

DERLEME

Bülent Turhan¹
Burcu T. Çalık²
Hilmi Demirin³

¹Atatürk Devlet Hastanesi,
Düzce

²Marmara Üniversitesi Sağlık
Bilimleri Fakültesi, İstanbul

³Düzce Üniversitesi Tıp
Fakültesi Biyokimya AD,
Düzce

İletişim adresi:

Uz. Dr. Bülent Turhan

Atatürk Devlet Hastanesi, Düzce

Tel: 0532 373 8789

Email: bulentturhan@hotmail.com

Konuralp Tıp Dergisi

e-ISSN1309-3878

konuralptipdergi@duzce.edu.tr

konuralpgeneltip@gmail.com

www.konuralptipdergi.duzce.edu.tr

Kanıtı Dayalı Tıp Laboratuvar Testleri ve Preanalitik Değişkenler

ÖZET

Kanıtı dayalı tıp, klinisyenin kişisel deneyimlerini sistematik araştırmalarla elde edilen mevcut en iyi kanıtlarla birleştirmesidir. Günümüz hekimlik uygulamalarında doktorun kanaatine bağımlı klasik yöntem yerine, kanıtı dayalı yöntemler tercih edilmektedir. Tanı, tedavi ve takipte çok önemli olan laboratuvar sonuçlarının doğru değerlendirilmesi zaman ve maliyet-etkinlik açısından da önemlidir. Klinisyenler laboratuvar analizlerinden kesin ve net sonuç beklerler fakat laboratuvar test sonuçlarından bazen beklenmeyen sonuçlar çıkabilmektedir. Bunların büyük kısmı laboratuvar test prosedürlerinden değil hastanın demografik özellikleri, numunenin alınma şekli ve diğer dış faktörlere bağlı olmaktadır. Hasta sayıları giderek artan birinci basamak hekimlerinin çabuk ve doğru şekilde değerlendirmeler yapabilmeleri için laboratuvar test sonuçlarını etkileyen preanalitik değişkenleri bilmeleri önemlidir. Bu derlemede preanalitik değişkenlerin test sonuçlarına etkileri özetlenerek birinci basamak hekimlerine pratik bir başvuru kaynağı sunmak amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kanıtı dayalı tıp, preanalitik değişkenler, beklenmeyen test sonuçları, birinci basamak hekimliği, laboratuvar, demografik özellikler

Evidence Based Medicine Laboratory Tests and Preanalytical Variables

ABSTRACT

The practice of evidence-based medicine means logical integration of individual clinical experiences with the best available evidences from systematic research. The recent clinical practice tends to apply evidence based procedures instead of individual clinical opinions. True interpretation of laboratory results is important on diagnosis, treatment and follow-up as well as time and cost effectivity. Although clinicians expect decisive and clear results from the laboratory tests, sometimes unexpected results can be seen. Most of these occasions are resulting from demographic properties, obtaining the sample and other external factors rather than laboratory procedures. It is important to know preanalytical variations that affect the laboratory test results to make quick and accurate assessments for the primary care physicians who are getting increasing number of patients. The aim of this review is to introduce a practical source to the primary care physicians by briefing the effects of preanalytical variables on laboratory test results.

Keywords: Evidence based medicine, preanalytical variations, unexpected test results, laboratory, primary care medicine, demographic properties.

GİRİŞ

Kanıtı dayalı tıp, klinisyenin hasta bakımı ile ilgili aldığı kararlarda mevcut en iyi kanıtların akılcı, dikkatli ve şeffaf kullanımınıdır (1). Klinik tecrübe ve sistematik araştırmalarla elde edilen mevcut kanıtların hastanın değer ve beklentileriyle entegrasyonu ise yeni bir kavramdır (1). Hastanın değer ve beklentilerinin gittikçe önem kazanması, sağlık yönetimini kalite ve hasta memnuniyetini de içine alan dinamik bir süreç haline getirmektedir (1,2). Günümüz hekimlik uygulamalarında doktorun kanaatine bağımlı klasik yöntem yerine, kanıtı dayalı yöntemler tercih edilmektedir. Kanıtı dayalı tıpta tanı, tedavi ve takipte laboratuvar vazgeçilemez bir unsurdur. Ülkemizde de bu konudaki uygulamaları geliştirmek için çalışmalar sürmektedir (3).

Tıbbi tanı hekimin klinik durumun özelliklerinden yola çıkarak tahminlerde bulunması ve buna uygun hareket planları yapmasını sağlayacak bir kategorizasyonlar zinciridir (4) Aile hekimliğine yeni giren hekimleri bekleyen zorluklardan biri de çok sayıda hastayı çabuk ve doğru şekilde değerlendirmektir (5). Bunun için de klinisyenler laboratuvar analizlerinden kesin ve net bir sonuç beklerler (6,7). İstenen testlerin amacı da klinik belirsizliği en aza indirmektir. Fakat biyokimyasal testlerin yüzde yüz sensitivite ve spesifiteye sahip olmadıkları da bilinmektedir (7). Laboratuvar test sonuçlarındaki beklenmeyen sonuçlardan birçoğu laboratuvar test prosedüründen değil de diğer dış faktörlerden kaynaklanmaktadır (8). Hasta yaşı, cinsiyeti, demografik özellikleri ve numunenin alınma şekli gibi faktörler laboratuvar sonuçlarını etkilemektedir (9-11). Bu faktörlerin en aza indirilmesi için hastanın hazırlanması ve numune alınması konularında bir standardizasyon gerekmektedir. Aynı kişiye ait olsa bile birbirinden oldukça farklı test sonuçlarıyla karşılaşılabilen bu durum laboratuvarın sorgulanması, testlerin tekrarı vs. gibi gereksiz zaman kaybı ve maliyeti artırıcı sonuçlara sebep olabilmektedir. Birçok sağlık merkezinde bu standardizasyon tam olarak sağlanamamaktadır (9). Numune alımı sırasında getirilen standardizasyon ile bu değişkenler (preanalitik değişkenler) en aza indirgenmeye çalışılmaktadır. Tietz Textbook of Clinical Chemistry temel alınarak hazırlanan bu yazının amacı, birinci basamak sağlık hizmeti sunan hekimlere, biyokimyasal testleri yorumlarken, bu testlerin özellikle preanalitik safhada nelerden ve nasıl etkilendikleri konusunda bilgilendirerek hızlı ve etkin kararlar verebilmelerine yardımcı olmaktır.

Biyokimyasal analizler, hastadan alınan numunenin test sonuçlarının hasta için bir yarar oluşturmasına kadar üç evrede incelenir. Bunlar; preanalitik, analitik ve postanalitik evrelerdir (6,12). Preanalitik evrede test sonuçlarını etkileyen faktörlere “preanalitik değişkenler” denir (6). Preanalitik

değişkenler; kontrol edilemeyen ve kontrol edilebilen faktörler olarak değerlendirilmektedir (Tablo 1)(6,9).

Tablo 1. Preanalitik Değişkenler

<p>A.Kontrol edilemeyen faktörler (internal faktörler)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Kişisel değişimler 2. Yaş 3. Cinsiyet 4. İrk <p>B.Kontrol edilebilen faktörler (eksternal faktörler)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Egzersiz 2. Gebelik 3. Diyet 4. Kahve, sigara, alkol alımı 5. Postür 6. Örnek alımı <ul style="list-style-type: none"> • Örnek alınan yer ve alınma şekli • Kan alınan tüp, kullanılan antikoagülan • Örneğin alındığı zaman • Örneğin etiketlenmesi 7. Örneğin laboratuvara iletilmesi 8. Örneğin labovatuarda gördüğü işlemler

A. Kontrol Edilemeyen Faktörler:

Kişiye ait, fizyolojik, değiştirilemez etkenlerdir (6). Biyolojik çevre ve uzun süreli bireysel değişimlere bağlı faktörlerdir. Bunlara “*internal faktörler*” denmektedir (6).

1. Kişisel Değişimler:

Açlık-tokluk, fiziksel aktivite, stres, uyku-uyanıklık siklusları diurnal varyasyona neden olabilmektedir. Diurnal varyasyon gösteren en önemli analitler hormonlarıdır. Bazı analit konsantrasyonlarında ise mevsimsel değişimler gözlenir, örneğin yazın serum 1,25-dihidroksikolekalsiferol düzeyinde güneşe maruziyet süresi ile paralel yükseklik gözlenmektedir (6).

2. Yaş:

Yaşa bağlı değişimler kişinin seksüel gelişimine ve kas kitlesindeki değişimlere bağlı olarak yenidoğan, çocukluk, erişkin ve yaşlılık dönemleri olarak dört grupta incelenmektedir (6,8,13).

a) Yenidoğan dönemi

Yeni doğanın kan parametrelerinde doğum travmasının (asidoz) ve dış ortama adaptasyonun bulguları gözlenmektedir. Hemoglobin ve eritrosit sayısı yüksektir. Eritrositlerin hızlı yıkımına bağlı olarak birinci haftada bilirubin yüksek seyretmektedir (6). GGT, CK ve AST aktiviteleri yüksek, glikoz ise glikojen rezervlerinin azlığına bağlı olarak düşüktür. TSH ve T4 yüksekliğine bağlı “fizyolojik hipertiroidi” yaşamın birinci yılında normale dönmektedir.

b) Çocukluk dönemi

Plazma albümin ve protein konsantrasyonu yavaş yavaş yükselir, albümin 3 yaş, protein 10 yaş civarında erişkin düzeye erişir. Yine serum enzim aktiviteleri de yavaş yavaş erişkin döneme ulaşır, fakat ALT aktivitesi daha yavaş düşer. İnfantta yüksek olan ALP seviyesi biraz düşer fakat puberteden hemen önce tekrar yükselmeye başlar. Bu enzimin aktivitesi iskelet büyümesiyle paralellik göstermektedir. Serum kreatinin seviyeleri de kas-iskelet sisteminin gelişimine bağlı olarak puberteye kadar artış gösterir (6).

c) Erişkin dönemi

Erişkin dönemi değerleri genellikle çocukluk ve yaşlılık dönemi değerleriyle karşılaştırma yapılırken referans alınmaktadır. Total kolesterol, trigliserid ve LDL- kolesterol yaşa bağlı olarak artar (6). Orta yaş civarlarında serum protein ve albumin seviyelerinde düşüş görülmeye başlar. Her iki cinste de düşüş eğilimi gösteren fosfor ise kadınlarda menopoza sonrasında hızla artmaya başlar. Yine kadınlarda postmenopozal dönemde ALP aktivitesinde de artış görülmektedir.

d) Yaşlılık dönemi

Üçüncü ve dokuzuncu dekatlar arasında renal konsantrasyon kabiliyeti neredeyse %50 oranında düşüş göstermektedir. Bu düşüş, idrar kreatinin atılımındaki düşmeyi de beraberinde getirir. Buna karşın plazma üre ve kreatinin konsantrasyonlarında artma eğilimi görülmektedir. Genç yetişkin yaşa göre 80 yaşında renal kan akımı ve glomeruler filtrasyon %50 oranında düşüş gösterir. Bu da çeşitli metabolitlerin ve ilaçların daha yavaş eliminasyonu demektir (14) 80 yaş civarında albümin değerleri de %15 oranında daha düşük olabilir (6).

Kadınlarda menopoza döneminde değişimler gözlenmektedir. Estrojen seviyeleri düşerken gonadotropin seviyeleri artar. Menopoz sonrasında kadınlarda diğer birçok serum parametrelerinde yükselme olmaktadır.

3. Cinsiyet

Cinsiyetler arasında puberteye kadar belirgin fark yok iken puberte sonrasında değişen seks hormonu konsantrasyonlarıyla birlikte büyük farklar olmaktadır (6). Erkeklerde ALT, AST, ALP ve kas kitlesindeki artışa bağlı olarak CK enzimlerinde yükselme olur. Serum kreatinin, üre, ürik asit, albumin, kalsiyum, magnezyum, kolesterol, LDL, Hb, ferritin ve demir konsantrasyonu erkeklerde daha yüksek iken gama globulin ve bakır kadınlarda daha yüksektir.

4. Irk

Siyah ırkta kas kitlesinin fazlalığı nedeniyle kreatinin kinaz ve laktat dehidrogenaz aktiviteleri

yüksektir. Serum protein konsantrasyonu özellikle gama-globülinler siyah ırkta daha yüksek iken albümin seviyeleri beyaz ırka göre daha düşüktür (6). Yine siyah ırkta glikoz toleransı beyaz ırka göre daha düşüktür.

B. Kontrol Edilebilen Faktörler:

1. Egzersiz

Egzersiz birçok biyokimyasal parametrede değişime neden olmakta, egzersizin süresi, etkisi, yoğunluğu ile değişmektedir (6). Üre, kreatinin ve T4 konsantrasyonları, HDL-kolesterol atletlerde daha yüksek iken lipid ve kolesterol konsantrasyonları daha düşüktür. İskelet kası kaynaklı enzimlerden CK ve CK-MB de daha yüksektir. İnsülin salınımı azalmakta, glukagon ve büyüme hormonu artmaktadır. Kan pH'sı, oksijen saturasyonu ve venöz HCO₃ azalmaktadır.

2. Gebelik

Gebelikte meydana gelen değişimlerin büyük bölümü 2.500-3.000 ml. kadar artan kan volümüne bağlı olmaktadır. Fakat laboratuvar sonuçlarını değerlendirilirken gebelik haftası göz önüne alınmalıdır. Gebelikte oluşan hemodilüsyon, protein sentezinin artmasına rağmen konsantrasyonunda azalmaya sebep olmaktadır. Eritropoetin artmasına rağmen hemodilüsyona bağlı olarak hemoglobin, eritrosit sayısı ve hematokrit de azalmaktadır. Seruloplazmin ve tiroksin bağlayıcı proteinlerdeki artışa bağlı olarak serum bakır ve T4 seviyelerinde artış görülmektedir. Artan glomerular filtrasyona bağlı olarak kreatin 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 düzeylerinde de artmaktadır (6).

3. Diyet

Plazma kompozisyonunda diyetin büyük etkisi vardır. Toklukta plazma glukoz, demir, TG, ALP ve insülin düzeylerinde artış görülmektedir. Yüksek protein diyetinde dört gün içinde plazma üre konsantrasyonunda dört kat bir artış ve beraberinde kolesterol, fosfat, ürat ve amonyak seviyelerinde de artış olmaktadır. Yağdan zengin diyetle serum üre ve amonyak konsantrasyonu azalmaktadır. Nişastalı ve sükrözdan zengin diyetle ALP ve LDH artmaktadır. Karbonhidrattan zengin beslenme ise TG, kolesterol, VLDL ve protein konsantrasyonları düşmektedir (6).

4. Kahve, sigara ve alkol alımı

Kafein, adrenal medulla stimülasyonu ile katekolamin ve metabolitlerinin artmasına neden olmaktadır. Metabolizma üzerinde de çeşitli etkileri görülmektedir (13). Hafif glukoz intoleransına da yol açarak plazma glukoz seviyesinde de artışa neden olmaktadır. Kafein fizyolojik diüral 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 karboksi Hb düzeyinde artma, HDL-C seviyesinde de azalma görülmektedir. İmmünite üzerinde de etkisi olan sigara plazma immünoglobulin seviyelerinde azalmaya sebep olmaktadır.

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. Beslenme bozukluğu olanlarda, çocuklarda ve kronik alımda glukoneogenezisi inhibe ederek hipoglisemi, ketonemi ve laktat düzeyinde artışa neden olur. Laktat böbreklerde üre ile yarışarak ürenin atılımını azaltır ve kan seviyelerini yükseltir. Etanolün metabolize edilmesiyle ortaya çıkan asetaldehit ve asetat laktat ile birlikte asidoz oluşumuna katkıda bulunur. Karaciğerde ürik asit, trigliserit sentezlerini artırır. Kronik alkol alımı enzim indüksiyonu yoluyla GGT, AST ve ALT gibi birçok enzimin aktivitesini de artırır. Kahve, sigara ve alkolün glukoz metabolizmasına etkileri sebebiyle oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında tüketilmemesi gerekmektedir (6).

5. Postür

Yatar pozisyonundan dik konuma geçince, intravasküler sıvının 600-700 ml kadarı ekstrasvasküler aralığa geçer ve total damar içi hacim azalır buna bağlı olarak büyük molekülü (proteinler ve bunlara bağlı analitler) bir çok analitin konsantrasyonu da göreceli olarak artar. Bu artış %10 oranında olabilir.

Kalp atım sayısı kan basıncı ayaktaiken daha yüksektir. Yatar pozisyonundan ayakta pozisyona geçmekle katekolamin ve aldosteron, anjiyotensin II, renin, ve ADH salımı artar. Epinefrin ve norepinefrin konsantrasyonu iki katına çıkabilir.

Birkaç günlük yatak istirahatinde plazma ve ekstrasellüler sıvı azalır, dört gün içinde hematokrit %10 kadar artar, total protein ve albumin 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.

6. Örnek alımı

- *Örnek alınan yer ve alınma şekli:*

Kan alma yerinin temizliği %70'lik izopropanol veya etil alkol kullanılarak yapılmalıdır. Kan numunesinin alınma şekli laboratuvar testlerini etkileyebilme, turnike bağlandıktan hemen sonra alınan kan gerçek değerlere en yakın olanıdır. Turnikenin üç dakikadan fazla tutulması lokal anoksiye ve venöz basınç artışına sebep olarak AST, total protein, total lipit, kolesterol, bilirubin ve potasyum düzeylerinin %5-10 artmasına sebep olabilmektedir. Bundan dolayı kalsiyum gibi hassas ve klinik olarak çok önemli durumlarda ilk alınan numune kullanılmalıdır. Biyokimyasal testlerde arteriyel, venöz ya da kapiller kaynaklı kan farklılıklarına yol açmaktadır (6,15).

Arteriyel kanda "metabolik ihtiyaçlar" fazla iken, venöz kanda "metabolik atıklar" fazladır. Kapiller kan kompozisyonu arteriyel kana yakındır. Oldukça sık kullanılan glukometreler kapiller kandan ölçüm yaparlar. Glukoz ölçümünde açlıkta fazla fark olmazken, postprandiyal ölçümde %15 kadar bir fark oluşabilir (15). Kan gazı parametrelerinde de venöz ve arteriyel kan örneklerinde belirgin farklar gözlenmektedir (6).

Turnike uygulanması:

Turnike, ponksiyon yapılacak noktanın 10-15 cm üzerine bağlanmalı, 1 dakikadan fazla tutulmamalıdır. Hastanın yumruğunu sıkıp bırakmasına engel olunmalıdır. Çünkü bu durumda potasyum, fosfor, laktat, iyonize kalsiyum artarken pH düşmektedir. Şırınga kullanımında piston çekilirken (hemolize engel olmak için) fazla negatif basınç uygulanmamalı, tüpe boşaltırken iğne çıkarılmalı ve kan püskürtülmemelidir. Kan mümkün olduğunca az travmatize olmalıdır. Kan alımında daha az travmaya sebep olan vacutainer gibi aparatlar kullanılmalıdır.

Ağır hemolizde hücre içi yüksek konsantrasyonda olan aldolaz, asit fosfataz, AST, LDH, CK, isositrat dehidrogenaz, Mg, K gibi maddelerin düzeyleri artmaktadır.

Kan alınmaması gereken yerler:

- a. Intravenöz katül olan koldan
- b. Yaygın skar dokusu veya hematoma olan bölgeden
- c. Lenfostaz nedeniyle mastektomi yapılmış taraftan
- d. Arteriyovenöz fistül olan koldan
- e. Ülsere alandan
- f. Tedavi için gerekli olan büyük damarlardan kan alınmamalıdır.

- *Kan alınan tüp, kullanılan antikoagülan:*

Analizi uygulanacak parametreye uygun tüpün kullanımı önemlidir. Çoğu zaman biyokimyasal testler için serum kullanıldığından kan boş tüpe alınmaktadır (6).

- *Örneğin alındığı zaman:*

Gün içinde değişime uğrayan analitlerin ölçümünde numune alınma zamanlarının standardize edilmesi

şarttır. Serum demirinin sabah ve öğleden sonraki değerlerinde %50 fark olabileceği bilinmelidir. Kişisel değişimler bölümünde değinilen hormonal analitlerin gün içi değişime uğrayan parametrelerden olduğu unutulmamalıdır. İlaç düzeyi analizlerinde örnek alım zamanına dikkat edilmelidir (6).

o *Örneğin etiketlenmesi:*

Örneği alan sağlık personelinin, örneği alınan tüpe hastanın adının doğru yazması, örneği teslim alan laboratuvar görevlisinin ise örnek ile istek belgesini kontrol etmeyi unutmaması kontrol edilmelidir (6).

7. *Örneğin laboratuvara iletilmesi:*

Örnek hastadan alındıktan sonra analizine kadar geçen sürede olan gecikmeler çeşitli analitlerin düzeyinde değişmelere neden olmaktadır. Glikoz düzeyi azalmakta, pH düşmektedir. Bu yüzden kan numunesi alındıktan, en geç 2 saat içinde santrifüje edilerek hücresel elemanlarından ayrılmasına dikkat edilmelidir (6). Zamanla hemoliz gelişerek potasyum ve diğer hücre içi maddelerin hücre dışına sızarak yanlış değerlendirmelere sebep olabileceği unutulmamalıdır.

8. *Örneğin laboratuvarında görüldüğü işlemler:*

Numune laboratuvara ulaştığında her analit için uygun hız ve sürede santrifüj edilmeli, saklanacaksa ısı ve ışık için uygun koşulların sağlanması gerekmektedir (6).

KAYNAKLAR

1. Sackett DL, Rosenberg WM, Gray JAM, Haynes BR, Richardson SW. Evidence based medicine: what it is and what it isn't. *BMJ* 1996; 312:71-72.
2. Harteloh PP. Quality systems in health care: a sociotechnical approach. *Health Policy* 2003;64(3):391-398.
3. Akpınar E, Şahin E.M. Aile Doktorları için Kurs Notları. 1. Aşama. Bölüm III. Birinci Basamakta Klinik Yaklaşım. Ayrışmamış Hastaya Yaklaşım 1. Basım. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı, 2004;79-88.
4. Charlin B, Tardif J, Henny PA, Boshuizen A. Scripts and Medical Diagnostic Knowledge: Theory and Applications for Clinical Reasoning Instruction and Research. *Acad Med* 2000; 75:182-190.
5. Hull FM. Diagnostic pathways in rural general practice. *J R Coll Gen Pract* 1969;18(86):148-55.
6. Güner G, Tuncel P, Örmen M. Preanalitik evrede kalite yönetimi. In: Tıbbi Laboratuvarında Standardizasyon ve Kalite Yönetimi. Tağa Y, Aslan D, Güner G, Kutay ZF (Ed). Ankara: Türk Biyokimya Derneği Yayınları, 2000;139-149.
7. Wallach J. (Çev Ed: Tuzcu S). Referans değerler. In: Wallach J. Interpretation of diagnostic tests. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000:3.
8. Durrington NP. Biological Variation in Serum Lipid Concentrations. *Scand J Clin Lab Invest* 1990;50:86-91.
9. Young SD, Bermes 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.
10. Erden G, Barazi AO, Tezcan G, Yildirimkaya MM. Biological variation and reference change values of CA 19-9, CEA, AFP in serum of healthy individuals. *Scand J Clin Lab Invest* 2008;68(3):212-218.
11. Coşkun A. Total variation of LDL-cholesterol apolipoprotein B/serum apolipoprotein B is superior to LDL-cholesterol level in predicting incident coronary disease among Turks. Letters to the editors. *J Anat Cardiol* 2007;7:331-332.
12. Dalpino F, Barreto ML, Castilho L, Faria E. Rhythms of biochemical serum parameters in a Brazilian population: a Three-Year Study. *J Biol Med Rhythm Res* 2005;22: 925-935.
13. Holmes EW. The Interpretation of Laboratory Tests. In: Clinical Laboratory Medicine. McClatchey KD. Ed. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002;96-121.
14. Passare G. Drug use and side effects in the elderly. Karolinska University Press, 2005.
15. Dufour RD. Sources and control of preanalytical variation. In: Kaplan AL, Pesce JA, Kazmierczak CS. Clinical Chemistry 4th ed. Missouri: Mosby, 2003;66-81.