

# Kartal Bölgesinde Vitamin B<sub>12</sub> ve Folik Asit Referans Aralıklarının Belirlenmesi

## *Determination of Vitamin B<sub>12</sub> and Folic Acid Reference Intervals at Kartal District*

Yalçın Önder\*    Sehavet Tezcan\*\*    Özlem Hürmeydan Kadılar\*\*\*  
Lale Köroğlu Dağdelen\*\*\*\*    Özlem Çakır Madenci\*\*\*\*    Nihal Yücel\*\*\*\*  
Asuman Orçun\*\*\*\*

- \* Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı, TOKAT, Türkiye  
\*\* M.Enver Şenerdem Torbalı Devlet Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, İZMİR, Türkiye  
\*\*\* Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, SAKARYA, Türkiye  
\*\*\*\* Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, İSTANBUL, Türkiye

**Başvuru Tarihi:** 1 Aralık 2014

**Kabul Tarihi:** 18 Aralık 2014

### ÖZET

#### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada hastanemiz laboratuvarında çalışılan parametrelerden Folik Asit ve Vitamin B12 ye ait referans aralıklarının hesaplanması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** CLSI C28-A prosedürüne uygun olarak seçilen 300 sağlıklı bireyin serumlarında Folik Asit ve Vitamin B12 düzeyleri Advia Centaur XP (Siemens) otoanalizöründe; direkt kemilüminesans yöntemi ile yarışmalı immunoassay olarak çalışıldı. Referans aralıkları Analyze-it for Microsoft Excel Version 2.20 programı ile belirlendi.

**Bulgular:** Ortalama Serum B<sub>12</sub> Vitamini düzeyi 301,57±114,6 pg/ml (Erkeklerde 297,19±111,6 pg/ml, Kadınlarda 304,97±117,2 pg/ml); ortalama Serum Folik Asit düzeyi ise 8,71±3,9 ng/ml (Erkeklerde 8,54±4,05 ng/ml, Kadınlarda 8,81±3,81 ng/ml) olarak saptandı. Erkek ve kadın değerleri farklılık göstermediğinden Vitamin B<sub>12</sub> serum referans değeri 155-639 pg/ml. ve Folik Asit serum referans değeri ise 2,87-19,49 ng/ml olarak hesaplandı.

**Sonuç:** Çalışma sonucunda elde edilen referans aralıkları, üretici firmanın önerdiklerinden farklı çıkmıştır. Bu değerlerin hastanemiz popülasyonunu üreticilerin belirlemiş olduğu değerlerden daha gerçekçi yansıttığı ve referans aralığı olarak kullanılabilceği düşünüldü.

**Anahtar Kelimeler:** B12 Vitamini; Folik asit; Referans Aralık.

## ABSTRACT

**Purpose:** The purpose of this study is to determine serum B12 and folic acid reference values that can be used in our hospital district population.

**Materials and Methods:** 300 healthy individuals were chosen according to CLSI Approved Guideline C28-A. Serum levels of vitamin B<sub>12</sub> and folic acid were analyzed by ADVIA Centaur XP immunoassay System. The reference intervals are calculated using Analyse-it for Microsoft Excel Version 2.20 program.

**Results:** The mean±SD of vitamin B<sub>12</sub> level was 301,57±114,6 pg/ml (297,19±111,6 pg/ml male, 304,97±117,2 pg/ml in female), the mean±SD of folate level was 8,70±3,90 ng/ml (8,54±4,04 ng/ml in male, 8,81±3,81 ng/ml in female). Vitamin B<sub>12</sub> reference intervals were found as 155-639 pg/ml. Folate reference intervals were found as 2,87-19,49 ng/ml.

**Conclusion:** The reference values that we found in our study were different from the values recommended by the manufacturer company. We think that these values reflect our hospital population more truly than manufacturer's and should be used as reference intervals.

**Key Words:** Vitamin B<sub>12</sub>; Folic acid; Reference interval

## GİRİŞ

Referans aralığı tanımı; sağlıklı toplumdan elde edilen "Sağlıklı olmakla ilişkili" değer aralığının, gerekli en az düzeydeki şartları sağlayacak tarzda güvenli ve kullanışlı olacak şekilde belirlenmesi şeklinde yapılabilir. Her test için üretici firma tarafından belirlenmiş bir referans aralığı varsa da, bu aralığın her zaman hitap edilen toplumun referans değerlerini yansıttığı söylenemez. Burada toplumun coğrafi, kültürel özellikleri, seçilen referans grupları ve kullanılan laboratuvar teknikleri gibi etkenler rol oynamaktadır. Bu nedenle de uluslararası kılavuzlar her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesini önermektedir. (1, 2).

Folik asit ve vitamin B12 suda eriyen, sinir ve beyin fonksiyonları ile hemopoezde rol oynayan, ayrıca serotonin, katekolamin gibi nörotransmitterlerin sentezinde koenzim olarak yer alan vitaminlerdir. Bu vitaminlerin düzeyleri yaş, cinsiyet, sigara, alkol gibi genel değişkenlerin yanı sıra (3, 4), beslenme alışkanlıkları gibi yerel değişkenlerden, hatta mevsimsel özelliklerden de etkilenmektedir (5, 6). Bu nedenle bu testler için laboratuvarın kendi referanslarını belirlemesi daha da önem kazanmaktadır.

Referans aralıklarının belirlenmesi, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute: CLSI) ve

Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbi Federasyonu (International Federation of Clinical Chemistry: IFCC) önerilerine göre yapılmaktadır. Aynı şekilde referans bireylerinin seçimi de CLSI ve IFCC ilgili dokümanlarında standardize edilmiştir (6, 7).

Bu çalışmanın amacı; CCLI ve IFCC tarafından önerilen kriterler çerçevesinde doğrudan örneklendirme ile seçilen 300 kişilik bir referans grubu kullanılarak laboratuvarımızda çalışılan Folik Asit ve Vitamin B12' nin referans aralıklarını belirlemektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya tüm yaş gruplarından, hastanemiz polikliniklerine başvuran hasta ve hasta yakınları arasından, CLSI C28-A prosedürüne uygun olarak hazırlanan anket formuna uygun olarak seçilmiş 300 birey "Doğrudan Örneklendirme Yöntemi" ile dahil edildi. Veriler kadın-erkek olarak ve 10'ar yıllık 7 ayrı yaş grubunda ayrı ayrı değerlendirildi. 12-14 saatlik bir gecelik açlık sonrası, sabah 08:00-10:00 saatleri arasında vakumlu jelli tüpe oturur pozisyonda 5 ml kan alındı. Alınan kan yaklaşık 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 1500 g'de 5 dakika santrifüj edildi ve ayrılan serum, analiz gününe kadar -20 C° de saklandı. Serum vitamin B<sub>12</sub> ve serum folat düzeyleri Advia Centaur XP (Siemens) otoanalizöründe; direkt kemilüminesans yöntemi ile yarışmalı immunoassay olarak çalışıldı.

Verilerin normal dağılıma uygunluğunun kontrolü için Kolmogorov-Smirnov Testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Independent Samples Testi (student-t) ve Mann Whitney U Testi, yaş grupları arasındaki karşılaştırmalarda ise Varyans Analizi ile birlikte Tukey HSD Post Hoc çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Uç değerlerin atılmasında Dixon Metodu kullanıldı. Veriler normal dağılıma sahip olmadığından, referans aralıkları non-parametrik persentil yöntemiyle Analyse-it for Microsoft Excel Version 2.20 paket programı kullanılarak hesaplandı. Araştırma için etik kurul izni alınmış ve katılımcılar araştırmanın amaçları konusunda bilgilendirilerek katılım gönüllülüğüne esasına göre sağlanmıştır.

## BULGULAR

Folik asit için örneklem grubu 300 kişi olup; 119 (%40) erkek, 181 (%60) kadından oluşmaktaydı. Grubun yaş ortalaması  $38,7 \pm 22,1$  idi. Ortalama serum folik asit düzeyi tüm grupta  $8,71 \pm 3,9$  ng/ml olarak bulunmuş olup; erkeklerde  $8,54 \pm 4,05$  ng/ml, kadınlarda  $8,81 \pm 3,81$  ng/ml idi ve cinsiyetler arasında anlamlı fark bulunmadı (Tablo I).

Örneklem grubunda yaş grupları arasında istatistiksel karşılaştırmada; 0-9 yaş grubunun folik asit düzeyleri diğer yaş gruplarından üçü ile (20-29, 40-49 ve 60+) anlamlı farklı bulundu ( $p=0.030$ ,  $p=0.027$ ,  $p=0.000$ ). Yaş grupları arasındaki cinsiyete özgün istatistiksel karşılaştırmada erkeklerde ve kadınlarda sadece 0-9 yaş grubu ile 60+ yaş grubu arasındaki fark önemli bulundu ( $p=0.02$ ,

$p=0.01$ ). Folik asit için referans aralık hesaplanmasında her iki cinsiyet arasında anlamlı bir fark bulunmadığından cinsiyetlere göre alt gruplama yapılmaksızın grubun tamamı hesaplama dahil edildi. Ayrıca 0-9 yaş grubu ( $n=40$ ) diğer yaş gruplarının bazılarında anlamlı farklı çıkması nedeniyle ayrı değerlendirilmesi gerektiği düşünüldüğünden hesaplama dışı tutuldu.

B<sub>12</sub> vitamini için de örneklem grubu 300 kişi olup; 131 (%44) erkek, 169 (%56) kadından oluşmaktaydı. Grubun yaş ortalaması  $35,7 \pm 22,6$  idi. Ortalama Serum B<sub>12</sub> Vitamini düzeyi tüm grupta  $301 \pm 114$  pg/ml olarak bulunmuş olup; erkeklerde  $297 \pm 111$  pg/ml, kadınlarda  $304 \pm 117$  pg/ml idi (Tablo II). Serum B<sub>12</sub> Vitamini düzeylerinde cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Cinsiyetler arasında yaş gruplarına göre ayrı ayrı farka bakıldığında da anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Yaş grupları arasındaki farklar da istatistiksel olarak anlamlı ( $p>0.05$ ) olmadığından B<sub>12</sub> vitamini için referans aralık hesaplanmasında cinsiyet ve yaş grubu gibi alt gruplar oluşturmaya gerek görülmedi.

Tablo III'de B<sub>12</sub> Vitamini ve folik Asit (10 ve üzeri yaştaki bireylerden oluşan toplam 260 kişilik grupta) için elde edilen referans değerleri görülmektedir. Folik asit için 0-9 yaş grubu sonuçları ise: ortalama  $\pm$ SD  $11,09 \pm 4,3$  ng/ml, %90 güven aralığı sınırları ise 4,72-22,78 olarak bulunmuştur. Örnek sayısı az olduğundan ( $n=40$ ) referans aralığı hesaplanmamıştır.

**Tablo I.** Yaş Grubu ve cinsiyete göre Serum Folik Asit düzeyleri (ng/ml)

**Table I:** Serum folate levels by age group and sex

Yaş Grupları	Erkek		Kadın		Tüm Grup	
	n	Ort. $\pm$ SD	n	Ort. $\pm$ SD	n	Ort. $\pm$ SD
0-9	25	10,87 $\pm$ 4,09	15	11,44 $\pm$ 4,66	40	11,08 $\pm$ 4,26
10-19	12	8,41 $\pm$ 4,11	28	9,04 $\pm$ 3,89	40	8,85 $\pm$ 3,92
20-29	12	8,31 $\pm$ 3,62	18	8,14 $\pm$ 2,66	30	8,21 $\pm$ 3,02
30-39	8	8,62 $\pm$ 2,92	21	8,23 $\pm$ 3,82	29	8,34 $\pm$ 3,55
40-49	11	7,95 $\pm$ 3,74	43	8,72 $\pm$ 3,81	54	8,56 $\pm$ 3,78
50-59	23	7,86 $\pm$ 4,93	24	9,99 $\pm$ 4,11	47	8,95 $\pm$ 4,60
60 +	28	7,38 $\pm$ 3,18	32	7,36 $\pm$ 2,95	60	7,37 $\pm$ 3,03
Tüm Yaş Grupları	119	8,54 $\pm$ 4,04	181	8,81 $\pm$ 3,81	300	8,70 $\pm$ 3,90

**Tablo II.** Yaş Grubu ve Cinsiyete Göre Serum B<sub>12</sub> Vitamini Düzeyleri (pg/ml)  
**Table II:** Serum vitamin B12 levels by age group and sex

Yaş Grupları	Erkek		Kadın		Tüm Grup	
	n	Ort.±SD	n	Ort.±SD	n	Ort.±SD
0-9	29	319±123	20	350±116	49	332±120
10-19	19	279±109	32	312±167	51	300±148
20-29	13	259±85	19	327±114	32	300±107
30-39	8	330±116	15	278±58	23	296±84
40-49	11	303±98	36	306±99	47	306±97
50-59	23	280±74	20	292±68	43	286±71
60 +	28	305±138	27	267±116	55	286±128
Tüm Yaş Grupları	131	297±111	169	304±117	300	301±114

**Tablo III.** Folik Asit ve Vitamin B<sub>12</sub> için Ortalama, Standart Sapma (SD) ve Referans Aralıkları.  
**Table III.** Folic Acid and Vitamin B12 for Average, Standard Deviation (SD) and Reference Ranges.

	n	Ortalama±SD	95% Referans Aralığı	
			Alt Sınır (%90 Güven Aralığı)	Üst Sınır (%90 Güven Aralığı)
<b>Folik Asit (ng/ml)</b>	260	8,71±3,9	2,87 (2,54-4,03)	19,49 (15,57-22,19)
<b>Vitamin B12 (pg/ml)</b>	300	301±114	155 (127 - 175)	639 (577 - 755)

## TARTIŞMA

Bilindiği üzere folik asit ve B<sub>12</sub> vitaminlerinin serum düzeyleri beslenme ile yakından ilişkilidir. Tüm besinleri yiyenler, vejeteryenler ve veganlar üzerinde yapılan çalışmalarda bu beslenme farklılıklarının folik asit ve B<sub>12</sub> üzerindeki etkilerini açık biçimde ortaya koymaktadır (5). Dahası bu parametrelerde mevsimsel ve diurnal varyasyonların olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (8, 9). Dolayısıyla her hangi bir popülasyonun diğer özellikleri yanında yaşam tarzı ve beslenme özellikleri de bu maddelerin serum miktarlarında ciddi değişikliklere neden olmaktadır. Bu nedenle her laboratuvarın kendi popülasyonuna uygun referans aralıklarını tespit etmesi bu testlerde daha bir önem kazanmaktadır. Bu bağlamda, yakın bir tarihte Uganda'da sağlıklı genç bireylerde yapılan bir çalışmada beslenme alışkanlıkları farklılıklarına rağmen Avrupa ve Amerika popülasyonuna göre yapılan referans aralıkları ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir (B12; 152-1029 pg/ml ve folik asit; 4,36-17,68 ng/ml) (10).

Bu durumdan hareketle gerçekleştirdiğimiz çalışma sonucunda ise, serum referans aralığı Vitamin B<sub>12</sub> için 155-639 pg/ml, folik asit

için (10 yaş ve üzeri grupta) 2,87-19,49 ng/ml olarak bulunmuştur.

Pek çok laboratuvarların kaynak olarak kullandığı Tietz NW'nin "Clinical Guide to Laboratory Tests" kitabında B<sub>12</sub> vitamini için 197-866 pg/ml, Folik asit için ise 4,2-19,9 ng/ml sınırları referans aralık olarak verilmiştir (11). Çalışmamızda kullanılan kitlerin üretici firması B<sub>12</sub> vitamini için referans aralığını 211-911 pg/ml, folik asit için ise 3,1-20 ng/ml olarak vermiştir. Her ikisinde de vitamin B<sub>12</sub> referans aralıkları bu çalışmada hesaplanan aralıklara göre oldukça yüksektir. Çalışmamızda elde ettiğimiz folik asit referans aralığının ise üst sınırı bu değerlere oldukça yakınken, alt sınır düşük bulunmuştur.

Ülkemizde konu ile ilgili olarak yapılan ilk çalışmalardan birinde, Tanyalçın ve arkadaşları 142'si kadın, 108'i ise erkek olmak üzere 18-40 yaş grubu 250 kişiyi aldıkları bir çalışmada B<sub>12</sub> vitamini için kadınlarda 101-666,7 pg/ml, erkeklerde 100-699,5 pg/ml referans aralıklarını bulmuşlardır. Folik asit için ise kadınlarda 3,9-18,1 ng/ml, erkekler için 2,5-17,6 ng/ml olarak referans aralıklarını hesaplamışlardır (12). Bizim çalışmamıza

benzer olarak hem B<sub>12</sub> vitamini hem de folik asit açısından cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulmamışlardır.

İlçöl ve arkadaşları ise 2004 yılında Bursa Uludağ Üniversite hastanesinde 18-40 yaşları arasında 328 sağlıklı bireyden (143 erkek, 185 kadın) almış oldukları kan örneklerini hem parametrik olmayan hem de parametrik yöntemlere göre çalışıp referans aralıklarını sırasıyla B12 vitamini için erkeklerde 214-1544 pg/ml ve 210-1591 pg/ml, kadınlarda 319-1996 pg/ml ve 310-2068 pg/ml olarak, folik asit için erkeklerde 2,97-17,4 ng/ml ve 2,90-18,26 ng/ml, kadınlarda 3,6-22 ng/ml ve 3,53-22 ng/ml olarak hesaplamışlar ve ardından iki yöntem sonuçlarını karşılaştırmışlardır (13). Demirin ve arkadaşlarının 2012 yılında Batı Karadeniz Bölgesinde 400 kişilik bir grupta gerçekleştirdikleri bir çalışmada anemi parametrelerinin referans aralıkları incelenmiştir (14). Çalışmamızdan farklı olarak hem B 12 hem de folik asit referans aralıkları kadın ve erkeklerde farklı bulunmuş ve her iki seks için ayrı ayrı verilmiştir. Yine çalışmamızdan farklı olarak yaş grupları arasında da anlamlı fark bulunmuştur.

Türkiye’de yapılan üç çalışma ile karşılaştırıldığında sonuçlarımızın Tanyalçın ve ark. çalışmalarındaki B12 vitamini referans aralıkları sonuçlarına yakın olduğu, Demirin ve ark. çalışmalarından daha yüksek, İlçöl ve arkadaşlarınınkinden daha düşük olduğu gözlemlendi. Çalışmalar arası farklılıkların dışlanma kriterleri, seçilen yaş grupları ya da istatistiksel yöntemden kaynaklanabileceği düşünüldü.

Her ne kadar bizimki dahil ülkemizde yapılan çalışmalar farklı sonuçlar vermiş olsalar da ortaklaştıkları bir nokta mevcuttur: Bu da bulunan referans aralıklarının gerek klasik kitaplarda gerekse kit insertlerinde verilen Amerika ya da Avrupa popülasyonlarına dayanan değerlerden daha düşük olmasıdır. Bu düşüklük özellikle B<sub>12</sub> vitamininde daha belirgindir. Bu da bölge popülasyonuna uygun değerler kullanmasının önemini ortaya koymaktadır. Ancak her laboratuvarın referans aralıklarını hesaplaması, bütün önerilen adımlar izlendiği takdirde, zaman alıcı ve maliyetlidir. Araştırmamız sonuçlarının bölgemizde folik asit ve vitamin B<sub>12</sub> sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılabileceği düşünülmüştür. Ayrıca ülkemiz için çok merkezli çalışmalarla daha kapsayıcı aralıkların tespiti önerilebilir.

## KAYNAKLAR

- Solberg HE. Document with a proposal for an IFCC recommendation. The theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:749-60.
- Solberg HE. Establishment and use of reference values. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th ed. 2006, Elsevier Saunders, p. 425-46.
- González-Gross M, Benser J, Breidenassel C, Albers U, Huybrechts I, Valtueña J, et al.; HELENA Study group. Gender and age influence blood folate, vitamin B12, vitamin B6, and homocysteine levels in European adolescents: the Helena Study. Nutr Res. 2012 Nov;32(11):817-26.
- Fidler Mis N, Kobe H, Stimec M. Dietary intake of macro- and micronutrients in Slovenian adolescents: comparison with reference values. Ann Nutr Metab. 2012;61(4):305-13.
- Lloyd-Wright Z, Sanders TAB, Appleby PN, Allen NE, Key TJ. Serum concentrations of vitamin B12 and folate in British male omnivores, vegetarians, and vegans: results from a cross-sectional analysis of the EPIC-Oxford cohort study. Gilsing AMJ, Crowe FL, Eur J Clin Nutr. 2010;64(9):933-9.
- International Federation of Clinical Chemistry and International Committee for Standardization in Hematology: Approved Recommendation on the theory of reference values. Part 5 Statistical treatment of the calculated reference values. Determination of reference limits. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1987;25: 645-56.
- NCCLS C28-A (1995) How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline, NCCLS, 17, No 18.
- Marica Krajcovicová-Kudiácková, Martina Vaiachovicová, Pavel Blazíček. Seasonal Folate Serum Concentrations At Different Nutrition. Cent Eur J Public Health 2013;21(1):36-8.
- Sennels HP, Jorgensen HL, Hansen AL, Goetze GP, Fahrenkrug J. Diurnal variation of hematology parameters in healthy young male: the Bispebjerg study of diurnal variation. Scand J Clin Lab Invest. 2011 Nov;71(7):532-41.
- Galukande M, Jombwe J, Fualal J, Baingana R, Gakwaya A. Reference values for serum levels of folic acid and vitamin B12 in a young adult Ugandan population. Afr Health Sci. 2011 Jun;11(2):240-3.

11. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests. 4th ed. 2006, Elsevier Saunders, p. 410, 1124.
12. Tanyalçın T, Aslan D, Kurtulmuş Y, Gökalp N, Kumanlıoğlu K. Reference Intervals of Serum Folate and Vitamin B12 Developed from Data of Healthy Subjects. Accred Qual Assur. 2000;5: 383-7.
13. Özarda İlçöl Y, Aslan D. Bursa İlinde Sağlıklı Bireylerde Kan Biyokimyası Profili Referans Aralıklarının Saptanması. Türk Biyokimya Dergisi. 2004;29(2):183-92.
14. Demirin H, Memişoğulları R, Uçgun T, Yıldırım HA, Celer A, Bulur Ş, et.al. Batı Karadeniz Bölgesinde yaşayan Türk erişkinlerinde demir, ferritin, B<sub>12</sub> vitamini

ve folat gibi anemi parametrelerinin referans aralıklarını uygun mudur? Tur J Biochem 2012;37(4):356-61.

---

**Yazışma adresi:**

Yalçın Önder  
Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Halk Sağlığı, Tokat, Türkiye  
e-posta: yalcinonder@hotmail.com

---