

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**ERİŞKİN BİREYLERDE TAM KAN SAYIMI TESTLERİNİN REFERANS
ARALIKLARININ İNDİREKT YÖNTEMLE BELİRLENMESİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Ömer Faruk SAZ

Trabzon 2025

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**ERİŞKİN BİREYLERDE TAM KAN SAYIMI TESTLERİNİN REFERANS
ARALIKLARININ İNDİREKT YÖNTEMLE BELİRLENMESİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Ömer Faruk SAZ
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU

Trabzon 2025

ÖNSÖZ

Uzmanlık tezi olarak sunduğum bu çalışmada, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, her aşamada desteğini esirgemeyen, yol gösterici yaklaşımıyla çalışmama önemli katkılarda bulunan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Orhan DEĞER'e, Sayın Prof. Dr. Asım ÖREM'e, Sayın Prof. Dr. S. Caner KARAHAN'a, Sayın Prof. Dr. Birgül KURAL'a, Sayın Prof. Dr. Ahmet ALVER'e, Sayın Prof. Dr. Ahmet MENTEŞE'ye, Sayın Doç. Dr. Fulya BALABAN YÜCESAN'a ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin YAMAN'a değerli katkıları ve destekleri için teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve her birinden birçok yeni şey öğrendiğim çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Sümeyye AYTEKİN GARİP'e, Uzm. Dr. Sümeyye Şura AYAN'a, Dr. Kevser AYAR'a, Dr. Firdevs Kevser ZIVALI'ya, Dr. Zeynep KESKİN'e, Dr. Zeynep Neyyire BEKMEZ'e, Dr. Betül TULUM'a, Dr. Oya Reyhan PAYAM'a gönülden teşekkür ederim.

Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda görev yapan tüm araştırma görevlisi, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma ve KTÜ Farabi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına emekleri ve destekleri için teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yanımda olan, her zaman desteğini hissettiren, varlıklarıyla bana güç veren ve bu günlere gelmemde emekleri en büyük olan çok kıymetli anneme, babama, ablama ve kardeşime en içten duygularıyla teşekkür eder; saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Süreç boyunca sevgisi, anlayışı, sabrı ve desteğiyle her zaman yanımda olan değerli sevgili nişanlım Ayşe Nur ESENDAĞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Ömer Faruk SAZ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ	XV
KISALTMALAR DİZİNİ	XVI
1. GİRİŞ ve AMAÇ	18
2. GENEL BİLGİLER	20
2.1. Tanım ve Terminoloji	20
2.2. Klinik Karar Sınırları	22
2.3. Referans Değer Çeşitleri	23
2.3.1. Bireysel Referans Aralıkları	23
2.3.2. Toplum Kökenli Referans Aralıkları	24
2.3.3. Çok Merkezli Referans Aralık Çalışmaları	24
2.3.4. Sürekli Referans Aralıkları	25
2.4. Referans Bireylerin Seçimi	26
2.4.1. Referans Birey Seçim Kriterleri	26
2.4.2. Alt Gruplara Ayırma Kriterleri	27
2.5. Referans Birey Seçim Yöntemleri	28
2.5.1. Direkt Örneklem Yöntemi	28
2.5.2. İndirekt Örneklem Yöntemi	29
2.6. Referans Aralık Belirlemede Preanalitik ve Analitik Süreçler	30
2.7. Referans Aralıkları Oluşturmak İçin İstatistiksel Değerlendirme	31
2.7.1. Referans Aralık Belirlenmesinde Veri Sayısı	32
2.7.2. Aykırı (Uç) Değerlerin Belirlenmesi	33
2.7.3. Alt Gruplara Ayırma Kararının Değerlendirilmesi	35
2.7.4. Referans Popülasyonun Dağılım Tipinin Değerlendirilmesi	36
2.8. Referans Aralıkların Belirleme Yöntemleri	37
2.8.1. Parametrik Yöntem	39
2.8.2. Nonparametrik Yöntem	39

2.8.3. Bootstrap Yöntemi	40
2.8.4. Robust Yöntemi	40
2.8.5. Hoffman Yöntemi	40
2.8.6. Bhattacharya Yöntemi.....	41
2.8.7. TML Yöntemi	43
2.8.8. TMC Yöntemi	44
2.8.9. ReflimR Yöntemi.....	44
2.8.10. Kosmic Yöntemi	45
2.8.11. RefineR Yöntemi	45
2.9. Referans Aralıklarında Güven Aralıkları	46
2.10. Referans Aralıkların Aktarılması	46
2.10.1. Analitik Sistemin Karşılaştırılabilirliği	47
2.10.2. Popülasyonunun Karşılaştırılabilirliği	47
2.11. Referans Aralıkların Doğrulanması.....	47
2.11.1. Öznel Değerlendirme	48
2.11.2. Az Sayıda Birey Kullanarak Değerlendirme	48
2.11.1. Çok Sayıda Birey Kullanarak Değerlendirme	50
3. GEREÇ ve YÖNTEM	51
3.1. Analitlerin Seçilmesi	51
3.2. Verilerin Eldesi.....	51
3.3. Analitik Sürecin Değerlendirilmesi.....	52
3.4. Verilerin Değerlendirilmesi.....	52
3.5. Referans Aralıkların Belirlenmesi.....	54
3.5.1. Bhattacharya Yöntemi.....	54
3.5.2. Nonparametrik Yöntem.....	55
3.5.3. ReflimR Yöntemi.....	55
3.5.4. Kosmic Yöntemi	57
3.5.5. RefineR Yöntemi	58
3.6. Referans Aralıkların Doğrulanması.....	62
3.6.1. Referans Birey Adaylarının Seçilmesi	62
3.6.2. Örneklerin Alınması, Kabulü ve Analiz	63
3.6.3. Referans Aralıkların Doğrulanmasında Analitik Kalite Kontrol	63
3.7. İstatistiksel Analiz	63
4. BULGULAR.....	66

4.1. Referans Örnek Grubu İçin Veri Setinin Oluşturulması	66
4.2. Çalışılan Parametrelerin Dağılım Verileri.....	66
4.3. Çalışılan Parametrelerin Alt Gruba Ayrılması	66
4.4. Çalışılan Parametrelerin Referans Aralıkları	67
4.5. Referans Aralıklarının Doğrulanması	85
5. TARTIŞMA	87
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	147
7. KAYNAKLAR	149
8. EKLER.....	162



ÖZET

ERİŞKİN BİREYLERDE TAM KAN SAYIMI TESTLERİNİN REFERANS ARALIKLARININ İNDİREKT YÖNTEMLE BELİRLENMESİ

Giriş: Referans aralıklar, laboratuvarlarda gerçekleştirilen ölçümlerin karşılaştırılmasında ve tıbbi karar verme sürecinde kritik bir öneme sahiptir ve bu süreçte kullanılan en yaygın ve önemli araçtır. Her laboratuvar kendi ölçüm yöntemine ve yerel popülasyonuna özgü referans aralık çalışmaları gerçekleştirmeli ve bunları periyodik olarak değerlendirmelidir.

Amaç: Hastanemiz laboratuvarında çalışılan tam kan sayımı test parametrelerinin, laboratuvar bilgi yönetim sistemine kayıtlı olan hasta sonuçlarını kullanarak, indirekt yöntemle referans aralıkların belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Laboratuvarımızda 2015-2023 yılları arasında çalışılan tam kan sayımı test parametrelerine ait sonuçlar excel programına aktarıldı. Uygun olmayan sonuçların çıkarılması için verilere filtreleme işlemi yapıldı. Ön veri temizleme işlemleri gerçekleştirildi. Tukey yöntemiyle aykırı değerler atıldı. Referans aralıkları cinsiyet açısından alt gruplara ayırma kararı için Harris-Boyd yöntemi kullanıldı. Tam kan sayımı parametrelerinden indirekt yöntemle referans aralık belirlemek için nonparametrik, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic ve RefineR yaklaşımları kullanıldı. Belirlediğimiz referans aralıkların, kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi açısından doğrulama işlemi gerçekleştirildi.

Bulgular: RBC, HB, HTC, MCH, MCHC, PLT, MO%, MO#, PCT testlerinde erkek ve kadın arasında anlamlı fark bulundu ve cinsiyete göre ayrı referans aralıklar belirlendi. Farklı indirekt tekniklerin kullanılmasının referans aralıkları önemli ölçüde etkilediği görüldü. Yapılan doğrulama işleminde tüm parametrelerde bütün yöntemlerle elde edilen referans aralıklar geçerli kabul edildi. Üretici firma tarafından sunulan referans aralıkların, bölgemizin popülasyonuna özgü referans değerlerini tam olarak yansıtmadığı görüldü. Diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında referans değerler arasında farklılıklar olduğu saptandı.

Sonuç: Çalışmalar arasında referans bireylerin örnekleme yöntemleri, referans popülasyonun özellikleri (etnik köken, beslenme koşulları, yaşanan bölgenin rakımı, yaşam tarzı gibi), ölçüm yöntemi ve kullanılan otoanalizörler ve referans aralıkların belirlenmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler gibi değişkenlerin referans aralıklar arasında farklılıklara neden olabileceği değerlendirildi. Bu farklılıkları azaltmak için hem direkt hem de indirekt referans aralığı çalışmalarında standardizasyon ve harmonizasyon büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda, Kosmic ve RefineR yöntemleri kullanılarak belirlenen referans aralıkların, diğer yöntemlere kıyasla laboratuvarımızda direkt yöntemle elde edilen sonuçlarla ve literatürdeki çalışmalarla en tutarlı sonuçlar ürettiği tespit edildi. İndirekt referans aralık çalışmalarında sıklıkla kullanılan ve klasik yöntemler olan nonparametrik ve Bhattacharya yaklaşımlarının yerine yeni nesil indirekt yöntemler olan Kosmic ve RefineR yöntemleri ile referans aralık belirlenmesini önermekteyiz. Önümüzdeki yıllarda, indirekt yöntem hakkında daha fazla deneyim kazanıldıkça bu tekniklerin gelişerek değerli hale geleceğini ve direkt yöntemin yerini alabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Tam Kan Sayımı, Referans Aralık, İndirekt Yöntem, Nonparametrik, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic, RefineR

SUMMARY

DETERMINATION OF REFERENCE INTERVALS OF COMPLETE BLOOD COUNT TESTS IN ADULT INDIVIDUALS BY INDIRECT METHOD

Introduction: Reference intervals are of critical importance in the comparison of laboratory measurements and the medical decision-making process, serving as the most common and essential tool in this context. Each laboratory should establish and periodically reevaluate reference intervals specific to its measurement methods and local population.

Objectives: The aim of this study was to determine the reference intervals for complete blood count test parameters analyzed in our hospital laboratory using the indirect method, based on patient results recorded in the laboratory information system.

Methods: Complete blood count test results obtained in our laboratory between 2015 and 2023 were transferred to an Excel program. A data filtering process was applied to exclude inappropriate results, and preliminary data cleaning was performed. Outliers were eliminated using the Tukey method. The Harris-Boyd method was employed to determine whether reference intervals should be stratified by gender. To establish reference intervals for complete blood count parameters using the indirect method, nonparametric, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic and RefineR approaches were applied. A verification process was conducted to assess the usability of the determined reference intervals.

Results: Significant differences were found between males and females for RBC, HB, HTC, MCH, MCHC, PLT, MO%, MO# and PCT tests, leading to the establishment of gender-specific reference intervals. It was observed that the use of different indirect techniques significantly affected the reference intervals. In the verification process, the reference intervals obtained for all parameters using all methods were deemed valid. The reference intervals provided by the manufacturer did not fully

reflect the reference values specific to our regional population. Comparisons with other studies revealed differences in reference values.

Conclusion: Differences in reference intervals among studies have been attributed to various factors, including the sampling methods for reference individuals, characteristics of the reference population (such as ethnicity, nutritional status, regional altitude and lifestyle), measurement methods, the autoanalyzers used and the statistical approaches applied in determining reference intervals. To reduce these discrepancies, standardization and harmonization are of paramount importance in both direct and indirect reference interval studies. In our study, reference intervals determined using the Kosmic and RefineR methods produced the most consistent results compared to other approaches, aligning closely with both the directly obtained values in our laboratory and findings reported in the literature. We recommend the use of novel indirect methods such as Kosmic and RefineR in place of the traditional nonparametric and Bhattacharya approaches, which are frequently used in indirect reference interval studies. In the coming years, as more experience is gained with indirect methods, we believe these techniques will become more valuable and may eventually replace the direct method.

Key words: Complete Blood Count, Reference Intervals, Indirect Method, Nonparametrik, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic, RefineR

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Referans değer ve ilgili terimler arası ilişki	22
Şekil 2. CLSI EP28-A3c kılavuzunda önerildiği gibi az sayıda referans birey üzerinde istatistiksel bir test kullanılarak referans aralıklarının doğrulanması algoritması (Kaynak:113'den alınmıştır).....	49
Şekil 3. HB-ERKEK histogramı	54
Şekil 4. HB-ERKEK Bhattacharya Grafiği.....	55
Şekil 5. ReflimR yöntemi ile WBC testinin referans aralığının belirlenmesi	57
Şekil 6. Kosmic yöntemi ile Hb testinin referans aralığının belirlenmesi (Kaynak:86'dan alınmıştır).....	59
Şekil 7. Referans aralıkları belirlemek için RefineR yönteminin akış şeması (Kaynak:87'den alınmıştır).....	61
Şekil 8. WBC Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	69
Şekil 9. RBC-ERKEK Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	69
Şekil 10. RBC-KADIN Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	70
Şekil 11. HB-ERKEK Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	70
Şekil 12. HB-KADIN Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	71
Şekil 13. HTC-ERKEK Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	71
Şekil 14. HTC-KADIN Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	72
Şekil 15. MCV Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	72
Şekil 16. MCH-ERKEK Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	73
Şekil 17. MCH-KADIN Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	73
Şekil 18. MCHC-ERKEK Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	74
Şekil 19. MCHC-KADIN Referans Aralıklarının Grafikselsunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	74

Şekil 20.	RDW Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	75
Şekil 21.	PLT-ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	75
Şekil 22.	PLT-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	76
Şekil 23.	MPV Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	76
Şekil 24.	LENFOSİT % Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	77
Şekil 25.	MONOSİT % - ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	77
Şekil 26.	MONOSİT % - KADIN Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	78
Şekil 27.	NÖTROFİL % Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	78
Şekil 28.	EOZİNOFİL % Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	79
Şekil 29.	BAZOFİL % Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	79
Şekil 30.	LENFOSİT # Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	80
Şekil 31.	MONOSİT #- ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	80
Şekil 32.	MONOSİT #-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	81
Şekil 33.	NÖTROFİL # Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	81
Şekil 34.	EOZİNOFİL # Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	82
Şekil 35.	BAZOFİL # Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	82
Şekil 36.	PCT-ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	83
Şekil 37.	PCT-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	83
Şekil 38.	PDW Referans Aralıklarının Grafiksle Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR).....	84
Şekil 39.	Çalışmamız sonucu belirlenen WBC referans aralıkları ve diğer referans değerler	94

Şekil 40. Çalışmamız sonucu belirlenen LY% referans aralıkları ve diğer referans değerler	95
Şekil 41. Çalışmamız sonucu belirlenen MO%- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler	97
Şekil 42. Çalışmamız sonucu belirlenen MO%- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler	98
Şekil 43. Çalışmamız sonucu belirlenen NE% referans aralıkları ve diğer referans değerler	100
Şekil 44. Çalışmamız sonucu belirlenen EO% referans aralıkları ve diğer referans değerler	101
Şekil 45. Çalışmamız sonucu belirlenen BA% referans aralıkları ve diğer referans değerler	103
Şekil 46. Çalışmamız sonucu belirlenen LY# referans aralıkları ve diğer referans değerler	104
Şekil 47. Çalışmamız sonucu belirlenen MO#- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler	106
Şekil 48. Çalışmamız sonucu belirlenen MO#- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler	107
Şekil 49. Çalışmamız sonucu belirlenen NE# referans aralıkları ve diğer referans değerler	109
Şekil 50. Çalışmamız sonucu belirlenen EO# referans aralıkları ve diğer referans değerler	111
Şekil 51. Çalışmamız sonucu belirlenen BA# referans aralıkları ve diğer referans değerler	112
Şekil 52. Çalışmamız sonucu belirlenen RBC- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler	118
Şekil 53. Çalışmamız sonucu belirlenen RBC- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler	119
Şekil 54. Çalışmamız sonucu belirlenen HB- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler	120
Şekil 55. Çalışmamız sonucu belirlenen HB- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler	121
Şekil 56. Çalışmamız sonucu belirlenen HTC- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler	124
Şekil 57. Çalışmamız sonucu belirlenen HTC- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler	125
Şekil 58. Çalışmamız sonucu belirlenen MCV referans aralıkları ve diğer referans değerler	126
Şekil 59. Çalışmamız sonucu belirlenen MCH-ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler	130

Şekil 60. Çalışmamız sonucu belirlenen MCH-KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler	131
Şekil 61. Çalışmamız sonucu belirlenen MCHC-ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler	132
Şekil 62. Çalışmamız sonucu belirlenen MCHC-KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler	133
Şekil 63. Çalışmamız sonucu belirlenen RDW referans aralıkları ve diğer referans değerler	134
Şekil 64. Çalışmamız sonucu belirlenen PLT-ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler	138
Şekil 65. Çalışmamız sonucu belirlenen PLT-KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler	139
Şekil 66. Çalışmamız sonucu belirlenen MPV referans aralıkları ve diğer referans değerler	142
Şekil 67. Çalışmamız sonucu belirlenen PCT-ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler	143
Şekil 68. Çalışmamız sonucu belirlenen PCT-KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler	144
Şekil 69. Çalışmamız sonucu belirlenen PDW referans aralıkları ve diğer referans değerler	145

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Olası Dışlama Kriterlerine Örnekler	26
Tablo 2. Alt gruplara ayırma kararı	27
Tablo 3. Tam kan sayımı parametreleri ölçüm yöntemleri ve alt-üst okuma limitleri	53
Tablo 4. Analitik performans verileri	64
Tablo 5. Veri temizliğinden sonra veri boyutundaki kademeli değişiklikler.....	67
Tablo 6. Nonparametrik, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic, RefineR yöntemleri ile elde edilen referans aralıklar (%2.5 ve %97.5 değerler)	68
Tablo 7. Referans Aralıkların Doğrulama Değerleri ve Referans Aralık Dışında Bulunan Değerlerin Yüzdesi.....	86
Tablo 8. Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz lökosit parametreleri referans aralıklarının (alt ve üst referans sınır) laboratuvarımızda yapılan ve kullanılan direkt referans aralık çalışması, üretici tarafından sunulan değerler ve literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılması	89
Tablo 9. Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz eritrosit parametreleri referans aralıklarının (alt ve üst referans sınır) laboratuvarımızda yapılan ve kullanılan direkt referans aralık çalışması, üretici tarafından sunulan değerler ve literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılması	90
Tablo 10. Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz trombosit parametreleri referans aralıklarının (alt ve üst referans sınır) laboratuvarımızda yapılan ve kullanılan direkt referans aralık çalışması, üretici tarafından sunulan değerler ve literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılması	91

KISALTMALAR DİZİNİ

- IFCC: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
(Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu)
- EPTRV: Referans Değerler Teorisi Uzman Paneli
- CLSI: Clinical And Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
- BV: Biological Variation (Biyolojik Varyasyon)
- CV_P: Pre-analitik Varyasyon
- CV_I: Birey içi Biyolojik Varyasyon
- CV_G: Bireyler Arası Biyolojik Varyasyon
- CV_A: Analitik Varyasyon
- RDD: Referans Değişim Değeri
- II: Index of Individuality (Bireysellik İndeksi)
- IQR: Inter Quartil Range (Çeyrekler arası aralık)
- WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
- PSP: Popülasyon Ayar Noktası
- SD: Standart Sapma
- CV: Coefficient of Variation (Varyasyon Katsayısı)
- SDR: Standart Sapma Oranı
- K-S: Kolmogorov-Smirnov
- TML: Truncated maximum likelihood
- TMC: Truncated minimum chi-square
- RefLimR: Reference Limit Estimation Using Routine Laboratory Data
- Kosmic: Kolmogorov-Smirnov-Distance
- RefineR: Reference Interval Estimation using Real-World Data
- PN: Power Normal
- DGKL: Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
(Alman Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Derneği)
- CRAN: Comprehensive R Archive Network
- RA: Referans Aralığı
- LBYS: Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi

CBC: Complete Blood Count (Tam kan sayımı)

WBC: Beyaz küre sayısı

HB: Hemoglobin

RBC: Eritrosit

HCT: Hematokrit

MCV: Mean corpuscular volüm (Ortalama Eritrosit Hacmi)

PLT: Trombosit

MCH: Mean corpuscular hemoglobin (Ortalama Eritrosit Hemoglobin)

MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration (Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu)

RDW: Red cell distribution width (Eritrosit Dağılım Genişliği)

MPV: Mean platelet volüme (Ortalama Trombosit Hacmi)

NE#: Nötrofil sayısı

NE%: Nötrofil yüzdesi

LY#: Lenfosit sayısı

LY%: Lenfosit yüzdesi

MO#: Monosit sayısı

MO%: Monosit yüzdesi

BA#: Bazofil sayısı

BA%: Bazofil yüzdesi

EO#: Eozinofil sayısı

EO%: Eozinofil yüzdesi

PDW: Platelet distribution width (Trombosit Dağılım Genişliği)

PCT: Plateletcrit

HBV: Hepatit B Virüs

HCV: Hepatit C Virüs

HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü

EHR: Electronic Health Record (Elektronik Sağlık Kayıtları)

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Sağlık kurumlarına başvuran bireylerin yaklaşık %75-85'ine bir laboratuvar testi yapılmakta ve klinik kararların yaklaşık %80'i bu sonuçlar kullanılarak verilmektedir (1). Klinik laboratuvarlarda gerçekleştirilen ölçümler tanı, izlem ve tarama amacıyla kullanılır (2). Referans değerler, laboratuvarlarda gerçekleştirilen ölçümlerin karşılaştırılmasında ve tıbbi karar verme sürecinde kritik bir öneme sahiptir ve bu süreçte kullanılan en yaygın ve önemli araçtır (3–5). Klinisyen hasta hakkında yorum yaparken tıbbi öykü, muayene bulguları ve laboratuvar test sonuçlarını, verilen referans değerlere göre değerlendirir. Böylece elde ettiği bulguların referans değerlerle uyumluluğuna bakabilir, uyumlu değilse de bilinen bir hastalık tanımıyla uyumlu olup olmadığına bakarak tanısına karar verebilir. Patolojik olanın tanınması ancak fizyolojik olanın iyi ve doğru bir şekilde tanımlanmasıyla mümkündür. Farklı özellikleri (yaş, cinsiyet, ırk, kilo, boy vb.) nedeniyle insanları ortak tanımlara sığdırmak zordur. Bu amaçla toplumun farklı kesimlerini (yaş, cinsiyet, ırk, gebelik vb.) temsil edebilecek referans aralıkları belirleme görüşü öne sürülmüştür. Yıllar içinde birçok araştırmacının katkısıyla günümüzdeki haline ulaşmıştır (6).

Her laboratuvarın kendi ölçüm yöntemine ve yerel popülasyonuna özgü referans aralık çalışmaları gerçekleştirmesi ve bunları periyodik olarak güncellemesi önerilmektedir. (7,8). Referans aralıkların direkt yöntemle belirlenme süreci referans popülasyonun tanımlanması; bireylerin seçimi, bilgilendirilmiş onamın alınması, örnek toplama, işleme ve saklama; örnek analizi gibi istatistiksel değerlendirme ile rutin kullanım için referans aralıklarının oluşturulmasını kapsamaktadır (7). Direkt yöntemle referans aralıkların geliştirilmesi, karmaşıklığı, yüksek maliyeti ve uzun zaman gerektirmesi nedeniyle genellikle tek bir laboratuvarın kapasitesinin ötesinde kalmakta, bu da klinik laboratuvarlarda kullanılan referans aralıklarının güncelliğini yitirmesine ve eksiklikler içermesine yol açmaktadır (9–12). Direkt örnekleme yöntemindeki bu zorluklar daha basit ve daha düşük maliyetli alternatif yaklaşımların arayışına neden olmuştur (13,14). Rutin olarak ölçümü yapılan örneklerden elde edilen sonuçların kullanıldığı indirekt referans aralığı belirleme yöntemi bu kapsamda öne çıkmaktadır. Bu yöntemde, hastaneye başvuran bireylerden elde edilen sonuçlar incelenerek, sağlıklı bireylerin verileri istatistiksel yöntemler kullanılarak patolojik olanlardan ayırt edilmekte ve referans aralıklar belirlenmektedir (11).

Bu çalışmanın amacı;

i. Hastanemiz laboratuvarında çalışılan tam kan sayımı test parametrelerinin, laboratuvar bilgi yönetim sistemine kayıtlı olan hasta sonuçlarını kullanarak, indirekt yöntemle referans aralıklarını belirlemek,

ii. Belirlenen bu referans aralıkların üretici firmanın önerdiği değerlerle ve literatür ışığında tartışmak,

iii. Elde edeceğimiz değerlerin laboratuvarımızda referans aralık olarak kullanılabilirliği ile hastanemizde sunulan teşhis ve tedavi hizmetlerinin kalitesine katkıda bulunmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

Laboratuvar test sonuçları klinikte hayati bir rol oynar. Hekimler, görünüşte sağlıklı kişilerde hastalık taraması yaparken, belirli semptomları veya bulguları olan bireylerde belirli hastalıkların tanısını doğrulamak, dışlamak veya olasılığını değiştirmek için bu sonuçları kullanır. Ayrıca, bir hastada zaman içinde meydana gelen değişikliklerin izlenmesi için de laboratuvar testleri önemlidir. Bu hedeflere ulaşmak için yorumlama, referans değerlerle karşılaştırılarak yapılır. Referans değer kavramı altında çok sayıda tanım bulunmaktadır (3). Bu nedenle terminolojiden kısaca bahsetmek konunun anlaşılmasını kolaylaştıracaktır.

2.1. Tanım ve Terminoloji

Hasta sonuçlarını karşılaştırmak için kullanılan değerler için yapılan ilk çalışmalarda normal değerler terimi kullanılmış ancak bu terimin kullanımı, normal kelimesinin farklı anlamlar çağrıştırmamasından dolayı zaman içinde karışıklığa yol açmıştır (15). Normal değerler teriminin içerdiği belirsizlikleri önlemek için, referans değerler kavramı 1980'lerde uygulamaya konmuştur (13,16). Referans değer, belirli bir niceliğin referans bireyde gözlemlenmesi veya ölçülmesi ile elde edilen değer olarak tanımlanır (7).

Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (The International Federation of Clinical Chemistry: IFCC) Referans Değerler Teorisi Uzman Paneli (EPTRV) tarafından önerilen terminolojiyle referans değerler tanımı kabul edilmiştir (17). Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (The Clinical & Laboratory Standards Institute: CLSI) EP28-A3c "Klinik Laboratuvarlarda Referans Aralıklarının Tanımlanması, Tespiti ve Doğrulanması" kılavuzu bununla ilişkili olarak referans birey, referans popülasyon, referans örnek grubu, referans değer, referans dağılım, referans sınır, referans aralık ve gözlenen değerler terimlerini de önermiştir (7).

Referans birey: Sağlık durumunun iyi bir şekilde tanımlandığı ve belli kriterler temelinde seçilmiş, test sonuçları referans değer olarak kullanılabilen kişidir (7).

Referans popülasyon (toplum): Tümü referans bireylerden oluşan bir topluluktur. Referans popülasyonun genellikle bilinmeyen sayıda üyeden oluşur ve bu nedenle varsayımsal bir oluşumdur (7).

Referans örneklem grubu: Referans popülasyonu temsil etmek üzere seçilmiş yeterli sayıda referans bireyden oluşan topluluktur (7).

Referans değer: Referans örnek popülasyonundaki referans bireyler üzerinde belirli bir türdeki niceliğin gözlemlenmesi veya ölçülmesi sonucunda elde edilen değerlerdir (7).

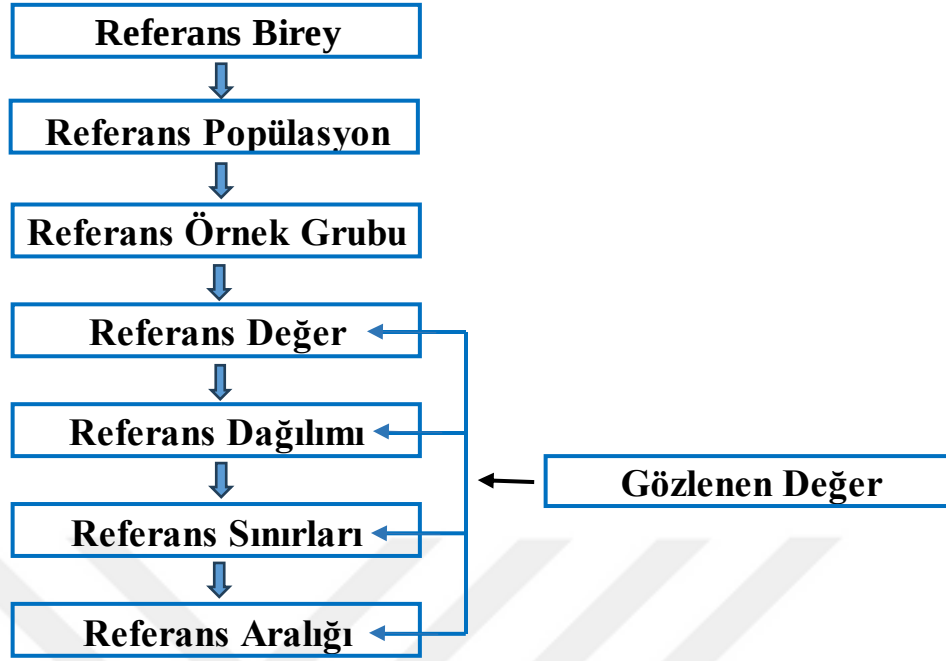
Referans dağılımı: Referans bireylerden elde edilen değerlerin dağılımıdır (7).

Referans sınırları: Referans dağılımından hesaplanan referans aralığının alt ve üst sınırlarını tanımlayan değerlerdir. Bunlar tipik olarak dağılımın merkezi %95'ine denk gelen istatistiksel değer aralığının alt ve üst uçtaki %2,5'lik kısımlarıdır. Bu aralıktaki %2,5 değerine “alt referans sınırı” ve %97,5 değerine “üst referans sınırı” denir (7).

Referans aralık: Referans örneklem grubunda gözlemlenen veya referans popülasyon için tahmin edilen ve belirli bir yüzdeyle (örneğin merkezi %95) tanımlanan değerler aralığını ifade eder. Yani iki referans sınırı arasındaki ve bu sınırları içeren aralıktır. Alt referans sınırından üst referans sınırına kadar olan değerlerin aralığı olarak belirlenir (7).

Gözlenen değer (Hasta laboratuvar test sonucu): Gözlem ve ölçüm yapılarak belirlenen, tıbbi referans değerler, referans dağılım, referans sınırlar ve aralıklar gözlemlenerek analiz yapılan ve tıbbi karar verme süreçlerinde kullanılan değerdir. Gözlenen değer, klinik değerlendirmeye tâbi tutulan bir bireyden alınan örneğin laboratuvar analiziyle elde edilen sonucudur (7).

Genel hatlarıyla bu terimler arasındaki ilişki Şekil 1’de gösterilmektedir. Referans bireyler bir araya gelip referans popülasyonu oluşturur, bu popülasyondan referans örnek grubu seçilir. Referans örnek grubundaki referans bireylerden referans değerler elde edilir. Referans değerlerden referans dağılım gözlenir. Referans dağılım referans sınırları belirler. Referans sınırlar referans aralığı tanımlar. Gözlenen değer (hasta laboratuvar test sonucu), tıbbi referans değerler, referans dağılım, referans sınırlar ve aralıklar ile karşılaştırılarak tıbbi karar vermek için kullanılır (17).



Şekil 1. Referans değer ve ilgili terimler arası ilişki

2.2. Klinik Karar Sınırları

Klinik karar sınırları bir hastalık veya klinik durumun varlık veya risk olasılığını tanımlayan değerlere denir. Referans değerler sağlıklı bir referans popülasyonunda görülen sonuçların tipik dağılımını tanımlarken, klinik karar sınırları esas olarak klinik sonuç çalışmalarına (örn. prospektif kohort çalışmaları, meta-analiz), kılavuzlara ve konsensüs değerlerine dayanmaktadır. Klinik karar sınırları önemli ölçüde daha yüksek olumsuz klinik sonuçlarla ilişkilidir veya belirli bir hastalığın varlığı için tanı koydurucudur (18–20). Ancak, iki kavram bazen birbirine karıştırıldığından, bu terimler arasındaki farkların netleştirilmesi ve özellikle klinik karar sınırlarının belirli hastalıklar veya hastanın hayatı için risk oluşturan klinik durumlarla bir ilişkisinin olması, böylelikle etkili klinik müdahalelerin mevcut olduğunu göstermesi nedeniyle kolayca ayırt edilmelerinin sağlanması gerekmektedir. İki sınırın (alt ve üst) olduğu referans aralıkların aksine, genellikle üst veya alt sınır olan yalnızca bir klinik karar sınırı vardır. Bununla birlikte, çeşitli klinik durumların veya farklı klinik soruların olasılığına göre, birden fazla düşük ve yüksek klinik karar sınırı kullanılabilir (18). En belirgin örnek, çeşitli karar sınırlarının tanımlandığı açlık glukozudur: hipoglisemi tanısı için ≤ 70 mg/dL (hayatı tehdit eden hipoglisemi için ≤ 40 mg/dL) (21); diyabet veya prediyabet riskinin artması için 100-125 mg/dL; ve diabetes mellitus için ≥ 126 mg/dL)

(22,23). Glukoz seviyesinin 400 mg/dL ve üzerinde olması kritik değer olarak kabul edilir (23).

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı akılcı laboratuvar kullanımı karar sınırı (eşik değer), kritik değer (panik değer) ve ölçüm birimlerinin harmonizasyonu prosedürü doğrultusunda HbA1c, glukoz, kolesterol, trigliserit, LDL kolesterol, HDL kolesterol testlerinde referans aralık yerine klinik karar sınırlarının kullanılması önerilmiştir (23).

Güncel klinik karar sınırlarına örnek olarak kolesterolle ilgili Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (National Cholesterol Education Program: NCEP) kılavuzları (24), HbA1c veya plazma glukozu ile diyabet teğhisi için Amerikan Diyabet Derneği (American Diabetes Association: ADA) önerileri (22), yenidoğan bilirubinine ilişkin Amerikan Pediatri Akademisi (American Academy of Pediatrics: AAP) kılavuzları (25) verilebilir.

2.3. Referans Değer Çeşitleri

Referans değer çeşitlerinin sınıflandırılmasında farklı şekiller olabilir. Bu sınıflandırma, kaynaklarına veya elde edilme şekillerine göre değişiklik gösterir.

2.3.1. Bireysel Referans Aralıkları

Bireysel referans değerler, aynı kişiden tanımlanmış bir sağlık durumunda iken elde edilen önceki değerlerdir. Gözlenen değerlerin bireysel referans değerlerle karşılaştırılması, biyokimyasal veya fizyolojik durumdaki değişiklikleri tespit etmek için genellikle daha hassas bir yöntemdir. Çünkü değişkenlik genellikle bir bireyde, bireyler arasında olduğundan daha azdır (17). Herhangi bir laboratuvar testi için bireyden farklı zamanlarda seri örnekler alınsa ve çalışılrsa, elde edilen ölçümler tam olarak aynı olmaz. Zaman içinde bireyin test sonuçlarındaki değişimler, klinik durumunun iyileşmesine ya da tam tersi bozulmasından kaynaklanabileceği gibi bu değişikliğe esas olarak neden olan üç varyasyon kaynağına da bağlı olabilir. Bunlar pre-analitik varyasyon (CV_P), birey içi biyolojik varyasyon (CV_I) ve analitik varyasyondur (CV_A) (26).

Birey içi Biyolojik Varyasyon (CV_I) ve Bireyler Arası Biyolojik Varyasyon (CV_G) arasındaki ilişki bireysellik indeksi (II) olarak bilinir (Formül-1) ve test sonuçlarının referans aralık ile karşılaştırılarak değerlendirilmesinin uygunluğu hakkında bilgi sağlayan bir

parametredir. Bireysellik indeksinin düşük olduğu analitlerde (örneğin kreatinin), toplum kökenli referans aralıklarının kullanılması klinik olarak önemli birey içi varyasyonlardan uzaklaşılmasına neden olabilir. Çünkü bireyin farklı zamanlarda yapılan iki ölçümü arasında önemli bir fark olsa bile, her iki ölçüm de popülasyondan belirlenen referans aralığına göre referans sınırları içinde olabilir ve bu durum bireyin sağlık durumundaki bir değişikliğe işaret etmesine rağmen önemsenmeyebilir. Bireyin farklı zamanlarda yapılan ölçüm değerleri arasındaki farkın anlamlılığını değerlendirmek için referans değişim değeri (RDD) (Formül-2) kullanması önerilir (26,27). Bireysellik indeksi test sonuçlarının referans aralık ve/veya referans değişim değeri ile değerlendirilmesinin uygunluğu hakkında bilgi verir (26)

$$\text{Bireysellik İndeksi (II)} = CV_I / CV_G \quad (\text{Formül-1})$$

$$\text{Referans Değişim Değeri (RDD)} = 2^{1/2} \cdot Z \cdot (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2} \quad (\text{Formül-2})$$

Formül-2'deki Z değeri %95 güven aralığında 1.96'dır. Bireysellik indeksi 0.6' nın altında olan testlerin bireyselliği yüksektir ve ardışık sonuçlar değerlendirilirken önceki sonucuna göre değerlendirilmesi, RDD veya bireysel referans aralıklarının kullanımı önerilmektedir. Bireysellik indeksi 1.4' ün üzerinde olan testler için toplum kökenli referans aralığı kullanımı önerilmektedir; bireysellik indeksi 0.6 ile 1.4 arasında olan testlerde ise hem RDD, hem de referans aralıklarına göre değerlendirme önerilmektedir (28,29)

2.3.2. Toplum Kökenli Referans Aralıkları

Toplumdan köken alan referans aralıklar, referans popülasyondan seçilen referans bireylerden elde edilen değerlerden belirlenir (7). Laboratuvarlarda genellikle toplum kökenli referans aralıkları kullanılmaktadır.

2.3.3. Çok Merkezli Referans Aralık Çalışmaları

Referans aralık belirlenmesinde etkili faktörler arasında iki değişken özellikle önemlidir; kullanılan analitik yöntem ve referans bireylerin oluşturduğu referans popülasyon. Her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesine yönelik tavsiye temelde bu iki değişkenden kaynaklanmaktadır. Yöntemler arasında karşılaştırılabilirlik sağlandıktan sonra, her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi için geriye kalan referans popülasyonda farklılıklardır. Bazı farklılıklar var olmasına rağmen, bunlara yönelik

yeterli kaynak bulunmamaktadır ve bu nedenle çok merkezli bir çabayla ortak bir referans aralıkları kümesi oluşturmak mümkün olabilir (7).

Referans aralıkları genellikle tek bir laboratuvar tarafından gerçekleştirilen örnek analizi ile iyi tanımlanmış ve temsili bir referans popülasyon kullanılarak belirlenebilir. Aynı zamanda tek bir platform veya birden fazla platform kullanılarak gerçekleştirilen örnek analizi ile çok daha geniş bir popülasyon demografisine ve/veya coğrafi konuma hizmet etmek amacıyla da belirlenebilir ve bu durum ortak referans aralıkları olarak adlandırılır (30). İki tür ortak referans aralığı vardır. Birincisi, birçok ön koşulu olan ve iyi yürütülen çok merkezli çalışmalarla tanımlanan objektif referans aralıklar, ikincisi ise anket(ler) ve uyumlaştırma yaklaşımını kullanan bir grup uzmanın rehberliğiyle tanımlanan subjektif referans aralıklardır (31–33).

Çok merkezli referans aralık çalışmaları, referans aralıkları araçsal, metodolojik ve coğrafi spektrumda uyumlu hale getirme girişimi olarak tanımlanabilir (34). Ülkemizde de yedi coğrafi bölgeyi kapsayan, yirmi beş klinik kimya testi için çok merkezli referans aralık çalışması gerçekleştirilmiştir (33).

2.3.4. Sürekli Referans Aralıkları

Referans aralıklar veya test sonuçları cinsiyet, bölge veya etnik köken gibi farklı ortak değişkenlerden etkilenebilir. Birçok test aynı zamanda yaş değişkenine de oldukça bağlıdır ve fizyolojik gelişim sırasında, özellikle bebeklik, ergenlik ve yaşlılarda kapsamlı dinamikler gösterir (35–37). Yaşa bağlı dinamik değişiklikleri göstermek için kullanılan yaklaşımlardan biri birbirinden ayrı yaş gruplarını tanımlamak ve yaş gruplarına özgü referans aralıkları belirlemektir. Ancak, bu ayrı yaş grupları altta yatan fizyolojik dinamikleri yalnızca belirli bir dereceye kadar yakalayabilir ve altta yatan düzgün geçişin aksine, yaş grupları arasında doğal olmayan, süreksiz geçişlere yol açabilir (38–41). Bu sorunu aşmak için sürekli referans aralıkları önerilmiştir (37,41–43). Bu tür sürekli, yaşa bağlı eğriler için yenidoğanlar ve küçük çocuklar için Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization: WHO) büyüme çizelgeleri örnek gösterilebilir (44).

2.4. Referans Bireylerin Seçimi

Her kurumun veya araştırmacının farklı sağlık kriterleri olabileceği için çalışmaya başlamadan önce bu kriterler tanımlanmalıdır. Herhangi bir çalışmaya başlarken sağlıklı olarak kabul edilen bireylerin tanımlanması yanında, referans örneklem grubundan sağlıklı olmayan bireylerin tanımlanması için kullanılan kriterlerin belirlenmesi de referans bireylerin seçilmesinde önemli bir adımdır. Referans adayı birey için sağlıklı olduğunun belirlenmesi ve normal olup olmadığının saptanması, öykü, fizik muayene ve/veya belirli klinik laboratuvar testleri gibi incelemeleri içerir (7). Referans değer çalışması için sağlıklı ilgili seçim kriterleri açıkça belirtilmezse karışıklık çıkması muhtemeldir (3). Referans değer çalışması için kullanılan kriterler tanımlanmalı ve belgelenmelidir, böylece başkaları da bu referans örnek grubunun sağlık durumunu değerlendirebilir. Dahil etme, dışlama ve bölümlere ayırma kriterlerini içeren iyi tasarlanmış bir anket, referans bireyin sağlığını değerlendirmek için uygulanabilir. Seçilen referans bireylerin hastalık dışındaki tüm açılardan hasta popülasyonuna mümkün olduğunca yakın olmasını sağlamak önemlidir (7).

2.4.1. Referans Birey Seçim Kriterleri

Referans aralığın belirleneceği referans popülasyona ait referans bireyin çok iyi tanımlanması ve sadece bu tanımlamaya uyan bireylerin çalışmaya dahil edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu tanımlamalar dışlama ve seçim kriterlerini şekillendirmektedir. Dışlama kriterleri, aday referans birey ile ilgili olan ve mevcut olması durumunda bu kişinin referans örneğe dahil edilmemesine neden olan durumlardır. Her bir popülasyon için dışlama kriterleri o popülasyona ait özelliklere dayanmalıdır. Hedef popülasyona özgü farklı biyolojik varyasyon nedenleri varsa, dışlama kriterleri oluşturulurken bunlar da değerlendirmeye alınmalıdır. Bazı olası dışlama kriter örnekleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Olası Dışlama Kriterlerine Örnekler

Alkol Tüketimi	Çevresel faktörler
Sigara tüketimi	Mesleki faktörler
Emzirme	Kan nakli bağışçısı olmak
Açlık-Tokluk	Yakın zamanda geçirilmiş hastalık
Obezite	Yakın zamanda yatarak tedavi öyküsü
Gebelik	Yakın zamanda geçirilen cerrahi operasyon
Hipertansiyon	Yakın zamanda kan nakli yapılmış olması

2.4.2. Alt Gruplara Ayırma Kriterleri

Referans bireyleri kendi içinde alt gruplara ayırarak daha homojen gruplar elde etmek mümkündür. Bölümleme kriterleri, seçilen referans bireyin, referans örneklemini önemli alt sınıflara ayıran özellikleridir. En yaygın bölümleme kriterlerinden ikisi yaş ve cinsiyettir çünkü birçok analit farklı yaş ve cinsiyet grupları arasında belirgin farklılıklar göstermektedir (45–47). Yaş, eşit aralıklarla (örneğin, on yıllara göre) veya daha fazla varyasyonun gözlemlendiği yaşam dönemlerinde daha dar aralıklarla kategorize edilebilir. Bazı durumlarda yaş gruplarını postnatal, bebek, çocuk, prepubertal, pubertal, yetişkin ve geriatric gibi niteliksel yaş gruplarına ayırarak kullanmak daha uygun olabilir (3). Referans popülasyonu alt gruplara ayırmak için kullanılan diğer kriterler Tablo 2’de listelenmektedir (7). Bir çalışmada dışlama kriteri olarak kabul edilen bir faktör, başka bir çalışmada bölümleme için kullanılabilir. Örnek olarak gebelik verilebilir. Genel popülasyona hizmet veren bir laboratuvar hamile kadınları referans popülasyonunun dışında tercih edebilirken; obstetrik grup uygulamalarını destekleyen bir laboratuvar referans hamile kadınlardan oluşturduğu referans popülasyonu trimesterlere göre bölmeyi tercih edebilir (7).

Tablo 2. Alt gruplara ayırma kararı

Etnik Köken	Yaş
Gebelik dönemi	Cinsiyet
Kan alımı sırasındaki duruş (Postür)	Coğrafi bölge
Menstruel siklusun dönemi	Obezite
Beslenme özellikleri	Kan grubu
Sigara kullanımı	Açlık-Tokluk
Sirkadiyen değişiklikler	Egzersiz

İyi tasarlanmış anketler, dışlama ve bölümlere ayırma kriterlerini uygulamak için mükemmel bir araçtır. Bu formlar basit olmalıdır. Sorular çoğunlukla evet/hayır cevaplarını ve basit, açıklayıcı yanıtları gerektirmelidir. Anket, kan basıncı, boy ve kilo gibi bazı basit ölçümleri de içerebilir. Aynı zamanda bu anketler sağlıklı olduğu düşünülen bireylerle görüşme yaparken de kullanılabilir. Referans bireyleri korumak için anket bilgilerinin ve test sonuçlarının gizli tutulması önemlidir. Ayrıca kişilerin iletişim bilgileri de kaydedilmelidir. Gönüllülerden sözlü veya yazılı olarak aydınlatılmış onam alınmalıdır. Ulusal ve uluslararası etik kurallara uyulmalıdır (7).

2.5. Referans Birey Seçim Yöntemleri

Referans popülasyonu en iyi şekilde temsil eden referans bireylerin seçiminde direkt örnekleme yöntemi ve indirekt örnekleme yöntemi kullanılmaktadır.

2.5.1. Direkt Örnekleme Yöntemi

Referans bireyler, spesifik ve iyi tanımlanmış kriterlere göre ana topluluktan seçilir. Referans değerlerin hesaplanmasına yönelik IFCC ve CLSI standartları, referans bireylerin direkt örnekleme yoluyla seçilmesini önermektedir. Referans bireyleri direkt örnekleme yöntemi ile referans aralık çalışmalarına dahil etmek için iki uygulama yöntemi vardır (7).

A Priori (Test öncesi örneklem): Bireyler, tanımlanmış dahil edilme kriterlerini karşılamaları halinde örnek toplama ve analiz için seçilir. Test öncesi örneklemede dahil edilme, dışlama ve alt gruplara ayırma kriterleri belirli bir ankete göre yapılır (7).

A Posteriori (Test sonrası örneklem): Bireylerin seçiminde dahil edilme, dışlama ve alt gruplara ayırma aşamaları priori yaklaşımından farklı bir sırada (yani, örnekleme ve analizden önce değil sonra) gerçekleşir. A posteriori yöntem, tıbbi olarak muayene edilen bireyler ve ölçülen nicelikler hakkında geniş bir veri birikiminin mevcudiyetine dayanmaktadır (3). A posteriori yaklaşım, özellikle yeni ya da az çalışılmış ve literatürde yeterli bilgi olmayan laboratuvar testleri için daha uygun olabilir (7).

A priori yaklaşımın kullanımı direkt referans aralığı çalışmalarıyla sınırlıdır, ancak a posteriori yaklaşım direkt ve indirekt çalışmalara uygulanabilir (13). A Priori ve a posteriori yaklaşımda bireyler rastgele örnekleme ve rastgele olmayan örnekleme olmak üzere iki farklı şekilde seçilir. İdeal olarak, referans bireyler grubu, ana popülasyonda tanımlanan dahil edilme kriterlerini karşılayan tüm bireylerin rastgele bir örneği olmalıdır. Dağılım parametrelerinin (ve güven aralıklarının) istatistiksel tahmini ve istatistiksel hipotez testleri bu varsayımı gerektirir (3). Çeşitli nedenlerden dolayı, çoğu referans değer kümesi aslında rastgele olmayan bir süreçle elde edilir (48). Bu, incelenen tüm popülasyondaki olası tüm referans bireylerin, genellikle çok daha küçük olan incelenen birey örnekleme dahil edilmek üzere seçilme şansının eşit olmadığı anlamına gelir. Çoğu durumda tamamen rastgele bir örnekleme planı pratik nedenlerden dolayı mümkün değildir (3). Genellikle rastgele olmayan örneklem yöntemi kullanılmaktadır.

2.5.2. İndirekt Örnekleme Yöntemi

Referans aralıkların belirlenmesi sürecinde referans bireylerin direkt ve priori örnekleme yoluyla seçilmesi önerilmekte birlikte bu süreç referans popülasyonun tanımlanması; referans bireylerin bulunması, bilgilendirilmiş onamın alınması, örnek toplama, işleme ve saklama; örnek analizi, istatistiksel değerlendirme ve rutin kullanım için referans aralıklarının geliştirilmesini içerir. Bunlar çok zaman alıcı, karmaşık, maliyetli ve zor uygulamalardır (9–11). Çalışmanın etik açıdan onaylanması da önemli ölçüde zaman alabilir (49). Kan, idrar veya vücut sıvısı gibi farklı örnek türlerinden veya hamileler, geriatrik, pediatrik gibi bazı popülasyonlardan örnek almak son derece zor olabilir (11). Direkt örnekleme yöntemindeki bu zorluklar daha basit ve daha az maliyetli yaklaşımların arayışına yol açmıştır (13,14).

Alternatif bir yaklaşım, tarama, teşhis veya izleme amacıyla rutin olarak toplanan örneklerden elde edilen sonuçların referans aralıklarını belirlemek için kullanıldığı indirekt yaklaşımdır (11). Bu yaklaşımın mantığı, genellikle yüzlerce veya binlerce hastadan binlerce veya milyonlarca sonuç içeren veri tabanlarından, hastalığı olmayan bireylerin sonuçlarını da içermesi ve çeşitli filtrelemeler, dışlama kriterleri ve istatistiksel yaklaşımlar (50,51) kullanılarak, sağlıklı bireylerden elde edilen verileri patolojik olanlardan ayırt etmek (52) ve altta yatan referans dağılımının ayırt edilebilmesidir. Birçok indirekt örnekleme yöntemi ile yapılan çalışma; referans aralık oluştururken hastaneye başvuran tüm hastalar veya poliklinik hastalarından elde edilen verileri kullanır. Ancak nispeten daha sağlıklı olabilecek bireylerin sonuçları kullanılarak daha uygun sonuçlar elde edilebilir (7). Nispeten sağlıklı olabilecek bireylere; kan nakli bağışçıları, periyodik sağlık taramasından geçen bireyler, küçük cerrahi işlem geçiren hastalar, kurşun taramasından geçen bireyler, genetik taramaya tabi tutulan kişiler (örneğin, kistik fibroz hastalarının etkilenmemiş ebeveynleri ve kardeşleri) örnek gösterilebilir (7). IFCC mevcut referans aralıklarını değerlendirmek, yeni referans aralıklarını belirlemek ve sonuçlarını uygun ayrıntılarla yayınlayıp paylaşmak için indirekt yöntemleri kullanmaya teşvik etmektedir (11).

İndirekt yöntemlerde yer alan adımlar direkt yöntemlerdekine benzerdir (11,53,54). İlk adım, indirekt yöntemlerin belirli bir teste uygulanmasının mümkün olup olmadığını belirlemektir. İndirekt yöntemler için temel noktalar arasında popülasyon/test istikrarı, veri unsurları ve veri erişilebilirliği yer alır. Dikkate alınması gereken bir diğer faktör de analitin

nasıl kullanıldığıdır (örneğin patolojik oranın artmasına yol açacak yüksek bir ön test olasılığı olup olmadığı gibi). İkinci önemli faktör, veri toplama sürecinde gerekli olan veri unsurlarıdır; bunlar arasında doğum tarihi, cinsiyet, cihaz tanımlayıcıları, istenen test tanımlayıcısı, örnek matrisi, sonuçlar, sonuç yorumları ve testin tamamlanma tarihi gibi alt gruplara ayırma için sıklıkla gerekli olan ilgili demografik bilgiler sayılabilir. Veri erişilebilirliği kısmen çıkarılacak veri unsurları tarafından belirlenir ve bu da en yaygın olarak elektronik sağlık kayıtları (EHR) ve laboratuvar bilgi yönetim sistemi (LBYS) olmak üzere hedeflenecek veri tabanını belirler. Diğer erişilebilirlik unsurları etik kurul onay gerekliliği, veri kullanım politikaları, hangi veri kaynaklarının kullanılacağını belirlenmesi ve dışlama ve dahil etme kriterlerinin oluşturulmasıdır (34).

Veri setine istatistiksel yöntemler uygulanmadan önce ön veri temizleme önlemleri uygulanabilir (11). Yatan hastalar ve özel polikliniklerden (acil, onkoloji, hematoloji, gastroenteroloji ve nefroloji) gelen hasta test sonuçları filtrelenip veri setinden çıkarılabilir (11,49). Eğer hastaya ait bir yılda birden fazla kayıt varsa, birden fazla test gerekliliğinin daha yüksek sağlıksız durum olasılığı anlamına geldiği varsayımıyla, tek, ilk veya son sonuç dışında yılın tüm kayıtları veri setinden çıkarılabilir (11). Uygun olmayan örnekler (örneğin hemolizli örnekler gibi) çıkarılabilir (34). Veri setleri, sonucu etkileyen hastalık olasılığının daha yüksek olduğu bireylerden gelen sonuçların sıklığını azaltmak için biyokimyasal olarak filtrelenebilir (11). Bu, diğer sonuçlara (örneğin tiroid ile ilgili hormonların referans aralıklarını belirlemek için negatif anti-tiroglobulin antikorları ve anti-tiroid peroksidaz otoantikorları olan hastalar), örnek toplama yerine (yani yüksek rakımda yaşayanlar, yatan hastalar) veya sağlanan klinik bilgilere dayanabilir (11).

Büyük analitik veriler günümüzde daha erişilebilir olduğundan, indirekt yaklaşımlar artık popüler hale gelmiş ve gündemdedir (55).

2.6. Referans Aralık Belirlemede Preanalitik ve Analitik Süreçler

Bir laboratuvar testi için referans değerler üretme sürecinin ilk adımı her zaman çalışılan analit için biyolojik, preanalitik ve analitik varyasyon kaynakları hakkında bilgi toplamak ve bu değişkenleri standardize etmek olmalıdır (3). Çünkü hataların %50-%70'ini kapsayan preanalitik değişkenler, birey içi ve bireyler arası biyolojik değişkenler, ölçüm sisteminin kalite kontrol ve performans verileri referans aralıkları üzerinde büyük etkiye sahiptir. Bireylere örnek almadan önce açlık-tokluk, egzersiz, seyahat, ilaç kullanımı, sigara

ve alkol tüketimi hakkında bilgilendirme yapılmalıdır. Bunun yanında örnek alma zamanı, örnek alınmadan önceki istirahat postürü ve süresi, örnek alım sırasındaki postür, örnek türü (venöz, arteriyel), örneğin alınacağı tüpün türü, örnek alım sırası, şekli ve taşıma koşulları, örnek santrifüj edilecekse; santrifüj süresi ve kuvveti (relative centrifugal force), örnek hemen çalışılmayacaksa örneğin saklama koşulları gibi prosedürler belirlenmelidir. Tekrarlanabilirlik ve standardizasyon için, preanalitik aşamanın toplam test süreci içinde en yüksek hataya sahip olduğu bilindiğinden, preanalitik faktörlerin doğru bir şekilde tanımlanması ve açıklanması çok önemlidir (56). Biyolojik varyasyon kaynakları arasında en önemlileri cinsiyet, yaş, kronobiyolojik etkiler, açlık, tokluk, postür ve etnik kökendir. Bu faktörler kimi zaman göz ardı edilebilmektedir. Bu nedenle, referans aralığını belirlemek istediğimiz analit için ön araştırma yapılması gerekir (57). Bu prosedürler çalışmaya katılan tüm bireylere aynı şekilde uygulanmalıdır. Böylece analiz öncesi değişkenlerin sonuçlar üzerinde oluşturabileceği etki en aza indirilmiş olur.

Ölçüm yöntemlerinin analitik değişkenlik göstermesi sonucu ortaya çıkan farklılıklar referans aralıkların belirlenmesini etkiler. Bu nedenle referans aralık ölçümü yapacak laboratuvarın analitik geçerliliğini kanıtlaması gerekmektedir. Ekipmanlar, enstrümantasyonlar, reaktifler, kalibrasyon standartları, hesaplama yöntemleri, ortam sıcaklığı gibi analitik performansı etkileyen tüm faktörler kontrol edilmelidir (29). Referans aralık çalışmaları yapılırken karşılaştırmalarda test sonuçlarının izlenebilirliğini sağlamak için referans ölçüm sistemleri ve standart referans malzemeleri önemli bir yere sahiptir (58).

2.7. Referans Aralıkları Oluşturmak İçin İstatistiksel Değerlendirme

Referans aralık, referans bireylerden elde edilen değerlerin belirli bir yüzdesini (genellikle %95) kapsayan, alt ve üst referans değerleri ve bu değerler arasında bulunan aralık olarak tanımlanır (7). Çoğu analit için referans aralık, 2,5. ve 97,5. yüzdelerle sınırlanan merkezi %95 aralığı olarak tanımlamak yaygın bir kuraldır (3). Belirli durumlarda referans aralığının başka bir büyüklüğü veya asimetrik bir konumu daha uygun olabilir (3). Örneğin, kardiyak troponinler için 99. yüzdelerle sınırlanan merkezi %95 aralığı (62), lipoprotein(a) için 80. yüzdelerle sınırlanan merkezi %95 aralığı (59). Belirsizliği önlemek için, aralığın tanımı her zaman belirtilmelidir (3). Referans aralığına ilişkin güven aralıklarının tahmini, referans popülasyonun rastgele örnek alındığı varsayımıyla gerçekleştirilebilir. Her bir güven aralığının genişliği referans birey sayısına ve gözlemlenen referans değerlerin dağılımına bağlıdır (7).

2.7.1. Referans Aralık Belirlenmesinde Veri Sayısı

Referans bireylerin seçilmesinde kişilerin sağlıklı olduklarından emin olmak için çok titiz davranılmasına rağmen seçilen bireylerden bazılarının subklinik bir hastalık geçiriyor olma ihtimali nedeniyle belirlenen seçim protokolünde her zaman bir miktar belirsizlik bulunacaktır (60). Dolayısıyla veri sayısı ne kadar fazla olursa kullanılacak yöntemin güvenilirliği o kadar yüksek olacaktır. Dağılımı etkileyen faktörler aykırı değerler ve veri sayısıdır. Özellikle veri sayısının az olduğu çalışmalarda aykırı değerler dağılım üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Dağılımın iyi bir şekilde tanımlandığı Gaussian dağılımlarda kullanılan veri sayısı daha düşük olabilir. Ancak laboratuvar verileri sıklıkla Gaussian dağılımına uymaz. Bu durumda veri sayısının düşük olması, anormal sonuçlara yol açabilir.

Referans sınırlarının saptanmasında 2.5 ve 97.5 persentilleri tanımlayabilmek için teorik olarak en az 40 veriye ihtiyaç vardır (61). Reed ve arkadaşları her bir referans bireyden bir tane olmak üzere en az 120 gözlemin gerekli olduğunu önermektedir (62). Bunun avantajı, her bir referans sınırı için %90 güven sınırlarının non-parametrik olacak şekilde hesaplanmasına olanak tanınmasıdır. Güven aralığının yüzdesi arttıkça bu sayı da artış gösterecektir. Aynı yüzdelik dilimler için referans sınırlarını %95 güven aralığını ile tahmin etmek için en az 146 referans değeri gerekirken; %99 güven aralığında hesaplamak için ise en az 210 referans değerine ihtiyaç vardır (7). Linnet sonuçların yüksek oranda çarpık olması durumunda referans değer sayısının 700'e kadar çıkarılmasını önermektedir (63). CLSI kılavuzu, genel uygulama standardı olarak, en az 120 referans bireyin kullanılması tavsiyesini desteklemektedir (7). Farklı referans aralığı gerektiren alt grupların varlığında, incelenecek her bir alt grup için en az 120 verinin olması tavsiye edilir (7). 120'nin altındaki veri sayılarında Robust (64) ve Bootstrap (65) yöntemleri ile referans aralık belirlenebilir (7). Ayrıca istatistiksel olarak güvenilir referans aralıkların belirlenmesi için her bir alt grupta en az 400 referans birey kullanılması da önerilmektedir (1). Bu önerilerle birlikte yakın zamanda yapılan bir çalışmada referans sınırlarını tanımlamak için biyolojik varyasyon verilerini kullanarak yeni bir model geliştirilmiştir (66). Bu modelde CV_I , CV_G ve CV_A tahminlerini kullanarak popülasyon ayar noktası (PSP) etrafındaki toplam varyasyona dayalı olarak biyolojik varyasyon (BV) tabanlı referans sınırlar tanımlanmaktadır. Bu yeni BV tabanlı referans sınır modeli, geleneksel referans aralık tanımlanması için gereken birey sayısına göre daha küçük bir referans birey grubu (16 kişi) gerektirir ve güvenilir BV verileri mevcutsa uygulanabilir (66).

İndirekt referans aralık çalışmalarında gereken veri sayısı için bir standart yoktur; ancak daha güvenilir sonuçlar elde etmek için daha fazlası daha iyidir (11). Hastalıklardan neredeyse hiç etkilenmemiş sonuç ve Gaussian dağılımına yakın sonuçlardan oluşan bir veri seti, örneğin birinci basamak sağlık hizmetlerine başvuran hasta popülasyonunda ölçümü yapılan serum sodyum veya kalsiyum test sonuçları gibi, daha düşük örneklem büyüklüğü de güvenilir tahminler sağlayabilir (11). Bununla birlikte, bu alanda daha fazla çalışma için bir başlangıç noktası sağlamak üzere, 1000 veri küçük bir sayı ve 10.000'in üzeri veri büyük bir sayı olarak kabul edilmekte ve bir veri tabanında zayıf bir şekilde temsil edilen popülasyonlarda (örneğin, aşırı yaşlar), daha küçük sayılar yine de yararlı bilgiler sağlayabilmektedir (11). Her bir alt sınıf için (genellikle cinsiyet ve yaşa göre) en az 750 veri olmalıdır (67). 50.000 sonuçtan oluşan veri setleri, indirekt yöntemlerin geleneksel direkt yöntem protokollerinden daha iyi performans göstermesini sağlayabilir ancak özellikle cinsiyet ve yaşa dayalı birden çok alt bölümler düşünüldüğünde, tüm analitler için bu kadar büyük veri setlerinin elde edilmesi oldukça zordur (34).

Referans birey sayısı ne kadar fazla ise güven aralığı o kadar dardır ve belirlenen referans aralık da o kadar güvenilirdir (61). Az sayıda veri kullanmanın bir sakıncası, daha küçük örneklem boyutları için istatistiksel belirsizlik olmasıdır. Bu da referans sınırları için daha geniş güven aralıklarına yol açar. Birey sayısı arttıkça bu tür belirsizlikler azalır (7).

2.7.2. Aykırı (Uç) Değerlerin Belirlenmesi

Referans değerlerin oluşturulması için öngörülen prosedürlerde, dağılımlarda gözlenen ve dağılımdan uzak olan aşırı uç değerler değerlendirmeye alındığında büyük ölçüde sapmalar nedeniyle hatalı değerler ortaya çıkabilir (48). Referans dağılımlarda uç (aykırı) değerler bulunabilir ve bunlar dağılımda gizli kalmış olabilir (3). Bir histogramın görsel olarak incelenmesi olası aykırı değerlerin tespit edilmesi için basit ve etkili bir yöntemdir. Ancak en sonunda referans dağılımda aykırı değerlerin tespiti ve çıkarılmasına dair kesin bir karar vermek için istatistiksel testler kullanılmalıdır. Bununla birlikte her durumda aykırı değerleri tespit etme yeteneğine sahip tek bir yöntem yoktur. Bu nedenle önerilen ve tavsiye edilen tekniklerin sayısı çok fazladır (3). Referans aralıklarını belirlemek için hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın, güvenilir referans aralık elde etmek için aykırı değerlerin tespit edilmesi ve çıkarılması çok önemlidir (30). Aykırı değerleri tespit etme yöntemlerinden bazıları aşağıda verilmiştir;

Dixon Yöntemi

En yaygın kullanılan aykırı değer tespit yöntemlerinden birisidir. Veriler en küçükten en büyüğe doğru sıralanır. Dağılımın alt ve üst kısımlarında bulunan aykırı değerler Dixon tarafından önerilen D/R formülü kullanılarak aranır (68).

D: Uç değer olup olmadığı araştırılan şüpheli değer kendinden bir sonraki veya ilerleyen değer arasındaki farkın mutlak değeridir.

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

$D/R > 0.33$ ise araştırılan değer aykırı değer olarak kabul edilir ve değerlendirme dışı bırakılır. Bu işlemten sonra veri dağılımında aykırı değerlerin varlığı tekrar incelenmelidir.

Blok Prosedürü

Dağılımın aynı tarafında ardışık çok sayıda aykırı değer olduğunda, Dixon D/R kuralı en uçtaki aykırı değeri istatistiki açıdan anlamlı tespit edemeyebilir ve aykırı değerlerin varlığı maskelenebilir. Çünkü en son uç değer kendisinden bir önceki değere çok yakın olduğu için aykırı değerleri engellemektedir. Böyle bir durumda, üçte bir kuralı en az uç değere, sanki tek aykırı değer gibi kullanılmalıdır. Eğer kural bu aykırı değer reddedilmesini sağlıyorsa, daha uç gözlemlerin de reddedilmesi kaçınılmaz olacaktır. Kural en küçük uç değeri reddetmiyorsa, tüm uç değerler kabul edilmelidir (69).

Tukey Yöntemi

Başka bir aykırı değer tespit yöntemi, olan Tukey yönteminde örneklemin yalnızca ortadaki %50'sini kullanır, böylece dağılımın bir tarafındaki çoklu aykırı değerlerin muhtemel maskeleyme etkisini azaltır, hatta ortadan kaldırır (70). Bu yöntem, örnek veri setinin alt ve üst çeyreklerinin (yani 25. ve 75. yüzdelerik dilimlerinin) hesaplanmasını içerir; bu istatistikler Q1 ve Q3 olarak adlandırılır. Daha sonra çeyrekler arası aralık (inter quartil range: IQR) = $Q3 - Q1$ formülü ile belirlenir. Son olarak, alt ve üst sınırlar şu şekilde hesaplanır: aykırı değerler için alt sınır = $Q1 - 1.5 \times IQR$ ve aykırı değerler için üst sınır = $Q3 + 1.5 \times IQR$. Sınırların dışındaki herhangi bir veri (yani, alt sınırdan küçük veya üst sınırdan büyük) aykırı değer olarak kabul edilir ve referans aralığı hesaplamasından çıkarılır.

Horn ve arkadaşları tarafından önerilen Tukey yönteminde Box-Cox transformasyonu ile veri dağılımı dönüştürülür (71). Box-Cox dönüşümü Tukey aykırı deger tespit yöntemi ile birlikte kullanılabilir.

$$y = \begin{cases} \frac{x^\lambda - 1}{\lambda} & \lambda \neq 0 \\ \ln(x + c) & \lambda = 0 \end{cases}$$

Burada y dönüştürülmüş değerdir, x orijinal değerdir ve ln doğal logaritmadır (72). Dönüşümden sonra Tukey yöntemine göre belirlenen sınırların dışında kalan değerler aykırı değer olarak atılır ve veriler geri transforme edilir.

Lave Yöntemi

Aykırı değerlerin çok değişkenli olarak değerlendirilmesine dayanan “gizli anormal değer dışlama (LAVE) prosedürü metabolik sendrom, diyabet veya anemi gibi sık görülen hastalıkların tanısında kullanılan Albümin, Ürik asit, Trigliserit, Glukoz, AST, ALT, LDH, GGT, CK, Hemogloblin gibi bazı belirteçlerin referans dağılımında gizlenmiş olası anormal sonuçları dışlamak için kullanılması önerilmektedir (1,73).

2.7.3. Alt Gruplara Ayırım Kararının Değerlendirilmesi

Referans aralıklar belirlenirken dikkat edilmesi gereken çok önemli bir konu da farklı alt popülasyonlara özel referans aralıklarına gerek olup olmadığı veya ortak tek bir referans aralığının kullanılıp kullanılamayacağıdır. Tek bir referans aralığının alt popülasyonlar arasında hassasiyet açısından belirgin farklılıklara yol açtığı durumlarda, alt gruplara göre ayrılmış referans aralıkları kullanmak mantıklıdır. Referans bireylerin alt kümesi ve bunlara karşılık gelen referans değerler cinsiyet, yaş ve diğer özelliklere göre alt bölümlere ayrılabilir (Tablo 2). Buradaki amaç, referans aralıklarının hassasiyetini artırmak ve hasta özelliklerinden bağımsız olacak şekilde bütün hastalar açısından benzer hale getirmektir.

Genellikle iki alt sınıf arasında gözlenen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu takdirde her alt sınıfın kendi referans aralığını gerektirdiği düşünülür.

Ancak, klinik öneme sahip olmasa da gözlemlenen herhangi bir fark, örneklem büyüklüğü yeterince fazlaysa istatistiksel olarak anlamlı çıkmaktadır (7).

Referans aralıkları alt gruplara ayırma ihtiyacını değerlendirmek için çeşitli yöntemler önerilmiştir (1). En yaygın olarak Harris-Boyd yöntemi kullanılmaktadır (1,74). Harris-Boyd yöntemi iki alt grubun olduğu durumlar için geçerlidir. Bu yöntemde grupların ortalamaları, standart sapmaları ve birey sayıları değerlendirilerek ayırım kararı verilir. Örneğin, cinsiyete göre referans aralık belirlenmesi gerekliliği araştırılıyorsa her iki grubun ortalamaları ($\bar{x}_e, \bar{x}_k$), standart sapmaları (s_e, s_k), birey sayıları (n_e, n_k) değerlendirmeye alınır. Bu değerler Harris-Boyd denklemine yerleştirilerek $Z_{\text{Hesaplanan}}$ ve Z_{Kritik} değerleri hesaplanır.

$$Z_{\text{Hesaplanan}} = \frac{|\bar{x}_e - \bar{x}_k|}{\sqrt{\frac{s_e^2}{n_e} + \frac{s_k^2}{n_k}}} \quad Z_{\text{Kritik}} = 3 \times \sqrt{\frac{n_e + n_k}{240}}$$

Z hesaplanan > Z kritik ise iki alt grup arasında fark vardır ve alt grupların referans aralığı ayrı ayrı belirlenmelidir.

Lahti tarafından önerilen yöntemde ise, her alt gruptaki referans değerlerin, alt gruplara ayırmadan türetilen referans aralıkların üst ve alt sınırları dışında kalan yüzdelere dayanmaktadır (75).

Ichihara ve Boyd, test sonuçlarının standart sapmalarının büyüklüğüne dayanan ve standart sapma oranı (SDR) olarak adlandırılan alt gruplara ayırma yöntemi tavsiye etmiştir (1). SDR'nin 0,3'ten büyük olması, referans değerlerin alt gruplara ayırma kararı için bir yol gösterici olarak görülebilir. Bu yöntem ANOVA olarak adlandırılan iki veya üç seviyeli iç içe geçmiş varyans analizine dayanmaktadır.

Kutu (box-plot) grafiklerinin görsel olarak incelenmesi alt gruplara ayırım kararı vermek için kullanılabilir (76,77).

2.7.4. Referans Popülasyonun Dağılım Tipinin Değerlendirilmesi

Referans değerler dağılımı Gaussian veya non-Gaussian olabilir. Verilerin dağılım türünün bilinmesi, referans popülasyona uygulanacak referans aralık belirleme yönteminin seçilmesi için gereklidir. Dağılımın Gaussian olması durumunda parametrik, non-Gaussian

olması durumunda ise non-parametrik yöntemler kullanılır. Gaussian dağılıma uygunluğun değerlendirilmesi için birçok istatistiksel yöntem (normalite uygunluk testleri) kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan yöntemler şunlardır:

Ki-kare (Chi-Square; X²) Uygunluk testi: Ki-kare uyum iyiliği testi, örnek verilerin dağılımının teorik bir dağılımdan farklı olup olmadığını değerlendirir. Bu test homojen olmayan ve gruplandırılmış dağılımlarda güvenilir sonuçlar vermediği için referans aralığı çalışmalarında tercih edilmemektedir (78).

Kolmogorov-Smirnov (K-S) Testi: Ki-kare testinin kullanılabilmesi için beklenen frekansların 5'den büyük olması gerekmektedir. K-S testi böyle bir koşula dayalı olmadığı için rahatlıkla uygulanabilmektedir. Özellikle yaş ve cinsiyet gibi etkenler sebebiyle dağılım gruplara ayrılmış ise K-S testinin uygulanması daha doğru olacaktır. Bu test hem daha güvenilir ve sağlam bir analiz yöntemidir hem de dağılımın gruplandırılmasından etkilenmemektedir (79).

Shapiro-Wilk testi: Bu testin K-S testinden ayrılan tarafı veri sayısı gereksinimidir. Veri sayısının düşük olduğu durumlarda K-S testine göre daha güvenilir sonuçlar üretebilmektedir.

Anderson Darling Testi: Anderson-Darling normallik testi Kolmogorov-Smirnov testinin geliştirilmiş şeklidir ve K-S testinden farklı olarak dağılımın kuyruklarına daha fazla önem verir. Anderson-Darling testi eğer verinin bir örneği özel bir dağılımdan geliyorsa kullanılır. Bu test, kritik değerleri hesaplamada özel dağılım kullanır. Anderson-Darling, normallikten sapanları ortaya çıkaran en güçlü istatistiklerden birisidir (9,10,17,61,80,81).

Katsayı tabanlı testler: Eğer verilere transformasyon yapılıyorsa, dağılımın katsayı tabanlı testler ile değerlendirilmesi tavsiye edilmektedir (17). Katsayı tabanlı testler çarpıklık ve basıklık olarak iki biçimde uygulanmaktadır. Normal dağılımlarda skewness ve kurtosis katsayıları sıfır veya sıfıra yakındır.

2.8. Referans Aralıkların Belirleme Yöntemleri

Referans aralık sınırlarının belirlenmesi için iki standart istatistiksel yöntem açıklanmıştır. Bunlar parametrik ve non-parametrik yöntemlerdir. Bunlar dışında CLSI

EP28-A3c kılavuzunda Bootstrap ve Robust yöntemlerinden de bahsedilmektedir (7). CLSI ve IFCC, non-parametrik yöntemi önermektedir. Direkt referans aralığı çalışmalarında kullanılan standart parametrik, non-parametrik, bootstrap ve robust istatistiksel yöntemleri indirekt çalışmalar için de kullanılabilir (11).

Standart istatistiksel tekniklerin indirekt referans aralık çalışmalarında uygulanmasındaki temel zorluklarından biri, veri setindeki hastalıklı bireylere ait değerlerin referans aralık sonuçlarını etkileme olasılığının yüksek olmasıdır. Standart istatistiksel teknikler veri setinde bulunan aykırı değerlerden güçlü bir şekilde etkilendiğinden ve bu aykırı değerler hastalıklı bireylere ait sonuçlardan gelmesi en olası olanlar olduğundan, aykırı değerlerin giderilmesine büyük önem verilmelidir (11). Veri seti ayıklamasında hastalıklı bireylerden elde edilen sonuçların varlığını en aza indirmeye çalışan yaklaşımlara ilişkin çok sayıda örnek bulunmaktadır. Genel olarak, aykırı değerlerin dışlanması için doğrulanmış sağlam yöntemler ve hastalık olasılığı çok düşük olan bir popülasyon (örneğin bir toplum tarama projesinde toplanan veriler gibi) olmadığı sürece standart parametrik ve non-parametrik istatistiksel yöntemler önerilmez (11) .

İndirekt referans aralık çalışmalarında farklı istatistiksel yöntemler geliştirilmiş ve kullanılmaktadır. Bilgisayar öncesi dönemde, referans değerlerin grafiksel analizine dayalı olarak referans aralıklarının hesaplanması için bir dizi yöntem geliştirilmiştir. Bunlardan en iyi bilinenleri Hoffmann (82) ve Bhattacharya (14,50) yöntemleridir. Her iki yöntem de temel bilgisayar elektronik tabloları kullanılarak veya üçüncü taraf yazılımlarla gerçekleştirilebilir (34). Ancak bu yöntemlerin, grafiksel ve görsel değerlendirme ile tahmini uyumun ve sonuçta ortaya çıkan referans aralığının uygunluğunu değerlendirmek için istatistiksel araçların eksikliği gibi önemli sınırlamaları devam etmiştir. 2000'li yıllardan bu yana modern referans aralık yaklaşımları istatistiksel olarak daha sağlam olacak şekilde geliştirilmiş ve en yeni araçlar oldukça kullanıcı dostu hale gelmiştir (34). Modern indirekt yöntemler denilen bu araçlar arasında Truncated maximum likelihood (TML) (83), Truncated minimum chi-square (TMC) (84), Reference Limit Estimation Using Routine Laboratory Data (RefLimR) (85), Kolmogorov-Smirnov-distance (Kosmic) (86), Reference Interval Estimation using Real-World Data (RefineR) (87) gibi teknikler bulunmaktadır.

2.8.1. Parametrik Yöntem

Pratikte uygulandığı şekliyle parametrik yöntem, gözlemlenen değerlerin veya bu değerlerin bazı matematiksel dönüşümlerinin normal olasılık dağılımı gösterdiğini varsayar. Birçok analitin referans değerleri Gaussian dağılımı göstermediğinden, parametrik yöntemin kullanılması bunların normalleştirilmesi için dönüştürülmesini gerektirir. Bunun için en uygun dönüşümün (örneğin logaritmik, güç veya başka bir fonksiyon) seçilmesi ve ardından dönüştürülmüş referans değerlerinin Gaussian dağılımına uyup uymadığının test edilmesi gerekir. Bu da bazı karmaşık istatistiksel teorileri ve ilgili bilgisayar programlarını içerir (7).

Parametrik yöntem, referans sınırlarını belirlemek için daha az referans değer gerektirmesi bakımından nonparametrik yöntemle kıyasla avantajlıdır (3). Referans dağılım Gaussian dağılımından belirgin şekilde farklılık göstermiyorsa, ortalamanın her iki tarafına iki standart sapma (SD) eklenerek referans sınırları belirlenir.

$$2.5 \text{ yüzdilik (Alt referans sınırı)} = \text{Aritmetik ortalama} - (1.96 \times \text{SD}),$$

$$97.5 \text{ yüzdilik (Üst referans sınırı)} = \text{Aritmetik ortalama} + (1.96 \times \text{SD})$$

2.8.2. Nonparametrik Yöntem

Nonparametrik tahmin yöntemi, gözlemlenen referans değerlerin olasılık dağılımı hakkında belirli bir varsayımda bulunmamaktadır. Nonparametrik yöntem, bir laboratuvarın istatistiksel ve hesaplama desteğine sınırlı erişimi varsa referans aralıkları oluşturmak için önerilen prosedür olmaya devam etmektedir. Güvenilir referans aralıkları geliştirmede en önemli unsurların, gözlemlenen verilerden referans aralıklarını tahmin etmek için kullanılan istatistiksel yöntem değil, uygun referans bireylerin seçilmesi, yeterli sayıda bireyin çalışmaya dahil edilmesi ve preanalitik hatalardan kaçınılması olduğu vurgulanmaktadır (7).

Nonparametrik yöntem en az üç nedenden dolayı önemlidir: Uygulaması kolaydır, dağılımın Gaussian olmasını gerektirmez ve hem IFCC hem de CLSI tarafından tavsiye edilmektedir (7,9,10,17,61,81).

Bu yöntem özellikle hasta sonuçlarının kullanıldığı Gaussian olmayan dağılıma uyan veri setlerinde tercih edilmektedir. Ancak, merkezi %95'lik dilimlerin tahmini için gerekli veri sayısının en az 120 (her bir alt grup için) olması gerekmektedir. Dağılımın %95'ini

kapsayan alanın %2,5 ve %97,5'ine karşılık gelen noktalar bulunur. Bunun için veriler büyüklük sırasına göre tek tek sıralandıktan sonra aşağıdaki formüller kullanılır:

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

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

Formülde yer alan n, veri sayısıdır. Eğer küsuratlı sayılar varsa yuvarlama yapılır (7).

2.8.3. Bootstrap Yöntemi

Örneklem büyüklüğü kaynaklı kısıtlamalar bir laboratuvarın nonparametrik yöntem ile referans aralık oluşturmamasını engelliyorsa Bootstrap tabanlı yöntemlerin kullanılması tavsiye edilmektedir (7,65,88,89). Bootstrap yöntemi çeşitli varyasyonları bulunmaktadır ve bunların her biri güvenilir referans sınırlar oluşturmak için kullanılabilir (65,88,89). Teknik prensip olarak basittir, temel olarak orijinal verilerin konumlarının değiştirilmesiyle rastgele 100 ila 1000 kez tekrar örneklemeler yaparak çok sayıda sahte örnek oluşturma ilkesine dayanmaktadır (7,90). Nonparametrik yöntemde olduğu gibi, dağılımın Gaussian olması şartı yoktur. Referans sınırları için güven aralıklarının güvenilir bir şekilde tahmin edilebilmesi için en az 100 referans değerine (her bölüm için) sahip olunması önerilir (65).

2.8.4. Robust Yöntemi

Non-parametrik yöntem ile referans aralık belirlemek için yeterli örneklem büyüklüğü yoksa, robust yönteminin kullanılması önerilir. Robust yöntemi, parametrik ve nonparametrik yöntem arasında bir ara form olarak değerlendirilebilir. Daha düşük veri sayısına ve Gaussian olmayan dağılımlara uygulanabilmesinden dolayı potansiyel bir alternatif olarak görülmektedir. Bu yöntem kullanılarak belirlenen referans aralıklar daha geniş güven aralıklarına sahip olabilir (7).

2.8.5. Hoffman Yöntemi

Hoffmann tekniği 1963 yılında, Gaussian veya Gaussian'a yakın dağılım izlediği varsayılan bir veri setindeki test sonuçlarının homeostatik olarak düzenlenmiş bir popülasyon alt kümesini tanımlamak için geliştirilmiştir. Teknik, verilerin normal olasılık kâğıdı (veya elektronik eşdeğeri) kullanılarak kümülatif bir dağılım olarak gösterilmesine

ve Gaussian dağılımı gösteren doğrusal özellik gösteren eğrinin belirlenmesine dayanmaktadır. Eğrinin formülü $y=ax+b$ şeklinde belirlendikten sonra 'x' yerine 2.5 yazılarak alt referans sınır, 97.5 yazılarak üst referans sınır elde edilir. Bu tekniğin varsayımı, merkezi bölgedeki verilerin çoğunluğunun Gaussian dağılıma sahip olduğudur ve en önemli avantajlarından biri, uzaktaki aykırı değerlerin sonuç üzerinde etkisinin düşük olmasıdır. Bilgisayar öncesi dönemde kâğıt tabanlı sistemler kullanılmaktayken (82), Bilgisayarlı Hoffmann yöntemi olarak tanımlanan yenilenmiş bir versiyon geliştirilmiştir (60,91). Hoffmann prosedürünün bir sınırlaması, önemli büyüklükte ikincil bir popülasyonun varlığından etkilenmesidir (92), ancak verilerin filtrelenmesi bu etkiyi azaltabilir. Orijinal yöntemde normal olasılık tablosu kullanılmıştır. Revize edilen yeni bir versiyonda bu gereklilikten vazgeçilmiştir (91), ancak bu revize edilmiş yönteme itiraz edilmiştir (51). Bununla birlikte, bu yöntemle hesaplanan ve hastalıklı bireylerden önemli ölçüde etkilenmesi beklenen testlere ait referans aralıkların, güvenilir direkt çalışmalarla istatistiksel olarak benzer olduğu görülmektedir (91). Web tabanlı çevrimiçi bir uygulama, <https://gocrunch.shinyapps.io/HoffApp> adresinden mevcut olup Hoffman yönteminin yerel kurulum gerektirmeden kullanılmasına olanak tanımaktadır (93). Sitede talimatları bulunan gocrunch programı, veri setinin yüklenmesi ve ardından analizin çevrimiçi olarak gerçekleştirilmesine imkân tanımaktadır.

2.8.6. Bhattacharya Yöntemi

Bhattacharya yöntemi, Hoffmann yönteminden sonra literatüre giren ve daha sonra tıp alanında uygulanan grafiksel bir yöntemdir (14,50). Bhattacharya yöntemi de Hoffmann gibi, verilerin ortasında bir Gaussian dağılımı belirlemek için kullanılan grafiksel bir yöntemdir (14,50). Hoffmann yöntemi gibi bu yöntem de bilgisayar öncesi dönemde manuel kâğıt tabanlı sistemler kullanılarak geliştirilmiştir. Prosedür, örtüşen dağılımları ayırabilir (50,92) ve bu ortamda Hoffmann'a göre bir avantaj sağlar. Microsoft Excel, Java (Bellview Bhattacharya analizi) ve R programlama dilinde bilgisayar tabanlı versiyonları geliştirilmiştir (3,11,94). Web tabanlı <https://gocrunch.shinyapps.io/BhattApp> adresinden erişilebilen çevrimiçi bir uygulama, yerel kurulum gerektirmeden Bhattacharya yönteminin kullanılmasını olanak tanımaktadır (93). Bhattacharya yönteminin Hoffmann yöntemine kıyasla Gaussian dağılıma dahil olmayan verilerden daha az etkilendiği gösterilmiştir (92). Yöntem kullanıcıya bağımlıdır. Seçilmesi gereken değişkenler, veri analizinde kullanılacak

kutu sayısı, kutu boyutu, kutu konumu ve orijinal verilerde herhangi bir dönüşümün gerekip gerekmediğidir ve bunlar son derece önemlidir (3,11). Tipik olarak, en iyi uyum çizgisini belirlemek için dört ila altı kutudan elde edilen veriler kullanılır ve yüksek derecede doğrusallık tercih edilir (3). Bhattacharya yönteminin bilinen önemli sınırlaması, kullanılan her veri setinde kutu boyutu, kutu konumu ve kutu sayısının tanımlanması gerektiğinden, elde edilen sonuç üzerindeki öznel etkidir (55,95,96).

Bhattacharya yönteminde hastalıkla ve sağlıklıla ilgili veriler matematiksel olarak birbirinden ayrıştırılabilir. Sağlıklı ilgili veriler gamma fonksiyonu denilen bir işlemle hastalıkla ilgili verilerden ayrılır. Tüm veriler h sınıf aralığı olacak şekilde eşit aralıklarla sınıflandırılır. Her sınıfın orta noktası saptanır. Her sınıfa karşılık gelen frekansların logaritma veya $\ln$ ($\log$ veya $\ln$) değerleri alınır. Her sınıfa karşılık gelen frekansların logaritmaları ya da $\ln$ değerleri bir sonraki sınıfa karşılık gelen frekansların logaritmaları veya $\ln$ değerlerinden çıkartılarak delta ($\Delta \log$ veya $\Delta \ln$) değerleri elde edilir. Her bir orta değer ile elde edilen delta değerleri için saçılım grafiği çizilir. Elde edilen grafikte noktalardan geçen doğrusal çizgideki veriler sağlıklıla ilişkili olarak kabul edilir. Bu noktalara ait eğimi veren doğrunun y-ekseninde 0'ı kestiği x noktası λ değerini verir. λ değeri yardımıyla metoda ait ortalama ve varyans değerleri hesaplanır. (μ : ortalama; σ : standart sapma)

$$\mu = \lambda + h/2$$

$$\sigma^2 = h/eğim - h^2/12$$

Bu durumda artık sağlıklı olduğu kabul edilen referans aralıkları parametrik yöntem kullanılarak hesaplanır.

$$\text{Alt sınır} = \mu - 2\sigma$$

$$\text{Üst sınır} = \mu + 2\sigma$$

Bellview Bhattacharya analiz yazılımı Gaussian, logGaussian ve Gamma olmak üzere üç tip model sunmaktadır (94). Bir Gaussian veya log Gaussian modeli için, $[\log(n+1(\text{kutu sayısı}) - \log n (\text{kutu sayısı}))]$ ile kutuların orta noktası arasındaki ilişkiyi göstermek için log fark grafikleri gerçekleştirilir (94). Gamma modeli için log farklı grafikleri Gaussian modeli için olanlardan biraz farklıdır. Her nokta için x eksen değeri, $\ln(1 + h/x)$ formülüyle hesaplanmaktadır; burada x, n'inci kutunun orta noktası, h ise her

kutunun genişliğini ifade etmektedir. Daha sonra, araştırmacılar noktalardan yola çıkarak negatif eğimli bir düz çizgi oluşturabilir (50). Bu doğrunun x-kesimi ve eğimi, sırasıyla incelenen popülasyonun ortalamasını ve standart sapmasını hesaplamak için kullanılır (50).

Hoffmann yöntemimde olduğu gibi, Bhattacharya yöntemi de analize öznellik katabilen ve otomatik analizi engelleyen görsel incelemeye dayanmaktadır, kullanıcı bağımlıdır ve insan hatasına açıktır (55,96,97).

2.8.7. TML Yöntemi

Arzideh ve arkadaşları, klasik Hoffmann ve Bhattacharya yöntemlerine alternatif olan bir yöntem önermişlerdir (83). Yöntemleri, referans değer dağılımının en iyi kesilmiş segmentini bulmak ve merkezi hastalık olmayan segmente en iyi uyan ilgili dağılımın parametrelerini maksimum olabilirlik yöntemiyle tahmin etmek için tekrarlamalı bir algoritma içerir ve bu nedenle Truncated Maximum Likelihood (kesilmiş maksimum olabilirlik) yöntemi olarak adlandırılmıştır (49,83).

Bu yöntemde, örneklem grubunun toplam karma verilerinin (sağlıklı ve hastalıklı bireylerin toplam verileri) dağılımı için düzleştirilmiş bir çekirdek yoğunluk fonksiyonu hesaplanır. Tüm verilerin dağılımının merkezi kısmı sağlıklı popülasyonu temsil ettiği varsayılır. Patolojik olmayan değerlerin dağılımı, güçlü normal (power normal: PN) dağılım ailesi ile modellenmiştir (Box-Cox dönüşümü kullanıldıktan sonra Gaussian/kesilmiş Gaussian). Böylece, neredeyse sadece patolojik olmayan değerleri içeren verilerin merkezi kısmının (sol ve sağ taraflardan kesilmiş) kesilmiş bir PN dağılımı ile modellenebileceği varsayılmaktadır. PN dağılımının parametreleri (μ -ortalama, σ -standart sapma, λ -güç) maksimum olabilirlik yöntemi kullanılarak tahmin edilir. Verilerin ana kısmını bulmak (optimize etmek) için bir uyum iyiliği istatistiği (bir tür K-S istatistiği) kullanılır. Referans sınırlar, tahmini PN dağılımının 2,5 ve 97,5 yüzdelik dilimleri olarak hesaplanır. Hesaplamalar için gerekli Excel elektronik tablosu ve R komut dosyasından oluşan bir yazılım ve yazılımın açıklaması Alman Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Derneği'nin (Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, DGKL) web sitesinde TML (daha sonra referans limit tahmincisi, RLE olarak) olarak erişime açılmıştır. (83,98–100).(<https://www.dgkl.de/verbandsarbeit/sektionen/entscheidungsgrenzen-richtwerte>).

2.8.8. TMC Yöntemi

Wosniok ve Haeckel tarafından Truncated Minimum Chi-square (Kesilmiş Minimum Ki-kare) olarak adlandırılan başka bir alternatif yöntem önerilmiştir. TMC tahmin yöntemi, tüm klinik verilerin aralık verileri olduğunu, örneğin tek bir değerin kendisi ile bir sonraki raporlanabilir değer arasındaki bir aralığı temsil ettiğini varsayarak kesme sınırı belirlemeye çalışır (84). Bu yöntemde varsayımsal normal dağılımın parametreleri, verilerin bir Q-Q grafiğinde temsil edilmesiyle ön bir şekilde tahmin edilir. TMC, sağlıklı bireylere ait verilerinin güçlü bir normal dağılıma uyduğunu varsayar ve minimum ki-kare kullanarak model tarafından tanımlanan her kesilmiş aralık için ortalama (μ), standart sapma (σ), güç (λ) ve bu dağılımın uyum iyiliğinin bir ölçüsünü tahmin eder. En iyi uyuma sahip aralığın tahminleri (μ , σ , λ), referans aralıkları (%95 düzeyinde) hesaplaması için kullanılır. Hesaplamalar için gerekli Excel elektronik tablosu ve R-komut dosyasından oluşan bir yazılım programı ve yazılımın açıklaması DGKL web sitesinde TMC (daha sonra referans limit tahmincisi, RLE olarak) olarak halka açık hale getirilmiştir (84,98). (<https://www.dgkl.de/verbandarbeit/sektionen/entscheidungsgrenzen-richtwerte>)

2.8.9. ReflimR Yöntemi

RefLimR yöntemi, öncelikle basitlik ve düşük hesaplama süresi ile karakterize edilen modifiye Hoffmann yaklaşımı olarak adlandırılır (85,101). RefLimR yöntemi, bir Q-Q grafiğinin merkez doğrusal kısmından patolojik olmayan değerlerin teorik %95'ini kapsayan tahmini referans aralıkları hesaplayan hızlı ve basit bir yaklaşımdır. Orijinal olasılık kâğıdı yönteminin modifikasyonları, Bowley'in çeyrek çarpıklığına ve gerekirse orijinal değerlerin log dönüşümüne dayalı olarak altta yatan normal veya lognormal bir dağılımın seçilmesini, ardından iBoxplot95 algoritması ile tahminen patolojik olmayan değerlerin merkezi %95'inin kesilmesini ve normal bir Q-Q grafiğinden referans sınırlarının hesaplanmasını içerir (82,85,102,103). Program açık kaynaklı bir R paketi olarak Comprehensive R Archive Network (CRAN) deposunda (<https://cran.r-project.org/package=reflimR>) mevcuttur (104). R programlama dilinde kodlama örneği içeren bir eğitim kılavuzu <https://reflim.github.io/Epub/> adresinde mevcuttur (105).

2.8.10. Kosmic Yöntemi

Kosmic yöntemi, fizyolojik test sonuçlarının dağılımını tahmin etmek için patolojik ve fizyolojik test bulgularının bir kombinasyonunu kullanır (86). Başlangıçta, veriler Box-Cox dönüşümü kullanılarak dönüştürülür, ardından veri kümesinin kesilmiş bir bölümü Gaussian dağılıma uygun hale getirilir. Daha sonra, bu Gaussian dağılımı ile gözlemlenen kesilmiş dağılım arasındaki K-S mesafesi hesaplanır. En küçük K-S mesafesine sahip dağılım daha sonra sağlıklı bireyler için temsili veri olarak seçilir. Son olarak, bu tahmini dağılım referans aralığını hesaplamak için kullanılır. Algoritma yüksek düzeyde otomasyona izin verir ve güçlü bir şekilde yeni nesil referans aralık modellerinin oluşturulmasında öne çıkan yöntemlerden biri haline getirir (96). Kosmic, TML yönteminin güncellenmiş bir versiyonudur ve komut satırı uygulaması, python bağlayıcısı ve yüksek hesaplama performansına sahip web tabanlı bir uygulama olarak mevcuttur (86). Yöntemin uygulaması <https://gitlab.miracum.org/kosmic> adresinde yer almaktadır (86,106). Bu sitede kaynak kodu, Python bağlayıcıları ve önceden derlenmiş Windows ikili dosyaları bulunmaktadır. Değerlendirme amacıyla, Kosmic'in yerel kurulum olmadan kullanılmasını sağlayan web tabanlı bir uygulama <https://kosmic.diz.uk-erlangen.de> adresinde sunulmaktadır (86,107). Kosmic yöntemi için mevcut olan tidykosmic R paketi <https://www.divinenephron.co.uk/tidykosmic> adresinde bulunmaktadır (108).

2.8.11. RefineR Yöntemi

RefineR algoritması, referans aralık tahmininin kalitesini artırmak için üç aşamadan oluşan ters modelleme yaklaşımını kullanır (87,97). İlk adım, parametre arama bölgesini ve ana tepe noktasını belirlemektir. Algoritma verilere Box-cox dönüşümü uygulayarak Gaussian dağılımını temsil etmesini sağlamaktadır. Optimizasyon prosedürünün ikinci aşamasında, yaklaşım, altta yatan verileri tanımlamak için en uygun modeli tahmin etmek amacıyla λ , σ , μ ve 'P' ölçeklendirme faktörü gibi en uygun model parametreleri için çok seviyeli bir parametre araması kullanır. Son olarak en uygun modelden referans aralıkları belirlenir (87). Program açık kaynaklı bir R paketi olarak (<https://cran.r-project.org/package=refineR>) bulunmaktadır (109). Ayrıca web tabanlı <https://gocrunch.shinyapps.io/RefineRApp/> adresinden erişilebilen çevrimiçi bir uygulama, kurulum gerektirmeden RefineR yönteminin uygulanmasına imkân tanımaktadır (93).

2.9. Referans Aralıklarında Güven Aralıkları

Seçilen referans bireylerden oluşan bir örneklemden hesaplanan referans sınırları, çalışmaya alınan birey popülasyonunda bunlara karşılık gelen yüzdelik dilimlerin tahminleridir (7). Aynı popülasyondan alınan başka bir örneklem muhtemelen biraz farklı referans sınırları verecektir. Örneklemden kaynaklanan değişkenliği tanımının ve değerlendirmenin faydalı bir yolu, örneklem tarafından sağlanan bilgileri kullanarak tahmin edilen popülasyon yüzdelik dilimi için bir güven aralığı hesaplamaktır. Güven aralığı, belirli bir olasılıkla (örneğin, popülasyonun %2,5'lik yüzdelik dilimi) gerçek yüzdelik dilimi içeren bir değer aralığıdır ve genellikle bu olasılık %90 veya %95 olarak belirtilir. Bu olasılığa aralığın güven düzeyi denir (7).

Güven aralıkları iki pratik nedenden dolayı faydalıdır. İlk olarak, araştırmacıya tahminlerin değişkenliğini hatırlatır ve bu değişkenliğin nicel bir ölçüsünü sağlar. İkinci olarak, örneklem büyüklüğü arttıkça güven aralıkları daralır. Bu nedenle araştırmacı, tahmini referans aralığında daha yüksek hassasiyet elde etmek için daha geniş bir referans birey örneklemini seçebilir (7).

Referans sınırlarının güven aralıklarına göre değerlendirilmesi önerilmiş ve her bir referans sınırı için güven aralığının, referans aralığı genişliğinin 0,2 katından daha az olması genel olarak kabul görmektedir (110,111).

2.10. Referans Aralıkların Aktarılması

Referans aralıklarının güvenilir bir şekilde belirlenmesi büyük ve maliyetli bir iş olabileceğinden, bir referans aralığının bir laboratuvarдан diğerine daha az maliyetli ve daha uygun bir işlemle aktarılabilmesi çok faydalıdır (7). Daha fazla yeni test ve yöntem laboratuvarlar tarafından kullanılmaya başlandıkça, büyük ya da küçük her laboratuvarın kendi referans aralıklarını oluşturmasını sağlamak gerçekçi bir yaklaşım olmamaktadır. Sonuç olarak, klinik laboratuvarlar diğer laboratuvarlardan veya test üreticilerinden gelen bilgileri kullanarak aktarılabilecek uygun ve yeterli referans değer verilerini oluşturabilir ve sağlayabilir. Referans değerlerin transferinin kabul edilebilir olması için belirli koşulların karşılanması gerekir. Orijinal referans değer çalışmasının düzgün bir şekilde yapıldığı varsayıldığında, ilgili referans aralığının aktarılması iki farklı konuyu içermektedir (7).

2.10.1. Analitik Sistemin Karşılaştırılabilirliği

Bazı durumlarda, laboratuvarlar belirli bir analit için kendi birey popülasyonları için bir referans aralığı oluşturmuştur. Laboratuvar eğer yöntem değişikliği yapmak isterse, yeni yöntem için bir referans aralığı oluşturmak üzere referans bireylerden örnek toplanması yerine, yeni yöntem uygulamasının bir parçası olarak, laboratuvar iki yöntem arasında bir yöntem karşılaştırma çalışması gerçekleştirebilir (112). Böyle bir çalışmadan sağlanan veriler, geçerli referans aralığını güncellemek için kullanılıp kullanılamayacağını veya gerçekten yeni bir çalışmaya ihtiyaç duyulup duyulmadığını görmek için değerlendirilebilir. Açıkçası, bu stratejinin en büyük avantajı, laboratuvarın referans bireylerden örnek alma ihtiyacını ortadan kaldırabilmesidir. Yöntemler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için herhangi bir hastadan alınan taze örnekler kullanılabilir (yani referans bireyler olması gerekmez). Genel olarak, yeni yöntem mevcut yöntemle benzer imprecisyona ve bilinen interferanslara sahipse, aynı veya karşılaştırılabilir standartları veya kalibratörleri kullanıyorsa ve kabul edilebilir şekilde karşılaştırılabilir değerler sağlıyorsa, referans aralığı aktarılabilir (7).

2.10.2. Popülasyonunun Karşılaştırılabilirliği

Bir klinik laboratuvar aynı veya kabul edilebilir ölçüde karşılaştırılabilir analitik sistem için başka bir laboratuvar veya tanı testi üreticisi tarafından belirlenen bir referans aralığını transfer etmek isterse, transfer konusu referans popülasyonunun karşılaştırılabilirliği sorun olabilir. Ayrıca, referans değer çalışmasındaki diğer preanalitik faktörler de karşılaştırılabilir olmalıdır; bunlara referans bireylerin hazırlanması ve örnek alma ve işleme işlemleri dahildir. Bu tür transferler gitgide daha yaygın hale gelmekte ve muhtemelen klinik laboratuvarlardaki mevcut referans aralık uygulamalarının büyük bir kısmını oluşturmaktadır (7).

2.11. Referans Aralıkların Doğrulanması

Laboratuvarların rutin klinik uygulamalarından önce referans aralıklarını doğrulaması önemlidir. Bu gereklilik, indirekt yaklaşım kullanılarak elde edilen referans aralıkları için de geçerlidir (11). CLSI EP28-A3c kılavuzunda temel olarak, bir referans

aralığının aktarımının kabul edilebilirliğini değerlendirmek için üç doğrulama yaklaşımı önerilmiştir (7).

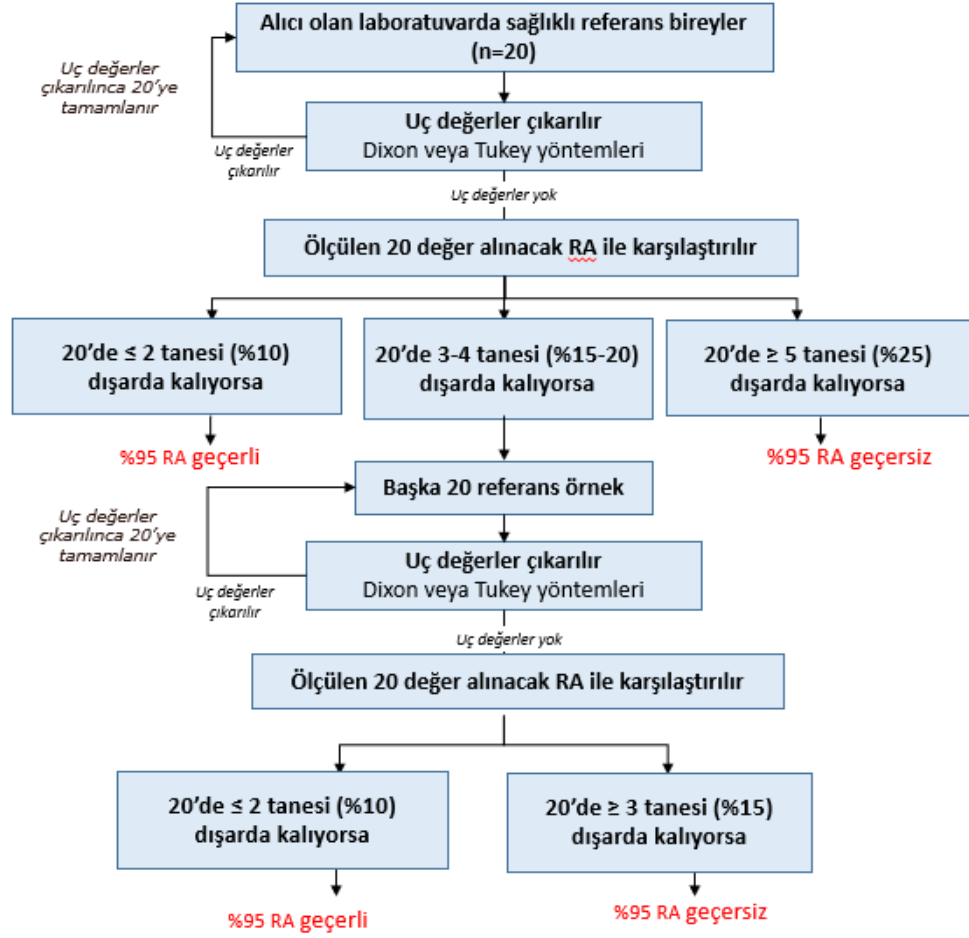
2.11.1. Öznel Değerlendirme

Transferin geçerliliği, orijinal uygun referans değer çalışmasının ilişkili unsurlarının dikkatli bir şekilde değerlendirilmesiyle son derece öznel bir şekilde değerlendirilebilir. Bunun yapılabilmesi için, tüm referans popülasyonun demografik değişkenleri ve coğrafi konumları uygun şekilde tanımlanmalı ve incelemeye hazır olmalıdır. Ayrıca, preanalitik ve analitik sürecin detayları, analitik performans, referans değerlerin tamamı ve referans aralığını tahmin etme yöntemi de belirtilmelidir. Laboratuvar uzmanının kanaatine göre, bu faktörler alıcı laboratuvarın işleyişi ve popülasyonu ile tutarlıysa, referans aralık bu unsurların belgelendirilmesi dışında alıcı laboratuvarın doğrulama çalışmasına gerek olmaksızın aktarılabilir (7).

2.11.2. Az Sayıda Birey Kullanarak Değerlendirme

Kullanıcı veya alıcı laboratuvar, bir üretici veya başka bir kaynak laboratuvar tarafından belirlenen bir referans aralığının (RA) aktarımı ardından doğrulanması önerilir. CLSI EP28-A3c kılavuzu tarafından laboratuvarlarda rutin uygulama için önerilen standart yaklaşım, alıcı laboratuvarın kendi yerel popülasyonundan her yaş ve/veya cinsiyet bölümü için daha az sayıda referans bireyi ($n = 20$) inceleyerek ve bu referans değerleri daha büyük ve yeterli orijinal referans aralık çalışmasıyla karşılaştırmaktır (Şekil 2) (7,113).

Doğrulama için dahil edilme kriterlerine uygun olarak referans bireyler seçilir ve referans değerler elde edilir. Bu 20 kişi alıcı laboratuvarın sağlıklı popülasyonunu uygun bir şekilde temsil etmeli ve dışlama ve bölme kriterlerini doğru şekilde karşılamalıdır. Bu örnekler uygun şekilde test edildikten sonra, test sonuçları istatistiksel olarak homojen bir sonuç grubunu temsil ettiklerinden, yani hiçbir sonucun aykırı değer olmadığından emin olmak için incelenmelidir. Olası aykırı değerleri test etmek için Dixon veya Tukey yöntemleri uygulanmalıdır. Bu yöntemlerle tespit edilen aykırı değerler çıkarılmalı ve bunların yerine yeni hasta örnekleri alınmalıdır. Böylece aykırı değer içermeyen 20 test sonucu elde edilmelidir.



Şekil 2. CLSI EP28-A3c kılavuzunda önerildiği gibi az sayıda referans birey üzerinde istatistiksel bir test kullanılarak referans aralıklarının doğrulanması algoritması (Kaynak:113'den alınmıştır)

Üretici veya kaynak laboratuvar tarafından belirlenen %95 referans sınırları, test edilen 20 bireyin değerlerinin ikiden fazlasının (veya test sonuçlarının %10'unun) bildirilen orijinal sınırların dışında kalmaması halinde alıcı laboratuvarıda uygulama için geçerli kabul edilebilir. Üç veya dört test sonucu bu sınırların dışında kalırsa, ilk 20'ye benzer, yine aykırı değer içermeyen 20 referans örnek daha alınmalıdır. Bu yeni sonuçlardan ikiden fazlası üreticinin veya kaynak laboratuvarın bildirdiği referans sınırları dışında kalmıyorsa, bu sonuçlar alıcı laboratuvarıda kullanım için kabul edilebilir olarak değerlendirilebilir. Ancak, üç veya daha fazla sonuç sınırların dışında kalırsa (veya orijinal sette beş veya daha fazlası sınırların dışında kalırsa), kullanıcı kullanılan analitik prosedürleri yeniden incelemeli,

örnek alınan iki popülasyonun biyolojik özelliklerindeki olası farklılıkları göz önünde bulundurmalı ve alıcı laboratuvarın kendi referans aralığını geliştirmesi gerekip gerekmediğini değerlendirmelidir (7).

2.11.1. Çok Sayıda Birey Kullanarak Değerlendirme

Laboratuvarlar, kritik olan analitler için daha kapsamlı bir referans aralığı transfer çalışması yürütmeyi tercih edebilir. Bu gibi durumlarda, transferin kabul edilebilirliği, alıcı laboratuvarın kendi yerel popülasyonundan daha büyük bir referans birey popülasyonunun incelenmesi (örneğin, $n = 60$) ve bu referans değerlerin orijinal referans aralık çalışması ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi ve doğrulanması ile yapılır (7). Kullanılan yöntemler az sayıda birey kullanarak referans aralık değerlendirilmesi ve doğrulanmasına benzemektedir. Çok sayıda referans bireyin kullanılarak doğrulanma genellikle rutin laboratuvarlar tarafından tercih edilmemektedir, çünkü bu bir referans aralık çalışması için gereken örneklem büyüklüğüyle neredeyse aynıdır (113).

Bu tez çalışması ile indirekt yöntemle geniş bir popülasyondan elde edilecek referans aralık değerlerinin ilgili rehberlerde önerilen (CLSI EP28-A3c, ISO 15189 kılavuzu) “laboratuvarlar kendi referans aralıklarını belirlemeli ve periyodik olarak gözden geçirmelidir.” yaklaşımı kapsamında literatürle de karşılaştırması yapılarak tartışılması ve kullanıma sunulması planlandı.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Farabi Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarı'nda, 2024/102 protokol numaralı etik kurul onayı ile gerçekleştirildi.

3.1. Analitlerin Seçilmesi

Bu çalışmada, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Farabi Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında Ocak 2015-Aralık 2023 tarihleri arasında ölçümü yapılan, LBYS arşivinde kayıtlı hasta sonuçları geriye dönük taranması ve kullanılması ile veri seti kaynağı oluşturuldu.

Çalışmaya tam kan sayımı (CBC) parametrelerinden; Beyaz küre sayısı (WBC), Hemogloblin (HB), Trombosit sayısı (PLT), Eritrosit sayısı (RBC), Hematokrit (HCT), Mean corpuscular volum (MCV), Mean corpuscular hemogloblin (MCH), Mean corpuscular hemogloblin concentration (MCHC), Red cell distribution width (RDW), Mean platelet volüme (MPV), Nötrofil yüzdesi (NE%), Nötrofil sayısı (NE#), Lenfosit yüzdesi (LY%), Lenfosit sayısı (LY#), Monosit yüzdesi (MO%), Monosit sayısı (MO#), Bazofil yüzdesi (BA%), Bazofil sayısı (BA#), Eozinofil yüzdesi (EO%), Eozinofil sayısı (EO#), Platelet distribution width (PDW), Plateletcrit (PCT) testleri dahil edildi.

3.2. Verilerin Eldesi

01.01.2015 - 31.12.2023 tarihleri arasında tıbbi biyokimya laboratuvarında çalışılan CBC parametrelerinin sonuçları LBYS kayıtlarından alınarak excel programına aktarıldı.

Veriler hastanın dosya numarası, cinsiyeti, doğum tarihi, yaşı, hastanın başvurduğu poliklinik/ klinik, test adı, ön tanı, testin kabul zamanı, testin çalışıldığı cihaz ve tarih ile test sonucu bilgilerini içerecek şekilde alındı.

Verilere filtreleme işlemi uygulandı. Bu işlemler

1. Numerik olmayan sonuçlar, reddedilmiş örnekler, çalışma hastaları, gebelik tanısı olan hastalar değerlendirme dışı bırakıldı.
2. Cinsiyet, yaş, poliklinik ve klinik bilgisi bulunmayan veriler dışlandı.
3. Testin çalışıldığı tarihte 18-65 yaş arasında olmayan hastaların sonuçları veri kaynağından çıkarıldı.

3.3. Analitik Sürecin Değerlendirilmesi

CBC parametreleri rutin laboratuvarında hizmet veren Sysmex XN-9000 (Kobe, Japonya) ve acil laboratuvarında hizmet veren iki ayrı Sysmex XN-1000 (Kobe, Japonya) cihazlarında olmak üzere 4 otoanalizörde çalışılmıştır. Analitik süreç, çalışma dönemi boyunca günlük olarak üç farklı seviyede iç kalite kontrol (Sysmex XN Check) ve aylık olarak dış kalite değerlendirme programları (BIO-RAD, KBUDEK, QUALICONT, RANDOX) ile değerlendirilmiştir.

CBC parametrelerinin ölçüm yöntemleri ve alt-üst okuma limitleri Tablo 3’de verilmiştir.

3.4. Verilerin Değerlendirilmesi

İndirekt yöntem kullanılarak referans aralıklarının belirlenmesi sürecinde, üç aşamadan oluşan ön veri temizleme işlemleri uygulandı. İlk olarak yatan hastaların sonuçları ile acil, onkoloji, hematoloji, organ nakli ve kadın doğum polikliniklerinden istenen test sonuçları dışlandı. İkinci olarak hastaya ait bir yılda birden fazla kayıt varsa, tek/ilk sonuç dışında yılın tüm kayıtları veri setinden çıkarıldı. Üçüncü olarak çalışmaya gün içerisindeki sirkadiyen ritminden dolayı ve referans bireylerin seçiminde sabah açlığı öngörülerek örnek kabul zamanı 08.00-10.00 olan değerler dahil edildi.

Aykırı değerlerin belirlenmesinde Horn ve arkadaşları tarafından önerilen Tukey yöntemi uygulandı. Box-Cox transformasyonu ile veri dağılımı dönüştürüldü. Ardından aykırı değerler Tukey testi ile tekrarlanan bir prosedür kullanılarak çıkarıldı.

Birçok biyolojik analitin dağılımı Gaussian dağılımı göstermemektedir. Verilerin histogramları çizilerek dağılımları görsel olarak değerlendirildi, skewness ve kurtosis katsayıları incelendi, K-S testi ile parametrelerin normal dağılıma uygunluğu araştırıldı.

Referans aralıkları cinsiyet açısından alt gruplara ayırma kararı için Harris-Boyd yöntemi kullanıldı. HB için standart sapma, aritmetik ortalama ve veri sayısı Harris-Boyd denkleminde yerine konduğunda $Z_{\text{Hesaplanan}} = 480.7$, $Z_{\text{Kritik}} = 133.2$ olarak bulundu. $Z_{\text{Hesaplanan}} > Z_{\text{Kritik}}$ olduğu için iki alt grup arasında fark bulundu ve kadın ve erkek için referans aralığı ayrı ayrı hesaplandı. WBC için ise Harris-Boyd denkleminde göre $Z_{\text{Hesaplanan}} = 46.2$, $Z_{\text{Kritik}} = 113.1$ olarak bulundu. $Z_{\text{Hesaplanan}} < Z_{\text{Kritik}}$ olduğu için cinsiyetler arasında farklılık bulunmadı ve cinsiyete göre alt gruba ayrılmadı.

Tablo 3. Tam kan sayımı parametreleri ölçüm yöntemleri ve alt-üst okuma limitleri

Parametre	Yöntem	Alt ve Üst Okuma Limitleri	Birim
WBC	Yarı iletken lazerli akım sitometrisi	0.03- 440	10 ³ /μL
RBC	Elektrik impedans (DC kılıf akım)	0.01- 8.60	10 ⁶ /μL
HB	Fotometrik (SLS-Hgb)	0.1- 26	g/dL
HTC	Elektrik impedans (DC kılıf akım)	0.1- 75.0	%
MCV	Hesaplama	*	fL
MCH	Hesaplama	*	pg
MCHC	Hesaplama	*	g/dL
RDW	Hesaplama	*	%
PLT	Elektrik impedans (DC kılıf akım)	2- 5000	10 ³ /μL
MPV	Hesaplama	*	fL
LY %	Hesaplama	0-100	%
MO %	Hesaplama	0-100	%
NE %	Hesaplama	0-100	%
EO %	Hesaplama	0-100	%
BA %	Hesaplama	0-100	%
LY #	Yarı iletken lazerli akım sitometrisi	0.03- 440	10 ³ /μL
MO #	Yarı iletken lazerli akım sitometrisi	0.03- 440	10 ³ /μL
NE #	Yarı iletken lazerli akım sitometrisi	0.03- 440	10 ³ /μL
EO #	Yarı iletken lazerli akım sitometrisi	0.03- 440	10 ³ /μL
BA #	Yarı iletken lazerli akım sitometrisi	0.03- 440	10 ³ /μL
PCT	Elektrik impedans (DC kılıf akım)	0.01- 3	%
PDW	Elektrik impedans (DC kılıf akım)	*	fL

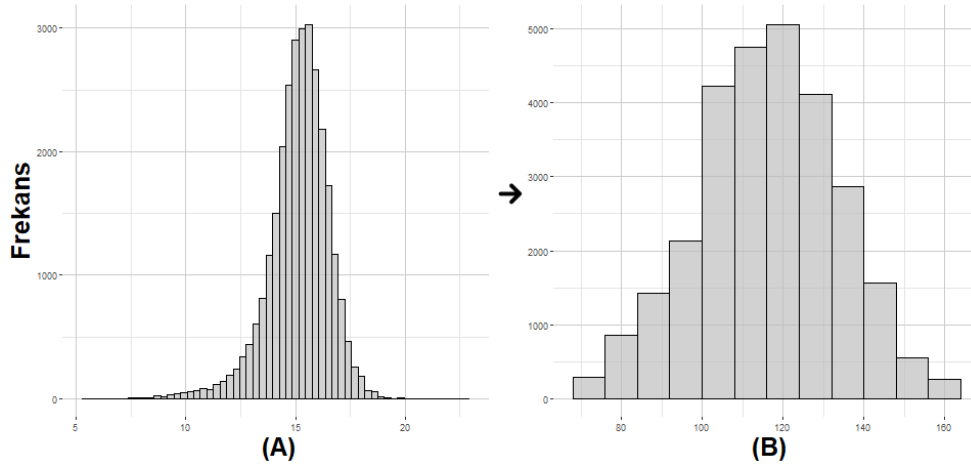
* Cihazın kullanım kılavuzunda bu parametrelerin ölçüm aralıkları ile ilgili veri bulunmamaktadır.

3.5. Referans Aralıkların Belirlenmesi

CBC parametrelerinden indirekt yöntemle referans aralık oluşturmak için nonparametrik, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic ve RefineR yöntemleri kullanılmıştır.

3.5.1. Bhattacharya Yöntemi

Verilerin “normalleştirilmesi” için dönüştürülmesiyle Gaussian dağılımına yaklaştırılması mümkün olabilir. Örnek olarak erkeklere ait HB sonuçlarının histogramı çizildi ve Şekil 3’de gösterildi. Bu verinin skewness değeri= -0.97, kurtosis değeri= 2.9 olarak bulundu (Şekil 3A). Aykırı değerler atıldıktan sonra verilere Box-Cox dönüşümü uygulanarak normal dağılıma yaklaştırıldı, HB-ERKEK için skewness değeri= -0.08 kurtosis değeri= -0.22 olarak tespit edildi (Şekil 3B).



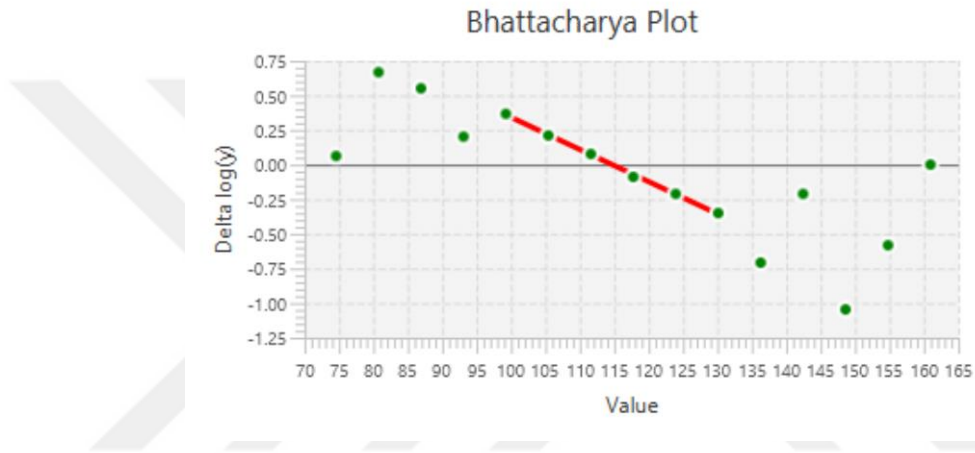
Şekil 3. HB-ERKEK histogramı

Dönüştürme işleminden sonra veriler Bellview programına aktarıldı. Veri aktarıcı, verileri varsayılan bölme genişliğine göre histogram modeline okudu. Varsayılan bölme genişliği basitçe (maksimum değer-minimum değer) /15'tir. Varsayılan bölme genişliği uygun değilse, programda verili alanlara bölme parametreleri girilip, histogramı yeniden oluşturuldu. Çalışmamızda programda histogram modeli okunduktan sonra Bhattacharya grafiğinde bulunan Δ logy değerlerinden başlangıç ve bitiş noktalarını manuel olarak belirlendi ve negatif eğimli düz bir çizgi oluşturan noktalar bulunarak çizildi. Bu doğrunun x-kesimi ve eğimi, sırasıyla incelenen popülasyonun ortalamasını ve standart sapmasını

hesaplamak için kullanıldı. Oluşturulan bu doğrudan ortalama (ORT^T), standart sapma (SD^T) değerleri belirlendi. Ortalama $\pm 1.96 * SD^T$ kullanılarak dönüştürülmüş alt sınır (AS^T) ve üst sınır ($ÜS^T$) elde edildi. Son olarak orijinal ölçekte alt sınır (AS) ve üst sınır (ÜS) elde etmek için dönüştürülmüş referans sınırlara ters dönüşüm uygulandı. Örnek olarak HB-ERKEK için oluşturulan Bhattacharya grafiği Şekil 4'te gösterildi.

$$AS^T = ORT^T - 1.96SD^T \quad ÜS^T = ORT^T + 1.96SD^T$$

$$AS = (\lambda \times AS^T + 1)^{1/\lambda} \quad ÜS = (\lambda \times ÜS^T + 1)^{1/\lambda}$$



Şekil 4. HB-ERKEK Bhattacharya Grafiği

3.5.2. Nonparametrik Yöntem

Veriler büyüklük sırasına göre tek tek sıralandıktan sonra aşağıdaki formüller kullanılarak referans sınırlar belirlendi. Formülde yer alan n , veri sayısıdır.

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

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

3.5.3. ReflimR Yöntemi

ReflimR yöntemi üç adımdan oluşan dolaylı bir yaklaşım gerçekleştirir.

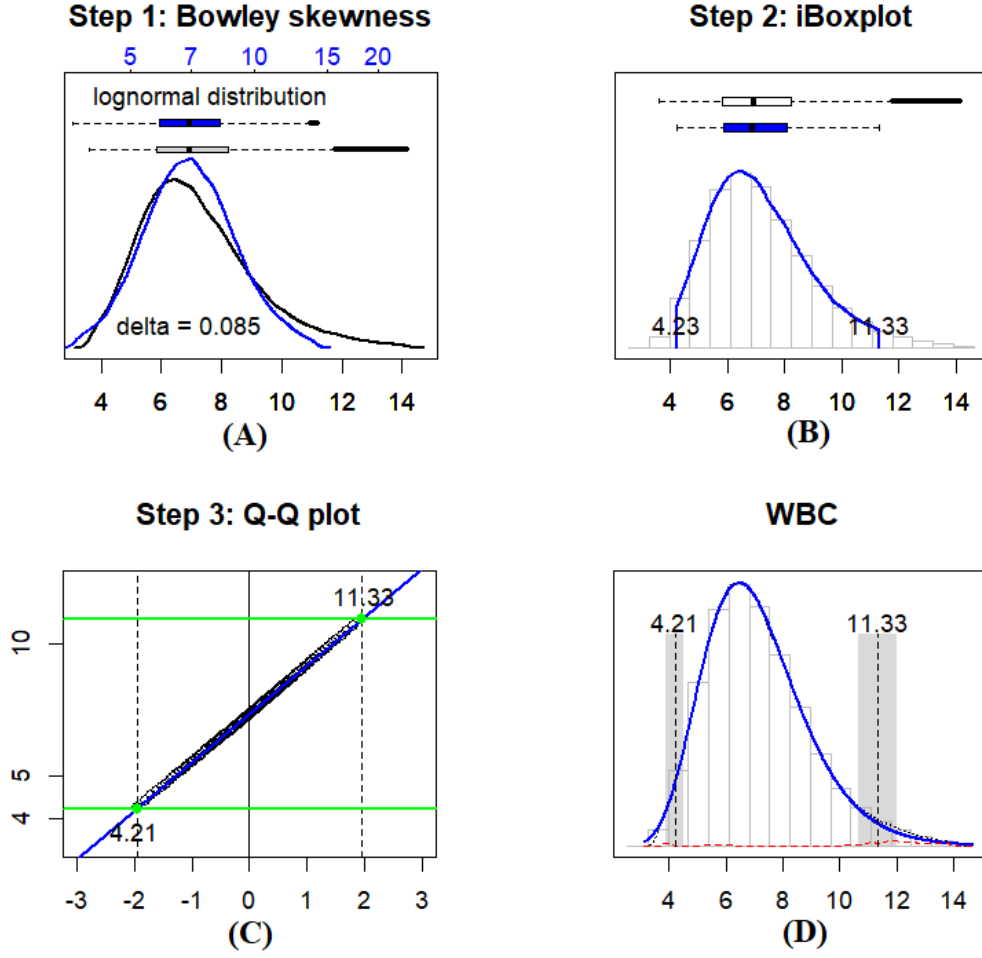
Adım 1: Uygun bir dağılım modeli tanımlamak için, bowley fonksiyonu kullanılarak orijinal ve logaritması alınmış veriler için Bowley'in çeyrek çarpıklık katsayısı hesaplanır. Temel algoritma patolojik aykırı değerlere karşı oldukça sağlamdır, çünkü patolojik

değerlerin etkisinin en aza indirildiği verilerin merkezi yüzde 50'sinden (Tukey'in boxplot'unun “kutusu”) hesaplanır. Çarpıklık katsayısı 0'a yakınsa, dağılım simetrik ve normal dağılıma yaklaştırılabilir (en azından 2,5. ve 97,5. yüzdelerik dilimler arasındaki ilgilenilen aralıkta). Ancak, çarpıklık katsayısı belirgin bir şekilde pozitifse, dağılım sağa çarpıktır. Verilerin log-dönüşümünden sonra eğrinin şekli daha simetrik hale gelirse, lognorm fonksiyonu dağılımın lognormal bir model tarafından daha iyi tahmin edilebileceğini gösterir. Eğer 1. adımda lognormal dağılım önerilirse, değerler reflim fonksiyonu ile logaritması alınır. Böylece normal dağılım varsayımı sonraki iki adımda kullanılabilir.

Adım 2: Daha sonra veri seti, patolojik olduğu öngörülen değerler mümkün olan en iyi şekilde giderilerek ve patolojik olmadığı öngörülen değerlerin merkezi %95'i önemli düzeyde veri kaybı olmayacak şekilde tekrarlayan bir şekilde kesilir. Bunu gerçekleştirmek için, yine Tukey'in boxplot'una dayanan iboxplot algoritması kullanılır. Verilerin merkezi yüzde 50'sinden başlayarak (yani birinci ve üçüncü çeyrek arasındaki değerler), bir Gaussian dağılımının teorik 2,5. ve 97,5. yüzdelerik dilimleri hesaplanır ve bu sınırların dışındaki değerler çıkarılır. Bu algoritma, daha fazla aykırı değer çıkarılmayana kadar tekrarlanır. iboxplot işlevi kesilen vektörünün uzunluğunu 0,95'e bölerek tahmini “normal değerler” yüzdesini verir. Özellikle, alt ve üst kesme noktaları referans sınırlarının kaba tahminleridir.

Adım 3: Bu tahminin sağlamlığını daha da artırmak için, kesilmiş verilerden normal bir Q-Q grafiği oluşturulur. Truncated_qqplot işlevi, regresyon çizgisinin kesişme noktasından ve eğiminden, ortalama ve standart sapmayı belirler ve denklem ortalaması $\pm 1.96SD$ 'den 2,5. ve 97,5. yüzdelerik dilimleri tahmin eder. Bu yüzdelerik dilimler tahmini referans aralığı ve dolayısıyla nihai sonucu gösterir. Hesaplama logaritması alınmış değerlerle yapıldıysa, elde edilen referans sınırları otomatik olarak ters dönüşüme tabi tutulur. Daha önce belirtildiği gibi, adım 2'nin kesme noktaları adım 3'ün nihai sonucuna yakındır, ancak aynı değildirler. Bunun nedeni, doğrusal Q-Q grafiğinden ilgili yüzdelerik dilimlerin tahmin edilmesinin, sonucu dengelemesi ve regresyon çizgisinin uçlarındaki patolojik değerlerle küçük örtüşmelere karşı daha sağlam hale getirmesidir. Bunu gerçekleştirmek için, regresyon çizgisinin hesaplanmasında Q-Q grafiğinin yalnızca merkezi yüzde 90'ı kullanılır.

Örnek olarak WBC testi için ReflimR yöntemi ile referans aralık belirleme adımları ve grafikleri Şekil 5'te gösterildi. (A: Adım1, B: Adım 2, C: Adım 3 D: Nihai sonuç)



Şekil 5. ReflimR yöntemi ile WBC testinin referans aralığının belirlenmesi

3.5.4. Kosmic Yöntemi

Bu yöntem, veri setindeki fizyolojik örneklerin oranının parametrik bir dağılımla (Power Normal dağılım olarak adlandırılan, verilerin Box-Cox dönüşümü sonrası Gaussian dağılımı) modellenebileceği ve veri kümesi içinde anormal test sonuçlarının oranının ihmal edilebilir olduğu bir kesme aralığının (T) mevcut olduğu varsayımına dayanmaktadır. Yöntem, tahmini normal dağılım (F) ile Box-Cox dönüşümünden sonra test sonuçlarının gözlenen dağılımının kesilmiş bir kısmı (D) arasındaki K-S mesafesini en aza indirir. Bu durum, fizyolojik biyolojik dağılımların çoğunun Gauss dağılımları, Log-Normal dağılımları veya Box-Cox dönüşümünden sonra Gauss dağılımları kullanılarak tanımlanabileceği gerçeğini hesaba katar ve K-S testinin normallik için yaygın olarak

kullanılan bir test olduğu ortaya koyar. Normal dağılımın parametreleri (μ ; σ), Box-Cox dönüşüm parametresi (λ) ve kesme aralığı (T) sayısal olarak optimize edilir. Özellikle, aşağıdaki hesaplamada KS mesafesi T içinde minimize edilir.

$$KS = \frac{\sup |D - F|}{\sqrt{n}} + p$$

Burada D, λ kullanılarak Box-Cox dönüşümünden sonra veri setinin kümülatif yoğunluk fonksiyonunu belirtir. F, μ ve σ ile tanımlanan normal dağılımın kümülatif yoğunluk fonksiyonunu belirtir ve n , T içindeki örnek sayısını ifade eder. p , kesme aralığı dışındaki test sonuçları için $p1$ ve $p2$ 'nin toplamı olarak tanımlanan ceza terimini gösterir.

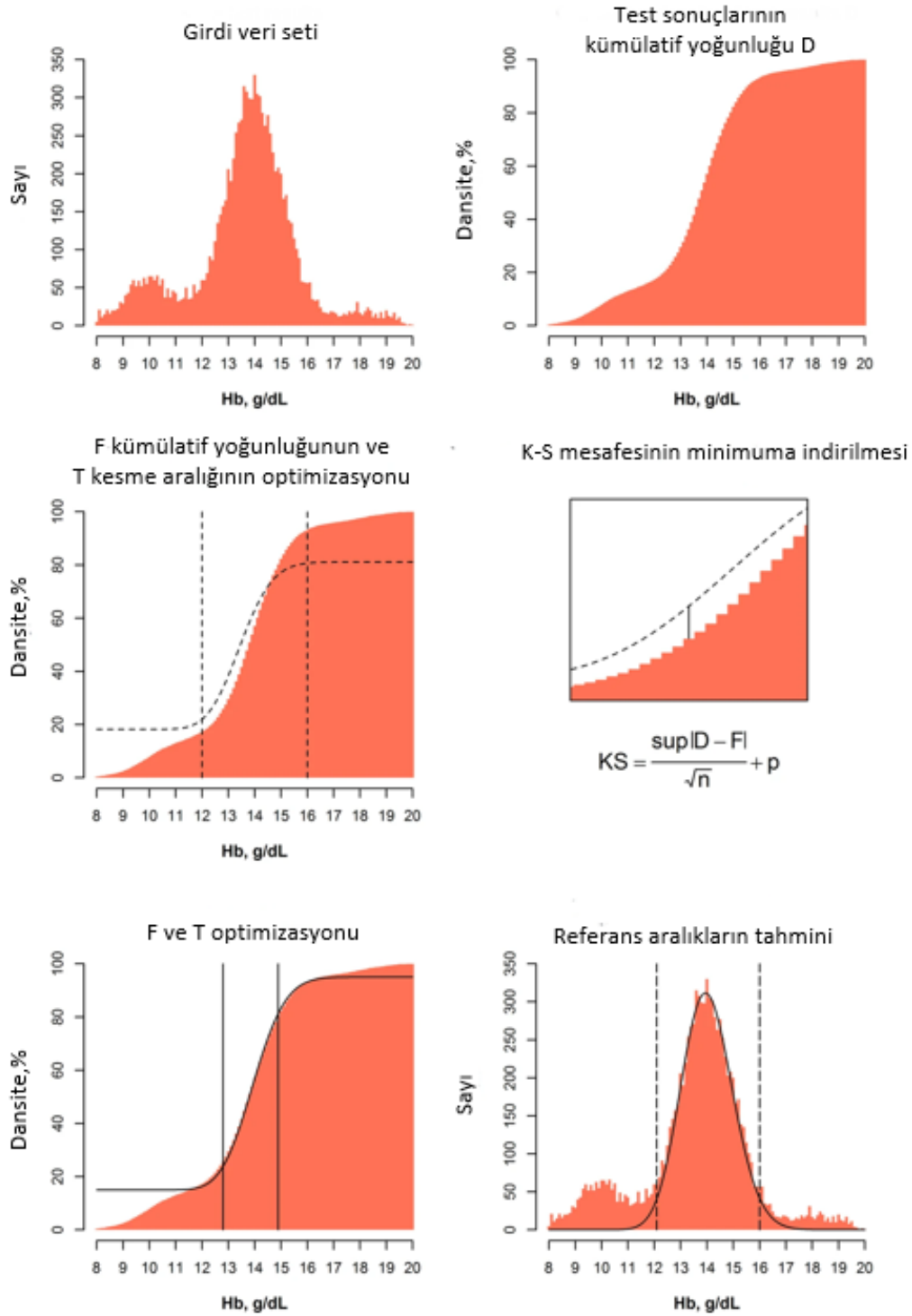
Uygulamada bu işlemler iç içe geçmiş bir şekilde gerçekleştirilir (Şekil 8). 1. adım λ 'nın optimizasyonu, 2. adım μ ve σ optimizasyonu, 3. adım T kesme aralığının optimizasyonu, 4. adım KS optimizasyon hedefinin (minimizasyon hedefi) hesaplanması.

Örnek olarak HB testi için Kosmic yöntemi ile referans aralık belirleme adımları ve grafikleri Şekil 6'da gösterildi.

3.5.5. RefineR Yöntemi

RefineR yöntemi, referans aralık tahmini için üç aşamadan oluşan ters modelleme yaklaşımını kullanır.

Adım 1: Veri ön işleme aşamasında verilerin gözlemlenen yoğunluğuna dayanarak, verilere Box–Cox dönüşümü uygulanarak normal dağılımı tanımlamasını sağlar, dönüşüm uygulanmadan önce λ , μ ve σ için parametre arama bölgeleri belirlenir. Daha sonra bu parametreler ana zirveyi iyi karakterize eden test sonuçları bölgesini tanımlamak için kullanılır. Seçilen bu bölge içinde, verilerin histogram temsili H hesaplanır.



Şekil 6. Kosmic yöntemi ile Hb testinin referans aralığının belirlenmesi (Kaynak:86'dan alınmıştır)

Adım 2: Kendi içinde üç işlem gerçekleştirerek model optimasyonu sağlanır.

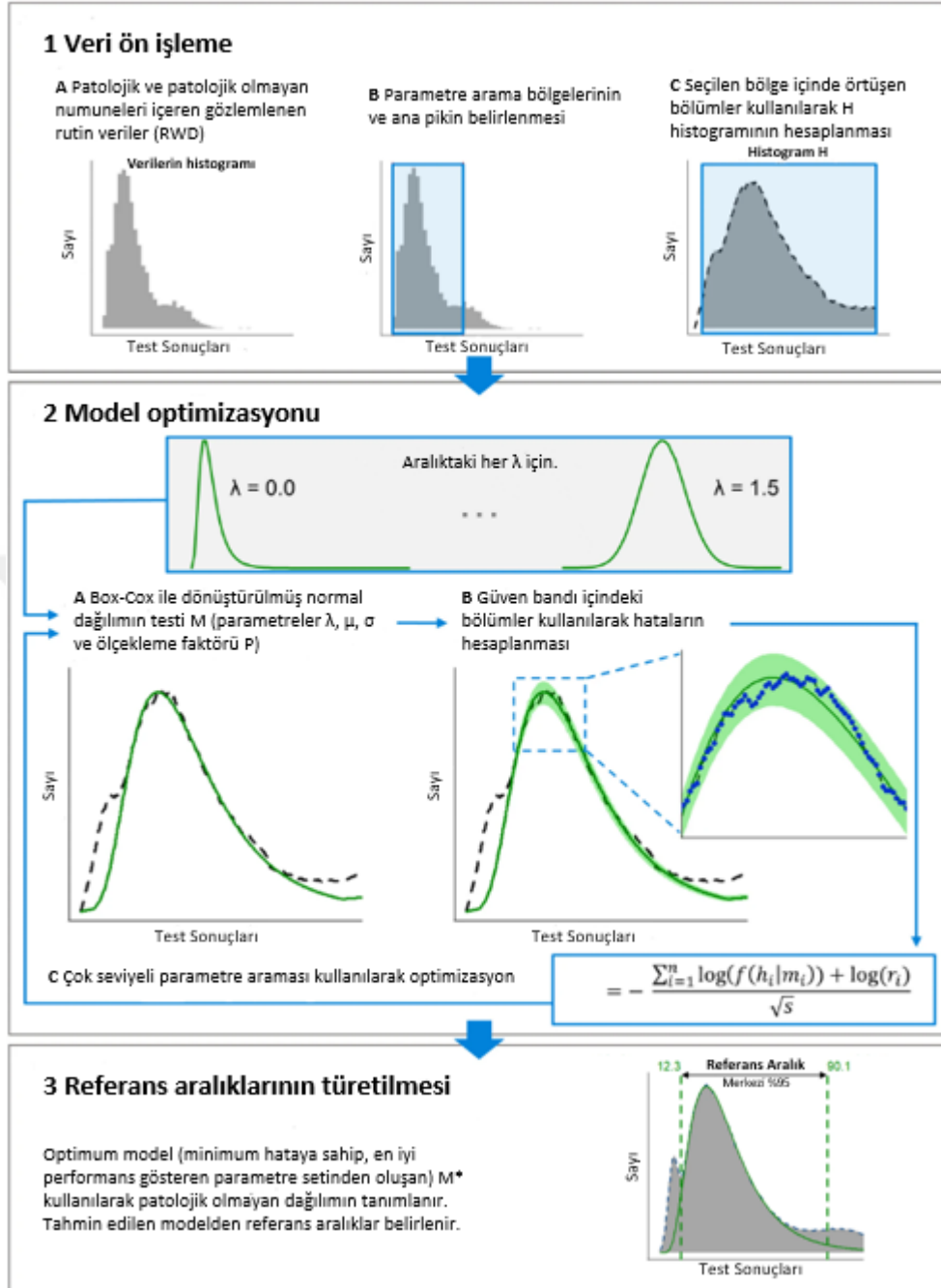
Adım 2.A: Histogram H'deki her bir bölme için beklenen değerleri tahmin etmek amacıyla, Box–Cox dönüşümü uygulanmış normal dağılımın (M parametrik fonksiyonu) ve bu dağılımın parametrelerinin (λ , μ , σ) test edilmesini içerir. Yapılan tahminler P faktörü ile normalize edilir. P faktörü, veri setindeki patolojik olmayan örneklerin tahmini oranı olarak tanımlanır.

Adım 2.B: Beklenen değerleri belirlemek için M etrafında asimetrik bir güven bandı kullanılarak, patolojik olmayan örnekleri en olası şekilde tanımlayan bölümleri belirler. Bu bölümler daha sonra, maksimum olabilirlik yaklaşımına dayanan hata fonksiyonunun hesaplanmasına katkı sağlar. Hata fonksiyonu, verilerin modelle uyumluluğunu değerlendirir.

Adım 2.C: Çok seviyeli parametre araması kullanılarak, bir parametre setini test etme ve hata fonksiyonunu değerlendirme adımları, minimum hatalarla sonuçlanan parametreleri (λ^* , μ^* , σ^*) ve P* faktörünü belirlemek için tekrarlanır.

Adım 3: Optimize edilmiş model (minimum hataya sahip, en iyi performans gösteren parametre setinden oluşan) M* kullanılarak patolojik olmayan dağılım tanımlanır. Ardından bu tahmini patolojik olmayan dağılımdan referans aralıkları üretilir.

Rutin verilerden referans aralıklarının belirlenmesi için üç aşamadan oluşan refineR yönteminin akış şeması Şekil 7'de gösterildi.



Şekil 7. Referans aralıkları belirlemek için RefineR yönteminin akış şeması (Kaynak:87'den alınmıştır)

3.6. Referans Aralıkların Doğrulanması

İndirekt yaklaşımlarla referans aralıklar oluşturulduktan sonra kullanılabilirliğinin değerlendirmek için, CLSI kılavuzuna dayalı olarak doğrulama işlemi gerçekleştirildi. Çalışmaya katılan gönüllüler çalışma hakkında sözlü ve yazılı olarak bilgilendirilerek onamları alındı. Yerel popülasyondan her grup (kadın, erkek) için anket yapılarak 18-65 yaş aralığında olan 20'şer referans birey belirlendi ve incelendi. Bu 40 bireyden alınan örnekler uygun şekilde test edildikten sonra hiçbir sonucun aykırı değer olmadığından emin olmak için Tukey yöntemi ile olası uç değerler tespit edildi. Aykırı değerler çıkarıldıktan sonra bunların yerine yeni hasta örnekleri alındı, böylece aykırı değer içermeyen 20'şer test sonucu elde edildi. Test edilen 40 bireyin değerlerinin ikiden fazlasının (veya test sonuçlarının %10'unun) indirekt yöntemle elde edilen referans sınırların dışında kalmaması halinde referans sınırlar geçerli kabul edildi.

3.6.1. Referans Birey Adaylarının Seçilmesi

Çalışmaya 20 erkek ve 20 kadın olmak üzere 40 bireyden alınan örnekler dahil edildi. Yaş gruplarının dağılımındaki dengeye önem verilmiş olup, hedef yaş aralığı olan 18 ila 65 için neredeyse eşit bir dağılım sağlandı. Yaş grupları incelendiğinde; 18-29 yaş arası 6 kadın, 5 erkek, 30-39 yaş arası 4 kadın, 6 erkek, 40-49 yaş arası 5 kadın, 4 erkek, 50-65 yaş arası ise 5 kadın, 5 erkek referans birey mevcuttu.

Araştırılacak parametreleri etkileyebilecek ilaç kullanımı, egzersiz, hastalık, diyet gibi durumların olup olmadığı anket yöntemi ile sorgulandı (EK-1 ve EK-2). Çalışmada insülin ya da oral ilaçla tedavi edilen diyabet hastalığı olanlar, kronik karaciğer ya da böbrek hastalığı olanlar, kan sonuçları ciddi hastalığa işaret edenler, son 4 hafta içinde hastaneye yatmış olanlar, son 3 ay içinde kan bağıışı yapmış olanlar, HBV, HCV, HIV taşıyıcılığı olanlar, hamile olanlar ya da 1 yaş altı çocuğu olanlar ve son 3 ay içinde bir araştırma ürünü ile ilgili araştırmaya katılanlar değerlendirme dışı bırakıldı.

3.6.2. Örneklerin Alınması, Kabulü ve Analiz

Gönüllülerden onam alındıktan sonra anket uygulanarak çalışmaya katılmaya uygun olan kişilerden 10-12 saatlik açlığın ardından sabah 08:00-10:00 arasında 15-20 dakikalık oturarak dinlenme sonrası ön kolda kan alma bölgesinin 5-10 cm yukarısına turnike uygulanarak, turnike süresi bir dakikayı geçmeyecek şekilde vakumlu CBC tüplerine kan örnekleri alındı. Alınan örnekler kan alındıktan sonra bir saat içinde çalışıldı.

3.6.3. Referans Aralıkların Doğrulanmasında Analitik Kalite Kontrol

Testler çalışmaya başlamadan önce 3 seviye iç kalite kontrol çalışıldı. Çalışılan iç kalite kontrol verilerinden % CV değerleri hesaplandı. Analitik performans verileri Tablo 4'te sunuldu.

3.7. İstatistiksel Analiz

Verilerin ayıklanması ve cinsiyete göre ayırım kararının verilmesinde Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA) kullanıldı. Aykırı değerlerin belirlenmesi ve Box-Cox dönüşümünün uygulanmasında, R programlama dili (versiyon 4.3.3; The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) kullanılmış olup, CRAN deposundan elde edilen MASS paketi ile analiz gerçekleştirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu, IBM SPSS 22.0 (Lisans: KTÜ) paket programı kullanılarak K-S testi ile analiz edildi. Skewness ve kurtosis katsayıları R programlama dili versiyon 4.3.3. kullanılarak incelendi.

Bhattacharya yöntemi ile referans aralık belirlenmesinde Bellview sürüm 2.0.1 (94), nonparametrik, Kosmic, ReflimR ve RefineR yöntemleri ile referans aralık belirlenmesinde R programlama dili versiyon 4.3.3. kullanıldı. Bhattacharya, nonparametrik, Kosmic ve RefineR yöntemlerinde, her bir veri kümesi 200 kez rastgele ve tekrarlı olarak (bootstrap yöntemiyle) örneklenmiş ve bu örneklemeler kullanılarak referans aralıklarının %90 güven aralıkları belirlenmiştir. ReflimR yönteminde Monte-Carlo simülasyonları kullanılarak referans aralıklarının %95 güven aralıkları belirlendi. Nonparametrik yöntem, Microsoft Excel ve referenceIntervals paketi (sürüm 1.3.1) (114) ; Kosmic yöntemi, tidykosmic paketi (sürüm 0.0.0.9000) (108); ReflimR yöntemi, reflipR paketi (sürüm 1.0.6) (104) ve RefineR yöntemi, refineR paketi (sürüm 1.6.1) (109) kullanılarak uygulandı. Grafikler, Microsoft

Excel ve R programlama dili kullanılarak hazırlandı; R'de ggplot2 kütüphanesi ile görselleştirme işlemleri gerçekleştirildi.

Tablo 4. Analitik performans verileri

Test	Birim	Üreticiden elde edilen (Beklenen) değerler			Laboratuvaradan elde edilen değerler Günler Arası Değişkenlik (n=42)		
		Seviye	Ortalama	SD	Ortalama	SD	%CV
WBC	10 ³ /μL	1	3.15	0.16	3.08	0.06	1.89
		2	6.84	0.22	6.79	0.10	1.44
		3	16.63	0.54	16.54	0.20	1.21
RBC	10 ⁶ /μL	1	2.7	0.07	2.72	0.03	1.22
		2	4.27	0.11	4.35	0.04	0.80
		3	5.06	0.12	5.15	0.04	0.85
HB	g/dL	1	6.5	0.15	6.45	0.07	1.06
		2	11.7	0.25	11.68	0.09	0.76
		3	15.4	0.3	15.38	0.12	0.78
HTC	%	1	19.7	1	19.90	0.36	1.82
		2	34.5	1.75	35.47	0.33	0.93
		3	44.4	2.2	45.71	0.59	1.30
MCV	fL	1	72.8	1.8	73.25	0.54	0.74
		2	80.9	2	81.59	0.48	0.59
		3	87.8	2.2	88.55	0.56	0.63
MCH	pg	1	24.1	1.1	23.63	0.22	0.92
		2	27.4	1.1	26.81	0.20	0.78
		3	30.4	1.2	29.83	0.21	0.70
MCHC	g/dL	1	33	2.5	32.24	0.43	1.34
		2	33.9	2.35	32.75	0.37	1.13
		3	34.7	3.45	33.54	0.39	1.18
RDW	%	1	18	0.9	18.00	0.13	0.74
		2	16.4	0.8	16.29	0.09	0.56
		3	15.6	0.8	15.37	0.09	0.57
PLT	10 ³ /μL	1	94	19	94.28	7.31	7.76
		2	249	18.5	261.20	6.68	2.56
		3	555	25	576.54	6.93	1.20
MPV	10 ³ /μL	1	8.7	0.85	9.02	0.19	2.14
		2	10	0.45	9.91	0.16	1.59
		3	9.8	0.35	9.67	0.09	0.96
LY %	%	1	32.4	6.5	33.29	1.32	3.97
		2	27.8	2.8	28.06	0.83	2.96
		3	23.3	2.35	23.36	0.53	2.28

Tablo 4. Analitik performans verileri (Devamı)

MO %	%	1	14.3	5.7	13.85	1.28	9.22
		2	13.2	3.95	13.42	0.76	5.69
		3	12.7	3.2	13.01	0.49	3.74
NE %	%	1	39	3.9	38.95	0.90	2.31
		2	43.7	3.3	43.65	0.84	1.92
		3	47.8	3.6	47.82	0.84	1.76
EO %	%	1	9.5	2.4	9.42	0.64	6.78
		2	10.5	2.65	10.40	0.63	6.05
		3	11.4	2.85	11.23	0.81	7.24
BA %	%	1	4.8	1.85	4.81	0.16	3.33
		2	4.8	1.85	4.80	0.13	2.73
		3	4.8	1.85	4.82	0.12	2.57
LY#	10 ³ /μL	1	1.02	0.2	1.02	0.04	4.10
		2	1.9	0.19	1.90	0.06	3.20
		3	3.87	0.38	3.87	0.10	2.69
MO #	10 ³ /μL	1	0.45	0.18	0.43	0.04	9.09
		2	0.9	0.27	0.91	0.05	5.85
		3	2.11	0.53	2.15	0.09	4.21
NE #	10 ³ /μL	1	1.23	0.12	1.20	0.03	2.73
		2	2.99	0.22	2.96	0.07	2.42
		3	7.96	0.6	7.93	0.18	2.24
EO #	10 ³ /μL	1	0.3	0.08	0.29	0.02	6.52
		2	0.72	0.18	0.71	0.04	5.92
		3	1.89	0.47	1.88	0.12	6.48
BA #	%	1	0.15	0.06	0.15	0.01	4.07
		2	0.33	0.13	0.32	0.01	3.13
		3	0.8	0.31	0.80	0.02	2.85
PCT	%	1	0.08	0.04	0.08	0.01	10.38
		2	0.25	0.04	0.26	0.01	2.88
		3	0.54	0.07	0.56	0.01	1.59
PDW	fL	1	6.5	2.6	6.76	0.19	2.79
		2	8.8	0.7	8.68	0.14	1.57
		3	9	0.55	8.77	0.12	1.39

4. BULGULAR

4.1. Referans Örnek Grubu İçin Veri Setinin Oluşturulması

Bu çalışmada 18-65 yaş aralığındaki bireylere ait 29,002,428 adet veri incelendi. Olası patolojik sonuçların dışlanması için veri setine ön veri temizleme işlemleri uygulandı. İlk olarak yatan hastaların sonuçları ile acil, onkoloji, hematoloji, organ nakli ve kadın doğum polikliniklerinden istenen test sonuçları dışlandı. İkinci olarak hastaya ait bir yılda birden fazla kayıt varsa, tek/ilk sonuç dışında yılın tüm kayıtları veri setinden çıkarıldı. Üçüncü olarak çalışmaya gün içerisindeki sirkadiyen ritminden dolayı ve referans bireylerin seçiminde sabah açlığı öngörülerek örnek kabul zamanı 08.00-10.00 olan değerler dahil edildi. İlk aşamada verilerin %54'ü, ikinci aşamada %22'si dışlandı, üçüncü aşamada ise %18'i dışlandı. Ön veri temizleme işlemleri sonrası verilerin %40'ı erkeklere, %60'ı kadınlara aitti. Her bir dışlama aşaması ardından veri boyutundaki kademeli değişiklikler Tablo 5'te gösterildi.

4.2. Çalışılan Parametrelerin Dağılım Verileri

Uç değerler Horn ve arkadaşları tarafından önerilen Tukey yöntemine göre dışlandı. Bu işlem bütün uç değerler atılana kadar devam etti. K-S testi ile parametrelerin normal dağılıma uygunluğu araştırıldı. Tüm parametreler non-parametrik dağılıma sahip olduğu saptandı ($p < 0.001$).

4.3. Çalışılan Parametrelerin Alt Gruba Ayrılması

Çalışılan parametreler Harris-Boyd denklemi göre cinsiyet açısından alt gruplara ayrıldı.

Harris-Boyd denklemine göre $Z_{\text{Hesaplanan}} > Z_{\text{Kritik}}$ olan 9 parametrede (RBC, HB, HTC, MCH, MCHC, PLT, MO%, MO#, PCT) erkek (E) ve kadın (K) arasında anlamlı fark bulundu.

Harris-Boyd denklemine göre $Z_{\text{Hesaplanan}} < Z_{\text{Kritik}}$ olan 13 parametrede (WBC, MCV, RDW, MPV, LY%, NE%, EO%, BA%, LY#, NE#, EO#, BA#, PDW) erkek ve kadın arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

4.4. Çalışılan Parametrelerin Referans Aralıkları

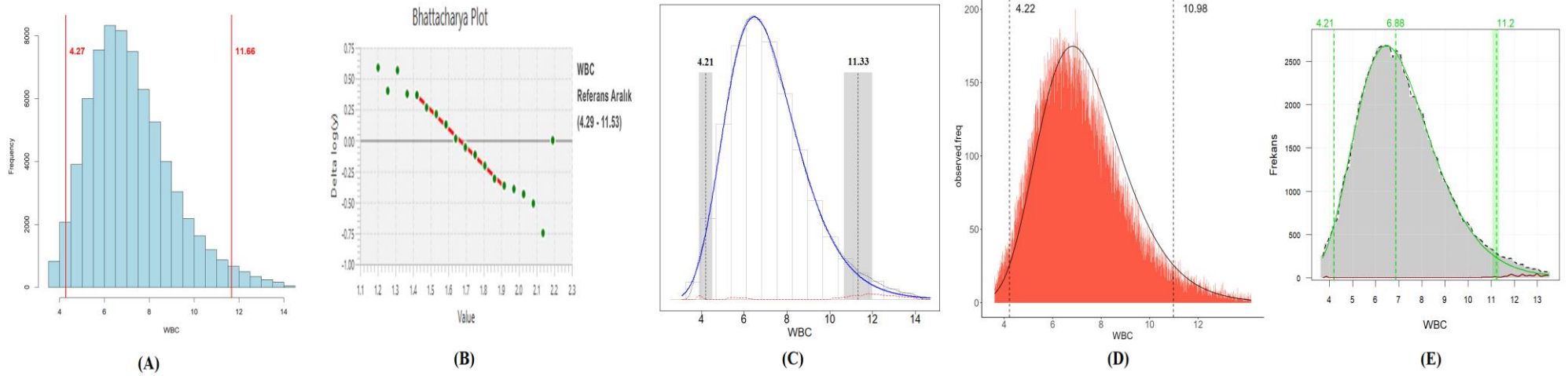
Nonparametrik, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic, RefineR yöntemleri ile elde edilen 2.5 ve 97.5 persentil değerlerine göre referans aralıklar Tablo 6’da sunuldu. Ayrıca belirlenen referans aralıkların grafiksel sunumları Şekil 8-38’de Nonparametrik (A), Bhattacharya (B), ReflimR (C), Kosmic (D), RefineR (E) olarak gösterildi.

Tablo 5. Veri temizliğinden sonra veri boyutundaki kademeli değişiklikler

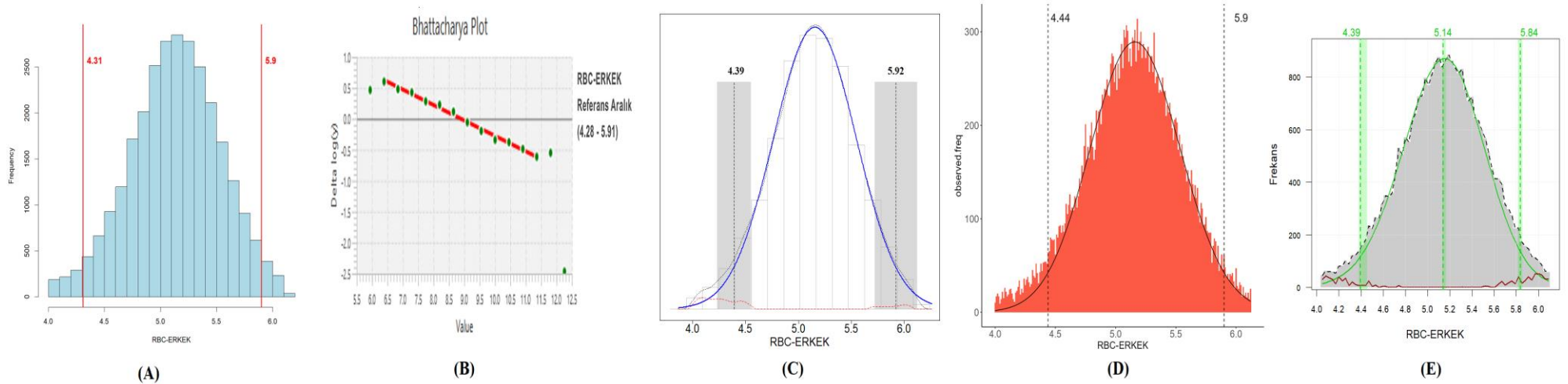
Analit	Toplam (n)	Kliniğe Göre Dışlanan (n)	Yılda İlk Sonuç Hariç Çıkarılan (n)	Örnek Kabule Göre Çıkarılan (n)	Veri Temizliği Sonrası	
					Erkek (n)	Kadın (n)
WBC	1,319,979	713,311	290,070	244,441	29,206	42,951
RBC	1,320,013	712,773	291,149	243,836	29,272	42,983
HB	1,319,976	706,598	291,130	249,027	29,161	44,060
HTC	1,320,009	717,030	291,143	240,567	28,779	42,490
MCV	1,320,018	717,031	291,154	240,565	28,779	42,489
MCH	1,320,014	717,032	291,171	240,546	28,777	42,488
MCHC	1,320,016	717,029	291,151	240,569	28,778	42,489
RDW	1,319,775	716,755	291,246	240,462	28,819	42,493
PLT	1,320,031	717,093	290,641	240,954	28,815	42,528
MPV	1,316,489	714,770	290,920	239,757	28,708	42,334
LY %	1,317,974	714,989	291,155	240,561	28,780	42,489
MO %	1,317,930	714,947	291,149	240,563	28,778	42,493
NE %	1,318,040	715,063	291,152	240,555	28,778	42,492
EO %	1,318,166	720,653	291,146	236,287	28,373	41,707
BA %	1,317,488	715,384	290,988	240,025	28,729	42,362
LY #	1,317,984	715,000	291,152	240,563	28,779	42,490
MO #	1,317,932	714,949	291,150	240,564	28,780	42,489
NE #	1,318,003	715,039	291,141	240,553	28,779	42,491
EO #	1,318,164	720,976	289,016	237,798	28,517	41,857
BA #	1,318,215	715,864	291,151	240,093	28,736	42,371
PCT	1,313,106	711,814	288,645	241,309	28,852	42,486
PDW	1,313,106	711,809	288,644	241,318	28,849	42,486
Toplam	29,002,428	15,735,909	6,396,264	5,300,913	633,824	935,518

Tablo 6. Nonparametrik, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic, RefineR yöntemleri ile elde edilen referans aralıklar (%2.5 ve %97.5 değerler)

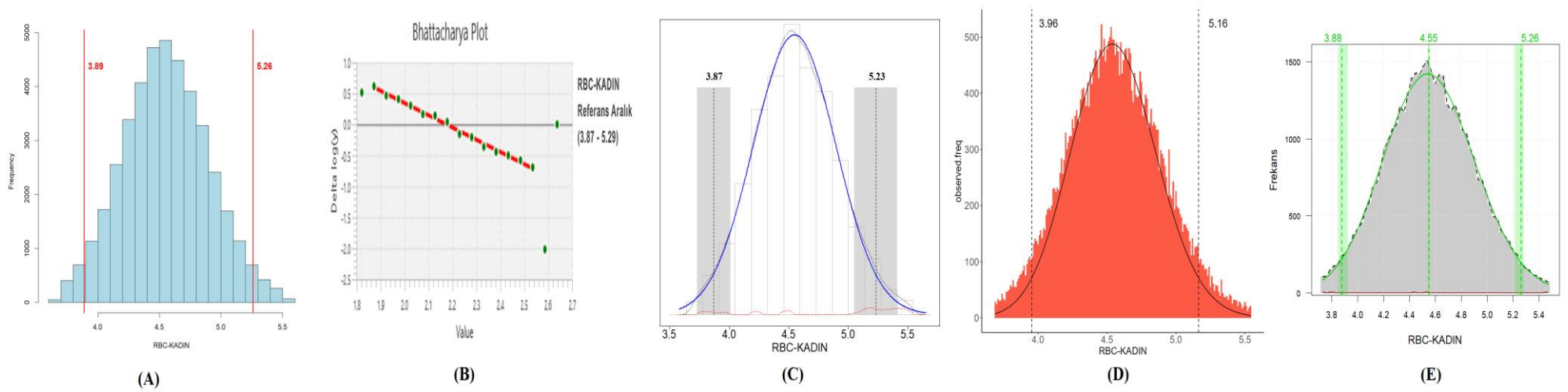
Test	Birim	Cinsiyet	Nonparametrik Referans Aralık	Bhattacharya Referans Aralık	ReflimR Referans Aralık	Kosmic Referans Aralık	RefineR Referans Aralık
WBC	10 ³ /μL	E-K	4.27-11.66	4.29-11.53	4.21-11.33	4.22-10.98	4.21-11.24
RBC	10 ⁶ /μL	E	4.31-5.9	4.28-5.91	4.39-5.92	4.44-5.9	4.39-5.84
		K	3.89-5.26	3.87-5.29	3.87-5.23	3.96-5.16	3.88-5.26
HB	g/dL	E	12.7-17.3	13.16-17.33	13.2-17.4	13.3-17.27	13.19-17.3
		K	10.7-15.00	11.13-15.06	11.2-15.2	11.33-15.09	11.14-15.1
HTC	%	E	38.1-50.8	38.62-50.61	39-51.1	40.04-50.84	38.96-50.9
		K	33.6-45.1	33.7-45.27	34.1-45.3	34.22-45.22	34.12-45.33
MCV	fL	E-K	78.9-95.1	79.69-95.08	79.9-95.2	80.44-94.86	80.22-95.35
MCH	pg	E	26.5-32.5	26.9-32.47	26.9-32.6	27.07-32.42	26.98-32.43
		K	25.3-32.1	25.89-32.26	25.9-32.3	26.45-32.29	26.13-32.17
MCHC	g/dL	E	31.5-36.00	31.61-36.12	31.7-36.1	31.65-36.09	31.68-36.1
		K	30.5-35.2	30.93-35.15	30.8-35.3	31.05-35.06	31-34.92
RDW	%	E-K	11.7-14.9	11.62-13.98	11.5-14.0	11.49-13.91	11.66-13.81
PLT	10 ³ /μL	E	156-370	156-375	157-372	155-367	152-359
		K	172-403	171-415	177-413	171-403	175-416
MPV	10 ³ /μL	E-K	8.8-12.1	8.7-12.1	8.5-11.8	8.59-11.89	8.73-11.87
LY %	%	E-K	17.2-48.9	16.8-48.99	17.6-49.1	18.59-48.57	16.25-47.97
MO %	%	E	5.4-12.4	5.6-12.36	5.51-12.58	5.65-12.28	5.57-12.5
		K	5.0-11.8	5.02-11.78	5.01-11.72	4.99-11.74	4.96-11.74
NE %	%	E-K	38.7-73.2	38.34-73.58	40.7-75.3	38.72-72.87	38.02-72.43
EO %	%	E-K	0.5-6.9	0.5-7.46	0.61-6.92	0.64-6.6	0.58-7.38
BA %	%	E-K	0.2-1.6	0.16-1.58	0.21-1.84	0.22-1.36	0.25-1.71
LY #	10 ³ /μL	E-K	1.25-3.86	1.27-3.82	1.3-3.95	1.3-3.87	1.3-3.92
MO #	10 ³ /μL	E	0.34-1.05	0.34-1.09	0.34-1.07	0.33-1.06	0.34-1.08
		K	0.3-0.9	0.32-0.86	0.31-0.86	0.29-0.84	0.3-0.87
NE #	10 ³ /μL	E-K	1.98-7.68	2.0-7.47	1.93-7.26	1.94-7.01	1.93-7.21
EO #	10 ³ /μL	E-K	0.03-0.51	0.04-0.49	0.04-0.53	0.03-0.44	0.04-0.56
BA #	10 ³ /μL	E-K	0.01-0.11	0.01-0.11	0.02-0.12	0.01-0.12	0.01-0.09
PCT	%	E	0.16-0.37	0.16-0.35	0.17-0.36	0.16-0.35	0.16-0.35
		K	0.18-0.4	0.18-0.39	0.18-0.37	0.18-0.39	0.18-0.37
PDW	fL	E-K	9.1-16.4	8.91-16.6	8.8-15.8	8.68-15.5	8.84-15.41



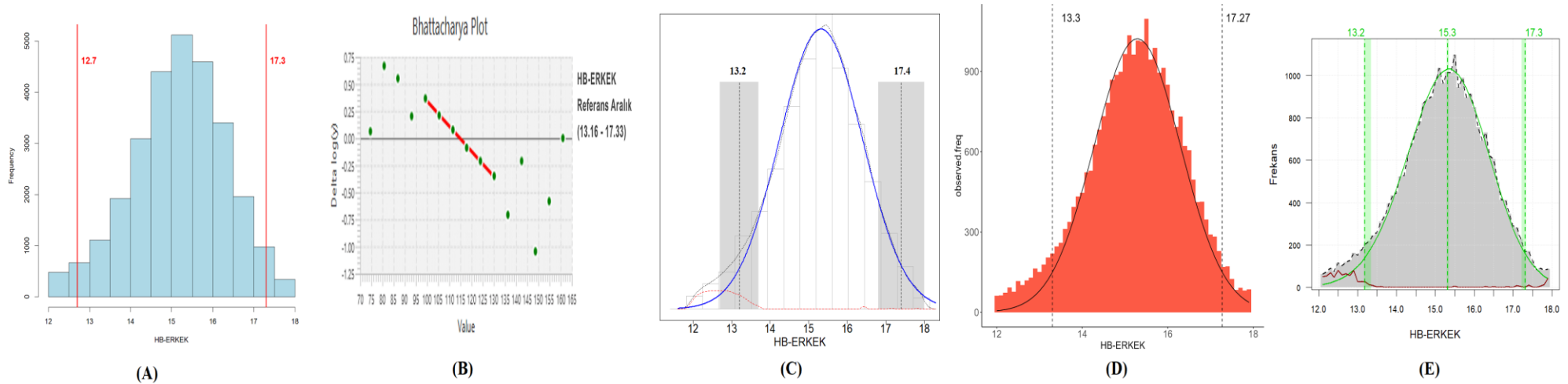
Şekil 8. WBC Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



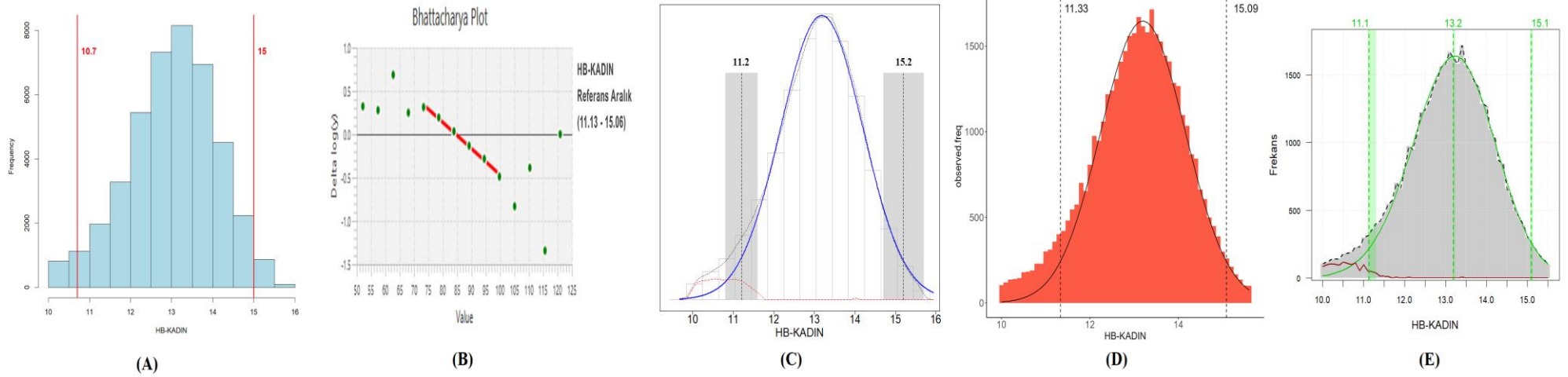
Şekil 9. RBC-ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



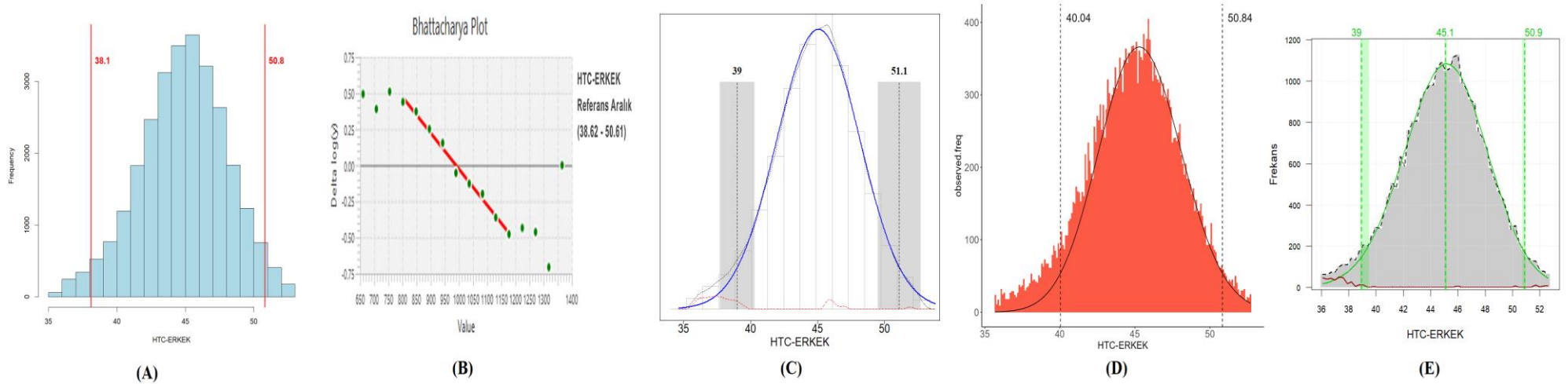
Şekil 10. RBC-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



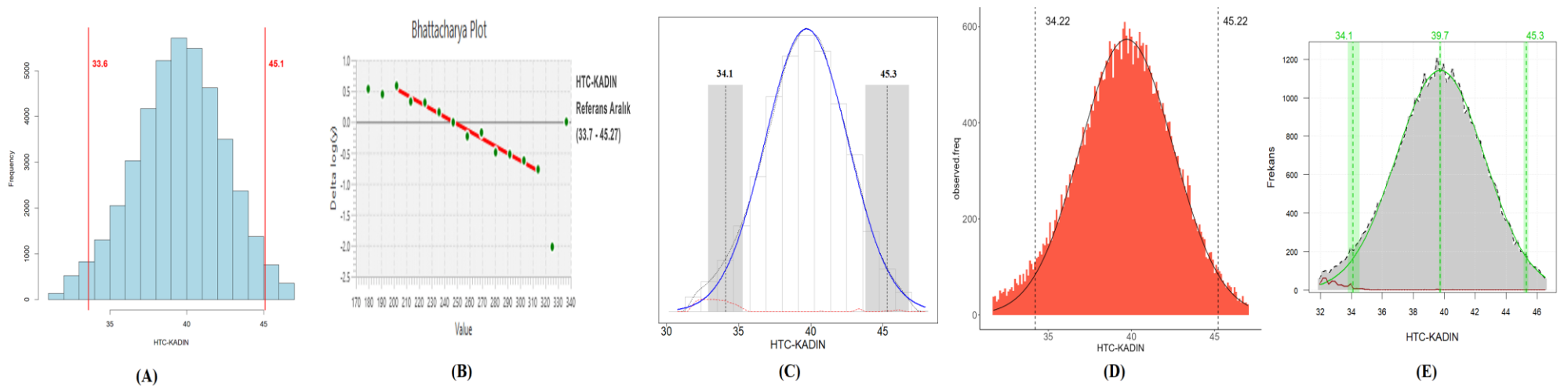
Şekil 11. HB-ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



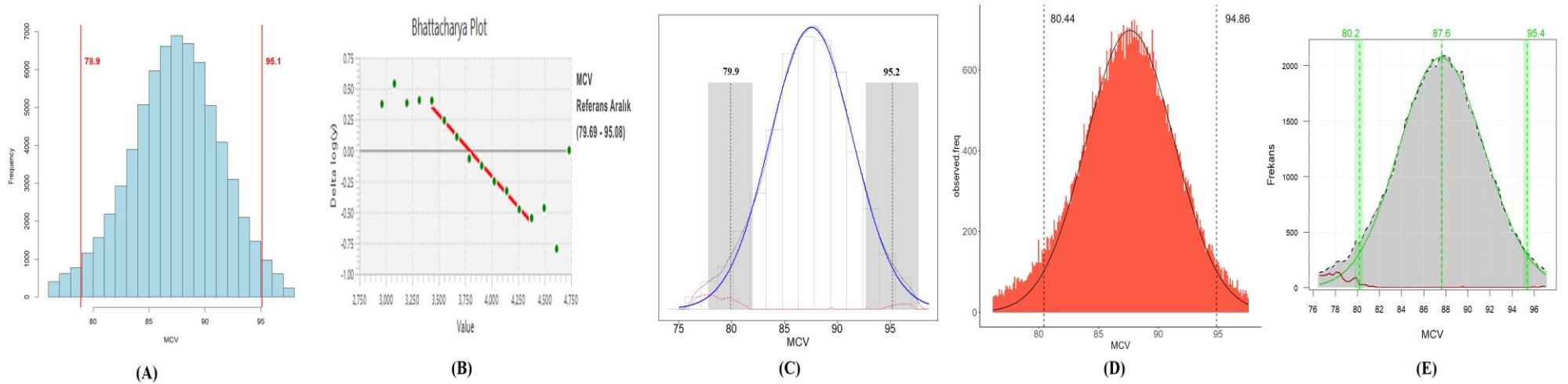
Şekil 12. HB-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



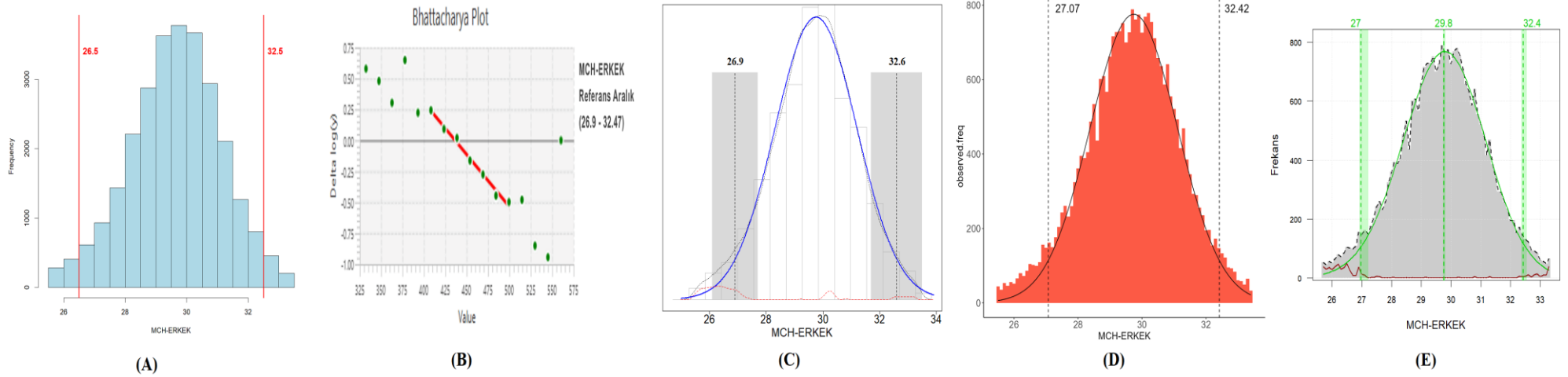
Şekil 13. HTC-ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



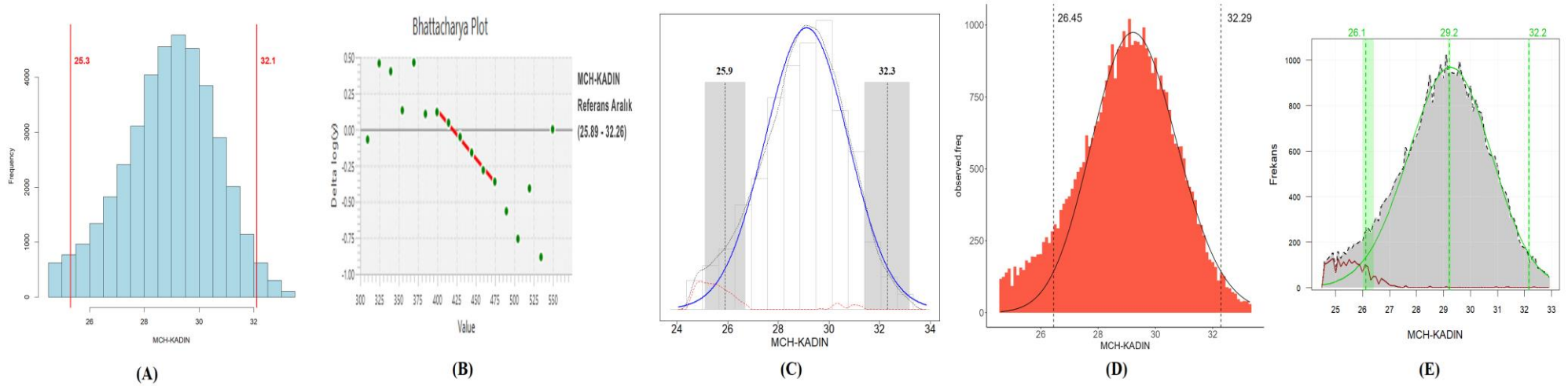
Şekil 14. HTC-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



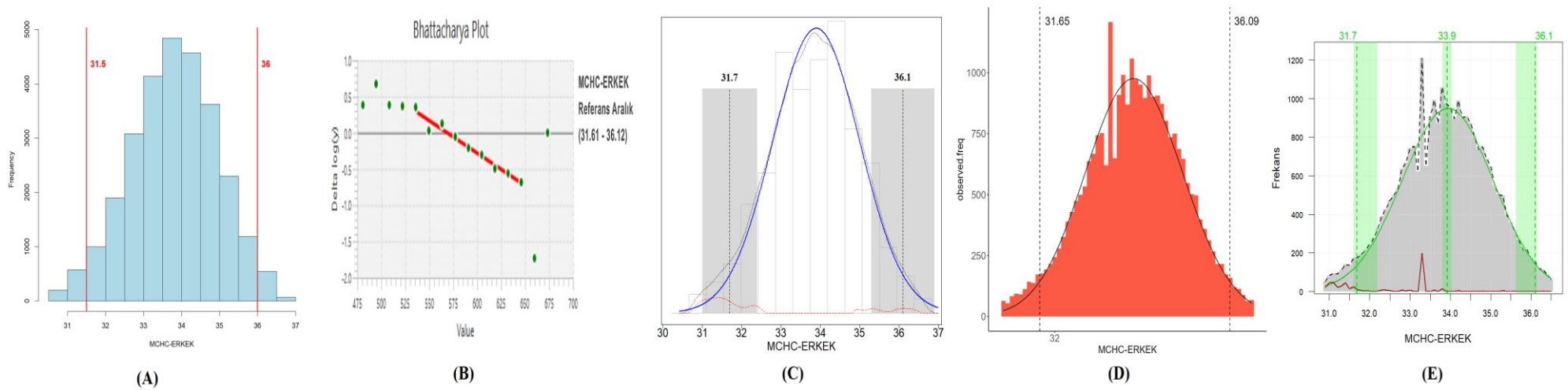
Şekil 15. MCV Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



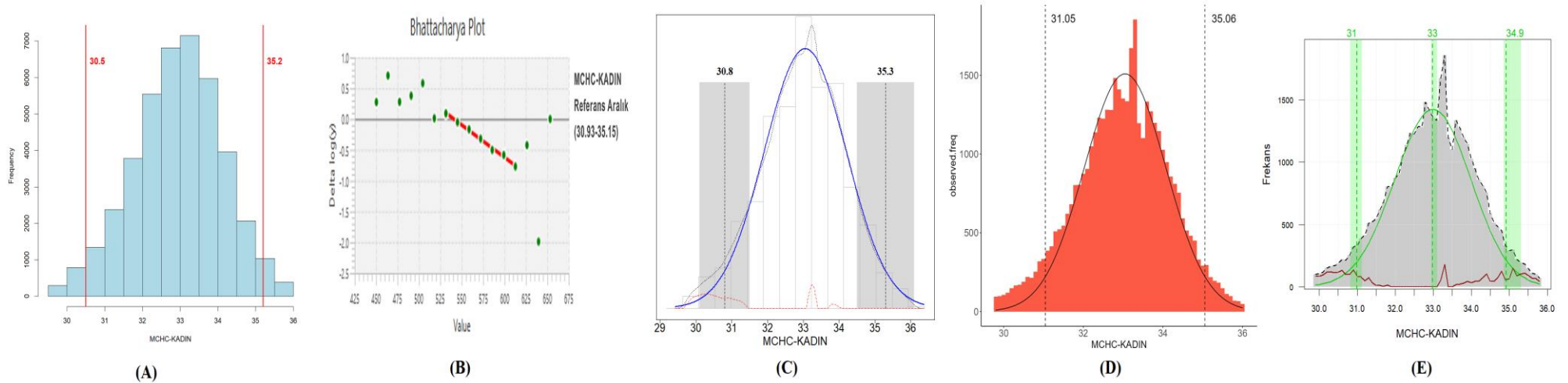
Şekil 16. MCH-ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



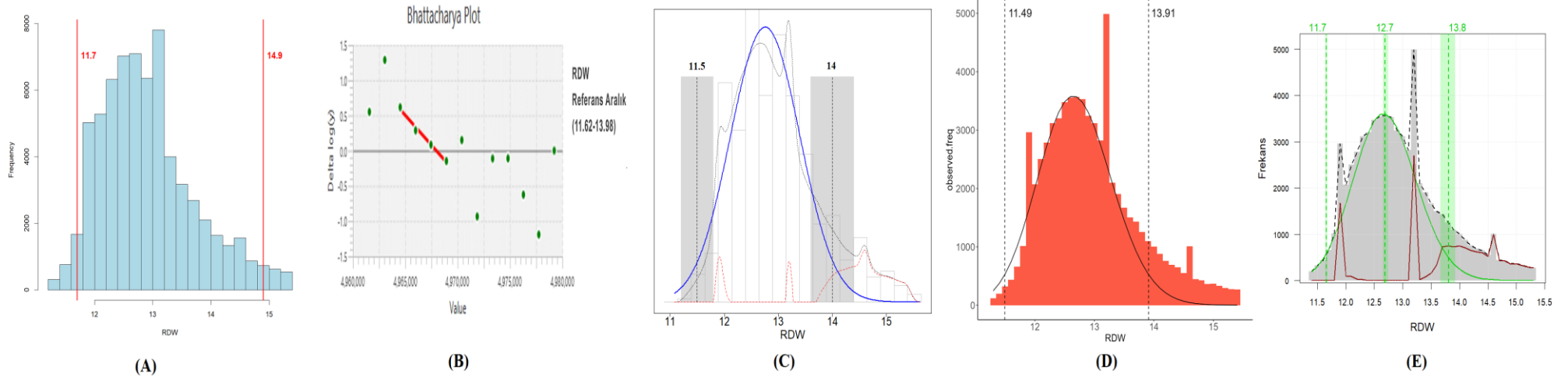
Şekil 17. MCH-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



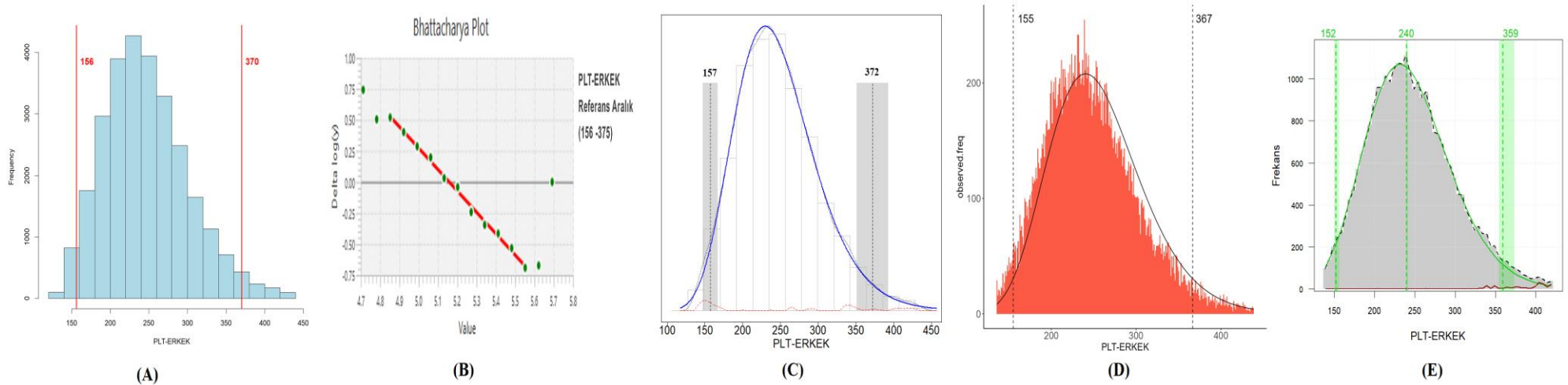
Şekil 18. MCHC-ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



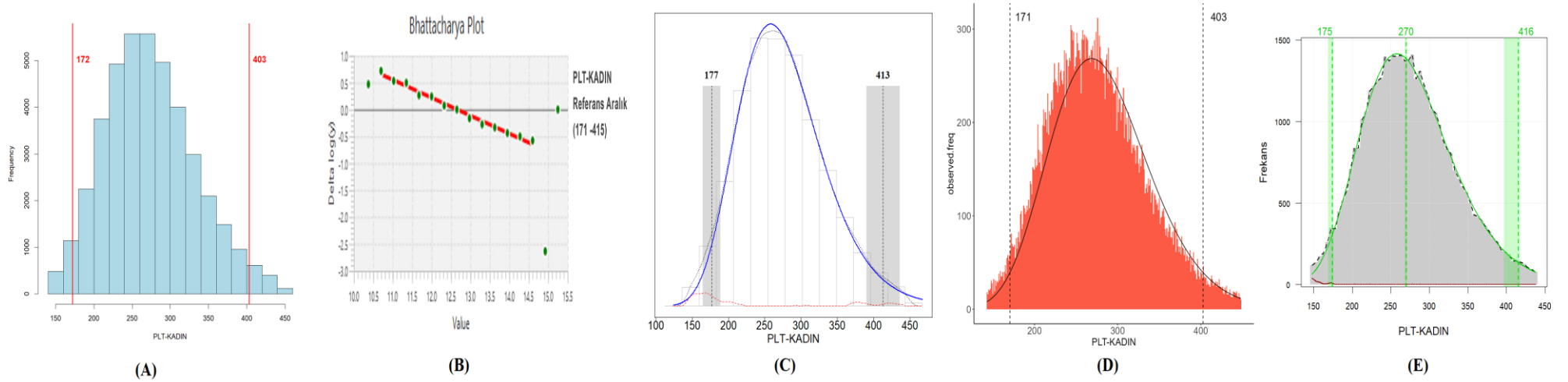
Şekil 19. MCHC-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



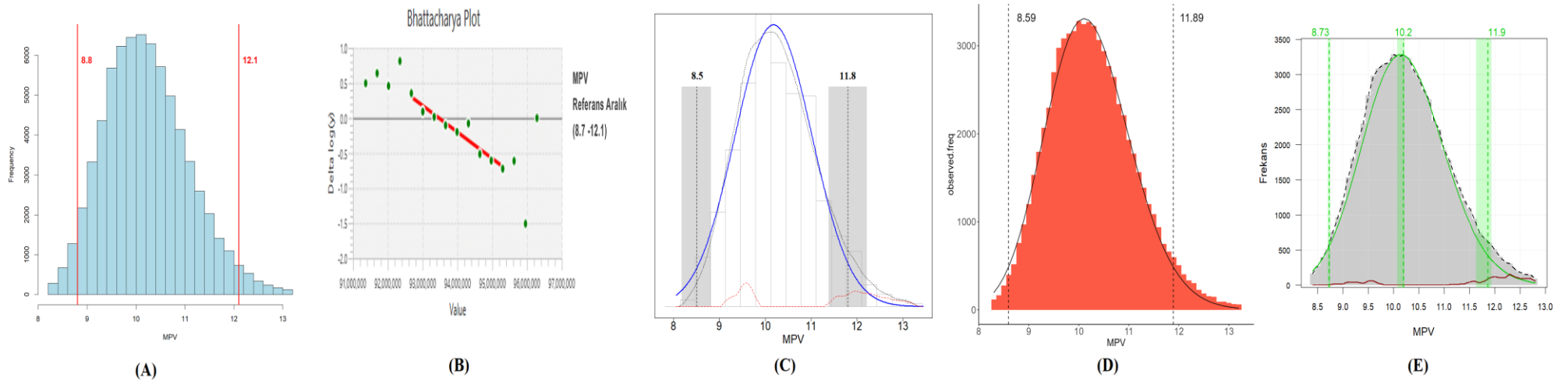
Şekil 20. RDW Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



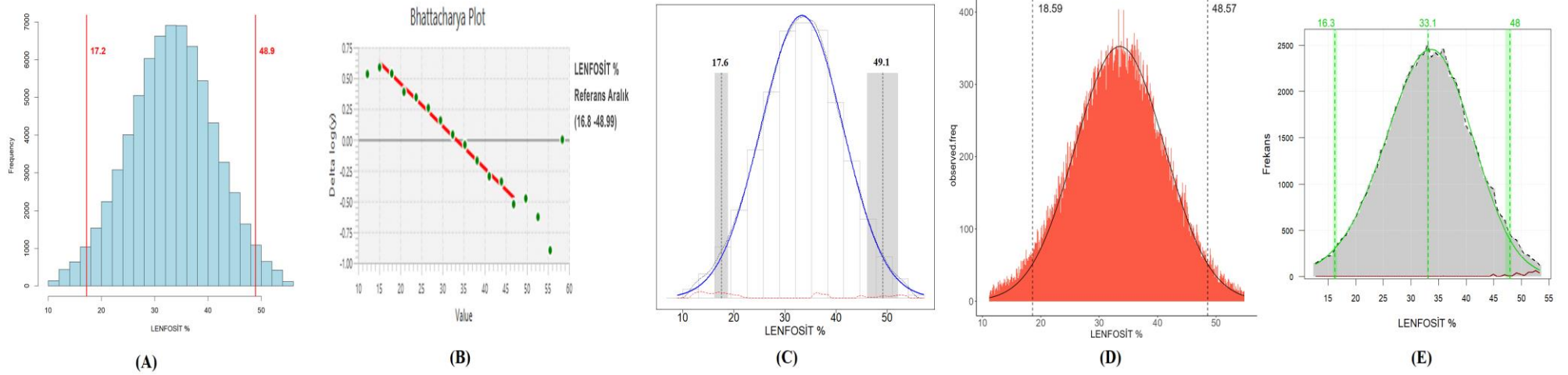
Şekil 21. PLT-ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



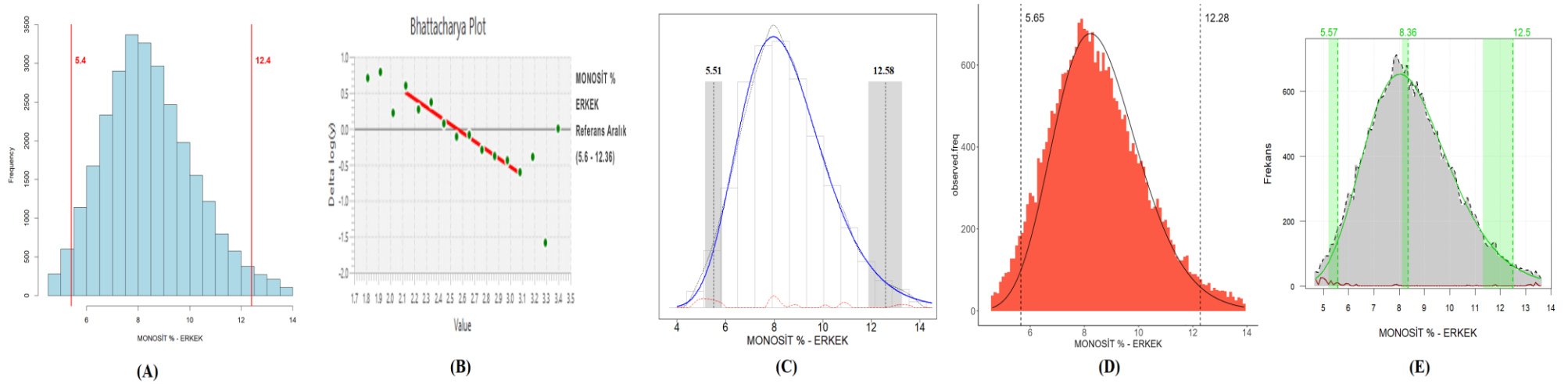
Şekil 22. PLT-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



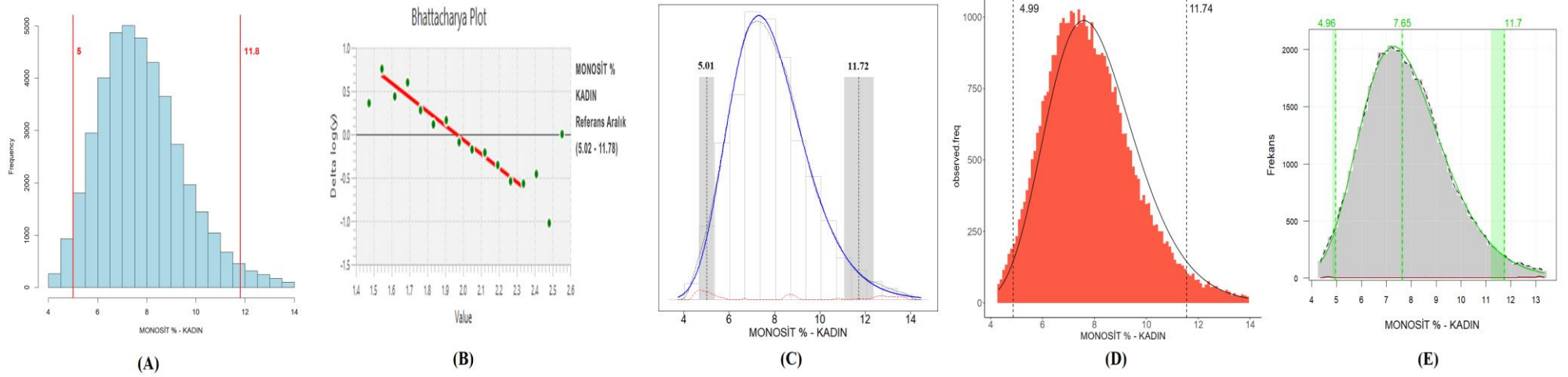
Şekil 23. MPV Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



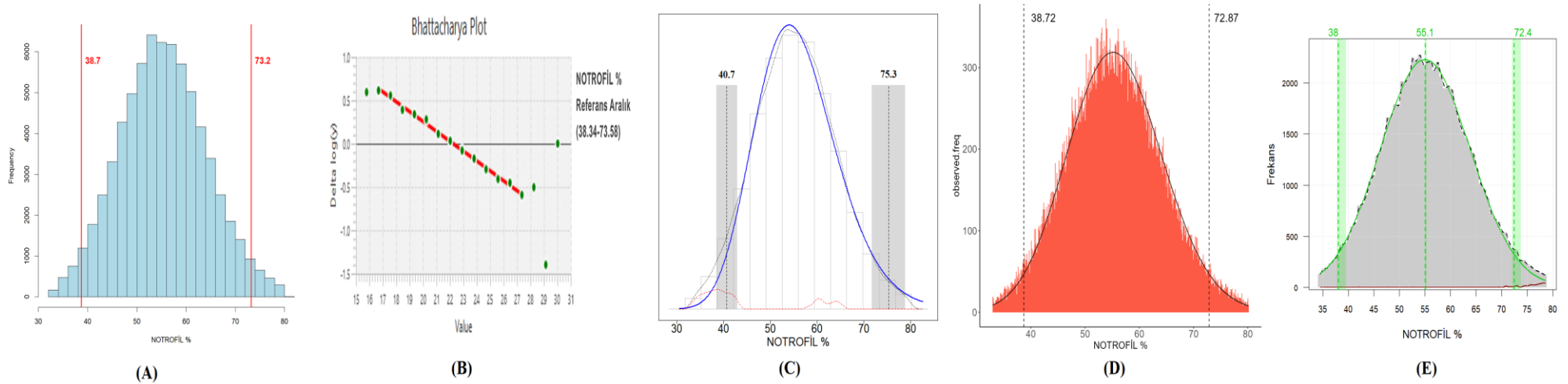
Şekil 24. LENFOSİT % Referans Aralıklarının Grafikseld Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



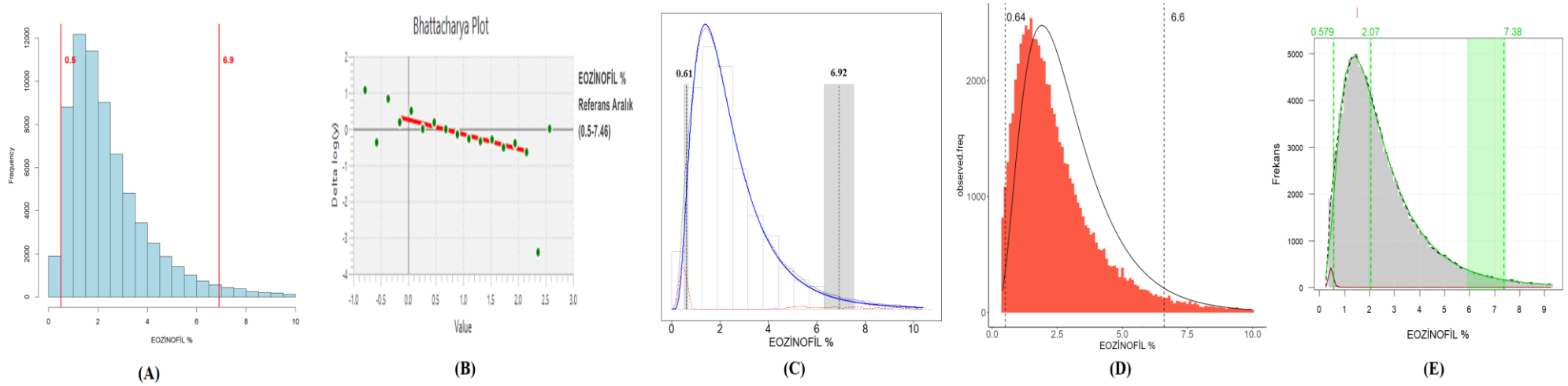
Şekil 25. MONOSİT % - ERKEK Referans Aralıklarının Grafikseld Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



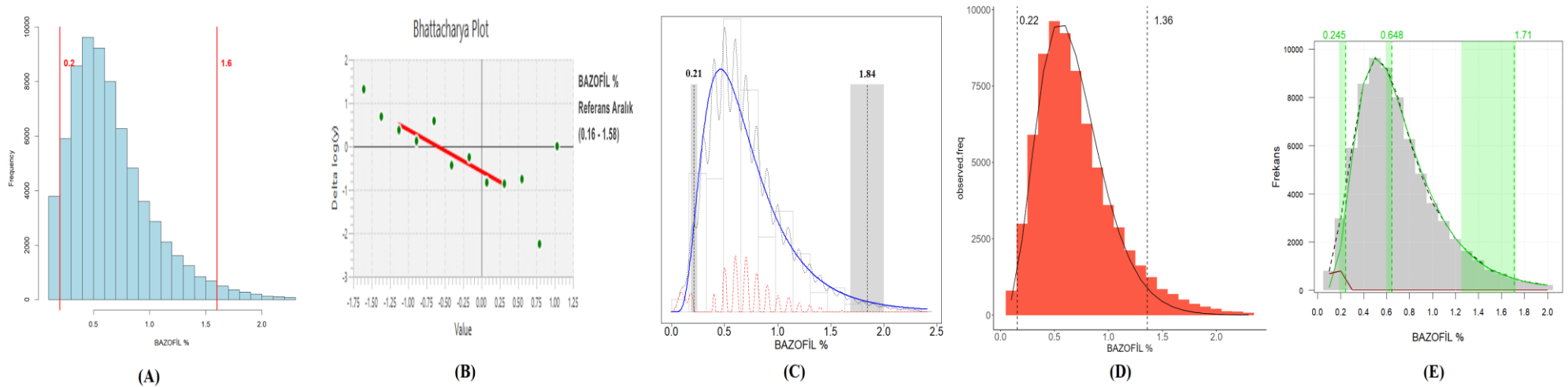
Şekil 26. MONOSİT % - KADIN Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



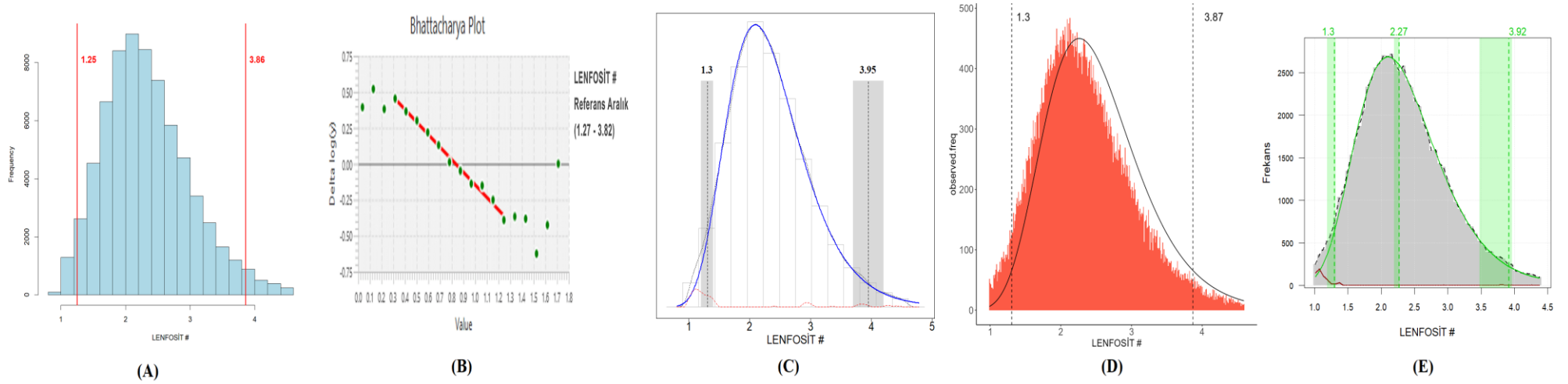
Şekil 27. NÖTROFİL % Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



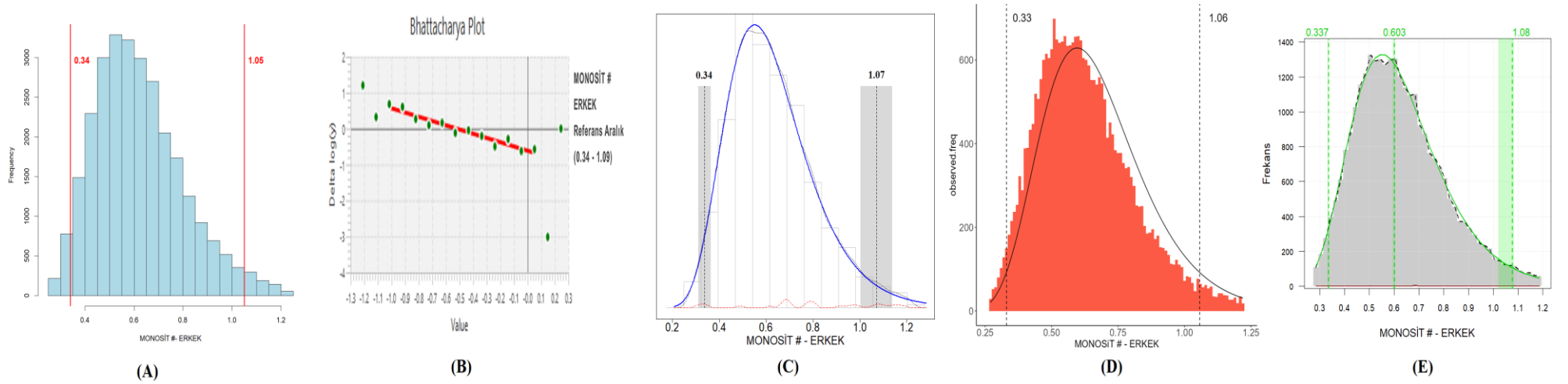
Şekil 28. EOZİNOFİL % Referans Aralıkların Grafikseld Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



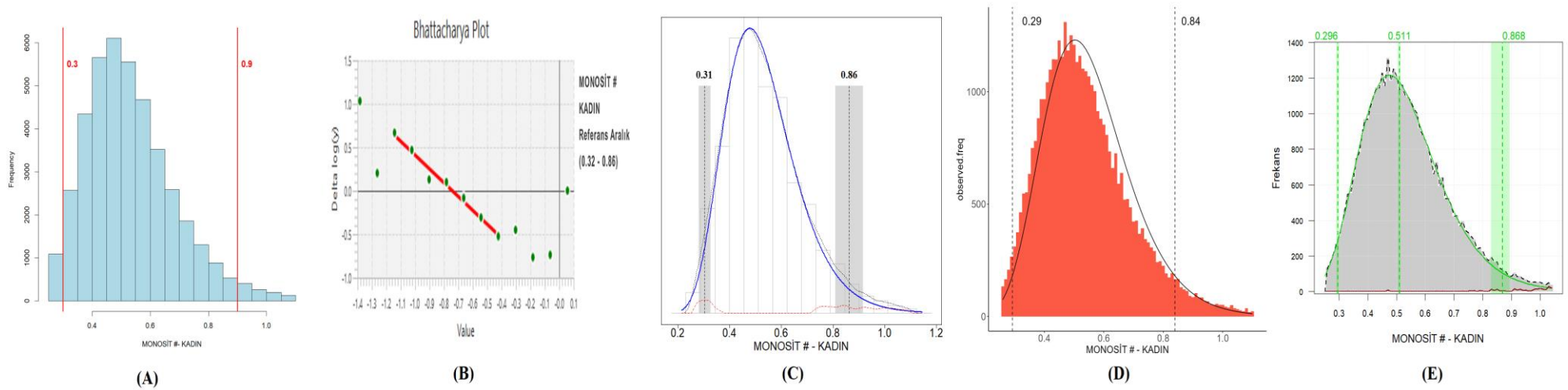
Şekil 29. BAZOFİL % Referans Aralıkların Grafikseld Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



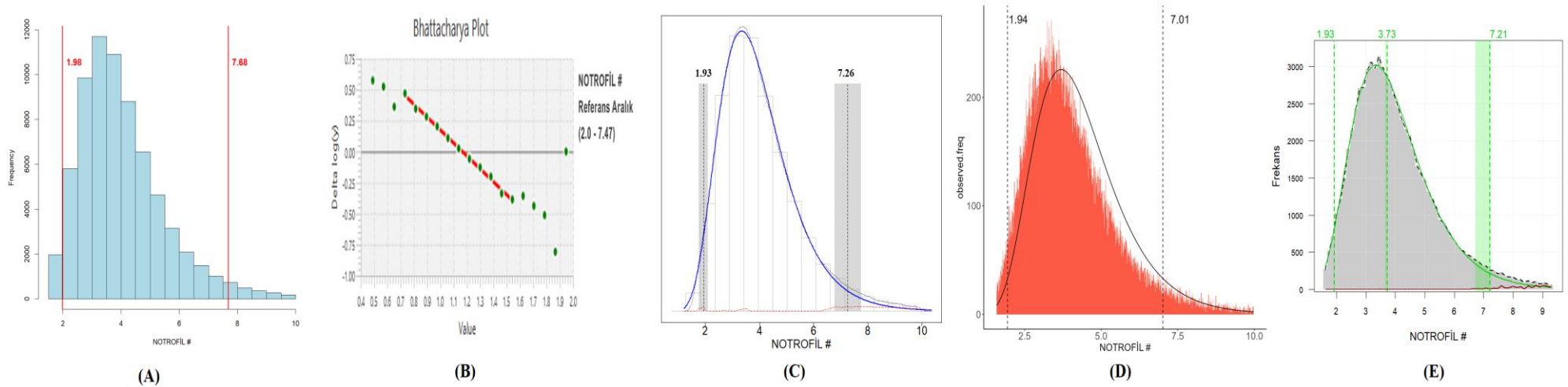
Şekil 30. LENFOSİT # Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



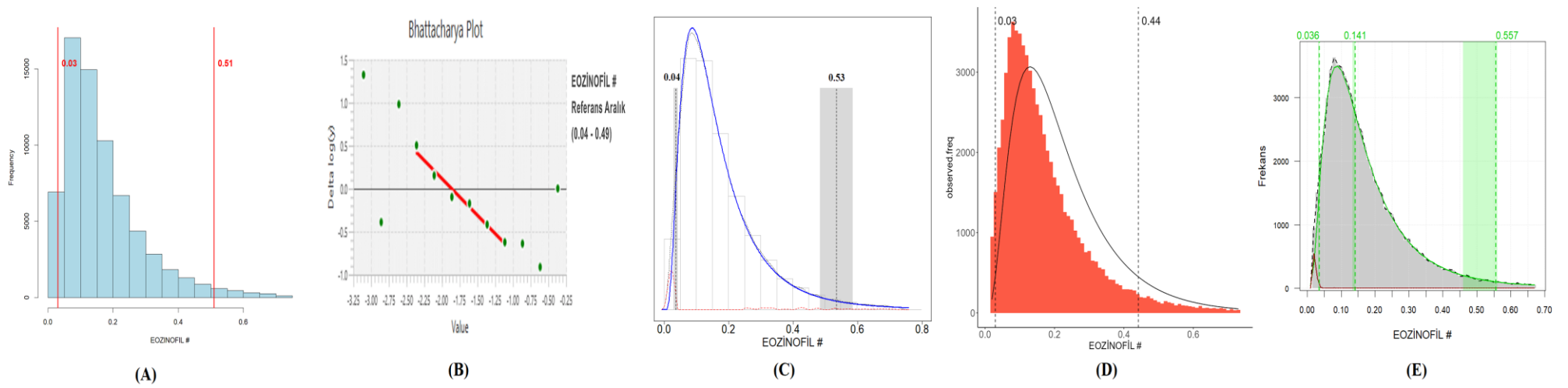
Şekil 31. MONOSİT #- ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



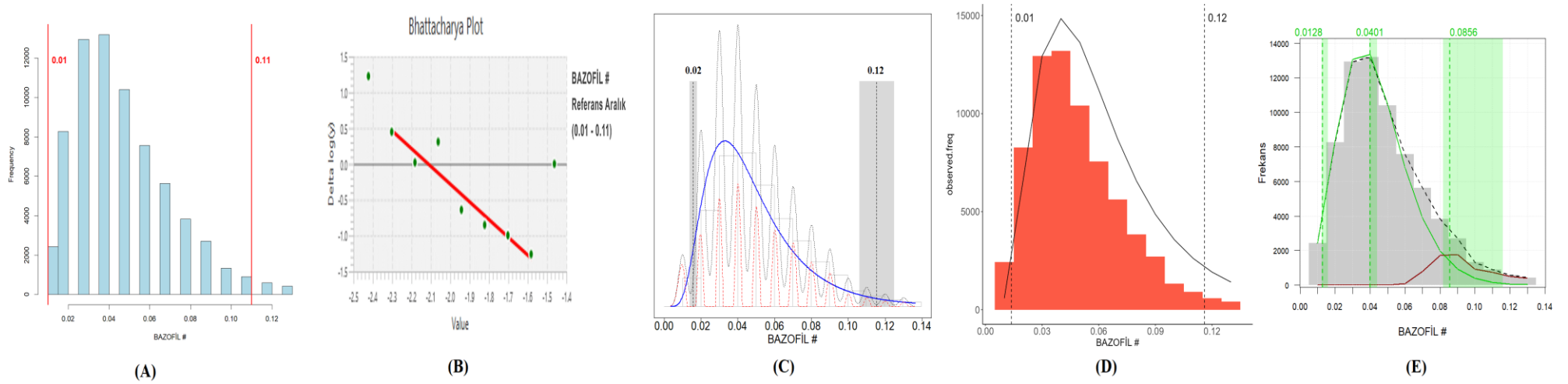
Şekil 32. MONOSİT #-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



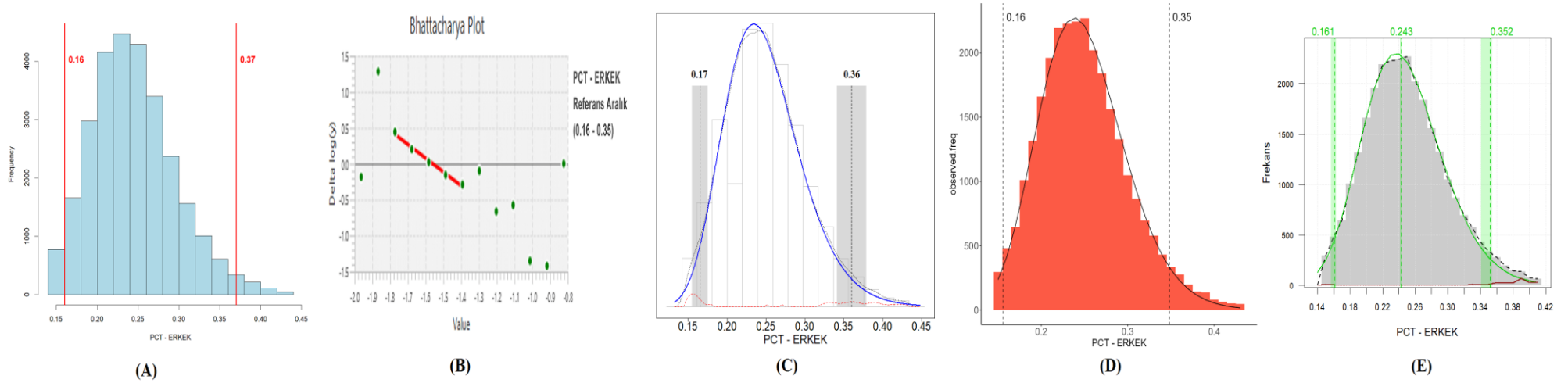
Şekil 33. NÖTROFİL # Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



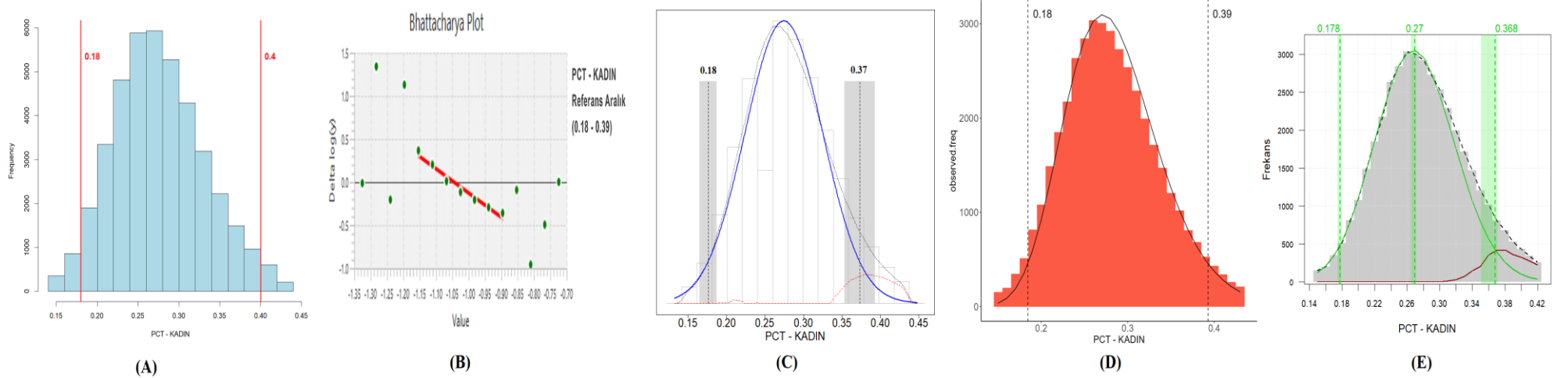
Şekil 34. EOZİNOFİL # Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



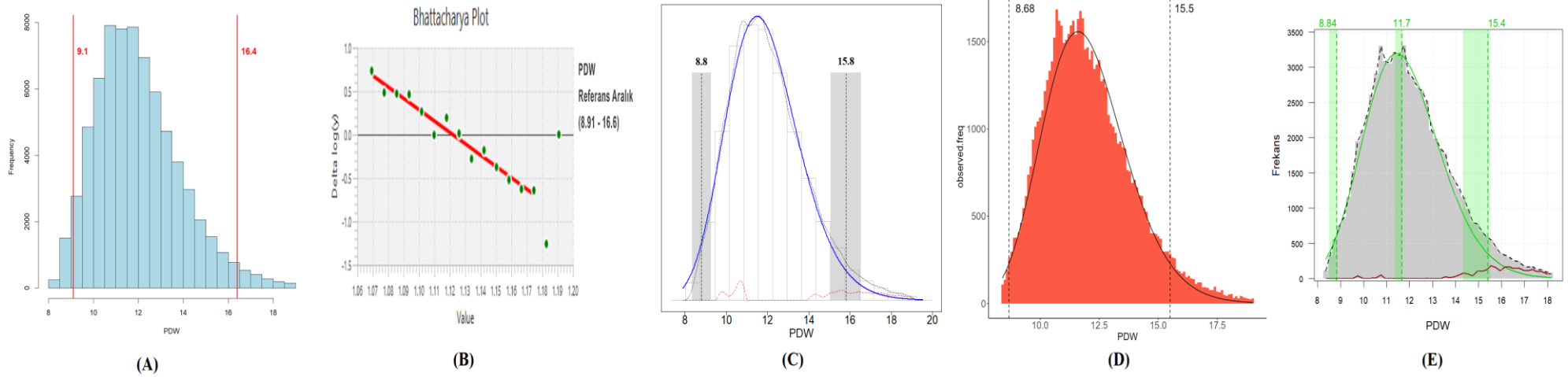
Şekil 35. BAZOFİL # Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



Şekil 36. PCT-ERKEK Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



Şekil 37. PCT-KADIN Referans Aralıklarının Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)



Şekil 38. PDW Referans Aralıkların Grafiksel Sunumları (A: Nonparametrik, B: Bhattacharya, C: ReflimR, D: Kosmic, E: RefineR)

4.5. Referans Aralıklarının Doğrulanması

Nonparametrik, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic, RefineR yöntemleri ile elde edilen referans aralıkların kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi açısından CLSI EP28-A3c kılavuzuna dayalı olarak doğrulama işlemi gerçekleştirildi.

Çalışmaya katılan referans bireylerden elde edilen referans değerlerin, oluşturulan referans aralıklar ile karşılaştırılması ve aralık dışı kalan değerlerin yüzdesinin hesaplanması ile doğrulama işlemi yapıldı. Alt gruba ayrılan testler için 20'ser, alt gruba ayrılmayan testler için 40 referans birey kullanıldı. Aralık dışı kalan değerlerin yüzdesi, %10'u yani alt grubu ayrılan testler için 20 referans değerden 2 veya daha azı, alt gruba ayrılmayan testler için 40 referans değerden 4 veya daha azı aralık dışında kalmadığı takdirde referans aralık geçerli kabul edildi.

Yapılan doğrulama işleminde tüm parametrelerde bütün yöntemlerle (Nonparametrik, Bhattacharya, ReflimR, Kosmic, RefineR) elde edilen referans aralıklar geçerli kabul edildi.

Doğrulama için referans bireylerden elde edilen en küçük (alt) ve en büyük (üst) değer ve belirlenen referans aralıkların dışında bulunan değerlerin yüzdesi Tablo 7'de gösterildi.

Tablo 7. Referans Aralıkların Doğrulama Değerleri ve Referans Aralık Dışında Bulunan Değerlerin Yüzdesi

Test	Birim	Cinsiyet	Doğrulama Değerleri			Referans Aralık Dışında Bulunan Değerlerin Yüzdesi				
			n	Alt Değer	Üst Değer	Nonparametrik	Bhattacharya	Reflim	Kosmic	RefineR
WBC	10 ³ /μL	E-K	40	5.1	9.61	0%	0%	0%	0%	0%
RBC	10 ⁶ /μL	E	20	4.85	5.63	0%	0%	0%	0%	0%
		K	20	3.89	4.89	0%	0%	0%	10%	0%
HB	g/dL	E	20	14.8	16.4	0%	0%	0%	0%	0%
		K	20	11.7	14.9	0%	0%	0%	0%	0%
HTC	%	E	20	42.9	50	0%	0%	0%	0%	0%
		K	20	36.9	45.4	5%	5%	5%	5%	5%
MCV	fL	E-K	40	84	95.9	5%	5%	5%	5%	5%
MCH	pg	E	20	28.2	30.8	0%	0%	0%	0%	0%
		K	20	28	32	0%	0%	0%	0%	0%
MCHC	g/dL	E	20	32.1	34	0%	0%	0%	0%	0%
		K	20	31.5	33.8	0%	0%	0%	0%	0%
RDW	%	E-K	40	11.5	13.9	2.5%	2.5%	0%	0%	5%
PLT	10 ³ /μL	E	20	179	312	0%	0%	0%	0%	0%
		K	20	169	359	5%	5%	5%	5%	5%
MPV	10 ³ /μL	E-K	40	8.8	11.6	0%	0%	0%	0%	0%
LY %	%	E-K	40	22.4	46.8	0%	0%	0%	0%	0%
MO %	%	E	20	4.2	10.1	5%	5%	5%	5%	5%
		K	20	5.5	10.3	0%	0%	0%	0%	0%
NE %	%	E-K	40	41.8	67.5	0%	0%	0%	0%	0%
EO %	%	E-K	40	0.9	5.8	0%	0%	0%	0%	0%
BA %	%	E-K	40	0.2	1.1	0%	0%	5%	5%	5%
LY #	10 ³ /μL	E-K	40	1.38	3.31	0%	0%	0%	0%	0%
MO #	10 ³ /μL	E	20	0.27	0.76	5%	5%	5%	5%	5%
		K	20	0.37	0.7	0%	0%	0%	0%	0%
NE #	10 ³ /μL	E-K	40	2.37	5.92	0%	0%	0%	0%	0%
EO #	10 ³ /μL	E-K	40	0.06	0.54	2.5%	2.5%	2.5%	2.5%	0%
BA #	10 ³ /μL	E-K	40	0.02	0.07	0%	0%	0%	0%	0%
PCT	%	E	20	0.19	0.31	0%	0%	0%	0%	0%
		K	20	0.18	0.35	0%	0%	0%	0%	0%
PDW	fL	E-K	40	9	15.1	2.5%	0%	0%	0%	0%

5. TARTIŞMA

Her laboratuvarın kendi yöntemine ve yerel popülasyonuna özgü olarak referans aralık çalışmaları gerçekleştirmesi ve bunları periyodik olarak gözden geçirmesi tavsiye edilir (7,8). Ancak referans aralıklarının belirlenmesinin maliyet gerektirmesi, oldukça zahmetli ve zor süreçlerden oluşmasından dolayı birçok laboratuvar kendi yöntemine ve yerel popülasyonuna uygun referans aralık belirlemek yerine klinik kullanım için referans aralıkları çeşitli kaynaklardan almayı tercih eder.

Referans aralıklar, yeni testlerin ve ölçüm yöntemlerinin gelişmesiyle giderek güncel bir konu haline gelmiştir. Özellikle, yeterli veriye ulaşmanın daha kolay olması, sağlık durumunun tanımlanmasının gerekmemesi, maliyetlerin düşük olması, süreçlerin hızlı ilerlemesi ve çalışmanın tekrarlanabilirliğinin kolay olması gibi faktörler, preanalitik ve analitik koşulların rutin laboratuvar şartlarıyla uyum göstermesiyle birleştiğinde, indirekt referans aralık belirleme yöntemlerinin direkt referans aralık belirleme yöntemlerine göre önemli avantajlar sunduğu görülmektedir. Günümüzde, modern klinik laboratuvarlarda büyük miktarda hasta verilerine EHR ve LBYS aracılığıyla erişimin artması, indirekt yöntemlere olan ilginin daha da artmasına yol açmıştır. Ayrıca, indirekt yaklaşım için geliştirilen yöntemlerin ve modern araçların oldukça kullanıcı dostu hale gelmesi, bu yöntemlerin laboratuvar uygulamalarında yaygın kullanımını desteklemektedir.

Bu tez çalışmasında CBC parametreleri için referans aralıkları belirlemek amacıyla hasta verilerine farklı yöntemler uyguladık. CLSI kılavuzunda belirtilen nonparametrik yöntemin yanı sıra, indirekt yöntem için klasikleşmiş Bhattacharya tekniğini ve üç yeni nesil indirekt yöntem olan ReflimR, Kosmic ve RefineR yaklaşımlarını kullandık (Tablo 6, Şekil 8-38). Belirlenen referans aralıkları, yöntemler arasındaki farklılığı görmek için birbirleriyle, üretici referans aralıklarıyla, literatürde yer alan referans aralıklarla ve yine laboratuvarımızda yapılan direkt yöntemle oluşturulan referans aralıklarla karşılaştırdık. Ayrıca belirlenen referans aralıkların uygunluğunun değerlendirilmesi açısından doğrulama işlemini gerçekleştirdik (Tablo 7).

RBC, HB, HTC, MCH, MCHC, PLT, MO%, MO#, PCT testlerinde cinsiyet açısından alt gruplar arasında anlamlı fark bulunduğundan bu testlerin referans aralıkları erkek ve kadın için ayrı ayrı belirlendi. Diğer testler için cinsiyete göre ortak referans aralıklar hesaplandı. 2015 yılında Kahraman Yaman S. tarafından laboratuvarımızda gerçekleştirilen ve hâlihazırda kullanılan direkt referans aralık çalışmasında RBC, HB, HCT, MCHC, PLT,

MO%, MO#, PCT testlerinde cinsiyetler arası anlamlı fark tespit edilmiş ve ayrı referans aralıklar hesaplanmıştır (115). Bizim çalışmamızda da aynı testler ve ek olarak MCH testi için cinsiyetler arası anlamlı fark gözlendi ve bu testlerin referans aralıkları erkekler ve kadınlar için ayrı ayrı belirlendi.

Literatürdeki referans aralık çalışmaları incelendiğinde, referans bireylerin dahil edildiği popülasyon özellikleri, örnekleme yöntemi, dâhil etme ve dışlama kriterleri, örneklem büyüklüğü, veri filtreleme ve temizleme süreçleri, aykırı değer tespit yöntemleri, cinsiyet açısından alt gruplar oluşturma, referans aralık belirlemede kullanılan istatistik yöntemler ve analiz yöntemlerinde farklılıklar olduğu görülmüştür. Bu farklılıklar çalışmalar arası karşılaştırma yapmayı zorlaştırmaktadır.

Çalışmamız sonucunda elde edilen referans aralık verileri, üretici firmanın sunduğu referans aralıklar, 2015 yılında Kahraman Yaman S. tarafından laboratuvarımızda gerçekleştirilen ve hâlihazırda kullanılan direkt referans aralık çalışmasından elde edilen referans aralıkları ile literatürde yer alan referans aralıklar karşılaştırıldı (115–130). Lökosit ve ilişkili parametreler Tablo 8'de, eritrosit ve ilişkili parametreler Tablo 9'da trombosit ve ilgili parametreler ise Tablo 10'da sunuldu. Çalışmamızda her bir parametre için belirlenen referans aralıklar ve güven aralıkları, literatürdeki çalışmaların sonuçları ile birlikte, laboratuvarımızda güncel olarak kullanılan referans aralıkları ve üretici tarafından sunulan değerler ayrı ayrı ve karşılaştırmalı şekilde grafik olarak sunuldu (Şekil 39-69).

Tablo 8. Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz lökosit parametreleri referans aralıklarının (alt ve üst referans sınır) laboratuvarımızda yapılan ve kullanılan direkt referans aralık çalışması, üretici tarafından sunulan değerler ve literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılması

		WBC	LY %	MO %	NE %	EO %	BA %	LY #	MO #	NE #	EO #	BA #
Kahraman Yaman S.	(115)	3.71-10.19	18.95-47.96	E: 4.95-11.19 K: 4.17-10.66	39.62-71.94	0.4-7.6	0.2-1	1.2-3.6	E: 0.3-0.9 K: 0.3-0.8	1.91-7.08	0-0.7	0-0.1
Üretici		3.46-8.84	21.9-48.5	E: 4.8-10.2 K: 4.3-9.7	40.2-71.1	0.6-5.2	0.2-1.4	1.13-3	E: 0.23-0.68 K: 0.22-0.63	1.53-4.98	0.03-0.29	0.02-0.07
RefineR		4.21-11.24	16.25-47.97	E: 5.57-12.5 K: 4.96-11.74	38.02-72.43	0.58-7.38	0.25-1.71	1.3-3.92	E: 0.34-1.08 K: 0.3-0.87	1.93-7.21	0.04-0.56	0.01-0.09
Kosmic		4.22-10.98	18.59-48.57	E: 5.65-12.28 K: 4.99-11.74	38.72-72.87	0.64-6.6	0.22-1.36	1.3-3.87	E: 0.33-1.06 K: 0.29-0.84	1.94-7.01	0.03-0.44	0.01-0.12
Reflim		4.21-11.33	17.6-49.1	E: 5.51-12.58 K: 5.01-11.72	40.7-75.3	0.61-6.92	0.21-1.84	1.3-3.95	E: 0.34-1.07 K: 0.31-0.86	1.93-7.26	0.04-0.53	0.02-0.12
Bhattacharya		4.29-11.53	16.8-48.99	E: 5.6-12.36 K: 5.02-11.78	38.34-73.58	0.5-7.46	0.16-1.58	1.27-3.82	E: 0.34-1.09 K: 0.32-0.86	2.0-7.47	0.04-0.49	0.01-0.11
Nonparametrik		4.27-11.66	17.2-48.9	E: 5.4-12.4 K: 5.0-11.8	38.7-73.2	0.5-6.9	0.2-1.6	1.25-3.86	E: 0.34-1.05 K: 0.3-0.9	1.98-7.68	0.03-0.51	0.01-0.11
Ates K.	(116)	E: 5-12.1 K: 4.8-11.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Caycı ve ark.	(117)	E: 3.9-9.4 K: 3.7-9.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gunes Cakmak H (Nonparametrik)	(118)	3.8-10.7	13.8-46.2	4.2-12.4	42.3-77.7	0.1-6.3	0.1-4	1.0-3.7	0.3-1	2.3-7.6	0.01-0.5	0.01-1.1
Gunes Cakmak H (Bhattacharya)	(118)	3.6-10.9	14.3-50.3	3.3-11.1	41-79.7	0.1-4.4	0.07-3.8	0.7-3.7	0.2-0.9	1.8-6.9	0.01-0.2	0.01-0.8
Bildirici ve ark.	(119)	4.45-10.95	19.5-47.3	E: 5.3-11.5 K: 4.8-10.8	42.1-73.6	0.2-4.2	0.2-1.2	1.26-3.67	E: 0.35-0.96 K: 0.3-0.81	2.14-6.83	E: 0.02-0.37 K: 0.01-0.29	0.01-0.09
Cevlik ve ark.	(120)	E: 4.1-11.8 K: 4.1-11.9	E: 12.0- 45.7 K: 13.0- 45.3	E: 4.9-11.8 K: 4.4-10.9	41-78	0.2-6.2	-	1.0-3.5	-	2.2-8.1	-	-
H.Ghazizadeh ve ark. (indirekt)	(121)	3.8-10.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coskun ve ark.	(122)	3.6-9.5	-	-	-	-	-	1.3-3.7	0.31-0.89	2.1-6.2	0.04-0.48	-
Ozarda ve ark.	(123)	4.39-11.59	17-47	E: 4.5-12 K: 4-11.3	40-73	0.3-6.4	0.2-1.5	1.22-3.77	E: 0.29-0.98 K: 0.26-0.85	2.1-7.41	0.02-0.51	0.01-0.12
L.van Pelt ve ark.	(124)	3.7-9.2	-	-	-	-	-	1.1-3.3	0.3-0.8	1.6-5.8	0.05-0.53	0.02-0.1
Arbiol-Roca A. ve ark.	(125)	3.9-9.5	21-50	5.1-11.2	37.1-68.4	0.4-6.6	0.2-1.3	1.3-3.4	0.31-0.92	1.5-5.7	0.03-0.39	0.01-0.09
Park SH ve ark.	(126)	3.89-9.23	20.11-46.79	E: 4.17-11.37 K: 4.03-10.57	40.80-70.39	E: 0.73-8.86 K: 0.24-10.24	0.20-1.50	1.39-3.15	E: 0.29-0.72 K: 0.24-0.72	1.78-6.04	E: 0.04-0.58 K: 0.01-0.59	0.01-0.09
Adeli Khosrow ve ark.	(127)	3.8-10.4	-	-	-	-	-	1.0-3.2	E: 0.3-0.9 K: 0.2-0.8	2.0-6.4	0.1-0.2	0-0.1
H.Ghazizadeh ve ark. (direkt)	(121)	3.9-10.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wu ve ark.	(128)	3.64-9.39	18.6-48.7	3.2-9.5	41.5-73.8	0.4-8.1	0.1-1.1	1.06-3.2	0.16-0.62	1.8-6.3	0.02-0.52	0-0.06
Osei-Bimpong A ve ark.	(129)	4.0-11.0	-	-	-	-	-	1.0-3.5	0.1-1	2.0-8.0	0.01-0.7	0.01-0.1
Saad Bakrim ve ark.	(130)	4.1-10.7	-	-	-	-	-	1.2-3.6	E: 0.2-1.1 K: 0.2-1.4	1.9-7.1	0-0.6	0-0.7

Tablo 9. Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz eritrosit parametreleri referans aralıklarının (alt ve üst referans sınır) laboratuvarımızda yapılan ve kullanılan direkt referans aralık çalışması, üretici tarafından sunulan değerler ve literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılması

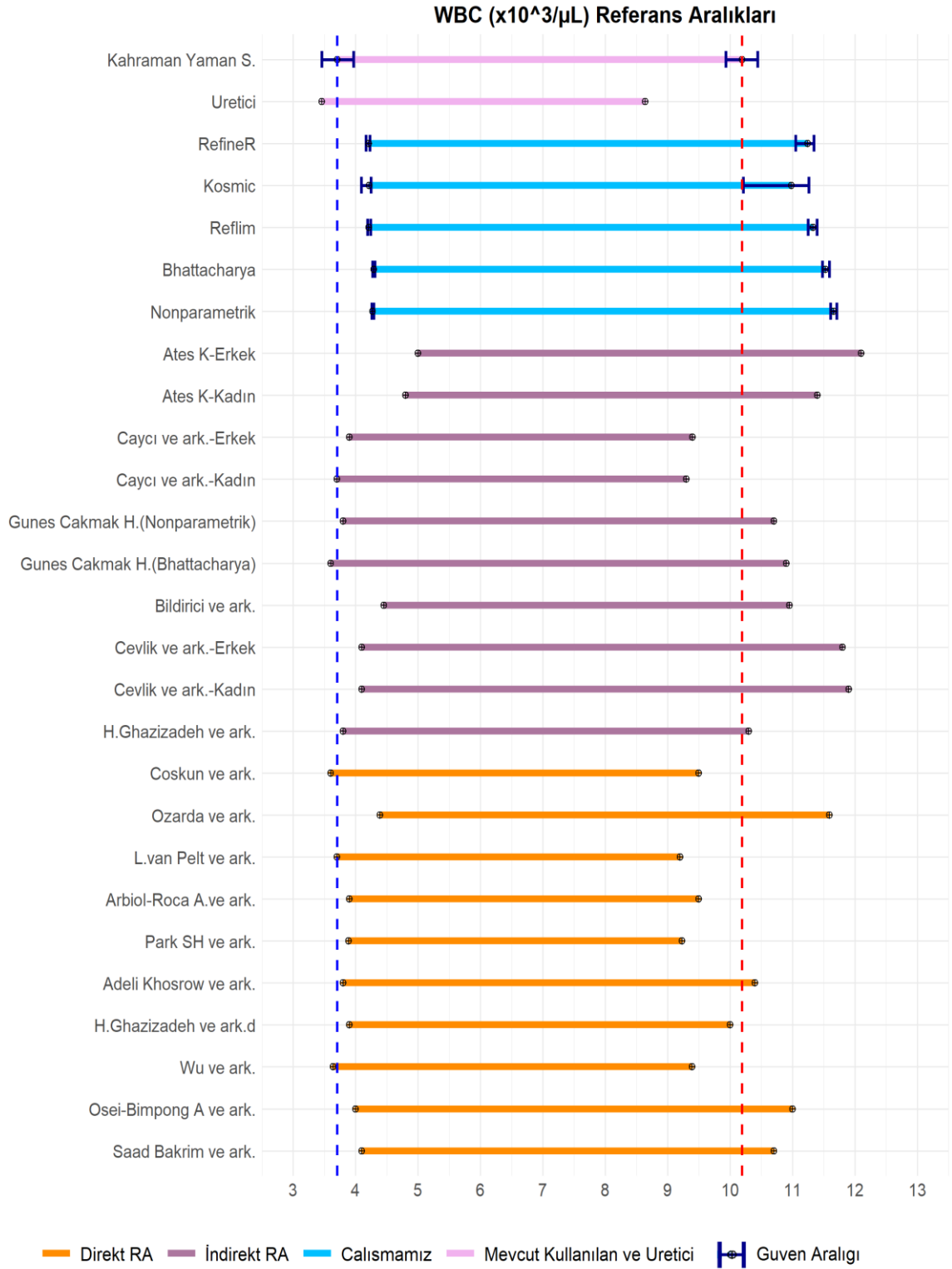
		RBC	HB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW
Kahraman Yaman S.	(115)	E: 4.23-5.61 K: 3.76-4.95	E: 12.89-16.73 K: 11.3-14.56	E: 38.38-49.25 K: 34.14-43.18	81.25-96.91	26.85-33.09	E: 32.6-34.98 K: 32.36-34.57	12.2-16.0
Üretici		E: 4.54-6 K: 3.91-5.31	E: 13.2-16.6 K: 11.1-14.7	E: 43.2-54.5 K: 36.9-49.1	86.6-102	E: 25.9-30.8 K: 25.6-30.8	E: 29.3-31.7 K: 28.2-31.1	11.2-13.7
RefineR		E: 4.39-5.84 K: 3.88-5.26	E: 13.19-17.31 K: 11.14-15.1	E: 38.96-50.9 K: 34.12-45.33	80.22-95.35	E: 26.98-32.43 K: 26.13-32.17	E: 31.68-36.1 K: 31-34.92	11.66-13.81
Kosmic		E: 4.44-5.9 K: 3.96-5.16	E: 13.3-17.27 K: 11.33-15.09	E: 40.04-50.84 K: 34.22-45.22	80.44-94.86	E: 27.07-32.42 K: 26.45-32.29	E: 31.65-36.09 K: 31.05-35.06	11.49-13.91
Reflim		E: 4.39-5.92 K: 3.87-5.23	E: 13.2-17.4 K: 11.2-15.2	E: 39-51.1 K: 34.1-45.3	79.9-95.2	E: 26.9-32.6 K: 25.9-32.3	E: 31.7-36.1 K: 30.8-35.3	11.5-14.0
Bhattacharya		E: 4.28-5.91 K: 3.87-5.29	E: 13.16-17.33 K: 11.13-15.06	E: 38.62-50.61 K: 33.7-45.27	79.69-95.08	E: 26.9-32.47 K: 25.89-32.26	E: 31.61-36.12 K: 30.93-35.15	11.62-13.98
Nonparametrik		E: 4.31-5.9 K: 3.89-5.26	E: 12.7-17.3 K: 10.7-15	E: 38.1-50.8 K: 33.6-45.1	78.9-95.1	E: 26.5-32.5 K: 25.3-32.1	E: 31.5-36 K: 30.5-35.2	11.7-14.9
Ates K.	(116)	E: 4.58-6.2 K: 4.16-5.47	E: 13.65-17.82 K: 10.64-15.21	-	-	-	-	-
Caycı ve ark.	(117)	E: 4.19-5.72 K: 3.86-5.17	E: 12.2-16.5 K: 11.1-14.7	E: 37.3-50.2 K: 34.2-44.9	80-97	E: 26.1-32.1 K: 25.4-31.5	E: 31.4-34.6 K: 31.2-34.3	E: 12.4-16.4 K: 12.4-17.0
Gunes Cakmak H (Nonparametrik)	(118)	3.8-6.0	10.2-17.1	35.2-52.4	71.1-97.2	21.8-32.2	30.2-34.3	12.4-19.9
Gunes Cakmak H (Bhattacharya)	(118)	3.7-6.6	11.4-18.5	33.5-52.8	76.8-99.5	25.6-33.8	30.5-35.1	11.9-15.2
Bildirici ve ark.	(119)	E: 4.54-6.11 K: 4.03-5.39	E: 13.3-17.5 K: 10.9-15.1	E: 40-51.8 K: 34.4-45.8	78.1-94.1	E: 26.2-31.8 K: 24.4-31.4	E: 31.4-35.5 K: 30.2-34.6	E: 11.6-14.3 K: 11.8-14.9
Cevlik ve ark.	(120)	E: 4.47-5.87 K: 3.86-5.11	E: 13.2-17.1 K: 10.5-14.7	E: 37.9-49.2 K: 30.7-42.9	78-93	E: 26.6-32.5 K: 23.8-32.4	E: 32.8-36 K: 32.8-36	E: 12.3-14.4 K: 12.2-16.4
H.Ghazizadeh ve ark. (indirekt)	(121)	E: 4.5-6.3 K: 4-5.7	E: 13.4-17.6 K: 11.6-16.1	E: 40.4-53.7 K: 36.1-48.6	78.4-96.8	E: 26.5-32.4 K: 25.9-31.7	30.6-35.2	-
Coskun ve ark.	(122)	E: 4.5-5.9 K: 4-5.1	E: 13.3-17 K: 11.7-14.5	E: 40.6-51 K: 35.9-44.8	80.7-95.6	25.8-31.8	30.6-34.8	-
Ozarda ve ark.	(123)	E: 4.43 -6.07 K: 3.96-5.31	E: 13.1-17.5 K: 11-15.2	E: 39.2-52.2 K: 33.7-46.1	77.2-95.7	E: 26.3-32.4 K: 24.5-32.1	E: 31.3-35.6 K: 30.5-35	12.2-16.3
L.van Pelt ve ark.	(124)	E: 4.4-5.7 K: 4-5.2	E: 13.4-17.0 K: 11.8-15.2	E: 41-50 K: 37-46	82.5-97.4	26.8-32.6	E: 31.7-35.2 K: 31.1-34.6	11.8-14.3
Arbiol-Roca A. ve ark.	(125)	E: 4.3-5.6 K: 3.9-5.1	E: 13.74-16.47 K: 12-14.68	E: 40-50 K: 36-45	83.6-97	27-32	31.4-31.9	11.6-14.3
Park SH ve ark.	(126)	E: 4.3-5.57 K: 3.83-4.86	E: 13.85-16.67 K: 12.13-14.87	E:39.15-51.65 K:34.79-44.27	81.30-100.12	26.04-33.56	E: 31.45-34.74 K: 30.59-33.76	11.22-15.56
Adeli Khosrow ve ark.	(127)	E: 4.3-5.7 K: 3.8-5.0	E: 13.6-16.9 K: 11.9-14.8	E: 40-50 K: 35-43	82.5-98.0	27.6- 33.3	32.5- 35.2	11.4-13.5
H.Ghazizadeh ve ark. (direkt)	(121)	E: 4.4-6.1 K: 4-5.6	E: 12.9-17.7 K: 10.7-15.4	E: 38.7-53.1 K: 31.7-48.2	76.3-97.2	E: 26.2-32 K: 22.4-31.3	30.3-35.1	-
Wu ve ark.	(128)	E: 4.28-5.81 K: 3.81-5.13	E: 13.3-17.5 K: 11.5-15.2	E: 40-51 K: 35-46	82.3-99.2	27-33.7	31.6-35.4	-
Osei-Bimpong A ve ark.	(129)	E: 3.8-5.5 K: 3.6-4.8	E: 13-17 K: 12-15	E: 40-50 K: 35-45	83-101	26-32	31-35	-
Saad Bakrim ve ark.	(130)	E: 4.63-6.07 K: 3.87-5.27	E: 13.71-17.49 K: 12-14.7	E: 41-50.98 K: 34.2-44.9	78.40 - 95.10	E: 25.5-32.19 K: 25.59-32.3	E: 32.01-35.69 K: 31.5-36.1	-

Tablo 10. Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz trombosit parametreleri referans aralıklarının (alt ve üst referans sınır) laboratuvarımızda yapılan ve kullanılan direkt referans aralık çalışması, üretici tarafından sunulan değerler ve literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılması

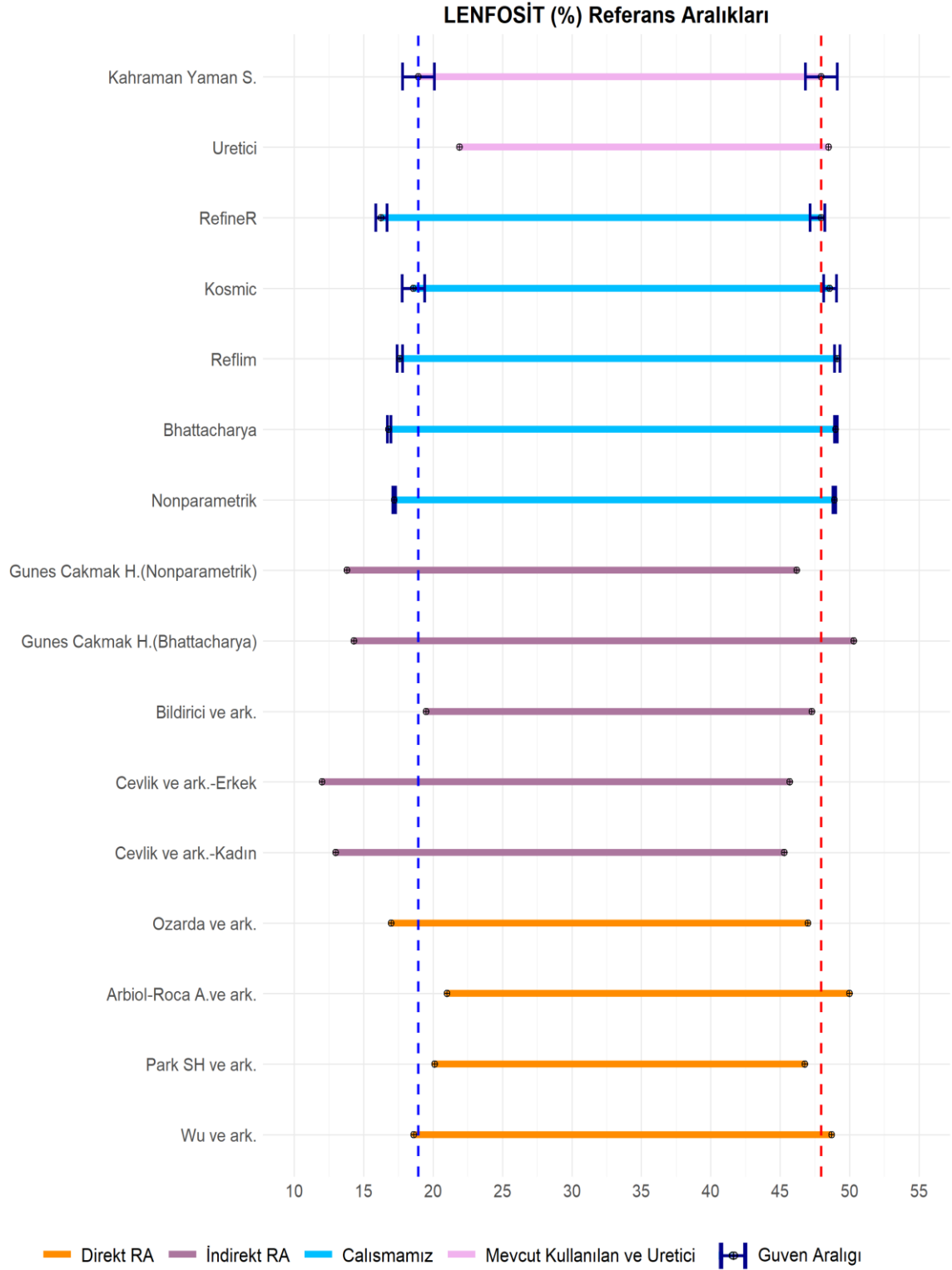
		PLT	MPV	PCT	PDW
Kahraman Yaman S.	(115)	E: 138-315 K: 141-355	6.62-10.64	E: 0.13-0.26 K: 0.13-0.3	-
Üretici		E: 173-360 K: 171-388	9.2-12.1	E: 0.19-0.36 K: 0.19-0.41	9.5-15.2
RefineR		E: 152-359 K: 175-416	8.73-11.87	E: 0.16-0.35 K: 0.18-0.37	8.84-15.41
Kosmic		E: 155-367 K: 171-403	8.59-11.89	E: 0.16-0.35 K: 0.18-0.39	8.68-15.5
Reflin		E: 157-372 K: 177-413	8.5-11.8	E: 0.17-0.36 K: 0.18-0.37	8.8-15.8
Bhattacharya		E: 156-375 K: 171-415	8.7-12.1	E: 0.16-0.35 K: 0.18-0.39	8.91-16.6
Nonparametrik		E: 156-370 K: 172-403	8.8-12.1	E: 0.16-0.37 K: 0.18-0.4	9.1-16.4
Ates K.	(116)	E: 148-339 K: 172-374	-	-	-
Caycı ve ark.	(117)	E: 150-372 K: 170-407	-	-	-
Gunes Cakmak H (Nonparametrik)	(118)	150-427	6.9-10.7	0.13-0.34	-
Gunes Cakmak H (Bhattacharya)	(118)	140-400	6.6-10.5	0.11-0.35	-
Bildirici ve ark.	(119)	E: 162-367 K: 178-411	8.9-12.4	E: 0.18-0.37 K: 0.2-0.43	9.6-16.4
Cevlik ve ark.	(120)	E: 150-356 K: 154-387	7.1-10.6	0.1-0.3	-
H.Ghazizadeh ve ark. (indirekt)	(121)	E: 122-294 K: 137-352	-	-	-
Coskun ve ark.	(122)	153-358	8.9-12.6	0.18-0.38	9.4-16.5
Ozarda ve ark.	(123)	E: 146-363 K: 155-387	9.0-12.7	-	-
L.van Pelt ve ark.	(124)	164-369	9.3-12.7	0.2-0.4	10-17.4
Arbiol-Roca A.ve ark.	(125)	E: 149-303 K: 153-368	9.7-13.2	-	-
Park SH ve ark.	(126)	E:157-403 K:168-390	9.10-12.60	E:0.12-0.35 K:0.19-0.38	9.30-16.70
Adeli Khosrow ve ark.	(127)	E: 152-324 K: 153-361	7.0-10.3	-	-
H.Ghazizadeh ve ark. (direkt)	(121)	E: 125-308 K: 140-339	-	-	-
Wu ve ark.	(128)	127-350	-	-	-
Osei-Bimpong A ve ark.	(129)	120-410	-	-	-
Saad Bakrim ve ark.	(130)	E: 143-332 K: 150-371	9-13.8	-	-

Tablo 8 ve Şekil 39’da yer alan çalışmamızda belirlenen WBC testinin referans aralıkları ve güven aralıkları incelendiğinde, Kosmic, RefineR ve ReflimR yöntemlerinin referans sınırlarının birbirine benzer olduğu ve Bhattacharya ve nonparametrik yöntemlerine kıyasla daha düşük değerler verdiği gözlemlendi. Çalışmamız sonuçları, laboratuvarımızda Kahraman Yaman S. tarafından gerçekleştirilen ve halen kullanılan direkt referans aralık çalışmasıyla kıyaslandığında sadece Kosmic yöntemi ile belirlenen üst sınırın uyumlu olduğu, Kosmic yöntemi ile elde edilen alt sınırın ve diğer dört yöntemle elde edilen referans aralıkların daha yüksek olduğu görüldü (115). Belirlediğimiz referans aralıklar, üretici değerlerinden yüksekti. Literatürü incelediğimizde (Tablo 8 ve Şekil 39), Ateş K.’nin çalışmasında erkekler için belirlenen referans aralıkların, çalışmamızdan yüksek olduğu, aynı çalışmada kadınlar için belirlenen alt referans değerinin çalışmamızdan yüksek, üst referans değerinin ise benzer olduğu görüldü (116). Ülkemizde Özarda ve arkadaşlarının yaptığı ulusal çok merkezli referans aralık çalışmasının verdiği alt sınırlar çalışmamızdan daha yüksek, üst sınırlarda ise Bhattacharya ve nonparametrik yöntemlerle uyumlu, ancak Kosmic, RefineR ve ReflimR yöntemlerine kıyasla daha yüksekti (123). Çaycı ve arkadaşlarının (117), Coşkun ve arkadaşlarının (122), L. van Pelt ve arkadaşlarının (124), Arbiol-Roca A. ve arkadaşlarının (125), Park SH ve arkadaşlarının (126), Wu ve arkadaşlarının (128) ve H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (direkt) (121) çalışmalarının sonuçları, bulgularımıza kıyasla daha düşük referans aralıkları göstermektedir. Güneş Çakmak H.’ın (118), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (indirekt) (121), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) ve Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) gerçekleştirdiği çalışmalarda, alt referans sınırlarının çalışmamıza kıyasla düşük olduğu, üst sınırlarda ise Kosmic yöntemi ile belirlenen değerle uyumlu, ancak diğer yöntemlerle belirlenen üst referans sınırlardan düşük olduğu gözlemlendi. Çevlik ve arkadaşlarının çalışmasında verilen değerler, alt sınırlarda Kosmic yöntemiyle elde ettiğimiz değerlerle uyumlu, diğer dört yöntemle belirlenen değerlerden düşük, üst referans sınırlarda ise çalışmamızda belirlenen değerlerden daha yüksekti (120). Bildirici ve arkadaşlarının yaptığı indirekt referans aralık çalışmasındaki değerler, çalışmamızda belirlenen alt referans değerlerinden yüksek, üst referans sınırda ise Kosmic yöntemiyle belirlenen değerle uyumlu ancak diğer dört yöntemle belirlenen üst sınırlardan düşüktü (119). Saad Bakrim ve arkadaşlarının çalışmada verilen değerler, Kosmic yöntemiyle belirlediğimiz referans sınırlarla uyumlu, ancak diğer dört yöntemle belirlenen değerlerden düşüktü (130).

Tablo 8 ve Şekil 40'da yer alan çalışmamızdan elde edilen LY% testinin referans aralıkları incelendiğinde, bütün yöntemlerde yakın değerler sağlandığı, en düşük alt ve üst referans değeri RefineR yöntemin verdiği görüldü. Çalışmamızdaki değerler, Kahraman Yaman S. çalışması ile karşılaştırıldığında Kosmic yöntemi ile belirlediğimiz alt sınırın uyumlu olduğu diğer dört yöntemin alt sınırların ise daha düşük referans değerler hesapladığı, üst referans sınırlarında ise tüm yöntemlerin Kahraman Yaman S.'in çalışmasıyla uyumlu olduğu gözlemlendi (115). Çalışmamız sonuçlarının, üretici tarafından sunulan alt referans sınırdan düşük olduğu, üst sınırlarda ise yakın olduğu görüldü. Güneş Çakmak H. ile Çevlik ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmaların alt referans sınırları çalışmamızdan düşüktü (118,120). Üst referans sınırlarda ise Güneş Çakmak H.'in nonparametrik yöntemle belirlediği değer ile Çevlik ve arkadaşlarının belirlediği üst sınırların çalışmamıza kıyasla düşük olduğu; ancak Güneş Çakmak H.'in Bhattacharya yöntemi ile elde ettiği üst sınırın çalışmamıza kıyasla yüksek olduğu gözlemlendi (118,120). Bildirici ve arkadaşlarının belirledikleri değerlerin, alt referans sınırdan çalışmamızda belirlenen değerlerden yüksek olduğu, üst referans sınırdan ise RefineR yöntemiyle elde edilen değerle uyumlu olduğu ancak diğer dört yöntemle belirlenen üst sınırlardan daha düşük olduğu görüldü (119). Arbiol-Roca A. ve arkadaşlarının çalışmasının, bulgularımıza kıyasla daha yüksek alt ve üst referans sınırlara sahip olduğu; Park SH ve arkadaşlarının ise çalışmamızdaki alt sınırlara göre daha yüksek, üst sınırlarına göre ise daha düşük referans değerlere sahip olduğu görüldü (125,126). Özarda ve arkadaşlarının çalışmasında verilen alt sınırlar çalışmamız alt referans sınırlarıyla yakın değerlere sahip olduğu, üst sınırlarda ise çalışmamızdaki değerlerden düşük olduğu gözlemlendi (123).



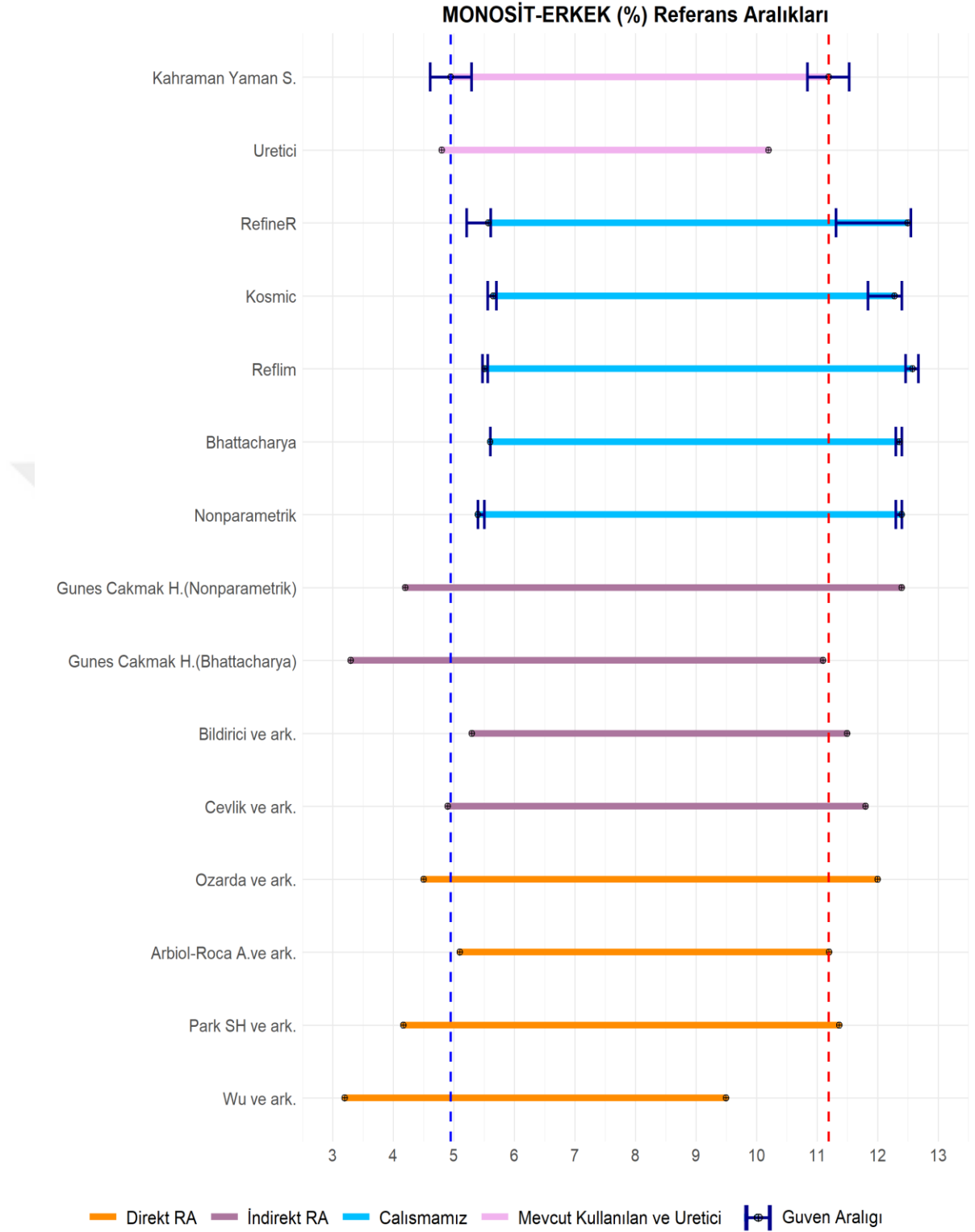
Şekil 39. Çalışmamız sonucu belirlenen WBC referans aralıkları ve diğer referans değerler



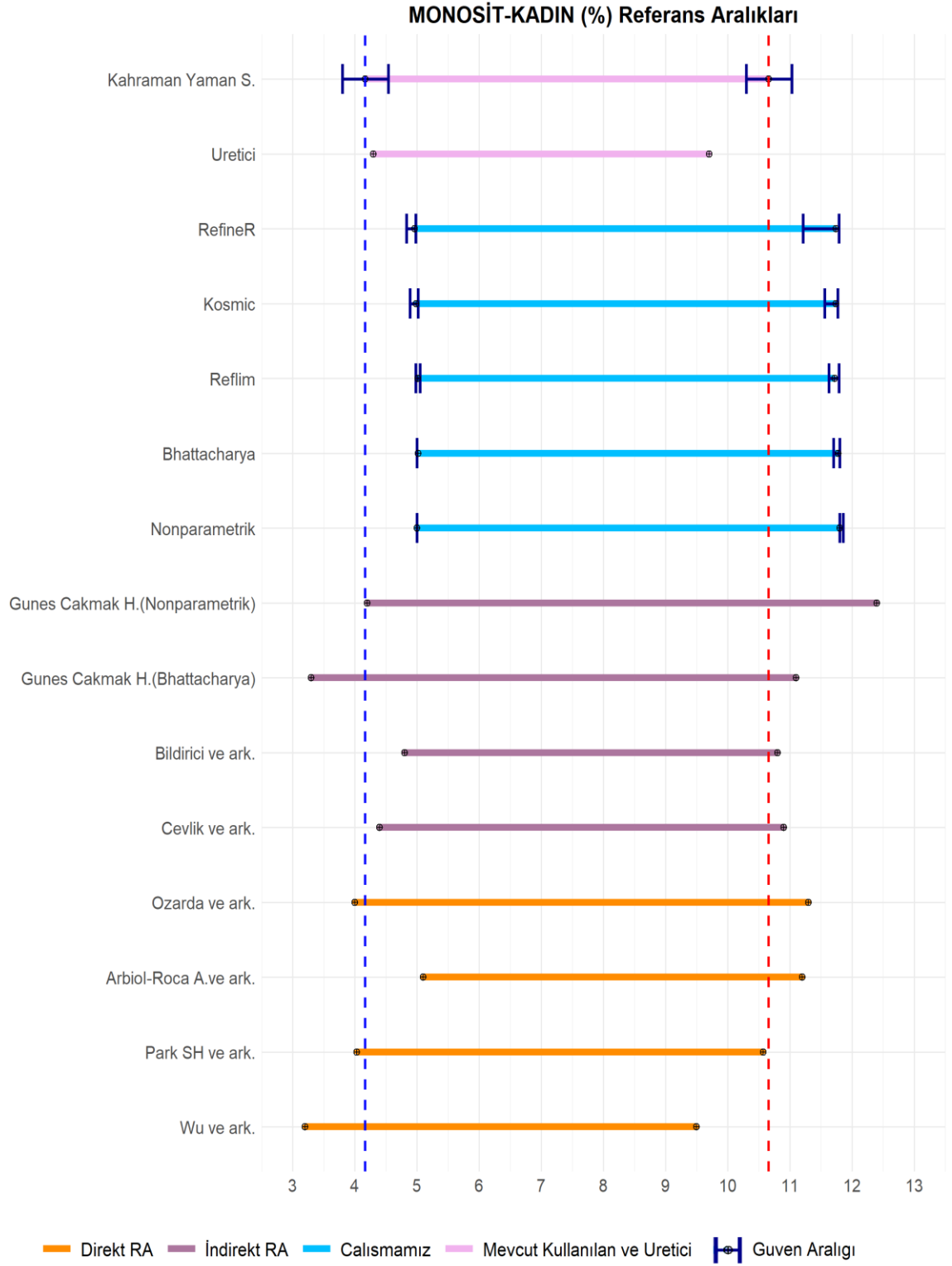
Şekil 40. Çalışmamız sonucu belirlenen LY% referans aralıkları ve diğer referans değerler

Tablo 8 ve Şekil 41 incelendiğinde, erkekler için belirlenen MO% referans aralıkları bütün yöntemlerde belirlenen referans sınırlar yakındı. Çalışmamızın sonuçlarına göre, RefineR yöntemiyle elde edilen referans aralıkların Kahraman Yaman S.'nin çalışmasıyla uyumlu olduğu, diğer dört yöntemle belirlenen değerlerin ise Kahraman Yaman S.'nin çalışmasından daha yüksek olduğu görüldü (115). Belirlediğimiz referans sınırların, üreticinin sunduğu değerlerin yanı sıra Güneş Çakmak H.'ın (Bhattacharya) (118), Arbiol-Roca A. ve arkadaşlarının (125) ile Wu ve arkadaşlarının çalışmasında (128) rapor edilen referans sınırlarından daha yüksek olduğu görüldü. Güneş Çakmak H.'ın (nonparametrik) (118) çalışmasındaki alt referans sınırların, çalışmamızdaki değerlere göre düşük olduğu, üst sınırlarlarda ise uyum gösterdiği görüldü. Bildirici ve arkadaşlarının çalışması RefineR yöntemi ile belirlediğimiz sınırlarla uyumlu, diğer yöntemlerle belirlediklerimiz değerlerden düşüktü (119). Park SH ve arkadaşları ile Çevlik ve arkadaşlarının çalışmalarında veilen alt sınırlar belirlediğimiz değerlere göre daha düşük olduğu, üst sınırların ise RefineR yöntemi ile uyumlu, diğer yöntemlerle belirlenen değerlerden düşük olduğu görüldü (120,126).

Tablo 8 ve Şekil 42 incelendiğinde, kadınlar için belirlediğimiz MO% referans aralıkları tüm yöntemlerde benzer sonuçlar göstermektedir. Çalışmamızdan elde edilen referans sınırların, Kahraman Yaman S.'nin çalışması (115), üreticinin sunduğu değerler, Güneş Çakmak H.'ın (Bhattacharya) (118), Bildirici ve arkadaşlarının (119), Çevlik ve arkadaşlarının (120) , Park SH ve arkadaşlarının (126), Wu ve arkadaşlarının çalışmalarında (128) verilen değerlerden daha yüksek olduğu gözlemlendi. Güneş Çakmak H.'ın nonparametrik yöntemle belirlediği alt sınır, çalışmamızda elde edilen değerlerden daha düşük, üst sınır ise çalışmamızda belirlenen değerlerden daha yüksekti (118). Özarda ve arkadaşlarının çalışmasında belirlenen alt referans sınır, çalışmamızda elde edilen değerlerden düşük, üst sınır RefineR yöntemi ile belirlediğimiz sınırla uyumlu, diğer yöntemlerle belirlediğimiz değerlerden düşüktü (123). Arbiol-Roca A. ve arkadaşlarının belirlediği alt referans sınır çalışmamızda elde edilen değerlerden yüksek, üst referans sınır ise çalışmamızdaki değerlerden düşüktü (125).



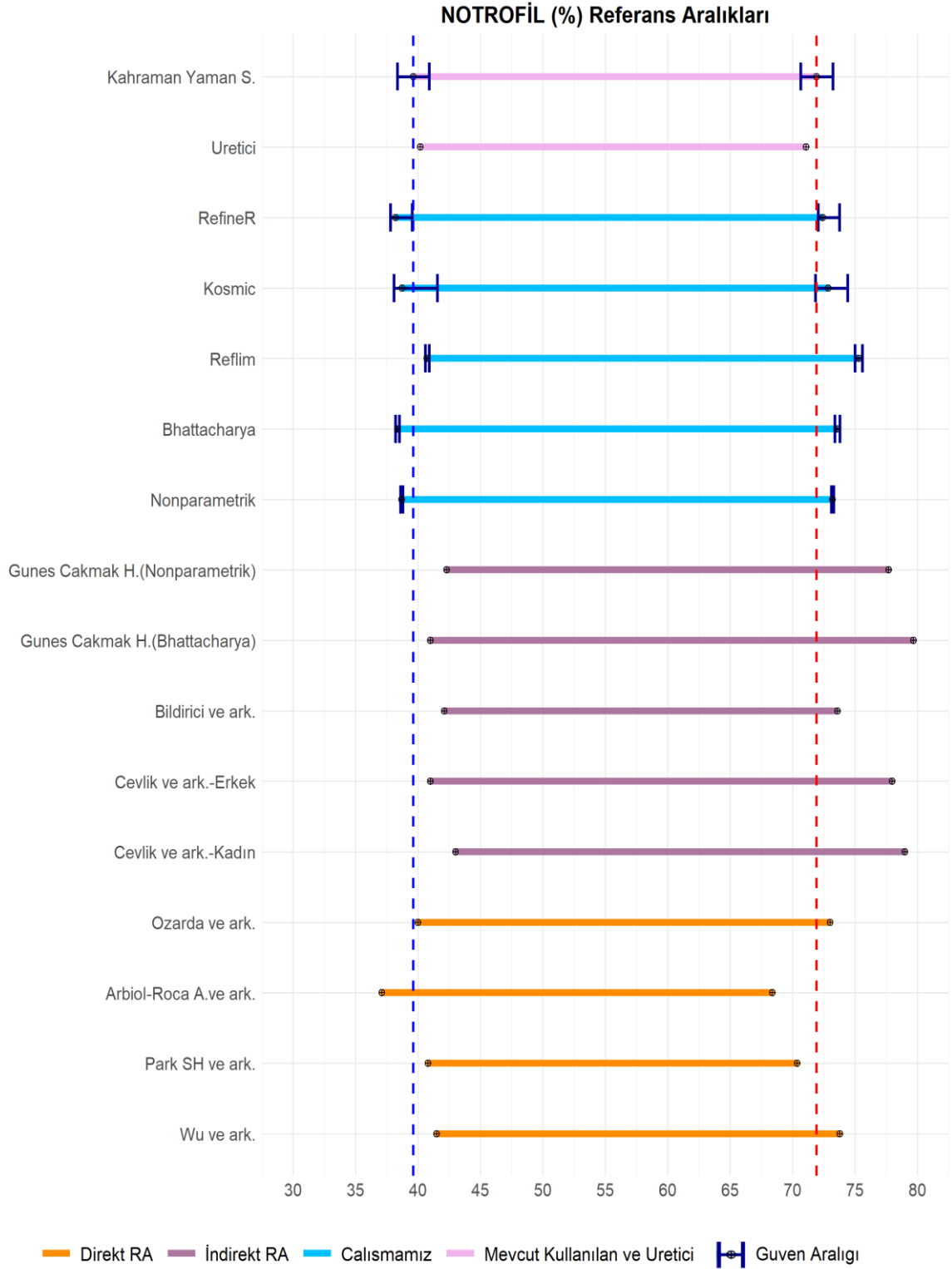
Şekil 41. Çalışmamız sonucu belirlenen MO%- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler



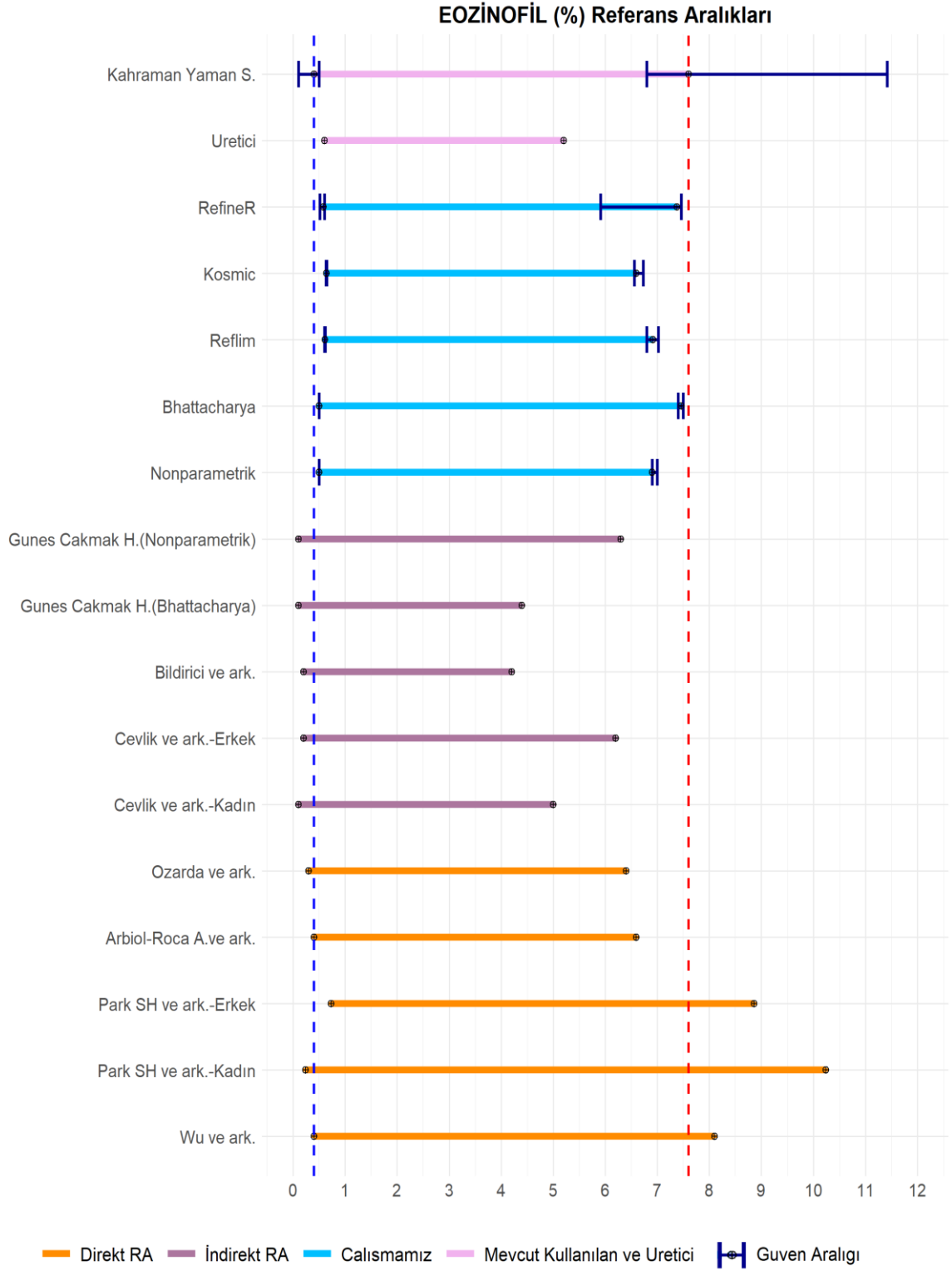
Şekil 42. Çalışmamız sonucu belirlenen MO%- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler

Tablo 8 ve Şekil 43'te verilen NE% referans aralıklarına bakıldığında kullanılan yöntemler arasında referans sınırların birbirlerinden farklı olduğu görülmektedir. Çalışmamız değerlerinin (ReflimR ve Bhattacharya yöntemleriyle elde edilen üst referans sınırlar hariç), Kahraman Yaman S.'nin çalışması ile yakın olduğu görüldü (115). Güneş Çakmak H.'ın çalışmasında belirlediği referans sınırlar ile Çevlik ve arkadaşlarının kadınlar için belirlediği referans sınırların, çalışmamız değerlerinden yüksek olduğu gözlemlendi (118,120). Çevlik ve arkadaşlarının erkekler için belirlediği alt referans sınır, Kosmic yöntemi ile belirlediğimiz değerle uyumlu, diğer dört yöntemle elde edilenden yüksek, üst referans sınırdan ise çalışmamız değerlerinden yüksekti (120). Çalışmamızda belirlenen alt referans sınırların Bildirici ve arkadaşlarının belirlediği sınırlardan düşük olduğu, reflimR yöntemiyle belirlenen üst referans sınır hariç diğer üst referans değerlerle yakın olduğu gözlemlendi (119). Park SH ve arkadaşları ile Özarda ve arkadaşlarının çalışmalarının alt sınırları ReflimR ve Kosmic yöntemleriyle belirlenenlerle uyumlu ancak diğer yöntemlerle belirlenenlerden yüksekti (123,126). Park SH ve arkadaşlarının belirlediği üst sınırlar çalışmamızdan düşük, Özarda ve arkadaşlarının belirlediği üst sınırlar çalışmamıza benzerdi (126). Çalışmamızdaki değerlerin, Arbiol-Roca A. ve arkadaşlarının belirlediği referans sınırlardan yüksek olduğu görüldü (125).

Çalışmamızda belirlenen EO% referans aralıkları incelendiğinde, bütün yöntemlerde birbirlerine yakın değerler olduğu gözlemlendi. Çalışmamız sonuçları, Kahraman Yaman S.'nin çalışması verilen alt referans sınırla uyumlu, üst referans sınırlarda ise düşüktü (115). Tablo 8 ve Şekil 43'te verilen çalışmaları incelediğimizde Park SH ve arkadaşlarının erkekler için belirlediği alt referans sınır hariç diğer çalışmalardan yüksek alt referans sınırlar elde ettiğimiz görüldü (126). Üst referans sınırlarda ise Park SH ve arkadaşları (126) ile Wu ve arkadaşlarının (128) belirledikleri değerlerin çalışmamızdan yüksek olduğu, Güneş Çakmak H. (Bhattacharya) (118), Bildirici ve arkadaşları (119), Çevlik ve arkadaşlarının (kadınlar için) (120) belirledikleri değerlerin çalışmamızdan düşük olduğu görülmektedir. Güneş Çakmak H. (nonparametrik) (118), Çevlik ve arkadaşlarının (erkekler için) (120) ve Özarda ve arkadaşlarının (123) çalışmalarının üst sınırı ise RefineR yöntemi ile belirlediğimiz sınırlar dışında düşük değerler sunmaktadır.



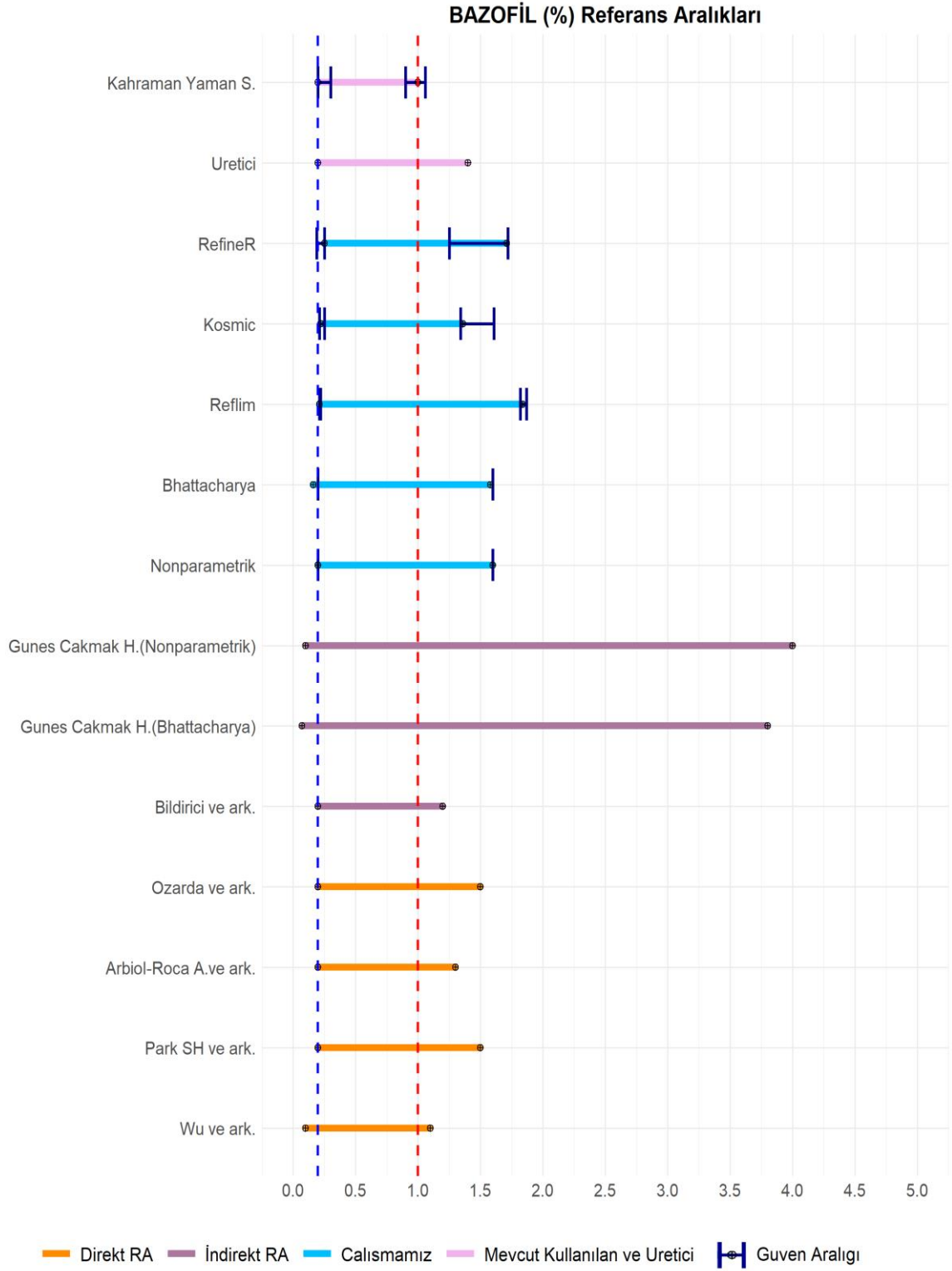
Şekil 43. Çalışmamız sonucu belirlenen NE% referans aralıkları ve diğer referans değerler



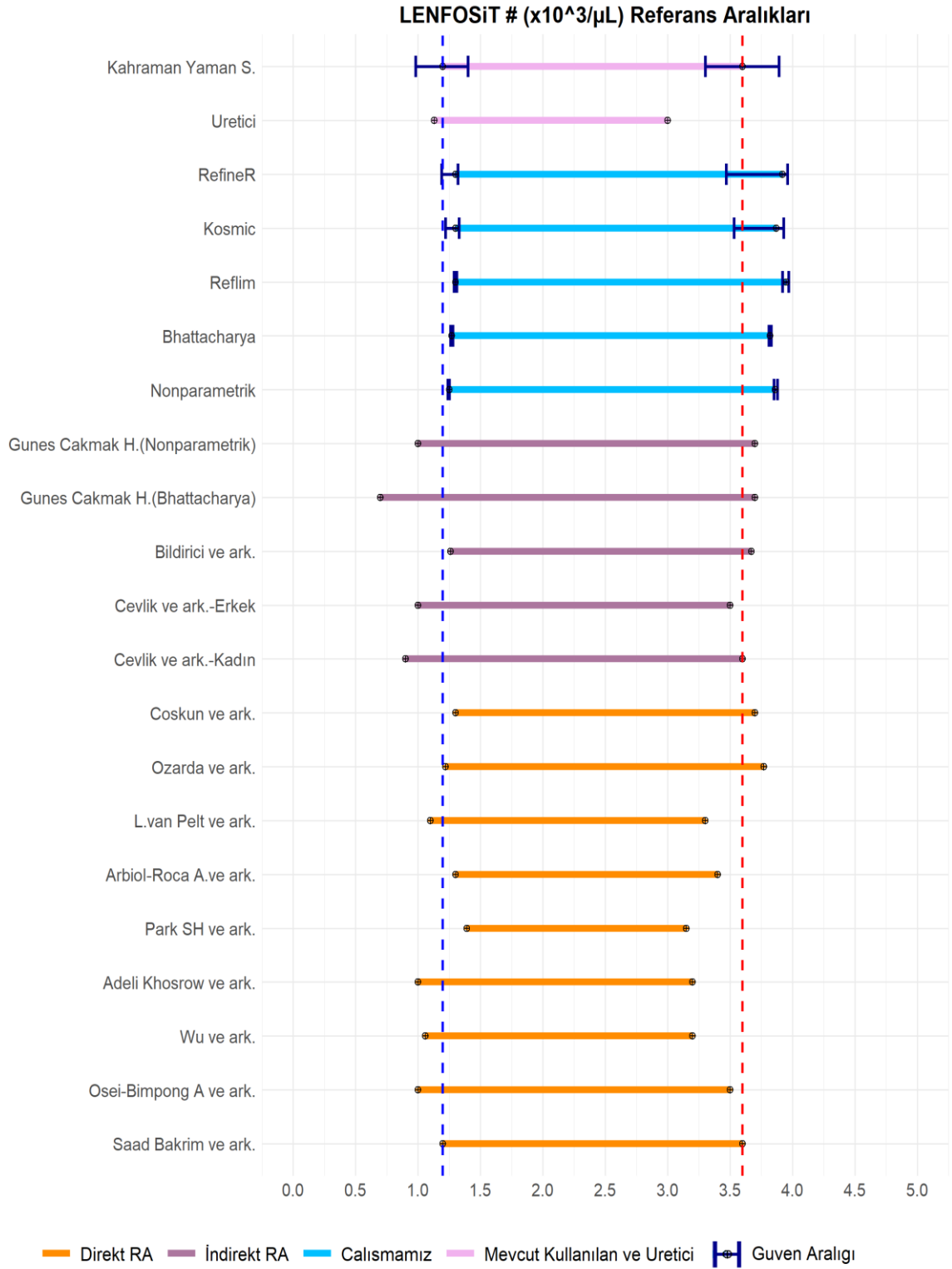
Şekil 44. Çalışmamız sonucu belirlenen EO% referans aralıkları ve diğer referans değerler

Tablo 8 ve Şekil 45'te verilen BA% referans aralıkları değerlendirildiğinde, çalışmamız değerleri, Kahraman Yaman S'in çalışmasında verilen alt referans sınırlarıyla uyumlu iken üst referans sınırlarda daha yüksekti (115). Çalışmamızda üretici tarafından verilen alt referans sınırlar ile uyumlu olmasına rağmen üst sınırlarda Kosmic ve RefineR yöntemleriyle elde edilen sonuçlarla uyumlu olduğu, diğer yöntemlerde farklılıklar olduğu gözlemlendi. Belirlenen referans sınırların, Güneş Çakmak H.'in çalışmasında (118) bildirilen alt sınırdan daha yüksek, üst sınırdan ise daha düşük olduğu saptandı. Bildirici ve arkadaşlarının (119), Özarda ve arkadaşlarının (123) , Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125), Park SH ve arkadaşlarının (126) yaptığı çalışmalarının alt sınırları çalışmamız değerleriyle uyumlu olduğu, üst sınırlarda farklılıkların olduğu görüldü. Çalışmamızın, Wu ve arkadaşlarının çalışmasında verilen değerlere kıyasla daha yüksekti (128).

Tablo 8 ve Şekil 46'da verilen LY# referans aralıkları incelendiğinde çalışmamızda belirlenen referans aralıkların birbirine yakın değerlere sahip olduğu görüldü. ReflimR yöntemi ile belirlediğimiz üst sınırın, Kahraman Yaman S.'in çalışmasındaki değerden yüksek olduğu, diğer yöntemlerle belirlenen referans sınırların ise Kahraman Yaman S'in çalışmasıyla benzer olduğu görüldü (115). Bulgularımız, üreticinin sunduğu değerlerden yüksekti. Güneş Çakmak H. (118), Çevlik ve arkadaşları (120) ile Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) çalışmalarında belirlenen alt referans sınırların, çalışmamız referans sınırlarından düşük olduğu, üst sınırlarda ise çalışmamızdaki RefineR ve Kosmic yönteminde benzer, diğer yöntemlerde düşüklük gösterdi. Bildirici ve arkadaşları (119), Coşkun ve arkadaşları (122), Özarda ve arkadaşları (123) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmaları bulgularımızla uyumluydu. L.van Pelt ve arkadaşları (124), Adeli Khosrow ve arkadaşları (127) ile Wu ve arkadaşlarının (128) çalışmalarında verilen referans sınırları, çalışmamız değerlerinden düşüktü. Belirlediğimiz alt referans sınırların Park SH ve arkadaşları ile Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının çalışmaları ile benzerlik gösterdiği, üst sınırlarda ise daha yüksek olduğu saptandı (125,126).



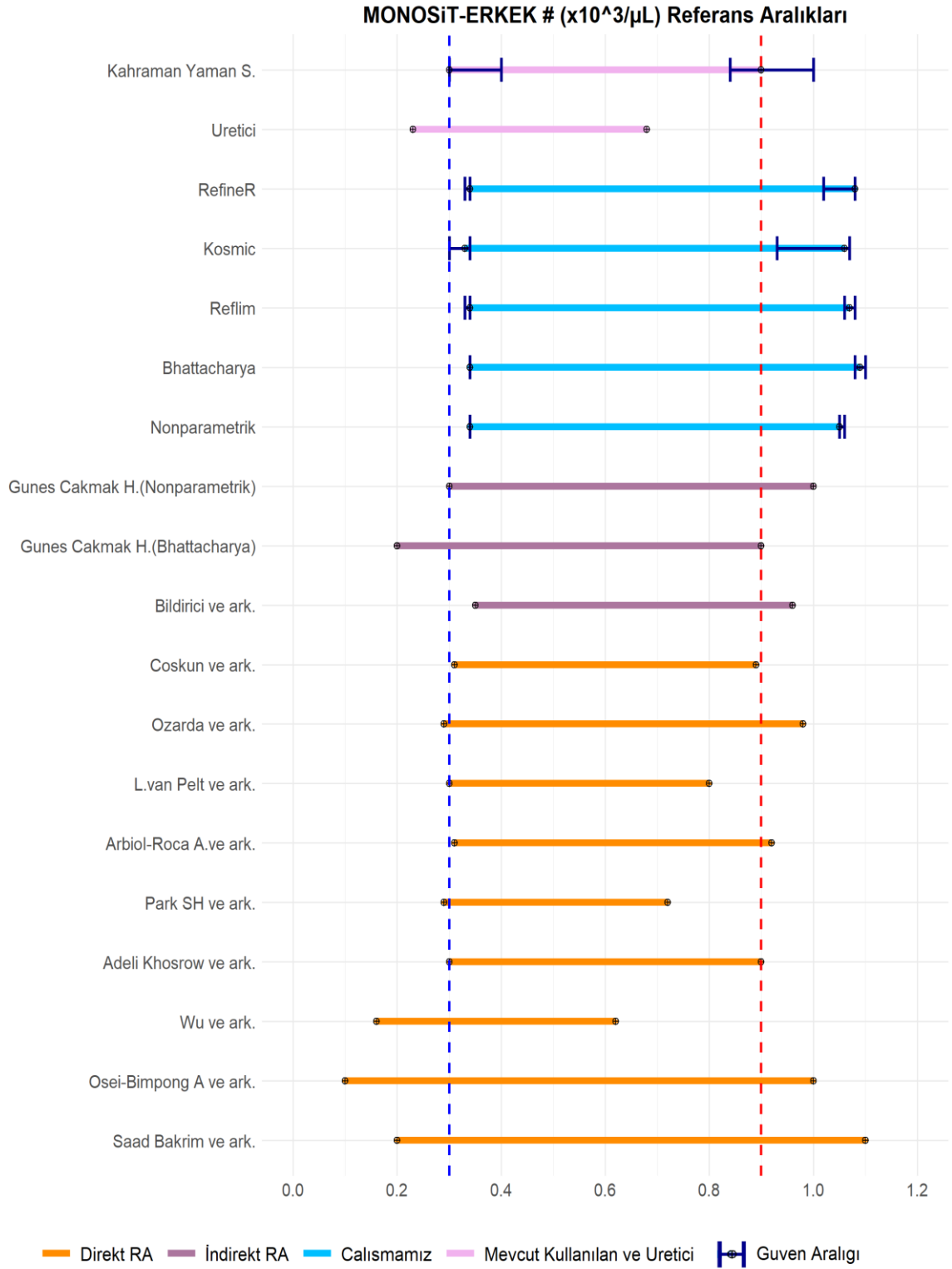
Şekil 45. Çalışmamız sonucu belirlenen BA% referans aralıkları ve diğer referans değerler



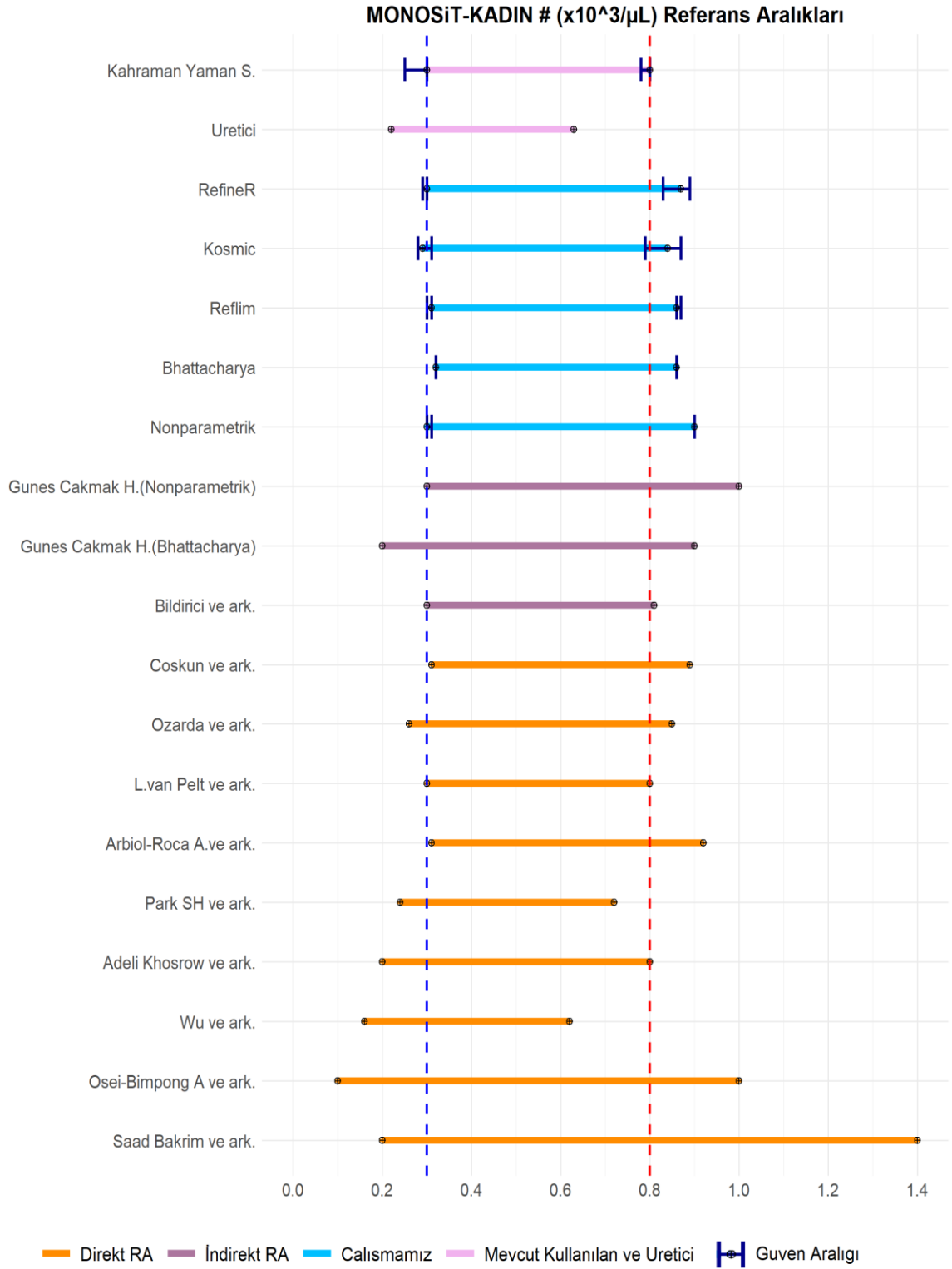
Şekil 46. Çalışmamız sonucu belirlenen LY# referans aralıkları ve diğer referans değerler

Tablo 8 ve Şekil 47 incelendiğinde, erkekler için belirlediğimiz MO# referans aralıklarının, Kahraman Yaman S.'in belirlediği alt referans sınırlarla uyumlu, ancak üst referans sınırdan (Kosmic yöntemi ile belirlenen değer hariç) yüksekti (115). Ayrıca çalışmamız sonuçlarının üreticinin sunduğu değerlerden yüksekti. Belirlenen alt referans sınırlarının, Güneş Çakmak H.'ın Bhattacharya yöntemi ile belirlediği (118), Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130), Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) ile Wu ve arkadaşlarının (128) çalışmalarında verilen alt referans sınırlardan yüksek olduğu gözlemlendi. Belirlenen üst referans sınırlarının ise Saad Bakrim ve arkadaşlarının çalışmasında verilen değerden düşük olduğu, diğer birçok çalışmadan ise çoğunlukla yüksek olduğu görüldü (130). Ancak, çalışmamız sonucu belirlenen üst referans sınırların, Güneş Çakmak H.'ın nonparametrik yöntemle belirlediği (118), Bildirici ve arkadaşlarının (119), Özarda ve arkadaşlarının (123) ile Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) çalışmalarında rapor edilen üst sınır değerlerine yakınlık gösterdiği gözlemlendi.

Tablo 8 ve Şekil 48 incelendiğinde, kadınlar için belirlediğimiz MO# referans alt sınırların Bhattacharya yöntemi ile belirlenen değer hariç (daha yüksek), Kahraman Yaman S.'in belirlediği alt referans sınırlarla uyumluydu (115). Çalışmamız üst referans sınırlarında ise Kosmic yöntemi ile belirlenen değer Kahraman Yaman S.'in çalışmasıyla uyumlu, diğer yöntemlerle belirlenen değerler ise yüksekti (115). Ayrıca çalışmamız sonuçlarının üreticinin sunduğu değerlerden yüksekti. Yine belirlediğimiz alt referans sınırların, Güneş Çakmak H.'ın nonparametrik yöntemle (118) belirlediği, Bildirici ve arkadaşlarının (119), Coşkun ve arkadaşlarının (122), Özarda ve arkadaşlarının (123), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124) ile Arbiol-Roca A. ve arkadaşlarının (125) çalışmalarında verilen alt referans sınırlarla benzerdi. Üst referans sınırlarında ise Kosmic yöntemiyle belirlediğimiz değer, Bildirici ve arkadaşlarının (119), L.van Pelt ve arkadaşlarının (119), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127), Özarda ve arkadaşlarının (123) çalışmalarında verilen değerlerle uyumlu olduğu görüldü.

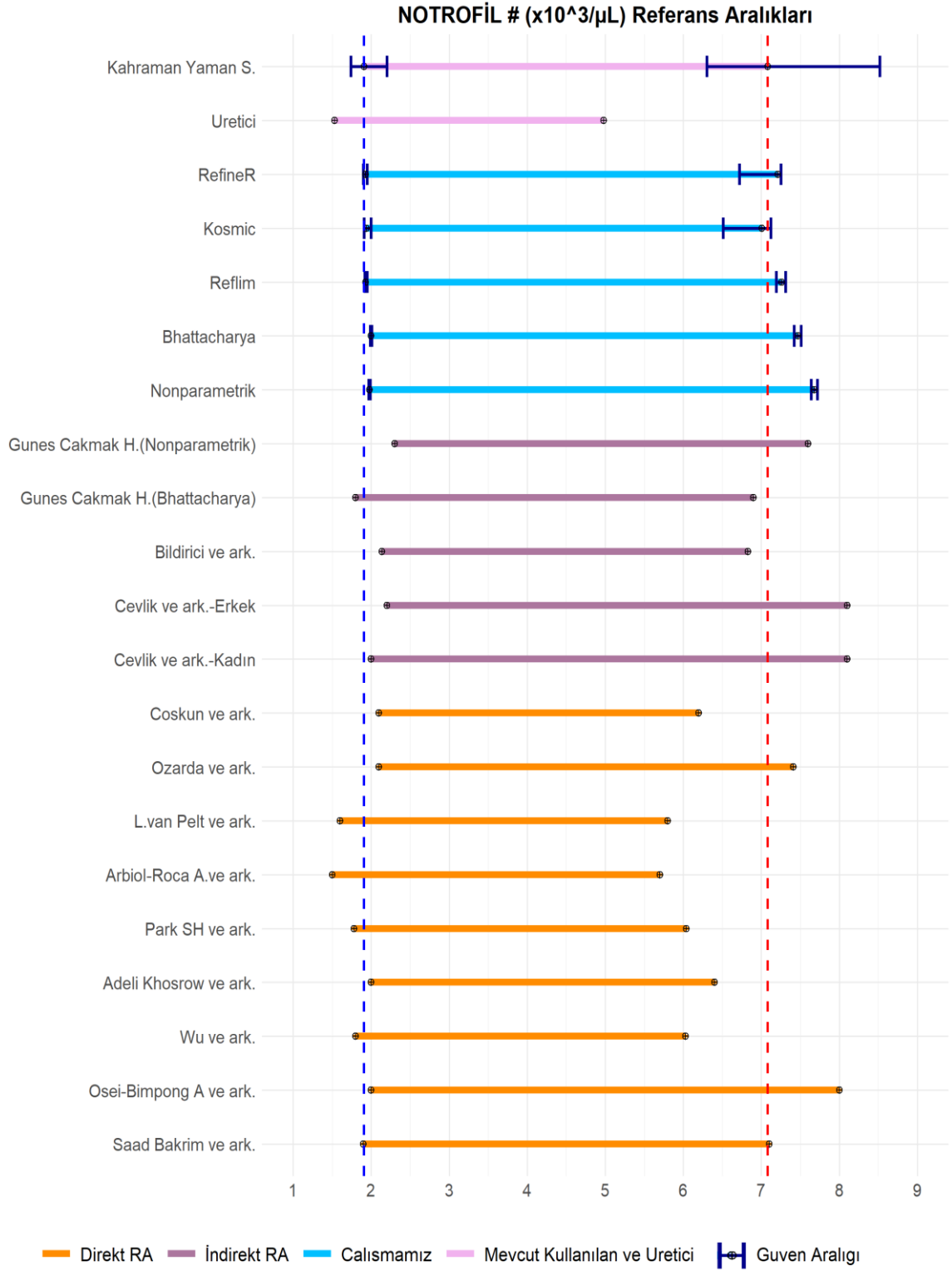


Şekil 47. Çalışmamız sonucu belirlenen MO#- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 48. Çalışmamız sonucu belirlenen MO#- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler

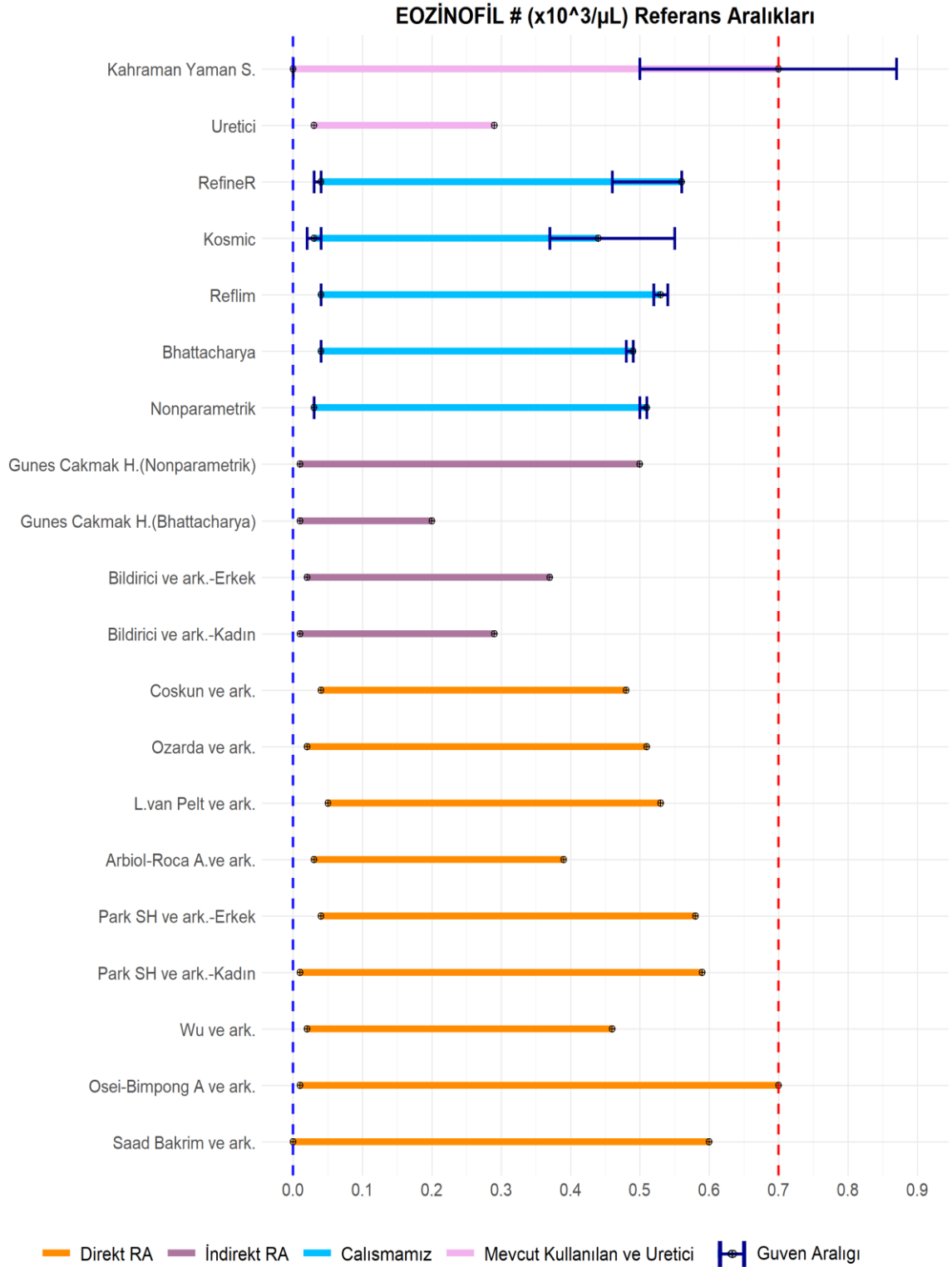
Tablo 8 ve Şekil 49 incelendiğinde, çalışmamızda belirlenen NE# referans sınırlarının, tüm yöntemlerde alt sınır değerlerinde birbirine yakın olduğu, üst referans sınırda ise bütün yöntemlerde Kosmic yönteminin en düşük, Bhattacharya ve nonparametrik yöntemlerin ise daha yüksek olduğu görüldü. Sonuçlarımızın Kahraman Yaman S.'in belirlediği referans sınırlarla uyumlu olduğu, üreticinin sunduğu değerlerden yüksek olduğu görüldü (115). Ayrıca Güneş Çakmak H'n (nonparametrik) (118), Çevlik ve arkadaşlarının (erkek) (120) ve Bildirici ve arkadaşlarının (119) çalışmalarında verilen alt referans sınırlar çalışmamız değerlerinden yüksekti. Çevlik ve arkadaşlarının (kadın) (120), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127), Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen alt referans sınırlar, çalışmamızda elde edilen değerlerle uyumluydu. Güneş Çakmak H'n (Bhattacharya) (118), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124) , Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125), Park SH ve arkadaşlarının (126) ile Wu ve arkadaşlarının (128) çalışmalarında verilen alt referans sınırların, belirlediğimiz değerlerden düşük olduğu görüldü. Üst referans sınırlarında ise çalışmamızda belirlenen değerler Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) belirlediği üst referans sınırla uyumlu, Çevlik ve arkadaşları (120) ile Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) çalışmalarına kıyasla düşük olduğu görüldü. Güneş Çakmak H.'in (Bhattacharya) (118) ve Bildirici ve arkadaşlarının (119) çalışmalarında verilen üst referans sınırlar, Kosmic ve RefineR yöntemleriyle belirlediğimiz değerlerle uyumlu olduğu görüldü. Coşkun ve arkadaşlarının (122), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125), Park SH ve arkadaşlarının (126) , Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) ile Wu ve arkadaşlarının (128) çalışmalarında bildirilen üst referans sınırlar çalışmamız değerlerinden yüksekti.



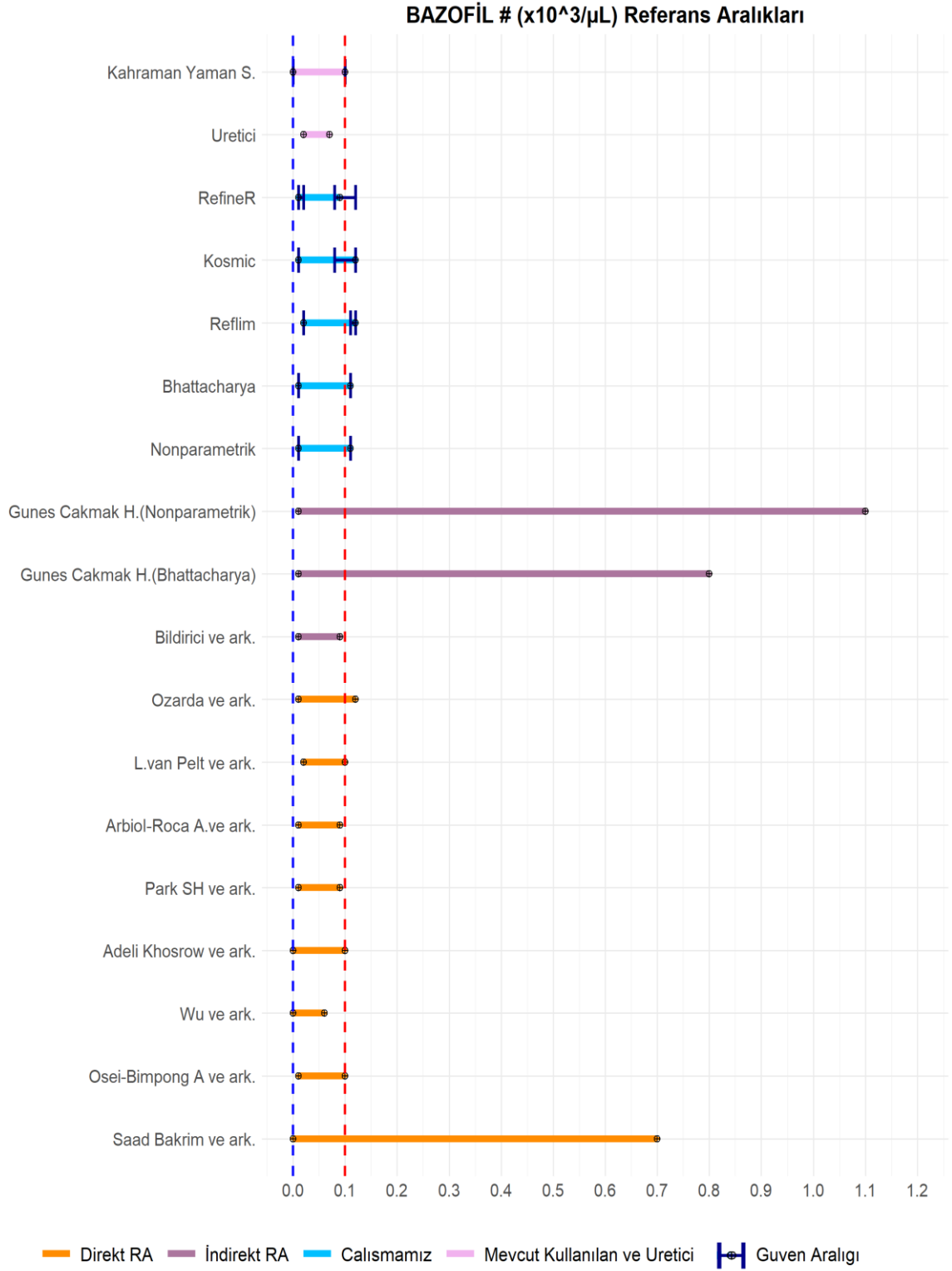
Şekil 49. Çalışmamız sonucu belirlenen NE# referans aralıkları ve diğer referans değerler

Tablo 8 ve Şekil 50 incelendiğinde, belirlenen EO# referans sınırlarının, Kahraman Yaman S.'in belirlediği referans sınırlarla ve üreticinin sunduğu alt referans sınırla yakın olduğu, ancak üretici üst referans sınırından yüksek olduğu gözlemlendi (115). Yine çalışmamızda belirlenen EO# alt referans sınırları, çalışmalardaki alt referans sınırlarla yakın değerlere sahipti. Üst referans sınırlarda ise çalışmamız sonuçları Coşkun ve arkadaşlarının (122), Özarda ve arkadaşlarının (123), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124) ile Wu ve arkadaşlarının (128) çalışmalarında verilen üst referans sınırlara yakın, Park SH ve arkadaşlarının (126), Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarından düşük, Güneş Çakmak H. (Bhattacharya) (118) ile Bildirici ve arkadaşlarının (kadınlar için) (119) çalışmalarında verilen değerlerden yüksekti.

Tablo 8 ve Şekil 51 incelendiğinde, çalışmamızda belirlenen BA# referans sınırlarının Kahraman Yaman S.'in belirlediği referans sınırlarla uyumlu olduğu, üreticinin sunduğu alt sınırlarla benzerlik gösterdiği, üreticinin üst referans sınırlarında ise daha yüksek olduğu görüldü (115). Belirlediğimiz alt referans sınırların, çalışmalarda bildirilen alt sınır değerleriyle yakın olduğu gözlemlendi. Çalışmamızın, Güneş Çakmak ve Saad Bakrim ve arkadaşlarının çalışmaları dışında, üst referans sınırlar açısından çalışmalara yakın ve uyumlu sonuçlar sağladığı, Güneş Çakmak ve Saad Bakrim ve arkadaşlarının çalışmalarında verilen üst sınırların, elde ettiğimiz üst referans değerlere kıyasla daha yüksek değerler sunduğu görüldü.



Şekil 50. Çalışmamız sonucu belirlenen EO# referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 51. Çalışmamız sonucu belirlenen BA# referans aralıkları ve diğer referans değerler

Çalışmamızda belirlenen WBC referans sınırlarının, üreticinin sunduğu referans değerlerden, Kahraman Yaman S. tarafından laboratuvarımızda gerçekleştirilen direkt referans aralık çalışmasından ve Tablo 8’de verilen direkt referans çalışmalarının büyük bir kısmından daha yüksek olduğu görüldü. Bununla birlikte çalışmamızın, büyük çoğunlukla Tablo 8’de yer alan indirekt referans aralık çalışmalarıyla yakın veya uyumlu değerler gösterdiği gözlemlendi.

İndirekt referans aralık çalışmalarında, hastaneye başvuran kişilerden elde edilen sonuçlar kullanılarak sağlıklı bireylerin verileri patolojik olanlardan ayırt edilir ve referans aralıklar oluşturulur. Biz de bu çalışmada, çeşitli veri temizleme işlemleri, dışlama kriterleri, aykırı değerlerin çıkarılması ve farklı indirekt yöntemlerin uygulanmasıyla patolojik verileri ayıklamaya çalışmış olmamıza rağmen, veri setinde hâlâ patolojik sonuçların yer alma olasılığının, WBC referans sınırlarının yüksekliğini etkilemiş olabileceğini düşünüyoruz. Hastanemizin Doğu Karadeniz ve Doğu Anadolu bölgesini de içine alan geniş bir halk kitlesine hizmet veren, 3.basamak bir hastane olmasından dolayı farklı popülasyonların, kompleks hastalığı ve/veya birden fazla hastalığı olan kişilerin başvurusu bunun sebebi olabilir. Ayrıca hastanemize başvuran bireylerin yakın geçmişte subklinik enflamatuvar süreçlerden etkilenmiş olabileceği ihtimali de göz ardı edilmemelidir.

Naus ve arkadaşları, indirekt yöntemle hesaplanan lökosit referans sınırlarının, literatürde direkt yöntemlerle belirlenen referans aralıklarına kıyasla daha yüksek üst referans sınırlarına yol açtığını belirtmiştir (131,132). Bildirici ve arkadaşlarının çalışmasında da benzer bulgular bildirilmiştir (119). Torge ve arkadaşları, birinci basamak sağlık hizmeti sunan laboratuvarlarda indirekt yöntemle belirledikleri referans sınırların, direkt yöntemle elde edilen referans sınırlarla benzerlik gösterdiğini; ancak bu referans sınırların, üçüncü basamak sağlık hizmeti sunan laboratuvarlardan elde edilen referans sınırlarına göre daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir (132). Bu çalışmalar bulgularımızla benzerlik göstermekte, görüşlerimizi destekler niteliktedir.

Literatür incelendiğinde WBC referans sınırlarını değerlendiren çalışmaların birçoğunda lökosit alt parametreleri değerlendirilmemiştir. WBC referans sınırlarında farklılıklar incelendiğinde bu farklılığın, alt parametre olarak NE# ve LY# referans değerlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu testlerde diğer çalışmalara göre daha yüksek sınırlar elde ettiğimiz gözlenmektedir.

Çalışmamızda WBC alt parametrelerinden MO% ve MO# için referans aralıkları erkekler ve kadınlar için ayrı ayrı belirlendi. Çalışmamıza benzer şekilde Bildirici ve

arkadaşlarının, Çevlik ve arkadaşlarının, Özarda ve arkadaşlarının, Park SH ve arkadaşlarının, Adeli Khosrow ve arkadaşlarının, Saad Bakrim ve arkadaşlarının çalışmalarında MO% veya MO# referans aralıklarının erkekler ve kadınlar için ayrı değerler belirlendiği görüldü. Çalışmamızda erkekler için belirlenen referans sınırlarının kadınlara göre yüksek olduğu görüldü. Bu durum Bildirici ve arkadaşlarının (119), Çevlik ve arkadaşlarının (120), Özarda ve arkadaşlarının (123), Park SH ve arkadaşlarının (126), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) çalışmalarında verilenlerle uyumlu olmakla birlikte cinsiyetler arası farklılığın sebebini yönelik herhangi bir açıklamaya rastlanmamıştır (127).

WBC testinde çalışmamızda sadece Kosmic yöntemiyle belirlenen üst referans sınırı ve NE# testinde belirlediğimiz tüm referans aralıkların laboratuvarımızda yapılan direkt referans aralık çalışmasıyla uyumlu olduğu görüldü. Bu durum direkt çalışmadaki NE# testinin güven aralıklarının geniş olmasından kaynaklı olabileceği şeklinde yorumlandı.

Çalışmamızda belirlediğimiz WBC alt parametrelerinden LY#, MO#, NE#, EO#, BA# referans sınırlarının Kahraman Yaman S. tarafından laboratuvarımızda gerçekleştirilen direkt referans aralık çalışmasıyla ve Tablo 8’de verilen çalışmaların bir kısmıyla benzerlik olduğu, üretici firma tarafından sunulan değerlerden ve Tablo 8’de verilen bazı çalışmalardan ise farklılıklar olduğu görüldü. Laboratuvarımızda Kahraman Yaman S.’in çalışmasıyla uyumlu ve yakın değer elde etmemize karşın literatürdeki çalışmalar ile tutarsızlıklar olmasının nedeni referans popülasyonundaki farklılıklar olabilir (115).

WBC ve alt parametrelerinde Kahraman Yaman S. tarafından gerçekleştirilen direkt referans aralık çalışmasında ve çalışmamızda elde edilen referans aralıklarının, üretici tarafından verilen değerlerden önemli ölçüde farklılık gösterdiği gözlemlendi. Bu durum üretici firma tarafından sunulan referans aralıkların, bölgemizin popülasyonuna özgü referans değerlerini tam olarak yansıtmadığını düşündürmektedir.

Çalışmalar arasında referans bireylerin örnekleme yöntemleri, referans popülasyonun özellikleri (örneğin, etnik köken, beslenme koşulları, yaşam tarzı, genetik), çevresel faktörler ve referans aralıkların belirlenmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler gibi değişkenlerin, referans aralıklar arasında farklılıklara neden olabileceği değerlendirilmektedir. Ayrıca, ölçüm yöntemindeki farklılıklar da çalışmalar arasında uyumsuzluğa neden olabilir.

Tablo 9 ve Şekil 52’de erkekler için belirlediğimiz RBC testinin referans aralıkları ve güven aralıkları incelendiğinde, alt sınırlarda RefineR, Kosmic ve ReflimR yöntemlerinin kendi aralarında uyumluydu ancak diğer iki yönteme kıyasla daha yüksekti. Üst sınırlarda ise RefineR dışında kalan dört yöntemin birbirleriyle benzerdi fakat RefineR yöntemine kıyasla daha yüksekti. Kahraman Yaman S.’ in belirlediği referans sınırların çalışmamız değerlerinden düşük olduğu görüldü (115). Üretici tarafından verilen alt referans sınırı, Kosmic yöntemiyle belirlenen referans değerlerle uyumlu olduğu, ancak diğer dört yöntemle elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu görüldü. Üst referans sınırlarda ise üretici değerleri, çalışmamızda belirlenen değerlerden daha yüksekti. Çaycı ve arkadaşlarının (117), Güneş Çakmak H.’ın (118) ve Osei-Bimpong A ve arkadaşlarının (129) belirlediği alt referans sınırların çalışmamız değerlerinden düşüktü. Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) ile Ateş K. ve arkadaşlarının (116) çalışmalarında verilen alt referans sınırları, çalışmamız değerlerinden yüksekti. Diğer çalışmalarda verilen alt referans sınırlarının, çalışmamız değerleriyle benzerliklere sahip olduğu gözlemlendi. Ateş K. ve arkadaşlarının (116), Güneş Çakmak H.’ın (118), Bildirici ve arkadaşlarının (119), Özarda ve arkadaşlarının(123), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (121), Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında belirlenen üst referans sınırların da çalışmamız değerlerinden daha yüksek olduğu tespit edildi. Çevlik ve arkadaşlarının(120), Coşkun ve arkadaşlarının (122) ile Wu ve arkadaşlarının (128) çalışmalarında verilen üst referans sınırlar çalışmamız değerlerine benzerdi. Çaycı ve arkadaşlarının (117), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125), Park SH ve arkadaşlarının (126), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) ile Osei-Bimpong A ve arkadaşlarının (129) çalışmalarında verilen üst referans sınırlar çalışmamız değerlerinden düşüktü.

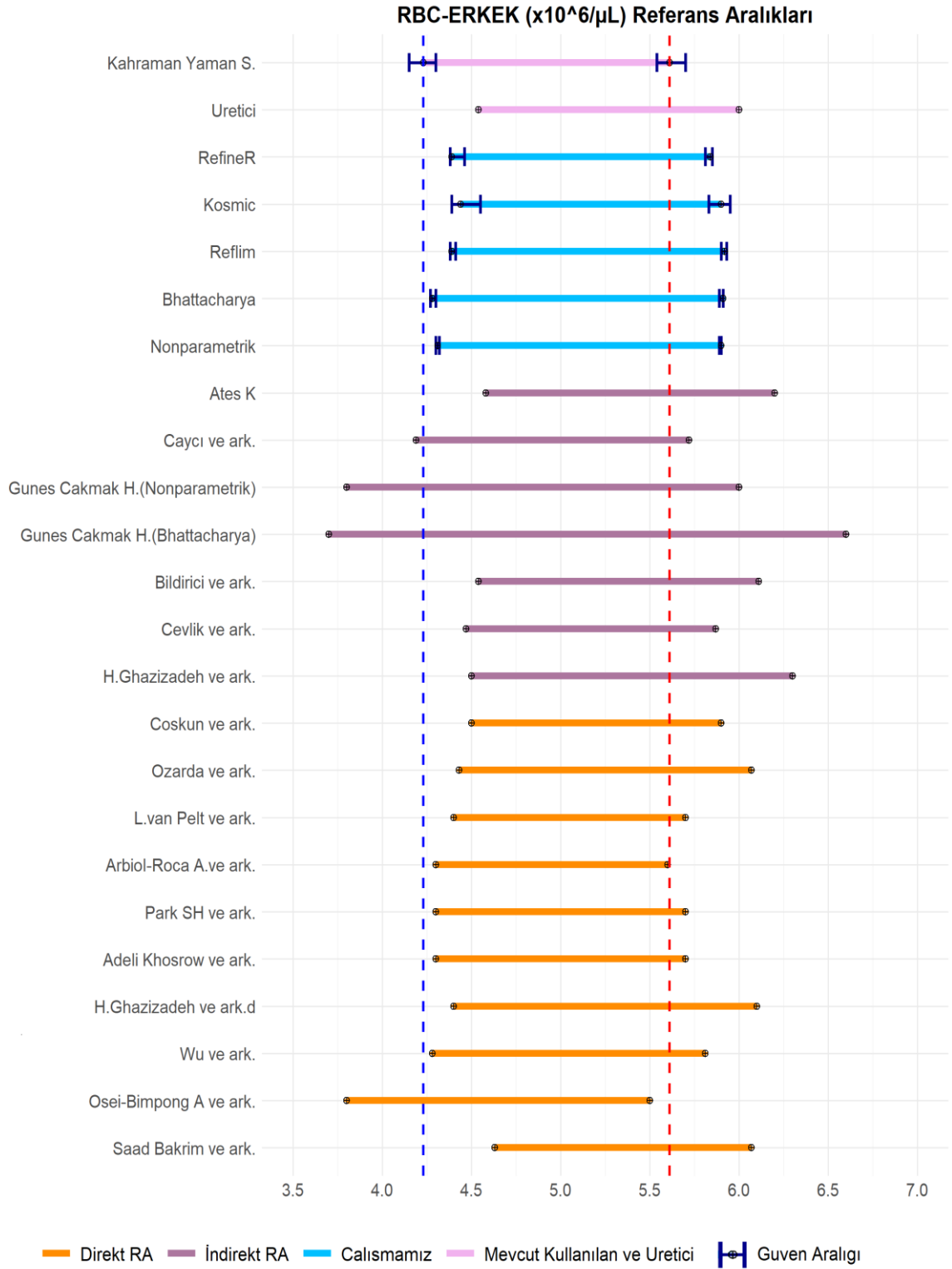
Tablo 9 ve Şekil 53’te kadınlar için belirlenen RBC testi referans aralıkları incelendiğinde, bütün yöntemlerle belirlenen referans sınırların birbirleriyle uyumlu veya yakın değerler olduğu görüldü. Çalışmamız sonuçları, Kahraman Yaman S.’in çalışmasındaki referans sınırlardan yüksek (115), üretici referans sınırlarına yakındı. Ateş K. ve arkadaşlarının çalışmasında verilen sınırlar çalışmamızdan yüksekti (116). Güneş Çakmak H.’ın (118), Park SH ve arkadaşlarının (126), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127), Wu ve arkadaşlarının (128) ile Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) çalışmalarında verilen alt referans sınırlar çalışmamızdan düşüktü. Bunlar dışında verilen çalışmaların alt referans sınırları, Kosmic yöntemi ile belirlediğimiz değerle uyumluydu. Üst referans sınırları incelendiğinde Güneş Çakmak H.’ın (118) ve H. Ghazizadeh ve

arkadaşlarının (121) çalışmalarındaki değerler çalışmamız değerlerinden yüksekti. Çaycı ve arkadaşlarının (117), Çevlik ve arkadaşlarının (120), Coşkun ve arkadaşlarının (122) , L.van Pelt ve arkadaşlarının (124) , Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125) ve Wu ve arkadaşlarının (128) çalışmaları değerlendirildiğinde ise Kosmic yöntemi ile belirlediğimiz üst referans sınırlarıyla uyumluydu. Park SH ve arkadaşları (126), Adeli Khosrow ve arkadaşları (127) ile Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) çalışmalarında verilen üst referans değerleri ise çalışmamız değerlerine kıyasla düşüktü.

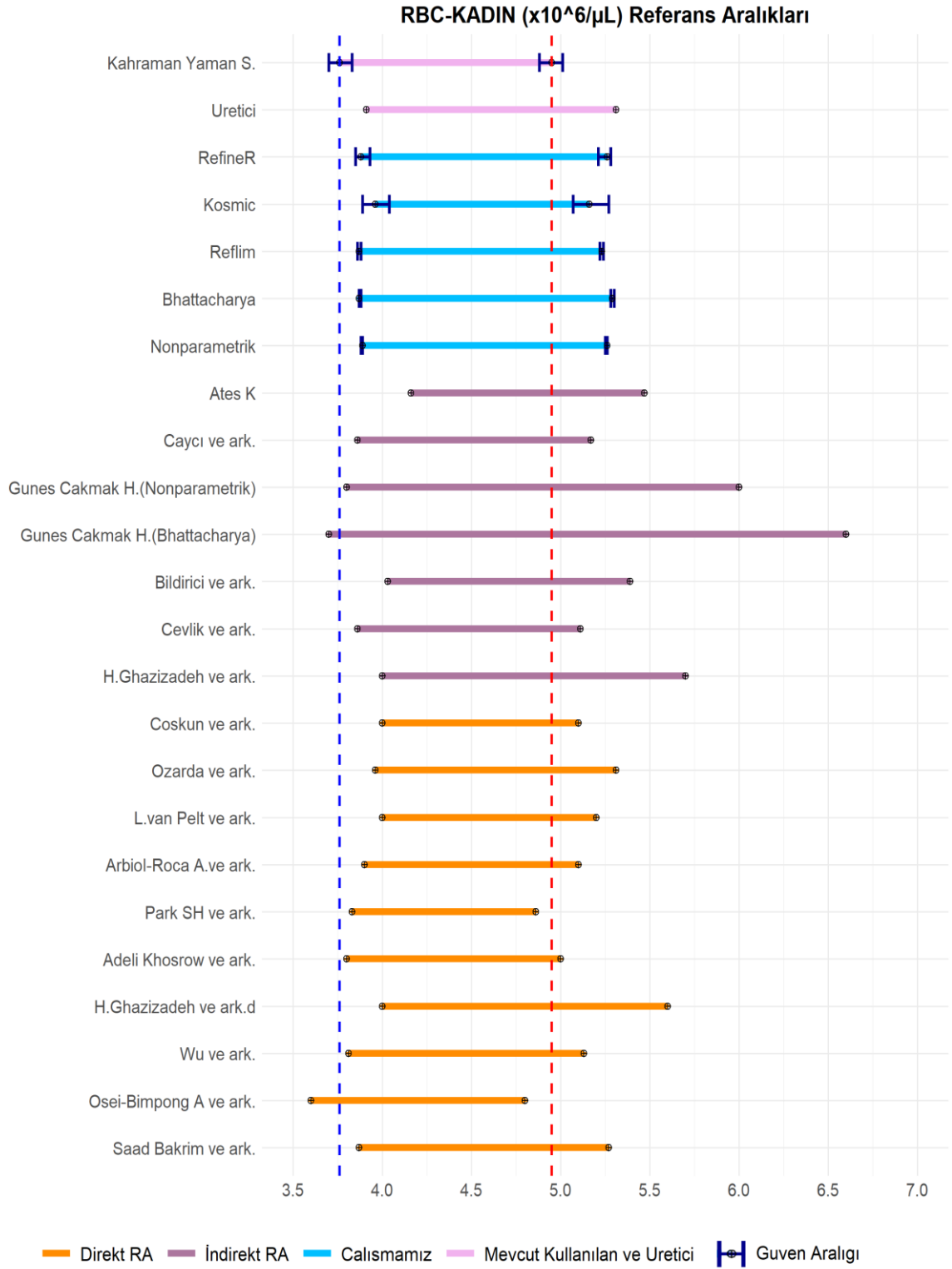
Tablo 9 ve Şekil 54'te, erkekler için belirlenen HB referans aralıkları incelendiğinde elde edilen alt referans sınırların nonparametrik yöntem hariç, birbirleriyle uyumlu olduğu, nonparametrik yöntemle belirlenen değer, diğer yöntemlere kıyasla daha düşük değer olduğu görüldü. Üst referans sınırlarda ise tüm yöntemlerle belirlenen değerler birbirine yakındı. Nonparametrik yöntemle belirlenen alt sınır hariç belirlediğimiz alt referans sınırlar üreticinin verdiği değerlerle uyumlu olduğu, üst referans sınırlarda ise çalışmamızın üreticiden yüksek olduğu görüldü. Nonparametrik yöntem ile belirlediğimiz alt referans sınır, Kahraman Yaman S.'in çalışmasında verilen alt referans sınırlarla uyumlu iken, belirlediğimiz diğer alt ve üst referans sınırlar, Kahraman Yaman S.'in çalışmasında verilen değerden daha yüksek bulundu (115). Ateş K. ve arkadaşlarının çalışmasında verilen sınırlar çalışmamızdan yüksekti (116). Çalışmamız Güneş Çakmak H'nin (118) ve Çaycı ve arkadaşlarının (117) çalışmalarında verilen alt referans sınırlarından yüksek, Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125), Park SH ve arkadaşlarının (126), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) ve Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen alt referans sınırlardan düşüktü. Bunlar dışındaki diğer çalışmalarda alt referans sınırların, çalışmamızda belirlenen (nonparametrik yöntem hariç) değerlere yakın olduğu gözlemlendi. Üst referans sınırlarda ise Güneş Çakmak H'nin Bhattacharya yöntemiyle belirlediği değer (118) çalışmamızdan yüksek, Park SH ve arkadaşlarının (126) ile Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125) çalışmalarında verilen değerlerin çalışmamızdan düşük olduğu görüldü. Bildirici ve arkadaşlarının (119), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (121), Özarda ve arkadaşlarının (123), Wu ve arkadaşlarının (128) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen üst referans sınırlar bulgularımızla benzerdi.

Tablo 9 ve Şekil 55'te kadınlar için belirlenen HB referans aralıkları incelendiğinde, çalışmamız alt referans sınırlarında Bhattacharya, ReflimR ve RefineR yöntemleriyle belirlenen değerlerin birbirleriyle uyumlu olduğu, Nonparametrik yöntemin, bu üç yönteme kıyasla daha düşük, Kosmic yönteminin ise bu üç yönteme kıyasla daha yüksek olduğu

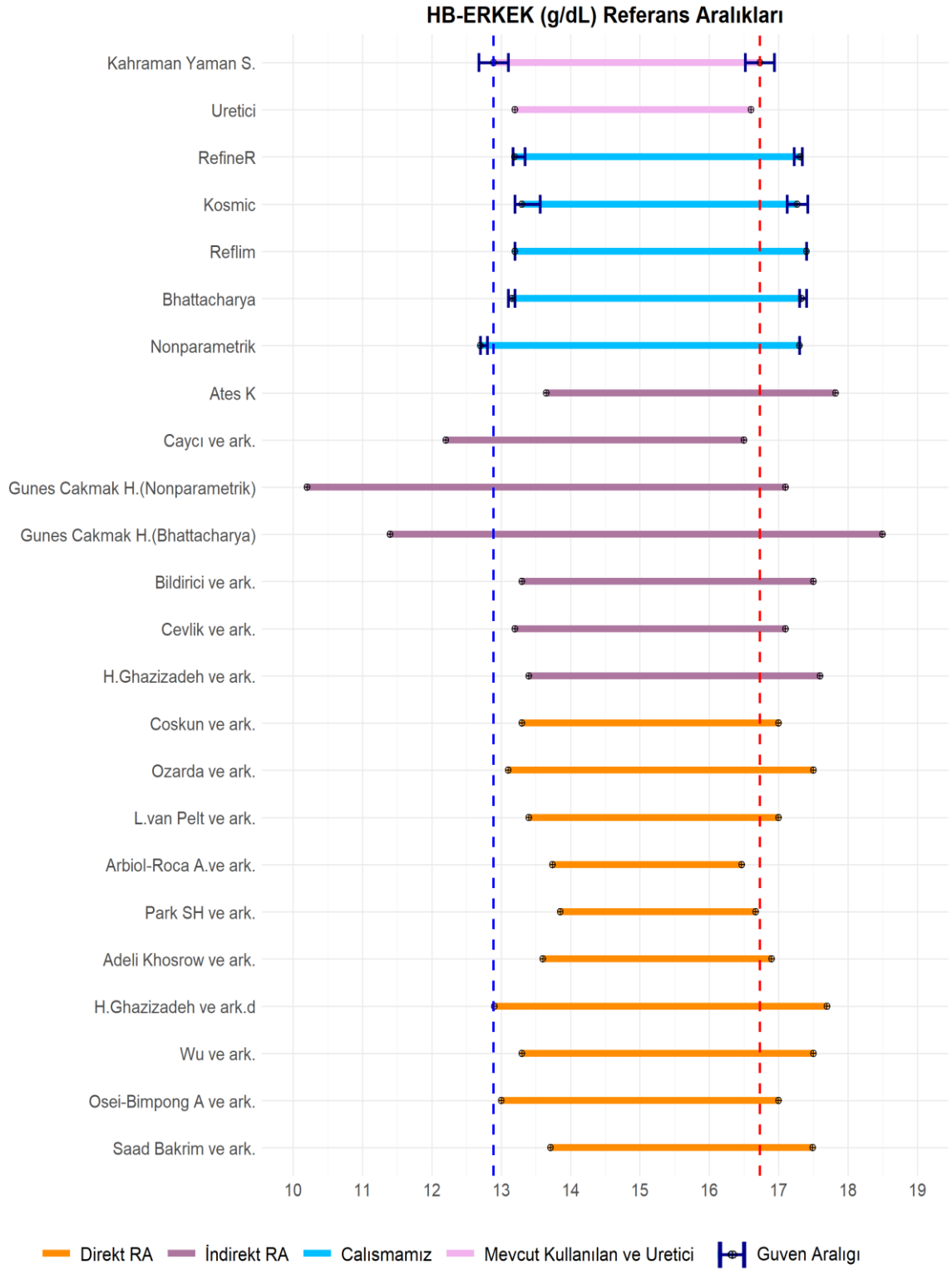
görüldü. Kahraman Yaman S.'in çalışmasında verilen ile üretici firma tarafından sağlanan alt referans sınırların, çalışmamızda belirlenen (nonparametrik yöntemle belirlenen hariç) alt referans değerlerle uyumlu, üst referans sınırlarda ise çalışmamızda belirlenen değerlere kıyasla düşük olduğu görüldü. Güneş Çakmak H.'in nonparametrik yöntemle belirlediği (118), Ateş K. ve arkadaşlarının (116) ve Çevlik ve arkadaşlarının (120) çalışmalarında verilen alt referans sınırlar çalışmamız değerlerinden düşüktü. Bildirici ve arkadaşlarının (119), Özarda ve arkadaşlarının (123) çalışmalarında verilen alt referans sınırlar ile H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (121) direkt yöntemle elde ettikleri alt referans sınırın, çalışmamız alt referans sınırlarına göre (nonparametrik yöntemle elde ettiğimiz değer hariç) daha düşük olduğu gözlemlendi. Bunlar dışında verilen çalışmaların alt referans sınırları, belirlediğimiz değerlerden yüksekti. H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının indirekt yöntemle belirledikleri (121) ve Güneş Çakmak H.'in (118) çalışmasında verilen üst referans sınırlar çalışmamız değerlerinden yüksekti. Ateş K. ve arkadaşlarının (116), Bildirici ve arkadaşlarının (119), Özarda ve arkadaşlarının (123), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Wu ve arkadaşlarının (128) ile Osei-Bimpong A ve arkadaşlarının (129) çalışmalarında verilen üst referans sınırlar çalışmamızla uyumluydu. Çaycı ve arkadaşlarının (117), Çevlik ve arkadaşlarının (120), Çoşkun ve arkadaşlarının (122), Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125), Park SH ve arkadaşlarının (126), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen üst referans sınırları, çalışmamız değerlerinden düşüktü.



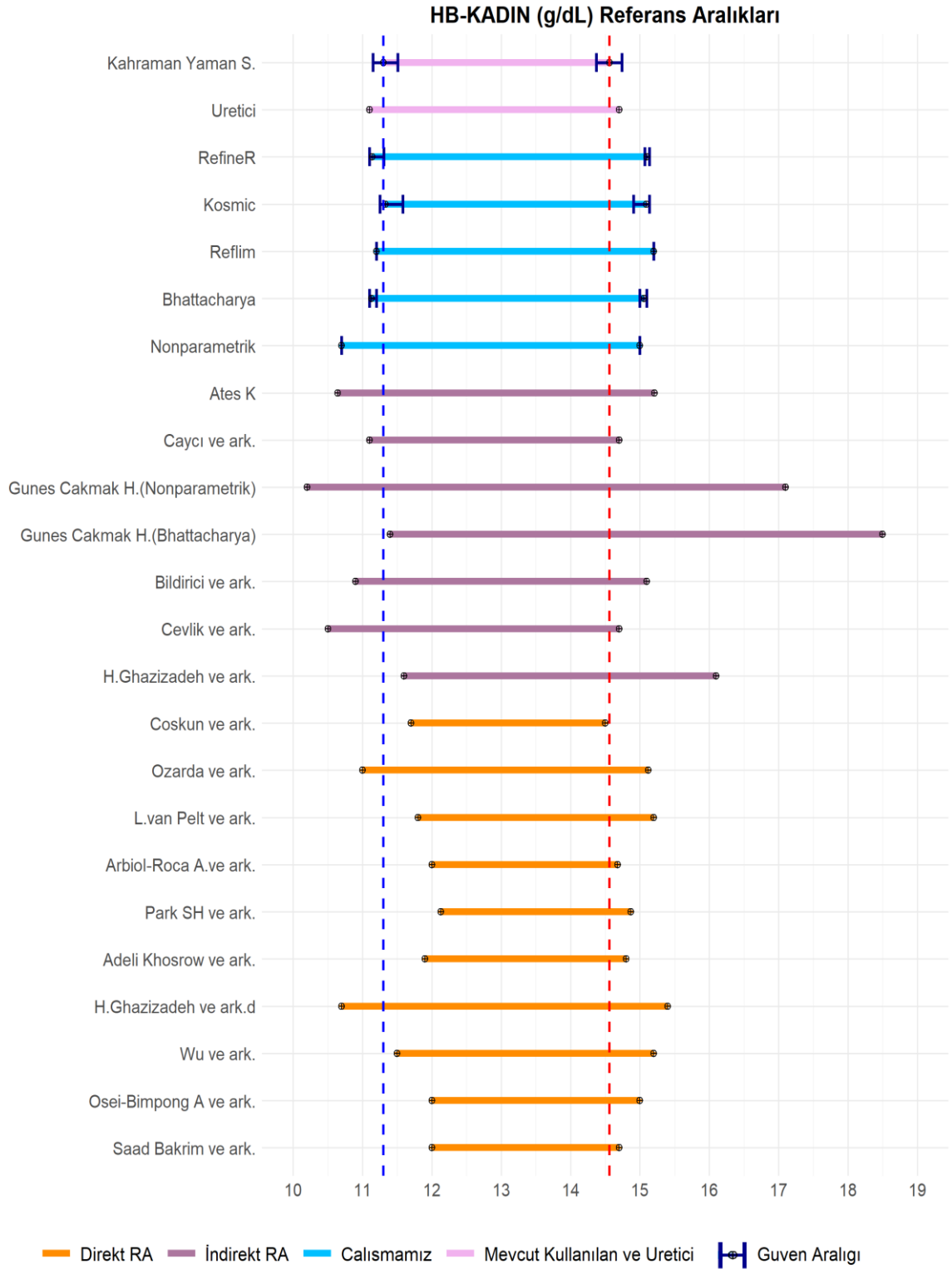
Şekil 52. Çalışmamız sonucu belirlenen RBC- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 53. Çalışmamız sonucu belirlenen RBC- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 54. Çalışmamız sonucu belirlenen HB- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler



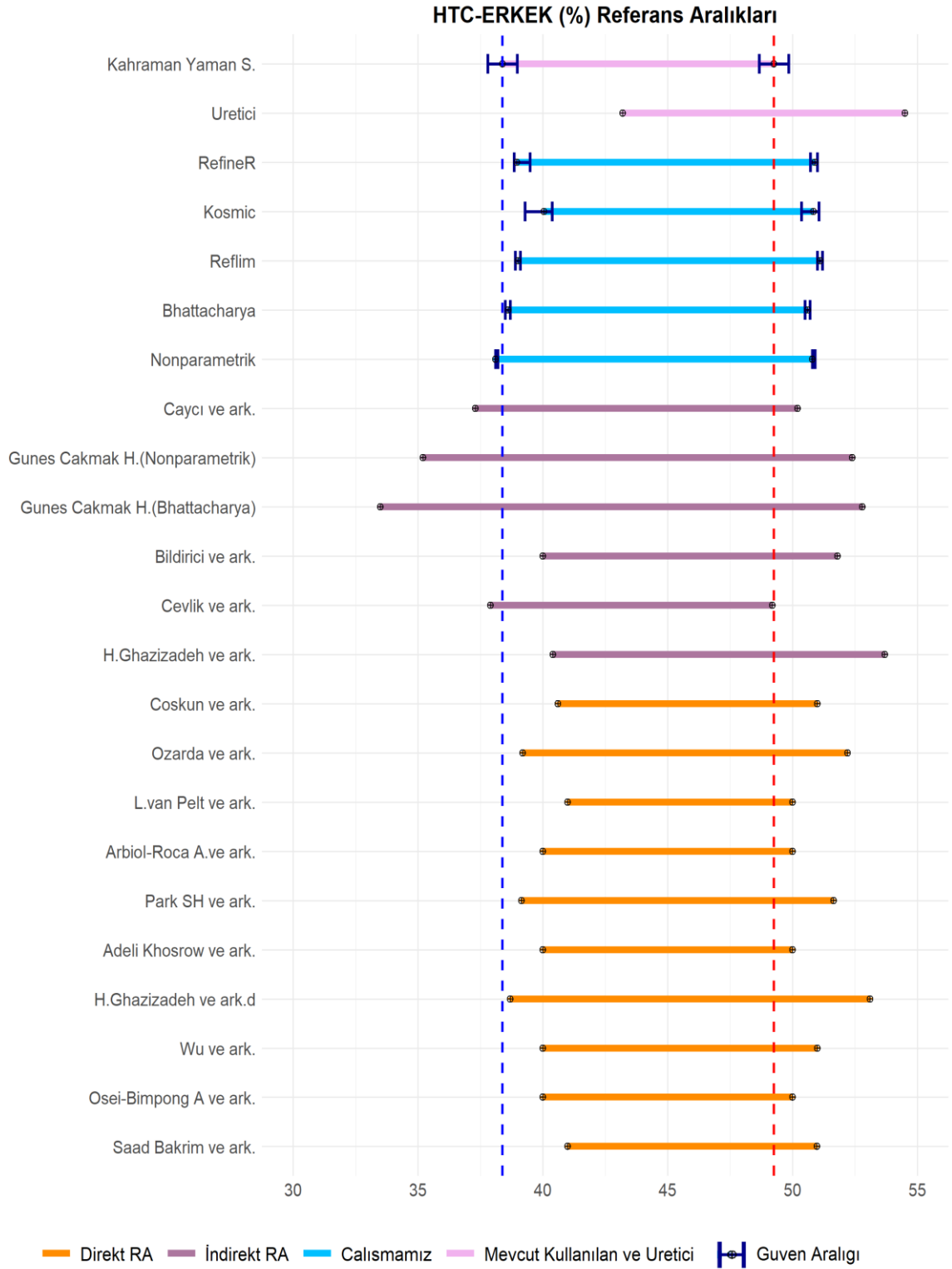
Şekil 55. Çalışmamız sonucu belirlenen HB- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler

Tablo 9 ve Şekil 56’da erkekler için belirlenen HTC referans aralıkları incelendiğinde çalışmamız alt referans sınırlarında en düşük değeri nonparametrik yöntemin sağladığı, en yüksek değeri ise Kosmic yönteminin verdiği görüldü. Üst referans sınırlarda ise belirlenen değerler birbirlerine yakındı. Kahraman Yaman S. tarafından yapılan çalışmanın alt referans sınırı, Kosmic yöntemiyle belirlediğimiz değerden düşük, diğer yöntemlerle üretilen değerlerle uyumluydu (115). Üst referans sınırlarda ise çalışmamız değerleri Kahraman Yaman S’in çalışmasından daha yüksek olduğu görüldü (115). Üreticinin sağladığı referans sınırlar çalışmamız değerlerinden yüksekti. Güneş Çakmak H’nin (118), Çaycı ve arkadaşlarının (117) ile Çevlik ve arkadaşlarının (120) çalışmalarında verilen alt referans sınırlar, belirlediğimiz değerlerden düşüktü. Diğer çalışmalarda sunulan alt referans sınırlar, büyük çoğunlukla Kosmic yöntemiyle elde ettiğimiz alt referans sınır olmak üzere çalışmamız değerleriyle benzer olduğu görüldü. Üst referans sınırlarında ise Güneş Çakmak H’nin (118), Bildirici ve arkadaşlarının (119), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (direkt ve indirekt) (121), Özarda ve arkadaşlarının (123), Park SH ve arkadaşlarının (126) çalışmalarında verilen referans sınırların çalışmamızdaki değerlerden yüksekti. Çaycı ve arkadaşlarının (117), Çevlik ve arkadaşlarının (120), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Arbiol-Roca A ve arkadaşlarının (125), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127), Osei-Bimpong A ve arkadaşlarının (129) çalışmalarında verilen üst referans sınırlar çalışmamızda belirlenen değerlerden düşüktü. Coşkun ve arkadaşlarının (122), Wu ve arkadaşlarının (128), Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmaların verilen üst sınırlar çalışmamla uyumluydu.

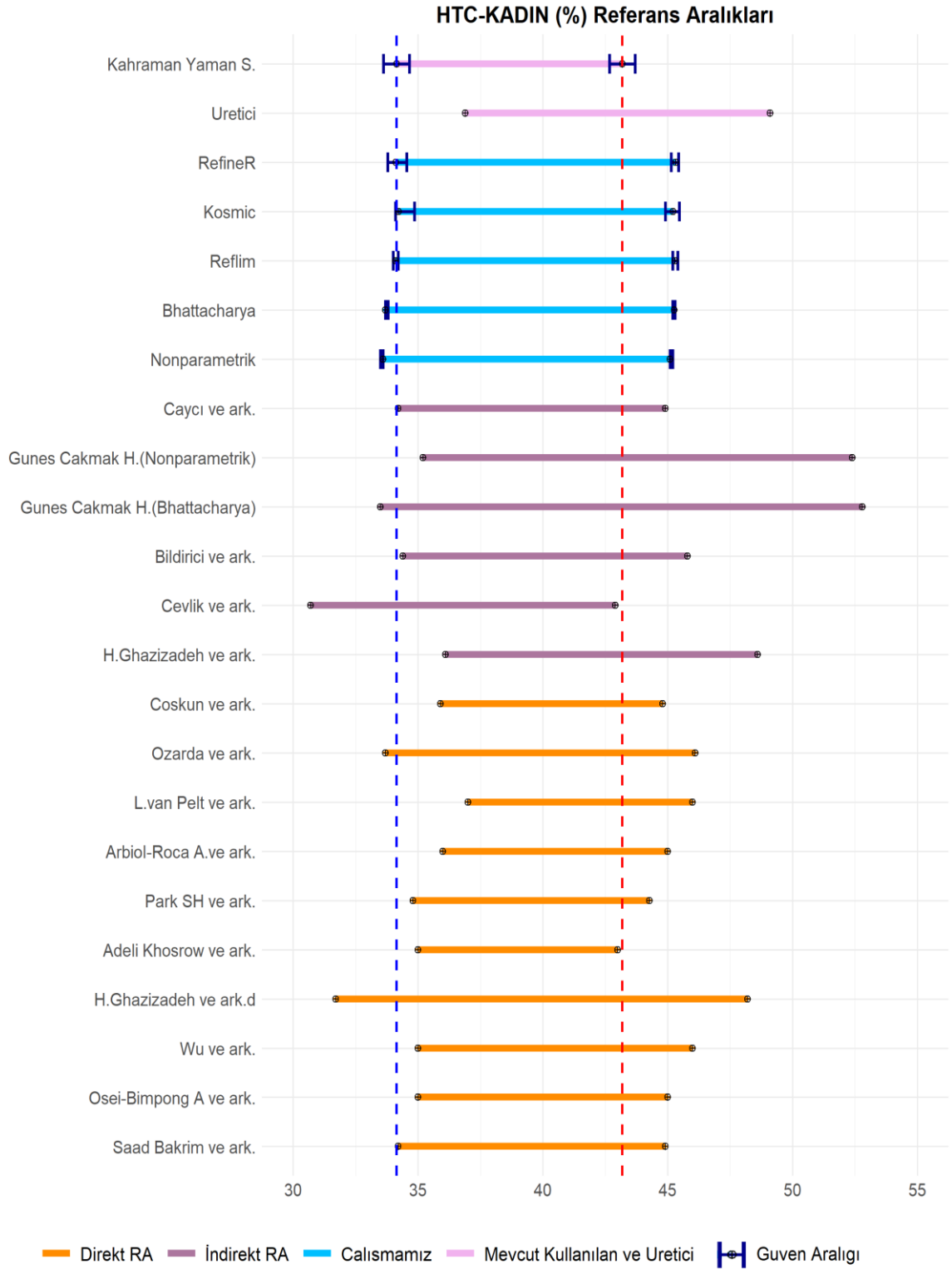
Tablo 9 ve Şekil 57’de kadınlar için belirlenen HTC referans aralıklarına bakıldığında, çalışmamızda bütün yöntemlerle birbirlerine yakın veya benzer değerler belirlendi. Çalışmamız alt sınır değerlerinin Kahraman Yaman S’in belirlediği değerlerle uyumlu ancak üst sınırlarda daha yüksek olduğu görüldü (115). Üretici tarafından verilen referans sınırlar, çalışmamızdan yüksekti. Çevlik ve arkadaşlarının ile ve H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (direkt) çalışmalarında verilen alt referans sınırları belirlediğimiz değerlerden düşüktü (120,121). Çaycı ve arkadaşlarının (117), Bildirici ve arkadaşlarının (119), Özarda ve arkadaşlarının (115), Park SH ve arkadaşlarının (126) ve Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen alt referans sınırlar çalışmamızda verilen değerlere yakındı. Güneş Çakmak H’nin nonparametrik yöntemle belirlediği (118), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (indirekt) (121), Coşkun ve arkadaşlarının (122), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Arbiol-Roca A ve arkadaşlarının (125), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127), Wu

ve arkadaşlarının (128) ve Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) çalışmalarında verilen alt referans sınırlar çalışmamızda belirlenen değerlerden yüksekti. Üst referans sınırlarında Çevlik ve arkadaşlarının (120) ile Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) çalışmalarında verilen değerler çalışmamızdan düşükken, Çaycı ve arkadaşlarının (117), Coşkun ve arkadaşlarının (122), Arbiol-Roca A ve arkadaşlarının (125), Park SH ve arkadaşlarının (126), Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen üst referans sınırlar çalışmamızla uyumluydu. Bunlar dışındaki çalışmalar, belirlediğimiz referans değerlerden yüksekti.

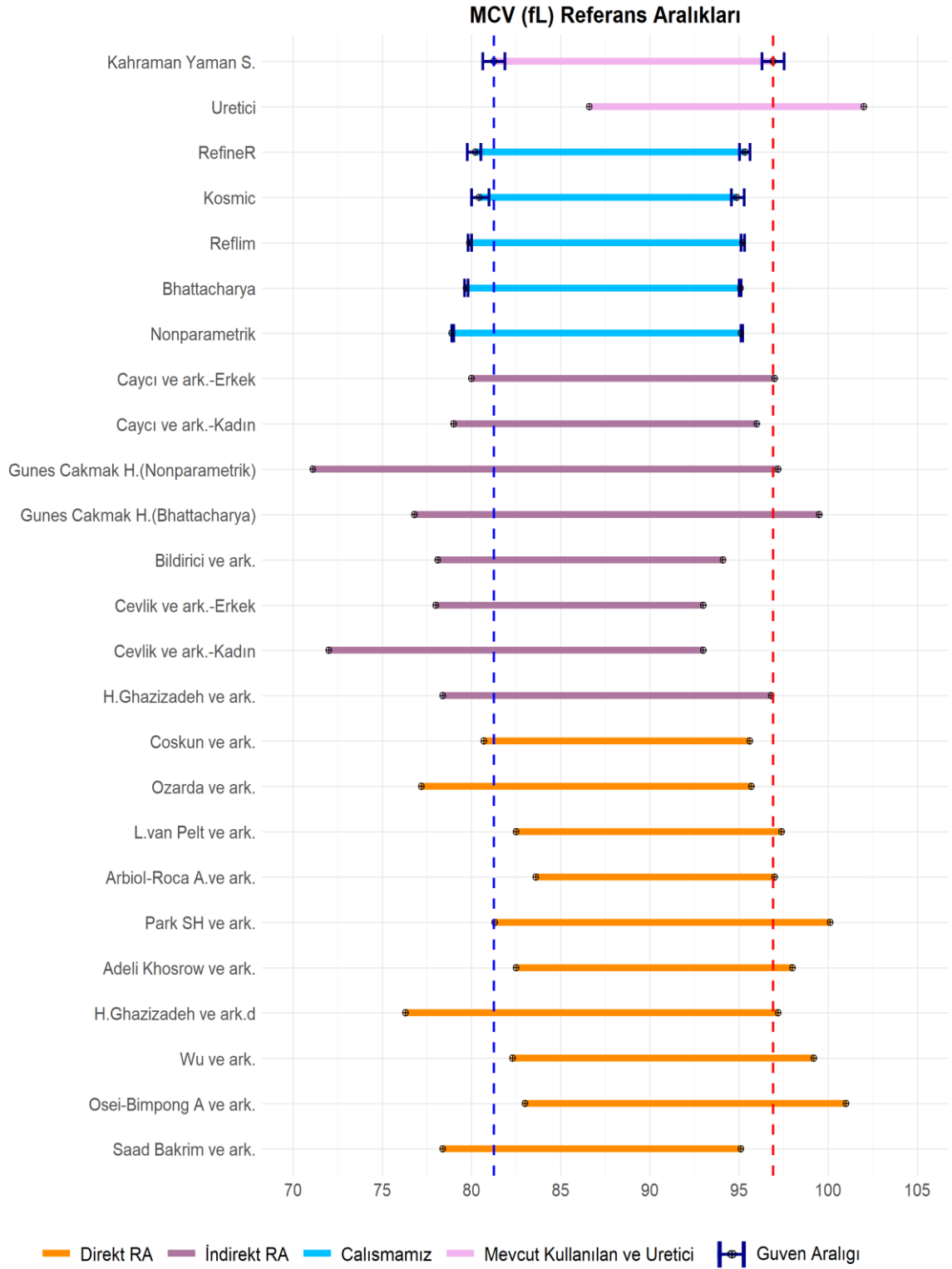
Tablo 9 ve Şekil 58’de sunulan MCV referans aralıkları incelendiğinde, nonparametrik yöntemin en düşük alt referans değeri verdiği, diğer dört yöntemin ise birbirleriyle uyumlu olduğu görüldü. Üst referans sınırlarda ise değerlerimiz birbirleriyle uyumluydu. Belirlediğimiz değerler, Kahraman Yaman S’in çalışmasında verilenlerden ve üreticinin sunduğu değerlerden düşüktü (115). Çaycı ve arkadaşlarının çalışmasında verilen alt referans sınırlar çalışmamıza yakındı (117). Ancak bunun dışındaki indirekt referans aralık çalışmalarında verilen alt referans sınırlar, belirlediğimiz değerlerden düşüktü. Çaycı ve arkadaşlarının (118), Güneş Çakmak H. (118) ile Ghazizadeh ve arkadaşlarının (indirekt) (121) belirledikleri üst referans sınırların bulgularımızdan yüksek olduğu, Çevlik ve arkadaşları (120) ile Bildirici ve arkadaşlarının (119) belirledikleri üst referans sınırların ise bulgularımızdan düşük olduğu görüldü. Direkt referans aralık çalışmalarından ise Özarda ve arkadaşlarının (123), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (121) ve Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen alt referans sınırlar çalışmamızda verilen değerlerden düşüktü. Coşkun ve arkadaşlarının belirledikleri alt referans sınır çalışmamız değerleriyle benzerdi (122). Bunlar dışında verilen direkt çalışmalarda alt sınırlar bulgularımızdan yüksekti. Üst referans sınırlarında ise Coşkun ve arkadaşlarının (121), Özarda ve arkadaşlarının (123) ve Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen değerler çalışmamızla uyumluydu. Bunlar dışında verilen üst referans sınırların, çalışmamızda belirlenen değerlerden yüksek olduğu görüldü.



Şekil 56. Çalışmamız sonucu belirlenen HTC- ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 57. Çalışmamız sonucu belirlenen HTC- KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 58. Çalışmamız sonucu belirlenen MCV referans aralıkları ve diğer referans değerler

Çalışmamızda MCH testinde referans aralıklar erkekler ve kadınlar için ayrı ayrı belirlendi. Tablo 9 ve Şekil 59'daki çalışmalarda MCH için verilen referans aralıklar incelendiğinde Çaycı ve arkadaşlarının (117), Bildirici ve arkadaşlarının (119), Çevlik ve arkadaşlarının (120), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (121), Özarda ve arkadaşlarının (123) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında referans aralıklar her cinsiyet için ayrı olarak sunulmuştur. Bunlar dışındaki çalışmalarda ise cinsiyet açısından ortak referans aralıklar belirlenmiştir. Erkekler için belirlediğimiz MCH referans aralıklarında, nonparametrik yöntemin en düşük alt referans sınırı sağladığı, diğer yöntemlerde ise yakın değerler belirlendiği gözlemlendi. Çalışmamız değerlerinin Kahraman Yaman S'in çalışmasında verilen alt sınırla uyumlu olduğu, üst sınırdan ise bu çalışmada verilen değerden düşük olduğu görüldü (115). Çalışmamız değerleri, üretici referans sınırlarından yüksekti. Güneş Çakmak H.'in (nonparametrik) (118), Çaycı ve arkadaşlarının (117), Bildirici ve arkadaşlarının (119), Coşkun ve arkadaşlarının (122), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (direkt) (121), Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129), Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında sunulan referans sınırlarının, belirlediğimiz değerlerden düşük olduğu görüldü. Güneş Çakmak H.'in (Bhattacharya) (118) ve Park SH ve arkadaşlarının (126) çalışmalarında verilen değerler, çalışmamız alt referans sınırlarından düşük, üst referans sınırlarından ise yüksekti. Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) belirledikleri referans sınırları çalışmamız değerlerinden yüksekti. H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (indirekt) (121), Çevlik ve arkadaşlarının (120), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124) çalışmalarında verilen değerler bulgularımızla benzerdi. Çalışmamızda elde edilen alt sınırların, Arbiol-Roca A. ve arkadaşları ile Wu ve arkadaşlarının çalışmalarında sunulan değerlerle uyumlu olduğu; üst sınırlarda ise Arbiol-Roca A. ve arkadaşlarının belirlediği değerlerden daha yüksek, Wu ve arkadaşlarının belirlediği değerlerden daha düşük olduğu görüldü (125,128).

Tablo 9 ve Şekil 60'ta kadınlar için belirlediğimiz MCH referans aralıklarında, erkekler için belirlediğimiz referans sınırlara benzer şekilde nonparametrik yöntemin en düşük alt referans sınırı sağladığı, diğer yöntemlerle ise uyumlu veya yakın değerlerde olduğu gözlemlendi. Belirlediğimiz MCH referans sınırlarını Kahraman Yaman S'in çalışmasındaki değerlerden düşüktü (115). Nonparametrik yöntemin sağladığı alt referans sınır, üreticinin sunduğu değerden düşüktü. Bunun dışında üreticinin sunduğu değerlerden daha yüksek referans sınırları belirlediğimiz gözlemlendi. Güneş Çakmak H.'in (nonparametrik) (118), Bildirici ve arkadaşlarının (119), Çevlik ve arkadaşlarının (120), Özarda ve arkadaşlarının (123) ile H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (direkt) (121) çalışmalarında

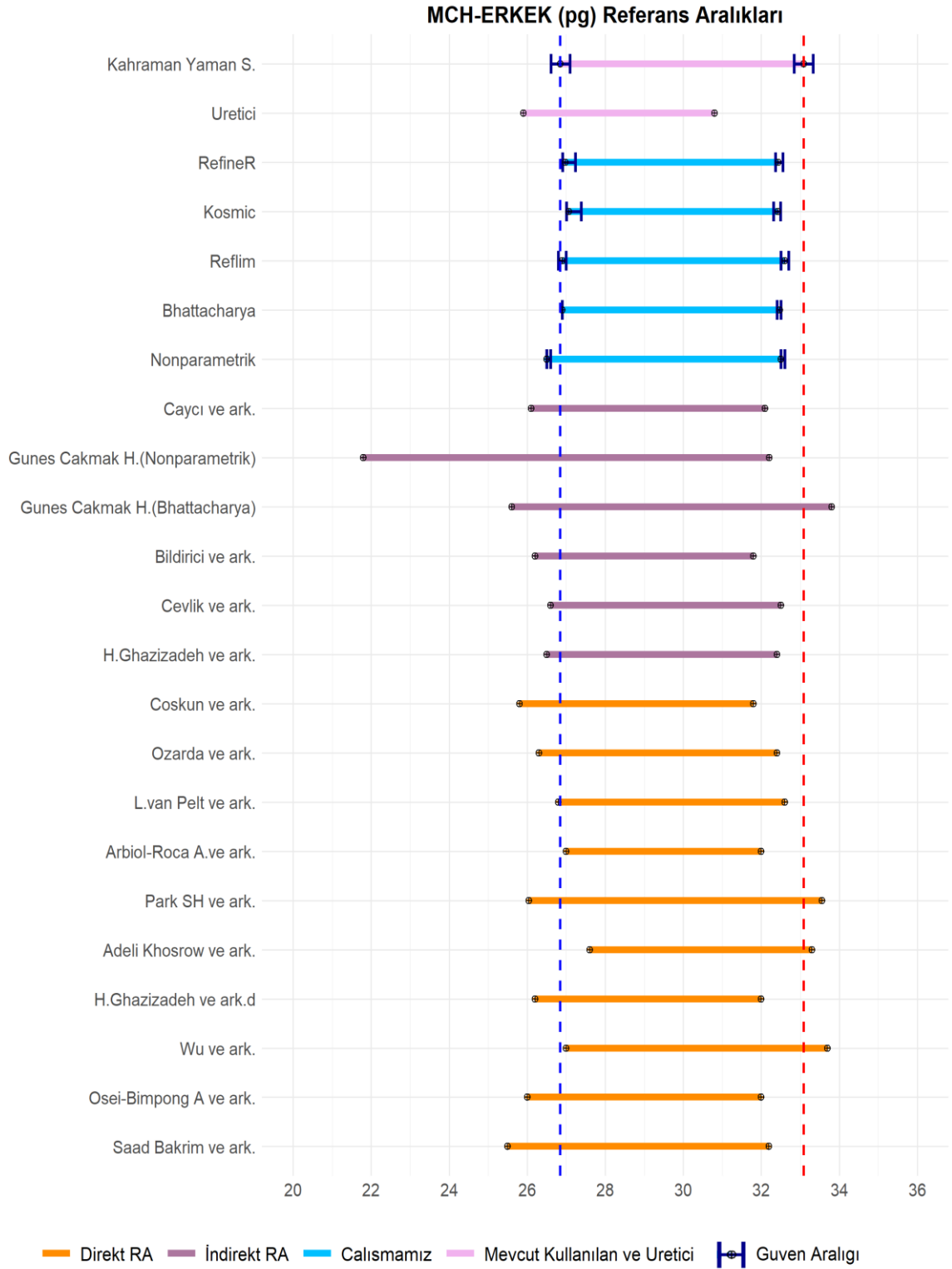
verilen alt referans sınırlar çalışmamız değerlerinden düşüktü. L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127), Wu ve arkadaşlarının (128) çalışmalarında verilen alt sınırlar ise çalışmamız değerlerinden yüksekti. Bunların dışında, incelenen çalışmalarda verilen alt referans sınırlarının, çalışmamızda değerleriyle uyumlu veya yakın olduğu görülmektedir. Üst referans sınırlara bakılırsa Çaycı ve arkadaşlarının (117), Bildirici ve arkadaşlarının (119), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (121) ile Coşkun ve arkadaşlarının (122) çalışmalarında verilen değerler, belirlediğimiz referans sınırlardan düşüktü. Güneş Çakmak H.'ın (Bhattacharya) (118), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Park SH ve arkadaşlarının (126), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127), Wu ve arkadaşlarının (128) çalışmalarında verilen üst referans sınırlar ise çalışmamız değerlerinden yüksekti. Bunlar dışındaki çalışmalarda sunulan üst referans sınırların, belirlediğimiz değerlere yakın olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda MCHC testinde referans aralıklar erkekler ve kadınlar için ayrı ayrı belirlendi. Tablo 9, Şekil 61 ve 62'de verilen MCHC referans aralıkları incelendiğinde Kahraman Yaman S.'in (115), Çaycı ve arkadaşlarının (117), Bildirici ve arkadaşlarının (119), Çevlik ve arkadaşlarının (120), Özarda ve arkadaşlarının (123), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Park SH ve arkadaşlarının (126) çalışmalarında referans aralıklar her cinsiyet için ayrı olarak sunulmuştur. Bunların dışındaki çalışmalarda ise MCHC testinde cinsiyet açısından ortak referans aralıklar belirlenmiştir. Erkekler için belirlediğimiz MCHC referans sınırları, tüm yöntemlerde yakın değerler gösterdi. Kadınlarda ise nonparametrik yöntemin en düşük alt referans sınırı sağladığı, diğer yöntemlerle ise referans sınırlar birbirine yakın olduğu görüldü. MCHC testinde Kahraman Yaman S.'in çalışmasının referans aralıklarının oldukça dar olduğu; alt sınırlarda çalışmamızdaki her iki cinsiyet için belirlenen değerlerden daha yüksek, üst sınırlarda ise daha düşüktü (115). Üretici referans sınırları ile çalışmalarda belirtilen değerler arasında ciddi bir tutarsızlık görüldü.

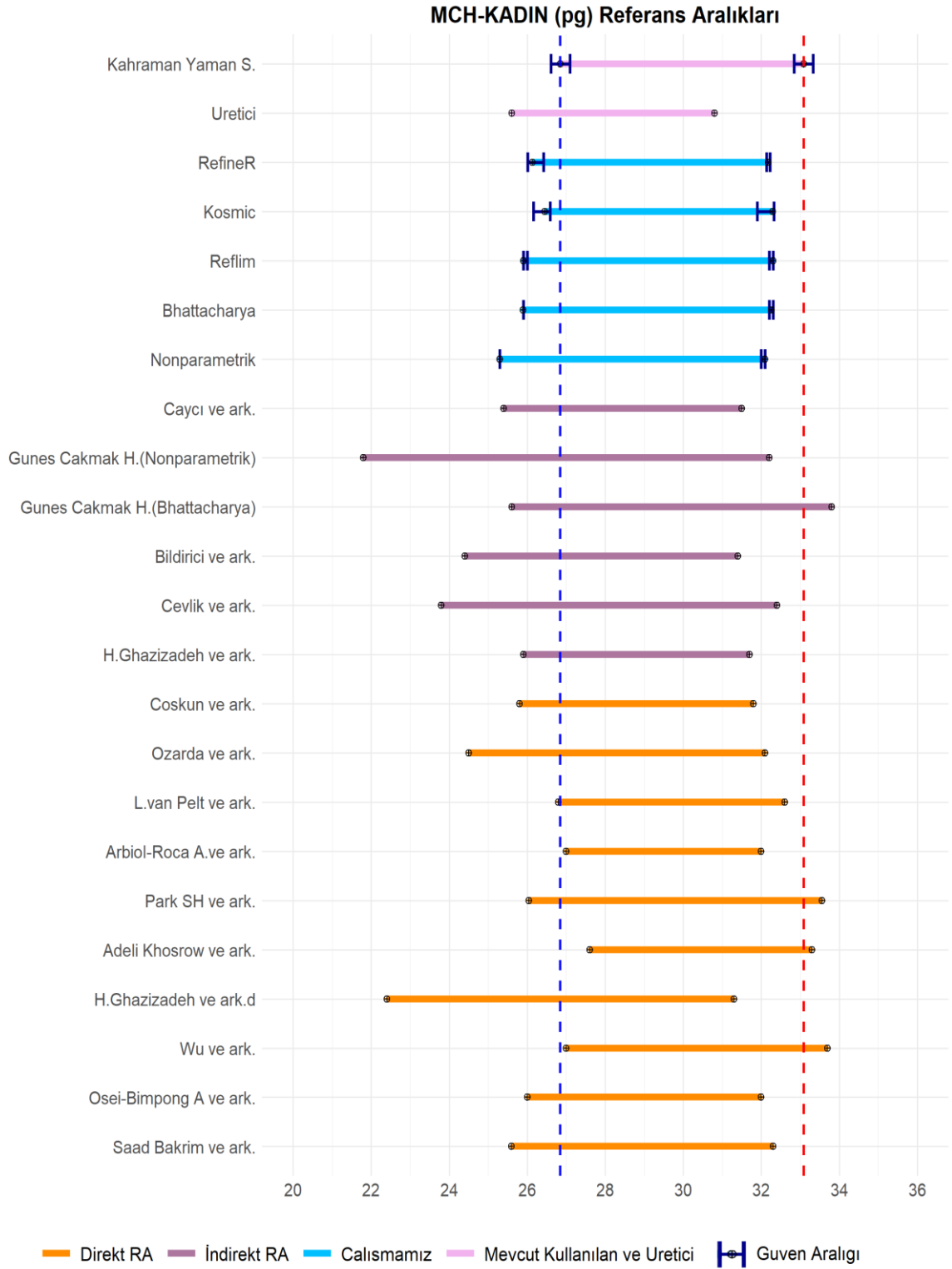
Tablo 9 ve Şekil 61'de erkekler için belirlediğimiz MCHC alt referans sınırlarının Çevlik ve arkadaşları (120) ile Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) belirledikleri değerlerden daha düşük, Özarda ve arkadaşları (123), Park SH ve arkadaşları (126), L. van Pelt ve arkadaşları (124), Wu ve arkadaşları (128) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen değerlerle ise benzerdi. Bunların dışındaki çalışmalarda verilen alt referans sınırları, belirlediğimiz değerlerden düşüktü. Üst referans sınırlarında ise Çevlik ve arkadaşları (121) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) belirledikleri değerlerin çalışmamızla uyumlu olduğu, diğer çalışmaların ise daha düşük olduğu gözlemlendi.

Tablo 9 ve Şekil 62’de kadınlar için belirlediğimiz MCHC referans sınırları incelendiğinde, Çevlik ve arkadaşları (121), Adeli Khosrow ve arkadaşları (127), Wu ve arkadaşları (128) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) belirledikleri alt referans sınırların çalışmamızda belirlenen değerlerden daha yüksek olduğu, buna karşın, Güneş Çakmak H.’ın (nonparametrik) (118), Bildirici ve arkadaşlarının (119) ve H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (direkt) (121) çalışmalarında verilen alt sınırların ise belirlediğimiz değerlerden daha düşük olduğu görüldü. Bu çalışmalar dışında verilen alt sınırların, çalışmamızda nonparametrik yöntemle belirlenen değer başta olmak üzere benzer ve yakın değerlere sahip olduğu gözlemlendi. Üst referans sınırlarında ise çalışmamız değerlerinin, Çevlik ve arkadaşları (121) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarındaki değerlerden daha düşük olduğu; buna karşın, Güneş Çakmak H. (nonparametrik) (118), Çaycı ve arkadaşları (117), Bildirici ve arkadaşları (119), Coşkun ve arkadaşları (122), L. van Pelt ve arkadaşları (124) ile Park SH ve arkadaşlarının (126) çalışmalarındaki değerlerden daha yüksek olduğu görüldü. Bunların dışındaki çalışmalarda üst referans sınırları, çalışmamız değerleriyle benzerdi.

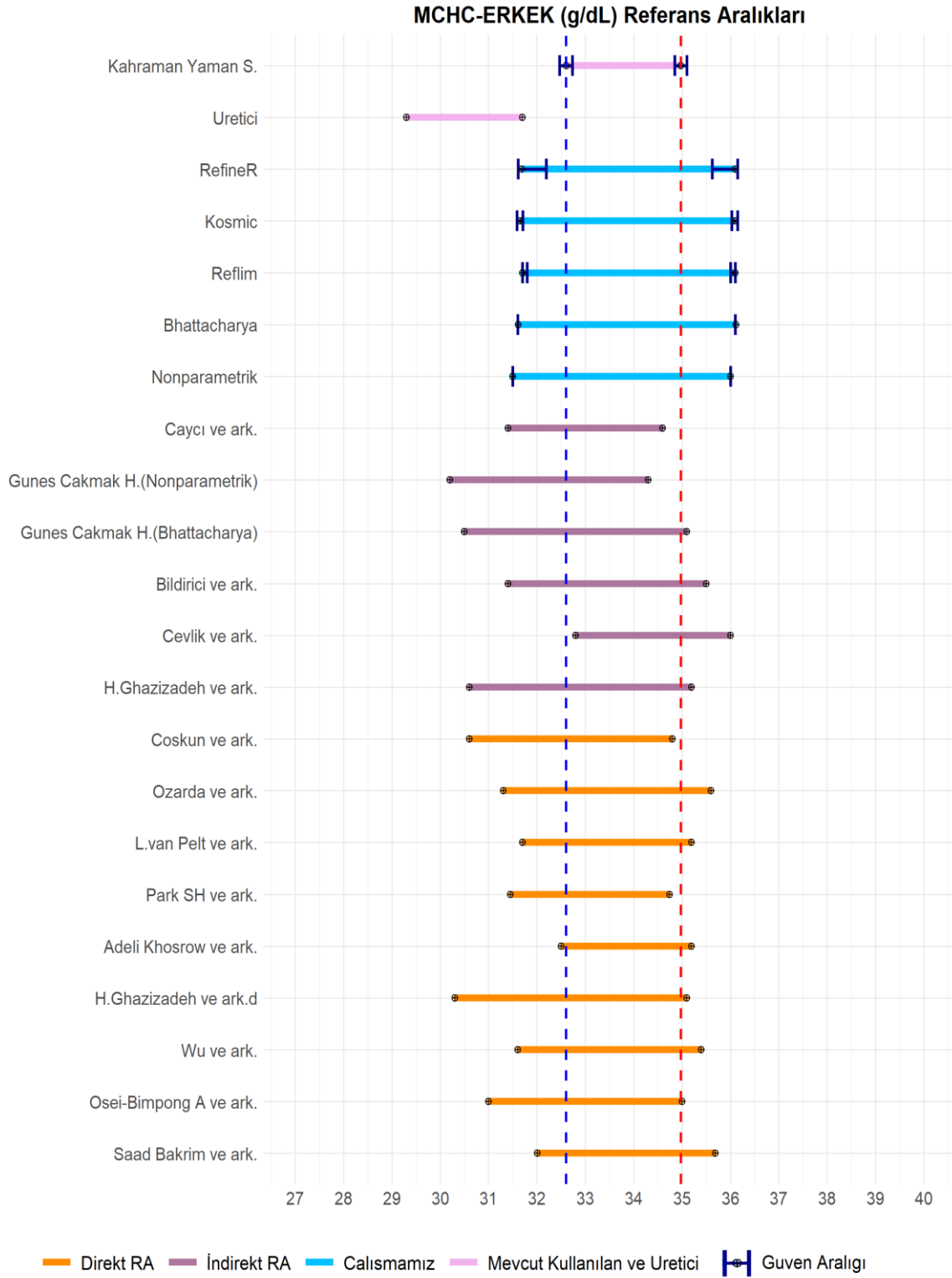
Tablo 9 ve Şekil 63’te belirlediğimiz RDW referans aralıkları incelendiğinde, nonparametrik yöntemin diğer yöntemlere göre daha yüksek referans sınırlar sağladığı görüldü. İndirekt yöntem kullanılarak yapılan çalışmaların tümünde RDW için cinsiyete göre ayrı referans aralık belirlenirken, direkt yöntemle yapılan çalışmalarda ise ortak referans aralık belirlendiği görüldü. Bizim çalışmamızda ise RDW için ortak referans aralıklar hesaplandı. Çalışmamız sonuçları, Kahraman Yaman S’in çalışmasındaki değerlerden daha düşük, bunun aksine üretici değerlerinden (RefineR yöntemi kullanılarak elde edilen üst sınır hariç) daha yüksekti (115). Belirlediğimiz RDW referans aralıklarının, Çaycı ve arkadaşlarının (117), Güneş Çakmak H.’ın (118), Çevlik ve arkadaşlarının (kadınlar için) (121), Özarda ve arkadaşlarının (123) çalışmalarındaki değerlerden daha düşük, Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) çalışmasındaki değerden ise daha yüksek olduğu gözlemlendi. Çalışmamızdaki değerler, Çevlik ve arkadaşlarının erkekler için (121) verdiği sınırlardan (nonparametrik yöntemle belirlediğimiz üst referans sınır hariç) düşüktü. Çalışmamızdaki değerler, Park SH ve arkadaşlarının (126) çalışmalarında belirlenen alt referans sınırdan yüksek, üst sınırdan düşüktü. Bildirici ve arkadaşlarının (119), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125) çalışmalarında verilen alt sınırlar, çalışmamız değerlerine yakın, üst referans sınırlarında ise (nonparametrik yöntemle belirlediğimiz hariç) çalışmamız değerlerinden yüksekti.



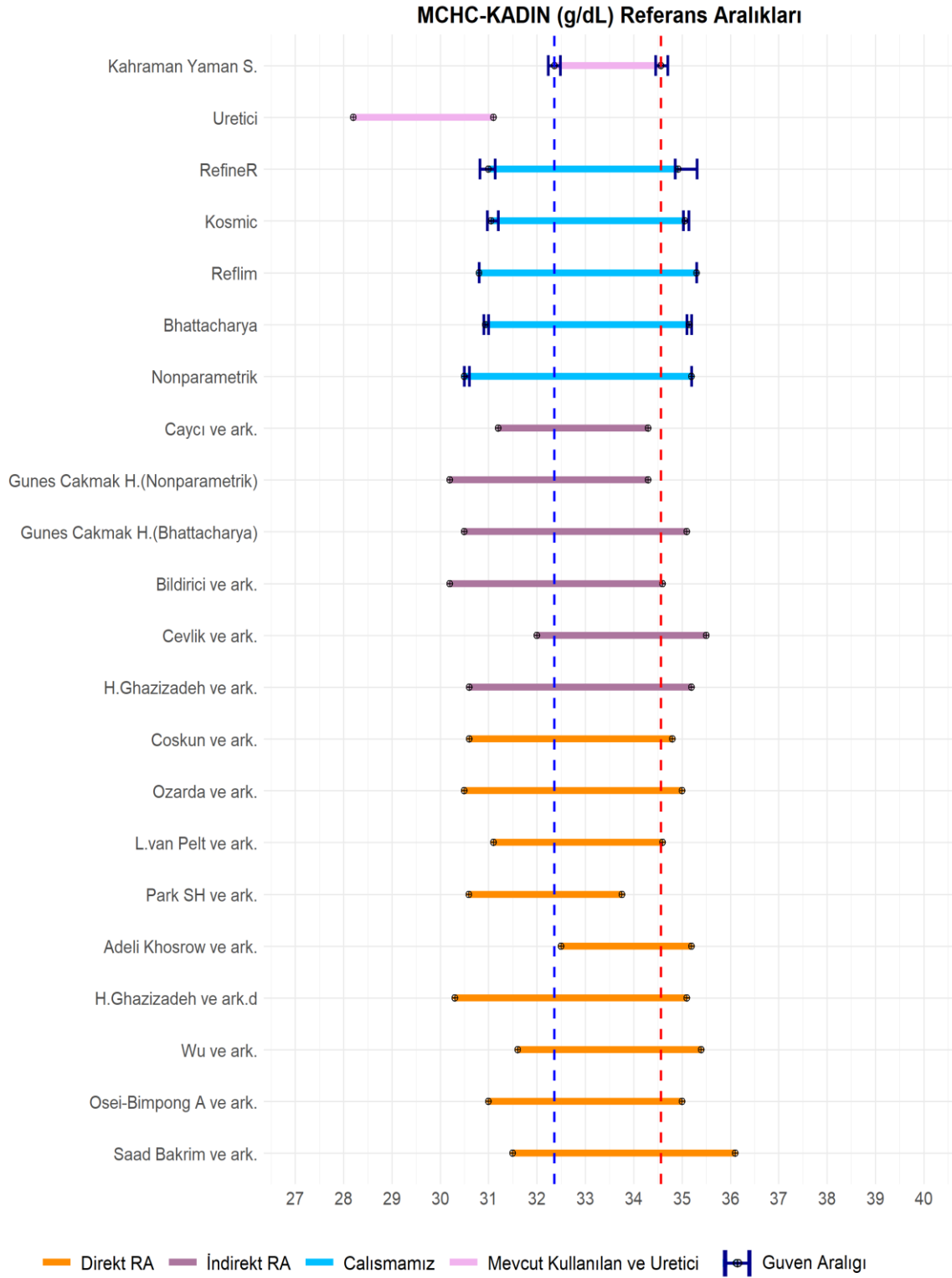
Şekil 59. Çalışmamız sonucu belirlenen MCH-ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler



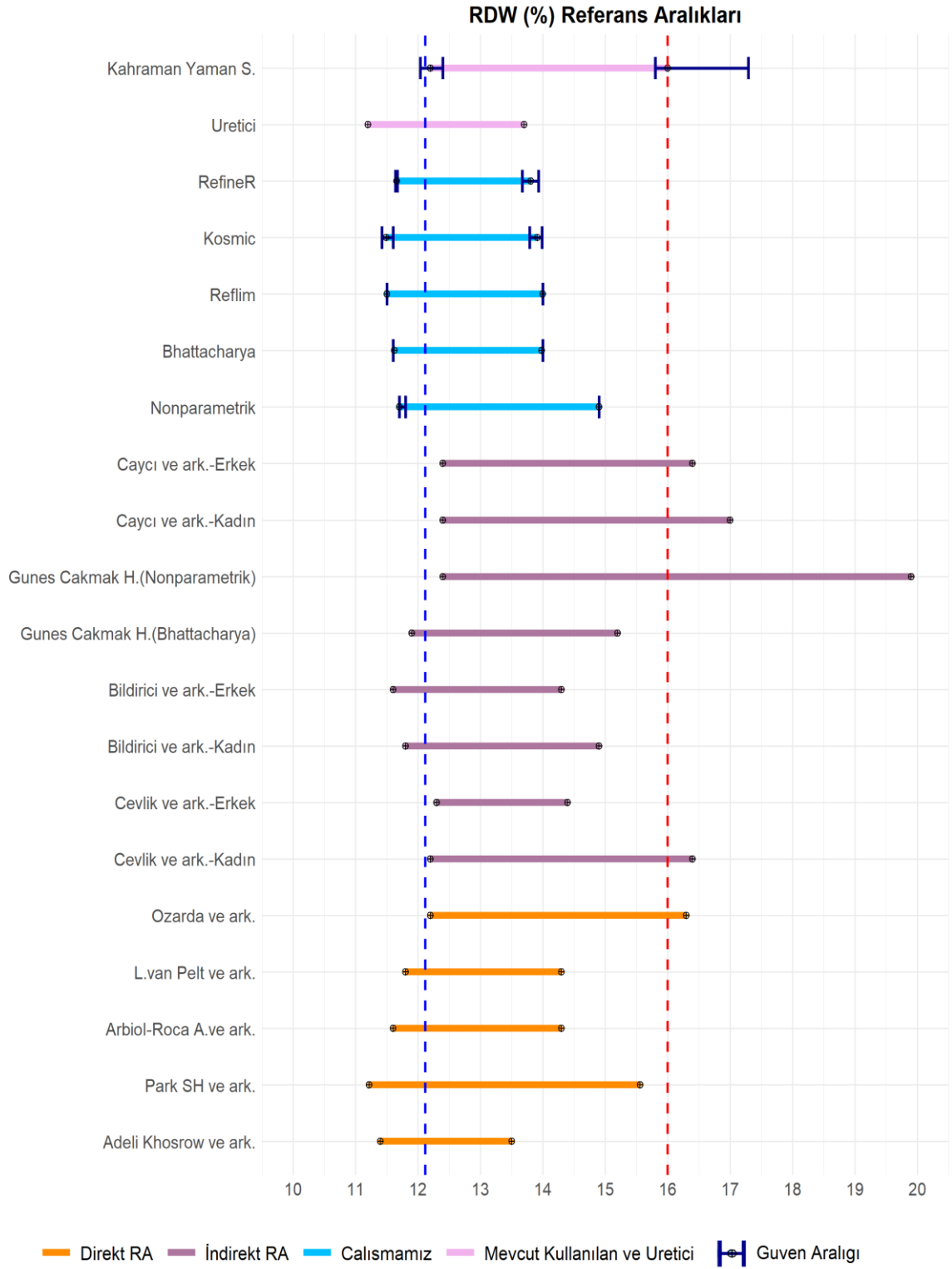
Şekil 60. Çalışmamız sonucu belirlenen MCH-KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 61. Çalışmamız sonucu belirlenen MCHC-ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 62. Çalışmamız sonucu belirlenen MCHC-KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 63. Çalışmamız sonucu belirlenen RDW referans aralıkları ve diğer referans değerler

Çalışmamızda belirlenen RBC ve ilişkili parametrelerin referans sınırları incelendiğinde, RBC ve RDW testleri dışında, nonparametrik yöntemin diğer yöntemlere kıyasla daha düşük alt referans değerler sağladığı, RDW testinde ise nonparametrik yöntemin diğer yöntemlere kıyasla daha yüksek üst referans değerleri sağladığı görüldü. Çalışmamıza benzer şekilde Güneş Çakmak H.'ın HB, MCV, MCH testleri için belirledikleri referans aralıklarda, nonparametrik yöntemin Bhattacharya yöntemine göre daha düşük alt referans sınırlar ürettiği, RDW testinde ise nonparametrik yöntemin Bhattacharya yöntemine kıyasla daha yüksek üst referans değerler sağladığı gözlemlendi (118).

Önemli bir halk sağlığı sorunu olan demir eksikliği anemisinde tam kan sayımında HB, HTC, MCV, MCH değerlerinde düşüklük, RDW'de ise yükseklik gözlenmektedir. Nonparametrik yöntemin diğer yöntemlere kıyasla referans sınırlarında farklılıklar göstermesinin nedenlerinden biri, diğer yöntemlerin uygulanması sırasında patolojik değerlerin dışlanması içeren algoritmaya sahip olması olabilir. Özellikle nonparametrik yöntemin, diğer yöntemlere kıyasla toplumda sık görülen demir eksikliği anemisinde gözlenen laboratuvar bulgularına benzer şekilde HB, HTC, MCV ve MCH testlerinde daha düşük alt referans sınır, RDW testinde ise daha yüksek üst referans sınır sağlamanın, yöntemdeki algoritma farklılığından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda RBC ve ilişkili parametrelerinden RBC, HB, HTC, MCH, MCHC testlerinde referans aralıklar erkekler ve kadınlar için ayrı ayrı belirlenmiştir. MCV ve RDW testlerinde ise cinsiyet ayrımı yapılmaksızın ortak referans aralık belirlenmiştir. Literatür incelendiğinde çalışmamıza benzer şekilde RBC, HB, HTC testlerinde referans aralıklar cinsiyete göre ayrı belirlendiği görülmektedir. Ancak bazı çalışmalarda MCH ve MCHC testlerinin referans aralıklarının cinsiyete göre ortak belirlendiği, bazı çalışmalarda ise cinsiyete göre ayrı referans aralık belirlendiği gözlemlendi. RDW testine bakıldığında ise cinsiyete göre ayrı referans aralıklarının belirlendiği çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Çalışmamızda erkekler için belirlenen RBC, HB, HTC, MCH ve MCHC referans sınırları kadınlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur ve bu bulguların literatürle uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Cinsiyet arası bu farklılıklar ise kadınlarda kronik menstrüel kan kaybı ve erkeklerdeki daha yüksek androjen seviyelerine bağlanmıştır (128,133).

WHO, önemli bir halk sağlığı sorunu olan aneminin değerlendirilmesi ve azaltılmasını sağlamak için kılavuz yayınlamıştır (134). Bu kılavuzda klinik semptomlar veya fonksiyonel bozuklukla ilgili sonuçlara dayalı olarak anemiyi tanımlamak için

hemoglobin eşik değerlerinin belirlenmesi tercih edilmiştir. Kılavuzda eşik değerler 15-65 yaş arası gebe olmayan kadınlar için 12 g/dL, 15-65 yaş arası erkekler için 13 g/dL olarak rapor edilmiştir. Alt referans değeri, her zaman anemi eşik değerinden yüksek olmalıdır, çünkü bu değer, anemik olmayan sağlıklı bireylerden hesaplanmaktadır (125). Biz de çalışmamızda, erkekler için (nonparametrik yöntemle belirlenen değer hariç) önerilen eşik değerinde alt referans sınırlar elde ederken, kadınlar için belirlediğimiz alt referans sınırların kılavuzda belirtilen eşik değerden daha düşük olduğunu tespit ettik. Bu durum, kadınlarda demir eksikliği anemisinin daha yaygın görülmesi ve çalışmamızda bu hastaların tamamının muhtemelen dışlanamamış olmasının bir sonucu olarak, alt referans değerlerin gerçek değerlerden daha düşük olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu klinik karar sınırlarının %100 sensitivite ve spesifisiteye sahip olmaması nedeniyle, referans sınırların klinik karar sınırlarının altında gelebileceği unutulmamalıdır. Literatürdeki birçok çalışmada, erkekler için bu klinik karar sınırının üzerinde alt referans sınırlar sunarken, kadınlar için ise klinik karar sınırının altında alt referans sınırlar görülmektedir ve bu durum çalışmamızla benzerlik oluşturmaktadır.

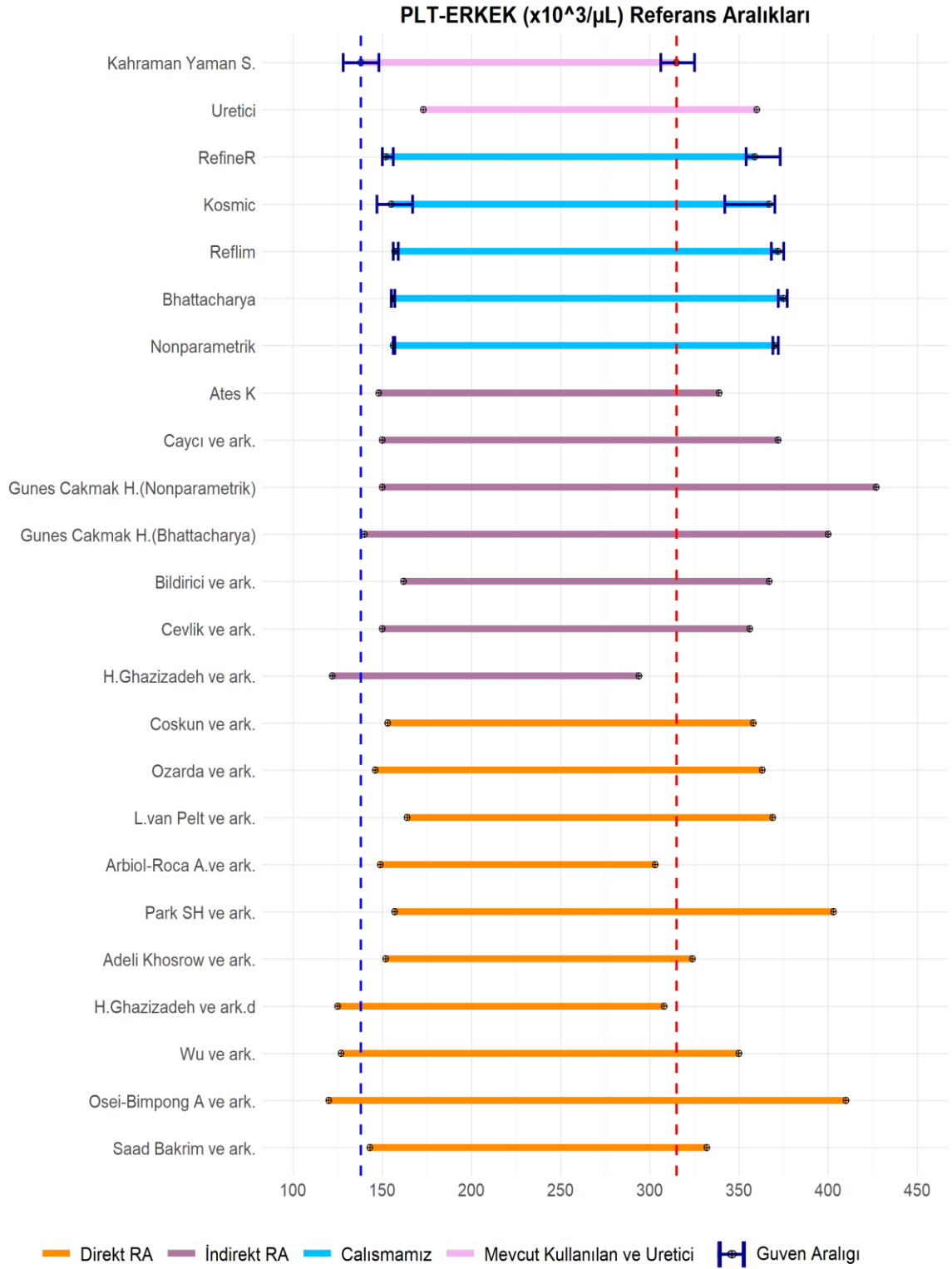
Özarda ve arkadaşlarının hematolojik parametrelerin referans aralıklarını belirlemek amacıyla ülkemizde 7 farklı bölgeden 12 laboratuvarın katılımıyla gerçekleştirdiği çok merkezli çalışmada, bazı testler için bölgeye özgü referans aralık gerektiği bildirilmiştir (123). Bu çalışma da her laboratuvarın kendi popülasyonuna özgü referans aralık belirlemesi gerekliliğini desteklemektedir.

RBC morfolojisinin temel özellikleri tanısal incelemenin bir parçası olarak klinikte düzenli şekilde kullanılır (3). Anemiler MCV değerine dayalı olarak alt sınıflara ayrılabilir. Bu yaklaşım, çoğu hastanın değerlendirilmesini mantıklı ve sistematik bir şekilde yapmayı sağlar. Normal RBC popülasyonları normosittir ve MCV değeri 80 ila 100 fL arasındadır. Bu aralıktan küçük olanlara mikrositik RBC (MCV değeri 80 fL'den küçüktür) ve büyük olanlar makrositik RBC (MCV değeri 100 fL'nin üzerindedir) olarak adlandırılır (3). Klinikte referans değerler yerine bu değerler sıklıkla kullanılmaktadır.

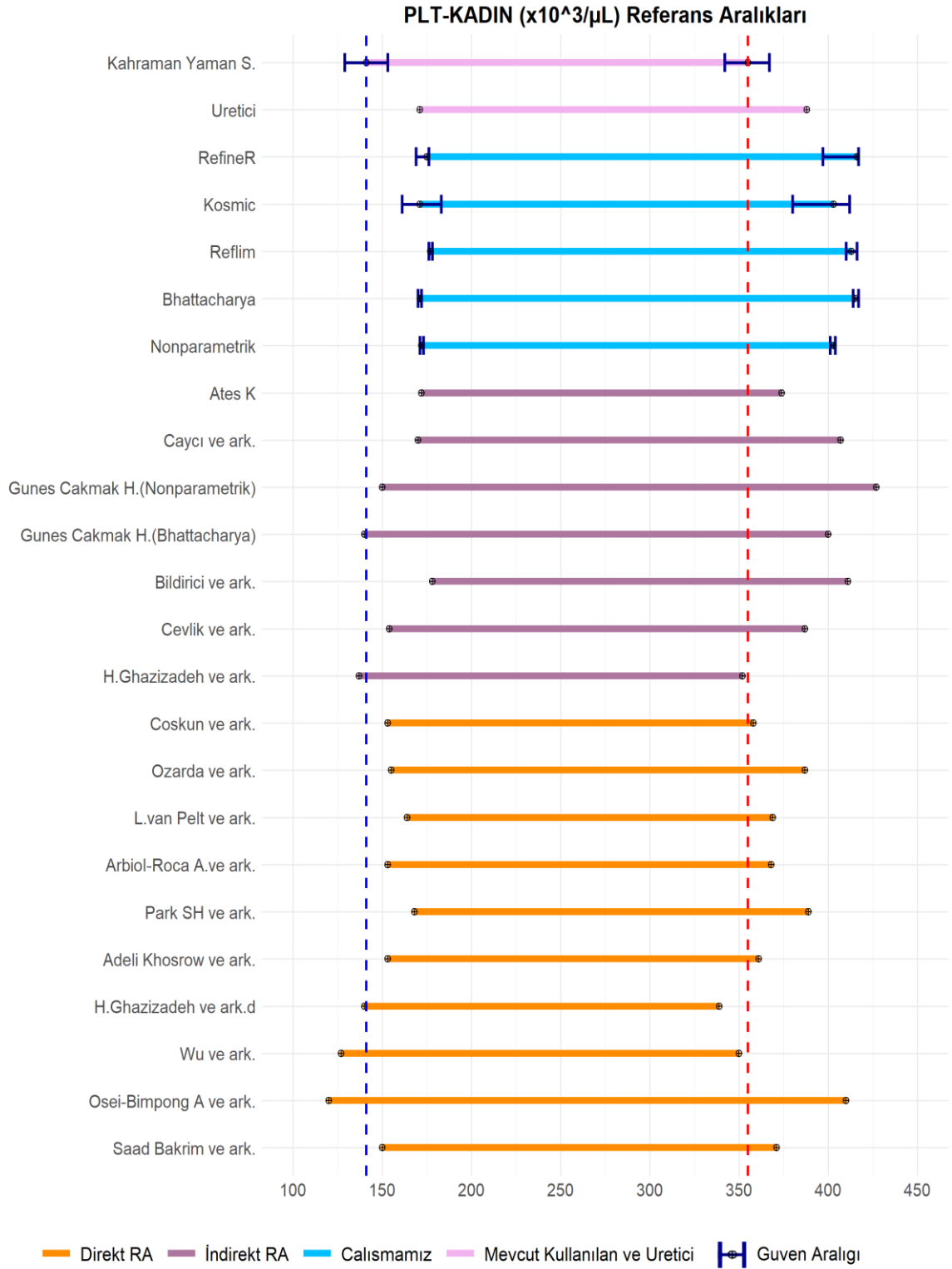
Çalışmalar arasında referans bireylerin örnekleme yöntemleri, referans popülasyonun özellikleri (örneğin etnik köken, beslenme koşulları, yaşam tarzı, sigara ve alkol kullanımı, egzersiz, genetik), yaşanan bölgenin rakımı gibi çevresel faktörler ve referans aralıkların belirlenmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler gibi değişkenlerin, referans aralıklar arasında farklılıklara neden olabileceği değerlendirilmektedir. Ayrıca, ölçüm yöntemindeki değişiklikler de çalışmalar arasında farklılıkları etkileyebilir.

Tablo 10 ve Şekil 64’de erkekler için belirlenen PLT referans aralıkları incelendiğinde, çalışmamızda belirlenen referans aralıklarının tüm yöntemlerde uyumluydu. Çalışmamız değerleri, Kahraman Yaman S.’in çalışmasında verilen sınırlardan yüksekti (115). Üretici tarafından sağlanan alt referans sınır, çalışmamız değerlerinden yüksek, üst referans sınırdaki ise bulgularımıza yakındı. Güneş Çakmak H.’ın (Bhattacharya) (118), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (121), Wu ve arkadaşlarının (128), Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129), Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında verilen alt referans sınırların çalışmamızdan düşük olduğu, bu çalışmalar dışındaki alt referans sınırların ise bulgularımızla yakınlık gösterdiği görüldü. Üst referans sınırlarında ise Güneş Çakmak H.’ın (118), Park SH ve arkadaşlarının (126), Osei-Bimpong A. ve arkadaşlarının (129) çalışmalarında verilen değerler bulgularımızdan yüksekti. Ateş K. ve arkadaşlarının (116), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (121), Arbiol-Roca A. ve arkadaşlarının (125), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) ve Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmalarında bildirilen üst referans sınırlar bulgularımızdan düşüktü. Bu çalışmalar dışındaki üst referans sınırlar çalışmamızla yakın değerlere sahipti.

Tablo 10 ve Şekil 65’de kadınlar için belirlenen PLT testi referans aralıkları incelendiğinde, belirlediğimiz referans sınırların Kahraman Yaman S.’in çalışmasında verilen değerlerden yüksek olduğu görüldü (115). Üretici tarafından sağlanan referans sınırları çalışmamızda belirlenen değerlere yakındı. Ateş K. ve arkadaşlarının (116), Çaycı ve arkadaşlarının (117), Bildirici ve arkadaşlarının (119), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124) ile Park SH ve arkadaşlarının (126) çalışmalarında verilen alt referans sınırları çalışmamızda belirlenen değerlerle uyumluydu. Bu çalışmalar haricinde verilen çalışmalarda alt referans değerleri çalışmamızdan düşüktü. Üst referans sınırlarında ise Güneş Çakmak H.’ın nonparametrik yöntemle belirlediği değer çalışmamızdan yüksek olduğu görüldü (118). Ateş K. ve arkadaşlarının (116), H. Ghazizadeh ve arkadaşlarının (121), Coşkun ve arkadaşlarının (122), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125), Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127), Wu ve arkadaşlarının (128) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmaların verilen üst referans sınırlar çalışmamızdan düşüktü. Bu çalışmalar dışında verilen üst referans sınırlar çalışmamız değerleriyle uyumluydu.



Şekil 64. Çalışmamız sonucu belirlenen PLT-ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 65. Çalışmamız sonucu belirlenen PLT-KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler

Tablo 10 ve Şekil 66’de verilen MPV referans aralıkları incelediğinde yöntemler arasında MPV referans aralıklarında çok düşük farklılıklar olduğu görüldü. Belirlediğimiz referans sınırlar, Kahraman Yaman S.’in çalışmasında verilen değerlerden yüksekti (115). Üreticinin sağlanadığı alt referans sınır çalışmamız değerlerinden yüksek, üst referans sınır ise çalışmamızla uyumluydu. MPV referans aralıklarına bakıldığında iki farklı eğilim görülmektedir ve bu eğilimlere göre bu çalışmalardaki referans sınırlar iki gruba ayrılabilir. İlk olarak referans aralıkların daha düşük ve birbirleriyle tutarlı olduğu Kahraman Yaman S.’in (115), Güneş Çakmak H.’ın (118), Çevlik ve arkadaşlarının (120) ile Adeli Khosrow ve arkadaşlarının (127) çalışmaları, ikinci olarak ise referans sınırların daha yüksek ve birbirleriyle daha tutarlı olduğu bizim çalışmamız, Bildirici ve arkadaşlarının (119), Coşkun ve arkadaşlarının (122), Özarda ve arkadaşlarının (123), L.van Pelt ve arkadaşlarının (124), Arbiol-Roca A.ve arkadaşlarının (125), Park SH ve arkadaşlarının (126) ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının (130) çalışmaları (Arbiol-Roca A.ve arkadaşları ile Saad Bakrim ve arkadaşlarının çalışmalarındaki alt ve üst sınırlarda düşük farklılıklar bulunmakta). Bu iki grup arasında çeşitli farklılıklar bulunmakla birlikte, kendi içlerinde referans sınırların birbirine yakın olduğu gözlenmektedir. Bu farklılıkların kullanılan otoanalizörlerdeki değişikliklerinden kaynaklı olabileceği düşünüldü. İlk grubun referans aralıkları Beckman Coulter otoanalizörlerinde, bizim çalışmamızın da dahil olduğu ikinci grubun ise Sysmex otoanalizörlerinde belirlendiği tespit edildi.

Çalışmamızda PCT referans aralıkları, erkekler ve kadınlar için ayrı ayrı belirlendi. Tablo 10, Şekil 67 ve Şekil 68’deki çalışmalar incelendiğinde, çalışmamıza benzer olarak Bildirici ve arkadaşları ile Park SH. ve arkadaşlarının cinsiyet açısından ayrı referans aralık belirlendiği görüldü (119,126). Her iki cinsiyet için, tüm yöntemlerde belirlediğimiz PCT referans sınırları kendi içinde uyumluydu. Her iki cinsiyet için belirlenen referans sınırları, Kahraman Yaman S.’in (115), Güneş Çakmak H.’ın (118), Çevlik ve arkadaşlarının (120) çalışmalarında verilenlerden yüksekti. Erkekler için belirlediğimiz PCT alt referans sınırları, Bildirici ve arkadaşlarının (119), Coşkun ve arkadaşlarının (122) ve L.van Pelt ve arkadaşlarının (124) çalışmalarından ve üretici değerlerinden düşük, Park SH ve arkadaşlarının (126) belirledikleri alt sınırdan yüksekti. Erkekler için belirlediğimiz PCT üst referans aralıkları ise, üretici değerleri ile Bildirici ve arkadaşları (119), Coşkun ve arkadaşları (122) ve Park SH ve arkadaşlarının (126) çalışmasında verilen değerlere yakın, L.van Pelt ve arkadaşlarının (124) çalışmalarında verilen değerden düşüktü. Kadınlar için belirlediğimiz PCT referans aralıkları Coşkun ve arkadaşlarının (122) ve Park SH ve

arkadaşlarının (126) çalışmalarının değerlerine yakın, Bildirici ve arkadaşlarının (119) ve L.van Pelt ve arkadaşlarının (124) çalışmalarındaki değerlerden düşüktü.

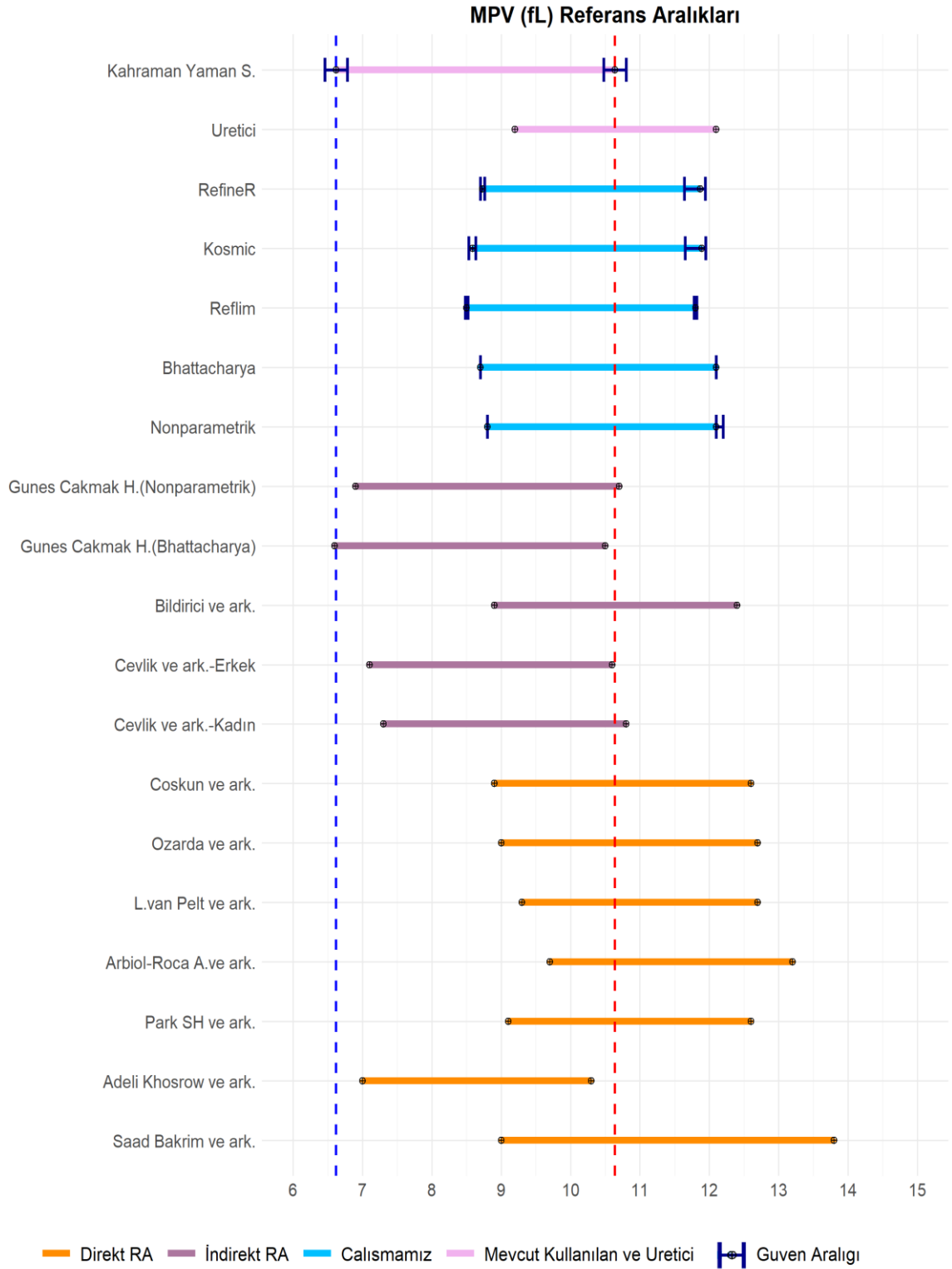
Tablo 10 ve Şekil 69’da verilen PDW referans aralıkları değerlendirildiğinde nonparametrik ve Bhattacharya yöntemlerinin daha yüksek referans sınırlar sağladığı, Kosmic ve RefineR yöntemlerinin birbirleriyle uyumlu referans değerler sağladığı görüldü. Üreticinin sağladığı alt referans sınır, çalışmamızda belirlenen değerlere kıyasla daha yüksek, üst referans sınırda ise Kosmic ve RefineR yöntemleriyle belirlenen değerlerle uyumlu olduğu görüldü. Belirlediğimiz alt referans sınırlar çalışmalardaki değerlerden daha düşüktü. Bildirici ve arkadaşlarının, Çoskun ve arkadaşlarının ve Park SH ve arkadaşlarının çalışmalarında verilen üst referans sınırlar, nonparametrik ve Bhattacharya yöntemleriyle belirlenen değerlerle uyumluydu. L.van Pelt ve arkadaşlarının tarafından belirlenen üst referans sınırlar çalışmamız değerlerinden yüksekti.

Çalışmalar incelendiğinde PLT referans sınırlarını değerlendiren çalışmaların birçoğu MPV, PCT, PDW parametrelerini kapsamadığı görüldü.

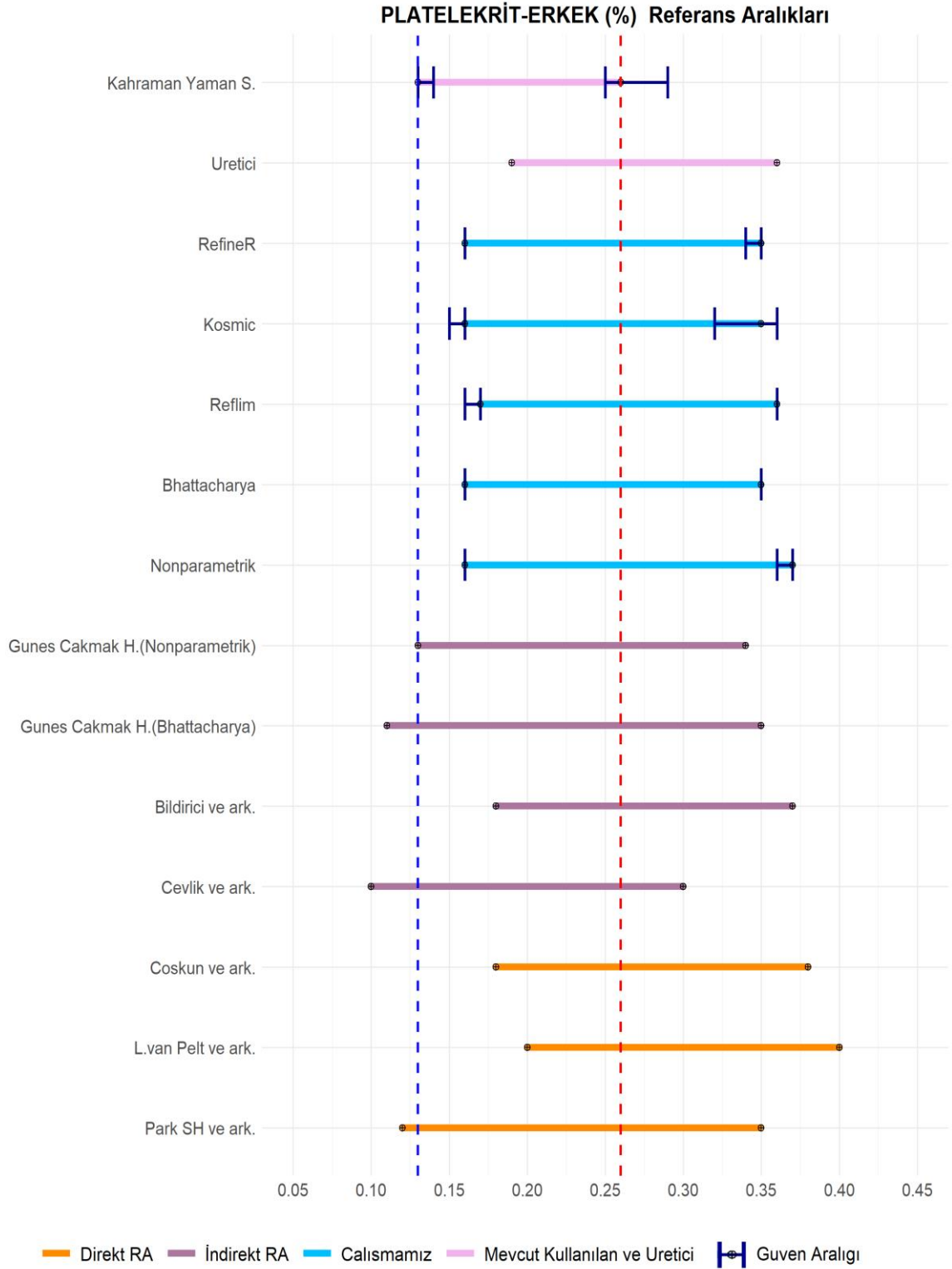
Çalışmamızda PLT ve PCT parametrelerinde referans aralıklar erkekler ve kadınlar için ayrı ayrı belirlendi. Çalışmaların bir kısmında PLT ve PCT referans aralıklarını erkekler ve kadınlar için ayrı ayrı belirlediği gözlemlendi. Kadınlar için belirlediğimiz PLT ve PCT referans aralıklarının erkekler için belirlenen değerlere göre yüksek olduğu görüldü ve bu durum diğer çalışmalarla tutarlıydı. Kadınlarda trombosit sayısının daha yüksek olması, trombosit üretimini uyaran östrojen hormonon kadınlarda erkeklere kıyasla daha fazla olmasından kaynaklanıyor olabilir (135). Ayrıca, vücutta demir depolarının azalmasının, trombosit üretimini uyardığı gösterildiğinden, kadınlardaki daha yüksek trombosit sayısı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (136,137).

Çalışmalar arasında referans bireylerin örnekleme yöntemleri, referans popülasyonun özellikleri (örneğin, etnik köken, beslenme koşulları, yaşam tarzı, genetik ve çevresel faktörler) ve referans aralıkların belirlenmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler gibi değişkenlerin, referans aralıklar arasında farklılıklara neden olabileceği değerlendirilmektedir. Ayrıca, farklı çalışmalar arasındaki metodolojik değişkenler gözlemlenen farklılıkların yorumlanmasına katkı sağlar.

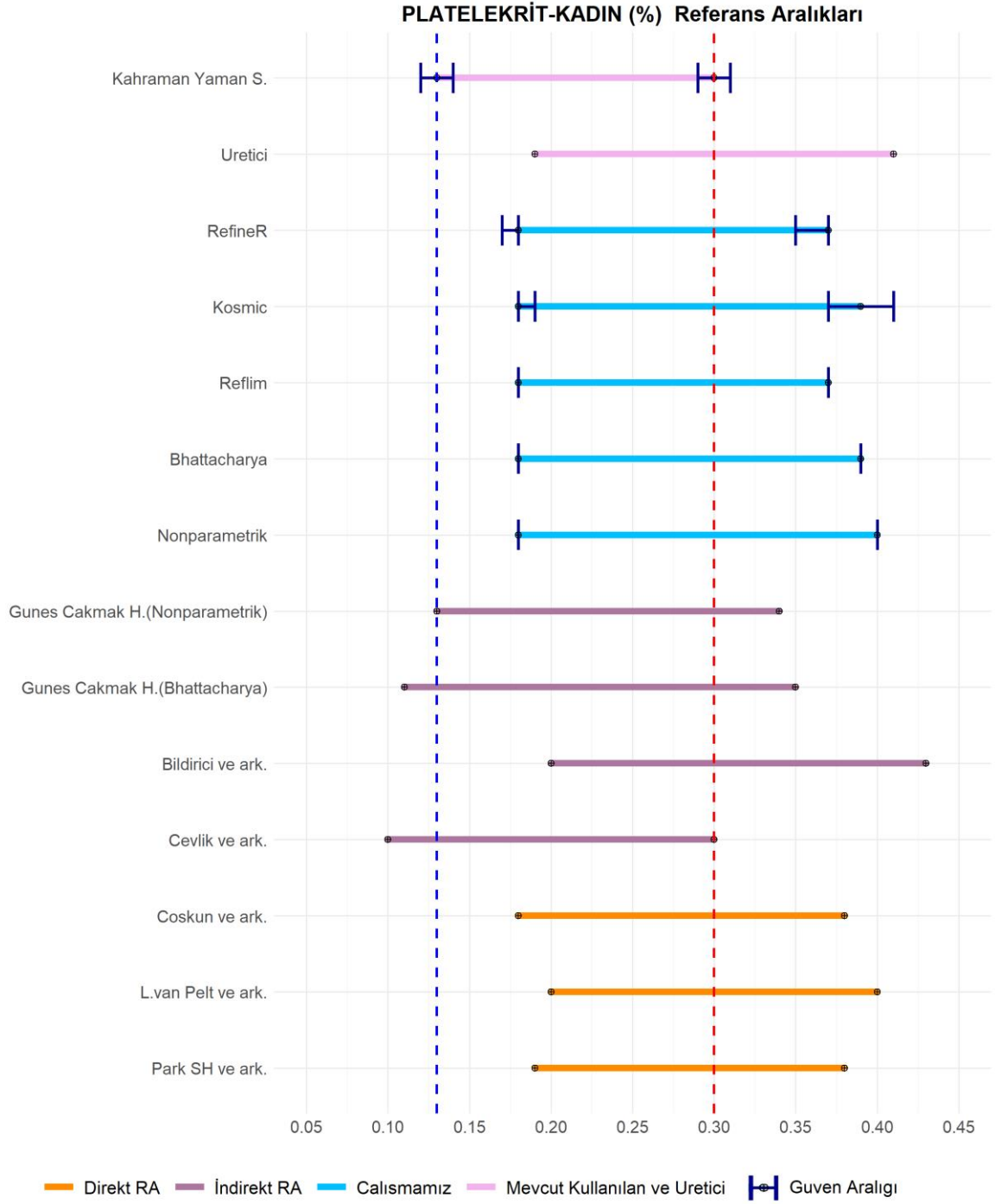
Birçok kitapta ve kaynakta PLT için referans aralık $150-450 \times 10^3/\mu\text{L}$ olarak verilmektedir (138–140). Bu değerler laboratuvar sonuç raporlarında referans olarak verilebilir.



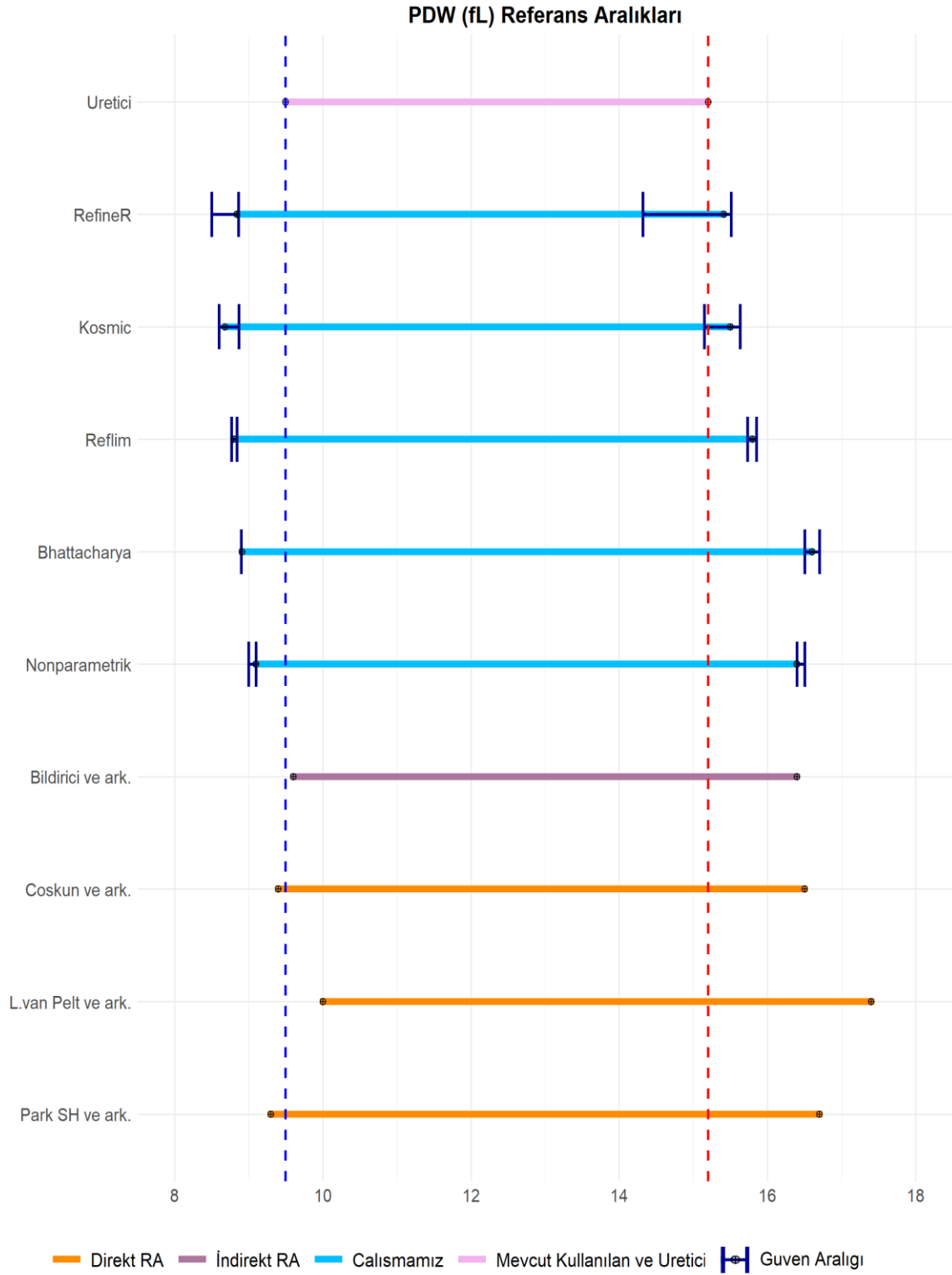
Şekil 66. Çalışmamız sonucu belirlenen MPV referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 67. Çalışmamız sonucu belirlenen PCT-ERKEK referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 68. Çalışmamız sonucu belirlenen PCT-KADIN referans aralıkları ve diğer referans değerler



Şekil 69. Çalışmamız sonucu belirlenen PDW referans aralıkları ve diğer referans değerler

Bu çalışmanın sonunda, oluşturduğumuz referans aralıklardan nonparametrik yöntemle belirlenen değerlerin diğer yöntemlere kıyasla daha tutarsız sonuçlar verdiği ve literatürden daha fazla farklılık gösterdiğini gözlemledik. Bhattacharya yöntemi, nonparametrik yönetime kıyasla literatüre daha yakın değerler üretse de analize öznellik katabilen ve otomatik analizi engelleyen görsel incelemeye dayanması ve kullanıcı bağımlı olması en büyük dezavantajlarıdır (55,96,97). Ancak Bellview Bhattacharya analiz yazılımı gibi bazı programların Bhattacharya analizinde öznelliği azaltılabileceğini düşünmekle birlikte bu program kullanılsa dahi BA% testi gibi veri dağılımında çarpıklığın arttığı durumlarda subjektif değerlendirmeye açık olduğu çalışmamızda görülmektedir (94).

Kosmic ve RefineR yöntemlerinin birbirleriyle tutarlı sonuçlar ürettiği görüldü. Yakın zamanda sunulan ReflimR yöntemi sonuçlarının, Kosmic ve RefineR sonuçlarından belirgin şekilde farklılık göstermediği görüldü. Kosmic yönteminin özellikle WBC ve NE# parametreleri için direkt referans aralık çalışması ve literatürle daha yakın olması dikkat çekiciydi. Bunlarla birlikte Kosmic yönteminin literatürdeki direkt referans aralık çalışmalarıyla daha tutarlı olduğu gözlemlendi.

Belirlenen referans aralıkların, kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi açısından CLSI EP28-A3c kılavuzuna dayalı olarak doğrulama işlemi gerçekleştirildi. Yapılan doğrulama işleminde tüm parametrelerde bütün yöntemlerle elde edilen referans aralıklar geçerli kabul edildi. Ancak, bu doğrulama sürecinin ciddi bir dezavantaj olabileceği de unutulmamalıdır, çünkü belirlenen referans aralık, patolojik verilerin tamamının dışlanmamasının bir sonucu olarak gerçek olandan daha geniş olması halinde, doğrulama işleminde kullanılan referans bireylerden elde edilen referans değerlerin büyük ihtimalle bu referans aralık içinde yer alabileceği göz ardı edilmemelidir (141).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma laboratuvarımızda 9 yıllık döneme ait hasta sonuçlarını, nonparametrik yöntem, indirekt yöntem için klasikleşmiş Bhattacharya tekniği ve üç yeni nesil indirekt yöntem olan ReflimR, Kosmic ve RefineR yaklaşımlarının kullanılmasıyla belirlenen tam kan sayımı parametrelerine ait referans aralıkları kapsamaktadır.

Literatürdeki çalışmalar ile bizim çalışmamız arasında farklılıklar olmasının birçok nedeni olabilir. Çalışmalar arasında referans bireylerin örnekleme yöntemleri, referans popülasyonun özellikleri (örneğin, etnik köken, beslenme koşulları, yaşam tarzı, genetik ve çevresel faktörler) ve referans aralıkların belirlenmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler gibi değişkenlerin, referans aralıklar arasında farklılıklara neden olabileceği değerlendirilmektedir. Ayrıca, farklı çalışmalar arasındaki metodolojik değişkenler gözlemlenen farklılıklarından nedenlerinden biri olabilir. Bu farklılıkları azaltmak için hem direkt hem de indirekt referans aralığı çalışmalarında standardizasyon ve harmonizasyon büyük önem taşımaktadır.

Yeterli veri sayısına ulaşmanın daha kolay olması, maliyetlerin düşük olması, süreçlerin hızlı ilerlemesi ve çalışmanın tekrarlanabilirliğinin kolay olması gibi faktörler, günümüzde büyük analitik verilerin daha erişilebilir olmasıyla ve istatistiksel olarak daha sağlam ve kullanıcı dostu yöntemlerin geliştirilmesiyle birleştiğinde, indirekt referans aralık belirleme yöntemlerinin direkt referans aralık belirleme yöntemlerine göre önemli avantajlar sunduğu görülmektedir. Ayrıca indirekt yöntemler rutin uygulamada kullanılan gerçek preanalitik ve analitik koşulları da içermektedir.

İndirekt yöntemlerin uygulanması için çeşitli yaklaşımlar bulunmakla birlikte standart bir algoritma konusunda bir fikir birliği bulunmamaktadır. IFCC, klinik laboratuvarları indirekt yöntemler üzerinde fikir birliği oluşturmaya teşvik etmekte ve gelecekteki standardizasyonun referans aralık çalışmalarında şeffaflığı da artıracaklarını öngörmektedir.

Farklı indirekt tekniklerin kullanılmasının referans aralıkları önemli ölçüde etkilediği görülmüştür. Çalışmamızda, Kosmic ve RefineR yöntemleri kullanılarak belirlenen referans aralıkların, diğer yöntemlere kıyasla laboratuvarımızda direkt yöntemle elde edilen sonuçlarla ve literatürdeki çalışmalarla en tutarlı sonuçlar ürettiği tespit edildi. İndirekt referans aralık çalışmalarında sıklıkla kullanılan ve klasik yöntemler olan nonparametrik ve Bhattacharya yaklaşımlarının yerine yeni nesil indirekt yöntemler olan Kosmic ve RefineR yöntemleri ile referans aralık belirlenmesini önermekteyiz.

Çalışmamızın indirekt yöntemler kullanarak referans aralık belirleme çalışmalarına katkı sağlayacağını, özellikle klinik laboratuvarlar için önemli bilgiler ve metodolojik referanslar sunduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamız, indirekt yöntemlerin klinik laboratuvarlar için pratikliğini ve etkinliğini göstermekte ve referans aralık belirleme sürecine entegre edilmeleri için kapsamlı bir bakış açısı ortaya koymaktadır. Bu değerlendirmeler ışığında çalışmamızın laboratuvarlarında indirekt referans aralık belirlemek ve uygulamak isteyen araştırmacılar için sürecin yönetilmesine yönelik yol gösterici olacağını umuyoruz.

Doğru referans aralıklarının kullanımı, klinik laboratuvar uzmanlarının önemli bir sorumluluğudur. Referans aralıklarının kalitesi, sonucun yorumlanmasında en az sonucun kalitesi kadar önemli bir yer tutmaktadır. Önümüzdeki yıllarda, indirekt yöntem hakkında daha fazla deneyim kazanıldıkça bu tekniklerin gelişerek daha değerli hale geleceğini ve direkt yöntemin yerini alabileceğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Ichihara K, Boyd JC. An appraisal of statistical procedures used in derivation of reference intervals. *Clin Chem Lab Med*. 2010 Nov;48(11):1537–51.
2. Marshall W. J., Bangert S. K., and Lapsley M. *Clinical chemistry*. Mosby Elsevier 2012. .
3. Horowitz Gary and Jones Graham R.D. Establishment and Use of Reference Intervals. In: *Tietz Textbook of Laboratory Medicine Editors: Rifai Nader*, 7th Ed. Elsevier Inc. 2022. p 166–194.
4. Iicol YO, Aslan D. Use of total patient data for indirect estimation of reference intervals for 40 clinical chemical analytes in Turkey. *Clin Chem Lab Med*. 2006 Jul 1;44(7):867–76.
5. Bakan E, Polat H, Ozarda Y, Ozturk N, Baygutalp NK, Umudum FZ, et al. A reference interval study for common biochemical analytes in Eastern Turkey: a comparison of a reference population with laboratory data mining. *Biochem Med (Zagreb)*. 2016;210–23.
6. Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queraltó JM, et al. The theory of reference values: An unfinished symphony. Vol. 51, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2013. p. 47–64.
7. CLSI Ia. EP28-A3c defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory. Approved Guideline; 2010.
8. ISO. Medical laboratories—particular requirements for quality and competence. Geneva: ISO; 2012. ISO 15189.
9. PetitClerc C, Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *Clinica Chimica Acta*. 1987 Dec;170(2–3):S1–11.
10. Solberg HE, PetitClerc C. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *Clinica Chimica Acta*. 1988 Oct;177(3):S3–11.
11. Jones GRD, Haeckel R, Loh TP, Sikaris K, Streichert T, Katayev A, et al. Indirect methods for reference interval determination – review and

- recommendations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2018 Dec 19;57(1):20–9.
12. Ceriotti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*. 2009 Jan 1;46(1):8–17.
 13. Grasbeck R AT. *Reference values in laboratory medicine*. Chichester, UK: John Wiley; 1981.
 14. Baadenhuijsen H, J. C. S. Indirect Estimation of Clinical Chemical Reference Intervals from Total Hospital Patient Data: Application of a Modified Bhattacharya Procedure. *Clin Chem Lab Med*. 1985;23(12).
 15. Murphy EA. The Normal, and the Perils of the Sylleptic Argument. *Perspect Biol Med*. 1972 Jun;15(4):566–82.
 16. Solberg HE, Gräsbeck R. Reference Values. In 1989. p. 1–79.
 17. Solberg HE. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *Clinica Chimica Acta*. 1987 May;165(1):111–8.
 18. Ozarda Y, Sikaris K, Streichert T, Macri J. Distinguishing reference intervals and clinical decision limits—A review by the IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits. Vol. 55, *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. Taylor and Francis Ltd; 2018. p. 420–31.
 19. Lindstedt G TN. There is difference between decision limits and reference intervals. Reference intervals are based on measurements in healthy individuals, decision limits on measurements in patients. *Lakartidningen*. 2007;104:2076–2079.
 20. Waise A, Price HC. The upper limit of the reference range for thyroid-stimulating hormone should not be confused with a cut-off to define subclinical hypothyroidism. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*. 2009 Mar 22;46(2):93–8.
 21. EMA: Guideline on clinical investigation of medicinal products in the treatment or prevention of diabetes mellitus. European Medicines Agency; 2012. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/06/WC500129-256.pdf. [cited 2018 June 15].

22. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2020. Diabetes Care. 2020 Jan 1;43:S14–31.
23. Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Tetkik ve Teşhis Hizmetleri Dairesi Başkanlığı “Akılcı Laboratuvar Kullanımı Projesi” çerçevesinde Karar Sınırı (Eşik Değer), Kritik Değer (Panik Değer) ve Ölçüm Birimlerinin Harmonizasyonu Prosedürü . 2020;
24. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults. Circulation. 2014 Jun 24;129(25_suppl_2).
25. Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. Pediatrics. 2004 Jul 1;114(1):297–316.
26. C.G. Fraser, Biological Variation: From Principles to Practice, AACC Press, Washington, DC, 2001.
27. Fraser CG, Hytloft Peterson P, Larsen ML. Setting analytical goals for random analytical error in specific clinical monitoring situations. Clin Chem. 1990 Sep 1;36(9):1625–8.
28. Harris EK. Effects of Intra-and Interindividual Variation on the Appropriate Use of Normal Ranges. Clin Chem. 1974 Dec 1;20(12):1535–42.
29. Fraser GG, Harris EK. Generation and Application of Data on Biological Variation in Clinical Chemistry. Crit Rev Clin Lab Sci. 1989 Jan 27;27(5):409–37.
30. Ozarda Y. Establishing and using reference intervals. Turkish Journal of Biochemistry. 2020 Feb 25;45(1):1–10.
31. Tate JR, Sikaris KA, Jones GR, Yen T, Koerbin G, Ryan J, et al. Harmonising Adult and Paediatric Reference Intervals in Australia and New Zealand: An Evidence-Based Approach for Establishing a First Panel of Chemistry Analytes. Vol. 35, Australasian Association of Clinical Biochemists. 2014.
32. Ceriotti F. Prerequisites for Use of Common Reference Intervals. Vol. 28, Clin Biochem Rev. 2007.
33. Ozarda Y, Ichihara K, Aslan D, Aybek H, Ari Z, Taneli F, et al. A multicenter nationwide reference intervals study for common biochemical analytes in

- Turkey using Abbott analyzers. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2014 Jan 1;52(12).
34. Doyle K, Bunch DR. Reference intervals: past, present, and future. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2023 Aug 18;60(6):466–82.
 35. Zierk J, Krebs A, Rauh M, Metzler M, Löscher A, Strasser E, et al. Blood counts in adult and elderly individuals: defining the norms over eight decades of life. *Br J Haematol*. 2020 May 6;189(4):777–89.
 36. Metz MP, Loh TP. Describing children's changes using clinical chemistry analytes. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017 Jan 1;55(1):1–2.
 37. Ceriotti F. Establishing Pediatric Reference Intervals: A Challenging Task. *Clin Chem*. 2012 May 1;58(5):808–10.
 38. Haeckel R, Wosniok W, Arzideh F, Zierk J, Gurr E, Streichert T. Critical comments to a recent EFLM recommendation for the review of reference intervals. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017 Jan 1;55(3).
 39. Loh TP, Antoniou G, Baghurst P, Metz MP. Development of paediatric biochemistry centile charts as a complement to laboratory reference intervals. *Pathology*. 2014 Jun;46(4):336–43.
 40. Higgins V, Adeli K. Advances in pediatric reference intervals: from discrete to continuous. *J Lab Precis Med*. 2018 Jan 21;3:3–3.
 41. Hoq M, Canterford L, Matthews S, Khanom G, Ignjatovic V, Monagle P, et al. Statistical methods used in the estimation of age-specific paediatric reference intervals for laboratory blood tests: A systematic review. *Clin Biochem*. 2020 Nov;85:12–9.
 42. Schnabl K, Chan MK, Gong Y, Adeli K. Closing the Gaps in Paediatric Reference Intervals: The CALIPER Initiative. Vol. 29, *Clin Biochem Rev*. 2008.
 43. Zierk J, Metzler M, Rauh M. Data mining of pediatric reference intervals. *Journal of Laboratory Medicine*. 2021 Dec 20;45(6):311–7.
 44. de Onis M. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr*. 2006 Apr 2;95(S450):76–85.

45. Siest G, Henny J, Schiele F, Young DS. Interpretation of clinical laboratory tests: reference values and their biological variation. Foster City, CA: Biomedical Publications. 1985;
46. Faulkner WR, Meites S. Geriatric clinical chemistry: reference values. Washington, DC: AACC Press; 1997. 1997;
47. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, Daly CH, Brinc D, Venner AA, et al. Closing the Gaps in Pediatric Laboratory Reference Intervals: A CALIPER Database of 40 Biochemical Markers in a Healthy and Multiethnic Population of Children. Clin Chem. 2012 May 1;58(5):854–68.
48. Harris EK. Statistical aspects of reference values in clinical pathology. In: Stefani M, Benson ES, eds. Progress in clinical pathology. New York: Grune & Stratton; 45-66. 1981;
49. Ozarda Y, Ichihara K, Jones G, Streichert T, Ahmadian R. Comparison of reference intervals derived by direct and indirect methods based on compatible datasets obtained in Turkey. Clinica Chimica Acta. 2021 Sep;520:186–95.
50. Bhattacharya CG. A Simple Method of Resolution of a Distribution into Gaussian Components. Biometrics. 1967 Mar;23(1):115.
51. Jones G, Horowitz G. Reference Intervals Data Mining: Getting the Right Paper. Am J Clin Pathol. 2015 Sep 1;144(3):526–7.
52. Ngiam KY, Khor IW. Big data and machine learning algorithms for health-care delivery. Lancet Oncol. 2019 May;20(5):e262–73.
53. Haeckel R, Wosniok W, Streichert T. Review of potentials and limitations of indirect approaches for estimating reference limits/intervals of quantitative procedures in laboratory medicine. Journal of Laboratory Medicine. 2021 Apr 27;45(2):35–53.
54. Ammer T, Schützenmeister A, Rank CM, Doyle K. Estimation of Reference Intervals from Routine Data Using the refineR Algorithm—A Practical Guide. J Appl Lab Med. 2023 Jan 4;8(1):84–91.
55. Martínez-Sánchez L, Marques-García F, Ozarda Y, Blanco A, Brouwer N, Canalias F, et al. *Big data* e intervalos de referencia: motivación, prácticas actuales, prerequisites de armonización y estandarización y futuras perspectivas en el cálculo de intervalos de referencia mediante métodos

- indirectos. *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*. 2021 Mar 10;2(1):17–25.
56. Plebani M, Sciacovelli L, Aita A, Chiozza ML. Harmonization of pre-analytical quality indicators. *Biochem Med (Zagreb)*. 2014;105–13.
 57. Özçürümez MK, Haeckel R. Biological variables influencing the estimation of reference limits. *Scand J Clin Lab Invest*. 2018 Jul 4;78(5):337–45.
 58. Jones G, Barker A. Reference Intervals. Vol. 29, *Clin Biochem Rev*. 2008.
 59. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J*. 2010 Dec;31(23):2844–53.
 60. Katayev A, Balciza C, Seccombe DW. Establishing Reference Intervals for Clinical Laboratory Test Results. *Am J Clin Pathol*. 2010 Feb 1;133(2):180–6.
 61. Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *Clinica Chimica Acta*. 1987 Dec;170(2–3):S13–32.
 62. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of Statistical Method Used on the Resulting Estimate of Normal Range. *Clin Chem*. 1971 Apr 1;17(4):275–84.
 63. Linnet K. Two-stage transformation systems for normalization of reference distributions evaluated. *Clin Chem*. 1987 Mar 1;33(3):381–6.
 64. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin Chem*. 1998 Mar 1;44(3):622–31.
 65. Linnet K. Nonparametric Estimation of Reference Intervals by Simple and Bootstrap-based Procedures. *Clin Chem*. 2000 Jun 1;46(6):867–9.
 66. Coşkun A, Sandberg S, Unsal I, Topcu DI, Aarsand AK. Reference Intervals Revisited: A Novel Model for Population-Based Reference Intervals, Using a Small Sample Size and Biological Variation Data. *Clin Chem*. 2024 Aug 26;
 67. Zierk J, Arzideh F, Haeckel R, Rascher W, Rauh M, Metzler M. Indirect determination of pediatric blood count reference intervals. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2013 Apr 1;51(4):863–72.
 68. Dixon WJ. Processing Data for Outliers. *Biometrics*. 1953 Mar;9(1):74.
 69. Barnett V, Lewis T. Outliers in statistical data. Chichester, England: John Wiley and Son. 1978;68–73.

70. Tukey, J. Exploratory Data Analysis. Reading, MA: Addison-Wesley, 1977.
71. Horn PS, Feng L, Li Y, Pesce AJ. Effect of Outliers and Nonhealthy Individuals on Reference Interval Estimation. Clin Chem. 2001 Dec 1;47(12):2137–45.
72. Box GEP, Cox DR. An Analysis of Transformations. J R Stat Soc Series B Stat Methodol. 1964 Jul 1;26(2):211–43.
73. Ichihara K, Kawai T. Determination of reference intervals for 13 plasma proteins based on IFCC international reference preparation (CRM470) and NCCLS proposed guideline (C28-P, 1992): Trial to select reference individuals by results of screening tests and application of maximal likelihood method. J Clin Lab Anal. 1996;10(2):110–7.
74. Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. Clin Chem. 1990 Feb 1;36(2):265–70.
75. Lahti A. Are the common reference intervals truly common? Case studies on stratifying biochemical reference data by countries using two partitioning methods. Scand J Clin Lab Invest. 2004 Jun 8;64(4):407–30.
76. Tat, Mustafa. “Klinik laboratuvarlarda veri yönetim sistemi ile referans aralık temelli veri analiz yöntemlerinin geliştirilmesi; Trabzon deneyimi.” Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi: Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Trabzon, 2015.
77. Peng X, Lv Y, Feng G, Peng Y, Li Q, Song W, et al. Algorithm on age partitioning for estimation of reference intervals using clinical laboratory database exemplified with plasma creatinine. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2018 Aug 28;56(9):1514–23.
78. Kalafat H. Klinik Biyokimya Testlerinin Mersin İli’ndeki Referans Aralıklarının Endirekt Yöntemle Belirlenmesi. Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Mersin: Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi 2008.
79. Massey FJ. The Kolmogorov-Smirnov Test for Goodness of Fit. J Am Stat Assoc. 1951 Mar;46(253):68.
80. Solberg HE, Stamm D. IFCC recommendation: The theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. J Anal Methods Chem. 1991 Jan;13(5):231–4.

81. Dybkær R, Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 6. Presentation of observed values related to reference values. *Clinica Chimica Acta*. 1987 Dec;170(2–3):S33–41.
82. Hoffmann RG. Statistics in the Practice of Medicine. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 1963 Sep 14;185(11):864.
83. Arzideh F, Wosniok W, Gurr E, Hinsch W, Schumann G, Weinstock N, et al. A plea for intra-laboratory reference limits. Part 2. A bimodal retrospective concept for determining reference limits from intra-laboratory databases demonstrated by catalytic activity concentrations of enzymes. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*. 2007 Jan 1;45(8).
84. Wosniok W, Haeckel R. A new indirect estimation of reference intervals: truncated minimum chi-square (TMC) approach. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2019 Nov 26;57(12):1933–47.
85. Hoffmann G, Klawitter S, Trulsson I, Adler J, Holdenrieder S, Klawonn F. A Novel Tool for the Rapid and Transparent Verification of Reference Intervals in Clinical Laboratories. *J Clin Med*. 2024 Jul 27;13(15):4397.
86. Zierk J, Arzideh F, Kapsner LA, Prokosch HU, Metzler M, Rauh M. Reference Interval Estimation from Mixed Distributions using Truncation Points and the Kolmogorov-Smirnov Distance (kosmic). *Sci Rep*. 2020 Feb 3;10(1):1704.
87. Ammer T, Schützenmeister A, Prokosch HU, Rauh M, Rank CM, Zierk J. refineR: A Novel Algorithm for Reference Interval Estimation from Real-World Data. *Sci Rep*. 2021 Aug 6;11(1):16023.
88. Harris EK, Boyd JC. Statistical Bases of Reference Values in Laboratory Medicine. CRC Press; 1995.
89. Shultz EK, Willard KE, Rich SS, Connelly DP, Critchfield GC. Improved reference-interval estimation. *Clin Chem*. 1985 Dec 1;31(12):1974–8.
90. Grecu DS, Paulescu E. Quality assurance in the laboratory testing process: Indirect estimation of the reference intervals for platelet parameters in neonates. *Clin Biochem*. 2014 Oct;47(15):33–7.
91. Katayev A, Fleming JK, Luo D, Fisher AH, Sharp TM. Reference Intervals Data Mining. *Am J Clin Pathol*. 2015 Jan 1;143(1):134–42.
92. Gindler EM. Calculation of Normal Ranges by Methods Used for Resolution of Overlapping Gaussian Distributions. *Clin Chem*. 1970 Feb 1;16(2):124–8.

93. <https://www.gocrunch.tech> (Accessed June 19, 2024).
94. Bellview: A tool to perform Bhattacharya analysis on laboratory data. Available from: <https://sourceforge.net/p/bellview/wiki/Home> (Accessed June 19, 2024).
95. Martinez-Sanchez L, Gabriel-Medina P, Villena-Ortiz Y, García-Fernández AE, Blanco-Grau A, Cobbaert CM, et al. Harmonization of indirect reference intervals calculation by the Bhattacharya method. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2023 Jan 27;61(2):266–74.
96. Ma C, Yu Z, Qiu L. Development of next-generation reference interval models to establish reference intervals based on medical data: current status, algorithms and future consideration. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2024 May 18;61(4):298–316.
97. Meyer A, Müller R, Hoffmann M, Skadberg Ø, Ladang A, Dieplinger B, et al. Comparison of three indirect methods for verification and validation of reference intervals at eight medical laboratories: a European multicenter study. *Journal of Laboratory Medicine*. 2023 Aug 28;47(4):155–63.
98. DGKL Working Group on Reference Values. (Accessed June 14, 2024, at <https://www.dgkl.de/verbandsarbeit/sektionen/entscheidungsgrenzen-richtwerte>).
99. Arzideh F. Estimation of medical reference limits by truncated Gaussian and truncated power normal distributions. 2008. (Accessed June 14, 2024, at <https://media.suub.uni-bremen.de/handle/elib/2595>).
100. Arzideh F, Brandhorst G, Gurr E, Hinsch W, Hoff T, Roggenbuck L, et al. An improved indirect approach for determining reference limits from intra-laboratory data bases exemplified by concentrations of electrolytes / Ein verbesserter indirekter Ansatz zur Bestimmung von Referenzgrenzen mittels intra-laboratorieller Datensätze am Beispiel von Elektrolyt-Konzentrationen. *LaboratoriumsMedizin*. 2009 Mar 1;33(2):52–66.
101. Hoffmann G, Lichtinghagen R, Wosniok W. Simple estimation of reference intervals from routine laboratory data. *LaboratoriumsMedizin*. 2016 Jan 22;39(s1).

102. Klawonn F, Hoffmann G, Orth M. Quantitative laboratory results: normal or lognormal distribution? *Journal of Laboratory Medicine*. 2020 Jun 25;44(3):143–50.
103. Klawonn F, Hoffmann G. Using Fuzzy Cluster Analysis to Find Interesting Clusters. In 2023. p. 231–9.
104. <https://cran.r-project.org/package=reflimR>.
105. RefLim: Quick & Easy Verification of Reference Limits in Laboratory Medicine (Accessed June 15, 2024, at <https://reflim.github.io/Epub/>).
106. <https://gitlab.miracum.org/kosmic> (Accessed June 20, 2024).
107. <https://kosmic.diz.uk-erlangen.de> (Accessed June 20, 2024).
108. <https://www.divinenephron.co.uk/tidykosmic> (Accessed June 20, 2024).
109. <https://cran.r-project.org/package=refineR>.
110. Henny J, Vassault A, Boursier G, Vukasovic I, Mesko Brguljan P, Lohmander M, et al. Recommendation for the review of biological reference intervals in medical laboratories. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2016 Dec 1;54(12):1893–900.
111. Schäfer H. Statistical Basis Of Reference Values In Laboratory Medicine. *Stat Med*. 1996;15:2266–2266.
112. CLSI EP09-A3. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline - Third Edition, CLSI: Wayne, PA., 2013.
113. Ozarda Y, Higgins V, Adeli K. Verification of reference intervals in routine clinical laboratories: practical challenges and recommendations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2018 Dec 19;57(1):30–7.
114. <https://CRAN.R-project.org/package=referenceIntervals>.
115. Kahraman Yaman, Sevim “Erişkin Sağlıklı Bireylerde Tam Kan Sayımı Testlerinin Referans Aralıkları” Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi: Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Trabzon, 2015.
116. ATEŞ,Kenan “Adıyaman İlinde 18-65 Yaş Sağlıklı Erişkin Kişilerde Hematolojik Referans Değerlerin Belirlenmesi” Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi: Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adıyaman, 2018.
117. Çaycı, T., Kurt, Y. G., Honca, T., Taş, A., Özgürtaş, T., Ağıllı, M., ... & Aydın, İ. (2015). Hastane bilgi sistemindeki kayıtlı hasta sonuçlarından tam kan referans aralıklarının tayini. *Gülhane Tıp Derg*, 57, 11-117.

118. Gunes Cakmak, Hatice “Doğu Anadolu Bölgesi’nde İndirekt Yöntemle Hemogram Parametrelerinin Referans Aralıklarının Belirlenmesi” Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi: Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Erzurum, 2018.
119. Bildirici MA, Gülten S, Çalışgan NC. Determination of reference intervals of hemogram with advanced clinical parameters by indirect method on Sysmex XN-1000. Turkish Journal of Biochemistry. 2023 Aug 28;48(4):388–96.
120. Cevlik T, Turkal R, Sirikci O. Determination of Complete Blood Count Reference Intervals by an Indirect Method for Newborns, Adults, and Geriatric Ages. Clin Lab. 2023;69(06/2023).
121. Ghazizadeh H, Kathryn Bohn M, Esmaily H, Boskabadi M, Mohammadi-Bajgiran M, Farahani E, et al. Comparison of reference intervals for biochemical and hematology markers derived by direct and indirect procedures based on the Isfahan cohort study. Clin Biochem. 2023 Jun;116:79–86.
122. Coşkun A, Sandberg S, Unsal I, Cavusoglu C, Serteser M, Kilercik M, et al. Personalized and Population-Based Reference Intervals for 48 Common Clinical Chemistry and Hematology Measurands: A Comparative Study. Clin Chem. 2023 Sep 1;69(9):1009–30.
123. Ozarda Y, Ichihara K, Bakan E, Polat H, Ozturk N, Baygutalp NK, et al. 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 Jun 15;27(2):350–77.
124. L. van Pelt J, Klatte S, Hwandih T, Barcaru A, Riphagen IJ, Linssen J, et al. Reference intervals for Sysmex XN hematological parameters as assessed in the Dutch Lifelines cohort. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2022 May 25;60(6):907–20.
125. Arbiol-Roca, A., Imperiali, C. E., Montserrat, M. M., Cerro, A. S., de Basea, A. C. B., Navarro, L. S., ... & Politi, J. V. (2018). Reference intervals for a complete blood count on an automated haematology analyser Sysmex XN in healthy adults from the southern metropolitan area of Barcelona. Ejifcc, 29(1), 48.
126. Park SH, Park CJ, Lee BR, Kim MJ, Han MY, Cho YU, et al. Establishment of Age- and Gender-Specific Reference Ranges for 36 Routine and 57 Cell

- Population Data Items in a New Automated Blood Cell Analyzer, Sysmex XN-2000. *Ann Lab Med*. 2016 May 1;36(3):244–9.
127. Adeli K, Raizman JE, Chen Y, Higgins V, Nieuwesteeg M, Abdelhaleem M, et al. 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 Aug 1;61(8):1075–86.
 128. Wu X, Zhao M, Pan B, Zhang J, Peng M, Wang L, et al. Complete Blood Count Reference Intervals for Healthy Han Chinese Adults. *PLoS One*. 2015 Mar 13;10(3):e0119669.
 129. OSEI-BIMPONG A, McLEAN R, BHONDA E, LEWIS SM. The use of the white cell count and haemoglobin in combination as an effective screen to predict the normality of the full blood count. *Int J Lab Hematol*. 2012 Feb 24;34(1):91–7.
 130. Bakrim S, Ouarour A, Buya A, Aboulaghras S, Bouyahya A, Masrar A. Reference Intervals for Routine Biochemical Markers and Hematological Indices Derived from Healthy Adults in the Mediterranean Region of Morocco. *Clin Lab*. 2023;69(02/2023).
 131. Naus AJ, Borst A, Kuppens PS. The Use of Patient Data for the Calculation of Reference Values for Some Haematological Parameters. *Clin Chem Lab Med*. 1980;18(10).
 132. Torge A, Haeckel R, Özcürümez M, Krebs A, Junker R. Diurnal variation of leukocyte counts affects the indirect estimation of reference intervals. *Journal of Laboratory Medicine*. 2021 Apr 27;45(2):121–4.
 133. WAKEMAN L, AL-ISMAIL S, BENTON A, BEDDALL A, GIBBS A, HARTNELL S, et al. Robust, routine haematology reference ranges for healthy adults. *Int J Lab Hematol*. 2007 Aug 26;29(4):279–83.
 134. World Health Organization. Guideline on haemoglobin cutoffs to define anaemia in individuals and populations. World Health Organization, 2024.
 135. Daly ME. Determinants of platelet count in humans. *Haematologica*. 2011 Jan 1;96(1):10–3.
 136. Kadikoylu G, Yavasoglu I, Bolaman Z, Senturk T. Platelet parameters in women with iron deficiency anemia. *J Natl Med Assoc* 2006;98:398- 402.

137. Beguin Y. Erythropoietin and platelet production. *Haematologica* 1999; 84:541-7.
138. Giles C. The Platelet Count and Mean Platelet Volume. *Br J Haematol.* 1981 May 7;48(1):31–7.
139. McPherson RA, Pincus MR, Abraham NZ. Appendixes. In: McPherson RA, Pincus MR, editors. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 22nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011.
140. Joseph Loscalzo AFDKSHDLJLJ. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Twenty-First Edition.
141. Rigo-Bonnin R, Aliart-Fernández I, Escalante-Vilanova A, Brunet M, Parra-Robert M, Morales-Ruiz M. Calculation of reference intervals for the concentrations of α -tocopherol and retinol in serum using indirect data-mining procedures. *Clinica Chimica Acta*. 2024 Jul;561:119822.

8. EKLER

EK-1: Referans Aralık Çalışması Anket Formu

REFERANS ARALIK ÇALIŞMASI ANKET FORMU

DAHİL EDİLME KRİTERLERİ

1. Bugün kendinizi iyi hissediyor musunuz?
2. 18 yaşın üstünde misiniz?

EYET

EYET

HAYIR

HAYIR

DIŞLANMA KRİTERLERİ

1. İnsülin ya da oral ilaçla tedavi edilen Şeker Hastalığınız var mı?
2. Kronik karaciğer ya da böbrek rahatsızlığınız var mı?
3. Ciddi bir hastalığı gösteren kan sonuçlarınız var mı?
4. Geçtiğimiz 4 hafta içinde hastanede yattınız ya da hastalık geçirdiniz mi?
5. Geçtiğimiz 3 ay içinde kan bağışında bulundunuz mu?
6. HBV, HCV veya HIV taşıyıcılığınız var mı?
7. Hamile misiniz ya da 1 yaş altı çocuğunuz var mı?
8. Son 12 hafta içinde bir araştırma ürünü ile ilgili bir çalışmaya/araştırmaya katıldınız mı?

HAYIR

HAYIR

HAYIR

HAYIR

HAYIR

HAYIR

HAYIR

HAYIR

EYET

EYET

EYET

EYET

EYET

EYET

EYET

EYET

KİMLİK BİLGİSİ

İSİM:

Tarih:

YAŞ:

Kan Grubu:

CİNSİYET:

Erkek

Kadın

Numune alım
zamanı:

Doğum Yeri:

Anne D. Yeri:

Yerleşim Yeri:

Baba D. Yeri:

Ağırlık(kg):

Bel

Çevresi(cm):

Boy(cm):

Şu an aç mısınız?

Evet

Hayır

Son gıda alım
zamanı:

TİBBİ GEÇMİŞ

Her gün kullandığınız bir ilaç var mı? (tansiyon, kolesterol, kan sulandırıcı, hormon hapı vb.) Evet ise; belirtiniz:

HAYIR

EYET

Vejeteryan mısınız?

HAYIR

EYET

Özel bir diyet uyguluyor musunuz?

HAYIR

EYET

Evet ise; ne tür?

Geçtiğimiz 4 hafta içinde hastalandınız mı?

HAYIR

EYET

Evet ise; tanınız ve zamanı?

Yüksek tansiyonunuz var mı?

HAYIR

EYET

Mesleki olarak zararlı kimyasallara maruz kalıyor musunuz?

HAYIR

EYET

Evet ise; ne tür?

Doktor kontrolünde misiniz?

HAYIR

EYET

Evet ise; niçin?

Son 6 ay içinde hastanede yattınız mı?

HAYIR

EYET

Evet ise ne zaman ve ne sebeple?

Ailenizde kalıtsal sağlık sorunları var mı?

HAYIR

EYET

Evet ise; ne tür?

Geçtiğimiz 4 hafta içinde aspirin ya da ağrı kesici kullandınız mı?

HAYIR

EYET

Herhangi bir nedenle önerilmiş diyet hapı, mide ilacı, antiasit ya da alerji ilacı kullanıyor musunuz?

HAYIR

EYET

Evet ise; belirtiniz.

Vitamin ilacı ya da bitkisel takviye kullanıyor musunuz?

HAYIR

EYET

Evet ise; nedir?

KADINLAR İÇİN					
Menstrüel düzeninizi nasıl tanımlarsınız?		☐ Düzenli	☐ Biraz düzensiz	☐ Düzensiz	
Hormon replasman tedavisi alıyor musunuz?		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
Emzirme döneminde misiniz?		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
Hamile misiniz?		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
Oral kontraseptif ya da implant kullanıyor musunuz?		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
Son adet tarihiniz:					
ALKOL					
Alkol kullanıyor musunuz?		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
1: Son 48 saat içinde alkol aldınız mı?		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
Evet ise; alkolün cinsi ve miktarını belirtiniz. ___gr/48 saat					
2: Haftada ne kadar içersiniz?		☐ Hiç içmem			
Bira ___bardak					
Şarap ___kadeh					
Rakı ___bardak (6 bardak= 1 şişe)					
Bu alışkanlık kaç ay/ yıl için geçerli?					
3: Ortalama günlük tüketilen alkol miktarı*,** ___gr/gün					
*Lütfen alkolü içecek hacmini etanol miktarına dönüştürün. gr etanol elde etmek için, alkol içeriği oranı ile alkol hacmini çarpın. Ör: 500 ml Bira (%4 alkol)=500x0,04=20gr; 200 ml şarap (%12 alkol)=200x0,12=24 gr 80 ml rakı (% 45 alkol)=80x0,45=36 gr etanol. **Eğer her gün içmiyorsanız tahmini haftalık miktarı 7 'ye bölün.					
SİGARA					
Sigara kullanıyor musunuz?		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
1: Günde kaç tane sigara içersiniz?					
2: Kaç yıldır sigara içiyorsunuz?		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
EGZERSİZ					
Düzenli egzersiz yapıyor musunuz?		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
Evet ise; sporun cinsi: _____ Sıklığı: ___saat/ gün ___saat/ hafta					
Geçtiğimiz hafta içinde 30 dk veya daha uzun süreyle kalp atışınızın hızlandığı veya nefesinizin fazla zorlandığı fiziksel aktivitede bulundunuz mu?					
		☐	☐	HAYIR	☐ EVET
BESLENME TARZI					
Aşağıdaki besin maddelerini hangi sıklıkta tüketiyorsunuz?					
kırmızı et	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün
balık	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün
sebze	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün
yağlı gıda	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün
tuzlu gıda	1: hiç	2: nadiren	3: arasıra	4: sıklıkla	5: hergün

EK-2: Referans Aralık Çalışması Onam Formu

Referans Aralık Çalışması Onam Formu

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

ERİŞKİN BİREYLERDE TAM KAN SAYIMI TESTLERİNİN REFERANS ARALIKLARININ İNDİREKT YÖNTEMLE BELİRLENMESİ adlı çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Amacımız Tam Kan Sayımı testleri (beyaz hücre, kırmızı hücre, kan pulcukları gibi...) için laboratuvarımıza ve bölgemize ait referans değerleri elde etmektir. Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 20 bayan, 20 erkek olarak öngörülmüştür.

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için anketimizdeki soruları yanıtlamanız gerekmektedir. Anket sonucunda çalışmaya katılmaya uygun olup olmadığınızı araştırmacı tarafından değerlendirilecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 2 (1 tüp) ml. kadar kan almamız gerekmektedir.

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

Bu çalışmaya katılmanız için sizden veya sosyal güvenlik kuruluşunuzdan herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz;

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

Çalışmaya Katılma Onayı:

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

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

Tarih : / / 2024

Gönüllünün : Adı Soyadı : Tel./Adres : İmzası:	Gerekli Hallerde Vasisinin: Adı Soyadı : Tel./Adres : İmzası :
Araştırmacının: Adı Soyadı: İmzası:	