TÜRKİYE CUMHURİYETİ

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PEDİATRİK POPÜLASYONDA; ROCHE COBAS 8000 e801 İMMÜN ANALİZ CİHAZI İÇİN TİROİD STİMÜLAN HORMON (TSH), SERBEST T4 (sT4), SERBEST T3 (sT3) DÜZEYLERİNİN REFERANS ARALIKLARININ İNDİREKT YÖNTEMLE BELİRLENMESİ

Dr. ÇAĞRI UMUT

AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

PEDİATRİK POPÜLASYONDA; ROCHE COBAS 8000 e801 İMMÜN ANALİZ CİHAZI İÇİN TİROİD STİMÜLAN HORMON (TSH), SERBEST T4 (sT4), SERBEST T3 (sT3) DÜZEYLERİNİN REFERANS ARALIKLARININ İNDİREKT YÖNTEMLE BELİRLENMESİ

Dr. ÇAĞRI UMUT

AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Fatma Ceyla ERALDEMİR

Yardımcı Tez Danışmanı

Prof. Dr. TUNCAY MÜGE ALVUR

Etik Kurul Uygunluk Onayı

Karar No: KÜ GOKAEK-2022/19.16 Proje No: 2022/324

2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR 5
KISALTMALAR DİZELGESİ 6
TABLOLAR DİZELGESİ..... 8
ÖZET 10
ABSTRACT 12
1. GİRİŞ VE AMAÇ 12
1.1. Giriş 12
1.2. Amaç 15
2. GENEL BİLGİLER…… 17
2.1. Terminoloji ve Tanımlamalar……..…… 17
2.2. Referans Değerleri Elde Etme ve Referans Aralıkları Belirleme Protokolü…… 20
2.2.1 Yeni Analit veya Analitik Yöntem……. 20
2.2.2 Çok Merkezli Referans Aralık Çalışması…….. 21
2.2.3 Önceden Ölçülmüş Analit…….. 22
2.3. Referans Bireylerin Seçimi…….. 22
2.3.1 Dışlama ve Gruplama Kriterleri……. 22
2.3.2 Direkt Örnekleme Yöntemi…… 23
2.3.3 İndirekt Örnekleme Yöntemi…….. 24
2.3.4 Bireye Dayalı Örnekleme Yöntemi…… 25
2.3.5 Rastgele ve Rastgele Olmayan Örnekleme…… 25
2.4. Preanalitik ve Analitik Faktörler…….. 25
2.4.1 Birey Hazırlama……. 26
2.5. Referans Değerlerin Analizi…… 27
2.5.1 Referans Değer Sayısı…… 28
2.5.2 Aykırı Değerlerin Tespiti……29
2.5.3 Referans Değerlerin Gruplandırılması……31
2.6. Referans Aralıkların Transferi…….. 32
2.6.1 Aktarım: Analitik Sistemin Karşılaştırılabilirliği……... 33
2.6.2 Subjektif Değerlendirme…… 34
2.6.3 Az Sayıda Referans Birey Kullanarak Doğrulama…….34
2.6.4 Çok Sayıda Referans Birey Kullanarak Doğrulama…… 36

2.7. Referans Aralığı Hesaplama…… 37
2.7.1 Genel Hesaplama …… 37
2.7.2 Robust Metodu……37
2.7.3 Bootstrap Metodu……38
2.7.4 Nonparametrik Persentil Metodu……38
2.8. Roche Cobas 8000 e801 Otoanalizörü……..39
2.8.1 Teknik Özellikler ve Test Metodolojisi……...39
2.8.2 Referans Aralıkları ve Test Sonuçlarının Yorumlanması……...39
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER…….....40
3.1. Çalışma Grubu……...40
3.2. Örneklerin Toplanması ve Analizi……40
3.3. İstatiksel Analiz…….42
3.4. Etik Onay……..43
4. BULGULAR……....44
5. TARTIŞMA…….....55
5.1. Sınırlamalar ve Gelecek Yönergeler……....58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 59
7.KAYNAKLAR 60

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimine başlamamla birlikte her zaman yanımda olan ve olmaya devam edeceğini de bildiğim, desteğini bizden hiçbir zaman esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübesiyle yol gösterici olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Tuncay Müge Alvur'a,

Tezimin tüm aşamalarında ve yazımında her zaman yanımda olan, aklıma takılan her soruya çözüm bulan, tez danışmanım sevgili hocam Doç. Dr. Fatma Ceyla Eraldemir'e ve çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Sibel Balci'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Böyle huzurlu bir ortamda uzmanlık eğitim hayatımı sürdürebilmemi sağlayan başta Dr. Kübra Ateş ve Dr. Buket Güner olmak üzere birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm Kocaeli Üniversitesi Aile Hekimliği ailesine,

Hayatımın her anında yanımda olan, ellerini üzerimden hiç çekmeyen varlıkları için şükrettiğim canım anneme, babama, kardeşim Cansu Umut'a, ablama ve canım dostum Agit Çetinkaya'ya tüm kalbimle teşekkür ederim.

KISALTMALAR DİZELGESİ

RI: Referans aralıkları

TSH: Tiroid stimülan hormon

sT4: Serbest tiroksin

sT3: Serbest triiyodotironin

LIS: Laboratuvar bilgi sistemi

TFT: Tiroid Fonksiyon Testleri

Anti TG: Tiroglobulin antikoru

Anti-TPO: Tiroid peroksidaz antikoru

TH: Tiroid hormonları

HHTA: Hipotalamik-hipofiz-tiroid Aksı

IRP: Uluslararası referans hazırlama

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

IFCC: Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)

CLSI: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute

ATA: Amerikan Tiroid Birliği (American Thyroid Association)

EPTRV: Referans Değerler Teorisi Uzman Paneli

ICSH: Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Konseyi

ID-GC/MS: İzotop seyreltme gaz kromatografisi kütle spektrometrisi

C-RIDL: Karar Limitleri Komitesi

CDL: Klinik Karar Sınırları

CV: Varyasyon katsayısı

EQAS: Dış Kalite Güvence Hizmetleri

SDR: Standard sapma oranı

MSS: Merkezi Sinir Sistemi

FDH: Familyal Disalbüminemik Hipertiroksinemi

KH: Konjenital Hipotiroidi

CALIPER: Pediatrik Referans Aralıklarında Kanada Laboratuvar Girişimi

JCTLM: Laboratuvar Tıbbında İzlenebilirlik Ortak Komitesi

M-W U: Mann-Whitney U

S-T: Siegel-Tukey

K-S: Kolmogorov Smirnov

IRP: Uluslararası Referans Hazırlığı

TABLOLAR DİZELGESİ

Tablo 1: Olası Dışlama Kriterlerine Örnekler

Tablo 2: Olası Gruplama Faktörlerine Örnekler

Tablo 3: Dikkate Alınması Gereken Preanalitik Faktörler

Tablo 4: Dışlama kriterleri uygulandıktan sonra oluşan veri sayıları

Tablo 5: TSH için pediatrik RI

Tablo 6: sT4 için pediatrik RI (pmol/L)

Tablo 7: sT3 için pediatrik RI (pmol/L)

Tablo 8: Üretici tarafından sağlanan ve bazı çalışmalarda elde edilen referans aralıkları

Tablo 9: Yaşamın ilk 15 günündeki tiroid hormonlarının referans aralıkları

ŞEKİLLER DİZELGESİ

Şekil 1: Referans Aralık Kavram Şeması

ÖZET

Giriş-Amaç: Kendi çocuk popülasyonumuzda Roche Cobas 8000 otoanalizörü için tiroid uyarıcı hormon (TSH), serbest tiroksin (sT4) ve serbest triiyodotironin (sT3) hormonlarının referans aralıklarını (RI) indirekt yöntemle saptamaktır.

Yöntem: Hastane Laboratuvar Bilgi sisteminden (LİS) 1 Mayıs 2021-30 Kasım 2022 tarihleri arasında 0-20 yaş arası pediatrik popülasyonun TSH, sT4, sT3, anti-tiroglobulin (Anti TG) ve anti-tiroperoksidaz (Anti-TPO) verileri indirildi. Pozitif Anti TG ve Anti-TPO düzeylerine sahip olan hastaların verileri çalışma dışı bırakıldı. Birden fazla test istemi yapılmış olan hastaların, yalnızca en son tarihli test sonuçları dikkate alındı. Yoğun bakım üniteleri, endokrinoloji, enfeksiyon hastalıkları, onkoloji ve hematoloji poliklinikleri ile patoloji olasılığının yüksek olduğu yataklı servislerdeki hastalardan elde edilen laboratuvar verileri çalışma dışı bırakıldı. İstatiksel analiz ile uç değerler atıldıktan sonra 11883 TSH, 11604 sT4, 6014 sT3 verisi ile RI analizi yapıldı.Elde edilen RI daha sonra indirekt yöntemin güvenilirliğini araştırmak için direkt yöntemlerle oluşturulanlarla karşılaştırıldı.

Bulgular:

Çalışma, geniş bir yaş aralığını kapsayan kohorttan elde edilen verilerle, TSH düzeylerinin çocuklar büyüdükçe azaldığını ve özellikle yenidoğanlarda (1-15 gün) en yüksek düzeylerde olduğunu ortaya koymuştur. Sonuçlarımız doğum sonrası TSH'deki geçici artışla uyumludur ve yaşa özel aralıkların önemini vurgular. İki yaşına kadar olan sürede TSH düzeylerinin erkeklerde 0.85-6.44 ve kadınlarda 0.72-6.19 µIU/mL'ye indiği ve 15 yaşına kadar kademeli olarak erkeklerde 0.73-4.57 ve kızlarda 0.67-4.41 µIU/mL'ye düştüğü bulunmuştur. sT3 seviyeleri yaşla birlikte önemli bir değişiklik göstermemiştir.

Sonuç: Tezin sonuç kısmında, pediatrik popülasyon için TSH, sT4 ve sT3'ün yaşa özel RI'na dair yeni bilgiler sunulmuştur. sT4 ve sT3 için belirlenen RI, klinisyenlerin pediatrik tiroid fonksiyonlarını değerlendirirken ve tiroid bozukluklarını teşhis ederken daha bilinçli kararlar almasına yardımcı olacak niteliktedir. Bu sonuçlar, pediatrik tiroid testlerinde tanıların doğruluğunu ve tedavi protokollerinin etkinliğini artırmayı amaçlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Pediatrik Popülasyon, TSH, sT4, sT3, Referans Aralıkları, İndirekt Yöntem, Roche Cobas 8000 e801, İmmünoassay, Tiroid Fonksiyon Testleri, Referans Değerler Yaşa Özel Referans Aralıklar, Klinik Biyokimya

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to determine the reference ranges (RI) of thyroid-stimulating hormone (TSH), free thyroxine (fT4) and free triiodothyronine (fT3) hormones by indirect method for the Roche Cobas 8000 autoanalyzer in our own child population.
Method: TSH, fT4, fT3, anti-thyroglobulin (Anti TG) and anti-thyroperoxidase (Anti-TPO) data of the pediatric population aged 0-20 years between May 1, 2021 and November 30, 2022 were downloaded from the Hospital Laboratory Information System (LIS). The data of patients with positive Anti-TG and Anti-TPO levels were excluded from the study. Of the patients who had more than one test request, only the most recent test results were considered. Laboratory data obtained from patients in intensive care units, endocrinology, infectious diseases, oncology and hematology outpatient clinics and inpatient services with a high probability of pathology were excluded from the study. After the extreme values were discarded with statistical analysis, RI analysis was performed with 11883 TSH, 11604 sT4, 6014 sT3 data. The resulting RIs were then compared with those generated by direct methods to investigate the reliability of the indirect method.
Results: With data from a cohort covering a wide range of ages, the study found that TSH levels decreased as children grew and were particularly high in newborns (1-15 days). Our results are consistent with a transient increase in postpartum TSH and highlight the importance of age-specific intervals. It was found that TSH levels decreased to 0.85-6.44 µIU/mL in boys and 0.72-6.19 µIU/mL in women up to two years of age, and gradually decreased to 0.73-4.57 µIU/mL in boys and 0.67-4.41 µIU/mL in girls until the age of 15. sT3 levels did not change significantly with age.
Conclusion: In the conclusion of the thesis, new information on the age-specific RI of TSH, fT4 and fT3 for the pediatric population is presented. The RI for fT4 and fT3 is designed to help clinicians make more informed decisions when assessing pediatric thyroid function and diagnosing thyroid disorders. These results aim to improve the accuracy of diagnoses and the effectiveness of treatment protocols in pediatric thyroid tests.
Key Words: Pediatric Population, TSH, fT4, fT3, Reference Intervals, Indirect Method, Roche Cobas 8000 e801, Immunoassay, Thyroid Function Tests, Reference Values Age-Specific Reference Intervals, Clinical Biochemistry

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1 GİRİŞ

Tiroid bezi zengin vaskülarizasyona sahip endokrin bir bezdir. Boynun ön-alt bölgesinde, beşinci servikal omur ile birinci torasik omur arasında orta pozisyonda yer alan düzensiz bir organdır.[1]

Tiroid hormonları (TH) neredeyse her organ sisteminin işlevini etkiler. Bebeklerde beyin ve somatik gelişimin, yetişkinlerde ise metabolik aktivitenin çok önemli bir belirleyicisidir. Tiroid bezi veziküllerinde büyük miktarda TH depoları vardır. TH biyosentezi ve salgılanması, dolaşımdaki hormon konsantrasyonundaki küçük değişikliklere karşı çok hassas olan bir düzenleyici mekanizma tarafından dar sınırlar içinde tutulur.[2] Hipotalamik-hipofiz-tiroid aksı (HHTA)'nın feedback mekanizması ile düzenlenebiliyor olması sayesinde, dolaşımdaki TH konsantrasyonları neredeyse sabit düzeylerde tutulabilir.[3] TH'nin salgılanması, hipofizden salgılanan TSH tarafından düzenlenir. [4] Serum sT4 ve TSH konsantrasyonları arasında negatif bir log-lineer ilişki vardır. Bu, serum sT4 konsantrasyonlarındaki çok küçük değişikliklerin, serum TSH konsantrasyonlarında çok büyük karşılıklı değişikliklere neden olduğu anlamına gelir.

Günümüzde TSH, insanlarda TH etkisinin en önemli ve evrensel biyobelirteci olmaya devam etmektedir. Eksenin hipotalamik bölümünde, bir dizi çevresel ve fizyolojik uyarıya yanıt olarak tirotropin salgılayan hormon (TRH) salgılayan paraventriküler çekirdek (PVN) te TRH nöronları bulunur.[3]

Bununla birlikte periferik dokular ve merkezi sinir sistemi (MSS), TH'nın hücre içi kullanılabilirliğini kontrol eder. Son çalışmalar TH taşıyıcılarının, deiyodinazların ve TH reseptör ortak düzenleyicilerinin, belirli bir miktarda TH'ye karşı dokuya özgü duyarlılığı güçlü bir şekilde kontrol edebildiğini tanımlamıştır. Ayrıca TH reseptörlerinin hedef gen ekspresyonunu düzenlediği mekanizma; gene, dokuya ve hücreye göre değişiklik gösterebilir.[3]

Sonuç olarak, rutin uygulamada tiroid fonksiyonunu en iyi değerlendiren test serum TSH düzeyleridir. Bununla birlikte, bazı hastalarda hipofiz ve hipotalamik fonksiyonu değerlendirmek amacıyla, serum TH düzeylerinin direkt ölçümü gerekli olabilir. [4]

Tiroid fonksiyon testleri (TFT), tiroid hastalıklarının hem tarama/teşhisinde, hem de izlemi esnasında yol göstericidir. Toplumda tiroid fonksiyon bozukluklarına sık rastlanmaktadır. Bunun yanı sıra obezite, duygu durum değişiklikleri, saç dökülmesi, yorgunluk gibi sağlık sorunlarında ayırıcı tanılar arasında sıklıkla tiroid fonksiyon bozuklukları gelmektedir. Bir hastanın tiroid fonksiyon durumu hakkında karar vermek için hastanın şikayetlerini, fizik muayene bulgularını ve laboratuvar bulgularını birlikte değerlendirmek gerekir.

Sistemik bir hastalık bulunmadıkça normal bir TSH konsantrasyonu, primer hipotiroidi ve hipertiroidiyi dışlamada %99 negatif prediktif değere sahiptir. Bu sebeple, hassas immünometrik yöntem ile yapılan TSH ölçümleri tiroid fonksiyonunu değerlendirmede tarama testi olarak kullanılabilir. TSH normal ise ek araştırmaya gerek duyulmaz. TSH düzeyi yüksek ise sT4 düzeyi, TSH düzeyi düşük ise sT4 ve sT3 düzeylerine bakmak uygun olacaktır.

Hipotiroidik semptom/bulguları olan hastada tanı amaçlı TSH ve sT4 düzeylerine bakılması önerilir. Hipertiroidik semptom/bulguları olan hastada ise tanı amaçlı TSH ve sT4 yanında total T3 /sT3 düzeyinin de istenmesi önerilir.[5]

Günümüzde TSH ölçümleri 3. jenerasyon immünoradyometrik (IRMA) yöntem veya immünokemiluminisans (ICMA) yöntemleri ile yapılmaktadır. Bu yöntemlerin analitik ve fonksiyonel hassasiyetleri 0.01 mU/L'den daha azdır. 3. jenerasyon testler, tiroid disfonksiyonu olan ile olmayan hastaları ayırt etmekte oldukça başarılıdır.

Klinik pratikte immünometrik yöntemlerle yapılan sT4 ve sT3 ölçümleri bazı özel durumlar dışında total T4 ve total T3 ölçümüne kıyasla çok daha sık kullanılmaktadır.[5]

Farklı kombinasyonlardaki TFT sonuçları tiroid hastalıklarının tanısında ve tedavisinde klinisyene çok önemli bir yol gösterir. Bu bakımdan TSH, sT4 ve sT3 hormonlarının doğru ölçümü, klinisyenin tedavi ve takibinde en önemli araçlardan biridir. Çoğunlukla yüksek TSH (primer hipotiroidizm) veya daha nadiren düşük TSH (sekonder hipotiroidizm) ile ilişkili olan, anormal derecede düşük sT4 ile karakterize hipotiroidizm, tedavi edilmediğinde hastalarda ciddi fiziksel ve bilişsel hasara yol açabilir.

Bu nedenle, her yaşın özellikleri dikkate alınarak herhangi bir tiroid fonksiyon bozukluğunun kesin olarak saptanması için pediatrik RI oluşturulması önemlidir.[6] Konjenital hipotiroidi (KH) nin erken tespiti ve tedavisi, geri dönüşü olmayan nörogelişimsel gecikmeyi önler ve gelişimsel sonucu optimize eder. [7]

Birçok çalışma yaşamın ilk yıllarında TSH değerlerinde dalgalanma olduğunu göstermiştir. Ancak bu çalışmalar etnik köken ve yaş alt gruplarına göre dağılım açısından büyük bir eşitsizlik göstermektedir. En anlamlı çalışma Kanada'da çok geniş bir sağlıklı hasta kohortu üzerinde yapılmıştır (‘Pediatrik Referans Aralıklarında Kanada Laboratuvar Girişimi’ (CALIPER) çalışması).[6]

Pediatrik RI’nın belirlenmesinin, özellikle çok küçük çocuklar ve yenidoğanlardan kan alımıyla ilgili etik sınırlamalar nedeniyle son derece zor olduğu iyi bilinmektedir

Laboratuvar analizleri için güvenilir ve doğru RI, klinik laboratuvar test sonuçlarının doğru yorumlanması sürecinin ayrılmaz bir parçasıdır. Laboratuvar raporlarında verilen RI, klinisyenin test sonuçlarını sağlıklı popülasyon değerlerine göre yorumlamasında yardımcı olma konusunda önemli bir role sahiptir. 1980'lerden bu yana, Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (IFCC), 'RI' teriminin gerçek önemini açıklığa kavuşturmak, uygun referans popülasyonunu seçmek ve verileri istatistiksel olarak analiz etmek için öneriler oluşturmada öncü olmuştur.[9] Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) ve IFCC tarafından yayınlanan C28-A3 kılavuzu, bu alanda hâlâ en yaygın kullanılan referans kaynağıdır.

Direkt yaklaşım olarak bilinen RI oluşturulmasına yönelik geleneksel yöntem, önceden seçilmiş bir referans popülasyonunun üyelerinden örneklerin toplanmasına, ölçümlerin yapılmasına ve ardından aralıkların belirlenmesine dayanır.[10]

Rutin olarak ölçülen birçok analitin konsantrasyonu büyüme ve gelişmeye göre önemli ölçüde değiştiğinden, uygun olmayan pediatrik RI’ın kullanımı hastalığın yanlış tanısına ve yanlış sınıflandırılmasına neden olabilir. İdeal RI’n sağlıklı bir popülasyona dayalı olarak oluşturulması gerektiğinden, ve bu sağlıklı bireylerden çok sayıda numune toplanmasını gerektirdiğinden pediatrik popülasyonda RI oluşturmak zor olabilir.

RI belirlemede direkt yönteme alternatif olarak, yenidoğanlar, çocuklar ve yaşlılar gibi zor denek grupları için indirekt yöntemler kullanılabilir. Genel hastane popülasyonundan bir grup sağlıklı bireyin seçilmesi için çeşitli yöntemler kullanılabilir ve referans değerleri, Bhattacharya analizi ve yöntemin bazı modifikasyonları gibi istatistiksel yöntemler kullanılarak hastane verilerinden hesaplanır.[9]

İndirekt yaklaşımın, direkt yöntemlerle karşılaştırıldığında bazı önemli potansiyel

avantajları vardır. Süreçler daha hızlıdır ve ucuzdur. Hastaya rahatsızlık vermez veya yeni hasta sağlık bilgilerinin oluşturulmasını gerektirmez. İndirekt yöntemler ayrıca hasta yönetiminde kullanılan aynı preanalitik ve analitik teknikleri kullanır ve değerlendirme için çok büyük sayıda veri sağlayabilir. IFCC, RI'n oluşturulması ve doğrulanması için indirekt yöntemlerin kullanımını, kullanılan sürecin net bir açıklamasıyla bu tür aralıkların yayınlanmasını teşvik etmeyi ve ayrıca bu çalışmalar için gelişmiş istatistiksel tekniklerin geliştirilmesini amaçlamaktadır.[9]

1.2. AMAÇ

Laboratuvar test sonuçları hasta bakımı ve klinik kararlar için çok önemli bir yer tutar. Bu bakımdan, test sonuçlarının güvenilirliği kritik bir öneme sahiptir.[11]

Birçok klinik laboratuvar, kullanmakta oldukları testlerin üreticileri tarafından önerilen ve esas olarak Amerika veya Avrupa popülasyonlarından elde edilen verilere dayanan RI kullanmaktadır. Ancak tiroidle ilişkili hormonların RI'ı; etnisite, yaş, cinsiyet, iyot düzeyleri, kanın alındığı saat ve ölçüm yapılan yöntemler gibi pek çok faktörden etkilenebilmektedir.Ayrıca her üretici firmanın kendi testi için laboratuvara sunduğu RI da farklılıklar göstermektedir. Tüm bu gerçekler göz önünde bulundurularak; IFCC, CLSI ve Amerikan Tiroid Birliği (American Thyroid Association (ATA)) tarafından, her klinik laboratuvarın kendi popülasyonuna dayalı ve kullanmakta olduğu yönteme özgü RI oluşturması tavsiye edilmektedir.[12]

TSH, sT4 ve sT3 analizinde, Roche Cobas 8000 e801 otoanalizörü kullanılmıştır.

Çalışmamızın amacı iki yönlü olarak gerçekleşti: popülasyonumuza ve analizörümüze (Cobas 8000 e801) en uygun pediatrik RI tanımlamaktı.

Bu amaçla çalışmamızda;

1) Çocuk popülasyonda TSH, sT4 ve sT3'ün doğumdan erişkinlik dönemine dek olan yaş aralığında, yaş ve cinsiyete göre oluşturulmuş subgruplarda RI'ı indirekt yöntemle saptamayı hedefledik.

2) Patolojik sonuç içerme ihtimali daha yüksek olan yoğun bakım ünitesi, endokrinoloji, enfeksiyon hastalıkları, onkoloji ve hematoloji poliklinik ve yataklı servislerinden test istemi yapılmış olan hastaların laboratuvar verilerini çalışma dışında bıraktık.

3) Daha önce çeşitli nedenlerle Anti TG ve Anti-TPO parametreleri değerlendirilmiş olup, bu parametreleri RI dışında olan hastaların verilerini çalışma dışında bıraktık.

4) Sistemde birden fazla TSH, sT4, sT3 sonucu olan hastaların yalnızca son tarihli verilerini çalışmamıza dahil ettik.

5) Elde ettiğimiz RI'ı, direkt yöntemle belirlenen RI ile karşılaştırdık ve indirekt yöntemle belirlediğimiz RI'n güvenilirliğini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

Çalışmamızda kullandığımız terminoloji, IFCC, Referans Değerler Teorisi Uzman Paneli (EPTRV), Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Konseyi (ICSH) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) nün önerilerine uygundur.

2.1. Terminoloji ve Tanımlamalar

Referans Aralık: Sağlıklı denek popülasyonlarından elde edilen değerlerin dağılımında belirtilen aralıktır. Bu genellikle ortalamayı merkeze alan, popülasyonun %95'ine karşılık gelen bir aralık olarak tanımlanır.[13]

Referans değer: Referans numune grubuna ait bir referans şahısta belli bir analitin ölçülmesi yoluyla elde edilen test sonucu veya değeridir.[14]

Referans Popülasyonu: RI'n belirlenmesinde kullanılan, genellikle sağlıklı ve belirli kriterlere uyan bireylerin topluluğu.

Bölümlendirme: RI cinsiyet, yaş gibi demografik faktörlere göre ayırma işlemi.

Aykırı Değerler: Ortalama değerlerden önemli ölçüde farklı olan sonuçlar.

Referans Dağılım: Bir laboratuvar testi için sağlıklı bir popülasyondan elde edilen ölçüm değerlerinin dağılımı.

Referans Birey: İyi tanımlanmış kriterlere göre test için seçilen birey. Klinik inceleme altındaki bir bireyden elde edilen değerlerin yorumlanması için uygun karşılaştırma değerlerine ihtiyaç vardır. Bu değerleri sağlamak için uygun bireyler seçilmelidir. Karşılaştırma için seçilen her bir gruptaki bireylerin özellikleri net olarak tanımlanmalıdır. Numune toplama koşulları ile birlikte yaş ve cinsiyetleri, sağlıklı veya belli bir hastalığa sahip olup olmadıkları belirtilmelidir.[15]

Referans Örnek Grubu: RI'n belirlenmesi için seçilen, belirli demografik veya sağlık özelliklerine sahip kişilerin örnekleme grubu.

A Priori: Direkt yöntemle RI'n belirlenmesinde, veri toplamadan önce belirlenen kriterler veya hipotezler.

A Posteriori: Direkt yöntemle RI'nın belirlenmesinde veri toplandıktan sonra elde edilen bulgulara dayanarak yapılan analiz ve yorumlar.

Bir RI'nın Tanımlanması: Bir popülasyondaki sağlıklı bireylerin belirli bir test için elde edilen test sonuçlarının bir aralığıdır.

RI Oluşturulması/Belirlenmesi: Sağlıklı referans bireylerin seçimi ve analitik yöntemlerin uygulanmasıyla elde edilen verilerin analiz edilmesi sürecidir.

RI'nın Aktarılması: Mevcut bir RI'nın, farklı bir analitik yöntem veya laboratuvar ortamı için uyarlanması işlemidir.

RI'nın Doğrulanması: Mevcut RI'nın yeni bir popülasyon veya analitik yöntem için geçerliliğinin test edilmesidir.

Referans Limiti: RI'nın üst veya alt sınırını ifade eder.

Doğruluk: Bir test sonucunun gerçek değere ne kadar yakın olduğunun bir ölçüsüdür.

Gözlemlenen Değer: Laboratuvar testinde ölçülen spesifik bir sonuç.

Kesinlik: Bir laboratuvar testinin sonuçlarının tekrarlandığında tutarlılık ve istikrarını ölçer. Test ne kadar kesinse, sonuçlar o kadar tekrarlanabilir ve güvenilir olur. Ölçümün varyasyonu azaldıkça, kesinlik artar. Bu, laboratuvarın aynı numuneyi birkaç kez test ettiğinde veya farklı zamanlarda benzer koşullar altında test ettiğinde, sonuçların ne kadar benzer olduğunun bir göstergesidir. Kesinlik, testin içsel varyasyonunu değerlendirmede önemlidir ve laboratuvarın kalite kontrol süreçlerinin bir parçası olarak düzenli olarak izlenir.[14 16]

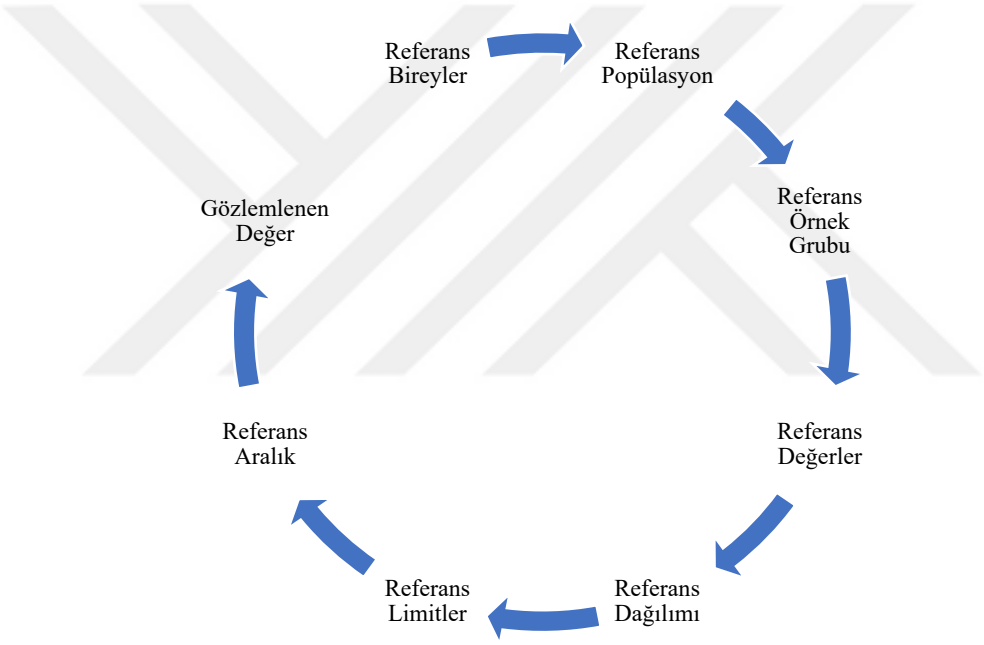
RI Tanımları

RI referans popülasyon değer dağılımından, genellikle merkezi %95 aralığından türetilir ve CLSI kılavuzu EP28-A3c tarafından önerildiği gibi minimum 120 örnek büyüklüğü kullanan belirli bir popülasyonu tanımlar. Referans bireyler, referans popülasyondan alınan değerlerin ölçümü için referans örneklem grubunu oluşturur. Elde edilen değerlerin dağılımının istatistiksel analizi yoluyla referans limitleri hesaplanır ve bu limitler daha sonra RI'nı tanımlar.[17]

A. Sürekli RI: Yaş, cinsiyet gibi değişkenlere göre sürekli olarak ayarlanan RI'dır. Örneğin, çocuklarda büyüme ve gelişme sürecine bağlı olarak değişen test sonuçları için kullanılır.

B. Ortak RI (Uyumlaştırılmış RI): Farklı laboratuvarlar veya demografik gruplar arasında uyum sağlamak için standardize edilen RI'dır. Bu, test sonuçlarının farklı ortamlarda daha tutarlı olmasını sağlar.

C. Ortak/Genel RI: Geniş bir popülasyonu temsil eden, genelleştirilmiş RI'dır. Bu aralıklar, çok çeşitli bireyler için geçerli olabilecek geniş kapsamlı normatif verileri içerir.[14 16]



Şekil 1: Referans Aralık Kavram Şeması

2.2. Referans Değerleri Elde Etme ve Referans Aralıkları Belirleme Protokolü

2.2.1 Yeni Analit veya Analitik Yöntem

Sağlıkla ilişkili RI üretimi ve belirli bir analit için RI tahmini, iyi tanımlanmış bir protokole uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Bu, burada özetlenen bir dizi işlemin takip edilmesini içerir. Bu işlemler yeni bir analit, farklı bir birey grubu veya yeni bir analitik yöntem için RI oluşturulurken uygulanmalıdır:[14]

1-Tıbbi ve bilimsel literatürden analitik etkileşimlerin ve biyolojik değişkenlik kaynaklarının bir listesini oluşturun (tamamen yeni bir analit söz konusu olduğunda, literatür yardımcı olmayabilir, bu da bu konuların yeni bir laboratuvar araştırmasını gerektirir).

2-Seçim (veya dışlama) ve gruplandırma kriterleri ve bu kriterleri potansiyel referans bireylerde ortaya çıkarmak için tasarlanmış uygun bir anket oluşturun.

3-RI çalışmasına katılım için uygun bir yazılı onam formu hazırlayın ve referans bireyin anketi doldurmasını sağlayın.

4-Potansiyel referans bireyleri anket bulgularına ve diğer uygun sağlık değerlendirmelerinin sonuçlarına göre kategorize edin.

5-Dışlama kriterlerine veya sağlık eksikliğini gösteren değerlendirmelere dayalı olarak bazı bireyleri referans örnek grubundan çıkarın.

6-İstenen güven aralıklarını göz önünde bulundurarak, uygun sayıda referans kişiye karar verin.

7-Belirli bir analitin ölçümünde, numune toplamak için seçilen kişileri uygun ve tutarlı bir şekilde hazırlayın ve rutin uygulamalara bağlı kalın.

8-Biyolojik numuneleri rutin uygulamaya uygun bir şekilde toplayın ve değerlendirin.

9-Numuneleri iyi tanımlanmış koşullar altında ve hasta numuneleri için rutin uygulama ile tutarlı olarak ilgili analitik metodolojiye göre analiz ederek referans değerleri toplayın.

10-Referans değer verilerini inceleyin ve verilerin dağılımını değerlendirmek için bir histogram hazırlayın.

11-Olası veri hatalarını ve/veya aykırı değerleri belirleyin.

12-Referans değerlerini analiz edin, yani bir tahmin yöntemi seçin ve referans limitlerini ve RI tahmin edin (uygunsa, ayrı RI için alt sınıflara gruplandırmayı dahil edin).

13-Daha önce bahsedilen tüm adımları ve prosedürleri belgeleyin.[14]

2.2.2 Çok Merkezli Referans Aralık Çalışması

Referans bireyleri tanımlamak için kullanılan kriterler, preanalitik koşullar ve verilerin istatistiksel olarak işlenmesi gibi çeşitli değişkenler RI'nı etkiler. Özellikle kullanılan analitik yöntem ve referans bireylerin bulunduğu popülasyon çok önemlidir.

Yöntemleri standartlaştırmak için devam eden uluslararası çalışmalar, birçok analitik yöntemin uygulanmasında, sahadan sahaya olan farklılıkların etkilerini tamamen ortadan kaldıramasa da en aza indirmeyi hedeflemektedir.

Laboratuvar Tıbbında İzlenebilirlik Ortak Komitesi (JCTLM) tarafından koordine edilen çalışmalar sayesinde, resmi bir "referans ölçüm sisteminin" mevcut olduğu analitler, analizör, reaktif ve hatta analitik ilkeden bağımsız olarak makul bir karşılaştırılabilirlik düzeyine ulaşmalıdır. .

Metotlarda karşılaştırılabilirlik sağlandıktan sonra, her laboratuvarın kendi RI'nı belirlemesinin tek nedeni, referans popülasyonunda farklılıklar olduğu varsayımıdır. Çok merkezli çalışmalarla ortak bir RI kümesi üretmek mümkün olabilir. Çok merkezli bir RI çalışması gerçekleştirmek için aşağıdaki kriterlerin karşılanması gerekir:

A priori önceki bölümde belirtilen noktalara göre referans konularının seçimi. Katılımcı merkezlerin sayısı ve kayıtlı bireylerin sayısı, yaşa, cinsiyete, ırka vb. göre gruplandırmaya izin vermek için gereken denek sayısıyla orantılı olmalıdır. Preanalitik fazların net tanımı yapılmalıdır.

Sonuçların izlenebilirliğinin ve laboratuvarlar arası standardizasyonun, ideal olarak bir referans yöntemi tarafından atanan hedef değerlere sahip iki veya daha fazla tamamen değiştirilebilir referans materyalinin dahil edilmesiyle gösterilmesi son derece kritiktir. Çünkü dünya çapında uygulanabilirliği garanti eder.[14]

2.2.3 Önceden Ölçülmüş Analit

Geçerli bir referans değeri çalışması mevcut olduğunda; yeni, tam ölçekli bir çalışma gerçekleştirmek zorunda kalmadan bir RI'nın aktarılması tercih edilebilir. Aktarım, ancak denek popülasyonu ve test bireyinin hazırlanmasından analitik ölçüme kadar tüm metodoloji aynı veya uygun bir şekilde karşılaştırılabilirse kabul edilebilir.

2.3. Referans Bireylerin Seçimi

Sağlık, evrensel bir tanımı olmayan göreceli bir durumdur. Neyin sağlıklı kabul edildiğini tanımlamak, herhangi bir çalışmada ana sorun haline gelir ve sağlıksız olanı referans örneklemden çıkarmak için kullanılan kriterlerin belirlenmesi, referans bireylerin seçiminde öncelikli adımdır. Her kurum veya araştırıcının sağlık için farklı kriterleri olabilir ve bu kriterler dikkatli bir şekilde tanımlanmalıdır. Aday bir referans birey için iyi bir sağlık tanımı yaparken anamnez, fizik muayene ve belirli klinik laboratuvar testleri gibi çeşitli değerlendirmeler yapılabilir. Herhangi bir referans değer çalışması için kullanılan kriterler tanımlanmalı ve belgelenmelidir. Böylece bu referans örnek grubunun sağlık durumu değerlendirilebilir. En azından, her bir referans bireyin sağlığını değerlendirmek için bir anket kullanılmalıdır.[18,19]

2.3.1 Dışlama ve Gruplama Kriterleri

Dışlama kriterleri, aday referans birey hakkında, varsa, bu kişinin referans örneğe dahil edilmesini engellemeye yarayan kritlerdir. Bazı potansiyel dışlama kriterlerine örnekler Tablo-1'de bulunmaktadır. Tablo-1 ayrıntılı değildir, ancak kriterler hakkında örnek teşkil etmesi amaçlanmıştır. Tüm referans değer çalışmaları aynı dışlama kriterlerine sahip değildir.

Gruplandırma Kriterleri, seçilen referans bireyin referans örneğini önemli alt sınıflara bölen kriterlerdir. En yaygın gruplandırma kriterlerinden ikisi yaş ve cinsiyettir. Tablo-2 diğerlerini listeler ve bu kapsamlı bir liste değildir ve tablo RI çalışması için gruplandırma kriterlerine örnek olarak verilebilir.

Bir çalışmada dışlama kriteri olarak kabul edilebilecek bir kriter, başka bir çalışmada gruplandırma için kullanılabilir. Örneğin genel bir popülasyona hizmet veren bir laboratuvar, hamile kadınları referans örneklerinden hariç tutmayı seçebilir ya da obstetrik

gruplar ile çalışan bir laboratuvar, örneklerini referans hamile kadınlardan trimesterlere göre ayırmayı seçebilir.

İyi tasarlanmış anketler, dışlama ve gruplandırma kriterlerini uygulamak için kolaylık sağlar. Sorular çoğunlukla evet/hayır gibi basit ve açıklayıcı yanıtlar verdirmelidir. Anket, kan basıncı, boy ve kilo gibi bazı basit ölçümlerle birlikte yapılabilir. Ayrıca görüşülen kişilere kendilerini sağlıklı olarak görüp görmedikleri sorulabilir.

Tablo 1. Olası Dışlama Kriterlerine Örnekler

Alkol tüketimi	Hastalık
Kan donörü	Emzirme
Anormal kan basıncı	Obezite
Uyuşturucu kullanımı	Meslek
İlaçlar, reçeteli	Oral kontraseptifler
İlaçlar, reçetesiz	Gebelik
Çevre	Yeni geçirilmiş cerrahi
Diyet	Tütün kullanımı
Genetik faktörler	Transfüzyon, son zamanlarda
Hastaneye yatış, mevcut/yakın zamanda	Vitamin kötüye kullanımı

Tablo 2. Olası Gruplama Faktörlerine Örnekler

Yaş	Coğrafi konum
Cinsiyet	Alkol tüketimi
Sirkadiyen varyasyon	Irk
Diyet	Kan grubu
Etnik köken	Adet döngüsünün aşaması
Egzersiz	Hamileliğin aşaması
Diyet	Tütün kullanımı

2.3.2 Direkt Örnekleme Tekniği

Direkt yöntemle örneklemede iki farklı yaklaşım kullanılabilir.

Birinci yaklaşım; priori örnekleme, referans bireylerin seçiminden önce iyi tanımlanmış dışlama ve gruplama kriterleri gerektiren bir yöntemdir. Bu yerleşik laboratuvar prosedürlerine en iyi uygulanan yöntemdir. Yerleşik yöntemlerle, literatür kapsamlı bir şekilde araştırılmalı ve bilinen biyolojik varyasyon kaynakları tanımlanmalıdır. Literatürden elde edilen bilgiler daha sonra geliştirilmekte olan çalışma için uygun bir

dışlama ve gruplandırma kriterleri listesine çevrilir.

Bu kriterler belirlendikten sonra, belirli kişileri örnekleme sürecinden dışlamak ve seçilen kişileri alt sınıflarına ayırmak için bir anket belirlenir ve kişiyle bir görüşme gerçekleştirilir.

Tüm bu süreç, herhangi bir kan örneği alınmadan önce gerçekleşir. Analiz için seçilen referans bireylerin sayısı, istatistiksel olarak geçerli olmak için yeterli sayıda olmalıdır. İkinci yaklaşım ise; posteriori örnekleme, dışlama ve gruplandırma süreci farklı bir sırayla gerçekleşir, (örnekleme ve analit testinden önce değil, sonra). Posteriori yaklaşım, özellikle yeni veya az çalışılmış ve literatürün çok az bilgi içerdiği laboratuvar prosedürleri için uygun olabilir. Bir alt sınıfı tanımlayan faktörler başlangıçta bilinmeyebileceğinden, bu yaklaşımın anketinin priori örnekleme süreci için tasarlanandan daha kapsamlı olması gerekebilir.

2.3.3 İndirekt Örnekleme Tekniği

İndirekt örnekleme tekniklerinde, RI belirlenirken, başka amaçlar için oluşturulmuş bir veri tabanından (örneğin standart bir laboratuvar bilgi sistemi) alınan laboratuvar değerleri kullanılır. Bu teknikler, sağlıklı deneklerden (örneğin, pediatri ve geriatri) numune toplamanın çok zor olduğu düşünüldüğünde kullanılır. Bu yaklaşım nispeten basit ve ucuz olmasına rağmen, veritabanında bulunabilecek sağlıksız bireylerden çok sayıda değer içermemesi için ek önlemler alınmalıdır.

İndirekt örnekleme teknikleri, gözlemle doğrulanan, hastane ve klinik hastalarında bile çoğu sonucun "normal" görüldüğü varsayımına dayanmaktadır. Sağlıksız bireylerden alınan değerleri dışlamak için çeşitli yöntemler kullanılır ve hastane verilerinden referans değerleri çıkarmak için istatistiksel yaklaşımlar mevcuttur. [20–25]

Birçok çalışmada, tüm hastane kayıtlarından elde edilen veriler RI tahmin etmek için kullanılır. [20,25]

Ancak nispeten sağlıklı bireylerden elde edilen verileri kullanmak daha uygun olabilir. Örneğin kan donörleri, periyodik sağlık taraması için rutin fizik muayeneden geçen bireyler, kurşun taraması yapılan bireyler, küçük cerrahi prosedürler geçiren hastalar ve genetik taramadan geçen bireyler gibi hastaların verileri tercih edilebilir.

Veriler, dışlama ve gruplama kriterleri uygulanarak çalışma popülasyonundan çıkarıldıktan sonra, RI'nı tahmin etmek için istatistiksel yöntemler kullanılabilir. İndirekt

yöntemlerle oluşturulan RI ile ilgili, verilerin çoğunun referans bireylerden geldiğine dair temel varsayımın doğru olmayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Mümkün olduğunda, RI'nı oluşturmak ve doğrulamak için indirekt yöntemler yerine direkt yöntemlerin kullanılması önerilmektedir.[14]

2.3.4 Bireye Dayalı Örnekleme Yöntemi

Genellikle bir test sonucunun yorumlanmasında bütün toplumu temsil eden RI'yla kıyaslama yapılsa bile bireye ait özelliklerin göz önünde bulundurulması daha doğru değerlendirme imkânı sağlar. Bir testin belirli bir kişi için RI'nın ne olduğu, test o kişiye daha önce uygulanmamışsa bilinemez ve bu değerin önceden biliniyor olması ideal olandır. Bireyin sağlıklı olduğu bir dönemde elde edilen sonuçlar, o kişi için referans değer olarak kullanılabilir. Bu örnekleme yöntemi bireye dayalı örnekleme olarak adlandırılır.

2.3.5 Rastgele ve Rastgele Olmayan Örnekleme

Rastgele örnekleme yönteminde, grup üyelerinin hepsinin referans grubun kriterlerini sağladığı düşünülerek örnekler toplanıp, analiz edilir. Elde edilen verilere istatistiksel analizler yapılır ve RI hesaplanır. Rastgele olmayan örnekleme yönteminde ise seçilen toplumdan grup oluşturmak için bireylerin önceden hangi kriterleri sağladığı belirlenir. Rastgele olmayan örnekleme, çoğunlukla uygulanan bir yöntemdir.

2.4. Preanalitik ve Analitik Faktörler

Referans popülasyonlardan elde edilen analitik sonuçlar, test sonuçlarını etkileyebilecek tüm preanalitik ve analitik değişkenleri yansıtmalıdır. Bu nedenle, denek hazırlama, numune toplama ve işleme, analitik yöntem dahil olmak üzere tüm preanalitik faktörler dikkatli bir şekilde tanımlanmalı ve hem referans bireyleri hem de hasta popülasyonunu test etmek için kullanılmalıdır.[19] Genel olarak, preanalitik faktörler biyolojik ve metodolojik olmak üzere iki alanı içerir.[15]

Biyolojik faktörler, metabolik ve hemodinamik kökenli olanları içerir. Hücre hasarı potansiyeli olan prosedürler dikkate alınmalıdır. Enzim indüksiyonuna neden olan farmakolojik ajanlar kullanan denekler dışlanmış olmalıdır.

Preanalitik metodolojik faktörler, toplama tekniklerinin, katkı maddelerinin ve tüplerin dolum sırasının (kan örnekleri için) dikkate alınması dahil olmak üzere numune toplama ve işlemeyi içerir.

Aynı analitin birden fazla yöntem, alet veya sistemle ölçülmesi, çeşitli yöntemlerin, aletlerin veya sistemlerin karşılaştırılabilir sonuçlar ürettiğini doğrulamak için uygun incelemeler gerektirir. Alternatif yöntemler veya sistemler karşılaştırılabilir sonuçlar vermezse ve özellikle sayısal sonuçlardaki farklılıklar klinik olarak anlamlıysa, ayrı RI' nın oluşturulması gerekebilir.

Tablo 3. Dikkate alınması gereken preanalitik faktörler

Hasta Hazırlama	Numune Toplama	Numune Taşıma
● Önceki diyet ● Farmakolojik ajanlardan uzak durma ● İlaç rejimi ● Biyolojik ritimlere göre örnekleme süresi ● Fiziksel aktivite ● Toplamadan önceki dinlenme süresi ● Stres	● Toplama sırasındaki çevresel koşullar ● Saat ● Vücut duruşu ● Numune tipi ● Kan akışı ● Ekipman ● Teknik ● Turnike süresi	● Taşıma ● Pıhtılaşma ● Serum/plazma ayrımı ● Depolama ● Analiz için hazırlık

2.4.1 Birey Hazırlama

Hazırlığın yetersiz yapılması veya tanımlanan kriterlerden sapmalar, yanlış veya verileri çarpıtan sonuçlara neden olabilir. Belirlenen kriterler, biyolojik varyasyonun ilgilenilen analit üzerindeki etkisine göre saptanır.[14,15,19]

Kan örneklemesinden önce gıda alımı, direkt (analit konsantrasyonundaki değişiklikler) veya indirekt olarak birçok laboratuvar sonucunu etkiler. Tersine, uzun süreli açlık başka değişikliklere sebep olur. Birçok analit ayrıca kafein, etanol, tütün ve C vitamini gibi ajanlardan da etkilenebilir. Bu nedenle, bu ajanların veya diğerlerinin kullanımı, hasta/denek hazırlama planının bir parçası olarak değerlendirilmelidir.[15,19]

Flebotomi prosedürü sırasında egzersiz ve postüral pozisyon laboratuvar sonucunu etkileyebilir. Yatan hasta ve ayaktan hastaların tedavi sonuçları karşılaştırılırken postüral

değişikliklerin etkisi önemlidir ve bazı analitler için ayrı RI'nın oluşturulmasını gerektirebilir. Etnik köken, mevsimsel değişiklikler ve sirkadiyen ritim gibi faktörler de analit konsantrasyonunu etkileyebilir. Bu sorunların çoğu, uygun dışlama kriterleri ile ortadan kaldırılmıştır.[14,15]

2.5. Referans Değerlerin Analizi

RI burada, referans deneklerin çekildiği bir popülasyon için değerlerin belirli bir yüzdesini (genellikle %95) kapsadığı tahmin edilen bir üst ve alt referans limiti olan iki sayı arasındaki aralık olarak tanımlanır. Çoğu analit için, alt ve üst referans limitleri, referans popülasyon için test sonuçlarının dağılımının sırasıyla 2.5. ve 97.5 yüzdelik dilimleri olarak tahmin edilir.

RI sınırlarının tahminleri için güven aralıkları, referans popülasyonun rastgele örneklenmesi varsayımıyla oluşturulabilir. Her bir güven aralığının genişliği, referans deneklerin sayısına ve gözlemlenen referans değerlerinin dağılımına bağlıdır.

Non-parametrik tahmin yöntemi, gözlemlenen referans değerlerin olasılık dağılımı hakkında belirli bir varsayımda bulunmamaktadır. Parametrik yöntem, pratikte uygulandığı gibi, gözlemlenen değerlerin veya bu değerlerin bazı matematiksel dönüşümlerinin bir Gauss (yani "normal") olasılık dağılımını izlediğini varsayar. Birçok analitin referans değerleri Gauss dağılımını izlemediğinden, parametrik yöntemin kullanılması, onları "normalleştirmek" için dönüştürülmelerini gerektirmektedir. Bu, en uygun dönüşümün seçilmesini ve ardından dönüştürülen referans değerlerinin bir Gauss dağılımına uyup uymadığının değerlendirilmesini gerektirir.[26]

Basit non-parametrik yöntem, bir laboratuvarın istatistiksel ve hesaplamalı desteğe kısıtlı erişimi varsa RI'nın belirlenmesi için önerilen prosedür olmaya devam etmektedir. Çalışma grubu, güvenilir RI geliştirilmesinde en önemli hususların, gözlemlenen verilerden RI tahmin etmek için kullanılan istatistiksel yöntemin değil, uygun referans deneklerin seçilmesi, yeterli sayıda deneğin test edilmesi ve preanalitik hatalardan kaçınılması olduğunu vurgulamaktadır. Basit non-parametrik yöntemin örneklem büyüklüğü kısıtlamaları laboratuvarın RI oluşturmasını engelliyorsa ve laboratuvarın daha karmaşık prosedürleri yorumlayabilecek ve uygulayabilecek personele erişimi varsa, bootstrap metodu prosedürleri[15,27–29], geleneksel parametrik yöntemlerin[15,26,27] veya Horn ve Pesce, 2005'te açıklanan Robust metodlarının kullanılmasını tavsiye eder.

2.5.1 Referans Değer Sayısı

Parametrik olmayan yöntemi kullanarak, en az n = (100/P) − 1 gözlem elde edilmedikçe, P% aralıklı bir dağılımın iki yüzdelik dilimini ayırt etmek imkansızdır. Bunun nedeni, parametrik olmayan yöntemin yalnızca gözlemlerin sıralarına (büyüklük sırasına göre) bağlı olması ve ölçülen değerlerini dışarıda bırakmasıdır. Örneğin, bir popülasyondan rastgele dokuz gözlemden oluşan bir örnek alınırsa, bunlar büyüklük sırasına göre sıralandığında dokuz sıralamadan yalnızca dokuz yüzdelik tahmin elde edilebilir. En küçük gözlem, nüfusun yüzde 10'luk diliminin parametrik olmayan tahminidir. En büyük gözlem, nüfusun 90. yüzdelik diliminin parametrik olmayan tahminidir. Bu nedenle, formülün belirttiği gibi, dokuz gözlemden oluşan bir örnek [9 = (100/P) − 1, burada P = 10.0], tanım gereği, popülasyonun birbirinden tam olarak %10 uzakta yüzdelik dilimleri olan sıralı popülasyon ondalıklarının farklı parametrik olmayan tahminlerini elde etmek için gereken minimum örneklem boyutunu temsil eder.

Benzer şekilde, 5. yüzdelik dilimden farklı 2,5. yüzdelik dilimi veya 97,5. yüzdelik dilimden farklı 95. yüzdelik dilimi tahmin etmek için (yani, $P = 2,5$), minimum 39 ölçüm gereklidir [39 = (100/2.5) -1].

Örneklemdeki en küçük gözlem, popülasyonun 2.5. yüzdelik diliminin parametrik olmayan tahminidir. En büyük gözlem ise 97.5. yüzdelik dilimi tahmin eder. Bununla birlikte, parametrik olmayan bir %95 RI elde etmek için tamamen gözlemlenen bir dizi değerin uç noktalarına güvenmek kesinlikle istenmez. Bunlar anormal olabilir veya popülasyonun gerçek yüzdelik değerlerini temsil etmeyebilir. Genel bir standart olarak, CLSI önerilen minimum 120 referansı desteklemektedir.

Anormal veya dış gözlemler silinirse, bir RI'ın belirlenmesi için en az 120 kabul edilebilir referans değeri elde edilene kadar ek denekler belirlenmelidir. Ayrıca, farklı alt sınıflar için ayrı aralıklara ihtiyaç duyulursa (örneğin cinsiyete veya yaşa göre), bu aralıkların her biri önerilen referans gözlem sayısına (en az 120) dayanmalıdır.

Yenidoğan, pediatrik ve geriatrik hastalar gibi belirli popülasyonlar için alt sınıf referans değerleri söz konusu olduğunda, yeterli sayıda uygun referans denek elde etmek zor olabilir. Hangi sayıda değer elde edilirse edilsin, veriler yine parametrik olmayan yöntemle analiz edilmeli ve elde edilen değer sayısına uygun yüzdelik dilimlerle raporlanmalıdır. Alternatif olarak, bu durumlarda robust metodu kullanılabilir.

Robust metodu ile ilgili olarak, belirli bir minimum gerekli gözlem sayısı bulunmaz fakat RI nın hesaplanmasında mümkün olduğunca çok sayıda iyi gözlemin kullanılması istenir. Daha az gözlem kullanmanın sakıncası, RI'n ın sınırları için daha geniş güven aralıklarına dönüşen daha küçük örneklem boyutları için istatistiksel belirsizliktir. Denek sayısı arttıkça bu tür bir belirsizlik azalır.

Özetle, RI belirleme yöntemi, referans popülasyon dağılımının şekli ve referans limitlerindeki tolere edilebilir belirsizlik, gerekli minimum referans değer sayısını etkiler. Örneklem büyüklüğünü belirlemek için genel bir kriter, bir referans limiti için %90 güven aralığının genişliğinin, %95 RIn'ın genişliğine göre kabul edilebilir derecede küçük olması gerektiğidir (Harris ve Boyd)[27]; bu yazarlar, %90 güven aralığının genişliğinin, RI'nın genişliğinin 0,2 katından az olmasını önermektedir. Güven aralıkları kabul edilemeyecek kadar genişse, daha fazla referans değeri gerekir. Tahmin yönteminin seçimi, belirli bir referans dağılımı için güven aralıklarının genişliği üzerinde bir miktar etkiye sahip olsa da, güven aralıklarının genişliğini en önemli etkileyen faktör, mevcut referans değerlerinin sayısıdır.[14]

2.5.2 Aykırı Değerlerin Tespiti

Referans limitlerinin tahmininde önemli bir örtük varsayım, ölçülen referans değerler kümesinin "homojen" bir gözlem koleksiyonunu temsil etmesidir. Bu, tüm değerlerin bir olasılık dağılımı ile karakterize edilen aynı temel test sonuçları popülasyonundan geldiği anlamına gelir.

Bu koşul referans değerlerin çoğu tarafından karşılanıyor olsa da bazıları farklı bir test sonucu popülasyonundan kaynaklanıyor olabilmektedir. Bu tür değerler diğerlerinin ortasında yer aldığında, biyokimyasal analizi yapan kişi bu gözlemlerin atipik analitik koşulları temsil ettiğini veya bazı aritmetik veya prosedürel hataların sonucu olduğunu bilmedikçe, tanımlanması neredeyse imkansızdır.

Genellikle, farklı bir test sonucu popülasyonundan kaynaklanan bu tür referans değerler, referans değerlerin büyük bir kısmının aralığının dışında kalır ve özel dikkat gerektiren "aykırı değerler" olarak tanımlanırlar.

Aykırı değerlerin anormal gözlemler olduğu bilinmediği sürece (örneğin, analizdeki veya kalan deneklere uygulanan preanalitik kontrollerdeki bir hata nedeniyle), onları silmek yerine korumak gerektiği düşünülmektedir.

Bu nedenle, bir RI çalışmasıyla bağlantılı olarak toplanan verilerin analizindeki ilk adımlar arasında, frekans dağılımının görsel olarak incelenmesi yer alır. Dışarıdaki gözlemlerin tespiti için birçok istatistiksel teknik mevcuttur.[30] Bu tekniklerin çoğu, gözlemlenen referans değerlerin Gauss dağılımlı olduğu varsayımına dayanır. Ayrıca, aykırı değerler için aşırı değerler üzerinde herhangi bir test ayrı ayrı gerçekleştirildiğinde, daha az aykırı değerlerin maskelenme olasılığı her zaman vardır.

Dixon tarafından önerilen bir test, referans değer tahmininde oldukça iyi bilinir hale gelmiştir.[31] Yani D/R oranı, burada D, aşırı bir gözlem (büyük veya küçük) ile bir sonraki en büyük (veya en küçük) gözlem arasındaki mutlak farktır ve R, aşırılıklar da dahil olmak üzere tüm gözlemlerin aralığıdır. Üçte bir değeri bir kesme değer olarak önermektedir.[32] Yani, D farkı, R aralığının üçte birine eşit veya daha büyükse, aşırı gözlem silinir. 120 kadar büyük örneklem büyüklükleri için bu kriter oldukça keskindir. Zamanın %1'inden daha azı, gözlemlerin geri kalanıyla aynı temel (normal) dağılıma ait olan bir gözlemi aykırı değer olarak ortadan kaldıracaktır. Bununla birlikte, bir aykırı değerin gerçekten anormal bir gözlem olduğuna dair kanıt yokluğunda ve altta yatan dağılımın genellikle tam olarak Gauss biçiminde olmadığı göz önüne alındığında, özellikle RI'ı parametrik olmayan yöntemle belirlendiğinde, D/R oranı için üçte bir kuralı uygun görünmektedir. Bu nedenle, çalışma grubu, istatistiksel olarak anlamlı aykırı değerler için bir dizi gözlemlenen referans değerin incelenmesinde bu test ve kesme değerinin kullanılmasını desteklemektedir.

Dağılımın aynı tarafında iki veya üç aykırı değer bulunduğunda (hepsi aşırı büyük veya aşırı küçük), üçte bir kuralı (veya benzer herhangi bir D/R kuralı) en aşırı aykırı değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak adlandırmada başarısız olabilir ve böylece biraz daha az aşırı olan diğer aykırı değerlerin varlığını maskeleyebilir. Böyle bir durumda, üçte bir kuralı, en az aşırı aykırı değere tek aykırı değermiş gibi uygulanmalıdır. Kural bu aykırı değerin reddedilmesine yol açarsa, o zaman daha aşırı gözlemler de doğal olarak reddedilmelidir. Kural en düşük uç değeri reddetmiyorsa, ya tüm uç değerleri kabul etmeli ya da alternatif olarak tüm aykırı değerleri birlikte dikkate alan bir test uygulanmalıdır. Böyle bir teste blok prosedürü denir.[30]

Tukey tarafından önerilen başka bir aykırı değer belirleme yöntemi, örneklerin yalnızca ortadaki %50'sini kullanır, böylece dağılımın bir tarafındaki birden fazla aykırı değerin olası maskeleme etkisini azaltır ve hatta ortadan kaldırır.[33] Bu yöntem, örnek veri kümesinin alt ve üst çeyreklerinin (yani 25. ve 75. yüzdelik dilimlerin) hesaplanmasını

içerir. Teorik olarak, bu yöntem ortalama olarak Gauss dağılımına ait verilerin kabaca %0,7'sini hariç tutar. Referans değerlerin, Gauss dağılımı olmadığında, dönüştürülmeleri gerekir.[34]

Box-Cox dönüşümünün Tukey aykırı değer algılama tekniği ile birlikte kullanımına ilişkin ayrıntılar Horn ve Pesce'de (2005) bulunmaktadır.[35] Herhangi bir aykırı değer reddedildiğinde, kalan verilerin ek bir aykırı değer için test edilmesi uygundur.

Aynı teknikler, RI'ı oluşturmak için nihai olarak hangi yöntemin kullanıldığına bakılmaksızın uygulanmalıdır.

2.5.3 Referans Değerlerin Gruplandırılması

Tanımlanan alt sınıflar için ayrı RI'nın gerekli olabileceği, numunelerin toplanması ve analiz edilmesinden önce değerlendirilmelidir.

Erkekler ve kadınlar için veya farklı yaş gruplarında ayrı RI kullanımı klinik olarak kullanışlı değilse ve/veya bu ayrım fizyolojik olarak açıklanamıyorsa gruplandırma gereksiz olabilir. Eğer şartlar yerine getirildiyse, her cinsiyet, yaş veya başka bir alt sınıf için en az 120 bireyin örneklenmesi gereklidir. İki alt sınıfa ait ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu müddetçe her bir alt sınıfın kendi RI' nın var olduğu kabul edilebilir. Bununla birlikte, klinik olarak önemsiz olsa da gözlemlenen fark, örnek sayısı çok fazla olduğunda istatistiksel olarak anlamlı hale dönüşebilir. Sinton ve arkadaşları, alt sınıfların ortalamaları arasındaki fark, elde edilen % 95 referans aralığın % 25' inden büyük bulunursa ayrı RI'nın kullanılmasını önermiştir.[36]
Harris ve Boyd[37], alt sınıf ortalamaları arasındaki daha küçük farkların, bölümleme olmadan hesaplanan referans limitlerinin dışında her iki tarafta beklenen %2,5'lik simetrinin, çok farklı olduğu durumlara sebep olabileceğini göstermiştir. Bir alt sınıftaki bireylerin yüzdesi, gruplama olmadan belirlenen referans limitlerden birinin dışında %4'ü aşarsa bu alt sınıf için duyarlılık ve özgüllükte ortaya çıkan farklılıklar, laboratuvar sonuçlarının yorumuna, teşhis ve tedavi sürecine zarar verebilir. Bu çalışmalarda, aynı problemlerin ortalamalar aynı olduğunda dahi meydana gelebileceğini ortaya koymuştur. Alt sınıfların standart sapmaları oranı 1,5 veya daha büyükse görece geniş dağılan alt sınıfın daha büyük bir kısmı, dar dağılım gösteren alt sınıfın her iki tarafta da ötesine uzanır. Bu nedenle, referans bireylerin fiili olarak seçiminden önce, ilgili analitlerin alt sınıf RI olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Her bir analit hakkında fizyolojik

bilgiler ve klinik uygulamada ayrı alt sınıf RI potansiyel faydası değerlendirilmelidir. Böyle bir değerlendirme, eğer alt sınıf ayrımlarının var olabileceğini ve klinik öneme sahip olabileceğini gösteriyorsa, her bir alt sınıfa en az 120 referans birey seçilmelidir. Alt sınıflara göre RI bölümlere ayrılıp ayrılmayacağına karar vermek için, Harris ve Boyd[37] alt sınıf ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel anlamlılığını z testiyle hesaplamayı önermiştir.

Hesaplamadaki sadeliğe ve kolaylığa rağmen, Harris/Boyd yaklaşımındaki bazı zayıflıklar gösterilmiştir.[38] Yaklaşım, verilerin Gauss dağılımına uyduğunu kabul eder ve alt sınıfların prevalanslarının eşit olmadığını hesaba katmaz. Ayrıca, ortalama ve standart sapmalardan hesaplanan z skoru, ana dağılımın kuyruk davranışını göstermeyebilir. Örneğin, özdeş alt referans limitlere ve farklı standart sapmalara sahip iki dağılım, belirgin olarak farklı üst referans limitlere sahip olabilir ve bunun tersi de geçerlidir.
Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için iki alt sınıfın, kombine dağılımın alt ve üst referans limitlerinin dışında kalan oranlarının doğrudan tahminine dayanan alternatif bir yöntem önerilmiştir.[38] İkiden fazla alt sınıf kıyaslandığında, konu daha da karmaşık hale gelir. Lahti[28,38] hem Harris / Boyd yaklaşımının[39] hem de alternatif yaklaşımın ikiden fazla alt sınıfı içeren bir bölümleme problemini çözmede yetersiz olduğunu göstermiştir.

2.6. Referans Aralıkların Transferi

Güvenilir RI'n belirlenmesi büyük ve maliyetli bir görev olabilir. Bir RI bir laboratuvardan diğerine daha az maliyetli ve daha uygun bir işlemle aktarabilmek çok yararlıdır. Daha fazla laboratuvarda daha fazla yeni test ve yöntem tanıtıldığı sürece, her laboratuvarın kendi RI'nı geliştirmesini beklemek gerçekçi değildir. Sonuç olarak, klinik laboratuvarlar, aktarılabilecek uygun ve yeterli referans değeri verilerini oluşturmak ve sağlamak için diğer laboratuvarlara veya tanı testi üreticilerine giderek daha fazla güvenebilir.

Referans değerlerin aktarılması ve kabul edilebilir olması için belirli şartların yerine getirilmesi gereklidir. Orijinal referans değeri çalışmasının düzgün bir şekilde yapıldığı varsayılırsa; analitik sistem ve denek popülasyonun karşılaştırılabilirliği incelenir.

2.6.1 Aktarım: Analitik Sistemin Karşılaştırılabilirliği

Bazı durumlarda, laboratuvarlar, tanımlanmış protokolleri kullanarak, denek popülasyonları için belirli bir metodolojiye sahip belirli bir analit için bir RI oluşturmuştur. Laboratuvar yöntemleri değiştirmeye karar verirse yeni metot için bir RI oluşturmak üzere referans kişilerden numune toplanması gerekmeyebilir.

Bunun yerine, yeni yöntemin uygulanmasının bir parçası olarak, laboratuvar muhtemelen iki yöntem arasında bir yöntem karşılaştırma çalışması gerçekleştirmiştir (bkz. CLSI/NCCLS belgesi EP098). Böyle bir çalışmadan elde edilen veriler, mevcut RI güncellemek için kullanılıp kullanılamayacaklarını veya aslında yeni bir çalışmaya ihtiyaç olup olmadığını görmek için değerlendirilebilir.

Açıkçası, bu stratejinin en büyük avantajı, laboratuvarın referans bireylerden numune alma ihtiyacını ortadan kaldırabilmesidir. Yöntemler arasındaki ilişkiyi araştırmak için herhangi bir hastadan (yani, mutlaka referans bireylerden değil) yeni örnekler kullanılabilir. Genel olarak, yeni yöntem benzer belirsizliğe sahipse, aynı veya karşılaştırılabilir standartları veya kalibratörleri kullanıyorsa ve kabul edilebilir şekilde karşılaştırılabilir değerler sağlıyorsa, RI aktarılabilir.

RI belirlemek ve aktarımı kullanmak için bazı önemli uyarılara dikkat edilmelidir:

1- CLSI/NCCLS belgesi EP09'daki protokol çok yakından takip edilmelidir.[40] Uygun bir değer dağılımının kullanılması çok önemlidir. Temsil edilen yeterli bir aralık yoksa, korelasyon olduğundan daha kötü görünebilir. Diğer yandan, çok geniş bir örnek aralığı kullanılırsa (yani, birçok aşırı düşük ve aşırı yüksek değer), korelasyonun kalitesi tahmin edilebilir.
2- Doğrusal regresyon kullanılırken, veri aralığı ve RI ile karşılaştırıldığında kesişimin büyüklüğüne bakmak çok önemlidir. Kesişim, RI'na kıyasla nispeten büyükse, yöntem yanlılığı basit bir aktarıma uymaz. Bu durumda, laboratuvarın RI'nı belirlemek için referans bireylerden alınan numunelerin kullanılması önerilir.
3- Doğrusal regresyon, iki veri kümesini karşılaştırmak için her zaman en uygun araç olmayabilir. Örneğin, sodyum dar bir değer aralığına sahiptir ve bunlar ayrık tam sayılardır. Bu durumda, basit ortalama farkı, yöntemler arasındaki ortalama yanlılığın düzeltilmesiyle RI'ın ayarlanmasına izin verebilir.

Yeni RI'ı hesaplamak için aktarım kullanılabilse bile, referans bireylerden oluşan küçük bir örneklemle (örneğin, n = 20) referans aralığını doğrulamaya şiddetle teşvik edilir. Bununla birlikte, RI bir alt kategoride doğrulanırsa, diğer tüm alt kategorilerde doğrulanmasına gerek olmayabileceği kabul edilir.

2.6.2 Subjektif Değerlendirme

Transferin kabul edilebilirliği, orijinal uygun referans değeri çalışmasının ilgili faktörlerinin dikkatli bir şekilde incelenmesiyle oldukça öznel olarak değerlendirilebilir. Bunu yapabilmek için, tüm referans popülasyon demografik değişkenleri ve coğrafi konumları yeterince tanımlanmalıdır. Ayrıca, preanalitik ve analitik prosedür detayları, analitik performans, tüm referans değerler seti ve RI tahmin etme yöntemi açıklanmalıdır. Araştırmacının kanaatine göre, bu faktörler alıcı laboratuvarın işleyişi ve denek popülasyonu ile tutarlıysa, RI, bu hususların belgelendirilmesi dışında, herhangi bir alıcı laboratuvar doğrulama çalışmasına gerek kalmadan aktarılabilir.

2.6.3 Az Sayıda Referans Birey Kullanarak Doğrulama

Alternatif olarak, bir kullanıcı veya laboratuvar, bir üretici veya başka bir donör laboratuvar tarafından bildirilen bir RI'n aktarımını doğrulamak isteyebilir. Transferin kabul edilebilirliği, alıcı laboratuvarın kendi denek popülasyonundan daha az sayıda referans bireyin (n = 20) incelenmesi ve bu referans değerlerinin daha büyük, daha yeterli orijinal çalışma ile karşılaştırılması yoluyla değerlendirilebilir. Ancak burada da orijinal referans değeri çalışmasının analitik ve preanalitik faktörlerinin alıcı laboratuvarın işleyişi ile tutarlı olması gerekir. Ayrıca, referans değerlerde farklılıklara neden olduğu bilinen iki popülasyonun coğrafi konumlarında veya demografik değişkenlerinde önemli farklılıklar varsa, RI aktarmaya çalışmanın bir anlamı olmayacaktır.

Aktarım doğrulama çalışması için referans bireyler seçilir ve referans değerler daha önce tartışılan yönergelere uygun olarak elde edilir. Bu 20 kişi, kabul eden laboratuvarın sağlıklı popülasyonunu makul bir şekilde temsil etmelidir. Dışlama ve gruplandırma kriterlerini uygun şekilde karşılamalıdır. Bu 20 numuneyi uygun spesifikasyonlara göre test ettikten sonra, istatistiksel olarak homojen bir sonuç grubunu temsil ettiklerinden emin olmak için test sonuçları incelenmelidir. Olası aykırı değerleri test etmek için, daha önce belirtilen Reed/Dixon veya Tukey yöntemleri uygulanmalıdır. Bu tekniklerle tespit edilen gerçek

aykırı değerler ortadan kaldırılmalıdır. Bunların yerine yeni hasta örnekleri alınmalı, böylece aykırı değerler içermeyen 20 test sonucu nihayet güvence altına alınmalıdır.

Üreticinin veya donör laboratuvarın rapor ettiği %95'lik referans limitleri, test edilen 20 deneğin değerlerinden ikisinden fazlasının (veya test sonuçlarının %10'unun) orijinal olarak bildirilen sınırların dışında kalmazsa, alıcı laboratuvarda uygulama için geçerli olduğu kabul edilebilir. Üç veya dört test sonucu bu sınırların dışında kalırsa, yine aykırı değerlerden arındırılmış ilk 20'ye benzer 20 referans numune daha alınmalıdır. Bu yeni sonuçlardan ikisinden fazlasının üreticinin veya donör laboratuvarın rapor ettiği referans sınırlarının dışında kalmaması durumunda, ikincisi alıcı laboratuvarda kullanım için kabul edilebilir olarak değerlendirilir. Bununla birlikte, üç veya daha fazlası tekrar sınırların dışında kalırsa (veya orijinal kümedeki beş veya daha fazla kişi sınırların dışında kalırsa), kullanıcı kullanılan analitik prosedürleri yeniden incelemeli, numune alınan iki popülasyonun biyolojik özelliklerindeki olası farklılıkları göz önünde bulundurmalıdır. Alıcı laboratuvarın tam ölçekli çalışma kılavuzlarına göre kendi RI'nı geliştirmesi gerekip gerekmediği değerlendirilmelidir.

Alıcı laboratuvarın karşılaştırılabilir veya aynı analiz yöntemini kullanarak seçilen 20 deneği test etmesini gerektiren ve iki veya daha az test sonucunun bu sınırların dışında kalması durumunda üreticinin veya donör laboratuvarın sınırlarını kabul eden bu yaklaşım, binom dağılımı tablolarına başvurularak kanıtlanabileceği gibi, istatistiksel olarak sağlamdır. İkiden fazla test sonucunun bu sınırların dışında kalma olasılığı, aslında kullanıcı nüfusunun %95'i bu sınırlar içinde kaldığında, yalnızca %7,5'tir. Kural bir bütün olarak ele alındığında (yani, orijinal kümedeki üç veya dört değer önerilen sınırların dışında olduğunda ek 20 referans bireyden örnek toplamak), yanlış reddetme olasılığı %1'in biraz altına düşer.

Test edilen referans bireylerden alınan tam veri setinin tahlil üreticisinden veya donör laboratuvarından temin edilebildiği durumlarda, az önce açıklanan binom testinden potansiyel olarak daha güçlü olan diğer istatistiksel testler yapılabilir.

Mann-Whitney U (M-W U) testi, konumdaki değişiklikleri tespit etmede çok güçlüdür. Test edilen hemen hemen her artışta, değişiklikleri en yüksek oranda tespit etti. Örneğin, zamanın neredeyse %50'sinde 0,2 mg/dL'lik bir kalsiyum artışı tespit etti (binom testi

için %15'e karşı) ve zamanın kabaca %60'ında 5 U/L'lik bir ALT artışı tespit etti (binom testi için %0'a karşı).

Ölçek farklılıkları için Siegel-Tukey (S-T) testi, ölçekteki artış ve azalışları tespit etmek için çok güçlü bir yöntemdir. Örneğin hem kalsiyum hem de ALT için zamanın kabaca %25'inde ölçekte %25'lik bir artış tespit etti (binom testi için kabaca %40'a karşı) ve hem kalsiyum hem de ALT için zamanın kabaca %25'inde ölçekte %25'lik bir azalma tespit etti (binom testi için %0'a karşı).

Genel olarak, binom testinin kalsiyum gibi simetrik olarak dağılmış değişkenlerin konumundaki değişiklikleri tespit etmede oldukça iyi performans gösterdiği, ancak ALT gibi belirgin şekilde çarpık dağılımlardaki bu tür değişiklikleri tespit etmede zayıf olduğu sonucuna varılabilir. Benzer şekilde, binom testi, ölçekteki artışları tespit etmede oldukça iyi performans gösterir, ancak yayılmadaki düşüşleri hiç tespit etmez. Bu nedenle, bir RI doğrulamak için binom testi kullanılırken, özellikle 20 örnek değerinden hiçbiri sınırların dışında kalmadığında, önerilen RI'nın hedef popülasyon için çok geniş olma olasılığına karşı özellikle dikkatli olunmalıdır. Bu durum, örneğin, hedef popülasyon orijinal popülasyondan daha homojense (örneğin, 20 ila 30 yaş arasındaki erkekler ve 20 ila 70 yaş arasındaki her iki cinsiyet) veya yöntemin kendisi orijinal yöntemden daha kesinse ortaya çıkabilir. Bu bölümün başında belirtildiği gibi, bir doğrulama çalışması yapılmadan önce yöntemlerin ve popülasyonların karşılaştırılabilirliğinin belirlenmesi çok önemlidir.

Diğer istatistiksel testlerle ilgili olarak, M-W U testi konumdaki değişiklikleri tespit etmede en iyisidir, ST testi yayılmadaki değişiklikleri tespit etmede en iyisidir ve Kolmogorov Smirnov (K-S) testi muhtemelen konum ve yayılmadaki değişiklikleri (hem artış hem de azalma) tespit etmek için genel olarak en iyi tek testtir.

2.6.4 Çok Sayıda Referans Birey Kullanarak Doğrulama

Laboratuvarlar, RI testin yerel klinik yorumunu yaparken kritik öneme sahip analitler için daha kapsamlı bir RI aktarım çalışması yapmayı seçebilir. Bu gibi durumlarda, transferin kabul edilebilirliği, alıcı laboratuvarın kendi denek popülasyonundan daha büyük bir referans birey popülasyonu (örn. n = 60) incelenerek ve bu referans değerleri daha büyük orijinal çalışma ile karşılaştırılarak değerlendirilebilir ve doğrulanabilir. Ancak burada da orijinal referans değeri çalışmasının analitik ve preanalitik faktörlerinin alıcı laboratuvarın işleyişi ile tutarlı olması gerekir. Bu türden daha büyük çalışmalar, orijinal

referans değeri çalışması ile alıcı laboratuvar denek popülasyonu arasındaki farkları keşfetmek için daha fazla istatistiksel güce sahiptir. Referans değerlerde farklılıklara neden olduğu bilinen iki popülasyonun coğrafi konumlarında veya demografisinde önemli farklılıklar varsa, RI aktarmaya çalışmanın pek bir anlamı yoktur.

Verilerin uygun şekilde incelenmesinden ve aykırı değerlerin hariç tutulmasından sonra, daha küçük referans değer örneği, donör laboratuvardan alınan daha büyük orijinal referans değerleri seti ile karşılaştırılır.

İki referans değer kümesi, bir referans popülasyonda alt sınıfların var olup olmadığını belirlemek için açıklananla aynı şekilde ele alınabilir. Bu değerlendirme, donör referans değerleri ile alıcı laboratuvarın daha kısa referans değerleri arasında büyük, önemli bir fark (bir alt sınıf farkı) göstermiyorsa verici RI aktarılabilir. Bununla birlikte, gruplandırma protokolüne göre fark önemliyse, daha fazla karşılaştırma veya tam ölçekli bir referans değer çalışması yapılmalıdır.

2.7. Referans Aralığı Hesaplama

RI'n hesaplanmasında kullanılacak yöntem seçilirken örneklem sayısı ve verilerin dağılımı dikkate alınır.

2.7.1 Genel Hesaplama

Yalnızca verilerin normal dağıldığı veya normal dağılıma dönüştürülebilmesinin mümkün olduğu durumlarda bu yöntem kullanılabilir. Referans limit değerleri için ortalama ± 1,96 x standart sapma hesaplaması kullanılır. IFCC, bu yöntemin yerine, dağılıma bakılmaksızın Robust veya non-parametrik yöntemin kullanılmasını tavsiye etmektedir.

2.7.2 Robust Metodu

Genel hesaplama yöntemindeki gibi verilerin normal dağıldığı durumda Robust metodu kullanılır, bununla birlikte asimetrik dağılımlarda da işlevseldir.[41]

Bu yöntem, simetrik bir dağılımın orta değerinin kestirimi üzerine kuruludur. Verinin konumu ve dağılımının kestirimi için yinelemeli aşamalar içerir. Robust metodunda alt ve üst referans limitlerin % 90 güven aralığı hesaplanamaz.[42]

Bu yöntem örneklem sayısının 40'tan fazla, 120'den az olması durumunda tercih edilir. Referans birey sayısı 120'den az olduğunda, nonparametrik yöntemin kullanımı sorun yaratabilir. Böyle durumlarda robust metodu, alternatif bir seçenek olarak kullanılabilir.

Robust Metodu, bir veri kümesinin merkezi eğilimini ve değişkenliğini belirlemek için genellikle medyanı ve medyan hakkındaki medyan mutlak sapmasını kullanan tekrarlayan bir süreci içerir. Bu yöntem, bu tahminleri yinelemeli olarak yeniden hesaplar ve aykırı değerlerin etkisini, medyandan uzaklıklarına bağlı olarak azaltır. Bu yaklaşım, klinik ortamlarda doğru test yorumlamaları için çok önemli olan daha istikrarlı referans limitlerinin oluşturulmasına yardımcı olur.[43]

2.7.3 Bootstrap Metodu

Çoğunlukla robust metoduyla birlikte kullanılan bootstrap metodu, bir tahminin dağılımını (örneğin ortalama, medyan) hesaplamak için veri kümesinden değiştirme ile tekrar tekrar örneklemeyi içerir. Bu özellikle RI sınırları için güven aralıklarının tahmin edilmesinde faydalıdır. Bootstrap metodu, verileri birçok kez yeniden örnekleyerek RI'n daki belirsizliğin daha doğru bir tahminini sağlayabilir. Örnek boyutu küçük olduğunda veya genel popülasyonu temsil etmediğinde bu çok önemli bir hale gelir.[43]

Bu metodun en büyük avantajı non-parametrik dağılımda az sayıda örnek ile referans limitlerin %90 güven düzeyinde hesaplanabilmesidir.

2.7.4 Non-parametrik Persentil Metodu

Hem IFCC hem de CLSI tarafından önerilen metottur. Bu yöntemde dağılımın her %1'lik kısmına denk gelen değer 1 persentili belirtir. 2,5. ve 97,5. persentiller %95'lik referans aralığın sınırlarını ifade eden, alt ve üst referans limitlerin oluşturulması için kullanılır.

Veriler her persentilde sıklıklarına göre düzenlenir ve kademeler oluşturulur. Kademeler, bu limit değerlerin yer aldığı %90 güven aralıklarının oluşturulması için kullanılır. Güven aralıklarının oluşturulabilmesi için veri sayısı en az 120 olmalıdır.[32] Bu yöntem, verilerin belirli dağılım şekli içerdiği varsayımına dayanmaz. Bundan dolayı

veriler asimetrik dağılım göstermiş olsa bile persentiller hesaplanabilir. Dağılımdaki aşırı uç değerler sonucu etkilemez.

n, %95 referans aralığının hesaplandığı bir dizi referans verisindeki gözlem sayısını göstersin. Gözlemler ilk sırada yer alır (yani, büyüklüğe göre sıralanır). r, bir gözlemin derecesini temsil etsin (en küçüğü r = 1; en büyüğü r = n olarak sıralanır). Parametrik olmayan yöntem, r1 = 0.025'e (n + 1) karşılık gelen gözlem olarak alt referans limiti olan r1'in (2.5. yüzdelik dilim) ve r2 = 0.975'e (n + 1) karşılık gelen gözlem olarak üst referans limiti r2'nin (97.5. yüzdelik dilim) hesaplanmasından oluşur. r1 ve r2'nin değerleri genellikle tamsayı olmadığından, limitler genellikle r1 ve r2'nin her iki tarafındaki sıralara karşılık gelen veri noktaları arasında hesaplanır. Ancak, n = 120 olan bu örneklerde, r1 ve r2 değerleri sırasıyla 3 ve 118 tamsayılarına o kadar yakındır ki, şu sayılara yuvarlanırlar:

R1 Serisi = 0,025 (121) = 3,025 □ 3

R2 Serisi = 0,975 (121) = 117,975 □ 118

n = 240 için, r1 ve r2 değerleri sırasıyla 6 ve 235'tir.

2.8. Roche Cobas 8000 e801 Otoanalizörü

2.8.1 Teknik Özellikler ve Test Metodolojisi: Roche Cobas 8000 e801, pediyatrik popülasyonda TFT için kullanılan gelişmiş bir immün analiz cihazıdır. Bu cihaz, bir adımlı ölçüm yöntemi kullanır ve rutinyum tabanlı bir substrat kullanımıyla dikkat çeker. Bu teknik özelliklerin ve metodolojinin, tiroid hormonlarının (TSH, sT4, sT3) ölçümünde nasıl bir etki yarattığını anlamak önemlidir.[44]

2.8.2 Referans Aralıkları ve Test Sonuçlarının Yorumlanması: Roche Cobas 8000 e801 kullanılarak yapılan TFT'de, pediyatrik popülasyonda yaşa ve gelişim evresine özgü RI'n önemi büyüktür.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Çalışma Grubu

Bu retrospektif çalışmada 1 Mayıs 2021-30 Kasım 2022 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda 18 yaş altı tüm hastalardan eş zamanlı tetkik istem numaraları ile toplanan kan örnekleri incelendi. TSH, sT4 ve sT3 ölçüm sonuçları Laboratuvar Bilgi Sistemi'nden (LIS) Microsoft Office Excel dosyası olarak indirilmiştir. (Ethics Committee Approval Decision No: KOU GOKAEK-2022/19.16 Project No: 2022/324).

Sağlıklı popülasyonu daha iyi temsil etmek için yoğun bakım üniteleri, endokrinoloji, enfeksiyon hastalıkları, onkoloji ve hematoloji poliklinikleri ile patoloji olasılığının yüksek olduğu yataklı servislerdeki hastalardan elde edilen laboratuvar verileri çalışma dışı bırakıldı. Daha önce çeşitli nedenlerle Anti-TG ve Anti-TPO parametreleri açısından değerlendirilen hastalar da verilerinin RI dışında kalması durumunda çalışma dışı bırakıldı. Belirtilen tarihler arasında birden fazla test sonucu olan hastalar için sadece bir sonuç seçildi. Seçim sürecinde, bir hastanın bir işlem sırasındaki nihai sonucu, büyük olasılıkla sağlığa dönüşü temsil ettiği düşünüldüğü için tercih edildi ve sonuncusu dışındaki test sonuçları çalışmadan çıkarıldı. Çalışmamıza sadece TSH, sT4 ve sT3 sonuçları olan hastaların en son verileri dahil edildi.

TSH için 0.005-100 mIU/L, sT4 için 0.5-100 pmol/L ve sT3 için 0.6-50 pmol/L aralıkları dışındaki değerler herhangi bir istatistiksel analiz yapılmadan çalışma dışı bırakıldı. Bu dışlama, bu değerlerin ilgili yöntemlerin tespit limitlerini ve ölçüm aralıklarını temsil etmesinden kaynaklanıyordu. TSH'nın RI dışında olduğu durumlarda, o hastanın sT4 sonuçları da dışlandı. TSH, sT4 ve sT3 için aykırı değer analizi yapıldı ve mevcut aykırı değerler veri setinden çıkarıldı.

3.2. Örneklerin Toplanması ve Analizi

Tiroid fonksiyon testlerinin sirkadiyen ritmi göz önünde bulundurularak laboratuvarımızda örnekler sabah 08:30-10:00 saatleri arasında jel ayırıcılı BD Vacutainer® SST II kullanılarak, 5.0 mL sarı kapaklı kan alma tüpleri (Becton Dickinson Italia S.P.A., Milano, İtalya) kullanılarak alınmaktadır. Yeterli fibrin oluşumunu sağlamak için örnekler yaklaşık yarım saat pıhtılaşmaya bırakılır, daha sonra serum elde etmek için

1800 g'da 15 dakika santrifüj edilir. Serum TSH, sT4 ve sT3 düzeyleri Cobas 8000 e 801 modüler analizörü ile kemilüminesans yöntemi kullanılarak analiz edilir (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

Testler her gün analiz edilmeden önce, TSH, sT4 ve sT3 için PreciControl Universal PCU1 2x3.0 mL ve PCU2 2x3.0 mL'nin yanı sıra Anti-TG ve Anti-TPO için Elecsys PreciControl ThyroAB PC THYRO1 2x2.0 mL ve PC THYRO2 2x2.0 mL kullanılarak iki veya üç seviyeli bir iç kalite kontrol programı yürütülür. Kitlerin kalibrasyonları, her teste özel Roche Diagnostics CalSet kalibratörleri kullanılarak düzenli aralıklarla yapılmaktadır.

Üreticinin bilgilerine göre, TSH için kalibratör, WHO Referans Standardı 80/558'in 2. Uluslararası Referans Hazırlığına (IRP) göre standardize edilmiştir [6]. sT4'ün kalibrasyonu, farklı kontrol malzemeleri üzerinde izotop seyreltme gazı kromatografisi-kütle spektrometrisi (ID-GC/MS) kullanılarak yapılır. sT3 kalibratör, T3 analiti olmayan bir insan serum matrisine dayalı olarak standardize edilmiştir. CLSI protokolü (EP05-A3) izlenerek Elecsys reaktifleri, numuneleri ve kontrolleri kullanılarak belirlendi: 21 gün boyunca iki kez günde iki çalışma (n = 84). Aşağıdaki sonuçlar elde edildi: TSH için, tekrarlanabilirlik varyasyon katsayısı (CV)% 0.7 ila% 3.4 arasında değişmiştir ve orta hassasiyetli CV% 0.015 ila 95.6 mikroIU / mL arasında değişen konsantrasyonlar için% 1.5 ila% 11.2 arasında değişmektedir; sT4 için, tekrarlanabilirlik CV%'si %1.5 ila %2.6 arasında değişmiştir ve orta hassasiyetli CV, 15.4 ila 54.1 pmol / L arasında değişen konsantrasyonlar için% 2.1 ila% 3.6 arasında değişmektedir; sT3 için, üretici (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) tarafından sağlandığı gibi, tekrarlanabilirlik CV %1,4 ila %7,6 arasında değişmekte ve orta hassasiyetli CV %1,6 ila %8,3 arasında değişmekte olup, 1,47 ila 49 pmol/L arasında değişmektedir. Tüm testler için dış kalite kontrolleri, Dış Kalite Güvence Hizmetleri (EQAS) immünolojik test programı aracılığıyla aylık olarak gerçekleştirilir.

Tablo 4: Dışlama kriterleri uygulandıktan sonra oluşan veri sayıları

Çalışılan Örnek	Toplam	Erkek	Kadın
TSH	11.883	5.634	6.249
sT4	11.604	5.549	6.055
sT3	6.014	2.753	3.261

3.3. İstatiksel Analiz

RI hesaplamak için parametrik ve parametrik olmayan yöntemler kullanılabilir. Parametrik yöntemde, Box-Cox, logaritmik, üstel veya karekök dönüşümleri gibi uygun bir dönüşüm yöntemi uygulanarak normallik varsayımının sürdürülmesi esastır. Box-Cox dönüşümü bu teknikler arasında en sık kullanılan yöntemdir. Ancak, bu dönüştürme yöntemi bazen veri dağılımını normalleştirmek için yetersiz kalmaktadır. Bu durumda, RI belirlenmesi için parametrik olmayan bir yöntem tercih edilir. EP28-A3c ayrıca genel olarak parametrik olmayan hesaplama yöntemini önerir.[14]

Hem parametrik hem de parametrik olmayan yaklaşımlar için, aykırı değer algılama ve dışlama, güvenilir RI elde etmek için çok önemlidir. Aykırı değer analizi için yaygın olarak kullanılan iki yöntem vardır. Dixon tarafından önerilen ilk yöntem çok basit ve etkilidir.[31] Bu yöntemde, D/R oranı hesaplanır, burada D, şüpheli aykırı değer ile bir sonraki veya prosedür değeri arasındaki farkın mutlak değerini temsil eder ve R, tüm aralığı temsil eder. "D/R > 1/3" kriterlerini karşılayan gözlem aykırı değer olarak kabul edilir ve atılır. Bununla birlikte, Dixon'ın yöntemi birden fazla aykırı değer varlığında kullanılamaz. İkinci yöntem Tukey tarafından önerilmiştir.[33] Tukey'in yöntemi, verilere Box-Cox dönüşümünü uyguladıktan sonra çeyrekler arası aralığı (IQR: Q3-Q1; burada Q1 ilk çeyreği ve Q3 üçüncü çeyreği temsil eder) hesaplayarak aykırı değerleri tanımlar. Q3 + 1.5 IQR'nin üzerinde veya Q1 - 1.5 IQR'nin altında olan dönüştürülmüş gözlemler aykırı değerler olarak kabul edilir ve hariç tutulur. Verilerimizde birden fazla aykırı değer olduğu için aykırı değer tespiti için Tukey'in yöntemini kullandık.

Bu çalışmada, her yaş grubu için RI hesapladık çünkü RI yaşa göre sınıflandırılması doğru RI oluşturmak için gereklidir. Bununla birlikte, ilk ay referans değerlerin belirlenmesinde çok önemli olduğu için yenidoğanlar için ayrı RI hesapladık. Yaş grupları ilk ay için 1-15 gün ve 16-30 gün olarak bölündü.

Daha yeni olduğu için Ichihara ve Boyd'un yöntemini kullanmayı tercih ettik. Ichihara ve Boyd, ardışık alt gruplar için standart sapma oranının (SDR) 0,3'ü aşması durumunda ayrı bir RI hesaplanmasını önermektedir.[45] Bölümlememizi doğruladıktan sonra, RI her yaş grubu için verilerin 2,5. ve 97.5. yüzdelik dilimleri olarak hesapladık. Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS for Windows sürüm 29.0 (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılarak yapılmıştır.

3.4. Etik Onay

24.11.2022 tarihinde Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan GOKAEK-2022/19.16 Proje No: 2022/324 karar numarası ile etik onay alınmıştır. (Ek-1)

4. BULGULAR

Dışlama kriterleri uygulandıktan sonra toplam 11.883 (5.634 erkek; 6.249 kadın) TSH, 11.604 (5.549 erkek; 6.055 kadın) sT4 ve 6.014 (2.753 erkek; 3.261 kadın) sT3 verisi ana çalışma grubunu oluşturmuştur. Tablo 4, yaş ve cinsiyete göre TSH için; Tablo 5, sT4 için ve Tablo 6 sT3 için RI sunmaktadır. Yaşa dayalı bir sınıflandırma, TSH ve sT4 için 1. günden ve sT3 için 3. günden başlayarak yaş sınırları olan 21 yaş grubuyla sonuçlandı.

Tablo 5. TSH için pediatrik RI (mIU/L)

	Yaş Grupları	n	Ort ± SS	Minimum	Maksimum	Referans Limitler	
Total	**0-18 yaş**	11883	2.54 ± 1.57	0.25	14.00	0.72	6.83
	1-15 gün	622	4.58 ± 2.46	0.39	14.00	1.03	10.5
	16-30 gün	279	3.84 ± 1.97	0.29	13.80	1.24	8.62
	2-12 ay	798	3.12 ± 1.87	0.47	13.20	0.87	8.23
	2 yaş	556	2.44 ± 1.34	0.30	8.60	0.73	6.18
	3 yaş	546	2.51 ± 1.46	0.26	10.90	0.70	6.32
	4 yaş	500	2.41 ± 1.37	0.31	11.60	0.76	6.34
	5 yaş	497	2.51 ± 1.49	0.52	13.10	0.81	6.28
	6 yaş	525	2.48 ± 1.39	0.34	10.10	0.72	6.15
	7 yaş	521	2.40 ± 1.25	0.44	10.90	0.80	5.46
	8 yaş	538	2.47 ± 1.41	0.26	13.10	0.72	5.83
	9 yaş	562	2.41 ± 1.22	0.37	10.50	0.83	5.59
	10 yaş	558	2.49 ± 1.33	0.38	11.70	0.81	5.61
	11 yaş	546	2.55 ± 1.34	0.47	9.42	0.70	6.16
	12 yaş	500	2.40 ± 1.39	0.31	13.40	0.83	5.69
	13 yaş	546	2.30 ± 1.25	0.33	10.80	0.71	5.30
	14 yaş	579	2.24 ± 1.35	0.35	12.10	0.63	5.52
	15 yaş	652	2.10 ± 1.03	0.31	8.41	0.71	4.52
	16 yaş	704	2.12 ± 1.22	0.25	13.10	0.67	5.09
	17 yaş	674	2.23 ± 1.36	0.27	9.37	0.63	5.80
	18 yaş	1180	2.09 ± 1.24	0.28	13.00	0.58	5.33
Erkek	**0-18 yaş**	5634	2.63 ± 1.58	0.27	14.00	0.80	6.95
	1-15 gün	328	4.35 ± 2.45	0.39	14.00	0.92	10.38
	16-30 gün	149	4.01 ± 2.10	0.29	13.80	1.17	9.25
	2-12 ay	413	3.20 ± 1.94	0.47	13.20	0.87	8.38
	2 yaş	288	2.49 ± 1.32	0.41	7.53	0.85	6.44
	3 yaş	307	2.63 ± 1.51	0.54	10.90	0.77	6.41
	4 yaş	282	2.51 ± 1.45	0.61	11.60	0.81	6.65
	5 yaş	275	2.56 ± 1.51	0.52	10.80	0.85	6.51
	6 yaş	262	2.51 ± 1.32	0.72	10.10	0.91	5.76
	7 yaş	262	2.31 ± 1.12	0.65	7.010	0.89	5.45
	8 yaş	261	2.46 ± 1.26	0.51	9.76	0.72	5.60
	9 yaş	260	2.41 ± 1.16	0.37	8.27	0.88	5.34
	10 yaş	281	2.56 ± 1.42	0.44	11.70	0.76	5.93
	11 yaş	276	2.58 ± 1.41	0.47	9.42	0.66	6.32
	12 yaş	248	2.48 ± 1.25	0.61	7.25	0.92	5.57
	13 yaş	265	2.30 ± 1.09	0.56	8.26	0.69	4.64
	14 yaş	278	2.39 ± 1.39	0.36	12.1	0.68	5.96
	15 yaş	290	2.25 ± 1.08	0.44	8.41	0.73	4.57
	16 yaş	259	2.21 ± 1.22	0.44	10.7	0.76	5.61
	17 yaş	230	2.36 ± 1.43	0.27	9.37	0.74	6.47
	18 yaş	420	2.18 ± 1.28	0.28	9.34	0.64	5.56
Kız	**0-18 yaş**	6249	2.46 ± 1.55	0.25	13.4	0.68	6.68
	1-15 gün	294	4.83 ± 2.44	0.64	13.2	1.28	10.80

16-30 gün	130	3.64 ± 1.80	0.73	10.9	1.21	8.16
2-12 ay	385	3.04 ± 1.79	0.47	13.00	0.86	8.17
2 yaş	268	2.40 ± 1.35	0.30	8.6	0.72	6.19
3 yaş	239	2.36 ± 1.37	0.26	9.06	0.56	5.80
4 yaş	218	2.27 ± 1.26	0.31	7.28	0.68	5.70
5 yaş	222	2.45 ± 1.46	0.60	13.10	0.75	6.28
6 yaş	263	2.46 ± 1.46	0.34	9.61	0.54	6.67
7 yaş	259	2.49 ± 1.37	0.44	10.90	0.67	5.48
8 yaş	277	2.48 ± 1.55	0.26	13.10	0.62	7.18
9 yaş	302	2.41 ± 1.27	0.54	10.50	0.78	5.83
10 yaş	277	2.41 ± 1.22	0.38	8.16	0.81	5.40
11 yaş	270	2.52 ± 1.27	0.51	8.80	0.70	5.73
12 yaş	252	2.33 ± 1.51	0.31	13.40	0.74	6.24
13 yaş	281	2.30 ± 1.38	0.33	10.80	0.73	5.90
14 yaş	301	2.11 ± 1.29	0.35	10.60	0.56	4.60
15 yaş	362	1.98 ± 0.97	0.31	5.52	0.67	4.41
16 yaş	445	2.07 ± 1.23	0.25	13.10	0.62	4.52
17 yaş	444	2.16 ± 1.33	0.31	9.04	0.59	5.66
18 yaş	760	2.04 ± 1.22	0.28	13.00	0.57	5.00

Not: TSH: tiroid stimulan hormon**,** n: kişi sayısı, y: yaş, RI: Reference Intervals

Tablo 6. sT4 için pediatrik RI (ng/dL)

	Yaş Grupları	n	Ort ± SS	Minimum	Maksimum	Referans Limitler	
Total	**0-18 yaş**	11604	1.28 ± 0.20	0.76	2.30	0.93	1.77
	1-15 gün	616	1.65 ± 0.29	0.88	2.29	1.09	2.20
	16-30 gün	273	1.38 ± 0.19	0.94	2.04	1.06	1.77
	2-12 ay	803	1.29 ± 0.20	0.77	2.30	0.93	1.75
	2 yaş	555	1.29 ± 0.17	0.84	1.85	0.96	1.64
	3 yaş	543	1.30 ± 0.17	0.90	1.97	0.98	1.67
	4 yaş	494	1.32 ± 0.17	0.81	2.00	0.99	1.70
	5 yaş	488	1.32 ± 0.16	0.86	2.02	1.05	1.68
	6 yaş	519	1.31 ± 0.15	0.87	1.83	1.04	1.64
	7 yaş	512	1.32 ± 0.16	0.81	1.86	1.03	1.67
	8 yaş	528	1.30 ± 0.16	0.78	2.00	1.02	1.63
	9 yaş	561	1.30 ± 0.16	0.84	2.22	0.98	1.66
	10 yaş	551	1.25 ± 0.16	0.78	1.92	0.95	1.59
	11 yaş	535	1.24 ± 0.17	0.78	2.19	0.92	1.60
	12 yaş	497	1.21 ± 0.17	0.77	1.89	0.88	1.58
	13 yaş	539	1.18 ± 0.17	0.77	1.69	0.89	1.58
	14 yaş	572	1.19 ± 0.17	0.76	1.73	0.88	1.56
	15 yaş	640	1.20 ± 0.16	0.78	1.94	0.90	1.55
	16 yaş	679	1.22 ± 0.18	0.78	2.3	0.87	1.60
	17 yaş	649	1.22 ± 0.15	0.77	1.66	0.92	1.54
	18 yaş	1050	1.24 ± 0.17	0.76	2.29	0.93	1.60
Erkek	**0-18 yaş**	5549	1.30 ± 0.20	0.76	2.29	0.94	1.79
	1-15 gün	323	1.64 ± 0.28	0.88	2.29	1.09	2.20
	16-30 gün	144	1.37 ± 0.19	1.00	2.04	1.06	1.79
	2-12 ay	418	1.30 ± 0.19	0.77	2.14	0.93	1.73
	2 yaş	287	1.31 ± 0.17	0.84	1.84	0.96	1.64
	3 yaş	305	1.30 ± 0.17	0.91	1.97	0.98	1.65
	4 yaş	282	1.32 ± 0.17	0.85	2.00	0.96	1.67
	5 yaş	267	1.31 ± 0.16	0.86	2.02	1.05	1.68
	6 yaş	259	1.32 ± 0.16	0.87	1.83	0.98	1.67
	7 yaş	259	1.31 ± 0.16	0.81	1.86	1.01	1.68
	8 yaş	256	1.28 ± 0.15	0.91	2.00	1.00	1.62
	9 yaş	259	1.31 ± 0.16	0.84	1.87	1.00	1.66
	10 yaş	279	1.27 ± 0.15	0.87	1.83	1.00	1.64
	11 yaş	271	1.28 ± 0.17	0.86	2.19	0.98	1.60
	12 yaş	251	1.25 ± 0.16	0.85	1.70	0.92	1.58
	13 yaş	260	1.21 ± 0.17	0.84	1.67	0.89	1.60
	14 yaş	276	1.20 ± 0.17	0.76	1.73	0.86	1.53
	15 yaş	287	1.21 ± 0.18	0.78	1.84	0.89	1.60
	16 yaş	255	1.25 ± 0.20	0.78	1.86	0.85	1.66
	17 yaş	222	1.25 ± 0.16	0.77	1.64	0.94	1.56
	18 yaş	389	1.29 ± 0.18	0.79	2.00	0.97	1.72
Kız	**0-18 yaş**	6055	1.27 ± 0.20	0.76	2.30	0.93	1.75

1-15 gün	293	1.67 ± 0.30	0.95	2.27	1.15	2.21
16-30 gün	129	1.39 ± 0.19	0.94	2.00	1.04	1.77
2-12 ay	385	1.28 ± 0.20	0.78	2.30	0.94	1.75
2 yaş	268	1.27 ± 0.17	0.88	1.85	0.95	1.60
3 yaş	238	1.32 ± 0.17	0.90	1.90	0.98	1.68
4 yaş	212	1.32 ± 0.18	0.81	1.93	1.02	1.82
5 yaş	221	1.34 ± 0.15	0.90	1.76	1.02	1.66
6 yaş	260	1.31 ± 0.15	0.92	1.82	1.05	1.63
7 yaş	253	1.33 ± 0.16	0.81	1.86	1.04	1.67
8 yaş	272	1.32 ± 0.16	0.78	1.83	1.04	1.63
9 yaş	302	1.29 ± 0.17	0.90	2.22	0.98	1.67
10 yaş	272	1.23 ± 0.16	0.78	1.92	0.92	1.56
11 yaş	264	1.20 ± 0.17	0.78	1.64	0.88	1.59
12 yaş	246	1.17 ± 0.18	0.77	1.89	0.85	1.59
13 yaş	279	1.16 ± 0.16	0.77	1.69	0.88	1.52
14 yaş	296	1.18 ± 0.16	0.77	1.69	0.90	1.57
15 yaş	353	1.19 ± 0.15	0.86	1.94	0.91	1.50
16 yaş	424	1.21 ± 0.17	0.78	2.30	0.88	1.56
17 yaş	427	1.20 ± 0.15	0.79	1.66	0.91	1.51
18 yaş	661	1.21 ± 0.16	0.76	2.29	0.91	1.51

Not: T4: tiroksin, n: kişi sayısı, y: yaş, RI: Reference Intervals

Tablo 7. sT3 için pediatrik RI (pg/mL)

	Yaş Grupları	n	Ort ± SS	Minimum	Maksimum	Referans Limitler	
Total	**0-18 yaş**	6014	3.96 ± 0.74	1.42	6.13	2.33	5.37
	1-15 gün	241	3.51 ± 0.92	1.42	6.07	1.78	5.43
	16-30 gün	85	3.83 ± 0.90	1.71	5.98	2.08	5.90
	2-12 ay	357	4.30 ± 0.71	2.01	6.09	2.37	5.58
	2 yaş	252	4.27 ± 0.78	1.94	6.01	2.34	5.66
	3 yaş	221	4.22 ± 0.79	1.71	6.07	2.09	5.66
	4 yaş	235	4.26 ± 0.69	1.76	6.0	2.99	5.51
	5 yaş	216	4.21 ± 0.71	1.53	6.13	2.82	5.64
	6 yaş	249	4.30 ± 0.70	1.66	6.11	2.60	5.64
	7 yaş	256	4.29 ± 0.59	2.07	6.09	2.80	5.33
	8 yaş	288	4.32 ± 0.61	1.55	5.80	2.75	5.56
	9 yaş	295	4.16 ± 0.62	1.82	5.92	2.78	5.37
	10 yaş	316	4.19 ± 0.64	1.55	5.77	2.66	5.51
	11 yaş	289	4.17 ± 0.67	1.45	5.78	2.42	5.45
	12 yaş	267	4.13 ± 0.59	1.84	6.10	2.57	5.26
	13 yaş	279	4.05 ± 0.62	1.70	5.90	2.81	5.23
	14 yaş	330	3.95 ± 0.66	1.91	6.10	2.66	5.37
	15 yaş	363	3.75 ± 0.61	1.77	5.82	2.57	5.00
	16 yaş	374	3.56 ± 0.60	1.46	5.25	2.19	4.81
	17 yaş	403	3.46 ± 0.57	1.64	4.86	2.11	4.45
	18 yaş	698	3.44 ± 0.58	1.50	5.91	2.17	4.64
Erkek	**0-18 yaş**	2753	4.09 ± 0.70	1.50	6.10	2.36	5.38
	1-15 gün	125	3.49 ± 0.93	1.75	5.74	1.79	5.63
	16-30 gün	45	3.76 ± 0.90	1.71	5.98	1.82	5.95
	2-12 ay	189	4.37 ± 0.74	2.01	5.84	2.31	5.61
	2 yaş	122	4.29 ± 0.74	2.32	6.01	2.36	5.78
	3 yaş	126	4.28 ± 0.75	1.86	6.07	2.13	5.69
	4 yaş	127	4.25 ± 0.67	1.99	5.98	2.99	5.55
	5 yaş	113	4.20 ± 0.70	1.53	5.96	2.81	5.55
	6 yaş	124	4.27 ± 0.73	1.66	5.92	2.19	5.64
	7 yaş	121	4.33 ± 0.48	3.10	5.55	3.20	5.36
	8 yaş	130	4.27 ± 0.58	1.55	5.76	2.81	5.55
	9 yaş	133	4.12 ± 0.62	2.18	5.42	2.48	5.29
	10 yaş	152	4.12 ± 0.59	1.55	5.49	2.58	5.17
	11 yaş	147	4.09 ± 0.62	1.99	5.47	2.36	5.11
	12 yaş	125	4.12 ± 0.56	2.15	5.45	2.65	5.29
	13 yaş	135	4.20 ± 0.60	2.05	5.90	2.84	5.29
	14 yaş	159	4.25 ± 0.66	1.91	6.10	2.68	5.49
	15 yaş	155	4.08 ± 0.65	1.82	5.82	2.37	5.38
	16 yaş	141	3.89 ± 0.57	2.20	5.25	2.35	5.03
	17 yaş	133	3.73 ± 0.61	1.66	4.86	2.06	4.71
	18 yaş	251	3.73 ± 0.59	1.50	5.91	2.35	4.94
Kız	**0-18 yaş**	3261	3.85 ± 0.76	1.42	6.13	2.26	5.35
	1-15 gün	116	3.54 ± 0.91	1.42	6.07	1.42	5.42

16-30 gün	40	3.90 ± 0.90	2.06	5.92	2.06	5.91
2-12 ay	168	4.23 ± 0.68	2.01	6.09	2.54	5.64
2 yaş	130	4.25 ± 0.81	1.94	5.90	2.21	5.66
3 yaş	95	4.14 ± 0.83	1.71	6.01	2.00	5.81
4 yaş	108	4.26 ± 0.72	1.76	6.00	2.74	5.51
5 yaş	103	4.22 ± 0.71	2.41	6.13	2.72	5.70
6 yaş	125	4.33 ± 0.67	2.16	6.11	2.6	5.94
7 yaş	135	4.25 ± 0.68	2.07	6.09	2.53	5.52
8 yaş	158	4.35 ± 0.64	2.00	5.80	2.53	5.62
9 yaş	162	4.20 ± 0.62	1.82	5.92	2.93	5.41
10 yaş	164	4.26 ± 0.68	1.86	5.77	2.62	5.67
11 yaş	142	4.25 ± 0.71	1.45	5.78	2.52	5.73
12 yaş	142	4.13 ± 0.62	1.84	6.10	2.31	5.27
13 yaş	144	3.90 ± 0.61	1.70	5.32	2.56	5.04
14 yaş	171	3.67 ± 0.53	2.06	5.60	2.54	5.08
15 yaş	208	3.51 ± 0.45	1.77	4.68	2.63	4.47
16 yaş	233	3.37 ± 0.53	1.46	4.76	2.05	4.32
17 yaş	270	3.33 ± 0.50	1.64	4.56	2.11	4.33
18 yaş	447	3.27 ± 0.51	1.68	5.09	2.12	4.31

Not: T3: triiyodotironin, n: katılımcı sayısı, y:yaş, RI: Reference Intervals

Tablo 8, farklı analizörlerde ve farklı ülkelerde çeşitli yöntemler kullanılarak elde edilen TH RI'n örneklerini sunmaktadır. Bulduğumuz RI'n Roche Cobas 8000 e 801 analizörü için sağlanan RI limitleri içinde olduğu gözlemlendi. Çalışmamızda tespit edilen TSH düzeyleri yaşla birlikte azalma eğilimi göstermiştir.

Tablo 8. Üretici tarafından sağlanan ve bazı çalışmalarda elde edilen RI

Yazar, (Ülke,yıl) yöntem, cihaz	**Yaş**	**n**	**TSH (mIU/L)**		**n**	**sT4 (ng/dL)**		**n**	**sT3 (pg/mL)**	
			2.5th	**97.5th**		**2.5th**	**97.5th**		**2.5th**	**97.5th**
Referans Aralıkları yetişkinler ve çocuklar için (9. baskı, 2008) Roche Diagnostics	**yenidoğan**		0.70	15.2		0.86	2.49		1.73	6.30
	6 g –3 a		0.72	11.0		0.89	2.20		1.95	6.04
	4 –12 a		0.73	8.35		0.92	1.99		2.15	5.83
	1–6 y		0.70	5.97		0.96	1.77		2.41	5.50
	7–11 y		0.60	4.84		0.97	1.67		2.53	5.22
	12 – 20 y		0.51	4.30		0.98	1.63		2.56	5.01
CALIPER (Canada,2013), direct, Abbott Architecht i2000	**4 g - 6 a**	139	0.73	4.77						
	6 a - 14 y	640	0.70	4.17						
	14 y - 19 y	259	0.47	3.41						
	5 – 14 g				66	1.05	3.21			
	15 – 29 g				55	0.68	2.53			
	1a – 1 y				270	0.89	1.7			
	1 – 18 y				952	0.89	1.37			
	4 g - 1 y							360	2.32	4.78

	1 y – 12 y							528	2.79	4.42
	12 y – 15 y							103	2.89	4.33
	15 y to 19 y							133	2.25	3.85
Turhan et al. (Turkey,2023) indirect	**0 – 18 y**	483	0.74	4.12	483	0.80	1.42	483	2.40	4.38
Abbott Architect i2000	**0- 2 y**	81	0.54	4.84	81	0.71	1.41	81	2.71	4.53
	3- 12 y	189	0.91	4.14	189	0.84	1.37	189	2.71	4.20
	13 –18 y	213	0.74	3.28	213	0.80	1.30	213	2.25	3.78
Omuse et al.(Kenya,2023)	**2- 7 g**	244	0.403	7.942	244	1.19	2.59			
	5- 7 g	660	0.418	6.319	660	1.21	2.29			
indirect,	**2- 7 d**	904	0.418	6.973	904	1.20	2.42			
SiemensAtellica® IM	**8- 30 d**	314	0.473	7.015	314	1.02	2.01			
Mitsumatsu et al. (Japan, 2023)	**4 – 6 y**	104	0.68	4.77	104	1.11	1.68	104	3.00	5.04
	7 – 8 y	92	0.68	5.01	92	1.05	1.69	92	3.03	5.10
direct,	**9 – 10 y**	112	0.80	4.69	112	0.96	1.59	112	3.27	5.10
Roche Cobas	**11 – 12 y**	174	0.60	4.19	174	0.99	1.57	174	3.04	4.90
	13 – 14 y	204	0.42	3.75	204	0.95	1.63	204	2.80	4.79
	15 y	153	0.40	3.49	153	0.95	1.66	153	2.20	4.30
	16 y	240	0.29	4.02	240	0.94	1.60	240	2.30	4.10
	17 y	261	0.29	3.98	261	0.97	1.59	261	2.36	4.15
	18 y	334	0.30	3.62	334	0.93	1.58	334	2.14	4.10
	19 y	362	0.33	3.70	362	0.91	1.68	362	2.00	4.00
	4- 7 g	91	1.10	18.02	95	13.93	26.08			

			TSH (mIU/L)			sT4 (pmol/L)	
Aral et al.,(Turkey,2000) Hospital A, indirect, Advia Centaur XP	**8- 15 g**	83	1.21	12.87	83	12.53	23.46
	16- 23 g	49	1.38	7.67	48	11.68	19.15
	24- 61 g	241	1.28	8.11	239	11.74	18.97
	3- 6 a	170	0.80	6.50	167	11.61	20.09
	7- 36 a	1608	0.77	5.54	1609	10.97	18.32
	4- 6 y	1105	0.96	6.04	1093	11.48	18.19
Aral et al., (Turkey,2000) Hospital C, indirect, Immulite	**4- 7 g**	288	1.21	16.27	293	13.33	24.99
	8- 15 g	657	1.12	9.91	668	12.38	21.93
	16- 23 g	330	1.01	7.05	328	11.75	19.59
	24- 61 g	468	0.87	6.05	462	11.55	18.64
	3- 6 a	215	0.60	5.49	218	11.93	19.08
	7- 36 a	510	0.64	5.18	508	10.72	17.67
	4- 6 y	303	0.60	4.12	300	12.06	18.52
Kapelari et al.,(Austria,2008) indirect, Advia Centaur XP	**0 – 1 a**	22	0.70	18.10	23	8.50	30.50
	1 – 12 a	42	1.12	8.21	45	9.17	25.28
	1 – 5 y	218	0.80	6.26	229	10.45	22.35
	6 – 10 y	315	0.80	5.40	327	10.60	20.90
	11 – 14 y	355	0.70	4.61	364	10.40	21.36
	15 – 18 y	233	0.50	4.33	233	10.57	22.62

Not: n:katılımcı sayısı, g: gün, ay:a, y:yıl

Tablo 9. Yaşamın ilk 15 günündeki tiroid hormonlarının RI

	Yaş	n	Ortalama ± SS	Minimum	Maksimum	Referans Limitler	
sT3	1-4 gün	15	3,47 ± 0,80	1,88	4,96	1,88	-
	5-7 gün	126	3,25 ± 0,95	1,42	6,07	1,48	5,71
	8-15 gün	100	3,85 ± 0,78	1,75	5,80	2,17	5,41
sT4	1-4 gün	27	1,86 ± 0,29	1,30	2,25	1,30	-
	5-7 gün	283	1,68 ± 0,31	1,00	2,29	1,06	2,22
	8-15 gün	306	1,61 ± 0,26	0,87	2,23	1,11	2,14
TSH	1-4 gün	32	5,18 ± 3,64	0,58	13,30	0,58	-
	5-7 gün	282	4,73 ± 2,58	0,38	13,40	1,03	10,48
	8-15 gün	308	4,37 ± 2,16	0,58	14,00	1,18	10,33

Not: n:katılımcı sayısı, RI: Reference Intervals

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, doğumdan 18 yaşına kadar uzanan geniş bir kohorttan yararlanan indirekt bir yaklaşım kullanarak pediatrik popülasyonda TSH, sT4 ve sT3 için RI ortaya koymaktadır. Üretici tarafından laboratuvar raporlarında kullanılmak üzere sunulan pediatrik RI, çalışmamızda elde ettiğimiz RI'ndan farklıydı. TSH için elde ettiğimiz RI, üretici tarafından sağlanan RI'na kıyasla ve özellikle üst sınırda ve yaşamın ilk günlerinde önemli farklılıklar göstermekteydi. Bu dönem Konjenital Hipotroidi (KH) tanısının konulabilmesi açısından değerli bir periyottur ve TSH en duyarlı testtir. Tiroid fonksiyonunu değerlendirmek için kullanılacak ilk test olmalıdır.[5]

Nitekim Türkiye'de 2006 yılından bu yana KH taraması amacıyla yenidoğanlardan alınan topuk kanı örneklerinden TSH düzeyleri analiz edilmektedir. Kan örneği almak için en uygun zamanın yaşamın 3. ve 5. günleri olduğu belirtilmektedir.[46] Bazen bu günlerden daha önce taburcu edilebilme söz konusu olabilir. Bu durumda taburcu olmadan önce topuk kanı örnekleri alınabilir. Ancak bu gibi durumlarda bebekten tekrar kan almak gerekir. Burada oluşabilecek kaçakları önlemek adına taburcu edilmeden önce güvenilir TH sonuçları elde etmek, olası tanı gecikmeleri önlemek için değerlidir. Özellikle bu gibi durumlarda çalışmamızda TSH için yenidoğanın ilk günleri için tespit edilen RI değeri daha da artacaktır. Ülkemizde KH görülme sıklığı 2736 canlı doğumda bir olarak saptanmıştır.[47] KH'nin erken tedavi uygulandığında önlenebilir mental retardasyona yol açabildiği ancak tedavide geç kalındığında kalıcı mental retardasyona yol açatığı bilinmektedir.[48]

Çalışmamızda, ilk yıl içinde elde edilen TSH RI, hem yaş sınırları hem de referans sınırları açısından üreticinin sağladığı TSH RI'dan farklıydı. Çalışmamızda ilk yaş sonrası her yaş için ayrı bir RI oluşturulmuştur. Bununla birlikte, üretici tarafından 1 ila 18 yaşları için sağlanan RI üç grupta sunulmuştur (bakınız Tablo 4 ve Tablo 7).

Çalışmamızda 1 ila 18 yaş arası çocuklar için, sT4 için elde edilen RI ve yaş sınırları, üretici tarafından sağlananlardan farklıydı. sT3'e gelince, sonuçlarımız yaş sınırlarına göre

oluşturulan alt gruplar açısından üretici tarafından sağlananlardan farklı olsa da, RI'nın benzer olduğunu bulduk. Pediatrik popülasyon RI için, RI'n belirlenmesinde değerli kabul edilen çalışmada, 4 gün ila 6 ay, 6 ay ila 14 yaş ve 14 yaş ila 18 yaş sınırları içinde toplam 1.038 referans birey ile TSH için RI belirlendi. Bu çalışmada sT4 için yaş sınırları, farklı yaş gruplarında toplam 1.343 referans bireye göre belirlenmiştir (5 gün ila 14 gün, 15 gün ila 1 ay, 1 ay ila 1 yıl ve 1 yıl ila 18 yıl).[49]

Çalışmamızda TSH ve sT4 için yaş sınırları yaşamın ilk gününden itibaren başlamaktadır. CALIPER çalışmasında, yenidoğan grubunda ilk üç gün TSH için RI aralığı belirlenmemiştir. Belirlenen en küçük yaş grubu, 4 günden 6 aya kadar olan yaş grubudur. 4 gün ile 6 ay arasındaki yaş aralığı geniş bir aralıktır ve bu yaş grubundaki dinamik fizyolojik değişiklikleri gözden kaçırabilir. Nitekim çalışmamızda TSH RI'ının ilk haftalarda pik yaptığını bulduk. CALIPER çalışmasında, yenidoğan grubunun ilk dört günü için sT4 için RI belirlenmemiştir.[50]

CLSI tarafından yayınlanan C28-A3 kılavuzu, RI tayini için yaygın olarak kullanılan bir referans kaynağıdır. CLSI, doğrudan yöntemlerin uygulanmasının zor olduğu pediatrik yaş gruplarında RI'lerin oluşturulması ve doğrulanması için dolaylı yöntemlerin kullanılmasını önermektedir. İndirekt örnekleme teknikleri, genellikle laboratuvar veri tabanlarında depolanan rutin testlerden elde edilen sonuçlara dayanan bir veri tabanındaki verileri kullanır. İndirekt yaklaşım, direkt yaklaşıma kıyasla önemli ölçüde daha az zaman alıcı ve daha az maliyetlidir.[51]

Çalışmamızda tanımlanan TSH düzeyleri yaşla birlikte azalma eğilimi göstermiş olup bu durum çocuklar yaş aldıkça TSH sekresyonunda bir azalma olduğunu gösteren mevcut literatürle uyumludur.[52] Çalışmamızda, yenidoğanlarda (1-15 gün); erkek çocuklarda 0.92-10.38 mIU/L arasında ve kız çocuklarda 1.28-10.80 mIU/L arasında olmak üzere en yüksek TSH düzeylerini gözlemledik. Bu seviyeler, doğum sonrası TSH'de beklenen geçici artışla tutarlıydı.[53] RI, çocuklar büyüdükçe tiroid fonksiyonunun stabilizasyonunu yansıtan kademeli bir daralma gösterir. Çalışmamızda TSH kadar belirgin olmamakla birlikte sT4 ve sT3 referans limitleri de yaş gruplarında değişmektedir. TSH gibi en yüksek referans limitleri sT4 için de yenidoğanlarda bulundu. Bu gözlemler, nörolojik olgunlaşma için gelişimin erken aşamalarında tiroid hormonlarına olan ihtiyacın artmasına bağlı olabilir.[54,55]

Buna karşılık, sT3 seviyeleri yaşla birlikte önemli değişiklikler göstermedi, bu da sT3'ü metabolik stabilite için gerekli olan dar bir aralıkta tutan homeostatik bir mekanizmayı gösterebilir.[56]

Sonuçlarımızdaki diğer çalışmalara kıyasla farklılıklar muhtemelen genetik, beslenme ve çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır.[57] Bu farklılıkların varlığı, tanısal doğruluğu ve tedavi etkinliğini artırmak için bölgeye özgü RI'n oluşturulması gerekliliğini de desteklemektedir. TH seviyeleri büyüme, gelişme ve metabolizma için çok önemli olduğundan, yaşa ve cinsiyete özgü RI'n kullanılması klinik kararların doğruluğunu arttıracaktır.[58,59]

Yakın zamanda, pediatrik TSH, sT4 ve sT3 için RI'nı belirlemek için Abbott Architect i2000 analizöründe indirekt yaklaşımla bizimkine benzer bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada 0-18 yaş için 483 veri sonucuna dayanarak 0-2 yaş, 3-12 yaş ve 13-18 yaş olmak üzere üç yaş grubu oluşturulmuştur.[60] Çalışmamızdaki veri sayısı bu çalışmaya kıyasla çok daha fazlaydı. Bu çalışmadan farklı olarak, çalışmamızda her yaş ve cinsiyet grubunu temsil eden daha fazla sayıda katılımcı vardı. İlk 2 yıl için dört farklı RI grubu oluşturduk, bu da özellikle hipotiroidik bebeklerin yaşamın ilk günlerinde veya aylarında tanınması için önemlidir. Çalışmamıza göre, ilk 2 yıl boyunca erkek çocuklarda TSH için RI'nda önemli değişiklikler var. Ek olarak, sonuçlarımız Abbott cihazı için belirlenen RI'ndan büyük ölçüde farklıdır.[60] Pediatrik popülasyonda RI belirlemek için indirekt yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. [61]

Cui ve ark. Çin'de yürütülmüş bir çalışmada, iyot düzeyi açısından yeterli olan bölgelerden gelen 7-13 yaş arası çocuklarda bizim çalışmamızda kullandığımız otoanalizör kullanılarak TSH, sT4 ve sT3 için RI belirlendi.[62]

Janot ve ark. ayrıca pediatrik popülasyonlarında indirekt yaklaşımla sT3 RI'yi belirlediler ve yetişkin RI'ndan farklı sonuçlar elde ettiler.[63]

Omuse ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, Siemens otoanalizöründe yenidoğanlarda (0-30 gün) indirekt yaklaşımla TSH ve sT4 için RI belirlendi. Çalışmamızla uyumlu olarak, bu çalışmada TSH ve sT4'ün yaşla birlikte azaldığı ve bu düşüşün yaşamın ilk haftasında daha belirgin olduğu bulunmuştur [64]

Yine yakın zamanda, bir Roche otoanalizörü üzerinde direkt yaklaşımla yürütülmüş bir çalışma, 4 ila 19 yaş arası Japon çocuklarda ve ergenlerde TSH, sT4 ve sT3 seviyeleri için yeni RI oluşturmayı amaçladı. Çalışmaya toplam 2.036 katılımcı (1.611 kız ve 425 erkek) dahil edildi. Ancak, 4 yaşın altında katılımcı yoktu. Bu çalışma da çocuklarda ve ergenlerde serum sT3, sT4 ve TSH düzeylerinin yetişkinlerden farklı olduğu gösterilmiştir.[65]

Tiroid hastalıklarının yönetimi için kılavuzlar hazırlanırken tüm bu farklılıklar dikkate alınmalıdır. TSH ölçümleri, kullanılan otoanalizör ve reaktife bağlı olarak önemli ölçüde değişebilir.[66] Her laboratuvarın kendi RI'nı belirlemesi gerektiği kabul edilmelidir. Ayrıca hasta raporlama sırasında birimlerdeki farklılıklar da bir diğer faktör olarak göz önünde bulundurulmalıdır.

Doğumdan sonrasındaki ilk saatlerde tiroid bezinin fizyolojisinde önemli değişiklikler meydana gelir. Doğum sonrası ilk 30 dakika içinde serum TSH seviyelerinde hızlı bir yükseliş görülür ve TSH seviyeleri pik değerine erişir. Sonraki ilk 24 saat içinde TSH'de hızlı bir düşme gelişir ve 48 saat sonunda bu düşme eğilimi yavaşlar. Bu yüzden özellikle yenidoğan döneminde konjenital hipotiroidi taraması yapılırken ve tiroid hormonlarının seviyesi saptanırken bu durum dikkate alınmalıdır.[67,68,69] Tablo 9'da yaşamın ilk 15 günündeki tiroid hormonu RI gösterilmiştir. Çalışmamızda bulduğumuz ilk 15 gündeki TSH değerlerini 1-4 gün, 5-7 gün, 8-15 gün olarak 3 ayrı aralıkta inceledik. Mevcut literaturle uyumlu olarak, yaşamın ilk 1-4 gün aralığındaki bulduğumuz TSH seviyeleri en yüksek düzeydeydi. Bu durumun konjenital hipotiroidi taraması yapılırken göz önünde bulundurulmasının, tarama sonuçlarının doğruluğu açısından çok önemli olduğu kanısındayız.

5.1. Sınırlamalar ve Gelecek Yönergeler

Çalışmamızı her hastanın antitiroid antikoru verisi olmadığından bazı tiroidal hastalıkları olan hastaları sağlıklı birey olarak almamızı sağlamış olabilir. Gelecekteki çalışmalar, dışlama kriterlerini iyileştirmek için uzun takipler ve antitiroid antikorlarının değerlendirilmesini içeren direkt yöntemlerle bu aralıkları doğrulamayı amaçlamalıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın analizi, pediatrik popülasyonumuzda TSH, sT4 ve sT3 için yaşa özel RI'na ilişkin yeni bilgiler sağlamıştır. Oldukça büyük bir kohorttan elde edilen veriler, tiroid fonksiyonundaki kritik gelişim eğilimlerini ortaya koyuyor ve pediatrik sağlık hizmetleri açısından önemli sonuçlar doğuruyor.

Bu çalışmada sT4 ve sT3 için belirlenen RI, klinisyenlerin çocuklarda ve ergenlerde tiroid fonksiyonunu değerlendirirken ve tiroid bozukluklarını teşhis ederken daha bilinçli kararlar vermesini sağlayacaktır. Tiroid hormonlarının çocukluk döneminde büyüme, gelişme ve metabolizmadaki temel rolü göz önüne alındığında bu durum kritiktir.

Sonuç olarak bulgularımız, pediatrik tiroid fonksiyon testlerinde yaşa özel RI'na duyulan ihtiyacın altını çiziyor; bu da tanıların doğruluğunu ve tedavi protokollerinin etkinliğini önemli ölçüde artırabilir. Bu RI, çocukluk ve ergenlik dönemindeki dinamik endokrin değişikliklere uyum sağlayan daha güvenilir bir teşhis çerçevesi sağlar.

7. KAYNAKLAR

1. Branca JJV, Lascialfari Bruschi A, Pilia AM, et al. The Thyroid Gland: A Revision Study on Its Vascularization and Surgical Implications. *Medicina (Mex)*. 2022;58(1):137. doi:10.3390/medicina58010137
2. Gregory A Brent. Thyroid hormone action - UpToDate. Accessed March 2, 2023. https://www.uptodate.com/contents/thyroid-hormone-action?search=Thyroid%20hormone&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
3. Mendoza A, Hollenberg AN. New insights into thyroid hormone action. *Pharmacol Ther*. 2017;173:135-145. doi:10.1016/j.pharmthera.2017.02.012
4. Douglas S Ross. Laboratory assessment of thyroid function - UpToDate. Accessed March 2, 2023. https://www.uptodate.com/contents/laboratory-assessment-of-thyroid-function?search=Thyroid%20hormone&source=search_result&selectedTitle=3~150&usage_type=default&display_rank=3
5. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Tiroid Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu. 2023 https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/202305120904-2023tbl_kilavuz.pdf.
6. Ladang A, Vranken L, Luyckx F, Lebrethon MC, Cavalier E. [Pediatric reference intervals : retrospective study on thyroid hormone levels]. *Rev Med Liege*. 2017;72(1):37-42.
7. van Trotsenburg P, Stoupa A, Léger J, et al. Congenital Hypothyroidism: A 2020–2021 Consensus Guidelines Update—An ENDO-European Reference Network Initiative Endorsed by the European Society for Pediatric Endocrinology and the European Society for Endocrinology. *Thyroid®*. 2021;31(3):387-419. doi:10.1089/thy.2020.0333
8. Yenidoğan Metabolik ve Endokrin Hastalık Tarama Programı (NTP). Accessed October 23, 2023. https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/tarama-programlari/ntp.html
9. Ozarda Y. Reference intervals: current status, recent developments and future considerations. *Biochem Medica*. 2016;26(1):5-16. doi:10.11613/BM.2016.001
10. Jones GRD, Haeckel R, Loh TP, et al. Indirect methods for reference interval determination - review and recommendations. *Clin Chem Lab Med*. 2018;57(1):20-29. doi:10.1515/cclm-2018-0073
11. Lim S, Lee K, Woo HY, Park H, Kwon MJ. Evaluation of Cobas 8000 Analyzer Series Module e801 Analytical Performance. *Ann Clin Lab Sci*. 2019;49(3):372-379.
12. Vurgun E, Baltan E, Serin H. Tiroid Hormonları Referans Aralıklarının Belirlenmesi: Merkezi Laboratuvar Verilerinden. *Turk Soc Clin Biochem*. Published online April 28, 2022:1. doi:10.56615/tkbd.2022.04
13. Henny J, Vassault A, Boursier G, et al. Recommendation for the review of biological reference intervals in medical laboratories. *Clin Chem Lab Med CCLM*. 2016;54(12):1893-1900. doi:10.1515/cclm-2016-0793
14. EP28A3C: Define and Verify Reference Intervals in Lab. Clinical & Laboratory Standards Institute. Accessed October 26, 2023. https://clsi.org/standards/products/method-evaluation/documents/ep28/
15. TİETZ - KLİNİK KİMYADA TEMEL İLKELER - CARL A. BURTİS & EDWARD R. ASHWOOD | Nadir Kitap. NadirKitap. Accessed October 26, 2023. https://www.nadirkitap.com/tietz-klinik-kimyada-temel-ilkeler-ciltli-buyuk-boy-carl-a-burtis-edward-r-ashwood-kitap26158936.html
16. Katayev A, Balciza C, Seccombe DW. Establishing Reference Intervals for Clinical Laboratory Test Results: Is There a Better Way? *Am J Clin Pathol*. 2010;133(2):180-186. doi:10.1309/AJCPN5BMTSF1CDYP
17. Ozarda Y, Sikaris K, Streichert T, Macri J, IFCC Committee on Reference intervals and Decision Limits (C-RIDL). Distinguishing reference intervals and clinical decision limits - A

review by the IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2018;55(6):420-431. doi:10.1080/10408363.2018.1482256
18. PetitClerc C, Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *Clin Chim Acta*. 1987;170(2):S1-S11. doi:10.1016/0009-8981(87)90150-1
19. Solberg HE, PetitClerc C. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. *Clin Chim Acta*. 1988;177(3):S3-S11. doi:10.1016/0009-8981(88)90074-5
20. Baadenhuijsen H, C SJ. Indirect Estimation of Clinical Chemical Reference Intervals from Total Hospital Patient Data: Application of a Modified Bhattacharya Procedure. 1985;23(12):829-840. doi:10.1515/cclm.1985.23.12.829
21. Bock BJ, Dolan CT, Miller GC, et al. The Data Warehouse as a Foundation for Population-Based Reference Intervals. *Am J Clin Pathol*. 2003;120(5):662-670. doi:10.1309/W8J85AG4WDG6JGJ9
22. Ferré-Masferrer M, Fuentes-Arderiu X, Puchal-Añé R. Indirect reference limits estimated from patients' results by three mathematical procedures. *Clin Chim Acta*. 1999;279(1):97-105. doi:10.1016/S0009-8981(98)00164-8
23. Grossi E, Colombo R, Cavuto S, Franzini C. The REALAB Project: A New Method for the Formulation of Reference Intervals Based on Current Data. *Clin Chem*. 2005;51(7):1232-1240. doi:10.1373/clinchem.2005.047787
24. Kouri T, Kairisto V, Virtanen A, et al. Reference intervals developed from data for hospitalized patients: computerized method based on combination of laboratory and diagnostic data. *Clin Chem*. 1994;40(12):2209-2215. doi:10.1093/clinchem/40.12.2209
25. Hoffmann RG. Statistics in the Practice of Medicine. *JAMA*. 1963;185(11):864-873. doi:10.1001/jama.1963.03060110068020
26. Solberg HE. The theory of reference values Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem Z Klin Chem Klin Biochem*. 1983;21(11):749-760.
27. Harris EK, Boyd JC. *Statistical Bases of Reference Values in Laboratory Medicine*. CRC Press; 2014. doi:10.1201/9781482273151
28. Linnet K. Nonparametric Estimation of Reference Intervals by Simple and Bootstrap-based Procedures. *Clin Chem*. 2000;46(6):867-869. doi:10.1093/clinchem/46.6.867
29. Shultz EK, Willard KE, Rich SS, Connelly DP, Critchfield GC. Improved reference-interval estimation. *Clin Chem*. 1985;31(12):1974-1978. doi:10.1093/clinchem/31.12.1974
30. Outliers in Statistical Data (3rd edition): Journal of the Operational Research Society: Vol 46, No 8. Accessed May 4, 2024. https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1057/jors.1995.142
31. Dixon WJ. Processing Data for Outliers. *Biometrics*. 1953;9(1):74-89. doi:10.2307/3001634
32. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of Statistical Method Used on the Resulting Estimate of Normal Range. *Clin Chem*. 1971;17(4):275-284. doi:10.1093/clinchem/17.4.275
33. Tukey JW. *Exploratory Data Analysis*. Vol 2. Reading, MA; 1977. Accessed February 21, 2024. http://theta.edu.pl/wp-content/uploads/2012/10/exploratorydataanalysis_tukey.pdf
34. Box GEP, Cox DR. An Analysis of Transformations. *J R Stat Soc Ser B Methodol*. 1964;26(2):211-243. doi:10.1111/j.2517-6161.1964.tb00553.x
35. Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: an update. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2003;334(1-2):5-23. doi:10.1016/s0009-8981(03)00133-5
36. Sinton TJ, Cowley DM, Bryant SJ. Reference intervals for calcium, phosphate, and alkaline phosphatase as derived on the basis of multichannel-analyzer profiles. *Clin Chem*. 1986;32(1):76-79. doi:10.1093/clinchem/32.1.76
37. Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem*. 1990;36(2):265-270. doi:10.1093/clinchem/36.2.265
38. Lahti A, Hyltoft Petersen P, Boyd JC, Rustad P, Laake P, Solberg HE. Partitioning of Nongaussian-Distributed Biochemical Reference Data into Subgroups. *Clin Chem*. 2004;50(5):891-

900. doi:10.1373/clinchem.2003.027953
39. Harris EK, Wong ET, Shaw ST Jr. Statistical criteria for separate reference intervals: race and gender groups in creatine kinase. *Clin Chem*. 1991;37(9):1580-1582. doi:10.1093/clinchem/37.9.1580
40. CLSI EP09-A2-IR - Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Accessed May 7, 2024. https://webstore.ansi.org/standards/clsi/clsiep09a2ir?gad_source=1&gclid=CjwKCAjwouexBhAuEiwAtW_Zx6LiOIE4y_rKlGW0vFu6hMHdzckeMHOclYGHBQ34j7JHkgFFnCYCjBoCjtwQAvD_BwE
41. Hoaglin DC, Mosteller F, Tukey JW. *Understanding Robust and Exploratory Data Analysis*. John Wiley & Sons; 2000.
42. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. Reference Interval Computation Using Robust vs Parametric and Nonparametric Analyses. *Clin Chem*. 1999;45(12):2284-2285. doi:10.1093/clinchem/45.12.2284
43. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. A robust approach to reference interval estimation and evaluation. *Clin Chem*. 1998;44(3):622-631. doi:10.1093/clinchem/44.3.622
44. Morimoto S, Morishima N, Watanabe D, Kato Y, Shibata N, Ichihara A. Immunohistochemistry for (Pro)renin Receptor in Humans. *Int J Endocrinol*. 2021;2021:e8828610. doi:10.1155/2021/8828610
45. Ichihara K, Boyd JC, IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL). An appraisal of statistical procedures used in derivation of reference intervals. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(11):1537-1551. doi:10.1515/CCLM.2010.319
46. Bayrak R, Ünsal A. Yenidoğan Topuk Kanı Taraması İşlem Basamakları ve Görev Alan Sağlık Çalışanları. *Türkiye Sağlık Bilim Ve Araştırmaları Derg*. 2022;5(2):60-68. doi:10.51536/tusbad.1024146
47. Baş F, Çoban AÇ. Konjenital Hipotiroidi. *Türkiye Klin Neonatoloji - Özel Konular*. 2022;3(2):26-33.
48. Aprilia A, Sutrisnani CS, Widijanti A. Comparison of fluorescent immunoassay (FIA) and electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) for the measurement of serum TSH in congenital hypothyroid screening. *Comp Clin Pathol*. 2021;30(5):775-781. doi:10.1007/s00580-021-03266-5
49. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, et al. Closing the Gaps in Pediatric Laboratory Reference Intervals: A CALIPER Database of 40 Biochemical Markers in a Healthy and Multiethnic Population of Children. *Clin Chem*. 2012;58(5):854-868. doi:10.1373/clinchem.2011.177741
50. Bailey D, Colantonio D, Kyriakopoulou L, et al. Marked Biological Variance in Endocrine and Biochemical Markers in Childhood: Establishment of Pediatric Reference Intervals Using Healthy Community Children from the CALIPER Cohort. *Clin Chem*. 2013;59(9):1393-1405. doi:10.1373/clinchem.2013.204222
51. Farrell CJL, Nguyen L. Indirect Reference Intervals: Harnessing the Power of Stored Laboratory Data. *Clin Biochem Rev*. 2019;40(2):99-111. doi:10.33176/AACB-19-00022
52. Uto K, Bando H, Fukuoka H, et al. Instability of harmonized thyroid-stimulating hormone immunoassays in clinical practice. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2023;99(2):217-227. doi:10.1111/cen.14938
53. Rose SR, Wassner AJ, Wintergerst KA, et al. Congenital Hypothyroidism: Screening and Management. *Pediatrics*. 2022;151(1):e2022060420. doi:10.1542/peds.2022-060420
54. Bernal J. Thyroid hormone receptors in brain development and function. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007;3(3):249-259. doi:10.1038/ncpendmet0424
55. Segni M. Disorders of the Thyroid Gland in Infancy, Childhood and Adolescence. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., eds. *Endotext*. MDText.com, Inc.; 2000. Accessed March 2, 2024. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279032/
56. Hoermann R, Pekker MJ, Midgley JEM, Dietrich JW. The role of supporting and disruptive mechanisms of FT3 homeostasis in regulating the hypothalamic-pituitary-thyroid axis.

Ther Adv Endocrinol Metab. 2023;14:20420188231158163. doi:10.1177/20420188231158163
57. Babić Leko M, Gunjača I, Pleić N, Zemunik T. Environmental Factors Affecting Thyroid-Stimulating Hormone and Thyroid Hormone Levels. *Int J Mol Sci*. 2021;22(12):6521. doi:10.3390/ijms22126521
58. Ozarda Y. Establishing and using reference intervals. *Turk J Biochem*. 2020;45(1):1-10. doi:10.1515/tjb-2017-0299
59. Tahmasebi H, Higgins V, Fung AWS, Truong D, White-Al Habeeb NMA, Adeli K. Pediatric Reference Intervals for Biochemical Markers: Gaps and Challenges, Recent National Initiatives and Future Perspectives. *EJIFCC*. 2017;28(1):43-63.
60. Turhan T, Kilinckaya MF. Indirect Estimation of the Pediatric Reference Intervals for Thyroid Function Tests in Public Health Laboratory. | Clinical Laboratory | EBSCOhost. doi:10.7754/Clin.Lab.2022.220818
61. Agaravatt A, Kansara G, Khubchandani A, Sanghani H, Patel S, Parchwani D. Verification of Reference Interval of Thyroid Hormones With Manual and Automated Indirect Approaches: Comparison of Hoffman, KOSMIC and refineR Methods. *Cureus*. Published online May 15, 2023. doi:10.7759/cureus.39066
62. Cui Y, Wang Y, Zhang D, et al. Reference Intervals for Thyroid Hormones and Thyroid Volume in Children Aged 7 ~ 13 Years from Iodine-Sufficient Areas in Tianjin, China. *Biol Trace Elem Res*. 2023;201(12):5575-5584. doi:10.1007/s12011-023-03624-0
63. Janot C, Perrin P, Bretones P, et al. Identifying elevated plasma free triiodothyronine levels: age-adapted reference intervals for pediatrics. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM*. 2023;36(5):478-483. doi:10.1515/jpem-2022-0330
64. Omuse G, Kawalya D, Mugaine P, Chege A, Maina D. Neonatal reference intervals for thyroid stimulating hormone and free thyroxine assayed on a Siemens Atellica® IM analyzer: a cross sectional study. *BMC Endocr Disord*. 2023;23(1):112. doi:10.1186/s12902-023-01367-6
65. Establishment of reference intervals for fT3, fT4, and TSH levels in Japanese children and adolescents. Accessed March 2, 2024. https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/advpub/0/advpub_EJ22-0154/_article/-char/ja/
66. Clinical Implications of Different Thyroid-Stimulating Hormone (TSH) Reference Intervals between TSH Kits for the Management of Subclinical Hypothyroidism - PMC. Accessed March 15, 2024. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10901656/
67. Gönç E N, Yordam N. Çocukluk ve Adölesanda Tiroid Hastalıkları. Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S. Pediatrik Endokrinoloji. 1. Basım. Ankara.Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları:1. 2003.261-361.
68. Leger H, Olivieri A, Donaldson M ve ark. European Society for Paediatric Endocrinology Consensus Guidelines on Screening, Diagnosis, and Management of Congenital Hypothyroidism. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(2):363-384.
69. Cinaz P. Konjenital Hipotiroidi. Klinik Pediatri. 2003;2(2):59-63.