



**T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

KLİNİK BİYOKİMYADA VARYASYON: BİYOLOJİK VARYASYON

**Dr. Halil İbrahim AKBAY
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Erdem ÇOKLUK**

VAN-2018



T.C.

**VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

KLİNİK BİYOKİMYADA VARYASYON: BİYOLOJİK VARYASYON

**Dr. Halil İbrahim AKBAY
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Erdem ÇOKLUK**

“Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TTU-2017-5864 kodlu proje olarak desteklenmiştir.”

VAN-2018

***KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU**

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Klinik biyokimyada varyasyon: Biyolojik varyasyon
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	Yok

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Kat:4 No:11
	TELEFON	0432 225 04 70
	FAKS	0432 216 83 52
	E-POSTA	etikkurull@gmail.com

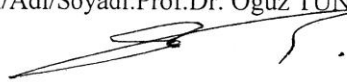
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd.Doç.Dr. Erdem ÇOKLUK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	Yok			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
İlaç dışı klinik araştırma		☒			
		Diğer ise belirtiniz			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	24.02.2017	001	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	02.05.2017	001	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER:	☒	Tüm Araştırmacılara Ait Özgeçmiş, İyi Klinik Uygulamalar 3 Ad. Literatür, Taahhütnamesi, Görev Dağılımı ve Yetkilendirme Belgesi			

Etik Kurul Başkanı

Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Oğuz TUNCER

İmza:



***KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU**

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Klinik biyokimyada varyasyon: Biyolojik varyasyon
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		Yok
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:07	Tarih: 07.03.2017
	Yrd.Doç.Dr. Erdem ÇOKLUK sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu/oy birliği ile karar verilmiştir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr. Oğuz TUNCER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr. Oğuz TUNCER	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr. Şükran SEVİMLİ	Tıp Tarihi ve Etik	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr. Sıddık KESKİN	İstatistik Uzmanı	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr. Hakkı ŞİMŞEK	Kardiyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU	Tıbbi Mikrobiyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.A.Faruk KIROĞLU	KBB	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr. Abbas ARAS	Genel Cerrahi	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr. Celalettin SOYALP	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr. Numan ÇİM	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr. Ramazan ÜSTÜN	Fizyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr. Ersoy ÖKSÜZ	Farmakoloji Uzmanı	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Lütfü POLAT	Eczacı	Van Polat Eczanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Nazlı AKTAŞ	Avukat	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hukuk Müşavirliği	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Özge Burak DEĞER	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van Sanayici ve İş Kadınları Derneği	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Adnan SELÇUK	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van İş Geliştirme Merkezi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Oğuz TUNCER
İmza:

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	VII
TÜRKÇE ÖZET.....	VIII
İNGİLİZCE ÖZET.....	X
TABLO LİSTESİ.....	XII
ŞEKİL LİSTESİ.....	XV
SİMGELER KISALTMALAR.....	XVII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1.1. Temel kavramlar ve tanımlamalar.....	5
2.1.2. Normal değer	8
2.1.3. Karar sınırları	9
2.2. Biyolojik ritim.....	9
2.2.1 Canlılarda Biyoritim, Biyolojik Saat.....	9
2.2.2. Biyoritim Türleri.....	10
2.3. Klinik laboratuvar tıbbında gözlenen varyasyonlar ve hata kaynakları.....	13
2.3.1 Analit Konsantrasyonlarına Ait Toplam Varyasyonlar.....	13
2.3.2. Tıbbi Laboratuvarda Hata Kaynakları.....	14
2.4. Pre-analitik varyasyonlar ve hata kaynakları.....	15
2.4.1. Biyolojik Materyal Toplamadan önce.....	16
2.4.1.1. Biyolojik Malzeme Toplama İşleminde Önce Kontrol Edilebilen Faktörler.....	16
2.4.1.2. Biyolojik Materyal Toplama İşleminde Önce Kontrol Edilemez Faktörler.....	21
2.4.2. Biyolojik Materyal toplama Sırasında.....	24
2.4.2.1. Toplama Zamanlaması.....	24

2.4.2.2. Örnek toplama Sırasında Hasta Pozisyonu.....	24
2.4.2.3. Turnike kullanımı ve lokal metabolizma etkisi.....	26
2.4.2.4. Toplama Sisteminin Seçimi ve Antikoagülanların Etkisi.....	27
2.4.2.5. İnfüzyon ve Transfüzyonun Etkisi.....	28
2.4.3. Biyolojik Materyal Toplama ve Analiz Arasında.....	29
2.4.3.1. Santrifüj etkisi.....	30
2.4.3.2. Numune transportu.....	30
2.5. Analitik varyasyonlar.....	33
2.6. Biyolojik Varyasyon.....	36
2.6.1. Biyolojik varyasyonun doğası ve bileşenleri.....	36
2.6.2. Biyolojik varyasyon ile ilgili farklı terim ve semboller.....	37
2.6.3. Biyolojik Varyasyon Bileşenlerinin Belirlenmesi ve Çalışma Prosedürleri.....	40
2.6.4. Biyolojik varyasyon verilerinin kullanım alanları.....	40
2.6.5. Sağlık ve hastalık durumlarında Biyolojik Varyasyon.....	41
2.6.6. Biyolojik varyasyon veri tabanı.....	42
2.7. Referans değişim değeri ve bireysellik indeksi.....	43
2.8. Demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH vitamin D testlerinin özellikleri ve varyasyonları.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	48
4.BULGULAR.....	55
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	75
6.KAYNAKLAR.....	91
7.ÖZGEÇMİŞ.....	102
8.EKLER.....	103
EK 1: Çalışma öncesi bireylerin durum değerlendirme anketi	103
EK 2: Numune toplama öncesi bireylerin durum değerlendirme anketi	105

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Erdem ÇOKLUK'a başta olmak üzere kısa süre de olsa birlikte çalışma imkânı bulduğum Sayın Prof. Dr. M. Ramazan ŞEKEROĞLU ve Sayın Dr. Ragıp BALAHOROĞLU'na, burada bulunduğum süre içinde her zaman her konuda şahsıma emeği geçen Yrd. Doç. Dr. Hamit Hakan ALP'e, değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Zübeyir HUYUT'a, saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Meslek hayatımın ve asistanlığımın yarısından fazlasını paylaştığım Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda öğretim üyesi hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim KILINÇ ve diğer hocalarım ile değerli büyüklerim ve çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Merve Sibel GÜNGÖREN'e, Uzm. Dr. Erkan TAŞYÜREK'e, Uzm. Dr. Nejla ÖZER'e, Uzm. Dr. Saliha UYSAL'a, Uzm. Dr. Tevfik BALCI'ya, Dr. Alperen AKSOY'a ve birlikte çok keyifli ve verimli zamanlar yaşadığım tüm biyokimya çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yazılma aşamasında kahrımı çeken değerli çalışma arkadaşlarım Dr. Tuba BATUR'a, Dr. Emine YILMAZ'a, Dr. Bünyamin UÇAR'a asistanlık sürecinde birlikte mesaimizin geçtiği, özveri ile çalışan tüm biyokimya laboratuvarı çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Yaşantım boyunca güvenlerini ve desteklerini esirgemeyen kardeşlerime, sevgili yeğenlerim Dr. Burak Alparslan AKBAY, Dr. Zeynep AKBAY'a ve Dr. Ayşenur AKBAY'a; sevgisiyle, ilgisiyle hep yanımda olan canım eşim Emine AKBAY'a, ailesine ve ailemizin yeni üyesi biricik kızım Esila Berra'ya teşekkür ederim.

Bu günleri görmesini çok arzu ettiğim fakat ömürleri vefa etmeyen varlık sebeplerim merhum babama ve varlığını varlığıma adayan çok kıymetli anneme dua ve şükranlarımla...

ÖZET

KLİNİK BİYOKİMYADA VARYASYON; BİYOLOJİK VARYASYON

Giriş ve amaç:

Total test sürecinde son teknoloji ile analitik hata ve varyasyon kaynakları giderek azalmakta pre-analitik hata ve varyasyon kaynakları da sistemli kalite yönetimi ve eğitimi ile azaltılabilmektedir. Bireysel test sonucu değerlendirilmesinde analiz öncesi süreçten kaynaklanan olası varyasyon kaynakları minimize edilmeye çalışıldığından ve pratikte ihmal edildiğinden, sonuç değerlendirilmesinde doğal rastgele varyasyon-birey içi biyolojik varyasyon ve analitik varyasyon verileri kullanılmaktadır.

Bu nedenle laboratuvar analitlerinin biyolojik varyasyon çalışmaları artan bir ilgi görmektedir. Bu yönelimin sebebi, bu bilginin tüm laboratuvar süreçlerindeki potansiyel pratik uygulamaları ile ilişkili olmasıdır. Biyolojik varyasyon verileri, test yorumları için popülasyona dayalı referans aralıklarının kullanımının değerlendirilmesi için bireysellik indeksi, referans aralığı içinde yer alan test sonuçlarının tekrarlarında meydana gelen önemli değişikliğin tahmini gibi laboratuvar testlerinin yorumlanması ve kullanılması için önemli verilerin türetilmesine izin verir.

Bu çalışmamızda sonuçları popülasyona dayalı referans aralıkları ile karşılaştırma kullanılarak değerlendirilen demir, transferrin ferritin folat vitamin B12 ve 25-OH vitamin D testlerinin birey içi ve bireyler arası BV verilerini elde etmeyi ve bu değerleri kullanarak bireysellik indeksi ve referans değişim değeri verilerini türeterek ilgili testler için popülasyona dayalı referans aralıklarının kullanımını değerlendirmeyi amaçladık.

Materyal-Metod: Çalışmamızda Demir, Transferrin, Ferritin, Vitamin B12, Folat ve 25-OH vitamin D testleri için birey içi biyolojik varyasyon bileşenlerinin ve referans değişim değerlerinin belirlenmesi amacıyla 22-50 yaş aralığındaki 21 (11 kadın, 10 erkek) sağlıklı gönüllüden bir ay içerisinde 0.1.7.14.ve 28. günlerde toplam 5 adet venöz kan örneği alındı. Tüm testler otoanalizörde çalışılmış olup her iki cinsiyet ve tüm grup için CVI, CVG, II, RCV değerleri hesaplandı.

Bulgular: Tüm parametreler ve tüm gruplar için BV verileri sırasıyla; CV_A (%) / CV_I (%) / CV_G (%) Demir, 0.67/27.3/32.3 Transferrin, 0.62/3.60/10.24 Ferritin, 2.27/6.21/105.6 Folat, 4.71/10.3/28.56 Vitamin B12, 6.16/5.77/34.6 ve 25-OH Vitamin D, 3.44/8.21/54.9 RCV için 2 yönlü olasılık 95% - 99% sırasıyla 74,9/98,7 10,1/13,3 18,3/24,1 31,4/41,3 23,4/30,8 24,7/32,5 ve bireysellik indeksleri sırasıyla 0.8 0,4 0,1 0,4 0.17 0,1 olarak bulundu.

Sonuç: Demir, Transferrin, Folat, Vitamin B12, 25-OH Vitamin D için CVI ve CVG değerleri literatür ile uyumlu olup Ferritin için çalışmamızda bulduğumuz CVI ve CVG değerleri veri tabanında yer alan değerlerden farklı hesaplandı. Bu farklılığın çalışma için seçilen bireylerin özelliklerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. II için bulunan değerler ile yapılan RA kullanımının uygunluk ve faydasını değerlendirmede; Demir için $II < 0.6$ ve $II > 1.4$ olarak alındığında RA kullanımı uygun olup, Transferrin, Folat, Vitamin B12, 25-OH Vitamin D için ise RA yerine RCV kullanımının daha uygun olduğu değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Pre analitik varyasyon, Analitik varyasyon, Birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyon, Referans değişim değeri, Bireysellik indeksi.

SUMMARY

VARIATION IN CLINICAL BIOCHEMISTRY; BIOLOGICAL VARIATION

Aim: With the state of art, analytical error and variation sources are gradually reduced in total test process, pre-analytical error and variation sources can be reduced by systematic quality management and training. In the evaluation of the individual test results, possible sources of variation arising from the pre-analysis process are tried to be minimized and practically neglected, and natural random variation-in-subject biological variation and analytical variation data are used in the evaluation of the outcome.

For this reason, studies of biological variation of laboratory analytes are of increasing interest. The reason for this trend is that in all laboratory processes associated with potential practical applications of this knowledge. Biological variation data allows derivation of important data for the interpretation and use of laboratory tests such as the estimation of the individuality index for assessing the use of population-based reference intervals for test interpretations, the prediction of significant changes occurring in repetitions of test results within the reference interval.

In this study, we aimed to obtain intra-individual and intra-individual BV data of the Iron, Transferrin, Ferritin, Vitamin B12, Folate and Vitamin D tests which were evaluated by comparing the results with the population-based reference intervals. And also we aimed to obtain the individuality index and reference change value, based to reference intervals with using of these values

Materials and Methods: 21 (11 female, 10 male) healthy individuals age between 22-50 years were included in the study to determine the intra-individual biological variation components and the reference change values for Iron, Transferrin, Ferritin, Vitamin B12, Folate and Vitamin D tests. A total of 5 venous blood samples were taken at 0.1.7.14.and 28th days within one month. All tests were performed in the autoanalyzer and CVI, CVG, II, RCV values were calculated in the both genders and all of the groups.

Results: BV data for all the parameters in all the groups are; CVA (%) / CVI (%) / CVG (%) Iron, 0.67 / 27.3 / 32.3 Transferrin, 0.62 / 3.60/10.24 Ferritin, 2.27 / 6.21 / 105.6 Folate 4.71 / 10.3 / 28.56 Vitamin B12, 6.16 / 5.77 / D Vitamin 3.44 / 8.21 / 54.9 respectively.

RCV calculated as a 2-tailed value at level of probability of significant change set at 0.95 - 0.99; 74.9 / 98.7 10.1 / 13.3 18.3 / 24.1 31.4 / 41.3 23.4 / 30 , 8 24,7 / 32,5 and individuality indices were 0.8 0,4 0,1 0,4 0.17 0,1 respectively.

Conclusion: CVI and CVG values for Iron, Transferrin, Folate, Vitamin B12, 25-OH Vitamin D are in accordance with the literature. The CVI and CVG values for ferritin were calculated differently from the values in the database. This difference might be due to the characteristics of selected individuals for study. Evaluating the suitability and utility of the use of RA with values found for II; For iron, the use of RA was appropriate when taken as $II < 0.6$ and $II > 1.4$, and for Transferrin, Folate, Vitamin B12, 25-OH Vitamin D the use of RCV is better than the use of RA.

Keywords: Preanalytic variation, Analytic variation, Within and between-subject biological variation, Reference change value, Individuality index.

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Klinik biyokimya testlerinin kullanım amaçları	3
Tablo 2. Bazı kullanım amaçları için testler	3
Tablo 3. Sabit kriterlere karşı değişimin yorumlanması	8
Tablo 4. Referans aralık ve karar sınırları farklılıkları.....	9
Tablo 5. Temel biyolojik saat çeşitleri.....	11
Tablo 6. İnsanlarda gözlenen ritim örnekleri,.....	12
Tablo 7. Laboratuvar test işleminin 3 aşamasındaki hata türleri ve oranları.....	15
Tablo 8. Normal bir yemekten sonra serum konsantrasyonlarındaki değişiklikler....	18
Tablo 9. Ağır egzersizin bazı serum değerleri üzerine olan etkileri.....	18
Tablo 10. Gebelikte çeşitli analit düzeylerinde değişikliğe neden olan mekanizmalar.	20
Tablo 11. Saat 08.00 ve 14.00’te alınan serum numunelerindeki aynı analitlerin total analitik varyasyonları.....	22
Tablo 12. Bazı analitlerin gün içinde gösterdiği değişimler.....	23
Tablo 13. Yatar pozisyondan ayaktaki pozisyona geçmekle bazı serum değerlerinde meydana gelen artışlar.....	26
Tablo 14. Numune alımı sırasında turnike uygulanmasının süresiyle analizlerin serum konsantrasyonlarında gözlenen değişimler	27
Tablo 15. İnfüzyon sonrası kan alınma zamanları	28
Tablo 16. Hemolizin test sonuçları üzerine etkisi.....	29
Tablo 17. Hemolizin test sonuçları üzerine etki mekanizması.....	30
Tablo 18. Taşıma süresinde artma sonucu çeşitli analizlerde gözlenen değişiklikler.	31
Tablo 19. Örnek toplama değişkenlerinin olası kaynakları.....	31
Tablo 20. Preanalitik Değişkenler.....	32
Tablo 21. Preanalitik biyolojik faktörler.....	32
Tablo 22. Preanalitik metodolojik faktörler.....	33

Tablo 23. Bazı daha az tanımlanabilir preanalitik değişkenlerin laboratuvar testleri... üzerine etkisinin özetlenmesi.....	33
Tablo 24. Sistematik hata kaynakları.....	34
Tablo 25. Sistematik hata kaynakları – trend.....	34
Tablo 26. Sistematik hata kaynakları – shift.....	35
Tablo 27. Random hata kaynakları.....	35
Tablo 28. Bireylere ve gruplara uygulanabilir BV bileşenini tanımlamak için en sık kullanılan terim ve semboller.....	38
Tablo 29. Biyolojik çeşitlilik verileri ile ilgili semboller ve formüller	39
Tablo 30. Çalışmaya dahil edilen katılımcıların yaş aralığı	50
Tablo 31. Demir BV tüm bireylere ait veriler	55
Tablo 32. Transferrin BV tüm bireylere ait veriler	56
Tablo 33. Ferritin BV tüm bireylere ait veriler.....	56
Tablo 34. Folat BV tüm bireylere ait veriler.....	57
Tablo 35. Vitamin B12 BV tüm bireylere ait veriler.....	57
Tablo 36. 25-OH Vitamin D tüm bireylere ait veriler.....	58
Tablo 37. Toplam varyasyon hesaplanması.....	59
Tablo 38. Biyolojik varyasyon açısından analitik kalite hedefleri	59
Tablo 39. BV çalışma parametrelerinin aynı analitik çalışmadaki iç kalite kontrol verileri.....	59
Tablo 40. Demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH vitamin D analitlerinin CVA, CVI ve CVG sonuçları.....	60
Tablo 41,42. Demir Tüm bireylere ait özet tablo	62
Tablo 43,44. Transferrin tüm bireylere ait özet tablo	64
Tablo 45,46. Ferritin tüm bireylere ait özet tablo	66
Tablo 47,48. Folat tüm bireylere ait özet tablo.....	68
Tablo 49,50. Vitamin B12 tüm bireylere ait özet tablo	70

Tablo 51,52. 25-OH vitamin D tüm bireylere ait özet tablo	72
Tablo 53. Tüm analitlere ait RCV % değerleri.....	73
Tablo 54. Tüm analitlere ait (B) % değerleri.....	73
Tablo 55. Tüm analitlere ait (TEA)% değerleri.....	73
Tablo 56. Tüm analitlere ait bireysellik İndeksi (II) değerleri.....	74
Tablo 57. Tüm analitlere ait iki yöntem arasında izin verilen % fark.....	74
Tablo 58. Tüm analitlere ait impresizyon için hedef değer %.....	74
Tablo 59. Serum demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH vitamin D analitlerinin CVI değerleri ile BV veri tabanı değerleri ile karşılaştırılması.....	79
Tablo 60. Serum demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH vitamin D analitlerinin CVG değerleri ile BV veri tabanı değerleri ile karşılaştırılması.....	80
Tablo 61. Serum demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH vitamin D analitlerinin CVA değerleri ile BV veri tabanı değerleri ile karşılaştırılması.....	80
Tablo 62. Serum demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH vitamin D analitlerinin bias ve total izin verilebilir hata değerleri ile BV veri tabanı değerleri ile karşılaştırılması.....	80

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: İki biyolojik fonksiyonun faaliyetleri arasında gözlenen faz ilişkileri ve faaliyet özellikleri.....	1
Şekil 2. Rastgele ve sistematik hataları açıklayan kavramlar ile ölçüm belirsizliği arasındaki ilişkiler.	6
Şekil.3. İki biyolojik fonksiyonun faaliyetleri arasında gözlenen faz ilişkileri ve faaliyet özellikleri	10
Şekil.4. Klinik laboratuvarlarda laboratuvar testi belirsizliğinin ana kaynakları	14
Şekil.5. Klinik laboratuvarlarda pre-analitik varyasyon ve hata kaynakları.....	16
Şekil.6. Yemek sonrası görülen % değişimler	17
Şekil.7. Kadın ve erkek ortalama değerleri arasındaki fark. (Kadınların ortalama değeri 1 kabul edilmiştir)	24
Şekil.8. Postürün değiştirilmesiyle bazı analitlerde görülen yüzde artış (uzanır pozisyonundan ayakta durmaya göre)	25
Şekil.9. Biyolojik varyasyon verilerinin laboratuvar süreçlerinde çeşitli kullanım alanları.....	41
Şekil 10. Demir tüm bireylere ait bias, ta_e , RCV_{CVA} RCV_{CVgoal}	62
Şekil 11. Transferrin tüm bireylere ait bias, ta_e , RCV_{CVA} RCV_{CVgoal}	64
Şekil 12. Ferritin tüm bireylere ait bias, ta_e , RCV_{CVA} RCV_{CVgoal} L.....	66
Şekil 13. Folat tüm bireylere ait Bias, bias, ta_e , RCV_{CVA} RCV_{CVgoal}	68
Şekil 14. Vitamin B12 tüm bireylere ait bias, ta_e , RCV_{CVA} RCV_{CVgoal}	70
Şekil 15. 25-OH vitamin D tüm bireylere ait bias, ta_e , RCV_{CVA} RCV_{CVgoal}	72
Şekil 16. Yayın sayısı 2-9 arasında belgelenen her bir analit için maksimum (CVI_{max}) ve minimum (CVI_{min}) CVI arasındaki oran.....	77
Şekil 17. Demir düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı.....	81
Şekil 18. Transferrin düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı.....	82
Şekil 19. Ferritin düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı.....	83

Şekil 20. Folat düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı ve referans aralığı.....84

Şekil 21. Vitamin B12 düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı ve referans aralığı.....85

Şekil 22. 25-OH vitamin D düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı ve referans aralığı.....85



SİMGELER KISALTMALAR

B: Doğruluktan Sapma (Bias)

BV: Biyolojik Varyasyon

BVG: Biyolojik Varyasyon Grubu

CV: Varyasyon Katsayısı (Coefficient of Variation)

CVA: Analitik Varyasyon (Analytical Variation)

CVI: Birey içi Biyolojik Varyasyon (Within-Subject Variation)

CVG: Bireyler arası Biyolojik Varyasyon (Between-Subject Variation)

EFLM: Avrupa Klinik Kimya Ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)

EuBIVAS: Avrupa biyolojik varyasyon çalışması (The European Biological Variation Study)

I: Ölçüm Belirsizliği (Imprecision)

ISO: Uluslararası Standardizasyon Organizasyonu (International Organization for Standardization)

İKK: İç Kalite Kontrol

P: Analitik Kesinlik (Precision)

RCV: Referans Değişim Değeri (Reference Change Value)

SD: Standart Sapma (Standard Deviation)

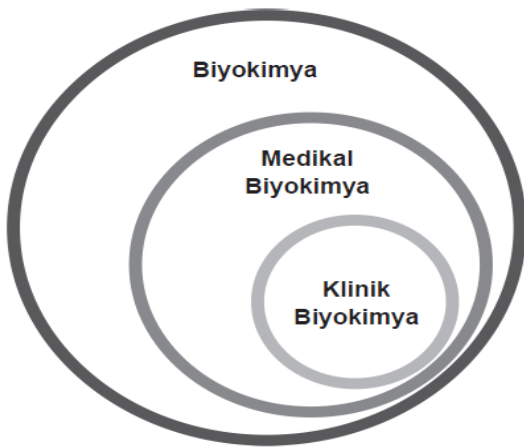
II: Bireysellik İndeksi (Index of Individuality)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanlarda mevcut sağlık durumunu inceleme, var olan bir hastalığı tespit etme, gereken tedaviyi belirleme, tedavi gören hastada tedavinin etkisini değerlendirme, ilaç kullanım durumu ve düzeyi ile hastalığın seyri, iyileşme ve prognoza karar verme tıbbın çalışma konuları olarak belirtilmektedir. 'Biyokimya' terimi ilk kez bir Alman kimyager Carl Neuberg tarafından 1903'te tanıtılmıştır. Biyokimya, canlı maddenin kimyasal doğası ve kimyasal davranışıyla ilgili bir bilim olarak tanımlanabilir. Canlı maddenin kimyasal bileşenlerinin yapısı, biyolojik sistemlerde dönüşümü ve bu dönüşümlerle ilişkili enerji değişiklikleri ile ilgili çalışmaları dikkate alır (1).

Klinik kimya bir bilim, bir hizmet ve bir endüstridir. Bilim olarak, klinik kimya, genel kimya, organik kimya ve biyokimya bilgilerini insan fizyolojisini anlama ile ilişkilendirmektedir. Bir hizmet olarak klinik kimya laboratuvarı, tıbbi kararların verilebileceği objektif kanıtlar üretilmesini sağlamaktadır. Bir endüstri olarak, klinik laboratuvarlar ülkelerde ticareti yönlendiren düzenlemeler ve uygulamalar çerçevesinde faaliyet göstermektedir (2).

Klinik biyokimya vücut sıvıları, dokular ve hücrelerde çalışılacak biyokimyasal testlerin seçimi, uygulanması, tıbbi yorumlanması, klinisyenlerle konsültasyonu ile ilgilenen kliniğe özgün laboratuvar bilimi ve tıbbi laboratuvar uzmanlık alanıdır (4). Klinik kimya, biyokimya ve medikal biyokimya ilişkisi şekil 1'de gösterilmiştir. Ayrıca tablo 1'de (1) klinik biyokimya testlerinin kullanım amaçları ve tablo 2'de (3) bazı kullanım amaçları için testler belirtilmiştir.



Şekil 1. Biyokimya, Medikal Biyokimya ve Klinik Biyokimyanın ilişkisi

Tüm tanıların %70-80'inin kısmen de olsa laboratuvar testlerine bağlı olarak konulduğu rapor edilmektedir. Bu nedenle laboratuvar hataları yanlış tanı, tanıda gecikme, uygun olmayan tedavi, hasta güvenliğinde artmış risk, artmış maliyet ve zaman kaybı gibi önemli negatif sonuçlara neden olabilmektedir (5).

Günümüzde hematolojik ve biyokimyasal testler otomatize sistemlerle çalışılmasına rağmen, hala laboratuvar sonuçlarını etkileyebilen pek çok değişken mevcuttur (6).

Şüphesiz hastalığın saptanması, sınıflandırılması, tedavisi ve takibi gibi majör tıbbi kararlarda doğru test sonuçları gerekmektedir (7).

Laboratuvarlar test sonuçları yorumlanırken yapılan işlemler neticesinde gözlenen değerlerin normal kabul edilen değerlerden farklı olup olmadığını, farklılık olması durumunda farkın ne kadar anlamlı olduğunu, sonuç – klinik uyumunu, farklı test sonuçlarının birbirleriyle ilişkisini değerlendirilmektedir. Bu nedenlerden dolayı test sonuçları kritik önem taşımaktadır (7).

-Doğru laboratuvar sonucuna, analitik doğruluğun yanı sıra etki eden diğer faktörler şu şekilde özetlenebilir:

- Uygun hasta hazırlığı ve sonrasında doğru hastadan, doğru zamanda, doğru numunenin alınması,
- İntravenöz sıvı kontaminasyonu, doku hasarı, uzun süreli venöz staz ya da hemolizden kaçınmak için doğru numune alma tekniği,
- Numunenin laboratuvara uygun bir şekilde taşınması, doğru sıcaklıkta muhafaza edilmesi analiz için hazırlanması ve analit düzeylerinin doğal olmayan değişikliklerden etkilenmeyecek şekilde analizi,
- Yöntemin, analit düzeyini 'gerçek' analit düzeyinin ('altın standart' ölçüme göre) tıbbi olarak toplam kabul edilebilir analitik hata sınırları (TAAE) içinde verilmesi,
- Klinisyene gelen raporun, doğru sonuç ile birlikte, karar sürecinde klinisyene yardımcı olacak referans aralıkları, diğer açıklamaları ve yorumlamaları da içermesi gerekmektedir (8).

Tablo 1. Klinik biyokimya testlerinin kullanım amaçları (1)

a. Gizli hastalıkların tesbiti
b. Tamiri olmayan hasarların önlenmesi.
c. İşaret veya semptomların başlangıcından sonra erken teşhis.
d. Çeşitli olası hastalıkların ayırıcı tanısı.
e. Hastalığın evresinin belirlenmesi.
f. Hastalığın aktivitesini tahmin etmek.
g. Hastalığın tekrarını saptamak.
h. Terapinin etkisini izlemek.
i. Ailevi problemlerde genetik danışmanlık.
j. Aile hukuku sorunları, örneğin babalık davaları v.b.

Tablo 2. Bazı kullanım amaçları için testler (3)

Tanıyı doğrulamak için	Şüpheli hipertiroidizmde Serum serbest T4 ve tiroid uyarıcı hormon (TSH)
Ayırıcı tanıya yardımcı olmak	Sarılığın farklı formlarını ayırt etmek
Tanıyı hassaslaştırmak için	Cushing sendromunu lokalize etmek için adrenokortikotropik hormon (ACTH) kullanımı
Hastalığın ciddiyetini değerlendirmek	Böbrek hastalığında serum [kreatinin] veya [üre]
Süreci monitörize etmek için	Diyabetik hastaların tedavisini izlemek için plazma [glukoz] ve serum [K +] ketoasidoz (DKA)
Komplikasyonları veya yan etkileri tespit etmek	Hepatotoksik ilaçlarla tedavi edilen hastalarda alanin aminotransferaz (ALT) ölçümleri
Tedaviyi izlemek için	Antiepileptik ilaçlarla tedavi edilen hastalarda serum ilaç konsantrasyonları

Bir bireyde gözlemlenen değerlerin zaman içindeki değişimi, referans değerlerini önemli ölçüde etkileyen üç farklı kaynaktan, yani pre-analitik, analitik ve doğal rastgele

biyolojik değişimden etkilenmektedir. Laboratuvarlarda, tüm laboratuvar aşamalarıyla ilgili varyasyon kaynaklarının (preanalitik, analitik ve biyolojik varyasyon) belirlenmesi ve mümkün olan en az seviyeye indirilmesi hedeflenmektedir. Ölçüm sonuçlarının güvenilirliği açısından bireyde ölçümü yapılan analit değerlerinde zaman içinde meydana gelen değişikliklerin, biyolojik varyasyonlarla ayırımlarının yapılması ve sonuçların değerlendirmesine dahil edilmesi önerilmektedir (9). Tüm varyasyon kaynaklarının doğru tahmin edilmesi, sonuçların yorumlanmasında yararlanılan geleneksel referans aralık değerlerinin kullanılabilirliğini de etkilemektedir (10).

Pre-analitik varyasyonun büyüklüğü göz önüne alındığında laboratuvarıda kullanılan ve genellikle minimum düzeyde bir varyasyonla tasarlanan çalışma ile oluşturulan referans değerlerinin, muhtemel varyasyon kaynakları dikkate alındığında klinik amaçlar için uygunsuz olabileceğini hatırd tutmak çok önemlidir (11).

Varyasyonun kaynakları içinde yer alan biyolojik varyasyonun belirlenebilmesi, ölçümü hedeflenen analit için bir bireyde uygun zaman ve aralıklarla çok sayıda gözlem yapılmasını gerektirmektedir (12).

Yeterli sayıda yapılan bu gözlemlerle birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyon değerleri ve bunların kullanımı ile bireysel referans aralık değerleri üretilebilmekte ve sonuçların değerlendirilmesine önemli katkılar sağlayabilmektedir (13).

BV bileşenleri hakkındaki mevcut veriler, bir bireyden elde edilen ardışık ölçümler arasındaki farklılıkların anlamlı olup olmadığının değerlendirilmesi amacıyla da kullanılabilir. Laboratuvar tıbbının ilgilendiği çoğu analitin bireysellik özelliği dikkat çekmektedir. Belirgin bireysellik, populusyona dayalı referans aralıkları kullanımının faydasının değerlendirilmesinde önemli olup, analit değerlerinin bireyler arasında da farklılık gösterip göstermediğinin belirlenmesine de ihtiyaç duyulmaktadır (14).

Bu çalışmamızda öncelikli amacımız Demir, Transferrin, Ferritin, Folat, Vitamin B12 ve 25-OH D Vitamini testlerinin doğal (random-inherent) birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyonunu hesaplamaktır.

Sonraki amacımız ise seçili parametreler için türetilen değerler ile referans değişim değeri (RCV) ve bireysellik indeksini belirlemek ve bireysellik indeksi değerleri ile de populusyona dayalı geleneksel referans aralıklarının kullanımının faydasını ve uygunluğunu değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.1 Temel kavramlar ve tanımlamalar

Ritim: Genel anlamda periyot, sıklık, büyüklük ve faz gibi parametreler hakkında bilgi veren, tekrarlayıcı nitelikteki düzenli, tarif edilebilen ve gözlenebilen olaylar olarak adlandırılmaktadır (15).

Biyoritim: Organizmanın duyguları ve fonksiyonları ile biyolojik göstergelerinde değişimlere yol açan çevresel ya da içsel kaynaklı faktörlerle beslenen dakika, saat, yıl; gece-gündüz; soğuk sıcak gibi faz ve periyotlarla ilerleyen bir siklus şeklinde yenilenen birden çok döngü sistemlerini tanımlayan kavramdır (16).

Kesinlik (precision: tekrarlanabilirlik): Belirlenmiş koşullarda elde edilen, birbirinden bağımsız sonuçların birbirine yakınlığını gösteren parametredir.

Varyasyon (değişkenlik) katsayısı standart sapmanın ortalamaya göre yüzde kaçlık değişim gösterdiğini belirtir ve değişkenliği standardize ettiği için tekrarlanabilirliğin değerlendirilmesinde kullanılır ve [%CV (Coefficient of Variation) = %Relative Standard Deviation = (standart sapma/ortalama) *100] formülü ile hesaplanır. Rastgele hatayı değerlendirmektedir (17).

Doğruluk (Accuracy): Bir sonucun gerçek veya gerçek olduğu kabul edilen değere ne kadar yaklaştığının ölçütüdür. ISO 5725’de (18) doğruluk, gerçeklik (trueness) ve kesinlik (precision) ile ifade edilir denmektedir. Hem sistematik hem de rastgele hata ile ilişkilendirilmektedir.

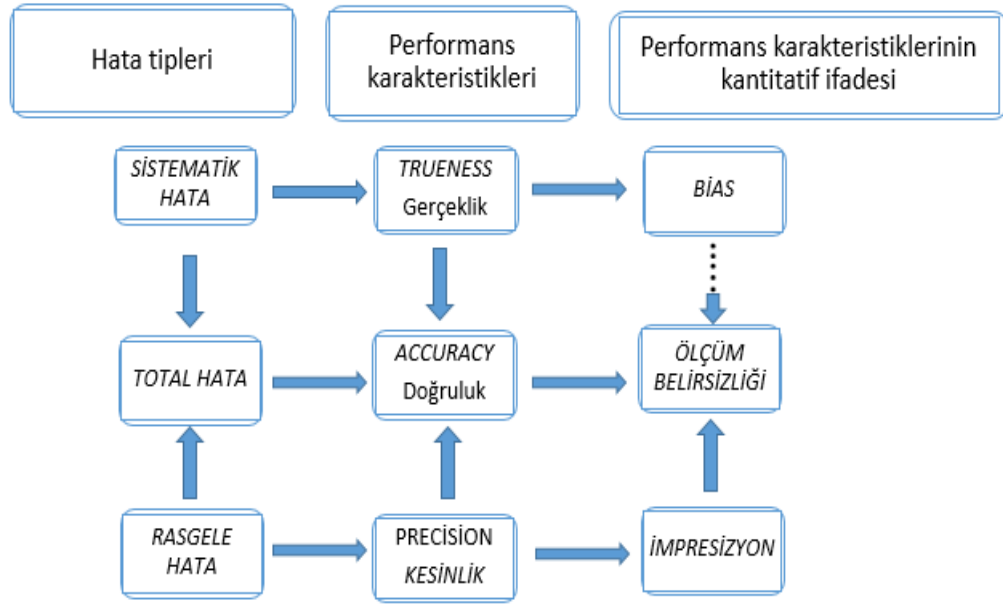
Gerçeklik (Trueness): Bir seri tekrar ölçümden elde edilen ortalama değer gerçekteki veya gerçek olduğu kabul edilen değere ne kadar yaklaştığının ölçütüdür. Sistematik hatayı değerlendirmektedir (18).

Bias: Bir seri tekrar ölçümden elde edilen ortalama değerle gerçek veya gerçek olduğu kabul edilen değer arasındaki farktır. Bias değeri sistematik hatayı vermektedir (18).

Shift: Kontrol değerlerinde ve muhtemelen hasta değerlerinde ani ve sonunda kararlı bir değişikliğe yol açan bir sistematik hata türü olarak tanımlanmaktadır (19).

Trend: Kontrol değerlerinde ve muhtemelen hasta değerlerinde aşamalı, çoğunlukla ince, artış veya azalmaya yol açan bir sistematik hata türü olarak tanımlanmaktadır (19).

Menditto ve ark. (20) tarafından uyarlanan konsept diyagramına göre hata tipleri, performans karakteristikleri ve onların kantitatif ifadeleri arasında bir döngünün olduğu belirtilmiştir. Bununla ilgili olarak rastgele ve sistematik hataları açıklayan kavramlar ile ölçüm belirsizliği arasındaki ilişkiler şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Rastgele ve sistematik hataları açıklayan kavramlar ile ölçüm belirsizliği arasındaki ilişkiler (21),

Biyolojik varyasyon:

Değişiklik, yaşam süresinin ve ritmik biyolojik döngülerin bir sonucu olabilmesine rağmen, birçok analitin biyolojik çeşitliliği, en basit modelde, homeostatik bir ayar noktasının etrafındaki rastgele dalgalanma olarak tanımlanmaktadır (22).

Homeostatik ayar noktası: Bir bireyin sonuçlarının zaman içerisinde etrafında dolaştığı değer olarak tanımlanmaktadır (22).

Homeostatik model: Analitin rastgele davrandığını ve her bireyin homeostatik bir ayar noktasına sahip olduğunu varsayan zaman serileri analizi için bir model olarak tanımlanmaktadır (22).

Birey içi biyolojik varyasyon: Birey içi veya bireysel biyolojik çeşitlilik, bireylerin homeostatik ayar noktası etrafındaki ortalama rasgele dalgalanmadır (22).

Bireyler arası biyolojik varyasyon: Bireyler arası biyolojik çeşitlilik, bireylerin belirlenen homeostatik ayar noktaları arasındaki fark olarak tanımlanmaktadır (22). Matematiksel terimlerle birlikte bunlar genellikle sırasıyla; CVI ve CVG olarak adlandırılan

varyasyonun (CV) katsayısı olarak ifade edilmektedir (22).

Referans değişim değeri: Bir kişinin seri sonuçlarında önemli bir değişiklik olmadan önce, önceden belirlenmiş bir olasılıkta aşılması gereken değer (22). Bir başka deyişle, iki sonuç arasındaki değişikliğin klinik önemini betimleyen sayısal değere klasik olarak kritik fark veya RCV denir (23).

Bireysellik indeksi: En sıklıkla, varyasyonun biyolojik bileşenlerinin basit oranı olarak hesaplanan birey içi varyasyonun bireyler arasına oranı olarak tanımlanır (22,23).

Sabit limit: Klinik hareketin bir ölçütü olarak veya yeterlilik testleri ya da dış kalite değerlendirme yöntemlerinin kabul edilebilirliği için bir kriter olarak kullanılan farklı bazı yöntemlerle belirlenen bir değer olarak tanımlanmaktadır (22).

Pre-analitik varyasyon: Bir test sonucu elde etme sürecinin analiz öncesi kısmından kaynaklanan varyasyon olarak tanımlanmaktadır. (22).

Analitik varyasyon (CVA); bir bireyde ölçümü yapılan tüm analitler için elde edilen değerlerin farklı zamanlardaki farklı sonuçların toplam varyasyonuna katkıda bulunan ve kararsızlık ve ön yargı (bias) bileşenlerinden oluşan analiz işleminin doğasında yer alan varyasyondur.

Toplam analitik hata, ölçüm belirsizliği (I: Impresizyon) ve doğruluktan sapma (B: Bias) olarak ifade edilen analitik özelliklere ait tahminlerin birlikte etkilediği toplam hata ile belirlenmektedir.

Bu analitik özellikler CVA'un ana kaynakları olarak kabul edilmektedir (20).

Laboratuvar pratiğinde I, tekrarlı analizler ve dağılımın SD veya CV olarak hesaplanmasıyla belirlenmektedir.

Toplam izin verilebilir hata: (TEa) toplam hata için kalite belirtimi olarak ifade edilmektedir ve genellikle $\text{bias} + 1.65 * \text{kesinlik}$ olarak tanımlanır; ancak diğer formüller de mevcuttur;

Genel formül $\text{TE} = \text{bias} + n * \text{kesinlik}$ (n: istenen güven aralığı için sabit değerdir).

Toplam analitik hata = Rasgele Hata + Sistemik Hata

İdeal koşullar altında toplam analitik hata sıfıra eşittir, ancak I, büyük ölçüde yöntem bağımlıdır ve kullanılacak yöntemin dikkatli seçimiyle azaltılabilirse de hiçbir zaman sıfır olmamaktadır. Yalnızca sistemik hata değişimi (ΔSE) sıfır olabilir ($\Delta\text{SE} \geq 0$), çünkü random hata değişimi (ΔRE) her zaman sıfırdan büyüktür ($\Delta\text{RE} > 0$), bu durum hatanın doğasından

kaynaklanmaktadır. $TE > 0$ kaçınılmaz olduğu için her bir saptamanın TE'si belirlenen bir sınırın altında olmalıdır. Bu sınır, "izin verilen toplam analitik hata" (TEa) olarak adlandırılır ve bir klinik laboratuvarında belirlenen her analit için farklı olmaktadır (24).

2.1.2. Normal değer ve test sonuçlarının yorumlanması

Klinik laboratuvarlarda elde edilen test sonuçlarının yorumlanması sıklıkla popülasyona dayalı referans aralıklarla karşılaştırılarak yapılmaktadır (25).

Belirli bir test için verilen referans aralığı içindeki her sonucun 'normali' yansıttığı düşüncesi her durum için doğru olmayabilir.

Buna göre “**normal değer**” terminolojisinin kullanımı günümüzde terk edilmiştir. Sağlıklı ve hastalıklı teriminin laboratuvar tarafından değerlendirilebilmesi için Uluslararası Klinik Kimya federasyonu (IFCC), normal değer yerine referans değer ve bununla ilişkili olarak referans birey, referans sınır, referans aralık ve gözlenen değerler terimlerinin kullanılmasını önermektedir (26).

Test sonuçları Tablo 3.de yer aldığı şekliyle farklı değerler ile karşılaştırılabilir.

Tablo 3. Sabit Kriterlere Karşı Değişimin Yorumlanması (22).

Popülasyona dayalı referans değerler

- Klinik faaliyet için yerel olarak kabul edilen protokoller,
- Uzman kişiler, gruplar veya komiteler tarafından önerilen değerler,
- Riske dayalı değerler ve
- Üst referans limitinin katları.
- Bireyden elde edilen önceki sonuçlar.

Yukarıda listelenen son dört yorumlayıcı yardımcı madde, bunların nasıl geliştirildiğine bakılmaksızın "klinik sabit sınırlar" olarak tanımlanmaktadır. Bazen bunlar cut-off değerleri (teşhis veya tarama testleri için, sürekli sonuçların kategorilere bölünmesi için kullanılan değer) olarak da adlandırılmaktadır. Bunlar bir şekilde klinik sonuçla ilişkili olması ve genellikle iyi kanıtlara veya "uzmanların" görüşlerine dayanıyor olması gibi avantajları bulunmaktadır. Bununla birlikte, klinik ortamda hastaları izlemek için kullanıldığında dezavantajları bulunmaktadır.

2.1.3. Karar sınırları

Klinik laboratuvarların sağlık hizmetinde üstlenmiş oldukları birçok sorumlulukları bulunmaktadır. Bu sorumluluklarla ilişkili olarak karar vermeye yarayan test sonuç değerleri kritik önem taşımaktadır. Karar sınırları olan bu değerler, kişileri hastalıklı ve sağlıklı olarak sınıflandırmak ya da referans sınırına bakmaksızın, tıbbi müdahale tavsiye edildiğinde, hastaları teşhis etmek için kullanılan eşik değerler olarak belirtilmektedir (27).

Karar sınırları yaygın olarak spesifik durumların veya risk faktörlerinin teşhisi için kullanılmaktadır. Kolesterol, Hemoglobin A1c gibi analitler için ‘tıbbi karar sınırları’ sağlıklı ilişkili referans aralıklarından daha çok kullanılmaktadır (28).

Referans aralıklarla karar sınırları arasında koşul ve faktörler, elde edilme yolları, hesaplamada yararlanılan istatistik ve görülme şekilleri açısından mevcut olan bazı farklılıklar Tablo 4’de gösterilmektedir (29).

Tablo 4. Referans aralık ve karar sınırları farklılıkları (29).

	Referans aralıklar	Karar sınırları
Etkilendikleri koşul ve faktörler	İyi tanımlanmış popülasyon yaş, cinsiyet vs.	Klinik soru hastalık kategorisi
Elde edilme yolları	Referans popülasyonun bir parçası olmak ya da olmamak	Belli durumdaki hasta
İstatistik	Dağılım eğrisinin %95 merkezi aralığı	Roc eğrileri öngörü değerleri
Rapor edilme şekilleri	Alt ve üst limit değerleri	Bir ya da daha fazla rakam klinik durum durum olasılığına veya farklı klinik sorulara göre

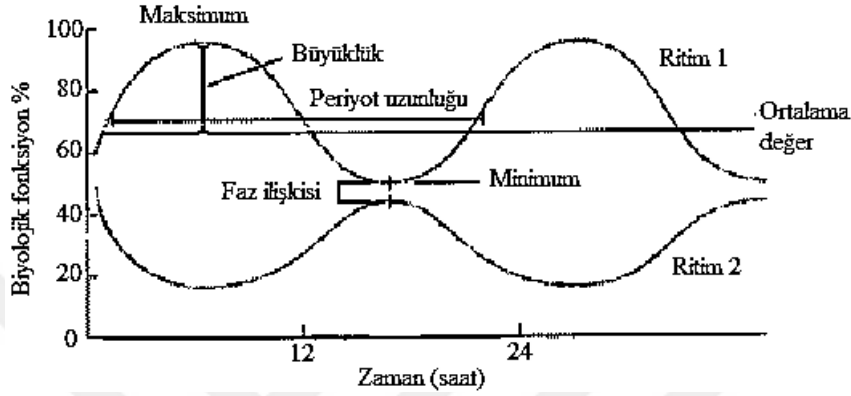
2.2. Biyolojik ritim

2.2.1. Canlılarda Biyoritim, Biyolojik Saat

Birçok organizmanın biyolojik ritminin, organizmanın biyokimyasal, fizyolojik ve davranış süreçlerinde yaklaşık 24 saatlik siklus olarak belirtilen bir dalgalanma şeklinde olduğu ve bu ritimlerin iç sirkadiyen moleküler mekanizmalarının, ışık gibi dış abiyotik çevre veya her ikisi tarafından düzenlendiği ifade edilmektedir (30).

Bu 24 saatlik zaman içinde uyku, kalp atımı, kan basıncı, vücut ısısı, kandaki hormon konsantrasyonları, hepatik metabolizma ve detoksifikasyon, renal eliminasyon gibi birçok biyolojik fonksiyon belli bir periyot ile gerçekleşmektedir (31).

Biyolojik ritimler çevresel etkiler sonucunda aynı yapısal döngüler göstermektedir. Bir dalga gibi periyodikliği, büyüklüğü, sıklığı ve faz gibi özellikler içermektedir. Biyolojik bir faaliyetin geçmesi için gereken zaman, birim zamanda tekrarlanma sayısı, ortalama değerden olan sapmalar ve biyolojik davranışın başlama, bitiş gibi özellikleri bulunmaktadır. Biyolojik fonksiyonun faaliyet özellikleri ve faz ilişkileri şekil 3’de gösterilmektedir (15).



Şekil 3. İki biyolojik fonksiyonun faaliyetleri arasında gözlenen faz ilişkileri ve faaliyet özellikleri (15).

2.2.2. Biyoritim Türleri

Dünyanın dönüşü ile ilişkili (Sirkadian) ritmin altında tıbbi terminolojide sirkaseptan, sirkatrivijintan gibi isimlendirmeler de kullanılmaktadır. Yapılan bir araştırmada dünyanın evrendeki konumuna bağlı olarak aşağıdaki sınıflandırmalar yapılmıştır (15).

Sirkadiyen Ritim: Yaklaşık bir gün süren, 22-26 saatlik biyoritim döngüsüdür. Gece gündüz fazları vardır. Işıktan maksimum etkilenen ritimdir. Işık varlığında kortizol salınımı artarak metabolizmayı hızlandırır ve ışık azalması melatoninin salınımını uyararak, ısı, solunum, kalp atımı gibi temel fizyolojik göstergelerin hızını azaltır. Uyku-uyanıklık, vücut ısı dalgalanmaları, kan basıncı, yorgunluk-dinçlik, ruh durumu, stres, fiziksel ve zihinsel performans gibi fizyolojik, biyokimyasal ve psikolojik göstergeleri etkiler. Örneğin; depresyonda bedendeki sirkadiyen ritimde bozulma görülür. Bu alanda kortizol ve melatonin salgılanmasında bozukluk, uyku fazında kaymanın olması önemlidir. (32).

Ultradian Ritim: 24 saatten daha kısa sürede yenilenen biyoritim döngüsüdür. Görme ve işitme sistemleri, EEG dalgaları, kalp hızı, solunum sayısı, kan dolaşımı, çeşitli enzim

aktiviteleri, mide hareketleri, yeme, içme, idrar çıkarma, dışkılama gibi durumları etkilediği ifade edilmektedir (32).

İnfradian Ritim: Bir günü (24 saat) aşan değişik periyodlara sahip olarak yenilenen biyoritim döngüleridir. Menstrual döngü, insan ve primatlarda ayın evrelerine menstrual döngünün kilitlenmesi, erkeklerde yaklaşık 21-28 günlük testosteron salınım döngüsünü etkilediği söylenmektedir (32).

Tablo 5. Temel biyolojik saat çeşitleri (15).

Biyolojik saat türü Süresi
Sirkadian (Dünyanın dönüşü) 24 saat 22-26 saat
Ultradian <20 saat
İnfradian >28 saat
Sirkaseptan 7 ± 3 gün
Sirkadiseptan 14 ± 3 gün
Sirkavijintan 21 ± 3 gün
Sirkatrivijintan 30 ± 5 gün
Sirkatidal (Gel-gitler) 11-14 saat
Sirkalunar (Ayın evreleri) 26-32 gün
Sirkannual (Yılın mevsimleri) 330-400 gün

Tablo 6. İnsanlarda Gözlenen Ritim Örnekleri (15).

Ritim sıklığı ultradian ritim	-Fizyolojik ve davranışsal hareketler
Saniyeler mertebesinde	-Görme ve işitme gibi sistemler
Dakikalar mertebesinde	-Nefes alıp verme, Kalp atışları, mide hareketleri
Saat mertebesinde	-Kan dolaşımı, çeşitli enzim aktiviteleri
Gün mertebesinde	-Yeme, içme, tuvalet ihtiyacı, uyuma
Gündelik	-Uyku-uyanıklık, vücut ısı dalgalanmaları, yorgunluk dinçlik, ruh durumu, kan basıncı, stres, fiziksel ve zihinsel performans
Aylık Menstruel döngü,	-İnsan ve primatlarda ayın evrelerine menstrual döngünün kilitlenmesi, memeli gebelik süresinde 30 günlük ortak çarpanlar, erkeklerde yaklaşık 21-28 günlük testostosterone salınım döngüsü
Senelik	-İnsan ve memeli hayvan doğumları, SADS (mevsimsel afektif bozukluk sendromu), serebrovasküler kazalar ve solunum kaynaklı ölümler, ani bebek ölümleri, kazalar, hastalıklar, cinayet, intihar.

2.3. KLİNİK LABORATUVAR TIBBİNDA GÖZLENEN VARYASYONLAR VE HATA KAYNAKLARI

2.3.1 Analit konsantrasyonlarına ait toplam varyasyonlar

Bir laboratuvar sonucunun toplam varyasyonu (CVT), pre-analitik varyasyon, analitik varyasyon (CVA) ve birey içi biyolojik varyasyon (CVI) bileşenlerinden oluşmaktadır (22).

Preanalitik varyasyon, numunenin hazırlanması ve biyolojik numunelerin toplanması, taşınması işlenmesi ve depolanması gibi süreçlerde yer alan tüm aşamalar ile ilgili olmaktadır. Tüm potansiyel preanalitik faktörlerin belirlenmesinden sonra, bunların minimize olabileceği ve preanalitik varyasyon bileşeninin CVT'e katkısının ihmal edilebilir olduğu varsayılabilir. Ölçüm hataları açısından analitik performans CVA ile ilişkilidir. Bu değişkenlik sıkı bir şekilde kontrol edilmelidir, ancak bununla birlikte preanalitik varyasyonun aksine tamamen kaldırılamaz. Son olarak, CVI ise, biyolojik faktörlere bağlı olarak her bireyde belirli bir biyolojik sıvıda bulunan analit konsantrasyonunun rastgele fizyolojik değişikliklerini gösterir (22).

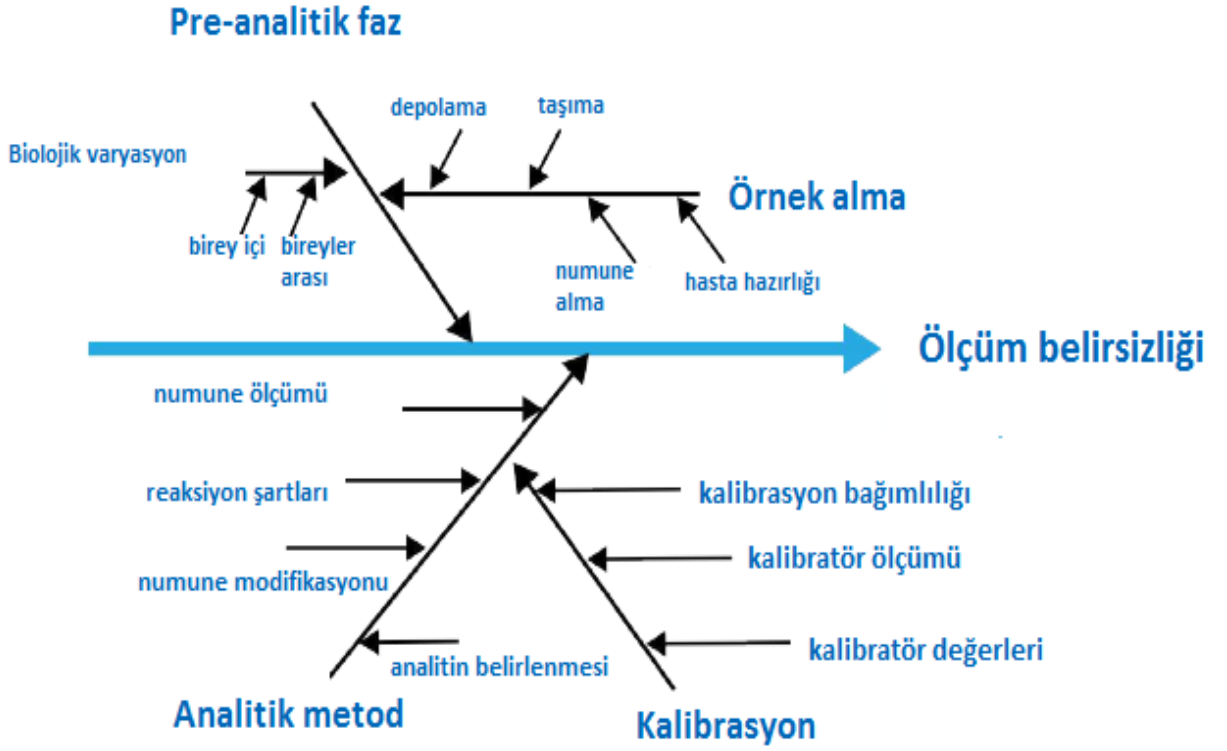
Özetle total varyasyon hesaplaması yapılırken;

-öngörülebilir fakat önlenemez birey içi doğal rasgele biyolojik varyasyon,

-öngörülebilir ve kısmen önlenemez analitik-sistemik varyasyon,

-öngörülebilir ve önlenemez analitik-rasgele varyasyon,

hesâba katılırken; preanalitik varyasyon kaynakları dikkatli bir preanalitik süreç standardizasyonu ile minimize edilirse ihmal edilebilmektedir (22). Klinik biyokimya laboratuvarında yapılan analiz işlemi için testin ölçüm belirsizliğine etki eden kaynaklar şekil 4'de gösterilmektedir (41).



Şekil 4. Klinik laboratuvarlarda laboratuvar testi belirsizliğinin ana kaynakları (41).

2.3.2. Tıbbi Laboratuvarlarda Hata Kaynakları

Laboratuvar hataları hastadan test istenmesinden sonuçların rapor edilip, uygun olarak yorumlanmasına kadar olan süreçte meydana gelen eksiklik ya da kusur olarak tanımlanabilmektedir (34,35).

Laboratuvarlarda toplam test süreci preanalitik, analitik ve postanalitik faz olmak üzere üç ana faz içermekte ve laboratuvar tanısında yapılan tüm hataların % 62-70 kadarı preanalitik, %23'ü postanalitik ve %15'i analitik faz hatalarından kaynaklanmaktadır ve anlaşılacağı üzere hatalar çoğunlukla kan örneği laboratuvara ulaşmadan önceki fazda ortaya çıkmaktadır (34,35). Şekil 3'de üç fazda meydana gelen hatalar ve toplam yüzdeleri verilmektedir (34-55).

Test seçimi, numune toplanması, tanımlama, etiketleme ve transfer aşamalarını içeren laboratuvar dışı dönem pre-preanalitik faz olarak isimlendirilmektedir (36-38).

Tıbbi laboratuvarlarda test sonuçlarını etkileyen durumlar ve bu durumlara bağlı olarak ortaya çıkan hatalar önlenabilmektedir. Preanalitik hataların %92'si, analitik hataların %88'i ve post-analitik hataların %14'ü önlenabilir hatalar olarak değerlendirilmektedir (38).

Ayrıca, hastaların yanlış tanı almasında, laboratuvar hatalarının yaklaşık dörtte birinin rolü olduğu öne sürülmektedir (39).

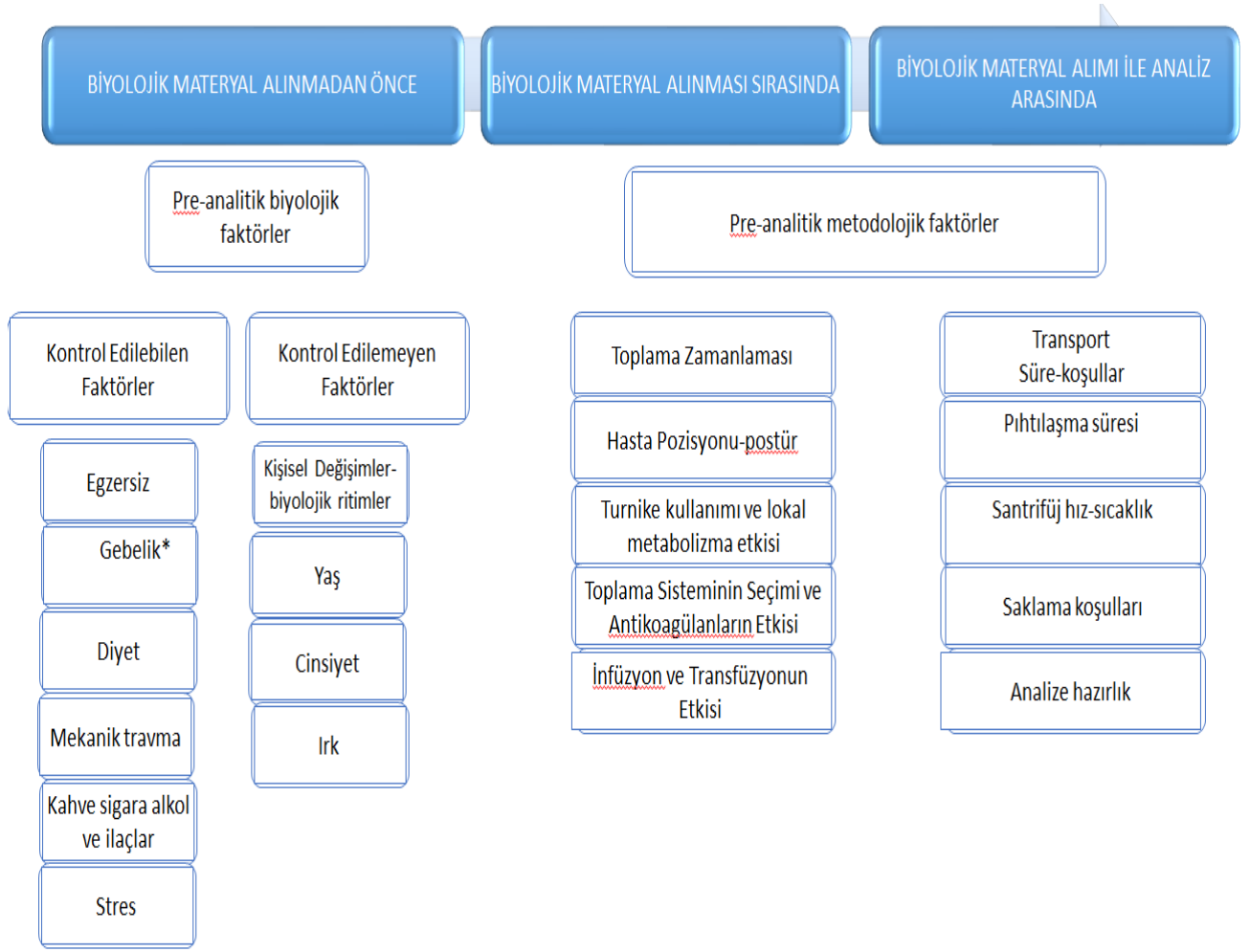
Tablo 7. Laboratuvar Test İşleminin 3 Aşamasındaki Hata Türleri ve Oranları (34-55)

Total test sürecinin fazı	Hata tipi	Oran
Pre-analitik	-Uygun olmayan test isteği -İstem giriş hataları -Hastanın yanlış tanımlanması -Uygunsuz toplayıcı sistem -Uygunsuz numune toplama ve uygunsuz transport -Yetersiz örnek / antikoagülan hacim oranı -Yetersiz numune hacmi -Hataları sıralama ve yönlendirme -Etiketleme hataları	46%-68.2%
Analitik	-Ekipman arızası -Örnek karışıklıkları carry-over / interferans -Kalite kontrolünde tespit edilmemiş hata -Uygunsuz prosedür	7%-13%
Post-analitik	-Raporlamada başarısızlık -Analitik verilerin hatalı doğrulanması -Yanlış veri girişi	18.5%-47%

2.4. Pre-analitik varyasyonlar ve hata kaynakları

Pre-analitik fazda, yani laboratuvardaki numunenin analizi öncesinde birçok hata kaynağı görülebilmektedir. Bu nedenle, hangi faktörlerin pre-analitik fazı en çok etkilediğini açıklamak gerekir. Bu faktörler test seçimi ve istek yapılması, örnek alımı, örneklerin saklanması ve analiz yerine ulaştırılması ve analiz öncesi biyolojik materyal hazırlıkları şeklinde 4 ana başlık altında veya kronolojik olarak) biyolojik materyal alımı merkezli numune alımı öncesi, sırası ve sonrası olmak üzere ana başlıklar ve süreçle ilgili pek çok alt başlık halinde farklı sınıflamalar kullanılarak tanımlanabilmektedir (40,41).

Preanalitik fazda yer alan varyasyon ve hata kaynakları Şekil 5 ve açıklamalardan sonra yer alan özet tablolarda gösterilmektedir. Bkz.(Tablo 18,19.20,21,22) (53-57).



Şekil 5. Klinik laboratuvarında pre-analitik varyasyon ve hata kaynakları

2.4.1. Biyolojik Materyal Toplamadan önce

Biyolojik materyal toplanmadan önce pre-analitik aşamayı etkileyen faktörler, kontrol edilebilir ve kontrol edilemeyen faktörlere ayrılabilir (41,42)

2.4.1.1. Biyolojik Materyal Toplama İşleminin Önce Kontrol Edilebilen Faktörler

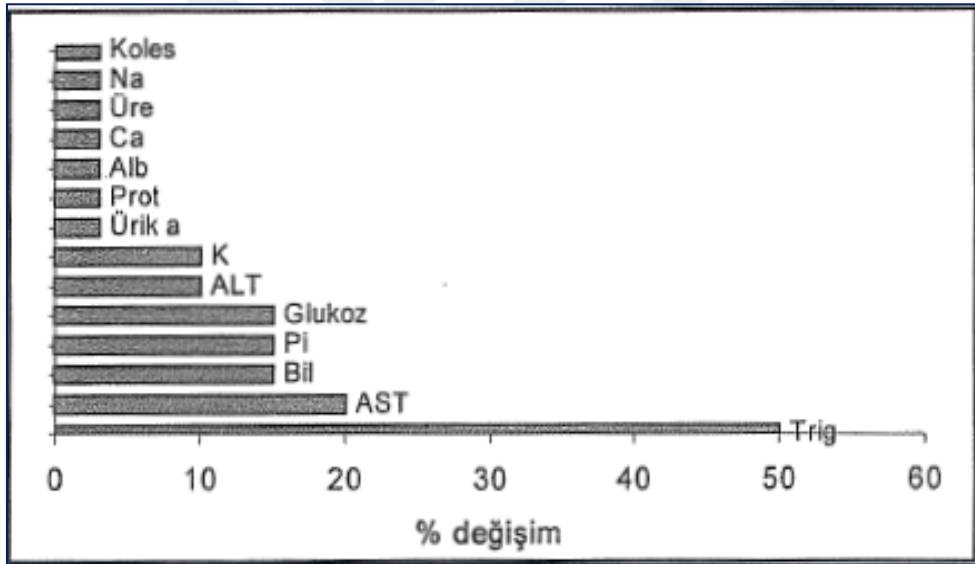
2.4.1.1.1. Diyet

Plazma kompozisyonunda diyetin büyük etkisi vardır. Toklukta plazma glukoz, demir, trigliserid (TG), alkalen fosfataz (ALP) ve insülin düzeylerinde artış görülmektedir. Yüksek protein diyetinde dört gün içinde plazma üre konsantrasyonunda dört kat bir artış ve beraberinde kolesterol, fosfat, urat ve amonyak seviyelerinde de artış olmaktadır. Yağdan zengin diyetle serum üre ve amonyak konsantrasyonu azalmaktadır.

Niřastalı ve řukrozdan zengin diyetle ALP ve laktat dehidrojenaz (LD) enzim aktivitesi artmaktadır. Karbonhidrattan zengin beslenmede ise TG, kolesterol ve protein konsantrasyonları dűřmektedir (41,42).

Gıda bileřimi aynı zamanda idrar pH'sını da etkilemektedir. Örneęin, sebze ve meyve tűketimi idrarı daha fazla alkalinleřtirirken, et, yaę ve protein açısından zengin yiyecekler daha asidik hale getirmektedir. Alkol aldıktan sonra, kan laktat konsantrasyonu neredeyse hemen artarken glukoz seviyeleri dűřmektedir. Vűcudun uzun sűreli alkol yűkű karacięer hasarına yol açar ki bu da artmıř alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve gama-glutamilttransferaz (GGT) seviyeleri ile kendini gűstermektedir. (41-42).

řekil 6 (42).ve Tablo 7'de (42). yemek sonrası bazı analitlerin serum konsantrasyonlarındaki deęiřimi gűsterilmektedir (> %5 deęiřiklikler önemli kabul edilmektedir.)



řekil 6. Yemek sonrası bazı analitlerde gűrűlen % deęiřimler (42).

Tablo 8. Normal bir yemekten sonra serum konsantrasyonlarında meydana gelen değişiklikler

Analit:	Değişim (%)	Analit:	Değişim (%)
Trigliserit	50	Ürik asit	5
AST	50	Protein	5
Bilirubin	15	Albümin	5
İnorganik fosfat	15	Kalsiyum	5
Glukoz	15	Üre	5
ALT	10	Sodyum	5
Potasyum	10	Kolesterol	5

2.4.1.1.2. Egzersiz

Egzersiz birçok biyokimyasal parametrede değişime neden olmaktadır ve bu değişim düzeyi egzersizin süresi, etkisi, yoğunluğu ile değişmektedir (41).

Orta derecede fiziksel aktivite, glukoz seviyesini arttırmakta ve insülin sekresyonunu uyarmaktadır. Kas aktivitesi aynı zamanda AST, (LD) ve kreatin kinaz (CK) enzimlerinin ve bunun yanı sıra laktat ve yağ asidinin de düzeylerini arttırmaktadır.

Uzun süreli yorucu aktivite kan şekerinde bir düşüşe, kreatininde bir artışa ve laktat seviyelerinde çok katlı artışa neden olmaktadır. Kolesterol ve triağılglicerol seviyeleri de azalmaktadır (41). Ağır ve yorucu bir egzersizin bazı analit düzeyleri üzerindeki etkisi tablo 9’da gösterilmektedir (43-45).

Tablo 9. Ağır egzersizin bazı serum değerleri üzerine olan etkileri (43-45).

Analit	% Artma	Analit	% Azalma
Asit fosfataz	11	Albumin	4
Alanin aminotransferaz	41	Bilirubin	4
Aspartat aminotranferaz	31	Demir	11
Kreatinin	17	Potasyum	8
Fosfor	12	Total lipidler	12
Alkalen fosfataz	3	Sodyum	1
Kalsiyum	1		
Kolesterol	3		
Total protein	3		
BUN	3		
Ürik asit	4		

2.4.1.1.3. Mekanik travma

Kas içi enjeksiyonlar da dahil olmak üzere kas travması, enzimlerin (CK, ALT, AST) ve kas dokusu proteinlerinin (örneğin miyoglobin) salınmasına neden olmaktadır (41).

Bisiklet sürmek prostat için prostatik serum antijeninin serbest bırakılmasıyla ortaya çıkabilen ve yanlış pozitif sonuca yol açan mekanik travmaya neden olabilmektedir. Maraton koşusu ve kalp kapak kusurları, eritrositlerin mekanik olarak hemolize edilmesine yol açmaktadır (41).

2.4.1.1.4. Stres

Stres durumları, renin, aldosteron, somatotropin, katekolaminler, kortizol, glukagon ve prolaktin gibi stres hormonlarının salınmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, prolaktin analizleri için kan alınması uyandıktan üç saat içinde yapılmalıdır (41).

Başka bir örnek, akut miyokard enfarktüsü sonrası 24 saat içinde başlangıç seviyesine kıyasla kolesterolde % 60 düşüş olabilmektedir. Konsantrasyonunun normale dönmesi birkaç hafta alır. Bu nedenle, akut miyokard enfarktüsü şüphesi olan hastalar hastaneye yatırıldığı zaman, kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL-C) ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL-C) kolesterol testleri için kan alınması önerilmemektedir (41).

Aksine, hafif stres kolesterol konsantrasyonunu artırabilir. Ameliyat sonrası stres, tiroid hormonları ve transferrin konsantrasyonunu düşürür ve ikincil olarak ferritin konsantrasyonunu artırır (41).

2.4.1.1.5. Kahve, sigara, alkol ve ilaçlar

Kafein, adrenal medulla stimülasyonu ile katekolamin ve metabolitlerinin artmasına neden olmaktadır. Metabolizma üzerinde de çeşitli etkileri görülmektedir (42). Buna ek olarak, fizyolojik diürenal kortizol değişimini baskılayabilmekte, serbest yağ asitleri, gliserol, lipoprotein düzeylerinde artışa sebep olabilmektedir.

Sigara da kafein gibi adrenal medulla üzerindeki stimulan etkisi sebebiyle plazma katekolamin seviyelerinde artışa sebep olmaktadır. Günlük 1-5 adet sigara içimi, plazma yağ asidi, aldosteron ve kortizol düzeyini artırmakta, buna bağlı glukoz konsantrasyonu da artmaktadır. Uzun dönemde total kolesterol, TG, LDL-C, eritrosit sayısı ve karboks hemoglobin düzeyinde artma, HDL-C seviyesinde de azalma görülmektedir (41).

Alkolün de sigara gibi akut ve kronik etkileri vardır. Orta derecede alkol alımı kan glukoz konsantrasyonunu %20-50 oranında arttırabilir. Bu etki diyabetiklerde daha da fazladır (41). Karaciğerde ürik asit, trigliserit sentezlerini artırır. Kronik alkol alımı enzim indüksiyonu yoluyla GGT, AST ve ALT gibi birçok enzimin aktivitesini de arttırır. Kahve, sigara ve alkolün glukoz metabolizmasına etkileri sebebiyle oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında tüketilmemesi gerekmektedir (41-42).

Kontrol edilmesi çok zor olan çok yaygın bir problem, ilaçların etkisidir. İlaçlar, izlenen bazı analitlerin seviyesini etkileyebilir; örneğin asetilsalisilik asit (aspirin), serum AST ve ALT'yi ve idrar protein düzeylerini arttırır, furosemid serum glukoz, amilaz ve ALP düzeylerini arttırmakta ve sodyum düzeylerini düşürmektedir. İlaçlar ayrıca analiz prosedürünü de etkileyebilmektedir ve ölçümü interfere edebilmektedir. Örneğin, C vitamini güçlü indirgeme özelliğine sahip olduğundan, peroksit kullanarak tespit edilen analitlerin seviyesinde yanlış bir düşüşe neden olmaktadır. İlaçlar, metabolizma hızını veya izlenen analit eliminasyonunu da etkileyebilmekte veya belirli organlara zarar verebilmektedir. Örneğin, narkotik ajanlar hepatotoksisiteye yol açmaktadır. (41).

2.4.1.1.6. Gebelik

Farklı kaynaklarda değiştirilemez olarak da yer alan gebelik değişimlerinin büyük bölümü 2.500-3.000 ml. kadar artan kan volumüne bağlı olmaktadır. Gebelikte oluşan hemodilüsyon, protein sentezinin artmasına rağmen konsantrasyonunda azalmaya sebep olmaktadır. Tablo 10'da gebelik süresince meydana gelen bazı değişikliklerin mekanizmaları belirtilmiştir (41,42). Dilüsyona bağlı olarak hemoglobin, eritrosit sayısı ve hematokrit azalmakta ve seruloplazmin ve tiroksin bağlayıcı proteinlerdeki artışa bağlı olarak serum bakır ve tiroksin (t4) seviyelerinde artış görülmektedir. Artan glomerular filtrasyona bağlı olarak kreatinin klerensi de artmakta, glukozüri gözlenmektedir. Akut faz reaktanları, fibrinojen, faktör VII, VIII, IX ve X artmakta, faktör V ve XII azalmaktadır. Gebelikte serum kolesterol ve trigliserid düzeyleri de artmaktadır (41,42).

Tablo 10. Gebelikte çeşitli analit düzeylerinde değişikliğe neden olan mekanizmalar (41,42).

Mekanizma	Örnek
İndüksiyon	ALP FVII
Plazma transport protein artışı	Tiroksin Cu Seruloplazmin
Hemodilüsyon	Albumin Total protein
Metabolizma artışı	Kreatinin klirens
Gereksinim artışı ve rölatif eksiklik	Demir Ferritin
Akut faz protein artışı	ESR

2.4.1.2. Biyolojik Materyal Toplama İşleminde Önce Kontrol Edilemez Faktörler

Biyolojik materyal toplanmadan önce kontrol edilemeyen faktörler yaş, cinsiyet, ırk ve kişisel değişimleri içermektedir (40-42).

2.4.1.2.1. Kişisel Değişimler-biyolojik ritimler

Tek bir gün içerisinde (sirkadiyen) meydana gelen veya tamamlanması yaklaşık bir yıl sürecek olan (sirkannual) farklı zaman periyotlarına sahip biyolojik ritimlerdir.

Sirkadiyen değişiklikler farklı parametrelere göre değişmektedir; örneğin gün boyunca demir seviyelerinde % 50'ye kadar bir değişiklik olabilmektedir. AST, ALT, LD ve ALP gibi diğer parametrelerde %10 civarında değişiklikler görülebilmektedir. Belki de en önemli sirkadiyen değişim kortizolde görülür. Çünkü minimum-maksimum düzeyleri arasındaki fark % 250'i bulabilmektedir (41). Sık istenen bazı testlerin gün içinde maksimum ve minimum olduğu saatler meydana gelen değişim yüzdeleri tablo 12'de; değişimlerin total varyasyon ve analitik varyasyon yüzdeleri tablo 11'de gösterilmektedir (42-44).

Yoğun güneş ışığına maruz kalınması nedeniyle yaz aylarında maksimum seviyelerde olan D vitamini konsantrasyonundaki değişim sirkannual periyot ritmine bir örnek olarak gösterilmektedir (41,42).

Tablo 11. Saat 08.00 ve 14.00’te alınan serum numunelerindeki aynı analitlerin total analitik varyasyonları. (43,44).

Analit	Ortalama	Total varyasyon	Analitik varyasyon
		%	%
Sodyum (mmol/L)	141	1,9	1,8
Potasyum (mmol/L)	4,4	7,1	2,8
Kalsiyum (mg/dL)	10,8	3,2	2,7
Klorid (mmol/L)	102	3,8	3,4
Fosfat (mg/dL)	3,8	10,7	2,4
Üre nitrojeni (mg/dL)	14	22,5	2,5
Kreatinin (mg/dL)	1,0	14,5	3,3
Ürik asit (mg/dL)	5,6	11,5	2,6
Demir (µg/dL)	116	36,6	3,4
Kolesterol (mg/dL)	193	14,8	5,7
Albumin (g/dL)	4,5	5,5	3,9
Total protein (g/dL)	7,3	4,8	1,7
Total lipidler (g/L)	5,3	25,0	3,6
Aspartat aminotransferaz (U/L)	9	25	6
Alanin aminotransferaz (U/L)	6	56	17
Alkalen fosfataz (U/L)	63	20	3
Laktat dehidrojenaz (U/L)	195	16	12

Tablo 12. Bazı analitlerin gün içinde gösterdiği değişimler. (42).

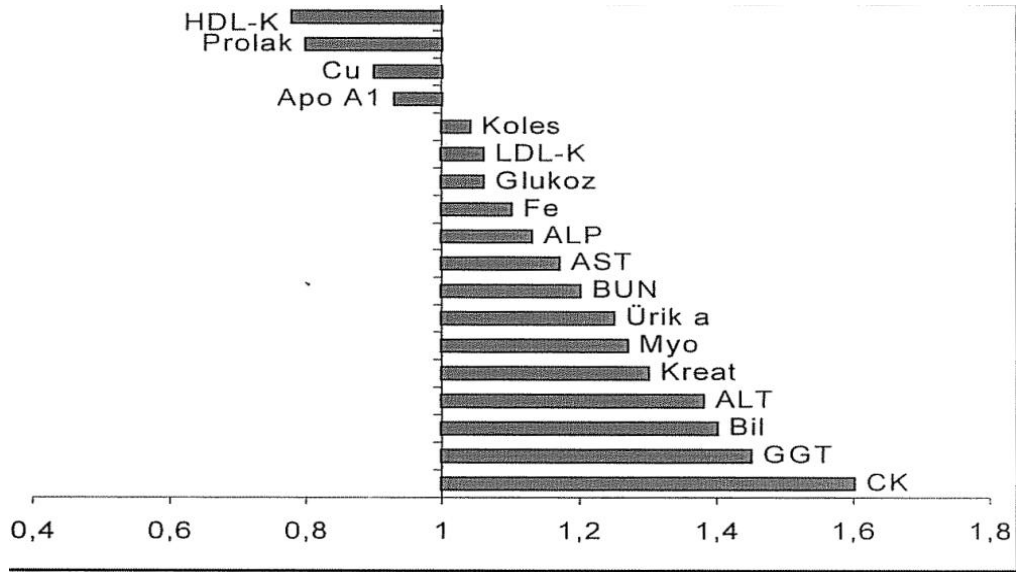
Analit	Maksimum olduğu saatler	Minimum olduğu saatler	Günlük değişim yüzdesi
ACTH	6-10	0-4	150- 200
Kortizol	5-8	21- 3	180 – 200
Büyüme hormonu	21-23	01-21	300-400
Testosteron	2-4	20-24	30- 50
Noradrenalin	09-12	02-05	50-120
Hemoglobin	06-18	22-24	8-15
Sodyum (ld)	04-06	12-16	60-80
TSH	20-2	7-13	5-15
T ₄	8- 12	23-3	10-20
Prolaktin	5- 7	10-12	80-100
Renin	0-6	10 –12	120 –140
Epinefrin	9 –12	2-5	30-50
Demir	14-18	2-4	50-70
Potasyum	14-16	23 –1	5 –10
Fosfat	2- 4	8-12	30-40

2.4.1.2.2. Yaş

Yaşa bağlı değişimler kişinin seksüel gelişimine ve kas kitlesindeki değişimlere bağlı olarak yenidoğan, çocukluk, erişkin ve yaşlılık dönemleri olarak dört grupta incelenmekte ve her yaş gurubunda fizyolojik durumlarla ilişkili olarak pek çok analit düzeyinde değişiklikler meydana gelmektedir (38,41,42).

2.4.1.2.2. Cinsiyet

Cinsiyet de, tahlil sonuçları üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Birçok parametrenin hormonal etki durumuna ve fiziksel yapıya bağlı olduğu yaygın olarak bilinmektedir; örneğin, erkeklerin CK, ALT, AST, ALP, ürik asit, üre, hemoglobin, ferritin, demir ve kolesterol düzeyleri kadınlardan daha yüksek olarak görülmektedir (41-42). Bazı analit düzeylerinin kadın ve erkeklerdeki farklılıkları şekil 7’de gösterilmektedir (42).



Şekil 7. Kadın ve erkek ortalama değerleri arasındaki fark (Kadınların ortalama değeri 1 kabul edilmiştir (42).

2.4.2. Biyolojik Materyal Toplama Sırasındaki Değişimler

Biyolojik materyali toplama sırasında pre-analitik aşamayı etkileyen faktörler öncelikle flebotomiste bağlıdır. Özellikle, bu ilkeler, toplama zamanlaması, uygun toplama seti seçme, toplama sırasındaki hasta pozisyonu, venostaz ve lokal metabolizma etkileri ile infüzyon ve transfüzyonun hastane ortamındaki etkisini içermektedir (41).

2.4.2.1. Toplama Zamanlamasına Bağlı Değişimler

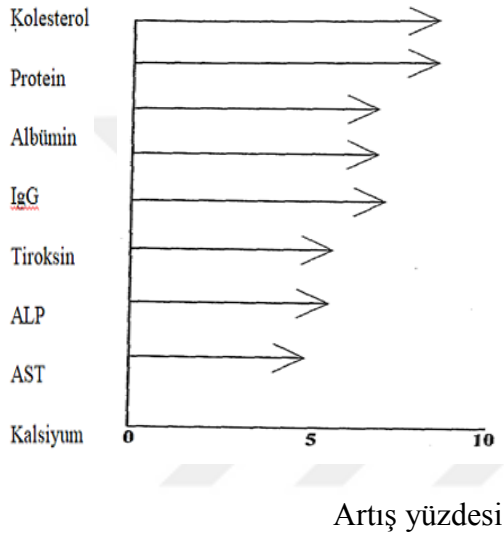
Toplama zamanlaması geçerli sonuçları elde etme stratejisinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Çoğu zaman, toplamalar sabah hastanın aç olduğundan emin olduğumuz zamanda gerçekleşir (hastanın genel toplama öncesi önerilerine dikkat etmesi şartıyla) ve böylece yukarıda belirtilen sirkadyen ritmin etkisi sınırlı olmaktadır. Numune alım zamanlaması kan şekeri takibi ve terapötik ilaç monitorizasyonunda önemli olup, örnekleme ilaç eliminasyonu ve yarılanma ömrü temel alınarak yapılmaktadır (41).

2.4.2.2. Örnek toplama Sırasında Hasta Pozisyonuna bağlı değişimler

Numune toplama sırasında hasta pozisyonu da önemlidir. Numune alımı öncesi on beş dakika boyunca ayakta durma ve oturma pozisyonu karşılaştırıldığında protein konsantrasyonundaki farkın %5-8 ve ayakta durma ve uzanma pozisyonu için ise farkın %10-20 arasında olduğu belirtilmektedir. Şekil 8 ve tablo 13'de bazı serum analitleri için postüre bağlı değişimler verilmiştir (42,45).

Ayakta durma pozisyonunda, su, damar içinden interstisyel boşluğa geçer ve daha sonra başta proteinler, lipoproteinler ve kalsiyum katyonu ile hormonlar (kortizol, tiroksin) ve bazı ilaçlar gibi proteine bağlı yüksek molekül ağırlıklı maddelerde artışa neden olur.

Birkaç günlük yatak istirahatinde plazma ve ekstrasellüler sıvı azalır, dört gün içinde hematokrit %10 kadar artar, total protein ve albümin konsantrasyonu 0.3-0.5 g/dL azalır. Bununla beraber proteine bağlı analitlerin de düzeyleri azalır. Kemik kalsiyum mobilizasyonu sonucu iyonize kalsiyum miktarı artar. İdrarda nitrojen, kalsiyum, sodyum, potasyum, fosfat ve sülfat atılımı artar. (38,43).



Şekil 8. Postürün Değiştirilmesiyle Bazı Analitlerde görülen Yüzde Artış (uzanır pozisyonundan ayakta durmaya göre) (42).

Tablo 13. Yatar pozisyonundan ayaktaki pozisyona geçmekle bazı serum değerlerinde meydana gelen artışlar (45).

Analit	% Artma
Alanin aminotransferaz	7
Albumin	9
Alkalen fosfataz	7
Amilaz	6
Aspartat aminotranferaz	5
Kalsiyum	3
Kolestrol	7
IgA	7
IgG	7
IgM	5
Tiroksin	11
Trigliserid	6

2.4.2.3. Turnike Kullanımı Ve Lokal Metabolizma Etkisi

Örnek toplama için bir turnike kullanıldığında lokal metabolik değişiklikler bazı test sonuçlarında değişime neden olabilmektedir. Kanıtlar, bir turnike ile kolu sıkıştırdıktan bir dakika sonra, damardan interstitiyuma su ve iyonların önemli bir transferi olduğunu ve bu durumda protein ve proteine bağlı madde konsantrasyonunda artışa neden olduğunu göstermektedir. Kolun uzun süreli sıkıştırılması veya soğutulması, kısmi karbondioksit basıncında, potasyum ve laktat konsantrasyonunda artış ile sonuçlanan, hipoksiye bağlı olarak lokal metabolizma değişikliğine neden olarak pH'da düşüğe neden olmaktadır. Potasyum konsantrasyonunda primer olarak artışa neden olduğu için kola egzersiz yaptırmak, hastanın yumruğunu sıkıp bırakması tavsiye edilmez. Bu nedenlerden dolayı, kolun daraldığı süre bir dakikayı aşmamalı ve turnike, kan alımından hemen sonra serbest bırakılmalıdır (41,46).

Bir dakikadan üç dakikaya ve altı dakikaya uzayan turnike uygulama süresinin bazı analitlerin değişimi üzerindeki etkisi tablo 14'de gösterilmektedir (44,47,48)

Tablo 14. Numune alımı sırasında turnike uygulanmasının süresiyle analizlerin serum konsantrasyonlarında gözlenen değişimler (44.47.48)

ANALİTLER	3 dakika olan değişimler (%)	6 dakikada olan değişimler (%)
Albümin	-	+8
Total protein	+4.9	+8
Sodyum	-	+4
Potasyum	-6.2	-2
Üre	-	-2
Kreatinin	-	2
Ürik asit	-	+4
ALT	-	+10
AST	+9.3	+6
ALP	-	+8
Bilirübin	+8.4	+10
Trigliserit	-	+6
Kolesterol	+5.1	+6
Kreatin kinaz	-	+10
LDH	-	+10
GGT	-	+10
Kalsiyum	-	+6
İnorganik fosfor	-	-2

2.4.2.4. Toplama Sisteminin Seçimi ve Antikoagülanların Etkisi

Toplama sisteminin seçenekleri arasında kapalı ve açık örnek toplama sistemi bulunmaktadır. Açık toplama sistemi, klasik bir iğne ve bir Luer-konik şırınga içermektedir. Venöz kan alımını takiben serbestçe akan kan doğrudan test tüpüne veya şırıngaya pistonu yavaşça çekilerek alınır (41).

Kapalı toplama sistemi, kan alan kişinin kan yoluyla kontaminasyon riskini en aza indirmek ve eklenen antikoagülanın (koruyucu) alınan kana oranının korunmasını sağlamak amacıyla günümüzde sıklıkla tercih edilen seçenektir (41).

Antikoagülan etilendiamintetraasetik asit (EDTA), heparin, sitrat, oksalat vb.) gerekli teste bağlı olarak seçilebilir. Bununla beraber, pıhtılaşma önleyici maddenin, düzeyi belirlenecek katyonu içermemesi gerektiğinden, katyon testleri için antikoagülan seçilirken dikkat edilmesi gerekir (41).

Örneğin, EDTA'nın potasyum birlikte kullanılması, numunede yüksek patolojik potasyum ve konsantrasyonlarına yol açacaktır. EDTA, çift değerlikli katyon konsantrasyonunun saptanması için de uygun değildir, çünkü bu katyonlara şelatlayıcı ajan

olarak bağlanır ve bu iyonların hatalı düşük konsantrasyonlarının saptanmasına neden olur (41).

Bazı durumlarda, numune tüpüne sodyum florür gibi başka bir madde (koruyucu), ilave edilir ve sodyum florür ilavesi, eritrositlerde glikoliz inhibisyonuna neden olarak glukoz konsantrasyonundaki zaman içindeki düşüşü engelleyecektir (41).

2.4.2.5.İnfüzyon Ve Transfüzyonun Etkisi

Kritik durumda bulunan hastalar, yüksek konsantrasyonlarda seçilen maddeleri ve düşük konsantrasyonlu diğer maddeleri içeren transfüzyon ve infüzyon ürünlerini almak zorundadır. Dolayısıyla infüzyon, bazı maddelerin belirlenmesini, genellikle toplama sırasında doğrudan kirlenme veya özelliklerinden dolayı etkileyebilmektedir (41).

Örneğin, glikozun potasyum ile infüzyonu, glikoz ve potasyum düzeylerinde, lipid emülsiyonunun infüzyonu, serumda şilozise neden olarak ve yüksek laktat konsantrasyonu ($> 15 \text{ mmol / l}$) içeren Hartmann infüzyonları da laktat konsantrasyonunda yanlış bir artışa neden olmaktadır (41,42).

Öte yandan, Plazmalit infüzyonu, toplanan numunede iyon konsantrasyonunun yanlış bir şekilde normalleştirilmesine neden olabilmektedir (41).

Bu nedenle, infüzyon sonrası örnek toplanırken belirli kurallara uyulmalıdır. İdeal olarak, infüzyon yapılmayan diğer koldan numune alınmalı veya infüzyon en az 15 dakika durdurularak ardından numuneyi alınmalıdır (41). Tablo 15’de bazı infüzyon solüsyonları için uygulama sonrası kan alımı için geçmesi gereken minimum süreler belirtilmiştir (42).

Tablo 15. İnfüzyon sonrası kan alınma zamanları (42).

İnfüzyon	İnfüzyon sonrası kan alınabilmesi için geçmesi gereken minimum süre
Yağ emülsiyonu	8 saat
Karbonhidrattan zengin solüsyonlar	1 saat
Amino asid ve protein solüsyonları	1 saat
Elektrolit solüsyonları	1 saat

2.4.3. Biyolojik Materyal Toplama ve Analiz Arasında

Bu süre, biyolojik materyallerin toplanmasından laboratuvardaki analizine kadar olan zamanı kapsar ve numuneyi toplama işleminden sonra laboratuvara naklederek ve analiz öncesinde santrifüj veya ön muameleden geçirmeyi içerir (38-42).

Genel olarak, antikoagüle kan alınır (antikoagülan içeren toplama kabı), test tüpü toplama işleminden hemen sonra hafifçe çalkalanmalıdır. Toplama işleminden sonra biyolojik materyalin derhal taşınması hemoliz ve numunenin bozulmasına neden olabilmektedir (41,42).

Hemolizin testleri interfere etme problemi, sadece test edilen materyalde bu maddelerin konsantrasyonunda artışa neden olan eritrosit içeriğinin seruma veya plazmaya salınmasıyla değil aynı zamanda hemoglobin salınımıyla da ilgilidir; rengi doğrudan fotometrik yöntem üzerinden veya deney için kullanılan maddeyi interfere eder. Hemoliz, aşırı soğutma, yüksek santrifüj hızı veya dar bir örnekleme iğnesi nedeniyle de oluşabilir. Aşağıdaki Tablo 15’de hemolizin seçilen biyokimyasal analizler üzerindeki etkisi tablo 16’da ise etki mekanizması açıklanmaktadır.(41-45).

Tablo 16. Hemolizin test sonuçları üzerine etkisi (41-45).

Konsantrasyon veya etkinlikte artış	Potasyum, magnezyum katyonu, laktat dehidrojenaz, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, kreatin kinaz, asit fosfataz
Konsantrasyon veya etkinlikte azalma	Gama-glutamilttransferaz, alkalın fosfataz, amilaz

Tablo 17. Hemolizin test sonuçları üzerine etki mekanizması (42).

Eritrositlerden salınım sonucu <u>yüksek</u> ölçülenler	Analitik interferans sonucu <u>yüksek</u> ölçülenler	Analitik interferans sonucu <u>düşük</u> ölçülenler
✓ Potasyum	❖ T.Kolesterol CK	➤ Albumin
✓ LDH	❖ Trigliserid	➤ insülin
✓ Magnezyum	❖ CK-MB	➤ Bilirubin
✓ AST		
✓ T.Protein Demir		
✓ Fosfat Amonyak		

2.4.3.1. Santrifüj etkisi

Santrifüj çalışırken dönen rotor, havayla sürtünerek ısının açığa çıkmasına neden olmaktadır. Bu sürtünmeye bağlı olarak gün içinde santrifüj içi sıcaklığın 50 °C düzeylerine ulaşabildiği bildirilmiştir (49).

Özellikle ısıya duyarlı ACTH, amonyak, cAMP gibi parametlerin ölçümü için sıcaklık kontrollü santrifüjlerin kullanılması önemlidir. Spesifik bir analit için özel bir sıcaklık derecesi belirtilmediği sürece santrifüj sıcaklığı için 20-22 °C'lik ayar önerilmektedir (50,51).

2.4.3.2. Numune transportu

Numune işleme öncesi azami süre aşılsa veya taşıma koşullarına uyulmazsa, test materyalindeki bazı madde konsantrasyonları değişir.. Biyolojik materyaldeki bazı analitler, oda sıcaklığında bazıları da paradoksal olarak 4 ° C'de termolabil özellik göstermektedir. (örneğin, eritrositte ATPaz inhibisyonu nedeniyle ALT aktivitesi azalır veya potasyum konsantrasyonu artar). Bazı analitler ışığa duyarlıdır (örn., Bilirubin ve porfirinler) ve bunların miktarı, taşınıp karanlıkta depolanmadıkça düşer (41,42). Tablo 17.de transport süresinde artma sonucu bazı analit düzeylerinde görülen artuş ve azalı yüzdeleri gösterilmektedir (47,48,52).

Tablo 18. Taşıma süresinde artma sonucu çeşitli analizlerde gözlenen değişiklikler (47,48,52).

ANALİTLER	Değişimler (%)
Albümin	-1
Sodyum	+1
Potasyum	+1
Kalsiyum	-2
ALT	-4
AST	+1
ALP	+2
GGT	+2
LDH	-4
Bilirübin	-12
Kreatinin	+3

Tablo 19. Örnek Toplama Değişkenlerinin Olası Kaynakları (22).

Numune tipi	Kapiller ve venöz kan, özellikle glukoz açısından özdeş değildir: pO ₂ kısmi basınçları kapiller ve arteriyel numunelerde farklıdır.
Antikoagülan	Proteinler, albumin ve transferrin plazmada; potasyum, LD ve fosfat, muhtemelen pıhtı oluşumu ve geri çekilmeye bağlı olarak serumda yüksektir.
Turnike uygulaması	Uzun süreli turnike uygulaması, su ve küçük moleküllerin, büyük moleküllere bağlı küçük moleküllerin (bilirubin ve yaklaşık% 50 bağlı kalsiyum gibi) ve hücrelerin damar dışına çıkmasını zorlar. Böylece plazma daha konsantre hale gelmektedir. Sonuç olarak, bu tür analizler için daha yüksek değerler ortaya çıkmaktadır.
Transport zamanı	Uygunsuz transportta kan glukozu hızlı bir şekilde düşmektedir ve serum potasyum, fosfat, AST ve LD, örnekler santrifüj öncesi uzun süreli bekletilirse artmaktadır.
Santrifüj	Çok kısa bir süre santrifüjlenen numuneler, plazma veya serumda artefakt olarak yüksek enzim aktiviteleri ve potasyum düzeylerine yol açabilecek hücresel yapılar içerebilir. Homosistein gibi kararsız analizler için bazen çok taze numunelerin hızla santrifüj edilmesi gereklidir.
Saklama	Numuneler analiz öncesinde doğru şekilde saklanmalıdır. Doğru depolama, karmaşık bir süreçtir ve birçok husus dikkate alınmalıdır, örneğin, genel konsantrasyon ve karbondioksit kaybı ve doğru bilirubin düzeyi için örneklerin havayla temastan uzak tutulması gerekmektedir; Analit stabilitesini sağlamak için numuneler ayrıldıktan sonra hızla çalışılmalı veya dondurulmalıdır.

Tablo 20. Preanalitik Değişkenler (53-54).

Kontrol edilemeyen faktörler	
❖	Kişisel değişimler
❖	Yaş
❖	Cinsiyet
❖	İrk
Kontrol edilebilen faktörler	
❖	Egzersiz
❖	Gebelik
❖	Diyet
❖	Kahve, sigara alkol alımı ve ilaçlar
❖	Postür
❖	Örnek alımı
✓	Örnek alınan yer ve alınma şekli
✓	Kan alınan tüp ve kullanılan antikoagülan
✓	Örnek alım zamanı
✓	Örneğin etiketlenilmesi
❖	Örneğin laboratuvara iletilmesi
❖	Örneğin laboratuvarda gördüğü işlemler

Tablo 21. Preanalitik biyolojik faktörler (55,56).

İnternal faktörler	Yaş
	İrk
	Cinsiyet
	Kişisel değişimler
Eksternal faktörler	Egzersiz Fiziksel aktivite
	Hastane yatışı ve immobilité
	Menstrüel siklus ve gebelik
	Diyet etkisi
	Tütün alkol kafein tüketimi
	İlaç etkileşimleri
	Hastalık etkisi
	Gün içi varyasyonlar
	Ateş şok travma stres
	İnfüzyon ve transfüzyon
	Seyahat
	Çevresel koşullar
	Mevsimsel değişimler
	Obezite
	Postür

Tablo 22. Preanalitik metodolojik faktörler (55,56).

Numune alırken etki eden faktörler	Dinlenme süresi
	Numune alım zamanı
	Kullanılan alzemeler
	Numune alım yeri ve prosedürü
	Numune alınan tüp ve antikoagülan etki
	Numune etiketlendirilmesi
Numune alımı ve analiz arasında etki eden faktörler	Numune transport koşulları ve süresi
	Pıhtılaşma süresi
	Serum/plazma ayrılması
	Numune muhafaza ve saklama koşulları
	Analiz öncesi ön işlemler

Tablo 23. Bazı daha az tanımlanabilir preanalitik değişkenlerin laboratuvar testleri üzerine etkisinin özetlenmesi (57).

Değişken	Temel etki
Fiziksel aktivite	Plazma volüm genişlemesi Artmış bazal metabolizma
Venöz staz	Hemokonsantrasyon (Büyük analitlerin ve protein bağlı moleküllerin artmış plazma konsantrasyonu, küçük analitlerin plazma konsantrasyonunun azalması)
In vitro hemoiz	Hücre içi analitlerin sızıntısı Ekstraselüler analitlerin dilüsyonel etkileri Analitik interferans

2.5. Analitik hata-varyasyonlar ve kaynakları

Temel kavramlar kısmında analitik varyasyon ve hata karamlarından bahsedilmiş olmakla birlikte, tablo 23,24,25 ve 26’da sistematik hata trend,shift ve random hata kaynakları özet olarak sunulmaktadır (58).

Tablo 24. Sistematik hata kaynakları (58).

SİSTEMATİK HATALAR
• Reaktif lotunun değişmesi, yeni lotlu reaktif konup kalibrasyon yapılmaması • Uygunsuz reaktif hazırlanması • Yanlış reaktif konması • Reaktifte bozulma • Reaktiflerin son kullanma tarihlerinin geçmesi • Kalibratörde bozulma • Kalibrasyonda kayma • Kalibratör lotunun değişmesi • Yanlış kalibratör veya kalibratörler değerleri • Reaktif ya da kalibratörlerin yanlış koşullarda saklanması • İnkübatör veya reaksiyonun meydana geldiği haznelerin ısısının ayarındaki yanlışlık • Fotometrik ışık kaynağının gücünün azalması • Filtrelerde bozulma • Proba bağlı değişiklikler

Tablo 25. Sistematik hata kaynakları - Trend (58).

TREND
✓ Enstrüman ışık kaynağının bozulması ✓ Örnek / reaktif tüpünde kademeli yığın birikim ✓ Elektrot yüzeylerinde kademeli olarak çökelme birikimi ✓ Reaktiflerin yaşlanması ✓ Kontrol malzemelerinin kademeli olarak bozulması ✓ İnkübasyon odası sıcaklığının kademeli olarak bozulması (yalnızca enzimler) ✓ Işık filtresinin bütünlüğünün kademeli olarak bozulması ✓ Kalibrasyonun kademeli olarak bozulması

Tablo 26. Sistematik hata kaynakları – shift (58).

SHIFT	
✓	Ani bir arıza veya ışık kaynağındaki değişim
✓	Reaktif formülasyonundaki değişim
✓	Reaktif partisinin değiştirilmesi
✓	Büyük araç bakımı
✓	İnkübasyon sıcaklığında ani değişim(Sadece enzimler)
✓	Oda sıcaklığında veya nemde değişim
✓	Numune alma sisteminde başarısızlık
✓	Reaktif dağıtım sistemi hatası
✓	Yanlış kalibrasyon / yeniden kalibre etme

Tablo 27. Random hata kaynakları (58).

RANDOM HATA	
•	Örnekte, reaktifte ya da reaktif yollarında kabarcık oluşması
•	Homojen karışmamış reaktifler
•	Pipetleme hataları (probda pıhtı bulunması, pipette herhangi bir engel)
•	Jelli tüp
•	Isı değişiklikleri
•	Elektrik kaynağından gelen elektriğin voltajının sabit olmaması
•	Farklı operatörlerden kaynaklanan değişiklikler

2.3.5. Biyolojik varyasyon

Değişiklik, yaşam süresinin ve ritmik biyolojik döngülerin bir sonucu olabilmesine rağmen, birçok analitin biyolojik çeşitliliği, en basit modelde, homeostatik bir ayar noktasının etrafındaki rastgele dalgalanma olarak tanımlanabilir. (22).

Biyolojik varyasyon verileri biyolojik işaretin potansiyel klinik önemini değerlendirmek için gerekli bir unsur olarak düşünülmektedir.

2.3.5.1. Biyolojik Varyasyonun doğası ve bileşenleri

Değişiklik, yaşam süresinin ve ritmik biyolojik döngülerin bir sonucu olabilmesine rağmen, birçok analitin biyolojik çeşitliliği, en basit modelde, homeostatik bir ayar noktasının etrafındaki rastgele dalgalanma olarak tanımlanabilmektedir. Bazı analizler, bir kişinin ömrü boyunca değişir ve bu nedenle, referans değerlerinde kronolojik yaşa göre tabakalaştırma yapılmaktadır. Buna ek olarak, bazı analizlerin öngörülebilir biyolojik döngüleri veya ritimleri bulunmaktadır. Böylece, bir bireyin;

- Günlük ritimlerin bulunduğu günün farklı zamanlarında,
- Aylık döngülerin bulunduğu ay boyunca farklı zamanlarda veya
- Farklı mevsimlerde (etkileyen faktör olduğunda)

örnekleri alınırsa o zaman bu doğal döngüsel değişim, aynı bireyden elde edilen sonuçların sayısal değerlerindeki (seri olarak ölçülen) farklara katkıda bulunacaktır (22).

Birçok analiz için, bu önemli bir sorun değildir çünkü klinik olarak önemli döngüsel ritimleri bulunmamaktadır. Bununla birlikte, bu ritimleri bilmek hayati önem taşımaktadır (22).

Örneğin, bir hasta numunesi, test sonucunun uygulanacağı klinik amaç için uygun döngüde toplanmalıdır. Beklenen bir ritim veya döngünün bulunmaması, hastalığın varlığı ile ilgili önemli ipuçları verebilir ve bu dinamik fonksiyon testlerinin temelini oluşturmaktadır (22).

Herhangi bir kişinin test sonuçları üç faktöre bağlı olarak zamanla değişir:

- Pre-analitik etkiler; postür gibi örnekleme için kişinin hazırlanmasıyla ve turnike uygulama zamanı gibi örnek toplama işleminden etkilenme,
- Analitik rasgele hata (hassasiyet) - ve muhtemelen sistematik hata (örneğin kalibrasyondan kaynaklanan bias değişiklikleri),

- Homeostatik ayar noktası çevresindeki doğal rastgele biyolojik çeşitlilik (bu birey içi veya bireysel biyolojik varyasyon olarak adlandırılmaktadır) (22).

Aynı testi farklı bireylere uygularsak, her birinin sonuçları birbirinden farklı olacaktır çünkü bireylerin homeostatik ayar noktaları genellikle birbirinden farklı olmaktadır. Bireyler arasındaki bu fark bireyler arası biyolojik varyasyon olarak tanımlanmaktadır (22).

2.3.5.2 Biyolojik varyasyon verileri ile ilgili semboller ve formüller.

Biyolojik varyasyon ve ilişkili parametreler için yaygın olarak kullanılan terim ve semboller Fraser (48)'in çalışmasında belirtilmiş olup yayınlarda yer alan orijinal isimlendirme korunmuş olup tablo 27'de yer almaktadır. Fakat bu sembollerin kullanımı ile ilgili henüz bir harmonizasyon sağlanamamıştır (59).

Bu farklılık ile ilgili olarak Ana-Maria Simundic (59) ve ark. tarafından 2009-2013 yılları arasında web of science de yer alan popüler 13 dergide biyolojik varyasyon anahtar sözcüğü ile yaptıkları aramada toplam 241 makaleye ulaşılmış, bunların 125'i biyolojik varyasyon ile ilgili olmak üzere yine bunların da 62'si biyolojik varyasyon terim ve sembolleri ile ilişkili olarak saptanmıştır.

Bireysel kullanım için 68 terim ve 25 sembol, gruplar için uygun 47 terim ve 18 sembol tesbit edilmiştir. Tablo 28'de en sık kullanılanları yer almaktadır (59).

Ana-Maria Simundic (59) ve ark. tutarlı kullanım amacıyla biyolojik varyasyon (BV) bileşenleri ve ilişkili diğer parametreleri için aşağıda yer alan terim ve sembollerin kullanımı önermişlerdir.

Tablo 28. Bireylere ve gruplara uygulanabilir BV bileşenini tanımlamak için en sık kullanılan terim ve semboller (59).

Terim	Terim sıklığı	Sembol	Sembol sıklığı
Bireyler için uygulanabilir			
Within-subject biological variation	18	CVI	35
Intraindividual biological variation	11	CV _w	8
Intraindividual variation	11	CV _i	7
Intraindividual variation	10	CV _w	6
Within-subject variation	9	CV _W	6
Within-subject coefficient of variation	5	CV _i	6
Intraindividual variability	4	CV _{within-subject}	3
Within-person biological variation	4	CV _{biological}	3
Within-person variation	4	CV _b	3
Intraindividual biological variation	3		
Intraindividual CV	3		
Within-subject CV	3		
Within-subject biological variation	3		
Applicable to groups			
Between-subject biological variation	16	CV _g	29
Interindividual variation	14	CV _g	7
Between-subject variation	7	CV _g	5
Interindividual biological variation	5	CV _b	4
Interindividual CV	5	CV _b	2
Interindividual variability	5		
Between-person variation	4		
Between-subject coefficient of variation	4		
Interindividual variation	4		

CVI: Birey içi biyolojik varyasyon (bir gruptaki bireylerden toplanan varyasyon olarak tahmin edilen tek bir birey içindeki varyasyon);

CVG: Bireyler arası biyolojik varyasyon (bir grup bireyin merkezi eğilimleri arasındaki varyasyon);

CVA: analitik varyasyon (analitik kararsızlık); türetme ve türeme modu (tekrarlanabilirlik, güvenilirlik veya toplam gibi) ve analiz sayısı, çalışma sayısı ve zaman periyodu verilerek daima açıklığa kavuşturulmalıdır.

RCV: referans değişiklik değeri (bir bireyden elde edilen 2 seri sonuçtan önemlilik için gerekli olan fark); her zaman kullanılan formülle, yani $2^{1/2} Z \times (CV_A^2 - CV_I^2)^{1/2}$ eşlik etmeli;

olasılığı ve farkların tek yönlü veya çift yönlü olarak hesaplandığını belirtmek için Z-skoru tanımlanmalıdır.

• II: bireysellik indeksi (analitik ve birey içi varyasyonun bireyler arası biyolojik varyasyona oranı); her zaman hesaplama için kullanılan formüle eşlik etmelidir: tercih edilen $(CV_A^2 - CV_I^2)^{1/2} / CV_G$ veya şimdi daha kullanışlı görünen CV_I / CV_G . (59).

Tablo 29. Biyolojik çeşitlilik verileri ile ilgili semboller ve formüller (60).

Kısaltma	Tanımlama	Formül
S^2_T	Tüm ölçümlerin total varyansı	$(S^2_A + S^2_I + S^2_G)$
S^2_{I+A}	Ortalama birey içi total varyans	
S^2_A	Ortalama çalışma içi analitik varyans	
S^2_I	Ortalama birey içi BV	$(S^2_{I+A} - 1/2S^2_A)$
S^2_G	Bireyler arası BV	$[(2kr - 1)/2k(r - 1)] \{S^2_T - S^2_A - [(2kr - 2)/(2kr - 1)] S^2_I\}$, k birey başına toplanan numune sayısı r birey sayısı)
CVT	Birey içi total varyasyon katsayısı	
CVA	Analitik varyasyon katsayısı	
CVI	Birey içi biyolojik varyasyon katsayısı	
CVG	Bireyler arası biyolojik varyasyon katsayısı	
II	Bireysellik indeksi	(S^2_{I+A}/S^2_G)
RCV	Referans değişim değeri	$(2.77 (CV_A^2 + CV_I^2)^{0.5})$
D	İstenen yakınlık derecesi	
n	İstenen yakınlık derecesinde homeostarik ayar noktasını tahmin etmek için gerekli numune sayısı (D)	$1.962 (CV_A^2 + CV_I^2)/D^2]$
IH	Heterojenite indeksi (gözlenen CV_T 'nin teorik CV)	$(CV_T/[(2/k - 1)^{1/2} \times 100], k$ birey başına alınan numune sayısı)

2.6.3. Biyolojik Varyasyon Bileşenlerinin Belirlenmesi ve Çalışma Prosedürleri

Biyolojik varyasyonun birey içi ve bireyler arası bileşenlerinin büyüklüğünü tanımlamak için çok sayıda koşul olmasına karşın aşağıda yer alan basit deneysel yöntemi sıklıkla tercih edilmektedir (22).

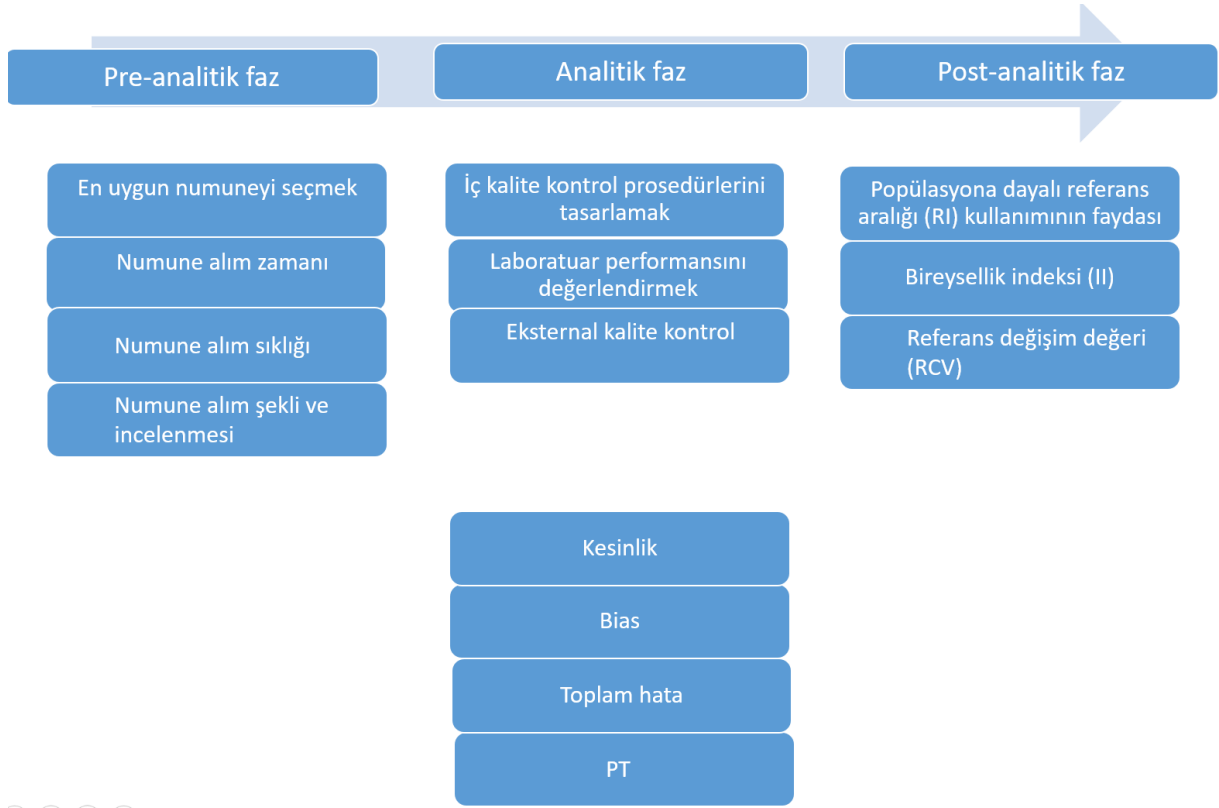
1. Görünürde sağlıklı gönüllülerden oluşan küçük bir grubu alınır (ya da araştırılan analiti etkileyen herhangi bir hastalığa sahip bireylerden),
2. Her bireyden düzenli aralıklarla bir dizi numune alınır, pre-analitik varyasyonu en aza indirilir,
3. Numuneler analiz için saklanır,
4. Analitik varyasyon kaynakları en aza indirgenerek tekrarlı analiz yapılır,
5. Verilerin büyük bölümünden farklı olan sonuçlar dışlanır ve
6. Analitik, birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyon bileşenleri varyansın basit istatistik analiz tekniği ile (ANOVA) belirlenir (22).

2.6.4. Biyolojik varyasyon verilerinin kullanım alanları

Bu deneysel teknik kullanılarak üretilen ortalama birey içi ve bireyler arası biyolojik değerler ile ilişkili RCV ve II hakkında bilgi ve yorum yapılabilir (22).

Biyolojik varyasyonun bileşenleriyle ilgili veriler, aşağıdaki özelliklerin belirlenmesi için uygulanabilmektedir:

- Kesinlik
- Bias,
- İzin verilen toplam hata,
- Yöntemler arasında izin verilen farkı belirlemek,
- Bir bireyin seri sonuçlarında meydana gelen anlamlı değişiklik görülmeden önceki (referans değişiklik değeri) değişikliği belirlemek,
- Bir kişinin seri sonuçlarındaki bir değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek ve
- Kalite yönetiminde kullanılmak üzere nesnel delta-kontrol değerlerini üretmek amacıyla kullanılabilir (22).



Şekil 9.Biyolojik varyasyon verilerinin laboratuvar süreçlerinde çeşitli kullanım alanları

Birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyonu karşılaştırmak,

- Geleneksel popülasyona dayalı referans değerlerin kullanımının faydası ve uygunluğu değerlendirmeyi; örneğin yaş ve cinsiyete göre tabakalı referans değerlerin neden klinik karar vermeyi geliştirdiğini açıklamayı,
- Test sonuçlarını bildirmenin en iyi yolunu, en iyi numune toplamayı ve en büyük potansiyel kullanımı olan test prosedürünü belirlemeyi,
- Epidemiyolojide kullanılan güvenilirlik katsayısının hesaplanmasını,
- Herhangi bir yeni test prosedürünün geliştirilmesini,
- Belirtilen bir olasılık ile belirli bir yüzde içindeki homeostatik ayar noktasını tahmin etmek için gereken örnek sayısının belirlenmesi ve şekil 9’da yer alan diğer amaçları sağlamak için de kullanılabilmektedir (22).

Sağlık ve hastalık durumlarında Biyolojik varyasyon

Laboratuvarlarda sıkça ölçülen çoğu analitin BV’u ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır (61-64). Bu çalışmalardan bazılarında serum ve 24 saatlik idrardaki birçok analit değerlerinin CVI’u incelenmiştir (62). Genel olarak birey sayısı, kullanılan yöntem, popülasyon ve çalışmaya ait zaman ölçeği değişse de CVI tahminlerinin birbirine yakın

olduğu gözlenmiştir. Buna karşın CVI değerlerinin daha çok tekrar sayılarından etkilendiği belirtilmiştir (66). Benzer çalışmalarla hemostatik mekanizmaların yaşlanma süreci boyunca azaldığı ve BV'un yaşla birlikte arttığı gösterilmiş, ancak BV'nun genç ve yaşlı popülasyonda farklı olduğuna dair fazla sayıda kanıt bulunamamıştır (62).

Ricos ve arkadaşları (65) 15 bilimsel dergide yer almış 45 yayından elde edilen ve 34 hastalığa ait yaklaşık 66 parametreyi içeren bir veri tabanı hazırlamışlardır (65). Vakaların çoğunda hastalık grubundaki CVI değerlerinin sağlıklı grup ile aynı düzeyde olduğu gözlenmiştir. Çalışılan analitlere ait hasta bireylerden elde edilen CVI dağılımlarının, sağlıklı bireylerde gözlenen CVI dağılımının içinde yer aldığı belirtilmiştir. Parametrelerin kullanılabilir ölçümlerinin az sayıda olması ve çalışma yöntemlerinin farklılıklar göstermesi nedeniyle bu veriler sabit istatistiksel karşılaştırma için kullanılmamıştır. Gözlenen farklılıkların klinik uygulamalar üzerindeki etkisinin az olduğu ve çoğu durumda hastalığa özgü anlamlı farklılıkları belirlemenin gerekmediği vurgulanmıştır (66,67).

Bununla birlikte, literatür taramaları sonucunda BV'lerin bir kısmının bazı hastalık tanıları almış kişilerde hesaplandığında, sağlıklı bireylerde olduğu gibi sabit bir değer olduğu da belirtilmektedir. Sole'tormos G. ve ark. yaptığı çalışmada (68) sağlıklı ve stabil prostat kanseri olan bireylerde BV'nin aynı olduğunu göstermektedir.

Bununla birlikte, Ricos ve ark. (69)

Karaciğer hastalıklarında alfa-fetoprotein,

Paget hastalığında alkalın fosfataz,

Over kanseri CA125,

Over kanseri CA15.3,

Kolorektal kanserde karsinoembriyonik antijen,

Böbrek hastalığında kreatinin,

Diabetes mellitusta HbA1c,

Diabetes mellitusta lipoprotein a,

İdrar albümin kreatinin oranı. gibi dokuz farklı analiz için sağlıklı ve hastalık tanısı alan bireylerde farklı BV değerleri bulunduğuna dair kanıt sağlamışlardır.

2.6.5. Biyolojik varyasyon verileri üzerine Mevcut Veritabanları

Biyolojik varyasyonun bileşenleri verilerinin her laboratuvarında üretilmesi gerekmemektedir, çünkü biyolojik varyasyon tahminleri tüm bireyler için sabit kabul edilmektedir.

Analit aslında hastalığın etkisinde olsa bile, hastalık kronik ve hastalık durumu kararlıysa, CV₁'nin sağlıklı kişilerle aynı büyüklükte olduğuna dair kanıtlar vardır (22).

Homeostatik belirleme noktaları muhtemelen patoloji nedeniyle değişebilir, ancak bunların etrafındaki varyasyonlar değişmemektedir (22).

Bu nedenle biyolojik varyasyon üzerine mevcut veritabanları tüm laboratuvarlarda kullanılabilir. İlk olarak John Ross, 1982'de kesinlik değerlendirmesi üzerine bir makale ile çalışmanın zaman aralığını, CV₁ ve CV_g, diğer indeksleri ve referansları listeleyen yayınlanmış verileri derlemiştir. Callum Fraser 1988'de bu tip bir modeli izleyerek bu çalışmayı 1992'de güncellemiştir. Günümüze kadar çok sayıda analit için devam eden ve artan bir ilgiyle süren biyolojik varyasyon hesaplamalarının yapıldığı çalışmalar yapılmıştır (70-72).

Tüm mevcut biyolojik varyasyon hesaplamaları ilk olarak 1999 yılında Ricos ve arkadaşları tarafından derlenmiş ve bu konuyla ilgili her iki yılda bir güncellenen bir veritabanı oluşturulmuştur (73).

Veri tabanının güncelleştirilmesi en son 2012 yılında yaklaşık 369 analit için yapılmıştır (<http://www.westgard.com/biodatabase-2012-update.htm>) adresinde yer almaktadır (74).

Böylece pek çok test için bu laboratuvar kullanımları için ulaşılabilmektedir. Bununla birlikte bu yönde daha çok çalışmalara ihtiyaç vardır. Örneğin biyolojik varyasyonları henüz hesaplanmamış yüzlerce analit bulunmaktadır. İleride yapılacak olan çalışmalarda bu özel testlere odaklanmak gerekmektedir (74).

2.7. Referans değişim değeri ve bireysellik indeksi

Bir bireyin ardışık iki sonucu arasındaki değişikliğin klinik önemi değerlendirilirken analitik ve biyolojik varyasyon hesaplamaları dikkate alınır (preanalitik varyasyon ihmal edilebilir). Ardışık iki sonuç arasındaki değişikliğin klinik anlamlılığını nicelleştiren sayısal

değer klasik olarak kritik fark veya RCV olarak bilinmektedir(55). Ve aşağıdaki formül ile hesaplanmaktadır:

$$RCV = k \times \sqrt{2} \sqrt{CVA^2 + CVI^2}$$

Bu formülde k değeri % 95 güven aralığı için 1,65 olarak belirlenmiştir. Yine CVA ve CVI sırasıyla analitik ve birey-içi varyasyon katsayısıdır (55).

Bazı yazarlar bu formülün (karekök içindeki bölüm yerine CV_{I+A}) da kullanmaktadır (75).

Bu her iki formül ile elde edilen sonuçlar hemen hemen aynıdır. Laboratuvarların istenilen kalite değerlerine ulaşabilmesi için $CVA \ll CVI$ olması gerektiğinden ve böylelikle esas olarak CVI 'ya bağlı olduğundan, RCV değeri bütün laboratuvarlar için aynı kabul edilmektedir (76).

Analitlerin çoğunluğunun yüksek bireyselliğinden dolayı ($CVI < CVG$) sağlık durumundaki değişiklikler için, RCV değerinin kullanılması popülasyona dayalı referans aralıkları kullanımından daha iyi bir yaklaşım olarak görünmektedir (77).

Popülasyona Dayalı Referans Değerlerin Kullanılabilirliğinin Değerlendirilmesi

Popülasyona dayalı referans değerler bireysellik indeksi (individuality index, II) ile adlandırılmakta olup CVI/CVG veya $(CVA+CVI)/CVG$ oranı ile belirlenir;

Bu indeks 1'in altında olduğunda bir bireyin ardışık iki sonucu RCV' nin üzerinde fakat popülasyona dayalı referans aralıkların içinde yer alabilmektedir. Bireysellik indeksi 1' in üzerinde olan analitler için tek bir testin sonucunu, yalnızca popülasyona dayalı referans aralıkları ile karşılaştırmak yeterli olabilmektedir. Bu değerlendirme, bireysellik indeksinin 0,6 veya altında ve 1,4 veya üstünde olduğu durumlarda oldukça duyarlı görünmektedir (78).

2.8. Demir, Transferrin, Ferritin, Folat, Vitamin B12 ve 25-OH D Vitamini testlerinin özellikleri ve varyasyonları

2.8.1. Demir

Demir endojen, kan ve bazı dokularda bulunan ve hücrelerin normal enerji kullanımı, oksijen taşınması gibi önemli fizyolojik rolleri bulunan esansiyel eser elementtir. Normal yetişkinlerde yaklaşık 3,5 g demir mevcut olup yaklaşık % 65'i hemoglobinde bulunmaktadır. Normal erkek erişkin plazma hemoglobin seviyeleri 12 ila 16 g/L, serum demiri 14-33 µmol/L'dir [79].

Yetişkin bir erkek için bazal günlük demir gereksinimi yaklaşık 1 mg/gün'dür. Bazı çalışmalar (80, 81) demir seviyelerinin, öğleden sonra veya akşamları sabahdan daha yüksek olduğunu belirtirken bazı çalışmalarda (7382) sabah, öğleden sonrasına kıyasla daha yüksek demir seviyeleri bildirilmiştir. Costongs ve ark.(83) tarafından yapılan çalışmada ise, diüurnal varyasyonlarda sistematik bir eğilim olmadığı belirtilmektedir.

Normal sağlıklı bireylerde, hem kadınlarda hem de erkeklerde serum demir düzeylerinde sirkadiyen bir değişiklik vardır. Seviyeler en fazla 08: 00-12: 00 saatleri arasında bulunmakla birlikte, öğleden sonra ve akşam % 23-58 (ortalama% 30) oranında kademeli olarak azalmakta ve daha sonra gece geç saatlerde tekrar yükseldiği belirtilmektedir. (84).

2.8.2. Transferrin

Transferrin, primer olarak hepatositlerde sentezlenen, lokal olarak beyin ve testis dokusunda da sentezlendiği gösterilen, 80000 dalton ağırlığında bir β-globulin proteindir. Her transferrin molekülünde iki ferrik (+2) demir bağlanma kısmı bulunmaktadır. Normal koşullarda transferrinin 1/3'ü demir ile bağlıdır. Plazmadaki transferrin konsantrasyonu genellikle total demir bağlama ölçümü ile hesaplanır (85).

Transferin, serumun demir bağlayıcı kapasitesinin %50 ila %70'inden sorumludur. Diğer proteinlerde demire bağlanabildiğinden dolayı transferin konsantrasyonu Toplam Demir Bağlama Kapasitesi (TIBC) ile ilişkili fakat eşit değildir (86).

Transferrin doygunluk seviyelerinde aynı gün içinde meydana gelen değişiklikler daha önce Edwards ve ark. (87)'nın bir çalışmasında açıklanmış ve transferrin doygunluk düzeylerinde 08:00 ile 20:00 saatleri arasında % 43'lük bir azalma gösterilmiştir.

2.8.3. Folat

Folatlar, pteroilglutamik asitle (PGA) ilişkili olan bir vitamin bileşenleri sınıfıdır ve tek karbon biriminin çeşitli metabolik geçişlerin enzimatik transferinde yardımcı faktör olarak hizmet ederler.(88,89). Suda çözünen vitamin olduğundan serum folat düzeyleri genel olarak beslenme ile ilişkili değişmekle birlikte diüurnal varyasyon net olarak belirlenmemekle birlikte yaz aylarında bahar ve kış aylarından daha düşük olduğu mevsimsel varyasyon belirtilmiştir (154).

2.8.4. Ferritin

Ferritin yüksek moleküler ağırlığa sahip demir-içerikli bir depo proteindir. Her bir ferritin molekülü, ferrikoksit-fosfat çekirdeği olan değişken demir miktarına sahip 24 alt birimli 460000 dalton moleküler ağırlığa sahiptir (90,91). Tam doymuş ise, ağırlığının %20'nden fazlasının demire bağlı olduğu gösterilmiştir. (91) Normal bir yetişkinde demirin %25'i değişik depolama formlarında bulunmaktadır (92). İnsan vücudunda demir depolarının yaklaşık üçte ikisi ferritin şeklindedir. Kalan demir depoları genellikle ferritinin denatüre halini temsil eden hemosiderinde bulunmaktadır. (93). Serum ferritin düzeyleri kadın ve erkeklerde geniş bir referans aralığı göstermekle birlikte, kadınlarda bu değerler erkeklere göre daha düşüktür. Yenidoğan da yüksek olan değerler hızlıca 30µg/L'ye düşer ve puberteye kadar bu değerlerde kalır ve sonrasında ferritin değerleri yaşla birlikte sabit bir artma eğilimi gösterir (87). Serum ferritin düzeylerindeki sirkadiyen varyasyon modelleri tartışmalıdır. Bazı yazarlar serum ferritin seviyelerinin serum demir düzeylerine paralel olarak gün boyunca hafifçe değiştiğini (94), bazıları ise (95) anlamlı bir sirkadiyen farklılık bulunmadığı belirtmektedirler. Değerler gün içinde çok az değişiklik gösterir ya da hiç göstermez. Günler arası değişim de ortalama %15 olmakla birlikte genellikle metodolojik faktörlere bağlıdır ve demir düzeylerinin aksine yakın zamanda yapılan demir tedavisinden etkilenmez (96). 20 µg altı değerler demir eksikliği ile uyumlu, 60µg/L ve üzeri değerlerde demir eksiliği ile uyumsuz kabul edilirken 20-60 µg/L arası değerlerde; akut faz reaksiyonuna bağlı artış demir düzeyini hatalı olarak normal gösterebileceğinden akut faz reaksiyonları açısından değerlendirilmelidir (96).

2.8.5. B12 vitamini

Korin ailesinin bir üyesi olan vitamin B12, metilmalonil Koenzim-A (CoA)'nın süksinil CoA'ya dönüşümünde ve homosisteinden metionin sentezinde rol alan bir kofaktördür ve miyelin oluşumunda metilasyon için ve folat ile birlikte DNA sentezi için gereklidir (97,98).

Vitamin B12'nin seviyesi ırklar arasında farklılık göstermekle birlikte genellikle ortalama serum referans aralığı 200-900 pg/mL arasında değişmektedir. Yapılan çalışmalarda vitamin B12 düzeyinin yaşla azaldığı ancak; cinsiyet farkı, eğitim durumu ve vücut kitle indeksinin serum vitamin B12 düzeyini etkilemediği bildirilmiştir (99).

2.8.6. D vitamini

Vitamin D, çoğunlukla 7-dehidrokolesterolden deride fotokimyasal şekilde üretilen yağda çözünür bir steroid prohormondur. Biyolojik olarak vitamin D'nin iki önemli formu bulunmaktadır;

– Vitamin D3 (Kolekalsiferol) ve vitamin D2 (Ergokalsiferol) (100).

Vitamin D, iki hidroksilasyon reaksiyonu ile aktif hormon 1,25-(OH)₂-vitamin D'ye (Kalsitriol) dönüştürülür. İlk hidroksilasyon karaciğerde meydana gelir ve vitamin D'yi 25-OH vitamin D'ye dönüştürür. İkinci hidroksilasyon hem böbreklerde hem de vücudun diğer birçok hücrelerinde meydana gelir ve 25-OH vitamin D'yi biyolojik olarak aktif 1,25-(OH)₂-vitamin D'ye dönüştürür. (100).

Vitamin D'nin depolanan ana şekli 25-OH vitamin D'dir ve aktif 1,25-(OH)₂-vitamin D ile kıyaslandığında kanda bin katına kadar yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. 25-OH vitamin D, 2-3 haftalık bir yarılanma ömrüne sahiptir ve buna nazaran 1,25-(OH)₂-vitamin D 4 saatlik ömre sahiptir. Dolayısıyla, vitamin D statüsünün tespitinde tercih edilen analit 25-OH vitamin D'dir (101,102). D vitamini düzeylerinin birey içi ve bireyler arası farklılıklarını aydınlatmak amacıyla yapılan İki genom kapsamlı çalışmada, D vitamini sentezinin anahtar genlerinde tanımlanan polimorfizmler tespit edilmiştir (103,104). Kolesterol sentezi, vitamin D hidroksilasyon ve transport ile ilgili genlerin yakınındaki polimorfizmler en etkili olanlar olmakla birlikte, kombine edildiğinde dahi, 25-OH D vitamini düzeylerindeki varyasyonların yalnızca %5'inden azını açıklamaktadır (103). Tersine, çevresel faktörler ve yaşam tarzı faktörleri, serum 25-OH D vitamini seviyelerinde 3 ila 15 ng/mL arasında değişen daha önemli değişiklikler oluşturmaktadır (103). Yaş, cinsiyet, gebelik, ultra viyole ışığa, güneşe maruz kalma, mevsim, kirlilik, giyim tarzı, vücut kitle indeksi, düşük sosyoekonomik durum, cilt pigmentasyonu, ırk ve etnik köken gibi durumlar 25-OH D vitamini düzeylerindeki varyasyondan sorumlu faktörlerdir (105-109).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın planlanması ve dizaynı

Avrupa Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu (EFLM) tarafından kurulan Biyolojik Varyasyon Çalışma Grubu (BVWG) (110) tarafından sunulan ve Tanısal Doğruluğun Raporlama Standartlarının Kılavuzunun (STARD) (111,112) bir parçası olarak yayınlanana benzer olarak kritik değerlendirme kontrol listesinde çalışma dizaynı ve süreci ile ilgili yer alan kontrol listesi temelinde, çalışma planı ve dizaynı aşağıda yer alan ana ve alt başlıklar temel alınarak yapılmıştır.

Analit(ler)

Denekler

Katılımcı bireylerin;

sayısı, yaşı, cinsiyeti ve sağlık durumları (sözlü ifade ve bazı analit sonuçları ile genel değerlendirme),

Ölçüm prosedürü,

Çalışma süresi,

-Numune toplama intervali

-Alınacak toplam numune sayısı

Preanalitik varyasyonu minimize etmek için pre-analitik süreç standardizasyonu,

Örneklerin analiz öncesi saklama koşulları,

Örneklerin analiz koşulları ve analitik protokoller.

3.2. Çalışılan analitler ve hedef veriler

Demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12, 25-OH vitamin D analitlerinin birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyon verilerinin elde etmek ve bu değerler ile referans değişim değeri ve bireysellik indeksi değerlerinin hesaplamak amacıyla çalışma planlaması ve dizaynı yapılmıştır.

“Klinik biyokimyada varyasyon: biyolojik varyasyon adlı çalışmamız, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’nun TTU-2017-07 nolu kararı ile onaylanmıştır.

3.3.Örnek Toplanmasında İzlenen Prosedür

3.3.1. Katılımcı Seçimi Çalışma bir kişi dışında tamamı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde görev yapan ve yaş aralığı tablo 1'de verilen toplam 21 gönüllü sağlıklı üzerinde yapılmıştır.

Erkek ve kadın olarak iki grup olacak bu sağlıklı gönüllülerden birey içi ve bireyler arası biyolojik varyasyon ve analitik varyasyon verilerinin elde edilmesi ve referans değişim değeri ile bireysellik indeksi değerlerinin hesaplanması Carobene, A. (113). ve ark. tarafından yapılan biyolojik varyasyon tahminleri için sağlıklı gönüllülerden örnek toplama: EFLM tarafından kurulan Biyolojik Varyasyon Çalışma Grubu tarafından üstlenilen EuBIVAS projesinde, birey seçiminde yer alan aşağıda belirtilen dahil edilme ve dışlama kriterleri ile birlikte ekte yer alan çalışma öncesi ve numune toplama öncesi yapılan anket formu temel alınarak uygulanmıştır.

3.3.1.1. Dahil edilme kriterleri;

- Çalışma içi yapılan bilgilendirilmiş onayı kabul edip onaylayan,
- 20-60 yaş arası, (18 yaş üzeri)
- Kendini iyi hisseden
- Takipli bir hastalığı olmayan,
- İdeal olarak sigara ve alkol kullanmayan, (kullanan varsa miktarı ve türü mutlaka belirtilmeli)

-Düzenli veya düzensiz olarak bir hekim tarafından reçete edilen/edilmeyen herhangi bir ilaç ve/veya bitkisel ürün/gıda takviyesi kullanmayan, (kullanma durumunda mutlaka ilaç veya herhangi bir ürün kullanım durumunda aktif madde ismi dozu ve sıklığı belirtilmeli)

3.3.1.2. Gönüllülerin araştırmaya dâhil edilmeme kriterleri;

-Kronik hastalığı olanlar, (bilinen şeker hastalığı, insülin tedavisi görme ve açlık glukozunun 7.0 mmol/L veya 126 mg/dl üzerinde olan, kronik karaciğer ve böbrek yetmezliği (GGT> 150U/L ve GFR < 60ml/dk 1.73 m² için.)

-Düzenli ve düzensiz reçete edilen/edilmeyen ilaç kullananlar

-Menstrüel siklus düzensizliği olan ve bu amaçla veya kontraseptif amaçla ilaç/cihaz kullanan kadınlar

-Son 3 ay içinde kan vermiş olanlar ve 6 ay içinde hastaneye yatarak tedavi görenler

-Aktif enfeksiyonu olanlar (CRP yüksekliği olanlar ve özellikle bilinen Hepatit B-C ve HIV taşıyıcısı olanlar)

-İncelenecek parametreler ile ilişkili olabilecek ailevi/kalıtsal hastalığı olanlar

-Demir eksikliği,

-D vitamini , Folat ve B12 vitamini eksikliği tanısı alıp düzenli veya düzensiz olarak bir hekim tarafından reçete edilen/edilmeyen herhangi bir ilaç ve/veya bitkisel ürün/gıda takviyesi kullanıyor olanlar.

3.3.3. Katılımcı yaş ve sayısı

Tablo 30. Çalışmaya dahil edilen katılımcıların yaş aralığı

Cinsiyet	18 - 29 yaş	30 - 39 yaş	40 - 49 yaş	50 - 64 yaş	65 - yaş
Erkek	3	3	4	0	0
Kadın	5	3	2	0	0

3.4. Çalışma süresi, Numune toplama intervali ve toplam numune sayısı

Biyolojik varyasyon verilerinin türetilmesi için belirlenmiş çalışma süresi, numune sayısı ve numune toplama intervali ile ilgili standardizasyon ve öneri bulunmamaktadır. Ancak RORAAS T ve ark.(20) Birey İçi Biyolojik Varyasyon İçin Güven Aralıkları ve Güç Hesaplamaları:

Analitik İmpresizyonun tekrar Sayısı, Numune Sayısı ve Bireylerin Sayıları üzerindeki etkisi adlı çalışmasında çalışma verilerinin gücünün yeterli olabilmesi için 10 birey ve her numunenin ikişer kez çalışılması koşulu ile 4 numunenin gerektiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda 10 erkek ve 10 kadın olmak üzere 20 bireyden 0, 1, 7, 14 ve 28'inci günler olmak üzere her birey için beşer numune ikişer kez çalışıldı.

3.5. Çalışma ve Numune Alma Öncesi Gönüllülerin Hazırlanması

Gönüllüler gruplandırılıp ön bilgilendirme toplantısı yapıldı, çalışma ile ilgili genel bilgilendirme yapılp çalışmaya davet edildi. Çalışmaya kaydı yapılan bireyler kan alımı için anket formu ve onam formu doldurularak ilk numune alınacak gün kararlaştırıldı.

Bireyler 12 saatlik bir açlık periyodu ardından saat 08.00 ile 10.00 arasında kan alımına davet edildi. Alınan örneklerde karışıklık olmaması açısından kodlama sistemi uygulandı.

Cinsiyet	ÖrnekKodlaması
Erkek	BV 1-1 ... BV 10-1
Kadın	BVK 1-1 ... BVK 10-1

BV: biyolojik varyasyon

*1.sayı: birey kodu (1-10) **2.sayı: örnek sırası (1-5)

Gönüllü katılımcılardan kan örneği alınmasından önce uyulması gereken "Katılım Prosedürleri" formu dağıtıldı. Numune alımından 5 gün önce önce-ve yeme-içme durumundan dolayı son olarak da kan alınmadan 1 gün önce akşam 8’de hatırlatma mesajı gönderildi. Katılım prosedüründe yer alan uyarılar aşağıdaki gibidir:

Kan vermeden 3 gün önce çok efor gerektiren egzersizden uzak durunuz.

Gece nöbetlerinden sonraki gün, kan vermektan sakınınız.

Kan verme saatinin en az 8-12 saat öncesinden itibaren lütfen bir şey yemeyiniz ve içmeyiniz.

Numune vermeden önceki akşam aşırı yemekten ve sigara-alkol almaktan sakınınız.

Numune vermeden hemen önce sigara dahil hiçbir şey yiyip içmeyiniz.

3.5.1. Kan Alınmasından Hemen Önce Gönüllülerin Hazırlanması

Anketin doldurulması bizzat araştırmacı veya yardımcı doktorlar tarafından mülakat yüz yüze anket yöntemi ile yapıldı. Katılımcının sorulara verdiği cevaplar iyice irdelenerek kabul/dışlama kriterlerine göre katılımcılardan numune alımı kararlaştırıldı.

Kan alınmadan önce, analitlerin sonucunun etkilenmemesi için gönüllüler oturur pozisyonda bir süre dinlendirildi. Ayrıca sigara içiminin bazı test sonuçlarını etkilememesi için, kan alımından hemen önce sigara içilmesine izin verilmedi.

3.6. Örnek Toplanması

Diüurnal değişimi azaltmak ve standardizasyonu sağlamak için RG bireylerden, 12-14 saat açlık sonrası sabah 08.30-10.00 saatleri arasında vakumlu antikoagölansız 2 adet kuru tüpe (Becton Dickinson: BD) kan örneği alınmıştır. Alınan kan örnekleri 20-30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000 xg’de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve ayrılan serumlar çalışılacağı güne kadar -80 °C de saklanmıştır. BVG bireylerin her birinden 12-14 saat açlık sonrası sabah 08.30-10.00 saatleri arasında 0, 1, 7, 14 ve 28’inci günlerde olmak üzere 1 aylık periyotta toplam yedi kez vakumlu antikoagölansız bir adet kuru tüpe kan örneği

alınmıştır. Alınan kan örnekleri aynı şekilde 20-30 dakika oda sıcaklığında pıhtılaşma sürecince bekletildikten sonra 2000 xg'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve aynı gün içinde çalışılmıştır.

3.7. Örneklerin Hazırlanması ve Saklanması

Örneklerin Hazırlanması:

Vakum miktarınca kan dolu biyokimya tüpleri ışıktan korunarak oda ısısında 20-30 dakika dinlendirilerek fibrin oluşumu sağlandı.

Ardından örnekler 10 dakika süreyle, +4°C'de 4000 rpm'de santrifüj edildi.

Elde edilen her bir serum örneği 5'er ependorfa (1.5ml'lik) bölündü ve numune kodlamada olduğu gibi etiketlendi.

Kan alma tüplerinin üzerindeki numune kodu ile ependorflar üzerindeki numara ile eşleşmesi kontrol edildi.

Örneklerin saklanması: toplamda 20 bireyden alınan beş farklı numune BV-1-2-3-4-5 olacak şekilde 5 grup halinde ağızları sıkı bir şekilde kapatılarak çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı.

3.8. Örneklerin analizi

20 bireyden 5 farklı günde alınan toplamda 100 numune, örnek toplama işleminin tamamlanmasının ardından tek analitik oturumda çalışılmak üzere plan yapıldı.

Her bir Numune grubundan 20 bireye ait 5'er farklı güne ait örneklerden 1'er adet -40°C'den çıkarılarak oda sıcaklığında çözünmesi sağlandı.

Numune alımı sırasında sıralanan bireylerin ve alınan örneklerin kodu cihaza girilerek çalışıldı.

Numune çalışmadan önce sistemin analitik CV'sini ölçmek için Demir, Transferrin, Ferritin, Folat, Vitamin B12, 25-OH Vitamin D vitamini testleri için; (demir ve transferrin için 2 seviye diğer parametreler için 3 seviye) iç kalite kontrol örnekleri 2'şer kez çalışıldı.

Sisteme girilen order sırasına göre hazırlanan örnekler her bir analit için 2'şer kez çalışılarak tek bir analitik oturumda analiz gerçekleştirildi.

İç kalite kontrol ve numune Analizi; Abbott Architect c16200 (ABD) modüler cihazında gerçekleştirildi.

3.10. Kullanılan Geçer Ve Malzemeler

1. Kuru Tüp “Becton Dickinson: BD” (Türkiye)
2. Soğutmalı Santrifüj Nüve NF1200R
3. Soğutmalı Santrifüj Nüve NF800R
4. Karıştırıcı (vorteks), “Velp Scientifica” (İtalya)
5. Otomatik pipet (100 µL), Gilson Pipetman
6. Otomatik pipet (100 µL), Gilson Pipetman
7. Otomatik pipet (100 µL), Gilson Pipetman
8. Dikey Soğutucu 2-8°C “Arçelik” (Türkiye)
9. Derin dondurucu (-40°C), “Sanyo” (Japonya)
10. Abbott “Architect C162000” (ABD)

3.11. Testler Ve Ölçüm Prosedürleri

3.11.1. Demir (Fe) Test Prensibi

4.8 pH derecesinde, demir bağlı olduğu transferinden ayrılır ve daha sonra nicelik olarak demir durumuna azaltılır. Demir, Ferene-S* ile birlikte stabil renkli ve renk yoğunluğu numunedeki demir miktarıyla orantılı olan bir bileşen oluşturur. Özel reaksiyon koşulları ve spesifik bir maskeleyici ajanı, bakır interferansını neredeyse tamamen yok eder (114).

Metodoloji: Ferene * Ferene-S = 3-(2-piridil)-5,6-bis-[2-(5-furilsulfonik asit)]-1,2,4-triazin

3.11.2. Transferrin Test Prensibi

Transferrin tetkiki, transferinin antikoru numuneye eklendiğinde çözülmez immuno bileşenleri formasyonlardan kaynaklanan yükselen numune bulanıklığını ölçen bir immunoturbidimetrik prosedürdür. Transferin içeren örnek bir tampon (R1) ile inkübe edilir ve transferin antikoru (R2) eklenmeden önce bir örnek körü belirlemesi gerçekleştirilir. Uygun antikorun aşırı varlığında transferin konsantrasyonu bulanıklığın bir fonksiyonu olarak ölçülür (115).

3.11.3. Folat Test Prensibi

Architect folat, insan serumu, plazması ve kırmızı kan hücrelerinde (RBC) bulunan folatın kantitatif belirlenmesi için Kemiluminesan Mikropartikül İmmunolojik Test (CMIA) teknolojisi ile Chemiflex olarak adlandırılan esnek tetkik protokoller kullanan iki adımlı (two steps) bir tetkiktir (116).

3.11.4. Ferritin Test Prensibi

Architect ferritin, insan serumu ve plazmasında bulunan ferritinin tespitinde bir Kemiluminesan Mikropartikül İmmunolojik Tetkik (CMIA) teknolojisi ile Chemiflex adı altında geçen esnek tetkik protokoller kullanan iki adımlı (two-step) bir immunolojik tetkikidir (117).

3.11.5. B12 vitamini Test Prensibi

Architect B12, insan serumu ve plazmasında bulunan B12'nin belirlenmesi için Kemiluminesan Mikropartikül İmmunolojik Test (CMIA) teknolojisi ile Chemiflex olarak adlandırılan esnek tetkik protokoller kullanan otomatik örnek on hazırlıklı olan iki adımlı (two steps) bir tetkiktir (118).

3.11.6. D vitamini Test Prensibi

Architect 25-OH Vitamin D, Chemiflex adı verilen esnek tetkik protokolleri ile CMIA teknolojisini kullanarak, insan serumunda ve plazmasında vitamin D varlığını tayin etme amaçlı olan kantitatif, geciktirilmiş, tek adımlı ve yarışmalı bir immunotetkiktir (119).

BULGULAR

1. Biyolojik Varyasyon Çalışması Analiz Sonuçları

10 erkek ve 11 kadın toplam 21 bireyden bir aylık periyotta 0.1.7.14.28 günlerde 5 kez alınan seri kan örneklerindeki numuneler günler arası analitik varyasyonu ortadan kaldırmak için tek bir analitik oturumda çalışıldı ve Abbott Architect ci16200 .(ABD) entegre modüler sistemde her bir parametre için elde edilen sonuçlar aşağıda yer alan tablo 1-6'da yer almaktadır.

Tablo 31. Demir BV tüm bireylere ait veriler

	0.GÜN	0.GÜN	1.GÜN	1.GÜN	7.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	14.GÜN	28.GÜN	28.GÜN
E1	75	75	135	135	88	88	75	75	94	94
E2	101	102	117	117	111	112	112	111	85	86
E3	130	129	132	134	108	108	92	92	74	75
E4	103	103	56	56	72	72	138	138	74	74
E5	61	61	35	36	26	27	67	68	78	78
E6	68	69	100	100	91	92	78	79	69	69
E7	129	131	121	122	150	151	128	128	102	103
E8	116	117	114	115	126	127	94	95	75	75
E9	76	76	60	61	82	82	54	54	47	47
E10	96	98	117	118	102	102	103	102	86	86
K1	108	108	94	95	184	183	98	99	82	83
K2	77	77	53	54	114	114	82	82	45	46
K3	139	138	121	121	108	109	107	105	95	94
K4	79	80	84	84	71	70	96	95	51	52
K5	43	43	38	37	30	30	27	27	34	35
K6	46	46	45	45	36	36	28	28	82	82
K7	87	87	102	120	83	83	72	71	49	49
K8	42	43	64	64	58	58	51	51	61	61
K9	47	48	46	46	42	41	102	102	38	38
K10	61	61	125	126	58	58	37	37	66	66
K11	20	20	35	35	45	45	17	16	38	39

Tablo 32. Transferrin BV tüm bireylere ait veriler

	0.GÜN	0.GÜN	1.GÜN	1.GÜN	7.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	14.GÜN	28.GÜN	28.GÜN
E1	2,64	2,7	2,65	2,67	2,53	2,57	2,65	2,64	2,75	2,76
E2	2,42	2,44	2,42	2,4	2,56	2,54	2,35	2,38	2,39	2,41
E3	3,08	3,13	2,92	2,93	2,79	2,8	2,95	2,95	3,03	3,02
E4	2,7	2,71	2,75	2,78	2,63	2,59	2,69	2,69	2,7	2,74
E5	3,01	3,03	2,79	2,82	2,82	2,85	2,99	2,98	3,01	3,02
E6	2,57	2,58	2,52	2,53	2,55	2,52	2,53	2,53	2,49	2,45
E7	2,04	2,03	2,06	2,08	2,03	2,04	1,97	1,98	1,98	2,04
E8	2,52	2,53	2,46	2,45	2,42	2,4	2,54	2,54	2,6	2,59
E9	2,93	2,91	2,84	2,87	2,95	2,91	2,66	2,67	2,93	2,94
E10	2,72	2,75	2,73	2,76	2,58	2,58	2,51	2,52	2,65	2,68
K1	2,52	2,51	2,52	2,53	2,37	2,38	2,33	2,34	2,38	2,39
K2	2,68	2,66	2,44	2,48	2,65	2,66	2,61	2,6	3,02	3,03
K3	2,08	2,1	2,07	2,08	2,09	2,05	2,22	2,24	2,05	2,07
K4	2,46	2,47	2,46	2,43	2,48	2,49	2,47	2,46	2,37	2,39
K5	3,13	3,12	3,17	3,22	3,14	3,14	3,36	3,31	3,14	3,14
K6	2,37	2,34	2,28	2,31	2,44	2,42	2,57	2,59	2,48	2,48
K7	2,95	2,95	2,88	2,9	2,82	2,8	2,81	2,87	2,9	2,91
K8	2,56	2,57	2,71	2,71	2,8	2,79	2,7	2,76	2,61	2,61
K9	2,55	2,49	2,6	2,62	2,53	2,53	2,51	2,51	2,52	2,5
K10	2,86	2,88	2,73	2,75	2,69	2,64	2,66	2,68	2,7	2,79
K11	2,78	2,79	2,87	2,91	2,89	2,96	2,56	2,59	2,79	2,78

Tablo 33. Ferritin BV tüm bireylere ait veriler

	0.GÜN	0.GÜN	1.GÜN	1.GÜN	7.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	14.GÜN	28.GÜN	28.GÜN
E1	133,88	132,75	129,74	132,38	110,03	117,03	108,96	106,76	114,03	112,76
E2	140,72	142,32	149,76	144,03	143,9	136,38	139,89	141,13	134,43	136,74
E3	213,41	231,06	230,43	222,69	218,35	220,53	231,79	233,35	274,7	265,88
E4	120,86	117,26	136,88	136,05	121,83	124,48	125,98	133,43	117,04	123,68
E5	13,48	12,94	16,1	15,74	8,81	9,6	9,89	9,97	9,68	9,29
E6	61,29	64,22	61,26	60,71	70,75	67,87	63,9	68,17	66,5	68,96
E7	192,14	195,07	188,51	177	202,92	208,85	235,76	233,19	197,51	191,29
E8	141	143,84	134,54	133,99	153,59	148,52	116,19	119,92	112,65	114,33
E9	24,77	24,5	25,11	26,26	36,1	33,8	50,99	49,96	44,72	43,14
E10	59,5	59,2	56,4	54,8	57,8	58,3	52,46	54,64	62,44	63,98
K1	5,5	5,87	4,51	4	5,57	5,19	6,02	6,14	6,64	6,26
K2	17,52	18,02	14,49	15,13	11,58	10,98	14,36	14,71	11,76	12,21
K3	111,92	112,12	113,43	111,4	90,81	92,5	89,91	90,59	70,44	73,72
K4	25,94	24,13	23,58	24,16	46,61	47,46	30,92	30,37	29,91	30,77
K5	8,13	8,53	9,31	9,17	10,79	10,22	6,9	6,7	6,4	6,66
K6	8,32	8,71	7,46	6,77	8,46	8,19	10,99	10,91	10,53	11,3
K7	51,92	53,65	58,18	57,8	53,64	54,9	45,04	45,39	56,17	53,65
K8	54,41	54,54	57,45	60,35	64,55	62,06	59,94	61,76	59,13	58,4
K9	16,23	16,2	16,21	15,26	13,57	12,04	11,11	11,93	12,45	11,56
K10	12,02	12,31	10,5	10,67	13,53	13,27	13,22	12,97	12,55	12,41

Tablo 34. Folat BV tüm bireylere ait veriler

	0.GÜN	0.GÜN	1.GÜN	1.GÜN	7.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	14.GÜN	28.GÜN	28.GÜN
E1	6,2	5,8	7,1	6,7	4,8	5,3	5,8	5,5	7	6,4
E2	7,6	7,2	7,7	7,6	5,8	5,9	6,5	6,9	5,7	5,8
E3	6,1	5,5	7,5	7,1	5,3	6	4,9	5,2	6,3	6,8
E4	6,2	5,9	6,7	6,4	4,4	3,7	6,2	5,8	5,6	5,9
E5	3,2	3,4	5,4	5,5	3,6	3,7	3,8	3,9	3,6	2,7
E6	8,2	8,4	9,3	8,5	6,7	6,4	5,7	5,8	6,4	6,4
E7	6,8	6,7	6,5	6,3	7,1	7	7,4	6,5	7,5	6,6
E8	5,8	6	5,2	5,4	5,1	4,9	5,3	5,2	4,6	4
E9	3,2	3,4	3,4	2,9	3,2	3,5	2,7	3,1	3,3	3,4
E10	3,8	3,7	3,8	3,6	3,5	3,8	4,2	4,3	4,1	4,2
K1	10,2	10,4	9,8	9,4	8,8	8,2	10,8	10,1	11	11,7
K2	10,9	10	10	10,4	7,5	7,1	7,8	7,8	10,9	10,9
K3	7	6,4	6,6	6,1	6,3	6,1	6,7	6,5	6,6	7,1
K4	7,1	7,5	6,9	7,3	7,4	7,5	7,1	7,3	7,7	7,1
K5	6,7	6,4	8	8,3	6	6,2	5,9	6,5	7,2	7,4
K6	8,2	7,8	7,6	7	8,4	8	7,4	7,2	8,9	8,2
K7	9,6	9,4	8,7	8,7	9	8,1	7,1	7,4	7,7	7,5
K8	7	7,3	7,5	7,2	7,7	7,2	8,3	8,3	8,8	8
K9	8,7	8,3	8	7,5	7,4	8,3	7,5	8,3	7,1	7,6
K10	8,2	8,6	8,3	8,6	6,8	6,3	7,6	7,3	7,2	7,1
K11	3,3	3	3,7	3,4	2,8	2,9	4,1	3,8	4,4	4

Tablo 35. Vitamin B12 BV tüm bireylere ait veriler

	0.GÜN	0.GÜN	1.GÜN	1.GÜN	7.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	14.GÜN	28.GÜN	28.GÜN
E1	178	230	223	219	219	222	217	195	259	220
E2	234	244	259	261	224	234	227	227	224	234
E3	274	260	245	249	251	224	272	292	303	337
E4	339	370	387	372	373	347	373	370	424	378
E5	222	214	191	192	195	189	207	186	186	175
E6	281	276	287	256	282	225	260	238	232	214
E7	477	448	433	436	478	457	450	421	481	476
E8	361	295	326	287	295	292	330	325	328	330
E9	299	300	290	276	273	282	259	296	409	424
E10	181	174	178	207	171	187	184	187	191	171
K1	568	556	480	464	512	520	539	573	436	494
K2	319	361	337	286	294	304	330	294	334	321
K3	252	250	252	271	237	255	258	275	227	248
K4	201	220	209	199	202	218	201	212	165	167
K5	235	221	238	202	286	293	261	247	242	241
K6	339	307	304	296	301	308	306	322	320	304
K7	197	197	184	213	212	221	195	196	204	237
K8	199	170	203	196	195	187	235	163	194	218
K9	175	199	205	209	211	214	195	228	199	184
K10	129	149	131	145	117	121	112	132	118	112
K11	230	214	223	221	252	228	246	266	234	250

Tablo 36. 25-OH Vitamin D tüm bireylere ait veriler

	0.GÜN	0.GÜN	1.GÜN	1.GÜN	7.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	14.GÜN	28.GÜN	28.GÜN
E1	12,2	12,9	13,1	13,9	13,2	13,4	13,7	13,4	15,6	15,9
E2	15,1	15,4	15,5	14,8	15,9	15,4	16	14,8	18,5	19,1
E3	40,5	40,6	36,6	37,6	33,2	33,7	22	21,4	23,3	23,9
E4	24,6	24,4	23,9	25,7	24,9	24,5	24,7	23,4	26,3	25
E5	10,4	8,9	10,2	10	10,1	9,3	9,6	9,5	9,8	9,7
E6	12	12,7	12,7	12,7	13,2	12,4	14,6	13,8	16,6	15,9
E7	11,5	11,5	10,8	9,8	11,5	11,7	14,7	13,5	17,5	17,3
E8	11,3	10,8	9,8	9,6	9,6	10,4	10,8	10,2	13,1	11,4
E9	7,3	7,3	7,4	7,1	8,6	8,1	10	9,9	13	13,6
E10	8,3	8,7	8,6	8,6	9,3	8,8	9,5	9,4	11,5	12,6
K1	31	28,6	29,9	29,8	29,4	28,9	28,8	29	25,4	24,7
K2	45,7	45,1	41,8	40,3	39,9	41	34,4	34,7	37,3	38
K3	19,6	19,4	19,3	18,9	17,6	17,8	18,4	18,6	18,3	18,4
K4	9,7	9	10,1	10	9,5	9,5	10,5	10,6	20,6	21
K5	9,1	9,5	9	8,1	8,3	7,6	10,5	10,1	9,8	9,6
K6	15,6	16,5	14,6	15,1	15,6	14,9	17,1	16,2	17,6	17
K7	8,3	8,1	7,6	8,1	6,8	6,7	7,6	7,2	5,6	5,9
K8	5,2	4,4	5,2	5,4	6,6	6,3	6,4	6	10,5	10,4
K9	20	19,8	20,4	21	19,5	19,7	19,3	19	18,6	17,7
K10	7,2	6,3	6,9	6,3	6,8	6,9	15,2	15	16,1	15,1
K11	9,6	10,6	10,6	10,4	10	10,8	10,3	10,6	11,4	11,6

2. İstatistiksel Analiz ve Kullanılan Hesaplamalar

Veriler CV-ANOVA kullanılarak analiz edildi, veriler öncelikle CV-dönüşümü kullanılarak dönüştürüldü (10). Ardından, homojenliği sağlamak için, numunelerin dönüşen veriler ve tekrarlar üzerinde aykırı değerlerin belirlenmesi ve uzaklaştırılması yapıldı. Analitik CV'nin (tekrarlar arası) homojenliği, Bartlett testleri (11) ile, birey içi biyolojik varyasyonunun (CVI) homojenliği Cochran testleri ile doğrulandı (12).

Rezidülerin normalliğini doğrulamak için Shapiro-Wilk testi (13) kullanılmıştır. Bireyler arası biyolojik varyasyon (CVG) tahmini için, verilerin doğal log dönüşümü gerçekleştirilmiştir.

Normalliği doğrulamak için yine Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Dixon-Reed kriteri (14), bireyler arasındaki ortalama değerlerdeki aşırıkları saptamak için kullanılmıştır.

Başlangıçta her bir gruptaki erkekler ve dişiler ayrı ayrı analiz edilmiştir. Alt gruplar arasındaki CVI ve CVG'deki farklılıkların istatistiksel önemi% 95 CI'nin çakışması ile belirlendi.

Erkek ve kadın gruplarda ortalama değerler arasındaki farklar Student t testi kullanılarak test edildi.

Tablo 37. Toplam varyasyon hesaplanması (22).

$$\frac{SDT^2 = SDA^2 + SDB^2}{CVT^2 = CVA^2 + CVB^2} \quad \text{veya} \quad \frac{SDT = (SDA^2 + SDB^2)^{1/2}}{CVT = (CVA^2 + CVB^2)^{1/2}}$$

SD_A: Analitik varyasyon SD_B: Biyolojik varyasyon Toplam varyasyon: SD_T

Tablo 38. Biyolojik varyasyon açısından analitik kalite hedefleri (22).

	Minimum	Arzu Edilen	Optimum
CVA	CVA < 0.75 x CVI	CVA < 0.5.x CVI	CVA < 0.25 x CVI
B	BA < 0.375x (CVI ² +CVG ²) ^{1/2}	BA < 0.25x (CVI ² +CVG ²) ^{1/2}	BA < 0.125x (CVI ² +CVG ²) ^{1/2}
TEa	TEa < 0.375(CVI ² +CVG ²) ^{1/2}	TEa < 0.375(CVI ² +CVG ²) ^{1/2}	TEa < 0.375(CVI ² +CVG ²) ^{1/2}

CVA: analitik varyasyon B:bias TEa: total izin verilebilir hata

3. Analitik Varyasyon

Analitik varyasyon verileri tüm testler için çift çalışılan numune sonuçlarının ortalamalarından hesaplanmış olup tablo 7 de gösterilmiştir.

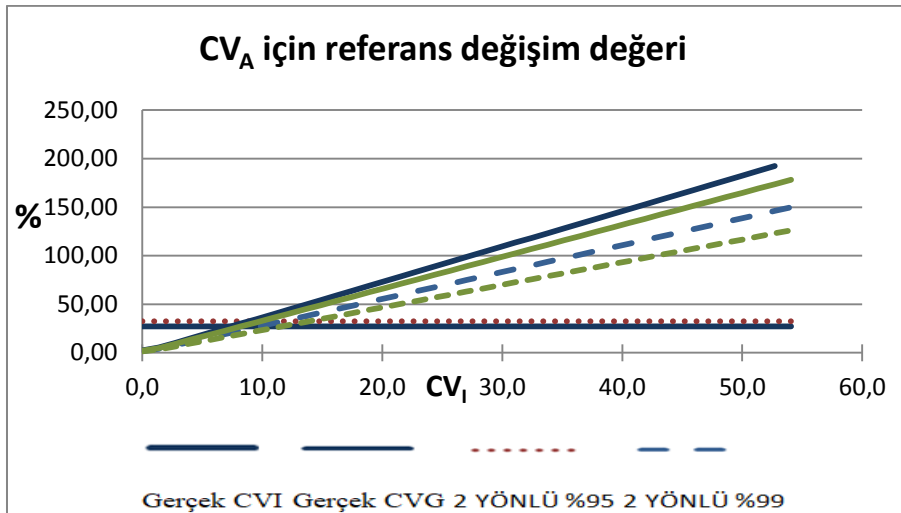
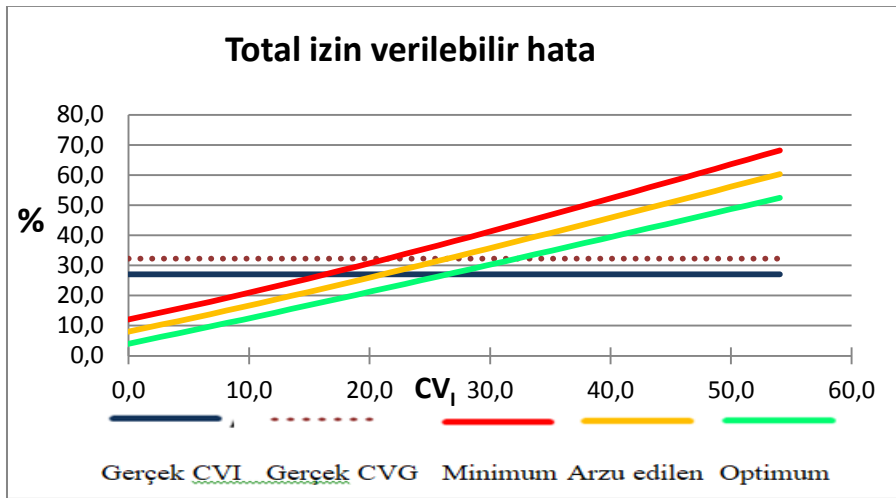
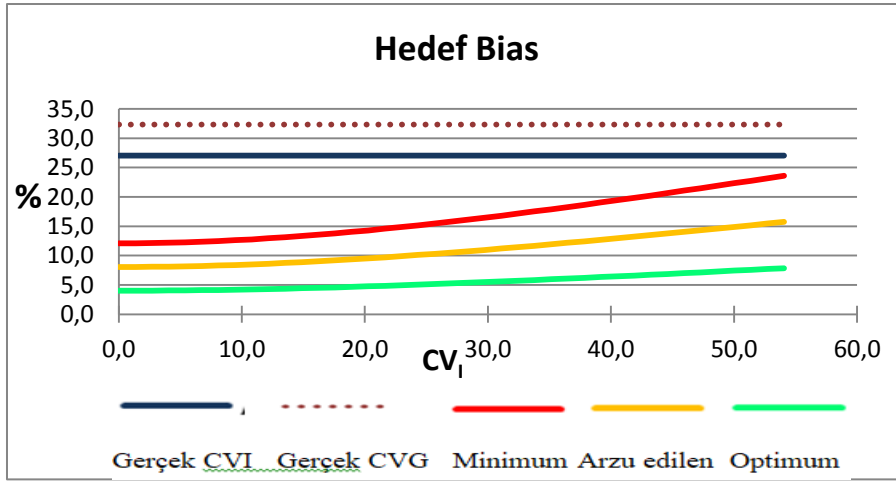
Tablo 39. BV çalışma parametrelerinin aynı analitik çalışmadaki iç kalite kontrol verileri

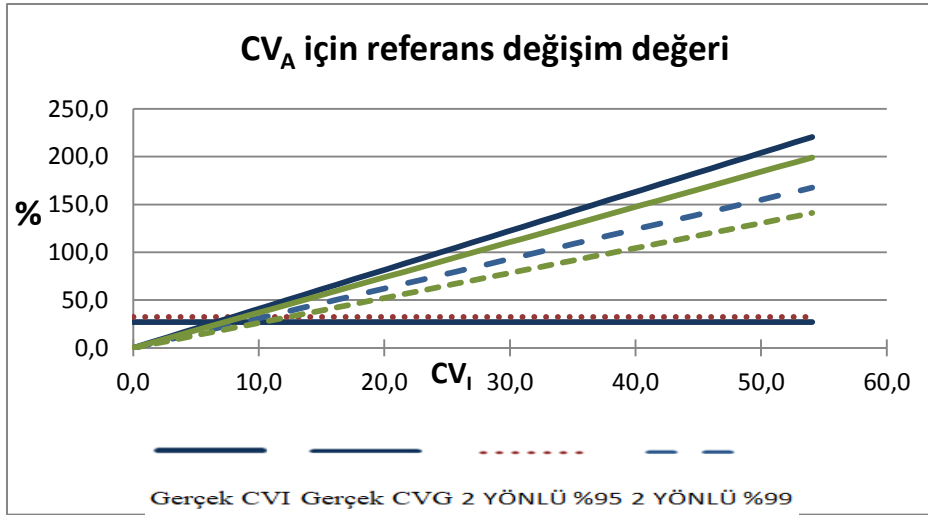
	DEMİR	TRANSFERRİN	FERRİTİN:	FOLAT	D VİTAMİNİ	B12 VİTAMİNİ
1.SEVİYE	92	2,07	29,02	2,8	15,9	220
1.SEVİYE	94	2,08	29,82	3	17,8	263
2.SEVİYE	116	2,67	171,24	6,3	20,9	533
2.SEVİYE	116	2,7	171,54	6,9	21,3	513
3.SEVİYE			316,07	14,5	39	960
3.SEVİYE			324,29	14,7	40,4	956

*Demir ve Transferrin kontrol numuneleri 2 Seviye; Ferritin, Folat, 25-OH D vitamini, B12 vitamini 3 Seviye olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 40. Demir Transferrin Ferritin Folat Vitamin B12 25-OH Vitamin D analitlerinin CVA, CVI ve CVG sonuçları

Analit	Cinsiyet	Denek (n)	Numune (n)	N° Numune	N° Tekrar	Ortalama	CV _A (%)	CV _I (%)	CV _G (%)
Demir	M	10	100	5.00	2.00	92.7 (86.4-100.0)	0.63 (0.53-0.78)	22.03 (18.08-28.18)	21.23 (12.44-41.59)
	F	11	109	5.00	1.96	67.8 (60.5-70.1)	0.72 (0.61-0.89)	33.8 (28.0-42.8)	37.9 (23.8-69.9)
	All	21	209	5.00	1.98	79.7 (74.5-84.9)	0.67 (0.59-0.78)	27.3 (23.7-32.2)	32.3 (23.2-48.2)
Transferrin	M	10	100	5.00	2.00	2.62 (2.56 – 2.69)	0.67 (0.56-0.84)	3.12 (2.55-4.01)	10.47 (7.12-19.22)
	F	11	110	5.00	2.00	2.63 (2.56– 2.69)	0.79 (0.66-0.97)	3.88 (3.19-4.91)	10.72 (7.38-18.99)
	All	21	203	4.95	1.91	2.62 (2.57-2.67)	0.62 (0.54-0.72)	3.60 (3.10-4.24)	10.24 (7.84-15.03)
Ferritin	M	10	95	4.80	1.96	105.6 (90.89 – 120.3)	2.54 (2.12-3.19)	8.02 (6.43-10.39)	62.0 (44.6-118.8)
	F	10	92	4.60	2.00	25.4 (19.8 – 31.0)	2.80 (2.33-3.52)	10.12 (8.14-13.24)	97.0 (77.7-206.5)
	All	20	165	4.25	1.89	58.7 (48.0 – 69.3)	2.27(1.96– 2.68)	6.21(5.17-7.5)	105.6(86.6-166.4)
Folat	M	10	100	5.00	2.00	5.46 (5.12– 5.81)	5.23 (4.38-6.51)	13.92 (11.21-18.05)	24.5 (16.1-45.7)
	F	11	108	4.91	2.00	7.55 (7.16 – 7.94)	4.27 (3.59-5.26)	9.44 (7.59-12.19)	22.27 (15.35-39.93)
	All	21	204	4.86	2.00	6.54 (6.23-6.85)	4.71 (4.14-5.46)	10.3 (8.77-12.37)	28.56 (22.27-42.79)
B12	M	10	98	4.90	2.00	279 (260-298)	6.12 (5.11-7.62)	4.87 (2.54–7.19)	30.4 (20.6–55.1)
	F	11	108	4,91	2.00	251 (230 - 272)	6.22 (5.23-7.66)	5,75 (3.70-8.07)	38.9 (28.9-73.0)
	All	21	207	4,95	1.98	267 (252-281)	6.16 (5.42–7.13)	5.77 (4.41-7.44)	34.6 (26.3-49.9)
VitD	M	10	92	4.60	2.00	14.2 (12.7-15.8)	3.75 (3.12-4.71)	10.1 (8.06-13.3)	47.2 (40.0-106.9)
	F	11	100	4.55	2.00	15.2 (13.1-17.3)	3.05 (2.55-3.79)	7.96 (6.39-10.36)	62.8 (48.1-121.2)
	All	21	188	4.48	2.00	14.6 (13.3-15.7)	3.44 (3.01-4.01)	8.21 (6.95-9.93)	54.9 (49.9-94.5)





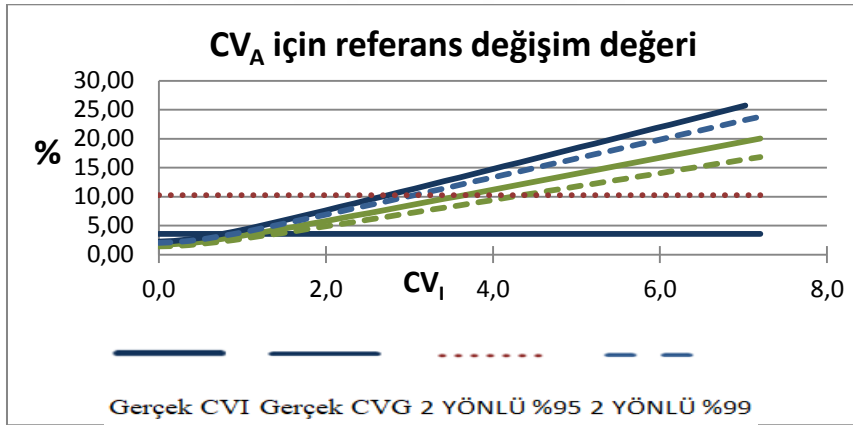
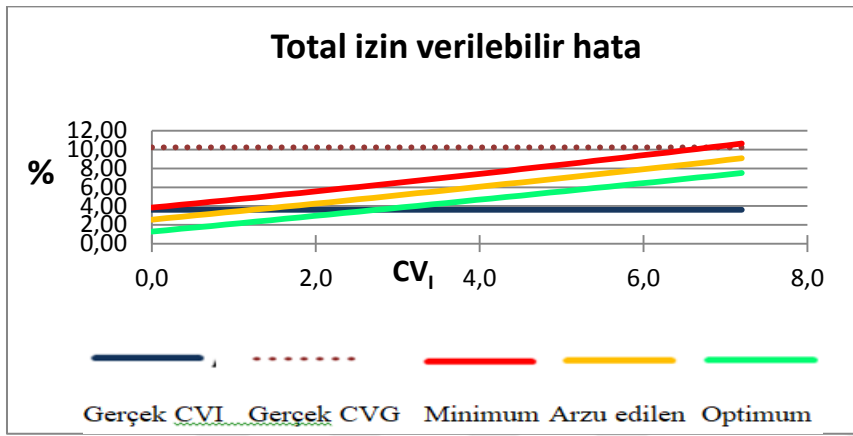
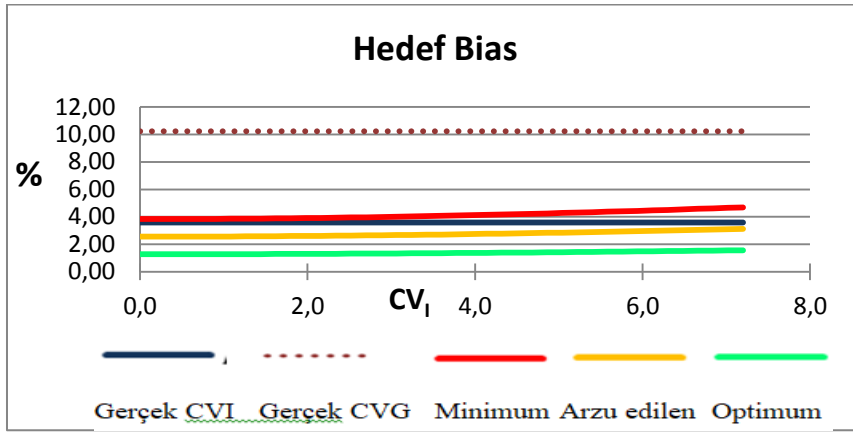
Şekil 10. Demir Tüm bireylere ait Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL}

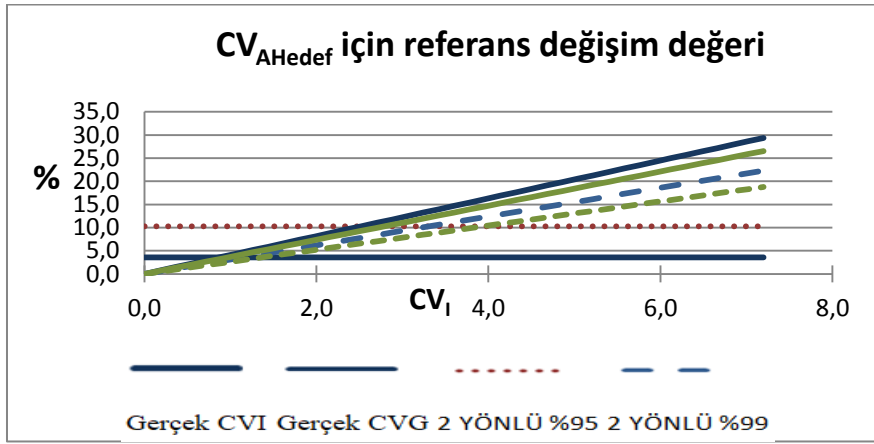
Tablo 41,42. Demir Tüm bireylere ait özet tablo

% Gerçek CVA	CV _i	CV _{hedef}	RCV		B	TE _A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	1,4	0,7	4,1	5,4	8,1	9,2	0	0
25	6,8	3,4	18,8	24,8	8,2	13,8	7	2
50	13,5	6,8	37,5	49,4	8,8	19,9	28	7
75	20,3	10,1	56,2	74,0	9,5	26,3	63	16
100	27,0	13,5	74,9	98,7	10,5	32,8	112	28
125	33,8	16,9	93,7	123,3	11,7	39,6	175	44
150	40,5	20,3	112,4	148,0	13,0	46,4	253	63
175	47,3	23,7	131,1	172,6	14,3	53,3	344	86
195	52,7	26,4	146,1	192,3	15,5	58,9	427	107

% Gerçek CVA	CV _i	CV _{hedef}	RCV		B	TE _A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	1,4	0,7	4,2	5,5	8,1	9,2	0	0
25	6,8	3,4	20,9	27,6	8,2	13,8	9	2
50	13,5	6,8	41,9	55,1	8,8	19,9	35	9
75	20,3	10,1	62,8	82,7	9,5	26,3	79	20
100,0	27,0	13,5	83,8	110,3	10,5	32,8	140	35
125	33,8	16,9	104,7	137,8	11,7	39,6	219	55
150	40,5	20,3	125,7	165,4	13,0	46,4	316	79
175	47,3	23,7	146,6	193,0	14,3	53,3	430	107
195	52,7	26,4	163,3	215,0	15,5	58,9	534	133

Ölçülen ve hedef CVA değerlerinde ‘arzu edilen’ Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL} gerekli numune sayısı





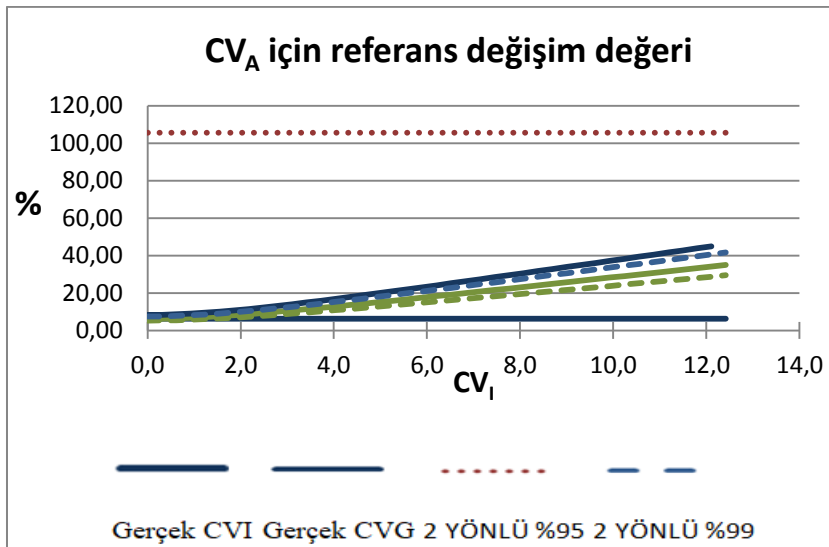
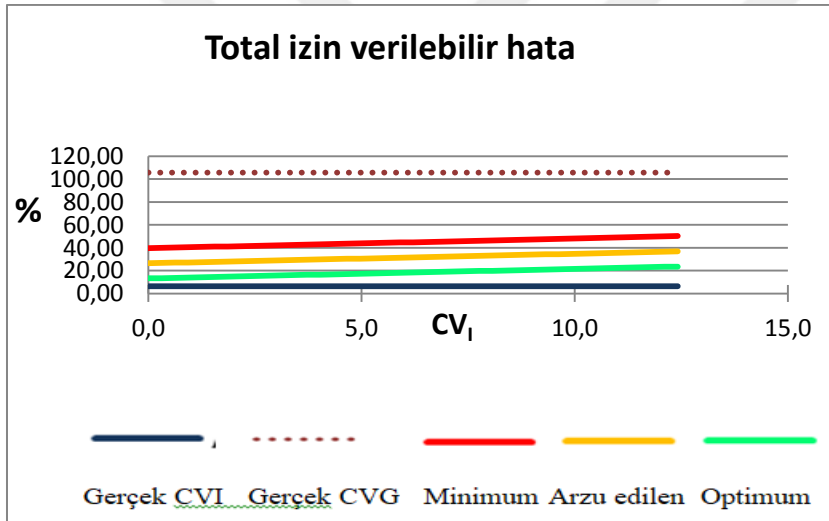
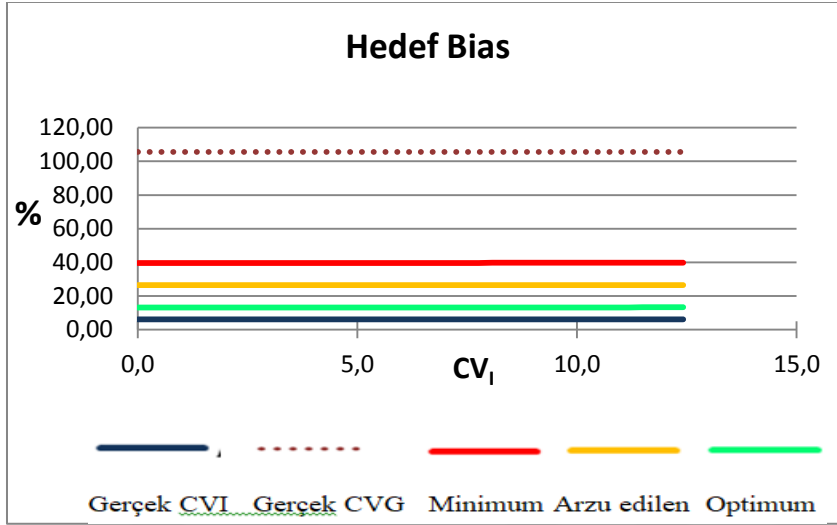
Şekil 11. Transferrin Tüm bireylere ait Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL}

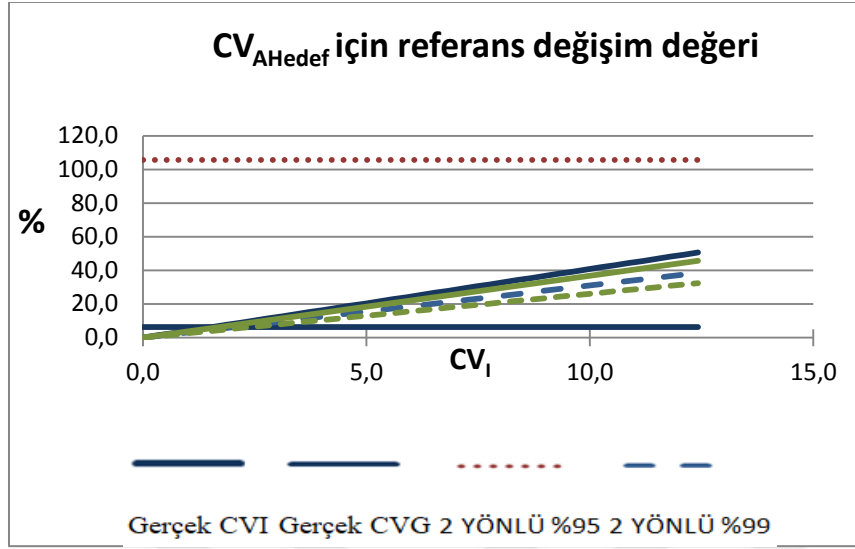
Tablo 43,44. Transferrin Tüm bireylere ait özet tablo

% Gerçek CVA	CV_I	CV_{hedef}	RCV		B_A	TE_A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,2	0,1	1,8	2,4	2,6	2,7	0	0
25	0,9	0,5	3,0	4,0	2,6	3,3	0	0
50	1,8	0,9	5,3	6,9	2,6	4,1	1	0
75	2,7	1,4	7,7	10,1	2,6	4,9	1	0
100	3,6	1,8	10,1	13,3	2,7	5,7	2	1
125	4,5	2,3	12,6	16,6	2,8	6,5	3	1
150	5,4	2,7	15,1	19,8	2,9	7,3	5	1
175	6,3	3,2	17,5	23,1	3,0	8,2	6	2
195	7,0	3,5	19,5	25,7	3,1	8,9	8	2

% Gerçek CVA	CV_I	CV_{hedef}	RCV		B_A	TE_A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,2	0,1	0,6	0,7	2,6	2,7	0	0
25	0,9	0,5	2,8	3,7	2,6	3,3	0	0
50	1,8	0,9	5,6	7,3	2,6	4,1	1	0
75	2,7	1,4	8,4	11,0	2,6	4,9	1	0
100,0	3,6	1,8	11,2	14,7	2,7	5,7	2	1
125	4,5	2,3	13,9	18,4	2,8	6,5	4	1
150	5,4	2,7	16,7	22,0	2,9	7,3	6	1
175	6,3	3,2	19,5	25,7	3,0	8,2	8	2
195	7,0	3,5	21,8	28,6	3,1	8,9	9	2

Ölçülen ve hedef CVA değerlerinde 'arzu edilen' Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL} gerekli numune sayısı





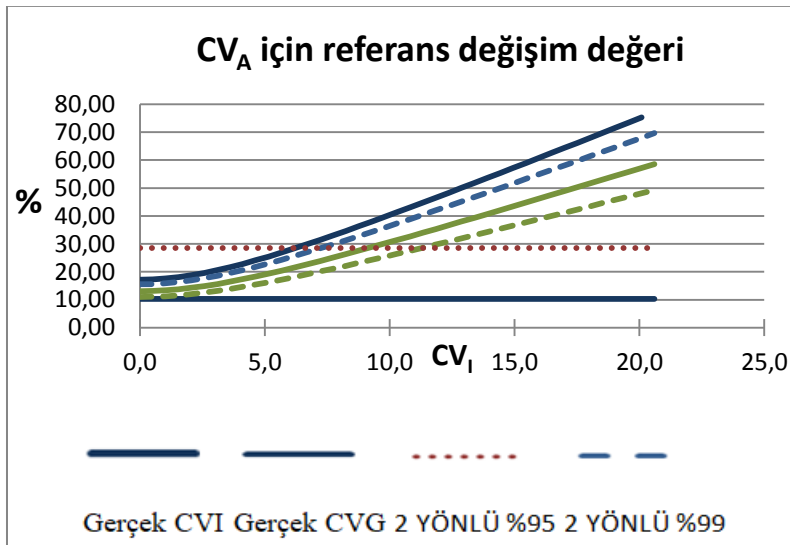
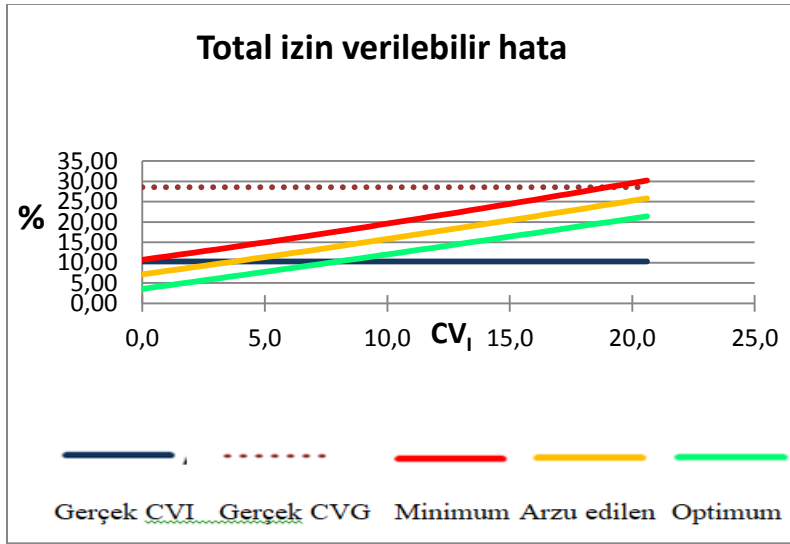
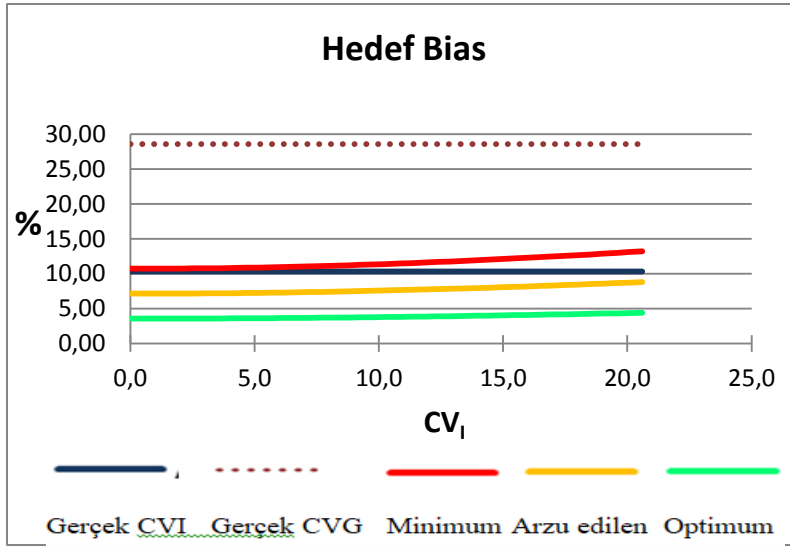
Şekil 12. Ferritin Tüm bireylere ait Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL}

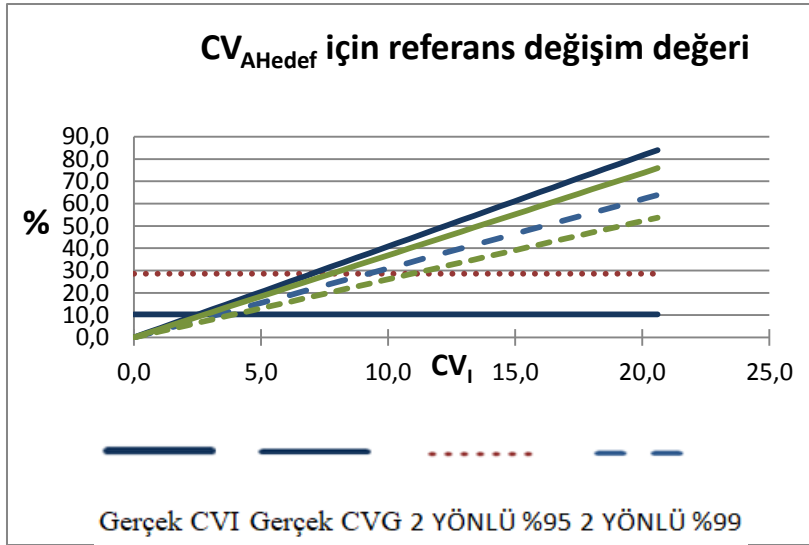
Tablo 45,46. Ferritin Tüm bireylere ait özet tablo

Gerçek CV_A	CV_I	CV_{hedef}	RCV		B_A	TE_A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,3	0,2	6,4	8,4	26,4	26,7	1	0
25	1,6	0,8	7,6	10,0	26,4	27,7	1	0
50	3,1	1,6	10,7	14,0	26,4	29,0	2	1
75	4,7	2,3	14,4	18,9	26,4	30,3	4	1
100	6,2	3,1	18,3	24,1	26,4	31,6	7	2
125	7,8	3,9	22,4	29,5	26,5	32,9	10	3
150	9,3	4,7	26,6	35,0	26,5	34,2	14	4
175	10,9	5,4	30,8	40,5	26,5	35,5	19	5
195	12,1	6,1	34,2	45,0	26,6	36,6	23	6

Gerçek CV_A	CV_I	CV_{hedef}	RCV		B_A	TE_A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,3	0,2	1,0	1,3	26,4	26,7	0	0
25	1,6	0,8	4,8	6,3	26,4	27,7	0	0
50	3,1	1,6	9,6	12,7	26,4	29,0	2	0
75	4,7	2,3	14,4	19,0	26,4	30,3	4	1
100,0	6,2	3,1	19,2	25,3	26,4	31,6	7	2
125	7,8	3,9	24,1	31,7	26,5	32,9	12	3
150	9,3	4,7	28,9	38,0	26,5	34,2	17	4
175	10,9	5,4	33,7	44,3	26,5	35,5	23	6
195	12,1	6,1	37,5	49,4	26,6	36,6	28	7

Ölçülen ve hedef CVA değerlerinde 'arzu edilen' Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL} gerekli numune sayısı





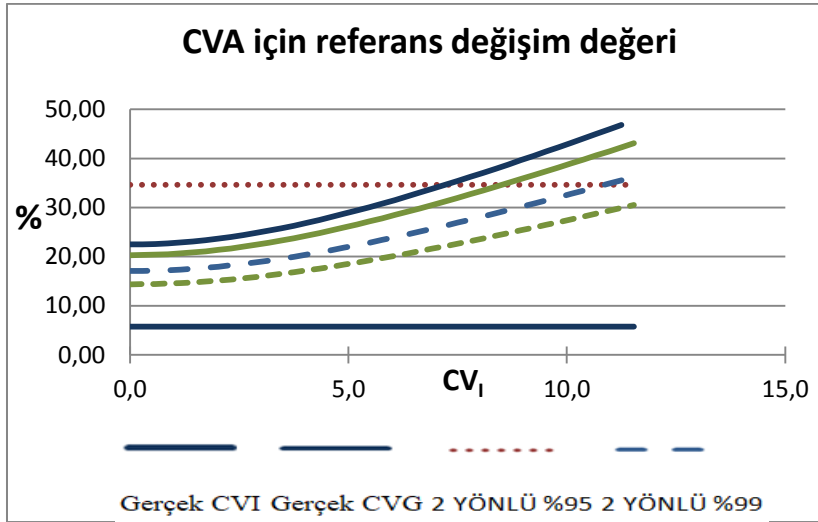
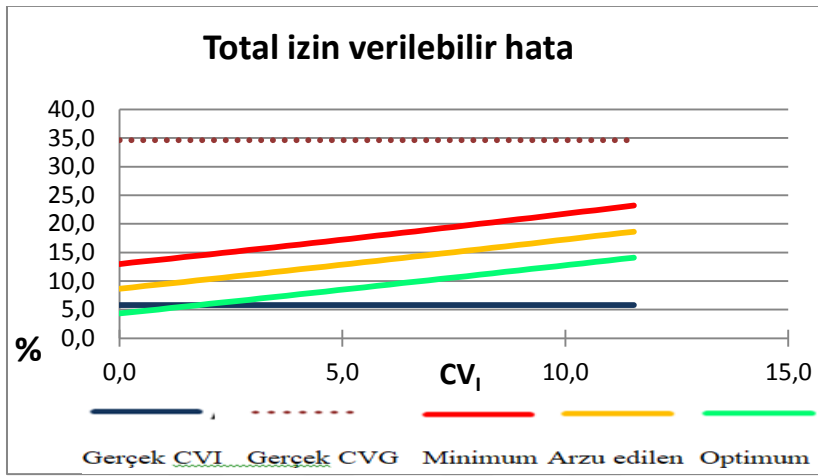
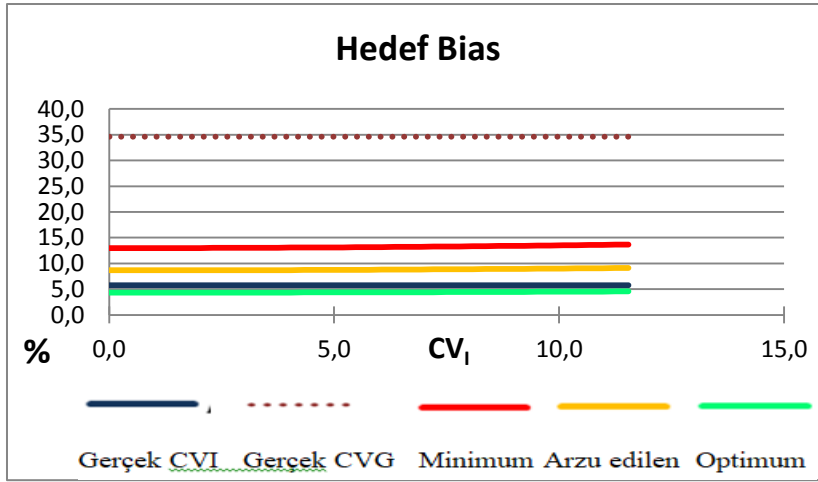
Şekil 13. Folat Tüm bireylere ait Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL}

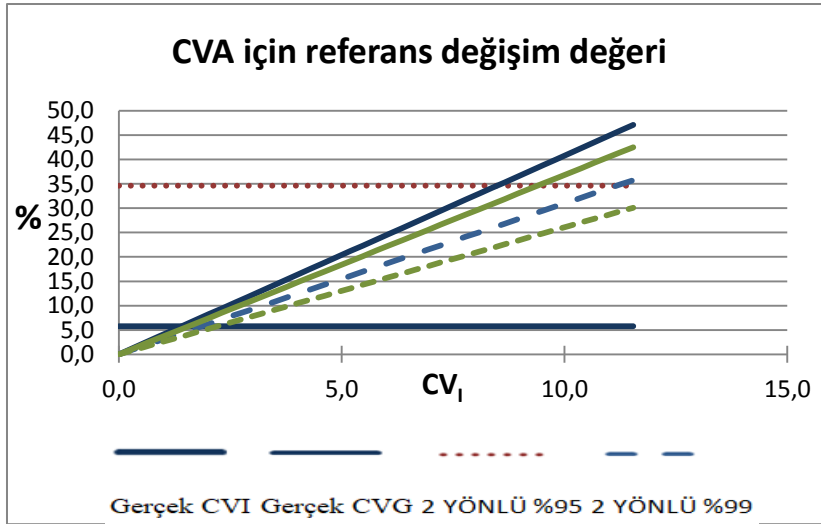
Tablo 47,48. Folat Tüm bireylere ait özet tablo

Gerçek CV _A	CV _I	CV _{hedef}	RCV		B _A	TE _A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,5	0,3	13,1	17,3	7,1	7,6	3	1
25	2,6	1,3	14,9	19,6	7,2	9,3	4	1
50	5,2	2,6	19,3	25,5	7,3	11,5	7	2
75	7,7	3,9	25,1	33,0	7,4	13,8	13	3
100	10,3	5,2	31,4	41,3	7,6	16,1	20	5
125	12,9	6,4	38,0	50,0	7,8	18,5	29	7
150	15,5	7,7	44,8	58,9	8,1	20,9	40	10
175	18,0	9,0	51,6	68,0	8,4	23,3	53	13
195	20,1	10,0	57,2	75,3	8,7	25,3	65	16

Gerçek CV _A	CV _I	CV _{hedef}	RCV		B _A	TE _A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,5	0,3	1,6	2,1	7,1	7,6	0	0
25	2,6	1,3	8,0	10,5	7,2	9,3	1	0
50	5,2	2,6	16,0	21,0	7,3	11,5	5	1
75	7,7	3,9	23,9	31,5	7,4	13,8	11	3
100,0	10,3	5,2	31,9	42,0	7,6	16,1	20	5
125	12,9	6,4	39,9	52,5	7,8	18,5	32	8
150	15,5	7,7	47,9	63,0	8,1	20,9	46	11
175	18,0	9,0	55,9	73,5	8,4	23,3	62	16
195	20,1	10,0	62,2	81,9	8,7	25,3	77	19

Ölçülen ve hedef CVA değerlerinde 'arzu edilen' Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL} gerekli numune sayısı





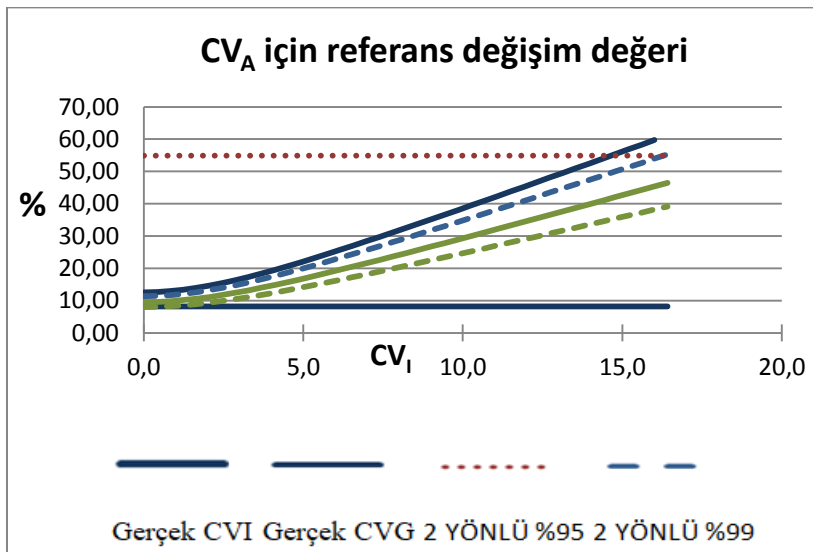
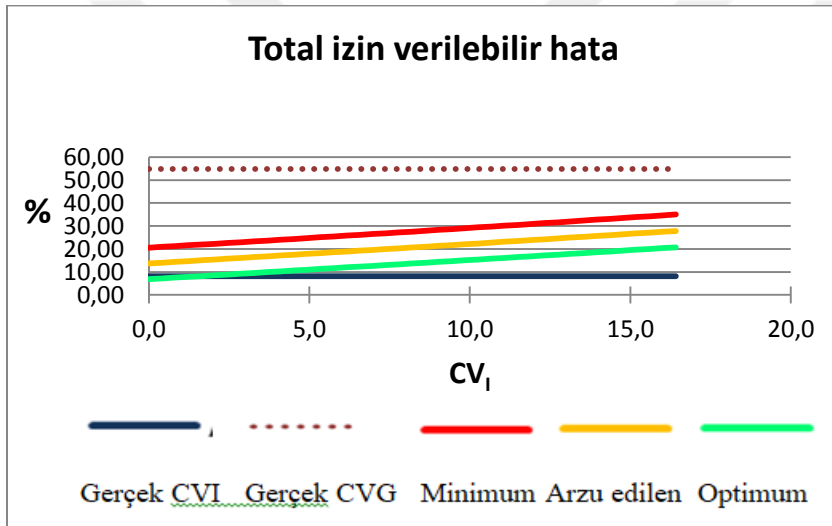
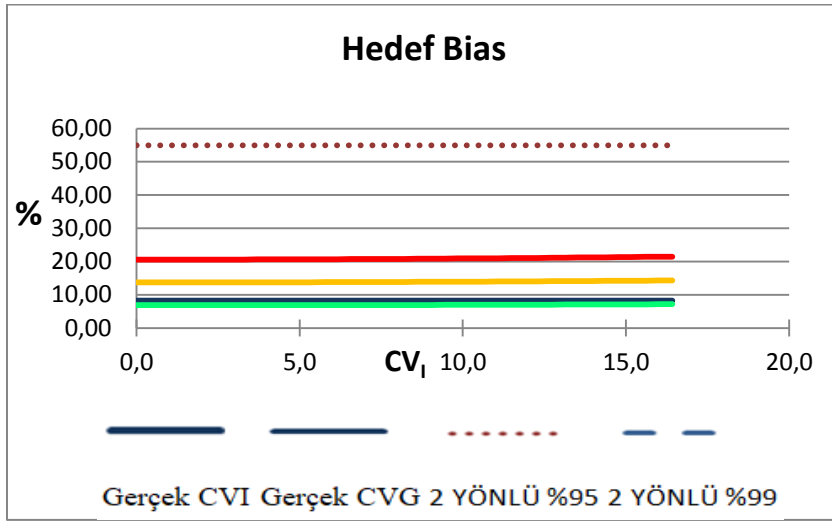
Şekil 14. Vitamin B12 Tüm bireylere ait Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL}

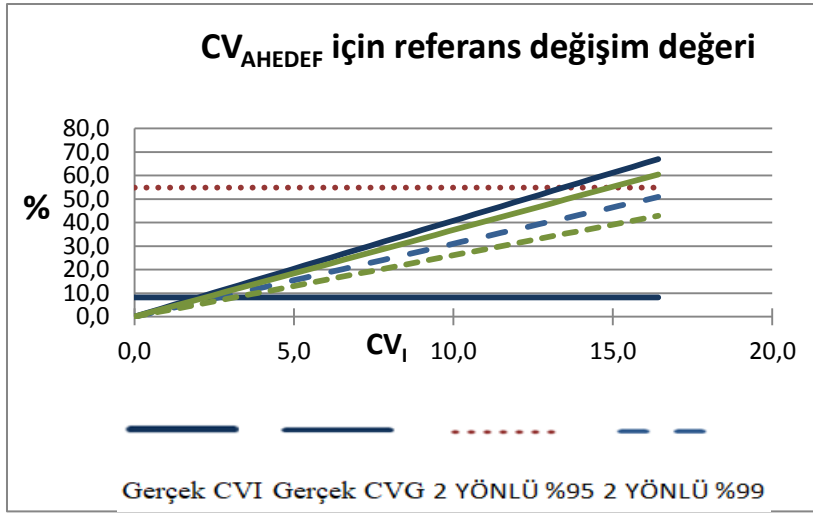
Tablo 49,50. Vitamin B12 Tüm bireylere ait özet tablo

Gerçek CV_A	CV_I	CV_{hedef}	RCV		B_A	TE_A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,3	0,1	17,1	22,5	8,7	8,9	6	1
25	1,4	0,7	17,5	23,1	8,7	9,8	6	2
50	2,9	1,4	18,9	24,8	8,7	11,1	7	2
75	4,3	2,2	20,9	27,5	8,7	12,3	9	2
100	5,8	2,9	23,4	30,8	8,8	13,5	11	3
125	7,2	3,6	26,3	34,6	8,8	14,8	14	3
150	8,7	4,3	29,4	38,8	8,9	16,1	17	4
175	10,1	5,0	32,8	43,2	9,0	17,3	21	5
195	11,3	5,6	35,6	46,8	9,1	18,4	25	6

Gerçek CV_A	CV_I	CV_{hedef}	RCV		B_A	TE_A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,3	0,1	0,9	1,2	8,7	8,9	0	0
25	1,4	0,7	4,5	5,9	8,7	9,8	0	0
50	2,9	1,4	8,9	11,8	8,7	11,1	2	0
75	4,3	2,2	13,4	17,7	8,7	12,3	4	1
100,0	5,8	2,9	17,9	23,5	8,8	13,5	6	2
125	7,2	3,6	22,4	29,4	8,8	14,8	10	2
150	8,7	4,3	26,8	35,3	8,9	16,1	14	4
175	10,1	5,0	31,3	41,2	9,0	17,3	20	5
195	11,3	5,6	34,9	45,9	9,1	18,4	24	6

Ölçülen ve hedef CVA değerlerinde 'arzu edilen' Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL} gerekli numune sayısı





Şekil 15. 25-hidroksi Vitamin D Tüm bireylere ait Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL}

Tablo 51,52. 25-hidroksi Vitamin D Tüm bireylere ait özet tablo

Gerçek CV _A	CV _I	CV _{hedef}	RCV		B _A	TE _A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,4	0,2	9,6	12,6	13,7	14,1	2	0
25	2,1	1,0	11,1	14,6	13,7	15,4	2	1
50	4,1	2,1	14,8	19,5	13,8	17,1	4	1
75	6,2	3,1	19,6	25,7	13,8	18,9	8	2
100	8,2	4,1	24,7	32,5	13,9	20,7	12	3
125	10,3	5,1	30,0	39,5	14,0	22,4	18	5
150	12,3	6,2	35,4	46,7	14,1	24,2	25	6
175	14,4	7,2	41,0	53,9	14,2	26,0	34	8
195	16,0	8,0	45,4	59,7	14,3	27,5	41	10

Gerçek CV _A	CV _I	CV _{hedef}	RCV		B _A	TE _A	Numune sayısı	
			0,95	0,99			5%	10%
5	0,4	0,2	1,3	1,7	13,7	14,1	0	0
25	2,1	1,0	6,4	8,4	13,7	15,4	1	0
50	4,1	2,1	12,7	16,7	13,8	17,1	3	1
75	6,2	3,1	19,1	25,1	13,8	18,9	7	2
100,0	8,2	4,1	25,4	33,5	13,9	20,7	13	3
125	10,3	5,1	31,8	41,9	14,0	22,4	20	5
150	12,3	6,2	38,2	50,2	14,1	24,2	29	7
175	14,4	7,2	44,5	58,6	14,2	26,0	40	10
195	16,0	8,0	49,6	65,3	14,3	27,5	49	12

Ölçülen ve hedef CVA değerlerinde ‘arzu edilen’ Bias, TAE, RCV_{CVA} RCV_{CVGOAL} gerekli numune sayısı

Tablo 53. Tüm analitlere ait RCV % değerleri

Referans değişim değeri RCV				
	2 yönlü		Tek yönlü	
	95%	99%	95%	99%
DEMİR	74,9	98,7	63,1	89,1
TRANSFERRİN	10,1	13,3	8,5	12
FERRİTİN	18,3	24,1	15,4	21,8
FOLAT	31,4	41,3	26,4	37,3
B12	23,4	30,8	19,7	27,8
D VİT	24,7	32,5	20,8	29,3

Tablo 54. Tüm analitlere ait (B) % değerleri

Bias (B) %			
	Minimum	Arzu edilen	Optimum
DEMİR	15,8	10,5	5,3
TRANSFERRİN	4,1	2,7	1,4
FERRİTİN	39,7	26,4	13,2
FOLAT	11,4	7,6	3,8
B12	13,2	8,8	4,4
D VİT	20,8	13,9	6,9

Tablo 55. Tüm analitlere ait (TEA)% değerleri

Total izin verilebilir hata (TE _A)%			
	Minimum	Arzu edilen	Optimum
DEMİR	38,1	32,8	27,6
TRANSFERRİN	7	5,7	4,3
FERRİTİN	44,8	31,6	18,3
B12	17,9	13,5	9,1
FOLAT	19,9	16,1	12,3
D VİT	27,6	20,7	13,7

Tablo 56. Tüm analitlere ait Bireysellik İndeksi (II) değerleri

Bireysellik İndeksi (II)	
DEMİR	0,8
TRANSFERRİN	0,4
FERRİTİN	0,1
FOLAT	0,4
B12	0.17
D VİT	0,1

Tablo 57. Tüm analitlere ait iki yöntem arasında izin verilen % fark

2 metod arasında izin verilebilen fark	
DEMİR	7,27
TRANSFERRİN	1,19
FERRİTİN	2,05
FOLAT	3,4
B12	1,9
D VİT	2,71

Tablo 58. Tüm analitlere ait impresizyon için hedef değer %

İmpresizyon için analitik hedef %	
DEMİR	11,01
TRANSFERRİN	1,8
FERRİTİN	3,10
FOLAT	5,15
B12	2,88
D VİT	4,10

TARTIŞMA-SONUÇ

Çeşitli biyokimyasal ve hematolojik biyolojik belirteçlerin konsantrasyonu, insanlarda çok sayıda hastalığın tarama ve teşhisi için değerlendirilmektedir. Çünkü bu değerler klinik karar vermenin %70'ine katkıda bulunabilmektedir (120).

Analitlerin test edilme sürecindeki en önemli sorunlardan biri biyolojik değişkenlik olmakla birlikte biyolojik değişkenliğin test sonuçlarının yorumlanması üzerinde de önemli bir etkisi bulunmaktadır (120,121).

Klinik laboratuvarın ilgi alanındaki birçok analit, yaşlanma süreci içerisinde yer alan doğal biyolojik faktörlerden dolayı, bireyin yaşamı boyunca değişebilmektedir. Bu varyasyonlar, yenidoğan, çocukluk, ergenlik, menopoz veya yaşlılık dönemi gibi yaşam döngüsündeki kritik noktalarda hızla ortaya çıkabilmektedir (122).

Aynı bireyden farklı zamanlarda, ya da farklı bireylerden aynı zamanda alınan numunelerdeki analit konsantrasyonları arasındaki farkın temel olarak iki kaynağı vardır; analitik varyasyon ve biyolojik varyasyon (123).

Biyolojik varyasyonun en önemli parçası random/rasgele biyolojik varyasyondur. Random biyolojik varyasyon bireyler-arası biyolojik varyasyon (CV_G) ve birey-içi biyolojik varyasyon (CV_I) olmak üzere iki bileşenden oluşmaktadır (124).

Birçok faktör CVI hesaplamasını etkileyebilmekte ve bu durum herhangi bir analit için belirlenen CVI için bulunan geniş aralıkları yansıtabilmektedir. Yapılan ölçümlerin sayısı, frekansı, süresi ve toplam değerlendirilen kişi sayısı, belirlenen ortalama CVI belirlenmesini etkileyebilmektedir. Örneğin, prostat spesifik antijen (PSA), CVI % 2.1 ile % 22.9 arasında değişmektedir. (125)

Ricos ve ark. (126) çalışmalarında önemli değişiklikleri önceden saptayabilmek amacıyla, RCV'nin hesaplanmasında kullanılan CVI'nın spesifik hastalığa sahip bireylerde de belirlenmesinin daha uygun olacağını ifade etmişlerdir..

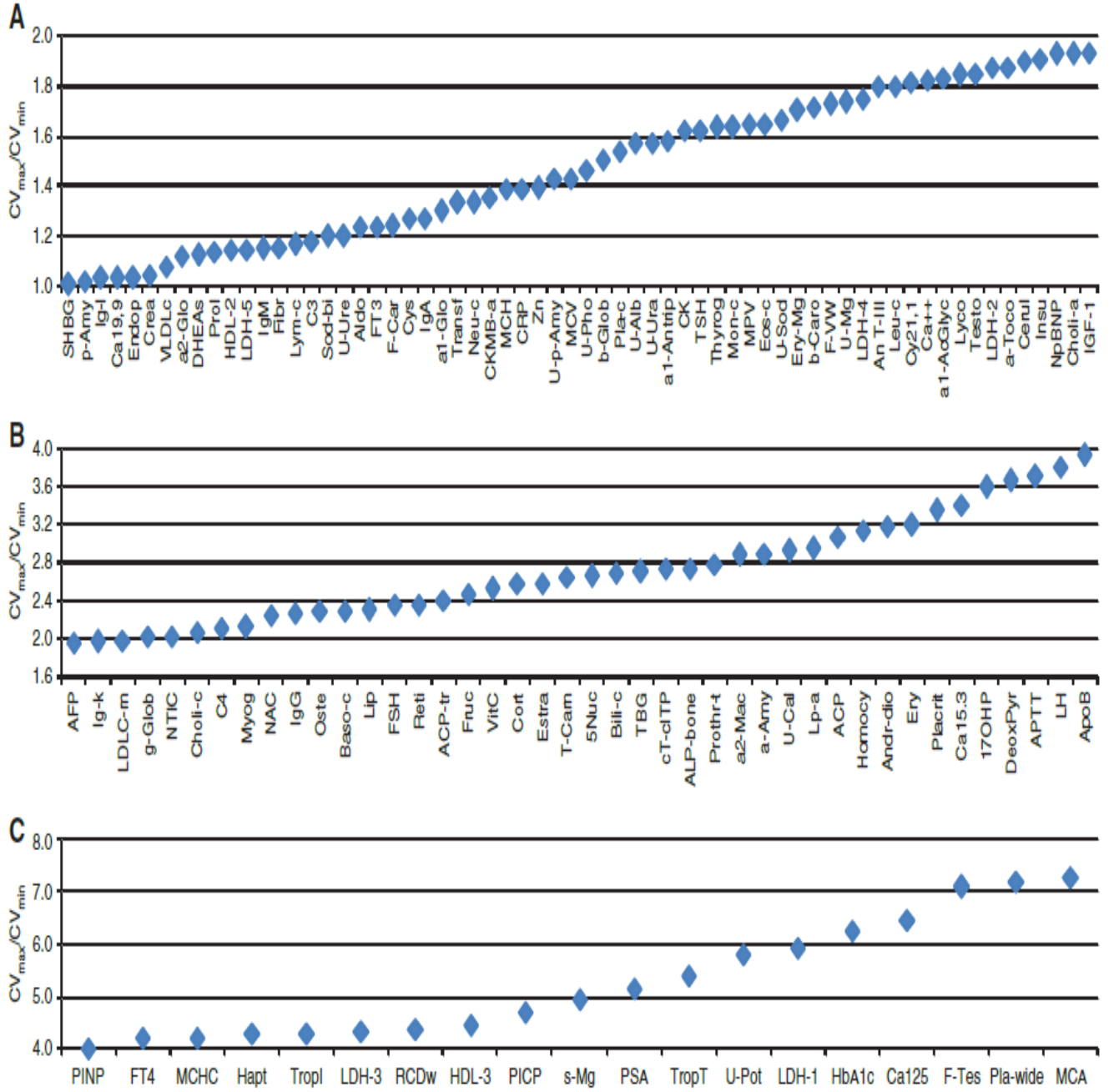
CV_G ve CV_I değerlerinin tespit edilmesi ile RCV ve (II) hesaplanabilir. RCV, bir bireyden farklı zamanlarda elde edilen örneklerin seri ölçümleri yapıldıktan sonra elde edilen değerlerin tamamı referans aralığının içinde ya da dışında olsa bile her bir değer arasındaki farklılığın klinik açıdan öneme sahip olup olmadığının belirlenmesinde kullanılmaktadır (127). II ise nüfusa dayalı referans aralığının uygunluğunun tespiti için kullanılmaktadır. BI , CV_I/CV_G oranı ile hesaplanmaktadır ve bu oran 1'den büyük ise konsantrasyonu tespit edilen analitin yorumlanmasında nüfusa dayalı referans aralığının kullanılması önerilmektedir II'nin 1'den düşük olduğu durumlarda ise RCV'nin kullanımı daha uygun olabileceği önerilmektedir (128,129).

II >1.4 olması durumu, analitin düşük bireyselliğe sahip olduğunu göstermektedir. İndeks değeri 1.4'ten büyük analitler (örneğin; demir ve potasyum) için popülasyona dayalı RA kullanımının uygun olacağı belirtilmektedir. 0.6'nın altında indeks değerine sahip analitlerin (örneğin; üre, kreatinin, ALP) ise yüksek oranda bireysellik göstermesi nedeniyle anlamlı kabul edilen değişikliklerin belirlenmesinde, popülasyona dayalı RA'lar yerine bireye dayalı RA veya RCV değerlendirmeleri kullanımının daha yararlı olacağı vurgulanmaktadır. 0.6 > II > 1.4 olması halinde ise popülasyona dayalı RA'nın dikkatli kullanılması önerilmektedir (130).

BV'nin türetilmesindeki zorluklar ve önemli zaman ve kaynak gerektirmesi, BV veri tabanını ihtiyacını ortaya koymaktadır ve bu amaçla, bazı araştırmacılar tarafından veriler derlenmiş olup çeşitli kaynaklarda kullanıma sunulmaktadır (131-133).

Yayınlanan makaleler, çalışma dizaynları ve sunum açısından değişen kalitede olabilmekte bu da, BV verilerinde yüksek belirsizlik ve veri tabanında yer alan analitler için

hesaplanmış CVI değerlerinin yayınlar arasındaki farklılık oranları şekil 1 de gösterilmektedir



Şekil 16. Yayın sayısı 2-9 arasında belgelenen her bir analit için maksimum (CVI_{max}) ve minimum (CVI_{min}) CVI arasındaki oran.

(A) CV_{max} / CV_{min} 1-2 arasında olan analitler.

(B) CV_{max} / CV_{min} 2-4 arasında olan analitler.

(C) CV_{max} / CV_{min} ile 5-7 arasında olan analitler.

Bu, incelenen analitlerin % 86'sı için CVI değerlerinin dağılımının genellikle oldukça küçük olduğunu ve yayınlar arasındaki bu farklılığın önemli olmadığı fikri ileri sürülmektedir (134).

Tahmin edilen CVI'nın sağlamlığının daha az olduğu düşünülen, Şekil 1'de gösterilmeyen dört istisna (idrar proteinleri, serum C-peptid, bakır ve ferritin, oranlar % 11 ile 44 arasında vardır (134).

BV'e ait verileri tanımlamak için standart olmayan terminoloji kullanımı da yaygın bir problem olarak görünmektedir. Literatürdeki verilerin güvenilirliğinin objektif olarak değerlendirilmesine dayanan ve düzenli olarak güncellenen, her bir analit için bir değer veren bir veri tabanının yayınlanmasının önemli yararı olacağı BV verilerini kullanacak laboratuvarlar açısından anlamlı ve faydalı bir gerçektir (135).

İlk olarak 1999 yılında Ricos ve ark. tarafından derlenmiş ve bu konuyla ilgili her iki yılda bir güncellenen bir veri tabanı bulunmaktadır (136). Veri tabanının güncelleştirilmesi en son 2012 yılında yaklaşık üç yüz altmış analit için yapılmış şu anki mevcut veri tabanı, 8. basım olarak kullanıma sunulmuş olup sonraki güncellemeler EFLM tarafından sunulacağı belirtilmektedir (137,138).

En son güncelleme ile, kırk beş yeni analit için BV'e ait veriler güncellemeye dahil edilmiş olup serum, plazma, idrar ve tükürükte belirlenen analit verilerine ve referans makalelerine (<http://www.westgard.com/biodatabase-2012-update.htm>) belirtilen adresten ulaşılabilir (139).

Böylece pek çok ortak test için bu bilgilere hali hazırda sunulan veri tabanlarından ulaşabilmek, laboratuvar kullanımı için daha kolay hale gelmektedir. Bununla birlikte bu yönde daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu da bir gerçek olarak belirtilmektedir. Örneğin biyolojik varyasyonları henüz veri tabanında yer almayan serum vitamin B12 ve 25-OH vitamin D gibi hesaplanmamış olan yüzlerce analit bulunmaktadır. İleride yapılacak olan çalışmalarda bu özel testlere odaklanmak gerekmektedir.

BV veritabanının sekizinci baskısına dahil edilen toplam 358 analitten 202'sine ait veriler tek bir yayından, 129'u için 2 ile 9 yayından, 27'si için ise on veya daha fazla yayından bulunmakta olup, bu basımdaki bir analit için yayımlanan maksimum yayın sayısı kırk altı yayın ile serum total kolesterol düzeyi için verilmektedir (134).

2012 yılında yapılan son güncellemede (139) çalışmamızda yer alan analitlerden serum Demir için 11; serum karbohidrat eksik transferrin için 1; serum Transferrin için 3; serum Ferritin için 6; kan eritrosit folatı için 1 ve serum folatı için 1; kan eritrosit vitamin B12 için 1 yayın bulunmakta ve serum vitamin B12 ve serum 25-OH D Vitamini için yayın bulunmamaktadır.

Çalışmamızda biyolojik varyasyon verilerini belirlemek amacıyla 10 erkek 11 kadın sağlıklı gönüllüden 0.1.7.14.28. günlerde aldığımız kan numunelerinden elde edilen serumlardan, tek bir analitik oturumda demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH D vitamini analitleri çift çalışılarak değerler elde edildi.

Ferritin için 20 birey, 5'er serum 2'şer kez çalışılmak üzere toplamda 200; diğer analitler için 21 birey 5'er serum 2'şer kez çalışılarak 210 test sonucu elde edildi.

Veritabanında yer alan yayınların ortalama CVI ve CVG değerleri ile B, I ve TEa için kalite spesifikasyonları ile çalışmamızda elde ettiğimiz değerlere ait karşılaştırmalar tablo 1,2,3,4'de gösterilmektedir.

Tablo 59. Serum demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH D vitamini analitlerinin CVI değerleri ile BV veri tabanı değerleri ile karşılaştırılması

CVI						
ANALİT	BV veri tabanı *	BV veri tabanı **	BV veri tabanı ***	Erkek	Kadın	Tüm bireyler
DEMİR	-	26.5	26.5	22,03	33,8	27,3
TRANSFERRİN	3.0	3.0	-	3,12	3,88	3,6
FERRİTİN	-	14.2	14.2	8,02	10,12	6,21
FOLAT	-	24.0	24.0	13,92	9,44	10,3
B12	-	15.0	-	4,87	5,75	5,77
D VİT	-	-	-	10,1	7,96	8,21

Tablo 60. Serum demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH D vitamini analitlerinin CVG değerleri ile BV veri tabanı değerleri ile karşılaştırılması

CVG						
ANALİT	BV database*	BV database**	BV database***	Erkek	Kadın	Tüm bireyler
DEMİR	-	23.2	23.2	21,23	37,9	32,3
TRANSFERRİN	4.3	4.3	-	10,47	10,72	10,24
FERRİTİN	-	15.0	15.0	62	97	105
FOLAT	-	73.0	73.0	24,5	22,27	28,56
B12	-	69.0	-	30,4	38,9	34,6
D VİT	-	-	-	47,2	62,8	54,9

Tablo 61. Serum demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH D vitamini analitlerinin CVA değerleri ile BV veri tabanı değerleri ile karşılaştırılması

CVA						
ANALİT	BV database*	BV database**	BV database***	Erkek	Kadın	Tüm bireyler
DEMİR	-	13.3	6.6	0,63	0,72	0,67
TRANSFERRİN	2.3	1.5	-	0,67	0,79	0,62
FERRİTİN	-	7.1	3.6	2,54	2,8	2,27
FOLAT	-	12.0	6.0	5,23	4,27	4,71
B12	-	7.5	-	6,12	6,22	6,16
D VİT	-	-	-	3,75	3,05	3,44

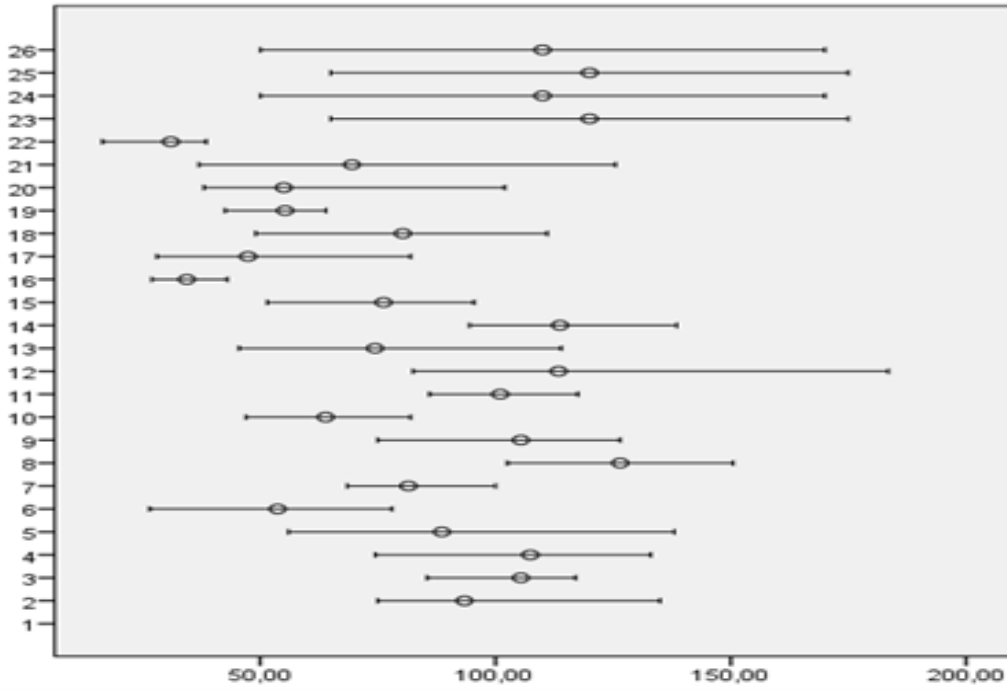
Tablo 62. Serum demir, transferrin, ferritin, folat, vitamin B12 ve 25-OH D vitamini analitlerinin bias ve total izin verilebilir hata değerleri ile BV veri tabanı değerleri ile karşılaştırılması

BİAS VE TEA												
ANALİT	BV database*		BV database**		BV database***		Minimum		Arzu edilen		Optimum	
	Bias	Tea	Bias	Tea	Bias	Tea	Bias	Tea	Bias	Tea	Bias	Tea
DEMİR	-	-	8.8	30.7	4.4	15.3	15,8	38,1	10,5	32,8	5,3	27,6
TRANSFERRİN	2.0	5.7	1.3	3.8	-	-	4,1	7	2,7	5,7	1,4	4,3
FERRİTİN	-	-	5.2	16.9	2.6	8.4	39,7	44,8	26,4	31,6	13,2	18,3
FOLAT	-	-	19.2	39.0	9.6	19.5	11,4	17,9	7,6	13,5	3,8	9,1
B12	-	-	17.7	30.0	-	-	13,2	19,9	8,8	16,1	4,4	12,3
D VİT	-	-	-	-	-	-	20,8	27,6	13,9	20,7	6,9	13,7

* Minimum Spesifikasyon www.westgard.com/minimum-biodatabase1.htm

** Arzu edilen Spesifikasyon www.westgard.com/optimal-biodatabase1.htm

*** Optimum Spesifikasyon www.westgard.com/biodatabase1.htm



Şekil 17. Demir düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı.

1-10: erkekler 11-21: kadınlar 23-24: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests erkek-kadın referans aralığı(sırasıyla) 25-26: YYU biyokimya referans aralığı erkek-kadın (sırasıyla)

Demir için referans aralıklarının alt ve üst sınırları, kadınlarda erkeklere göre daha düşüktür. Tabloda görüldüğü gibi, kadınlardaki demir düzeyleri referans aralığının altında veya alt sınırına yakın bulunmaktadır.

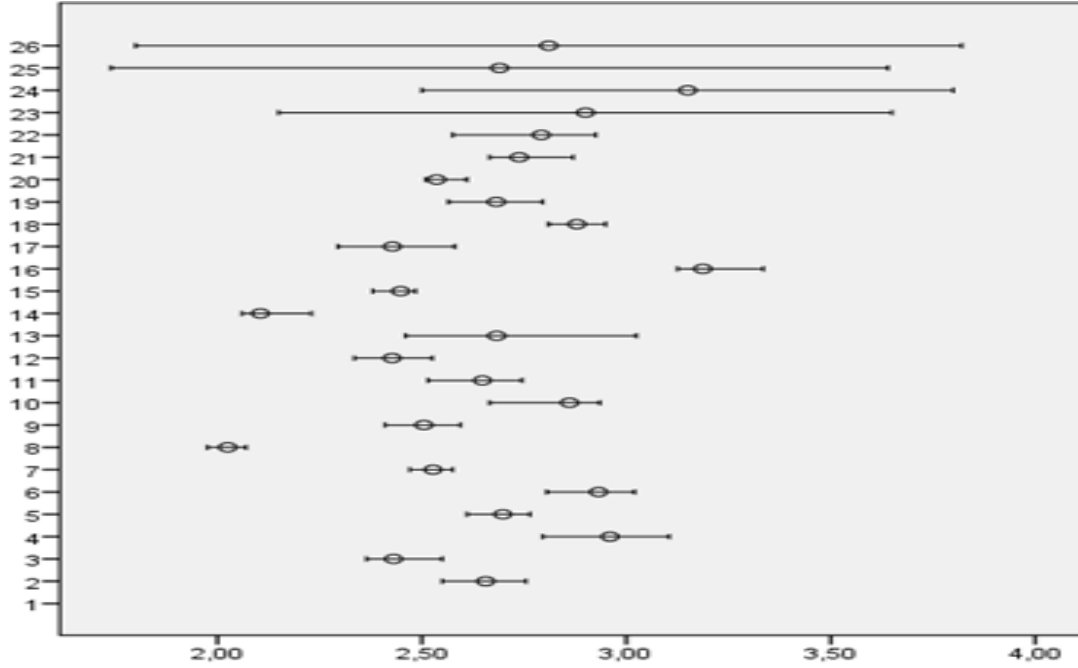
RCV değeri % **74,9** ve II değeri **0.8** olup bu analit için popülasyona dayalı referans aralıkları kullanımının yeterince faydalı olmadığı değerlendirilmekte ve bireylerin sonuçlarının yorumlanmasında RCV kullanımı daha rasyonel görünmektedir.

Borel MJ,(140) ve ark. tarafından 21-42 yaş arası görünürde sağlıklı 10 erkek ve 10 kadın ile "sağlıklı erkek ve kadınlarda günler arası demir düzeyleri indeksi" adlı çalışmada 31 ardışık gün boyunca sabah 07:30-12:00 saatleri arasında kan, parmak ucundan otomatik lanset cihazı ile heparinize mikrokapiller tüpe alınmıştır.

Plazma demir için ferrochem 2 plazma demir analizörü ile her numune beşer kez çalışılmış değerler sırasıyla erkek ve kadınlar için; CVA: 3.6-4.6; CVI:26.5-28.6 total CV: 26.7 29 bulunmuştur.

Ahluwalia N (141) ve ark. tarafından "yaşlı kadınlarda günden güne demir düzeyleri indeksi" çalışması 70-79 yaş arası 10 kadın üzerinde yapılmıştır. 2 günde bir 4 hafta boyunca

venöz kan 09:00-12:00 saatleri arasında toplanmıştır. Serum demir (umol/L) Cobas Fara santrifüj analizöründe benzil-ferrozin yöntemi ile çift olarak çalışılmış ve sonuçlar CVA: 2.3; CVI: 26.1; CVT: 26.2 olarak ifade edilmektedir. Vernon A.pilon (142) ve ark. tarafından "Sağlıklı bireylerde ferritin konsantrasyonun günden güne değişimi" adlı, yaşları 25-39 arası, görünürde sağlıklı 13 erkek ve kadın bireyden ardışık 3 hafta boyunca hafta içi 5 gün kan toplanmıştır. Demir düzeyi modifiye batofenantrolin yöntemi ile belirlenmiş olup ortalama CVI değerinin 28.5 olarak bulunduğu belirtilmektedir.



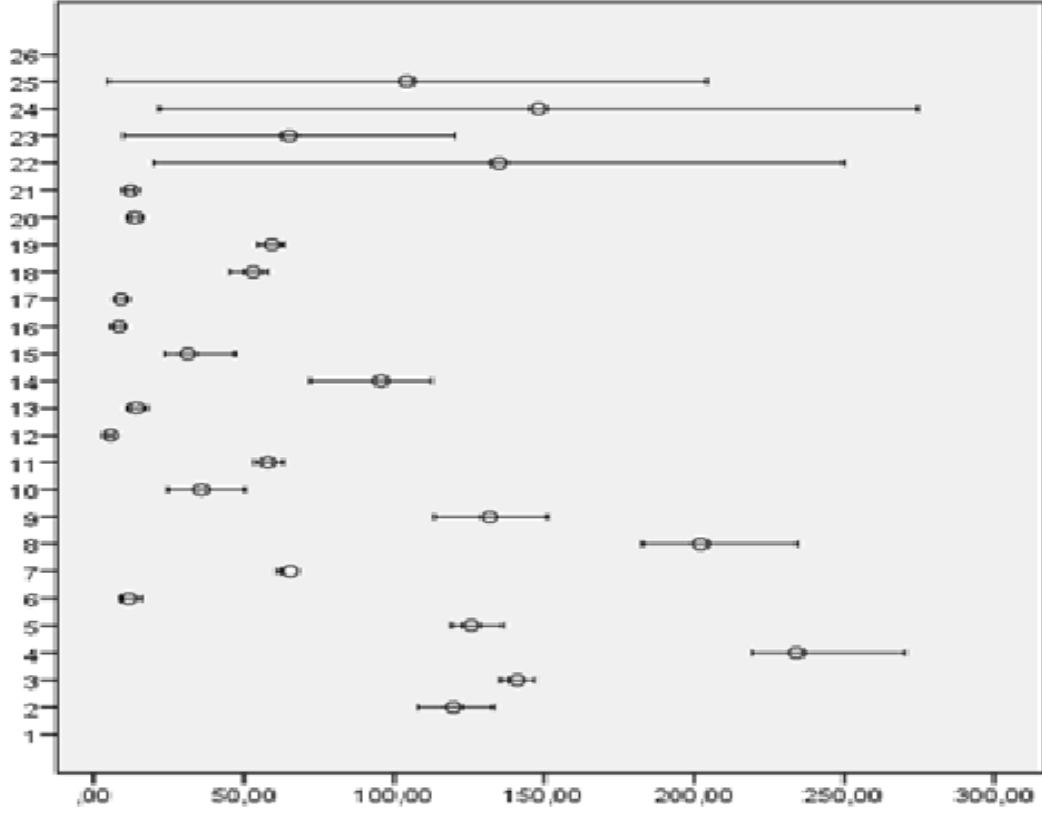
Şekil 18. Transferrin düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı.

1-10: erkekler 11-21: kadınlar 23-24: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests erkek-kadın referans aralığı(sırasıyla) 25-26 : YYU biyokimya referans aralığı erkek-kadın (sırasıyla)

Benard E. Statland (143) ve ark. tarafından ‘Serum Bileşenlerinin Birey İçinde Farklılaşmasına Katkı Sağlayan Faktörler: 6. Sağlıklı Kişilerin Serumlarında On Özel Protein Konsantrasyonunda Fizyolojik günler arası Değişim’ adlı çalışmada yaşları 25-40 arasında yer alan 8 erkek ve 6 kadın toplamda 14 bireyden 1.2.3. 7.8.10. günlerde alınan numuneler çift çalışılmış olup değerlerin CVI 2.5; CVG 9.5; II 0.26; bulunduğu belirtilmektedir.

Anders Helander (144) ve ark. tarafından ‘Yeşilaycılarda Karbonhidrat-eksik transferrin (CDT), GGT ve ortalama eritrosit hacminin (MCV), birey içi ve bireyler arası farklılıkları’

adlı, yaşları 19-69 arasında yer alan 5 erkek ve 10 kadın bireyden ardışık beş ay boyunca her ayın birinci veya ikinci haftası haftada 1'er numune alınarak yapılan çalışmada serum transferrin düzeyleri için ortalama değerlerin; CVI: 3.2 (0-8.2) CVG: 31.6 CVT: 4.2 bulunduğu belirtilmektedir.



Şekil 19. Ferritin düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı.

1-10: erkekler 11-20: kadınlar 22-23: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests erkek-kadın referans aralığı(sırasıyla) 24-25: YYU biyokimya referans aralığı erkek-kadın (sırasıyla)

Ferritin için referans aralıklarının alt ve üst sınırları, erkek ve kadınlarda farklı olmakla birlikte alt ve üst sınırlar, kadınlarda daha düşüktür. Tabloda görüldüğü gibi, erkek ve kadınlardaki Ferritin düzeyleri nispeten az değişmekle birlikte kadınların değerleri referans aralığının alt sınırına daha yakın bulunmaktadır.

Kadınlara ait ortalama değer (7.55) erkeklerden (5.46) daha yüksektir.

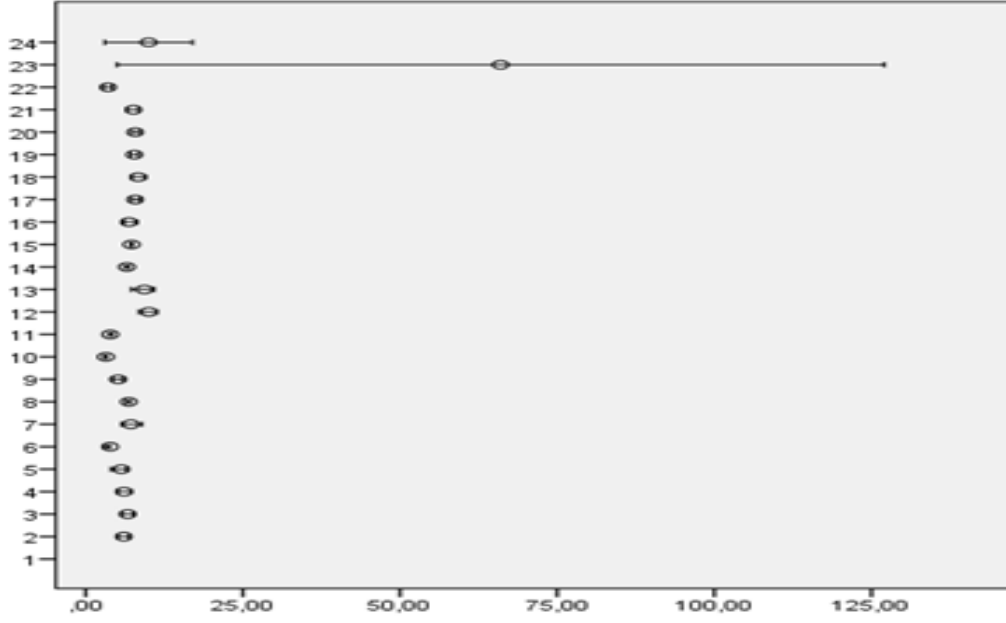
RCV değeri 18.3 ve II değeri 0.1 olup bu analit için popülasyona dayalı referans aralıkları kullanımının yeterince faydalı olmadığı değerlendirilmekte ve bireylerin sonuçlarının yorumlanmasında RCV kullanımı daha rasyonel görünmektedir.

Borel MJ,(140) ve ark. tarafından "Sağlıklı erkek ve kadınlarda günler arası demir düzeyleri indeksi" adlı çalışma, 21-42 yaş arası, görünürde sağlıklı 10 erkek ve 10 kadından otuz bir ardışık gün boyunca sabah 07:30-12:00 saatleri arasında, parmak ucundan otomatik lanset cihazı ile heparinize mikrokapiller tüpe kan alınarak yapılmıştır.

Plazma ferritin için elisa yöntemiyle her numune üçer kez çalışılmış olup değerlerin sırasıyla erkekler ve kadınlar için; CVA:6.2-7.2 CVI: 13.9-25.8; TCV: 15.2-26.8 olarak bulunduğu belirtilmiştir.

Ahluwalia N (141) ve arkadaşları tarafından "Yaşlı kadınlarda günden güne demir düzeyleri indeksi" çalışmasında, 70-79 yaş arası görünürde sağlıklı 10 kadın üzerinde, 4 hafta boyunca 2 günde bir 09:00-12:00 saatleri arasında venöz kan toplanmıştır. Serum ferritin düzeyleri ELİSA yöntemiyle belirlenmiş olup çift çalışma sonrası elde edilen değerlerin CVA:5.7; CVI:9.7; TCV:11.2 olarak bulunduğu belirtilmektedir.

Vernon A.pilon (142) ve ark.tarafından "Sağlıklı bireylerde ferritin konsantrasyonunun günden güne değişimi" adlı çalışmada, yaşları 25-39 arası görünüşte sağlıklı 13 erkek ve kadın bireyden ardışık 3 hafta boyunca hafta içi 5 gün kan toplanmıştır. Ferritin düzeyleri Radyoimmunoassay (RIA) yöntemi ile belirlenmiş olup değerlerin ortalama CVI: 14.5 olarak bulunduğu ifade edilmektedir.



Şekil 20. Folat düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı ve referans aralığı

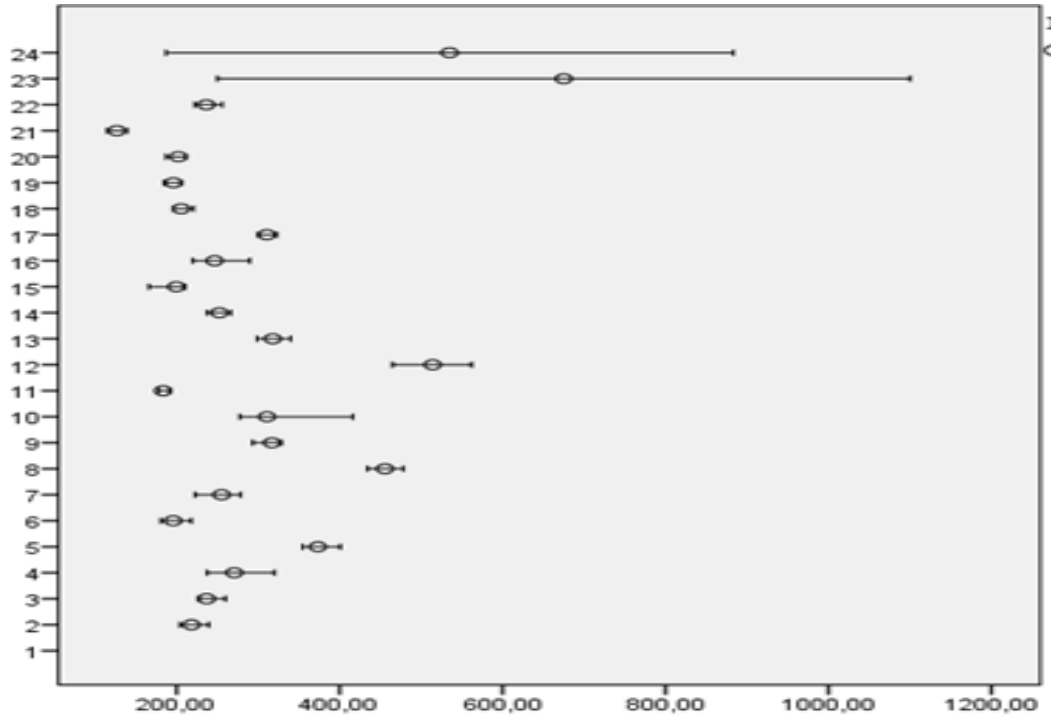
1-10: erkekler 11-20: kadınlar 22-23: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests erkek-kadın referans aralığı(sırasıyla) 24-25: YYU biyokimya referans aralığı erkek-kadın (sırasıyla)

Folat için referans aralıklarının alt ve üst sınırları, erkek ve kadınlarda ortaktır. Tabloda görüldüğü gibi, erkek ve kadınlardaki Folat düzeyleri çok az değişmekle birlikte tüm bireylerin değerleri referans aralığının alt sınırına daha yakın bulunmaktadır.

Kadınlara ait ortalama değer (7.55) erkeklerden (5.46) daha yüksektir.

RCV değeri %31.4 ve II değeri 0.4 olup bu analit için popülasyona dayalı referans aralıkları kullanımının yeterince faydalı olmadığı değerlendirilmekte ve bireylerin sonuçlarının yorumlanmasında RCV kullanımı daha rasyonel görünmektedir.

Michelle C. McKinley (146) ve ark. yaptığı ‘Plazma Homosisteini Mevsimsel Değişime Bağlı değil’ adlı, 23-55 yaş arası 8 erkek ve 14 kadın toplam 22 bireyden her mevsimin sonunda diyetle ilgili bilgiler ve kan alarak yaptığı çalışmada mikrobiyolojik yöntemle serum folat düzeyleri belirlenmiş ve değerlerin CVI % 24 CVG % 73 olarak bulunduğu belirtilmektedir.



Şekil 21. Vitamin B12 düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı ve referans aralığı

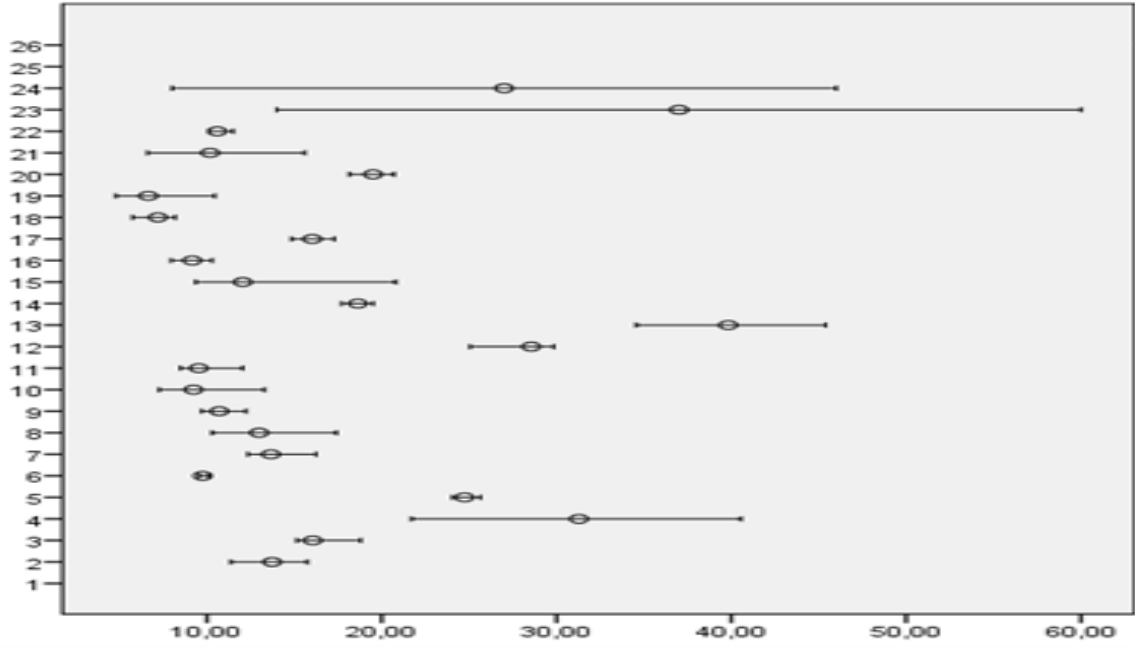
1-10: erkekler 11-20: kadınlar 23: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests erkek-kadın referans aralığı(sırasıyla) 24-25: YYU biyokimya referans aralığı erkek-kadın (sırasıyla)

Vitamin B12 için referans aralıklarının alt ve üst sınırları, erkek ve kadınlarda ortaktır. Tabloda görüldüğü gibi, erkek ve kadınlardaki Vitamin B12 düzeyleri çok az değişmekle birlikte tüm bireylerin değerleri referans aralığının alt sınırına daha yakın bulunmaktadır.

Kadınlara ait ortalama değer (251) erkeklerden (279) daha düşüktür.

RCV değeri %23.4 ve II değeri 0.17 olup bu analit için popülasyona dayalı referans aralıkları kullanımının yeterince faydalı olmadığı değerlendirilmekte ve bireylerin sonuçlarının yorumlanmasında RCV kullanımı daha rasyonel görünmektedir.

Michelle C. McKinley (145) ve ark. yaptığı ‘Plazma Homosisteini Mevsimsel Değişime Bağlı değil’ adlı, 23-55 yaş arası 8 erkek ve 14 kadın toplam 22 bireyden her mevsimin sonunda diyetle ilgili bilgiler ve kan alarak yaptığı çalışmada mikrobiyolojik yöntemle serum vitamin B12 düzeyleri belirlenmiş ve değerlerin CVI % 15 CVG % 69 olarak bulunduğu belirtilmektedir.



Şekil 22. 25-OH vitamin D düzeylerinin, bireylerin 0.1.7.14.28. günlerdeki dağılımı ve referans aralığı

1-10: erkekler 11-20: kadınlar 22-23: Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests erkek-kadın referans aralığı(sırasıyla) 24-25: YYU biyokimya referans aralığı erkek-kadın (sırasıyla)

25-OH vitamin D için referans aralıklarının alt ve üst sınırları, erkek ve kadınlarda aynı olmakla birlikte yaz ve kış olmak üzere iki farklı aralık bulunmaktadır.

Tabloda görüldüğü gibi, çoğu bireyin değerlerinin referans aralığı içindeki yayılımı diğer analitlere nispeten daha geniştir.

Kadınlara ait ortalama değer (15.2) erkeklerden (14.2) daha yüksektir.

RCV değeri %24.7 ve II değeri 0.1 olup bu analit için popülasyona dayalı referans aralıkları kullanımının yeterince faydalı olmadığı değerlendirilmekte ve bireylerin sonuçlarının yorumlanmasında RCV kullanımı daha rasyonel görünmektedir.

SONUÇ

Klinik laboratuvarlarda test sonuçları tarama, tanı, araştırma ve hastanın monitörize edilmesi gibi amaçlar için kullanılmaktadır (146). Test sonuçlarını yorumlama yöntemleri arasında popülasyona dayalı referans aralıkları, klinik davranışların belirlenmesi için kararlaştırılmış protokoller, uzman kişiler, gruplar veya komiteler tarafından önerilen değerler ve üst referans limitin katları yer almaktadır (147,148).

Günümüzde klinik laboratuvarlar her yaş grubundan ve farklı cinsiyette en az 120 sağlıklı bireyin sonuçlarının dağılımından elde edilen popülasyona dayalı referans aralığı bulunan sonuçları raporlamaktadır. Referans aralık, bir bireyin daha önceki verilerine ulaşamadığı durumlarda test sonuçlarının yorumlanmasının temelini oluşturmaktadır (22). Oysa bireyin seri ölçümlerindeki farklılıklar hastalığındaki ilerlemeden kaynaklanabileceği gibi, birey içi ve analitik varyasyonla da ilgili olabilmektedir.

Biyolojik varyasyon verilerinin laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesi ve yorumlanmasına katkısı, temel olarak üç grupta incelenebilir: (22).

- BV'a dayalı kalite spesifikasyonlarının belirlenmesi.
- Popülasyona dayalı referans değerlerinin kullanılmasının uygunluğunun ve faydasının değerlendirilmesi,
- Bir bireyden elde edilen ardışık test sonuçları arasındaki farkın anlamlı olup olmadığının değerlendirilmesi.

Bir testin bireysel biyolojik varyasyon değerinin, bireyler arası biyolojik varyasyon değerine oranı (CVI/CVG), o testin bireysellik indeksi (II) olarak kabul edilir. Düşük II değeri (<0.6) testin bireysel yönünün fazla olduğunu ve o test için popülasyona dayalı referans değerleri yerine hastanın önceki değerlerini kullanmanın daha uygun olacağını gösterir. Buna karşılık yüksek II değeri (>1.4) de testin bireyselliğinin düşük olduğunu ve o test için popülasyona dayalı referans değerlerinin tercih edilebileceğini gösterir (22).

Pek çok analit güçlü bireysellik göstermektedir ve bu nedenle bir bireyin bir test sonucunun bir önceki değer ile karşılaştırılması popülasyona dayalı referans aralıkları ile karşılaştırılmasından daha değerli bilgiler verebilecektir (22).

BV değerlerinin ve ilişkili II ve RCV hesaplamalarının yapılabilmesi ve uygulanabilmesi için gerekli tüm unsurlar günümüzde daha iyi bilinmektedir.

Sınırlı sayıda bireyden, sınırlı sayıda ve uygun aralıklarla alınan biyolojik materyalden sıkı bir preanalitik kontrol ile CVI ve CVG değerleri elde edilebilmesine rağmen; IFCC tarafından her laboratuvar kendi RA değerlerinin oluşturmaları önerisinde olduğu gibi bir öneri ve zorunluluk bulunmamaktadır.

Yapılan çalışmalarla elde edilen ve BV veri tabanında yer alan analitlerin CVI değerleri tüm bireyler için sabit kabul edildiğinden bu CVI değerleri ile laboratuvarların gerekli durumlarda güncelleyeceği CVA değerleri ve olasılığa göre belirlenen değer (Z) kullanılarak % RCV değeri hesaplanabilmektedir (22).

Sonuçların yorumlanmasının bireyselleştirilmesinde önemli rolü olan bu uygulama, sağlıklı bireylerde ve kronik ve stabil seyirli bazı patolojik durumlarda değerlendirilen analitler (150-152) için açık bir şekilde tanımlanmış ve belirli istatistiksel olasılıklar için hesaplanan % RCV değerlerine dayalıdır. Farkın anlamlı kabul edilmesi için RCV'den büyük olması gerekmektedir.

RCV; sonuçların raporlanmasında klinisyenlerin sonuçları yorumlamasına yardımcı olmak amacıyla laboratuvar bilgi sistemlerinde delta-check ile birlikte kullanılabilir. Bu nedenle son yıllarda laboratuvarlarda RCV'nin, referans aralığının yanı sıra hasta sonuç raporlarına eklenmesi tartışılmaktadır (149).

Laboratuvarların, elde edilen sonuçların doğru yorumlanması ile ilgili faaliyetlerini geliştirmek amacıyla bu uygulamaları rutin olarak uygulamaları önem taşımaktadır (128,153).

Bu uygulamanın verimli kullanılabilmesi için, bir bireyde çalışılan belirli bir analitin iki ardışık ölçüm değerleri arasındaki farkın o analit için belirlenmiş RCV oranlarını aşması durumunda, laboratuvar bilgi sistemlerinin laboratuvar uzmanlarına ve klinisyenlere gerekli uyarıları verebilecek niteliklerde olması gerekmektedir.

Laboratuvar bilişim sistemleri, aynı hastadan alınan ardışık iki sonuç için RCV' i uygulayabilmeli ve hedef analitin sayısal sonucundan sonra ikinci raporu önceden tanımlanmış sinyal ile etiketleyebilmelidir (128).

BV veri tabanında yer alan referans yayınlar incelendiğinde şekil 16'da da görüldüğü gibi yayınlar arasında CVI ve CVG değerleri 1-7 kat arasında değişebilmektedir. Bu farklılık için her ne kadar çalışma dizaynı ve istatistiksel değerlendirmenin katkısının önemi vurgulansa da gerek çalışmamızda kullandığımız analitler için gerekse de diğer analitler için

BV veri tabanında yer alan referans makaleler incelendiğinde CVI değerlerini etkilemediği varyasyılan yaş, cinsiyet, ırk gibi faktörler için RA değerlerinin türetilmesinde olduğu gibi tabakalaşmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Yaptığımız BV çalışmasında Demir, Transferrin, Folat, Vitamin B12, 25-OH Vitamin D için elde ettiğimiz CVI ve CVG değerleri, BV veri tabanında yer alan literatür verileri ile uyumlu olup, Ferritin için çalışmamızda bulduğumuz CVI ve CVG değerleri, veri tabanında yer alan referans literatür verilerinde yer alan değerlerden farklı olup bu farklılıkta, çalışma için seçilen bireylerin yaş ve cinsiyet farklılıklarının katkısı olduğunu düşünmekteyiz. II için bulunan değerler ile yapılan RA kullanımının uygunluk ve faydasını değerlendirmede; II < 0.6 ve II > 1.4 olarak alındığında Demir için RA kullanımı uygun olup, Transferrin, Folat, Vitamin B12, 25-OH Vitamin D için ise RA yerine RCV kullanımının daha uygun olduğu değerlendirilmiştir.

Mevcut BV veri tabanında yer alan analitlerin yanı sıra klinik saplık durumu takibi için CVI değerlerinin belirlenmesini bekleyen çok sayıda analit bulunmakla birlikte EFLM BVWG bünyesinde yapılan çalışmalar ile de mevcut verilerin güvenilirliğinin doğrulanması ve eklenecek yeni analitler için bir standardizasyon sağlama çalışmaları devam etmektedir.

Sonuç olarak, biyolojik varyasyonun test sonuçları üzerindeki ve test sonuçlarının yorumlanmasındaki etkileri oldukça önemlidir ve bu etkiler sonuçların yorumlanması ve onaylanması aşamasında her zaman dikkate alınmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Clinical Biochemistry Nanda Maheshwari Aim and Scope of Biochemistry s.45-47
2. Overview of Clinical Chemistry Jean Brickell, Wendy Arneson, and Diana Mass
3. Clinical biochemistry. Lecture notes — 9th ed. / Geoffrey Beckett ... [et al.].
4. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Hastalıkların Tanı ve izlenmesinde Biyokimya Laboratuvarı Sempozyum Dizisi No: 81 • 10 Mayıs 2013; s. 9 – 18
5. Lippi G, Chance JJ, Church S, Dazzi P, Fontana R, Giavarina D, et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. Clin Chem Lab Med 2011;49(7):1113-26.
6. Plebani M, Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. Clin Chem 1997;43(8-1):1348-51.
7. Skendzel LP. How physicians use laboratory tests. J Am Med Assoc, 239: 1077- 1080, 1978.
8. In Accurate Results in the Clinical Laboratory, edited by Amitava Dasgupta and Jorge L. Sepulveda, Elsevier, San Diego, 2013 s.3-49
9. Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry. An update: collected data,1988- 1991. Arch Pathol Lab Med, 116: 916- 923, 1992.
10. Fraser CG. Databases for facilitating work on setting quality specifications: biological variation. Uppsala J Med Sci, 98: 415- 416, 1993.
11. Fraser, C. (2005). Inherent biological variation and reference values. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 42(7), pp. 758-764. Retrieved 24 Sep. 2017, from doi:10.1515/CCLM.2004.128
12. Cox DR, Solomon PJ. Components of variance. Boca Raton, FL: Chapman and Hall/CRC, 2003.
13. Queralto JM. Intraindividual reference values. Clin Chem Lab Med, 42: 765- 777, 2004.
14. Ricos C, Cava F, García-Lario JV, Hernandez A, Iglesias N, Simón M, Jiménez CV, Minchinela J, Perich C, Domenech MV, Alvarez V. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. Scand J Clin Lab Invest, 64: 175- 184, 2004.
15. Ayan E., Şen O., Toros H. (2003). Biyolojik ritim. Atmosfer Bilimleri Sempozyumu, sy: 90-96, İstanbul.
16. Herdman R. C.(ed),(1991). Biological Rhythms: Implications For The Worker. U.S. Congress, Office of Technology Assessment, Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 45: 3-9.
17. Yavuz Taga, Diler Aslan, Gül Güner, Fatma Z. Kutay. Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon

ve Kalite Yöntemi; Türk Biyokiya Derneği

18. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. ISO 5725:1994
19. Basic Lessons in Laboratory Quality Control Written by Greg Cooper, CLS, MHA Manager of Clinical Standards and Practices Published by Bio-Rad Laboratories, Inc. Quality Systems Division
20. Menditto A, Patriarca M, Magnusson B: Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision. *Accred Qual Assur* 12, 45-47 (2007).
21. Jcgm: International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM 3). (jcgmm 200:2008), (2012).
22. Fraser CG. Biological Variation: from Principles to Practice. Washington, DC: AACC Press, 2001: 9-18.
23. Fraser CG. Changes in serial results. In: Biological variation: from principles to practice. Washington: AACC Press, 2001:67-90.
24. Fraser CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med*, 42: 758-764, 2004.
25. Solberg HE. Using A Hospitalized Population to Establish Reference Intervals: Pros And Cons. *Clin Chem* 1994; 40(12): 2205-2206.
26. Henny J, PetitClerc C, Fuentes-Arderiu X, Petersen PH, Quernalto JM, Villarino-Gonzales MI, Arrimadas-Esteban E, Cabrero-Olive D, et al. Multicentric reference values for some quantities measured with Elecsys 2010 analyser. *Clin Chim Acta* 2003; 334:143 6.
27. PetitClerc C. Normality: The unreachable star? *Clin Chem Lab Med* 2004 42:698-701.
28. Vickers AJ, Lilja H. Cutpoints in Clinical Chemistry: time for fundamental reassessment. *Clin Chem*. 2009;55:15–17.
29. Cerriotti F, Hinzmann R, panteghini M. Referans İntervals: the way forward. *Ann Clin.Biochem* 2009;46:8-17.
30. Zhang S., Wei J., Guo X., Liu T., Kang L. (2010). Functional synchronization of biological rhythms in a tritrophic system. *Plos one* 5(6): e11064.
31. Schulz P., Steimer T. (2009). Neurobiology of circadian systems. *CNS Drugs* 23(2): 3-13.
32. Yerer B.M. (2006). Sirkadiyen ritme bağılı olarak fizyolojik melatonin seviyesindeki değişikliklerin göz ve beyin dokusunda antioksidan önemi. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
33. Şenel F. (2008). Biyolojik Saat. *Bilim ve Teknik Dergisi* 12: 56-67

34. Commission on Office Laboratory Accreditation. Available at: <http://www.cola.org/>. Accessed June 16, 2011.
35. Lippi G, Guidi GC. Risk management in the preanalytical phase of laboratory testing. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45:720-727.
36. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44(4):358–65.
37. Lippi G, Chance JJ, Church S, Dazzi P, Fontana R, Giavarina D, et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. *Clin Chem Lab Med* 2011;49(7):1113-26.
38. Tıbbi laboratuvarıarda doğru sonuç
39. Petersen PH, Rustad P. Prerequisites for establishing common reference intervals. *Scand J Clin Invest* 2004 64:285-292.
40. Görmüş U. : Klinik laboratuvarıarda yapılan çalışmalar ‘Laboratuvar Dünyası’ , ed. Görmüş U. , Nobel tıp kitabevleri, Ankara, 2015;25-44
41. Bartoš,V.; Všíanský F.; RNDr. Kušnierová P., Pre-Analytical Effects on Laboratory Examinations & Analytical Properties of the Laboratory Method, Quality Control , Clinical Biochemistry, Ed. Racek J., Rajdl D. 1st ed. Chapter 1&3 Karolinum Press Prague 2016
42. Güner G, Tuncel P, Örmen M. Preanalitik evrede kalite yönetimi. In: Tıbbi Laboratuvarıarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi. Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay ZF (Ed). Ankara: Türk Biyokimya Derneği Yayınları, 2000;139-149.
43. Adam B, Ardıçoğlu Y. Numunelerin toplanması ve yapılan analizler, Klinik biyokimya Analiz metotları, Atlas yayınevi. Ankara. 2002: 1-23
44. Özgüven T, Üstdal M. Hekimlikte laboratuvar, hekimlikte biyokimya hangi test istenmeli, Barış kitabevi. 1997:1–47
45. Alpaslan COŞAR, a Mustafa GÜLTEPE a Biyokimyasal Tetkikler ve Yanlış Uygulamalar Türkiye Klinikleri J Fam Med-Special Topics 2013;4(3):102-6
46. Turhan B. "Kanıtı Dayalı Tıp Laboratuvar Testleri ve Preanalitik Değişkenler". Konuralp Tıp Dergisi 2010 (2015): 29-33
47. Guder W G, Narayanan S, Wisser H. et al. Samples: From the Patient to the Laboratory, The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results; Git Verlag. Germany 1996: 16–17
48. Mehmetoğlu I. Kan analizleri, Klinik biyokimya Laboratuvar el kitabı, 3.baskı, Konya 2013: 79-85
49. Fatma Meriç Yılmaz, Serkan Kırıl. An underestimated preanalytical error source: Centrifuge temperature. *Turk J Biochem*.2013;38; 356-359.

50. CLSI. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline—Fourth Edition. CLSI document GP44-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
51. O’Keane MP, Cunningham SK. Evaluation of three different specimen types (serum, plasma, and serum gel separator) for analysis of certain analytes: clinical significance of differences in results and efficiency in use. *Clin Chem Lab Med*. 2006;44:662-668.
52. Kathleen Becan; Preanalytical Phase an Important Requisite of Laboratory Testing; Specific guidelines and procedures in Specimen collection vital to error-free analysis. 1998: 1-8
53. Young SD, Birmes WE. Preanalytical variables and biological variation. In: Burtis AC, Ashwood RE, Burns AD, eds. *Tietz textbook of Clinical Chemistry and molecular diagnostics*. Fourth ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2006;449-523.
54. Holmes EW. The Interpretation of Laboratory Tests. In: *Clinical Laboratory Medicine*. McClatchey KD. Ed. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2002;96-121.
55. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry*. 5th ed. Elsevier Saunder. Philadelphia, 2012.
56. Petersen PH, Rustad P. Prerequisites for establishing common reference intervals. *Scand J Clin Invest* 2004 64:285-292
57. Lippi, G. , Guidi, G., Mattiuzzi, C., et al. (2011). Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 44(4), pp. 358-365. Retrieved 21 Jan. 2018, from doi:10.1515/CCLM.2006.073
58. Basic Lessons in Laboratory Quality Control QC Workbook Written by Greg Cooper, CLS, MHA Manager of Clinical Standards and Practices Published by Bio-Rad Laboratories, Inc. Quality Systems Division 2008
59. Simundic A, Kackov S, Miler M, Fraser CG, Petersen PH. Terms and symbols used on studies of biological variation: the need for harmonisation. *Clin Chem* 2015;61:438–9
60. Fraser CG. Reference change values. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:807-12.
61. Sebastian-Gambaro MA, Liron-Hernandez FJ, Fuentes- Arderiu X. Intra- and inter-individual biological variability data bank. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 35: 845- 852, 1997.
62. Ricos C, Jimenez CV, Hernandez A, Simon M, Perich C, Alvarez V, Minchinela J, Maciá M. Biological variation in urine samples used for analyte measurements. *Clin Chem*, 40: 472-477, 1994.
63. Fraser CG, Cummings ST, Wilkinson SP, Nevill RG, Knox JDE, HO O. Biological Variability of 26 Clinical Chemistry Analytes in Elderly People. *Clin Chem*, 35(5): 783- 786, 1989.

64. David A. Lacher, Jeffery PH, Margaret DC. Division of Health and Nutrition Examination Surveys. Biological Variation of Laboratory Analytes Based on the 1999–2002 National Health and Nutrition Examination Survey National Health Statistics Reports. Number 21, March 1, 2010.
65. Ricos C, Iglesias N, Garcia-Lario JV, Simon M, Caval F, Hernandez A, Perich C, Minchinela J, Alvarez V, Domenech MV, Jimenez CV, Biosca C, Tena R. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem*, 44(4): 343-352, 2007.
66. Iglesias N, Petersen PH, Jensen E, Ricos C, Joergensen P. Reference change values and power functions. *Clin Chem Lab Med*, 42: 415- 422, 2004.
67. Biosca C, Ricos C, Lauzurica R, Galimany R. Reference change value concept combining two delta values to predict crises in renal posttransplantation. *Clin Chem*, 47: 2146- 2148, 2001.
68. Sole´tormos G, Semjonow A, Sibley PEC, et al. Biological variation of total prostate-specific antigen: a survey of published estimates and consequences for clinical practice. *Clin Chem* 2005; 51:1342–51
69. Rico´s C, Iglesias N, Garcí'a-Lario JV, et al. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem* 2007; 44: 357–66
70. Fraser CG. The application of theoretical goals based on biological variation data in proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med*. 1988; 112:404-15.
71. Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry. An update: collated data 1988-1991. *Arch Pathol Lab Med*. 1992; 116:916-23.
72. Sebastián MA, Lirón FJ, Fuentes X. Intra and inter-individual biological variability data bank. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997; 35:845-52.
73. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV et al. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999; 59:491-500.
74. Minchinela J, Ricós C, Perich C, Fernández-Calle P, Alvarez V, Domenech M. Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). The 2012 update. <http://www.westgard.com/biodatabase-2012-update.htm>. erişimtarihi: 14.10.2012.
75. Biosca C, Ricós C, Lauzurica R, Galimany R, Hyltoft Petersen P. Reference change value concept combining two delta values to predict crises in renal post-transplantation. *Clin Chem*.

2001; 47:2146-8.

76. Ricós C, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Iglesias N, Jimenez CV et al. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J Clin Lab Invest.* 2004; 64:175-84.
77. Ricós C, García-Lario JV, Álvarez V, Cava F, Jimenez CV, Minchinela J et al. Biological variation database and quality specifications for imprecision, bias and total error. The 2008 update. <http://westgard.com/guest36.htm>. erişimtarihi: 14.10.2012.
78. Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1989; 27:409-37.
79. Drew P, Charles RJS (2006) *Oxford handbook of clinical hematology*, 2nd edn. People's Military Medical Press, Beijing, pp 40–42
80. Wiltink WF, Kruithof J, Mol C et al (1973) Diurnal and nocturnal variations of the serum iron in normal subjects. *Clin Chim Acta* 49:99–104
81. Statland BE, Winkel P, Bokelund H (1976) Variation of serum iron concentration in young healthy men: within-day and day-to-day changes. *Clin Biochem* 9:26–29
82. Hamilton LD, Gubler CJ, Cartwright GE (1950) Diurnal variation in the plasma iron level of man. *Proc Soc Exp Biol Med* 75:65–68
83. Costongs GM, Janson PC, Bas BM et al (1985) Short-term and long-term intra-individual variations and critical differences of clinical chemical laboratory parameters. *J Clin Chem Clin Biochem* 23:7–16
84. Guillygomarc'h, A., Christian, J., Romain, M., Vincent, Q., Véronique, D. and Deugnier, Y. (2003), Circadian variations of transferrin saturation levels in iron-overloaded patients: implications for the screening of C282Y-linked haemochromatosis. *British Journal of Haematology*, 120: 359–363.
85. Henry JB. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 18th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1991:223.
86. Jacobs DS, DeMott WR, Grady HJ, et al. *Laboratory Test Handbook*, 4th ed. Hudson, OH: Lexi-Comp; 1996:209.
87. Edwards, C.Q., Griffen, L.M., Kaplan, J. & Kushner, J.P. (1989) Twenty-four hour variation of transferrin saturation in treated and untreated haemochromatosis homozygotes. *Journal of Internal Medicine*, 226, 373–379
88. Steinberg SE. Mechanisms of folate homeostasis. *Am J Physiol* 1984;246(9):G319-24.
89. Appling DR. Compartmentation of folate-mediated one-carbon metabolism in eukaryotes. *FASEB J* 1991;5(12):2645-51.

90. Crichton RR. Ferritin: Structure, Synthesis and Function. *N Engl J Med* 1971;284:1413-22.
91. Fairbanks VF, Fahey JL, Beutler E. *Clinical Disorders of Iron Metabolism* (2nd Ed.). New York: Grune and Stratton Inc., 1971:46-54.
92. Krause JR, Stolc V. Serum Ferritin and Bone Marrow Iron Stores, 1. Correlation with Absence of Iron in Biopsy Specimens. *Am J Clin Pathol* 1979;72:817-20.
93. Skikne BS, Cook JD. Serum Ferritin in the Evaluation of Iron Status. *Lab Management* 1981;19:31-5.
94. Leyland, M.J., Ganguli, P.C., Blower, D. & Delamore, I.W. (1975) Immunoradiometric assay for ferritin in human serum. *Scandi-navian Journal of Haematology*, 14 , 385–392
95. Dawkins, S., Cavill, I., Ricketts, C. & Worwood, M. (1979) Variability of serum ferritin concentration in normal subjects. *Clinical Laboratory Haematology*, 1, 41–46.
96. Klinik biyokimya emekli yığıtbaşı syf.358 mart 2015 istanbul Nobel tıp kitabevleri
97. Lee DSC, Griffiths BW. Human Serum Vitamin B12 Assay Methods – A Review. *Clin Biochem* 1985; 18:261-6.
98. Chararin I. Megaloblastic Anemia, Cobalamin and Folate. *J Clin Pathol* 1987; 40:978-84.
99. Wahlin A, Bäckman Lars, Hultdin J, Adolfsson R, Nilsson L-G. Reference values for serum levels of vitamin B12 and folic acid in a population-based sample of adults between 35 and 80 years of age. *Public Health Nutr* 2001;5:505–11.
100. Pilz S, Vitamin D status and arterial hypertension: a systematic review. *Nat. Rev. Cardiol.* 2009;6:621-630.
101. Holick MF, Binkley NC, Bishoff-Ferrari HA, Gordon CM et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrin Metabol.* 2011;96:1911-1930.
102. Cavalier E, Delanaye P, Chapelle JP, Souberbielle JC, Vitamin D: current status and perspectives. *Clin Chem Lab Med* 2009;47(2):120-127.
103. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet.* 2010;376(9736):180–8.
104. Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R, et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet.* 2010;19(13):2739–45.
105. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(3):266–81.
106. Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;121(1–2):297–300.
107. Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int.* 2009;20(11): 1807–20.

108. Bassil D, Rahme M, Hoteit M, Fuleihan Gel H. Hypovitaminosis D in the Middle East and North Africa: Prevalence, risk factors and impact on outcomes. *Dermatoendocrinol.* 2013;5(2): 274–98.
109. Arabi A, Mahfoud Z, Zahed L, El-Onsi L, El-Hajj Fuleihan G. Effect of age, gender and calciotropic hormones on the relationship between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64(4):383–91.
110. Biological Variation Working Group established by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Available from: <http://efcclm.eu/index.php/wg-biological-variation.html>. Accessed 13 November, 2014.
111. STARD guidelines. Available from: <http://www.stard-statement.org/>. Accessed 11 November, 2014.
112. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwiq LM, et al. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy. Clin Chem* 2003;49:1–6.
113. Carobene, A., Strollo, M., Jonker, N., et al. (2016). Sample collections from healthy volunteers for biological variation estimates' update: a new project undertaken by the Working Group on Biological Variation established by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.
114. Abbott architect c systems assay parameters: Iron, REF: 6K95-30 ve 6K95-41 B6K95T G2-2814/R01
115. Abbott architect c systems assay parameters: Transferrin REF:1E04 B1E0ET G3-9654/R04
116. Abbott architect c systems assay parameters: Ferritin REF: 7K59 B7K59T G4-6079/R07
117. Abbott architect c systems assay parameters: Folate REF: 1P74 B1P74T G2-9974/R04
118. Abbott architect c systems assay parameters: Vitamin B12 7K61 B7K61T G4-6111/R09
119. Abbott architect c systems assay parameters: 25-OH vitamin D 5P02 G6-1070/ R02 B5P02T
120. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:358-65. <http://dx.doi.org/10.1515/CCLM.2006.073>.

121. Lippi G, Schena F, Montagnana M, Salvagno GL, Guidi GC. influence of acute physical exercise on emerging muscular biomarkers. *Gin Chem Lab Med* 2008;46:1313-8. <http://dx.doi.org/10.1515/CCLM.2008.250>.
122. <https://www.westgard.com/guest19.htm>
123. Fraser. C. Biological variation: from principles to practice. Washington DC.: AACCC press, 2001.
124. Simundic AM, Kackov S, Miler M, Fraser CG and Petersen PH. Terms and Symbols Used in Studies on Biological Variation: The Need for Harmonization. *Clin Chem*. 2015; 61: 438-9.
125. Sole´tormos G, Semjonow A, Sibley PEC, et al. Biological variation of total prostate-specific antigen: a survey of published estimates and consequences for clinical practice. *Clin Chem* 2005; 51:1342–51
126. Rico´s C, Iglesias N, Garcí'a-Lario JV, et al. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem* 2007; 44: 357–66
127. Fraser. C. Biological variation: from principles to practice. Washington DC.: AACCC press, 2001.
128. Ricos C, Perich C, Minchinela J, Alvarez V, Simon M, Biosca C, Domenech M, Fernandez P, Jimenez CV, Garcia-Lario JV and Cava F. Application of biological variation - a review. *Biochem Medica*. 2009; 19: 250-9.
129. Braga F and Panteghini M. Generation of data on within-subject biological variation in laboratory medicine: An update. *Crit Rev Cl Lab Sci*. 2016; 53: 313-25.
130. FRASER CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med*, 42: 758- 764, 2004.
131. Fraser CG. The application of theoretical goals based on biological variation data in proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:404–15.
132. Fraser CG. Biological variation in clinical chemistry. An update: collated data, 1988–1991. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116:916–23.
133. Sebastián-Gámbaro MA, Lirón-Hernández FJ, Fuentes-Arderiu X. Intra- and inter-individual biological variability data bank. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997;35:845–52.
134. Perich, C., Minchinela, J., Ricós, C., et al. (2014). Biological variation database: structure and criteria used for generation and update. *Clinical Chemistry and Laboratory*

Medicine (CCLM), 53(2), pp. 299-305. Retrieved 16 Jan. 2018, from doi:10.1515/cclm-2014-0739

135. Simundic A, Kackov S, Miler M, Fraser CG, Petersen PH. Terms and symbols used on studies of biological variation: the need for harmonisation. *Clin Chem* 2015;61:438–9.
136. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV et al. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest.* 1999; 59:491-500.
137. Fraser CG. Changes in serial results. In: *Biological variation: from principles to practice*. Washington: AACC Press, 2001:67-90.
138. Fraser CG. Data on biological variation: essential prerequisites for introducing new procedures. *Clin Chem* 1994; 40:1671-3.
139. Minchinela J, Ricós C, Perich C, Fernández-Calle P, Alvarez V, Domenech M. Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). The 2012 update. <http://www.westgard.com/biodatabase-2012-update.htm>. erişimtarihi: 14.10.2012.
140. M J Borel, S M Smith, J Derr, J L Beard; Day-to-day variation in iron-status indices in healthy men and women, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 54, Issue 4, 1 October 1991, Pages 729–735,
141. Ahluwalia, Namanjeet & Lammi-Keefe, Carol & R Haley, N & L Beard, J. (1993). Day-to-day variation in iron-status indexes in elderly women. *The American journal of clinical nutrition.* 57. 414-9. 10.1093/ajcn/57.3.414.
142. A Pilon, V & J Howanitz, P & H Howanitz, J & Domres, N. (1981). Day-to-day variation in serum ferritin concentration in healthy subjects. *Clinical chemistry.* 27. 78-82.
143. E Statland, B & Winkel, P & M Killingsworth, L. (1976). Factors contributing to intra individual variation of serum constituents: 6. Physiological day to day variation in concentrations of 10 specific proteins in sera of healthy subjects. *Clinical chemistry.* 22. 1635-8. Anders Helander (28)
144. Helander, Anders & Vabö, E & Levin, Klas & Borg, Stefan. (1998). Intra- and interindividual variability of carbohydrate-deficient transferrin, γ -glutamyltransferase, and mean corpuscular volume in teetotalers. *Clinical chemistry.* 44. 2120-5.

145. Michelle C. McKinley, J.J. Strain, Joseph McPartlin, John M. Scott, Helene McNulty
Plasma Homocysteine Is Not Subject to Seasonal Variation *Clinical Chemistry* Aug
2001, 47 (8) 1430-1436
146. Monach PA. Repeating tests: different roles in research studies and clinical medicine.
Biomark Med 2012; 6: 691-703.
147. Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a "reference change" for comparing two
consecutive measurements. *Clin Chem* 1983; 29: 25-30.
148. Fraser CG. Reference change values. *Clin Chem Lab Med*: 2012; 50: 807- 12.
149. Ozturk OG, Paydas S, Balal M, Sahin G, Karacor ED, Ariyurek SY et al. Biological
variations of some analytes in renal posttransplant patients: A different way to assess routine
parameters. *J Clin Lab Anal* 2013; 27: 438-43.
150. Fraser CG. Data on biological variation: essential prerequisites for introducing new
procedures. *Clin Chem* 1994; 40:1671-3.
151. Hyltoft Petersen P, Ricós C, Stöckl D, Libeer JC, Baadenhuijsen H, Fraser CG et al.
Proposed guidelines for the internal quality control of analytical results in the medical
laboratory. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1996; 34:983-99.
152. Fraser CG, Stevenson HP, Kennedy IMG. Biological variation data are necessary
prerequisites for objective auto verification of clinical laboratory data. *Accred Qual Assur*.
2002; 11:455-60.
153. Ozturk OG. Using biological variation data for reference change values in clinical
laboratories. *Biochem Anal Biochem* 2012; 1:e106.
154. Hao L, Tian Y, Zhang F, Zhong X, Zhang B, Tan M, Tang Y, Li Z. (Variation of
plasma folate levels in adults between some areas and different seasons in China). *Zhonghua
Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 2002 Sep;36(5) 308-310. PMID: 12411189.

Arş.Gör. Halil İbrahim Akbay
ÖZGEÇMİŞ DOSYASI

KİŞİSEL BİLGİLER

Doğum Yılı : 1988
Doğum Yeri : Erciş
Sabit Telefon : T: 43221504706015
Faks : F:
E-Posta Adresi : halilibrahimakbay@yyu.edu.tr drhakbay@gmail.com
Web Adresi :
Posta Adresi :



EĞİTİM BİLGİLERİ

Tıpta Uzmanlık, VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ , TIBBİ BİYOKİMYA, 2016-
Lisans, ANADOLU ÜNİVERSİTESİ, açıköğretim fakültesi, sağlık yönetimi, 2017-
Tıpta Uzmanlık, NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ BİYOKİMYA, 2013-2016
Lisans, GAZİ ÜNİVERSİTESİ, tıp fakültesi, , 2007-2013

AKADEMİK UNVANLAR/GÖREVLER

Arş.Gör.Dr., YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, 2016 - Devam Ediyor
Arş.Gör.Dr., NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, 2013 - 2016

ARAŞTIRMA ALANLARI

Biyokimya

EK-1: ÇALIŞMAYA BAŞLAMADAN ÖNCE ANKET DEĞERLENDİRME FORMU

Adı soyadı:

Demografik veri

Doğum tarihi:/..... /

Cinsiyeti:

Kilosu:

Boy:

BMI:

Yaşam Stili

Yatmadan kaç saat önce yemek yersiniz?

Özel bir diyet (zayıflamak, kilo almak ya da herhangi bir hastalıktan dolayı) uyguluyor musunuz?

EVET ☐ HAYIR ☐

Alkol kullanır mısınız?

EVET ☐ HAYIR ☐

Sigara kullanır mısınız?

EVET ☐ HAYIR ☐

Düzenli fiziksel aktivite ya da egzersiz yapar mısınız?

EVET ☐ HAYIR ☐

Tıbbi Durum

En son hastalık geçirdiğiniz zaman?

En son ne zaman bir hastalık gerekçesi ile hastaneye gittiniz?

Her hangi bir alerjik durumunuz var mı?

EVET ☐ HAYIR ☐

Yüksek ya da düşük tansiyon hastalığınız var mı?

EVET ☐ HAYIR ☐

Reçeteli /reçetesiz düzenli/düzensiz ilaç kullanıyor musunuz?

EVET ☐ HAYIR ☐

Vitamin desteği /bitkisel ilaç/gıda takviyesi desteği alıyor musunuz?

EVET ☐ HAYIR ☐

İşiniz gereği her hangi bir zararlı kimyasala maruz kalıyor musunuz?

EVET ☐ HAYIR ☐

Kadınlar için

Menstrual döngü zamanınız nedir? (kaç günde bir/kaç gün süreyle)

Hormon tedavisi alıyor musunuz ya da herhangi bir kontrol doğum kontrol ilacı kullanıyor musunuz? EVET ☐ HAYIR ☐

Ailevi Hikâye

Yakın akrabanızda kanser hastası var mı? EVET ☐ HAYIR ☐

Yakın akrabanızda kalp ve damar hastalığı olan var mı? EVET ☐ HAYIR ☐

Yakın akrabanızda böbrek rahatsızlığı olan var mı? EVET ☐ HAYIR ☐

Yakın akrabanızda diyabet olan var mı? EVET ☐ HAYIR ☐

Yakın akrabanızda karaciğer hastalığı olan var mı? EVET ☐ HAYIR ☐

Yakın akrabanızda tiroidi bozukluğu olan var mı? EVET ☐ HAYIR ☐

Yakın akrabanızda talasemi ya da hemoglobinopatisi olan var mı? EVET ☐ HAYIR ☐

Yakın akrabanızda nörolojik bozukluğu olan var mı? EVET ☐ HAYIR ☐

Yakın akrabanızda mental bozukluğu bulunan var mı? EVET ☐ HAYIR ☐

Not*** : Yakın akrabadan kasıt anne baba ve kardeşler

Tüm katılımcıların Hemogram değerleri TİT analizleri ve açlık kan glukoz, kreatin, total kolesterol, trigliserit, GGT, ALT, CK ve CRP değerleri saptanmalı.

EK-2: NUMUNE TOPLAMA ÖNCESİ ANKET DEĞERLENDİRME FORMU

Adı-Soyadı:

EVET ☐ HAYIR ☐

Tarih: / /

Toplama zamanı (SAAT):

Şayet hastalandı iseniz hastalığınızı tanımlayın ve ne zaman hasta oldunuz?

1. Aç mısınız?

EVET ☐ HAYIR ☐

En son yemek yediğiniz saat :

6. Herhangi bir ilaç kullandınız mı ya da vitamin takviyesi aldınız mı?

2. Son 48 saat içinde alkol aldınız mı?

EVET ☐ HAYIR ☐

EVET ☐ HAYIR ☐

Şayet aldıysanız ne zaman aldınız ve ne içtiniz?

Şayet kullandı iseniz kullandığınız ilacın ismini ve ne sıklıkla kullandığınızı yazınız

3. Sigara içtiniz mi?

EVET ☐ HAYIR ☐

Şayet evet ise son sigarayı ne zaman içtiniz?

.....

7. En son numuneyi verdikten sonraki bir hafta içinde her hangi bir fiziksel aktivite de bulundunuz mu?

EVET ☐ HAYIR ☐

4. En son numune verdikten sonra özel bir diyet uyguladınız mı ve ya özel bir yemek yediniz mi?

EVET ☐ HAYIR ☐

Şayet evet ise yaptığınız fiziksel aktiviteyi tanımlayınız (örn ev taşıdım, halı saha maçı yaptım vb)

Şayet özel bir diyet uyguladı iseniz ne yediniz?

8. Kadınlar için: son menstrual periyodunuz ne zamandı?

5. En son numuneyi verdikten sonra hastalandınız mı?

.....

