

Hastane bilgi sistemindeki kayıtlı hasta sonuçlarından tam kan referans aralıklarının tayini

Tuncer ÇAYCI (*), Yasemin Gülcan KURT (*), Tefik HONCA (*), Ahmet TAŞ (*), Taner ÖZGÜRTAŞ (*), Mehmet AĞILLI (**), Fevzi Nuri AYDIN (***), İbrahim AYDIN (****)

ÖZET

Her laboratuvarın ölçüm yaptığı testler için kendi hasta popülasyonuna uygun referans aralıklarını belirlemesi gereklidir. Ancak referans aralık çalışmaları hem zahmetli hem de maliyetlidir. Son yıllarda hastanelerdeki kayıtlı hasta verilerinden indirekt yöntemle referans aralıkların kolaylıkla hesaplanabileceği gösterilmiştir. Biz bu çalışmada, Hastane Bilgi Sistemi'ndeki kayıtlı hasta sonuçlarını kullanarak non-parametrik yüzde tahmin yöntemiyle tam kan analizlerinde ölçülen bazı parametrelerin referans aralıklarını tespit etmeyi ve elde ettiğimiz sonuçları halen laboratuvarlarımızda kullandığımız referans aralıkları ve mevcut üretici firma referans aralıkları ile karşılaştırmayı amaçladık. Çalışmada Hastane Bilgi Sisteminde kayıtlı 39.723 hastanın tam kan analiz sonucu kullanılmıştır. Referans aralık alt ve üst düzeylerinin tespiti için MedCalc istatistik programının non-parametrik yüzde tahmin uygulaması kullanılmıştır. Referans aralıklar cinsiyet ve yaş alt gruplarında ayrı ayrı hesaplanmıştır. Sonuçlarımız, referans aralıkların her iki cins ve 0-12 yaş grubunda tüm alt parametreler için ayrı olarak kullanılması gerekliliğine işaret etmiştir. Ayrıca 65 yaş üstü erkeklerde hematokrit ve hemogloblin testleri için ayrı referans aralık kullanılması uygun olacağı değerlendirilmiştir. Indirekt yöntemle kendi hastane popülasyonumuzdan elde ettiğimiz referans aralıkların, üretici firmanın önerdiği ve halen kullandığımız referans aralıklarla önemli farklılıklar göstermesi nedeniyle laboratuvarlarımız için daha uygun olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Referans aralık, non-parametrik yöntem, indirekt yöntem, hastane bilgi sistemi, tam kan testi.

SUMMARY

Determination Of Whole Blood Reference Intervals From Patient Results Registered In Hospital Information System

Each laboratory must determine the reference intervals according to their own patient population. However, the reference interval studies are both costly and laborious. In recent years, the reference intervals was easily and indirectly calculated from patient results registered in the hospital information systems. We aimed to determine reference intervals for some hematological test parameters from patient results in the hospital information systems non-parametric percent estimation method and compared with the reference intervals that we use in our laboratory and recommended by the existing manufacturers. In this study, whole blood test results of 39,723 patients in the Hospital Information System were used. For detecting the high and low reference intervals MedCalc non-parametric percent estimation statistical program was used. Reference intervals were calculated separately in gender and age subgroups. Our results were indicated separately using of reference intervals for all of the sub-parameters for both gender and in the 0-12 age group. In addition, for hematocrit and hemoglobine tests in men over the age of 65 must be used different reference intervals than other groups. The reference interval values that we have obtained at the end of our study were shown significant differences from the values recommended by the manufacturer company and we use. Furthermore, Our reference interval values are more suitable for use in our laboratory.

Key words: Reference interval, non-parametric method, indirect method, hospital information system, whole blood test.

Giriş

Klinik laboratuvar testleri hastalıkların tanı, tarama ve takibinde çok yaygın bir şekilde tıbbi karar aracı olarak kullanılmaktadırlar. Test sonuçlarıyla birlikte sunulan referans aralıklar bir bireydeki sağlık veya hastalık durumunun değerlendirilmesinde klinisyenler için vazgeçilmez bir öneme sahiptir (1). Klinisyenlerin test sonuçlarından verimli bir şekilde yararlanabilmesi için, doğru ve güvenilir sonuçların, doğru ve güvenilir referans aralıklarıyla birlikte sunulması çok önemlidir.

Referans aralığı, referans bireylerin oluşturduğu örnek referans dağılımından belli istatistiksel yöntemlerin kullanılması ile elde edilen referans değerlerinin tanımlandığı aralıktır (2). Referans aralık çalışmalarında referans popülasyonundan referans bireylerin seçimi için çeşitli metotlar (direkt-indirekt, priori-posteriori, random-nonrandom) kullanılmaktadır. Referans aralıkların tespitinde Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu (IFCC-International Federation of Clinical Chemistry) direkt yöntemin kullanılmasını önermektedir (3-4). Bununla birlikte literatürde Hastane Bilgi Sistemlerindeki (HBS) hasta verilerinden yararlanılarak indirekt metotla referans aralıkların tespit edilebileceğine dair birçok çalışma da mevcuttur (5-10).

Referans bireylerin seçimi sonrası bu bireylerden elde edilen verilerden referans aralıkların tayininde, verilerin dağılım tipine, homojenliğine ve sayısına bağlı olarak kullanılan parametrik ve non-parametrik istatistiksel yöntemler vardır. Referans aralıkların tespiti için, IFCC hem parametrik, hem de non-parametrik yöntemi önerirken, Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS, yeni adıyla The Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI) non-parametrik yöntemi önermektedir. Referans aralıklarının tespit edildiği çoğu çalışmada daha ziyade non-parametrik yöntemler tercih edilmiştir. Referans aralıklarının tespit ve sunumunda en çok bilinen ve kullanılan yöntem yüzdeler arası aralıktır. Referans popülasyonun sonuçlarının % 95 merkezi alanındaki bölge referans aralığını oluşturur; bu aralığın alt ve üst sınırları sırasıyla 2,5. ve 97,5. yüzde değerleridir (2, 3, 11-18).

Dış kalite kontrol programına dahil laboratuvarların referans aralıklarının değerlendirildiği bir çalışmada, laboratuvarlar arası ölçüm farkları düşük bulunurken, bu laboratuvarlardaki farklı referans aralıkları nedeniyle, test sonuçlarının klinik olarak farklı yorumlanabileceğinin altı çizilmiştir (11).

Her bir klinik tanı testi için üretici firma tarafından belirlenmiş bir referans aralığı mevcuttur. Hem IFCC hem de CLSI popülasyon, diyet, kullanılan teknik donanım ve referans grubunun farklılığı gibi sebeplerden ötürü her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesini tavsiye etmektedir. Ancak gü-

* GATA T Biyokimya AD, Ankara.

** Ağrı Asker Hastanesi, Ağrı.

*** Şırnak Asker Hastanesi, Şırnak.

**** TSK Sağlık K.İ.ği, Ankara.

Ayrı basım isteği: Tuncer Çaycı
GATA T Biyokimya AD, Ankara.
e-mail: tcayci@gata.edu.tr

Makalenin Geliş Tarihi: Sep 11, 2014 • Kabul Tarihi: Dec 15, 2014 • Çevrim İçi Basım Tarihi:30 Haziran 2015

nümüzde her laboratuvarın her bir test için referans aralıklarını hesaplaması zahmetli ve masraflı bir süreçtir. Kaldı ki ülkemizdeki mevcut mevzuat gereği her bir test grubu için her sene farklı bir üretici firmanın ihale kazanabileceğini ve anılan testler için her sene farklı sistem ve cihazların laboratuvara kurulabileceğini düşündüğümüzde bunun pratik olmadığı aşikârdır. Bu yüzden birçok klinik laboratuvar kendi referans aralıklarını tespit edip kullanmak yerine, ya üretici firmanın önerdiği ya da literatürden elde ettiği referans aralıklarını kullanmaktadır. Normalde üretici firmanın önerdiği referans aralıkların tespit edildiği referans popülasyonun tüm demografik ve coğrafik bilgileri, pre-analitik ve analitik prosedürleri ile hesaplamada kullanılan istatistiksel metotların bildirilmesi gerekir. Ancak her zaman bu bilgiler firmalar tarafından yeterince karşılanamamaktadır. Eğer bu faktörler laboratuvarımızla tutarlıysa referans aralığı herhangi bir işlem yapılmadan transfer edilebilir. Daha ideali üretici firma tarafından önerilen referans aralıklarının CLSI EP-9 kılavuzuna göre verifiye (doğrulanması) edilmesidir. Doğrulanması yapılmadığı takdirde o test için yeni bir referans aralık tespiti gerekir (2).

Tam kan analizi (hemogram), kan hücrelerinin sayısı, şekil ve yapısal özellikleri hakkında çok kıymetli bilgiler veren, anemi, enfeksiyon, kanama bozuklukları, kanser gibi bir çok hastalığın tanı, takip ve taramasında yaygın olarak kullanılan çok önemli bir testtir. Günümüzde oto analizörler marifetiyle çok kısa sürede yapılmakta olan bu test cihazdan cihaza değişmekle birlikte yaklaşık 30-40'ın üzerinde alt parametre içermektedir.

Biz bu çalışmada, HBS'de kayıtlı hasta sonuçlarını kullanarak non-parametrik yüzde tahmin yöntemiyle tam kan analizlerinde ölçülen bazı parametrelerden; Hematokrit (Hct), Hemoglobin (Hgb), Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH), Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC), Eritrosit Sayısı (RBC), Eritrosit Dağılım Genişliği (RDW), Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV), Platelet (PLT) ve Lökosit sayısı (WBC) için referans aralıklarını tespit etmeyi ve elde ettiğimiz sonuçları halen laboratuvarlarımızda kullandığımız referans aralıkları ve mevcut üretici firma referans aralıkları ile karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, 3 Mart 2012-31 Aralık 2012 tarihleri arasında GATA Eğitim Hastanesi polikliniklerine başvuran 39.723 hastanın tam kan analiz sonuçları kullanılmıştır. Veriler HBS kayıtları üzerinden alınmıştır. Çalışmaya yatan hastalar ile hematoloji, onkoloji, radyasyon onkolojisi, çocuk hematolojisi, çocuk onkolojisi, kadın doğum ve acil polikliniklerinden gelen hastalara ait veriler dâhil edilmemiştir. Çalışma için GATA Etik kurulundan onay alınmıştır.

Pre-analitik faktörler bir referans popülasyonundan referans bireylerin seçimi kadar önemlidir ve referans aralık belirlenirken numunelerin alınmasından analize kadar geçen süreç çok iyi tanımlanmalı ve standardize edilmelidir (15). Çalışma süresi içerisinde pre-analitik süreç tüm poliklinik hastaları için standart olarak uygulanmıştır. Sabah 08.00-11.00 saatleri arasında vakumlu ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)'lı tüplere alınan venöz kan örnekleri en geç 2 saat içerisinde çalışılmıştır. Analitik süreç ise iç ve dış kalite kontrol uygulamaları ile kontrol altında tutulmuştur.

Tam kan analizleri, Horiba ABX Pentra DX 120 (Montpellier, France) hematolojik oto analizör cihazlarında yapılmıştır. Çalışmanın yapıldığı süre içerisinde 2 farklı seviye iç kalite kontrol kanları ile sistem günlük olarak kontrol edilmiştir. Ayırı-

ca cihazlar bir dış kalite kontrol programına dâhil edilmiştir. İç ve dış kalite kontrol sonuçları bu süre içerisinde kabul edilebilir sınırlar içerisinde bulunmuştur.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 15.0 (Statistical Packages for Social Sciences) istatistik paket programından yararlanılmıştır. İlk olarak verilerin tanımlayıcı istatistikleri hesaplanmıştır. Verilerin dağılımı ve homojenliği Kolmogorov Smirnov ve Anova testleri ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım göstermeyen ve homojen olmayan veriler için cinsiyet ve yaş alt gruplarının belirlenmesinde, Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis H testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Uç değerlerden arınmak için SPSS explore basamağı hiç uç değer kalmayınca kadar uygulanmıştır. Referans aralık alt ve üst düzeylerinin tespiti için MedCalc istatistik programının non-parametrik yüzde tahmin uygulaması kullanılmıştır. Burada dağılımın % 95 merkezi alanı (%2,5 ile %97,5'e karşılık gelen noktalar) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

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

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

'n' veri sayısını belirtmektedir. Son olarak alt ve üst sınırların %90 güven aralıkları hesaplanmıştır (19).

Bulgular

İndirekt yöntemle HBS'den elde edilen 39.723 tam kan testinin 16.811'i (%42,3) erkeklere ait iken 22.912'si (%57,7) kadınlara aitti. Hastaların ortalama yaş±standart sapması (SD) 45,1±20,7 yıl idi. Tam kan testi alt parametrelerinden herhangi birinde uç değer tespit edilen hastaların verileri diğer alt parametreleri de kapsayacak şekilde tamamen silinmiştir. Bu işlem sonunda 7.638 hasta sonucu çalışmadan çıkarılmış ve tüm hesaplamalar geriye kalan 32.085 hasta verisi üzerinden yapılmıştır. Bu verilere ait frekanslar Tablo I'de sunulmuştur.

Tablo I. Çalışmaya dâhil edilen hasta verilerinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre frekansları.

	Sayı (%)	Ortalama yaş	Min.	Max.
Cinsiyet				
Erkek	13779 (42,9)	45,3	0	99
Kadın	18306 (57,1)	46,1	0	109
Yaş grupları				
0-12 yaş	1832 (% 5,7)	6,8	0	12
13-65 yaş	24081 (% 75,1)	41,6	13	65
65 yaş üstü	6172 (% 19,2)	73,6	65	109
Tüm grup	32085 (100)	45,8	0	109

Referans aralıkların tespiti hasta verileri cinsiyet ve yaşa göre farklı alt gruplara ayrıldıktan sonra yapılmıştır. Her alt grup için uç değerler yeniden tespit edilerek atılmış ve referans aralıklar geriye kalan veriler üzerinden hesaplanmıştır. Grupların uç değerler atıldıktan sonraki frekansları Tablo II'de sunulmuştur. Bu alt gruplara ait ortalama ve standart sapma sonuçları Tablo IIIA ve IIIB'de sunulmuştur.

Çalışmanın ilk başlangıcında hasta verileri herhangi bir alt

Çaycı ve ark.

Tablo II. Alt gruplarda uç değerler atıldıktan sonra geriye kalan veri sayıları.

Alt Gruplar		Veri sayısı	
		Uç değerler atılmadan önce	Uç değerler atıldıktan sonra
Tüm grup		39723	32085
Cinsiyet Erkek		13779	12819
Kadın		18306	17751
Yaş grupları	0-12 yaş	1832	1724
	13-65 yaş	24081	22867
	65 yaş üstü	6172	5912
Cinsiyet Erkek	0-12 yaş	944	-
	13-65 yaş	10100	9106
	65 yaş üstü	2735	2482
Kadın	0-12 yaş	888	-
	13-65 yaş	13981	12730
	65 yaş üstü	3437	3241

gruba ayrılmadan referans aralıklar tüm grupta tespit edilmiştir (Tablo IV). Daha sonra verilerin cinsiyet alt grubuna göre istatistiksel anlamlılığı Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiş ve tüm parametreler için cinsiyetler arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo V). Veriler cinsiyet alt grubuna ayrıldıktan sonra her iki gruptaki uç değerler tekrar SPSS explore basamağı kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan 12.189 erkek ve 17.751 kadın hasta verilerinden referans aralıklar ayrı ayrı hesaplanmıştır. Özellikle MCHC ve MCV testleri hariç diğer tüm testlerin referans aralıkları arasında farklılıklar dikkat çekmiştir. Sonuçlar tam kan testi için cinsiyetler arasında ayrı referans aralık kullanılmasının gerekliliğine işaret etmiştir (Tablo IV).

Aynı şekilde veriler yaş alt gruplarında da incelenmiştir. Hastalar 10'ar yıllık aralıklarla yaş alt gruplarına ayrılıp gruplar arası farklılıklar Kruskal-Wallis H testi ile değerlendirilmiştir. Özellikle 0-10 yaş ile 80 yaş üstü gruplardaki tüm sonuçlar diğer gruplardan farklı bulunmuştur. Ancak çok fazla alt grup varlığı ve klinik yararlılık göz önüne alınarak bu gruplamadan vazgeçilmiş, yaş alt grupları; 0-12 yaş, 13-65 yaş ve 65 yaş üstü olacak şekilde üç gruba indirilmiştir. Bu üç grup arasında tüm test sonuçları arasında istatistiksel anlamlı farklar bulunmuş ve referans aralıklar ayrı ayrı hesaplanmıştır (Tablo IV).

Tablo IIIA. Alt gruplara ait tanımlayıcı istatistikler.

Testler (Birim)	Tüm grup	Cinsiyet		Yaş grupları		
	Ort±SD	Erkek	Kadın	0-12 yaş	13-65 yaş	65 yaş üstü
Htc (%)	41,9±3,9	44,3±3,3	39,6±2,7	38,2±2,5	41,9±3,8	40,7±3,7
Hgb (g/dL)	13,5±1,3	14,5±1,1	12,9±0,9	12,7±0,8	13,7±1,3	13,3±1,2
MCH (pg)	28,8±1,5	29,2±1,4	28,6±1,5	27,2±1,2	29,0±1,4	29,2±1,4
MCHC (g/dL)	32,7±0,8	32,9±0,8	32,6±0,7	32,8±0,7	32,8±0,8	32,6±0,8
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	4,7±0,4	4,9±0,3	4,5±0,3	4,6±0,3	4,7±0,4	4,5±0,4
RDW (%)	14,3±1,1	14,2±1,0	14,4±1,1	14,9±1,0	14,2±1,0	14,3±1,1
MCV (fL)	88,1±4,4	88,8±4,2	87,7±4,4	82,9±3,6	88,4±3,9	89,4±4,0
Plt ($10^3/\mu\text{L}$)	269±61	252±56	281±60	319±60	268±58	255±62
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	6,2±1,4	6,2±1,3	6,1±1,4	6,6±1,5	6,1±1,3	6,2±1,4

Ort±SD: Ortalama±Standart sapma

Tablo IIIB. Alt gruplara ait tanımlayıcı istatistikler.

Testler (Birim)	Erkek			Kadın		
	0-12 yaş	13-65 yaş	65 yaş üstü	0-12 yaş	13-65 yaş	65 yaş üstü
	Ortalama±SD			Ortalama±SD		
Htc (%)	38,7±2,6	45,8±2,7	42,5±3,6	38,8±2,5	39,8±2,5	39,2±3,2
Hgb (g/dL)	12,7±0,8	14,8±0,9	13,9±1,2	12,7±0,8	13,0±0,8	12,8±1,0
MCH (pg)	27,7±1,2	29,3±1,3	29,6±1,3	27,7±1,2	28,8±1,4	28,9±1,4
MCHC (g/dL)	32,8±0,7	32,9±0,8	32,7±0,8	32,7±0,7	32,7±0,7	32,5±0,7
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	4,6±0,3	5,0±0,3	4,7±0,4	4,6±0,3	4,5±0,3	4,4±0,3
RDW (%)	15,0±1,0	14,1±0,9	14,2±1,0	14,8±1,0	14,2±1,1	14,4±1,1
MCV (fL)	82,6±3,5	88,9±3,7	90,4±3,8	83,2±3,6	88,1±3,9	88,7±3,9
Plt ($10^3/\mu\text{L}$)	319±58	252±52	230±53	319±61	279±58	272±59
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	6,6±1,5	6,2±1,3	6,2±1,4	6,5±1,5	6,0±1,3	6,1±1,4

SD:Standart sapma

Tablo IV. Non-parametrik yüzde yöntemiyle gruplardan elde edilen referans aralıklar.

Testler	Gruplar									
	Tüm grup N=32085	Erkek N=12819	Kadın N=17751	0-12 yaş N=1724	13-65 yaş N=22867	65 yaş üstü N=5912	13-65 yaş Erkek N=9106	13-65 yaş Kadın N=12730	65 yaş üstü Erkek N=2482	65 yaş üstü Kadın N=3241
Htc	34,2-49,2	37,3-50,2	34,2-44,9	34,0-43,9	34,8-49,5	33,4-48,3	39,5-50,4	34,8-44,9	35,2-49,2	33,2-45,6
Hgb	11,1-16,2	12,2-16,5	11,1-14,7	11,0-14,4	11,3-16,3	10,8-15,8	12,9-16,6	11,3-14,7	11,4-16,1	10,7-14,9
MCH	25,5-31,9	26,1-32,1	25,4-31,5	24,9-29,7	26,0-31,8	26,2-32,0	26,6-31,9	25,9-31,5	26,9-32,3	26,1-31,6
MCHC	31,3-34,5	31,4-34,6	31,2-34,3	31,4-34,4	31,3-34,5	31,2-34,3	31,5-34,6	31,2-34,3	31,3-34,4	31,2-34,1
RBC	3,87-5,59	4,19-5,72	3,86-5,17	4,02-5,33	3,93-5,62	3,71-5,41	4,40-5,74	3,92-5,14	3,88-5,53	3,69-5,18
RDW	12,4-16,9	12,4-16,4	12,4-17,0	12,9-17,1	12,4-16,5	12,4-16,8	12,4-16,1	12,4-16,6	12,4-16,6	12,5-16,9
MCV	79-97	80-97	79-96	77-90	80-96	81-97	81-96	80-96	83-98	81-96
Plt	158-401	150-372	170-407	196-427	162-393	145-387	157-363	173-401	134-345	160-394
WBC	3,8-9,4	3,9-9,4	3,7-9,3	4,0-9,8	3,7-9,2	3,8-9,4	3,9-9,1	3,7-9,1	3,5-9,0	3,8-9,3

Tablo V. Alt grup karşılaştırmalarına ait p değerleri.

	Cinsiyet	Yaş grupları	0-12 yaş*	13-65 yaş*	65 yaş üstü*
			Cinsiyet	Cinsiyet	Cinsiyet
Htc	<0.001	<0.001	0.366	<0.001	<0.001
Hgb	<0.001	<0.001	0.774	<0.001	<0.001
MCH	<0.001	<0.001	0.092	<0.001	<0.001
MCHC	<0.001	<0.001	0.005	<0.001	<0.001
RBC	<0.001	<0.001	0.279	<0.001	<0.001
RDW	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
MCV	<0.001	<0.001	0.002	<0.001	<0.001
Plt	<0.001	<0.001	0.671	<0.001	<0.001
WBC	<0.001	<0.001	0.152	<0.001	0.004

Yaş grupları; Kruskal Wallis değerleri; Mann-Whitney Test ile değerlendirilmiştir.

Tablo VI. Mevcut, üretici firma ve çalışma sonunda önerilen referans aralıklar.

Testler (Birim)	Cinsiyet	Mevcut referans aralıklar	Üretici firma referans aralıkları (21-81 yaş)	Çalışma sonucu önerilen referans aralıklar (0-12 yaş)	Çalışma sonucu önerilen referans aralıklar (13 yaş üstü)	Çalışma sonucu önerilen referans aralıklar (65 yaş üstü erkek)
Htc	E	39,5-50,3	36,2-49,7	34,0-43,9	37,3-50,2	35,2-49,2
(%)	K	34,5-46,3	32,7-45,0	34,0-43,9	34,2-44,9	
Hgb (g/dl)	E	13,6-17,2	12,0-16,8	11,0-14,4	12,2-16,5	11,4-16,1
(pg)	K	11,7-15,5	10,8-15,1	11,0-14,4	11,1-14,7	
MCH	E	27,2-33,5	27,1-33,8	24,9-29,7	26,1-32,1	
(pg)	K	27,2-33,5	25,4-33,4	24,9-29,7	25,4-31,5	
MCHC (g/dL)	E	32,7-35,6	32,2-35,1	31,4-34,4	31,4-34,6	
	K	32,5-35,2	31,9-35,0	31,4-34,4	31,2-34,3	
RBC (10 ⁹ /μL)	E	4,38-5,77	3,90-5,58	4,02-5,33	4,19-5,72	
	K	3,83-5,08	3,61-5,12	4,02-5,33	3,86-5,17	
RDW	E	11,8-14,3	11,5-15,6	12,9-17,1	12,4-16,4	
(%)	K	11,7-14,6	11,3-17,1	12,9-17,1	12,4-17,0	
MCV	E	80-95	81-99	77-90	80-97	
(fL)	K	80-95	78-98	77-90	79-96	
Plt	E	156-373	139-346	196-427	150-372	
(10 ³ /μL)	K	159-388	149-371	196-427	170-407	
WBC (10 ³ /μL)	E	4,3-10,3	4,0-10,6	4,0-9,8	3,9-9,4	
	K	4,1-11,2	3,7-10,4	4,0-9,8	3,7-9,3	

Son olarak yaş gruplarındaki verilerin cinsiyete göre farklılığı Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. 0-12 yaş grubunda anlamlı farklar tespit edilemediğinden bu grupta cinsiyete göre yeniden referans aralık hesaplanmamıştır (Tablo V). 13-65 yaş ve 65 yaş üstü gruplarında ise cinsiyete göre anlamlı farklar bulunmuş ($p<0,001$) (Tablo VI) ve bu gruplarda cinsiyete göre ayrıca referans aralıklar hesaplanmıştır (Tablo IV).

Gruplardan hesaplanan referans aralıklar birlikte değerlendirildiğinde, 0-12 yaş grubu için cinsiyetten bağımsız ayrı referans aralık kullanılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Diğer gruplarda sonuçlar incelendiğinde; Hct, Hgb, RBC ve Plt referans aralıklarının cinsiyet alt grubunda belirgin farklı olduğu gözlemlenmiştir. 65 yaş üstü erkeklerde Hct ve Hgb referans aralıklarının 13-65 yaş erkek grubuna göre belirgin düştüğü ve bu farklılığın kadın grupları arasında olmadığı dikkate değer bulunmuştur. Bu farklılık nedeniyle 65 yaş üstü erkeklerde bu testler için ayrı referans aralık kullanılmasının uygun olacağı değerlendirilmiştir (Tablo VI).

RDW sonuçları, hem üretici firma hem de halen kullandığımız referans aralıklarıyla belirgin farklılık göstermiştir. Halen kullandığımız RDW üst referans değerleri her iki cinsiyette de önemli oranda düşük bulunmuştur (Tablo VI).

WBC referans aralık sonuçları da farklı bulunmuştur. Bizim elde ettiğimiz üst referans aralık değerleri hem üretici firma hem de halen kullandığımız referans aralıklarından belirgin olarak düşük bulunmuştur (Tablo VI).

Bu çalışmanın sonunda elde ettiğimiz bulgulardan (Tablo IV) yola çıkarak önerdiğimiz referans aralıklar; halen laboratuvar da kullandığımız ve üretici firmanın önerdiği sonuçlarla birlikte Tablo VI' da sunulmuştur.

Tartışma

Klinik tanı testleri için referans aralıklarının belirlenmesi, iki uluslararası kuruluş olan IFCC ve CLSI'nın öneri ve standartlarına göre yapılmaktadır (2,17).

1. Referans bireylerin seçimi,
2. Preanalitik ve analitik faktörlerin standardizasyonu,
3. Referans bireylerden elde edilen verilerden uygun istatistiksel metotlarla referans aralıklarının hesaplanması süreçleri ilgili dokümanlarda standardize edilmiştir.(2,17)

Bu süreçte en önemli ve kritik basamak referans bireylerin seçimidir. Bu bireylerin nasıl seçileceği konusunda çeşitli yöntemler tanımlanmıştır. Bunlar genel olarak direkt ve indirekt referans birey seçimi şeklinde ikiye ayrılmaktadır.

Direk seçim IFCC tarafından önerilmekte ve referans bireylerin seçiminde bazı dışlama kriterleri (ilaç kullanımı, aşırı kilo, sigara kullanımı, gebelik, kronik hastalık vb.) kullanılmaktadır. Piori (prospektif) ve posteriori (retrospektif) olmak üzere iki alt tipi vardır. Piori seçimde sağlıklı olduğu düşünülen bireyler ilk aşamada bu kriterler yönünden anketler aracılığıyla sorgulanmakta ve uygun olanlar referans birey olarak seçilmektedir. Posteriori seçimde ise iyi düzenlenmiş bir demografik veri tabanına ihtiyaç vardır. Bu seçimde kayıtlı veriler dışlama kriterleri kullanılarak geriye doğru sorgulanmakta ve uygun olanlar referans birey olarak seçilmektedir. Daha sonra bu şekilde seçilen ve sağlıklı oldukları kabul edilen referans bireylerden elde edilen verilerden referans aralıklar tespit edilmektedir. (2,17)

İndirekt referans birey seçiminde ise dışlama kriterlerine göre bir seçim yapılmaksızın veriler HBS'den olduğu gibi alınmaktadır. Bu şekilde referans birey seçiminin standartları

henüz herhangi bir kılavuzda belirtilmemiş olmasına rağmen; direkt metotla karşılaştırmalı yapılan birçok çalışmanın sonuçları referans aralıklarının indirekt metotla da hesaplanabileceğini göstermiştir (5-10). Direkt metotla karşılaştırıldığında indirekt metot hem zahmetsiz hem de maliyetsizdir ve bu açıdan birçok laboratuvar bu metotla kendi referans aralıklarını belirleyebilir.

Üretici firmaların reaktif kitleriyle birlikte referans aralık hesaplamaları zorunlu kılınmıştır (21). Bu zorunluluk bazı sıkıntıları içermektedir. Çünkü üretici firmalar ürünlerini dünyanın birçok farklı yerine pazarlamaktadırlar ve her ülke, bölge ya da laboratuvar için ayrı bir referans aralık belirlememektedirler. Referans aralıklarının belirlendiği referans toplumun etnik, genetik ve çevresel farklılıkları nedeniyle bu değerlerin farklı coğrafyalarda kullanılması uygun değildir.

Günümüzde çoğu laboratuvarlar üretici firma tarafından sunulan referans aralıklarını direkt ya da doğrulamasını yaparak kendi laboratuvarlarına transfer etmektedirler. Ancak bu işlem belli bir süre uygulanmalı ve laboratuvar da birikmiş yeterli miktardaki verilerden hesaplanan referans aralık değerlerinin, üretici firma referans değerleriyle örtüştüğünü teyit etmek veya aralarındaki korelasyonu göstermek gerekmektedir (20).

HBS'deki sonuçlardan indirekt referans aralığı belirlemesinde iki konu kritiktir. İlki, kullanılan hasta sonuçlarının sağlıklı popülasyona uygunluğu; ikincisi ise sonuçlarının elde edildiği süre içerisindeki preanalitik ve analitik koşulların stabilitesidir.

Biz bu çalışmada HBS'den elde ettiğimiz referans aralıklarını üretici firma ve halen kullandığımız referans aralıklarıyla karşılaştırmayı amaçladık. Ancak sağlıklı popülasyonu daha iyi temsil etmesi bakımından yatan hasta, acil ve bazı poliklinik hastalarını dâhil etmeyerek kısmen de olsa posteriori seçim gerçekleştirdik. Bu haliyle bizim referans bireylerimizin seçimi indirekt-posteriori olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma dönemi içerisinde preanalitik ve analitik süreç standart uygulamalar ile kontrol altında tutulmuş ve referans aralıkların üzerine etkileri minimize edilmiştir.

Referans aralık çalışmalarında veri sayısının fazlalığı o çalışmanın güvenilirliğini artıran önemli bir kuraldır. Referans aralık tespitinde kullanılan istatistiksel yöntemler parametrik ve non-parametrik olarak ikiye ayrılırlar. Her iki yöntemde verilerin dağılım tipine ve sayısına bağlıdır. Non-parametrik testler için en az 120 veri gerekirken, 200 ve üzerinde verinin referans aralığı tayininde en iyi sonucu vereceği ileri sürülmektedir (22). Aynı şekilde NCCLS ilgili dokümanında da non-parametrik yöntemlerle 120 verinin %90 güven aralığı için yeterli olacağı belirtilmektedir.

Bizim çalışmamız 39.723 veri üzerinden yapılmıştır. Bu veri sayısı referans aralık çalışması için gayet yeterli bir miktardır.

Çalışmanın sonuçlarını etkilememesi için verilerdeki uç değerlerin atılması çok önemlidir. Bu maksatla Dixon, Blok prosedürü, Standart sapmanın kullanılması, Grubbs T istatistiği gibi metotlar vardır. Biz verilerimizdeki uç değerleri uzaklaştırmak için SPSS explore basamağını hiç aşırı uç değer kalmayınca kadar kullandık (23,24). Bu işlem ilk başlangıçta tüm hasta verilerine uygulanırken, alt gruplara ayrıldıktan sonra ise ayrı ayrı her grupta yeniden uygulanmıştır.

Tam kan analizlerinin, hayatın farklı dönemlerinde cinsiyet ve yaşa göre önemli değişiklikler göstermesi nedeniyle standart bir referans aralığı yoktur. Kimi zaman aynı bölgede benzer sistemi kullanan laboratuvarlar arasında dahi farklı referans aralıklar kullanılabilmektedir.

Bizim laboratuvarımızda tam kan parametreleri için literatürden elde edilen referans aralıklar kullanılmaktaydı. Biz bu çalışma sonunda elde ettiğimiz referans aralıklarını, üretici firmanın önerdiği ve halen kullandığımız aralıklarla karşılaştırdığımızda bazı testlerde önemli farklılıklar tespit ettik. Bizim sonuçlarımız özellikle 0-12 yaş grubu için ayrı referans aralık kullanımının gerekliliğini ortaya koyuyordu. Üretici firmanın referans aralıkları 21-81 yaş aralığında hesaplanmış olduğundan 0-12 yaş grubu için herhangi bir bilgi içermiyordu. Mevcut kullandığımız referans aralıklar ise tüm yaş gruplarını kapsıyordu ve 0-12 yaş grubu için bizim sonuçlarımızla uyumlu görünmüyordu.

Bazı tam kan testlerinin (MCHC, MCV ve WBC) referans aralıklarında cinsiyete göre çok minimal farklar bulunsada genel olarak referans aralıkların cinsiyete göre ayrı olarak sunulmasını bizim çalışma sonuçlarımızda desteklemiştir.

Sonuçlarımıza göre; özellikle yaş artışıyla birlikte erkeklerde bazı testlerin referans aralıklarında (Hct ve Hgb) önemli düşüşler gözlenmiştir. Bu nedenle 65 yaş üstü erkeklerde bu testler için referans aralıkların ayrı verilmesinin daha uygun olacağı değerlendirilmiştir.

Halen kullandığımız RDW üst referans değerleri, hem üretici firma değerlerine hem de bizim önerdiğimiz değerlere göre belirgin olarak düşük bulunmuştur. RDW referans aralıklarının değiştirilmesi gerekli görünmektedir.

WBC için bizim elde ettiğimiz üst referans aralık değerleri her iki cinsiyette de hem üretici firma hem de halen kullandığımız referans aralıklarından belirgin olarak düşük bulunmuştur.

Referans aralıkların tespiti ve sunulmasında klinik yarar her zaman göz önünde tutulmalıdır. Bu nedenle laboratuvar uzmanlarının referans aralıkların tespiti ve sunulmasında bazen birbirlerinden farklı düşünceleri son derece doğaldır. Örneğin Tablo IV'teki sonuçlardan farklı laboratuvar uzmanları farklı referans aralıklar önerebilirler.

Ayrıca HBS'den çok sayıda verinin alınması, transferi ve incelenmesi oldukça zaman almaktadır. Bu sistemlerin içerisine, eski laboratuvar sonuçlarından indirekt olarak referans aralıkların kolay bir şekilde tespit edilebilmesini sağlayacak sekmelerin eklenmesi faydalı olacaktır. Bu sayede laboratuvar uzmanları bu sekmeleri kullanarak kendi laboratuvarlarına uygun referans aralıklarını indirekt olarak belli dönemlerde hesaplayabilecekler ve üretici firma referans aralıklarının teyidini kolaylıkla yapabileceklerdir. Biz bu konuda laboratuvar yöneticileri tarafından yeterli talep olması halinde ilgili yazılım firmalarının kolay bir çözüm bulabileceklerini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak HBS'deki kayıtlı hasta sonuçlarından elde ettiğimiz referans aralıkların laboratuvarlarımız için daha uygun olduğunu düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Gary L. Horowitz. Establishment and use of reference values. In: Carl A Burtis and Edward R Ashwood (Eds.). Tietz Fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics. 5th ed. Missouri: Saunders, 2011: 60-70.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards: How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline, NCCLS document C28-A2 (ISBN 1-56238-406-6), Wayne, 2000.
3. Solberg HE. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of refer-

- ence values. J Clin Chem Clin Biochem 1987; 25:337-42
4. Howanitz, P. J. Quality assurance measurements in department of pathology and laboratory medicine. Arch Pathol Lab Med 1990. 114:1131-1135.
5. Ferré-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Puchal-Añe R. Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures. Clin Chim Acta. 1999 Jan;279(1-2):97-105.
6. Baadenhuijsen H, Smit JC. Indirect estimation of clinical chemical reference intervals from total hospital patient data: application of a modified Bhattacharya procedure. J Clin Chem Clin Biochem. 1985;23(12):829-39.
7. Kairisto V1, Hänninen KP, Leino A et al. Generation of reference values for cardiac enzymes from hospital admission laboratory data. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1994;32(10):789-96.
8. Kouri T, Kairisto V, Virtanen A, et al. Reference intervals developed from data for hospitalized patients: computerized method based on combination of laboratory and diagnostic data. Clin Chem. 1994;40(12):2209-15.
9. Solberg HE. Using a hospitalized population to establish reference intervals: pros and cons. Clin Chem. 1994;40(12):2205-6.
10. Laleli Y, Akbay A. Referans aralık analizi. Tıbbi laboratuvarlarda standardizasyon ve kalite yönetimi (Derleyenler: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ.), Mars Matbaacılık, Ankara. 2000;124-137.
11. Zardo L, Secchiero S, Sciacovelli L, Bonvicini P, Plebani M. Reference intervals: Are interlaboratory differences appropriate? Clin Chem Lab Med 1999; 37(11/12):1131-1133.
12. Gowans EMS, Petersen PH, Blaabjerg O, Hørder M. Analytical goals for the acceptance of common reference intervals for laboratories throughout a geographical area. Scand J Clin Lab Invest 1998;48:757-764.
13. Ricós C, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernández A, Iglesias N, Jiménez CV, Minchinela J, Perich C, Simón M, Domenech MV, Álvarez V. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. Scand J Clin Lab Invest 2004;64:175-184.
14. PetitClerc C, Solberg HE. Approved recommendation on the theory of reference values: Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. J Clin Chem Clin Biochem 1987;25:639-44.
15. Solberg HE, PetitClerc C. Approved recommendation on the theory of reference values: Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:593-8.
16. Solberg HE, Stamm D. Approved recommendation on the theory of reference values: Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:531-5.
17. Solberg HE. Approved recommendation on the theory of reference values: Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. J Clin Chem Clin Biochem 1987;25:645-56.

18. Ceriotti F, Boyd JC, Klein G, Henny J, Queralto J, Kairisto V, Panteghini M. Reference intervals for serum creatinine concentrations: Assessment of available data for global application. Clin Chem 2008;54(3):559-566.
19. CLSI, C28-A3 Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline, Third Edition, 2008.
20. Laleli Y. Referans Kavramı, Ulusal Referans Politikası ve Hasta Verilerinin Kullanımı. Turk J Biochem 2003; 28 (4); 225-227.
21. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. Clin Chem 1971; 17:275-284.
22. Lot, J.A., Mitchell, L.C., Estimation of reference ranges: How many subjects are needed? Clin. Chem. 1992; 38:648-650.
23. Yaşar Enli, Diler Aslan, Nalan Akalın, Yavuz Aydın, Gamze Can Yılmaztürk, İlker Göçhan, Sezgin Tekintürk, Süleyman Demir. Denizli’de Yaşayan 18-40 Yaş Arası Bireylerde Farklı Yöntemlerle Referans Aralıkların Saptanması. Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem] 2003; 28 (4); 228-245.
24. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi. Uzmanlık tezi. Veteriner Hekim Yıldız BALCI. İstanbul 2006.