

**T.C.**

**ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**ADYAMAN İLİNDE 18-65 YAŞ SAĞLIKLI ERİŞKİN KİŞİLERDE  
HEMATOLOJİK REFERANS DEĞERLERİN BELİRLENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Kenan ATEŞ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Sedat YILMAZ**

**ADYAMAN - 2018**



**T.C.**

**ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**ADYAMAN İLİNDE 18-65 YAŞ SAĞLIKLI ERİŞKİN KİŞİLERDE  
HEMATOLOJİK REFERANS DEĞERLERİN BELİRLENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Kenan ATEŞ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Sedat YILMAZ**

**ADYAMAN - 2018**

## ONAY SAYFASI

Dr Sedat YILMAZ danışmanlığında Dr. Kenan ATEŞ tarafından yapılan “Adıyaman ilinde 18-65 yaş sağlıklı erişkin kişilerde hematolojik referans değerlerin belirlenmesi” başlıklı tez çalışması gün.../ay.../yıl... tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda TIPTA / UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Abdullah ARPACI

ÜYE

Yrd. Doç. Dr Mehmet Ferit GÜRSU

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Sadık AKGÜN

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

gün.../ay.../yıl.

Yrd. Doç. Dr. Öznur ULUDAĞ

Adıyaman Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı V.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde bilimsel alanda yönlendiren, bilgi ve deneyimleriyle her türlü desteği veren ve bu çalışmanın her aşamasında yardımcı olup, çıkan problemlerin çözümünde beni yönlendirip yardımcı olan tez danışmanım, Sayın Yrd. Doç. Dr. Sedat YILMAZ'a saygı ve şükranlarımı sunarım. Eğitim sürecimde, biyokimya eğitiminin sağladığı olanaklardan en iyi şekilde yararlanmam için beni yönlendirip sosyal hayatta destekleyen ve her daim bir abi sıcaklığını hissettiren Sayın Yrd. Doç. Dr. Muhittin ÖNDERCİ ve Sayın Prof. Dr. Abdullah ARPACI hocama teşekkürlerimi ederim. Bhattacharya metodu konusunda bilgilerini paylaştığı için Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat USTA hocama teşekkür ederim. Kalıcı dostluklar kurduğum ve birlikte güzel günler geçirdiğim çalışma arkadaşlarım ve teknisyen arkadaşlarımla tüm Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına yardımları için teşekkür ederim. Hayatım boyunca her konuda yanımda olan ve desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen sevgili anneme, babama ve kardeşlerime içten teşekkür eder ederim. Eşim Esra Nur'a bitmek bilmeyen sabrı ve tükenmeyen sevgisi için ve kızım Elif Ezel'in bana kattığı huzur için teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLOLAR DİZİNİ.....	VIII
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	XII
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.REFERANS ARALIĞI VE TANIMLAMALAR.....	3
2.2.REFERANS BİREYLERİN SEÇİMİ.....	4
2.2.1.Doğrudan (direkt) örnekleme yöntemi.....	5
2.2.2.Dolaylı (indirekt) örnekleme yöntemi.....	6
2.3.REFERANS ARALIĞININ İNDİREKT BHATTACHARYA METODUYLA BELİRLENMESİ .....	7
2.4.REFERANS ARALIĞININ BAZI PROĞRAMLARLA BELİRLENMESİ.....	9
2.5.REFERANS KİTLESİNİN GRUPLANDIRILMASI.....	10
2.6.REFERANS BİREY ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI ve ANALİTİK PROSEDÜR.....	11
2.5.1.Preanalitik Evre.....	11
2.5.2.Analitik Evre.....	12
2.5.3.Post Analitik Evre.....	13
2.7.REFERANS DEĞERLERİN İSTATİSTİKSEL ANALİZİ.....	13
2.6.1.Verilerin Toplanması ve Gruplara Bölünmesi.....	13
2.6.2. Referans Gruptaki Veri Sayısının Önemi.....	14
2.6.3. Dağılımın İncelenmesi.....	15
2.6.4. Aşırı Uç Değerlerin Belirlenmesi.....	15
2.6.5. Referans Kitesinin Dağılım Değerlendirilmesinde Kullanılan Testler....	16

<b>2.6.6. Referans Sınırların Saptanması.....</b>	<b>18</b>
<b>2.6.6.1.Parametrik Yöntemler.....</b>	<b>19</b>
<b>2.6.6.2.Nonparametrik Yöntemler.....</b>	<b>20</b>
<b>2.7. VERİ TRANSFORMASYONU.....</b>	<b>21</b>
<b>2.8. REFERANS ARALIKLARININ TRANSFER EDİLEBİLİRLİĞİ.....</b>	<b>21</b>
<b>2.9. KAN HÜCRELERİ ve KLİNİK ÖNEMİ.....</b>	<b>22</b>
<b>2.9.1 Eritrositler ve Klinik Önemi.....</b>	<b>23</b>
<b>2.9.2.Lökositler ve Klinik Önemi.....</b>	<b>24</b>
<b>2.9.3 Trombositler ve Klinik Önemi.....</b>	<b>26</b>
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1 ÇALIŞMA GRUPLARI .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE BELİRLENEN RED KRİTERLERİ.28</b>	
<b>3.3. KULLANILAN CİHAZ VE REAKTİFLER.....</b>	<b>29</b>
<b>3.3.1. Kullanılan Cihaz .....</b>	<b>29</b>
<b>3.3.2. Kullanılan Reaktifler.....</b>	<b>29</b>
<b>3.3.2.1.CELL DYN Diluent/Sheath Reaktifi.....</b>	<b>29</b>
<b>3.3.2.2.CELL DYN CN İçermeyen HGB/Çekirdeksel Optik Sayım (NOC) Lyse Reaktifi.....</b>	<b>29</b>
<b>3.3.2 3.CELL DYN WBC Lyse Reaktifi .....</b>	<b>30</b>
<b>3.3.3 Kullanılan Kontrol ve Kalibratörler.....</b>	<b>30</b>
<b>3.4.ÇALIŞILAN HEMOGRAM TESTLERİNİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ.30</b>	
<b>3.4.1.WBC Analizi.....</b>	<b>30</b>
<b>3.4.2.RBC/PLT Analizi.....</b>	<b>33</b>
<b>3.4.3.Hemoglobin Analizi.....</b>	<b>33</b>
<b>3.5. KULLANILAN BİLGİSAYAR PROGRAMLARI VE İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER .....</b>	<b>34</b>
<b>3.6. İNDİREKT NONPARAMETRİK YÖNTEMLE REFERANS ARALIKLARIN HESAPLANMASI .....</b>	<b>34</b>
<b>3.7. BHATTACHARYA METOLDUYLA REFERANS ARALIKLARIN HESAPLANMASI .....</b>	<b>37</b>
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>42</b>

<b>4.1. İNDİREKT NONPARAMETRİK YÖNTEMLE HESAPLANAN BULGULAR.....</b>	<b>42</b>
<b>4.2. BHATTACHARYA METOLDUYLA HESAPLANAN BULGULAR .....</b>	<b>46</b>
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>53</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>59</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>61</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>ANOVA</b>	Analysis Of Variance; Varyans Analizi
<b>CO<sub>2</sub></b>	Karbondioksit
<b>CBC</b>	Tam kan sayımı
<b>EDTA</b>	Etilen diamintetraasetik asit
<b>H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	Karbonik asit
<b>HCO<sub>3</sub></b>	Bikarbonat
<b>HCT</b>	Hematokrit
<b>HGB</b>	Hemoglobin
<b>ICSH</b>	International Committee for Standardization in Haematology
<b>IFCC</b>	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
<b>K-S</b>	Kolmogorov-Smirnov
<b>MCH</b>	Ortalama Eritrosit Hemoglobini
<b>MCHC</b>	Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
<b>MCV</b>	Ortalama Eritrosit Volümü
<b>MPV</b>	Ortalama Trombosit Volümü
<b>NCCLS</b>	National Committee for Clinical Laboratory Standards
<b>NOC</b>	Çekirdeksel Optik Sayım
<b>PCT</b>	Trombosit Platekriti
<b>PDW</b>	Trombosit Dağılım Genişliği
<b>RBC</b>	Kırmızı Kan Hücresi Sayısı
<b>RDW</b>	Eritrosit Dağılım Genişliği
<b>Rtc</b>	Retikülosit
<b>SD</b>	Standard Deviation
<b>WBC</b>	Beyaz Kan Hücresi Sayısı
<b>WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1</b>	Referans aralık saptama anket formu.....5
<b>Şekil 2</b>	Normal dağılım örneği.....18
<b>Şekil 3</b>	CELL-DYN Ruby cihazı akış paneli bileşenleri.....32
<b>Şekil 4</b>	CELL-DYN Ruby cihazı optik akış hücresi ve wbc ışık saçılımı.....32
<b>Şekil 5</b>	RBC parametresine ait çizilen histogram grafiği.....38
<b>Şekil 6</b>	Orta noktalar ile delta değerleri arasındaki saçılım diyagramı.....39
<b>Şekil 7</b>	WBC için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği.....43
<b>Şekil 8</b>	RBC için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği.....44
<b>Şekil 9</b>	HGB için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği.....45
<b>Şekil 10</b>	PLT için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği.....46
<b>Şekil 11</b>	WBC için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği.....47
<b>Şekil 12</b>	RBC için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği.....48
<b>Şekil 13</b>	HGB için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği.....49
<b>Şekil 14</b>	PLT için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği.....50

## TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Tablo 1</b> Normal değer tanımlamaları.....	3
<b>Tablo 2</b> İndirekt örneklendirmede veri toplanmasında uyulması gereken Kurallar.....	7
<b>Tablo 3</b> Dağılımlardaki gruplaşma nedenleri.....	10
<b>Tablo 4</b> Preanalitik biyolojik ve metodolojik faktörler.....	11
<b>Tablo 5</b> Referans değerlerin kullanılabilmesi için uyulması gereken kurallar.....	13
<b>Tablo 6</b> Referans gruplarını ayırma kriterleri.....	14
<b>Tablo 7</b> Referans aralıklarının transfer edilebilme koşulları.....	21
<b>Tablo 8</b> Pluripotent stem-cell'den periferik kan hücrelerinin oluşumu.....	22
<b>Tablo 9</b> Tam kan çıktılarında yer alan eritrosit indeksleri ve tanısal değerleri.....	24
<b>Tablo 10</b> Akyuvarların alt tiplerinin dağılımları.....	25
<b>Tablo 11</b> Tam kan sayım çıktılarında yer alan lökosit formülü ve tanısal değeri.....	26
<b>Tablo 12</b> Red kriterleri tablosu.....	29
<b>Tablo 13</b> Referans verilerin sıralanması.....	35
<b>Tablo 14</b> %2,5 percentil için % 90 güven aralığı tablosunun sıra numarası ile tanımlanması.....	36
<b>Tablo 15</b> Bhattacharya yönteminin uygulama adımları tablosu.....	38
<b>Tablo 16</b> Aşırı uçlar atılmadan ve atıldıktan sonraki WBC, RBC, HGB, PLT Verileri.....	42
<b>Tablo 17</b> WBC için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean $\pm$ SD değerleri.....	43
<b>Tablo 18</b> RBC için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean $\pm$ SD Değerleri.....	44
<b>Tablo 19</b> HGB için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean $\pm$ SD Değerleri.....	45
<b>Tablo 20</b> PLT için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean $\pm$ SD Değerleri.....	46
<b>Tablo 21</b> Aşırı uçlar atılmadan ve atıldıktan sonraki WBC, RBC, HGB, PLT verileri.....	47

<b>Tablo 22</b> WBC için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean $\pm$ SD Değerleri.....	48
<b>Tablo 23</b> RBC için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean $\pm$ SD Değerleri.....	48
<b>Tablo 24</b> HGB için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean $\pm$ SD değerleri .....	49
<b>Tablo 25</b> PLT için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean $\pm$ SD değerleri .....	50
<b>Tablo 26</b> İndirekt nonparametrik yöntem, Bhattacharya metodu ve firmanın referans aralıkları .....	51
<b>Tablo 27.</b> Çaycı ve ark.(78)'i, Naus ve ark.(79)'i, Özarda ve ark.(80)'nin referans aralıkları.....	52

## ÖZET

### **Adıyaman ilinde 18-65 yaş sağlıklı erişkin kişilerde hematolojik referans değerlerin belirlenmesi**

**Amaç:** Referans aralıkları tıbbi kararların verilmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Üretici firma tarafından önerilen referans aralığı mevcut olsa da bu aralığın kullanıldığı toplumun referans aralığını tam olarak yansıttığı söylenemez. Çünkü üretici firmalar tarafından hesaplanan referans aralıkları ırk, beslenme ve yaşam biçimine bağlı oluşan varyasyonları açıklayamayabilir. Bu yüzden her laboratuvar kendi referans aralık değerlerini belirlemelidir. Bu çalışmada, hastane verileri kullanarak tam kan analizleri için kullanılacak dört hematolojik parametrenin (WBC, RBC, HGB, PLT) referans aralıklarını indirekt yöntemlerle (Bhattacharya Metoduyla ve indirekt nonparametrik yöntemle) hesaplayarak hastanemizde kullanmayı amaçladık.

**Gereç ve yöntem:** Bu çalışmada Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 1 Ocak 2015-31 Aralık 2016 tarihleri arasında tıbbi biyokimya laboratuvarında çalışılan ve yaş aralığı 18-65 olan, ayaktan tedavi gören hastalara ait dört parametrede 8726'si erkek ve 12993'ü kadın, toplam 21719 kişinin verileri bilgi işlem aracılığıyla Hastane Bilgi Yönetim ve Otomasyon (HBYOS) kayıtlarından elde edilerek çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil olan hasta verileri, hastanenin kullandığı otomasyon (KarMed Hasta Yönetim Bilgi Sistemi) sisteminin kayıtlarından Microsoft Office Excel programına aktarıldı. Hesaplamaya başlamadan önce her iki cinsiyet için SPSS 22 programı ile histogramlar çizildi ve aşırı uç değerler tespit edildi. Aşırı uç değerleri atmak için XLSTAT programındaki Dixon kuralı ve SPSS 22 programı içindeki stem-and-leaf plot grafiği kullanıldı. Daha sonra Bhattacharya metodu ve indirekt nonparametrik yöntemle referans aralıklar hesaplandı.

**Bulgular:** indirekt nonparametrik yöntemle; WBC referans aralıklarına ait değerler erkekler için 5-12.1 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 4.8-11.4 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. RBC referans aralıklarına ait değerler erkekler için 4.58-6.2 ( $10^6/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 4.16-5.47 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. HGB referans aralıklarına ait değerler erkekler için 13.65-17.82 (g/dL), kadınlar için 10.64-15.21 (g/dL) olarak bulunmuştur. PLT referans aralıklarına ait değerler erkekler için 148-339 ( $10^3/\mu\text{L}$ ),

kadınlar için 172-374 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. Çalışmada indirekt nonparametrik yöntem için güven aralığı %90'dır. Bhattacharya metoduyla; WBC referans aralıklarına ait değerler erkekler için 3.21-11.84 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 3.41-13.5 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. RBC referans aralıklarına ait değerler erkekler için 3.76-6.61 ( $10^6/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 3.42-5.73 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. HGB referans aralıklarına ait değerler erkekler için 12.09-18.52 (g/dL), kadınlar için 9.53-16.22 (g/dL) olarak bulunmuştur. PLT referans aralıklarına ait değerler erkekler için 119-394 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 124-445 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. Çalışmada Bhattacharya metodu için güven aralığı %95'tir.

**Sonuç:** Bizim çalışmamızda indirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz referans değerler, Bhattacharya metoduyla bulduğumuz referans değerlere göre firmanın referans değerlerine daha yakın çıkmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Referans aralık, Bhattacharya metodu, hematolojik referans

## ABSTRACT

### **Determination of hematological reference values in 18-65 year old healthy adults in Adiyaman**

**Objective:** Reference intervals have an important place in making decisions. Although the reference interval recommended by the manufacturer is available, this range does not accurately reflect the reference interval of the population in which it is used, because the reference intervals provided by the manufacturers cannot explain variations caused by race, diet and lifestyle. Therefore, each laboratory should set its own reference interval values. In this study, using hospital data we aimed to determine the reference intervals of four hematologic parameters (WBC, RBC, HGB, and PLT) by using indirect methods (with Bhattacharya and indirect nonparametric methods).

**Materials and methods:** In this study, a total of 21719 patients, 8726 men and 12993 women who were admitted Adiyaman University Training and Research Hospital between 1 January 2015 and 31 December 2016 were included and four parameters of these patients which were studied in the biochemistry laboratory were obtained by using Information Management and Automation (HBYOS) records. The patient data included in the study were obtained from the automation system (KarMed Patient Management Information System) of the hospital and transferred to Microsoft Office Excel program. Prior to analysis, histograms were drawn for both genders and extreme values were determined by using SPSS 22 program. To discard extreme values, a Dixon rule in the XLSTAT program and a stem-and-leaf plot chart in the SPSS 22 program were used. The reference intervals were then calculated using the Bhattacharya method and the indirect nonparametric method.

**Findings:** In indirect nonparametric method, reference intervals for WBC were 5-12.1 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) for males and 4.8-11.4 ( $10^3 / \mu\text{L}$ ) for females. Reference intervals for RBC were 4.58-6.2 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) for men and 4.16-5.47 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) for women. Reference intervals for HGB were 13.65-17.82 (g/dL) for males and 10.64-15.11 (g/dL) for females. Reference intervals for PLT were 148-339 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) for males and 172-374 ( $10^3/ \mu\text{L}$ ) for females. The confidence interval for the indirect nonparametric methods in the study is %90. In Bhattacharya method, Reference intervals for WBC were 3.21-11.84 ( $10^3 / \mu\text{L}$ ) for men and 3.41-13.5 ( $10^3 / \mu\text{L}$ ) for women. Reference

intervals for RBC were 3.76-6.61 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) for men and 3.42-5.73 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) for women. Reference intervals for HGB were 12.09-18.52 (g / dL) for males and 9.53-16.22 (g / dL) for females. Reference intervals for PLT were 119-394 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) for men and 124-445 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) for women. The confidence interval for the Bhattacharya method in study is %95.

**Conclusion:** In our study, the reference values we found with the indirect nonparametric method were closer to the reference values of the firm than the reference values we found with Bhattacharya method.

**Key words:** Reference range, Bhattacharya method, hematological reference



## 1.GİRİŞ

Tam kan sayımı (CBC) referans aralıkları, hastalıkların teşhisinde, kan vericilerini taramada ve genel sağlığı değerlendirmede önemlidir. Bireylerin hastalık ve sağlık durumlarının belirlenmesinde referans verilerine başvurulmaktadır. Referans verileri klinik muayenelerden, tıbbi anamnezlerden ve destek incelemelerden elde edilirler (1). Referans değerler klinikte tedavinin ve takibin her aşamasında klinisyenlere ışık tutmaktadır (2). Referans aralık; bir analitin belirli bir toplumu yansıtan ve yüzdeliklere ayrılmış referans bireylerinin, alt %2,5 ve üst %97,5 arasında kalan, orta %95'inin bulunduğu alt ve üst referans limit değerleridir (3). Referans aralıkları tıbbi kararların verilmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Üretici firma tarafından önerilen referans değerleri mevcut olsa da önerilen aralığın hitap ettiği toplumun referans değerlerini tam olarak yansıttığı söylenemez. Çünkü ağırlıklı olarak Kuzey Amerika ve Avrupa nüfusu için üretici firmalar tarafından hesaplanan referans aralıkları ırk, beslenme ve yaşam biçimine bağlı oluşan varyasyonları açıklayamayabilir (4, 5).

Farklı yöntemlerin, araçların ve popülasyonların kullanılması, hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), kırmızı kan hücresi sayısı (RBC) ve beyaz kan hücresi sayısı (WBC) gibi CBC parametrelerinde önemli farklara neden olabilir (6, 7). Standartlaştırma yöntemleri ve laboratuvar tekniklerindeki ilerlemeler, birçok analitik yöntemde saha-içi farklılıkların etkilerini en aza indirmiştir (8). Etnisite, bir referans aralığını etkileyebilecek önemli değişkenlerden biridir (4). Avrupa'daki ülkelerin çoğu klinik kimyayla ilgili olarak, her bir klinik laboratuvarın kendi referans değerlerini üretmesi gerektiği sonucuna varmışlardır (5, 9).

Referans aralıkları belirlemede, referans bireylerinin seçimi direkt veya indirekt yöntemle olabilir. Direkt örnekleme yönteminde referans bireyler sağlık durumları tanımlanmış kriterlere göre belirlenerek toplumdan (ideal olarak rastgele) seçilir. İndirekt örnekleme yöntemi ise, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) tavsiyesine alternatif olarak öne sürülmüştür. Bu yöntemde laboratuvarında ölçümü yapılmış hastalara ait test sonuçları sağlıkla ilişkili olarak "patolojik" ve "patolojik olmayan" ayrımı yapılmadan istatistiksel prosedürler uygulanarak indirekt referans değerler hesaplanır (10).



Bu çalışmada, hastane verileri kullanarak referans aralıklarının hesaplanabilirliği araştırılmıştır. Hastane laboratuvarımızda tam kan analizleri için kullanılacak dört hematolojik parametrenin indirekt yöntemle (Bhattacharya Metoduyla ve indirekt nonparametrik yöntemle) hesaplayarak referans değerlerini belirlemeyi ve hastanemizde kullanmayı amaçladık.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.REFERANS ARALIĞI VE TANIMLAMALAR

Sağlığı tanımlanmasını Dünya Sağlık Örgütü (WHO) şu şekilde yapmaktadır; kişinin sadece hastalık veya güçsüzlük durumunun olmaması değil, aynı zaman da beden, ruhen ve sosyal yönden tam bir iyilik halinde olması durumudur (11). Referans aralığı, referans bireylerin oluşturduğu örnek referans dağılımından belirli istatistiksel yöntemlerin kullanılması ile elde edilen referans değerlerinin tanımlandığı aralıktır (3). Laboratuvar sonuçlarına göre referans aralıklarının belirlenmesi için genelde sağlıklı olduğu düşünülen kişilerden elde edilir (12).

Referans değer, referans aralığı ve referans verilerin elde edileceği grubu oluşturacak referans bireylerin tanımını yapmadan önce genellikle terminolojik kargaşa yaratan normal değer kavramını tartışmak yerinde olacaktır.1960'lı yılların sonlarında sağlıklı bireylerden elde edilen referans aralıklar "normal değerler" olarak adlandırılmaktaydı. "Normal" sözcüğünün çeşitli anlamları olmasından dolayı karışıklık yarattığı, her referans aralık içinde çıkan sonuçların normal olmayabileceği veya her normal değerinde referans aralık içinde çıkmayabileceği gözlemlenmiş ve IFCC normal değer yerine referans değer teriminin kullanılmasını önermiştir. Normal terimini açıklamak için bazı tanımlamalar tablo haline getirilip Tablo 1'de gösterilmiştir (13-16).

**Tablo 1.** Normal değer tanımlamaları

1	Kişinin kendi normali: referans bireyin sağlıklı olduğu dönemden elde edilen değerdir.
2	Cohort normalleri: hastanın içinde bulunduğu sağlıklı toplumdan elde edilmiş değerler.
3	Genel toplum normalleri: hastanın içinde bulunduğu topluluğun kişilerin tamamını kapsayan gruptan elde edilmiş normaller.
4	İstatistiksel açıdan standart normal dağılıma uyan verilerdir.
5	Epidemiyolojik olarak: toplum taramaları sırasında çok görülen değerler normal kabul edilmektedir.
6	Klinik olarak: Normal sözcüğü belirli bir hastalığın veya hastalık gelişme riskinin yokluğunu göstermektedir.

Belirli bir birey için çalışılacak olan testin normal değerinin ne olduğu, yapılacak test daha önceden o birey için çalışılmamışsa değeri bilinemez. İstenilen ise daha önceden bu test değerinin bilinmesidir. Ancak yine de bireyin özgeçmişi, yaşı, geçmişte yaşamış olduğu sağlık problemleri varsa bundan dolayı oluşabilecek değişiklikler dikkate alınmalıdır (17). IFCC'nin önerdiği terminolojiye göre bazı terimlerin tanımı aşağıdaki gibidir (2, 3, 5, 18): Referans birey; iyi tanımlanmış kriterler temelinde test için seçilen kişidir. Referans bireylerin genellikle "sağlıklı" olduğu varsayılır; bununla beraber sağlık görecelidir ve kesin ölçülebilir tanımlamalardan yoksundur. Referans popülasyonu; belirlenen kriterlere uygun tüm referans bireylerden oluşan gruptur. Örnek referans popülasyonu; hedeflenen referans popülasyonundan belirli eleme kriterleri kullanılarak seçilmiş bireylerden oluşturulan kitleye denir. Referans değer; bir referans birey üzerinde belirli bir niceliğin ölçümü ve incelenmesiyle elde edilmiş test sonucu veya değeridir. Referans dağılımı; referans değer verilerinin istatistiksel dağılımıdır. Referans limit(aralık); bir analitin belirli bir toplumu yansıtan ve yüzdeliklere ayrılmış referans bireylerinin, alt %2,5 ve üst %97,5 arasında kalan, orta %95'inin bulunduğu alt ve üst referans limit değerleridir. Güven aralığı, bir popülasyonda belirli bir olasılık ile gerçek yüzdeliği (örneğin, popülasyonun 2.5 Yüzdesi) çoğunlukla % 90 veya % 95'i içeren bir dizi aralıktır. Seçilen bireylerin bir örneğinden hesaplanan referans sınırları, aynı popülasyondaki başka kişilerin hesaplanan referans sınırlarından muhtemelen biraz farklı referans sınırları verecektir. Bu yüzden referans sınırlarının alt ve üst güven aralıklarını hesaplamak gerekecektir.

## **2.2.REFERANS BİREYLERİN SEÇİMİ**

Referans aralığın belirlenmesindeki en önemli basamak referans popülasyonun tespit edilmesidir. Aslında referans popülasyon istatistiksel olarak bir çalışma için hedeflenen ancak ulaşılması çok zor bir kitleyi temsil eder (19). Bu popülasyon hastane dışı sağlıklı varsaydığımız popülasyon olabileceği gibi hastane popülasyonu da olabilir (20-22). Oluşturulan referans popülasyonundan belli kriterler kullanılarak seçilmiş bireylerden oluşturulan kitleye, örnek referans popülasyonu denir. Referans popülasyonundan örnek referans popülasyonunun nasıl belirleneceğini doğrudan (direkt) ve dolaylı (indirekt) örneklendirme olmak üzere ikiye ayırabilir.

## 2.2.1.Doğrudan (direkt) örnekleme yöntemi

Bireylerin ana toplumdan belirlenmiş kriterlere göre seçilmesi durumudur. NCCLS ve IFCC'nin referans değerlerin hesaplanmasıyla ilgili standartları, referans bireyleri direkt örnekleme yöntemi ile seçilmelerini önermektedir. Bu yöntemde, belirli kurallara göre anket formları hazırlanıp doldurulur. Daha sonra bireylerin tetkikleri yapılır. Şekil 1'de NCCLS C28-A standartlarına uygun olarak, örnek anket formundan yararlanılarak hazırlanan anket formu görülmektedir.

TÜM BİLGİLER KESİNLİKLE GİZLİ TUTULACAKTIR VE SİZİN KAN ÖRNEĞİNİZDEN ELDE EDİLEN SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN KULLANILACAKTIR.									
ÖRNEK NO:	ÖRNEK ALINDIĞI SAAT: (LABORATUVAR TARAFINDAN DOLDURULACAKTIR)								
İSİM (ADI,SOYADI):	MEDENİ HALİ:			MESLEK:		TELEFON:			
YAŞ: (YIL)	CİNSİYET:	IRK:	BOY:	(m)	(cm)	AĞIRLIK:	(kg)		
KENDİNİZİ SAĞLIKLI HİSSEDİYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
DÜZENLİ OLARAK EGZERSİZ YAPIYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
EVET İSE NE KADAR SIKLIKTA? (SAAT/HAFTA)									
AKTİVİTENİN DERECESİ? (HAFİF) 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (AĞIR)									
SON ZAMANLARDA HİÇ RAHATSIZLANDINIZ MI? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NE ZAMAN? VE NEDEN?									
REÇETE EDİLMİŞ İLAÇ ALIYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NE? SÜRESİ:									
EN SON İLAÇ NE ZAMAN ALDINIZ? ADI:									
VİTAMİN İLACI ALIYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NE? SÜRESİ:									
İŞİNİZDE TEHLİKELİ KİMYASAL MADDELERE MARUZ KALIYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NE? SÜRESİ:									
SİGARA KULLANIYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NE ŞEKİLDE? NE KADAR? SÜRESİ:									
ÖZEL DİYET UYGULUYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
EĞER EVET İSE LÜTFEN TANIMLAYINIZ SÜRESİ:									
HANGİ TİP TUZ KULLANIYORSUNUZ (İYOTLU-İYOTSUZ)									
ALKOL KULLANMA ALIŞKANLIĞINIZ VAR MI? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NE ŞEKİLDE? HANGİ SIKLIKTA? SÜRESİ:									
EN SON ALKOL NE ZAMAN ALDINIZ?									
BİR DOKTOR KONTROLÜ ALTINDA MİSİNİZ? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NEDEN?									
RAHATLATICI İLAÇ KULLANIYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
EVET İSE NE? HANGİ SIKLIKTA? SÜRESİ:									
SON ZAMANLARDA HASTANEYE YATTINIZ MI? (E) (H)									
NE ZAMAN? NEDEN?									
AİLENİZDE GEÇİRİLMİŞ BİR HASTALIK VAR MI? (E) (H)									
EĞER VAR İSE TANIMLAYIN:									
SON GÜNLERDE ASPIRİN YADA AĞRI KESİCİ ALDINIZ MI? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NE? NE ZAMAN?									
SON GÜNLERDE SOĞUK ALGINLIĞI VE ALLERJİ TEDAVİSİ GÖRDÜNÜZ MÜ? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NE? NE ZAMAN?									
SON GÜNLERDE HİÇ ANTİASİT VEYA MİDE İLACI ALDINIZ MI? (E) (H)									
EĞER EVET İSE NE? NE ZAMAN?									
DİYET HAPİ KULLANIYOR MUSUNUZ? (E) (H) SÜRESİ:									
KADINLAR İÇİN:									
ADET GÖRÜYOR MUSUNUZ? (E) (H) EĞER EVET İSE, EN SON ADET TARİHİNİZ NEDİR?									
EĞER HAYIR İSE, HORMON REPLASMAN TEDAVİSİ ALIYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
EĞER VARSA, BEBEĞİNİZİ EMZİRİYOR MUSUNUZ? (E) (H)									
HAMİLE MİSİNİZ? (E) (H) EĞER EVET İSE, TAHMİNİ DOĞUM TARİHİNİZ NEDİR?									
ORAL KONTRASEPTİF KULLANIYOR MUSUNUZ? (E) (H) EĞER EVET İSE HANGİSİ?									

Şekil 1.Referans Aralık Saptama Anket Formu (8)

Bireyler seçilirken tüm faktörler göz önüne alınır ve seçim sırasında test öncesi örnekleme (a priori) ve test sonrası örnekleme (a posteriori) olmak üzere iki şekilde uygulama vardır (23); Test öncesi örnekleme (A priori); Örnekleme içinden,

belirlenmiş katılım kriterlerine uyup uymamalarına göre bireylerin direkt metotla seçilmesidir (24, 25). Test sonrası örneklem (A posteriori); Elimizdeki tüm koşulları sağlayan demografik bir veritabanından çok sayıda bireyin sonuçlarını içeren iyi düzenlenmiş, belirlenmiş katılım kriterlerine uyan bireylerin direkt metotla seçilmesidir. Eğer veritabanı iyi düzenlenmemişse, yüzeysel ve kulaktan dolma bilgilerle referans bireyi seçimi yapılamayacağından indirekt örnekleme yapmak ve istatistiksel analiz metodunu bu duruma göre seçmek daha uygundur (23, 24). Apriori ve Aposteriori örneklem yaparken bireyler rastgele ve rastgele olmayan örneklem olarak iki şekilde seçilir: Rastgele örneklem; Referans grup oluşturulurken grubun referans grup kriterlerini sağladığı düşünüldüğünden dolayı bireylerin rastgele seçilmesi daha değerlidir. Bundan dolayı rastgele örneklemede her bireye eşit seçilme şansı verir. Fakat bu şekildeki çalışmanın gerçek hayatta uygulanması çok zordur. Bu amaçla, hastane çalışanlarından veya kan donörlerinden oluşan bir grupla yapılan referans aralık hesaplanması sık yapılan, ancak rastgele örneklem tanımına uymayan bir işlemdir. Rastgele olmayan örneklem; Referans bireylere seçilme ihtimalini eşit vermeyen bir durumdur. Pratikte çoğunlukla bu yöntem uygulanır (26).

### **2.2.2.Dolaylı (indirekt) örnekleme yöntemi**

Burada analiz sonuçlarının kayıtlı bulunduğu veritabanından bireylere dikkat edilmeksizin, belirlenen kurallara uygun şekilde test sonuçlarının seçimidir. Burada veriler, veri tabanından bir eleme yapmadan olduğu gibi alınır. Bu yöntem doğrudan yöntemle göre uygulamada daha kolaydır ama toplanan verilerin istatistiksel analizi doğrudan örneklemeden farklılıklar vardır (27). İndirekt örnekleme yönteminin ana prensibi şuna dayanmaktadır: Klinik laboratuvarlarda üretilen test sonuçları biyolojik veri olduğundan dolayı genelde Gaussian dağılıma yakın bir dağılım oluşmaktadır. Oluşan dağılımda pek fazla sapma ya da gruplaşma olmamak şartı ile dağılımdaki normal dağılıma uyan kısım alınabilir. Bu amaçla dolaylı örnekleme ile toplanan verilerin değerlendirmek için çeşitli istatistiksel analiz yöntemleri belirlenmiştir. Belirlenen istatistiksel analiz yöntemi, gelişen bilgisayar sistemlerinin yardımı sayesinde kolay uygulanabilir hale gelmiş ve uygulanabilirliği artmıştır (27). Bu yöntemlerin de bazı dezavantajları vardır. Çünkü bu konuda tanımlanmış birçok yöntem varolmasından dolayı elde edilen referans limitler, o yöntemde kullanılan

istatistiksel metoda bağlıdır. Bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülen diğer dezavantaj ise özellikle; elde edilen referans aralıkları hastaneden hastaneye farklılıklar gösterebileceği ve o hastanenin belli bir dönemini yansıtabileğini göstermişlerdir (23). İndirekt örneklendirme yoluyla veri toplanmasında uyulması gereken bazı kurallar tablo haline getirilmiş olup Tablo 2’de gösterilmiştir (28).

**Tablo 2.** İndirekt örneklendirmede veri toplanmasında uyulması gereken kurallar

1	Kullanılacak olan dağılım, referans popülasyonunun bir parçası olmak zorundadır. Bunun için en uygun yöntem hasta verileri seçilirken hastane kayıtlarının kullanılmasıdır. Aynı zamanda taburcu olurken hastanın hem tanısı hem de demografik bilgilere ulaşılabilir.
2	Hedeflenen referans dağılım ünimodal olması gerekir ancak dağılım eğik olabilir. Gaussian dağılımı bozacak gruplaşmalar olmamalıdır.
3	Verilerin yoğun olduğu yerde, veriler dağılımın moduna uymalıdır. Eğer moddan uzak yerlerde gruplaşmalar olursa bu durum büyük ihtimalle hasta kişilerin verileridir.
4	Örnek dağılım ile Total dağılımın mod değerleri birbirlerine yakın olmalıdır.

Görüldüğü gibi indirekt yöntem, direkt yöntemden daha kolaydır, çünkü direkt metottan farklı olarak veri seçim işlemi yoktur. Bu durum büyük kolaylık sağlamaktadır. Eğer yapılan dağılımda bimodal görünüm oluşursa, hastaların hem tanısı hem de demografisi kullanılarak gruplaşma önlenmelidir. Görüldüğü gibi iki örneklendirme de yapılabilir ve seçilen yönteme göre referans bireyleri de farklı istatistiksel yöntemlerle değerlendirilebilir. Yapılan çalışmalarda verilerin seçimi ne kadar sağlıklı yapılırsa, dağılımlarda oluşacak gruplaşmaya ve uç değerlere o kadar az rastlanır.

### **2.3. REFERANS ARALIĞININ İNDİREKT BHATTACHARYA METODUYLA BELİRLENMESİ**

Bhattacharya metodu, ilk defa Bhattacharya tarafından 1967 yılında tanımlanmıştır. Yıllar içinde bazı modifikasyonlar sayesinde hasta test sonuçları kullanarak indirekt referans aralık belirlemede temel bir yöntem olarak kabul

görmüştür (29, 30). Bhattacharya metodunda araştırılan biyolojik popülasyonun en az iki alt gruptan oluştuğunu varsaymaktadır. Çünkü biyolojik bir popülasyonun morfometrik karakterin dağılımı, farklı tür, cinsiyet gibi unsurlara karşılık gelen bileşenlerden oluşan bir karışımıdır. Bu bileşenlerin dağılımları, genelde iç içe girip birbirlerinin üzerine örteceğinden dolayı biyolojik verilerin dağılımları genelde bimodal veya polimodal dağılımlardır ve bu dağılımlara ait çarpıklıklar (skewness) ve basıklıklar (kurtosis) görülme ihtimali yüksektir (31). Bhattacharya metodunda istenilen dağılımın gaussian olması ve çarpıklık ile basıklığın az olması gerekir. Dağılımın gaussian olduğu Kolmogorov-Simirnov (K-S) Testinde Sig. değerleri 0.05' den büyük olduğu zaman grubun dağılımı %95 güvenle normal dağılımlı kabul edilir. Ancak çoğu zaman K-S testine göre normal dağılımlı veri bulmak mümkün değildir. Bu durumda verilerin skewness ve kurtosis değerlerine bakılır ve 2 'den küçük değerli veriler normal dağılımlı kabul edilerek Bhattacharya metodu uygulanabilir (32). Eğer dağılım gaussian değilse verilere transformasyon uygulanıp gaussian şekle dönüştürülmelidir. Uç değer atma işlemi de gaussian şekle dönüştürüldükten sonra yapılır. Verilerin dağılımları çok önemli olduğundan Bhattacharya, çakışan normal dağılımlar için grafiksel yöntemi önermiştir (29).

Bhattacharya metodunda hedef veriler hastane verilerinden oluşabilir. Bu yöntem ile çalışma popülasyonu oluşturulurken hasta ya da sağlıklı ayrımı yapılmadan olduğu gibi alınır. Bhattacharya metodu sağlıklı kabul edilen labotatuvar test sonuçlarını, patolojik kabul edilen test sonuçlarından ayırma imkanı sağlayıp, bu veri kitlesinden referans aralığı hesaplamaya imkan verir. Bhattacharya metodunda ilk olarak tüm test sonuçları eşit aralıklar oluşturacak şekilde sınıflandırılır ve bu sınıfların Gaussian dağılım denklemi şöyledir:

$$y_x = \left( \frac{N}{\sigma\sqrt{2\pi}} \right) \cdot \exp \left[ \left( -\frac{1}{2} \right) \left( \frac{x - \mu}{\sigma} \right)^2 \right]$$

Denklemdaki  $y_x$ ,  $x$  orta değeri olan intervalin frekansı;  $N$ , total frekans ;  $\mu$ , dağılımın ortalaması;  $\sigma$ , dağılımın standart sapmasıdır.

Bhattacharya referans değer hesaplama basamakları şu şekildedir.

1. Eldeki bütün değerler eşit aralıklı olarak sınıflandırılır ve  $h$  sınıf aralığı olarak gösterilir.

2. Oluşturulan her sınıfın orta noktasındaki değer belirlenir.
3. Oluşturulan her sınıfın frekanslarının ln (logy veya lny) ya da logaritmaları hesaplanır.
4. Delta ( $\Delta \log y$  veya  $\Delta \ln y$ ) değerleri; numaralı sınıftan başlayarak her sınıfa denk gelen frekansların ln ya da logaritma değerleri, bir önceki sınıfa denk gelen frekansların ln ya da logaritma değerlerinden çıkartılarak oluşturulur.
5. Bulunan her orta nokta değeri ile hesaplanmış delta değerleri için bir saçılım grafiği (scatterplot) çizilir.
6. Çizilen grafikte kendi içinde doğrusal özellik gösteren en az 3 nokta, sağlıklı kişilerden elde edilmiş veriler olarak kabul edilir.
7. Doğrusal özellik gösteren noktalara ait eğimi veren doğrunun y-ekseninde 0'ı kestiği x noktası  $\lambda$  değerini verir.  $\lambda$  değeri sayesinde yöntemde ait varyans ve ortalama değerler aşağıdaki gibi hesaplanır.

$$\text{Mean} = \mu_i = \lambda + h/2$$

$$\text{Varyans} = \sigma^2 = -h/\text{eğim} - h^2/12$$

Bu şekilde mean ve standart sapma hesaplanmış olur. İndirekt referans aralıklarının alt ve üst sınırları ( $\mu_i - 2\sigma_i$  -  $\mu_i + 2\sigma_i$ ) (alt sınır - üst sınır) formülüyle hesaplanır (29). Her yöntemde olduğu gibi bu yöntemde de bazı dezavantajlar vardır. Bhattacharya yöntemini kullanılabilmesi için çok fazla test sonucu gereklidir ( $n \approx 8000$ ). Bhattacharya metodu sayesinde oluşturulan referans değerler büyük oranda dağılıma bağımlıdır. Çünkü doğru referans aralık için verinin yüksek oranda normal dağılıma uyması istenir. Bir başka dezavantajı ise dağılımın çarpıklığı arttıkça elde edilen üst referans limiti değeri normalden daha yüksek bulma olasılığımız artmaktadır. Diğer bir dezavantajı ise bulunan referans değerler çalışma yapılan hastanenin belli bir zaman dilimini yansıtır ve bulunan referans değerler hastaneden hastaneye farklılık olabilmektedir. Böyle bir yöntemle bulunan referans aralıkları daha geniş bir hasta grubuna uygulanması sakıncalı görülmektedir (31, 33).

#### **2.4.REFERANS ARALIĞININ BAZI PROGRAMLARLA BELİRLENMESİ**

Bazı programlarla da indirekt referans değerler elde edilebilir. Bunlardan ilki GrafROC programıdır. Bilgisayar programı sayesinde Veli Kairisto tarafından tanımlanan grafiklerin oluşturulmasında kullanılır. Önceden elde edilen frekans



değerleri GraphROC programına aktarılır. GraphROC programında hesaplama tekniği olarak araştıracağımız yöntemin direkt ya da indirekt veya gaussian ya da nongaussian ise kendi seçeceğimiz yöntemle göre programdan metod seçimi yapılır. İkinci program medcalc programıdır. Bu program doğrudan K-S'a göre dağılımın normal dağılıma uyup uymadığını test eder ve hem parametrik hem de nonparametrik metoda göre sonuç verir ve hangi metodu tercih etmemiz gerektiğine dair seçenek sunar.

## 2.5.REFERANS KİTLESİNİN GRUPLANDIRILMASI

Referans aralığı hesaplanırken mevcut verilerin gruplara ayrılmasının gerekli olup olmadığına karar vermek oldukça önemlidir (1). Genelde verilerin gaussian dağılıma uyması istenmektedir. Ancak çoğunlukla biyolojik veriler normal dağılıma uymazlar çünkü çalışılan biyolojik verilerde gruplaşmaya sebep olan etkenler çok fazladır. Dağılımlardaki bu gruplaşmanın çeşitli nedenleri bulunmaktadır. Bunlar Tablo 3'te gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Dağılımlardaki gruplaşma nedenleri

1. Yaş	8. Açlık ve tokluk
2. Irk	9. Gebelik
3. Cinsiyet	10. Egzersiz
4. Kan grubu	11. Örnek alım saati
5. Biyoritm	12. Sigara kullanımı
6. Coğrafi yerleşim	13. Örnek alınırken ki postür
7. Diyet	14. Menstrual siklus

Referans kitlesinin gruplandırılmasında en çok kullanılan kriterler yaş ve cinsiyettir. Yapılan bir çalışmada dışlama kriteri olarak kabul gören bir faktör başka bir çalışmada dağılımları gruplara ayırmada kullanılabilir. Yapılan çalışmanın sonunda iki farklı grubu karşılaştırmada gruplar arasında önemli bir fark olup olmadığına istatistiksel olarak Student's t-testi ile bakılabilir. ANOVA (Analysis Of Variance; Varyans Analizi) yöntemi ise ikiden fazla grubun olduğu durumlarda kullanılmaktadır (34). Nonparametrik metod ile referans aralık belirlerken kritik z değeri hesaplanarak gruplara ayırmaya karar verilir (35)

## 2.6.REFERANS BİREY ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI ve ANALİTİK PROSEDÜR

Bir testin analiz prosedürü klinisyen tarafından istenmesinden, test sonuçlarının klinisyene ulaşmasına kadar geçen süreyi kapsar. Bu süre içinde üç aşamadan oluşan preanalitik evre, analitik evre ve postanalitik evre vardır.

### 2.5.1.Preanalitik Evre

Örnekler toplanmadan önce bireylerin hazırlanması, laboratuvar koşullarının sağlanması ve analizden önceki işlemler gibi preanalitik standardizasyonun sağlanması hem biası minimize eder, hem de bu etkenlerden dolayı varyasyonun ortaya çıkmasına engel olur. Genel olarak hatalı test sonuçlarının çok büyük kısmı bu evre içinde yer alır. Preanalitik faktörler biyolojik ve metodolojik olarak iki ana başlık altında etki ederler (24, 26, 36).

**Tablo 4.** Preanalitik Biyolojik ve Metodolojik Faktörler

Preanalitik Biyolojik Faktörler		Preanalitik Metodolojik Faktörler	
İnternal Faktörler	Eksternal Faktörler	Örnek Alınırken Etki Eden Faktörler	Analize Hazırlık Aşamasındaki Faktörler
Kişisel değişimler	Fiziksel aktivite durumu	Örneğin alındığı zaman	Örneğin taşınma şekli
Yaş	Gebelik, menstrüel siklus	Örnek alınmadan dinlenme süresi	Pıhtılaşma süresi
İrk	Diyetin etkisi	Ekipman	Serum / plazmanın ayrılması
Cinsiyet	Kahve, tütün, alkol kullanımı	Kullanılan malzemenin temizliği	Örneğin korunma ve saklanması
	İlaç etkileşimleri	Kan alınan tüp ve kullanılan antikoagulan	Analize Hazırlık
	Başka hastalıklarla etkileşim	Örneğin alındığı yer ve alınma şekli	
	Sirkadiyen değişiklikler		
	Ateş, şok, travma, stres		
	Transfüzyon ve infüzyon		
	Seyahat		
	Mevsimsel değişimler		
	Örnek alımındaki vücut postürü		

Laboratuvarlarda örneklerin tiplerine göre toplanma/alınma, analize hazırlık ve korunmaları konusunda prosedürler oluşturulmalı, referans bireylerden örnekler prosedürlere uygun alınmalıdır. Kan örneklerinin alınmasında standardizasyon önemli bir ölçüttür. Çalışılacak tüm testler için ölçümden önce preanalitik faktörlerin değerlendirilmesi ve tüm aşamaların standartlaştırılması, dağılımların gruplaşmaya neden olmaması için gereklidir (37). Bu tip örneklerin nasıl alınacağı NCCLS'de çeşitli prosedürlerle belirlemiştir (36).

Tam kan sayımı için hemogram tüpüne kan alınırken, tüpün içindeki etilen diamintetraasetik asit (EDTA), kalsiyum iyonlarını bağlaması sırasında trombosit yüzeyindeki glikoprotein IIb-IIIa (GPIIb-IIIa) molekülünü etkiler ve glikoprotein IIb (GPIIb) epitopunu ortaya çıkartır (38-40). Eğer test yapılan kişide bu epitoplara karşı daha önceden otoantikorları bulunuyorsa, bu otoantikorlar trombositlerin yüzeyindeki bu epitopa ilgi gösterip ona tutunarak trombositlerin kümeleşmesine sebep olur. Kümeleşme yapan trombositlerin hacmi büyür ve kan sayımı cihazında büyümüş hacimlerinden dolayı lökosit olarak algılanır ve trombosit sayısı bu yüzden düşer. Hastanelerde yatan hastalarda bu otoantikor nedeniyle yalancı trombositopeni olma sıklığı %0,9-2 arasındadır (41, 42).

### **2.5.2. Analitik Evre**

Bir referans değerlerin kullanılabilmesi için analitik performansı etkileyen faktörler; kullanılan saf su, reaktifler, ham verinin tipi ve hesaplama yöntemleri, kalite kontrol ve uygunluk kriterleri, gün içi ve günler arası değişkenler, kalibrasyon standartları gibi koşul olan özelliklerin açıklanması gerekir. Dış kalite değerlendirme programları sonuçları ile doğruluk (bias) verileri de değerlendirilir (26, 36). Kesinlik doğruluk, hassasiyet, interferans karakteristikleri belirlenmiş olmalı ve bunların izlenebilirliği iç kalite kontrol verileriyle desteklenmelidir. Günlük rutin performansta analitik stabilite önem taşımaktadır (43). James Westgard iç kalite kontrol sistemlerinin kontrol kurallarını geliştirilmiş olup, Westgard kuralları kalitenin monitorizasyonunda çok önemli değere sahiptir (44). Ricos ve arkadaşları ortak referans aralıklarının analitik kalite spesifikasyonları üzerinde durmuşlar ve dış kontrol materyalleri ile gerçekleştirilen kontrolün, analitik spesifikasyonlar yönünden önem taşıdığını vurgulamışlardır (45). Açıklanan bu özellikler başka araştırmacıların aynı çalışmayı yapabileceği ve rutin laboratuvarlarda hasta sonuçları alındığı zaman

referans değerlerin karşılaştırılabileceği şekilde olmalıdır. Referans ve gözlenen değerlerin karşılaştırılabilmesi için aynı analitik yöntem kullanılmış olmalıdır (36).

### 2.5.3.Post Analitik Evre

Postanalitik evrede, test sonuçlarının cihazdan çıkmasından klinisyene ulaşmasına kadar geçen süreci kapsar. Bu evre diğer iki evreye kıyasla laboratuvar bilgi sistemi sayesinde hata olasılığı en düşük evredir. Ancak çıkan sonuçlar el ile kayıt ediliyorsa hata oranını artırmaktadır.

## 2.7.REFERANS DEĞERLERİN İSTATİSTİKSEL ANALİZİ

Referans bireylerin kan örneklerinin analizinden sonra veriler bir araya toplanarak istatistiksel olarak incelenir. Bu incelemeler referans değerlerin uygun gruplara ayrılmasını, her grubun dağılımının değerlendirilmesini, aşırı uç değerlerin belirlenmesini ve referans aralıkların saptanmasını içerir (36).

### 2.6.1.Verilerin Toplanması ve Gruplara Bölünmesi

Analiz sonrası elde edilen referans verileri hangi bireylerden oluşursa oluşsun, tıbbi geçerlilik için tanımlanmış uygun koşullarda elde edilen verilerden hesaplanmalıdır. Referans değerlerin kullanılabilmesi için, oluşturulan Tablo 5'deki koşullara uyulmalıdır (14, 26).

**Tablo 5.** Referans değerlerin kullanılabilmesi için uyulması gereken kurallar

1	Referans bireyler seçilirken ayrıntılı ve anlaşılır olarak iyi tanımlanmalı ve kaydedilmelidir.
2	Klinik değerlendirme yapılırken, karşılaştırılan parametreden başka, karşılaştırılan grup referans grubuyla benzer olmalıdır. Örneğin: Hastalık var/yok kararında, hasta, sağlıklı olduğuna karar verilmiş olan referans grubuyla karşılaştırılırken, terapötik ilaç izlemede doz ayarlamada aynı hastalığı geçirmiş ve semptomları ilaçla yok edilmiş grup referans alınır.
3	Analiz örneklerinin hazırlandığı koşullar standardize edilmelidir.
4	Ölçü birimleri aynı olmalıdır.
5	Analiz yöntemleri standardize olmalı ve analitik kalite kontrolü kanıtlanmış olmalıdır.
6	Testlerin tanısal özgüllüğü, duyarlılığı, prevalansı ve yanlış kararlara sebep olduğunda yol açtığı klinik ve mali zarar mutlaka bilinmelidir.

Referans değerler yaş, cinsiyet ve diğer karakteristiklere göre alt gruplara ayrılabilir ve oluşturulan grupların içinde homojenliğin sağlanabilmesi ve standardizasyonu sağlamak için alt gruplara bölme kriterleri de dikkate alınarak bilgiler toplanır (46).

**Tablo 6.** Referans gruplarını ayırma kriterleri

1	Yaş	8	Menstrüel döngü evresi
2	Cinsiyet	9	Gebelik evresi
3	Genetik faktörler	10	Fiziksel durumlar
4	İrk (etnik köken)	11	Kronobiyolojik
5	Kangrupları (ABO)	12	Sosyoekonomik
6	Histokompatibilite antijenleri	13	Çevresel
7	Fizyolojik faktörler	14	Diğer faktörler

Cinsiyet ve yaş gruplara ayırmada en sık kullanılan iki belirteçtir. Kan biyokimyasal değişimi sıklıkla postnatal, infant, puberte, premenopozal, menopozal ve yaşlılık hallerinde değişimler daha belirgin olduğundan bu dönemlere ait gruplandırmalar yapılabilir (26).

### 2.6.2. Referans Gruptaki Veri Sayısının Önemi

Nonparametrik yöntemde % 90 güven aralığı için 120 verinin yeterli olacağı NCCLS dökümanlarında belirtilmektedir (13). % 95 güven aralığı için 153 verinin ve % 99 güven aralığı için 198 verinin olması gerektiği vurgulanmıştır. Buna benzeyen bir çalışma da Horn ve arkadaşları tarafından denek sayısı 20, 40, 60, 80, 100, 120 olacak şekilde nonparametrik, parametrik transformasyon ve bu iki metodun modifiye tipleri kullanılmıştır (47). Elde edilen sonuçta 120 veri için kullanılan yöntemler arasında minimum fark varken, veri sayısı düştükçe özellikle nonparametrik yöntemler etki gücünü kaybetmektedir. Modifiye nonparametrik yöntemlerde 120 verinin altındaki denek sayısında daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Gaussian istatistiği uyan diğer bir çalışmada en az 30 veri ile çalışma yapmanın uygun olacağı ileri sürülmüştür (13). Denek sayısı çoğaldıkça Gaussian istatistiği kuvvetlendirmektedir, ancak veri sayısının çokluğu dağılımda bulunan uç değer sayısının fazlalaşmasına yol açabilmektedir (13, 48).

### 2.6.3. Dağılımın İncelenmesi

Referans dağılımın histogram şeklinde çizilerek görsel olarak değerlendirilmesi önerilir ve dağılımın aşağıda maddeler dikkate alınarak değerlendirilmelidir (14, 36).

1. Dağılım sınırlarından çok fazla sapan veriler (aşırı uç değerler) yanlış değerleri gösterebilir. Aşırı uç değerlerin araştırılarak, hesap dışı bırakılması gerekir.
2. Bimodal ya da polimodal dağılımlar, birden çok alt grubun bulunduğuna işaret eder. Eğer birden fazla alt grup olduğu farkedilirse referans bireylerinin seçimindeki eleme kriterleri yeniden gözden geçirilmelidir.
3. Dağılımda asimetri ve normalden farklı tepeleşmelerde, diklik veya basıklık birlikte değerlendirilmelidir.
4. Hesaplamalardan elde edilecek aralıklar hakkında bilgi verir.

### 2.6.4. Aşırı Uç Değerlerin Belirlenmesi

Yanlış bir sonuç bulunduğu zaman, ilk olarak belirlenen prosedürdeki büyük bir sapmadan kaynaklandığı gözlenebilir. Böyle değerler ya uygun referans değerlerden çok uzak değerdedir (aşırı uç değerler) veya referans dağılımın içinde gizli olabilir. Sadece çok titizlikle hazırlanan ve her aşamada izlenen bir protokol ile gizlenmiş olan hatalar ortaya çıkabilir (49). Eğer parametrik istatistik kullanılacaksa önce dağılımın gaussian dağılıma uygunluğu denetlenir, daha sonra aritmetik ortalamanın  $\pm 3$  SD veya  $\pm 4$  SD sınırları dışında kalan değerler atılıp hesaplamalara katılmaz. Nonparametrik istatistik kullanılacaksa aşırı uç değerlerin belirlenmesi Dixon Aralık İstatistiği ya da D/R Kuralı kullanılarak yapılır. Dağılımlarda bazı uç değer atma metodları aşağıda verilmiştir:

**Dixon metodu:** Eldeki veriler küçükten büyüğe doğru sıralanıp dağılımın alt ve üst noktalarındaki uç değerler Dixon formülü ile aranır (23). Dixon tarafından önerilen D/R oranına göre karar için kestirim değeri, 1/3 olarak kabul görmüştür. D değeri, aşırı olduğu test edilen değerle, ona en yakın değer arasındaki farktır. R değeri ise, test edilen gözlemler de dahil, tüm veriler arasındaki aralık değeridir. Bu kurala göre, D değeri R değerinin 1/3'üne eşit veya 1/3'ünden yüksek ise, test edilen veri hesaba alınmaz. Bu kurala karşıt görüşler bulunmasına rağmen, nonparametrik yöntemle

yapılan hesaplamalarda D/R kuralının ve kestirim değerinin yararlı olduğu denemelerde gözlenmektedir ve NCCLS standardında yer almaktadır (14).

**Horn Metodu:** En yaygın olarak kullanılan bir yöntem Horn ve arkadaşları tarafından tarif edilen Tukey yöntemidir (43). Box-Cox transformasyonu ile veri dağılımı düzenlenir. Dağıtım merkezi %50 alınarak ( $IQR = Q3 - Q1$ ) kestirim değerleri ( $Q1 - 1.5 * IQR$  ve  $Q3 + 1.5 * IQR$ ) hesaplanarak uygulanır (50). Veri dağılımı normal dağılım sergilemediği zaman uç değer atmada Horn algoritması kullanılabilir. Bu algoritma SPSS'de stem-and-leaf plot grafiği ile uyumlu olup, uygulama için pratiktir. Veriyi seçip işlemi yaptığınızda grafiğin üst ve altında değerler olacaktır. Bu değerler aslında Horn algoritmasına uyup bu değerlerin kendisi, altı ve üstü uç değerlerdir. İşlem tekrarlanarak bu şekilde uç değerler atılır (51).

#### **2.6.5.Referans Kitlesinin Dağılım Değerlendirilmesinde Kullanılan Testler**

Referans kitlesinin dağılımı ya Gaussian ya da nongaussian olabilir. Dağılım tipinin belirlenmesi referans kitlesine uygulanacak referans aralığı belirleme yönteminin hangisi olacağının bilinmesi açısından önemlidir. Çünkü Gaussian dağılımlarda parametrik, nongaussian dağılımlarda ise nonparametrik yöntemler kullanılır. Normal dağılıma uygunluğun belirlenmesi çeşitli istatistiksel yöntemleri kullanmayı gerektirir. Bilgisayar programları sayesinde bu istatistiki işlemler kolaylıkla uygulanabilir. Referans aralığının belirlenmesinde en çok kullanılan normal dağılıma uygunluğun test edildiği yöntemler şunlardır:

**1.Chi-Square (Ki-kare;  $X^2$ ) Uygunluk testi:** Ki-Kare dağılımı çeşitli amaçlarla kullanılabilir. Birçok araştırmada çeşitli gruplara giren deneklerin, nesnelerin veya cevapların sayısı ile ilgilenilir. Örneğin, insanlar belirli bir anketin sorularına verdikleri cevaplara göre gruplandırılabilir. Bir araştırmacı belli bir tip cevabın diğer cevaplara göre sıklığını belirlemek isteyebilir. Bu gibi durumlarda ve özellikle sayıyla belirlenen kalitatif özelliklerle ilgili testlerde Ki-Kare testi kullanılır. 1900'lü yılların başında çok sık kullanılmaya başlanan bu test homojen olmayan ve gruplandırılmış dağılımlarda yetersiz sonuçlar vermektedir (52, 53). Bu yüzden referans aralığı hesaplamalarında kullanımı terk edilmiştir.

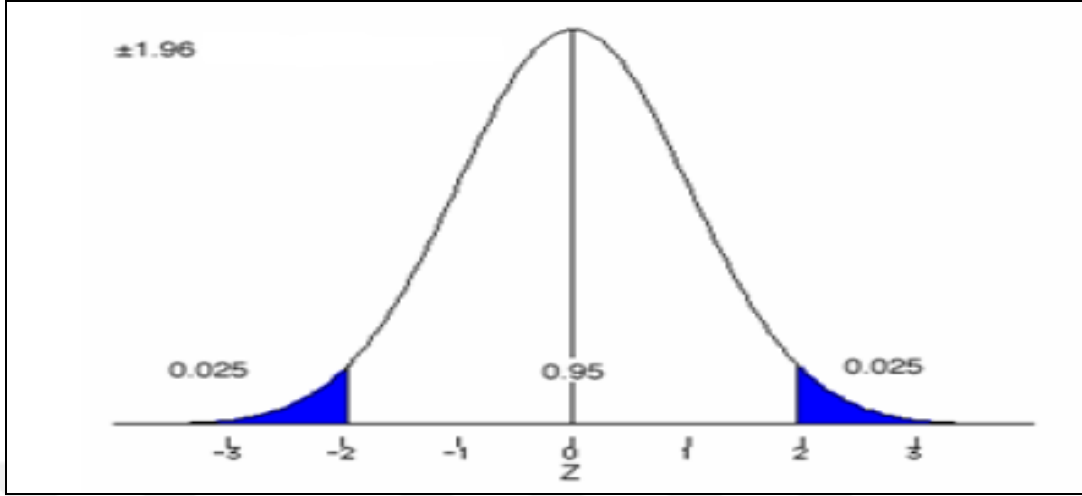
**2.Kolmogorov-Simirnov (K-S) Testi:** K-S testi 1933 yılında Kolmogorov tarafından,  $X^2$  uygunluk testinin bir alternatifi olarak önerilmiştir. Kolmogorov, tek örnek için uyum iyiliği testini önermiştir. 1939 yılında Rus matematikçi olan Simirnov tarafından bir iki bağımsız örnek için uyum iyiliği testi geliştirilmiştir. Uygulamadaki oluşan benzerliklerden dolayı Simirnov ve Kolmogorov testi, Kolmogorov–Simirnov uyum iyiliği testleri olarak bilinirler. K-S testinin  $X^2$  testine üstünlüğü, frekansların 5’den büyük olması şartı yoktur. Bu yüzden kolayca uygulanabilir.  $X^2$  testinde beklenen frekansların 5’ten büyük olması için ya örneklerin büyük hacimli olması gerekir (bu masraflı bir iştir) ya da sınıflar birleştirilmek suretiyle beklenen frekansların 5’den büyük olması sağlanır. Bu durumda ise bilgi kaybı söz konusudur. Oysa K-S testinde beklenen frekanslar için bir alt limit söz konusu değildir. Özellikle cinsiyet, yaş gibi faktörler sonucu dağılımlar gruplar şeklinde tanımlanırsa, Kolmogorov-Simirnov testini kullanmak daha uygundur. Bu test kuvvetli bir analiz yöntemidir. Kolmogorov-Simirnov testi daha güvenilirdir ve dağılımın kümeleşmesinden etkilenmemektedir (52, 54).

**3.Shapiro-Wilk testi:** Kolmogorov-Simirnov testine göre shapiro-wilk testi üstünlüğü düşük veri sayılarında daha güvenlidir (1).

**4.Katsayı tabanlı testler:** IFCC normalite uygunluk testlerinin kullanılmasını daha uygun görmektedir. Eğer transformasyon yapılacaksa, bu durumda dağılımda oluşabilecek değişimi, katsayı tabanlı testler ile takip edilmesini önermektedir (55). Yatıklık ve basıklık olarak ifade edilir. Teoride olması gereken normal bir dağılımdır. Standart normal dağılımın özelliği ise değerlerin ortalamasının her iki tarafına eşit ve homojen dağılmış olması gerekir. Oysa yatık dağılımlarda histogramlar homojen ve eşit dağılmadığından dolayı ortalama tanımlaması yapmak zorlaşır. Bundan dolayı bu tarz dağılımlarda ortalama yerine medyan değeri kullanmak daha doğrudur. Eğer fazla basık dağılımlar ortaya çıkarsa ve böyle dağılımlarda neredeyse her değer frekansı birbirine çok yakındır. Böyle dağılımlarda aynı zamanda yatıklık mevcutsa, bu durumun düzeltilmesi için genelde logaritmik transformasyon yapılması ile basıklık daha da artabilir. Bu sebepten dolayı logaritmik transformasyon sonrası dağılımın basıklığının artıp artmadığı mutlaka kontrol edilmelidir. Bu durumun aksine çok dik dağılımlar da görülebilir; hem yatıklığın hem de basıklığın yönü katsayının işaretine bağlıdır; Normal bir



dağılımda basıklık ve yatıklık katsayısı sıfırdır. Şekil 2 normal bir dağılım örneğini göstermektedir.



**Şekil 2:** Normal Dağılım Örneği.(Mavi boyalı alanlar alt ve üst %2.5'luk bölgeleri belirtmektedir. Mavi alanların arasında kalan bölge dağılımın %95'ine eşdeğerdir.)

Yapılan işlemlerin bitiminde dağılımın tipi belirlenmiş olur ve denek sayısının da göz önünde bulundurulması ile birlikte kullanılması en uygun istatistiksel analiz yöntemi seçilir.

#### 2.6.6. Referans Sınırların Saptanması

Klinik yorumlamalarda hastanın laboratuvar sonuçları iki sınır arasındaki referans aralığıyla karşılaştırılır. Bu aralık farklı yollarla hesaplanabilir. Üç çeşit referans aralık önerilmektedir (49):

- 1) Tolerans aralığı
- 2) Öngörü aralığı
- 3) Yüzdeler arasındaki aralık

Yüzdeler arasındaki aralık en kolay olanıdır, oldukça yaygın kullanılır ve IFCC tarafından önerilmektedir. Referans dağılımın iki yüzdeliği ile belirlenen aralık olarak tanımlanır. Yüzdeler referans, dağılımı bölen bir düzeydir. Bu düzeyin yeri temsil ettiği yüzde değerdedir veya onun sınırladığı değer altındadır. Referans aralığın değerleri %2,5 ve %97,5 düzeylerinin arasında kalan %95'lik merkezi alandır. Bu alanın neye göre seçildiği tam anlamıyla bir temele dayanmamaktadır, fakat geleneksel olarak kabul görmektedir (49). Yüzdeler arasındaki aralık hesaplama iki ana istatistiksel yöntemle belirlenir. Bunlar:

1. Parametrik yöntemler
2. Nonparametrik yöntemler

Bu iki yöntem de kendi içinde birçok modifiye yöntem içerir. Modifikasyonlar kullanılan yöntemin gücünü artırır ve düşük veri sayısının kullanımında anlamlı sonuçlar verir. Biyolojik veriler genel olarak Gaussian forma uymadığından bu verilerin kullanımında nonparametrik yöntemler seçilir. Ancak bu yöntemlerde daha yüksek verilere gerek duyulması bir dezavantajdır (23). Parametrik yöntemde yüzdelikler ve güven aralıkları hesaplanırken dağılımın belirli tipte olduğu varsayılır ve hesaplamalarda ortalama ve standart sapma (SD) gibi popülasyon parametreleri kullanılır. Örneğin, parametrik yöntemde referans verilerinin Gaussian dağılımına uyduğuna inanılır ve referans sınırları (yüzdelikleri) ortalamanın  $\pm 2SD$  altında ve üzerinde olarak hesaplanır. Referans dağılım nongaussian bir dağılım ise, verilerin logaritmik transformasyonu yapılır, transformasyondan sonra dağılımın Gaussian olması beklenir. Parametrik olmayan yöntemde dağılım için hiçbir varsayımda bulunulmaz ve hesaplamalarda dağılım parametreleri kullanılmaz. Yüzdelikler her iki uçtan gereken yüzdeden kesilir.

#### **2.6.6.1. Parametrik Yöntemler**

Parametrik yöntem nonparametrik yönteme göre çok daha komplikedir ve veri sayısı yüksek olduğu zaman bilgisayar istatistik programları gerekir. Dağılımın parametrik yöntemle yüzdeliklerin hesaplanmasında Gaussian dağılım olduğu varsayılır. Bundan dolayı parametrik yöntemde, kritik aşama, verilerin dağılımının hipotetik Gaussian dağılımına göre uyum iyiliği testi ile değerlendirilmesi gerekliliğidir. Uyum iyiliği testi yapan birçok istatistik program bulunmaktadır (Çarpıklık ve diklik katsayılarına dayalı test, Kolmogorov-Smirnov testi veya Anderson-Darling testi gibi). Referans dağılım Gaussian dağılımından anlamlı olarak farklı değilse 2,5 ve 97,5 yüzdelikler ortalamasının her iki tarafına iki SD eklenerek hesaplanır. Daha kesin hesaplamak için,

$$2,5 \text{ yüzdelik} = x - 1,96 \times SD$$

$$97,5 \text{ yüzdelik} = x + 1,96 \times SD$$

formülleri kullanılır. Referans dağılım Gaussian değil ise, matematiksel transformasyon ile Gaussian dağılımına uyması sağlanabilir. Özellikle sağa çarpık (pozitif çarpıklık) dağılımlarda logaritmik transformasyonla Gaussian dağılıma uyum

sağlanır. Diğer durumlarda karekök transformasyonların daha uyum sağladığı gözlenmektedir. Logaritmik ve karekök transformasyonların daha çok kullanılması bu nedenlerden dolayı önerilmektedir. Bu iki transformasyon ile başarılı olunamazsa başka transformasyonlar denenebilir. Bu konuda çeşitli yayınlar bulunmaktadır (56). Güven aralıkları, nongaussian dağılımlara göre gaussian dağılımlarda daha dar çıkmaktadır. Bu dar aralık test sonuçlarını değerlendirirken daha kesin bir yaklaşımda bulunulmasını sağlar (57). Bazı yazarlar referans aralığı tayininde bu yöntemin kullanılmasının daha uygun olacağını ileri sürmektedirler (56).

#### **2.6.6.2. Nonparametrik Yöntemler**

Nonparametrik yöntemler nongaussian dağılımlarda tercih edilirler. Özellikle hastane kayıtlarının kullanıldığı veri setlerinde tercih edilirler. Ancak dikkat edilmesi gereken nokta her bir alt grup için gerekli veri sayısı en az 120 olmalıdır. Bu sayının altındaki veri setlerinde ise modifiye yöntemler kullanılır. Bunlardan en çok kullanılanı “Nonparametrik yüzde tahmini yöntemidir”. Bu yöntem alt ve üst değerleri kesin olarak bildirir. Bundan dolayı modifiyeleşmiş yöntemlerin büyük kısmı bu yöntemi temel almaktadır. Burada dağılımın %95’lik alanını kapsayan %2,5 ile %97,5’luk alana eşdeğer noktalar aranır. Bunun için veriler küçükten büyüğe doğru sıralandıktan sonra aşağıdaki formüller kullanılır:

$$\text{Alt değer} = 0,025 \times (n+1)$$

$$\text{Üst değer} = 0,975 \times (n+1)$$

‘n’ veri sayısını belirtmektedir. Eğer rakamlar virgüllü çıkarsa yuvarlama işlemi yapılır. Örneğin 11,5 çıkan bir alt değer 12’ye yuvarlanır. Bu sayede 12. Sırada yer alan veri dağılımının alt noktası olarak belirlenir. Aynı aynı işlemlerle üst nokta da tespit edilir (13,58).

Diğer bir yöntem Wilks tarafından tanımlanan “nonparametrik tolerans aralığı yöntemidir” (59). Veriler küçükten büyüğe doğru sıralanır ve sıra numaralarına eşdeğer olan değerler veri sayısı ve güven aralığına göre bu tablolardan çıkartılır (60). Burada yüzde tahmin yönteminde olduğu gibi dağılımın kesin bir yüzdesine uyan sıra değeri yerine, tablodan veri sayısı ve güven aralığına uyan değerler elde edildiği için %95’lik bölge dağılımında değişen bölgelerde lokalize olabilmekte ve güven aralığının derecesine göre fazla geniş ya da dar çıkabilmektedir.

## 2.7. VERİ TRANSFORMASYONU

Nongaussian dağılımlarda parametrik yöntemler kullanılamaz. Veri transformasyonu sayesinde nongaussian dağılım gaussian forma benzetilebilir. Gaussian forma benzetme belli miktarda hata payı içerdiğinden dolayı transformasyon sonrası dağılımın tipi tekrardan yapmak gerekir. Oluşturulan yeni dağılımda hem yatıklık hem de basıklık katsayıları dikkate alınarak değerlendirme yapılmalıdır. Veri transformasyonu “logaritmik transformasyon”, “karekök transformasyon” ve “trigonometrik transformasyon” gibi metotlarla yapılabilir. Bunlar içinde en sık Logaritmik transformasyon kullanılır. Nongaussian dağılımlar genelde sola (pozitif yatıklık) veya sağa (negatif yatıklık) yatık dağılımlar şeklinde olabileceği gibi normalden fazla dik (pozitif basıklık) veya normalden fazla basık (negatif basıklık) olarak da gözükübilirler (35).

## 2.8. REFERANS ARALIKLARININ TRANSFER EDİLEBİLİRLİĞİ

Bir laboratuvarın test listesindeki her test için güvenilir referans aralığının belirtilmesi ana görevlerdendir. Fakat her laboratuvarın hesaplama kapasitesi bulunmamaktadır. Bundan dolayı, başka bir laboratuvarda hesaplanmış olan referans değer diğer bir laboratuvarda kullanılabilir. Yalnız kullanılabilmesi için aşağıdaki Tablo 7 haline dönüştürülmüş koşullar yerine getirilmelidir (36).

**Tablo 7.** Referans aralıklarının transfer edilebilme koşulları

1	İyi tanımlı popülasyonlar olmalıdır ve özellikleri birbirleriyle örtüşmelidir.
2	Örnek alınmadan önce bireylerin hazırlanması ve örneklerin alınması ve işlenmesi her iki laboratuvarda standardize programlarla yapılmalıdır
3	Analitik performans yönünden her iki laboratuvar birbirleriyle uyumlu olmalıdır.
4	Analitik bias bulunma durumu açısından iki laboratuvarın verisi de aralarında kontrol edilmelidir.

Klinik laboratuvarca çalışılan test sonuçlarının sunumu sonuçları kolay anlamak açısından önemlidir. Laboratuvarda çalışılan her test sonucun referans aralığıyla birlikte verilmesi klinisyen açısından test sonucunu değerlendirmesini kolaylaştıracaktır. Sonuç listesinde, çıkan değerlerin referans aralığına göre

değişiminin oklarla gösterilmesi, sonucun hem hızlı hem de kaliteli değerlendirilmesine pozitif katkısı bulunabilir. Test sonuçları referans aralıkları ile aynı hizada olmalı ve birimler çalışılan test sonuçlarının hemen yanında verilmelidir. Referans aralık cinsiyet ve yaşa göre ayrı ayrı hesaplanmış ise verilecek raporda referans değerleri bu iki faktörlere göre gruplandırma yaparak vermek daha uygun olacaktır (13).

## 2.9. KAN HÜCRELERİ VE KLİNİK ÖNEMİ

Kanın şekilli hücreleri kemik iliğinde bulunan pek çok plüripotent hemopoetik stem-cell'den (çok yönlü potansiyele sahip hemopoetik kök hücre) gelişir. Kök hücreler tek yönlü ünipotent stem-cell'e dönüşerek, periferik kandaki şekilli hücreleri oluşturmak üzere yönlendirilir. Periferik kandaki bütün şekilli hücreler miyeloid ya da lenfoid seriden kökenini alırlar (61, 62). Pluripotent Stem-cell'den periferik kan hücrelerinin oluşumu aşağıda Tablo 8'de gösterilmiştir.

**Tablo 8.** Pluripotent Stem-cell'den periferik kan hücrelerinin oluşumu (63)

Pluripotent stem-cell	Myeloid seri	Eritrositer seri	Ertrositler
		Megakaryositler	Trombositler
		Granülositler	Nötrofiller
			Eozinofiller
			Bazofiller
		Monosit	Makrofaj
	Lenfoid seri	B Lenfositler seri	Plazmasitler
			Bellek B hücreleri
		T Lenfositleri	T-Helper(T4)(TH)
			T-Süpresor(T8)(TS)
			T-Sitotoksik(TC)
			T-Hipersensitivity(TD)
		Natural Killer (NK)	
Null Lenfositler (Büyük granüllü lenfositler)			

### 2.9.1 Eritrositler ve Klinik Önemi

Eritrositler ortalama çapları 7,8 mikrometre olup bikonkav disk şeklinde ve içlerinde hemoglobini yapısını barındıran kırmızı renkli hücrelerdir. Eritrositler, alyuvar olarak da bilinir. Sağlıklı bir erkekte ortalama alyuvar sayısı milimetreküpde 5.200.000 ( $\pm 300.000$ ), kadında 4.700.000 ( $\pm 300.000$ ) kadardır. Her bir hücredeki hemoglobin miktarı normal olduğunda, 100 ml kandaki ortalama hemoglobin erkeklerde 15 gr, kadınlarda 14gr'dır. Alyuvarlar hücre sıvılarında hemoglobini 100 ml hücrede 34 gr düzeyine kadar yoğunlaştırabilirler. Eritrositlerin esas işlevi, akciğerlerden dokulara oksijeni ileten hemoglobini taşımaktır. Eritrositler büyük miktarda karbonik anhidraz enzimi sayesinde karbonik asit ( $H_2CO_3$ ) oluşturmak üzere karbondioksit ( $CO_2$ ) ve su arasındaki tersinir tepkimeyi katalize eder. Bu tepkime sayesinde, kandaki  $CO_2$ 'le suyu dokulardan akciğerlere bikarbonat iyonu ( $HCO_3$ ) halinde taşımalarını sağlar. Akciğerlerde bikarbonat iyonu  $CO_2$ 'e dönüşür ve vücudun atık ürünü olarak atmosfere verilir. Eritrosit içindeki hemoglobinin tamponlama gücü sayesinde, vücutta bulunan asit baz tampon sistemine de çok büyük katkı sağlar (62).

Anemi, kandaki hemoglobin değerinin düşüklüğü anlamına gelir. Bu durum alyuvar sayısının azalmış olmasından olabileceği gibi hücre içindeki hemoglobin miktarının azalmasından da ileri gelebilir (62). Anemilerin ayırıcı tanısı genelde hemoglobin içeriğine ve eritrositlerin boyutuna göre yapılmaktadır. Günümüzde anemilerin sınıflandırılmasında kullanılan en önemli iki parametre MCV (Ortalama eritrosit volümü) ve retikülosittir ( $Rtc$ ) (64). Demir eksikliği anemisi, megaloblastik anemi, hemolitik anemi, aplastik anemi gibi anemi türleri vardır. Tam kan çıktılarında yer alan eritrosit indeksleri ve tanısal değerleri aşağıda Tablo 9'da gösterilmiştir.

**Tablo 9.** Tam kan çıktılarında yer alan eritrosit indeksleri ve tanısal değerleri(64)

	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/dl)	RDW(%)	Rtc(%)
Tanım	Eritrositin ortalama hacmidir.	Eritrositlerin içindeki ortalama eritrosit hemoglobin miktarıdır.	Hemoglobinin hematokrite bölünmesiyle bulunur.	Eritrosit büyüklüklerinin dağılımıdır.	Kemik iliğinden periferik kana çıkan olgunlaşmamış eritrosittir.
Formül	MCV (fL): Hct(%) x 10 / KK(milyon/ $\mu$ L)	MCH(pg): Hb(g/dl) x 10 / KK(milyon/ $\mu$ L)	MCHC (g/dl): Hb(g/dl)x100/Hct(%)	Eritrosit histogramlarından elde edilen istatistiksel bir değerdir.	Düzeltilmiş Rtc sayısı: Rtc (%) x Hct (%) / 45 Mutlak Rtc sayısı:Rtc (%) x KK(milyon/ $\mu$ ) x10
Patolojik değerler	Düşük MCV: Mikrositik eritrosit Yüksek MCV: Makrositik eritrosit	Düşük MCH: Hipokromik eritrosit Yüksek MCH: Hiperkromik eritrosi	Düşük MCHC: Hipokromik eritrosit YüksekMCHC:Hiperkromik eritrosit	Artmış RDW: Eritrosit anizositozunu gösterir	Artmış Rtc: Retikülositoz Azalmış Rtc: Retikülositopeni
Hastalıklar	Mikrositik:Demir eksikliği anemisi ve Talasemi, Makrositik:B12 ve folat eksikliğinde görülür.	Hipokromi: Başlıca Demir eksikliği anemisi ve Talasemide görülür.	Hipokromi: Demir eksikliği anemisi ve Talasemi Hiperkromi:Hereditör sferositoz da görülür.	Normal veya hafif artmış RDW: Talasemi taşıyıcılığı, Artmış RDW: De mir eksikliğide görülür.	Retikülositoz hemolitik anemi ve akut kanamalarda görülür.

Kanda eritrosit sayısının azlığı ya da hemoglobinin azlığı olabileceği gibi bunun tam tersi duruma da polisitemi denir. Polisitemide eritrosit sayısı ve hemoglobin değerleri artış gösterir ve artmış viskositeden dolayı kalbe dönen kanın venöz dönüş hızını azaltır ama kan hacmindeki artışa bağlı kalbe dönen kan hacmi artar. Kan basıncı artabilir ve cilt rengi kırmızı görülür (62).

### 2.9.2.Lökositler ve Klinik Önemi

Akyuvarlar olarak da adlandırılan lökositler vücut savunma sisteminin hareket halindeki birimleridir. Büyük oranda kemik iliğinde (granülositler, monositler ve az sayıda lenfositler) çoğalır ve az bir miktarda lenf dokusunda çoğalır(lenfositler ve plazma hücreleri). Tüm bu lökositler, vücudun ihtiyaç duyulan bölgelerine kan yoluyla taşınır (62). Lökositlerin vücuttaki en önemli görevi enfeksiyon ve oluşan inflamasyon karşı hızlı ve güçlü bir savunma sağlamaktır. Sağlıklı yetişkin bir insanın kanında mikrolitre ortalama 7.000 akyuvar vardır. Normalde insan kanında 6

çeşit lökosit bulunur. Bunlar nötrofiller, eozinofiller, bazofiller, monositler, lenfositler ve az olarak da plazma hücreleridir. İlk üç tip hücrenin çekirdeği çok parçalı çekirdekli (polimorfonükleer) hücrelerdir ve bu üç tipin hepsi granüllü görünüme sahip oldukları için granülositer seri olarak da adlandırılırlar. Bu granülositer seri çok çekirdek içerdiğinden dolayı başlarına poli eki getirilir (62). Akyuvarların alt tiplerinin dağılımları yaklaşık şöyledir:

**Tablo 10.** Akyuvarların alt tiplerinin dağılımları

Polimorfonükleer nötrofiller	%62
Polimorfonükleer eozinofiller	%2,3
Polimorfonükleer bazofiller	%0,4
Monositler	%5,3
Lenfositler	%30,0

Granülositler ve monositler yabancı organizmayı fagositoz ile sindirerek vücudu korurken; lenfosit ve plazma hücreleri bağışıklık sistemi sayesinde vücudu korurlar(62). Normal aralığın altındaki değerlere lökopeni, normal aralığın üstündeki değerler ise lökositoz olarak adlandırılır (Tablo11). Stres, infeksiyon, myeloproliferatif hastalıklar gibi birçok durumda kan dolaşımına myeloid seri öncülleri çıkarsa bu duruma formülde sola kayma denir. Myeloid öncüllerle birlikte eritroid seri öncül hücreleride kan dolaşımına çıkarsa bu duruma lökoeritroblastik reaksiyon olarak adlandırılır. Lökomooid reaksiyon ise lökosit sayısının 50.000/ $\mu$ L den fazla olup myeloid öncülü hücrelerden sadece genç ve çomak hücrelerin görüldüğü tabloya denir (65, 66). Tam kan sayım çıktılarında yer alan lökosit formülü ve tanısal değeri aşağıda Tablo 11’de gösterilmiştir.



**Tablo 11.** Tam kan sayım çıktılarında yer alan lökosit formülü ve tanısal değeri(64)

	Nötrofil	Lenfosit	Monosit	Eozinofil	Bazofil
Tanım	Nötrofiller periferik kanda 3-5 loblu olarak bulunan granüller hücrelerdir.	Lenfositler periferik kanda görülen çekirdekli agranüler hücrelerdir.	Monositler periferik kanda görülen çekirdekli agranüler büyük hücrelerdir.	Eozinofiller periferik kanda 2 loblu olarak görülen pembe granüllü hücredir.	Bazofiller periferik kanda görülen çekirdekli bazofilik granüllü hücrelerdir.
Patolojik değerler	Nötropeni: Nötrofil sayısının $1500/\text{mm}^3$ altında olmasıdır. Nötrofil: Nötrofil sayısının fazlalığıdır.	Lenfopeni: Lenfosit sayısının $1500/\text{mm}^3$ altında olmasıdır. Lenfositoz: Lenfosit sayısının fazlalığıdır.	Monositopeni: Monosit sayısının azlığına denir. Monositoz: Monosit sayısının fazlalığıdır.	Eozinofili: Eozinofil sayısının fazlalığıdır.	Bazofili: Bazofil sayısının fazlalığıdır.
Hastalıklar	Nötropeni: Hem konjenital hem de akkiz nedenleri olabilir. Nötrofil: Akut bakteriyel enfeksiyonlar da çok sık görülür.	Lenfopeni: Agamaglobulinemi Lenfositoz: Akut ve kronik enfeksiyonlar (EBV, CMV), lösemiler de görülür.	Monositopeni: Steroid, enfeksiyon Monositoz: Akut ve kronik enfeksiyonlar, lösemiler, kollajen doku ve granülomatöz hastalıklar da görülür.	Eozinofili: Allerjik, paraziter, hematolojik hastalıklar ve intestinal hastalıklar da görülür.	Bazofili: Myeloproliferatif hastalıklar, hipersensitivite reaksiyonları ve inflamatuvar durumlarda görülür.

### 2.9.3 Trombositler ve klinik önemi

Trombositler megakaryositlerin fragmantasyonu ile oluşan, çekirdeksiz, oval ya da bikonveks disk biçiminde nükleus içermeyen, çapı 2-4  $\mu\text{m}$  ve ortalama ömrü 7-10 gün olan sitoplazma parçacıklarıdır. Trombositler zamanla yapıları değişir, hacimleri küçülür. Her mikrolitre periferik tam kanda yaklaşık olarak 150.000-450.000 trombosit bulunur ve  $150 \text{ bin}/\text{mm}^3$  altındaki değerlere trombositopeni, 400-450.000/ $\text{mm}^3$  üstündeki değerler trombositoz olarak tanımlanır (67, 68). Trombositlerin içinde bütün aminoasitler bulunur. Trombositlerin çekirdeği olmadığı halde bu aminoasitleri kullanarak protein sentezleyebilir. Trombositlerin mitokondrileri, endoplazmik retikulumları ve glikojen depoları vardır ve 4 çeşit depo granülleri içerirler (69,70). Trombositlerin vücuttaki asıl rolleri hemostaz, tromboz ve koagülasyon reaksiyonlarında yer almaktır (71).

Trombositlerin tam kan sayım cihazlarında rutin olarak hesaplanmasıyla psödötrombositopeni, immün trombositopenik purpura (ITP), mikro ve makrotrombositopeni'li hasta sayılarında artma olmuştur. Zamanla kullanılan cihazlardaki gelişime paralel olarak trombosit sayılarıyla birlikte ortalama trombosit volümü (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDW) ve trombosit platekriti (PCT) gibi değerlerde kullanılmaya başlanmıştır. İçlerinde en sık kullanılan MPV parametresidir. MPV trombosit hacmini gösterir ve kemik iliği yanıtını da göstermektedir. MPV normal değeri 7-11 fl aralığında olup, 11fl'den daha yüksek bulunan değerler ITP, May Hegglin anomalisi, Bernard Soulier sendromu gibi makro trombositopenilerde gözlenirken, 7fl altındaki değerler aplastik anemi ve Wiscott Aldrich sendromu gibi durumlarda gözlenir (72, 73).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

#### 3.1 ÇALIŞMA GRUPLARI

Bu çalışma retrospektif bir çalışmadır ve kullanılan test verileri indirekt olarak elde edilmiştir. Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 1 Ocak 2015-31 Aralık 2016 tarihleri arasında biyokimya laboratuvarında çalışılan ve 18-65 yaş aralığındaki ayaktan tedavi gören hastalara ait veriler hedef kitle olarak belirlenmiştir. Bu amaçla bhattacharya metodu için 8726'sı erkek ve 12993'ü kadın toplam 21719 kişinin verisi Hastane Bilgi Yönetim ve Otomasyon (HBYOS) kayıtları üzerinden elde edilerek çalışmaya dahil edildi. İndirekt nonparametrik yöntemi için de 500 kadın ve 500 erkek çalışmaya dahil edildi. Hasta seçimi yapılırken bhattacharya metodu için hastaneye başvuran hastalar (tekrarlı hasta sonucu varsa ilk sonucunu), indirekt nonparametrik yöntem için ise hastaneye sadece bir kez gelmiş hasta test sonuçları dahil edildi. Değerlendirmeye aldığımız test sonuçları göz, kulak burun boğaz, ortopedi, nöroşirurji, dermatoloji, nöroloji ile fizik tedavi ve rehabilitasyon polikliniklerinde ayakta tedavi gören hastalara aittir. Genel cerrahi, enfeksiyon hastalıkları, endokrinoloji, pediatri, dahiliye, nefroloji, gastroenteroloji, acil, kadın hastalıkları ve doğum kliniklerinde tedavi gören hastalara ait test sonuçları çalışmaya dahil edilmedi. Yatan hastaların verileri değerlendirmeye alınmadı. İki çalışmada da indirekt ve nonparametrik metot uygulandığından verilere bir dışlama kriteri uygulanmadı. Taramalarımızda 18-65 yaş aralığında referans aralığını araştırdığımız hematolojik parametrelerde yaş gruplarında anlamlı bir değişim gözlemlenmediğinden çalışmada sadece cinsiyete göre referans aralıkları belirlenmiştir.

#### 3.2. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE BELİRLENEN RED KRİTERLERİ

Analiz için alınan kan örnekleri hastanemize ayaktan başvuran hastalardan elde edildi. Hastaların kanları sabah saat 08:00 ile 12:00, öğleden sonra ise 13:00 ile 15:00 saatleri arasında alındı. Çalışmaya, venöz kandan ICSH'nin 1982'de önerdiği biçimde EDTA tüpüne 2 ml olmak üzere vakutainer sistem ile alınan kan örnekleri toplandı ve cihaz başındaki teknisyenimize gönderildi. Teknisyen numuneyi çalışmak için öncelikle aşağıda Tablo 12'deki red kriterlerini uyguladı.

**Tablo 12.** Red kriterleri tablosu

1	Ad Soyad Hataları	6	Yaş, Cinsiyet Hataları
2	Barkotsuz Örnek	7	Yanlış Örnek Kabına Alınması
3	Örnek Miktarının Yanlış Seviyede Alınması	8	Hatalı Test Kaydı
4	Yetersiz Örnek	9	Pıhtılı Numune
5	Numunelerin Uygunsuz Transfer Edilmesi		

### **3.3. KULLANILAN CİHAZ VE REAKTİFLER**

#### **3.3.1. Kullanılan Cihaz**

Hasta verileri, hastanemiz biyokimya laboratuvarında kullanılan CELL DYN Ruby (Abbott Park, IL 60064, USA) hemogram analizöründen elde edilen sonuçlardan toplandı. Bu çalışmada seçilen parametreler WBC, RBC, HGB, PLT'dir.

#### **3.3.2 Kullanılan Reaktifler**

CELL DYN Ruby'de aşağıda 3 çeşit reaktifler kullanıldı:

##### **3.3.2 1.CELL-DYN Diluent/Sheath Reaktifi**

CELL DYN Diluent/Sheath aşağıdaki ana fonksiyonlara sahiptir (74):

- 1.Ölçüm döngüsünün sayım ve boyutlandırma aşamasında her bir kırmızı kan hücresi ve trombosit dilue edilmiş stabil hücre hacminde muhafaza eder.
- 2.Hidrodinamik odaklama işlemi için bir sheath sıvısı olarak iş görür.
- 3.Sıvı sistemi için bir durulama maddesi olarak iş görür.

##### **3.3.2.2.CELL-DYN CN İçermeyen HGB/Çekirdeksel Optik Sayım (NOC)Lyse Reaktifi**

CELL DYN CN İçermeyen HGB/NOC Lyse, siyanid içermez ve aşağıdaki başlıca fonksiyonlara sahiptir (74):

- 1.Kırmızı kan hücrelerini hızlı bir şekilde lyse (parçalama) eder ve açığa çıkan hücre çöküntülerini en aza indirir.
- 2.Hücre membranını bozmadan beyaz kan hücresi sitoplazmasını ayırarak beyaz kan hücresi nükleusunun sayılmasına olanak tanır.
- 3.Hemoglobini, 555 nm'de ölçülebilen stabil bir kromojen kompleksine dönüştürür.

### **3.3.2 3.CELL-DYN WBC Lyse Reaktif**

CELL DYN WBC Lyse aşağıdaki ana fonksiyonlara sahiptir (74):

- 1.WBC için dilüent olarak iş görür
- 2.Kırmızı kan hücrelerini ozmotik olarak lyse eder
- 3.Ölçüm süreci boyunca WBC'nin doğru saçılım özelliklerini korur
- 4.WBC akış sisteminde hava kabarcıklarının birikmesini önlemek için yeterli düzeyde ıslaklık sağlar
- 5.WBC Karışım Bölmesi için durulama maddesi olarak iş görür
- 6.Retikülosit için diluent(seyreltici) olarak iş görür

### **3.3.3 Kullanılan Kontrol ve Kalibratörler**

Kitlerin kalibrasyonu aynı firma tarafından sağlanan kalibratör ile yapılmıştır. İç kalite kontrol için abbott'un CELL DYN 26 plus kontrolü kullanılmıştır. Her gün düşük, orta ve yüksek seviye olarak verilir. Dış kalite kontrolü ise KBUDEK eksternal kalite kontrol programı tarafından yapılmaktadır.

## **3.4.ÇALIŞILAN HEMOGRAM TESTLERİNİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ**

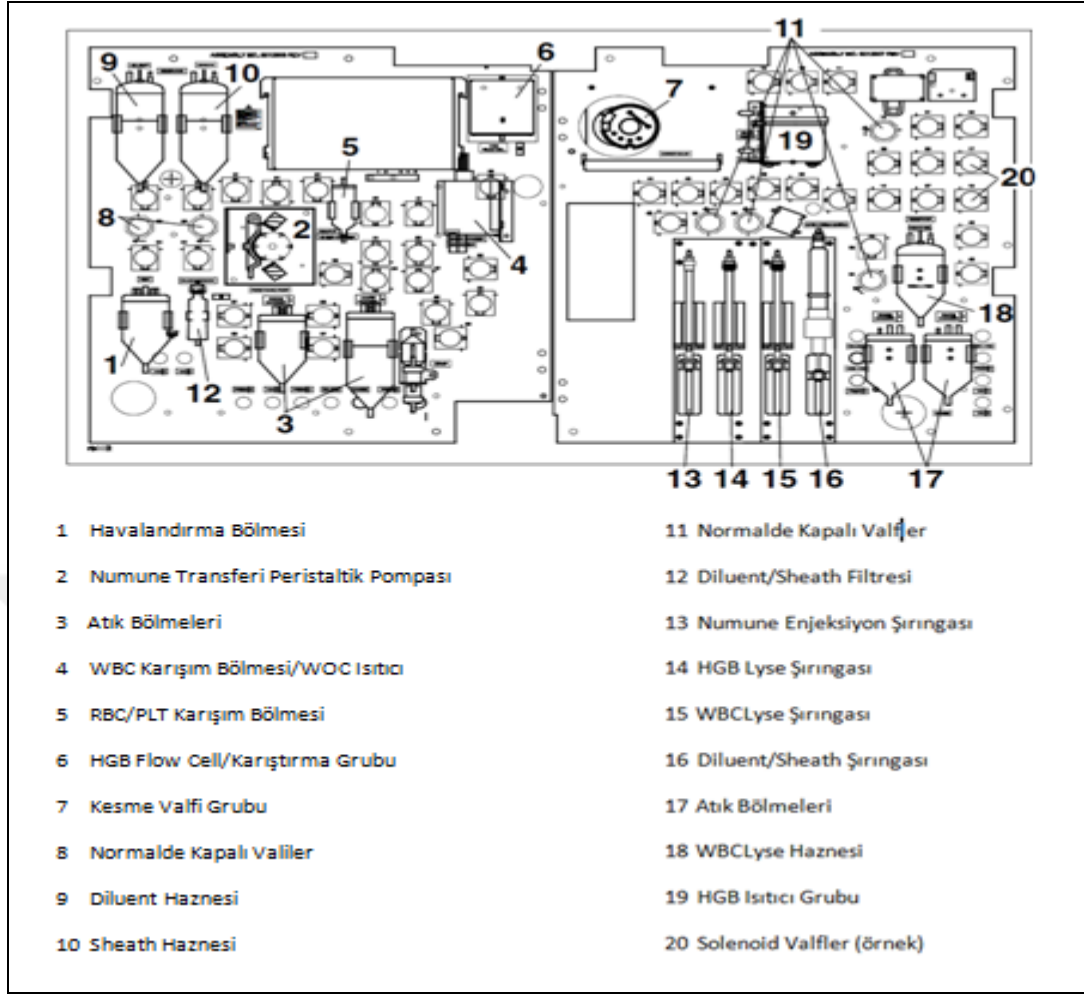
CELL DYN Ruby cihazı WBC, Çekirdeksel Optik Sayım (NOC) ve RBC/PLT verilerinin belirlenmesi için Optik kanal ve HGB'nin belirlenmesi için Hemoglobin kanalı kullanır:

### **3.4.1.WBC Analizi**

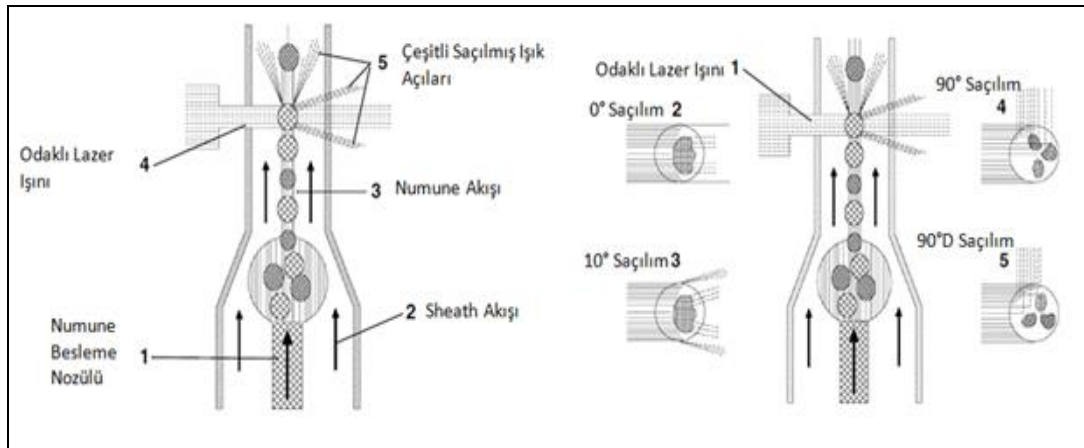
WBC, optik olarak aşağıdaki şekilde analiz edilir (74):

1. WBC lyse (parçalama) şırıngası, kesme valfinden 0.973 ml WBC lyse reaktif ayırır (dispens) ve burada 20 µl hacminde WBC, WBC karışım bölmesi/WOC ısıtıcısına aktarılır.

2. Daha sonra segment ve reaktif, dilüsyonun karıştırıldığı WBC karışım bölmesi/WOC ısıtıcısına yönlendirilir. Nihai dilüsyon 1:50'dir. Dilüe edilmiş numune, kırmızı kan hücrelerinin lyse olması için karışım bölümünde 14 saniye kalır.
3. Numune aktarma pompası, WBC karışım bölmesi/WOC ısıtıcısındaki WBC dilüsyonunu optik akış hücresi numune besleme nozulüne aktarır.
4. Sheath haznesinde sabit basınç altındaki diluent/sheath reaktifi, optik akış hücresine yönlendirilir.
5. Sıralı bir biçimde, numune ölçüm şırıngası 46.5 µl WBC dilüsyonunu diluent/sheath reaktifininkinden daha düşük bir basınçta (ve hızda) akış hücresine enjekte eder.
6. WBC dilüsyonunu saran sheath'in yüksek hızı ve akış hücresinin özel geometrisinden oluşan kombinasyon, WBC dilüsyonu akışını ayrı ayrı hücrelerin sayılmasını sağlayacak şekilde odaklar.
7. Akış hücresine bir lazer ışını odaklanır. Numune akışı lazer ışını ile kesiştiğinde, hücreler tarafından saçılan ışık ileri yönde (0° ve 10°) ve yan (90° ve 90°D) açılarda yerleştirilmiş dört farklı detektörde ölçülür.



Şekil 3: CELL DYN Ruby cihazı akış paneli bileşenleri (74)



Şekil 4: CELL DYN Ruby cihazı optik akış hücresi ve WBC ışık saçılımı (74)

### **3.4.2.RBC/PLT Analizi**

1. Diluent/sheath şırıngası, kesme valfinden 2.79 ml dilüent dispans eder ve burada 1.67 µl hacminde RBC/PLT, RBC karışım bölmesine aktarılır.
2. Daha sonra segment ve dilüent, dilüsyonun karıştırıldığı RBC/PLT karışım bölmesine yönlendirilir. Nihai dilüsyon 1:1675'tir.
3. Numune aktarma pompası, RBC/PLT karışım bölmesindeki RBC/PLT dilüsyonunu optik akış hücresi numune besleme nozulüne aktarır.
4. Sheath haznesinde sabit basınç altındaki diluent/sheath reaktifi optik akış hücresine yönlendirilir.
5. Sıralı bir biçimde, numune ölçüm şırıngası 24 µl RBC/PLT dilüsyonunu diluent/sheath reaktifininkinden daha düşük bir basınçta (ve hızda) akış hücresine enjekte eder.
6. RBC/PLT dilüsyonunu saran sheath'in yüksek hızı ve akış hücresinin özel geometrisinden oluşan kombinasyon, RBC/PLT dilüsyonu akışını ayrı ayrı hücrelerin sayılmasını sağlayacak şekilde odaklar.
7. Akış hücresine bir lazer ışını odaklanır. Numune akışı lazer ışınıyla kesiştiğinde saçılan ışık, kırmızı kan hücreleri için 0°, 10° ve 90°'de, trombositler için ise 0° ve 10°'de ölçülür (74).

### **3.4.3.Hemoglobin Analizi**

1. Diluent/sheath şırıngası, kesme valfinden 1,7 mL diluent enjekte eder ve burada 12 µL hacminde HGB, HGB flow cell'e aktarılır.
2. HGB lyse şırıngası, diluent ilgili hacimdeki HGB'yi HGB flow cell'e aktardıktan sonra hatta 0,9 mL HGB lyse dispans eder. HGB lyse için giriş noktası, Kesme valfi ile HGB flow cell arasındadır.
3. Segment, lyse ve dilüent, dilüsyonun karıştırıldığı HGB flow cell'e yönlendirilir. Nihai dilüsyon 1:218'dir.
4. HGB flow cell'e takılmış olan düşük enerjili bir led, 555 nm'de ışık absorbandsını ölçer. Absorbans, numunenin HGB konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (74).



### **3.5.KULLANILAN BİLGİSAYAR PROGRAMLARI VE İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER**

Çalışmaya dahil olan hasta verileri, hastanenin kullandığı otomasyon (KarMed Hasta Yönetim Bilgi Sistemi) sisteminin kayıtlarından Microsoft Office Excel programına aktarıldı. Hesaplama başlamadan önce her alt grup için SPSS 22 programı ile alt grupların histogramı çizildi ve aşırı uç değerler tespit edildi. Aşırı uç değerler için XLSTAT programında Dixon kuralı uygulanarak aşırı değerler atıldı. Aynı zamanda SPSS 22 programı içindeki stem-and-leaf plot grafiği ile uç değer kontrolü yeniden yapıldı. Alt grupları oluştururken bhattacharya metodu için kadın ve erkek verileri arasında fark var mı diye student t, indirekt nonparametrik yöntemi için z kritik değerlerine bakıldı. Tüm gruplarda fark olduğu gözlemlendiğinden tüm parametrelerde kadın ve erkek alt gruplara ayrıldı. Alt grupların normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Simirnov testi uygulandı.

### **3.6. İNDİREKT NONPARAMETRİK YÖNTEMLE REFERANS ARALIKLARIN HESAPLANMASI**

NCCLS'in C28-A2 klavuzunda belirtilen nonparametrik yöntemle dört parametre hesaplandı. Bu parametrelerden sadece erkek RBC değerlerinin hesaplanması aşağıda gösterildi. Diğer parametrelere de aynı basamaklar uygulandı ama sonuçları bulgular kısmında verildi.

İlk olarak 500 erkeğe ait RBC değerlerinin dağılımını belirlemek için K-S testi yapıldı. Normal dağılıma uyduğundan transformasyon işlemi yapılmadı. Daha sonra RBC parametresi için 500 erkek hastanın dixonla uç değeri atıldı. Geriye çalışmamızda kullanılmak üzere 473 hastanın verisi kaldı. Aşağıda 473 hasta verisi kullanılarak indirekt nonparametrik yöntemle referans aralıkların hesaplanması ve güven aralığının belirlenmesi adım adım anlatıldı.

1.n sayıdaki referans değeri küçükten büyüğe doğru sıralandı. Her biri birden başlamak üzere numaralandı. Aynı değerlere de sıralı numaralar verildi. Aşağıda bu değer ve numaraların sıralanması Tablo 13'te gösterilmiştir.

Tablo 13. Referans verilerin sıralanması

Dağılımın sol ucundaki sıralanmış ve numaralanmış RBC değerleri										
Değerler:	4,46	4,47	4,47	4,48	4,49	4,52	4,53	4,54	4,54	4,58
Sıralar:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Değerler:	4,58	4,58	4,63	4,65	4,66	4,66	4,68	4,69	4,69	4,70
Sıralar:	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Dağılımın sağ ucundaki sıralanmış ve numaralanmış RBC değerleri										
Değerler:	6,14	6,15	6,16	6,17	6,17	6,18	6,19	6,20	6,20	6,22
Sıralar:	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463
Değerler:	6,23	6,23	6,24	6,25	6,28	6,28	6,30	6,32	6,35	6,36
Sıralar:	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473

2. 2.5 ve 97.5 yüzdelerinin sıra numaraları sırasıyla ;

$$2.5 \text{ yüzdeliğin sıra numarası} = 0.025 \times (473 + 1) = 11,85$$

$$97.5 \text{ yüzdeliğin sıra numarası} = 0.975 \times (473 + 1) = 462,15$$

Hesaplanan sıra numaraları tam sayı değilse kurala göre tam sayıya yuvarlandı.

$$2.5 \text{ yüzdeliğin sıra numarası} = 12$$

$$97.5 \text{ yüzdeliğin sıra numarası} = 462$$

3. Bu sıra numaralarındaki 2.5 ve 97.5 yüzdelerinin referans sınırları sırasıyla veri listesinden

Alt referans sınırı(2.5 yüzdelik) 12 → 4,58

Üst referans sınırı(97.5 yüzdelik) 462 → 6,20 olarak bulundu.

Aşağıda Tablo 13'te alt ve üst referans sınırları gösterilmiştir.

Tablo 13. Referans verilerin sıralanması

Dağılımın sol ucundaki sıralanmış ve numaralanmış RBC değerleri										
Değerler:	4,46	4,47	4,47	4,48	4,49	4,52	4,53	4,54	4,54	4,58
Sıralar:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Değerler:	4,58	4,58	4,63	4,65	4,66	4,66	4,68	4,69	4,69	4,70
Sıralar:	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Dağılımın sağ ucundaki sıralanmış ve numaralanmış RBC değerleri										
Değerler:	6,14	6,15	6,16	6,17	6,17	6,18	6,19	6,20	6,20	6,22
Sıralar:	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463
Değerler:	6,23	6,23	6,24	6,25	6,28	6,28	6,30	6,32	6,35	6,36
Sıralar:	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473

4. 2.5 yüzdeliğin 0.90 güven aralıklarının sıra numaraları standart tablodan bulunur.

Tabloya baktığımızda sıra numarası 471-500 arası veri sayısında alt sıra numarası 7 üst sıra numarası ise 19 olarak bulunur.

**Tablo 14.** %2,5 percentil için % 90 güven aralığı tablosunun sıra numarası ile tanımlanması (35)

Örnek büyüklüğü	Sıra Numaraları		Örnek büyüklüğü	Sıra Numaraları	
	Alt	Üst		Alt	Üst
119 – 132	1	7	556 – 574	8	22
133 – 160	1	8	575 – 598	9	22
161 – 187	1	9	599 – 624	9	23
188 – 189	2	9	625 – 631	10	23
190 – 218	2	10	632 – 665	10	24
219 – 248	2	11	666 – 674	10	25
249 – 249	2	12	675 – 698	11	25
250 – 279	3	12	699 – 724	11	26
280 – 307	3	13	725 – 732	12	26
308 – 309	4	13	733 – 765	12	27
310 – 340	4	14	766 – 773	12	28
341 – 363	4	15	774 – 799	13	28
364 – 372	5	15	800 – 822	13	29
373 – 403	5	16	823 – 833	14	29
404 – 417	5	17	834 – 867	14	30
418 – 435	6	17	868 – 871	14	31
436 – 468	6	18	872 – 901	15	31
469 – 470	6	19	902 – 919	15	32
471 – 500	7	19	920 – 935	16	32
501 – 522	8	20	936 – 967	16	33
523 – 533	8	20	968 – 970	17	33
534 – 565	8	21	971 – 1000	17	34

Bu sıra numaralarındaki 2.5 yüzdeliğin 0.90 güven aralığı sırasıyla veri listesinden 2.5 yüzdeliğin alt güven sınırı 7 → 4.53  
2.5 yüzdeliğin üst güven sınırı 19 → 4.69 olarak bulunur.

**Tablo 13.** Referans verilerin sıralanması

Dağılımın sol ucundaki sıralanmış ve numaralanmış RBC değerleri										
Değerler:	4,46	4,47	4,47	4,48	4,49	4,52	4,53	4,54	4,54	4,58
Sıralar:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Değerler:	4,58	4,58	4,63	4,65	4,66	4,66	4,69	4,69	4,69	4,70
Sıralar:	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Dağılımın sağ ucundaki sıralanmış ve numaralanmış RBC değerleri										
Değerler:	6,14	6,15	6,16	6,17	6,17	6,18	6,19	6,20	6,21	6,22
Sıralar:	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463
Değerler:	6,23	6,23	6,24	6,25	6,28	6,28	6,30	6,32	6,35	6,36
Sıralar:	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473

97.5 yüzdeliğin 0.90 güven aralığının sıra numaraları (n+1)'den 2.5 yüzdeliğin sıra numaralarının çıkarılmasıyla bulunur.

üst sıra numarası= (473+1)-7=467 → 6.25

alt sıra numarası=(473+1)-19=455 → 6.15 şeklinde alt ve üst güven sınırları bulunur.

Tablo 13. Referans verilerin sıralanması

Dağılımın sol ucundaki sıralanmış ve numarlanmış wbc değerleri										
Değerler:	4,46	4,47	4,47	4,48	4,49	4,52	4,53	4,54	4,54	4,58
Sıralar:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Değerler:	4,58	4,58	4,63	4,65	4,66	4,66	4,68	4,69	4,69	4,70
Sıralar:	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Dağılımın sağ ucundaki sıralanmış ve numarlanmış wbc değerleri										
Değerler:	6,14	6,15	6,16	6,17	6,17	6,18	6,19	6,20	6,20	6,22
Sıralar:	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474
Değerler:	6,23	6,23	6,24	6,25	6,28	6,28	6,30	6,32	6,35	6,36
Sıralar:	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484

Alt referans sınırı=4.58 Güven aralığı =4.53-4.69

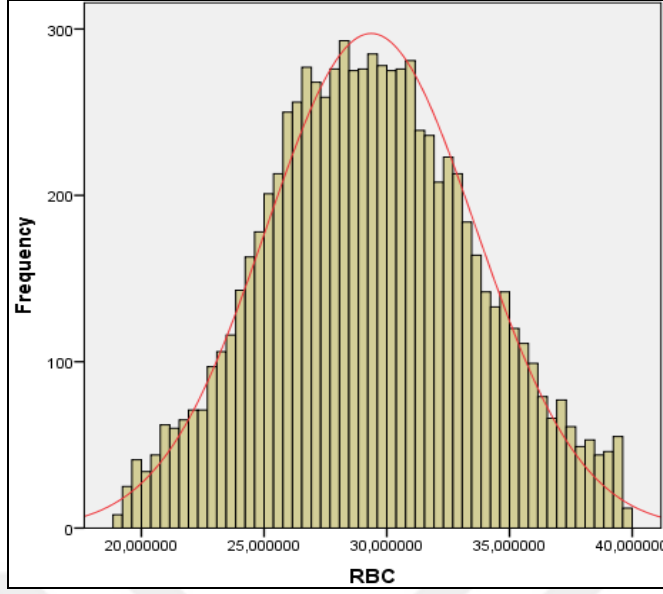
Üst referans sınırı=6.20 Güven aralığı =6.15-6.25

İndirekt nonparametrik yöntemle referans aralıkların hesaplamak için diğer parametrelere yukarda erkek RBC için uygulanılan bütün basamaklar uygulandı.

### 3.7.BHATTACHARYA METOLDUYLA REFERANS ARALIKLARIN HESAPLANMASI

Dört parametreden sadece erkek RBC değerlerinin hesaplanması aşağıda gösterildi. Diğer parametrelere de aynı basamaklar uygulandı ama sonuçları bulgular kısmında verildi.

İlk olarak 8726 erkeğe ait RBC değerlerinin dağılımını belirlemek için K-S testi yapıldı. Normal dağılıma uymadığından değerlerin karesini alınarak veri transformasyonu yapıldı. Daha sonra 8726 erkek hastanın dixon testi ile uç değeri atıldı. Geriye çalışmamızda kullanılmak üzere 8279 hastanın verisi kaldı. Bu verilerin histogram grafiği Şekil 5’de gösterildi.



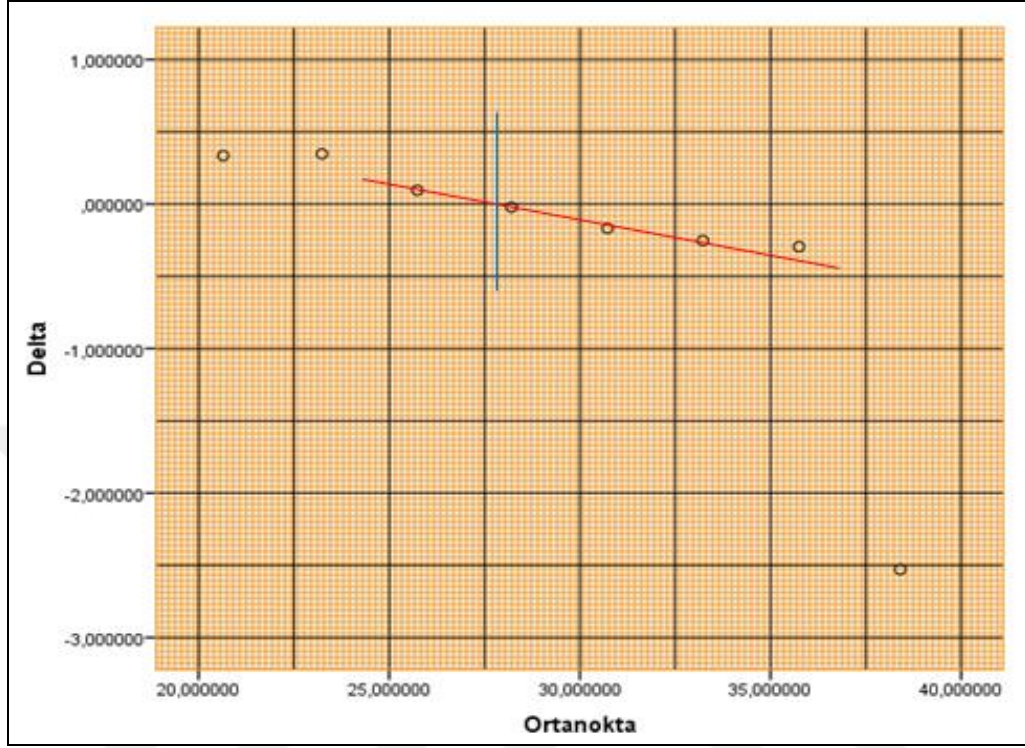
Şekil 5. RBC parametresine ait çizilen histogram grafiği

Daha sonra 8279 hasta verisi kullanılarak Bhattacharya metoduyla referans aralıklar hesaplandı. Bhattacharya yönteminde ilk olarak elde edilen tüm veriler sınıf aralığı (h) 2.58 olmak üzere, sekiz eşit aralıklı olarak sınıflandırıldı. Her sınıfın orta noktası, frekansları, frekansların logaritması ve her sınıf değerine karşılık gelen delta değerleri Tablo 15'deki gibi bulundu.

Tablo 15. Bhattacharya yönteminin uygulama adımları tablosu

Alt sınır	Üst sınır	Orta nokta	Frekans	Log Frekans	Delta
19.15	21.73	20.645806	310	2.491361	0.334065
21.73	24.31	23.238475	669	2.825426	0.346884
24.31	26.89	25.737141	1487	3.17231	0.09533
26.89	29.47	28.208023	1852	3.26764	-0.021881
29.47	32.05	30.725843	1761	3.245759	-0.168392
32.05	34.63	33.225196	1195	3.077367	-0.253217
34.63	37.21	35.746056	667	2.824125	-0.295234
37.21	39.79	38.404822	338	2.528916	-2.528916

Her bir orta değer ile elde edilen delta değerleri için çizilen saçılım grafiği Şekil 6'da verilmiştir.



Şekil 6. Orta noktalar ile delta değerleri arasındaki saçılım diyagramı (Kırmızı renk: sağlıklı altgrup olduğu düşünülen doğru. Mavi renk: kırmızı doğrunun  $y=0$ 'daki  $x$  değerini veren ( $\lambda$ ) çizgi)

Saçılım grafiğindeki kesişen noktalardaki doğrusal ilişkiyi korelasyon katsayısını hesaplayarak bakıldı. Bhattacharya yöntemine göre burada istatistiki açıdan anlamlı olan doğrusal noktalar kümesi sağlıklı veri grubu olarak kabul edilir. 24.31-26.89; 26.89-29.47; 29.47-32.05; 32.05-34.63 alt gruplarındaki dağılım incelendiğinde doğrusal ilişkinin var olduğu görsel olarak görülmektedir. doğrusal noktalar kümesi, sağlıklı alt grup olarak kabul edilip edilmediğinin kontrolü için korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Sağlıklı olduğu düşünülen doğrusal noktalar kümesindeki orta noktalar ile delta değerleri arasındaki korelasyon katsayısı -0.9953 olarak bulunmuştur. Geriye kalan gruptaki orta noktalar ile delta değerleri arasındaki korelasyon katsayısı -0.8133 olarak bulunmuştur. Sağlıklı olarak kabul ettiğimiz alt grup için hesaplanan regresyon denklemi  $y=1,31952-0,04772x$  şeklindedir. Bulduğumuz doğrunun  $y$ -ekseninde 0'ı kestiği  $\lambda$  değeri ise 27.65 olarak bulundu.

Bulunan bu değerlerden yola çıkarak ortalama ve standart sapma değerleri Eşitlik 1 ve Eşitlik 2 yardımı ile hesaplandı.

$$\text{Mean}=\mu=\lambda+h/2=27.65+(2,58\sqrt{2})=28.94 \quad \text{Eşitlik 1}$$

$$\text{Varyans}=\sigma^2=-h/\text{eğim}-h^2/12=54.873056 \quad \text{Eşitlik 2}$$

$$\sigma=7,407635$$

Bhattacharya metoduna göre ortalama değer 28.94 ve standart sapma değerimiz 7.41 olarak bulundu. Formülde  $\text{mean} \pm 2\text{SD}$  yerine konularak  $(28.94 \pm 2 \times 7.41)$  referans aralık (14.12-43.76) olarak hesaplandı. Ancak gaussian forma döndürmek için verilere kare transformasyonu uygulandığından dolayı en son çıkan verilere ters transformasyon uygulamamız gerekir. Bu şekilde RBC için referans aralığımız (3.76-6.61) arasında bulundu.

WBC değerleri için ilk olarak 8692'si erkeğe 12993'ü kadına ait WBC değerlerinin dağılımı için K-S testi yapıldı. Erkekler için WBC değerleri normal dağılıma uyduğundan transformasyona uğratılmadı, kadın verileri için ise normal dağılıma uymadığından değerlerin kökü alınarak veri transformasyonu yapıldı. Daha sonra hastaların dixon testi ile uç değerleri atıldı. Geriye çalışmamızda kullanılmak üzere 8280'nı erkek 12377'si kadın hastanın verisi kaldı. Bundan sonraki adımlarda uç değer atılmış veriler kullanılarak yukarıda anlatılan erkek RBC parametresi gibi referans aralık hesaplama basamakları aynen uygulandı.

RBC değerleri için ilk olarak 12993'ü kadına ait RBC değerlerinin dağılımını belirlemek için K-S testi yapıldı. RBC değerleri normal dağılıma uymadığından kadın verileri için değerlerin karesi alınarak veri transformasyonu yapıldı. Daha sonra verilerden dixon testi ile uç değerler atıldı. Geriye çalışmamızda kullanılmak üzere 12375'i kadın hastanın verisi kaldı. Bundan sonraki adımlarda uç değer atılmış veriler kullanılarak yukarıda anlatılan erkek RBC parametresi gibi referans aralık hesaplama basamakları aynen uygulandı.

HGB değerleri için ilk olarak 8726'sı erkeğe, 12993'ü kadına ait HGB değerlerinin dağılımını belirlemek için K-S testi yapıldı. İki cinsiyetinde HGB değerleri normal dağılıma uymadığından erkek ve kadın verilerine kare transformasyonu uygulandı. Daha sonra verilerden dixon testi ile uç değerler atıldı.

Geriyeye alışmamızda kullanılmak üzere 8210'ı erkek, 12287'si kadın hastanın verisi kaldı. Bundan sonraki adımlarda uç değer atılmış veriler kullanılarak yukarıda anlatılan erkek RBC parametresi gibi referans aralık hesaplama basamakları aynen uygulandı.

PLT değerleri için ilk olarak 8726'sı erkeğe 12993'ü kadına ait PLT değerlerinin dağılımını belirlemek için K-S testi yapıldı. İki cinsiyetinde PLT değerleri normal dağılıma uymadığından erkek ve kadın verilerine kök transformasyonu uygulandı. Daha sonra verilerden dixon testi ile uç değerler atıldı. Geriyeye alışmamızda kullanılmak üzere 8322'si erkek, 12332'si kadın hastanın verisi kaldı. Bundan sonraki adımlarda uç değer atılmış veriler kullanılarak yukarıda anlatılan erkek RBC parametresi gibi referans aralık hesaplama basamakları aynen uygulandı.



## 4.BULGULAR

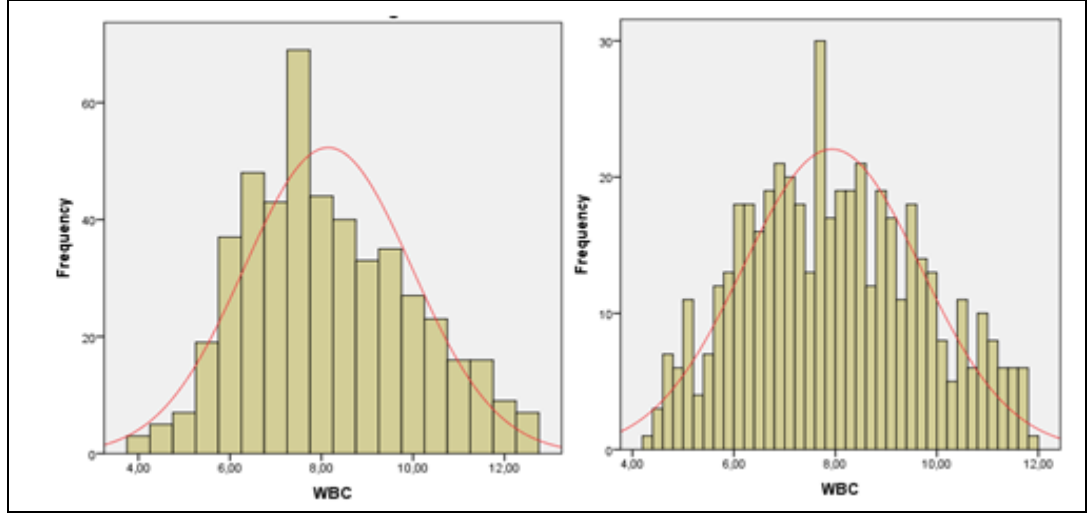
### 4.1. İNDİREKT NONPARAMETRİK YÖNTEMLE HESAPLANAN BULGULAR

İndirekt nonparametrik metodu için çalışma grubumuzu oluşturan örnek referans kitlesi yaş gruplarına ayrılmadan sadece cinsiyete göre gruplandırıldı. Aşırı uçlar atılmadan ve atıldıktan sonraki WBC, RBC, HGB, PLT verileri aşağıdaki Tablo 16’da gösterildi.

**Tablo 16.** Aşırı uçlar atılmadan ve atıldıktan sonraki WBC, RBC, HGB, PLT verileri

Test adı	Aşırı uçlar atılmamış veriler			Aşırı uçlar atılmış veriler		
	Kadın	Erkek	Toplam	Kadın	Erkek	Toplam
WBC	500	500	1000	484	481	965
RBC	500	500	1000	472	473	945
HGB	500	500	1000	473	470	943
PLT	500	500	1000	473	477	950
Toplam	2000	2000	4000	1902	1901	3803

Uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre WBC için çalışmamızın örnek referans kitlesi, 481’i erkek ve 484’ü kadın olmak üzere, toplam 965 kişiden oluştu. WBC parametresi için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği Şekil 7’de gösterildi.



A

B

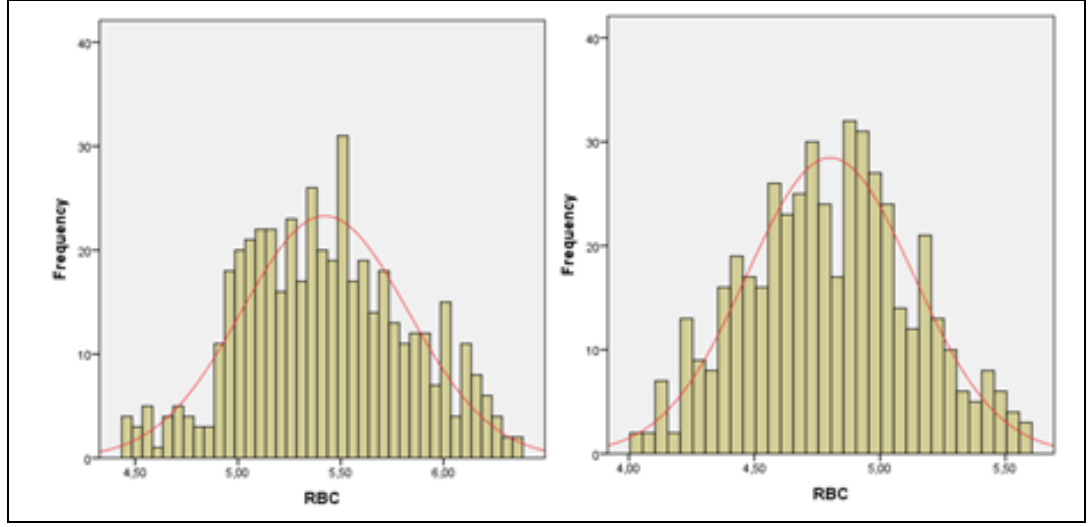
**Şekil 7.** WBC için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği

WBC parametresi için cinsiyetlere göre elde edilen referans aralıkları Tablo 17’de gösterildi.

**Tablo 17.** WBC için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean  $\pm$  SD değerleri

Cinsiyet	N	Mean $\pm$ SD	Referans aralık (%90 güven aralığı)	
			Alt limit	Üst limit
Erkek	481	8.14 $\pm$ 1.83	5 (4.6-5.3)	12.1 (11.6-12.3)
Kadın	484	7,93 $\pm$ 1,75	4,8 (4.6-5.0)	11.4 (11.2-11.6)

Uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre RBC için çalışmamızın örnek referans kitlesi, 473’ü erkek ve 484’ü kadın olmak üzere, toplam 957 kişiden oluştu. RBC parametresi için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği Şekil 8’de gösterildi.



A

B

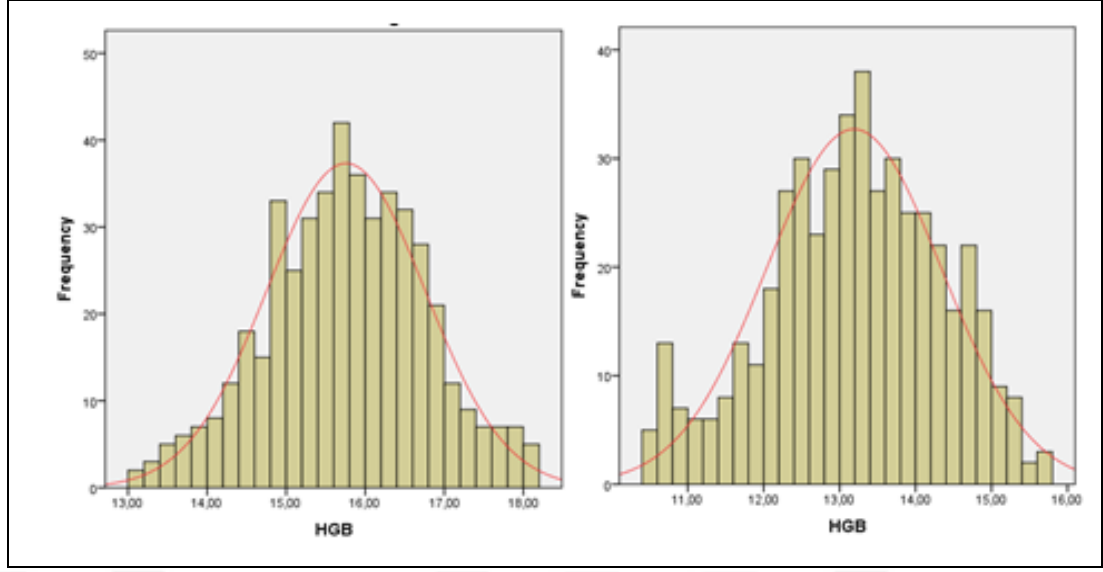
**Şekil 8.** RBC için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği

RBC parametresi için cinsiyetlere göre elde edilen referans aralıkları Tablo 18’de gösterildi.

**Tablo 18.** RBC için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean  $\pm$  SD değerleri

Cinsiyet	N	Mean $\pm$ SD	Referans aralık (%90 güven aralığı)	
			Alt limit	Üst limit
Erkek	473	5.42 $\pm$ 0.4	4.58 (4.53-4.69)	6.20 (6.15-6.25)
Kadın	484	4.80 $\pm$ 0.33	4.16 (4.12-4.23)	5.47 (5.41-5.51)

Uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre HGB için çalışmamızın örnek referans kitlesi, 470’ü erkek ve 473’ü kadın olmak üzere, toplam 943 kişiden oluştu. HGB parametresi için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği Şekil 9’da gösterildi.



A

B

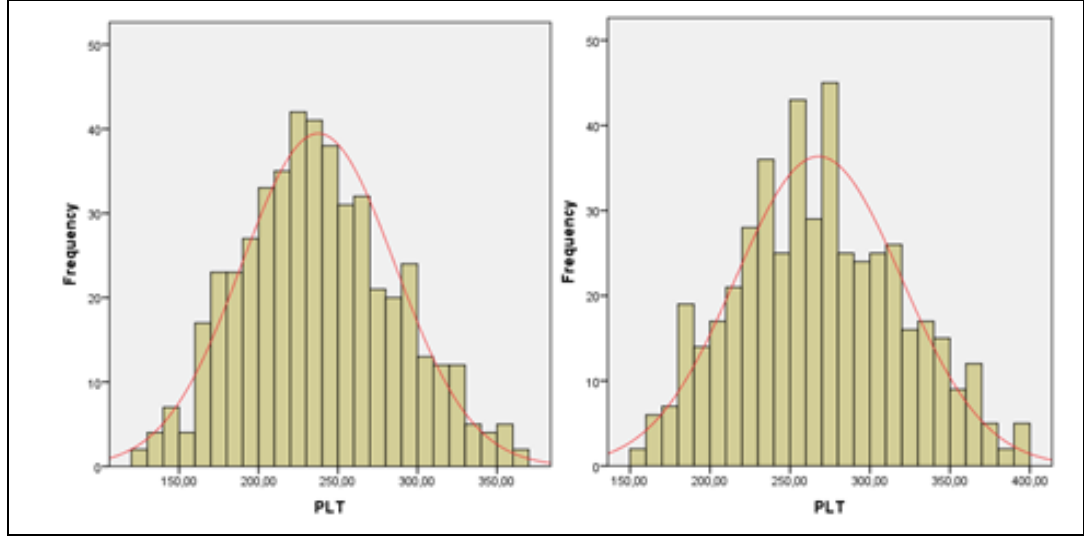
**Şekil 9.** HGB için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram dağılımı

HGB parametresi için cinsiyetlere göre elde edilen referans aralıkları Tablo 19’da gösterildi.

**Tablo 19.** HGB için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean  $\pm$  SD değerleri

Cinsiyet	N	Mean $\pm$ SD	Referans aralık(%90 güven aralığı)	
			Alt limit	Üst limit
Erkek	470	15.76 $\pm$ 1	13.65(13.41-13.86)	17.82(17.60-17.93)
Kadın	473	13.19 $\pm$ 1.15	10.64(10.60-10.87)	15.21(15.11-15.30)

Uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre PLT için çalışmamızın örnek referans kitlesi, 477’ü erkek ve 473’ü kadın olmak üzere, toplam 950 kişiden oluştu. PLT parametresi için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği Şekil 10’da gösterildi.



A

B

**Şekil 10.** PLT için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği

PLT parametresi için cinsiyetlere göre elde edilen referans aralıkları Tablo 20'de gösterildi.

**Tablo 20.** PLT için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean  $\pm$  SD değerleri

Cinsiyet	N	Mean $\pm$ SD	Referans aralık (%90 güven aralığı)	
			Alt limit	Üst limit
Erkek	477	238 $\pm$ 48.23	148(140-161)	339(328-350)
Kadın	473	268 $\pm$ 51.89	172(166-182)	374(363-380)

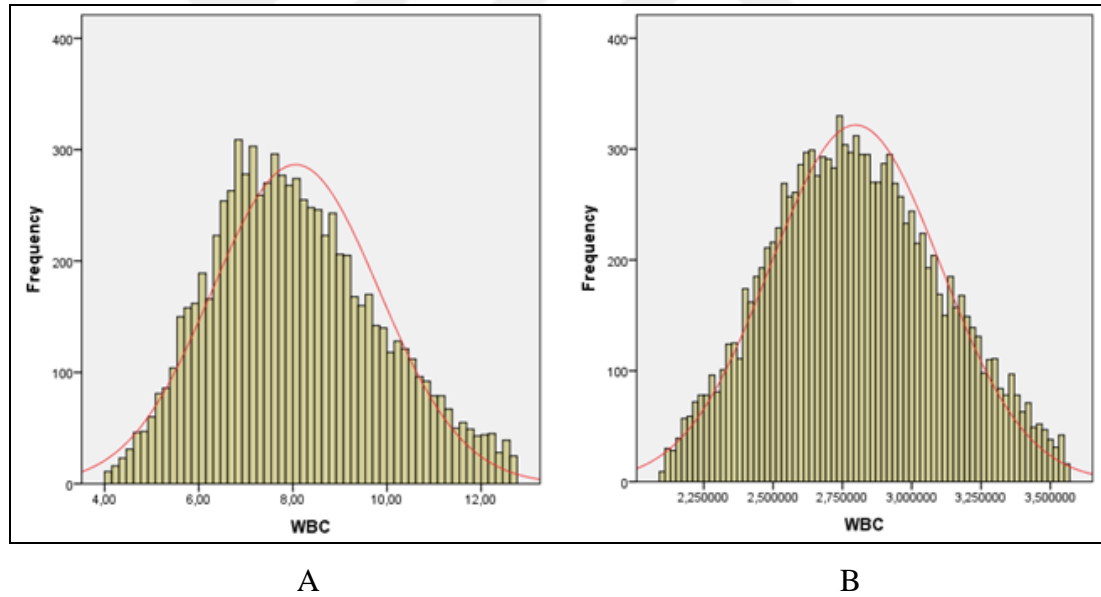
#### 4.2. BHATTACHARYA METOLDUYLA HESAPLANAN BULGULAR

Bhattacharya metodu için çalışma grubumuzu oluşturan örnek referans kitlesi yaş gruplarına ayrılmadan sadece cinsiyete göre gruplandırıldı. Aşırı uçlar atılmadan ve atıldıktan sonraki WBC, RBC, HGB, PLT verileri aşağıdaki Tablo 21'de gösterildi.

**Tablo 21.** Aşırı uçlar atılmadan ve atıldıktan sonraki WBC, RBC, HGB, PLT verileri

Test adı	Aşırı uçlar atılmamış veriler			Aşırı uçlar atılmış veriler		
	Kadın	Erkek	Toplam	Kadın	Erkek	Toplam
WBC	12993	8692	21685	12377	8280	20657
RBC	12993	8726	21719	12375	8279	20654
HGB	12993	8726	21719	12287	8210	20497
PLT	12993	8726	21719	12332	8322	20654
Toplam	51972	34960	86832	49371	33091	82462

Uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre WBC için çalışmamızın örnek referans kitlesi, 8280'ı erkek ve 12377'si kadın olmak üzere, toplam 20657 kişiden oluştu. WBC parametresi için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği Şekil 11'de gösterildi.



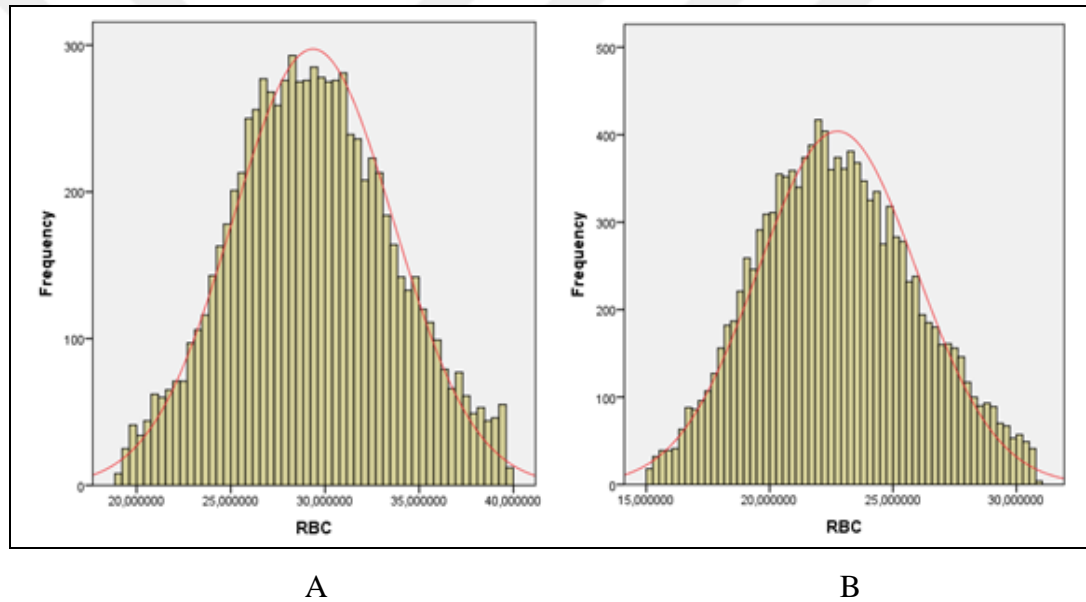
**Şekil 11.** WBC için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği

WBC parametresi için cinsiyetlere göre elde edilen referans aralıkları Tablo 22'de gösterildi.

**Tablo 22.** WBC için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean  $\pm$  SD değerleri

Cinsiyet	N	Mean $\pm$ SD	Referans aralık	
			Alt limit	Üst limit
Erkek	8277	7.523 $\pm$ 2.158	3.21	11.84
Kadın	12377	2.76 $\pm$ 0.46	3.41	13.5

Uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre RBC için çalışmamızın örnek referans kitlesi, 8279'u erkek ve 12374'ü kadın olmak üzere, toplam 20654 kişiden oluştu. RBC parametresi için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği Şekil 12'de gösterildi.



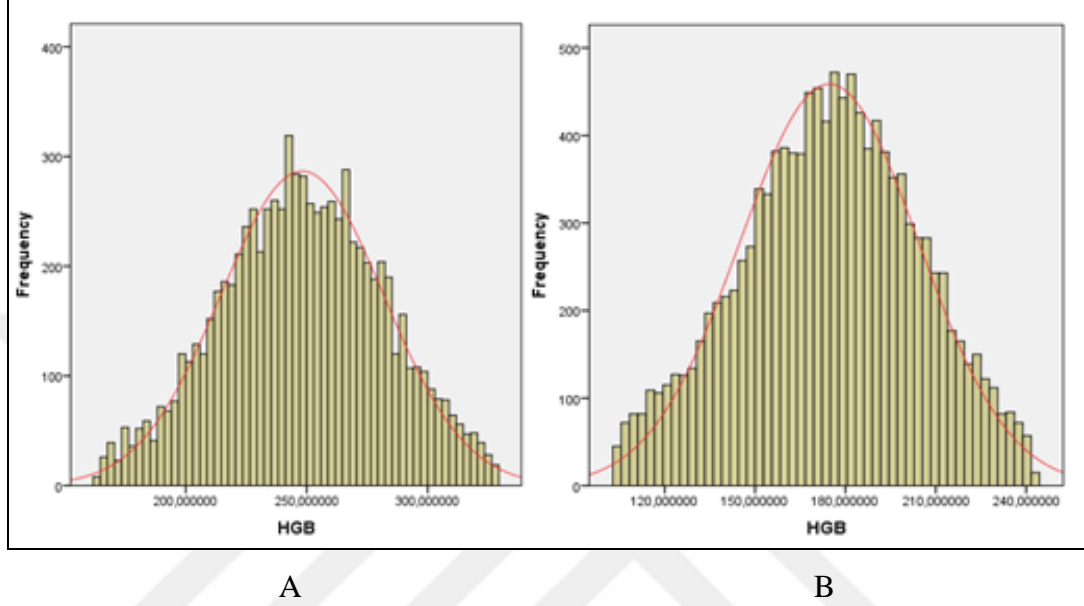
**Şekil 12.** RBC için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği

RBC parametresi için cinsiyetlere göre elde edilen referans aralıkları Tablo 23'te gösterildi.

**Tablo 23.** RBC için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean  $\pm$  SD değerleri

Cinsiyet	N	Mean $\pm$ SD	Referans aralık	
			Alt limit	Üst limit
Erkek	8279	28.94 $\pm$ 7.41	3.76	6.61
Kadın	12374	22.28 $\pm$ 5.8	3.42	5.73

Uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre HGB için çalışmamızın örnek referans kitlesi, 8210'u erkek ve 12284'ü kadın olmak üzere, toplam 20497 kişiden oluştu. HGB parametresi için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği Şekil 13'de gösterildi.



Şekil 13. HGB için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği

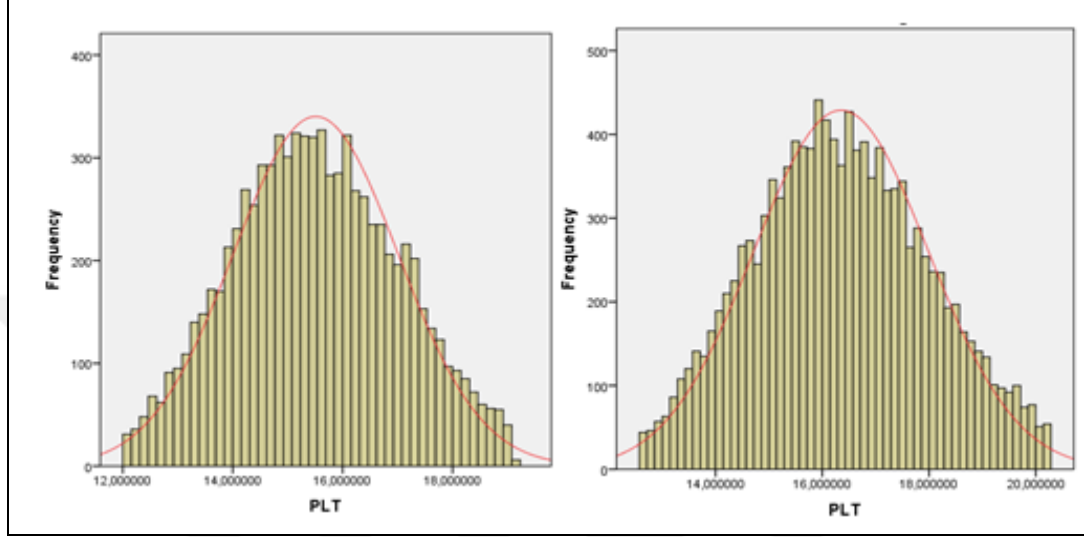
HGB parametresi için cinsiyetlere göre elde edilen referans aralıkları Tablo 24'te gösterildi.

Tablo 24. HGB için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean  $\pm$  SD değerleri

Cinsiyet	N	Mean $\pm$ SD	Referans aralık	
			Alt limit	Üst limit
Erkek	8210	244.81 $\pm$ 49.25	12.09	18.52
Kadın	12284	176.92 $\pm$ 43.02	9.53	16.22



Uç değerlerin atılmasından sonra elde edilen verilere göre PLT için çalışmamızın örnek referans kitlesi, 8322'si erkek ve 12332'si kadın olmak üzere, toplam 20654 kişiden oluştu. PLT parametresi için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği Şekil 14'de gösterildi.



A

B

**Şekil 14.** PLT için cinsiyetlere (A: Erkek, B: Kadın) göre histogram grafiği

PLT parametresi için cinsiyetlere göre elde edilen referans aralıkları Tablo 25'te gösterildi.

**Tablo 25.** PLT için cinsiyete göre referans ve güven aralığı, Mean  $\pm$  SD değerleri

Cinsiyet	N	Mean $\pm$ SD	Referans aralık	
			Alt limit	Üst limit
Erkek	8322	15.38 $\pm$ 2.23	119.32	393.78
Kadın	12332	16.13 $\pm$ 2.49	124.29	445.95

WBC, RBC, HGB, PLT parametreleri için indirekt nonparametrik yöntem ve Bhattacharya metodu ile bulunan ve firmanın önerdiği referans aralıkları Tablo 26’da gösterildi (74).

**Tablo 26.** İndirekt nonparametrik yöntem, Bhattacharya metodu ve firmanın referans aralıkları

Referans Aralıklar							
		İndirekt nonparametrik yöntem		Bhattacharya metodu		Firma	
Parametreler	Cinsiyet	Alt limit	Üst limit	Alt limit	Üst limit	Altlimit	Üst limit
WBC( $10^3/\mu\text{L}$ )	Erkek	5	12.1	3.21	11.84	4.3	10.3
	Kadın	4.8	11.4	3.41	13.5		
RBC( $10^6/\mu\text{L}$ )	Erkek	4.58	6.2	3.76	6.61	4.04	6.13
	Kadın	4.16	5.47	3.42	5.73		
HGB(g/dL)	Erkek	13.65	17.82	12.09	18.52	12.2	18.1
	Kadın	10.64	15.21	9.53	16.22		
PLT( $10^3/\mu\text{L}$ )	Erkek	148	339	119	394	142	424
	Kadın	172	374	124	445		

WBC, RBC, HGB, PLT parametreleri için indirekt nonparametrik yöntemle Çaycı ve ark. (78) ve Bhattacharya metoduyla Naus ve ark.(79) ve parametrik yöntemle Özarda ve ark.(80)’nin referans aralıkları Tablo 27’de gösterilmiştir.

**Tablo 27.** Çaycı ve ark.(78)'i, Naus ve ark.(79)'i, Özarda ve ark.(80)'nin referans aralıkları

Referans Aralıklar							
Parametreler	Cinsiyet	Çaycı ve ark.		Naus ve ark.		Özarda ve ark.	
		Alt limit	Üst limit	Alt limit	Üst limit	Alt limit	Üst limit
WBC( $10^3/\mu\text{L}$ )	Erkek	3.9	9.1	3.8	12.3	4.39	11.59
	Kadın	3.7	9.1	3.8	12.3	4.39	11.59
RBC( $10^6/\mu\text{L}$ )	Erkek	4.4	5.74	4.1	6	4.43	6.07
	Kadın	3.92	5.14	3.7	5.4	3.96	5.31
HGB(g/dL)	Erkek	12.9	16.6	13.69	18.05	13.1	17.5
	Kadın	11.3	14.7	11.92	16.27	11	15.2
PLT( $10^3/\mu\text{L}$ )	Erkek	157	363	130	320	152	383
	Kadın	173	401	130	320	152	383

## 5.TARTIŞMA

İndirekt referans aralık belirlemede referans bireyler seçim yapılmadan HBYS üzerinden olduğu gibi alınmaktadır. Çünkü referans birey seçiminin standartları henüz herhangi bir kılavuzda belirtilmemiştir. Birçok çalışmanın direkt metotla karşılaştırmalı yapılan sonuçları, referans aralıklarının indirekt metot ile de hesaplanabileceğini göstermektedir(10, 15, 22, 28, 75, 76). İndirekt metot Direkt metotdan çok daha kolay ve masrafsızdır. Bu gerekçelerden dolayı indirekt metotla her laboratuvar kullanabileceği kendi referans aralıklarını belirleyebilir. Üretici firmalara reaktif kitleriyle birlikte referans aralık hesaplamaları zorunlu kılınmıştır (77). Bu zorunluluk bazı sıkıntıları içermektedir. Çünkü firmalar ürünlerini dünyanın farklı kıtalarına ve ülkelerine pazarlamaktadırlar. Normal şartlarda referans aralıklar belirlenirken referans topluluğun etnik, genetik ve çevresel farklılıkları göz önünde bulundurarak, referans aralığı değiştiren her değişken için ayrı ayrı hesaplanmalıdır. Malesef üretici firmalar her ülke, ırk veya laboratuvar için ayrı ayrı referans aralık belirlememektedirler. Bugünün şartlarında laboratuvarların çoğu firma tarafından önerilen referans değerleri ya direkt alıp kullanmakta ya da doğrulamasını yaparak kendi laboratuvarlarına transfer etmektedirler. Ancak bu işlemler laboratuvarın kurulum aşamasında ya da cihazın kurulum aşamasında belirli bir müddet uygulanmalıdır. Daha sonra biriken verileri kullanarak referans değerler elde edilmeli ve bulunan bu referans aralık değerleri, ilk başta önerilen firma referans değerleriyle örtüştüğünü göstermek gerekmektedir (12).

Biz bu çalışmada Bhattacharya ve indirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz referans aralıklarını üretici firma referans aralıklarıyla karşılaştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda 18-65 yaş aralığında cinsiyetlere göre indirekt nonparametrik yöntemle WBC referans aralıklarına ait değerler erkekler için 5-12.1 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 4.8-11.4 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. Bhattacharya metoduyla WBC referans aralıklarına ait değerler erkekler için 3.21-11.84 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 3.41-13.5 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. Firmanın referans aralıklarına (4.3-10.3) ( $10^3/\mu\text{L}$ ) göre indirekt nonparametrik yöntemle bulunan referans aralıklar erkekler için alt sınır biraz yüksek ve üst sınır biraz daha yüksek bulunmuştur. Kadınlar için alt ve üst

sınır biraz yüksek olarak bulunmuştur. Firmanın referans aralıklarına göre bhattacharya metoduyla bulunan referans aralıklar erkekler için alt sınır biraz düşük üst sınır biraz yüksek bulunmuştur. Erkekler için firmanın referans aralığından daha geniş bir aralık elde edilmiştir. Bhattacharya metoduyla bulunan referans aralık kadınlar için firmanın aralıklarına göre alt sınır biraz düşük üst sınır bir miktar yüksek bulunurken kadınlar için firmanın referans aralığından daha geniş bir aralık elde edilmiştir. Çaycı ve ark.(78)'ı Hastane bilgi sistemindeki kayıtlı hasta sonuçlarından indirekt nonparametrik yöntemle tam kan referans aralıklarını belirlemiştir. Çalışma için hastane veri tabanından 13-65 yaş aralığında 9106'sı erkeğe, 12730'u kadına ait test sonuçlarını incelemiştir. WBC parametresi için Erkekler için referans aralığını 3.9-9.1 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), kadınlara ait referans aralığını ise 3.7-9.1 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. Bizim indirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz referans aralığına ait alt ve üst sınırlarımız Çaycı ve ark. (78)'ı iki cinsiyet içinde bulduğu alt ve üst sınır değerlerinin, özellikle de üst sınır değerinin biraz üstünde çıkmıştır. Naus ve ark. (79)'ı tarafından Bhattacharya metoduyla hastane verilerinden bulunmuş oldukları WBC değerleri her iki cinsiyet içinde 3.8-12.3 ( $10^3/\mu\text{L}$ )'dür. Bizim Bhattacharya metoduyla bulduğumuz referans aralığına ait alt sınırlarımız Naus ve ark. (79)'nın bulduğu değerlerden erkekler için alt ve üst sınırlarımız biraz düşük bulunurken, kadınlar için alt sınırlarımız biraz düşük, üst sınırlarımız biraz yüksek bulunmuştur. Kadınlar için Naus ve ark. (79)'nın bulduğu referans aralıktan daha geniş bir referans aralık elde edilmiştir. Özarda ve ark. (80) tarafından referans değerlerdeki değişim kaynakları dikkate alınarak Türk popülasyonundan hematolojik parametrelerin iyi tanımlanmış referans aralıklarının oluşturulması için ülke çapında çok merkezli bir çalışma yapılmıştır. Çalışma parametrik yöntemle olduğundan dışlama kriterlerini uygulamışlar. Çalışmanın sonunda Özarda ve ark. (80)'ı WBC değerlerini her iki cinsiyet için de referans aralığı 4.39-11.59 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak belirlemiştir. İndirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz değerlerle karşılaştırıldığımızda erkekler için alt ve üst limitlerimiz biraz yüksek bulunmuştur. Kadınlar için alt limitimiz biraz yüksek üst limit ise düşük bulunmuştur. Özarda ve ark. (80)'nın bulduğu aralığa göre daha dar bir aralık elde edilmiştir. Bhattacharya metoduyla bulduğumuz değerlerle karşılaştırdığımız da

WBC değerlerimiz erkekler için alt limit düşük üst limit değerlerimiz yüksek bulunurken kadınlar için alt limit biraz düşük üst limit ise yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda cinsiyetlere göre indirekt nonparametrik yöntemle RBC referans aralıklarına ait değerler erkekler için 4.58-6.2 ( $10^6/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 4.16-5.47 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. Bhattacharya metoduyla RBC referans aralıklarına ait değerler erkekler için 3.76-6.61 ( $10^6/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 3,42-5,73 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. Firmanın referans aralıklarına (4.04-6.13) göre indirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz değerler her iki cinsiyet içinde alt sınır ve üst sınır biraz yüksek bulunmuştur. Firmanın referans aralıklarına göre bhattacharya metoduyla bulunan referans aralık, erkekler için alt sınır biraz düşük ve üst sınır biraz yüksek bulunmuştur. Daha geniş bir referans aralık elde edilmiştir. Bhattacharya metoduyla bulunan referans aralık kadınlar için firmanın aralıklarına göre alt ve üst sınır biraz düşük olarak bulunmuştur. Çaycı ve ark.(78)'ı RBC parametresi için erkeklere ait referans aralığını 4.40-5.74 ( $10^6/\mu\text{L}$ ), kadınlara ait referans aralığını ise 3.92-5.14 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) olarak belirlemiştir. Bizim indirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz referans aralığı ait alt ve üst sınırlarımız Çaycı ve ark. (78)'ı iki cinsiyet içinde bulduğu alt ve üst sınır değerlerinin biraz üstünde çıkmıştır. Naus ve ark. (79)'ı tarafından Bhattacharya metoduyla bulunan RBC değerleri erkekler için 4.1-6.0 ( $10^6/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 3.7- 5.4 ( $10^6/\mu\text{L}$ )'dir. Bizim Bhattacharya metoduyla bulduğumuz referans aralığı ait alt sınırlarımız Naus ve ark. (79)'nın bulduğu değerden alt sınırlarımız biraz düşük ve üst sınırlarımız biraz yüksek bulunmuştur. Her iki cinsiyet içinde Naus ve ark. (79)'nın bulduğu referans aralıktan daha geniş bir referans aralık elde edilmiştir. Özarda ve ark. (80) parametrik yöntemle RBC değerlerini erkekler için 4.43-6.07 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) kadınlar için 3.96-5.31 ( $10^6/\mu\text{L}$ ) olarak belirlemiştir. İndirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz değerlerle karşılaştırıldığımızda erkekler için alt limit biraz yüksek ve üst limit değeri çok yakın bulunmuştur. Kadınlar için hem alt hem üst limit değerlerimiz biraz düşük bulunmuştur. Bhattacharya metoduyla bulduğumuz değerlerle karşılaştırdığımız da RBC değerlerimiz erkekler için alt limit biraz düşük üst limit değerleri biraz yüksek bulunmuştur. Kadınlar için alt limit düşük üst limit ise yüksek bulunmuştur. Özarda ve ark. (80)'nın bulduğu aralığı göre iki cinsiyet için de daha geniş bir aralık elde edilmiştir.

Çalışmamızda cinsiyetlere göre indirekt nonparametrik yöntemle HGB referans aralıklarına ait değerler erkekler için 13.65-17.82 (g/dL), kadınlar için 10.64-15.21 (g/dL) olarak bulunmuştur. Bhattacharya metoduyla HGB referans aralıklarına ait değerler erkekler için 12.09-18.52 (g/dL), kadınlar için 9.53-16.22 (g/dL) olarak bulunmuştur. Firmanın referans aralıklarına (12.2-18.1) göre indirekt nonparametrik yöntemle bulunan referans aralıklar erkekler için alt sınır biraz yüksek ve üst sınır biraz düşük bulunmuştur. Firmanın referans aralığından daha dar bir aralık elde edilmiştir. Kadınlar için alt ve üst sınır biraz düşük bulunmuştur. Firmanın referans aralıklarına göre bhattacharya metoduyla bulunan referans aralık erkekler için alt sınır neredeyse aynıken ve üst sınır biraz yüksek bulunmuştur. Daha geniş referans aralık elde edilmiştir. Bhattacharya metoduyla bulunan referans aralık kadınlar için firmanın aralıklarına göre alt ve üst sınır bir miktar düşük bulunmuştur. Çaycı ve ark. (78)'ı HGB parametresi için erkeklere ait referans aralığını 12.9-16.6 (g/dL), kadınlara ait referans aralığını ise 11.3-14.7 (g/dL) olarak belirlemiştir. Bizim indirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz referans aralığına ait alt ve üst sınırlarımız Çaycı ve ark. (78)'nin bulduğu değerlerden erkekler için hem alt hem üst sınırlarımız biraz yüksek, kadınlar için alt sınır biraz düşük üst sınırlarımız yüksek bulunmuştur. Naus ve ark. (79)'ı tarafından Bhattacharya metoduyla bulunan HGB değerleri erkekler için 13.69-18.05 (g/dL), kadınlar için 11.92-16.27 (g/dL)'dir. Bizim Bhattacharya metoduyla bulduğumuz referans aralığına ait sınırlarımız Naus ve ark. (79)'nin bulduğu değerlerden erkekler için alt sınırlarımız biraz düşük ve üst sınırlarımız biraz yüksek bulunurken, kadınlar için alt sınırlarımız bir miktar düşük, üst sınırlarımız neredeyse aynı olarak bulunmuştur. Her iki cinsiyet içinde Naus ve ark. (79)'nin bulduğu referans aralıktan daha geniş bir referans aralık elde edilmiştir. Özarda ve ark. (80) parametrik yöntemle HGB değerlerini erkekler için 13.1-17.5 (g/dL), kadınlar için 11-15.2 (g/dL) olarak belirlemiştir. Hafif anemi gibi gizli anormal değerleri dışlamak için LAVE metodunu da uygulamışlar. Bu sayede LAVE metodu uygulanmadan bulunan erkek HGB değerinin alt limiti 12.6 (g/dL), LAVE metodu uygulandığında ise 13.1 (g/dL) olarak hesaplamışlar. Erkeklerde latent aneminin azalması kayda değer bir şekilde gözlemlenmiştir. İndirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz değerlerle karşılaştırıldığımızda erkekler için hem alt limit

hem de üst limit yüksek bulunmuştur. Kadınlar için hem alt limit biraz düşük üst limit ise çok yakın bulunmuştur. Bhattacharya metoduyla bulduğumuz değerlerle karşılaştırdığımız da HGB değerlerimiz erkekler için alt limit düşük üst limit ise yüksek bulunmuştur. Kadınlar için alt limit düşük üst limit yüksek bulunmuştur. Özarda ve ark. (80)'nın bulunduğu aralığa göre iki cinsiyet için de daha geniş bir aralık elde edilmiştir.

Çalışmamızda cinsiyetlere göre indirekt nonparametrik yöntemle PLT referans aralıklarına ait değerler erkekler için 148-339 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 172-374 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. Bhattacharya metoduyla PLT referans aralıklarına ait değerler erkekler için 119-394 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), kadınlar için 124-445 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak bulunmuştur. Firmanın referans aralıklarına (142-424) göre indirekt nonparametrik yöntemle bulunan referans aralıklar erkekler için alt sınır biraz yüksek ve üst sınır bir miktar düşük bulunmuştur. Erkekler için firmanın referans aralığından daha dar bir aralık elde edilmiştir. Kadınlar için alt sınır biraz yüksek ve üst sınır biraz düşüktü bulunmuştur. Kadınlar için firmanın referans aralığından daha dar bir aralık elde edilmiştir. Firmanın referans aralıklarına göre bhattacharya metoduyla bulunan referans aralıklar erkekler için alt ve üst sınır biraz düşük bulunmuştur. Bhattacharya metoduyla bulunan referans aralık kadınlar için firmanın aralıklarına göre alt sınır biraz düşük, üst sınır biraz yüksek bulunmuştur. Kadınlar için firmanın referans aralığından daha geniş bir aralık elde edilmiştir. Çaycı ve ark.(78)'ı PLT parametresi için Erkekler için referans aralığını 157-363 ( $10^3/\mu\text{L}$ ), kadınlara ait referans aralığını ise 173-401 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak belirlemiştir. Bizim indirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz referans aralığına ait alt ve üst sınırlarımız Çaycı ve ark. (78)'nin bulunduğu değerlerden erkekler için hem alt hem üst sınırlarımız biraz düşük, kadınlar için alt sınır neredeyse aynı, üst sınırlarımız biraz düşük bulunmuştur. Naus ve ark. (79)'ı tarafından Bhattacharya metoduyla bulunan PLT değerlerini her iki cinsiyet içinde 130-320 ( $10^3/\mu\text{L}$ )'dir(79). Bizim Bhattacharya metoduyla bulduğumuz referans aralığına ait sınırlarımız Naus ve ark. (79)'nin bulunduğu değerlerden erkekler için alt sınırlarımız neredeyse aynı ve üst sınırlarımız biraz yüksek bulunurken, kadınlar için alt sınırlarımız



çok daha yakinken, üst sınırimız bir miktar yüksek olarak bulunmuştur. Her iki cinsiyet içinde Naus ve ark. (79)'nın bulduğu referans aralıktan daha geniş bir referans aralık elde edilmiştir. Özarda ve ark. (80) parametrik yöntemle PLT değerlerini hem erkek hem de kadınlar için 152-383 ( $10^3/\mu\text{L}$ ) olarak hesaplamıştır. İndirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz değerlerle karşılaştırıldığımızda erkekler için alt limit değeri çok yakın üst limit düşük bulunmuştur. Erkekler için bulunan referans aralık Özarda ve ark. (80)'nın bulduğu referans aralıktan daha dar olarak bulunmuştur. Kadınlar için alt limit biraz yüksek üst limit ise biraz düşük bulunmuştur. Bulunan değerler Özarda ve ark.(80)'nın referans aralığından daha dar olarak bulunmuştur. Bhattacharya metoduyla bulduğumuz değerlerle karşılaştırdığımız da PLT değerlerimiz erkekler için alt limit düşük üst limit yüksek bulunmuştur. Kadınlar için alt limit düşük üst limit yüksek bulunmuştur. Özarda ve ark. (80)'nın referans aralığından daha geniş bir aralık elde edilmiştir.

Bilindiği gibi referans aralıkların çok geniş olması çalışılan testin tanı gücünün azalmasına sebep olur. Latent anemi gibi hastalıklar referans aralığın alt limitinin hemen altında ya da üstünde bulunabilir. Eğer referans aralığı normalden geniş tutarsak hafif anemi gibi hastalıkları referans içerisinde değerlendirebilir ve hastalığı tespit etmede başarısız sonuç alınır. Eğer referans aralık normalden dar tutulursa bu sefer de normalde alt limit değerine yakın ama sağlıklı olan kişiler referans aralığı dışında gibi değerlendirilip yanlış tanı alabilir. Mümlünse her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi ve bu referans aralıklarla latent hastalıklarda dahil tüm hastalıkların tanısını koymaya yardımcı olması gerekmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, hastane verileri kullanılarak Adıyaman için hemogram referans aralıkları hesaplandı. Hastane laboratuvarımızda tam kan analizleri için kullanılacak dört hematolojik parametreyi indirekt yöntemle (Bhattacharya Metoduyla ve indirekt nonparametrik yöntemle) hesaplayarak referans değerlerini belirlemeyi ve hastanemizde kullanmayı amaçladık. Bunun için hastane laboratuvar bilgi sistemini (LİS) kullanarak Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 1 Ocak 2015-31 Aralık 2016 tarihleri arasında biyokimya laboratuvarında çalışılan ve 18-65 yaş aralığındaki ayaktan polikliniklere başvuran kişilerden elde edilmiş test sonuçları kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen hastalardan referans değerler elde ettik ve bu değerleri çeşitli makaleler ve firmanın referans değerleriyle karşılaştırmamız neticesinde aşağıda belirtilen sonuç ve önerileri oluşturduk.

1. Çalışmamızda hem Bhattacharya metodu hem de indirekt nonparametrik yöntemle elde ettiğimiz değerler şuan kullandığımız üretici firma değerleri ile karşılaştırıldığında genel olarak benzer sonuçlar çıksa da bazı farklılıklar görüldü. Bu farklılıklar oluşturulan referans kitlesinin coğrafi bölge, ırk, yaş ve beslenme alışkanlıklarından kaynaklanabileceği gibi, popülasyon için oluşturulan kişi sayısı veya kullanılan referans değer hesaplama yönteminden kaynaklanmış olabilir.
2. Bizim çalışmamızda her iki yöntemle de çıkan sonuçlar firmayla karşılaştırıldığında, indirekt nonparametrik yöntemle bulduğumuz değerler, Bhattacharya metoduyla bulduğumuz değerlere göre firmanın değerlerine daha yakın çıkmıştır.
3. Bhattacharya metodu indirekt bir metot olduğundan referans birey verileri HBYS'den olduğu gibi alınmaktadır. Bu şekilde referans birey seçiminin standartları henüz herhangi bir kılavuzda belirtilmemiştir. Bhattacharya metoduyla referans aralık belirlerken veriler HBYS'den olduğu gibi alındı. Verilerin normal dağılıma dağılıma uyması için transforme edildi. Uç değerler atıldıktan sonra referans aralık hesaplandı. Ancak WBC için referans değerleri hesaplandığında geniş bir referans aralık ve yüksek üst limit elde edilmiştir (4.07-18.62). Bu durumda Bhattacharya metodunun istediği gaussian dağılım ve yatıklık-basıklık değerlerine veri transformasyonu yapmadan ulaşmak için dahil etme kriterlerimizi yeniden gözden

geçirdik. Aşırı büyük (64) ve aşırı küçük (0,9) değerlere sahip hasta verilerini çalışma dışı bıraktık. Daha sonra veriler normal dağıldığından veri transformasyonu yapmadan uç değerleri atarak Bhattacharya metoduyla referans aralıklar hesaplandı. Bu şekilde indirekt nonparametrik metodla bulduğumuz referans aralıklara benzer değerler bulundu. Bu konuda daha çok çalışma yapılarak çıkan sonuçlardan bir konsensus sayesinde indirekt referans aralık belirlenirken direkt yöntemle olduğu gibi ön eleme kriterlerinin belirlenmesi daha uygun olacağı kanaatindeyiz.

**4.** Şu anda neredeyse ülkemizin her hastanesinde HBYS sayesinde hasta verilerine ulaşıp indirekt yöntemlerle referans aralıklar belirlenebilir ve genelde hastanelerde kullanılan firma değerleri kullanımı yerine kendi toplumumuzun değerlerini kullanmak daha doğru olacaktır.

**5.** Ülkemizde yürütülen bazı biyokimyasal parametreler için yapılan ulusal referans aralık çalışması gibi hemogram parametreleri içinde ulusal veya bölgesel çalışmalar yapmak referans değerlerin rutin kullanıma girmesine olanak sağlayacaktır. Bunun içinde her bölgenin kendi referans aralıklarını belirlemesi gerekir.

## 7.KAYNAKLAR

1. Solberg HE. Establishment and Use of Reference Values. Ed: Burtis CA, Ashwood ER, Tietz Textbook Of Clinical Chemistry. 3th Edition, pp. 336-356, Philadelphia: Saunders, 1999.
2. 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* 1987; 25: 645-656.
3. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. CLSI document C28-A3, Wayne. Pennsylvania, USA, 3rd ed., 2008.).
4. Wu X, Zhao M, Pan B, Zhang J, Peng M, Wang L, et al. (2015) Complete Blood Count Reference Intervals for Healthy Han Chinese Adults. *PLoS ONE* 10(3): e0119669. doi:10.1371/journal.pone.0119669).
5. 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* 1987; 25:337-342
6. Cong YL, Jin DM, Wang HL, Okada T, Peng ZH. Establishing the reference range of venous blood measured by automated haematology analyzer in Chinese adults. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2003; 83: 1201–1205. PMID: 12930630
7. Ge M, Zhang Y, He J, Yan Y, Wang X, Cao L, et al. Normal red blood cell count reference values in Chinese premenopausal women given by geographical area. *J Formos Med Assoc*. 2010; 109: 656–662. doi:10.1016/S0929-6646(10)60106-4 PMID: 20863993
8. CLSI. Defining establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline third edition. CLSI document C28-A3c. Horowitz GL: Clinical and Laboratory Standards Institute;2010.
9. Jones G, Barker A. Reference intervals. *Clin Biochem Rev*. 2008;29:S93-7. Medline:18852866.

10. Ferre-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Puchal-AneR. Indirect reference limits estimated from patients' results by thre mathematical procedures. ClinChim Acta1999; 279: 97-105.)
11. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 5nd Edition, pp. 425-446:1118-1141, Elsevier Saunders Company, New York, USA, 2006.
12. Laleli Y. Referans kavramı ulusal referans politikası ve hasta verilerinin kullanımı. Türk Biyokimya Dergisi 2003; 2884:225-227.
13. Balcı Y. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 2006:1-57
14. Aslan D. Referans Aralıkların Hesaplanması. In: Gezer S, Güner G,Tuncel P. Klinik Laboratuvarlarda Yöntem Seçimi Değerlendirilmesi ve Laboratuvara Uygulanması. Kurs Kitabı. İzmir; 2000: 80-119
15. Laleli Y, Akbay A. Referans Aralık Analizi. In: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay Fz. Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi. Ankara; 2000:124-137
16. Arpacı A. Referans Aralık Analizi. In: Aksoy K, Tuli A, İnal TC ve ark. Klinik Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Güvencesi Eğitim Ve Uygulama Toplantısı-III. Adana,2000:108-115 )
17. Schütz, W. Lab. Med 1984; 8:212-219.
18. Horowitz G. Establishment and use of Reference Values. In: Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, David E. Bruns (eds). Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 5nd ed. New York, Elsevier Science 2012:95-118.
19. International Federation of Clinical chemistry and International Committee for Standardization in hematology: Approved Recommendation (1986) on the theory of reference values. Part I. The concept of reference values. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1987; 25: 337-342.
20. White, J.D. Clin. Chem. Akta. 1978; 84: 353-360.
21. Solberg, H.E. Grasberck, R., Reference values.Adv. Clin. Chem.1989; 27: 1-79.
22. Solberg, H.E. Using a hospitalized population to establish reference intervals: Pros and Cons. Clin. Chem. 1994; 40: 2205-206.

- 23.** Toprakçı M. Hastane Laboratuvar Test Verileri Kullanılarak Klinik Testlerin Referans Aralıklarının Saptanması. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2000.
- 24.** Kutay FZ. Laboratuvar Verilerinin İstatistiksel Değerlendirmesi. Ed: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ, Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi Kitabı. pp. 53-70, 2004.
- 25.** Grasbeck R, Alstrom T. Reference Values in Laboratory Medicine: The Current State of the Art. John Wiley&SonsLtd, England, 1981.
- 26.** Enli Y. Denizli'de Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle Referans Aralıklarının Saptanması. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Denizli, 2001
- 27.** Kalafat H, Klinik Biyokimya Testlerinin Mersin İli'ndeki Referans Aralıklarının İndirekt Yöntemle Belirlenmesi [Tez], Mersin; Mersin Üniversitesi, 2008. 9-36.
- 28.** Veli Kairisto, Hanninen Kol-Petri, Generation of reference values for cardiac enzymes from hospital admission laboratory data. Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1994; 32: 789-796.
- 29.** Bhattacharya C. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. Biometrics 1967; 23:115-35
- 30.** Back SE, Nilsson JE, Fex G, Jeppson JO, Rosen U, Tryding N, von Schenck H, Norlund L. Towards common reference intervals in clinical chemistry. ClinChem LabMed 1999; 37(5):573-592.).
- 31.** Usta M, Aral H, İnal B, Güvenen G. Koagulasyon testlerinin referans aralıklarının indirekt belirlenmesinde bhattacharya ve hoffman metotlarının kalite kontrol prosedurleri olarak karşılaştırılması Türk Klinik Biyokimya Derg 2014; 12(2): 79-90
- 32.** George, D. & Mallery, M. (2010). Using SPSS for Windows step by step: a simple guide and reference. Boston, MA: Allyn & Bacon)
- 33.** Calleja J. Bhattacharya analysis. AACB SES; 2010; Sydney. Available from: <http://oldsite.aacb.asn.au/files/File/SES/2010/AQ/1130-1200%20Calleja.pdf>.
- 34.** Werner M, Tolls RE, Hultin JV, Mellecker J. Influence of sexandage on the normal range of eleven serum constituents. Z KlinChem KlinBiochem 1970; 8: 105-115.

- 35.** Edward A. Sasse, Ph.D., Basil T. Doumas, Ph.D. et al. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Second Edition. ISBN 1-56238-406-6. June 2000
- 36.** Solberg HE. Referans Değerleri belirlenmesi ve Kullanılması. Ed: Aslan D, Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler. pp. 251-161, Palme Yayıncılık, Ankara, 2005.
- 37.** Statland BE, Winkel P. Effects of preanalytical factors on the intra individual variation of analytes in the blood of healthy subjects: consideration of preparation of the subject and time of venipuncture. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1977; 8: 105-144.
- 38.** Said SM, Hahn J, Schleyer E, et al. Glycoprotein IIb/IIIa inhibitor-induced thrombocytopenia: diagnosis and treatment. *Clin Res Cardiol* 2007; 96: 61-9.
- 39.** Yoneyama A, Nakahara K. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia differentiation from true thrombocytopenia. *Nippon Rinsho* 2003 ;61: 569-74.
- 40.** Van der Meer W, Allebes W, Simon A, Van Berkel Y, De Keijzer MH. Pseudothrombocytopenia: a report of a new method to count platelets in a patient with EDTA- and temperature-independent antibodies of the IgM type. *Eur J Haematol* 2002; 69: 243-7.
- 41.** Wilson DB. Acquired platelet defects. In: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT (eds). *Hematology of Infancy and childhood*. 6 th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2003: 1598-9.
- 42.** Bragagni G, Bianconcini G, Brogna R, Zoli G. Pseudothrombocytopenia: clinical comment on 37 cases. *Minerva Med* 2001; 92: 13-7.
- 43.** Rustad P, Petersen PH. Effect of analytical quality on establishing Common reference intervals and their use. *Scand J Clin Lab Invest* 2004 64: 399-406.
- 44.** Westgard JO. Within-subject and between-subject CV values of analytes. <http://www.westgard.com/lesson.html>
- 45.** Ricos C, Domenach M, Perich C. Analytical quality specifications for Common reference materials. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 702-709.
- 46.** In *Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation*. Edited by LA. Kaplan, AJ Pesce. Third edition. St. Louis, Mosby-Year Book Inc. 1996 pp. 1118-1119. 2.
- 47.** Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin Chem* 1998; 44: 622-631.

- 48.** Harris E, Boyd J. Statistical Bases of Reference Values in Laboratory Medicine. CRC Press, New York, 1995.
- 49.** Burtis C, Ashwood E. Establishment and Use of Reference Values: in Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B Saunders Company, 1999.
- 50.** Ichihara K, Boyd JC. IFCC Document, An appraisal of statistical procedure used in derivation of reference intervals on behalf of the IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL). Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2010, 48(11): 1537-1551
- 51.** Horn PS, Feng L, Li Y, Pesce AJ. Effect of outliers and nonhealthy individuals on reference interval estimation. ClinChem 2001;47: 2137 – 45.
- 52.** Bircan H, Karagöz Y, Kasapoğlu Y. Ki-Kare ve Kolmogorov Smirnov Uygunluk Testlerinin Simulasyon İle Elde Edilen Veriler Üzerinde Karşılaştırılması. C.Ü. İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi 2003; 4.
- 53.** Stephens MA. EOF statistics for goodness-of-fit and some comparisons. J. Am. Stat. Asso. 1974; 69: 730-737.
- 54.** Massey F. The Kolmogorov-Smirnov test for goodness-of-fit. J. Am. Statist. Asso. 1951; 46: 69-78.
- 55.** İlçöl YÖ, Aslan D. Bursa İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması. Türk Biyokimya Dergisi 2004; 29(2): 183-92.
- 56.** Boyd J C, Lacher D A, A Multi Stage Gaussian Transformation Algorithm For Clinical Laboratory Data, Clinical Chemistry, 1982;Vol. 28, No:8:1735.
- 57.** Linnet K, Two-Stage Transformation Systems For Normalization Of Reference Distribution Sevaluated, Clin. Chem. 33/3, 1987;381-6.
- 58.** Lumsden JH, Mullen K. On establishing reference values. Can J Comp Med 1978; 42: 293-301.
- 59.** Wilk S. Statistical prediction with special reference to the problem of tolerance limits. Ann. Math. Statist. 1941; 13: 400. 52.
- 60.** Somerville PN. Tables for obtaining non-parametric tolerance limits. Ann. Math. Statist. 1958; 29: 599.
- 61.** Özden M. Anatomi ve Fizyoloji. 18. Baskı. Ankara: Ayrıntı Basımevi; 2012.
- 62.** Guyton A, Hall J. Çağlayan Yeğen B, editör. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. 12. Basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2013.



63. Prof. Dr. Mehmet Ünal İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Fizyoloji Ders Notları.
64. Kaya Z. Tam kan sayım çıktılarının yorumlanması.2013; 40 (3): 521-528doi: 10.5798/diclemedj.0921.2013.03.0326
65. Dallman PR: In Rudolph A, ed: Pediatrics, 16 th ed. Newy-ork, Appleton-Century-Crofts, 1977:1111-1178.
66. Shende A. Disorders of the white blood cells. In: Lanz-kowsky P, ed. Manual of Pediatric Hematology and Oncology. 4th ed. San Diego, California.2005:209
67. Jungeria LC, Carnerio J, Kelley OR. Basic Histology Seventh Edition . Çeviri Editörü: Aytekin Y. 7. baskı, Barış Kiatabevi, 1993; s: 290-295.
68. Michelson AD. How platelets work: platelet function and dysfunction. J Thromb Thrombolysis 2003; 16 (1-2): 7-12.
69. Doç. Dr.Tiraje Celkan. Trombosit Fonksiyon Bozuklukları ve Vasküler Nedenli Kanamalar. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Kanama ve Tromboza Eğilim Sempozyum Dizisi 2003; s.37-60.
70. Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. stamford, 1998; 547-550.
71. Stenberg PE, Hill RJ. Platelets and Megakaryocytes. J. ClinInvest. 1999;Vol 1, 615-660
72. Lambert MP, Poncz M. Inherited platelet disorders. In: Orkin SH, Nathan DG, Ginburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE, eds. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 7th ed. Philadelphia. Saunders Elsevier, 2009:1463-1483
73. Aygun B. Disorders of platelet. In: Lanzkowsky P, ed. Manual of Pediatric Hematology and Oncology. fourth ed. San Diego, California.2005:250
74. Cell Dyn Ruby Türkçe kullanım klavuzu; 48-3853/R1-Ağustos 2009
75. Baadenhuijsen H, Smit JC. Indirect estimation of clinical chemical reference intervals from total hospital patient data: application of a modified Bhattacharya procedure. J Clin Chem Clin Biochem. 1985;23(12):829-39.
76. Kouri T, Kairisto V, Virtanen A, et al. Reference intervals developed from data for hospitalized patients: computerized method based on combination of laboratory and diagnostic data. Clin Chem. 1994;40(12):2209-15.
77. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. Clin Chem 1971; 17: 275-284.

**78.** Tuncer aycı, Yasemin Gölcan Kurt, Tefvik Honca, Ahmet Taş, Taner Özgürtaş, Mehmet Ağılı ve arkadaşları. Hastane bilgi sistemindeki kayıtlı hasta sonuçlarından tam kan referans aralıklarının tayini. *Gölhane Tıp Derg* 2015; 57: 111-117

**79.** By A. J. Naus, A. Borst and P. S. Kuppens. The Use of Patient Data for the Calculation of Reference Values for Some Haematological Parameters. Department of Hematology and Clinical Oiemistry, St. Laurentfus Hospital, Mgr. Driessenstraat 6, 6043 CV Roermond, The Netherlands (Received January 28/June 18, 1980)

**80.** Yesim Ozarda\*1, Kiyoshi Ichihara2, Ebubekir Bakan3, Harun Polat3, Nurinnisa Ozturk3, Nurcan K. et al. A nationwide multicentre study in Turkey for establishing reference intervals of haematological parameters with novel use of a panel of whole blood. *Biochemia Medica* 2017;27(2):350–77 <https://doi.org/10.11613/BM.2017.038>