



**DOĞU ANADOLU BÖLGESİ' NDE İNDİREKT
YÖNTEMLE HEMOGRAM PARAMETRELERİNİN
REFERANS ARALIKLARININ BELİRLENMESİ**

Hatice GÜNEŞ ÇAKMAK

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK

Yüksek Lisans Tezi-2018

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE İNDİREKT
YÖNTEMLE HEMOGRAM PARAMETRELERİNİN
REFERANS ARALIKLARININ BELİRLENMESİ**

Hatice GÜNEŞ ÇAKMAK

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK**

**ERZURUM
2018**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**DOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE İNDİREKT YÖNTEMLE
HEMOGRAM PARAMETRELERİNİN REFERANS
ARALIKLARININ BELİRLENMESİ**

Hatice GÜNEŞ ÇAKMAK

Tez Savunma Tarihi :10/12/2018

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK(Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN (Kastamonu Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

**Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM-2018**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Hemogram Parametreleri	8
2.1.1. Eritrosit	8
2.1.1.1. Hemoglobin	9
2.1.1.2. Eritrositlerle İlişkili İndeksler	10
2.1.2. Hematokrit	11
2.1.3. Lökosit	12
2.1.3.1. Granülsüz Lökositler.....	12
2.1.3.2. Granüllü Lökositler.....	13
2.1.4. Trombosit.....	14
2.1.4.1. Ortalama Trombosit Hacmi	15
2.1.4.2. Trombosit Dağılım Genişliği	15
2.1.4.3. Plateletkrit.....	15
2.2. Referans Aralıklarla İlgili Terminoloji	15
2.2.1. Normal Değer	16
2.2.2. Referans Sınırları	16
2.2.3. Alt ve Üst Referans Sınırı.....	16
2.2.4. Referans Toplum.....	16
2.2.5. Referans Örnek Grubu	17
2.2.6. Referans Dağılımı	17
2.2.7. Klinik Karar Sınırı	17
2.2.8. Referans Değer	17
2.2.9. Referans Birey	18
2.2.10. Referans Aralığı.....	18
2.3. Referans Aralıklarını Belirleme Aşamaları	18
2.3.1. Referans Aralık Belirleme Yönteminin Seçilmesi.....	18
2.3.2. Referans Bireylerin Seçilme Yönteminin Belirlenmesi.....	18

2.3.2.1. Bireye Dayalı Referans Aralıklar	19
2.3.2.2. Popülasyona Dayalı Referans Aralıklar	19
2.3.2.3. Direkt Örneklem Yöntemi	20
2.3.2.4. İndirekt Örneklem Yöntemi	20
2.3.2.5. Priori Yöntem	22
2.3.2.6. Posteriori Yöntem	22
2.3.2.7. Rastgele Yöntem	22
2.3.2.8. Rastgele Olmayan Yöntem	22
2.3.3. Referans Aralığını Verecek Analitlerin Özelliklerinin Belirlenmesi	22
2.3.4. Laboratuvar Koşullarının ve Analitik Sistemlerin Düzenlenmesi	23
2.3.5. Verilerin Toplanması	23
2.3.6. Verilerin İstatistiksel Analizlerinin Yapılması ve Değerlendirilmesi	23
2.3.6.1. Referans Aralığı Tayininde Veri Sayısının Önemi	23
2.3.6.2. İstatistiksel Analizde Uç Değerlerin Önemi	24
2.3.6.3. Referans Kütlesinin Dağılım Tipinin Değerlendirilmesi	24
2.3.6.4. Veri Transformasyonu	25
2.3.6.5. İstatistik Analizleri	26
2.3.6.6. Alt Grupların Değerlerinin Karşılaştırılması	28
2.3.7. Referans Aralıkların Hesaplanması	29
2.3.7.1. Referans Aralığı Sınırlarının Belirlenmesi	30
2.3.7.2. Referans Aralıkların Transfer Edilebilirliği	30
2.3.7.3. Referans Aralıkların Sunumu	31
3. MATERYAL VE METOT	32
3.1. Analitik Sürecin Değerlendirilmesi	33
3.2. Metot	34
3.2.1. Hastane Verilerinin Referans Aralıkların Belirlenmesi	34
3.2.2. İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
6.1. Sonuçlar	52
6.2. Öneriler	53
KAYNAKLAR	54
EKLER	67
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	67



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Atatürk Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığına, Öğretim üyelerine, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne ve yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen eşime, oğlum Emir Berken ÇAKMAK'a, sevdiklerime ve aileme teşekkür ederim.

Hatice GÜNEŞ ÇAKMAK

ÖZET

Doğu Anadolu Bölgesi'nde İndirekt Yöntemle Hemogram Parametrelerinin Referans Aralıklarının Belirlenmesi

Amaç: Bu çalışmada, indirekt örnekleme yöntemiyle hizmet verdiğimiz bölgemiz için hemogram test parametrelerinin referans aralıklarını belirlemeyi ve hesaplanan bu referans aralıklarını analizör firmasının önerdiği limitlerle karşılaştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürlüğü Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında 01.10.2014 ve 01.10.2015 tarihleri arasında çalışılmış 18-85 yaşları arasındaki bireylerin hemogram testlerine ait ayıklanmış 67.513 adet sonuçla indirekt örnekleme yöntemiyle 22 parametrenin referans aralıkları belirlendi. Dixon D/R kuralı ile uç değerler ayıklandı. Non parametrik persentil metodu referans aralıkların belirlenmesinde kullanıldı. Cinsiyete göre farklılıkların değerlendirilmesi için Mann Whitney U testi, her iki cinsiyet için ayrı ayrı referans aralık belirlenmesi için ise Harris-Boyd yöntemi kullanıldı.

Bulgular: Lökosit sayısı, monosit, lenfosit, nötrofil, eozinofil ve bazofil mutlak sayıları ve yüzdelerinin hesapladığımız referans aralık alt ve üst limitlerinin, firmanın önerdiği referans aralık sınırlarından klinik kararı etkileme yönünden çok farklı olmadığını, eritrosit sayısı ve ilişkili indekslerde de (Hb, HCT, MCH, MCHC, MCV ve RDW) alt sınır değerlerinin firmanın önerdiği değerlerden hafif düşük (RBC ve RDW aynı), üst sınırlarını ise daha yüksek olarak belirledik. PLT, MPV, PDW ve PCT genel referans aralık değerleri genel olarak firma değerleri ile uyumlu olup, sadece PLT sayısının üst sınırını klinik kararı etkilemeyecek derecede biraz daha yüksek olarak belirledik. WBC, RBC, Hb, HCT, MCH, MCHC, MCV ve MPV değerlerini erkeklerde, PLT ve PCT, değerlerinin kadınlarda istatistiksel olarak daha yüksek, PDW, MO%, MO#, LY%, LY#, NE%, NE#, EO%, EO#, BA%, BA# ve RDW değerlerinde ise her iki cinsiyet arasında anlamlı bir fark olmadığını belirledik. Cinsiyet açısından farklılık olan tüm parametreler için Harris-Boyd faktörü <1.5 olduğundan ayrı referans aralıklar belirlenmedi.

Sonuç: Verilerimiz popülasyona özgü hematolojik parametre referans aralıkların önemini doğrulamakta ve klinik kararları etkilemesi yönü ile bölgemiz için ayrı referans aralık belirlemenin önemini ortaya çıkarmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hemogram parametreleri, indirekt örnekleme yöntemi, referans aralıklar.

ABSTRACT

Determination of Reference Ranges of Hemogram Parameters by Indirect Method in Eastern Anatolia Region

Aim: In this study, we aimed to determine the reference intervals of the hemogram test parameters for our region and to compare the calculated reference intervals with the limits recommended by the analyser company.

Material and Method: In our study, the reference intervals of 22 parameters were determined by indirect sampling method with 67.513 results of hemogram tests of individuals between the ages of 18-85, which were studied between 01.10.2014 and 01.10.2015 in the Medical Biochemistry Laboratory of Atatürk University Medical Faculty Health Research and Application Center. Extreme values were extracted with Dixon D/R rule. Non-parametric percentile method was used to determine reference intervals. Differences by gender were determined by Mann Whitney U test and the Harris-Boyd method was used to set separate reference ranges for both genders.

Results: We have determined that the lower and upper limits of the reference range, which are calculated by the leukocyte count and absolute numbers and percentages of monocyte, lymphocyte, neutrophil, eosinophil and basophil, are not very different from the reference limits suggested by the company in terms of affecting the clinical decision. In terms of erythrocyte count and related indexes (Hb, HCT, MCH, MCHC, MCV and RDW), the lower limit values were slightly lower than the values recommended by the company (RBC and RDW were the same) and the upper limits were higher. The general reference range values for PLT, MPV, PDW and PCT are generally consistent with the values suggested by the company, but we have only determined the upper limit of PLT to be slightly higher than the clinical decision. We have found that WBC, RBC, Hb, HCT, MCH, MCHC, MCV and MPV, values in men, PLT and PCT, values in women were statistically higher and there was no significant difference between EO%, EO #, BA%, BA # and RDW values between both genders. No separate reference ranges were determined as the Harris-Boyd factor was <1.5 for all parameters that differed in terms of gender.

Conclusion: Our data confirm the importance of the population-specific hematological parameter reference intervals and reveal the importance of determining a separate reference range for our region in terms of affecting clinical decisions.

Keywords: Hemogram parameters, indirect sampling method, reference intervals.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BA#	: Mutlak bazofil sayısı
BA %	: Bazofil yüzdesi
CLSI	: Klinik Laboratuvar ve Standartları Enstitüsü
C-RIDL	: Referans aralıkları ve sınırları karar komitesi
CV	: Varyasyon katsayısı
EO#	: Mutlak eozinofil sayısı
EO%	: Eozinofil yüzdesi
Hb	: Hemoglobin
HCT	: Hematokrit
HIS	: Hastane bilgi sistemi
IFCC	: Uluslararası klinik kimya federasyonu
K-S testi	: Kolmogrov Simirnov testi
LIS	: Laboratuvar bilgi sistemi
LY#	: Mutlak lenfosit sayısı
LY%	: Lenfosit yüzdesi
MCH	: Ortalama eritrosit hemoglobini
MCHC	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MO#	: Mutlak monosit sayısı
MO%	: Monosit yüzdesi
MPV	: Ortalama trombosit hacmi
NCCLS	: Klinik laboratuvar standartları ulusal komitesi
NE#	: Mutlak nötrofil sayısı
NE%	: Nötrofil yüzdesi

PCT	: Trombosit yüzdesi
PDW	: Trombosit dağılım aralığı
PLT	: Trombosit sayısı
RBC	: Eritrosit sayısı
RDW	: Eritrosit dağılım genişliği
SD	: Standart sapma
SQL	: Yapılandırılmış sorgu dili
TKS	: Tam kan sayımı
VCS	: Hacim, iletkenlik ve saçılım
WBC	: Lökosit sayısı

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 3.1. Hemogram parametreleri ölçüm yöntemleri ve alt ve üst okuma limitleri...	33
Tablo 4.1. TKS parametrelerinin minimum, maksimum, ortanca (25-75. Persentilleri) ortalama $\pm$ SD, varyans ve referans aralık alt ve üst sınır değerleri.....	36
Tablo 4.2. Her iki cinsiyete ait TKS parametrelerinin karşılaştırılması ve istatistik anlamlılık değerleri	38
Tablo 4.3. Kadın ve erkeklere ait TKS parametrelerinin ortalamaları, standart sapmaları, referans aralık alt ve üst limitleri, minimum ve maksimum değerleri ve istatistiki anlamlılık değerleri	39
Tablo 4.4. Nonparametrik persentil metodu ve Bhattacharya makrosu kullanarak hesapladığımız ve cihaz firmasının kullandığı TKS parametre referans aralıkları.....	42

1. GİRİŞ

Hastane başvurularında klinik pratikte bir değerlendirme yapılırken, hasta hikâyesi ve muayene bulgularına ilave olarak, hasta ile ilgili düşünülen tanılar desteklemek, ayırıcı tanılar yapmak, hastaya verilen tedavilerin yanıtını görmek, uygulanan tedaviye bağlı olarak ortaya çıkan yan etkileri takip etmek ve bazen de hastanın subklinik hastalıklarının taranması amacı ile klinik laboratuvarlardan destek istenir. Bu destek kapsamında, klinik laboratuvarlardan hasta ile ilgili olarak birtakım biyokimyasal tetkikler istenebilir.¹

Klinisyenler, laboratuvarlarda yapılan testler ile ilgili elde ettikleri sonuçları, bu testlere ait referans aralıklarıyla karşılaştırarak sonuçları yorumlarlar. Elde edilen sonuçları doğru yorumlayabilmeleri için ellerinde ilgili testlere ait doğru ve güvenilir referans aralıklarının olması gerekir.²

Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (National Committee for Clinical Laboratory Standards: NCCLS), Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (The International Federation of Clinical Chemistry: IFCC) ve IFCC bünyesinde yer alan Referans Aralıkları ve Karar Sınırları Komitesi (Committee of Reference Intervals and Decision Limits: C-RIDL) her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi gerektiğini önermektedir.^{3,4}

IFCC yapmış olduğu önerilerde, her klinik laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi gerektiğini tavsiye etmiş ve bunların tespit edilmesinde izlenecek kural ve yöntemler ile ilgili seri kılavuzlar hazırlamıştır. Bu kılavuzlarda;

- Referans aralıkları ile ilgili temel kavramlar,
- Referans olarak kullanılacak sağlıklı bireylerin seçimiyle ilgili yöntem ve kriterler,
- Örneklerin alınması ve işlenmesi ile ilgili usuller,

- Analitik işlemlerin kontrol ve geçerliliğinin sağlanması için gerekli yaklaşımlar,
- Referans aralıkların belirlenmesinde kullanılacak istatistiksel yöntemler,
- Referans aralıkların sunumu,

gibi konularda öneri ve tanımlar yapılmıştır.⁵⁻⁷

IFCC' nin hazırlamış olduğu kılavuzda, referans aralıkların saptanmasında farklı yöntemlerin kullanılabileceği vurgulanmıştır.⁸ Referans aralıkların belirlenmesinde, referans bireylerin seçimi direkt ve indirekt olmak üzere iki şekilde belirlenebilir. Direkt yöntemde, önceden belirlenmiş kriterler kullanılarak ve bir hazırlık sürecinin ardından sağlıklı kişilerden, örnek alınarak gerçekleştirilir. İndirekt yöntemde ise; laboratuvar sonuçları kullanılarak istatistik programları aracılığı ile normal değerler elde edilmeye çalışılır.⁹ Kılavuzda, kullanılabilecek yöntemler içinde klinik laboratuvarlara başvuran hastalara ait hastane sonuçlarından yararlanarak indirekt örnekleme yöntemiyle referans aralıkların belirlenebileceği önerilmiştir.¹⁰

IFCC, örneklemenin direkt örnekleme yöntemiyle belli sayıdaki insanlardan alınan kan numunelerinin ölçümü ve uygun istatistiksel yöntem ile belirlenmesi gerektiğini önermiştir. Direkt örnekleme yapılamadığı durumlarda indirekt örnekleme yöntemi kullanılarak elde edilecek referans aralıkların da kullanılabileceğini önermiştir.^{6,11,12} Referans aralıkların belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda genel olarak, direkt örnekleme yöntemi daha çok tercih edilmektedir. Klinik laboratuvarlar son zamanlarda, doğrudan örnekleme yönteminin, zahmetli, masraflı, zaman alıcı olması ve analitik sistemlerin sık sık değişmesi gibi nedenlerden dolayı daha ucuz ve pratik olan indirekt örnekleme yöntemini kullanmaya başlamışlardır. Bu alanda yapılmış ve halen yapılmakta olan çok sayıda araştırma bulunmaktadır.^{2,13-22}

Aslında referans aralıkların belirlenmesinde indirekt örnekleme yönteminin kullanılması ile ilgili olarak Ferré-Masferrer ve ark.²³ hasta verilerinin istatistiksel olarak

aşırı karışık ve geniş dağılım göstermediği takdirde, referans aralığı belirlenmesinde kullanılabileceğini göstermeleri üzerine bu konuya/yönteme ilgi artmıştır.¹⁷ Hatta bazı araştırmacılar hastane popülasyonunun kullanılmasının, hastaneye başvurmamış sağlıklı bireylerin kullanılmasından daha güvenilir referans aralıkları ortaya çıkaracağını ileri sürmüşlerdir.^{13,22-24}

Klinik laboratuvarlarda yapılan testlerde farklı firmalara ait cihazlar ve kitler kullanılmaktadır. Cihaz üretici firmalar, laboratuvarlara kurdukları cihaz ve kitlerin yanında, ek olarak sattıkları kitlerin prospektüslerinde kendileri tarafından belirlenmiş referans aralıklarını da vermektedirler. Klinisyenler cihaz üretici firmalarının referans aralıkları ile hastalardan elde edilen sonuçları karşılaştırarak değerlendirmelerini yapmaktadırlar. Referans aralıkların belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda, elde edilen değerlerin firmaya ait referans aralıklarından farklı olabileceği ortaya konmuştur.^{25,26} Yapılan araştırmalarda, rutin laboratuvar testlerine ait referans aralıkların, toplumlar arasındaki sosyo-ekonomik duruma, spor yapma alışkanlığına, toplumların genetik yapısına ve yaşadıkları coğrafik bölgelerin özelliklerine bağlı olarak değişiklikler gösterdiği görülmektedir. Bu nedenle, her laboratuvarın hizmet verdiği bölgedeki toplumun referans aralıklarını belirlemesi ve tespit ettiği bu referans aralıklarını kullanması gerekliliği ortaya çıkmıştır.^{2,25,27} Bu konuda, cihaz ve kit üretici firmalar da sattıkları kit prospektüslerinde kendi referans değerlerini verdikten sonra “her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi” gerektiği konusunda tavsiyede bulunur. Ancak, her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi yüksek maliyet ve yoğun emek gerektiren bir işlemdir. Maalesef, ülkemizde bölgesel ya da il bazında genel olarak referans aralıkların belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmaların az sayıda ve sınırlı olduğu görülmektedir.^{2,11,28}

Hemogram (tam kan sayımı, TKS), kan hücrelerinin sayısı, şekli ve yapısal özellikleri hakkında önemli bilgiler veren bir testtir. Anemi, enfeksiyonlar, lösemi ve bazı kanama bozuklukları gibi birçok hastalığın tanısı, takibi ve taramasında sıklıkla kullanılır. Bir dizi parametre içeren bu test ile günümüz oto analizörlerle kısa sürede sonuç verilmektedir.

Uluslararası ISO15189-2012 standardizasyon programı, her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi gerektiğini ve bu belirlenen sınırların periyodik olarak yeniden değerlendirilmesi gerektiğini belirtir.^{29,30}

Bununla birlikte, bu gerekliliklere rağmen, hematoloji parametreleri için direkt yöntemle referans aralıkları belirleme girişimleri hala yaygın değildir. Bu amaca uygun çalışmaları yürütmek için sınırlı sayıda girişimlerde bulunulmuştur.³¹⁻³³ Çünkü direkt yöntemde hemogram parametreleri için henüz bir referans materyal bulunmamakta ve hemogram parametreleri dondurulup tekrar çözülerek analiz edilmeye uygun değildir.³² Türkiye, batıda Ege Denizi'nden doğudaki İran sınırına 1600 km'den daha fazla uzanan 7 coğrafi bölgeden oluşmaktadır. Türkiye, yaklaşık 80 milyon nüfusuyla 780.580 km²'lik bir alanı kapsamaktadır.³⁴ Bölgeler arasında rakımda büyük farklılıklar vardır ve rakımın hemogram parametreleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu iyi bilinmektedir.³⁵ Bu gerçekler, Türkiye'de farklı bölgeler arasında hematolojik parametrelerin referans aralıkları açısından farklılıklar olabileceğini göstermektedir.

Hemogram parametrelerinin referans aralıkları ile ilgili ülkemizde yapılmış çalışmalara bakıldığında, bu konuyla ilgili olarak yeterli sayıda çalışmanın olmadığı görülmektedir. Yukarıda da değinildiği gibi genetik ve coğrafi faktörler göz önüne alınarak, toplumumuz dışında yapılan referans değerleri çalışmalarının sonuçlarının, toplumumuzun normal referans değerlerini temsil edemeyeceği aşikârdır. Ülkemizde de hemogram parametrelerinin referans aralıklarını belirleyen bazı çalışmaların yapılması

gerektiği açıktır. Yapmış olduğumuz bu çalışma ile hizmet verdiğimiz laboratuvarımıza ve bölgemize ait hemogram parametrelerinin referans aralıklarını indirekt yöntemle tespit etmeyi amaçladık. Bu amaçla çalışmamızda 01.10.2014 ve 01.10.2015 tarihleri arasında Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürlüğüne başvurmuş herhangi bir sistemik ve kronik hastalığı bulunmayan 18-85 yaşları arasındaki sağlıklı bireylere ait tam kan sayımı testlerinin referans aralıklarını güncel rehberlerde belirtilen yöntemleri kullanarak belirledik.



2. GENEL BİLGİLER

Klinik biyokimya testleri modern tıpta hasta değerlendirmesi açısından önemli bir yere sahiptir. Biyokimyasal testler tanı, tarama, hastalık takibi ve prognozu hakkında bilgi verebilmektedir. Birçok biyokimya testinde serum, tam kan, plazma ve idrar başta olmak üzere diğer biyolojik sıvılar da kullanılabilir. Klinik biyokimya laboratuvarlarında rutin olarak çalışılan yüzlerce test bulunmaktadır. TKS gibi bazı biyokimya analizleri profil olarak bir araya getirilmiş testlerden oluşmuştur ve grup test olarak çalışılmaktadır. Klinik biyokimya laboratuvarları tarafından sunulan raporların birçoğu raporla beraber sunulan referans aralıklarla yorumlanmaya çalışılır.

Klinik laboratuvarların hasta hizmetlerindeki rolü, yeni yöntem ve teknolojilerin geliştirilmesi sonucunda hızla artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılmış bir araştırmada, tıbbi karar alma sürecinde alınan bütün kararların yaklaşık % 70'inin laboratuvar sonuçları üzerinden alındığı belirlenmiştir.^{36,37} Klinik laboratuvarın hasta yönetimi üzerindeki ciddi etkileriyle beraber sağladığı verilerin de son derece güvenli olması gerektiği aşikârdır.

Klinisyenlerin klinik laboratuvarların ürettikleri test sonuçlarını değerlendirirken, ellerinde, test sonuçlarına ait sonuçlardan verimli bir şekilde faydalanabilmesi için, ellerindeki test sonuçlarına ait doğru ve güvenilir referans aralıklarının bulunması gerekir.²

TKS genel sağlık durumunun kontrolü, kemik iliğinin fonksiyonlarının değerlendirilmesi, beslenme durumunda yetersizlik bulunup bulunmadığının değerlendirilmesi ve akut enfeksiyon olasılığının araştırılması amacıyla kullanılan bir dizi testtir. Hemogram testleriyle kandaki hücrelerin, eritrosit (kırmızı kan hücresi, red blood cell: RBC), trombosit (platelet: PLT) ve lökosit (beyaz kan hücresi, white blood cell: WBC) sayılarını ve bu hücrelerle ilgili bir takım alt parametreleri belirleriz. Klinik

laboratuvarında, en fazla talep edilen test gruplarından biridir. Günümüzde, çok sayıda hastalığın tanı ve izlenmesinde kullanılmaktadır. Hemogram kapsamında çalışılan parametre sayısı, klinik ve laboratuvarın ihtiyaçlarına ve kullanılan analizörün özelliklerine göre değişiklik gösterir.

TKS, WBC sayısı ve alt sınıf analizleri; nötrofil yüzdesi (NE%), mutlak nötrofil sayısı (NE#), lenfosit yüzdesi (LY%), mutlak lenfosit sayısı (LY#), monosit yüzdesi (MO%), mutlak monosit sayısı (MO#), bazofil yüzdesi (BA%), mutlak bazofil sayısı (BA#), eozinofil yüzdesi (EO%) ve mutlak eozinofil sayısı (EO#), RBC sayısı ve ilgili parametreleri; hemoglobin (Hb), hematokrit (HCT), ortalama eritrosit hacmi (mean erythrocyte volume: MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (mean erythrocyte hemoglobin: MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (mean corpuscular hemoglobin concentration: MCHC) ve eritrosit dağılım genişliği (red cell distribution width: RDW), PLT sayısı ve ilgili parametreleri; ortalama trombosit hacmi (mean platelet volume: MPV), trombosit dağılım aralığı (platelet distribution width: PDW) ve Plateletcrit (PCT) gibi parametreler hakkında bilgi verir.³⁸ Bu parametreler kullanılan cihazın ölçüm yöntemine bağlı olarak bir kısmı ölçülmekte bir kısmı ise hesaplanarak belirlenmektedir.³⁹

TKS cihazları, kan içerisinde bulunan çeşitli hücrelerin miktarlarını belirlemeye yarayan önemli laboratuvar cihazlarından biridir. Ülkemizde klinik biyokimya laboratuvarlarında değişik marka ve modellerde elektronik TKS cihazları yaygın olarak kullanılmaktadır. TKS cihazlarında, kanın içinde bulunan çeşitli hücrelerin sayımı için radyo dalgaları, elektriksel empedans ve lazer ışını dağılması (laser light scatter), optik saçılma, floresans akış sitometrisi ve sitokimya (cytochemistry) gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır.^{40,41} Hb ölçümü TKS cihazlarında siyanmethemoglobin yöntemi veya siyanürsüz fotometrik yöntemler ile yapılabilmektedir. TKS cihazlarında, WBC sayısı bir

kanalda ve çoğunlukla floresans akış sitometresi, empedans yöntemi ve optik saçılma gibi yöntemlerle belirlenmekte ve VCS (volüme, conductivity, scatter) teknolojileri aracılığı ile de hücre büyüklüğü, çekirdek büyüklüğü, çekirdek yoğunluğu, çekirdek/sitoplazma oranı ve hücre granülaritesi belirlenerek alt grup oranları hesaplanmaktadır. RBC ve PLT sayısı ise ayrı bir kanalda akış empedans teknolojisi kullanılarak belirlenir ve histogramları cihaz software programları kullanılarak çizilir ve ilgili parametreler bu histogramlardan belirlenir.

Kan hücreleri, dolaşım sistemi içinde belirli bir süre kalan hücrelerdir. Bu hücreler, kemik iliğinde bulunan pluripotent (multipotent) kök hücrelerin bölünüp çoğalması ve farklılaşması sonucu meydana gelirler.⁴²

2.1. Hemogram Parametreleri

Hemogram parametreleri, yirminci yüzyılın başlarından itibaren tıpta kullanılmaya başlamıştır. Mikroskop ile hücre sayımından başlayan analizler, teknolojinin gelişimi ile birlikte gelişen tam otomatik cihazlarla günümüzde devam etmektedir. Bu sayede hem değerlendirilen parametre sayısı artmış hem de birçok parametre sonucunun çok kısa sürede elde edilmesi sağlanmıştır.⁴³

2.1.1. Eritrosit

Alyuvarlar olarak da isimlendirilen eritrositler kanın şekilli elemanlarının büyük bir çoğunluğunu oluşturan kan hücreleridir. Yapılarında bulunan hemoglobin, kana kırmızı rengini verir. Bu yüzden, kırmızı kan hücreleri olarak da adlandırılırlar. Bu hücreler, kemik iliğinde üretilirler.⁴⁴ Eritrositlerin, dolaşım sistemi içindeki en önemli görevi, dokularla akciğer arasında oksijen ve karbondioksit transportunu sağlamaktır.⁴⁵ Normal şartlarda dolaşım sistemi dışına çıkmazlar. İnsan dolaşım sisteminde bulunan eritrositler, şekilsel anlamda, her iki geniş yüzeyi bikonkav olan 6.7-7.7 mikron boyutlarında, bir disk şeklinde olan çekirdeksiz kan hücreleridir. Eritrositlerin sahip

oldukları bu şekilleri, onların başlıca görevleri olan gaz alım verimine son derece uygundur. Çünkü iki konkav yüzeyle kısıtlanmış bir plağın gaz difüzyonu için en uygun şekil olduğu saptanmıştır.⁴⁶

Dolaşım sisteminde, dokulara taşınan oksijen miktarı azaldığında vücudumuzda eritrosit üretimi artar. Doku oksijenasyonu, anemide, kan akımının azalmasında, kanamalarda ve akciğer hastalıklarında bozulur. Gün içerisinde eritrosit sayısı, ortalama $\pm\% 4$ dalgalanma gösterebilir. İnsanlarda eritrosit sayısının, uyku halinde iken azaldığı; uyanıkken ise arttığı belirlenmiştir. Bunun dışında, yüksek irtifada yaşayan insanlarda, egzersiz yapanlarda, aşırı korku ve heyecanlanma durumlarında ve kanın oksijen miktarını azaltan herhangi bir etki varlığında eritrosit sayısının arttığı belirlenmiştir. Sayıları yaş ve cinsiyete bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Eritrosit sayısı sağlıklı bir erişkinde 3.5-5.5 milyon/mm³ arasında değişmektedir. Kanımızda eritrosit sayısının normalden fazla olması durumuna polistemi denir. Eritrosit sayısının veya hemoglobin miktarının normalden düşük olması durumu ise anemi olarak isimlendirilir. Bu hücrelerin ortalama yaşam süreleri 120 gün olup, başlıca metabolik yakıtları, glikozdur.^{43,47,48}

2.1.1.1. Hemoglobin

Oksijen ve karbondioksit transportunu gerçekleştiren hemoglobin, dört adet demir atomu içeren hem gruplarından oluşan protein yapısında kompleks bir moleküldür. Oksijen molekülü hemoglobindeki demire bağlanarak taşınır. Tamamen satüre hale geldiğinde 1 g hemoglobin 1.34 mL oksijen taşıyabilir. Ortalama bir yetişkinde toplam 600 gram hemoglobin, 800 g oksijen bulunur. Hemoglobin molekülünün oksijene ilgisi sıcaklık, pH ve eritrosit 2,3-difosfogliserat konsantrasyonu gibi faktörlerden etkilenir. Arttığı ve azaldığı durumlar, eritrosit sayısının arttığı ve azaldığı durumlarla aynıdır. Erkek ve kadınlardaki konsantrasyonları farklıdır. Erkeklerdeki normal değerleri 13.8-17.2, kadınlarda ise 12-15.6 gr/dl'dir.⁴⁷ Hemoglobin konsantrasyonunun normalden

düşük olmasına anemi denir. Oldukça sık görülür ve sıklıkla diğer hastalıkların komplikasyonu olarak ortaya çıkar. Bu yüzden her hastada Hb düzeyinin bakılması oldukça önemlidir.

2.1.1.2. Eritrositlerle İlişkili İndeksler

İlk kez Wintrobe⁴⁹ tarafından tanımlanan, eritrositlerin büyüklüğü ve eritrosit içi hemoglobin konsantrasyonu hakkında bilgi sahibi olmayı hedefleyen indeks değerleri, daha çok anemilerin karakterinin ve sebebinin belirlenmesi amacıyla kullanılır. Otomatize hücre sayım cihazlarının kullanılmaya başlanmasından önce MCV, MCH ve MCHC parametreleri eritrosit sayısı, hemoglobin konsantrasyonu ve HCT parametrelerinin hesaplanması yoluyla belirlenmekteydi. Günümüzde ise MCV otomatize hücre sayım cihazları tarafından doğrudan ölçülmekte, geleneksel manuel tekniklerle belirlenmesi mümkün olmayan RDW indeks değeri, eritrosit hacim histogramlarından yararlanarak hesaplanmaktadır.^{43,50}

Ortalama Eritrosit Hacmi

MCV, eritrositlerin ortalama hücre hacmini ifade eder. İnsanlarda ortalama eritrosit hacmi 80-100 fl arasında değişir. 80 fL 'den düşük olması mikrosit ve 100 fL 'den büyük olması makrosit olarak tanımlanır. Pernisiyöz anemide, vitamin B12 ve folik asit eksikliği gibi durumlarda normal değerinde artış, kronik hastalıklara bağlı anemide ve demir eksikliği anemisinde ise normal değerinde düşüş görülür.^{43,50} Ortalama eritrosit hacmi, hematokrit ve eritrosit sayısından yararlanılarak hesaplanabilir.

$$MCV = HCT (L)/RBC (M/\mu L) \times 100$$

Aynı formül önerilen uluslararası birimlerle ifade edilirse:

$$MCV = HCT (L)/RBC (x10^{12}/L)$$

MCV birimi “mikrometreküp” veya femtolitre (fl) birimi ile ifade edilir. 1 femtolitre 10⁻¹⁵ L'dir.

Günümüz cihazlarında MCV, tüm eritrosit volumlerinden elde edilen RBC dağılım genişliğini gösteren histogramın ortalama değeri bulunarak verilir.

Ortalama Eritrosit Hemoglobini

MCH, eritrositlerin içinde bulunan ortalama Hb miktarıdır. Başka bir deyişle, eritrosit hücresi başına düşen ortalama hemoglobin miktarını gösterir. Normal değerleri 27-35 (pg) arasında değişir. Hemoglobin konsantrasyonu ve eritrosit sayısından yararlanılarak MCH hesaplanır.^{43,50}

$$MCH = (Hb (g/L)/RBC (M/\mu L)) \times 10$$

Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu

MCHC, RBC başına ortalama Hb konsantrasyonudur. Eritrositlerdeki hemoglobinin yüzde olarak ifadesidir. Normal değerleri % 31-36 g/dL arasında değişir. MCHC 'nin hesaplanması için HCT ve Hb değerleri kullanılır.

$$MCHC = 100 \times \text{Hemoglobin (g/dL)} / \text{HCT}$$

Sonuç, g/dL birimiyle ifade edilir.

Eritrosit Dağılım Genişliği

RDW, eritrosit dağılım hacmini göstermektedir. Eritrositlerin büyüklükleri arasındaki farklılıkları ifade eder. Cihazlar arasında farklılıklar bulunmakla birlikte normal değerleri % 11.5-% 14.5 arasında değişir. RDW 'nin normalden yüksek olması eritrositlerin büyüklüklerinin birbirine göre farklı olduğu anlamına gelir. Bu durum; demir eksikliği anemisi, kobalamin ve folik asit eksikliğinde, yeni doğanlarda ve hemoliz ile seyreden hastalıklarda görülebilir. RBC histogramından elde edilir.

$$RDW = (MCV SD / MCV) \times 100$$

2.1.2. Hematokrit

HCT, eritrositlerin total kan hacmine oranıdır. Yüzdelik dilim olarak ifade edilir. Yaş ve cinsiyete göre farklılık gösterir. Yetişkin erkeklerde % 40-53, kadınlarda ise %

36-46 arası normal kabul edilir. HCT anemi ve kan kaybı durumlarında düşerken, polistemi, egzersiz, hemokonsantrasyon (dehidratasyon, yanık, aşırı kusma, intestinal obstrüksiyon vb.) ve yüksek rakımlarda ise artış gösterir. HCT eritrosit sayısının ortalama eritrosit hacmiyle çarpılmasıyla elde edilir.

$$HCT(\%) = (RBC \times MCV) / 10$$

2.1.3. Lökosit

WBC, beyaz küre veya akyuvar olarak ta adlandırılır. Granülsüz (monosit ve lenfosit) ve granüllüler (nötrofil, eozinofil ve bazofil) olarak alt grupları vardır. İnsan vücudunu enfeksiyon etkenlerine ve yabancı maddelere karşı koruyan bağışıklık sisteminin hücresel bileşenini oluşturan hücrelerdir. Bu hücreler, beyaz renkli, hareketli, çekirdek ve organelleri bulunan, yaşam süreleri normalde dolaşım kanında 4-8 saat ve gereksinim duyulan dokularda ise 4-5 gün olan hücrelerdir. Normal şartlarda mm³ kanda sayıları 4-11 bin kadardır. Lökositler de eritrositler gibi kemik iliğinde üretilir. Kan dışında dalak, lenf sistemi ve diğer dokularda bulunabilir.

Kanımızdaki lökosit sayısı sabahın ilk saatlerinde en düşük, akşama doğru ise en yüksek değerdedir. Yatan kişilerde ise ayaktakilere göre lökosit sayısının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.⁵¹ Yine her bedensel faaliyet sırasında lökosit sayısının arttığı belirlenmiştir. Güneşte uzun süre kalma ve yüksek yerlere çıkma gibi durumlar, lökosit sayısında bir miktar artışa neden olur. Kanımızda bulunan lökosit sayısındaki artış lökositoz, lökosit sayısındaki azalma ise lökopeni olarak adlandırılır.⁵¹

2.1.3.1. Granülsüz Lökositler

Lenfositler

İmmünolojik savunmada görev alan hücrelerdir. Kanımızda üç çeşit lenfosit türü bulunur. Bu türler, B hücreleri, T hücreleri ve doğal öldürücü hücrelerdir. İmmün sistemde, B hücreleri her bir antijene özel bir antikör üretirken, T hücreleri (CD4+) ise

İmmün sisteminin antijene verdiği cevabı düzenlemekle görevlidir. CD8+ (sitotoksik/öldürücü) T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler, bakterileri ve virüslerle enfekte olmuş vücut hücrelerini yok etmekte görev alır.⁴³

Monositler

Bu hücreler fagositoz yapma özelliğine sahip hücrelerdir. Bunun dışında, T hücrelerini uyararak onların çoğalmasını sağlarlar. Dolaşım sisteminden ayrılıp dokulara giden monositler, belirli bir süre sonunda dokularda hacimce büyüyüp enzim miktarlarını arttırarak makrofaj hâlini alır.

2.1.3.2. Granüllü Lökositler

Nötrofiller

Nötrofiller, sahip oldukları granüllerin boyalara karşı özel bir afinite göstermemesi nedeniyle "nötrofil" olarak isimlendirilmişlerdir. Bütün eritrositlerin yaklaşık % 70'ini oluştururlar. Bu hücrelerin yaşam süreleri çok kısa olup ortalama olarak bir günden azdır. Bu hücreler kemik iliğinde üretilir ve aktif fagositoz yaparlar.

Eozinofiller

Eozinofiller, sahip oldukları granüllerin "eozin" isimli asidik boyaya karşı afinite göstermesi nedeniyle "eozinofil" olarak isimlendirilmişlerdir. Bu hücreler bütün lökositlerin % 2.3'ünü oluşturur ve ortalama 10-12 µm büyüklüğünde hücrelerdir. Çekirdekleri iki lobludur. Yapılarındaki majör bazik proteininin parazitlere karşı etkili olduğu düşünülmektedir. Kanımızdaki değerlerinin sayıca artmasına Eozinofili denir. Eozinofili, paraziter infeksiyonlarda ve alerjik reaksiyonlarda görülür.

Bazofiller

Normal şartlarda lökositlerin % 0.4'lük bir kısmını oluştururlar. 14-16 mikron boyutlarında olup, dolaşımdaki yaşam süreleri ortalama 3-4 gündür. Mast hücreleri ile benzer olarak heparin, histamin, serotonin vb. gibi mediatörlerin salınmasında görev

yaparlar. Bazofilik lösemi, miyeloproliferatif hastalıklar, hodgkin hastalığı, kolit, hipotiroidi, diabetes mellitus gibi durumlarda bazofil sayısı artarken; akut romatizmal ateş, lobar pnömoni, steroid tedavisi alımı, tirotoksikozis ve stres durumlarında ise düşme eğilimindedir.

2.1.4. Trombosit

PLT, yaralanma durumu meydana geldikten sonra kanın pıhtılaşmasını sağlayan şekilli kan hücreleridir.⁵² Bu hücreler, kemik iliğindeki “megakaryosit” denilen çok çekirdekli büyük hücrelerin sitoplazmasından oluşur. Bu megakaryosit parçaları, sistemik dolaşıma girince trombosit adını alır. Trombositler, çabuk kümeleşmeleri ve kolaylıkla birbirlerine yapışmaları sayesinde kanamalarda ilk yara tıkaçının meydana gelmesini sağlarlar.^{53,54}

Bu hücreler, çok sayıda granül içeren renksiz, oval veya sferik yapıya sahip çekirdeksiz sitoplazmik kan hücreleridir. Yapılarının % 60'ını, pıhtılaşmada rolü olan “trombosit faktörleri” adı verilen proteinler oluşturur. Bunların yanı sıra, yapılarında çok az miktarda da olsa fibrinojen ve albümin bulunur. Vazokonstriktör etkili Serotonin, trombositlerin parçalanmasından sonra dışarı çıkar ve damarların büzüşmesine neden olarak kanamanın durmasına yardımcı olur.⁵⁵

Trombositler, May-Grünwald-Giemsa ile boyanmış periferik yayma ışık mikroskobunda incelendiğinde, mavi-gri renkte görünürler. Kanımızdaki normal değerleri $150-450 \times 10^3/\text{mm}^3$ arasında değişir. Bu hücrelerin ortalama yaşam süreleri yaklaşık 9-10 gün olup, bu sürenin sonunda dalakta parçalanır. Plateletler esas olarak trombozis ve hemostaziste rol oynar. Ancak, son zamanlarda yapılan çalışmalarda, plateletlerin enfeksiyon ve inflamasyonda da büyük rol oynadıkları ortaya konulmuştur.⁵⁶

2.1.4.1. Ortalama Trombosit Hacmi

MPV, trombosit indeksleri içinde en yaygın kullanılanıdır. MPV, platetlerin ortalama büyüklüğünün (boyutlarının) göstergesi olup femtolitre (fL) ile ölçülmektedir. MPV 'nin normal değerleri 7.4-12 fL arasında değişir. MPV değerindeki artış, trombositlerin çaplarında da artış olması demektir. Bu durumda, bir nedenden dolayı kemik iliğindeki trombosit üretiminin hızlandığı anlamı çıkarılabilir. Trombosit boyutu, trombositler aktive olup kemokin ve sitokinler gibi inflamatuvar faktörleri salgıladığında artar.^{40,57} MPV 'nin trombosit fonksiyonunun göstergesi olarak çeşitli inflamatuvar hastalıklardaki rolü ile ilgili araştırmalar yapılmıştır.⁵⁸⁻⁶⁰ MPV, platelet histogramından elde edilir.

2.1.4.2. Trombosit Dağılım Genişliği

PDW, trombosit çaplarının değişkenliğini ifade eder. Trombosit ölçüsünün dağılım genişliği olarak ta tanımlanabilir. PDW 'nin normal değerleri 9-17 fL arasında değişir. Trombosit değeri, üretim ve parçalama olaylarının arttığı durumlarda yüksektir. Enfeksiyon gibi metabolizmanın arttığı durumlarda artabileceği düşünülerek prognostik değeri ile ilgili araştırmalar yapılmıştır.⁶¹⁻⁶²

2.1.4.3. Plateletkrit

PCT, kandaki trombosit yüzdesini gösterir. PCT 'nin normal değerleri % 0.1-0.41 arasında değişir.⁴² Yaş, alkol, sigara ve fiziksel aktivite kandaki platelet sayısına ve MPV düzeyine etki eder.⁴³ PCT, kan sayım cihazlarında MPV ve trombosit sayımlarından elde edilen değerler kullanılarak hesaplanır.⁴⁰

$$PCT(\%) = (PLT \times MPV) / 10$$

2.2. Referans Aralıklarla İlgili Terminoloji

Referans aralıkların belirlenmesi ile ilgili yapılmış çalışmalar oldukça eski yıllara uzanmaktadır. Günümüzde, referans aralıkları kavramı başlığı adı altında çok sayıda

tanımlamalar bulunmaktadır.^{16,25} Bu konuyla ilgili öncelikle; normal değer, referans sınırları, alt ve üst referans sınırları, referans toplum, referans örnek gurubu, referans dağılımı, klinik karar sınırı, referans değer, referans aralığı ve referans bireyin tanımını yapmak doğru olacaktır.

2.2.1. Normal Değer

1960'lı yılların sonlarına doğru bu konu ile ilgili yapılmış araştırmalarda, referans değerler (referans aralığı) “normal değerler (normal aralık)” olarak isimlendirilmiş ve bu değerlerin hesaplanması için istatistiksel yöntemler tartışılmıştır. Fakat normal kelimesinin başka anlamlar çağrıştırmamasından dolayı karışıklığa yol açtığı görülmüştür.⁶³ Çünkü “normal değer” terimi oldukça göreceli bir kavramı ifade etmektedir. Normal değerler teriminin barındırdığı belirsizlikleri önlemek için, referans değerler kavramı getirilmiş ve 1980'lerde uygulamaya konulmuştur.^{64,65} Laboratuvar verilerinin klinik açıdan yorumlanması için bilimsel temelin oluşturulmasında bu, önemli bir aşama olmuştur.^{66,67}

2.2.2. Referans Sınırları

Referans grubun değerlerinin dağılımından hesaplanan referans aralığının sınırlarını belirleyen değerlerdir.⁶⁸

2.2.3. Alt ve Üst Referans Sınırı

Referans aralığı, referans gruptan elde edilen değerlerin istatistiksel olarak merkezi % 95'ini oluşturan değer aralığıdır. Bu aralıktaki % 2.5 değerine “alt referans sınırı” ve % 97.5 değerine ise “üst referans sınırı” denir.⁶⁸

2.2.4. Referans Toplum

İstatistiksel bir araştırmada, genelde varsayılan ve hedef alınan, fakat ulaşılması çok zor olan kitleyi temsil eder. İdeal olan bütün toplumun muayene edilmesi ve muayene sonrasında kriterlere uygun olanlar arasından referans bireylerin rastgele bir şekilde

seçilmesidir. Ancak bu yöntem pratikte mümkün değildir. Referans toplum, hastane dışı yani sağlıklı varsaydığımız toplum ya da hastane toplumu olabilmektedir. Klinik laboratuvarların referans toplumu olarak kendilerine başvuru yapmış kişileri kullanmasının, hitap ettikleri toplumu daha iyi yansıtabileceğini öne süren araştırmaların çoğu klinik ile uyumlu ve anlamlı referans aralıkları sunmuşlardır.^{18,20,69}

2.2.5. Referans Örnek Grubu

Referans toplumu temsil etmek üzere belirli kriterlerde seçilmiş, belirli sayıdaki referans bireylerden oluşan topluluktur.⁵

2.2.6. Referans Dağılımı

Referans bireylerin ölçümlerinden elde edilen değerlerin dağılımıdır.

2.2.7. Klinik Karar Sınırı

Sağlıklı bireylerle hasta popülasyonundan elde edilmiş verilerin incelenmesiyle belirlenmiş ve bireye klinik tanı koyma sürecinde kullanılan değerlerdir.¹⁰ Bir klinik karar değeri, referans sınırları içerisinde olabileceği gibi dışında da olabilir. Aynı şekilde referans sınırları içerisinde birden fazla klinik durum için karar verme sınırı olabilir.

2.2.8. Referans Değer

NCCLS ve IFCC'nin dokümanlarında “referans değer” ile ilgili iki ayrı tanımlama yapılmıştır.^{4,70} NCCLS “referans değer” terimini, “bir referans bireyde belirli bir fenotipin gözlenmesi ya da ölçülmesi yolu ile elde edilen değerdir” şeklinde tanımlamıştır. IFCC ise “referans değer” terimini, “belirli bir kantite için tanımlanmış tek bir bireyden veya gruptan elde edilen değerlerdir” şeklinde tanımlamıştır. IFCC “referans değer” ile ilgili yaptığı bu tanımlamanın kullanılmasını tavsiye etmiştir.

2.2.9. Referans Birey

Belirli bir referans toplumunun en iyi biçimde temsil edilebilmesi için, iyi tanımlanmış kriterler temelinde seçilmiş, ölçümün gerçekleştirildiği birey olarak tanımlanmıştır.

2.2.10. Referans Aralığı

Referans bireylerden oluşturulmuş örnek referans toplumundan belli istatistiksel yöntemler ile elde edilen referans değerlerinin tanımlandığı aralıktır.⁷¹ Referans aralık çalışmalarında referans popülasyonundan referans bireylerin seçimi, çeşitli metotlar kullanılarak yapılmaktadır.

2.3. Referans Aralıklarını Belirleme Aşamaları

- Referans aralık belirleme yönteminin seçilmesi
- Referans bireylerin seçilme yönteminin belirlenmesi
- Referans aralığını verecek analitlerin özelliklerinin belirlenmesi
- Laboratuvar koşullarının ve analitik sistemlerin düzenlenmesi
- Verilerin toplanması
- Verilerin istatistiksel analizlerinin yapılması ve değerlendirilmesi
- Referans aralıkların hesaplanması

2.3.1. Referans Aralık Belirleme Yönteminin Seçilmesi

Kullanılacak referans yöntemdeki bireyler açık ve ayrıntılı olarak tanımlanmalıdır. Tüm laboratuvar sonuçları yeterli analitik kontrol altında mümkün olduğu kadar yüksek derecede standardize edilmiş yöntemle elde edilmelidir.

2.3.2. Referans Bireylerin Seçilme Yönteminin Belirlenmesi

Referans aralık analizi yapılırken en zor aşama bireylerin ya da sonuçların seçilirken uygulanacak kriterlerin belirlenmesidir. Referans bireyler belirlenirken, analize

seçilirken, seçim kriterleri ve dışlama kriterleri iyi tanımlanmalıdır. Genel olarak referans bireylerin seçilme yöntemleri şu şekildedir:

- Bireye-popülasyona dayalı
- Direkt-indirekt
- Test öncesi örnekleme (priori)-test sonrası örnekleme (posteriori)
- Rastgele-rastgele olmayan

Referans değer, belirlendiği kaynağına göre “bireye dayalı” ve “popülasyona dayalı” olmak üzere iki tiptir.⁷²

2.3.2.1. Bireye Dayalı Referans Aralıklar

Herhangi bir hastalık taşımayan bir bireyin farklı zamanlarda yaptırdığı testlerin sonuçları farklılık gösterebilir. Bu durumun 3 temel nedeni; Kişinin biyolojik varyasyonu ve analitik süreçlerden kaynaklanan preanalitik ve analitik varyasyonlardır.¹⁰

Bazı testlerin birey içi değişkenliği düşük olabilir. Bu gibi durumlarda kişinin farklı zamanlarda yaptırdığı iki test arasında belirgin bir fark olsa dahi, her iki testin sonucu toplumun referans aralığının sınırları içinde kalabilir ve bu yüzden gözden kaçırılabilir. Referans aralıkları toplumun büyük bir kısmını kapsadığından referans aralıkların dışında kalan sonuçların içinde sağlıklı bireylerin varlığının göz ardı edilmemesi gerekmektedir.⁷²

2.3.2.2. Popülasyona Dayalı Referans Aralıklar

Hedef toplumun, belirli kriterlere göre seçilen referans bireylerinden sağlanan verilerle oluşturulan referans aralıklardır.⁷²

IFCC ve NCCLS’in referans değerlerinin belirlenmesi ilgili standartları referans bireylerin Direkt yöntemle seçilmelerini önermektedir. Ancak, yüksek maliyetli ve pratiğinin de zor olması nedeniyle başka yollar da önerilmektedir.^{5,10}

2.3.2.3. Direkt Örneklem Yöntemi

Direkt yani doğrudan örneklem yöntemi, bireylerin ana toplumdaki tanımlanmış kriterlere göre belirlenmesidir. IFCC ve NCCLS' in referans değerlerinin hesaplanmasıyla ilgili standartları, referans bireylerin doğrudan örneklem ile seçilmelerini tavsiye etmektedir. Bu yöntemde, öncelikle saptanmış kriterler doğrultusunda hazırlanan anket formları doldurulur ve daha sonra bireylerin numuneleri uygun koşullarda alınarak analizleri gerçekleştirilir.⁵

2.3.2.4. İndirekt Örneklem Yöntemi

Doğrudan örneklem yönteminin, uygulama aşamasındaki bir takım zorluklarının olması araştırmacıları başka yöntemleri kullanmaya yöneltmiştir. Bu konu ile ilgili olarak ilk defa direkt örneklem yerine Ferré-Masferrer ve ark.²³ hasta verilerinin istatistiksel olarak aşırı karışık ve geniş dağılım göstermediği takdirde, referans aralığı belirlenmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Daha sonra yapılan bazı çalışmalarda, klinik laboratuvarların kendi hasta popülasyonunu referans popülasyonu olarak almalarının daha güvenilir olabileceğini öne süren araştırmacılar da olmuştur.¹⁰

Bu yöntemde, bireylere ait laboratuvar sonuçları bireyler dikkate alınmaksızın veri tabanından belli kurallar çerçevesinde ayıklanarak kullanılmaktadır.⁷³ Doğrudan örneklem yöntemiyle kıyaslandığında, bu yöntemin daha kolay ve pratik bir yöntem olduğu görülmektedir. Fakat toplanan veriler doğrudan örneklem yönteminden daha farklı istatistiksel işlemlerden geçmektedir.

İndirekt Örneklem Yönteminin Temel Prensipleri

İndirekt örneklem tekniğinde laboratuvar bilgi sisteminden elde edilen veriler referans aralıklarının belirlenmesinde kullanılır. Klinik laboratuvarlarda elde edilen sonuçların büyük çoğunluğu tamamıyla Gaussian bir dağılım göstermektedir. Bazı sapmalar olsa bile, dağılımları genellikle normale yakındır. Çok fazla sayıda sapma veya

herhangi bir gruplaşma olmamak şartı ile bu dağılımın içerisinde gerçekte Gaussian tipe uyan bölümler belirlenerek; bu bölümler hesaplamada kullanılabilir. Bu maksatla, dolaylı örnekleme yöntemi ile toplanan verilerin değerlendirilmesinde kullanılmak amacıyla farklı istatistiksel analiz metotları geliştirilmiştir. Bu metotlar bilişim sistemlerinin yardımı ile kolaylıkla uygulanabilir hale gelmiş ve yaygınlaşmışlardır.^{16,17,74} Fakat bu yöntemlerin de bazı dezavantajları vardır. Bazı bilim insanları tarafından öne sürülen bu dezavantajlardan biri, hesaplanan referans aralıkların o hastanenin belli bir dönemini yansıtmaması ve değerlerin hastaneden hastaneye farklılıklar gösterebilmesidir.⁷⁵ Bir diğer dezavantajı bu teknikte muhtemel nisbi sağlıklı bireylerden elde edilmiş verilerin kullanılmasıdır. Fakat bu teknikte sağlıklı bireylerden elde edilen değerlerin dışlanması ve hastane datalarından referans değerlerin elde edilmesinde kullanılan birçok istatistiksel metot kullanılmaktadır.⁵

Dolaylı örnekleme yöntemiyle veri toplanmasında da uyulması gereken bazı önemli noktalar bulunmaktadır. Bu önemli hususlar aşağıda sırasıyla maddeler halinde verilmiştir:⁷⁶

1. Kullanılan örnek dağılım, referans popülasyonunun mutlaka bir parçası olmalıdır. Bunun için en uygun metot, hasta verileri belirlenirken hastane kayıtlarının kesinlikle kullanılması gereğidir.

2. Örnek referans dağılımı ünimodal olmalıdır. Fakat dağılım yatık bir dağılım olabilir. Dağılımın içinde homojeniteyi bozacak gruplaşmalar olmamasına dikkat edilmelidir.

3. Verilerin yoğunlaştığı alan, dağılımın moduna uygun olmalıdır. Moddan uzak alanlardaki birikmeler çok büyük olasılıkla hastalıkla ilişkili verilerdir.

4. Total ve örnek dağılım modları birbirlerine yakın olmalıdır.

Anlaşıldığı üzere dolaylı yöntem, doğrudan yöntemden daha kolaydır. Sonuçta herhangi bir veri belirlenmesi işlemi yapılmamaktadır. Fakat dağılımda bimodal görünüm oluşursa, hasta tanısı ve demografisi kullanılarak muhtemel gruplaşmalar kesinlikle engellenmelidir. Referans değerler saptanırken projenin amacına göre bu örneklem stratejilerinden biri, diğerlerine üstün gelebilir. Buna göre hangi yöntemin kullanıldığı, uygulamadan sonra belirtilmelidir.⁷³

2.3.2.5. Priori Yöntem

Analiz yönteminin önceden çok iyi bilindiği ve bu konuyla ilgili çok sayıda bilginin elde mevcut olduğu durumlarda ileriye dönük olarak uygulanan bir yöntemdir. Bireyler mevcut bilgilere göre önceden tanımlanmış kriterlere göre seçilir ve örnekler toplanır.

2.3.2.6. Posteriori Yöntem

Analiz yöntemi hakkında detaylı bilginin bulunmadığı ve ya toplanamadığı durumlarda uygulanan bir yöntemdir. Bireylerden örnekler toplanıp, analizi yapıldıktan sonra, ayırma işlemleri yapılır ve alt gruplara ayrılır.

2.3.2.7. Rastgele Yöntem

Grup üyelerinin tamamının referans grubunun kriterlerini sağladığı varsayılarak uygulanan bir yöntemdir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edilip değerlendirildikten sonra, referans aralıklar hesaplanır.

2.3.2.8. Rastgele Olmayan Yöntem

Grup üyelerinin referans grubun kriterlerini sağlayıp sağlamadığının önceden saptandığı bir yöntemdir. Çoğunlukla tercih edilen yöntemdir.

2.3.3. Referans Aralığını Verecek Analitlerin Özelliklerinin Belirlenmesi

Referans aralığı belirlenecek analitlerin, ölçüm yöntemlerini etkileyen tüm faktörlerin belirlenmesi ve tüm aşamaların kontrol edilmesi gerekir.

2.3.4. Laboratuvar Koşullarının ve Analitik Sistemlerin Düzenlenmesi

Testi etkileyebilecek tüm preanalitik, analitik ve postanalitik süreçler standardize edilmelidir. Laboratuvar sonuçlarının doğru ve geçerli olabilmesi için gerekli tüm laboratuvar süreçleri uygulanmalıdır. Testlerin izlenebilirliği günlük kalite kontrol verileriyle kanıtlanmalıdır.

2.3.5. Verilerin Toplanması

Referans aralık belirlenirken analiz edilen parametreye göre kullanılacak alt gruplar belirlenmelidir. Referans aralıklarını belirlerken elimizde bulunan verileri gruplara ayırmamız gerekmektedir. Dağılımlardaki gruplaşmaya veya alt gruplara ayrılmaya neden olan faktörler arasında; yaş, cinsiyet en fazla olmak üzere ırk, coğrafi yerleşim, gebelik, kan grubu, açlık ve tokluk, sigara ve alkol, beslenme alışkanlığı, egzersiz, örnek alım saati, postür ve menstruel siklus yer almaktadır.^{2,77}

Bu faktörler NCCLS'in dokümanında belirtilmiştir.^{70,78} Dikkat edilirse bazı faktörler dışlama kriterleri ile aynıdır. Bu faktörlerin etkileri değişebilmektedir. Yaş ve cinsiyet en fazla kullanılan kriterlerdir. Bir çalışmada dışlama kriteri kabul edilen bir faktör başka bir çalışmada dağılımları gruplara ayırmada kullanılabilir.

İyi hazırlanmış formlar kullanılarak hastane şartları da göz önünde bulundurularak, bu kriterler tek tek uygulanabilir.^{77,79,80}

2.3.6. Verilerin İstatiksel Analizlerinin Yapılması ve Değerlendirilmesi

2.3.6.1. Referans Aralığı Tayininde Veri Sayısının Önemi

Referans grupları değerlendirilirken bu konuda dikkat edilmesi gereken bir konu da elimizdeki verilerin sayısıdır. Elimizdeki veri sayısının fazlalığı kullandığımız metodumuzun güvenilirliğini artıran genel istatistiksel bir kuraldır.^{81,82} Özellikle uç değerler veri sayısının azlığında dominant hale geçerler ve böylece dağılıma olumsuz etkide bulunurlar. Dağılımın iyi tanımlandığı Gaussian dağılımlarda kullanılan veri sayısı

daha düşük olabilir. Bu durumda düşük veri sayıları oldukça anormal sonuçlar verebilmektedir.⁸³

Hastane verileri kullanılarak gerçekleştirilen referans aralığı araştırmalarında veri sayısının ne kadar olması gerektiği hakkında şimdiye kadar net bir görüş bulunmamaktadır. Fakat yapılan bir araştırmada “Yeteri kadar birikmiş veri” ifadesi kullanılmıştır.²⁶ Gerçekten de birçok hastanenin gelişmiş bilgisayar programları sayesinde birkaç yıllık yeteri kadar birikmiş verisi zaten mevcuttur. Bu konuda dikkat edilmesi gereken konu ise hastane verileri hasta popülasyonunu yansıttığı için bu veriler içinde çok sayıda aşırı uç değerler ihtiva ederler. Bu nedenle aşırı uç değerlerin çok iyi analiz edilmesi ve ardından veri setinden çıkarılması veya iyi filtre edilmesi gerekir.

2.3.6.2. İstatistiksel Analizde Uç Değerlerin Önemi

Elimizdeki veri kitlesinin Gaussian dağılıma uymasını ve modülasyona uğramamasını arzu ederiz. Fakat biyolojik veriler sıklıkla Gaussian dağılımına uymamaktadır ve sağa ya da sola yatık dağılımlar şeklinde ortaya çıkmaktadır. Elimizde son derece iyi ayıklanmış bir veri kitlesi bulunsa bile uç değerlerin bulunabileceğini hatırdan çıkarmamak gerekir. Özellikle hastane verilerinde hastalardan alınan verilerin sonuçları da olabileceği için yüksek olasılıkla uç değerler bulunabilir. Referans kitlesinin dağılımında uç değerlerin tespit edilmesi ve çıkarılması için Dixon metodu, blok prosedürü, standart sapmanın kullanılması, grubbs T istatistiği ve boxplot çizimlerinde cutt-off bulma yaklaşımı gibi bazı metotlar vardır.¹⁷

2.3.6.3. Referans Kitlesinin Dağılım Tipinin Değerlendirilmesi

İstatistiksel analiz yapmadan önce referans kitlesinin dağılım tipinin saptanması gerekmektedir. Referans kitlesinin dağılım tipi ya Gaussian ya da non-Gaussian’dır. Dağılım tipinin saptanması referans kitlesine uygulanacak referans aralığı saptama yönteminin hangisi olacağının bilinmesi açısından son derece önemlidir. Çünkü

Gaussian dağılımlarda parametrik, non-Gaussian dağılımlarda ise non-parametrik yöntemler kullanılmaktadır.

Normal dağılıma uygunluğun saptanması değişik istatistiksel metotları kullanmayı gerektiren bir durumdur. Bu metotlar, günümüzde bazı bilgisayar programları tarafından desteklenip kolaylıkla uygulanabilir hale getirilmiştir. Referans aralığının belirlenmesinde en çok kullanılan normal dağılıma uygunluğun test edildiği yöntemler şunlardır:

- Normal dağılıma uygunluk testleri: Chi-square testi (χ^2) ve Kolmogorow-Smirnov (K-S)
- Katsayı tabanlı testler: Yatıklık katsayısı ve basıklık katsayısı' dır.

Bu testlerin dışında bir de Shapiro-Wilk testi bulunmaktadır. Bu testin, K-S testinden tek farkı sadece veri sayısı ihtiyacının farklı olmasıdır. Shapiro-Wilk testi, K-S testine göre daha düşük veri sayılarında iyi sonuçlar vermektedir. IFCC, normalite uygunluk testlerinin kullanılmasının daha uygun olduğunu ileri sürmektedir. Eğer transformasyon yapıyorsa, bu şartlarda dağılımdaki değişimin, katsayı tabanlı testler ile takip edilmesini tavsiye etmektedir.⁴

2.3.6.4. Veri Transformasyonu

Veri transformasyonu yöntemi, Gaussian forma uymayan dağılımlara uygulanan bir yöntemdir. Bu tip dağılımlarda parametrik yöntemlerin kullanılması büyük hatalara yol açmaktadır. Fakat veri transformasyonu ile dağılım Gaussian forma yaklaştırılabilir. Tabii bu yaklaştırma da belli ölçüde bir hata payı içereceğinden, transformasyon sonrası dağılımın tipi yeniden test edilmelidir. Yeni ortaya çıkan verilerin oluşturduğu dağılımda, yatıklık ve basıklık katsayılarına bakılarak değerlendirmenin yapılması uygun olur. Veri transformasyonu, “logaritmik transformasyon”, “karekök normalizasyonu” ve “trigonometrik transformasyon” gibi iki farklı metotla yapılmaktadır. Bu yöntemlerin içinde en yaygın olarak kullanılanı logaritmik transformasyon yöntemidir. Bunların

dışında değişik birçok normalizasyon şekli de bulunmaktadır. Daha önceden de belirtildiği gibi Gaussian olmayan dağılımlar sağa (negatif yatıklık) ya da sola (pozitif yatıklık) yatık dağılımlar halinde çıkarlar. Ayrıca, oldukça dik (pozitif basıklık) ya da oldukça basık (negatif basıklık) şeklinde de görünebilirler. Pozitif yatıklıkta çoğunlukla logaritmik transformasyon ya da karekök normalizasyonu kullanılır. Her ikisi de uygulanması oldukça basit yöntemlerdir ve herhangi bir tablolama yöntemi ile veri transformasyonu rahatlıkla yapılması mümkündür.^{2,25}

Bu sınıflandırma çok genel bir sınıflandırmadır, bunların yanında her iki yöntem de kendi içinde birçok modifiye yöntemler içerir. Bu modifikasyonların amacı, yöntemin gücünün artırılması ve daha düşük veri miktarlarında anlamlı sonuçlar üretilebilir hale getirilmesidir.²

2.3.6.5. İstatistik Analizleri

Referans limitleri belirlemek için genel istatistiksel yöntemler, parametrik ve parametrik olmayan prosedürlerdir.

Verilerin dağılımı normal dağılıma uyuyorsa parametrik yöntemler kullanılır ve nonparametrik yönteme göre sonuçları daha kesindir. Dağılım Gaussian değilse, verilerin logaritmik transformasyonu yapıldıktan sonra parametrik yöntemle hesaplama yapılabilir. Parametrik yöntem; ortalama, standart sapma (standard deviation, SD) ve medyan gibi dağılımın şeklini tanımlayan belli parametreler tarafından tanımlanmaktadır.

Parametrik olmayan yöntem çok daha basittir. Güvenilir referans aralıkların geliştirilmesindeki en önemli husus, kullanılan istatistiksel yöntem olmayıp referans bireylerin uygun şekilde seçilmesi, yeterli sayıda katılımcı test edilmesi ve preanalitik hata kaynaklarından kaçınılmasıdır. Bu nedenle, gerekli istatistiksel ve bilgi işlem yeterliliğine sahip bir laboratuvar, parametrik bir metodu kullanmakta özgür olmasına rağmen, parametrik olmayan yöntem kullanması daha çok önerilmektedir.⁷¹ Parametrik

olmayan yöntemlerde geniş referans grupları kullanılmalıdır (en az 120) ve uç değerlere daha hassas olması nedeniyle iyi ayıklama yapılmalıdır.

Non-parametrik yöntemlerin en büyük avantajı non-Gaussian dağılımlarda işleyebilir olmalarıdır. Bu sayede referans bireylerinin seçimi daha da kolaylaşmakta ve özellikle hastane veri tabanlarında kayıtlı hasta test sonuçları rahatlıkla kullanılabilir. Öyle ki, hasta örnekleri dolaylı örnekleme yöntemi ile hiç ayıklanmaksızın olduğu gibi alınmakta ve istatistiksel olarak değerlendirmeye tabi tutulabilmektedir. Örneklemin tipi ne olursa olsun, eğer dağılımımız non-Gaussian çıkıyorsa, o zaman non-parametrik yöntemleri kullanmamız gerekmektedir.

Parametrik yöntemlerde normal dağılıma uygunluk değerlendirildikten sonra aşırı uç değerler, aritmetik ortalamanın ± 3 SD veya ± 4 SD sınırları dışındaki değerler atılır.

Nonparametrik istatistik kullanımlarında ise uç değerlerin ayıklanmasında NCCLS-C28-A2 D/R istatistiği olarak adlandırılan Dixon istatistiğini önermektedir. Bu kurala göre D gözlemlenen aşırı en büyük ya da en küçük değerden bir sonraki en büyük ya da en küçük değer çıkarılmasıyla elde edilen değer, R aşırılık dahil tüm veri aralığındaki en üst ve en alt değer arasındaki mutlak farktır. Bu hesaplanan D/R değeri > 0.33 ise değer uç değer olarak kabul edilir hesaba katılmaz.

Tolerans, prediction ve interpersentil aralık olmak üzere üç tip referans aralık önerilmektedir. İntersentil aralık (yüzde tahmini yöntemi), IFCC tarafından kullanılması en çok tavsiye edilen yöntemdir.⁸⁴ Yüzde tahmini yöntemi, alt ve üst değerleri kesin bildirmesi açısından daha fazla tercih edilmektedir; bu nedenle modifiye yöntemlerin çoğu bu yöntemi baz almaktadır. Burada dağılımın % 95'ini içine alan yani % 2.5 ile % 97.5' e tekabül eden noktaları aramaktayız.

Parametrik Yöntemlerde:

Simetrik dağılımdan dolayı aşağıdaki formüllerle hesaplanır.⁸⁵

Alt sınır (2.5 yüzdelik)= (aritmetik ortalama)-(1.96xSD)

Üst sınır (97.5 yüzdelik)= (aritmetik ortalama)+(1.96xSD)

Nonparametrik Yöntemlerde:

Alt sınır (2.5 yüzdelik)= $0.025 \times (n+1)$

Üst sınırı (97.5 yüzdelik)= $0.975 \times (n+1)$

“n” veri sayısını belirtmektedir. Öncelikle veriler en küçük değerden başlayarak büyüklüklerine göre sıralanır; yukarıdaki sonuçlar ise sıra numarasına tekabül ederler. Bazı durumlarda küsuratlı rakamlar çıkabilir, bu durumda rakamlar yuvarlanarak küsurat kaldırılır. Alt değer için 12.5 sonucu örnek verilecek olursa, yuvarlanarak 13 olur ve 13. sıradaki veri dağılımının alt noktası olarak tanımlanır, aynı şekilde üst nokta da tayin edilir.^{86,87}

2.3.6.6. Alt Grupların Değerlerinin Karşılaştırılması

Referans aralıklar belirlenirken bir diğer önemli durum farklara neden olabileceği düşünülen fizyolojik temelli alt sınıflama yapmanın gerekliliğidir.

En önemli gruplama kriteri, her alt grubun referans aralıklarının alt gruplama yapılmadan önceki tüm verilerle belirlenen referans aralıklarının alt ve üst limitlerinin dışında kaldığının incelenmesidir. Normal dağılım gösteren verilerde eğer alt grup ortalamaları birleşik grubun alt ve üst limitleri arasındaki farkın % 25'ini aşması durumunda gruplama yapılır (Sinton metodu). Yine büyük SD içeren gruba ait SD 'nin, küçük SD içeren gruba ait SD'ye oranının 1.5'ten büyük olması durumunda alt gruplar arası ortalamalara bakılmaz ve gruplama yapılır (Harris Boyd metodu).⁸⁸ Gruplar arasında fark tespit edilmişse alt gruplara göre referans aralık hesaplanır. Bunun için parametrik verilerde iki grup karşılaştırmalarında student's-t testi (İndepedent samples t-test), çok sayıda alt grup varsa varyans analizi yapılır. Non-parametrik verilerde ise sıra toplama

testi; 2 gruptan oluşan karşılaştırmalarda Wilcoxon (Wilcoxon rank sum test), çoklu grup karşılaştırmalarında ise Kruskal Wallis testi kullanılır.⁸⁹

2.3.7. Referans Aralıkların Hesaplanması

Referans aralığı, verilerin dağılımı ve kişilerin sayısına göre hesaplanır ve verilerin normal dağılıma uygunluğuna bakılır. Normal dağılıma uyan verilerde genel hesaplama yapılır. Genel hesaplamada referans limit değerleri, $\text{mean} \pm \text{SD} \times 1.96$ şeklinde hesaplanır ve örnek sayısı 30'dan az olmamalıdır.

Klinik Laboratuvar ve Standartları Enstitüsü (Clinical Laboratory and Standards Institute: CLSI) ve IFCC, nonparametrik yöntemi önermektedir ayrıca örnek sayısının az olduğu durumlarda dağılıma bakılmaksızın, Robust ve Bootstrap yöntemlerinin de kullanılabileceğini bildirmişlerdir.⁴

Robust metodu, genel hesaplama yönteminde olduğu gibi verilerin normal dağılım gösterdiği durumlarda kullanılır. Simetrik bir dağılımın orta değerinin kestirimine dayanır ve verinin konum ve yayılımını kullanır. Düşük örneklem sayılarında tercih edilir ve parametrik ve nonparametrik yöntemlerine göre daha güvenilir sonuç verir.⁹⁰

Bootstrap metodu, belli sayıdaki verilerden rastgele seçilen verilerin tekrar tekrar seçilmesi yöntemiyle oluşturulan yeni grubun ortalamalarının hesaplanmasına dayanır. Bu şekilde yapılan örnekleme işlemi defalarca kez tekrarlanabilir.^{91,92} Bu yöntemin en önemli avantajı, düşük sayıdaki örnek hacmi ile nonparametrik dağılımda % 90 güven aralığıyla referans aralığın hesaplanmasıdır. Veri sayısının düşük olduğu ve normal dağılım göstermediği durumlarda tercih edilir.⁹³

Nonparametrik persentil metodu, IFCC ve CLSI tarafından tavsiye edilmiştir. Persentil, örneklem içerisindeki gözlemlenen değerlerin alt ve üst sınırlarının belirlenmesinde kullanılır. Laboratuvar değerlerinde kabul edilen alt sınır 2.5 persentil ve üst sınır 97.5 persentildir. Veriler her persentilde bulunma sıklığına göre düzenlenir ve

güven aralığının oluşturulmasında kullanılır. Veri sayısının 120'den az olmaması gerekir.^{85,92,94} Bu yöntemin çok sayıda avantajı vardır. Örneğin, veriler asimetrik olsa bile persentiller, uç değerlerden etkilenmeden hesaplanabilir.⁹⁵

2.3.7.1. Referans Aralığı Sınırlarının Belirlenmesi

Referans aralıklar, alt ve üst limitlerle beraber verilir. Birçok analitlerde alt ve üst limitler, referans popülasyonun sonuçlarının dağılımının % 2.5 ve % 97.5 persentilleri olarak verilir. Bazı durumlarda medikal öneme bağlı olarak çoğunlukla sadece % 97.5 persentil olan üst referans limit verilebilir.⁵

2.3.7.2. Referans Aralıkların Transfer Edilebilirliği

Bütün bu işlemlerin klinik laboratuvarlar tarafından yapılması gerekmektedir. Bu işlemler oldukça masraflı ve bu işlemlerin yapılması için uzun bir süreç gerekebilir. Bu durumun daha da kolaylaştırılması amacıyla bazı laboratuvarlar, başka bir laboratuvarda hesaplanmış ya da üretici firma tarafından verilen referans aralıklarını kendi laboratuvarlarına transfer edilmesi yoluna gitmekte ve sağlık hizmeti sunarken bu referans aralıkları kullanmaktadır. Başka bir laboratuvarda hesaplanmış verilerin kullanılabilmesi için aşağıdaki şartların sağlanması gerekmektedir.⁶⁸ Bu şartlar:

- Her iki laboratuvar verileri de aralarında analitik sapma bulunma durumu açısından kontrol edilmelidir.
- Örnek alınmadan önce bireylerin hazırlanması, örneklerin alınması ve işlenmesi her iki laboratuvarda standardize programlarla yapılmalıdır.
- Her iki laboratuvarın analitik performanslarının birbirleriyle uyumlu olması gerekir.
- Popülasyonlar kesinlikle tanımlanmalı ve bu popülasyonların özellikleri birbirleriyle uyumlu olmalıdır.

Ancak başka hastanelerin veya kit üretici firmaların referans aralıklarının kullanılması işlemi belli bir süre uygulanmalı ve yeterli miktarda verinin toplanması ile klinik laboratuvarlar yaptıkları testler için kendi referans aralıklarını belirlemelidir. Referans aralığı transferinde yukarıda verilen şartlara uyulması gerekmektedir. Bu şartlar, NCCLS' nin ilgili dokümanında ayrıntılı olarak verilmiştir.^{2,70}

2.3.7.3. Referans Aralıkların Sunumu

Klinik laboratuvarlar tarafından hesaplanan referans aralıklarını kendi laboratuvarlarına uygulanmasını sağladıktan sonra ek olarak, raporda çıkan sonucun referans aralığına göre yüksekliği ya da düşüklüğünü de gösterebilmelidir. Sonuçlar, referans aralıkları ile aynı sırada ve o test için kullanılan birimlerle birlikte verilmelidir. Eğer referans aralıkları, cinsiyet ve yaş gibi faktörlere göre ayrı ayrı belirlenmiş ise bu durumda raporda da referans aralıkları bu faktörlere göre gruplandırılarak ta verilmelidir.²

3. MATERYAL VE METOT

Bu tez çalışması, T.C. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 16.10.2015 tarihli B.30.2.ATA.0.01.00/178 sayılı kararı ile onaylanmıştır. İzin formu EK-2'te verilmiştir.

Bu tez çalışması için retrospektif olarak A priori örnekleme yöntemi kullanılarak 01.10.2014-01.10.2015 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürlüğü Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılmış 67.513 adet veri kullanılmıştır. 22 parametre hemogram test sonuçlarından, 18-85 yaşları arasındaki sağlıklı bireylere ait sonuçlar dâhil edilmiştir

Hastane veri bankasından (ENLİL-LBYS Mergen tech Laboratuvar Bilgi Sistemi Eroğlu Yazılım San. Tic. Ltd. Şti. Eskişehir, Türkiye) her teste ait veri, cinsiyet, yaş aralığı, tarih, dışlama ve dahil etme kriterleri kullanılarak oluşturulan SQL yazılım programı ile veriler Microsoft excel dosyası olarak indirilmiştir.

Laboratuvar dataları alınırken mükerrer ve patolojik sonuçları elimine etmek için yatan hastalar, acil, hemodiyaliz, organ nakli, yoğun bakım klinikleri ve gebe ve endokrin polikliniğinden gelen istem sonuçları çalışmaya dahil edilmemiştir.

Kan alma işlemi, Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Merkezi Kan Alma Ünitesinde deneyimli personeller tarafından vacutainer kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm numuneler pnömotik sistemle laboratuvara taşınmıştır ve örneği etilendiamin tetraasetik asit içeren hemogram tüpüne alınan 2 mL venöz kan numuneleri aynı günde, kan alımını takiben 1 saatlik süre içerisinde çalışılmıştır. Hemogram testlerinin analizleri için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında bulunan LH 780 (Beckman Coulter Diagnostics, California, USA) tam otomatik kan sayım cihazı kullanılmıştır. Hemogram parametrelerinin kullanılan cihazdaki ölçüm yöntemleri, alt ve üst okuma limitleri Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Hemogram parametreleri ölçüm yöntemleri ve alt ve üst okuma limitleri

Analit	Yöntem	Alt ve Üst Okuma Limitleri	Birim
WBC	Coulter Prensibi*	0.00- 900.00	10 ³ cells/ μ L
Hb	Fotometrik	0.0-99.9	g /dL
PLT	Empedans	0.00-5000	10 ³ cells/ μ L
RBC	Coulter Prensibi*	0.00-20.00	10 ⁶ cells/ μ L
HCT	Hesaplama	0.00-99.9	%
MCV	RBC histogramı	0.00-300.00	fL
MCH	Hesaplama	0.0-99.9	pg
MCHC	Hesaplama	0.0-99.9	g/dL
RDW	RBC histogramı	0.0-99.9	%
MPV	PLT histogramı	0.0-99.9	fL
NE%	VCS**	0.00-100.00	%
NE#	Hesaplama	0,00-900,00	10 ³ cells/ μ L
LY%	VCS**	0.00-100.00	%
LY#	Hesaplama	0.00-900.00	10 ³ cells/ μ L
MO%	VCS**	0.00-100.00	%
MO#	Hesaplama	0.00-900.00	10 ³ cells/ μ L
BA%	VCS**	0.00-100.00	%
BA#	Hesaplama	0.00-900.00	10 ³ cells/ μ L
EO%	VCS**	0.00-100.00	%
EO#	Hesaplama	0.00-900.00	10 ³ cells/ μ L
PDW	Hesaplama	0.0-99.9	%
PCT	Hesaplama	0.00-9.999	%

*Coulter yöntemi; Hücreler iletken bir sıvı ile beraber küçük bir aralıktan geçirilerek hücrelerin elektrik direncindeki oluşturduğu değişiklikleri tespit ederek ve ölçerek hücrelerin sayıldığı ve boyutlandırıldığı yöntemidir.

**VCS: Volume (empedans); Hücre büyüklüğünün belirlenmesi, Conductivity (iletkenlik); Çekirdek büyüklüğünün, çekirdek yoğunluğunun, çekirdek/sitoplazma oranının belirlenmesi, Scatter (ışık saçılımı) ise; lazer ölçümü ile hücre granülaritesinin belirlenmesidir.

3.1. Analitik Sürecin Değerlendirilmesi

Hemogram analizleri rutin olarak her sabah ticari olarak sağlanan 3 seviye iç kalite kontrol örnekleri okutularak yapıldı. İç kalite kontrol sonuçları $\pm 2SD$ dışında olanlar kabul edilmedi. $\pm 2SD$ dışında olan kalite kontrol sonuçları kalite kontrol tekrarı, kalibrasyon, kit değişimi ve kontrol değişimi gibi müdahalelerle düzeltildi. Tüm analizler süresince rastgele olarak belli aralıklarla 20 günlük iki seviye iç kalite kontrol sonuçları seçilerek gün içi (within-day) ve günler arası (between-day) varyasyon katsayısı

(coefficient of variation, CV) değerlendirildi. Gün içi ve günler arası CV'ler için kabul edilebilir sınırlar, Westgard WEB sitesinde⁹⁶ belirlenen bireysel CV'nin (CV_I) yarısı olarak belirlendi. Analitik CV'lerimiz Westgard CV_I'lar olan WBC=11.4, RBC=3.2, Hb=2.85, Hct=2.7, MCV=1.4, MCH=1.4, MCHC=1.06, RDW=3.5, PLT=9.1 ve MPV=4.3 değerlerinin yarısının altında idi.

Çalışmaya dâhil edilen hemogram cihazları aylık olarak dış kalite değerlendirme programlarıyla değerlendirildi ve kabul edilebilir sonuçlar alındı.

3.2. Metot

3.2.1. Hastane Verilerinin Referans Aralıkların Belirlenmesi

Laboratuvar verilerinin elde edilmesi ve kullanımı için Ekim 2014 ve Ekim 2015 tarihleri arasında hastanemize polikliniklerden müracaat etmiş ve herhangi bir sistemik hastalığı olmayan hastaların verileri filtreleme işlemine tabi tutularak alınmıştır. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi genelinde kullanılan Enlil yazılım programının laboratuvar bilgi sistemi (laboratory information system, LIS) kısmına yazdırılan ara yüz yazılımı SQL ile sağlıklı bireylere ulaşılmaya çalışılmıştır. Veriler excel ortamında istatistiki analizle hazırlanmıştır. Kriterli tarama şartları aşağıda maddeler halinde verilmiştir.^{10,16,97}

Bunlar:

- Yaş aralığı
- Cinsiyet farklılığı
- Yerleşke
- Poliklinik/ Klinik ayrımı
- Değer sınırlandırması (<, > ve <,>)
- Poliklinik müracaatı ile klinik yatışı olan bireyi reddetme
- Bir ay içinde aynı test çalışılan bireyi hasta kabul edip reddetme
- Numerik olmayan veriyi reddetme

3.2.2. İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu için K-S testi kullanılmıştır. Tüm parametreler normal dağılım göstermediğinden erkek ve kadınlar arasındaki farkın anlamlılığı Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

Yaş grupları arasında ortalamalar açısından farkın anlamlı olup olmadığı Kruskal Wallis testi ile değerlendirilmiştir.

Verilerin uç değerleri Dixon D/R yöntemi ile belirlendi. Cinsiyetler arasında fark olup olmadığı Harris-Boyd yöntemi ile değerlendirildi.

Nonparametrik persentil metodu kullanılarak tüm testler için referans aralık alt limit ve üst limitler belirlendi.

İndirekt örnekleme yönteminde verilerin ayıklanması, grafiklerin çizilmesi ve veri analizleri için lisanslı SPSS (statistical package for the social sciences) programının 20. versiyonu (SPSS Inc., Chicago, USA), Microsoft Excel programı ve Bhattacharya makrosu kullanılmıştır. Veriler ortalama, standart sapma (SD), minimum (min), maksimum (max), referans aralık alt limit ve referans aralık üst limit olarak verilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda 01.10.2014 ve 01.10.2015 tarihleri arasında laboratuvarımızda çalışılmış ve dışlanma kriterleri uygulanarak elde edilmiş toplam 67.513 hemogram test sonucu değerlendirildi. Her bir parametre Dixon D/R kuralı ile değerlendirilerek en küçük ve en büyük değerler kabul edilebilir olarak alındı. Tüm sonuçları alınan bireyler 18-85 yaş arasında ve $44.06 \pm 16,55$ yaş ortalamasına sahipti. Bu sonuçların 43112'si (% 63.9) kadın ve 24401'i (% 36.1) erkek bireye aitti. Kadınların yaş ortalaması $44.2 \pm 16,66$ (min: 18, max: 85) erkeklerin yaş ortalaması ise 43.83 ± 16.36 (min: 18, max: 85) olduğu belirlendi. TKS parametrelerinin minimum, maksimum, ortalama, standart sapma, varyans değerleri ve Nonparametrik persentil yöntemi ile hesapladığımız referans aralık alt ve üst değerleri Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. TKS parametrelerinin minimum, maksimum, ortanca (25-75. persentilleri) ortalama $\pm$ SD, varyans ve referans aralık alt ve üst sınır değerleri

Test (birim)	n	Min	Max	Ortanca (25-75. persentiller)	Ortalama $\pm$ SD	Varyans	Alt sınır	Üst sınır
WBC (10^3 cells/ μ L)	67513	3.00	14.0	7.50 (6.4-8.8)	7.59 $\pm$ 1.64	2.7	3.8	10.7
RBC (10^6 cells/ μ L)	67513	2.00	10.6	4.91 (4.6-5.2)	4.93 $\pm$ 0.56	0.31	3.83	6
Hb (g/dL)	67490	4.50	24	13.9 (12.9-15.1)	13.90 $\pm$ 1.77	3.12	10.2	17.1
HCT (%)	67501	14.00	75.5	42.9 (39.9-46.3)	42.96 $\pm$ 5.06	25.63	32.5	52.4
MCH (pg)	67492	14.00	88.7	28.7 (27.3-29.9)	28.34 $\pm$ 2.58	6.66	21.8	32.2
MCHC (g/dL)	67491	24.00	82.9	32.4 (31.6-33.2)	32.39 $\pm$ 1.28	1.63	30.2	34.3
MCV (fL)	67490	51.70	128.3	88.3 (84.8-91.2)	87.44 $\pm$ 6.19	38.39	71.1	97.2
PLT (10^3 cells/ μ L)	67008	100.00	997	261 (221-307)	268.27 $\pm$ 71.35	5090.82	150	427
MPV (fL)	67506	5.40	15.9	8.4 (7.8-9.1)	8.50 $\pm$ 0.99	0.98	6.9	10.7
PCT (%)	67506	0.01	1.73	0.22 (0.19-0.25)	0.22 $\pm$ 0.06	0.01	0.13	0.34
PDW (%)	67506	12.80	20.2	16.5 (16.2-16.9)	16.61 $\pm$ 0.57	0.33	15.7	18
MO% (%)	67276	0.20	48.2	7.3 (6.2-8.6)	7.53 $\pm$ 2.2	4.8	4.2	12.4
MO# (10^3 cells/ μ L)	67490	0.01-8.9	128.3	0.5 (0.4-0.7)	0.6 $\pm$ 0.2	0.04	0.3	1
LY% (%)	67513	0.01	88.7	30.1 (24.6-35.4)	30 $\pm$ 8.3	68.24	13.8	46.2
LY# (10^3 cells/ μ L)	67411	0.10	9.1	2.2 (1.8-2.7)	2.3 $\pm$ 0.69	0.48	1	3.7
NE% (%)	67385	1.70	98.1	59.8 (53.9-65.8)	59.9 $\pm$ 9.04	81.74	42.3	77.7
NE# (10^3 cells/ μ L)	67385	0.10	10.7	4.4 (3.6-5.5)	4.6 $\pm$ 1.37	1.87	2.3	7.6
EO% (%)	67385	0.10	75.8	1.6 (0.9-2.6)	2.03 $\pm$ 2.01	4.06	0.1	6.3
EO# (10^3 cells/ μ L)	67385	0.10	6.6	0.1 (0.1-0.2)	0.17 $\pm$ 0.15	0.02	0.01	0.5
BA% (%)	67513	0.01	40.5	0.5 (0.4-0.6)	0.67 $\pm$ 1.00	1.01	0.1	4
BA# (10^3 cells/ μ L)	67513	0.10	2.8	0.1 (0.1-0.1)	0.15 $\pm$ 0.22	0.05	0.01	1.1
RDW (%)	67490	11.1	43.9	13.8 (13.2-14.9)	14.41 $\pm$ 2.07	4.31	12.4	19.9

TKS parametrelerinin cinsiyet açısından farklılığı değerlendirildiğinde, WBC, RBC, Hb, HCT, MCH, MCHC, MCV ve MPV değerlerinin erkeklerde, PLT ve PCT değerlerinin kadınlarda istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlendi. PDW, MO%, MO#, LY%, LY#, NE%, NE#, EO%, EO#, BA%, BA# ve RDW değerlerinde ise her iki cinsiyet arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi (Tablo 4.2. ve Tablo 4.3.). En önemli gruplama kriteri olan, her alt grubun referans aralıklarının alt gruplama yapılmadan önceki tüm verilerle belirlenen referans aralıklarının alt ve üst limitlerinin dışında kalıp kalmadığının incelenmesi yapıldı. (Tablo 4.3.). Kadın ve erkekler arasında fizyolojik temelli alt sınıflama yapmanın gerekliliği ve farklı referans aralık belirleme ihtiyacının anlamlılık değerlendirilmesi tüm parametrelerimiz normal dağılım göstermediğinden Harris Boyd metodu ile yapıldı. Bu metoda göre büyük SD içeren gruba ait SD'nin, küçük SD içeren gruba ait SD'ye oranının 1.5'ten büyük olması durumunda alt grupların referans aralıkları ayrı ayrı hesaplanması gerekmektedir. Ancak bizim kadın ve erkekler arasında anlamlı farklı olan TKS parametrelerimiz için bu değerin 1.5' in altında olduğu belirlendi (Tablo 4.3.).

Tablo 4.2. Her iki cinsiyete ait TKS parametrelerinin karşılaştırılması ve istatistik anlamlılık değerleri

Test	CİNSİYET	N	Mean Rank	p	Z değeri
WBC (10 ³ cells/μL)	Kadın	43112	33231.51	<0.001	-9.314
	Erkek	24401	34685.45		
RBC (10 ⁶ cells/μL)	Kadın	43112	33528.33	<0.001	-4.052
	Erkek	24401	34161.02		
Hb (g/dL)	Kadın	43100	33564.06	0.001	-3.217
	Erkek	24390	34066.13		
HCT (%)	Kadın	43105	33563.0	0.001	-3.332
	Erkek	24396	34083.18		
MCH (pg)	Kadın	43100	33517.48	<0.001	-4.060
	Erkek	24392	34151.17		
MCHC (g/dL)	Kadın	43100	33573.72	0.002	-3.055
	Erkek	24391	34050.43		
MCV (fL)	Kadın	16930	33560.8	0.001	-3.274
	Erkek	9640	34071.85		
PLT (10 ³ cells/μL)	Kadın	42804	33715.14	<0.001	-3.749
	Erkek	24204	33131.99		
MPV (fL)	Kadın	43107	33557.31	0.001	-3.479
	Erkek	24399	34100.13		
PCT (%)	Kadın	43107	33880.98	0.02	-2.259
	Erkek	24399	33528.28		
PDW (%)	Kadın	43107	33752.85	0.99	-0.012
	Erkek	24399	33754.66		
MO% (%)	Kadın	42962	33491.71	0.01	-2.491
	Erkek	24314	33879.77		
MO# (10 ³ cells/μL)	Kadın	43098	33595.87	0.08	-1.754
	Erkek	24392	33864.61		
LY% (%)	Kadın	43112	33749.25	0.89	-0.137
	Erkek	24401	33770.69		
LY# (10 ³ cells/μL)	Kadın	43042	33723.47	0.75	-0.310
	Erkek	24369	33675.14		
NE% (%)	Kadın	43028	33663.77	0.60	-0.519
	Erkek	24357	33744.64		
NE# (10 ³ cells/μL)	Kadın	43028	33676.40	0.76	-0.295
	Erkek	24357	33722.33		
EO% (%)	Kadın	43028	33703.27	0.85	-0.182
	Erkek	24357	33674.85		
EO# (10 ³ cells/μL)	Kadın	43028	33691.29	0.97	-0.035
	Erkek	24357	33696.02		
BA% (%)	Kadın	43112	33707.56	0.37	-0.887
	Erkek	24401	33844.85		
BA# (10 ³ cells/μL)	Kadın	43112	33766.95	0.63	-0.481
	Erkek	24401	33739.43		
RDW (%)	Kadın	43098	33686.23	0.29	-1.051
	Erkek	24392	33850.22		

Tablo 4.3. Kadın ve erkeklere ait TKS parametrelerinin ortalamaları, standart sapmaları, referans aralık alt ve üst limitleri, minimum ve maksimum değerleri ve istatistiki anlamlılık değerleri

Test	Cinsiyet	SD	Alt-Üst Limit	Min - Max	R değeri
WBC (10 ³ cells/μL)	Kadın	1.66	3.8-10.7	3-14	<1.5
	Erkek	1.6	3.8-10.7	3-14	
	Total	1.63	3.8-10.7	3-14	
RBC (10 ⁶ cells/μL)	Kadın	0.56	3.83-6	2-10.61	<1.5
	Erkek	0.56	3.83-6	2-9.63	
	Total	0.56	3.83-6	2-10.6	
Hb (g/dL)	Kadın	1.77	10.2-17.1	4.6-20	<1.5
	Erkek	1.76	10.2-17.2	4.5-22	
	Total	1.77	10.2-17.1	4.5-22	
HCT (%)	Kadın	5.06	32.5-52.3	14-71.5	<1.5
	Erkek	5.06	32.4-52.4	14.9-72.7	
	Total	5.06	32.5-52.4	14-75.5	
MCH (pg)	Kadın	2.49	21.7-32.1	14-73.1	<1.5
	Erkek	2.73	23.4-32.3	15.3-73.1	
	Total	2.58	21.8-32.2	14-88.7	
MCHC (g/dL)	Kadın	1.1	30.2-34.2	24-46.8	<1.5
	Erkek	1.54	30.2-34.4	24-82	
	Total	1.28	30.2-34.3	24-82.9	
MCV (fL)	Kadın	6.21	70.8-97.1	51.7-124.9	<1.5
	Erkek	6.16	71.7-97.4	52.1-128.3	
	Total	6.20	71.1-97.2	51.7-128.3	
PLT (10 ³ cells/μL)	Kadın	70.83	151-427	100-997	<1.5
	Erkek	67.94	147-426	100-950	
	Total	71.35	150-427	100-997	
MPV (fL)	Kadın	0.99	6.9-10.8	5.5-15.9	<1.5
	Erkek	0.98	6.7-10.5	5.4-14.7	
	Total	0.99	6.9-10.8	5.4-15.9	
PCT (%)	Kadın	0.06	0.14-0.35	0.01-1.73	<1.5
	Erkek	0.05	0.11-0.31	0.01-0.81	
	Total	0.06	0.13-0.34	0.01-1.77	
Total		2.07	12.4-19.9	11.1-43.9	

Tablo 4.3. Kadın ve erkeklere ait TKS parametrelerinin ortalamaları, standart sapmaları, referans aralık alt ve üst limitleri, minimum ve maksimum değerleri ve istatistiki anlamlılık değerleri (devamı)

Test	Cinsiyet	SD	Alt-Üst Limit	Min - Max	R değeri
PDW (%)	Kadın	0.58	15.7-18	12.8-20.2	*
	Erkek	0.57	15.7-18	13.7-20.2	
	Total	0.57	15.7-18	12.8-20.2	
MO%(%)	Kadın	2.2	4.2-12.4	0.2-48.2	<1.5
	Erkek	2.2	4.2-12.3	0.2-44.5	
	Total	2.2	4.2-12.4	0.2-48.2	
MO# (10 ³ cells/μL)	Kadın	0.2	0.3-1	0.01-8.9	*
	Erkek	0.2	0.3-1	0.01-5.2	
	Total	0.2	0.3-1	0.01-8.9	
LY% (%)	Kadın	8.27	13.8-46.1	0.01-88.7	*
	Erkek	8.24	13.9-46.2	0.01-82.8	
	Total	8.26	13.8-46.2	0.01-88.7	
LY# (10 ³ cells/μL)	Kadın	0.69	1-3.8	0.1-9.1	*
	Erkek	0.69	1.01-3.7	0.1-9.1	
	Total	0.69	1-3.7	0.1-9.1	
NE% (%)	Kadın	9.05	42.37-77.7	1.7-98	*
	Erkek	9.02	41.2-77.5	1.7-98	
	Total	9.04	42.3-77.7	1.7-98.1	
NE# (10 ³ cells/μL)	Kadın	1.36	2.3-7.5	0.1-10.7	*
	Erkek	1.38	2.3-7.6	0.1-9.9	
	Total	1.37	2.3-7.6	0.1-10.7	
EO% (%)	Kadın	2.09	0.1-6.3	0.1-75.8	*
	Erkek	1.86	0.1-6.2	0.1-67.9	
	Total	2.01	0.1-6.3	0.10-75.8	
EO# (10 ³ cells/μL)	Kadın	0.15	0.01-0.5	0.01-6.6	*
	Erkek	0.14	0.01-0.5	0.01-6.4	
	Total	0.14	0.01-0.5	0.01-6.6	
BA% (%)	Kadın	0.98	0.1-4	0.01-40.5	*
	Erkek	1.03	0.1-4	0.01-40.2	
	Total	1	0.1-4	0.01-40.5	
BA# (10 ³ cells/μL)	Kadın	0.23	0.01-1.1	0.01-2.8	*
	Erkek	0.22	0.01-1.1	0.01-2.8	
	Total	0.22	0.01-1.1	0.01-2.8	
RDW (%)	Kadın	2.08	12.4-19.9	11.1-39.8	*
	Erkek	1.75	12.4-19.8	11.2-43.9	
	Total	2.07	12.4-19.9	11.1-43.9	

R değeri: Harris Boyd faktörü; büyük grup SD/küçük grup SD, *: kadın ve erkek cinsiyet arasında anlamlı fark olmadığından hesaplama yapılmadı.

Tüm veriler içerisinde 18-29 yaş aralığında 16263 sonuç, 30-39 yaş aralığında 13026 sonuç, 40-49 yaş aralığında 12264 sonuç, 50-59 yaş aralığında 11929 sonuç, 60-69 yaş aralığında 8879 sonuç, 70-79 yaş aralığında 4233 sonuç ve 80-85 yaş aralığında ise 919 sonuç analizi yapıldı. Bu yaş grupları arasında PLT, MPV, PDW, MCH, MCHC, MCV, MO%, MO#, LY%, LY#, NE%, NE#, BA%, BA# ve RDW değerleri açısından anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). WBC değerleri 30-39 yaş grubunda diğer gruplara oranla daha yüksek ($p<0.001$) RBC, Hb, HCT ve EO% ve EO# değerleri 18-29 yaş grubunda ($p<0.001$), PCT değerleri ise 60-69 yaş grubunda diğer gruplara oranla istatistiksel olarak daha yüksek oldukları belirlendi. Ancak bu yaş grupları için ayrı referans aralık hesaplama yapılmadı (Harris Boyd faktörü <1.5).

Nonparametrik persentil metodu ve Bhattacharya makrosu kullanarak hesapladığımız ve cihaz firmasının kullandığı TKS parametre genel referans aralıkları Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Nonparametrik persentil metodu ve Bhattacharya makrosu kullanarak hesapladığımız ve cihaz firmasının kullandığı TKS parametre referans aralıkları

Test (birim)	Nonparametrik persentil	Bhattacharya Makrosu	Cihaz Firması
	Metodu-Referans Aralık	Referans Aralık	Referans Aralık
	Alt-Üst Sınır	Alt-Üst Sınır	Alt-Üst Sınır
WBC (10^3 cells/ μ L)	3.8-10.7	3.6-10.9	3.6-11.1
RBC (10^6 cells/ μ L)	3.8-6	3.7-6.6	3.8-5.6
Hb (g/dL)	10.2-17.1	11.4-18.5	11.41-16.40
HCT (%)	32.5-52.4	33.5-52.8	34.4-47.7
MCH (pg)	21.8-32.2	25.6-33.8	23.9-33.6
MCHC (g/dL)	30.2-34.3	30.5-35.1	32.3-35.1
MCV (fL)	71.1-97.2	76.8-99.5	73.5-96.5
PLT (10^3 cells/ μ L)	150-427	140-400	150-372
MPV (fL)	6.9-10.7	6.6-10.5	7.6-11.6
PCT (%)	0.13-0.34	0.11-0.35	0-0.99
PDW (%)	15.7-18	15.4-17.8	0-99.9
MO% (%)	4.2-12.4	3.3-11.1	8-12
MO# (10^3 cells/ μ L)	0.3-1	0.2-0.9	0.3-0.9
LY% (%)	13.8-46.2	14.3-50.3	16.8-45.3
LY# (10^3 cells/ μ L)	1-3.7	0.7-3.7	1.9-2.9
NE% (%)	42.3-77.7	41-79.7	42.8-75.8
NE# (10^3 cells/ μ L)	2.3-7.6	1.8-6.9	1.7-7.5
EO% (%)	0.1-6.3	0.1-4.4	0.4-8.4
EO# (10^3 cells/ μ L)	0.01-0.5	0.01-0.2	0.03-0.5
BA% (%)	0.1-4	0.07-3.8	0.2-1.2
BA# (10^3 cells/ μ L)	0.01-1.1	0.01-0.8	0.01-0.07
RDW (%)	12.4-19.9	11.9-15.2	12.2-16.5

5. TARTIŞMA

Laboratuvar raporlarında verilen referans aralıklar, klinisyenlerin test sonuçlarını yorumlamasında büyük katkı sağlamaktadır. Laboratuvar analizleri için güvenilir ve doğru referans aralıklarının kullanılması, klinik laboratuvar test sonuçlarının doğru yorumlanması sürecinin en önemli aşamalarından biridir. 1980'lerden beri IFCC uygun referans aralıkların belirlenmesi süreçlerinin doğru bir şekilde sürdürülmesi için gerekli işlemler hakkında tavsiyelerde bulunmaktadır. CLSI ve IFCC tarafından yayınlanan C28-A3 kılavuzu bu alanda en çok kullanılan referans kaynağıdır.⁷⁰ Yapılması gereken tüm süreçlerin standardize edildiği bu kılavuzda her laboratuvarın kullandığı referans aralıklarını belirlemesi gerektiği vurgulanmıştır. Bizde bu çalışmamızda laboratuvarımız için hemogram testlerinin referans aralıklarını indirekt yöntemle belirlemeyi amaçladık. Yine Erzurum ili başta rakımı (yaklaşık olarak iki bin metre) olmak üzere beslenme alışkanlıklarının, ikliminin ve sosyokültürel özelliklerinin birçok yöreden farklı olmasının hemogram değerlerinde birtakım farklı özelliklere neden olabileceğinden çalışmamız büyük önem arz etmektedir.³⁴

Çalışmamızda, Ekim 2014 ve Ekim 2015 tarihleri arasında hastanemize poliklinikten başvuru yapmış herhangi bir sistemik ve kronik hastalığı olmayan hastaların laboratuvar verilerinden, hemogram test sonuçları kullanıldı. SQL yazılımı kullanılarak belli kriterler aracılığı ile anormal hasta sonuçları dışlanarak 67.513 hemogram test sonucu çalışmaya dâhil edildi. Verilerin en küçük ve en yüksek değerleri Dixon D/R yöntemine göre kabul edilebilir sınırlarda idi. Nonparametrik persentil metodu kullanılarak 2.5 ve 97.5 persentil değerleri ile tüm testler için referans aralık alt ve üst sınırları belirledik (Tablo 4.1.). Yine Bhattacharya makrosu ile de referans aralık alt ve üst sınırları hesapladık (Tablo 4.4.).

Lökosit sayısı, monosit, lenfosit, nötrofil, eozinofil ve bazofil mutlak sayıları ve yüzdelerinin hem nonparametrik persentil yöntemi hem de Bhattacharya makrosu ile hesapladığımız referans aralık alt ve üst limitlerinin, firmanın önerdiği referans aralık sınırlarından klinik kararı etkileme yönünden çok farklı olmadığını belirledik. Her iki cinsiyet arasında WBC sayısı, diferansiyel lökosit mutlak sayıları ve yüzdeleri açısından ayrı referans aralıkları belirleme gerekliliğini değerlendirdiğimizde sadece WBC sayısı ve MO yüzdesi erkeklerde kadınlara oranla istatistiksel olarak daha yüksekti. Fakat her iki parametre içinde Harris-Boyd faktörü <1.5 olduğundan ve diğer parametreler için de kadın ve erkekler arasında anlamlı bir farklılık olmadığından, ayrı referans aralıkları belirlenmedi.

Eritrosit sayısı için nonparametrik persentil yöntemi (3.8-6) ve Bhattacharya makrosu ile hesapladığımız (3.7-6.6) referans aralık limitlerini, cihaz firmasını önerdiği limitlere (3.8-5.6) göre değerlendirdiğimizde alt sınırların aynı, üst sınırların ise biraz yüksek olduğu görüldü. Üst sınırlardaki bu hafif yüksek değerler, beklenildiği gibi şehrimizin yüksek rakım olmasına atfedilebilir.³⁴ Bu beklenen hipoksik şartlara adaptasyonun alt sınır değerlerine yansımamasının nedeni ise indirekt örnekleme yönteminin en büyük dezavantajı olan anormal hasta sonuçlarının kullanılmasından kaynaklanmış olmasıdır. Çünkü eritrosit sayısı ve ilişkili indekslerde alt sınırı etkileyen klinik tabloları daha sık takip etmekteyiz. Benzer şekilde eritrositlerle ilişkili indekslerde de (Hb, HCT, MCH, MCHC, MCV ve RDW) alt sınır değerlerinin firmanın önerdiği değerlerden hafif düşük (RDW aynı), üst sınırlarını ise yüksek olarak belirledik. Bu durum klinik kararları etkilemesi yönü ile bölgemiz için ayrı referans aralık belirlemenin önemini ortaya çıkarmaktadır. Yine bizimde laboratuvar olarak katıldığımız ülke çapında gerçekleştirilen referans aralık belirleme çalışmasında⁹⁸ da RBC, Hb ve HCT için bölgesel ve her iki cinsiyet için ayrı referans aralıkları belirlenmiştir.

Eritrosit sayısı ve eritrositlerle ilişkili indekslerin (Hb, HCT, MCH, MCHC ve MCV) cinsiyet açısından farklılığını değerlendirdiğimizde beklenildiği gibi erkeklerde istatistiksel anlamlı daha yüksek olduğunu belirledik (Tablo 4.2.). Kadın ve erkek için ayrı referans aralık belirleme gerekliliği için ilk olarak her iki cinsiyet için belirlediğimiz referans aralık alt ve üst limitlerinin total nüfus için belirlediğimiz referans aralık limitlerinin dışında kaldığını gördük (Tablo 4.3.). Fizyolojik temelli bu alt grup yapmanın anlamlılık değerlendirmesi için Harris-Boyd metodunu kullandık ve bu metodun alt grup yapma gerekliliği olan R faktörünün 1.5'in altında olduğunu belirledik (Tablo 4.3.). Bu yüzden bu testlerde her iki cinsiyet için ayrı ayrı referans aralıklar belirlemedik. RDW değerleri için ise her iki cinsiyet arasında anlamlı bir farklılık yoktu. Genellikle referans aralık belirleme çalışmalarında, bu testler için her iki cinsiyete ait ayrı referans aralıklar belirlenir ve yapılması önerilir.⁹⁸⁻⁹⁹ Nitekim bizim laboratuvarımızda katılımcı olduğu çok merkezli referans aralık belirleme çalışmasında⁹⁸ bizim laboratuvarımız için her iki cinsiyete ayrı ayrı RBC, Hb ve HCT referans aralık değerleri belirlenmişti. Bu ve diğer birçok çalışmada¹⁰⁰ direk örnekleme yöntemi ile tamamen sağlıklı bireylere ulaşılmaktadır ve tüm süreçler standardize edilebilmektedir. Bizim bu çalışmamızda ise indirekt örnekleme yöntemi ile hafif derecede anemisi bulunan hastaların dışlanamaması bu farklılığı ortadan kaldırmış olabileceğini düşünmekteyiz. Bir diğer faktör ise, değerlendirdiğimiz sonuçların yaklaşık olarak üçte ikisinin kadın hasta sonucu olması ve kadın hasta sonuçlarının yaklaşık olarak % 50'sinin 18-39 yaş aralığında olması daha çok sağlıklı kadın sonuçlarının dâhil edilmesidir.

Platelet sayısı ve ilişkili diğer parametreler olan MPV, PDW ve PCT genel referans aralık değerleri genel olarak firma değerleri ile uyumlu olup, sadece PLT sayısı üst sınırı klinik kararı etkilemeyecek derecede biraz daha yüksek olarak belirlendi. Yine belirlediğimiz referans alt ve üst sınır değerleri Türkiye geneli çok merkezli hemogram

testleri referans aralık belirleme çalışmasında belirlenmiş olan değlerlerle de uyumlu idi. MPV değlerinin erkeklerde, PLT ve PCT değlerinin kadınlarda istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ve PDW değlerinde ise her iki cinsiyet arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi. PLT, MPV ve PCT değleri için Harris-Boyd yöntemi ile değlendirildi ve kadın ve erkeklere ait ayrı referans aralık belirlenmedi.

Son yıllarda teknolojinin her alanda hızlı bir şekilde gelişmesiyle birlikte tıbbi alanda kullanılan modern cihazların üretiminde de büyük bir gelişmeler görölmektedir. Tıbbi alanda geliştirilen/kullanılan cihazlardan biri olan TKS cihazları da günümüzde farklı ölçüm yöntemlerinin birçoğunu bir arada kullanabilen, ölçülen parametre sayısının giderek arttığı ve hızla gelişen sistemler olarak hizmete sunulmaktadır. Geliştirilen bu cihazlar sayesinde çok sayıda hastalıkla ilgili anormal parametreleri görmek ve yakalamak oldukça kısa zamanda artık mümkün olmaktadır. TKS cihazları rutin biyokimya laboratuvarlarında önemli sayıda rutin test istemi olan ve satın alma süreçlerine bağlı olarak sıklıkla değıştirilen cihazlardır. Bu yüzden her yeni sistem kurulduğunda belirlenen referans aralıkların yeniden değlendirilmesi gerekmektedir. Bu bakımdan da referans aralık belirleme süreçleri önem arz etmektedir.

Ölkemizde ve dünyada hemogram parametrelerinin referans aralıklarının belirlenmesi ile ilgili yapılmış çalışmalar incelendiğinde genel olarak her çalışmada elde edilmiş referans aralıkları sonuçlarının bazı parametrelerde birbirine yakın olduğu bazı parametrelerde ise farklılıklar olduğu görölmektedir. Referans aralıkları sonuçlarının genel olarak birbirinden farklı çıkmasının birçok nedeni olduğu günümüzde bilinmektedir. Seçilen bireylerin, ırksal farklılıkları, yaşadıkları bölgelerin coğrafik özellikleri, beslenme ve yaşam tarzlarının çok farklı olması gibi nedenler bireylere ait farklılıklar arasında sayılabilir.¹⁰¹⁻¹⁰³ Yine analitik süreçler içerisinde farklı cihazların, tekniklerin veya farklı ürünlerin tercih edilmiş olması gibi faktörler söylenebilir.^{74,101-103}

Referans aralıkların belirlenmesi çalışmaları sonucunda elde edilmiş sonuçların, bölgeden bölgeye, toplumdan topluma farklı çıkması nedeniyle günümüzde her klinik laboratuvarın hizmet verdiği bölgeye ait referans aralıklarını belirlemesi ve klinisyenlerin tıbbi karar alma sürecinde belirlenmiş bu referans aralıklarını kullanması gerektiği fikri yaygın bir şekilde kabul görmektedir.

Ülkemizde de son yıllarda laboratuvar testlerinin referans aralıklarının belirlenmesine yönelik çalışmaların gözle görülür bir şekilde arttığı görülmektedir. Hemogram parametrelerinin referans aralıklarının belirlenmesi ile ilgili olarak ülkemizde yapılmış çok merkezli Tekkeşin ve ark.¹⁰⁴ Özarda ve ark.³⁰ veya bölgesel olarak Kahraman Yaman ve ark.⁷², Aygör ve ark.⁴⁰, Kaya ve ark.¹⁰⁵ yaptığı birkaç çalışma bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasında, indirekt örnekleme yöntemi kullanılmıştır. İndirekt örnekleme yöntemi direkt örnekleme yönteminin kullanılmadığı durumlarda ya da direkt örnekleme yöntemi ile belirlenmiş referans aralıklarının doğrulayıcısı olarak kullanılmaktadır.^{2,11,25} Laboratuvar olarak daha önce direkt örnekleme yönteminin kullanıldığı ülke çapında 7 farklı bölgenin katılımcı olduğu çok merkezli ulusal çalışma ile hemogram parametrelerimiz için bölgesel referans aralıklarımızı belirlemiştik. Bu yüzden bu tez çalışmasında indirekt örnekleme yöntemini kullanmayı tercih ettik. Bu yöntem ile yapılmış ve hala yapılmakta olan çok sayıda araştırma bulunmaktadır.^{2,13-22}

Direkt örnekleme yönteminin aksine indirekt örnekleme yönteminde, her ne kadar referans birey seçiminin temelini oluşturan hastane bilgi sistemi (hospital information system, HIS)'nin ve LIS programlarının yetersizliği gibi olumsuzluklar olsa da yeterli sayıda gönüllü ve sağlıklı bireyin bulunması konusunda sorun çıkmaması, kolay ve ucuz bir yöntem olması nedeniyle günümüzde araştırmacılar tarafından sıklıkla kullanılmaktadır.^{2,11,25}

Laboratuvar testlerinin referans aralıklarının belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, bazı araştırmacıların bu yöntemlerin ikisini de aynı çalışmada kullandıkları görülmektedir.^{25,74} Bu araştırmacılar, çalışmaları sonrasında iki yöntem ile elde ettikleri sonuçları birbiriyle ve dünyada yapılmış çalışmalar ile karşılaştırarak, sonuçlar arasındaki benzerlik ve farklılığı ortaya koymaya çalışmışlardır.⁷⁴

Rutin laboratuvar testlerinin referans aralıklarının belirlenmesi konusu, geliştirilen yeni test teknikleri ve ölçüm yöntemleri nedeniyle oldukça günceldir. Bu konuda özellikle son yıllarda çok yol kat edilmiş olmasına rağmen kullanılan yöntemler henüz daha tam bir standardizasyon sağlanamamıştır. Örneğin, Kahraman ve ark.⁷² yaptıkları çalışmalarının sonuçlarını daha önce yapılmış diğer çalışmalarla karşılaştırdıklarında her çalışmada kullanılan referans birey dâhil etme, uç değer atılımı, cinsiyet açısından alt gruplara ayırma ve referans aralık hesaplanmasında kullanılan istatistiksel yöntemlerin birbirinden farklı olması nedeniyle kendi araştırmaları ve diğer araştırmalar arasında karşılaştırma yapmada zorlandıklarını bildirmişlerdir. Referans aralıkların hesaplanmasında kullanılan yöntemlerin standardizasyonu yönünde bu yöntemlerin birbirlerinden farkları ve üstünlüklerini ortaya koyacak yeni araştırmaların yapılmasının faydalı olabileceğini ve böylece, farklı bölgelerde yapılmış araştırmaların karşılaştırılmasının daha sağlıklı olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Bölgeler arası hemogram parametreleri referans aralıkları sonuçlarının değişkenlik göstermesi ister klinik laboratuvarlarda farklı cihaz ve kitlerin kullanılmasından dolayı olsun veya isterse toplumların yaşadıkları bölgeler arasındaki farklılıklardan dolayı olsun, bugün her klinik laboratuvarın kendi referans aralıklarını saptaması ve onları kullanması konusunda bütün laboratuvar sorumluları arasında büyük bir görüş birliği bulunmaktadır.

Diğer taraftan, NCCLS ve IFCC' de referans aralıkların hesaplanması konusunda C28-A3 serisi dokümanlarını standardize etmiş ve rutin laboratuvar testlerinin referans aralıklarının hesaplanması konusunda her klinik laboratuvarın hizmet verdiği bölgedeki topluma ait referans aralıklarını belirlemesi ve tıbbi karar alma sürecinde saptanmış bu referans aralıkların dikkate alınması gerektiği konusunda tavsiyelerde bulunmuştur.⁵

Ülkemizde sağlıklı erişkinlerin hemogram parametrelerinin referans aralıklarının belirlenmesi amacıyla Kahraman Yaman ve ark.⁷² tarafından bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarında, direkt örnekleme yöntemi ile kendi laboratuvarları için TKS parametrelerinin referans aralıklarını belirlemişlerdir.

Kahraman ve ark.⁷² RBC, Hb, HCT, MCHC, PLT, MO%, MO# ve PCT için belirledikleri referans aralıklarının Harris-Boyd yöntemine göre, cinsiyetler arasında anlamlı bir fark olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışma ile bu cinsiyet farklılığı haricinde diğer parametreler için belirlediğimiz referans aralık alt ve üst sınırlarımız uyumlu olduğu belirlendi.

Hemogram parametrelerine ait ortalamalar ve standart sapmanın hesaplanması amacıyla yapmış oldukları çalışmaları ile bizim çalışmamız sonucu elde ettiğimiz ortalamaların ve SD'lerin büyük oranda birbiriyle uyumlu olduğu görülmektedir.

Kaya ve ark.¹⁰⁵ hemogram parametrelerinden 8 teste ait kadın, erkek ve K&E'lerin ortalamaları ve standart sapmalarını hesaplamışlardır. Bu çalışmada belirlenen ortalama ve SD' lar klinik kararı etkilemeyecek şekilde çalışmamız değerleri ile oldukça benzer olduğunu gördük.

Tekkeşin ve ark.¹⁰⁴ ise hemogram parametrelerinden 6 teste ait kadın ve erkeklerin ortalamaları ve standart sapmalarını hesaplamışlardır. 2014 yılında yayınlanmış oldukları bu çalışmanın Türkiye'ye ait hematolojik parametrelerin referans aralıklarının

belirlenmesi amacıyla yapılmış en büyük araştırma olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalarında 17.409 sağlıklı erişkinden (yaş aralığı 19 ile 49 yıl arasında, % 51.4 erkek ve % 48.6 kadın) kan örneklerini alıp ve rutin hemogram testlerinin analizini yapmışlardır. Serum hematinik testleri (vitamin B12, folat, demir ve ferritin) de çalışılarak potansiyel anemi varlığını hariç tutmuşlardır. Çalışmaları sonucunda, Türkiye’de daha önce ayrıntılı olarak incelenen hematolojik referans değerlerinin yokluğundan dolayı, elde ettikleri bu sonuçların hastaların klinik açıdan yönetimleri ve araştırma amaçlı laboratuvar verilerinin yorumlanması adına kullanılmasını önermişlerdir. Bu çalışma sonucunda elde edilen hemogram parametrelerine ait ortalamalar ile bizim çalışmamız arasında büyük farklılıkların bulunmadığı ve bazı parametrelere ait ortalamaların birbiriyle uyumlu olduğu görülmektedir.

Bu konuda yapılmış en detaylı ülke geneli çalışma Özarda ve ark.⁹⁸ tarafından yapılmış olan çok merkezli ulusal çalışmadır. Bu çalışmada 7 farklı coğrafik bölgeden 12 ayrı laboratuvardan toplam 3363 numune çalışılarak direk yöntem ile tüm ülke popülasyonu için hemogram testlerinin referans aralıkları belirlenmiştir. RBC, Hb ve HCT için hem cinsiyete özgü hem bölgesel ve BA, MCHC, RDW ve MPV için cihaz üretici spesifik referans aralıkların belirlenmesi gerektiği ifade edilmiştir. Bu çalışmada bilhassa bizim laboratuvar verilerimiz ile hesaplanan ve şehrimizin yüksek rakımına atfedilen RBC, Hb ve HCT referans aralıkların diğer bölgelerden kayda değer derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada, ayrıca diğer tüm parametreler için cihaz ya da bölgesel farklılıklar bulunamadığından ülke geneli referans aralıkların kullanılabileceği bildirilmiştir. Bölgemiz için bu üç parametrede direkt yöntemle belirlenen bu önemli farklılık çalışmamız sonucunda indirekt yöntemle de belirlenmiş oldu.

Sundaram ve ark.¹⁰⁶ tarafından Güney Hindistan'da direkt yöntemle yaptıkları çalışmalarında, belirledikleri PLT, WBC, RBC ve Hb testlerinin referans aralık sınırlarının diğer bölgelerde yapılan çalışmalara göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Yine RBC, Hb ve HCT için cinsiyet farklı referans aralıkları belirlemişlerdir.

Sairam ve ark.¹⁰⁷ tarafından direkt yöntemle yaptıkları ve 7478 erkek ve 3187 kadın referans bireyden oluşturdukları çalışmalarında bizim çalışmamızla benzer şekilde, PLT sayısını kadınlarda daha yüksek olarak belirlemişlerdir. Bunun genetik ve diyetel faktörlerden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Erkek ve kadınlar için ayrı referans aralık belirlemede ayrı bir istatistiksel değerlendirme yapmadıkları için bu belirledikleri yükseklik sonrası PLT sayısı için cinsiyet farklı referans aralık hesaplamışlardır. Bizim çalışmamızda ise Harris-Boyd faktörü hesaplanarak PLT sayısı için kadınlarda daha yüksek olmasına rağmen cinsiyet spesifik referans aralıkları belirlenmedi.

Dosoo ve ark.¹⁰⁸ Gana'da yaptıkları çalışmalarında bizimle aynı istatistik değerlendirmeleri kullanmışlar ve hemogram ve klinik biyokimya testleri için referans aralıkları hesaplamışlar. Bizimle benzer şekilde RBC, Hb ve HCT değerlerini erkeklerde, PLT değerlerini kadınlarda daha yüksek olarak belirlemişler ve ayrı referans aralıkları belirlemişlerdir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Bu tez çalışması ile bölgesel hemogram testi referans aralıkları hesaplanmıştır.

Araştırmamızda indirekt örnekleme yöntemiyle elde ettiğimiz hemogram parametrelerinin genel referans aralığı sonuçları ile erkekler ve kadınlar için ayrı ayrı elde ettiğimiz hemogram parametrelerinin referans aralığı sonuçları;

- Kit üretici firmanın prospektüsünde verdiği,
- Araştırmamızın merkezi olan Erzurum ilinde daha önce yapılmış,
- Ülkemizin diğer bölgelerinde daha önce yapılmış,
- Dünyada daha önce yapılmış çalışmalarda belirlenmiş referans aralığı sonuçlarından bazı parametreler için farklı çıkmıştır.

Sonuçların farklı çıkmasına, hemogram parametrelerini etkileyen birçok faktörün neden olduğu bilinmektedir

Ülkemizdeki klinik laboratuvarlarda, genellikle kit üretici firmaların kit prospektüslerinde verdikleri referans aralıkları kullanılmaktadır. Yapılan araştırmaların sayısının zamanla artmasıyla, kit üretici firmaların kit prospektüsünde verdikleri referans aralıkları verilerinin kullanımında azalma görüleceği kanısındayız.

Son yıllarda geliştirilen tam kan sayım cihazları klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmakta ve günümüzde hematolojik parametrelerin ölçümünde otomasyona geçilmiş olması sayesinde, ölçüm sonuçları daha güvenilir ve manuel tetkiklerde gözlenebilen hatalara yer bırakmayacak şekilde elde edilebilmektedir. Bu cihazlar sayesinde birçok hastalıkla ilgili anormal parametreleri görmek ve yakalamak artık mümkün olmaktadır.

Erzurum İli, ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunmaktadır. Bu İl konum olarak yüksek rakımda bulunmaktadır. Ayrıca; insanların sosyoekonomik kültürü ve bu

şehirde yaşayan insanların beslenme alışkanlıkları diğer yörelerde yaşayan insanlardan farklılık göstermektedir. Yaptığımız araştırma sonucunda elde ettiğimiz sonuçların diğer yörelerde yapılmış araştırmalardan azda olsa farklı çıkmasının sebebinin Erzurum ilinin sahip olduğu bu farklılıklar ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

6.2. Öneriler

1. Her klinik laboratuvarın hizmet verdiği bölgedeki referans aralıklarını belirlemesi gerekir.
2. Direkt örnekleme yönteminin kullanılmadığı durumlarda veya daha kolay olması nedeniyle tamamlayıcı ve doğrulayıcı bir yöntem olarak indirekt örnekleme yöntemi kullanılabilir.

Bu çalışma sonuçları göstermiştir ki üretici firmaların bize önerdiği referans aralıkları bizim popülasyonumuzun değerleriyle örtüşmemektedir. Bu nedenle her laboratuvarın kendi popülasyon değerlerini belirlemesinin ve laboratuvarlar arasında iletişimin sağlanarak bölgesel farklılıkların, eğilimlerin ortaya konmasıyla daha verimli bir sağlık politikasının oluşturulabileceğini düşünmekteyiz. HIS ve LIS'lerin geliştirilmesi ile bu yöntemden daha verimli bir şekilde yararlanılabileceği kanısındayız.

Sonuç olarak bu tez çalışması sonuçları bir kez daha gösterdi ki bu yöntem, referans aralıkların belirlenmesinde alternatif olarak kullanılabilir bir yöntemdir.

Çalışmamızın diğer çalışmalar ile uyumsuz taraflarını değerlendirdiğimizde; en önemli eksik tarafının, gizli anemi riski olan sonuçların dışlanması ikinci bir dışlama kriteri olarak kullanılmak üzere serum ferritin ve Vitamin B₁₂ düzeyleri ve demir bağlama kapasitesi sonuçlarının kullanılmamasıdır. Gizli anemili hasta sonuçlarının dahil edilmesi eritrosit sayısı ve ilişkili parametreler için hesapladığımız referans aralık sınırlarını etkilemiş olabilir.

KAYNAKLAR

1. Turan E. Biyokimyasal ve Hematolojik Parametrelerin Açlık-Tokluk Karşılaştırılması. Meram Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi, 2010.
2. Balcı Y. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi. Klinik Biyokimya Bölümü. Uzmanlık tezi, İstanbul: Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2006.
3. Solberg HE. Establishment and use of reference values. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4th ed. St. Louis, Saunders, 2006:425-448.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. CLSI Document C28-A3, 3rd ed. Pennsylvania, 2008.
5. 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.
6. Solberg HE. Approved recommendation on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1987, 25:337–342.
7. PetitClerc C, Solberg HE. Approved recommendation on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1987, 25:639-644.
8. Horowitz GL. Establishment and use of reference values. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5th ed. St. Louis, Elsevier Saunders, 2012:95-118.

9. Zierk J, Arzideh F, Haeckel R, Rascher W, Rauh M, Metzler M. Indirect determination of pediatric blood count reference intervals. *Clin Chem Lab Med*, 2013, 51:863-872.
10. Jones GRD, Haeckel R, Loh TP, Sikaris K, Streichert T, Katayev A, Barth JH, Ozarda Y. IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits. Indirect methods for reference interval determination-review and recommendations. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 57:20-29.
11. Hilsted L, Rustad P, Aksglæde L, Sørensen K, Juul A. Recommended nordic paediatric reference intervals for 21 common biochemical properties. *Scand J Clin Lab Invest*, 2013, 73: 1-9.
12. Jones GRD. Validating common reference intervals in routine laboratories. *Clin Chim Acta*, 2014, 432:119-121.
13. Baadenhuijsen H, Smit JC. Indirekt estimation of clinical chemical reference intervals from hospital patient data: Application of a modified bhattacharya procedure. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1985, 23:829-839.
14. Zierk J, Arzideh F, Rechenauer T, Haeckel R, Rascher W, Metzler M, Rauh M. Age- and sex-specific dynamics in 22 hematologic and biochemical analytes from birth to adolescence. *Clin Chem*, 61:964-673.
15. Solberg HE, Grasbeck R. Reference values. *Adv Clin Chem*, 1989, 27:1-79.
16. Kalafat H. Klinik Biyokimya Testlerinin Mersin İli'ndeki Referans Aralıklarının İndirekt Yöntemle Belirlenmesi. Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Mersin: Mersin Üniversitesi, 2008.
17. Toprakçı M. Hastane Laboratuvar Test Verileri Kullanılarak Klinik Testlerin Referans Aralıklarının Saptanması. Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, 2000.

18. Grossi E, Colombo R, Cavuto S, Franzini C. The REALAB project: a new method for the formulation of reference intervals based on current data. *Clin Chem*, 2005, 51:1232-1240.
19. Brinkworth RS, Whitham E, Nazeran H. Establishment of paediatric biochemical references intervals. *Ann Clin Biochem*, 2004,41:321-329.
20. Katayev A, Balciza C, Seccombe DW. Establishing reference intervals for clinical laboratory test results: is there a better way?. *Am J Clin Pathol*, 2010, 133:180-186.
21. Pottel H, Vrydags N, Mahieu B, Vandewynckele E, Croes K, Martens F. Establishing age/sex related serum creatinine reference intervals from hospital laboratory data based on different statistical methods. *Clin Chim Acta*, 2008, 396:49-55.
22. Kouri T, Kairisto V, Virtanen Uusipaikka E, Rajamflki A, Finneman H, Juva K, Koivula T, Nflnt V 1994 Reference intervals developed from data for hospitalized patients: compoterized method based on combination of laboratory and dianostic data
23. Ferré-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Puchal-Añé R. Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures. *Clin Chim Acta*, 1999, 279: 97-105.
24. Collins PP. Determination of normal values from a hospital population. *Am J Med Technol*, 1975, 41:173-179.
25. Polat H. Bazı Biyokimyasal Testlerin Referans Aralıklarının Belirlenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Doktora tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2014.
26. Laleli Y. Referans kavramı, ulusal referans politikası ve hasta verilerinin kullanımı. *Turk J Biochem*, 2003, 28: 225-227.
27. Kanmaz-Özer M. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'ne Başvuran Pediyatrik Yaş Gruplarında Biyokimyasal Testlerin Referans Aralıkları Çalışması. İstanbul Tıp

Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2013.

28. Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petittclerc C, Queralto JM, Hyltoft Petersen P. The theory of reference values: an unfinished symphony. *Clin Chem Lab Med*, 2013, 51:47-64.
29. International organization for standardization. ISO 15189:12. Medical laboratories-requirements for quality and competence. <https://www.iso.org/standard/56115.html>. 20. Ekim 2018.
30. Özarda Y. Reference intervals: current status, recent developments and future considerations. *Biochem Med (Zagreb)*, 2016, 26:5-16.
31. Adeli K, Raizman JE, Chen Y, Higgins V, Nieuwesteeg M, Abdelhaleem M, Wong SL, Blais D. Complex biological profile of hematologic markers across pediatric, adult, and geriatric ages: establishment of robust pediatric and adult reference intervals on the basis of the canadian health measures survey. *Clin Chem*, 2015, 61:1075–1086.
32. Nordin G, Mårtensson A, Swolin B, Sandberg S, Christensen NJ, Thorsteinsson V, Franzson L, Kairisto V, Savolainen ER. A multicentre study of reference intervals for haemoglobin, basic blood cell counts and erythrocyte indices in the adult population of nordic countries. *Scand J Clin Lab Invest*, 2004, 64:385-398.
33. Sinclair L, Hall S, Badrick T. A survey of Australian haematology reference intervals. *Pathology*, 2014, 46:538-543.
34. Republic of Turkey, Ministry of Health. Health Statistics Yearbook 2014. http://ekutuphane.sagem.gov.tr/kitaplar/health_statistics_yearbook_2015.pdf. 10 Ekim 2018.

35. Akdag R, Energin VM, Kalayci AG, Karakelleoglu C. Reference limits for routine haematological measurements in 7-14 year-old children living at intermediate altitude (1869m, Erzurum, Turkey). *Scand J Clin Lab Invest*, 1996, 56:103–109.
36. Güngör M. Klinik Biyokimya Analitlerine Ait Referans Aralıkların Numune Kabul Zamanına Göre İndirekt Yöntemle Tespiti. Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2011.
37. Silverstein MD. An approach to medical errors and patient safety in laboratory sciences, a white paper. Quality Institute Conference, Atlanta, 2003: 1-23.
38. Milcic TL. The Complete blood count. *Neonatal Netw*, 2010, 29:109-115.
39. Hemogram (Tam Kan Sayımı).
[http://www.guventip.com.tr/panel/r_dosya/hemogram\(tam_kan_sayimi\).pdf](http://www.guventip.com.tr/panel/r_dosya/hemogram(tam_kan_sayimi).pdf). 05 Eylül 2018.
40. Aygör E. Manisa İlinde Sağlıklı Bireylerde Normal Hemogram Değerleri. Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, 2013.
41. Zaccaria A, Celso B, Raspadori D, Motta MR, Testoni N, Rizzi S. Comparative evaluation of differential leukocyte counts by Coulter VCS cytometer and direct microscopic observation. *Haematologica*, 1990, 75:412-419.
42. Nebi S. Pnömoni Hastalarında Hemogram Parametrelerinin Prognozu Göstermedeki Etkinliğinin Retrospektif Araştırılması. Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 2014.
43. Aguadero V, Cano-Corres R, Berlanga E, Torra M. Evaluation of biological fluid analysis using the sysmex XN automatic hematology analyzer. *Cytometry B Clin Cytom*, 2018, 94:680-688.

44. Anand PS, Sagar DK, Ashok S, Kamath KP. Association of aggressive periodontitis with reduced erythrocyte counts and reduced hemoglobin levels. *J Periodontal Res*, 2014, 49:719-728.
45. O'Neill DP, Robbins PA. A mechanistic physicochemical model of carbon dioxide transport in blood. *J Appl Physiol*, 2017, 122:283-295.
46. Purnell MC, Butawan MBA, Ramsey RD. Bio-field array: a dielectrophoretic electromagnetic toroidal excitation to restore and maintain the golden ratio in human erythrocytes. *Physiol Rep*, 2018, 6:e13722.
47. González-Alonso J, Mortensen SP, Dawson EA, Secher NH, Damsgaard R. Erythrocytes and the regulation of human skeletal muscle blood flow and oxygen delivery: role of erythrocyte count and oxygenation state of haemoglobin. *J Physiol*, 2006, 572:295-305.
48. Demirel C. HbA1c'nin Hemogram Parametreleriyle İlişkisinin Belirlenmesi. Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Kırıkkale: Kırıkkale Üniversitesi, 2013.
49. Wintrobe MM. *Clinical Hematology*, 7th ed. Philadelphia, Lea and Febiger, 1974:150-152.
50. Hall JE. Blood cells, Immunity and blood coagulation. In: Hall JE (eds), Guyton AC and Hall Textbook of Medical Physiology, 13th. Mississippi, 2016: 445-493.
51. Laskoski LM, Locatelli-Dittrich R, Valadão CA, Deconto I, Gonçalves KA, Montiani-Ferreira F, Brum JS, de Brito HF, de Sousa RS. Systemic leukopenia, evaluation of laminar leukocyte infiltration and laminar lesions in horses with naturally occurring colic syndrome. *Res Vet Sci*, 2015, 101:15-21.
52. Nurden AT. Platelets and tissue remodeling: extending the role of the blood clotting system. *Endocrinology*, 2007, 148:3053-3055.

53. Borst S, Sim X1 Poncz M1 French DL1 Gadue P. Induced pluripotent stem cell-derived megakaryocytes and platelets for disease modeling and future clinical applications. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37:2007-2013.
54. Sertkaya A. Sigaranın İçiminin Kan Sayımı Parametreleri Üzerine Etkisi. Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Kocaeli: Kocaeli Üniversitesi, 2011.
55. Özgönül, H. *Kan Fizyolojisi Ders Notları*, 1. Baskı. İzmir, İzmir Tıp Fakültesi, 1980: 68–100.
56. Elzey BD, Tian J, Jensen RJ, Swanson AK, Lees JR, Lentz SR, Stein CS, Nieswandt B, Wang Y, Davidson BL, Ratliff TL. Platelet-mediated modulation of adaptive immunity: a communication link between innate and adaptive immune compartments. *Immunity*, 2003, 19:9-19.
57. Bath PM, Butterworth R.J. Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 1996, 7:157-161.
58. Uysal P, Tuncel T, Olmez D, Babayigit A, Karaman O, Uzuner, N. The role of mean platelet volume predicting acute exacerbations of cystic fibrosis in children. *Ann Thorac Med*, 2011, 6:227-230.
59. Yüksel O, Helvaci K, Başar O, Köklü S, Caner S, Helvaci N, Abayli E, Altiparmak E. An overlooked indicator of disease activity in ulcerative colitis: mean platelet volume. *Platelets*, 2009, 20:277-281.
60. Yazici S, Yazici M, Erer B, Erer B, Calik Y, Özhan H, Ataoglu S. The platelet indices in patients with rheumatoid arthritis: mean platelet volume reflects disease activity. *Platelets*, 2010, 21:122-125.
61. Zhang Z, Xu X, Ni H, Deng H. Platelet indices are novel predictors of hospital mortality in intensive care unit patients. *J Crit Care*, 2014, 29: 885.e1-885.e6.

62. Kakafika A, Papadopoulos V, Mimidis K, Mikhailidis DP. Coagulation, platelets, and acute pancreatitis. *Pancreas*, 2007, 34:15-20.
63. Murphy E. The normal, and the perils of the sylleptic argument. *Perspect Biol Med*, 1972, 15: 566-582.
64. Solberg HE. Establishment and use of reference values. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4th ed. St. Louis: Saunders, 2006:425-448.
65. Grasbeck R, Alstrom T. Reference Values in Laboratory Medicine: The Current State of The Art. 2nd ed. Chichester, UK, John Wiley, 1981:263-278.
66. Sunderman FW Jr. Current concepts of "normal values," "reference values," and "discrimination values" in clinical chemistry. *Clin Chem*, 1975,21:1873-1877.
67. Elveback LR, Guillier CL, Keating FR Jr. Health, normality, and the ghost of Gauss. *JAMA*, 1970, 211:69-75.
68. Aslan D. Referans Değerlerin belirlenmesi ve Kullanılması. İçinde: Solberg H (editor). *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*, 5 Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2005:251-261
69. Grecu DS, Paulescu E. Quality in post-analytical phase: indirect reference intervals for erythrocyte parameters of neonates. *Clin Biochem*, 2013, 46: 617-621.
70. CLSI and IFCC, C28-A3 document; Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline-third edition, 2008;28:1-76.
71. Clinical Laboratory and Standards Institute. "How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline-second edition" CLSI document C28-A2. Wayne, PA: 2000;13-22.

72. Kahraman Yaman S. Erişkin Sağlıklı Bireylerde Tam Kan Sayımı Testlerinin Referans Aralıkları. Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2015.
73. Kutay ZF. Laboratuvar Verilerinin İstatistiksel Değerlendirmesi. İçinde: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay F, (editörler). Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi Kitabı, x. Baskı. İstanbul, Palme Yayıncılık, 2004:53-70.
74. Enli Y. Denizli’de Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle Referans Aralıkların Saptanması. Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Denizli: Pamukkale Üniversitesi, 2001.
75. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem*, 1971, 17:275-284.
76. Kairisto V, Poola A. Software for illustrative presentation of basic clinical characteristics of laboratory test, graphROC for windows. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 1995, 222: 43-60.
77. Solberg HE. Establishment and Use of Reference Values. In: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3th ed. Philadelphia: Saunders,1999:336-356.
78. Ash KO, Clark SJ, Sandberg LB, Hunter E, Woodward SC. The influence of sample distribution and age on reference intervals for adult males. *Am J Clin Pathol*, 1983, 79: 574-581.
79. Davey R. Thyroxine, thyrotropin, and age in a euthyroid hospital patient population. *Clin Chem*, 1997, 43: 2143-2148.
80. Zurakowski D, Di Canzio J, Majzaub JA. Pediatric reference intervals for serum thyroxine, triiodothyronine, thyrotropin, and free throxine. *Clin. Chem*, 1999, 45:1087-1091.

81. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik*, 7. Baskı. Ankara, Hatipoğlu Kitabevi, 2002:246.
82. Özdamar K. *SPSS ile Biyoistatistik*, 5. Baskı. Eskişehir, Kaan Kitabevi, 2003:122.
83. Lott JA, Mitchell LC, Moeschberger ML, Sutherland DE. Estimation of reference ranges: how many subjects are needed? *Clin Chem*, 1992, 38: 648-650.
84. Solberg, H.E. Establishment and use of reference values In: Burtis CA Ashwood ER (eds). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed, W.B. Saunders Co, 1994,454-484.
85. Horowitz GL. Reference Intervals: Practical aspects. *EJIFCC*, 2008, 19:95-105.
86. Lumsden, JH, Mullen K. On establishing reference values. *Can J Comp Med*, 1978, 42:293-301.
87. Abebe M, Melku M2 Enawgaw B2 Birhan W, Deressa T, Terefe B, Baynes HW. Reference intervals of routine clinical chemistry parameters among apparently healthy young adults in Amhara National Regional State, Ethiopia. *PLoS One*, 2018, 13:e0201782.
88. Ceriotti F. Common reference intervals: The IFCC position. *Clin Biochem*, 2009, 42: 297.
89. Bimerew LG, Demie T, Eskinder K, Getachew A, Bekele S, Cheneke W, Sahlemariam Z, Adisu W, Asres Y, Yemane T, Tesfaye G, Tesfaw G, Gudina EK, Mekonnen Z. Reference intervals for hematology test parameters from apparently healthy individuals in southwest Ethiopia. *SAGE Open Med*, 2018, 6:1-10.
90. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. Reference interval computation using robust vs parametric and nonparametric analyses. *Clin Chem*, 1999, 45: 2284-2285.
91. Linnet K. Nonparametric estimation of reference intervals by simple and bootstrap-based procedures. *Clin Chem*, 2000, 46: 867-869.

92. Pavlov IY, Wilson AR, Delgado JC. Resampling approach for determination of the method for reference interval calculation in clinical laboratory practice. *Clin Vaccine Immunol*, 2010, 17: 1217-1222.
93. Coşkun A, Ceyhan E, İnal TC, Serteser M, Ünsal İ. The comparison of parametric and nonparametric bootstrap methods for reference interval computation in small sample size groups. *Accredit Qual Assur*, 2013, 18: 51-60.
94. Henny J. The IFCC recommendations for determining reference intervals: strengths and limitations. *J Lab Med*, 2009, 33: 45-51.
95. Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: an update. *Clin Chim Acta*, 2003, 334: 5-23.
96. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from intra- and inter-individual biological variation. <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>. 11 Kasım 2018.
97. Aktürk Z, Acemoğlu H. *Sağlık Çalışanları için Araştırma ve Pratik İstatistik*, 2. Baskı. İstanbul, Anadolu Matbaası, 2011:39.
98. Özarda Y, Ichihara K, Bakan E, Polat H, Ozturk N, Baygutalp NK, Taneli F, Guvenc Y, Ormen M, Erbayraktar Z, Aksoy N, Sezen H, Demir M, Eskandari G, Polat G, Mete N, Yuksel H, Vatansev H, Gun F, Akin O, Ceylan O, Noyan T, Gozlukaya O, Aliyazicioglu Y, Kahraman S, Dirican M, Tuncer GO, Kimura S, Eker P. A nationwide multicentre study in Turkey for establishing reference intervals of haematological parameters with novel use of a panel of whole blood. *Biochem Med (Zagreb)*, 2017, 27:350-377.

99. Ambayya A, Su AT, Osman NH, Nik-Samsudin NR, Khalid K, Chang KM, Sathar J, Rajasuriar JS, Yegappan S. Haematological reference intervals in a multiethnic population. *PLoS One*, 2014, 9:e91968.
100. Alkindi S, Pathare A, Al-Madhani A, Al-Zadjali S, Al-Haddabi H, Al-Abri Q, Gravell D, Mathew M, Krishnamoorthy R. Neonatal Screening: mean haemoglobin and red cell indices in cord blood from Omani neonates. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 2011, 4:462-469.
101. Tsang CW, Lazarus L, Smith W, Mitchell P, Koutts J, Burnett L. Hematological indices in an older population sample: Derivation of healthy reference values. *Clin Chem*, 1998, 44:96-101.
102. Bain BJ. Ethnic and sex differences in the total and differential white cell count and platelet count. *J Clin Pathol*, 1996, 49:664-666.
103. Saxena S, Wong ET. Heterogeneity of common hematologic parameters among racial, ethnic, and gender subgroups. *Arch Pathol Lab Med*, 1990, 114:715-719.
104. Tekkeşin N, Bekoz H, Tükenmez F. Türkiye’ den hematolojik parametrelerin en büyük referans aralığı çalışması: Bir vaka-kontrol araştırması. *J Clin Exp Invest*, 2014, 5: 548-552.
105. Kaya H, Kiki İ, Akarsu E, Gündoğdu M, Başol Tekin S, İnandı T. Hematological values of healthy adult population living at moderate altitude (1869 m, Erzurum, Turkey). *Turk J Haematol*, 2000, 17:123-128.
106. Sundaram M, Mohanakrishnan J, Murugavel KG, Shankar EM, Solomon S, Srinivas CN, Solomon SS, Pulimi S, Piwowar-Manning E, Dawson S, Livant E, Kumarasamy N, Balakrishnan P. Ethnic variation in certain hematological and biochemical reference intervals in a south Indian healthy adult population. *Eur J Inter Med*, 2008, 19:46-50.

107. Sairam S, Domalapalli S, Muthu S, Swaminathan J, Ramesh VA, Sekhar L, Pandeya P, Balasubramaniam U. Hematological and biochemical parameters in apparently healthy Indian population: defining reference intervals. *Indian J Clin Biochem*, 2014, 29:290-297.
108. Dosoo DK, Kayan K, Adu-Gyasi D, Kwara E, Ocran J, Osei-Kwakye K, Mahama E, Amenga-Etego S, Bilson P, Asante KP, Koram KA, Owusu-Agyei S. Haematological and biochemical reference values for healthy adults in the middle belt of Ghana. *Plos One*, 2012, 7:e36308.



EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Hatice Güneş ÇAKMAK Doğum tarihi: 03.09.1987 Doğum yeri: Batman Medeni hali: Evli, 1 çocuk Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel: 0442 344 66 12 Faks: 0442 236 06 60 E-mail: haticegunescakmak@gmail.com
Eğitim
Lise: Batman Cumhuriyet Lisesi (2001-2004) Lisans: Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi (2004-2010) Yüksek lisans: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (2011-2018) Doktora: Metin girmek için burayı tıklatın. Metin girmek için burayı tıklatın.
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: Metin girmek için burayı tıklatın. _____
Almanca: Metin girmek için burayı tıklatın. _____
Rusça: Metin girmek için burayı tıklatın. _____
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
.....
İlgi Alanları ve Hobiler
Spor yapmak, seyahat etmek, kitap okumak Metin girmek için burayı tıklatın.

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/173
Konu : Etik Kurul Kararı

16.10.2015

Sayın: Yrd.Doç.Dr.Nurinnisa ÖZTÜRK
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz **"Doğu Anadolu Bölgesi'nde İndirekt Yöntemle Hemogram Parametrelerinin Referans Aralıklarının Belirlenmesi"** isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Hülya AKSOY
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Yrd.Doç.Dr.Nurinnisa ÖZTÜRK
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Doğu Anadolu Bölgesi'nde İndirekt Yöntemle Hemogram Parametrelerinin Referans Aralıklarının Belirlenmesi
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 7 Karar No: 03	Tarih: 16.10.2015
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacının/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin Kendisi tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr.Mustafa GÜL
Üye

Prof.Dr.Zekai HALICI
Üye

Prof.Dr.Hülya AKSOY
Etik Kurul Başkanı

Doç.Dr. Zeynep ÇAKIR
Üye

Doç.Dr.Atilla ÇAYIR
Üye

Yrd.Doç.Dr.M.Erdem SAĞSÖZ
Üye

Uz.Dr.Sevilay AKALP ÖZMEN
Üye

Op.Dr.Binali FIRINCI
Üye

Arş.Gör.Kamil DURMUŞ
(Hukukçu) Üye

Gülten TEK
Üye