1	100	8	99	1,52	1,54	99	1,81	1,8
		2	232	18,5	231	0,7	0,3	231	2,53	1,1
HDL-K	mg/dL	1	37,1	3,8	36,4	0,89	2,46	36,1	0,85	2,36
		2	67,5	6,65	65,6	2,09	3,16	64,85	1,53	2,36

\*Laboratuvarımızda Üre ölçülerek sonuç 2,14 'e bölünerek BUN olarak raporlanmaktadır.

Tablo-3 Parametrelerin analitik performans verileri ( Devamı)

Analitler	Birim	Üreticiden elde edilen			Laboratuardan elde edilen değerler					
		(Beklenen) değerler			Gün içi değişkenlik			Günler Arası		
		Düzyey	Ortalama	SD	Ortalama	SD	%CV	Ortalama	SD	%CV
PO <sub>4</sub>	mg/dL	1	6,11	0,55	6,18	0,09	1,49	6,01	0,15	2,52
		2	10,5	0,95	10,7	0,17	1,62	10,5	0,24	2,31
K	mEq/L	1	3,8	0,17	3,98	0,05	1,12	3,97	0,05	1,26
		2	6,6	0,3	6,66	0,09	1,34	6,7	0,08	1,19
KOL	mg/dL	1	145	10	139	2,55	1,83	139	2,11	1,52
		2	286	20	284	4,93	1,738	282	3,47	1,23
LDH	U/L	1	161	14,5	165,6	6,66	4,02	163	5,41	3,32
		2	553	50	580	10,62	1,83	567	13,74	2,42
LDL-K	mg/dL	1	91	9	91,4	1,14	1,27	92,8	2,27	2,45
		2	202	20	205,2	4,9	2,4	204	3,69	1,8
Mg	mg/dL	1	1,77	0,14	1,74	0,043	2,5	1,72	0,03	1,74
		2	4,01	0,32	4,0	0,084	2,107	3,97	0,06	1,51
Na	mEq/L	1	119	3,5	122,2	1,3	1,07	121,9	1,01	0,83
		2	154	4,5	156	1,22	0,79	156,7	1,18	0,75
TBİL	mg/dL	1	1,59	0,2	1,58	0,045	2,83	1,6	0,02	1,25
		2	6,61	0,86	6,62	0,084	1,264	6,61	0,1	1,51
UIBC	ug/dL	1	129	13	130,8	2,95	2,26	128,4	8,79	6,84
		2	267	26,5	263,2	2,17	0,82	262,1	10,98	4,19
Fe	ug/dL	1	64,2	4,5	62,4	1,34	2,15	61,25	2,57	4,2
		2	215	25	217,2	5,495	2,53	214,75	4,84	2,26
Ca	mg/dL	1	9,64	0,53	9,72	0,13	1,34	9,55	0,16	1,72
		2	13	0,73	13,2	0,182	1,37	13,08	0,22	1,66
TRİG	mg/dL	1	163	14,5	153	2,739	1,79	155,9	3	1,92
		2	355	32	340	4,159	1,23	346	5,57	1,61
TP	g/dL	1	3,87	0,22	3,88	0,084	2,16	3,87	0,06	1,55
		2	7,73	0,43	7,74	0,11	1,47	7,7	0,08	1,04
ÜA	mg/dL	1	5,29	0,36	5,32	0,045	0,84	5,34	0,08	1,54
		2	9,48	0,7	9,54	0,21	2,17	9,6	0,14	1,41

Tablo-3: Parametrelerin analitik performans verileri (Devamı)

Analitler	Birim	Üreticiden elde edilen		Laboratuardan elde edilen değerler						
		(Beklenen) değerler		Gün içi değişkenlik (n: 5)			Günler Arası Değişkenlik (n: 20)			
		Düzyey	Ortalama	SD	Ortalama	SD	%CV	Ortalama	SD	%CV
FPSA	ng/mL	1	0,07	0,01	0,07	0,01	11,62	0,07	0,01	9,88
		2	3,57	0,32	3,71	0,19	5,18	3,66	0,22	5,93
FER	ng/mL	1	50,95	4,15	52,02	3,49	6,72	54,55	2,46	4,5
		2	103,8	7,9	113,4	3,4	2,99	114,1	3,34	2,93
FOL	ng/mL	1	3,69	0,3	3,48	0,11	3,06	3,37	0,16	4,5
		2	9,51	0,75	9,17	0,36	3,9	9,01	0,27	3
FT3	pg/mL	1	2,22	0,22	2,16	0,11	4,99	2,15	0,11	5,4
		2	5,21	0,55	5,47	0,46	8,36	5,38	0,33	6,1
FT4	ng/dL	1	0,76	0,07	0,74	0,06	7,51	0,75	0,04	5,09
		2	2,35	0,19	2,41	0,06	2,67	2,37	0,07	3,14
KOR	ug/dL	1	3,41	0,41	3,19	0,09	2,67	3,29	0,24	7,3
		2	17,3	1,75	16,74	0,55	3,27	16,71	0,87	5,18
TPSA	ng/mL	1	0,1	0,01	0,098	0,004	4,56	0,09	0,01	9,44
		2	3,85	0,32	4,18	0,23	5,41	4,14	0,18	4,39
TES	ng/mL	1	1,13	0,09	1,19	0,04	3,06	1,17	0,05	3,92
		2	4,66	0,37	4,8	0,19	3,96	4,88	0,16	3,36
TG	ng/mL	1	1,5	0,19	1,56	0,24	15,14	1,58	0,2	13
		2	9,3	0,71	9,41	0,45	4,81	9,68	0,6	6,17
		3	58	4,4	62,28	2,1	3,37	60,8	3,58	5,88
TSH	uIU/mL	1	0,428	0,03	0,44	0,02	5,19	0,44	0,03	6,91
		2	5,31	0,46	5,24	0,15	2,92	5,37	0,36	6,6

Tablo-3: Parametrelerin analitik performans verileri (Devamı)

Analitler	Birim	Üreticiden elde edilen			Laboratuardan elde edilen değerler					
		(Beklenen) değerler			Gün içi değişkenlik (n: 5)			Günler Arası Değişkenlik (n: 20)		
		Düzyey	Ortalama	SD	Ortalama	SD	%CV	Ortalama	SD	%CV
AFP	ng/mL	1	10,1	0,9	9,5	0,4	4,49	9,3	0,5	5,5
		2	78,5	6,25	72,9	2,8	3,9	73,2	3,7	5
ATA	IU/mL	1	37,4	5,2	37,4	2,26	6	37,7	3,5	9,4
		2	452	42	469	19	4	466	38	8
ATG	IU/mL	1	42,9	4,4	45	1,3	2,8	45	3	6,6
		2	515	48,4	553	51	9,2	543	33	6
B12	pg/mL	1	297	23,5	291	10,2	3,5	289	14,3	5
		2	466	37	453	23	5	452	21	4,6
CA 19.9	U/mL	1	34,05	2,6	34,72	1,16	3,4	35,77	1,5	4,3
		2	108,9	8,5	106,7	4,9	4,62	108,33	5,1	4,8
CA 125	U/mL	1	23,9	2,1	23,6	0,5	2,27	23,9	1,1	4,59
		2	57,5	4,6	58,26	2,43	4,17	59,24	2,64	4,46
CA 15.3	U/mL	1	16,5	1,3	16,92	0,99	5,83	16,76	0,86	5,09
		2	43,12	3,4	44,32	1,6	3,7	45,2	2,4	5,3
CEA	ng/mL	1	2,57	0,22	2,54	0,14	5,4	2,59	0,14	5,3
		2	22	1,75	20	0,62	3,07	20	1,05	5,1

Laboratuvarımızın dahil olduğu Biorad EQAS ve KBUDEK dış kalite kontrol programlarındaki testlerin, çalışmanın yapıldığı dönemde bu programlarda geçerli

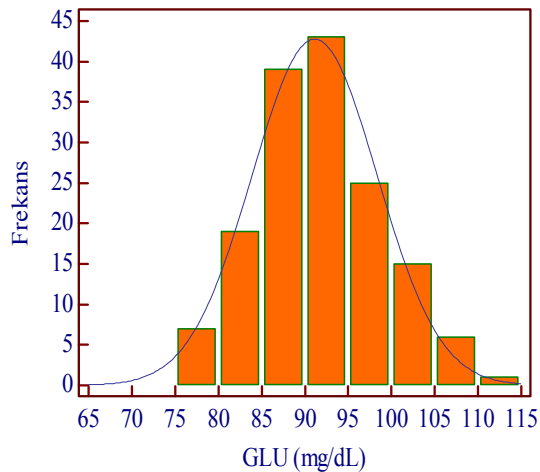
performansları olduğu izlendi. Bu veriler ışığında çalışmanın yapıldığı sistemlerin analitik performanslarının kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu gözlemlendi.

Numunelerin serum indeksleri incelenmiştir. Numunelerin serum indeksleri (hemoliz (%100), lipemi (%98) ve ikter (%99)) sıfır bulunmuştur.

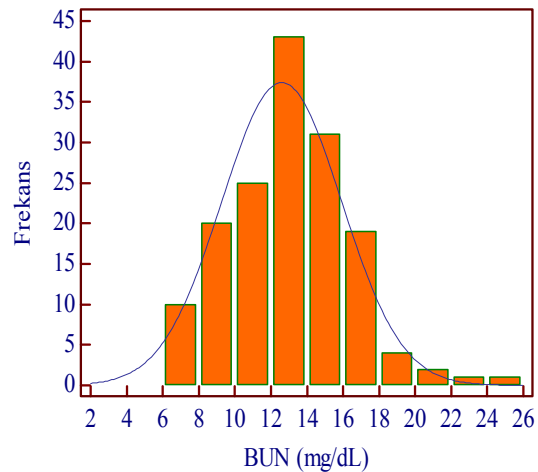
### 4.3.Çalışılan Parametrelerin Dağılım Verileri

Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu histogramları ve Kolmogorov –Smirnov testleri incelenerek denetlendi. Uç değerlerin varlığı, dağılım özelliklerine göre 3SD veya Tukey yöntemi ile araştırıldı. Hiç uç değer kalmayana kadar bu işleme devam edildi. Biyokimyasal parametrelerden sadece BUN ve fPSA' nın başlangıçta normal dağılıma uymadığı, bununla birlikte uç değerler atıldıktan sonra normal dağıldığı gözlemlendi. Diğer parametrelerde ise uç değerlerin atılmasıyla dağılım tipinde bir değişiklik gözlemlenmedi.

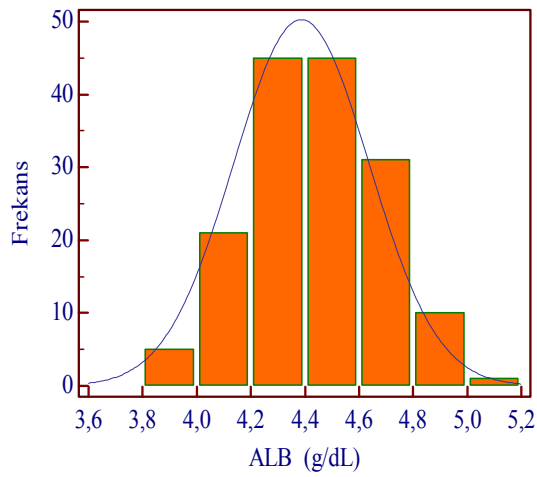
Parametrelerin yanında parantez içinde uç değerler atıldıktan sonraki normal dağılıma uygunluk testi için p değerleri görülmektedir. Şekil-1'de histogramları görülen GLU (p=0,016), BUN (p=0,13), ALB (p=0,1), TP (p=0,24), CA (p=0,06), PO<sub>4</sub> (p=0,42), ALP (p=0,67), LDH (p=0,95), Amilaz (p=0,19), Mg (p=0,36), UIBC (p=0,84), FT3 (p=0,65), FT4 (p=0,78), KOR (p=0,11), CA 15.3 (p=0,55) Normal dağılıma uymaktadır. Referans aralıkları bu özelliğine göre hesaplandı. %95 persantile göre hesaplanmış referans aralıkları Tablo-4'te sunulmuştur.



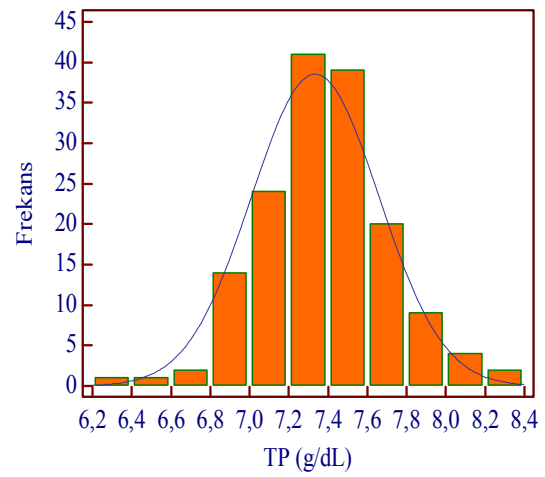
(a)



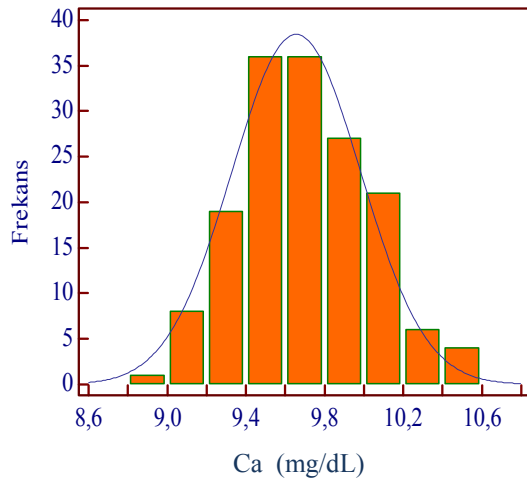
(b)



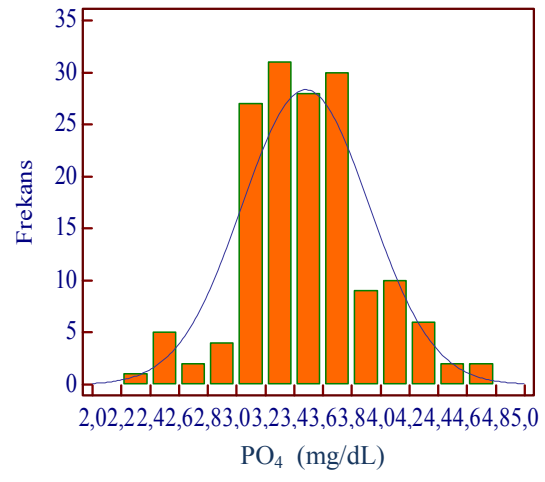
(c)



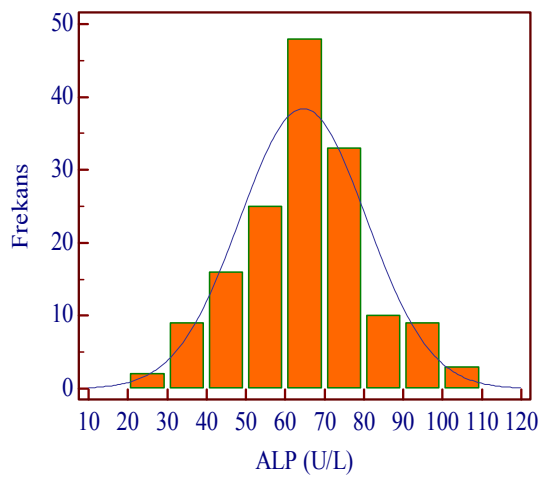
(ç)



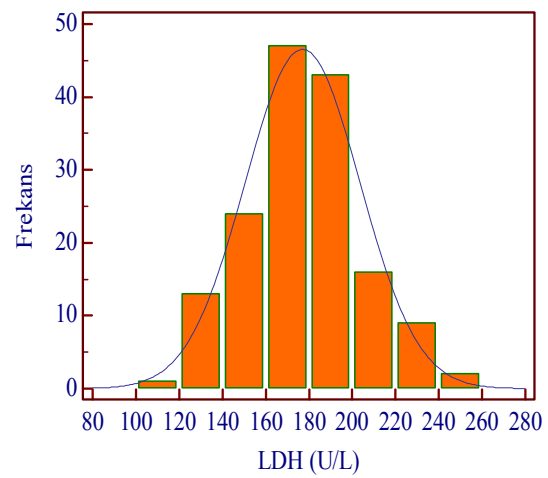
(d)



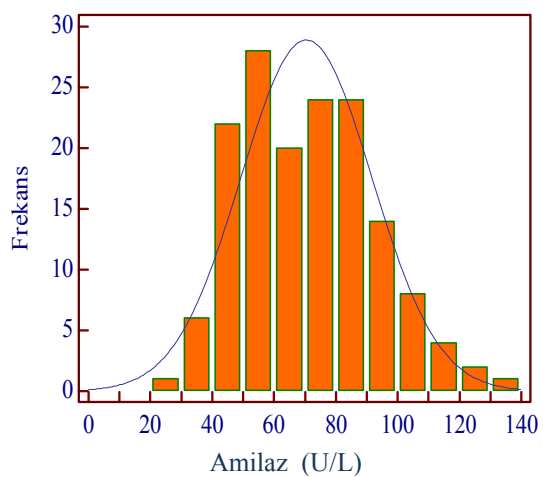
(e)



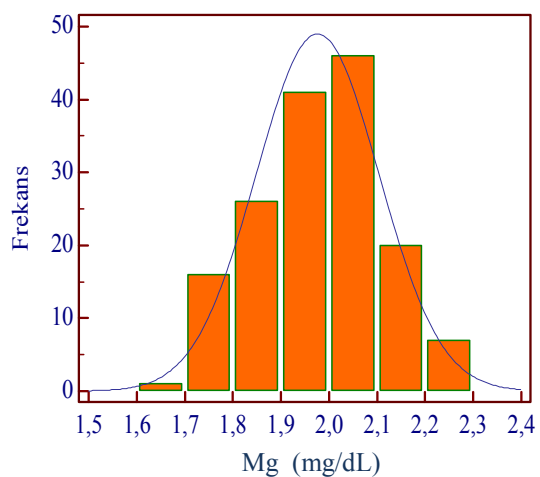
(f)



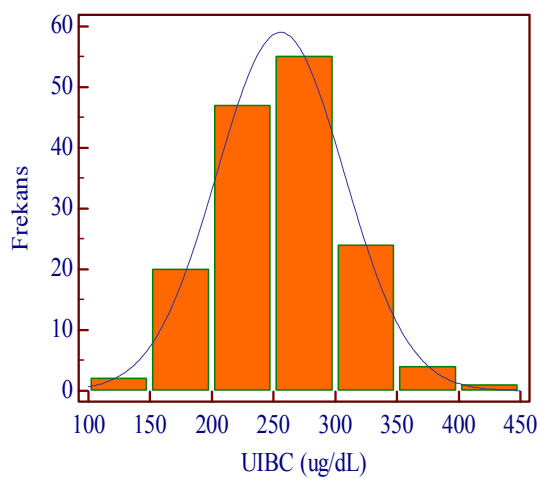
(g)



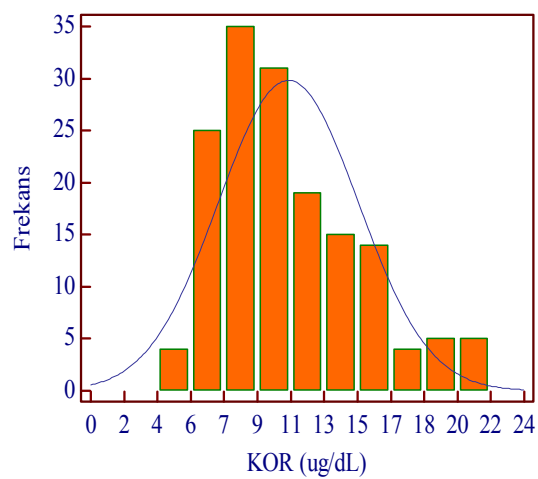
(g)



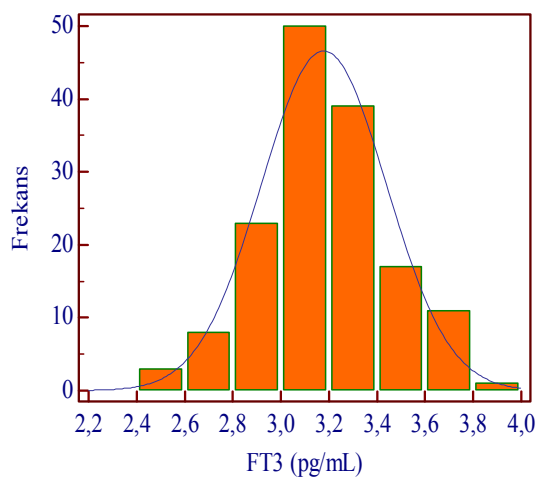
(h)



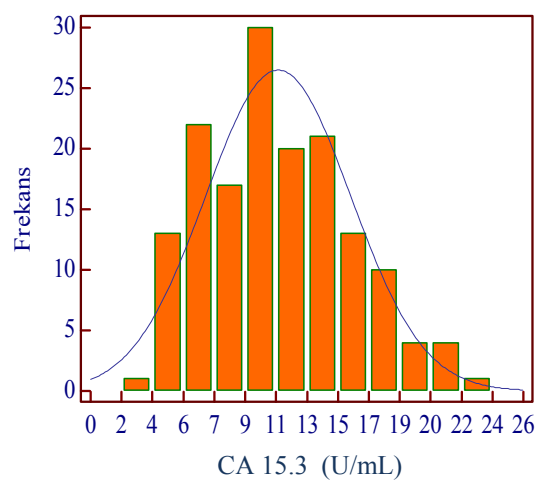
(i)



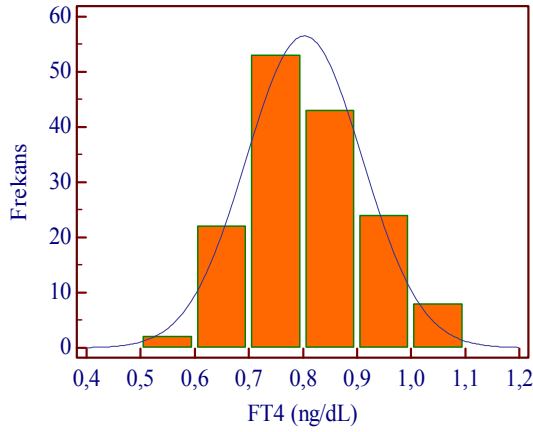
(i)



(j)



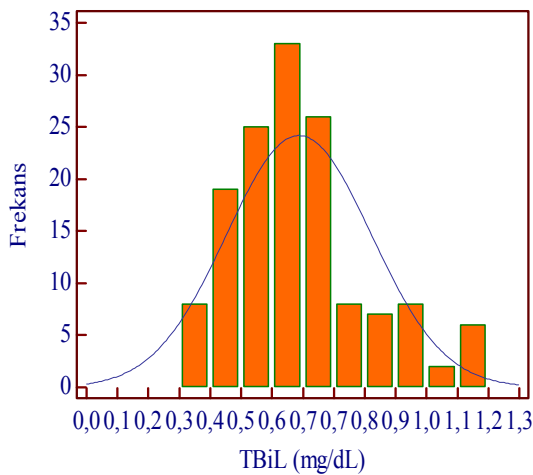
(k)



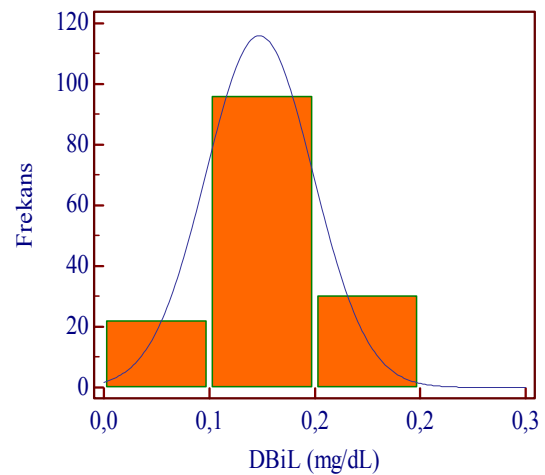
(I)

Şekil-1(a...l) Normal dağılıma uygun parametrelerin histogramları

Şekil -2’de histogramları görülen TBİL (p=0,00), DBİL (p=0,00), CRP (p=0,00), Cl (p=0,00), Na (p=0,00), K (p=0,01), AFP (p=0,00), TG (p=0,00) , ATA (p=0,00), ATG (p=0,00), FOL (p=0,00), B12 (p=0,01), CA 19.9 (p=0,00), CA 125 (p=0,00) normal dağılıma uymamaktadır. TSH (p=0,8), CEA (p=0,14) parametrelerinin p değerleri normal dağılım yönünde olmasına rağmen histogramların normal dağılıma uymadığı gözlemlendiğinden bunların referans aralıkları bu özelliğine göre hesaplandı. %95 persantile göre hesaplanmış referans aralıkları Tablo-5’te sunulmuştur.

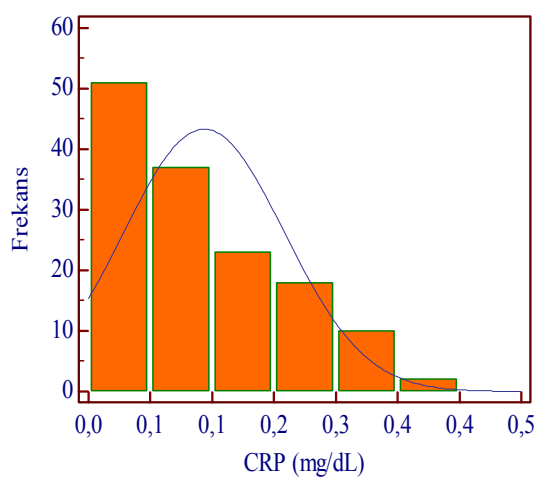


(a)

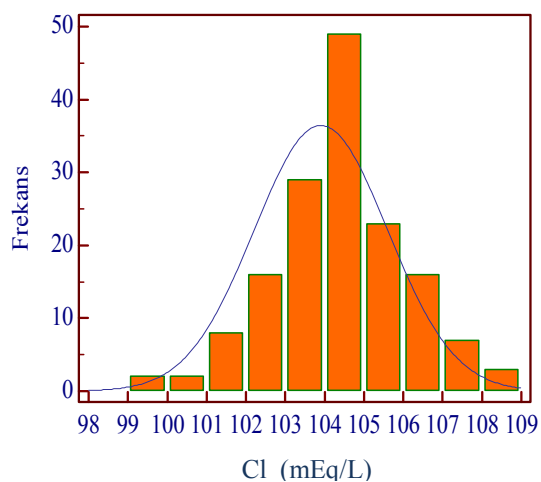


(b)

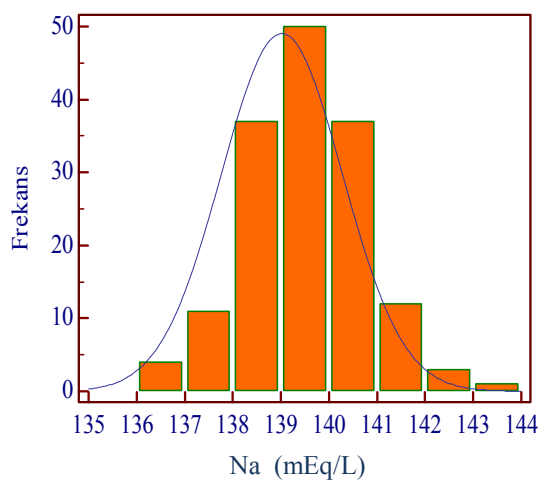




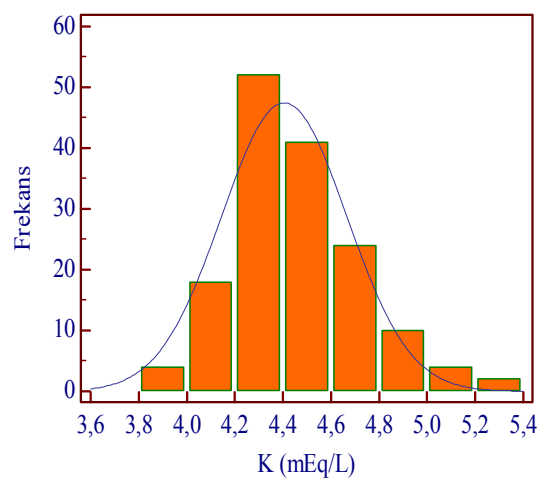
(c)



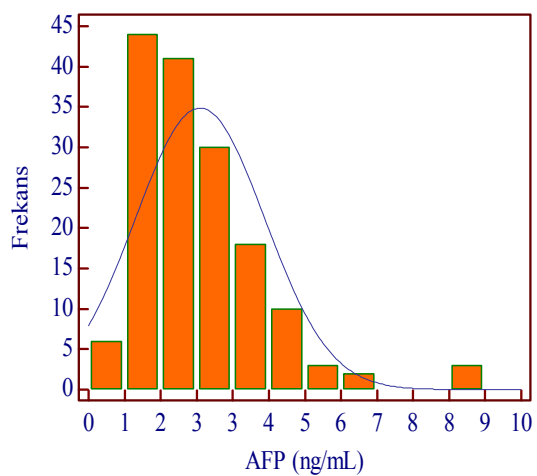
(ç)



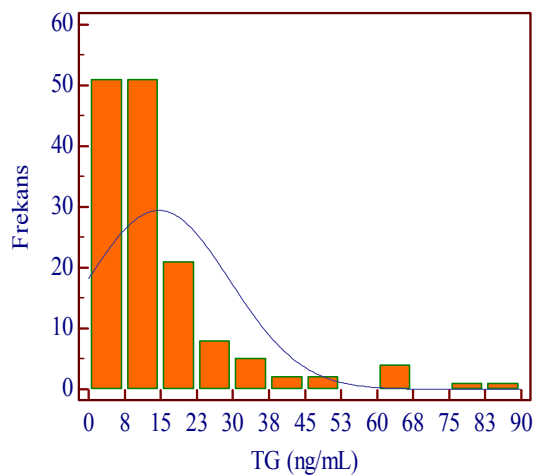
(d)



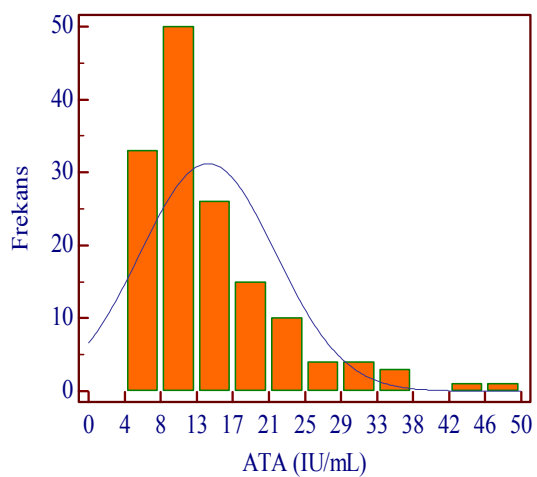
(e)



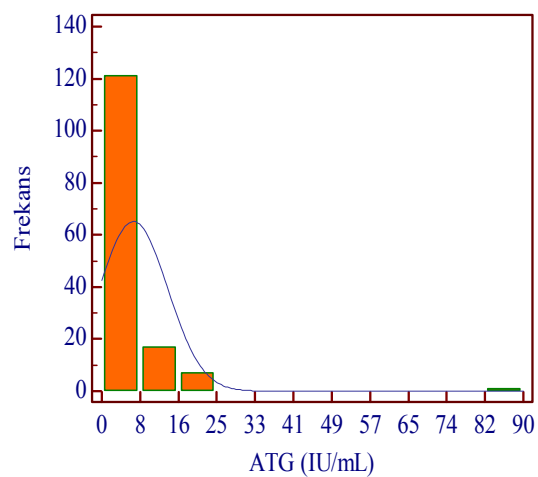
(f)



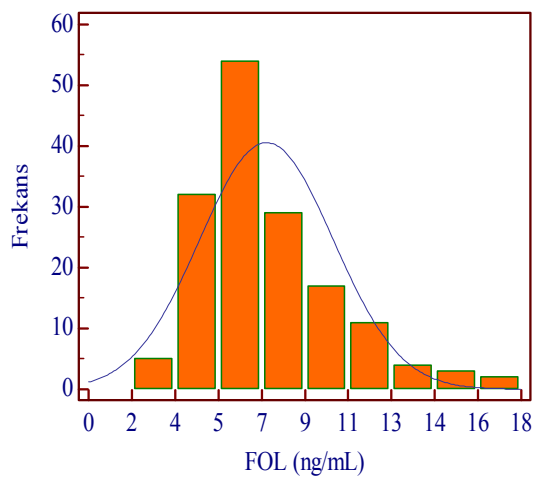
(g)



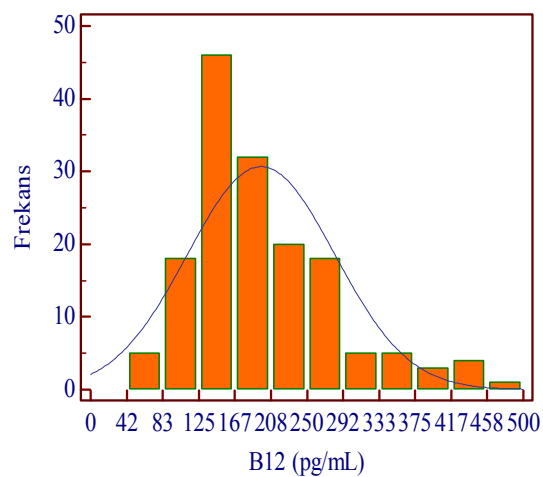
(g)



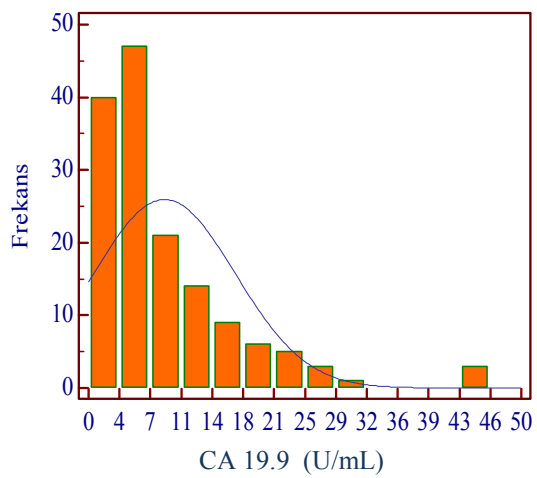
(h)



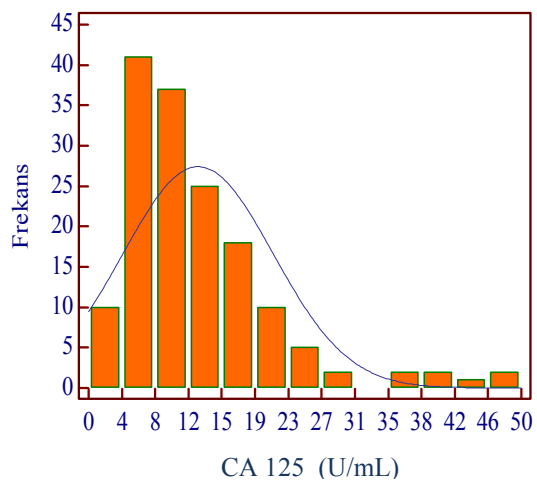
(i)



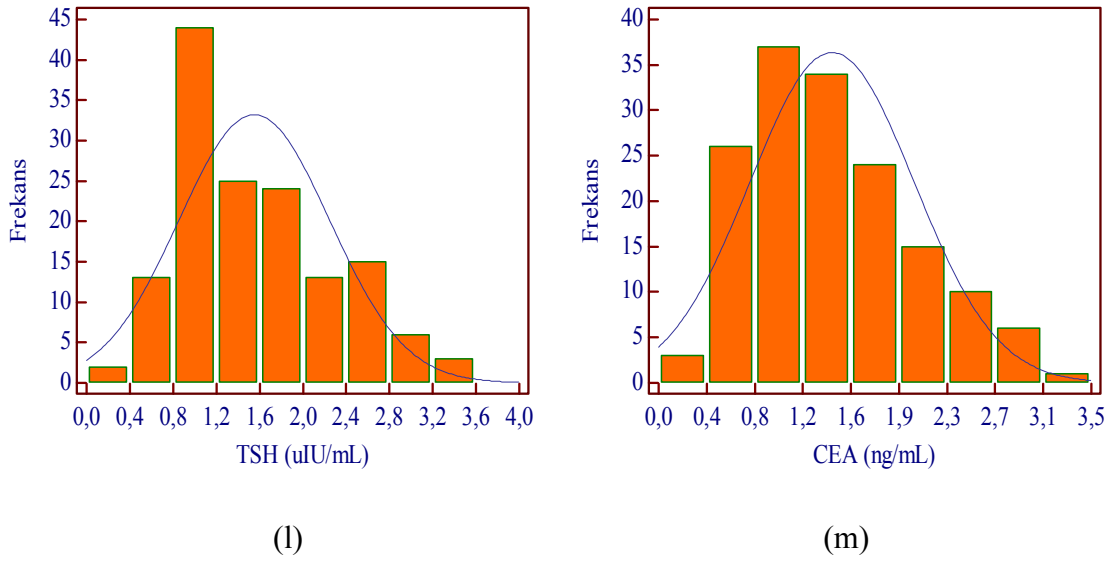
(i)



(j)

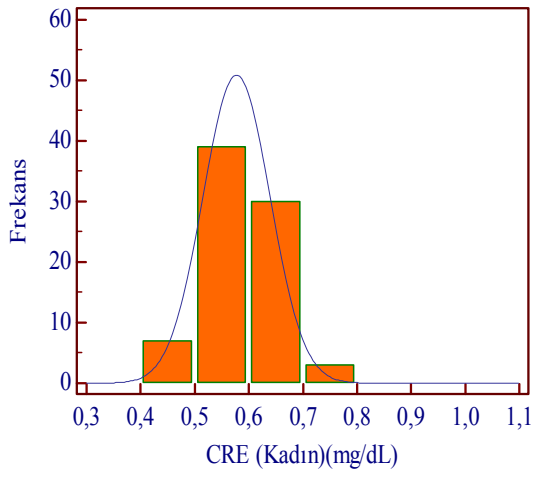


(k)

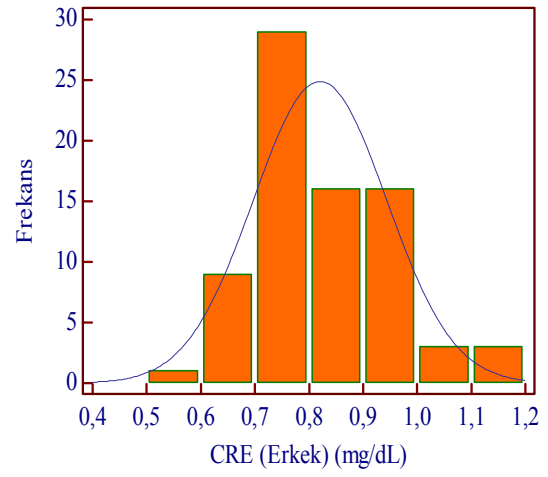


Şekil-2 (a...m) Normal dağılıma uymayan parametrelerin histogramları

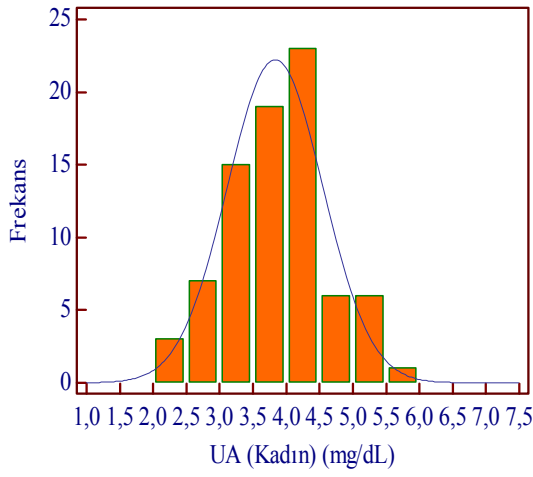
Grubun anketle belirlenen ve materyal metotta açıklanan özelliklerinden dolayı alt grup oluşturabilecek özellik olarak cinsiyet belirlendi. Cinsiyet bakımından ayırım kararında grupların Harris Boyd yöntemine göre, Lahti yöntemine göre, parametrik olarak t testi, nonparametrik olarak Mann Whitney U testine göre ayırım önerilip önerilmediğine ve klinik yararlığa bakıldı. Parantez içerisinde sırasıyla kadın ve erkeklerin normal dağılıma uyum açısından Kolmogorov-Smirnov testinden elde edilen p değerleri verilmiştir. Cinsiyete göre alt gruba ayırma kararı verilen parametreler CRE (0,127/0,38), UA (0,6/0,5), ALT (0,002/0,89), AST (0,97/0,52), GGT (0,008/0,203), KOL (0,915/0,14), TRİG (0,095/0,118), HDL-K (0,518/0,905), LDL-K (0,85/0,76), FE (0,87/0,93), TES (0,32/0,9), FER'dir (0,06/0,02). Bu parametrelerin cinsiyetlerine göre ayrılmış histogramları Şekil-3'te gösterilmiştir. Ayrıldıktan sonra kadınlarda bu parametrelerden ALT ve GGT normal dağılıma uymazken diğerlerinin dağılımı normal bulunmuştur. Erkeklerdeyse sadece FER normal dağılıma uymamaktadır. Uçdeğerler açısından tekrar değerlendirildikten sonra robust yöntem ile referans aralıkları hesaplanmıştır. Ayrıca sadece erkeklerde bakılan TPSA(p=0,44) FPSA(p=0,25) parametreleri de robust yöntemi ile hesaplanmıştır. %95 persantile göre hesaplanmış referans aralıkları kadınlar için Tablo-6 ve erkekler için Tablo-7'de sunulmuştur.



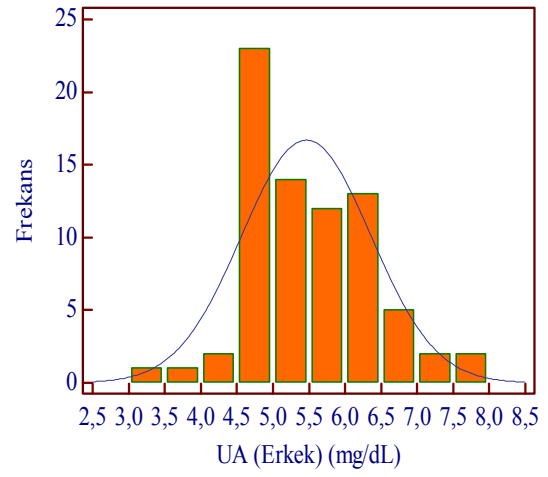
(a)



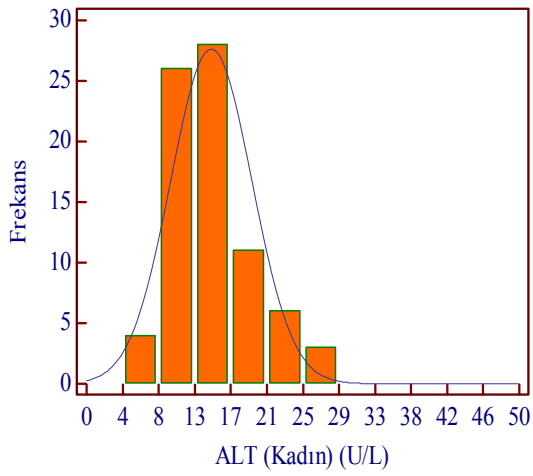
(b)



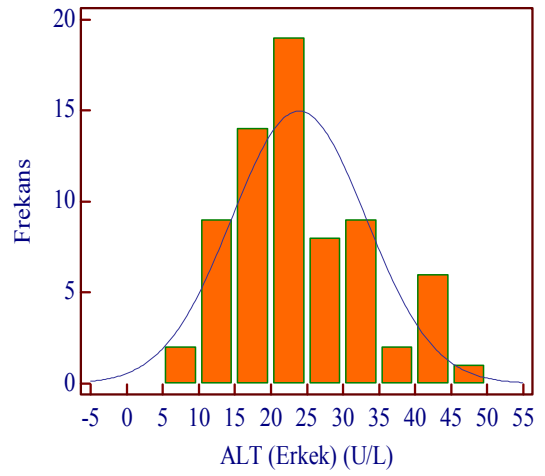
(c)



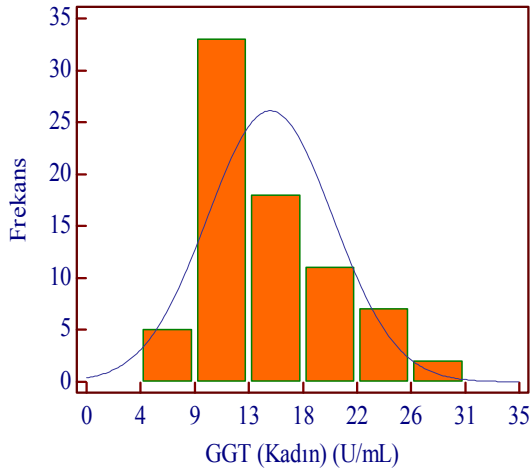
(ç)



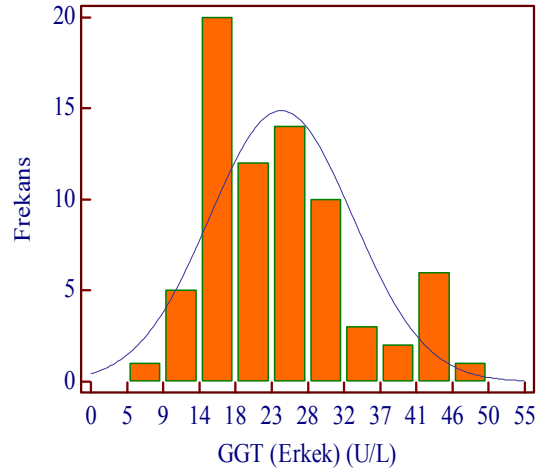
(d)



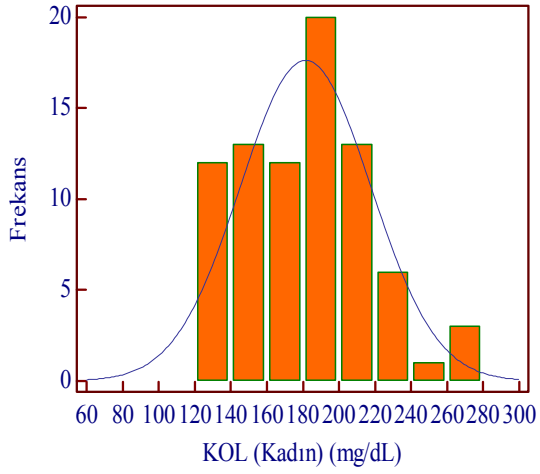
(e)



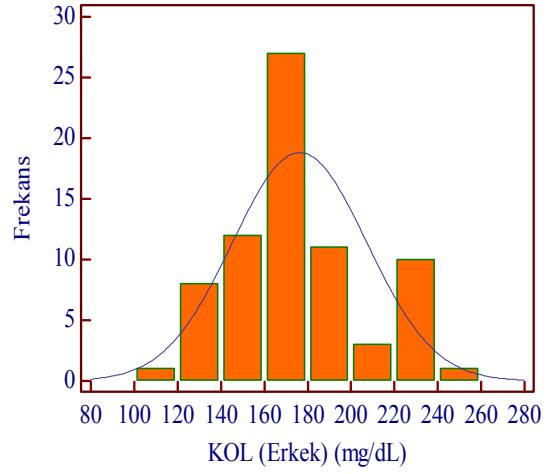
(f)



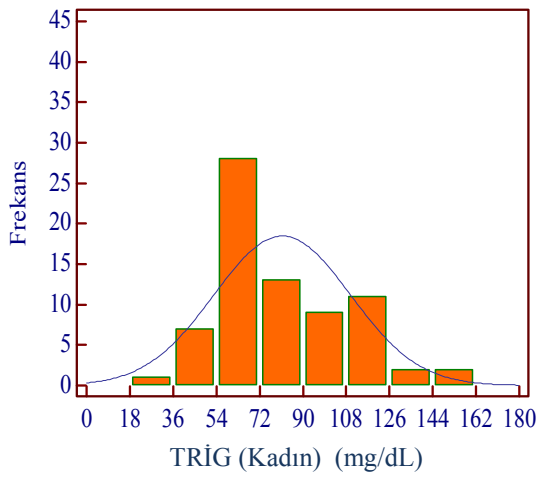
(g)



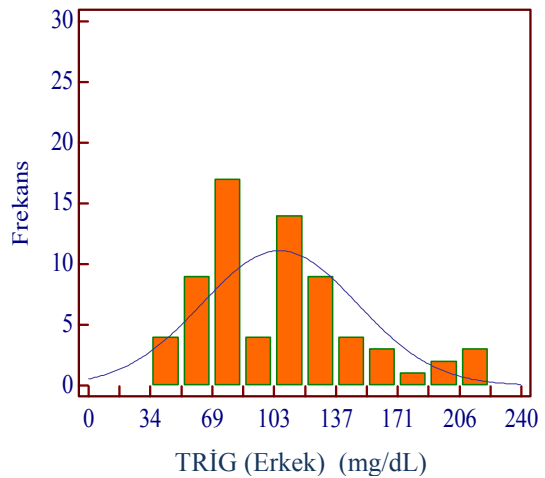
(h)



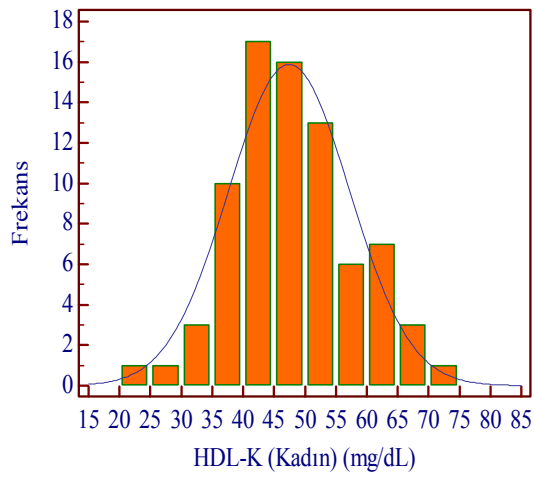
(i)



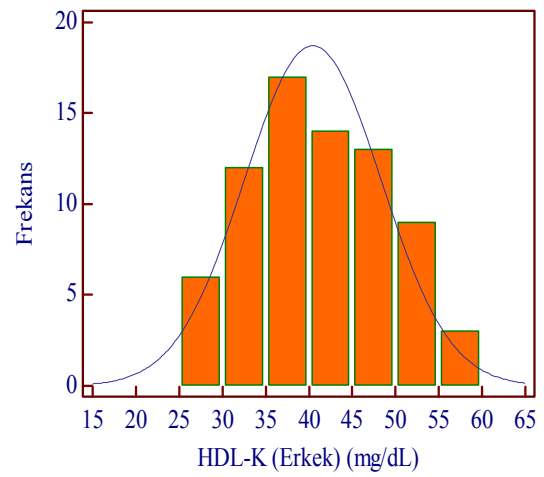
(j)



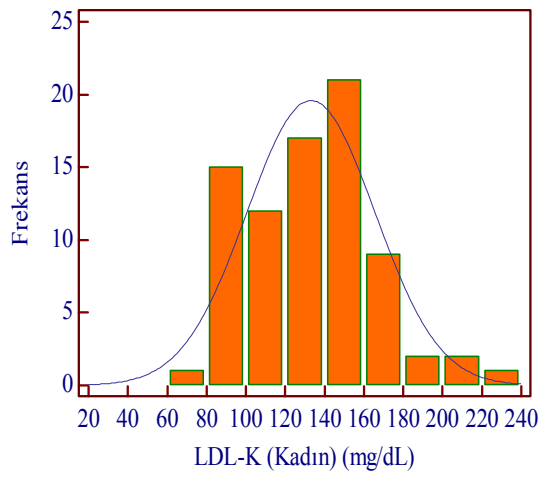
(k)



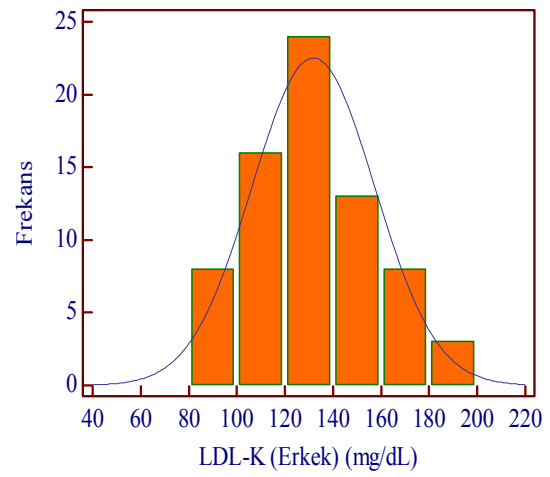
(k)



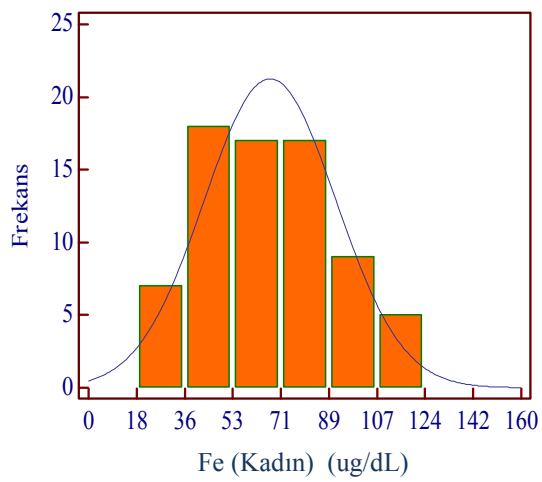
(l)



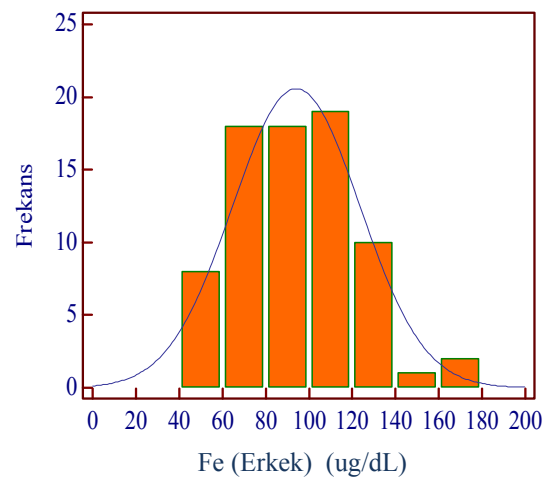
(m)



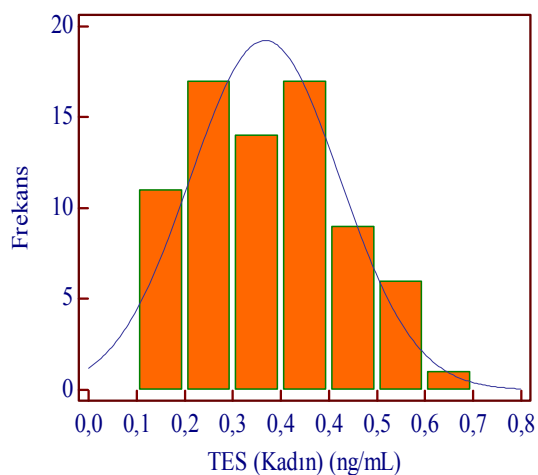
(n)



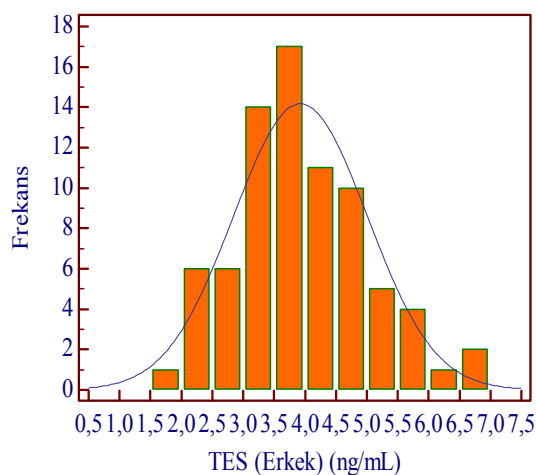
(o)



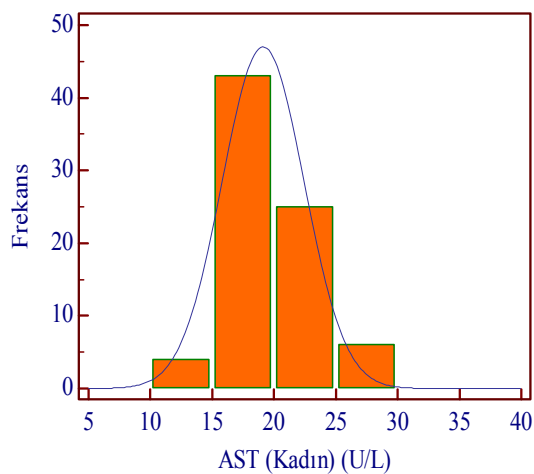
(ö)



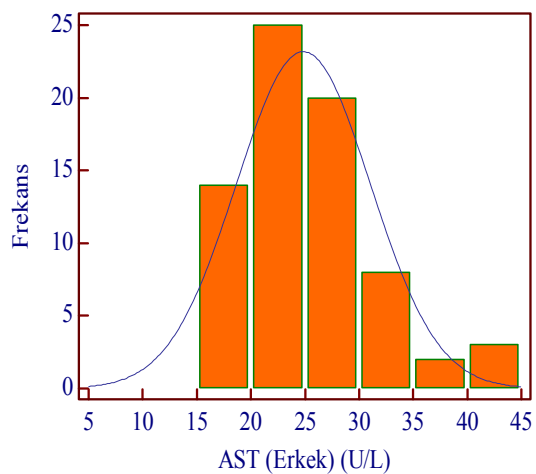
(p)



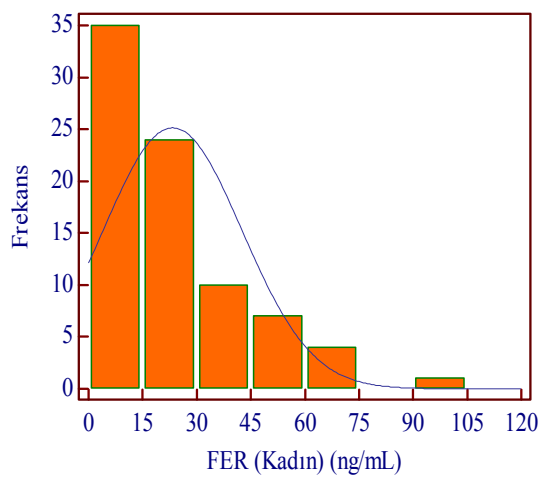
(r)



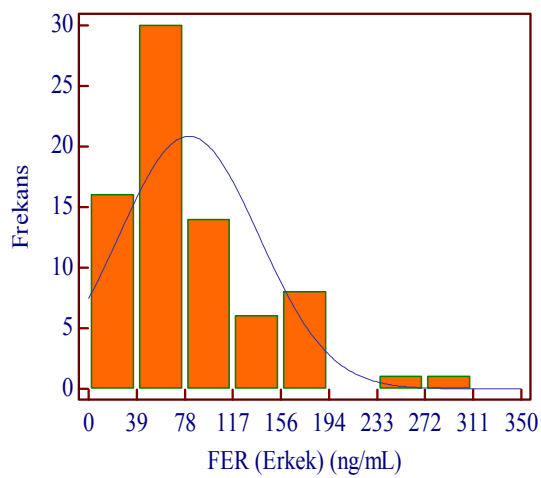
(s)



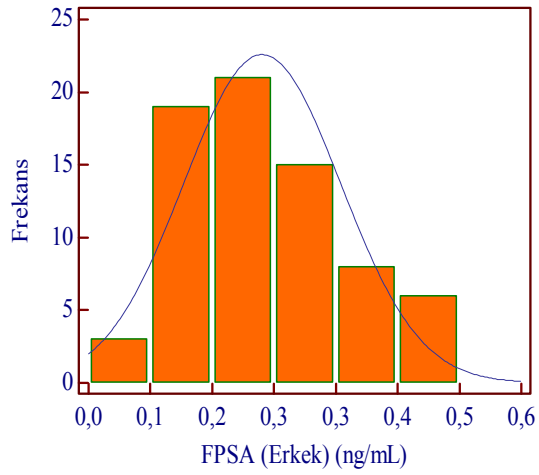
(ş)



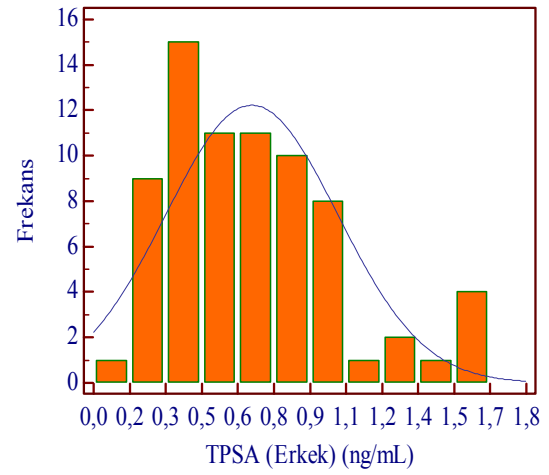
(t)



(u)



(ü)



(v)

Şekil-3 (a...v) Cinsiyete göre ayrılan parametrelerin histogramları

#### 4.4. Çalışılan Parametrelerin Referans Aralıkları

Alt gruba ayrılmayan parametrelerden normal dağılıma uyanların %95 persantile göre referans aralığı parametrik yöntemle hesaplanmış olup bulunan değerler Tablo -4 'te sunulmuştur.



Tablo-4: Parametrik ve alt gruba ayrılmayan analitlerin referans intervalleri

Analit	n	AL	ÜL	90% ALGA	90% ÜLGA
GLU	155	78	105	(75 -79)	(104 – 107)
BUN	154	6,4	18,6	(5,7-7,1)	(17,8-19,2)
TP	157	6,7	7,97	(6,6 - 6,8)	(7,9 - 8,1)
ALB	158	3,9	4,9	(3,8 - 3,95)	(4,82 - 4,94)
Ca	158	9,01	10,3	(8,94 - 9,09)	(10,23 - 10,37)
PO <sub>4</sub>	157	2,61	4,35	(2,51 - 2,71)	(4,25 - 4,45)
ALP	155	33	96	(29 – 37)	(92 – 100)
LDH	155	125	229	(119 – 131)	(223 – 235)
Amilaz	154	29	112	(24 – 34)	(107 – 117)
Mg	157	1,73	2,23	(1,7 - 1,76)	(2,2 - 2,26)
UIBC	153	154	357	(142 – 166)	(345 – 369)
FT3	152	2,67	3,69	(2,61 - 2,73)	(3,63 - 3,75)
FT4	152	0,59	1,01	(0,57 - 0,62)	(0,99 - 1,04)
KOR	157	3,3	18,5	(2,5 - 4,2)	(17,7 - 19,4)
CA15.3	156	2,7	19,8	(1,7 - 3,7)	(18,8 - 20,8)

n: veri sayısı, AL: referans aralığın alt limiti, %90 ALGA: alt limitin %90 güven aralığı, ÜL: referans aralığın üst limiti, %90 ÜLGA: üst limitin %90 güven aralığı

Alt gruba ayrılmayan parametrelerden normal dağılıma uymayanların %95 persantile göre referans aralığı nonparametrik yöntemle hesaplanmış olup bulunan değerler Tablo-5'te sunulmuştur.

Tablo-5: Nonparametrik ve alt gruba ayrılmayan parametrelerin referans aralıkları

Analit	n	AL	ÜL	%90 ALGA	%90 ÜLGA
CRP	144	0	0,31	(0 - 0,05)	(0,27 - 0,34)
TBİL	142	0,3	1,2	(0,3 - 0,4)	(1 - 1,2)
DBİL	148	0,05	0,2	(0,04 - 0,06)	(0,18 - 0,22)
Na	155	136	142	(136 – 137)	(141 – 143)
K	155	3,9	5,1	(3,9 – 4)	(4,8 - 5,2)
Cl	155	100	107	(99 – 101)	(107 – 108)
TSH	145	0,49	3,2	(0,35 – 0,57)	(2,8 - 3,4)
TG	146	1,3	63	(1 – 2)	(43 – 83)
ATA	147	*	32,3	(*)	(24,2 - 35,4)
ATG	146	*	17,7	(*)	(10,7 – 19)
CA19,9	149	2	30	(1,2 - 2,4)	(23 - 45,6)
CA125	155	3	41	(2,4 - 3,7)	(26,3 - 47,2)
CEA	156	0,4	2,9	(0,3 - 0,48)	(2,7 – 3,3)
AFP	157	0,8	6,6	(0,72 - 0,86)	(4,9 - 8,9)
B12	157	83	433	(61 – 97)	(352 – 461)
FOL	157	3,5	15	(3 – 4)	(12,2 - 16,6)

n: veri sayısı, AL: referans aralığın alt limiti, %90 ALGA: alt limitin %90 güven aralığı, ÜL: referans aralığın üst limiti, %90 ÜLGA: üst limitin %90 güven aralığı

Tablo-5'te ATG'nin alt okuma sınırı 20 olduğu için referans aralığının <20 şeklinde verilmesi daha doğru olabilir. Alt sınırın alt ucu negatif değer çıkan CRP, TPSA ve FPSA'da bu değerler 0 olarak düzeltilmiştir.

Tablo-5 'te ATA'nın referans aralık alt limiti, analitin alt okuma limiti altında kaldığından sağdan kestirimli referans aralık hesaplanmış olup alt limiti 0 olarak kabul edilmelidir.

Cinsiyete göre ayrılması kararlaştırılan parametrelerin kadınlar için %95 persantile göre Robust yöntemiyle hesaplanan referans aralıkları Tablo-6'de gösterilmiştir.

Tablo-6: Cinsiyete göre alt gruba ayrılan parametrelerden kadınlara ait referans aralıkları

Kadın					
Analit	N	AL	ÜL	%90 ALGA	%90 ÜLGA
CRE	79	0,45	0,7	(0,43 - 0,47)	(0,68 - 0,72)
ÜA	80	2,39	5,3	(2,2 - 2,6)	(5,1 - 5,5)
ALT	78	3,8	23	(2 - 5,7)	(21 - 25)
AST	78	12	25,4	(11 - 13)	(24 - 26,7)
GGT	76	3	24	(1,3 - 5)	(22 - 26)
KOL	80	107	253	(97 - 118)	(241 - 264)
TRİG	73	18	137	(7 - 29)	(124 - 147)
HDL-K	78	27	67	(24 - 30)	(63 - 70)
LDL-K	80	66	197	(56 - 76)	(186 - 208)
Fe	73	17	115	(10,4 - 25)	(107 - 123)
TES	75	0,04	0,59	(0,001-0,083)	(0,55 - 0,64)
FER	81	*	52	(*)	(43 - 60)

n: veri sayısı, AL: referans aralığın alt limiti, %90 ALGA: alt limitin %90 güven aralığı, ÜL: referans aralığın üst limiti, %90 ÜLGA: üst limitin %90 güven aralığı

Tablo-6 ve 7’de FER’in alt sınırı negatif hesaplanmış olup sıfır olarak kabul edilmelidir.

Cinsiyete göre ayrılması kararlaştırılan parametrelerin erkekler için %95 persantile göre Robust yöntemiyle hesaplanan referans aralıkları Tablo-7’de gösterilmiştir.

Tablo-7: Cinsiyete göre alt gruba ayrılan parametrelerden erkeklere ait referans aralıkları

Analit	n	Erkek			
		AL	ÜL	%90 ALGA	%90 ÜLGA
CRE	77	0,55	1,06	(0,52 - 0,6)	(1,01 - 1,11)
ÜA	75	3,57	7,22	(3,3 - 3,9)	(6,9 - 7,6)
ALT	70	4	42	(0,9 - 6,8)	(38 - 46)
AST	72	12	37	(9 - 14)	(34 - 39)
GGT	74	3,4	41	(0,3 - 7)	(37 - 45)
KOL	73	112	236	(103 - 120)	(224 - 247)
TRIG	74	14	187	(0 - 27)	(170 - 205)
HDL-K	74	24	56	(22 - 27)	(53 - 59)
LDL-K	72	79	181	(72 - 88)	(173 - 191)
Fe	76	34	152	(24 - 44)	(142 - 162)
TES	77	1,67	6,04	(1,34 - 2,02)	(5,62 - 6,41)
FER	76	*	165	(*)	(138 - 190)
FPSA	72	0,01	0,45	(0 - 0,04)	(0,41 - 0,49)
TPSA	73	0	1,35	(0-0,004)	(1,19 - 1,48)

n: veri sayısı, AL: referans aralığın alt limiti, %90 ALGA: alt limitin %90 güven aralığı, ÜL: referans aralığın üst limiti, %90 ÜLGA: üst limitin %90 güven aralığı . FPSA ve TPSA sadece erkeklerde ölçülmüştür.

## 5.TARTIŞMA

Bu çalışmada anket yöntemiyle seçtiğimiz erişkin, sağlıklı gönüllülerden elde edilen serumlardan 45 klinik kimya parametresinin referans aralıkları hesaplandı.

Çalışmanın en önemli kısıtlılıklarından biri kişi sayısı idi. Alt grupların çok olması halinde güvenilirliği yüksek referans aralıklar elde edilmesi mümkün olmayacaktı. Kişi sayısını belirlerken, gönüllü bulmakta yaşanan güçlükler ve maliyet kadar etkili referans aralıklar elde etme arayışı da belirleyici oldu. Cinsiyet bakımından ayırma gidildiğinde 120'nin altına düşen veri sayısında robust yönteminin etkin olduğunu gözlemledik. Parametre seçiminde mümkün olduğunca alt grup beklentisi olmayan parametreleri seçtik. Ancak veri sayımız yaşa göre alt grup varlığını araştırmamıza elvermedi.

Gerek ülkemizde gerekse dünyada gelişen yeni testler, yeni ölçüm yöntemleri referans aralık konusunu güncel tutmaktadır. Yıllar içinde çok yol katedilmesine rağmen çalışmaların standardizasyonunda ve kullanılan yöntemler konusunda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Örneğin çalışmamızın sonuçlarını ülkemizde yapılan başka çalışmalarla kıyasladığınızda her çalışmada kullanılan referans birey dahil etme, uç değer atılımı, cinsiyet açısından alt gruplara ayırma ve referans aralık eldesinde kullanılan istatistik yöntemlerin birbirinden farklı oluşu çalışmalar arası karşılaştırma yapmayı güçleştirmektedir.

Referans aralıkların eldesinde kullanılan yöntemlerin birbirlerinden farkları ve üstünlükleri incelenerek, standardizasyonu yönünde çalışmalar yapılması faydalı olabilir. Böylece farklı bölgelerden elde edilen çalışmaların karşılaştırılmasının daha sağlıklı yapılabileceğini düşünüyoruz. Örneğin cinsiyet açısından alt gruplara ayırma kararı için Harris-Boyd yöntemi ve Lahti yöntemi uygulandı. Ayrıca normal dağılıma uygunluklarına göre Student t ve Mann Whitney U testi ile cinsiyetler arası fark olup olmadığına bakıldı. Bu üç yöntemden elde ettiğimiz veriler ve klinik ihtiyaçlar dikkate alınarak cinsiyet bakımından alt gruba ayrılacaklar belirlendi. Referans aralık tespitinde alt gruplara ayırmada kullanılan farklı yöntemlerden birinin tek başına kullanımının karar vermede

yeterli olmayabileceğini düşünüyoruz. Klinik yararlılık ve analitin özelliklerinin de burada göz önünde bulundurulmasının önemli olduğuna inanıyoruz. Alt gruba ayırmada klinik ihtiyaçların da dikkate alınması genel kabul görmekle birlikte subjektif bir değerlendirmeye sebep olmaktadır. Ayırma yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Benzer bir standardizasyon ihtiyacı uç değerlerin eliminasyonunda seçilecek yöntemde de kendini göstermektedir. Pek çok çalışmada kullanılan D/R yöntemiyle az sayıda uç değer çıkmakta ana veri sayısı fazla etkilenmemektedir. Ancak D/R yöntemi bazen tüm uçları ayıklamakta yeterli olmayabilmektedir. Tukey yöntemi uç değerleri ayırmakta daha hassas olsa da veri sayısını oldukça düşürebilmektedir. 3SD yönteminin normal dağılımda çok kullanışlı olduğunu gözlemledik. Her yöntemin artı ve eksileri bulunmaktadır. Uç değerleri hem yeterli hassasiyette ayıracak hem de veri sayısında gereğinden fazla kayba sebep olmayacak şekilde yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Tablo-8’de çalışma sonucu elde edilen özet referans aralık verileri ile üretici firmanın sunduğu referans aralık verileri bir arada sunulmuştur.

Tablo-8: Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz referans aralıklar ile üreticinin sunduğu referans aralıkların karşılaştırılması

Analit	Birim	Alt ve üst limit	Üretici referans aralıkları
GLU	mg/dL	K&E 78-105	K&E 74-106
BUN	mg/dL	K&E 6,4-18,6	K&E 7,9-20
TP	g/dL	K&E 6,7-7,97	K&E 6,6 - 8,3
ALB	g/dL	K&E 3,9-4,9	K&E 3,5 - 5,2
Ca	mg/dL	K&E 9,01-10,3	K&E 8,8 -10,6
PO <sub>4</sub>	mg/dL	K&E 2,61-4,35	K&E 2,5 - 4,5
ALP	U/L	K&E 33-96	K&E 30 - 120
LDH	U/L	K&E 125-229	K: <247 E: <248
Amilaz	U/L	K&E 29-112	K&E 28-100
Mg	mg/dL	K&E 1,73-2,23	K: 1,9 - 2,5 E: 1,8 - 2,6
UIBC	µg/dL	K&E 154-357	K&E 155 - 355
FT3	pg/mL	K&E 2,67-3,69	K&E 2,5 - 3,9
FT4	ng/dL	K&E 0,59-1,01	K&E 0,61–1,12
KOR	ug/dL	K&E 3,3-18,5	K&E 6,7 – 22,6

Tablo-8: Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz referans aralıklar ile üreticinin sunduğu referans aralıkların karşılaştırılması (Devamı)

Analit	Birim	Alt ve üst limit	Üretici referans aralıkları
CA15.3	U/mL	K&E 2,7-19,8	K&E 0-31,3
CRP	mg/dL	K&E 0-0,31	K&E < 0,5
TBİL	mg/dL	K&E 0,3-1,2	K&E 0,3 - 1,2
DBİL	mg/dL	K&E 0,05-0,2	K&E <0,2
Na	mEq/L	K&E 136-142	K&E 136-146
K	mEq/L	K&E 3,9-5,1	K&E 3,5-5,1
Cl	mEq/L	K&E 100-107	K&E 101-109
TSH	uIU/mL	K&E 0,49-3,2	K&E 0,34 - 5,6
TG	ng/mL	K&E 1,3-63	K&E 1,6-59,9
ATA	IU/mL	K&E 0-32,3	K&E <35
ATG	IU/mL	K&E 0-17,7	K&E <40
CA19,9	U/mL	K&E Şub.30	K&E 0 - 35
CA125	U/mL	K&E Mar.41	K&E 0 - 35
CEA	ng/mL	K&E 0,4-2,9	K&E 0 - 3
AFP	ng/mL	K&E 0,8-6,6	K&E 0 - 9
B12	pg/mL	K&E 83-433	K&E 126 - 505,1
FOL	ng/mL	K&E 3,5-15	K&E 3,1-19,9
CRE	mg/dL	K: 0,45-0,7	K: 0,51 - 0,95
		E : 0,55-1,06	E : 0,67 - 1,17
ÜA	mg/dL	K: 2,39-5,3	K: 2,6 - 6
		E : 3,57-7,22	E : 3,5 - 7,2
ALT	U/L	K: 3,8-23	K: ≤ 35
		E : Nis.42	E : ≤ 50
AST	U/L	K: 12-25,4	K: < 35
		E : Ara.37	E : < 50
GGT	U/L	K: Mar.24	K: < 38
		E : Mar.41	E : < 55
KOL	mg/dL	K: 107-253	K&E <200
		E : 112-236	

Tablo-8: Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz referans aralıklar ile üreticinin sunduğu referans aralıkların karşılaştırılması (Devamı)

Analit	Birim	Alt ve üst limit	Üretici referans aralıkları		
TRIG	mg/dL	K:	18-137	K&E	< 150
		E :	14-187		
HDL-K	mg/dL	K:	27-67	K&E	40-60
		E :	24-56		
LDL-K	mg/dL	K:	66-197	K&E	<100
		E :	79-181		
Fe	µg/dL	K:	17-115	K:	60 - 180
		E :	34-152	E :	70 - 180
TES	ng/mL	K:	0,04-0,59	K:	0,1 - 0,75
		E :	1,67-6,04	E :	1,75 - 7,81
FER	ng/mL	K:	0-52	K:	11 - 306,8
		E :	0-165	E :	23,9 - 336,2
FPSA	ng/mL	E:	0,01-0,45	E:	0 - 1
TPSA	ng/mL	E:	0-1,35	E:	0 - 4

Tablo-8 incelendiğinde, ALB, ALP, Amilaz, BUN, Na, K, Cl, TBİL, DBİL, GLU, LDH, PO<sub>4</sub>, TP , UIBC, ÜA, ATA, CA 19.9, CA125, CEA, KOR, FOL, FT3, FT4, TG, TES, Ca, Mg, için çalışmada bulunan değerler ile üreticinin sunduğu değerlerin birbirine uyumlu olduğu gözlenmektedir.

Ancak ALT, AST, GGT, Fe, FER, TSH, PSA, FPSA, B12, KOL, TRİG, HDL-K, LDL-K, CRE, CA15,3,AFP, ATG, CRP parametrelerinde üretici değerlerden farklılıklar gözlenmektedir.

Üreticinin değerlerinden farklı saptadığımız değerler çoğunlukla ülkemizdeki yapılan diğer çalışmalarla uyum gösteriyordu (Tablo- 9-16). Bölgesel farklılıkların analitler üzerine etkisinin incelenmesi için referans aralık konusunda daha çok çalışmalar yapılması gerektiğine inanıyoruz. Özellikle Fe, FER, B12, KOL, TRİG, LDL-K, HDL-K için referans aralığı çalışmalarının ve kontrollü klinik çalışmaların halk sağlığı açısından planlanıp uygulanmasının faydalı olacağına inanıyoruz. Bölgesel farklılıkların kaynağı



genetik özellikler mi yoksa önlenabilir bir toplum sağlığı sorunu mu? Bunun nedenlerinin hastaların da incelendiği kapsamlı klinik araştırmalarla ile ortaya konulana kadar toplum kaynaklı değerlerin üretici değerlerinin yerine kullanımı kararı dikkatle verilmelidir.

Bir başka kritik konu da TPSA, AFP, CRP vb testlerde karar sınırlarının mı referans aralıklarının mı kullanılacağıdır. Bölgesel farklılıkların karar sınırlarını da etkileyip etkilemediğinin ancak ülkemizde bu gibi çalışmaların artmasıyla aydınlığa kavuşabileceğine inanıyoruz.

Tablo-9'da ALT, AST, GGT için bulduğumuz değerlerin başka çalışmalardan elde edilen verilerle karşılaştırılması sunulmuştur

Tablo-9: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen ALT, AST, GGT referans aralıklarının karşılaştırılması

	ALT (U/L)		AST (U/L)		GGT (U/L)	
	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
Çalışmamız	3,8-23	4-42	12-25,4	12-37	3-24	3,41-40,85
Üretici	≤ 35	≤ 50	< 35	< 50	< 38	< 55
İlçöl ve Aslan (43)	6-26	8-45	9-32	10-45	6-26	7-34
Balcı (44)	25-44 yaş: 3-28	25-44 yaş: 7-34	25-44 yaş: 12-29	25-64 yaş: 10-32	25-44 yaş: 6-39	25-44 yaş: 6-44
	45-64 yaş: 4-27	45-64 yaş: 2-31	45-64 yaş: 9-28		45-64 yaş: 4-22	45-64 yaş: 6-28
Ceriotti ve ark (13)	8-41	9-59	11-34		6-40	12-68

Ceriotti ve arkadaşlarının (13) IFCC uluslararası çok merkezli çalışmalarında 18-85 yaş arası anket yoluyla seçtikleri, uç değer eliminasyonu yapmadıkları 765 katılımcıdan elde ettikleri ALT, AST, GGT referans aralıkları Bizim ve Türkiye'de yapılan diğer çalışmaların sonuçlarından daha yüksektir. Bizim çalışmamızda sigara veya alkol kullananlar çalışmaya dahil edilmezken Ceriotti ve ark (13) 30 g/güne kadar alkol kullananları çalışmaya dahil etmiştir.

Balcı (44) indirekt yolla hesaplama yaptığından verilerdeki sigara alkol etkisi kestirilemez. Ülkemizde sigara alkol tüketiminin diğer batı ülkelerine göre az olmasının, referans aralık çalışmalarında görülen ALT, AST, GGT düşüklüğünün sebepleri arasında olabileceğini düşünüyoruz.

ALT , AST, GGT için hesapladığımız referans aralık değerleri üretici değerlerinden ve yurtdışı çalışmalardan belirgin şekilde düşük iken Türkiye'deki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

AFP İçin firmanın verdiği değer 127 sağlıklı gönüllüden alınan numunelerin 125'inin (%98,4) 0 ile 9 ng/mL aralığında olduğu yönündedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz değerler 0,8-6,6 (ng/mL) aralığında olup üreticinin sunduğu değerlerden farklıdır.

Tablo-10'da KOL, HDL-K, LDL-K, TRIG için bulduğumuz değerlerin başka çalışmalardan elde edilen verilerle karşılaştırılması sunulmuştur.

Tablo-10: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen KOL, HDL-K, LDL-K, TRIG referans aralıklarının karşılaştırılması

	KOL (mg/dL)		TRİG (mg/dL)		HDL-K (mg/dL)		LDL-K (mg/dL)	
	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
Çalışmamız	107-253	112-236	18-137	14-187	27-67	24-56	66-197	79-181
Üretici	<200	<200	<150	<150	40-60	40-60	<100	<100
İlçöl ve Aslan (43)	102-256		24-220	35-299	31-65	30-54		
Balcı (44)	25-44 yaş: 95-237	25-44 yaş: 94-241	25-44 yaş: 40-245	25-44 yaş: 18-226	25-44 yaş: 23-73	25-44 yaş: 21-65		
	45-64 yaş: 133-286	45-64 yaş: 126-283	45-64 yaş: 35-244	45-64 yaş: 11-178	45-64 yaş: 27-73	45-64 yaş: 18-62		
Enli (45)	120 -225	94-243	36-136	40-210	35-83	28-66		

KOL, TRİG-K, HDL-K, LDL-K için üretici firmanın sunduğu değerler bir referans aralık çalışmasının sonucu olmayıp NCEP'nin önerisi olan karar sınırlarıdır (46).

KOL, TRİG, LDL-K yüksek, HDL-K'nin düşük çıkması bir toplum sağlığı sorununun verilere yansımaları izlenimini uyandırsa da , Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarda da benzer verilerin elde edilişi düşündürücüdür. Çalışma grubumuzda hiç vejeteryan yoktur . Katılımcıların beden kitle indeksi ortalaması  $25,6 \pm 3,1$  (min:18,0 , max:29,8) ve gönüllülerin 25'i (%15) düzenli spor yapma alışkanlığına sahiptir.

CA15.3 için bulduğumuz referans değerler 2,7-19,8 U/mL olup , üreticinin sunduğu karar sınırları olan 0 - 31,3 U/mL'den düşük bulunmuştur.

Tablo-11'da CRE için bulduğumuz değerlerin başka çalışmalardan elde edilen verilerle karşılaştırılması sunulmuştur.

Tablo-11: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen CRE referans aralıklarının karşılaştırılması

CRE (mg/dL)	Kadın	Erkek
Çalışmamız	0,45-0,7	0,55-1,06
Üretici	0,51 – 0,95	0,67 – 1,17
Köseoğlu ve ark(47)	0,6-1,04	0,8-1,14
İlçöl ve Aslan (43)	0,4-1,0	0,6-1,2

Çalışmada CRE için elde ettiğimiz referans değerlerin üretici ve ülkemizde yapılmış diğer çalışmalardan farklılık göstermesinin CRE standardizasyonundaki güçlüklerden veya gönüllülerin spor alışkanlığı olmamasına bağlı kas kitlesinin azlığından kaynaklanıyor olabileceğini düşünmekteyiz.

Tablo-12'de Fe, FER için bulduğumuz değerlerin başka çalışmalardan elde edilen verilerle karşılaştırılması sunulmuştur

Tablo-12: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen Fe , FER referans aralıklarının karşılaştırılması

	Fe (ug/dL)		FER (ng/mL)	
	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
Çalışmamız	17-115	34-152	0-52	0-165
Üretici	60-180	70-180	11,0 -306,8	23,9-336,2
İlçöl ve Aslan(43)	28-168	41,9-174,3	3,19-56,1	10,1-190
Balcı (44)	25-44 yaş: 10-93	25-44 yaş: 27-170		
	45-64 yaş: yaş:16-147	45-64 yaş: 18-159		

Fe, FER testleri için tespit ettiğimiz referans aralıklar üretici firma ve referans kitaplardakinden oldukça düşük olmasına rağmen, Türkiye’de yapılan direkt ve indirekt yolla yapılmış çalışmalardakilerle paralellik göstermiştir.

Çalışmamızda gönüllüler özellikle geçmiş anemi öyküsü ve semptomları açısından sorgulanmış olmasına ve anemi semptomları tarif etmemelerine rağmen Fe ve FER düzeyleri üretici değerlerinin çok altında çıkmıştır. Bu konu bir toplum sağlığı sorununun çalışmalara yansması gibi görünmekle birlikte aydınlatılması için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

İlçöl ve Aslan (43) vitros 950 kuru sistem ile yaptıkları Fe ölçümlerinde bizimkine benzer bulgular bildirmiştir.

İlçöl ve Aslan (43) bizimle aynı yöntemle yaptıkları ölçümlerde bizim bulgularımızla uyumlu FER değerleri tespit etmişlerdir.

Hesapladığımız Fe ve FER değerleri üreticinin referans aralığından oldukça farklıdır.

CRP için çalışmamızda elde ettiğimiz referans değerler 0-0,31 mg/dl aralığındadır. Çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerin üreticinin sunduğundan düşük olduğu gözlenmiştir.

Üreticinin CRP için sunduğu referans değer <0,5 mg/dL olup, Dati ve arkadaşlarının (48) 1996 yılında yayınladığı “IFCC/BCR/CAP Referans Materyaline (CRM470) Karşı

Standardizasyonla 14 Serum Proteininin Geçici Referans Aralığı Kılavuzu İçin Bir Grup Uzman Birliğinin Ve Üreticinin Fikir Birliği” isimli çalışmadan elde edilmiştir. Çalışmada; fikir birliği edilen bu referans aralıkların geçici olduğu, kesin referans aralıkların tanımlanması için; CRM 470/RPPHS 5’e karşı kalibre edilmiş farklı üreticilerin reaktifleri kullanılarak, çeşitli etnik ve coğrafi grupların, yaş ve cinsiyet özellikleri de dikkate alınarak hazırlanacak kapsamlı çalışmalar gerektiği bildirilmiştir (48).

Macy ve Arkadaşlarının 143 sağlıklı gönüllüden alınan sitratlı plazma örneklerinden, geliştirdikleri bir ELİSA yöntemi ile 0,008- 0,311 mg/dL referans aralıklarını elde etmişlerdir (49).

Çalışmamızda CRP düzeyini etkileyebilecek durumlar ankette sorgulanmış ve dışlanmıştır.

Tablo-13’de TSH için bulduğumuz değerlerin başka çalışmalardan elde edilen verilerle karşılaştırılması sunulmuştur.

Tablo-13: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen TSH referans aralıklarının karşılaştırılması

TSH	(uIU/mL)
Çalışmamız	0,49 - 3,2
Üretici	0,34 - 5,6
Çelebiler ve ark(50)	0,41 - 4,25
Jensen ve ark (51)	0,58 - 4,1
Lee YK ve arkadaşları (52)	1,81 ± 0,95
Aydemir M. Ve Ark.(53)	K: 1,64 ± 0,023      E: 2,16 ± 0,026
NACB önerisi(54)	0,4 - 2,5
İlçöl ve Aslan(43)	0,51 - 3,51
Motor ve ark(55)	0,32 - 4,38
İnal ve ark (56)	0,43 - 3,93
Kratzsch ve arkadaşları (57)	0,4 - 3,77
Enli (45)	0,26 - 3,20

Çelebiler ve arkadaşlarının(50) İzmir ilindeki çalışmalarında bizim çalışmamızla aynı yöntem ve aynı otoanalizör kullanılmıştır.

İlçöl ve Aslan(43) Bursa ilinde bizim çalışmamızla aynı yöntem ve farklı otoanalizör kullanmıştır. Verileri bizim çalışmamızla oldukça uyumludur.

TSH'nın normal seviyesi ile ilgili tanımlamalar tartışmalı bir konudur(52).

Lee YK ve arkadaşları, sağlıklı Koreliler ile yaptığı çalışmada TSH seviyelerini  $1,81 \pm 0,95$  uIU/L bulmuş olup, normal-yüksek olan katılımcıların referans grup içindekilere oranla 2 kat daha fazla metabolik sendrom riski taşıdıklarını bildirmiştir(52). Mevcut kullanımdaki referans aralığın içinde dahi olsa artmış TSH konsantrasyonunun uzun vadede kardiyovasküler sağlığa olumsuz etkileri olabilir(52).

Aydemir M. Ve Ark.(53) Samsun ilinde 20-69 yaşa arası 242 sağlıklı kişiden, bizimle aynı ölçüm yöntemiyle elde ettikleri referans aralıkları da bizim bulgularımıza benzer özelliktedir.

Motor ve ark(55) 40-80 yaş arası katılımcılardan Ankara ilinde bizimle aynı yöntem farklı otoanalizörle yaptıkları çalışma sonuçlarının bizim sonuçlarımızdan yüksek olduğu görülmektedir. Farklılığın bizim çalışmamızdakinden daha yaşlı bir populasyondan elde edilmesinden kaynaklanması mümkündür. Ayrıca Motor ve ark(55) indirekt yolla elde ettikleri verilerin de direkt yolla elde ettiklerine benzer geldiğini bildirmiştir.

İnal ve arkadaşlarının (56) İstanbul ilinde indirekt metodla elde ettiği değerler bizim direkt yolla elde ettiklerimize benzemektedir.

Enli'nin (45) farklı cihazla bizim gibi kemilüminesans yöntem kullandığı direkt çalışmasının sonuçları da bizimle paraleldir.

Amerika Ulusal Klinik Biyokimya Akademisi (NACB) sağlıklı ötiroid olguların %95'inin serum TSH konsantrasyonunun 0,4-2,5 uIU/mL olduğunu bildirmektedir(54)

NACB, TSH'nın yeni referans aralıklarını belirlemede gönüllülerin, sadece ötiroid sağlıklı gönüllülerden, ATA ve ATG antikoru içermeyen, aile veya kendisinde tiroid disfonksiyon öyküsü, görünen veya palpe edilen guatrı bulunmayan kişilerden seçilmesini önermektedir (54). Çalışmamızda tiroid muayenesi ve tiroid ultrasonografisi yapılmadı ve sadece anketle aile geçmişinde tiroid hastalık öyküsü olanlar dışlandı.

NACB kriterleri ve tiroid USG'si ile katılımcılarını seçen Kratzsch ve arkadaşları (57) Almanya'da yaptıkları çalışmada Daha detaylı dışlama kriterleri uygulamalarına rağmen elde ettikleri sonuçlar bizim sonuçlarımızla uyumludur.

Tablo-14'de FPSA, TPSA için bulduğumuz değerlerin başka çalışmalardan elde edilen verilerle karşılaştırılması sunulmuştur

Tablo-14: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen FPSA, TPSA referans aralıklarının karşılaştırılması

(ng/mL)	TPSA	FPSA
Çalışmamız	(n:77) 0 - 1,35	(n:77) 0,01 - 0,45
Üretici (Catalona ve ark (58)) Lein ve ark(59)	(n:465) 0 - 4  %95. persantil için : 30-39 yaş 1,78 40-49 yaş 1,75 50-59 yaş 2,27 60-69 yaş 3,48 70-79 yaş 4,26	0 – 1  %FPSA için önerilen alt referans limiti(5.persantil) : %12,6
Atalay ve ark (60)	40-49 yaş (n:28) 1,7 ±1,1 50-59 yaş (n:110) 2 ±1,2 60-69 yaş (n:158) 2,9 ±1,7 70-79 yaş (n:104) 3,5 ±2	
Köseoğlu ve ark(47)	20-50 yaş (n:141) <2	
Winkler ve ark (61)	%95 persantil için : 50-59 yaş 3,2 60-69 yaş 5,6 70-79 yaş 8,1	
Casey ve ark (62)	30-34 yaş 0,73 - 1,57 35-39 yaş 0,71 - 1,65 40-44 yaş 0,73 - 1,85 45-49 yaş 0,78 - 2,17 50-54 yaş 0,88 - 2,63 55-59 yaş 1,01 - 3,25 60-64 yaş 1,20 - 4,02 65-70 yaş 1,43 - 4,96	
Sutcliffe ve ark (63)	Beyaz ırk %95 persantil için: 28-36 yaş arası: 1,42  Afrikan-Amerikalı %95 persantil için: 28-36 yaş arası: 1,89	

Sutcliffe ve ark (63) bizimle aynı yöntem ve otoanalizörle 25-40 yaş arası 373 beyaz ve 366 Afrikan-Amerikalı ABD askerinde yaptıkları çalışmada Beyaz ırk için bizim çalışmamızdakine çok benzer sonuçlar almışlardır. Afrikan-Amerikalılarda serum TPSA düzeylerinin beyaz ırka nazaran daha yüksek olduğunu bildirilmiştir(63).

Üretici firma sağlıklı erkeklerin %99'unun TPSA konsantrasyonları 4,0 ng/mL veya daha az olduğunu yaştan bağımsız olarak belirtmektedir. Üreticinin sunduğu değerler bir referans aralık çalışmasının değil Catalona ve arkadaşlarının(58 ) çok merkezli prospektif klinik bir çalışmasından elde edilmiş karar sınırlarıdır.

Atalay ve ark (60) 40 yaş üzeri erkeklerde IMx metoduyla TPSA ölçümü yapmıştır. Önceden ölçülmüş TPSA değeri <4 ng/mL'den düşük ve rektal tuşesi veya prostat biyopsisi negatif kişiler çalışmaya dahil edilmiştir(115). Yaşla birlikte TPSA değerleri artış göstermiştir(115).

Lein ve ark(59)'nın Almanya'da biotin streptavidinli direkt sandviç tekniği ile yaptıkları çalışmada %FPSA için bir alt sınır önermiştir

Winkler ve ark (61) Britanyalı erkekler arasında Hybritech Tandem R otoanalizörüyle yaptıkları çalışmada nispeten yüksek değerler elde etmişlerdir.

Casey ve ark (62) 20-70 yaş arası İrlandalı erkekler arasında TPSA'nın yaşa özel profillerini çıkarttıkları çalışmalarında lineer regresyon ile TPSA'nın artış hızını 0,024 ng/mL/yıl şeklinde tespit etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda sadece anket yöntemiyle seçtiğimiz kişiler herhangi bir muayeneye tabi tutulmamıştır. Erkek katılımcı sayımız 77 olup yaş ortalaması 38,3±13,8 (min:18,max:74) dir. Kişi sayısının kısıtlılığından ötürü yaşa ait alt grup varlığı araştırılmamıştır.

TPSA ve FPSA ile ilgili sağlıklı toplumun dağılımı kadar hasta popülasyonda beklenen değerler de göz önünde tutularak karar sınırlarının benimsenmesinin daha uygun olacağı görüşündeyiz. Yine de örneğin 20'li yaşlardaki bir erkeğin TPSA'sının 3 ng/mL ölçülmesi halinde yaklaşım ne olmalıdır? 4 ng/mL'nin altında olmakla birlikte kendi yaş grubunun referans değerlerinden yaklaşık 3 katı fazla bir TPSA düzeyi araştırılmalı mıdır? Bir fikir birliğine varılmamış olsa da Amerika Ulusal Genel Kanser Ağının çoğunluğunun



da dahil olduğu pek çok uzmanın görüşü genç erkeklerde TPSA karar limitinin <4 ng/mL'den aşağıya çekilmesiyle, NACB ise tanıda özgüllüğü arttıracak ek prosedürlerin (gereksiz biyopsilerin önüne geçmek vb. için) olmadan bu protokolün getirebileceği net faydalar konusunda ikna olmamıştır (64).

Çalışmamız bölge nüfusunun referans değerleri hakkında güncel bilgi sunmakla birlikte TPSA ve FPSA için kullanılacak referans aralıkları ve karar sınırları konusunda dünyada ve ülkemizde hala bir fikir birliğine varılamamıştır.

Tablo-15'de ATG için bulduğumuz değerlerin başka çalışmalardan elde edilen verilerle karşılaştırılması sunulmuştur.

Tablo-15: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen ATG referans aralıklarının karşılaştırılması.

	ATG IU/mL	ATA IU/mL
Çalışmamız	0-17,7	0- 32,3
Üretici	<40	<35
Li ve ark (65)	<39	<38
O'Leary ve ark (66)	<55	<35

ATA ve ATG alt okuma sınırları sırasıyla 10 IU/mL ve 20 IU/mL' dir. Numunelerin büyük çoğunluğu bu değerlerin altında olup <10 ve <20 şeklinde raporlanmıştır. '<' ve '>' işareti olan değerlerin istatistik hesaplamalarda kullanılabilmesi mümkün değildir. Bu nedenle ATA için 10'nun altında, ATG için 20'nin altındaki değerler, CPS (Count per scatter) değerleri alınıp oranlanarak elde edilen referans değer de <20 IU/mL altında bulundu. Bu değer üretici önerisinin oldukça altındadır. ATG testlerinde alt okuma sınırlarının düşürülmesi için çalışmalar yapılmasının referans aralık çalışmalarının sonuçlarının da daha güvenilir olmasına katkı sağlayacağını düşünüyoruz. 0 ile 20 arasındaki değer aralığı alt okuma sınırı açısından çok geniş olup bu aralıkta kişinin değerlerindeki zaman içindeki değişikliklerin takibini de mümkün kılmamaktadır. Ülkemizde ATG referans değerleri açısından farklı analitik sistemleri de içine alan daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Li ve arkadaşlarının (65) Çin’de, 13 yaş üzeri, 3018 kişinin katıldığı, herhangi bir uç değer eliminasyonu yapılmayan, toplum taramasında bizimle aynı ölçüm yöntemi ve aynı otoanalizörü kullanmışlardır. Li ve arkadaşları, 20 IU/mL ve 3000 IU/mL olan okuma sınırlarından >3000 IU/mL olanları 3000 IU/mL olarak, <20 IU/mL olanları da 20 IU/mL olarak kabul ederek istatistiğe katmıştır (65). ATG değerleri bizim bulduğumuzdan çok yüksek olmakla birlikte yine aynı koşullar altında tespit ettikleri ATA değeri, bizim bulduğumuz ve üreticinin önerdiği ile oldukça uyumludur (65).

O’Leary ve arkadaşlarının (66) Avusturalya’da 17-90 yaş arası (mean 51) 1059 erkek, 1042 kadın ile 3-4 SD üzerindeki uç değerleri dışlamış veriden yaptıkları çalışmada bizimle aynı yöntem ve aynı otoanalizörü kullanmışlardır. ATG değerleri bizim bulduğumuzdan çok yüksek olmakla birlikte yine aynı koşullar altında tespit ettikleri ATA değeri, bizim bulduğumuz ve üreticinin önerdiği ile oldukça uyumludur (66).

Tablo-16’da B12 için bulduğumuz değerlerin başka çalışmalardan elde edilen verilerle karşılaştırılması sunulmuştur

Tablo-16: Çalışmamız, üretici ve başka çalışmalardan elde edilen B12 referans aralıklarının karşılaştırılması

B12	pg/mL	
Çalışmamız	83-433	
Üretici	126-505,1	
İlçöl ve Aslan (43)	K:319-1996	E:214-1544
Güngör (67)	18-30 yaş: 150 -694 31-50 yaş: 159-788 >51 yaş: 159-885	

Güngör (67) Malatya ilinde bizimle aynı yöntem farklı otoanalizör ile indirekt olarak elde ettiği B12 değerleri bizim değerlerimizden yüksektir.

B12 seviyelerinin gerek üreticinin gerekse Türkiye’de yapılmış çalışmaların oldukça altında çıkması. Bu konuda yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda anket yöntemiyle seçilen 158 erişkin sağlıklı gönüllüden alınan numunelerden laboratuvarımızda çalışılan 45 klinik kimya testinin bölgemize ait referans aralıklarını hesapladık. Parametrelerin dağılımı histogram ve Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. İki testin sonuçları da dikkate alınarak analitler normal dağılıma uyan ve uymayanlar şeklinde iki gruba ayrıldı.

1. Çalışmamızda analitlerden dağılımları normal olanların uç değerleri  $\pm 3$  SD yöntemiyle, olmayanları Tukey yöntemiyle atıldı. Tukey yöntemi uç değerleri ayırmakta daha hassas olsa da veri sayısını oldukça düşürebilmektedir. 3SD yönteminin normal dağılımda çok kullanışlı olduğu gözlemlendi.
2. Cinsiyet açısından alt gruplara ayırma kararı için Harris-Boyd yöntemi, Lahti yöntemi uygulandı. Ayrıca normal dağılıma uygunluklarına göre Student t veya Mann Whitney U testi ile cinsiyetler arası fark olup olmadığına bakıldı. Bu 3 yöntemden elde ettiğimiz veriler ve klinik ihtiyaçlar dikkate alınarak cinsiyet bakımından alt gruba ayrılacaklar belirlendi. Alt gruba ayırmada klinik ihtiyaçların da dikkate alınması genel kabul görmeye birlikte subjektif bir değerlendirmeye sebep olmaktadır. Alt gruba ayırma yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.
3. Referans aralıkları ve güven aralıkları, veri sayısı 120'nin altında olanlar robust metodla, veri sayısı 120'nin üzerinde olanlar ise dağılımlarına göre parametrik veya nonparametrik metodla hesaplandı. Çalışmamızda Robust yöntemin pek çok analitte 120'nin altındaki kişi sayılarında kullanışlı olduğu gözlemlendi.

4. Çalışmalarda kullanılan referans birey dahil etme, uç değer atılımı, cinsiyet açısından alt gruplara ayırma ve referans aralık eldesi yöntemlerinin çeşitliliği çalışmalar arası karşılaştırma yapmayı güçleştirmektedir.
5. ALB, ALP, Amilaz, BUN, Na, K, Cl, TBİL, DBİL, GLU, LDH, PO<sub>4</sub>, TP , UIBC, ÜA, ATA, CA 19.9, CA125, CEA, KOR, FOL, FT3, FT4, TG, TES, Ca, Mg analitleri için çalışmada bulunan değerlerin üretici değerleriyle uyumlu olduğu gözlenmektedir.
6. Çalışmadan elde ettiğimiz TSH, TPSA, FPSA, KOL, TRİG, HDL-K, LDL-K, CRP, ALT, AST, GGT, Fe, FER AFP, ATG, CA15,3 analitlerinin referans aralıkların genellikle üretici değerlerinden farklılık gösterdiği fakat ülkemizde yapılan çalışmalarla oldukça benzer olduğu anlaşıldı. Bu da referans aralık çalışmalarının önemini ve üretici değerlerini laboratuvarlarda ve kliniklerde doğrudan kullanmanın sakıncalarını ortaya koymaktadır.
7. Çalışmamızda elde ettiğimiz kreatinin değerleri ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalardan daha düşük bulunmuştur.
8. B12 için çalışmamızda elde edilen değerler ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalardan daha düşüktür.
9. ATA ve ATG testlerinin alt okuma sınırlarının yüksek oluşu sağlıklı pek çok kişinin değerlerinin < işareti ile verilmesine sebep olmuştur.
10. Cinsiyet bakımından alt gruplara ayrılan CRE, ÜA, ALT, AST, GGT, TRİG, Fe, FER, TES, KOL, HDL-K, LDL-K analitlerinde kadın ve erkek referans değerleri arasında fark gözlemlendi.
11. Uç değerleri hem yeterli hassasiyette ayıracak hem de veri sayısında gereğinden fazla kayba sebep olmayacak yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.
12. Ülkemizde tümör belirteçleri ve hormonlarla ilgili direkt yöntemle yapılmış çok az sayıda çalışma vardır. Öte yandan biyokimya testleri hakkında son yıllarda ülkemizin çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalardaki artış sevindiricidir.

13. Fe, FER, KOL, TRİG, LDL-K, HDL-K için ülkemizde referans çalışmalarında elde edilen değerler birbiriyle tutarlılık gösterirken diğer ülkelerden belirgin şekilde farklı olması halk sağlığı açısından düşündürücüdür. B12 değerleri de ülke ve dünyadaki çalışmalara göre düşüktür. Bu farklılığın nedenleri hastaların da incelendiği kapsamlı klinik araştırmalarla ortaya konulana kadar bu parametrelerde toplum kaynaklı değerlerin üretici değerlerinin yerine kullanımı kararı dikkatle verilmelidir.
14. TPSA, AFP, CRP vb testlerde karar sınırları ile referans aralıklar arasında belirgin farklar vardır. Ülkemizde karar sınırları açısından da bölgesel farklılıkların araştırılmasının gerekliliğine inanıyoruz.
15. ATA ve ATG testlerinin alt okuma sınırlarının daha aşağıya çekilmesinin üzerine çalışmalar yapılmalıdır. Alt okuma sınırı altında kalan sonuçların net rakamsal karşılığı klinikte önemli olmasa da referans aralık çalışmalarında bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu kişilerin tümüyle atılması hem veri sayısını öngörülemez bir biçimde düşürür hem de sağlıklı olmalarına rağmen dışlanmaları referans değerini yapay olarak yüksek bulunmasına yol açabileceği kanaatindeyiz. Hepsinin değerinin alt okuma sınırına eşit kabul edilmesi de referans değerini olduğundan yüksek hesaplanmasına neden olacaktır.
16. Daha az sayıda numune ile dolayısıyla daha az maliyetle çalışma yapmaya olanak verdiği için referans aralık çalışması planlayan laboratuvarların robust vb yöntemleri de değerlendirmesi önerilebilir.
17. İleri yaş gruplarında ilaç kullanmayan ve kronik hastalığı olmayan sağlıklı bireylere ulaşmak güçtür. Pediatrik ve ileri yaş gruplarını da kapsayan çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. ÖZET

### ERİŞKİN SAĞLIKLI BİREYLERDE BAZI KLİNİK KİMYA TESTLERİNİN REFERANS ARALIKLARI

**Giriş:** Referans aralık kavramı laboratuvar testlerinin değerlendirilmesinde kullanılan temel bir araçtır. Her laboratuvarın hedef popülasyonunun referans aralığını belirlemesi gerekmektedir.

**Amaç:** Çalışmamızda CLSI (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü) ve IFCC' nin (Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu) önerileri doğrultusunda anket yöntemiyle seçilen 158 erişkin sağlıklı gönüllüden alınan numunelerden laboratuvarımızda çalışılan 45 klinik kimya testinin bölgemize ait referans aralıklarını hesapladık.

**Metod:** Parametrelerin dağılımı, uç değerler varlığı, cinsiyet bakımından alt grup varlığı değerlendirildi. Referans aralıkları ve güven aralıkları, veri sayısı 120'nin altında olanlar robust metodla, veri sayısı 120'nin üzerinde olanlar ise dağılımlarına göre parametrik veya nonparametrik metodla hesaplandı.

**Sonuçlar:** Alanin Amino Transferaz, Aspartat Amino Transferaz, Gama Glutamil Transferaz, Demir, Ferritin, TSH, PSA, fPSA, Vitamin B 12, Kolesterol, Trigliserid, HDL-K, LDL-K, kreatinin, CA15,3, Alfa Feto Protein, anti tiroglobulin antikor, C-reaktif protein parametrelerinde elde ettiğimiz değerler üretici değerlerinden farklı olup ülkemizde yapılan çalışmaların sonuçlarıyla benzeştiğini gözlemledik. Özellikle lipid profili, Fe, Ferritin, Vitamin B 12, düzeyleri ile ilgili toplum sağlığı açısından daha geniş çaplı çalışmalara gereksinim olduğunu düşünüyoruz.

**Anahtar Sözcükler:** referans değer, referans birey, referans aralık, gözlenen değer, klinik kimya.

## 8. SUMMARY

### REFERENCE INTERVALS FOR SOME CLINICAL CHEMISTRY TESTS IN ADULT HEALTHY SUBJECTS

**Background:** Reference intervals are basic tools for the evaluation of laboratory test results. Every laboratory should define own reference intervals specific to the population of interest.

**Aim:** In the present study, major aim is to define reference intervals of our population for 45 biochemical tests routinely done at our laboratory.

**Methods:** Blood samples were collected from 158 healthy volunteers selected via a questionnaire according to recommendations of CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) and IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine). Data concerning laboratory parameters were evaluated with respect to their distribution, extreme values, and presence of subgroups according to the sex. Reference intervals with their confidence intervals were calculated with an appropriate parametric/nonparametric test when sample size exceeds 120. Robust method was used when sample size for a parameter is less than 120.

**Results:** Our reference intervals for ALT, AST, GGT, Fe, FER, TSH, PSA, fPSA, B12, cholesterol, triglyceride, HDL-C, LDL-C, creatinine, CA15.3, AFP, anti thyroglobulin antibody, CRP were compatible with the results presented previously for selected populations in our country, however were different from the intervals proposed by the manufacturer. As a public health issue, large scale studies are needed in order to define appropriate reference intervals representing our population for laboratory parameters, particularly for lipids, Fe, Ferritin, B12.

**Key Words:** reference value, reference individual, reference range, observed value, clinical chemistry.

## 9.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. 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.
3. 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.
4. Özarda Y, Aslan D (Ed.): Referans Aralıkları Hesaplama Kursu Kitabı, Türk Biyokimya Derneği Yayınları, İzmir, 2012.
5. CLSI. Defining, establishing and Verifiying Reference İntervals in the Clinical Laboratory;approved guideline. Third ed.,CLSI Document C28-A3. Wayne, USA, 2008
6. Geffré A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. Reference values: a review. Vet Clin Pathol. 38(3):288-98, 2009.
7. 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



- of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem.* 25(5):337-42, 1987.
8. 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.
  9. Solberg HE, PetitClerc C. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem.* 26(9):593-8, 1988.
  10. Solberg HE, Stamm D. International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Division: approved recommendation on the theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 29(8):531-5, 1991.
  11. 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.
  12. 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
  13. 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.
  14. Ozarda Y, Ichihara K, Barth JH, Klee G; Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL), International Federation for Clinical Chemistry and

- 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
15. Aytekin M, Emerk K. Accurate reference intervals are required for accurate diagnosis and monitoring of patients. *eJIFCC.* 19(2), 2008.
  16. Guidi GC, Sdlvagno GL. Reference intervals as a tool for total quality management. *Biochem Med.* 20(2):165-72, 2010.
  17. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a “ reference change ” for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem.* 29(1):25-30, 1983.
  18. 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.
  19. Solber HE. Using a hospitalized population to establish reference intervals: pros and cons. *Clin Chem.* 40(12):2205-6, 1994.
  20. Hoffmann RG. Statistics in the practice of medicine. *JAMA.* 185:864-73, 1963.
  21. Bhattacharya CG. A simple method of resolution of a distribution into gaussian components. *Biometrics.* 23(1):115-35, 1967.
  22. 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.
  23. Horn PS, Pesce AJ. Reference Intervals. A User’s Guide. Washington, DC: AACC Press; 2005.
  24. 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.

25. Shultz EK, Willard KE, Rich SS, Connelly DP, Critchfield GC. Improved reference-interval estimation. *Clin Chem.* 31(12):1974-8, 1985.
26. Harris EK, Boyd JC. *Statistical basis of reference values in laboratory medicine.* New York: Marcel Dekker, 1995.
27. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem.* 17(4):275-84, 1971.
28. Lott JA, Mitchell LC, Moeschberger ML, Sutherland DE. Estimation of reference ranges: how many subjects are needed? *Clin Chem.* 38(5):648-50, 1992.
29. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin Chem.* 44(3):622-31, 1998.
30. Linnet K. Nonparametric estimation of reference intervals by simple and bootstrap-based procedures. *Clin Chem.* 46(6 Pt 1):867-9, 2000.
31. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. Reference interval computation using robust vs parametric and nonparametric analyses. *Clin Chem.* 45(12):2284-5, 1999.
32. Coskun A, Ceyhan E, Inal TC, Serteser M, Unsal I. The comparison of parametric and nonparametric bootstrap methods for reference interval computation in small sample size groups. *Accred Qual Assur.* 18:51-6, 2013.
33. Hawkins RC, Badrick T. Reference interval studies: what is the maximum number of samples recommended? *Clin Chem Lab Med.* 51(11):2161-5, 2013.
34. Dixon WJ. Processing data for outliers. *Biometrics.* 9:74-89, 1953.
35. 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.
36. Solberg HE, Lahti A. Detection of outliers in reference distributions: performance of Horn's algorithm. *Clin Chem.* 51(12):2326-32, 2005.

37. 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.
38. Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem.* 36(2):265-70, 1990.
39. 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.
40. Lahti A, Petersen PH, Boyd JC, Rustad P, Laake P, Solberg HE. Partitioning of nongaussian-distributed biochemical reference data into subgroups. *Clin Chem.* 50(5):891-900, 2004.
41. Fraser CG, Hyltoft 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.
42. 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.
43. İlçöl Y, Aslan D. Bursa İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması. *Turk J Biochem.* 29(2):183-192, 2004.
44. Balcı Y. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Klinik Biyokimya Bölümü, İstanbul, 2006.
45. Enli Y. Denizli'de Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle referans Aralıkların Saptanması. Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, Denizli, 2001.
46. 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.
47. Köseoğlu M, İşleten F, Dursun S, Çuhadar S. Determination of Reference Intervals of Healthy Adults Aged Between 20-50 Years in Izmir. *Turk J Biochem*. 35(3):215-224, 2010.
48. Dati F, Schumann G, Thomas L, Aguzzi F, Baudner S, Bienvenu J, Blaabjerg O, Blirup-Jensen S, Carlström A, Petersen PH, Johnson AM, Milford-Ward A, Ritchie RF, Svendsen PJ, Whicher J. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). International Federation of Clinical Chemistry. Community Bureau of Reference of the Commission of the European Communities. College of American Pathologists. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 34(6):517-20, 1996.
49. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP: Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem*. 43(1):52–58,1997.
50. Çavuşoğlu AÇ, Bilgili S, Erkızan Ö, Arıcan H, Karaca B. Thyroid hormone reference intervals and the prevalence of thyroid antibodies. *Turk J Med Sci*. 40(4):665-672, 2010.
51. Jensen E, Hyltoft Petersen P, Blaabjerg O, Hansen PS, Brix TH, Kyvik KO, Hegedüs L. Establishment of a serum thyroid stimulating hormone (TSH) reference interval in healthy adults. The importance of environmental factors, including thyroid antibodies. *Clin Chem Lab Med*. 42(7):824-32, 2004.
52. Lee YK, Kim JE, Oh HJ, Park KS, Kim SK, Park SW, Kim MJ, Cho YW. Serum TSH level in healthy Koreans and the association of TSH with serum lipid concentration and metabolic syndrome. *Korean J Intern Med*. 26(4):432-9, 2011.

53. Aydemir M. Samsun ili erişkin populasyonunda tiroit hormonlarının referans aralıklarının belirlenmesi, Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun, 1999.
54. Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Rasmussen U, Henry JF, LiVosli VA, Niccoli-Sire P, John R, Ruf J, Smyth PP, Spencer CA, Stockigt JR; Guidelines Committee, National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid*. 13(1):3-126, 2003.
55. Motor S, Erden G, Sahillioğlu B, Erdoğan S, Yıldırımkaaya MM: Direct versus indirect strategies for thyroid hormone reference intervals established in a middle-aged and elderly population on an immunoassay analyzer. *J Clin Exp Invest*.1(3):161-7,2010.
56. Inal TC, Serteser M, Coşkun A, Ozpinar A, Unsal I. Indirect reference intervals estimated from hospitalized population for thyrotropin and free thyroxine. *Croat Med J*. 51(2):124–130, 2010.
57. Kratzsch J, Fiedler GM, Leichtle A, Brügel M, Buchbinder S, Otto L, Sabri O, Matthes G, Thiery J. New reference intervals for thyrotropin and thyroid hormones based on National Academy of Clinical Biochemistry criteria and regular ultrasonography of the thyroid. *Clin Chem*. 51(8):1480-6, 2005.
58. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL, Waters WB, MacFarlane MT, Southwick PC. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol*. 151(5):1283-90, 1994.
59. Lein M, Koenig F, Jung K, McGovern FJ, Skates SJ, Schnorr D, Loening SA. The percentage of free prostate specific antigen is an age-independent tumour marker for prostate cancer: establishment of reference ranges in a large population of healthy men. *Br J Urol*. 82(2):231-6, 1998.

60. Atalay AC, Karaman MI, Güney S, Dalkiliç A, Müslümanoğlu AY, Ergenekon E. Age-specific PSA reference ranges in a group of non-urologic patients. *Int Urol Nephrol.* 30(5):587-91, 1998
61. Winkler MH, Mayer EK, Carter A, Kulinskaya E, Green JSA. Age-specific PSA reference values based on a screening population of British men. *Br J Med Surg Urol* 1:25-30, 2008.
62. Casey RG, Hegarty PK, Conroy R, Rea D, Butler MR, Grainger R, McDermott T, Thornhill JA. The Distribution of PSA Age-Specific Profiles in Healthy Irish Men between 20 and 70. *ISRN Oncol.* doi:10.5402/2012/832109), 2012.
63. Sutcliffe S, Pakpahan R, Sokoll LJ, Elliott DJ, Nevin RL, Cersovsky SB, Walsh PC, Platz EA: Prostate-specific antigen concentration in young men: new estimates and review of the literature. *BJU Int.* 110(11):1627-35, 2012.
64. Sturgeon CM, Duffy MJ, Stenman UH, Lilja H, Brünner N, Chan DW, Babaian R, Bast RC Jr, Dowell B, Esteva FJ, Haglund C, Harbeck N, Hayes DF, Holten-Andersen M, Klee GG, Lamerz R, Looijenga LH, Molina R, Nielsen HJ, Rittenhouse H, Semjonow A, Shih IeM, Sibley P, Sölétormos G, Stephan C, Sokoll L, Hoffman BR, Diamandis EP;National Academy of Clinical Biochemistry: National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clin Chem.* 54(12):e11-79, 2008.
65. Li Y, Teng D, Shan Z, Teng X, Guan H, Yu X, Fan C, Chong W, Yang F, Dai H, Gu X, Yu Y, Mao J, Zhao D, Li J, Chen Y, Yang R, Li C, Teng W: Antithyroperoxidase and Antithyroglobulin Antibodies in a Five-Year Follow-Up Survey of Populations with Different Iodine Intakes. *J Clin Endocrinol Metab.*93(5): 1751-7, 2008.
66. O'Leary PC, Feddema PH, Michelangeli VP, Leedman PJ, Chew GT, Knuiman M, Kaye J, Walsh JP: Investigations of thyroid hormones and antibodies based on a community health survey: the Busselton thyroid study. *Clin Endocrinol.* 64(1):97-104,2006.

67. Güngör M. Klinik Biyokimya Analitlerine ait referans aralıkların numune kabul zamanına göre indirekt yöntem ile tespiti, Uzmanlık tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya, 2011.



## Ek-1 Referans aralık Çalışması Anket Formu

**ERİŞKİN SAĞLIKLI BİREYLERDE BAZI KLİNİK KİMYA TESTLERİNİN REFERANS ARALIKLARI** “ çalışmasına gönüllü olduğunuz için teşekkür ederiz.

**Dahil edilme kriterleri:**

- Bugün kendinizi iyi hissediyor musunuz? E H
- 18 yaşın üstünde misiniz? E H

**Dışlama kriterleri**

- HBV, HCV veya HIV taşıyıcılığınız var mı? E H
- Şeker hastalığınız, kronik karaciğer ya da böbrek rahatsızlığınız var mı? E H
- Guatrınız var mı geçmişte siz veya ailenizde guatr ile ilgili bir tanı alındı mı? E H
- Kansızlık (anemi) rahatsızlığınız var mı? E H
- Ciddi bir hastalığı gösteren kan sonuçlarınız var mı? E H
- Geçtiğimiz 2 hafta içinde hastanede yattınız ya da hastalık geçirdiniz mi? E H
- Geçtiğimiz bir ay içinde grip, soğuk algınlığı veya benzeri bir hastalık geçirdiniz mi? E H
- Son 2 hafta içerisinde kullandığınız bir ilaç var mı? (Varsa nedir?) E H
- Geçtiğimiz 3 ay içinde kan bağışında bulundunuz mu? E H
- Son 3 ay içinde bir araştırma ürünü ile ilgili bir araştırmaya katıldınız mı? E H
- Sigara veya alkol kullanıyor musunuz? E H

**Kişisel Bilgiler:**

Adı Soyadı:

Yaş:

Cinsiyet:

Doğum Yeri:

Yerleşim Yeri:

## Ek-1 Referans aralık Çalışması Anket Formu(2.sayfa)

Anne / Baba Doğum Yeri:

Ağırlık(kg):

Boy(cm):

Kan grubu:

Tarih:

Şu an aç mısınız?

E H

Son yemek saati:

Numune alım zamanı:

-Her gün kullandığınız bir ilaç,besin takviyesi veya vitamin var mı?

E H

-Son 6 ay içinde hastanede yattınız mı?

E H

-Ailenizde kalıtsal sağlık sorunları var mı?

E H

-Özel bir diyet uyguluyor musunuz?

E H

-Zararlı kimyasallara maruziyetiniz var mı?

E H

-Vejeteryan mısınız?

E H

-Düzenli Egzersiz yapıyor musunuz?

E H

-Haftada kaç saat?

-Son 3 gün içinde ağır egzersiz yaptınız mı?

E H

**Kadınlar İçin:**

-Son adet tariniz nedir?

-Adetleriniz düzenli midir?

E H

-Hamile misiniz yada 1 yaş altı çocuğunuz var mı?

E H

-Emzirme döneminde misiniz?

E H

**BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU**

**LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!**

**ERİŞKİN SAĞLIKLI BİREYLERDE BAZI KLİNİK KİMYA TESTLERİNİN REFERANS**

**ARALIKLARI** adlı çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Amacımız *TSH, ft3, ft4, testesteron, kortizol, CA 19.9, CA 12.5, CA15.3, CEA, AFP, total PSA, freePSA, B12, folat, ferritin, anti TPO ab(ATA), tiroglobulin(TG), anti TG ab, glukoz, kreatin, ürik asit, total protein, albümin, total bilirubin, direkt bilirubin, ALP, ALT, AST, GGT, amilaz, total kalsiyum, inorganik fosfat, kolesterol, trigliserid, HDL-kolestrol, LDL-kolestrol, LDH, sodyum, potasyum, klorür, magnezyum, total demir, total demir bağlama kapasitesi ve CRP* parametreleri için laboratuvarımıza ve bölgemize ait referans değerleri elde etmektir. Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 150 kişi olarak öngörülmüştür.

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için anketimizdeki soruları yanıtlamanız gerekmektedir. Anket sonucunda çalışmaya katılmaya uygun olup olmadığınız araştırmacı tarafından değerlendirilecektir. Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 10-20 (1-2 tüp) ml. kadar kan almamız gerekmektedir.

Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

Çalışmayı destekleyen kurum KTÜ BAP(Bilimsel Araştırma Projeleri) fonudur. Bu çalışmaya katılmanız için sizden veya sosyal güvenlik kuruluşunuzdan herhangi bir ücret istenmeyecektir.

Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz;

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz. Çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0(462)377 5768 no.lu telefondan Prof Dr. Orhan Değer veya Dr Süret Ağaç'a başvurabilirsiniz.

**Çalışmaya Katılma Onayı:**

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 1(Bir) sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

**Tarih :**     /     / **2013**

**Gönüllünün :** Adı Soyadı

Tel./Adres :

İmzası:

**Gerekli Hallerde Vasisinin:**

Adı Soyadı:

Tel./Adres :

İmzası:

**Araştırmacının:** Adı Soyadı

İmzası: