



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

TIBBİ BİYOKİMYA

**PEDİATRİK POPÜLASYONDA TSH VE ST4'ÜN YAŞA VE CİNSİYETE
ÖZGÜ SÜREKLİ REFERANS ARALIKLARININ İNDİREKT TESPİTİ**

Emre YALÇINKAYA

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL
Şubat, 2019

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

TIBBİ BİYOKİMYA

**PEDİATRİK POPÜLASYONDA TSH VE ST4'ÜN YAŞA VE CİNSİYETE
ÖZGÜ SÜREKLİ REFERANS ARALIKLARININ İNDİREKT TESPİTİ**

Emre YALÇINKAYA
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ferruh Kemal İŞMAN

İSTANBUL
Şubat, 2019

ONAY

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Tıpta Uzmanlık Yönetmeliği hükümlerine göre uzmanlık eğitimi gören Dr. Emre YALÇINKAYA' nın hazırladığı ve jüri önünde savunduğu "PEDIATRİK POPÜLASYONDA TSH VE ST4'ÜN YAŞA VE CİNSİYETE ÖZGÜ SÜREKLİ REFERANS ARALIKLARININ İNDİREKT TESPİTİ" başlıklı tez başarılı kabul edilmiştir.

UNVAN, AD VE SOYAD

KURUMU

JÜRİ ÜYELERİ

İMZA

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ferruh Kemal İŞMAN

Üyeler:

.....

.....

.....

.....

.....

Tez Savunma Tarihi:

Yazar Bildirimi

"PEDIATRİK POPÜLASYONDA TSH VE ST4'ÜN YAŞA VE CİNSİYETE ÖZGÜ SÜREKLİ REFERANS ARALIKLARININ İNDİREKT TESPİTİ" isimli uzmanlık tezinde Emre YALÇINKAYA

- Bu tezin kabulünden önce nerede ve ne kadarının yayınlandığını "Bilgilendirme" bölümünde belirtmiştir
- Tezin hazırlanmasında katkısı olanları "Bilgilendirme" bölümünde eksiksiz olarak belirtmiştir
- Bu tez ile ilgili çıkar çatışması olup olmadığını "Bilgilendirme" bölümünde belirtmiştir
- Tez içerisinde başkalarının yayınlanmış veya yayınlanmamış çalışmalarından yapılan alıntılar için gerekli kaynakları açıkça belirtmiştir
- Tez içerisinde başka kaynaklardan kopyalanmış olan kısımları tırnak içerisinde alarak ve izin alınan kaynağı belirterek kullanmıştır

Şubat, 2019

İmza:

- Bu tez daha önce herhangi bir yerde yayınlanmamıştır.
- Bu çalışmada adı geçen ilaç, tıbbi cihaz ve laboratuvar malzemelerinin üreticileri ile herhangi bir çıkar ilişkim yoktur.

Emre YALÇINKAYA



Teşekkür

Uzmanlık eğitimim boyunca yaptığı katkısından dolayı Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mustafa Baki ÇEKMEN'e,

Bilimsel birikimi ile tez sürecimde ve uzmanlık eğitimim boyunca ihtiyacım olduğunda yanımda olan, bana hem hocalık hem ağabeylik yapan tez danışmanım Prof. Dr. Ferruh Kemal İŞMAN'a,

Değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Hayriye ERMAN'a,

Kıymetli deneyim ve bilgilerinden yararlandığım uzmanlarımıza,

Beraber çalışmaktan, eğitim almaktan ve sosyal hayatta paylaşımında bulunmaktan keyif aldığım biyokimya ve mikrobiyoloji asistan arkadaşlarıma,

Bu aşamaya gelene kadar desteklerini hep hissettiğim anne ve babama,

Bu süreci bana kolaylaştıran ve bu süreçte bana sabreden, büyük bir sevgiyle yanımda olan ve desteğini hep hissettiğim yol arkadaşım, canım eşim Şule'ye,

Hayat enerjimi çocuklarım Zehra ve Salih Ömer'e,
en içten dileklerle teşekkür ederim.

Emre YALÇINKAYA

emreyalcinkaya34277@gmail.com

Özet

PEDİATRİK POPÜLASYONDA TSH VE ST4'ÜN YAŞA VE CİNSİYETE ÖZGÜ SÜREKLİ REFERANS ARALIKLARININ İNDİREKT TESPİTİ

AMAÇ: Pediatrik popülasyonda tiroid stimulan hormon (TSH) ve serbest T4'ün (sT4) yaşa ve cinsiyete özgü sürekli referans aralıklarını (RI) indirekt yöntemle belirlemeyi amaçladık. Olası patolojik verileri dışlayıp bu verilerin hesapladığımız RI'lara etkisini de inceledik. Belirlediğimiz RI'ları, direkt yöntemle belirlenen RI'larla karşılaştırıp kullandığımız yöntemin güvenilirliğini de test ettik.

YÖNTEM: Laboratuvar veri tabanından aldığımız TSH ve sT4 verilerinden doğumdan erişkinliğe kadarki yaşa özgü sürekli RI'larını indirekt yöntemle belirledik. Verileri yaşlara göre gruplara ayırdık ve her grubun referans limitlerini belirledik. Her grubun referans limitlerini birleştirip sürekli RI'lar elde ettik. Belirlediğimiz RI'ları, direkt yöntemle belirlenen RI'larla kıyasladık. Böylece indirekt yöntemle belirlediğimiz RI'ların güvenilirliğini inceledik.

BULGULAR: Belirlediğimiz referans aralıklara, olası patolojik verilerin önemli bir etkisinin olmadığını gördük. Direkt yöntemlerle hesaplanan RI'larla yüksek uyum bulduk. Ayrıca direkt yöntemle yapılan çalışmalar az bireyle ve geniş yaş aralığını temel alarak yapıldığından bu çalışmaların özellikle yaşamın ilk aylarında görülen dinamik değişim sürecini temsilde yetersiz kaldığını ve yüksek yalancı pozitifliğe neden olduğunu gördük.

SONUÇ: Belirlediğimiz RI'ların, direkt yöntemle belirlenen RI'larla karşılaştırılabilir ve güvenilir olduğunu gördük. Bu indirekt yaklaşım, geleneksel yaklaşımların pek mümkün olmadığı durumlarda özellikle pediatrik popülasyonda diğer parametrelere de uygulanabilir.

Anahtar Kelimeler: Pediatrik popülasyon, TSH, sT4, indirekt, sürekli referans aralık

Abstract

DETERMINATION OF THE AGE AND SEX SPECIFIC CONTINUOUS REFERENCE INTERVALS OF TSH AND FT4 IN THE PEDIATRIC POPULATION

OBJECTIVE: We aimed to determine the age and sex-specific continuous reference intervals (RI) of the thyroid stimulating hormone (TSH) and free T4 (fT4) in the pediatric population by indirect method. We excluded possible pathological data and examined the effect of these on the continuous RIs. We compared the continuous RIs with the RIs determined by direct method and tested the reliability of the method we use.

METHOD: We determined the age-specific continuous RIs of TSH and fT4 from birth to adulthood by the indirect method using the data obtained from the laboratory database. We divided the data into age groups and determined the reference limits for each group. We combined the reference limits of each group and obtained continuous RIs. We compared the continuous RIs with the RIs determined by direct method. Thus, we examined the reliability of the continuous RIs.

RESULTS: We have seen that the possible pathological data does not have a significant effect on the continuous reference intervals. We found a high level of agreement with RIs determined by direct methods. In addition, since the studies used with direct method were based on few individuals and wide age range, we found that these studies were inadequate in representing the dynamic change process seen in the first months of life and caused high false positivity.

CONCLUSION: We have found that the continuous RIs we have determined are comparable and reliable to the RIs determined by direct method. This indirect approach can also be applied to other parameters, especially in the pediatric population which traditional approaches are not possible.

Keywords: Pediatric population, TSH, fT4, indirect, continuous reference interval

İçindekiler

Şekil Listesi	ix
Tablo Listesi	x
Kısaltmalar	xi
1 GİRİŞ ve AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER	6
2.1 Terminoloji ve Tanımlamalar	6
2.2 Referans Değerleri Elde Etme ve Referans Aralıkları Belirleme Protokolü	7
2.2.1 Yeni Analit veya Analitik Yöntem	8
2.2.2 Çok Merkezli Referans Aralık Çalışması	9
2.2.3 Önceden Ölçülmüş Analit	10
2.3 Referans Bireylerin Seçimi	10
2.3.1 Dışlama ve Gruplama Kriterleri	10
2.3.2 Referans Bireylerin Seçimi	13
2.3.2.1 Direkt Örnekleme Tekniği	13
2.3.2.2 İndirekt Örnekleme Tekniği	14
2.3.2.3 Bireye dayalı örnekleme Tekniği	15
2.3.2.4 Rastgele ve Rastgele Olmayan Örnekleme	15
2.4 Preanalitik ve Analitik Faktörler	16
2.4.1 Birey Hazırlama	17
2.5 Referans Değerlerin Analizi	18
2.5.1 Referans Değer Sayısı	20
2.5.2 Aykırı Değerlerin Tespiti	21
2.5.3 Referans Değerlerin Gruplandırılması	24
2.6 Referans Aralıkların Transferi	26
2.6.1 Subjektif Değerlendirme	27
2.6.2 Az Sayıda Referans Birey Kullanarak Doğrulama	27
2.6.3 Çok Sayıda Referans Birey Kullanarak Doğrulama	29
2.7 Referans aralığı hesaplama	30
2.7.1 Genel Hesaplama	30
2.7.2 Robust Metodu	30
2.7.3 Bootstrap Metodu	31
2.7.4 Nonparametrik Persentil Metodu	31
3 YÖNTEM	33
3.1 Örneklerin toplanması, serum eldesi, kullanılan cihazlar ve programlar	33
3.2 Çalışma Grubu	34
3.3 Sürekli Referans Aralık Oluşturma	35
3.3.1 Verileri Yaş Gruplarına Ayırma	35

3.3.2	Ayrı referans aralıklarının üretilmesi	36
3.3.3	Sürekli referans aralıklarına dönüştürme	37
3.4	Referans Aralıklarının Karşılaştırılması	38
4	BULGULAR	41
4.1	TSH ve ST4'ün çalışma periyodunca stabilitesi	41
4.2	Örnek seçiminin ve cinsiyetin hesaplanan RI'lara etkisi	45
4.3	Sürekli TSH ve sT4 referans aralıklarına göre klinik sınıflandırma	45
4.4	Referans Aralıklarının Karşılaştırılması	48
4.4.1	Sürekli TSH ve sT4 RI'larımızın CALIPER'in Raporladığı Yaşa Göre Gruplandırılmış RI'larla karşılaştırılması	54
4.4.2	Sürekli TSH ve sT4 RI'larımızın KiGGS'in Raporladığı Yaşa Göre Gruplandırılmış RI'larla karşılaştırılması	58
5	TARTIŞMA ve SONUÇ	66
5.1	TARTIŞMA	66
5.2	TEZİN KISITLILIKLARI	77
5.3	SONUÇ	79
	Kaynaklar	80
	Etik Kurul Onay Formu	87

Şekil Listesi

2.1 Referans Aralık Kavram şeması	12
3.1 Referans aralık hesaplama algoritması.	37
3.2 Sürekli referans aralık oluşturma	38
4.1 TSH verilerinin zamana göre stabilitesi	41
4.2 sT4 verilerinin zamana göre stabilitesi	42
4.3 Olası Patolojik Verilerin TSH Referans Aralıklarına Etkisi	46
4.4 Olası Patolojik Verilerin sT4 Referans Aralıklarına Etkisi	46
4.5 Sürekli TSH referans aralıklarına cinsiyetin etkisi	47
4.6 Sürekli sT4 referans aralıklarına cinsiyetin etkisi	47
4.7 Sürekli TSH referans aralıklarıyla CALIPER verilerinin kıyaslanması	55
4.8 İlk yıl sürekli TSH referans aralıklarıyla CALIPER referans aralıklarının kıyaslanması	55
4.9 Sürekli sT4 referans aralıklarıyla CALIPER referans aralıklarının kıyaslanması	56
4.10 İlk yıl sürekli sT4 referans aralıklarıyla CALIPER verilerinin kıyaslanması	56
4.11 Sürekli TSH referans aralıklarıyla KIGGS referans aralıklarının kıyaslanması (Erkek)	59
4.12 Sürekli TSH referans aralıklarıyla KIGGS referans aralıklarının kıyaslanması (Kadın)	59
4.13 Sürekli sT4 referans aralıklarıyla KIGGS referans aralıklarının kıyaslanması (Erkek)	60
4.14 Sürekli sT4 referans aralıklarıyla KIGGS referans aralıklarının kıyaslanması (Kadın)	60

Tablo Listesi

2.1 Olası Dışlama Kriterleri	11
2.2 Olası Gruplama Kriterleri	11
2.3 Belirlenecek RI'yi Etkileme Potansiyeli Olan Preanalitik Faktörler	18
3.1 Örnek sayıları ve oluşturulan grup sayısı	36
3.2 Çalışılan Analitler ve Kullanılan Metotlar/Cihazlar	40
4.1 Belirlediğimiz Sürekli TSH Referans Aralıkları (mIU/L)	43
4.2 Belirlediğimiz Sürekli sT4 Referans Aralıkları (pmol/L)	44
4.3 Sürekli TSH (m IU/L) RI'na göre klinik sınıflandırma	49
4.4 Sürekli sT4 RI'mıza Göre Klinik Sınıflandırma	50
4.5 Sürekli sT4 RI'mıza Göre Klinik Sınıflandırma-Devamı	51
4.6 Sürekli sT4 RI'mıza Göre Klinik Sınıflandırma-Devamı	52
4.7 Sürekli sT4 RI'mıza Göre Klinik Sınıflandırma-Devamı	53
4.8 CALIPER'e ve belirlediğimiz sürekli RI'lara göre hasta kabul edilen örnek yüzdeleri ve farkları (%)	57
4.9 CALIPER ve Hesaplanan TSH RI'ların istatistiksel Karşılaştırması .	57
4.10 CALIPER ve Hesaplanan sT4 RI'ların istatistiksel Karşılaştırması . .	57
4.11 CALIPER ve Hesaplanan TSH RI'ların Klinik Karşılaştırması	58
4.12 CALIPER ve Hesaplanan sT4 RI'ların Klinik Karşılaştırması	58
4.13 KiGGS'e ve belirlediğimiz sürekli RI'lara göre hasta kabul edilen örnek yüzdeleri ve farkları (%)	61
4.14 KiGGS TSH RI'ları ve Hesaplanan RI'ların Karşılaştırılması (Doğ- ruluk Çalışması)	62
4.15 KiGGS sT4 RI'ları ve Hesaplanan RI'ların Karşılaştırılması (Doğruluk Çalışması)	63
4.16 KiGGS'in yaş aralıkları baz alarak indirekt yöntemle hesapladığı- mız TSH RI'larının klinik sınıflamaya etkisi	64
4.17 KiGGS'in yaş aralıklarını baz alarak indirekt yöntemle belirlediğimiz sT4 RI'larının klinik sınıflamaya etkisi	65

Kısaltmalar

EPTRV	Referans Değerler Teorisi Konulu Uzmanı Paneli
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
IFCC	Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu
NCCLS	Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi
TSH	Tiroid stimulan hormon
sT4	Serbest T4
RI	Referans aralık
JCTLM	Laboratuvar Tıbbında İzlenebilirlik Ortak Komitesi
ICSH	Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Komitesi
IUPAC	Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği
CALIPER	Pediyatrik Referans Aralıkları konusunda Kanada Laboratuvar Girişimi
KIGGS	Çocuk ve Ergenler İçin Alman Sağlık Araştırması
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
LIS	Laboratuvar bilgi sistemi
OGTT	Oral glukoz tolerans testi
CI	Güven aralığı
SD	Standart sapma
MAD	Ortanca mutlak sapma
URL	Üst referans limit
LRL	Alt referans limit
CMIA	Kemilüminesan mikropartikül immünolojik test
ECLIA	Elektrokemilüminesans immünolojik test
RCV	Referans değişim değeri
TEa	Total izin verilen hata
CV _I	Bireyiçi biyolojik varyasyon
CV _A	Analitik varyasyon

GİRİŞ ve AMAÇ

Tiroid hormonları hücre çekirdeğindeki reseptörlerine bağlanıp transkripsiyon faktörleri olarak işlev görür ve gen ifadesini düzenler. Tiroid hormonları her doku tipinde etkilidir. Fetusta, çocukta ve ergenlerde hayat boyunca büyüme, gelişme ve metabolizma üzerinde etkileri vardır.

Toplumda tiroid fonksiyon bozukluklarına çok sık rastlanmaktadır. Bir hastanın tiroid durumu hakkında karar vermek için şikayetlerini, fizik muayene bulgularını ve tiroid fonksiyon testlerini birlikte değerlendirmek gerekir. Bazen klinik bulgular ile test sonuçlarının uyumsuz çıktığı da görülebilir. O zaman interferans yapan faktörlerden şüphelenilir ve ileri tetkikler istenebilir.

Laboratuvar testlerinin yanlış yorumlanması mevcut bir hastalığın tedavi edilmemesine veya var olmayan hastalığın varmış gibi tedavi edilmesine yol açarak kötü sonuçlar doğurabilir. Sistemik bir hastalık bulunmadıkça normal bir tiroid stimulan hormon (TSH) aktivitesi, primer hipotiroidi ve hipertiroidiyi dışlamada %99 negatif prediktiviteye sahiptir. Serum tiroid hormonları ile TSH arasında, ters log-lineer ilişki vardır; yani serum tiroid hormonlarındaki çok küçük değişiklikler TSH'de büyük oynamalara yol açar. Bu sebeple, hassas immünolojik yöntemler ile yapılan TSH ölçümleri tiroid fonksiyonunu değerlendirmede tarama testi olarak kullanılabilir.

Laboratuvarlar, teknolojideki gelişmelere paralel olarak klinik karar verme sürecinin önemli bir parçası haline gelmiştir. Çoğu hastalığın taraması, tanısı ve tedavi takibi birçok analitin ölçümüne bağlıdır. Bu ölçüm sonuçları da referans aralıklara (RI) veya karar sınırlarına göre değerlendirildiğinden, RI'nın belirlenmesi çok önemlidir. Çoğu laboratuvar, üreticinin kendisine sağladığı veya literatürden aldığı RI'yı kullanır. Ancak kullanılan bu RI'lar belirlendiği analitik platforma ve toplumun özelliklerine göre belirlenir. Üretici firmalar dünyanın birçok yerine kitlerini gönderdiğinden her yer için ayrı ayrı

RI belirleyemez. RI'ları, toplumun etnik, genetik ve çevresel farklılıklarını gözardı ederek hiç bir çalışma yapmadan olduğu gibi kendi laboratuvarlarımıza transfer edip kullanmak yanlış değerlendirmelere neden olabilir. Bundan dolayı üreticilerin sunduğu veya literatürdeki RI'ların transferi yerine her laboratuvarın kendi RI'sını belirlemesi önerilir.

Referans aralık belirleme sürecindeki en kritik basamak kullanılacak referans bireylerin seçim yöntemidir. Bu seçim *direkt* ve *indirekt* referans birey seçimi olarak iki şekilde yapılabilir. Direkt seçim yönteminde referans bireyler önceden belirlenen dışlama ve kabul kriterlerine göre seçilir (Tablo 2.1). Bu bireylerden elde edilen referans veriler referans aralığın belirlenmesinde kullanılır. Direkt seçim yöntemi, Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu (IFCC) ve Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından önerilen yöntemdir. İndirekt seçim yöntemi ise klinik amaçlar için istemi yapılan ve raporlanan veriler retrospektif olarak Laboratuvar Bilgi Sisteminden (LIS) alınır. Bu bireylerden elde edilen veriler de referans aralığın belirlenmesinde kullanılır.

RI'da değişkenliğe sebep olabilecek yaş, cinsiyet gibi özellikler popülasyonu alt gruplara ayırma ve her grup için ayrı RI belirleme ihtiyacını beraberinde getirir (Tablo 2.2). Özellikle doğumdan itibaren yaşamın ilk aylarında görülen dinamik değişim süreci birçok analitin RI'sının da dalgalanmasına neden olabilir.

CLSI'ya göre RI'nın direkt yöntemle tespiti her alt grup için sağlıklı olduğu düşünülen en az 120 referans birey seçimini gerektirir. Bu sayı referans aralığın alt ve üst referans limitlerinin en az % 90 güven düzeyinde belirlenebilmesi için gerekli olan minimum sayıdır (1). Bundan dolayı yaşa bağlı referans aralıklarının doğru ve yüksek çözünürlüklü tespiti için birçok yaş grubu ve dolayısıyla büyük bir kohort gerekir. Ne yazık ki günümüzde pediyatrik yaş gruplarında bu kriterleri tam anlamıyla gerçekleştirebilmiş yaş ve cinsiyete özgü referans aralık çalışması çok nadirdir. Var olan çalışmalar da çok merkezli ve büyük maliyeli çalışmalardır. Bu çalışmalardaki ana problem de analitik platformların ve popülasyonların karşılaştırılabilirliğidir. Çünkü bu çalışmalarda analit ölçümler farklı popülasyonlarda, farklı analizör ve metodlarla gerçekleştirilmiştir (2).

Alt grupların herbiri için en az 120 pediatrik sağlıklı bireyden numune alma zorunluluğu, numune almanın zorluğu, alınabilecek numune miktarının sınırlı olması gibi birçok faktör pediatrik yaş gruplarında direkt yöntemle referans aralık tayinini pratik ve etik açıdan neredeyse imkânsız hale getirmiştir.

Pediyatrik yaş grubunun metabolizmaları dinamik değişim ve gelişim süreci içinde olduğundan erişkin referans aralıklarının pediatrik grup için kullanımı yanlış yorumlara yol açabilir. Pediyatrik çağda, özellikle rahim dışındaki hayata adaptasyon süreci olan yenidoğan döneminde bu değişim çok hızlıdır. Bazı biyolojik belirteçler büyüme, gelişme ve puberte süresince yaş ve cinsiyetle ilişkili olarak ciddi değişkenlik gösterir.

Günümüzde kullanılan pediatrik referans aralıklarında kritik boşluklar vardır. Özellikle de yaşamın ilk yılında bu eksikliğin belirgin olduğu görülür (3, 4). Bu boşluklar, infant ve çocuklardan gereksiz numune alınmasına, stresli tanı sürecine, gereksiz yatışa ve dolayısıyla inatçı enfeksiyonlara, yetersiz veya yanlış tedavi protokollerinin uygulanmasına neden olur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) çocuklardan güvenle alınabilecek maksimum kan miktarı konusunda 2011 yılında bazı tavsiyelerde bulunmuştur (5).

İndirekt referans birey seçiminde ise raporlanmış veriler Laboratuvar Bilgi Sisteminden (LIS) alınır. Burada referans aralık belirleme amacıyla numune alınmaz. Sadece klinik amaçlar için istemi yapıp raporlanmış sonuçlar değerlendirilir. Bu sonuçların sağlıklı veya hasta bireylerden alınıp alınmadığı konusunda direkt yöntem gibi net bilgi sahibi olmak pek mümkün değildir. Direkt metotla karşılaştırıldığında indirekt metot hem pratik hem de ekonomi dostudur. Bu açıdan direkt çalışmanın pek mümkün olmadığı özellikle pediatrik popülasyonda birçok laboratuvar bu metotla kendi referans aralıklarını belirleyebilir. Ancak indirekt yöntemde, verilerin patolojik verilerle kontamine olma ihtimalinin direkt yöntemle göre fazla olduğunun farkında olunmalıdır. Bundan dolayı referans aralığı belirlenecek analite bağlı olarak olası patolojik verilerin bulunabileceği ünitelerden (yoğun bakım, onkoloji, endokrinoloji) gelen veriler değerlendirilirken daha dikkatli olunmalıdır. Örneğin tiroid panelinde endokrinoloji, kreatinin testinde nefroloji ve diyaliz ünitelerinden gelecek veriler değerlendirilirken tetikte olmak gerekir.

Sık yapılan laboratuvar testlerinden olduğu ve klinik karar verme sürecinde çok önemli olduğu için pediatrik TSH'nin ve serbest T4'ün referans aralığını indirekt yöntemle belirlemeyi amaçladık. Gelişim sürecinde özellikle de yaşamın ilk aylarında bu hormonlar hızlı bir değişime uğrar (2, 6–8). Bundan dolayı bu süreci yansıtabilecek sürekli ve yüksek çözünürlüklü referans aralıkların varlığı ve kullanımı çok önem arzeder. Klinik karar verme aşamasındaki önemine ve yaygın istemine rağmen, mevcut RI'lar oldukça heterojendir ve geniş yaş aralıklarını temel alarak belirlenmiştir. Ayrıca bu referans aralıklar popülasyona ve analitik metoda özgü olduğundan önemli ölçüde değişebilmektedir (9, 10).

Hipotiroidizm çocuklarda fiziksel ve bilişsel gelişim bozukluğuyla seyreden endokrin hastalıktır. Konjenital hipotiroidizm en sık görülen pediatrik endokrinopatidir ve mental geriliğinin tedavi edilebilir bir nedenidir. Yenidoğan döneminde klinik semptom ve bulgulara göre tanı ancak % 3.1 vakada olasıdır. Son 20 yılda dünya çapında artan insidansı rapor edilmiştir (1:2000–4000) (11). Bu çocuklar doğumda normal gözükür ve vakaların çoğu semptom ve bulgular ortaya çıkmadan biyokimyasal tanı alır. Bundan dolayı neonatal tarama programıyla zamanında tanı konması ve tedavi edilmesi kişi ve toplum için hayati öneme sahiptir. Serbest T4 (sT4), serbest T3 (sT3)'ün aksine tiroid hormon sentezini doğrudan yansıttığı için tanılarının doğrulanmasında vazgeçilmez bir parametredir (12).

Bu çalışmada:

1) Pediatrik TSH ve sT4'ün özellikle doğumdan sonraki ilk ayları temsil edecek şekilde, erişkinliğe kadar olan süreçteki yaşa ve cinsiyete özgü yüksek çözünürlüklü ve sürekli referans aralıklarını indirekt yöntemle belirlemeyi amaçladık.

2) Sağlıklı popülasyonu daha iyi temsil etmesi bakımından patolojik olma ihtimali yüksek olan bazı kliniklerden (yoğun bakım, onkoloji, endokrinoloji, infeksiyon hastalıkları gibi) gelen verileri dışlayarak oluşturduğumuz ayrı bir veri setinde de referans aralık çalışması yaptık (kısmen indirekt-posteriori çalışma). Bu çalışmayla olası patolojik verilerin belirleyeceğimiz referans aralıklara etkisini inceledik.

3) Belirleyeceğimiz sürekli referans aralıkları, direkt yöntemle belirlenen referans aralıklarla kıyasladık. Böylece indirekt yöntemle belirlediğimiz referans aralıkların güvenilirliğini inceledik.

4) Direkt yöntemle yapılan ve dünyaca referans kabul edilen çalışmalar az sayıda referans bireyle geniş yaş aralıklarını temel alarak yapılmıştır. Bundan dolayı bu çalışmaların, özellikle yaşamın ilk aylarında pediatrik popülasyonda görülen dinamik değişim sürecini temsilde yeterliliğini ve klinik sınıflamaya etkisini inceledik.



GENEL BİLGİLER

2.1. Terminoloji ve Tanımlamalar

Aşağıda tanımlanan ve bu çalışmada kullanacağımız terminoloji Uluslararası Klinik Kimya ve Laboratuvar Tıbbı Federasyonu (IFCC) Referans Değerler Teorisi Uzman Paneli (EPTRV) ve Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Konseyi (ICSH) tarafından önerilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve dünya çapındaki diğer kuruluşlar tarafından da onaylanmıştır. Bu tanımlar, kabul edilmiş evrensel terminolojiyi temsil eder.

Referans aralık, belirlenmiş yüzdelere denk gelen referans limitlerle sınırlanan referans değerlerin genellikle merkezi aralığıdır. Yani, referans aralık, referans örnek grubu içinde gözlenen veya referans popülasyon için öngörülen, belirli bir yüzde ile tanımlanan (örneğin, merkezi % 95) değerler kümesidir.

Referans dağılım, referans değerlerin oluşturduğu dağılımdır.

Referans birey, iyi tanımlanmış dışlama ve gruplama kriterlerine göre referans aralık çalışmasına seçilen bireydir. Bu seçim tanımlanmış kriterlerin uygulanma zamanına göre iki şekilde yapılabilir. Bunlar:

A priori, kriterler tanımlandıktan sonra bunlar ışığında örneklerin toplanmasını ifade eder.

A posteriori, örnekler toplandıktan sonra tanımlanmış kriterlerin uygulanması anlamına gelir.

Referans limit, referans dağılımdan türetilen ve referans aralığın tanımlanmasında kullanılan değer(ler)dir.

Referans popülasyon, tüm referans bireylerin oluşturduğu topluluktur. Referans popülasyon genellikle bilinmeyen sayıda üyeye sahiptir ve

varsayımsal bir kavramdır. Referans popülasyon sadece bir üyeden oluşabilir. Örneğin, sadece bir kişi kendisi veya başkası için referans olarak kullanılabilir.

Referans örnek grubu, referans popülasyonu temsil etmesi için seçilen yeterli sayıda referans bireyin oluşturduğu gruptur.

Referans değer, belirli bir niceliğin referans örnek grubunu oluşturan referans bireylerde gözlemlenmesi veya ölçülmesiyle elde edilen değerdir.

Referans aralığının belirlenmesi, referans bireylerin seçimi, analitik yöntemlerin detayları, veri toplama ve analiz aşmalarının tümünü içeren süreçtir.

Referans aralığının transferi, önceden belirlenmiş referans aralığının yeni bir analitik platforma veya yeni bir lokasyona uyarlanmasıdır.

Referans aralığının doğrulanması, de novo belirlenmiş yada transfer edilmiş referans aralığının, daha az sayıda referans birey (örneğin, $n = 20$) kullanılarak kabul edilebilir bir güven düzeyinde kullanılabileceğinin gösterilmesidir.

Referans değerler, sağlıklı olma, fizyolojik veya patolojik durumlarla ilişkili olabilir ve farklı durumlarda kullanılabilir. Her durumda referans aralık gözlemlenen veriyi tanımlanmış bir popülasyondan elde edilen referans verileriyle karşılaştırmaya imkan tanır. Bu karşılaştırma daha sonra gözlemlenen değer anlamı ve bireyin durumuyla ilgili karar verme sürecinin parçası haline gelir.

2.2. Referans Değerleri Elde Etme ve Referans Aralıkları Belirleme Protokolü

Referans aralığı belirlenecek analitin yeni bir analit ve/veya yöntem mi yoksa referans aralığı daha önceden belirlenmiş bir analit ve/veya yöntem mi olduğuna göre protokoller değişiklik gösterir. Çalışmanın çok merkezli olmasına göre izlenecek yol farklılaşır.

2.2.1 Yeni Analit veya Analitik Yöntem

Bilinen bir analitin referans aralığını hesaplamak için iyi tanımlanmış bir protokol takip edilmelidir. Bu protokol, yeni bir analit, farklı bir popülasyon veya daha önce ölçülen analiti analitik duyarlılık ve özgüllüğü geliştirilmiş yeni bir analitik platformda ölçmek için referans değerler elde edilirken uygulanmalıdır. Bu da aşağıda maddeler halinde açıklanan anahat takip edilerek yapılmalıdır (13).

- 1.** Literatürdeki analitik interferanların ve biyolojik varyasyon kaynaklarının listesi oluşturulmalıdır.
- 2.** Dışlama ve gruplara ayırma kriterleri belirlenmeli ve bu kriterleri potansiyel referans bireylerde ortaya çıkarmak için uygun bir anket tasarlanmalıdır.
- 3.** Referans aralık çalışmasına katılım için uygun bir yazılı izin formu uygulanmalı ve referans bireyin anketi tamamlaması sağlanmalıdır.
- 4.** Potansiyel referans bireyler anket bulguları ve diğer sağlık değerlendirmelerine göre sınıflandırılmalıdır.
- 5.** Bireyler kötü sağlık ve dışlama kriterlerine göre referans gruptan dışlanmalıdır.
- 6.** Arzu edilen güven düzeyini sağlayacak referans birey sayısı belirlenmelidir.
- 7.** Seçilen referans bireyler, örnek alınması için rutin uygulamadaki gibi hazırlanmalıdır.
- 8.** Örnekler rutin uygulamadaki gibi toplanıp işleminden geçirilmelidir.
- 9.** Numuneler iyi tanımlanmış koşullara göre rutin uygulamadaki gibi analiz edilmeli ve referans veriler toplanmalıdır.
- 10.** Referans veriler incelenmeli ve verilerin dağılımını görsel olarak değerlendirmek için histogramlar hazırlanmalıdır.
- 11.** Olası veri hataları ve / veya aykırı değerler tanımlanmalıdır.
- 12.** Referans veriler seçilecek hesaplama yöntemine göre analiz edilmelidir. Bu yönteme göre referans limitler ve referans aralığı hesaplanmalıdır.

Gerekiyorsa referans veriler alt gruplara ayrılmalı ve bu gruplar için de analiz işlemi gerçekleştirilmelidir.

13. Yukarıda belirtilen adımlarda takip edilen prosedürler kaydedilmelidir.

2.2.2 Çok Merkezli Referans Aralık Çalışması

Referans aralığı etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar arasında referans bireyin tanımlanmasında kullanılan kriterler, preanalitik faktörler ve kullanılan istatistiksel müdahaleler sayılabilir. Bununla birlikte analiti ölçmek için kullanılan yöntem ve referans bireylerin alındığı popülasyon özellikle önemlidir. CLSI çalışma grubu, her laboratuvarın kendi referans aralıklarını esas olarak bu iki değişkenden türettiğini ifade eder.

Yöntemleri standardize etmek için devam eden birçok uluslararası çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların amacı birçok analitik yöntemin bölgeler arası farklılıklarını ve bunun etkilerini ortadan kaldırmak veya en aza indirmektir. Laboratuvar Tıbbında İzlenebilirlik Ortak Komitesi (JCTLM) tarafından koordine edilen çabalarla, resmi bir “referans ölçüm sistemi” nin mevcut olduğu analizör, reaktif ve analitik ilkedden bağımsız makul karşılaştırılabilirlik seviyesine ulaşmalıdır (Bu analizlerin veritabanı <http://www.bipm.org/jctlm/> adresinde bulunabilir.) Yöntemler arasında karşılaştırılabilirlik sağlandığında, her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesinin tek gerekçesi olası referans popülasyonun farklılığıdır. Popülasyonlar arasındaki bu farklılıkları gösteren çok az veri olduğundan ancak çok merkezli bir çalışmayla ortak referans aralıklarının eldesi mümkündür. Çok merkezli referans aralık çalışması yapmak için aşağıdaki kriterlerin karşılanması gerekir (13):

1. Katılımcı merkezlerin ve bireylerin sayısı alt gruplara ayırmaya imkan tanıyabilecek birey sayısına göre orantılı olmalıdır.

2. Preanalitik değişkenler açıkça tanımlanmalıdır.

3. Sonuçların izlenebilirliği ve laboratuvarlar arası standardizasyon, referans metotla belirlenmiş hedef değerleri olan iki veya daha fazla tamamen aynı referans numunelerle (donmuş havuzlar) gösterilmelidir. Bu aşama üst seviye

referanslarla izlenebilirliği ve dünya çapında uygulanabilirliği sağladığından çok önemlidir.

4. Her laboratuvarın analitik verilerin kabulü veya reddi için iyi tanımlanmış kalite kontrol programı bulunmalıdır.

Popülasyonlar arası farklılıklar bu verilerden fark edilebilir. Popülasyonlar arası farklılık yoksa veriler toplanıp analiz edilebilir. Ortak referans aralıklar belirlendikten sonra, her laboratuvarın bu referans aralıkları kendi ortamında doğrulaması yeterlidir.

2.2.3 Önceden Ölçülmüş Analit

Geçerli bir referans aralık çalışması varsa, baştan tam ölçekli bir çalışma yapmak zorunda kalmadan bu referans aralığın transfer edilmesi tercih edilebilir. Bu da ancak popülasyonların ve tüm metodolojik süreçlerin (bireyin teste hazırlanmasından analitik ölçüme kadar) aynı veya karşılaştırılabilir olması halinde mümkündür.

2.3. Referans Bireylerin Seçimi

Sağlık, evrensel kabul görmüş bir tanımı olmayan bir durumdur. Sağlıklı sayılacakların tanımlanması, herhangi bir referans aralık çalışmasının başlangıç ve ana problemidir. Referans örneklemden sağlıksızlığı dışlamak için kullanılan kriterleri oluşturmak, referans bireyleri seçmenin ilk adımıdır. Her kurum sağlıklı olma durumu için farklı kriterler seçmiş olabilir. Çalışmayı ilerletmeden önce bu kriterlerin tanımlanması gerekir. Aday referans bireyin sağlıklı olma durumunu belirleme süreci hikaye, fizik muayene ve laboratuvar testlerini içerebilir. Herhangi bir referans aralık çalışmasında kullanılan kriterler açıklanmalı ki diğerleri bu referans grubun sağlık durumunu doğru değerlendirebilsin. Bu da en azından anket kullanarak sağlanabilir.

2.3.1 Dışlama ve Gruplama Kriterleri

Dışlama kriterleri, aday referans bireyde varsa onun referans popülasyona dahil edilmesini engelleyen koşullardır. Bazı potansiyel dışlama kriterlerini (Tablo 2.1)'de özetledik. Bu koşulların bir kısmı referans bireylerin seçiminde kullanılması gerekebilir. Tüm referans değer çalışmaları aynı dışlama

kriterlerine sahip değildir. Bu kriterler analite göre değişebilir. Çünkü her analit aynı kriterlerden etkilenmez.

Tablo 2.1: Olası Dışlama Kriterleri

Alkol tüketimi	Hastalık (yakın zamanda)
Kan donörü	Emzirme
Anormal kan basıncı	Gebelik
İlaç kötüye kullanımı	Meslek
Reçeteli/reçetesiz ilaç kullanımı	Cerrahi operasyon (yakın zamanda)
Çevre	Obezite
Açlık/tokluk	Tütün kullanımı
Genetik faktörler	Transfüzyon (yakın zamanda)
Hastanede yatış (yakın zamanda)	Vitamin kullanımı

Tablo 2.2: Olası Gruplama Kriterleri

Yaş	Numune alınma pozisyonu (ayakta/yatarak)
Cinsiyet	Beslenme
Coğrafya	Etnik köken
İrk	Gebelik haftası
Açlık/tokluk	Tütün kullanımı
Kan grubu	Menstrüal siklus
Sirkadiyen ritim	Egzersiz

Bir çalışmadaki dışlama kriteri başka bir çalışmada gruplama kriteri olarak kullanılabilir. Örnek olarak gebelgi, açlık / tokluk durumu ve tütün kullanımını bu çift yönlü kriterler arasında sayabiliriz. Genel nüfusa hizmet eden bir laboratuvar, hamile kadınları referans örnek grubundan dışlamayı tercih edebilir. Obstetrik bir gruba hizmet eden bir laboratuvar, referans olarak seçtiği hamile kadınları trimesterlere veya gestasyonel haftalara göre gruplandırmayı seçebilir.

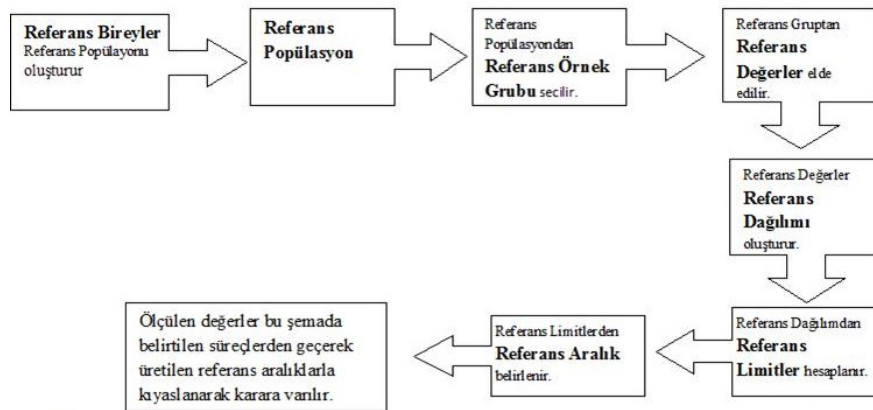
İyi tasarlanmış anketler, dışlama ve gruplama kriterlerini uygulamak için iyi bir yöntemdir. Bu formlar basit olmalıdır. Anket, kan basıncı, boy ve kilo gibi bazı basit ölçümleri içerebilir. Aynı zamanda bu anketler sağlıklı olduğu düşünülen bireylerle görüşme yaparken de kullanılabilir.

Referans bireyleri korumak için anket bilgilerinin ve test sonuçlarının gizliliğini sağlamak çok önemlidir. Analizin potansiyel anormallikleri açığa çıkarması durumunda referans bireye ulaşabilmek için ankete isim, adres ve telefon numarası eklenmelidir. Bu gibi durumlarda, birey veya o bireyle ilgilenen klinisyenin bilgilendirilmesi gerekir. Laboratuvar, tıbbi inceleme ve

gizli bildirim mekanizmasına sahip olmalıdır. Bazen gerekli bilgileri elde etmek için anonim anketler daha iyi bir araç olabilir. Bu durumda bir numaralandırma sistemi kullanılabilir. Test sonucunun bir problem gösterip göstermediğini öğrenmek için laboratuvarla temasa geçmek referans bireyin sorumluluğundadır. Bundan dolayı anonim anket yaklaşımı daha sorunludur.

Olası bir başka değişiklik ise a priori çalışma yapılacağı zaman, soruları dışlama ve gruplandırma diye sınıflandırmadır. Araştırılan ve testleri etkilediği bilinen durumlar hakkında bilgi elde etmek için tasarlanan sorular dahil edilir. Her referans bireyden yazılı onam alınır. Onay formu, kişinin laboratuvar personelinin numuneleri almasına izin verdiğini ve kişiye referans aralıklarının belirlenmesi için ilgili laboratuvar değerlerinin ve anket bilgilerinin kullanabileceğini açıkça belirtmelidir. Genellikle bilgilendirilmiş onam ankete eşlik eder.

Günümüz terminolojisinde kullandığımız “referans aralık” kavramının oluşturulmasında rol oynayan kilometre taşlarının anlaşılması, bu kavramın içinin doldurulması ve ileride yapılandırılabilmesi için önemlidir. WHO sağlık kavramını, “sadece hasta veya sakat olmama değil fiziksel, psikolojik ve sosyal açıdan tam iyilik hali” olarak tanımlar (14). Klinisyen laboratuvar verilerini başka verilerle kıyaslayarak değerlendirir. Normal kelimesinin birçok anlamı olduğundan dolayı “normal değer” terimi karışıklıklara ve subjektif değerlendirmelere neden olduğundan bu kavramın yerine "referans değer" terimi benimsenmiştir. Aşağıdaki şema tanımlanan terimler arasındaki ilişkiyi göstermektedir.



Şekil 2.1: Referans Aralık Kavram şeması

2.3.2 Referans Bireylerin Seçimi

Tıbbi değerlendirmeden geçen hasta popülasyonuna daha çok benzese de sağlıklı ilişkili referans aralığın belirlenmesi için referans bireyler mutlaka genç yetişkin olmak zorunda değildir. Aslında, genel olarak sağlıklı genç yetişkinlerin “altın standart” olduğu kavramı doğru değildir ve çoğu zaman yaşla ilgili referans aralıklarının kullanımı klinik açıdan daha uygundur. Bununla birlikte laboratuvar değerlerinde yaşla ilgili bazı değişikliklerin iyi sağlık durumunu (örneğin geriatrik hastada alkalik fosfataz artışları) yansıtmadığı da bir gerçektir.

CLSI çalışma grubu öncelikle referans bireylerin referans popülasyondan iyi tanımlanmış kriterlere göre seçildiği direkt örnekleme tekniklerinin kullanımını önerir. Bu kriterler, örnekler toplanıp veriler analiz edilmeden önce uygulandığında, a priori örnekleme olarak adlandırılır. Aynı kriterler örnek alındıktan sonra uygulanırsa, bu a posteriori örnekleme olarak adlandırılır. Bununla birlikte bazı durumlarda (örneğin, pediatri) direkt örnekleme tekniklerinin kullanılması çok zor olabilir. Bu gibi durumlarda, bazı araştırmacılar bireylerin tek tek değerlendirilmediği ancak veritabanındaki değerlere güvenilir matematiksel yöntemlerin uygulandığı indirekt tekniklerin kullanımını savunmuştur (13).

2.3.2.1 Direkt Örnekleme Tekniği

Direkt örnekleme tekniği tanımlanmış dışlama, kabul ve gruplama kriterlerinin referans bireylerin seçiminden önce veya sonra uygulanmasına göre iki şekilde yapılır.

A priori örnekleme, referans bireylerin seçiminden önce iyi tanımlanmış dışlama, kabul ve gruplama kriterleri gerektiren yöntemdir. Bu, iyi çalışılmış yerleşik laboratuvar prosedürlerine en iyi uygulanan yöntemdir. Bu yerleşik yöntemlerle ilgili kapsamlı bir literatür araştırmasıyla bilinen biyolojik varyasyon ve interferans kaynakları belirlenmelidir. Literatürden elde edilen bu bilgiler daha sonra gruplama ve dışlama kriterlerinin tanımlanmasında kullanılır. Bu kriterler belirlendikten sonra, referans gruba belirli kişileri dahil etme ve dahil edilen bireyleri alt gruplara ayırma aşamasında kullanmak

üzere bu kriterler temelinde anket geliştirilir. Bu işlemler herhangi bir numune alınmadan önce gerçekleştirilir. Analiz için seçilen referans bireylerin sayısı istatistiksel olarak yeterli olmalıdır.

A posteriori örneklemede, dışlama ve gruplama süreci farklı bir düzende işler. Burada örnek toplama ve analizden sonra belirlenen kriterlere göre seçim ve gruplama yapılır. Posteriori yaklaşım, özellikle yeni, az incelenen veya literatürün çok az bilgi içerdiği laboratuvar prosedürleri için uygundur. Bir alt grubu tanımlayan faktörler başlangıçta bilinemeyeceğinden bu yaklaşımda kullanılacak anketin a priori örnekleme yönteminde tasarlanandan daha kapsamlı olması gerekir. Bu yöntem, hakkında yeterli bilgi bulunmayan analitler üzerinde uygulandığından yapılan yaş gruplamaları görece subjektiftir.

2.3.2.2 İndirekt Örnekleme Tekniği

İndirekt örnekleme tekniğinde, başka amaçlarla oluşturulan veri tabanındaki değerler referans aralıkların hesaplanmasında kullanılır. Bu teknik sağlıklı bireylerden örnek almanın pek mümkün olmadığı durumlarda kullanılır (örneğin, pediatrik grup). Bu yaklaşım nispeten basit ve ucuzdur. Ancak veritabanındaki muhtemel sağlıklı bireylerden gelebilecek patolojik verileri ekarte etmek için özel bir çaba sarfetmek gerekir.

İndirekt örnekleme tekniği gözlemlenilen çoğu sonucun hatta kliniğe başvuranlarda bile “normal” görüldüğü varsayımına dayanmaktadır. Sağlıklı bireylerden gelen değerlerinin ayıklanması için çeşitli istatistiksel yaklaşımlar mevcuttur. Test sonuçlarının sıklık dağılımlarında, dağılım eğrisinin aşırı uçları istatistiksel prosedürler uygulanarak çıkarılabilir. Böylece patolojik sonuçların büyük oranda ayıklandığı veri seti elde edilir (15). Veri seçimi ne kadar sağlıklı yapılırsa sonraki basamaklarda verilerin dağılımında gruplaşmaya ve uç değerlere o kadar az rastlanılır.

Birçok çalışmada, referans aralıklarının tahmini için hastaneye başvuranların hepsinden ya da ayaktan başvuranlardan elde edilen veriler kullanılır (15, 16). Fakat nispeten sağlıklı kişilerin bulunduğu aşağıdaki gruplardan elde edilen veriler daha uygun olabilir.

- Kan vericiler,
- Periyodik sağlık taraması için rutin fizik muayene yapılan bireyler,
- Kurşun taraması yapılan bireyler,
- Küçük cerrahi prosedürler geçiren hastalar,
- Genetik tarama yapılan bireyler (hastanın etkilenmemiş ebeveynleri ve kardeşleri).

Dışlama ve gruplama kriterleri uygulandıktan sonra kalan veriler bazı istatistiksel yöntemler kullanılarak referans aralıkların hesap edilmesi için kullanılır. Nasıl hesaplandıklarına bakılmaksızın, indirekt tekniklerle oluşturulan referans aralıklar kaba tahminlerdir. Referans aralıklarının de novo belirlenmesi ve doğrulanması için indirekt yöntemlerin yerine direkt yöntemlerin kullanılmasını önerilir.

2.3.2.3 Bireye dayalı örnekleme Tekniği

Genellikle bir test sonucunun yorumlanmasında tüm toplumu temsil eden referans aralıklarla kıyaslama yapılırsa da bireye ait özelliklerin de gözönünde bulundurulması daha doğru değerlendirme imkanı sağlar. Bir testin belirli bir kişi için referans aralığının ne olduğu, test o kişiye daha önce uygulanmamışsa bilinemez. Bu değerin önceden biliniyor olması idealdir. Bireyden önceden sağlıklı olduğu bir zamanında elde edilmiş sonuçlar, o kişi için referans değeri olarak kullanılabilir. Bu örnekleme yöntemi bireye dayalı örneklemedir. Test değeri sonradan meydana gelen önemli değışiklikler, bu referans sınırları aşmadığı sürece hastalık lehine değerlendirilmez. Ancak bu değışiklikler bireyde meydana gelen önemli gelişmelerin erken habercisi olabilir.

2.3.2.4 Rastgele ve Rastgele Olmayan Örnekleme

Rastgele örnekleme yönteminde, grup üyelerinin hepsinin referans grubun kriterlerini sağladığı düşünülerek örnekler toplanır ve analiz edilir. Elde edilen veriler istatistiksel analize tabi tutulur ve referans aralıkları hesaplanır. Rastgele olmayan örnekleme yönteminde ise seçilen toplumdan grup oluşturmak için bireylerin önceden hangi kriterleri sağladığı saptanır. Rastgele olmayan örnekleme çoğunlukla uygulanan yöntemdir.

2.4. Preanalitik ve Analitik Faktörler

Referans popülasyondan elde edilen analitik sonuçlar, test sonuçlarını etkileyebilecek tüm preanalitik (analiz öncesi) ve analitik faktörlerin ortak ürünüdür. Bu nedenle, bireyi hazırlama, örnek toplama ve işleme, analitik yöntem ve enstrümantasyon dahil olmak üzere tüm preanalitik faktörler dikkatle tanımlanmalı ve hem referans bireyleri hem de hasta popülasyonunu test etmek için kullanılmalıdır (17, 18).

Klinik olarak anlamlı olan preanalitik faktörlerin kontrolü, klinik karar üzerindeki etkisini en aza indirmek için önemlidir. Bazı analitlerde preanalitik koşulların tanımlanması farklı alt grup referans aralıklarının elde edilmesi için gereklidir (sabah-öğleden sonra kortizol seviyeleri). Bu preanalitik faktörlerin bir kısmı gruplama faktörleri olarak da kullanılabilir ve ayrı referans aralıklarını gerektirebilir. Bazı durumlarda, laboratuvar ve hekim, bazı preanalitik değişkenleri kontrol edebilir. Böylece farklı referans aralıkları kullanma ihtiyacını ortadan kaldırabilirler. Örneğin numune alma zamanını kontrol altına alıp standardize ederek bu gereksinimi oradan kaldırmak mümkündür.

Genel olarak, preanalitik değerlendirme biyolojik ve metodolojik faktörleri içerir (19) . Biyolojik faktörler, metabolik ve hemodinamik orijinli faktörlerdir. Fiziksel aktivite veya uygunsuz kan alımı gibi hücre hasarına neden olabilen faktörleri sayabiliriz. Enzim indüksiyonuna neden olan farmakolojik ajanları kullanan bireyler önceden dahil edilmemiş olmalıdır. Preanalitik metodolojik faktörler, numune alma teknikleri, tüp katkı maddeleri ve tüpleri doldurma sırası dahil örnek toplama ve işleme sürecini içerir. Aynı analit birden fazla yöntem veya sistemle ölçülüyor olabilir. Bu durumda bu yöntemlerin veya sistemlerin benzer sonuçlar ürettiğini doğrulamak gerekir. Alternatif yöntemler veya sistemler benzer sonuçlar vermezse ve özellikle sonuçlardaki farklılıklar klinik olarak anlamlı ise ayrı referans aralıklarının oluşturulması gerekebilir.

2.4.1 Birey Hazırlama

Referans bireylerin seçimi sırasında birçok faktör göz önünde bulundurulmalıdır. Bireyin uygun olmayan şekilde hazırlanması veya tanımlanan kriterlerden sapmalar, yanlış yada çarpık verilere neden olabilir. Belirlenen kriterler, biyolojik varyasyonun ilgili analitler üzerindeki etkisiyle belirlenir. (Tablo 2.3)'te dikkate alınması gereken bazı faktörler özetlenmiştir. Kan örneği alınmadan önce yiyecek alımı ya doğrudan (analit konsantrasyonundaki değişiklikler) yada dolaylı olarak (lipit interferansı) birçok laboratuvar sonucunu etkiler. Tersine, uzamış açlık başka değişimlere neden olur. Pek çok analit de kafein, etanol, tütün ve C vitamini gibi yaygın ajanlardan etkilenir. Bu nedenle, bu faktörlerin kullanımı birey hazırlama şemasının bir parçası olarak değerlendirilmelidir (17, 19) .

Flebotomi sırasında egzersiz ve postural pozisyon laboratuvar sonucunu değiştirebilir. Postüral değişikliklerin etkisi, yatan hasta ve ayaktan hasta sonuçları karşılaştırıldığında önemlidir ve bazı analitler için ayrı referans aralıklarının kullanımını gerektirebilir. Göz önünde bulundurulması gereken diğer faktörlerden olan etnik grup, mevsimsel değişiklikler ve sirkadiyen ritimlerin hepsi analit konsantrasyonunu etkileyebilir (18-20).

Laboratuvarın kontrolü altında olmamasına rağmen, diğer vücut sıvılarından numune alımı ve bunların işlenmesi özel rehberlerin kullanımını gerektirir (21, 22) . Bu sıvılar arasında serebrospinal, plevral, perikardiyal, peritoneal, sinoviyal ve amniyotik sıvı ve tükürük sayılabilir. Bazı durumlarda eşzamanlı kan örneğinin alınması gerekebilir. Bazen de zamanlanmış numune alınması gerekir. 24 saatlik idrar, sabah ilk idrarı veya OGTT yapılırken belirlenmiş zamanlarda numune alınması buna örnek verilebilir. Kanda olduğu gibi koruyucu maddeler ve antikoagülanların kullanımı hakkında bilgi sahibi olmak önemlidir. 24 saatlik idrar analizinde atılan toplam kreatinin miktarı belirlenerek, numunenin bütünlüğünü "doğrulamak" özellikle önemlidir.

Referans aralıklar, birey içi, bireyler arası varyasyonun ve ölçüm yönteminin analitik varyasyonunu da içerir. Kullanılan yöntemler ayrıntılı olarak tanımlanmalıdır ve performans verileri gösterilmelidir. Bunlar yöntemin kesinliği, doğruluğu, deteksiyon limitleri, linearitesi, geri kazanımı ve

Tablo 2.3: Belirlenecek RI'yi Etkileme Potansiyeli Olan Preanalitik Faktörler

Birey Hazırlama	Numune toplama	Numune işleme
Önceki diyet	Çevre koşulları	Numune transportu
Açlık / tokluk	Zaman	Pıhtılaşma
Farmakolojik ajanlardan yoksunluk	Postür	Serum / plazma ayrılması
İlaç kullanımı	Numune türü	Depolama
Örnek alma zamanı (biyolojik ritimler)	Numune alınan taraf	Analize hazırlık
Fiziksel aktivite	Kan akışı	
Örnek almadan önceki dinlenme süresi	Ekipman	
Stres	Teknik	
	Turnike süresi	

interferans karakteristikleri ve izlenebilirliği olarak sayılabilir. Rehberlere uygun olarak hazırlanmış olan ve yüksek dereceden referans yöntemlerle belirlenen materyallerle doğruluğun ve izlenebilirliğinin gösterilmesi çok önemlidir (22, 23).

Üretilen verilerin güvenilirliği kritiktir. Çünkü yöntemin kesinliği ve doğruluğu o yöntemin klinik performansını etkiler. Bu nedenle, referans aralıklarının belirlenmesinde esas olan, hasta testinde olduğu gibi kalite kontrol materyallerinin aynı formatta rutin kullanımınıdır. Sadece işlem sırasında değil uzun vadede analitik protokolün izlenmesi, sonuçların stabilitesini yani eşdeğerliğini de garanti eder (24). İdeal olarak, birkaç gün boyunca numuneler analiz edilerek veriler toplanır ve çalışmadan çalışmaya değişkenliği temsil eden değerler elde edilir. Ayrıca doğal bileşenlerden kaynaklanan interferanların (hemoliz, ,kter, lipemi) etkisinin değerlendirilmesi de gerekir (25).

2.5. Referans Değerlerin Analizi

Referans aralık, referans grubu oluşturan referans bireylerden elde edilen referans verilerin tanımlanmış bir yüzdeyi kapsadığı öngörülen (genellikle % 95'i) üst ve alt referans limitleri ve bunlar arasında kalan aralık olarak tanımlanır. Çoğu analit için, alt ve üst referans limitler referans verilerin dağılımının 2,5. ve 97,5. persantilleri olarak kabul edilir. Bazı durumlarda, sadece bir referans limit tıbbi öneme sahiptir ve genellikle de bir üst sınır yani 97.5 persentildir.

Referans aralığın sınırlarını oluşturan referans limitlerin güven aralıkları referans popülasyonun rasgele örneklendiği varsayımıyla oluşturulabilir. Her

güven aralığının genişliği, referans bireylerin sayısına ve gözlenen referans değerlerin dağılımına bağlıdır.

Bu limitleri belirlemek için iki genel istatistiksel yöntem vardır. Bunlar parametrik ve parametrik olmayan yöntemlerdir. Nonparametrik metot verileri küçükten büyüğe doğru sıralar ve gözlemlenen referans değerlerinin dağılımı hakkında özel bir varsayım getirmez. Parametrik yöntem ise gözlemlenen değerlerin veya bu değerlerin matematiksel dönüşümlerinin, bir Gauss (yani “normal”) olasılık dağılımı izlediğini varsayar. Birçok analitin referans değerleri, Gauss dağılımı göstermez. Parametrik yöntemin kullanılabilmesi için bu verilerin dönüştürülerek “normalleştirilmesi” gerekir. Bu dönüşümün (örneğin Box-Cox, logaritmik, üssel veya karekök) verilere en uygun yöntemle yapılması gerekir. Dönüştürdükten sonra referans değerlerinin Gauss dağılımına uyup uymadığını test etmek gerekir.

CLSI çalışma grubu, güvenilir referans aralıklarının elde edilmesi sürecindeki en önemli hususun referans aralıkları hesaplama yöntemi değil, uygun referans bireylerin seçilmesi, yeterli sayıda bireyin test edilmesi ve preanalitik hataların önlenmesi olduğunu söyler. Örneklem büyüklüğü kısıtlamaları bir laboratuvarın basit nonparametrik yöntemle referans aralık hesabını engellerse ve laboratuvar daha karmaşık prosedürleri uygulayıp yorumlayabilecek personel ve teknik altyapıya sahipse başka yöntemleri kullanmayı da önerir. Bu yöntemler arasında bootstrap temelli yöntemler, (26–28), geleneksel parametrik yöntemler (26, 28, 29) veya robust yöntemleri (30) sayılabilir.

Bu üç yöntem arasında, “robust yöntemi” sınırlı sayıda gözlemle başa çıkmanın yolunu sunar. Robust yöntemi, parametrik ve nonparametrik yöntemlerin uzlaşması olarak düşünülebilir. Parametrik yöntemin çok fazla gözlem gerektirmemesi ve nonparametrik yöntemde nüfusun Gauss dağılımı göstermek zorunda olmaması gibi avantajları içinde barındırır. Bu yöntem verilerin ortalama ve standart sapması yerine, yer ve yayılım ölçütlerini kullanması haricinde parametrik yöntemle aynı formdadır. Robust yöntemi, mevcut örneklem büyüklüğünün 120’den daha az olduğu, ancak altta yatan nüfusun bir Gauss dağılımı izlediği varsayılmadığı durumlarda kullanılmıştır.

2.5.1 Referans Değer Sayısı

Parametrik olmayan yöntem kullanarak, iki ayrı % P dağılımı arasında ayırım yapmak için en az n referans değer olmalıdır. Burada n ve P arasındaki ilişki aşağıda verilen formüldeki gibidir:

$$n + 1 = \frac{100}{P}$$

Bunun nedeni, parametrik olmayan yöntemin referans verileri yalnızca büyüklük sırasına göre sıralaması ve ölçülen değerlerin küçüklüğüyle yada büyüklüğüyle ilgilenmemesidir. Örneğin, on dokuz gözlemden oluşan ve rastgele seçilen referans gruptan, bu gözlemler küçükten büyüğe doğru sıralandığında yalnızca on dokuz yüzdalık değer hesaplanabilir. En küçük gözlem popülasyonun 5. yüzdesini; en büyük gözlem popülasyonun 95. Yüzdesini temsil eder. Bu nedenle on dokuz gözlem [$19 = (100 / P) - 1$, buradan da $P = 5$], nüfusun nonparametrik olarak tahmin edilen % 5'likleri birbirinden tam olarak ayırabilmek için gereken en küçük örneklem büyüklüğünü temsil eder.

Benzer şekilde, 5. persentilin 2.5 persentilden yada 97.5. persantilin 95. persentilden (yani, $P = 2.5$) ayırımının net olması için, en az 39 ölçüm gereklidir [$39 + 1 = (100 / 2.5)$]. Örneklemdeki en küçük gözlem, popülasyonun 2.5. persentilinin nonparametrik tahmini iken, en büyük gözlem ise 97.5 persentilinin nonparametrik tahminidir. Bununla birlikte, nonparametrik % 95'lik bir referans aralığı elde etmek için, gözlemlenen değerlerin uç noktalarına tamamen güvenmemek gerekir. Bunlar, popülasyonun gerçek yüzdelik değerlerini anormal olarak temsil edebilir veya temsil etmeyebilir. Reed ve arkadaşları (1), bir referans bireyin diğerinden tam olarak ayrılabilmesi için en az 120 referans bireyin gerektiğini iddia eder. Bu sayı alt ve üst referans limitlerin % 90 güven düzeyinde nonparametrik hesaplanmasına olanak sağlar. Aynı referans limitleri % 95 güven aralığında (CI) tahmin etmek için en az 146; % 99 güven aralığında tahmin etmek için en az 210 referans değere ihtiyaç vardır. Linnet (31), veriler çok çarpık dağıldığında bu sayıyı 700'e kadar çıkarmayı önerir. Bununla birlikte, genel uygulamada standart olması için CLSI çalışma grubu önerilen minimum referans değer sayısını 120 olarak kabul etmiştir. Anormal veya uç değerler

silinirse, referans aralığının belirlenmesi için en az 120 referans değer elde edilene kadar ek bireyler seçilmelidir. Ayrıca, farklı alt sınıflar için (örneğin cinsiyete veya yaşa göre) ayrı referans aralıklara ihtiyaç duyulursa, bu aralıkların her biri için de en az 120 referans birey gerekir.

Yenidoğan, pediatrik ve geriatric popülasyonlar için alt sınıf referans değerleri gerektiğinde yeterli sayıda referans bireyin elde edilmesi imkansız değilse bile çok zor olabilir. Her ne kadar yeterli veri elde edilse de veriler hala nonparametrik yöntemle analiz edilmeli ve elde edilen değerlerin sayısına uygun olarak yüzde cinsinden rapor edilmelidir. Alternatif olarak, bu durumda robust yöntemi kullanılabilir. Robust yönteminde asgari sayıda gözlem gerekliliği yoktur. Elbette, referans aralığının hesaplanmasında mümkün olduğu kadar çok gözlemin kullanılması istenir. Daha az gözlemin kullanılmasının dezavantajı, istatistiksel belirsizliği artırması, referans limitleri için daha geniş güven aralığı ve daha az kesinliğe neden olmasıdır. Bu tür belirsizlik, birey sayısı arttıkça azalır.

Özet olarak, referans aralık hesaplama yöntemi, referans popülasyonun dağılım şekli (normal-çarpık) ve referans limitlerdeki tolere edilebilir belirsizlik, gerekli minimum referans değer sayısını etkilemektedir. Harris ve Boyd'a göre referans grup büyüklüğü için genel kriter, bir referans limitin güven aralığının c (% 90) genişliğinin, referans aralığının (% 95) genişliğine (referans ranj) göre küçük olması gerektiğidir (30) . Bu yazarlar % 90 CI genişliğinin referans aralığın genişliğinin 0.2 katından daha az olmasını önermektedir. CI'lar kabul edilemez ölçüde genişse, daha fazla referans veriye ihtiyaç vardır. Referans aralığı hesaplama yönteminin seçimi, CI'ların genişliği üzerinde bir etkiye sahipse de CI'ların genişliğini etkileyen esas faktör mevcut referans değerlerin sayısıdır.

2.5.2 Aykırı Değerlerin Tespiti

Referans limitlerin hesabında önemli ve genel kabul gören varsayım, ölçülen referans değerlerin "homojen" gözlemler topluluğunu temsil ettiğidir. Bu tüm değerlerin aynı olasılık dağılım fonksiyonuyla tanımlanan popülasyondan kaynaklandığı anlamına gelir (nonparametrik yöntemde bu dağılımın biçimi önemli değildir). Bu varsayıma referans değerlerin çoğu uyar. Ancak

bazıları farklı bir popülasyondan kaynaklanabilir. Farklı popülasyondan gelen bu değerler, diğer verilerin dağılım grafiğinin içinde yer alabilir. Bu durumda, bu gözlem sonuçlarının atipik analitik koşulların bir sonucu mu yoksa matematiksel hata kaynaklı mı olup olmadığını bilmedikçe bunları tanımlamak neredeyse imkansızdır.

Bununla birlikte, çoğu zaman, farklı popülasyondan kaynaklanan bu tür referans değerler, referans değerlerin çoğunun oluşturduğu ana yığının dağılım aralığı dışında kalır ve özel dikkatle “aykırı değerler” olarak kolayca tanımlanabilir. Aykırı değerlerin analitik veya preanalitik hata kaynaklı anormal gözlemler olduğu bilinmedikçe onları silmek yerine çalışmaya dahil etmemiz gerekir. Aşırı değerler silinirse nonparametrik referans limit tahmininde baz alınan en az 120 gözlem kuralı değişmez. Oluşan eksik, yeni gözlemlerle tamamlanmalıdır. Böylece, bir referans aralığı çalışması ile bağlantılı olarak toplanan verilerin analizinde ilk adımlardan biri olasılık yoğunluk dağılımının görsel değerlendirilmesidir.

Uç değerlerin tespiti için birçok istatistiksel test mevcuttur (32). Bu tekniklerin çoğu, gözlemlenen referans değerlerin Gauss dağılımına sahip olduğu varsayımına dayanmaktadır. Aykırı değerlerin tespiti için herhangi bir test tek tek aşırı değerlere uygulandığında aşırı değerlerin maskelenme ihtimali her zaman vardır. Dixon (33) tarafından önerilen D/R oranı olarak bilinen test, referans değer tahmini konusunda oldukça iyi bilinir. D , uç değer (büyük veya küçük) ile bir sonraki en büyük veya en küçük değer arasındaki farkın mutlak değeridir. R ise aşırı değerler de dahil olmak üzere tüm referans verilerin açıklığıdır (reference range). Reed ve arkadaşları (1), bu oranı değerlendirirken cut-off değeri olarak $1/3$ 'ü önermektedir. Yani eğer D farkı R açıklığının $1/3$ 'üne eşit veya daha büyükse aykırı değer silinir. 120 civarındaki örnek büyüklükleri için bu kriter oldukça muhafazakârdır. Öyle ki bu yöntemin sildiği bir aykırı değer, kalan yani referans grubun bir parçası olma ihtimali %1'den azdır. Yani bu metodun silinmemesi gereken bir veriyi silme ihtimali %1'den azdır. Bununla birlikte, bir aykırı değer aslında anormal bir gözlem olduğuna dair kanıt olmadığında ve altta yatan dağılımın genellikle tam olarak Gaussian olmadığı göz önüne alındığında özellikle nonparametrik yöntemle referans aralık tayininde D/R oranı için üçte bir

kuralı uygun görünmektedir. Bu nedenle, CLSI çalışma grubu, aykırı değerlerin tespitinde referans değerler üzerinde bu testi ve cut-off değerinin kullanımını desteklemektedir.

Dağılımın aynı tarafında oldukça büyük veya küçük iki veya üç aykırı değer varsa en aşırı aykırı değer R değerini yani referans açıklığı çok büyük yapacaktır. Dolayısıyla D/R kuralına göre, bu oran aşırı derecede küçülür. Böylece en aşırı aykırı değer gözden kaçar ve diğer aşırı değerlerin aykırılıklarını maskeler. Çünkü en aşırı aykırı değeri gözden kaçırınca işlem orada kesilir ve diğer aykırı değerler de yanlışlıkla çalışmaya dahil edilir. Böyle bir durumda, üçte bir kuralı en az aşırı değere de ayrıca uygulanmalıdır. Eğer kural bu aykırı değeri reddederse daha aşırı gözlemler de doğal olarak reddedilmelidir. Kural en az aşırı değeri reddetmezse ya tüm aşırı değerleri kabul etmeli ya da tüm aykırı değerleri görebilen alternatif testler uygulamalıdır. Başka aşırı değer saptama metodu Tukey (1977) tarafından önerilmiştir (34). Bu yöntem değerlerin ortadaki % 50'sini kullanır, böylece dağılımın bir tarafındaki çoklu uç değerlerin maskeleyici etkisini ortadan kaldırır. Bu yöntem, örnek veri kümesinin alt ve üst çeyrekliklerinin (25. ve 75. yüzdeler) hesaplanmasını içerir. Bu çeyreklikleri sırasıyla Q_1 ve Q_3 olarak adlandırsak çeyreklikler arası fark, $Q_3 - Q_1(IQR)$ hesaplanır. Son olarak, "alt ve üst sınırlar" aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$\text{Alt sınır} = Q_1 - 1.5xIQR$$

$$\text{Üst sınır} = Q_3 + 1.5xIQR$$

Sınırların dışındaki herhangi bir veri (yani, alt sınırdan daha küçük veya üst sınırdan daha büyük) aykırı değer olarak kabul edilir ve referans aralık hesabına dahil edilmez. Bu yöntem Gauss dağılımına ait verilerin teoride yaklaşık % 0.7'sini dışlar. Referans değerler Gauss dağılmadığında, dönüştürülmeleri gerekir. Uygun bir dönüşüm grubu altta formülünü verdiğimiz Box ve Cox'un üssel ve doğal logaritmik dönüşümü içeren yöntemidir (35).

$$y = \begin{cases} \frac{x^\lambda - 1}{\lambda}, \lambda \neq 0 \\ \ln(x + c), \lambda = 0 \end{cases}$$

Bu formülde y , dönüştürülmüş değer, x orijinal değerdir ve \ln doğal logaritmadır. λ ve c parametreleri optimizasyon yöntemi olan maksimum olasılık teknikleri kullanılarak hesaplanan dönüşüm parametreleridir. Box-Cox dönüşümü Tukey aykırı değer tespit tekniği ile birlikte de kullanılabilir (30). Herhangi bir aykırı değer reddedildiğinde, kalan verilerin ek aykırı değer(ler) için test edilmesi uygundur. Aynı yöntemler, referans aralıkları oluşturmak için en sonunda hangi yöntemin kullanıldığına bakılmaksızın uygulanmalıdır.

2.5.3 Referans Değerlerin Gruplandırılması

Tanımlanan alt sınıflar için ayrı referans aralıklarının gerekebileceği, numunelerin toplanması ve analiz edilmesinden önce hesaba katılmalıdır. Kadınlar ve erkekler için veya farklı yaş grupları için ayrı referans aralıklarının kullanımı klinik olarak faydalı ve kullanışlı değilse ve/veya bu ayırım fizyolojik olarak temellendirilemiyorsa gereksiz olabilir. Bu sorulara cevap vermek için gerekli olan bilgiler özellikle yeni bir analit için mevcut olmayabilir. Ancak, bu şartlar yerine getirildiyse, her cinsiyet, yaş veya başka bir alt sınıf için en az 120 bireyin örneklenmesi gerekir. İki alt sınıfa ait ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu sürece her bir alt sınıfın kendi referans aralığının var olduğu kabul edilebilir. Bununla birlikte, klinik olarak önemsiz olsa da gözlemlenen fark, numune sayısı çok fazla olduğunda istatistiksel olarak anlamlı hale gelebilir.

Sinton ve arkadaşları, alt sınıfların ortalamaları arasındaki fark, elde edilen % 95 referans aralığın % 25' inden büyük bulunursa ayrı referans aralıklarının kullanılmasını önermiştir (36). Harris ve Boyd (37), alt sınıf ortalamaları arasındaki daha küçük farkların da, bölümlenme olmadan hesaplanan referans limitlerinin dışında her iki tarafta beklenen % 2,5'lik simetrisinin, çok farklı olduğu durumlara yol açabileceğini göstermiştir. Bir alt sınıftaki bireylerin yüzdesi, grupta 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 ciddi şekilde zarar verebilir. Bu araştırmacılar, aynı problemlerin ortalamalar aynı olduğunda bile ortaya çıkabileceğini göstermiştir. 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 referans aralıklarının olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Her bir analit hakkında fizyolojik bilgiler ve klinik uygulamada ayrı alt sınıf referans aralıklarının potansiyel faydası o zaman değerlendirilmelidir. Böyle bir değerlendirme, alt sınıf ayrımlarının var olabileceğini ve klinik öneme sahip olabileceğini gösteriyorsa, her bir alt sınıfa en az 120 referans birey seçilmelidir. Alt sınıflara göre referans aralıklarının bölümlere ayrılıp ayrılmayacağına karar vermek için, Harris ve Boyd (37) alt sınıf ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel anlamlılığını z testiyle hesaplamayı önermiştir.

$$z = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{(s_1^2)}{n_1} + \frac{(s_2^2)}{n_2}}}$$

$$z^* = 3 \cdot \sqrt{\frac{n_{ortalama}}{120}} = 3 \cdot \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{240}}$$

\bar{x}_1 ve \bar{x}_2 alt grupların ortalamaları; s_1^2 ve s_2^2 alt grupların varyansları; n_1 ve n_2 alt gruplardaki referans değerlerin sayıları; $n_{ortalama}$, n_1 ve n_2 değerlerinin ortalamasıdır. Eğer orijinal veriler çok çarpıksa ve basit bir dönüşüm Gaussian formuna çok daha yakın dağılım veren değerler üretirse z testinin dönüştürülmüş yeni veri setine uygulanması tercih edilir. Hesaplanan z , z^* değerini aşarsa bölümlenme önerilir. Buna ek olarak, eğer standart sapma oranı (s_2/s_1) 1,5'i aşarsa bölümlenme önerilir.

Hesaplama 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 yansıtmayabilir. 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). Lahti, İskandinav Referans Aralığı Projesinden gelen verileri kullanarak çeşitli yöntemleri karşılaştırmıştır (39). İki'den fazla alt sınıf kıyaslandığında, konu daha da karmaşık hale gelir. Lahti (27, 38) hem Harris / Boyd yaklaşımının (40) hem de alternatif yaklaşımın ikiden fazla alt sınıfı içeren bir bölümlenme problemini çözmede yetersiz olduğuna dair kanıtlar sunmaktadır.

2.6. Referans Aralıkların Transferi

Üretilmiş bir referans aralık mevcutsa, o değerlerin tekrardan üretilmesini istemek gerçekçi olmaz. Bunun yerine bu referans aralığın transfer edilmesi ve sonra validasyonu tavsiye edilir. Transfer sadece analitik sistemlerin ve popülasyonun karşılaştırılabilir olduğu gösterildikten sonra yapılabilir.

Laboratuvar bir analit için kendi popülasyonunda kullandığı metot ve cihazla de novo referans aralık üretmiş olup sonrasında metodunu veya cihazını değiştirmeye karar verirse yeni baştan bir referans aralık çalışması yapması gerekmez. Metot karşılaştırma çalışması yaparak yöntemlerin karşılaştırılabilir olduğunu göstermesi yeterlidir. Ayrıca benzer kesinlik ve bilinen interferanslarının varlığı önemlidir. Benzer veya karşılaştırılabilir kalibratör veya standart kullanımı da önemlidir. Laboratuvar metod karşılaştırma çalışması sonucunda eski referans aralıklarını modifiye edip güncelleyebilir.

Bir laboratuvar başka bir laboratuvarın veya üretici firmanın ürettiği referans aralıkları, aynı veya karşılaştırılabilir analitik sistemin bulunduğu kendi laboratuvarına transfer etmek isterse tek problem referans popülasyonların karşılaştırılabilirliğidir. Bu klinik laboratuvarlarda en sık kullanılan transfer tipidir. Özellikle 3 yaklaşım referans aralığın transfer edilebilirliğini değerlendirmede kullanılabilir:

1. Subjektif değerlendirme,
2. En az 20 referans bireyle yapılacak bir çalışma,
3. 120 kişiden az referans bireyle yapılacak çalışma.

2.6.1 Subjektif Değerlendirme

Transferin kabul edilebilirliği, orijinal uygun referans değer çalışmasının ilgili faktörlerinin dikkatli bir şekilde incelenmesiyle daha ayrıntılı olarak değerlendirilebilir. Bunu yapabilmek için, referans nüfusun tüm demografik değişkenleri ve coğrafi konumları yeterli bir şekilde tanımlanmalı ve incelenmek üzere hazır bulunmalıdır. Ayrıca, preanalitik ve analitik prosedür detayları, analitik performans, eksiksiz referans değerleri seti ve referans aralığın belirlenme yöntemi belirtilmelidir. Laboratuvarın kararına göre, bu faktörler, alıcı laboratuvarın çalışması ve popülasyonu ile tutarlıysa, referans aralıklar bu değerlendirmelerin bir dokümantasyonu dışında herhangi bir laboratuvar doğrulama çalışması yapılmaksızın aktarılabilir.

2.6.2 Az Sayıda Referans Birey Kullanarak Doğrulama

Kullanıcı veya alıcı laboratuvar, üretici veya verici laboratuvar tarafından rapor edilen bir referans aralığın transferini doğrulamak isteyebilir veya bu gerekli olabilir. Transferin kabul edilebilirliği, alıcı laboratuvarın kendi popülasyonundan en az 20 referans bireyin incelenmesi ve bu referans değerlerin orijinal çalışmayla karşılaştırılması yoluyla yapılır. Bununla birlikte alıcı laboratuvarın çalışması orijinal referans değer çalışmasının analitik ve preanalitik faktörleri ile tutarlı olmalıdır. Ayrıca, referans değerlerde farklılıklara neden olduğu bilinen iki popülasyonun coğrafi konumlarında veya demografik değişkenlerinde önemli farklılıklar varsa, referans aralığının transferi için çalışma yapmanın da yeri yoktur.

Transferin validasyonu için referans bireyler seçilir. Bu bireyler, alıcı laboratuvarın sağlıklı nüfusunu temsil etmeli, dışlama ve gruplama kriterlerini karşılamalıdır. En az 20 numuneyi uygun şekilde test ettikten sonra, test sonuçları istatistiksel olarak incelenmelidir. Bu

inceleme test sonuçlarının homojen bir grubu temsil ettiğinden ve aykırı bir değer bulunmadığından emin olmak için yapılır. Muhtemel aykırı değerleri test etmek için, daha önce belirtilen Reed / Dixon veya Tukey yöntemleri uygulanmalıdır. Bu tekniklerle tanımlanan gerçek aykırılıklar ortadan kaldırılmalı ve bunların yerine yeni örnekler alınmalıdır.

Test edilen 20 denekten en fazla iki değer (veya test sonuçlarının en fazla % 10'unun) üreticinin veya donör laboratuvarın rapor ettiği % 95'lik referans aralığının içindeyse referans aralıkları alıcı laboratuvara transfer edilebilir. Üç veya dört değer bu aralığın dışındaysa 20 referans numune daha elde edilmelidir. Bu yeni verilerin iki veya daha azı, üreticinin veya verici laboratuvarın rapor ettiği limitlerinin dışında değilse alıcı laboratuvarda kullanımı uygundur. İki'den fazla veri aralığın dışındaysa kullanılan analitik prosedürler gözden geçirilmeli, popülasyonlar arasındaki biyolojik farklılıklar dikkate alınmalıdır. Ayrıca alıcı laboratuvar, çalışma kılavuzlarına göre kendi referans aralığını geliştirip geliştirmeyeceğini değerlendirmelidir.

Bu yaklaşım, istatistiksel olarak binom dağılımı temeline dayanır. Binom dağılımına göre ikiden fazla test sonucunun bu sınırların dışında olması olasılığı (gerçekte kullanıcı nüfusunun % 95'i bu sınırlar dahilinde olduğunda) sadece % 7,5'tir. Kural bütünüyle değerlendirildiğinde bu yaklaşımla yanlış reddetme olasılığı % 1'in altına düşer. Ayrıca referans aralığı doğrulamak için binom testi kullanıldığında, önerilen referans aralığının hedef popülasyon için çok geniş olabileceği olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır. Özellikle 20 referans değerden hiçbiri sınırların dışında olmadığında bu düşünülebilir. Bu durum, hedef nüfus orjinal nüfustan daha homojen olduğunda veya yöntemin kendisi orijinal yöntemden daha hassassa ortaya çıkabilir. Bundan dolayı bir validasyon çalışması yapmadan önce yöntemlerin ve popülasyonların karşılaştırılabilirliğinin sağlanması önemlidir.

2.6.3 Çok Sayıda Referans Birey Kullanarak Doğrulama

Laboratuvarlar, klinik yorumu kritik olan analitler için daha kapsamlı bir referans aralığı transfer çalışması yürütmeyi seçebilir. Bu gibi durumlarda, transferin kabul edilebilirliği, alıcı laboratuvarın kendi popülasyonundan daha büyük referans grubu (örneğin $N = 50$) incelenerek ve bu referans değerleri orijinal çalışmayla karşılaştırarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte alıcı laboratuvarın çalışması, orijinal referans değer çalışmasının analitik ve preanalitik faktörleri ile tutarlı olmalıdır. Bu türden daha büyük çalışmalar, orijinal referans değer çalışması ile alıcı laboratuvar popülasyonu arasındaki farkları ortaya çıkarmak için istatistiksel olarak daha güçlüdür. Referans değerlerdeki farklılıklara neden olduğu bilinen, popülasyonlar arasındaki önemli coğrafi konum veya demografik farklılıklar varsa referans aralık transferi için bir neden yoktur.

Bu tür çalışmalar için referans bireyler seçilir. Verilerin uygun bir şekilde incelenmesi ve aykırı değerlerin hariç tutulmasından sonra, görece küçük referans veriler kümesi, daha büyük orijinal referans değerler kümesi ile karşılaştırılır. İki referans grubu seti, alt sınıfların referans popülasyonda var olup olmadığını belirlemek için önceki bölümde tarif edilen işleme tabi tutulur (bkz. Bölüm 2.5.3). Bu değerlendirme sonucunda verici referans değerler ile alıcı laboratuvarın ana referans veri seti arasında anlamlı bir fark görülmezse referans aralık transfer edilebilir. Ancak, fark bölümlene protokolüne göre anlamlı ise, daha fazla karşılaştırma veya tam ölçekli bir referans değer çalışması yapılmalıdır.

Yine, robust istatistiksel tekniklerin varlığı başka bir alternatif sunmaktadır. Robust tekniği bölüm 2.7.2'de önerildiği gibi, 50 referans bireylik örnek grubuyla, uygun güven aralığına sahip referans aralıklarının elde edilmesine imkan tanır. Bununla birlikte, her laboratuvarın bu referans aralıkların güven aralıklarının klinik gereksinimleri karşılamak için yeterince dar olup olmadığına karar vermesi gerekir

2.7. Referans aralığı hesaplama

Referans aralıklarının hesaplanmasında kullanılacak yöntemin seçimi örneklem sayısı ve verilerin dağılımına göre gerçekleştirilir.

2.7.1 Genel Hesaplama

Bu yöntem ancak ve ancak verilerin normal dağıldığı veya normal dağılıma dönüştürülebilmesinin mümkün olduğu durumlarda kullanılabilir. Bu yöntemde referans limit değerleri için basitçe ortalama $\pm 1,96 \times$ standart sapma hesaplaması yapılır. IFCC, bu yöntem yerine dağılıma bakılmaksızın Robust veya nonparametrik metodun kullanılmasını tavsiye etmektedir (29) .

2.7.2 Robust Metodu

Bu yöntem de genel hesaplama yöntemindeki gibi verilerin normal dağıldığı durumda kullanılır, ancak dağılımı oldukça kuyruklanmış negatif ve pozitif yönlü asimetric dağılımlarda da işlevsel olduğu öne sürülmektedir (41) . Bu yöntem, simetrik bir dağılımın orta değerinin kestirimi üzerine kuruludur ve verinin konumu ve dağılımının kestirimi için tekrarlamalı aşamalar içerir. Bu yöntemle alt ve üst referans limitlerin % 90 güven aralığını hesaplamak mümkün değildir (42) . Örneklem sayısının 40'tan fazla, 120'den az olması durumunda tercih edilir.

120'den az referans birey mevcut olduğunda, parametrik olmayan yöntemin kullanımı sorunlu hale gelir. Ancak robust yöntemi, potansiyel bir alternatif sunar. Robust yöntemiyle referans aralığı, başlangıç konumunun (merkez) medyanla ve başlangıç ölçeğinin (yayılma) medyanın mutlak sapması (MAD) ile hesaplandığı yinelemeli bir süreçle hesaplanır. Yöntemde orjinal verilerin sonuca etkisi veri merkezden uzaklaştıkça zayıflar. Merkezin güncellenmiş tahminini temsil eden yeni değerler yinelenen ardışık değerler arasındaki fark ihmal edilecek seviyeye gelinceye kadar hesaplanır. Her ne kadar robust yöntemi daha az sayıda gözlem ile kullanılabilirse de, CLSI

çalışma grubu çok gerekmedikçe bunun yapılmasını tavsiye etmez. Çünkü bu durumda CI'lerin çok geniş olması muhtemeldir.

2.7.3 Bootstrap Metodu

Bu yöntemin temel prensibi bir bilgisayar aracılığıyla, orijinal verilerin içinden rastgele seçilen verilerin tekrarlayan seferlerde yeniden seçilmesidir. Her değer eşit seçilebilme olasılığına sahiptir. Belirli sayıda tekrarın ardından tekrar tekrar seçilen değerlerin ortalaması alınarak hesaplama yapılır (27). Yöntemin en büyük avantajı nonparametrik dağılımda düşük sayıda örnek ile referans limitlerin % 90 güven düzeyinde hesaplanmasıdır.

2.7.4 Nonparametrik Persentil Metodu

Hem IFCC hem de CLSI tarafından tavsiye edilen metottur. Bu yöntemde dağılımın her %1'lik kısmına denk gelen değer 1 persentili ifade eder. 2,5. ve 97,5. persentiller %95'lik referans aralığın sınırlarını ifade eden, alt ve üst referans limitlerin oluşturulmasında kullanılır. Veriler her persentilde sıklıklarına göre düzenlenir ve kademeler (rank) oluşturulur. Kademeler, bu limit değerlerin yer aldığı %90 güven aralıklarının oluşturulmasında kullanılır. Güven aralıklarının oluşturulabilmesi için veri sayısı en az 120 olmalıdır (1). Bu yöntem, verilerin belirli dağılım şekli içerdiği varsayımına dayanmaz. Bundan dolayı veriler asimetrik dağılım göstermiş olsa bile persentiller hesaplanabilir ve dağılımdaki aşırı uç değerler sonucu etkilemez. N 'in, % 95 referans aralığının hesaplandığı bir referans verisi kümesindeki veri sayısını temsil ettiğini varsayalım. Verileri önce büyüklük sırasına göre sıralarız (küçükten büyüğe). Herhangi bir verinin sıra numarası r olsun (en küçüğü $r = 1$, en büyüğü, $r = n$). Alt referans limiti r_1 (2.5. persentil); üst referans limiti r_2 (97.5 persentil) sıra numarasına denk gelen gözlem verisi kabul edelim. Bu gözlemlerin sıra numarası aşağıdaki gibi bulunur:

$$r_1 = 0,025.(n + 1)$$

$$r_2 = 0,975.(n + 1)$$

$n = 500$ için, r_1 ve r_2 değerleri sırasıyla 12,525 ve 488,475'tir. Bu değerler genellikle tamsayı olmadığından, sınırlar genellikle r_1 ve r_2 'nin her iki tarafındaki sıralara karşılık gelen veriler arasında enterpolasyon yapılarak hesaplanır. R_1 ve r_2 değerleri, tam sayıya çok yakınsa bu sayılara yuvarlanırlar. Bu referans kişilerin temsil ettiği popülasyonun üst ve alt referans limitlerini tahmin etmek için bu sıra değerlerini kullanarak, % 95'lik referans aralıklar elde edilir.



YÖNTEM

3.1. Örneklerin toplanması, serum eldesi, kullanılan cihazlar ve programlar

Kan örnekleri laboratuvar için oluşturulmuş standartlara göre çocukların yaş ve kilolarına uygun miktarlarda serum ayırıcı tüplere alınmıştır. Uygun şartlarda laboratuvara ulaştırılan kan örnekleri, 20-30 dakika bekletildikten sonra 1200g'de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar pıhtı ve hücrelerden ayrılarak otoanalizöre yüklendi.

TSH ve sT4 hormon analizleri Abbott Architect İ2000 (Abbott ARCHITECT, Wiesbaden, Almanya) otoanalizöründe yapılmıştır. Bu çalışmaya TSH ve ST4 olmak üzere 2 test dâhil edilmiştir. Ölçümler Kemilüminesan Mikropartikül İmmünolojik metotla (CMIA) yapılmıştır. Cihazda Abbott ARCHITECT firmasından temin edilen orijinal kitler kullanılmıştır. Kitlerin kalibrasyon ve iç kalite kontrolleri yine aynı firma tarafından sağlanan kalibratör ve kontrol serumları ile düzenli olarak yapılmıştır. Dış kalite kontrol ise Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği Eksternal Kalite Kontrol programı tarafından sağlanan kontrol serumları kullanılarak aylık olarak gerçekleştirildi.

Elde edilen sonuçlar Laboratuvar bilgi sistemi'ne (LIS) aktarılmıştır. LIS'teki veriler (VENTURA Yazılım Ltd. Şti., Ankara, Türkiye), Microsoft Office Excel 2016 dosyaları şeklinde indirilip SigmaPlot 10.0 ve Reference Limit Estimator (RLE49) programlarında ileri analizleri yaptık.

3.2. Çalışma Grubu

Sürekli referans aralıklarını belirleyeceğimiz analitleri klinik ihtiyaca ve metodolojik gerekliliklere göre seçtik. LIS'de yer alan çok sayıda verinin kullandığımız indirekt metodun uygulanmasına imkan tanıyacağını farkettilik. Bunun üzerine doğumdan yetişkinliğe kadarki süreçte yüksek çözünürlüklü sürekli referans aralıklarını belirlememizin klinik karar sürecinde bize fayda sağlayacağı analitleri düşündük. Sonunda TSH ve sT4'de karar kıldık. 18 yaş altı tüm hastalara ait TSH ve sT4 ölçüm sonuçlarını laboratuvar veritabanından aldık.

İstanbul Anadolu Kuzey Kamu Hastaneleri Merkez Laboratuvarında 01.05.2013 ile 31.12.2017 tarihleri arasında yapılan TSH (116.039 erkek ve 146.122 kadın, toplam 262.161) ve sT4 (110.999 erkek ve 133.227 kadın, toplam 244.226) analizlerinin sonucunu kullandık. Laboratuvar bilgi sisteminden her teste ait verileri retrospektif olarak ayrı ayrı Microsoft Office Excel dosyası olarak indirdik. İndirdiğimiz verileri aşağıdaki işlemlere tabi tuttuk:

1. Yazımı hatalı ve analitik aralığın dışındaki verilerin ayıklanması,
2. Hemoliz, ikter ve lipemik numune kaynaklı verilerin ayıklanması,
3. Tekrar test istemi yapılan hastaların ilk sonucundan sonraki verilerinin ayıklanması.

Test tekrarı yapılmış çocukların, ilk başvuruda alınmış test sonucu haricindeki test sonuçlarını çalışma dışı bıraktık. İlk test sonuçlarını ise alım zamanındaki yaşlarına göre ait oldukları yaş grubuna dahil ettik. Bu işlemler neticesinde 177.383 TSH (80.827 erkek; 96.556 kadın) ve 166.939 (77.666 erkek; 89.273 kadın) sT4 verisi ana çalışma grubumuzu oluşturmuştur. Etnisiteye göre gruplandırma yapmaya gerek duymadık.

Çalışma periyodunca her bir analitin stabilitesini , aylık medyan değerlerinin stabil olmasıyla gösterdik (şekil 4.1, 4.2). Böylece zamansal kaymaların hesaplanan referans aralıklarının değişimine etkisini dışladık.

Patolojik örneklerin hesaplanan referans aralıklara olası etkilerini sınamak ve kullandığımız referans aralık hesaplama yönteminin güvenilirliğini araştırmak için iki farklı veri seti oluşturduk. İlk veri seti tüm veri kümesini içerirken ikinci veri seti yoğun bakım, onkoloji, endokrinoloji ve enfeksiyon hastalıkları ünitelerinden alınan örnek verilerini içermiyordu. Bu dışlama sonucunda ikinci veri seti TSH için 125.922 (60.566 erkek; 65.356 kadın) ve sT4 için 146.670 (68.791 erkek; 77.879 kadın) veri içeriyordu.

3.3. Sürekli Referans Aralık Oluşturma

Sürekli referans aralıkları daha önceden kullanılan ve valide edilmiş bir indirekt metotla hesapladık (43, 44). Bu metot sağlıklı ve patolojik verilerin karışımından oluşan veri setinin parametrik dağılım gösterdiği varsayımına dayanır. Sağlıklı veriler istatistiksel olarak modellenenirken, patolojik örneklerin rastgele dağıldığı varsayılır. Yeterince büyük bir veri setine uygulandığında, bu sağlıklı ve patolojik veri grupları istatistiksel bir algoritma ile güvenilir bir şekilde ayırt edilebilir. Bu metot patolojik verileri ayırt ettikten sonra sağlıklı örneklerin altta yatan parametrik dağılımını hesaplar. Algoritma, her analit için 3 temel adımdan oluşur:

1. Veriler yaş gruplarına ayrılır,
2. Her bir grup için ayrı referans aralıkları hesaplanır,
3. Hesaplanan referans limitler birleştirilerek sürekli referans aralıklarının oluşturulur.

3.3.1 Verileri Yaş Gruplarına Ayırma

TSH ve sT4 verilerini sırasıyla 1000 ve 3000 veri içeren ardışık yaş gruplarına böldük. Bu sayıları seçmemizin nedeni yaptığımız ön çalışmalarda bu sayıların elde ettiğimiz referans limitlerin stabilitesi, doğruluğu ve çözünürlüğü için ideal sayılar olduğunu görmemizdir. Bu gruplara ayırma işlemi sonucunda TSH ve sT4 için sırasıyla 59 ve 167 yaş grubu oluştu. Yoğun bakım, onkoloji, enfeksiyon hastalıkları ve endokrinoloji ünitelerinden gelen örneklerin verilerini dışladığımızda

TSH ve sT4 için sırasıyla 45 - 70 yaş grubu oluşturduk (tablo 3.2). Hastane popülasyonumuzun yaş dağılımına ve belirli bir yaş aralığındaki hasta sayısına bağlı olarak oluşturduğumuz bu zaman dilimleri farklı genişlikteydi. Örneğin TSH için ilk 3000 kişilik yaş grubu 0-8 günlük yenidoğan verilerinden oluşurken beşinci 3000 kişilik grup 64-149 günlük pediatrik verilerden oluşuyordu.

Tablo 3.1: Örnek sayıları ve oluşturulan grup sayısı

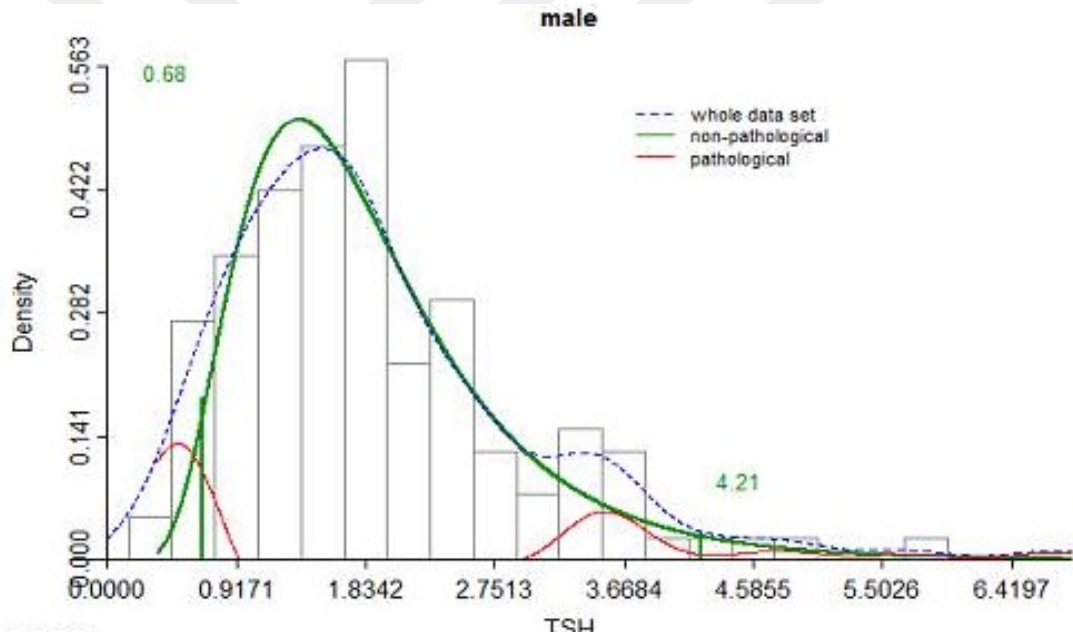
	Ayıklama Sonrası				Bazı Kliniklerin Dışlanması Sonrası			
	Grup Sayısı	Toplam	Erkek	Kadın	Grup Sayısı	Toplam	Erkek	Kadın
TSH	59	177,383	80,827	96,556	45	125,922	60,566	65,356
sT4	167	166,939	77,666	89,273	70	146,67	68,791	77,879

3.3.2 Ayır referans aralıklarının üretilmesi

Her bir yaş grubunun verilerinin analizi için Arzideh ve ark. tarafından geliştirilen algoritmayı temel aldık (43, 44). Bu algoritma verilerin dağılımının hesaplanması için düzleştirilmiş çekirdek yoğunluk fonksiyonu kullanır. Bu dağılımın Box-Cox transformasyonunu yapar. Veriler Box-Cox transformasyona uğradıktan sonra en uygun kırılma noktaları belirlenir ve uçlardan kırılır (43, 45-48). Veri setinin iki taraftaki kırılma noktaları ve aralarında kalan “merkezi” kısmının sağlıklı popülasyonun ana kısmını temsil ettiği varsayılır. Bu merkezi kısmın normal dağılımı kullanılarak hastaliksız alt grup modellenir. Elde edilen veri kümesinin hastaliksız ve bu hastaliksız gruptan daha düşük ve daha yüksek değerlere sahip patolojik iki alt grup olmak üzere toplamda üç gruptan oluştuğu varsayılmaktadır. Merkez yani sağlıklı olduğu varsayılan kısmın Box-Cox transformasyonu ile Gauss dağılımı bulunur ve referans limitleri elde etmek için 2,5. ve 97,5. persentilleri hesaplanır. Box-Cox transformasyonu çarpık dağılımları simetrik dağılımlara dönüştürmek için kullanılır ve aşağıdaki gibi tanımlanır:

$$y = \begin{cases} \frac{x^\lambda - 1}{\lambda}, \lambda \neq 0 \\ \ln(x + c), \lambda = 0 \end{cases}$$

Hastaliksız olduğu varsayılan merkezi gruptan daha düşük ve daha yüksek değerlere sahip patolojik iki alt grubun parametrik olmayan fonksiyonlar olduğu kabul edilir. Box-Cox transformasyonunda ve kırılmış normal dağılımda kullanılacak parametreler bir optimizasyon yöntemiyle (maksimum olabilirlik metodu) hesaplanmıştır. Hesaplanan bu parametreler uygulandığında hastalıklı olmayan verilerin parametrik dağılım grafiği elde edilir. Bu grafikten RI elde etmek için dağılımın 2,5. ve 97,5. yüzdeleri yani referans limitleri hesaplanır. Bu adım her bir analit (TSH ve sT4) ve her bir yaş grubu için ayrı ayrı gerçekleştirilir. Elde ettiğimiz indirekt RI'lara, örnek seçiminin etkisini görmek için de bazı bölümlerin dışlayarak oluşturduğumuz yeni veri setini de aynı işlemlere tabi tuttuk.

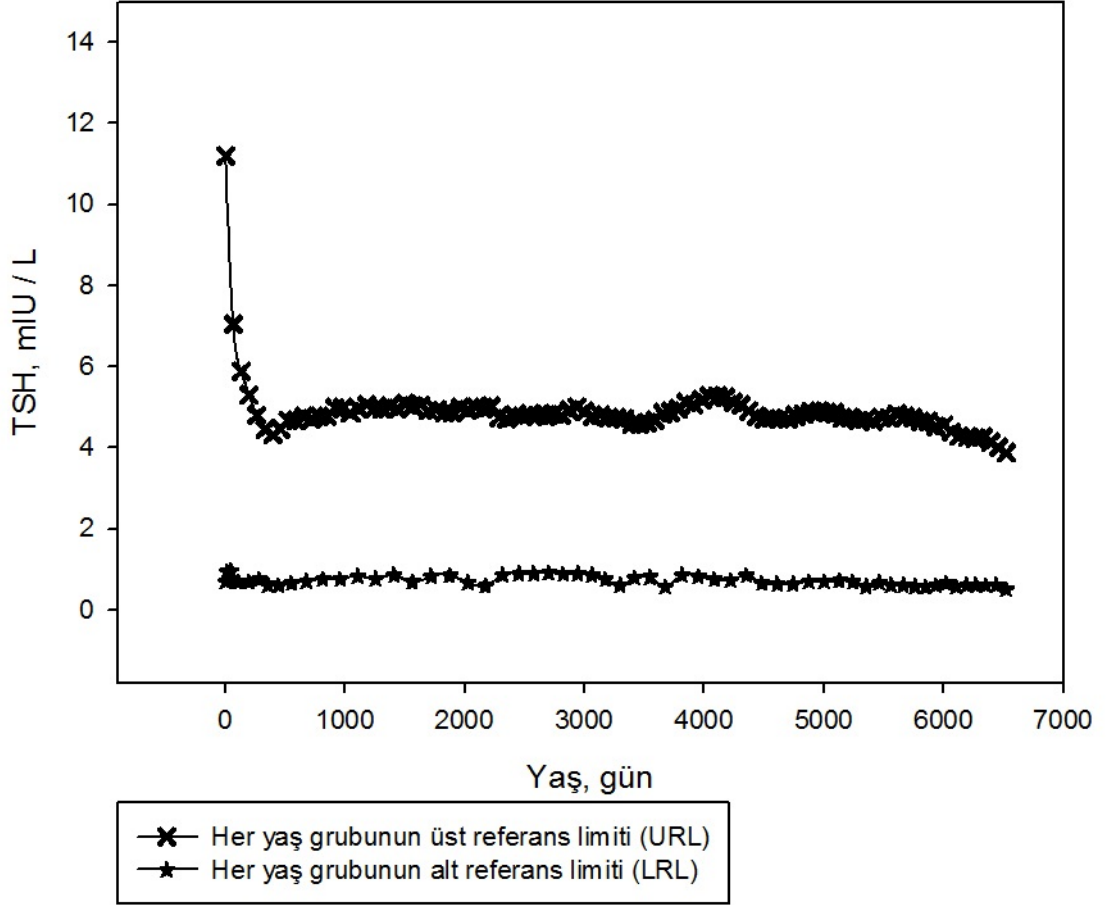


Şekil 3.1: Referans aralık hesaplama algoritması. Bu grafikte yaş aralığı 33 gün ve 64 gün olan grubun TSH referans aralığının temel hesaplama mantığı gösterilmektedir. Kesikli mavi çizgi yaş grubundaki tüm verileri içermektedir. Düz yeşil çizgi ise tüm verilerin uçlardan kırılması sonucu kalan verilerin merkezi yoğunluk dağılımını gösterir. Bu dağılım en uygun Box-Cox dağılımıdır. Bu dağılımın 2,5. ve 97,5. persentilleri (dik yeşil çizgiler) hesaplanır.

3.3.3 Sürekli referans aralıklarına dönüştürme

Her analitin her yaş grubu için hesapladığımız 2,5. persantillerini ve 97,5. persantillerini şekil 3.2'deki gibi birleştirerek sürekli ve yüksek çözünürlüklü hale getirdik. Birleştirdiğimiz referans limitleri sürekli

referans aralığa dönüştürmek için sigmaPlot 10.0 yazılımını kullandık. Özellikle yenidoğan döneminin farklı dinamiklerini ve değişimleri daha net görebilmek için tüm popülasyona ek olarak, 1 yaş ve daha küçük pediatrik grupların sürekli referans aralıklarını da ayrıca grafikleştirdik.



Şekil 3.2: Sürekli referans aralık oluşturma

3.4. Referans Aralıklarının Karşılaştırılması

Hesapladığımız referans aralıkları karşılaştırmak için dünyada en çok bilinen ve referans kabul edilen pediatrik popülasyonda referans aralık çalışmalarından olan CALIPER (Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Intervals) (49) ve KiGGS (German Health Interview and Examination Survey For Children and Adolescents) (50) çalışma verilerini kullandık. Bu çalışmalarda referans aralıklar direkt metotla belirlenmiştir.

CALIPER çalışmasında referans aralıklar TSH ve sT4 için cinsiyet ayrımı yapılmaksızın belirlenmiştir. Bu çalışmada analitler bizim de kullandığımız cihaz ve yöntem olan Abbott ARCHITECT i2000 analizöründe kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkikiyle (CMIA) ölçülmüştür. TSH referans aralıkları yalnızca 4 gün-6 ay, 6 ay-14 yaş ve 14-18 yaş aralıklarına ayrılarak toplam 1.038 referans bireyde belirlenmiştir. 4 gün - 6 ay grubu tüm çalışma grubunun % 13'ünü (139 birey), 6 ay - 14 yaş grubu % 62'sini (640 birey) ve 14 yaş-18 yaş grubu ise % 25'ini (259 birey) oluşturmuştur. ST4 referans aralıkları ise 5-15 gün, 15 gün-1 ay, 1 ay-1 yaş ve 1-18 yaş aralıklarına ayrılarak toplam 1.343 referans bireyde belirlenmiştir. 5-15 gün yaş grubu tüm çalışma grubunun % 5'ini (66 birey), 15 gün-1 ay yaş grubu % 4'ünü (55 birey), 1 ay-1 yaş grubu % 20'sini (270 birey) ve 1-18 yaş grubu ise % 71'ini (952 birey) oluşturmuştur.

KiGGS çalışmasında referans aralıklar cinsiyetler için ayrı ayrı belirlenmiştir. TSH için 6.723 erkek, 6.366 kadın; sT4 için 6.723 erkek, 6.365 kadın çalışmaya dahil edilmiştir. Analitler Roche Cobas E2010 analizöründe elektrokemilüminesans immünolojik tetkikiyle (ECLIA) ölçülmüştür. TSH ve sT4 referans aralıkları 29 yaş grubu için belirlenmiştir. Bu yaş grubuna ayırım 3 yaş-18 yaş aralığındaki bireyleri 6 aylık aralıklarlarına ayırarak yapılmıştır. 3 yaşından küçük çocuklar için referans aralık belirlenmemiştir.

Hesapladığımız referans aralıklarla CALIPER ve KiGGS referans aralıkları arasındaki farkı istatistiksel ve klinik olarak ayrı ayrı değerlendirdik. Hesapladığımız referans aralıklarla KiGGS ve CALIPER'in yayınladığı referans aralıklar arasındaki istatistiksel farkı değerlendirmek için referans değişim değerini (RCV) kullandık. Alt ve üst limitler arasındaki fark RCV'den küçük çıkarsa bu fark istatistiksel olarak anlamsızdır. Klinik farklılığı ise referans aralıkların verileri patolojik ve sağlıklı olarak sınıflandırma yüzdelerine göre inceledik.

RCV'yi Fraser ve arkadaşlarının aşağıdaki formülde tarif ettiği gibi hesapladık (51):

$$RCV = Z^* \cdot \sqrt{2(CV_a^2 + CV_i^2)}$$

Z^* anlamlılık için seçilen olasılığı (Z , 1.96 % 95 anlamlılığa karşılık gelir), CV_a analitik varyasyonu, CV_i bireyiçi biyolojik varyasyonu temsil eder. CV_a ve CV_i değerlerini Ricos ve arkadaşlarının yayınladığı verilerden aldık (52) .

Sürekli referans aralıklarımızı, KiGGS ve CALIPER çalışmalarından elde edilen referans aralıklarıyla karşılaştırdık ve bunu grafiklerle gösterdik. Analizler KiGGS çalışmasında Hitachi 917 (Roche Diagnostics, Cobas); CALIPER çalışmasında i2000 (Abbott Architect) otoanalizörlerinde gerçekleştirilmiştir. Kullanılan cihaz ve yöntemleri tablo 3.2'de özetledik.

Sürekli referans aralıklarımızın, incelenen örneklerin sağlıklı veya patolojik olarak sınıflandırılması üzerine etkisini tablo 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7'de özetledik.

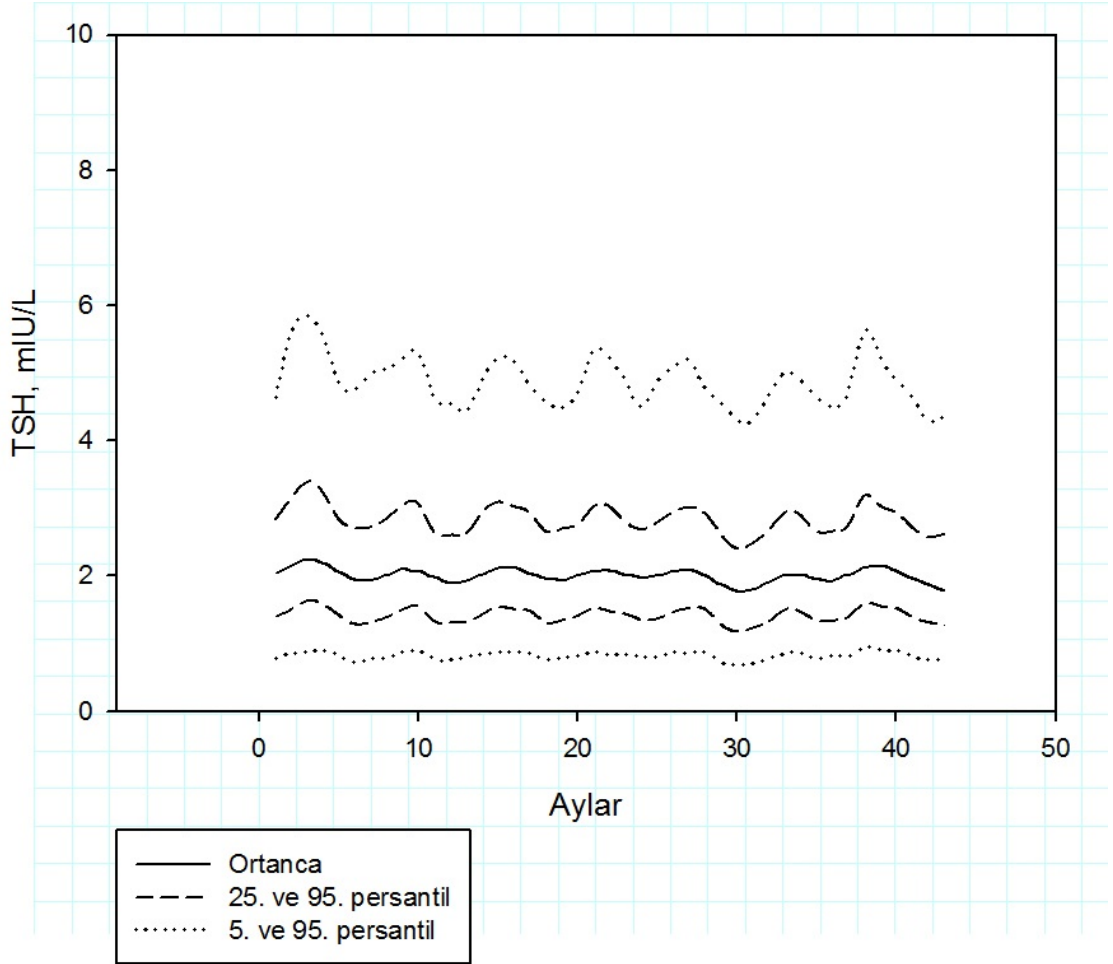
Tablo 3.2: Çalışılan Analitler ve Kullanılan Metotlar/Cihazlar

Kendi Laboratuvarımız	TSH	ARCHITECT i2000	CMIA
	sT4	ARCHITECT i2000	CMIA
CALIPER Çalışması	TSH	ARCHITECT i2000	CMIA
	sT4	ARCHITECT i2000	CMIA
KiGGS Çalışması	TSH	Elecsys E2010	ECLIA
	sT4	Elecsys E2010	ECLIA

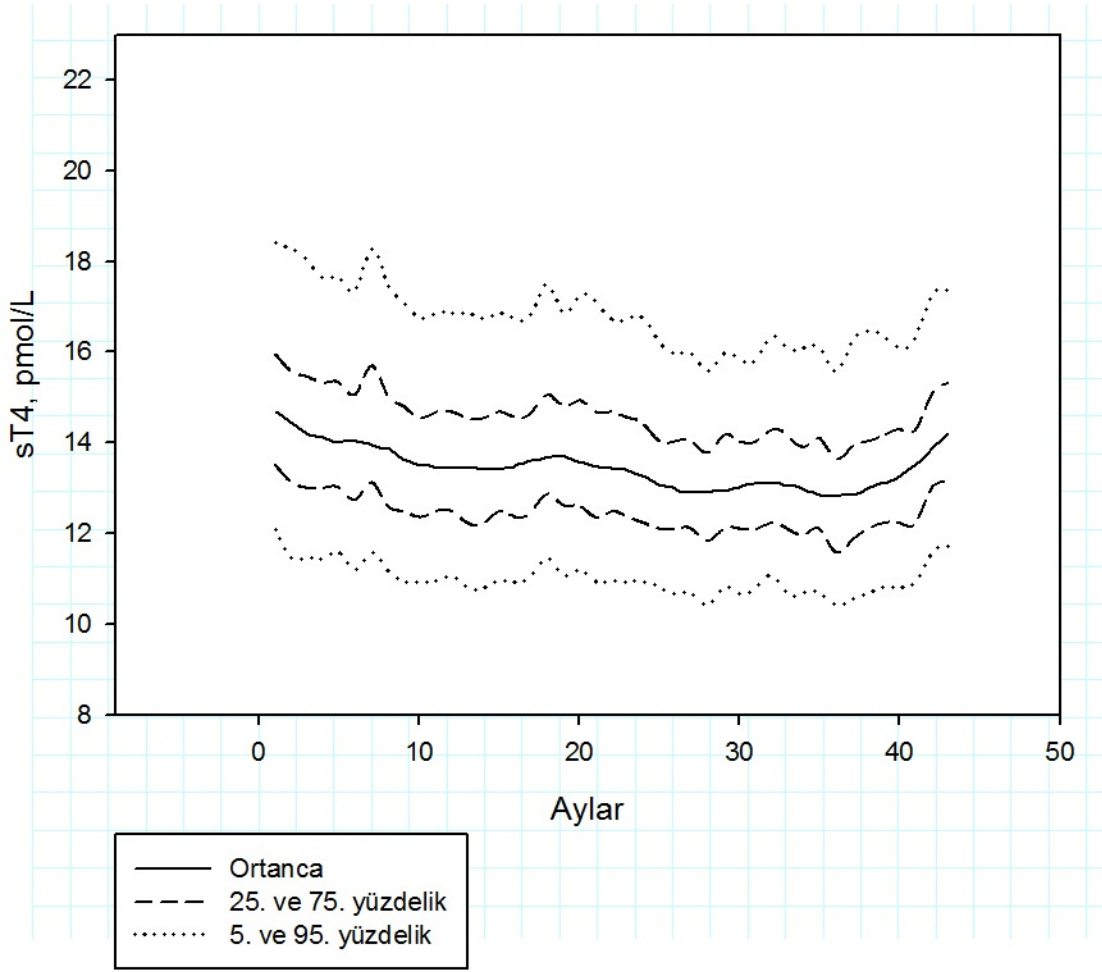
CMIA: Kemilüminesan Mikropartikül İmmünolojik Tetkik, **ECLIA:** Elektrokemilüminesans immünolojik Tetkik

BULGULAR**4.1. TSH ve ST4'ün çalışma periyodunca stabilitesi**

Her bir analitin stabilitesini çalışma periyodunca, aylık medyan değerlerinin stabil olmasıyla gösterdik (şekil 4.1, 4.2).



Şekil 4.1: TSH verilerinin zamana göre stabilitesi



Şekil 4.2: sT4 verilerinin zamana göre stabilitesi

TSH ve sT4 için hesapladığımız indirekt üst (URL) ve alt referans limitleri (LRL) yaş gruplarına göre tablolaştırdık (Tablo 4.1, 4.2).

Tablo 4.1: Belirlediğimiz Sürekli TSH Referans Aralıkları (mIU/L)

Yaş Aralığı (Gün)		Toplam		Kadın		Erkek		Yaş Aralığı (Gün)		Toplam		Kadın		Erkek	
Alt	Üst	LRL	URL	LRL	URL	LRL	URL	LRL	URL	LRL	URL	LRL	URL	LRL	URL
0	8	0.69	14.39	0.82	17.72	0.69	13.6	3354	3481	0.79	5.14	0.92	4.09	0.86	4.75
8	18	0.94	10.75	0.94	9.3	0.94	11.2	3481	3611	0.8	4.88	0.85	5.27	0.78	4.68
18	33	0.74	6.08	0.57	6.26	0.78	5.85	3611	3744	0.56	4.15	0.77	4.75	0.75	4.68
33	64	0.96	7.18	0.97	6.89	0.96	7.35	3744	3884	0.85	5.05	0.73	5.08	0.88	5.59
64	149	0.68	6.09	0.47	4.75	0.66	5.63	3884	4018	0.81	5.34	0.8	4.84	0.83	5.35
149	247	0.68	5.01	0.7	4.58	0.67	5.42	4018	4154	0.74	5.83	0.72	5.53	0.79	4.36
247	315	0.75	4.27	0.73	4.15	0.77	4.19	4154	4287	0.73	4.94	0.66	4.6	0.82	5.34
315	396	0.61	4.31	0.61	4.57	0.62	4.08	4287	4419	0.84	5.01	0.79	5.22	0.87	5.04
396	495	0.6	4.31	0.64	4.28	0.62	4.48	4419	4548	0.64	4.57	0.73	4.38	0.5	3.94
495	608	0.64	4.08	0.37	3.85	0.74	4.6	4548	4677	0.63	4.53	0.69	5.14	0.67	4.81
608	743	0.7	5.7	0.7	4.98	0.62	5.63	4677	4811	0.63	4.62	0.4	4.12	0.74	4.72
743	886	0.75	4.58	0.76	4.6	0.74	4.91	4811	4942	0.69	5.05	0.63	5.16	0.85	2.93
886	1034	0.75	4.53	0.76	3.76	0.7	4.94	4942	5069	0.69	5.09	0.67	5.09	0.62	5.09
1034	1176	0.83	4.84	0.82	4.09	0.83	4.67	5069	5186	0.71	4.98	0.63	4.72	0.76	4.67
1176	1333	0.76	5.64	0.79	5.01	0.71	5.88	5186	5300	0.68	4.43	0.64	4.43	0.74	4.6
1333	1485	0.85	5.12	0.83	4.91	0.88	5.14	5300	5409	0.57	4.31	0.66	4.97	0.51	3.96
1485	1643	0.68	4.3	0.71	4.6	0.63	4.22	5409	5512	0.66	4.96	0.65	5.08	0.75	4.92
1643	1799	0.83	4.99	0.78	4.61	0.79	3.93	5512	5613	0.6	5.04	0.56	4.94	0.69	4.99
1799	1948	0.84	5.57	0.79	5.35	0.87	5.38	5613	5712	0.6	4.75	0.48	4.32	0.52	3.55
1948	2100	0.67	4.6	0.87	4.66	0.53	4.84	5712	5803	0.57	4.27	0.61	4.4	0.52	4.12
2100	2245	0.58	4.61	0.65	4.7	0.77	5.17	5803	5893	0.55	4.96	0.58	5.09	0.57	5.01
2245	2387	0.86	4.98	0.82	3.35	0.88	5	5893	5981	0.6	4.82	0.57	4.01	0.61	4.92
2387	2514	0.89	5.51	1.07	3.2	0.86	5.35	5981	6066	0.64	4.4	0.63	3.97	0.55	3.98
2514	2640	0.89	3.65	0.89	4.66	0.64	3.16	6066	6150	0.57	3.88	0.49	3.73	0.71	4.35
2640	2764	0.9	5.14	0.89	4.71	0.85	4.98	6150	6231	0.6	4.67	0.55	4.69	0.69	4.07
2764	2884	0.88	4.91	0.88	4.04	0.95	4.81	6231	6310	0.6	3.92	0.6	4.25	0.63	3.53
2884	3003	0.89	4.96	0.89	4.91	0.79	4.94	6310	6396	0.59	4.45	0.59	4.25	0.57	3.9
3003	3119	0.86	5.21	0.86	5.44	0.87	4.81	6396	6478	0.6	4.24	0.61	3.92	0.61	3.96
3119	3236	0.74	4.75	0.81	5.4	0.72	4.34	6478	6569	0.5	3.7	0.58	4.37	0.43	3.35
3236	3354	0.6	3.86	0.77	5.12	0.55	3.33	6569							

LRL: Alt Referans Limit, URL: Üst Referans Limit

Tablo 4.2: Belirlediğimiz Sürekli sT4 Referans Aralıkları (pmol/L)

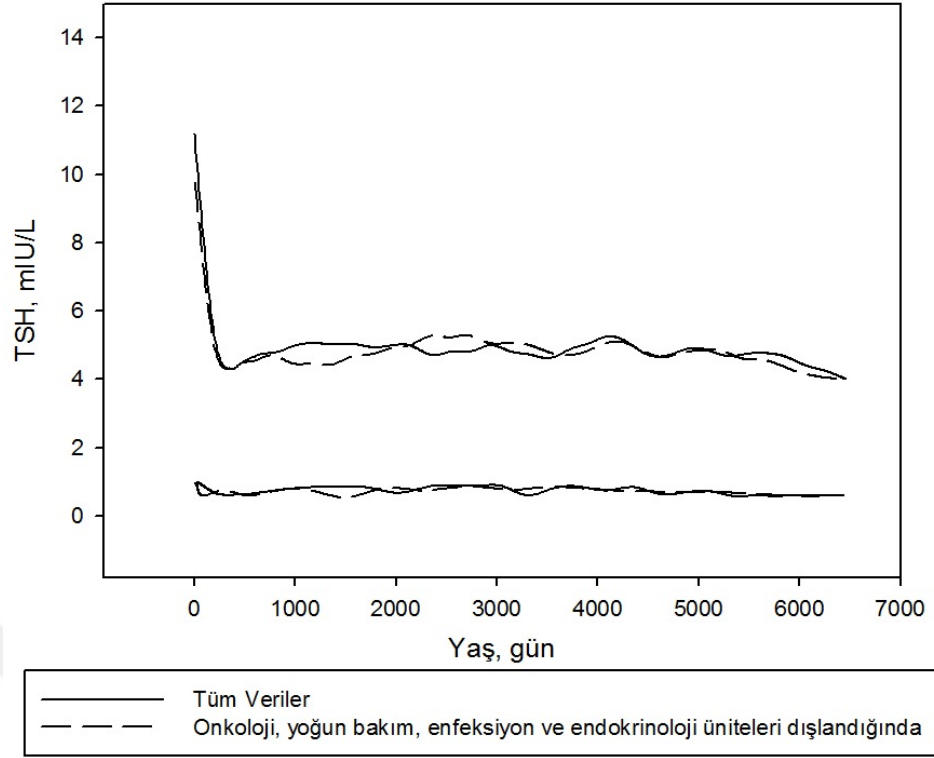
Yaş Aralığı (Gün)		Tüm		Kadın		Erkek		Yaş Aralığı (Gün)		Tüm		Kadın		Erkek	
Alt	Üst	LRL	URL	LRL	URL	LRL	URL	Alt	Üst	LRL	URL	LRL	URL	LRL	URL
0	5	12.87	28.57	13.13	27.8	12.23	29.47	3171	3210	10.68	16.6	10.81	16.22	10.68	17.25
5	6	13.51	22.91	14.03	25.48	13.13	23.04	3210	3250	10.55	17.37	10.68	17.5	11.07	16.22
6	7	10.81	24.2	11.84	23.94	11.71	25.48	3250	3290	10.81	17.12	10.3	17.37	10.81	16.73
7	9	11.71	23.17	11.45	23.55	11.45	23.04	3290	3331	10.42	16.99	10.42	17.5	10.81	16.34
9	13	11.07	22.27	11.71	23.29	11.45	23.17	3331	3373	11.07	16.73	11.2	16.6	11.2	16.73
13	16	11.2	21.11	10.42	20.33	11.45	20.59	3373	3417	10.94	16.99	10.55	17.12	10.94	16.09
16	20	10.81	19.69	11.07	16.6	10.04	18.4	3417	3460	10.55	17.5	10.68	17.5	10.94	16.47
20	25	10.55	18.79	9.78	18.15	10.42	18.79	3461	3506	10.55	17.12	10.55	16.99	10.94	16.22
25	30	9.14	17.63	9.78	18.4	10.42	18.15	3506	3551	10.3	16.34	9.91	16.6	10.3	16.47
30	35	10.04	17.25	10.81	17.76	10.3	17.89	3551	3594	10.17	16.6	11.07	16.73	10.55	17.37
35	42	10.55	17.63	10.55	17.76	10.3	17.89	3594	3638	10.42	16.86	9.78	16.6	11.07	16.34
42	53	10.17	18.15	10.81	17.63	10.04	18.02	3638	3685	10.3	16.86	10.04	16.6	10.42	16.73
53	71	10.68	18.66	10.94	17.12	11.2	17.5	3685	3731	10.42	18.02	10.04	18.4	10.81	17.25
71	97	10.3	18.28	10.81	19.31	10.55	18.02	3731	3779	10.42	17.63	10.68	16.86	10.94	16.86
97	128	10.94	18.4	11.2	17.63	10.81	18.28	3779	3827	10.55	16.99	10.17	16.73	10.55	17.37
128	164	10.3	17.12	10.68	16.6	10.42	17.12	3828	3875	10.42	16.99	10.3	15.96	10.94	16.73
164	200	10.3	16.86	10.42	16.73	10.04	16.73	3875	3921	9.91	16.34	9.65	17.12	10.81	15.96
200	235	10.17	17.89	10.17	17.76	10.55	17.76	3921	3966	9.91	16.34	9.01	16.34	10.55	16.22
235	255	10.04	16.86	9.78	17.5	10.04	16.86	3966	4011	9.78	16.73	9.78	15.7	10.3	17.25
255	275	10.42	17.12	10.04	16.09	10.3	17.89	4011	4060	9.65	16.22	9.91	16.34	10.42	16.09
275	298	9.91	16.73	9.65	16.6	10.17	16.22	4060	4106	9.65	16.34	9.14	15.96	10.68	16.09
298	332	10.04	16.86	10.04	17.25	10.42	15.83	4106	4154	9.4	16.22	9.78	15.83	10.55	16.09
332	364	10.04	17.25	10.55	16.99	9.78	16.09	4154	4197	9.91	16.09	9.91	15.06	10.42	16.6
364	385	10.42	16.47	10.17	16.47	11.07	16.99	4197	4244	9.65	16.47	9.01	15.19	10.81	16.73
385	412	10.55	16.99	10.55	16.86	11.07	16.6	4244	4292	9.78	15.83	9.78	16.6	10.17	15.96
412	446	10.68	16.86	10.04	16.47	10.68	16.86	4292	4339	9.65	16.34	9.65	14.8	10.81	14.8
446	483	10.17	16.86	10.42	16.47	10.81	16.73	4339	4385	10.04	16.22	9.78	15.44	10.3	16.73
483	518	10.04	16.73	10.68	16.73	10.3	16.99	4385	4431	9.4	16.99	9.14	15.7	10.3	16.86
518	556	10.55	17.37	10.55	17.25	10.17	16.99	4431	4475	9.4	15.83	9.14	15.57	10.04	17.12
556	597	10.94	17.37	11.07	17.25	10.42	16.99	4475	4521	9.14	15.83	9.27	15.57	9.01	16.6
597	643	10.94	16.22	10.94	16.09	10.94	16.34	4521	4565	9.65	16.47	9.4	15.57	10.04	15.96
643	689	10.68	16.99	11.2	17.12	10.42	17.12	4565	4613	9.91	16.09	10.04	14.8	9.65	16.73
689	737	11.07	16.6	10.94	17.12	11.07	15.96	4613	4657	9.4	16.6	9.4	15.96	9.27	16.73
737	782	10.42	16.86	10.94	17.76	10.42	16.6	4657	4704	9.65	15.57	9.27	15.32	9.27	15.7
782	834	10.68	17.5	10.55	17.63	10.94	17.12	4704	4751	9.27	15.7	9.78	16.22	9.4	16.34
834	883	10.81	17.12	10.81	16.34	11.33	16.86	4751	4797	9.65	15.32	9.78	15.83	9.78	14.8
883	933	11.45	16.22	11.2	16.6	11.33	16.47	4797	4842	8.88	15.7	9.65	16.6	9.01	15.44
933	985	11.07	16.47	11.07	16.86	10.68	16.86	4842	4891	9.78	15.83	10.17	15.83	10.04	15.44
985	1036	10.81	16.73	11.45	15.96	10.81	17.12	4891	4935	9.27	15.32	9.78	14.93	9.14	16.73
1036	1085	11.2	16.47	11.45	16.99	11.07	16.34	4935	4982	9.65	15.19	9.65	15.19	9.91	15.57
1085	1134	10.94	17.25	10.94	16.99	10.94	16.99	4982	5026	9.14	16.09	8.88	16.6	9.65	15.44
1134	1181	11.2	16.73	11.2	16.73	11.2	16.22	5026	5071	9.27	15.57	9.52	15.44	9.14	15.7
1181	1234	10.42	16.86	10.55	16.99	10.81	17.5	5071	5114	9.65	16.34	9.27	16.09	9.65	15.83
1234	1288	11.07	17.12	11.45	16.86	11.07	16.86	5114	5156	9.78	16.09	9.91	15.57	9.78	15.57
1288	1341	11.33	16.6	11.2	15.83	11.33	16.22	5156	5198	10.42	15.06	10.17	14.8	9.27	15.19
1341	1392	11.07	17.25	11.2	17.37	11.07	16.73	5198	5240	9.27	15.57	10.04	15.83	9.52	16.6
1392	1446	10.94	17.76	10.55	17.5	10.94	17.76	5240	5281	9.52	16.09	9.4	15.96	9.14	15.7
1446	1498	10.55	17.5	11.58	17.12	10.68	18.4	5281	5320	9.65	15.32	10.04	16.09	9.52	14.93
1498	1554	10.42	16.99	10.3	16.86	10.55	16.99	5320	5361	9.78	15.57	10.17	16.09	9.78	14.93
1554	1608	11.07	16.99	10.68	16.73	11.2	16.99	5361	5399	9.78	15.83	9.91	15.83	9.91	15.44
1608	1662	10.94	17.76	11.2	17.63	11.07	17.5	5399	5438	9.65	15.57	10.55	15.44	9.4	15.96
1662	1717	10.68	16.86	11.07	17.76	10.94	16.47	5438	5477	10.55	15.44	10.3	15.44	10.94	15.32
1717	1767	11.33	17.25	11.2	16.73	11.33	16.6	5477	5514	10.17	15.83	10.3	15.83	10.3	15.19
1767	1818	11.2	17.37	11.2	17.76	11.07	17.25	5514	5550	9.91	16.09	9.4	15.7	9.91	15.7
1818	1868	10.3	16.99	10.94	16.6	10.94	17.76	5550	5588	9.65	16.09	9.4	15.57	9.65	15.96
1868	1919	10.94	17.76	11.07	18.15	10.68	17.37	5588	5627	10.3	15.57	10.3	15.7	10.04	14.93
1919	1973	11.33	17.63	11.2	17.89	11.2	17.63	5627	5665	10.04	15.83	10.3	15.57	9.4	15.44
1973	2026	11.2	17.25	10.94	17.12	11.2	17.25	5665	5703	9.4	15.57	9.65	15.32	9.14	15.83
2026	2079	11.33	16.86	10.81	17.5	11.58	16.47	5703	5736	10.3	15.96	10.68	15.44	8.88	15.83
2079	2129	10.81	18.15	11.33	18.28	10.94	16.99	5736	5772	10.04	15.96	9.91	16.22	10.42	15.44
2129	2178	10.42	17.12	11.07	16.73	10.94	17.63	5772	5806	10.04	15.96	10.04	16.09	10.04	15.19
2178	2230	10.94	17.89	11.33	17.5	11.07	17.76	5806	5840	9.65	15.57	10.04	15.44	10.17	15.96
2230	2280	11.45	17.12	11.33	16.6	11.71	16.86	5840	5877	10.42	15.83	10.42	15.83	10.3	15.44
2280	2329	10.81	17.25	10.81	17.76	11.58	17.5	5877	5912	9.65	15.57	10.42	15.7	8.88	15.96
2329	2376	11.07	17.5	11.2	17.37	10.81	17.5	5912	5949	10.04	16.09	9.91	16.09	10.17	16.22
2376	2422	11.2	17.12	11.58	16.86	11.2	16.99	5949	5983	10.04	15.32	9.78	15.57	9.91	15.19
2422	2466	11.45	17.12	11.33	17.5	11.2	16.34	5983	6017	9.91	15.44	9.4	15.57	10.42	15.44
2466	2509	10.42	17.12	10.68	17.63	10.55	16.6	6017	6051	9.91	16.34	9.91	16.22	9.52	16.09
2509	2553	11.07	17.89	10.94	17.89	11.58	16.99	6051	6085	9.78	16.34	10.17	16.86	9.78	16.6
2553	2596	10.94	17.63	11.45	17.12	10.68	17.76	6085	6120	10.55	15.44	10.04	15.19	10.55	15.83
2596	2639	11.45	16.6	11.84	16.99	11.45	16.34	6120	6156	10.17	16.47	10.3	15.83	10.3	16.73
2639	2682	11.07	16.73	11.33	16.73	11.33	16.86	6156	6189	9.52	16.09	9.52	16.09	10.17	15.32
2682	2725	10.42	17.12	10.94	17.25	11.07	16.86	6189	6224	9.91	16.6	9.78	16.6	10.17	15.96
2725	2766	10.94	17.89	10.68	17.37	11.07	17.12	6224	6256	9.91	16.73	10.04	16.34	9.78	16.99
2766	2805	11.07	16.99	11.2	16.99	10.17	16.73	6256	6289	10.17	15.96	9.65	15.7	10.17	16.6
2805	2846	11.33	16.73	11.71	16.34	11.07	16.99	6289	6324	9.52	15.96	9.78	15.57	10.42	16.6
2846	2890	10.94	16.99	10.81	16.86	11.07	16.99	6324	6360	10.42	15.96	9.91	15.57	10.55</	

4.2. Örnek seçiminin ve cinsiyetin hesaplanan RI'lara etkisi

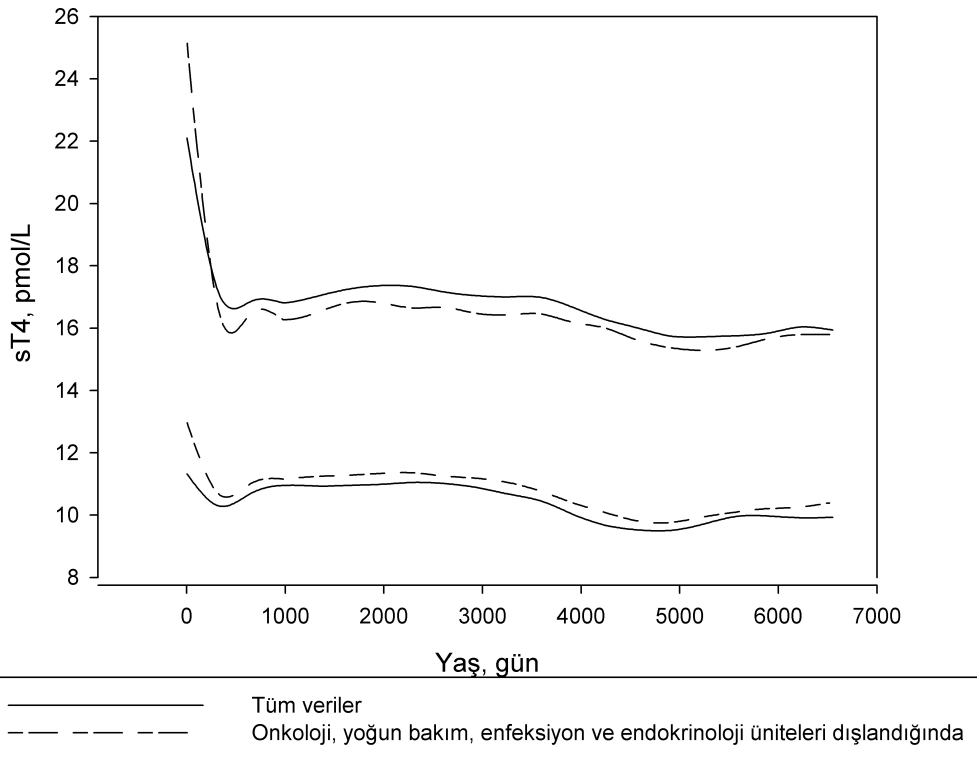
RI'ların indirekt yöntemle belirlenmesi, muhtemel patolojik verilerin hesaplanan RI'lar üzerine önemli bir etkisinin olmadığı varsayımına dayanır. Pediatrik bir popülasyonda yoğun bakım, onkoloji, enfeksiyon hastalıkları ve analite bağlı olarak ilgili bölümlerden gelen numunelerin patolojik numunelerin büyük çoğunluğunu içermesi beklenir. Bundan dolayı örneklem seçiminin etkisini test etmek için iki farklı veri seti oluşturduk. Birinci veri seti yoğun bakım, onkoloji, enfeksiyon hastalıkları ve endokrinoloji (TSH/sT4 çalıştığımızdan) ünitelerinden alınan örnekleri içermezken diğer veri seti tüm verileri içermektedir. Oluşan RI grafiklerini incelediğimizde bu ünitelerden gelen verileri dışlamanın (şekil 4.3, 4.4) ve cinsiyetin (şekil 4.5, 4.6) sonuca etkisinin olmadığını gördük. Bu nedenle ileri analizleri filtrelenmemiş ana veri setinde gerçekleştirdik.

4.3. Sürekli TSH ve sT4 referans aralıklarına göre klinik sınıflandırma

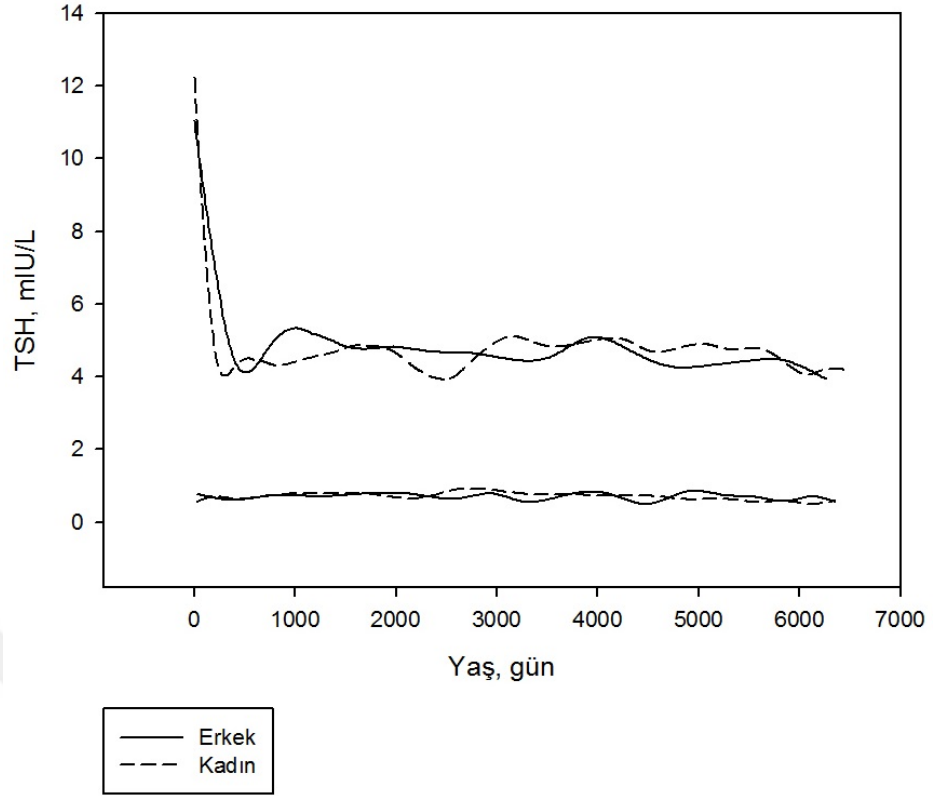
Sürekli referans aralıklarına göre veri setimizi sağlıklı ve hasta olarak sınıflandırdık. Bu sınıflandırma sonuç verilerini her yaş grubu için ayrı ayrı tablolarda verdik (tablo 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7)



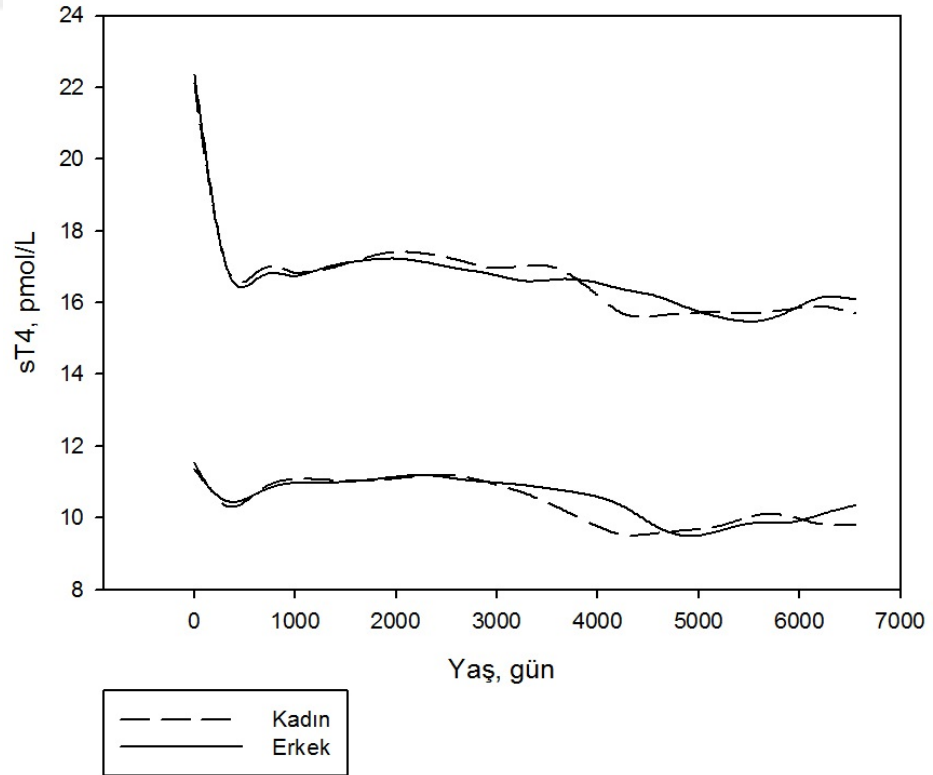
Şekil 4.3: Olası Patolojik Verilerin TSH Referans Aralıklarına Etkisi



Şekil 4.4: Olası Patolojik Verilerin sT4 Referans Aralıklarına Etkisi



Şekil 4.5: Sürekli TSH referans aralıklarına cinsiyetin etkisi



Şekil 4.6: Sürekli sT4 referans aralıklarına cinsiyetin etkisi

4.4. Referans Aralıklarının Karşılaştırılması

RI belirlemek için indirekt yöntemlerin kullanımı; referans popülasyonun kesin bir tanımının olmaması, normal olmayan dağılımlarda RI'ların hesaplanmasında başarısız olması ve hesaplandığı laboratuvar dışında uygulanamamasından dolayı eleştirilmiştir (53). Bu çalışmada uyguladığımız indirekt yöntemin güvenilirliğini değerlendirmek için valide edilmiş yöntemler kullanılarak belirlenen referans aralıklarla karşılaştırma yaptık.

Belirlediğimiz sürekli referans aralıkları karşılaştırmak ve güvenilirliğini test etmek için dünyada en çok bilinen ve referans kabul edilen çalışmalardan olan CALIPER (Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Intervals) (49) ve KiGGS (German Health Interview and Examination Survey For Children and Adolescents) (50) çalışma verilerini kullandık. Bu çalışmalarda referans aralıklar klasik yani direkt metotla belirlenmiştir. Bu klasik referans yöntemler kullanılarak RI'ların oluşturulması tavsiye edilir. Ancak bu yöntemle her yaş grubunu temsil edecek gruplama yapmak imkansız olmasa bile çok zordur. Bundan dolayı indirekt yöntemin geliştirilmesi özellikle pediatrik popülasyonda önemli olan analitler için her laboratuvarın kendi sürekli RI'larını belirlemesine imkan tanır.

Hesapladığımız referans aralıklarla CALIPER ve KiGGS referans aralıkları arasındaki farkı istatistiksel ve klinik olarak ayrı ayrı değerlendirdik. İstatistiksel farkı değerlendirmek için referans değişim değerini (RCV) kullandık. Alt ve üst limitler arasındaki fark, RCV'den küçük çıkarsa istatistiksel olarak anlamsızdır. Klinik farklılığı ise referans aralıkların verileri patolojik ve sağlıklı olarak sınıflandırma yüzdelerine göre belirledik.

Tablo 4.3: Sürekli TSH (m IU/L) RI'na göre klinik sınıflandırma

Yaş Aralığı (Gün)		Toplam			%Hasta		
Alt	Üst	Toplam	Kadın	Erkek	Toplam	Kadın	Erkek
0	8	3000	1350	1650	7.97	7.11	9.03
8	18	3000	1301	1699	9.1	10.84	8.42
18	33	3000	1306	1694	10.77	9.49	11.57
33	64	3000	1349	1651	8.93	9.04	8.96
64	149	3000	1389	1611	6.77	9.29	7.39
149	247	3000	1427	1573	7.1	8.83	6.1
247	315	3000	1522	1478	9	9.46	10.15
315	396	3000	1612	1388	9.6	5.89	8.57
396	495	3000	1614	1386	8.07	8.18	7.14
495	608	3000	1502	1498	8.07	8.12	6.54
608	743	3000	1484	1516	4.83	6.54	4.02
743	886	3000	1455	1545	8.87	8.93	7.44
886	1034	3000	1389	1611	8.17	12.81	5.77
1034	1176	3000	1346	1654	8.13	12.93	8.1
1176	1333	3000	1354	1646	5.07	6.57	4.31
1333	1485	3000	1308	1692	7.87	8.64	8.16
1485	1643	3000	1378	1622	9.13	8.2	9.25
1643	1799	3000	1418	1582	7.9	8.39	14.16
1799	1948	3000	1399	1601	5.6	5.43	6.37
1948	2100	3000	1418	1582	7.3	9.45	5.5
2100	2245	3000	1432	1568	6.83	7.05	5.74
2245	2387	3000	1533	1467	7.57	20.48	7.23
2387	2514	3000	1522	1478	6.57	28.71	6.02
2514	2640	3000	1499	1501	16.97	9.27	22.72
2640	2764	3000	1529	1471	7.53	9.22	7.14
2764	2884	3000	1620	1380	8.1	14.2	8.77
2884	3003	3000	1608	1392	7.5	7.52	6.61
3003	3119	3000	1670	1330	6.93	6.23	8.12
3119	3236	3000	1625	1375	6.67	5.54	8.51
3236	3354	3000	1605	1395	11.63	5.92	18.21
3354	3481	3000	1589	1411	5.97	13.53	8.29
3481	3611	3000	1507	1493	8.07	6.97	7.9
3611	3744	3000	1546	1454	8.9	8.54	7.5
3744	3884	3000	1522	1478	7.9	5.85	7.04
3884	4018	3000	1467	1533	6.57	8.38	6.46
4018	4154	3000	1541	1459	4.6	6.1	8.36
4155	4287	3000	1460	1540	6.73	7.26	6.36
4287	4419	3000	1557	1443	8.07	7.26	7.76
4419	4548	3000	1525	1475	7.5	10.03	9.63
4548	4677	3000	1551	1449	8.13	7.22	6.14
4677	4811	3000	1561	1439	6.53	8.39	7.02
4811	4942	3000	1717	1283	5.87	5.3	25.88
4942	5069	3000	1714	1286	6.07	6.48	4.59
5070	5186	3000	1793	1207	7.07	7.7	7.21
5186	5300	3000	1832	1168	8.63	8.08	8.48
5300	5409	3000	1847	1153	7.17	7.36	7.29
5409	5512	3000	1938	1062	6.17	6.55	6.4
5512	5613	3000	1977	1023	4.97	5.21	6.06
5613	5712	3000	2011	989	6.23	6.46	10.82
5712	5803	3000	1979	1021	7.1	7.23	6.46
5803	5893	3000	2051	949	5.33	6.09	3.9
5893	5981	3000	2039	961	5.97	7.95	5.2
5981	6066	3000	2099	901	7.33	9.43	7.1
6066	6150	3000	2060	940	8.37	8.3	7.55
6150	6231	3000	2057	943	6.67	6.22	9.44
6231	6310	3000	2098	902	8.53	8.34	8.65
6310	6396	3000	2111	889	6.17	7.15	6.86
6396	6478	3000	2108	892	8	11.05	6.73
6478	6569	3383	2335	1048	8.81	18.16	20.13
Toplam		177383	96556	80827	7.59	8.8	8.43

Tablo 4.4: Sürekli sT4 RI'mıza Göre Klinik Sınıflandırma

Yaş Aralığı (Gün)		Toplam Birey Sayısı			Hasta (%)		
Alt	Üst	Toplam	Kadın	Erkek	Toplam	Kadın	Erkek
0	5	1000	444	556	7.6	9.46	9.89
5	6	1000	462	538	19	12.55	13.75
6	7	1000	445	555	7.4	8.99	10.99
7	9	1000	446	554	10.5	8.74	7.4
9	13	1000	429	571	7.3	11.19	7.01
13	16	1000	431	569	8.9	8.82	6.85
16	20	1000	429	571	9.4	29.84	23.82
20	25	1000	429	571	7.7	7.69	6.48
25	30	1000	466	534	6.8	5.36	5.99
30	35	1000	422	578	6.7	8.06	7.79
35	42	1000	467	533	6.9	8.14	4.88
42	53	1000	440	560	7.2	8.64	11.43
53	71	1000	426	574	5.7	12.91	11.85
71	97	1000	464	536	5.9	3.66	4.48
97	128	1000	491	509	4.8	6.92	9.04
128	164	1000	444	556	7.8	11.04	12.05
164	200	1000	451	549	8	6.87	11.11
200	235	1000	505	495	4.1	4.95	4.04
235	255	1000	504	496	4.8	2.98	1.81
255	275	1000	543	457	4.1	5.52	6.13
275	298	1000	497	503	3	3.02	3.98
298	332	1000	496	504	4.2	3.83	2.78
332	364	1000	523	477	2.7	4.97	3.77
364	385	1000	527	473	7.1	5.69	8.03
385	412	1000	550	450	3.6	4	4
413	446	1000	549	451	5	6.38	4.66
446	483	1000	545	455	3.9	5.14	6.15
483	518	1000	530	470	5.2	4.91	6.81
518	556	1000	473	527	3.9	5.07	3.61
556	597	1000	495	505	4.1	5.25	4.95
597	643	1000	481	519	8.6	9.98	9.25
643	689	1000	491	509	5.7	4.68	8.25
689	737	1000	501	499	7.1	4.99	5.01
737	782	1000	488	512	4	2.87	3.13
782	834	1000	496	504	2.5	2.22	2.18
834	883	1000	491	509	4.1	5.5	8.25
883	933	1000	490	510	11.8	8.98	6.08
933	985	1000	466	534	8	7.51	4.12
985	1036	1000	425	575	5.6	12.47	11.48
1036	1085	1000	470	530	7.2	5.32	5.47
1085	1134	1000	460	540	3.3	4.35	3.52
1134	1181	1000	414	586	5.9	6.04	5.8
1181	1234	1000	445	555	4.6	3.6	4.5
1234	1288	1000	466	534	4.4	6.87	7.12
1288	1341	1000	457	543	8	13.57	12.89

Tablo 4.5: Sürekli sT4 Rİ'mıza Göre Klinik Sınıflandırma-Devamı

Yaş Aralığı (Gün)		Toplam Birey Sayısı			Hasta (%)		
Alt	Üst	Toplam	Kadın	Erkek	Toplam	Kadın	Erkek
1341	1392	1000	427	573	3.9	2.11	4.54
1393	1446	1000	427	573	2.7	2.34	2.44
1446	1498	1000	462	538	3.4	7.79	6.69
1498	1554	1000	447	553	4.6	5.37	4.7
1554	1608	1000	455	545	5.5	7.47	5.87
1608	1662	1000	473	527	2.2	3.17	1.9
1662	1717	1000	477	523	4.5	2.73	2.87
1717	1767	1000	463	537	5.4	7.56	6.89
1768	1818	1000	487	513	4.6	3.49	3.12
1818	1868	1000	475	525	3.7	7.58	5.52
1868	1919	1000	476	524	2.9	2.73	1.91
1919	1973	1000	464	536	4	3.66	2.61
1973	2026	1000	473	527	4.8	5.29	4.36
2026	2079	1000	470	530	8.8	3.4	3.4
2079	2129	1000	458	542	2	3.49	3.32
2129	2178	1000	487	513	4.7	8.21	6.43
2178	2230	1000	461	539	2.9	5.21	5.01
2230	2280	1000	525	475	6.9	8.57	7.37
2280	2329	1000	515	485	4.2	3.11	2.27
2329	2376	1000	495	505	4.3	5.25	4.95
2376	2422	1000	492	508	5.4	7.93	6.89
2422	2466	1000	503	497	6.2	5.57	3.62
2466	2509	1000	530	470	4.6	3.77	3.62
2509	2553	1000	498	502	1.7	2.01	0.8
2553	2596	1000	501	499	2.1	4.39	3.81
2596	2639	1000	499	501	7.7	8.62	9.38
2639	2682	1000	501	499	4.3	4.99	5.21
2682	2725	1000	533	467	3.7	3.94	3.64
2725	2766	1000	509	491	2.6	2.16	3.46
2766	2805	1000	552	448	4.7	5.07	4.91
2805	2846	1000	545	455	6.9	13.03	8.79
2846	2890	1000	536	464	5.4	5.41	5.82
2890	2933	1000	504	496	5.1	6.15	6.85
2933	2972	1000	545	455	4.8	2.2	2.42
2972	3011	1000	571	429	3.8	3.5	3.26

Tablo 4.6: Sürekli sT4 RI'mıza Göre Klinik Sınıflandırma-Devamı

Yaş Aralığı (Gün)		Toplam Birey Sayısı			Hasta (%)		
Alt	Üst	Toplam	Kadın	Erkek	Toplam	Kadın	Erkek
3011	3049	1000	578	422	4	5.19	6.64
3049	3099	1000	535	465	3.4	3.55	3.23
3099	3131	1000	559	441	2.5	3.22	1.59
3131	3171	1000	543	457	1.7	6.45	5.47
3171	3210	1000	566	434	5.1	7.95	6.45
3210	3250	1000	533	467	2.1	2.06	2.14
3250	3290	1000	527	473	3.4	2.09	1.48
3290	3331	1000	540	460	3.3	2.04	2.61
3331	3373	1000	508	492	5.6	9.06	5.69
3461	3506	1000	501	499	2.8	4.19	2
3506	3551	1000	500	500	5	4.6	2.8
3551	3594	1000	517	483	4.3	6.19	5.59
3594	3638	1000	526	474	3.7	4.75	4.01
3638	3685	1000	518	482	3.5	2.9	4.98
3685	3731	1000	499	501	2.2	1.4	1
3731	3779	1000	502	498	2.3	5.38	3.41
3779	3827	1000	511	489	4	3.91	2.25
3828	3875	1000	508	492	3.7	7.28	6.1
3875	3921	1000	473	527	3.6	1.06	2.09
3921	3966	1000	490	510	4	2.45	4.12
3966	4011	1000	511	489	2.1	6.07	6.75
4011	4060	1000	507	493	4.5	5.52	3.45
4060	4106	1000	508	492	3.6	3.74	5.69
4106	4154	1000	509	491	4.3	6.68	5.91
4154	4197	1000	478	522	5.4	8.37	15.9
4197	4244	1000	512	488	2.2	5.47	10.86
4244	4292	1000	455	545	5	2.64	1.83
4292	4339	1000	505	495	3.7	10.5	15.76
4339	4385	1000	505	495	6.2	7.92	9.09
4385	4431	1000	508	492	2	3.74	5.08
4431	4475	1000	493	507	4.9	5.07	5.92
4475	4521	1000	514	486	2.5	1.95	4.94
4521	4565	1000	477	523	2.6	3.98	4.97
4565	4613	1000	489	511	5.5	9.82	15.07
4613	4657	1000	536	464	1.5	2.05	2.59
4657	4704	1000	532	468	5.5	5.26	7.26
4704	4751	1000	510	490	4.5	4.51	3.67
4751	4797	1000	498	502	5.8	3.41	4.38
4797	4842	1000	571	429	2.3	1.75	2.56
4842	4891	1000	547	453	4.1	5.3	6.62
4891	4935	1000	574	426	5.1	7.67	8.69
4935	4982	1000	558	442	7.2	7.71	6.56
4982	5026	1000	535	465	2.6	1.87	1.51
5026	5071	1000	570	430	4.9	6.14	5.58
5071	5114	1000	566	434	1.4	2.12	1.61

Tablo 4.7: Sürekli sT4 RI'mıza Göre Klinik Sınıflandırma-Devamı

Yaş Aralığı (Gün)		Toplam Birey Sayısı			Hasta (%)		
Alt	Üst	Toplam	Kadın	Erkek	Toplam	Kadın	Erkek
5114	5156	1000	607	393	3.6	4.78	6.36
5156	5198	1000	573	427	10.9	10.3	12.18
5198	5240	1000	589	411	4.5	5.09	4.38
5240	5281	1000	609	391	3	2.96	3.07
5281	5320	1000	605	395	5.7	3.14	3.8
5320	5361	1000	618	382	4	4.37	4.45
5361	5399	1000	597	403	4.5	4.69	4.71
5399	5438	1000	615	385	4	9.27	10.13
5438	5477	1000	615	385	7.9	6.34	5.97
5477	5514	1000	654	346	5.7	5.66	8.09
5514	5550	1000	637	363	3.4	5.18	2.75
5550	5588	1000	641	359	3.8	5.15	5.57
5588	5627	1000	655	345	7.5	7.02	6.96
5627	5665	1000	670	330	5.5	7.76	5.15
5665	5703	1000	648	352	3.8	4.78	6.25
5703	5736	1000	639	361	7.2	10.17	14.4
5736	5772	1000	636	364	4.7	3.77	4.67
5772	5806	1000	668	332	3.5	3.59	3.31
5806	5840	1000	666	334	5.8	7.06	6.89
5840	5877	1000	673	327	5.4	5.35	5.5
5877	5912	1000	659	341	5.5	5.16	8.8
5912	5949	1000	660	340	3.9	3.48	4.12
5949	5983	1000	688	312	8.9	6.98	6.41
5983	6017	1000	681	319	6.5	4.26	4.39
6017	6051	1000	682	318	2.9	3.08	3.77
6051	6085	1000	668	332	2.3	1.95	3.01
6085	6120	1000	681	319	9.3	7.34	8.78
6120	6156	1000	666	334	4.4	6.46	6.89
6156	6189	1000	686	314	3.4	3.06	4.14
6189	6224	1000	675	325	2.2	2.22	2.15
6224	6256	1000	693	307	3.6	4.76	3.58
6256	6289	1000	664	336	3.9	4.52	2.98
6289	6324	1000	697	303	3.4	6.31	5.61
6324	6360	1000	701	299	6.3	6.42	8.36
6360	6396	1000	702	298	5.2	6.41	5.37
6396	6431	1000	706	294	4.2	3.68	4.08
6431	6467	1000	670	330	2.9	3.13	3.64
6467	6501	1000	682	318	5.5	5.72	8.81
6501	6538	1000	667	333	6.7	4.05	5.41
6538	6569	939	641	298	9.9	5.46	7.05
Toplam		164939	88186	76753	4.91	5.53	5.79

4.4.1 Sürekli TSH ve sT4 RI'larımızın CALIPER'in Raporladığı Yaşa Göre Gruplandırılmış RI'larla karşılaştırılması

CALIPER çalışmasında referans aralıklar cinsiyet ayrımı yapılmaksızın TSH için 3 ve sT4 için 4 yaş grubuna bölünerek direkt yöntemle belirlenmiştir. Belirlediğimiz sürekli referans aralıkları CALIPER'in RI'larıyla karşılaştırdık (şekil 4.7, 4.9). İlk aylarda gözlemlediğimiz farkı ve hızlı değişimi daha net görebilmek için bu karşılaştırmayı ilk bir yaşa odaklanarak ayrıca yaptık (şekil 4.8, 4.10).

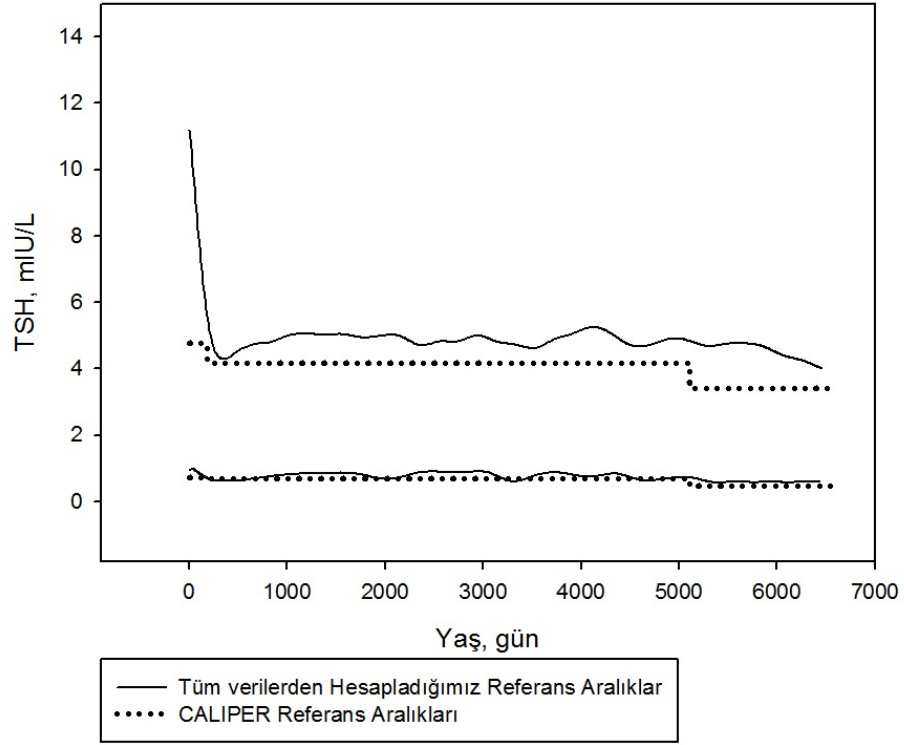
CALIPER çalışmasında yaş gruplarına göre ve bu gruplardaki referans birey sayısına göre referans aralıkları aşağıdaki gibi belirlenmiştir:

TSH için:

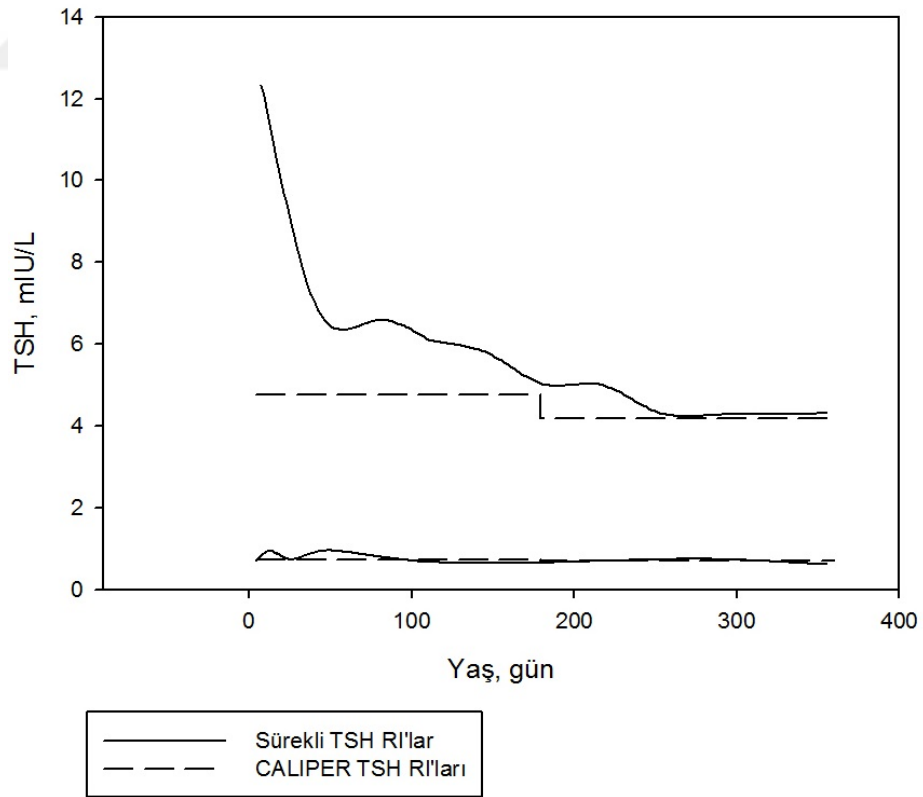
- 1) 4 gün – 6 ay (139 referans birey)**
- 2) 6 ay – 14 yaş (640 referans birey)**
- 3) 14 yaş – 19 yaş (259 referans birey)**

sT4 için:

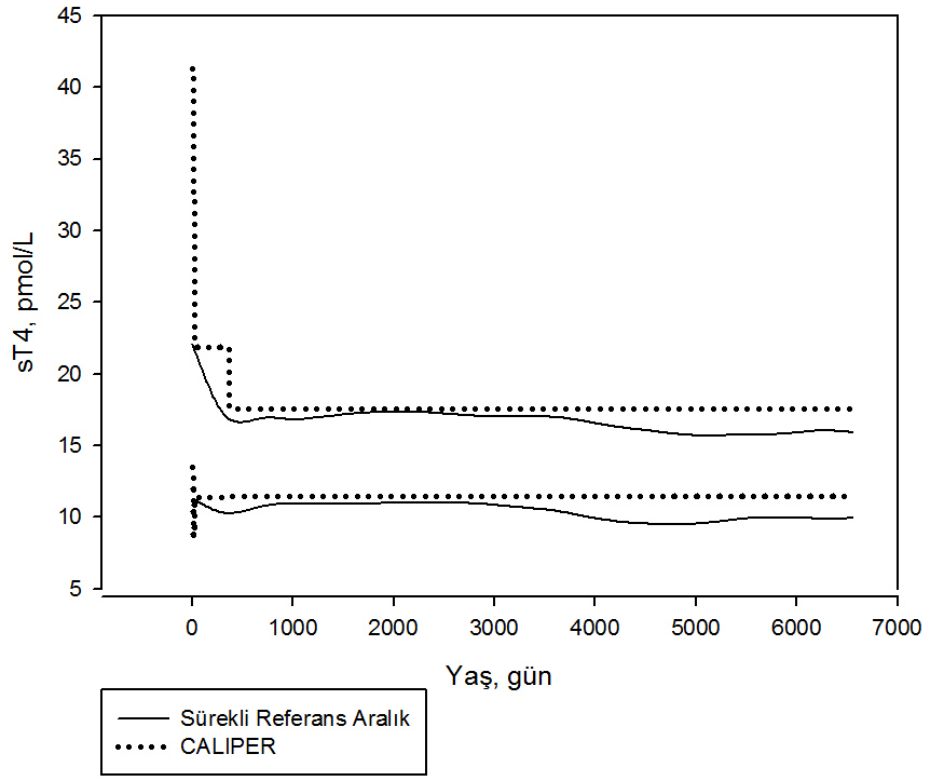
- 1) 5 gün - 14 gün (66 referans birey)**
- 2) 15 gün – 29 gün (55 referans birey)**
- 3) 1 ay – 1 yaş (270 referans birey)**
- 4) 1 yaş – 18 yaş (952 referans birey)**



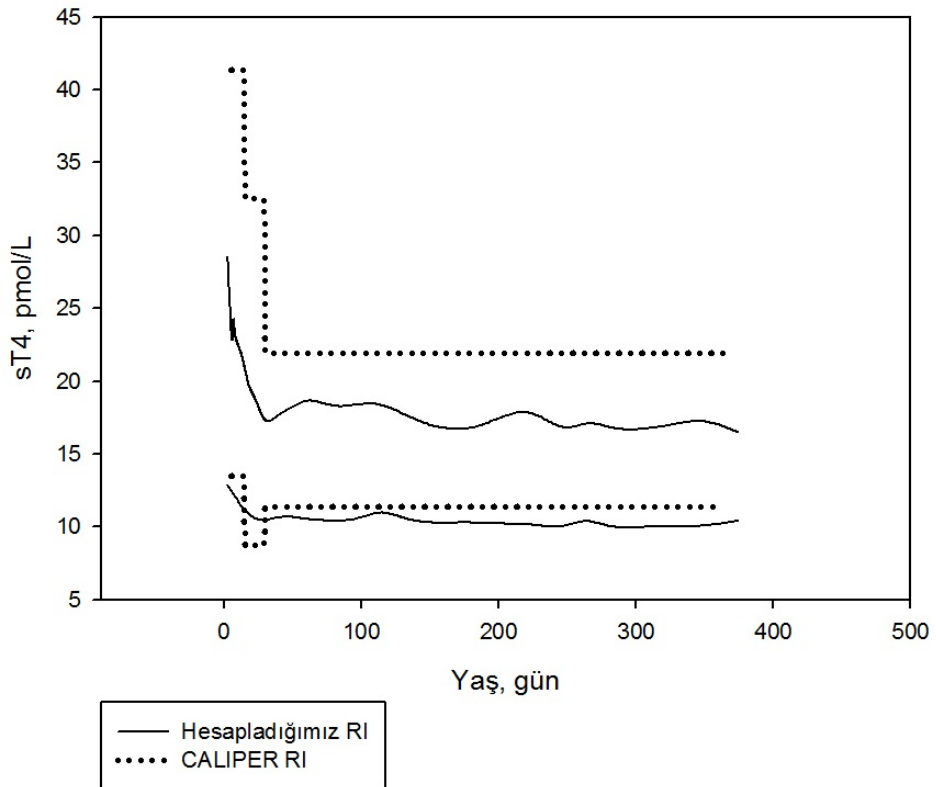
Şekil 4.7: Sürekli TSH RI'larıyla CALIPER RI'larının kıyaslanması



Şekil 4.8: İlk yıl sürekli TSH RI'larıyla CALIPER RI'larının kıyaslanması



Şekil 4.9: Sürekli sT4 RI'larıyla CALIPER RI'larının kıyaslanması



Şekil 4.10: İlk yıl sürekli sT4 RI'larıyla CALIPER RI'larının kıyaslanması

Belirlediğimiz sürekli referans aralıklarıyla ve CALIPER referans aralıklarıyla verilerimizi ayrı ayrı sağlıklı ve hasta olarak sınıflandırdığımızda, CALIPER çalışmasına göre hasta yüzdesinde düşüş gözlemledik (tablo 4.8).

Tablo 4.8: CALIPER'e ve belirlediğimiz sürekli RI'lara göre hasta kabul edilen örnek yüzdeleri ve farkları (%)

	Hesaplanmış RI	CALIPER	Fark
TSH	7.59	11.38	-3.79
sT4	4.91	10.65	-5.74

Yaş gruplandırmalarını farklı yaptığımızdan bunun neden olabileceği farklılığı dışlamak için CALIPER çalışmasında referans aralıklar belirlenirken temel alınan yaş gruplarına göre de veri setimizi gruplandırdık. Bu grupların herbirinin referans aralıklarını da indirekt yöntemle belirledik. Elde ettiğimiz referans aralıkları CALIPER referans aralıkları arasındaki istatistiksel (tablo 4.9 ve 4.10) ve klinik farklılığı (tablo 4.11 ve 4.12) bu açıdan da değerlendirdik.

Tablo 4.9: CALIPER ve Hesaplanan TSH RI'ların istatistiksel Karşılaştırması

TSH (mIU/L)	Hesaplanmış RI			CALIPER			% Fark		RCV* (%)
	LRL	URL	N	LRL	URL	N	LRL	URL	
4 gün -< 6 Ay	0.79	7.88	15420	0.73	4.77	139	7.64	39.5	
6 Ay - <14 yaş	0.79	5.19	114219	0.7	4.17	640	10.83	19.7	59.86
14 yaş - <19 yaş	0.61	4.53	47381	0.47	3.41	259	23.53	24.8	

LRL: Alt Referans Limit, **URL:** Üst Referans Limit, **N:** Birey sayısı, **RCV*:** Referans Değişim Değeri

Tablo 4.10: CALIPER ve Hesaplanan sT4 RI'ların istatistiksel Karşılaştırması

sT4 (pmol/L)	Hesaplanmış RI			CALIPER			% Fark		RCV* (%)
	LRL	URL	N	LRL	URL	N	LRL	URL	
5 - 14 gün	11.33	23.55	4830	13.47	41.32	66	-15.89	-75.44	
15 gün - 29 gün	10.68	18.92	3403	8.71	32.53	55	18.46	-71.94	
1 ay- 1 yıl	10.81	17.37	14349	11.42	21.89	270	-5.64	-25.99	17.73
1 yıl - 18 yaş	10.55	16.6	143921	11.43	17.59	952	-8.31	-5.95	

LRL: Alt Referans Limit, **URL:** Üst Referans Limit, **N:** Birey sayısı, **RCV*:** Referans Değişim Değeri

Tablo 4.11: CALIPER ve Hesaplanan TSH RI'ların Klinik Karşılaştırması

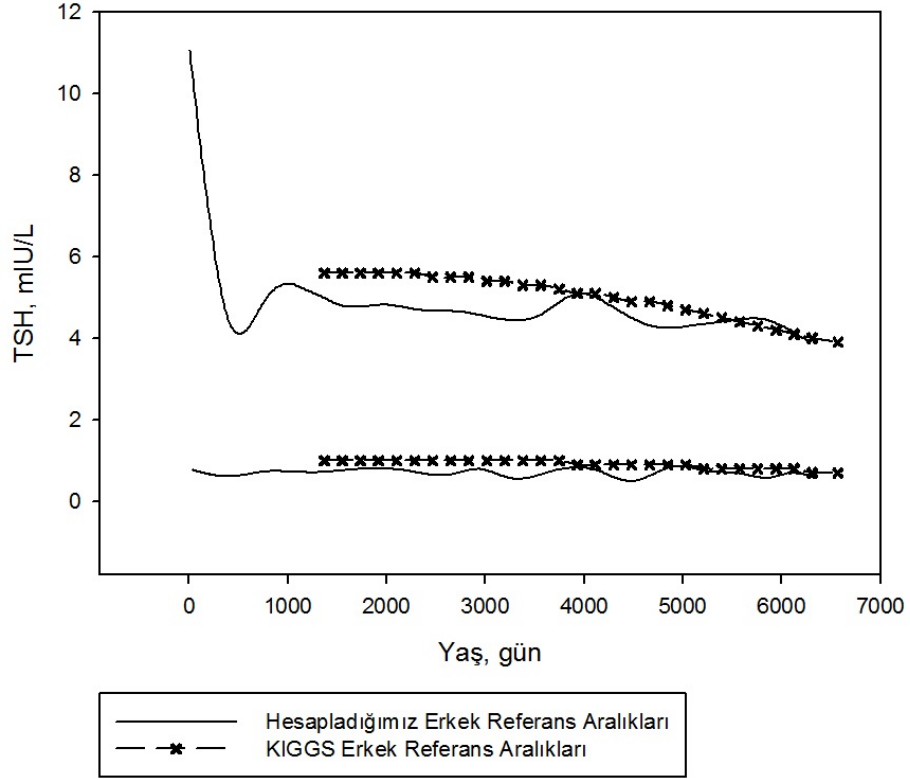
TSH (mIU/L)	Toplam	Hesaplanmış RI	CALIPER	% Fark
		% Hasta	% Hasta	
4 gün -< 6 Ay	15420	10.14	21.89	-11.74
6 Ay - <14 yaş	114219	6.59	9.93	-3.34
14 yaş - <19 yaş	47381	6.92	11.44	-4.52
4 gün -< 19 yaş	177020	6.99	11.38	-4.39

Tablo 4.12: CALIPER ve Hesaplanan sT4 RI'ların Klinik Karşılaştırması

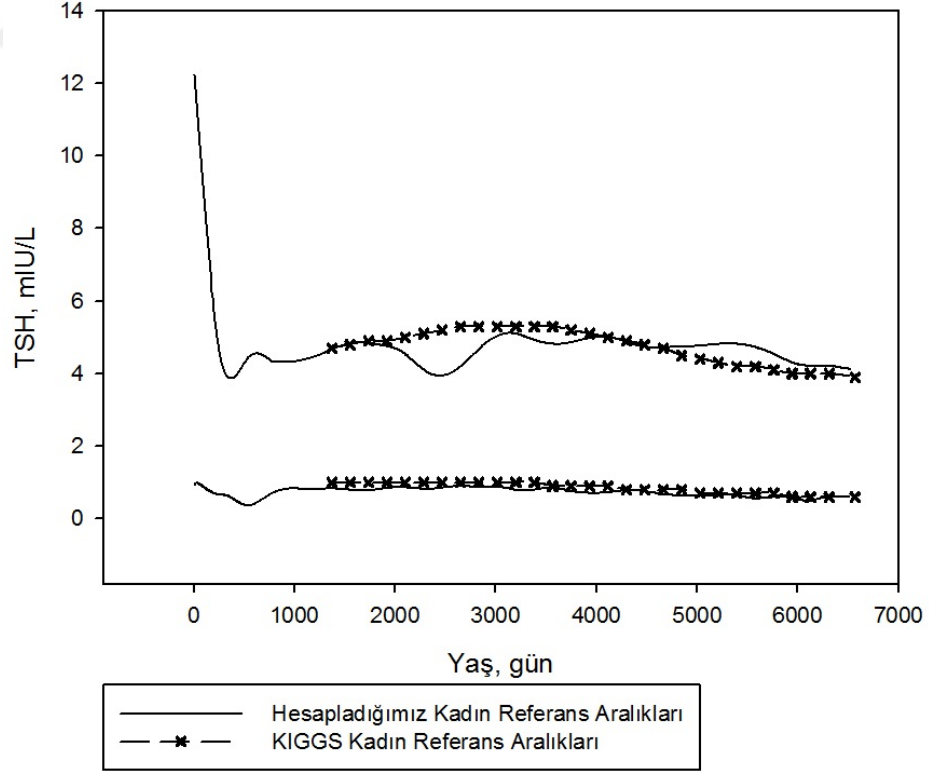
ST4 (pmol/L)	Toplam	Hesaplanmış RI	CALIPER	% Fark
		% Hasta	% Hasta	
5 - 14 gün	4749	9.22	13.99	-4.77
15 gün - 29 gün	3254	9.10	2.4	6.70
1 ay- 1 yıl	14182	7.33	8	-0.67
1 yıl - 18 yaş	143918	6.04	11.81	-5.76
5 gün - 18 yaş	166103	6.30	11.37	-5.06

4.4.2 Sürekli TSH ve sT4 RI'larımızın KiGGS'in Raporladığı Yaşa Göre Gruplandırılmış RI'larla karşılaştırılması

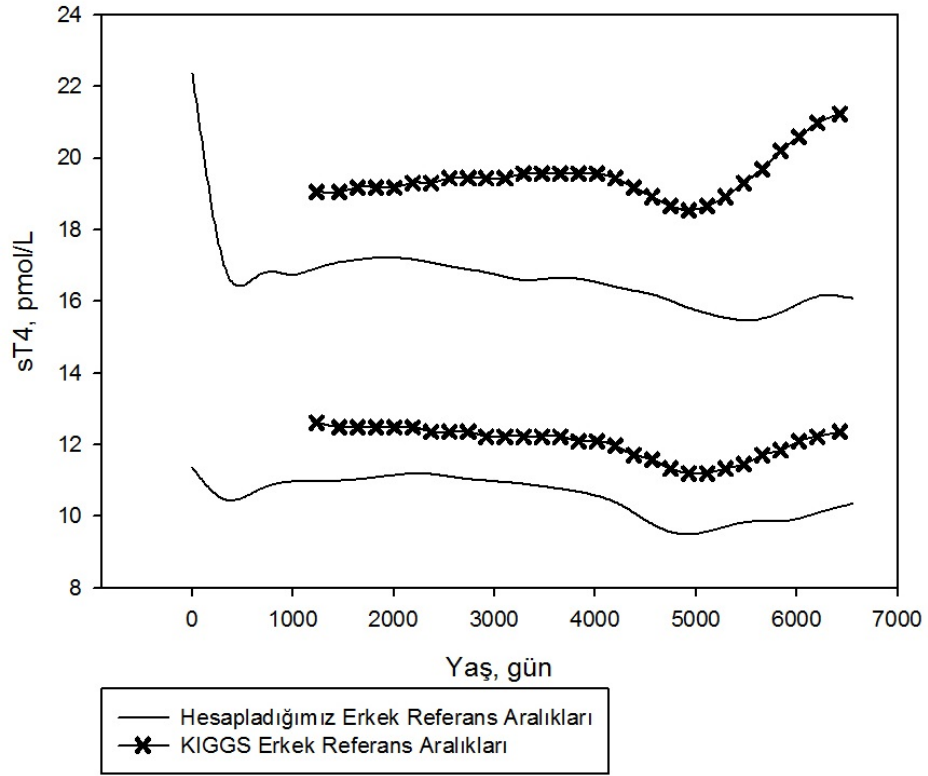
KiGGS'te referans aralıklar cinsiyete göre gruplandırma yapılarak belirlenmiştir. TSH için 6.723 erkek, 6.366 kadın ; sT4 için 6.723 erkek, 6.365 kadın çalışmaya dahil edilmiştir. TSH ve sT4 referans aralıkları 29 yaş grubuna ayrılarak belirlenmiştir. Bu yaş grubuna ayırım 3 yaştan 18 yaşına kadar referans bireyleri 6 aylık yaş aralıklarlarına ayırarak yapılmıştır. KiGGS'te 3 yaşından küçük çocuklar için TSH ve sT4 referans aralıkları belirlenmemiştir. Belirlediğimiz sürekli referans aralıkları KiGGS'in raporladığı yaşa göre gruplandırılmış RI'larla karşılaştırdık (şekil 4.11, 4.12, 4.13, 4.14).



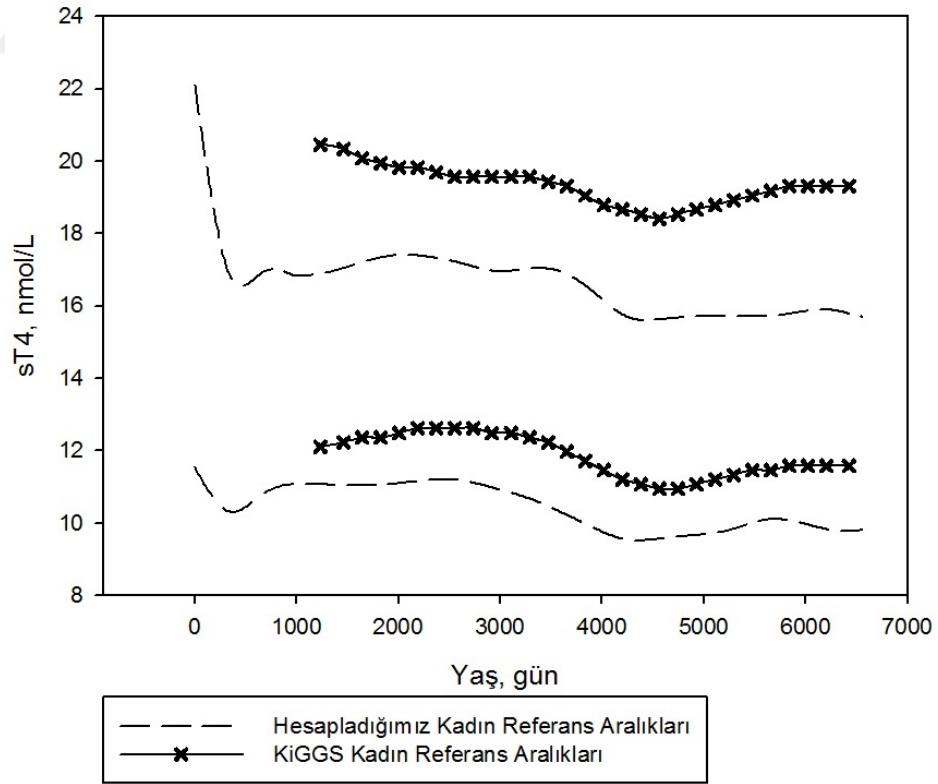
Şekil 4.11: Sürekli TSH RI'larıyla KIGGS RI'larının kıyaslanması (Erkek)



Şekil 4.12: Sürekli TSH RI'larıyla KIGGS RI'larının kıyaslanması (Kadın)



Şekil 4.13: Sürekli sT4 RI'larıyla KIGGS RI'larının kıyaslanması (Erkek)



Şekil 4.14: Sürekli sT4 RI'larıyla KIGGS RI'larının kıyaslanması (Kadın)

Belirlediğimiz sürekli referans aralıklarıyla ve KiGGS referans aralıklarıyla veri setimizi ayrı ayrı sağlıklı ve hasta olarak gruplandırdığımızda, KiGGS'e göre hasta yüzdesinde düşüş gözlemledik (tablo 4.13).

Tablo 4.13: KiGGS'e ve belirlediğimiz sürekli RI'lara göre hasta kabul edilen örnek yüzdeleri ve farkları (%)

	Hesaplanmış RI			KIGGS			Fark	
	Toplam	Kadın	Erkek	Toplam	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
TSH	7.59	8.8	8.43	—	10.2	8.72	-1.4	-0.29
sT4	4.91	5.53	5.79	—	15.68	18.84	-10.15	-13.05

Yaş gruplandırmalarını farklı yaptığımızdan bunun neden olabileceği farklılığı dışlamak için KiGGS'te referans aralıklar belirlenirken temel alınan yaş gruplarına göre de veri setimizi gruplandırdık. Bu grupların herbirinin referans aralıklarını da indirekt yöntemle belirledik. Elde ettiğimiz referans aralıklarıyla KiGGS referans aralıkları arasındaki istatistiksel (tablo 4.14 ve 4.15) ve klinik farklılığı (tablo 4.16 ve 4.17) bu açıdan da değerlendirdik.

Tablo 4.15: KiGGS sT4 R'ları ve Hesaplanan R'ların Karşılaştırılması (Doğruluk Çalışması)

Yaş Aralığı (Gün)	KiGGS sT4 Referans Aralıkları						Hesaplanmış sT4 (pmol/L)						% Fark		RCV* (%)
	Kadın (N = 6.365)			Erkek (N = 6.723)			Kadın			Erkek			% Fark		
	LRL	URL	Üst	LRL	URL	Üst	LRL	URL	Üst	LRL	URL	Üst	LRL	URL	
1095	12.10	20.46	12.61	12.61	19.05	19.05	11.20	16.73	11.20	16.60	16.60	7.45	18.24	11.22	12.84
1370	12.23	20.33	12.48	12.48	19.05	19.05	11.07	16.60	11.33	17.12	17.12	9.47	18.35	9.28	10.14
1552	12.36	20.08	12.48	12.48	19.18	19.18	11.58	17.25	11.33	17.12	17.12	6.25	14.10	9.28	10.74
1735	12.36	19.95	12.48	12.48	19.18	19.18	11.20	17.12	11.45	16.86	16.86	9.37	14.19	8.25	12.08
1918	12.48	19.82	12.48	12.48	19.18	19.18	11.58	17.12	11.45	16.73	16.73	7.22	13.64	8.25	12.75
2101	12.61	19.82	12.48	12.48	19.31	19.31	11.45	16.22	11.20	16.86	16.86	9.18	18.18	10.31	12.67
2284	12.61	19.69	12.36	12.36	19.31	19.31	11.58	17.25	11.45	16.86	16.86	8.16	12.42	7.29	12.67
2467	12.61	19.56	12.36	12.36	19.43	19.43	11.45	17.25	11.20	16.73	16.73	9.18	11.84	9.37	13.91
2650	12.61	19.56	12.36	12.36	19.43	19.43	11.20	16.34	11.20	16.86	16.86	11.22	16.45	9.37	13.25
2833	12.48	19.56	12.23	12.23	19.43	19.43	11.33	16.73	11.33	16.60	16.60	9.28	14.47	7.37	14.57
3016	12.48	19.56	12.23	12.23	19.43	19.43	10.81	16.47	11.33	16.60	16.60	13.40	15.79	7.37	14.57
3199	12.36	19.56	12.23	12.23	19.56	19.56	11.20	16.47	11.20	15.70	15.70	9.37	15.79	8.42	19.74
3382	12.23	19.43	12.23	12.23	19.56	19.56	10.81	16.73	11.07	16.60	16.60	11.58	13.91	9.47	15.13
3565	11.97	19.31	12.23	12.23	19.56	19.56	10.17	16.47	10.94	16.47	16.47	15.05	14.67	10.53	15.79
3748	11.71	19.05	12.10	12.10	19.56	19.56	10.30	16.09	11.07	16.34	16.34	12.09	15.54	8.51	16.45
3931	11.45	18.79	12.10	12.10	19.56	19.56	9.78	15.57	10.55	16.22	16.22	14.61	17.12	12.77	17.11
4114	11.20	18.66	11.97	11.97	19.43	19.43	9.91	15.57	10.55	15.83	15.83	11.49	16.55	11.83	18.54
4297	11.07	18.53	11.71	11.71	19.18	19.18	9.52	14.93	10.17	15.19	15.19	13.95	19.44	13.19	20.81
4480	10.94	18.40	11.58	11.58	18.92	18.92	9.78	15.19	9.65	15.96	15.96	10.59	17.48	16.67	15.65
4662	10.94	18.53	11.33	11.33	18.66	18.66	9.52	15.19	9.78	15.83	15.83	12.94	18.06	13.64	15.17
4845	11.07	18.66	11.20	11.20	18.53	18.53	10.04	15.38	9.91	15.57	15.57	9.30	17.59	11.49	15.97
5028	11.20	18.79	11.20	11.20	18.66	18.66	10.30	15.32	9.40	15.38	15.38	8.05	18.49	16.09	17.59
5211	11.33	18.92	11.33	11.33	18.92	18.92	10.42	15.70	10.17	15.32	15.32	7.95	17.01	10.23	19.05
5394	11.45	19.05	11.45	11.45	19.31	19.31	10.30	15.57	10.17	15.32	15.32	10.11	18.24	11.24	20.67
5577	11.45	19.18	11.71	11.71	19.69	19.69	10.17	15.19	9.91	15.19	15.19	11.24	20.81	15.38	22.88
5760	11.58	19.31	11.84	11.84	20.21	20.21	10.42	15.70	10.17	15.44	15.44	10.00	18.67	14.13	22.29
5943	11.58	19.31	12.10	12.10	20.59	20.59	10.30	15.57	11.45	15.70	15.70	11.11	19.33	5.32	25.00
5944	11.58	19.31	12.23	12.23	20.98	20.98	10.42	15.70	10.04	16.09	16.09	10.00	18.67	17.89	23.31
6127	11.58	19.31	12.36	12.36	21.24	21.24	10.42	15.83	10.55	16.09	16.09	10.00	18.00	14.58	24.24
6310	11.58	19.31	12.36	12.36	21.24	21.24	10.42	15.83	10.55	16.09	16.09	10.00	18.00	14.58	24.24

LRL: Alt Referans Limit, URL: Üst Referans Limit, RCV*: Referans Değişim Değeri

Tablo 4.16: KiGGS'in yaş aralıkları baz alarak indirekt yöntemle hesapladığımız TSH R'larının klinik sınıflamaya etkisi

Yaş Aralığı(gün)	Kadın (% Hasta)					Erkek (% Hasta)				
	Alt	Üst	Toplam Birey	KiGGS	Biz	Fark	Toplam Birey	KiGGS	Biz	Fark
1095	1369	2438	8.24	3.86	4.39	3026	9.88	5.78	4.1	
1370	1551	1543	13.48	7.06	6.42	1956	8.95	10.07	-1.12	
1552	1734	1619	12.72	10.01	2.72	1855	8.63	4.85	3.77	
1735	1917	1753	11.75	9.24	2.51	1961	9.54	9.08	0.46	
1918	2100	1678	10.73	10.01	0.72	1898	9.11	5.74	3.37	
2101	2283	1836	10.4	6.54	3.87	1934	7.91	5.12	2.79	
2284	2466	2042	9.84	6.27	3.57	2020	8.07	6.19	1.88	
2467	2649	2218	10.32	8.57	1.76	2167	6.92	8.72	-1.8	
2650	2832	2349	9.03	8	1.02	2174	8.14	6.58	1.56	
2833	3015	2488	23.39	12.06	11.33	2082	8.31	7.64	0.67	
3016	3198	2587	9.63	6.11	3.52	2140	8.46	7.8	0.65	
3199	3381	2453	9.25	10.4	-1.14	2154	8.4	9.89	-1.49	
3382	3564	2204	6.85	8.48	-1.63	2060	6.6	11.31	-4.71	
3565	3747	2140	9.49	8.93	0.56	2018	10.21	8.47	1.73	
3748	3930	1971	9.39	7.66	1.73	1987	9.31	22.4	-13.09	
3931	4113	2056	8.56	7.88	0.68	2023	7.61	3.26	4.35	
4114	4296	2026	8.34	6.52	1.83	2064	8.72	7.75	0.97	
4297	4479	2167	9	8.35	0.65	2049	4.44	9.03	-4.59	
4480	4662	2182	10.31	7.42	2.89	2049	4.44	9.03	-4.59	
4663	4845	2212	10.62	10.13	0.5	1941	9.02	7.83	1.18	
4846	5028	2404	8.65	5.07	3.58	1822	10.65	4.28	6.37	
5029	5211	2743	9.84	7.69	2.15	1869	8.19	5.4	2.78	
5212	5394	3029	10.83	8.55	2.28	1897	10.17	6.69	3.48	
5395	5577	3465	10.3	5.37	4.94	1892	9.73	6.61	3.12	
5578	5760	3746	10.81	6.49	4.32	1896	10.44	11.13	-0.69	
5761	5943	4123	9.9	6.91	2.98	1984	11.44	4.54	6.91	
5944	6126	4502	8.6	6.53	2.07	1971	11.16	6.44	4.72	
6127	6309	4713	9.34	7.36	1.97	2112	8.81	8.43	0.38	
6310	6569	6543	9.87	7.99	1.88	2826	9.7	6.44	3.26	
Toplam		77230	10.2	7.63	2.57	59827	8.72	7.79	0.93	

Tablo 4.17: KiGGS'in yaş aralıklarını baz alarak indirekt yöntemle belirlediğimiz sT4 RI'larının klinik sınıflamaya etkisi

Yaş Aralığı (Gün)		Kadın				Erkek			
Alt	Üst	Toplam Birey	KiGGS	Biz	%Fark	Toplam Birey	KiGGS	Biz	%Fark
1095	1369	2394	7.52	6.06	1.46	2957	17.92	7.03	10.89
1370	1551	1493	11.59	6.7	4.89	1913	14.38	4.65	9.72
1552	1734	1591	11.88	5.85	6.03	1797	14.25	4.28	9.96
1735	1917	1726	11.99	5.62	6.37	1901	13.52	7.36	6.15
1918	2100	1617	11.5	7.05	4.45	1847	12.78	8.01	4.76
2101	2283	1768	13.63	12.9	0.74	1865	14.05	6.43	7.61
2284	2466	1973	13.28	7.05	6.23	1965	12.77	6.92	5.85
2467	2649	2153	13.52	4.92	8.59	2088	15.04	5.84	9.2
2650	2832	2320	15.99	8.92	7.07	2099	15.96	5	10.96
2833	3015	2419	14.47	6.28	8.19	2033	13.48	7.13	6.35
3016	3198	2536	18.22	5.64	12.58	2053	15.15	7.11	8.04
3199	3381	2402	19.11	8.03	11.07	2084	15.31	11.04	4.27
3382	3564	2139	19.82	6.22	13.6	2001	16.24	4.95	11.29
3565	3747	2078	19.15	5	14.15	1952	19.57	6.2	13.37
3748	3930	1903	17.45	6.1	11.35	1936	16.43	6.97	9.45
3931	4113	1994	18.3	6.47	11.84	1970	18.22	5.28	12.94
4114	4296	1916	18.53	5.48	13.05	2003	18.07	7.74	10.33
4297	4479	2030	18.37	9.16	9.21	1986	17.07	11.53	5.54
4480	4662	2022	15.63	5.34	10.29	1995	19.8	3.91	15.89
4663	4845	2097	14.59	5.15	9.44	1862	20.25	4.73	15.52
4846	5028	2199	14.96	7.23	7.73	1776	21.57	6.64	14.92
5029	5211	2485	13.64	7.44	6.2	1801	20.66	4.94	15.71
5212	5394	2737	17.21	6.65	10.56	1798	23.47	8.12	15.35
5395	5577	3055	15.84	6.25	9.59	1780	19.66	8.48	11.18
5578	5760	3221	15.43	8.79	6.64	1738	23.3	8.23	15.07
5761	5943	3442	17.23	6.77	10.46	1749	23.1	6.46	16.64
5944	6126	3609	17.15	6.82	10.34	1693	29.71	20.38	9.33
6127	6309	3694	15.97	7.39	8.58	1746	32.36	3.89	28.47
6310	6569	5044	16.34	6.28	10.05	2294	34.87	7.11	27.77
Toplam		70057	15.68	6.82	8.87	56682	18.84	7.08	11.77

TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. TARTIŞMA

Tiroid hormonları intranükleer reseptörlere bağlanarak transkripsiyon faktörleri olarak işlev görür ve gen ifadesini düzenler. Tiroid hormonları her doku tipinde etkilidir. Fetus, çocuk ve ergenlerde hayat boyunca büyüme, gelişme ve metabolizma üzerinde ciddi etkileri vardır. Tiroid hormonları bazal metabolik hızı korur ve böylece endojen ve eksojen maddelerin metabolizmasını düzenler.

Tüm dokuları etkileme potansiyeli olduğundan tiroid fonksiyon bozukluğunun bulgu ve semptomları oldukça değişkendir. Bundan dolayı klinik uygulamada tiroid fonksiyon testleri sık ölçülen parametrelerdendir (54). Klinik bulgular hipotalamus-hipofiz-tiroid aksında bir anormalliği işaret etmezse laboratuvar değerlendirmesi TSH ölçümü ile başlatılır (55). TSH referans aralığı içinde bulunursa tiroid disfonksiyonu genellikle dışlanabilir. TSH referans aralığın altındaysa, sT4 ölçümü yapılır. TSH düşük ve sT4 yüksekse biyokimyasal olarak primer hipertiroidizm tanısı konur. TSH referans aralığının üzerindeyse yine sT4 ölçülmelidir. Eğer sT4 düşük bulunursa biyokimyasal olarak primer hipotiroidizmin tanısı konur. Hipotiroidizm klinik bir değerlendirme olduğundan T3 (veya sT3) ölçümü gerekli veya ek bilgi sağlamamaktadır. Ayrıca, primer hipotiroidizmde yüksek TSH konsantrasyonları, T3 üretimini T4 üretiminden daha fazla uyardığından T3, T4'ten daha sonra azalır.

Hipotiroidizm, tiroid hormon salgısında ve hipometabolizmanın çeşitli klinik belirtilerini ve semptomlarını üreten aksiyonda bir eksiklik olarak tanımlanır (56, 57). Bu yaygın bozukluk, popülasyonun % 2 ila

% 15'inde, daha yaygın olarak da erkeklerde görülür. Hipotiroidizm gelişme riski yaşla birlikte artar (58). Hipotiroidizmi düşündüren klinik semptomlar arasında zihinsel küntlük (tedavi edilmemiş veya tedavi altındaki konjenital hipotiroidili çocuklarda mental retardasyon dahil), artmış uyku, uyuşukluk, sesin derinleşmesi, saç dökülmesi, kilo alımı, soğuk intoleransı, adet düzensizliği, ergenlik gecikmesi, kabızlık, kas zayıflığı veya krampları ve depresyon yer alır (59). Hipotiroidizm ile uyumlu fiziksel bulgular ise bradikardi, azalmış nabız basıncı, kuru cilt, dış lateral kaşların kaybı, gecikmeli gevşeme fazı reflekslerin ("asılı" refleksler), miyopati, karotenemi, zaman zaman galaktore ve çocuklarda gecikmiş kemik yaşının radyolojik bulguları sayılabilir. Tedavi edilmeyen konjenital hipotiroidili çocuklarda şiddetli büyüme ve mental retardasyon gelişir. Konjenital hipotiroidizm vakalarında biyolojik ve biyokimyasal süreçlerin gelişimi gecikmektedir. Örneğin, etkilenen bebeklerde UDP-glukuronil transferazın olgunlaşmaması sonucu sıklıkla uzamış sarılık görülür.

Hipertiroidizm semptomları sinirlilik, düzensiz davranış, duygusal kararsızlık, huzursuzluk, uykusuzluk, yumuşak ve / veya parlak saç ve / veya cilt, kilo kaybı, aşırı terleme, ısı intoleransı, adet düzensizliği ve diyare sayılabilir. Hipertiroidizmle uyumlu fiziksel bulgular arasında taşikardi, atriyal aritmiler, sistolik üfürümler, artmış nabız basıncı, sınırlayıcı nabız, ılık ve / veya nemli cilt, tremor, artmış refleksler, göz kapağı retraksiyonu ve hipokolesterolemi sayılabilir.

TSH ve sT4'e dayanarak, hipotiroidizmin veya hipertiroidizmin nedenleri primer veya santral olarak sınıflandırılır. Santral bozukluk hipofiz veya hipotalamus kaynaklı olabilir.

Toplumda tiroid fonksiyon bozukluklarına çok sık rastlanmaktadır. Bir hastanın tiroid durumu hakkında karar vermek için şikayetlerini, fizik muayene bulgularını ve tiroid fonksiyon testlerini birlikte değerlendirmek gerekir. Bazen klinik bulgular ile laboratuvar testlerinin uyumsuz çıktığı da görülebilir. O zaman interferans yapan bazı faktörlerden şüphelenilir ve daha ileri tetkikler istenebilir. Bazen

tiroid hastalığının durumu zamanla kendiliğinden değişmektedir. Bu durumda karar verebilmek için periyodik olarak testler tekrarlanarak çözümlene zamana bırakılır.

Laboratuvar testlerinin yanlış yorumu hastada var olan bir hastalığın tedavi edilmemesine yol açabileceği gibi, tersine var olmayan bir durumun varmış gibi tedavi edilmesine ve hasta için ciddi sonuçlar doğurmasına neden olabilir. Sistemik bir hastalık bulunmadıkça normal bir TSH konsantrasyonu, primer hipotiroidi ve hipertiroidiyi dışlamada % 99 negatif predikif değere sahiptir yani tiroid patolojisini dışlar.

Serum tiroid hormonları ile TSH arasında, ters log-lineer ilişki vardır; yani serum tiroid hormonlarındaki çok küçük değişiklikler bile TSH'de büyük oynamalara yol açar. Bu sebeple, hassas immünometrik yöntem ile yapılan TSH ölçümleri tiroid fonksiyonunu değerlendirmede tarama testi olarak kullanılır.

Laboratuvarlar, teknolojideki gelişmelere paralel olarak klinik karar verme sürecinin önemli bir parçası haline gelmiştir. Çoğu hastalığın taraması, tanısı ve tedavi takibi birçok analitin ölçümüne bağlıdır. Bu ölçüm sonuçları da kullanılan referans aralıklara veya karar sınırlarına göre değerlendirildiğinden, referans aralıkların belirlenmesi çok önemlidir.

Çoğu laboratuvar, üreticinin kendisine sağladığı veya literatürden aldığı referans aralıkları kullanır. Ancak kullanılan bu referans aralıklar, çalışmanın yapıldığı analitik platforma ve toplumun özelliklerine göre belirlenir. Üretici firmalar dünyanın birçok yerine kitlerini gönderdiğinden bu firmaların her yer için ayrı ayrı referans aralık belirlemesi pek mümkün değildir.

Referans aralıkları, toplumun etnik, genetik ve çevresel farklılıklarını gözardı ederek hiç bir çalışma yapmadan olduğu gibi kendi laboratuvarlarımıza transfer edip kullanmak yanlış değerlendirmelere neden olabilir. Bundan dolayı üreticilerin sağladığı veya literatürdeki

referans aralıklarının transferi yerine her laboratuvarın kendi referans aralıklarını belirlemesi önerilir.

Bundan dolayı TSH ve sT4 hormonlarının doğumdan erişkinliğe kadarki süreçte yaş ve cinsiyete özgü sürekli referans aralıklarını belirlemeyi amaçladık. Bunun için 18 yaş altı ayaktan ve yatan tüm hastalara ait numunelerin TSH ve sT4 ölçüm sonuçlarını retrospektif olarak laboratuvar veritabanından aldık. TSH ve sT4 için sırasıyla 262.161 (116.039 erkek 146.122 kadın) ve 244.226 (110.999 erkek; 133.227 kadın) adet veri kullandık. Hastane veri bankasından her teste ait verileri retrospektif olarak ayrı ayrı Microsoft Office Excel dosyası olarak indirdik. İndirilen ham verileri aşağıdaki işlemlere tabi tuttuk:

- 1.** Yazım hatası olan ve analitik aralığın dışında olan verileri dışladık.
- 2.** Hemoliz, ikter ve lipemik numuneleri çalışmaya dahil etmedik.
- 3.** Tekrar test istemi yapılan hastaların ilk sonucundan sonraki verilerini çalışmaya almadık.

Bu işlemler sonucunda 177.383 TSH (80.827 erkek; 96.556 kadın) ve 166.939 (77.666 erkek; 89.273 kadın) sT4 verisi çalışma grubumuzu oluşturdu. Sürekli referans aralıkları daha önceden kullanılan ve valide edilmiş bir indirekt metotla hesapladık (43, 44). Bu metodun temel aldığı algoritmaya göre:

- 1.** Verileri yaş gruplarına ayırdık.
- 2.** Her yaş grubunun ayrı ayrı referans limitlerini belirledik.
- 3.** Bu referans limitleri birleştirerek sürekli referans aralıkları oluşturduk.

Microsoft Excel programında TSH veri setini 59, sT4 veri setini ise 167 yaş grubuna ayırdık ve dağılımlarını inceledik. Çok sayıda verinin, kullandığımız indirekt metodun uygulanmasına ve doğumdan yetişkinliğe kadarki süreçte yüksek çözünürlüklü sürekli referans aralıklarını belirlememize imkan tanıyacağını farkettilik. Bunun da klinik karar verme sürecinde özellikle de direkt yöntemle referans

aralık belirlemenin çok zor olduğu yaşamın ilk aylarında bize ciddi katkı sağlayabileceğini düşündük.

Patolojik örneklerin hesaplanan referans aralıklara olası etkilerini sınamak ve kullandığımız referans aralık hesaplama yönteminin güvenilirliğini araştırmak için iki farklı veri seti oluşturduk. İlk veri seti tüm veri kümesini içerirken ikinci veri seti yoğun bakım, onkoloji, endokrinoloji ve enfeksiyon ünitelerinden alınan örnek verilerini içermiyordu. Bu dışlama sonucunda ikinci veri setinde TSH için 125.922 (60.566 erkek; 65.356 kadın) ve sT4 için 146.670 (68.791 erkek; 77.879 kadın) veri kaldı. Bu veri setini de gruplara ayırdığımızda TSH için 45 ve sT4 için 70 yaş grubu oluşturduk (tablo 3.2).

Hastane popülasyonumuzun yaş dağılımına ve belirli bir yaş aralığındaki hasta sayısına bağlı olarak oluşturduğumuz bu zaman dilimleri farklı genişlikteydi. Örneğin TSH için ilk 3.000 kişilik yaş grubu 0-8 günlük yenidoğan verilerinden oluşurken beşinci 3.000 kişilik grup 64-149 günlük pediatrik veriden oluşmaktadır.

Referans aralıkları belirlemekte kullandığımız bu ölçüm sonuçlarında çalışma periyodunca zamansal bir sapma olup olmadığını değerlendirerek elde ettiğimiz referans aralıkların da stabilitesini görmek mümkündür. Her bir analitin stabilitesini çalışma periyodunca, aylık medyan değerlerinin stabil olmasıyla gösterdik (şekil 4.1, 4.2). Görüldüğü gibi hem TSH hem de sT4 verilerinin medyan ve diğer yüzdeler değeri çalışma periyodu olan 01.05.2013 ile 31.12.2017 arasında yatay bir seyir izlemektedir. Sonuç itibarıyla elde ettiğimiz referans aralıkların da stabil olduğu sonucuna vardık.

Belirlediğimiz referans aralıkların laboratuvar bilgi sistemlerine entegrasyonunu sağlamak için yaşa (gün bazında) ve cinsiyete özgü referans aralıkları içeren verileri tablolar ve grafikler halinde verdik (tablo 4.1, 4.2; şekil 4.5, 4.6). Bu tablolardan ve grafiklerden de açıkça

anlaşılacağı gibi erkek ve kadın referans limitleri arasında neredeyse tam örtüşme görülmektedir.

Ayrıca olası patolojik verilerin yer aldığı veri setiyle tüm verilerin yer aldığı veri seti arasında da neredeyse tam bir örtüşme mevcuttur. Şekil 4.5 ve 4.6'te bu net bir şekilde görülmektedir. Yani her ne kadar ana veri seti patolojik verilerle kontamine olsa da bu sonucu değiştirecek yoğunlukta değildir. Ayrıca kullandığımız algoritma en ideal kırpma noktalarını belirleyerek bu patolojik verilerin etkisini minimize etmektedir. Bu benzerliği gördükten sonra ileri analizleri ve karşılaştırmaları tüm verilerin yer aldığı ana veri setinde gerçekleştirdik.

Analitlerin her ikisi de doğumdan sonraki süreçte özellikle de ilk haftalarda, yaşa bağlı olarak kısa sürede ciddi düşüş gösterdi. Bu düşüşün olduğu fizyolojik kesme noktaları olmadığı için, değişim sadece farklı yaş gruplarına ayrılarak yakalanabilir. Yaşamın ilk aylarında yaş ile birlikte TSH ve sT4 referans aralıklarındaki sürekli değişim şekil 4.8 ve 4.10'da görülmektedir.

Belirlediğimiz sürekli referans aralıklarının doğruluğunu belirlemek ve karşılaştırmak için dünyada en çok bilinen ve referans kabul edilen pediatrik popülasyonda referans aralık çalışmalarından olan CALIPER (Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Intervals) (49) ve KiGGS (German Health Interview and Examination Survey For Children and Adolescents) (50) çalışma verilerini kullandık. Bu çalışmalarda referans aralıklar direkt metodla belirlenmiştir.

CALIPER çalışmasında referans aralıklar TSH ve sT4 için cinsiyet ayrımı yapılmaksızın belirlenmiştir. Analitler bizim de kullandığımız Abbott ARCHITECT i2000 otoanalizöründe kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkikiyle (CMIA) ölçülmüştür.

TSH referans aralıkları yalnızca 4 gün-6 ay, 6 ay-14 yaş ve 14 yaş-18 yaş grupları için toplam 1.038 referans bireyde belirlenmiştir. 4 gün-6 ay grubu tüm çalışma grubunun % 13'ünü (139 birey), 6 ay-14 yaş

grubu % 62'sini (640 birey) ve 14 yaş-18 yaş grubu ise % 25'ini (259 birey) oluşturmuştur. ST4 referans aralıkları ise yalnızca 5 gün-14 gün, 15 gün-1 ay, 1 ay yaş-1 yaş ve 1 yaş-18 yaş grupları için toplam 1,343 referans bireyde belirlenmiştir. 5 gün-14 gün yaş grubu tüm çalışma grubunun % 5'ini (66 birey), 15 gün-1 ay yaş grubu % 4'ünü (55 birey), 1 ay yaş-1 yaş grubu % 20'sini (270 birey) ve 1 yaş-18 yaş grubu ise % 71'ini (952 birey) oluşturmuştur.

Kendi TSH verilerimizi CALIPER'in temel aldığı yaş gruplarına göre ayırdığımızda 0 gün-3 gün aralığında 363, 4 gün-6 ay yaş aralığında 15.420, 6 ay-14 yaş aralığında 114.219 ve 14 yaş-18 yaş aralığında 47.381 pediatrik birey bulunmaktaydı. ST4 verilerimizi CALIPER'in temel aldığı yaş gruplarına göre ayırdığımızda 0 gün-4 gün aralığında 836, 5 gün-14 gün yaş aralığında 4.830, 15 gün-1 ay yaş aralığında 3.403, 1 ay yaş-1 yaş aralığında 14.349 ve 1 yaş-18 yaş aralığında 143.921 pediatrik birey vardı.

CALIPER çalışmasında ilk üç günlük yenidoğan grubu için belirlenmiş TSH referans aralığı mevcut değildir. Belirlenen en küçük yaş grubu 4 gün-6 ay yaş grubudur. Bu kadar geniş bir yaş grubu çoğu fizyolojik süreci bir potada eriterek bize ortalama birşey söylemekten öteye gidemez. Çünkü bizim belirlediğimiz sürekli referans limitler literatürle de uyumlu olarak ilk haftalarda zirve yapmış, 2. ayın sonuna kadar hızlı bir düşüş seyri izlemiş ve 6. ayın sonlarında CALIPER referans aralığı bandına inmiştir. Sonraki süreçte erişkinliğe kadar birbirine yakın ve paralel bir seyir izlemiştir. İlk altı aylık süreçte bu fark hem istatistiksel (tablo 4.11) hem de klinik olarak sonraki sürece göre çok yüksektir (şekil 4.7, 4.8).

CALIPER çalışmasında ilk dört günlük yenidoğan grubunda sT4 referans aralığı belirlenmemiştir. Belirlenen en küçük yaş grubu 5 gün-14 gün yaş grubudur. Bizim belirlediğimiz sürekli referans limitler ilk haftalarda zirve yapmış, 2. ayın sonuna kadar hızlı bir düşüş seyri izlemiş ve daha sonra erişkinliğe kadar birbirine yakın ve paralel bir seyir izlemiştir. CALIPER verileri ise bu düşüşü kesikli olarak

sunmuştur. Ayrıca ilk iki aydaki fark hem istatistiksel (tablo 4.10) hem de klinik sınıflandırma olarak sonraki sürece göre oldukça yüksektir (şekil 4.9, 4.10). Sürekli referans aralıklar veri setine teorik olarak uygulandığında hasta kabul edilen örneklerin sayısında CALIPER referans aralıklarına göre TSH için % 3,79 ve sT4 için % 5,74'lük düşüş gözlemledik (tablo 4.8 ve 4.13).

Sürekli referans aralıklarımızla bu dinamik fizyolojik süreci adım adım izleyebildik. CALIPER çalışmasının sunduğu referans limitler ise bu süreçte stabildi. Diğer bir deyişle bu dinamik değişim süreci CALIPER verilerinin görüş alanı dışında kalmıştır. Bundan dolayı CALIPER çalışmasındaki yaş gruplarına ayırma noktalarının fizyolojik bir kesim noktasından kaynaklanmadığını yani keyfi olduğunu düşünmekteyiz. TSH'nin ve sT4'ün sürekli referans aralıklarını, CALIPER'den aldığımız yaşa göre gruplanmış referans aralık verileriyle karşılaştırdığımızda, CALIPER'in özellikle ilk yaş gruplarını temsil etme problemi açıkça ortadadır. Eksiklikler özellikle yenidoğan döneminde belirgin hale gelir (şekil 4.8 ve 4.10).

KiGGS çalışmasında referans aralıklar cinsiyetler için ayrı ayrı belirlenmiştir. TSH için 6.723 erkek, 6.366 kadın; sT4 için 6.723 erkek, 6.365 kadın çalışmaya dahil edilmiştir. Analitler Roche Cobas E2010 analizöründe elektrokemilüminesans immünolojik tetkikiyle (ECLIA) ölçülmüştür. TSH ve sT4 referans aralıkları 29 ayrı yaş grubu için belirlenmiştir. Bu yaş grubuna ayırım 3 yaş-18 yaş aralığındaki referans bireyler 6 aylık yaş aralıklarına ayrılarak yapılmıştır. KiGGS'in ilk 3 yaşlık popülasyonu temsil edecek TSH ve sT4 için belirlenmiş referans aralığı yoktur. Bundan dolayı bu kıyaslamayı en kritik grup olan yenidoğanlarda yapamadık.

Belirlediğimiz sürekli TSH referans aralıklarıyla KiGGS referans aralık verileri her iki cinsiyette de yetişkinliğe kadar neredeyse benzer bir seyir izlemekteydi (şekil 4.11, 4.12). Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (tablo 4.14). Klinik farklılık ise CALIPER'e kıyasla çok daha azdı (tablo 4.13 ve 4.16).

Belirlediğimiz sürekli sT4 referans aralıklarıyla KiGGS referans aralık verileri her iki cinsiyette önemli farklılık gösterdi. Ancak bu fark sürekli sabit ve verilerimizle paraleldi (şekil 4.13, 4.14). Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (tablo 4.15). Klinik farklılık ise CALIPER'e kıyasla daha fazlaydı (tablo 4.13 ve 4.17). Bunun kullanılan cihaz ve metodun farklı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Patolojik olarak kabul edilen örneklerin sayısında KiGGS referans aralıklarına göre TSH için % 0,29 ve sT4 için % 13,05'lik bir düşüş gözlemledik (tablo 4.13).

Belirlediğimiz sürekli TSH ve sT4 RI'ları literatürle uyumlu olarak bebeklik döneminde sürekli azaldı ve sonraki süreçte cinsiyete özgü farklılıklar olmaksızın oldukça stabildi. CALIPER ve KiGGS çalışmasından sağlanan referans aralık verileriyle karşılaştırıldığımızda yaşa bağlı değişikliklerin başlangıcını yakaladığımızı gördük.

Analiz edilen örneklerin sayısının çok olması ayrı yaş gruplarında analit konsantrasyonundaki veya aktivitesindeki değişimi yaşa bağlı değerlendirme ihtiyacını ortadan kaldırır. Buna göre, belirlediğimiz sürekli RI'lar, değişimlerin literatürde tanımlanmış yaş noktalarındaki ani değişikliklerden ziyade kademeli değişimler olduğunu gösterdi (şekil 4.3, 4.5, 4.4 ve 4.6). Diğer deyişle rapor edilen düşük çözünürlüklü ve kesikli referans aralıklarının temelinde yatan hassas fizyolojik noktaların aslında olmadığını göstermiştir. Yani yaş gruplarına ayırmak yeterli sayıda örnek olmadığında yapılmak zorunda kalınan teknik bir kısıtlamadır. Yeterli sayıda örnek varlığında, bu kısıtlama ortadan kalkar (şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14). Bununla birlikte, sürekli referans aralıklarının mevcudiyeti, fizyolojik veya patolojik değişimlerin daha hassas bir şekilde incelenmesine fırsat tanır. Fizyolojik gelişim veya hastalığa bağlı değişimin daha erken ve kesin ayırımına izin verir.

Elde ettiğimiz sürekli referans aralıkları veri setimize teorik olarak uyguladığımızda, CALIPER ve KiGGS referans aralıklarına kıyasla,

patolojik olarak sınıflandırılan örneklerde bir düşüş gözlemledik. Bu veriler, hastane popülasyonumuza ve analitik metodumuza spesifik olduklarından yorumlarken dikkatli olmak gerekir. Bu bulgular, CALIPER ve KiGGS referans aralıklarının pediatrik sonuç raporlamasında kullanılmasının klinik sınırlamalarını göstermektedir.

Sürekli referans aralıklarının potansiyel faydaları arasında sonuçların raporlanmasına yönelik güncel kompleks yaklaşımları beraberinde getirmesi sayılabilir. Bu nedenle, sonuç raporlarının geliştirilmiş biçimleri gereklidir. Grafikselleştirilmiş sonuç gösterimiyle sonuçların raporlanması gelecekteki raporlama formatı olabilir. Bu şekilde sonuç vermek için teknik altyapı oluşturulabilir. Sağlanan sürekli referans aralıkları, laboratuvara yazılım sağlayıcılarının sonuç gösterimi için yeni stratejileri uygulamaya koymaları için itici bir güç olabilir (60).

Referans aralık elde etmek için indirekt yöntemlerin kullanımı tartışmalıdır. Literatürde indirekt yöntemlerin patolojik olmayan örnekleri doğru bir şekilde tanımlama yeteneği sorgulanmıştır (61–64). Bu nedenle sonuçlarımızın diğer hasta kohortlarında ve analitik platformlarda doğrulanması önemlidir. Bununla birlikte, indirekt yöntemlerle ilgili bu kaygıların temelinde, kullanılan algoritmanın örneklerin normal dağılım gösterdiği varsayımıyla çalışması yatmaktadır (15, 62). Kullandığımız yazılımdaki (R temelli çalışan RLE49) algoritma, sağlıklı örnekleri çarpık dağılım gösteren verilerde çok sık kullanılan Box–Cox dağılımı gösterdiği varsayımıyla çalışmaktadır (65). Kullandığımız bu algoritma, daha önce geniş bir hastane popülasyonunda yapılan bir çalışmada kullanılmış ve direkt yaklaşımla karşılaştırılabilir referans aralıklar elde ettiği gösterilerek valide edilmiştir (66).

Birçok analitin karmaşık dinamiği, geniş yaş gruplarına ayrılarak yeterince temsil edilemez. Sağladığımız sürekli tanımlama prosedürü, pediatrik laboratuvar test sonuçlarını yorumlarken klinik karar verme sürecine ciddi katkı sağlayabilir. Klinik karar verme için güvenilir RI'ların mevcudiyeti çok önemlidir. Teknik ilerlemeler mevcut

laboratuvar testlerinin kesinlik ve doğruluğunu geliştirmiş ve yaygın kullanımını sağlamış olsa da, RI'ların üretilmesi süreci zorludur.

Laboratuvar analitlerinin referans aralıklarının oluşturulması için geleneksel yaklaşımın pediatrik sağlıklı referans popülasyona uygulanması zahmetli, etik açıdan zorlayıcı ve çoğu zaman mümkün değildir. Bu nedenle pediatrik popülasyonda ve özellikle de yeni doğanlar için çok az yaşa özgü RI'lar vardır. Mevcut pediatrik RI'lar genellikle heterojendir ve küçük referans popülasyonlar kullanılarak onlarca yıl önce belirlenmiştir. Bu bağlamda, geleneksel yöntemlerle yeterli yaş çözünürlüğüne sahip kurum içi, kullanılan cihaz ve metoda özgü pediatrik RI'ların elde edilmesi pek mümkün değildir. Bu problemler RI oluşturmak için alternatif yaklaşımların geliştirilmesine yol açmıştır. Hem patolojik hem de patolojik olmayan örnekleri içeren hastane veri tabanlarına dayalı indirekt yöntemler önerilmiş ve kullanılmıştır.

Sürekli RI'ların indirekt yöntemle saptanması literatürdeki RI'lara oldukça benzer aralıklar üretmiştir (şekil 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10). Belirlediğimiz TSH alt veya üst limitleri CALIPER ve KiGGS'in yayınladığı sınırlardan istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermezken (tablo 4.9, 4.14); sT4 için anlamlı fark gösterdi (tablo 4.10, 4.15). ST4'deki bu istatistiksel farklılığın nedenininin KiGGS'in farklı cihaz ve metodoloji kullanması olduğunu düşünmekteyiz. CALIPER çalışmasının tüm pediatrik süreç için yalnızca 4 yaş grubunda sT4 referans aralık belirlemesine ve bunun da yalancı yüksek farka neden olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca bu çalışmaların farklı bir popülasyonda yapılmış olması da bu farka katkı sağlamış olabilir. İstatistiksel yöntemin ve çok sayıda gözlemin seçilmesinin, indirekt yöntemlerden türetilen RI'ların doğruluğunu sağlamadaki kritik bileşendir. Tarif edilen teknik, bu amaç için uygun bir tekniktir.

5.2. TEZİN KISITLILIKLARI

Sürekli referans aralık hesabında kullandığımız program ve algoritma bazı varsayımlar üzerine çalışmaktadır.

Gözlemlenen ampirik dağılım, merkezi hastalıklı olmayan bireylerin yer aldığı bir grup ve dağılımın her iki ucundaki hasta iki alt grup olmak üzere 3 gruptan oluşur. Merkezi kısım sonuçlarının çoğunu içerir ve hastalıklı bireylerin verilerinin kontaminasyonu ihmal edilebilir (46). Hasta olmayan alt grubun, transforme edilmemiş veya Box-Cox-dönüştürülmüş izole sonuçları, normal olarak dağılır. Bu ifade daha önce onaylanmıştır ve kolayca test edilebilir (16). Bu varsayım, rutin klinikle uyumludur.

Hastaliksız merkezi alt grubun yoğunluk fonksiyonunun modu, etrafındaki fonksiyonun modundan ve şeklinden etkilenmez. Bu varsayım bazı sınırlamalara yol açmaktadır: hastalıklı ve hastalıklı olmayan alt grupların mod mesafesi çok dar olduğunda veya yaygınlık çok yüksek olduğunda ve dolayısıyla nispeten yüksek örtüşmelere yol açıyorsa şekil etkilenir ve referans limitlerin yanlış tahminine yol açar. Bu nedenle, ayrıştırma tekniklerinin uygulanması teorik olarak mesafe ve yaygınlık ile sınırlıdır.

Diğer bir varsayım veri toplama döneminde analitik kayma etkilerinin meydana gelmediği varsayımdır. Hasta olmayan alt grup ve hastalıklı alt grup arasındaki mesafeye bağlı olarak minimal hastalık prevalansı olmalıdır. Mesafe ne kadar küçükse, önerilen prosedür için gerekli olan asgari prevalans da o kadar yüksektir.

Hastaliksız alt grubun, Horn ve Pesce'in (30) işaret ettiği gibi, hastalıklı bireylerle kontaminasyonu, çoğu referans popülasyonda kaçınılmazdır. Bu çalışmada, yoğun bakım, onkoloji, enfeksiyon hastalıkları ve endokrinoloji kliniği hastaları, tekrarlı sonuçları olan bireylerin önceden seçilmesiyle azaltılmıştır. Çalışmada kullandığımız yöntem, beslenme durumuna (örn., glikoz) bağlı analitler için uygun değildir. Çünkü bu bilgilere retrospektif olarak ulaşmak pek mümkün değildir.

Önerilen prosedür kullanılarak belirlenen son referans limitlerin yayınlanan verilerle karşılaştırılması gerekir. Farklılıklar ortaya çıkarsa, laboratuvar farklılıkları açıklamaya çalışmalı, bunları kabul edip etmediğine karar vermeli ve bu kararın nedenlerini belgelemelidir. Mevcut prosedür ayrıca tanı etkinliğini daha da geliştirmek için diğer dışlama, dahil etme ve / veya bölümlene kriterleri ile birleştirilerek daha kaliteli sonuçlar elde edilebilir. Hasta verilerinin kodlanması ve depolanması için rutinde uygulanan teknikler geliştirilerek daha yüksek diyagnostik etkinliğe sahip RI'ların elde edilmesini sağlayacak daha güvenilir veri tabanları oluşturulabilir. Sunulan yaklaşım aynı zamanda kalite takibi için de kullanılabilir. Sadece büyük veri havuzlarına sahip laboratuvarlar için uygundur.

5.3. SONUÇ

Mevcut laboratuvar veri tabanı üzerinden indirekt yöntemle elde ettiğimiz sürekli RI'ların güvenilir olduğunu gösterdik. Yöntem, literatürde bildirilen ve direkt yöntemle elde edilen RI'larla istatistiksel ve klinik olarak benzer sonuçlar üretmiştir. Bu yöntem sorunlu bir analit (TSH) için son bilimsel gözlemler ve klinik öneriler ile güçlü bir uyum içinde sonuç üreten RI elde etmeyi başardı.

Bu teknik, geleneksel direkt örnekleme tekniklerine göre bir dizi avantajlara sahiptir. Özellikle, pediatrik ve geriatric popülasyonlar gibi çalışma zorluğu barındıran popülasyonlarda RI belirleme kolaylığı sağlar. Ek olarak, mevcut yöntemler için kullanılan RI'ların uygunluğunu teyit etmede bir denetim aracı sağlayarak kalite kontrol programının parçası olarak kullanılabilir.

Bu yöntemin biyolojik olayları yakalayabilme yeteneği, doğruluğunun güçlü bir göstergesidir. Laboratuvar analitleri için farklı yaş aralıklarına tanımlanmış yaygın RI'ların aksine bu yaklaşımla geliştirilen RI'lar doğumdan erişkinliğe kadar sürekli dir. Analit miktarlarını etkileyen altta yatan fizyolojik değişiklikler ani olaylardan ziyade sürekli durumlar olduğundan bu değişim sürecini adım adım görmek daha faydalı görünmektedir.

Sunulan yaklaşımın, geçerli RI'lar oluşturduğu ve geleneksel yöntemler uygulanamadığı zaman alternatif olarak kullanılabileceği sonucuna vardık. Mevcut olmayan veya mevcut olan referans aralıkların yetersiz, şüpheli veya geniş güven aralığı içinde olduğu durumlarda bu yöntemin kullanılması ciddi faydalar sağlayabilir. Ayrıca tanımlanmış alt gruplar için RI'ların oluşturulması da mümkündür.

Çoğu laboratuvar analiti doğumdan yaşlılığa, yaşa bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle yaşa bağlı sürekli RI'ların belirlenmesinin ve kullanımının önemi, dünyada ortalama yaşam süresinin ve birey sayısının arttığı şu dönemde artan yaşlı popülasyon açısından da gittikçe artmaktadır.

Kaynaklar

1. Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clinical Chemistry*. 1971;17(4):275–284.
2. Djemli A, Van Vliet G, Belgoudi J, Lambert M, Delvin EE. Reference intervals for free thyroxine, total triiodothyronine, thyrotropin and thyroglobulin for Quebec newborns, children and teenagers. *Clinical biochemistry*. 2004;37(4):328–330.
3. Hübner U, Englisch C, Werkmann H, Butz H, Georg T, Zabransky S, et al. Continuous age-dependent reference ranges for thyroid hormones in neonates, infants, children and adolescents established using the ADVIA (r) centaur (tm) analyzer. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2002;40(10):1040–1047.
4. Adeli K, Higgins V, Trajcevski K, White-Al Habeeb N. The Canadian laboratory initiative on pediatric reference intervals: a CALIPER white paper. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2017;54(6):358–413.
5. Howie SR. Blood sample volumes in child health research: review of safe limits. *Bulletin of the World Health Organization*. 2011;89:46–53.
6. Zurakowski D, Di Canzio J, Majzoub JA. Pediatric reference intervals for serum thyroxine, triiodothyronine, thyrotropin, and free thyroxine. *Clinical chemistry*. 1999;45(7):1087–1091.
7. Soldin SJ, Morales A, Albalos F, Lenherr S, Rifai N. Pediatric reference ranges on the Abbott IMx for FSH, LH, prolactin, TSH, T4, T3, freeT4, freeT3, T-uptake, IgE, and ferritin. *Clinical biochemistry*. 1995;28(6):603–606.
8. Elmlinger MW, Kühnel W, Lambrecht HG, Ranke MB. Reference intervals from birth to adulthood for serum thyroxine (T4), triiodothyronine (T3), free T3, free T4, thyroxine binding globulin (TBG) and thyrotropin (TSH). *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2001;39(10):973–979.

9. Demers LM, Spencer CA. Laboratory medicine practice guidelines: laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Clinical endocrinology*. 2003;58(2):138–140.
10. d'Herbomez M, Forzy G, Gasser F, Massart C, Beaudonnet A, Sapin R. Clinical evaluation of nine free thyroxine assays: persistent problems in particular populations. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2003;41(7):942–947.
11. Rastogi MV, LaFranchi SH. Congenital hypothyroidism. *Orphanet journal of rare diseases*. 2010;5(1):17.
12. Dayan CM. Interpretation of thyroid function tests. *The Lancet*. 2001;357(9256):619–624.
13. Horowitz GL, Altaie S, Boyd JC. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline—Third Edition. CLSI document EP28-A3c. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2010.
14. WHO I. Preamble to the constitution of the World Health Organization as adopted by the International Health Conference, New York, 1946. Entered into force on 7 April 1948. *New York*. 1946;p. 19–22.
15. Hoffmann RG. Statistics in the practice of medicine. *JAMA*. 1963;185(11):864–873.
16. Baadenhuijsen H, Smit J. Indirect estimation of clinical chemical reference intervals from total hospital patient data: application of a modified Bhattacharya procedure. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 1985;23(12):829–840.
17. Solberg H, 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. *Clinica Chimica Acta*. 1988;177(3):S3–S11.
18. Statland B, Winkel P. Selected pre-analytical sources of variation in reference values. *Reference Values in Laboratory Medicine Chichester, England: John Wiley and Sons Ltd*. 1981;p. 127–137.
19. Solberg HE. Establishment and use of reference values. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 1999;3.

20. Wayne P. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. *CLSI document H3-A6 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. 2007;.
21. Franke D, Block D, Schimnich A, Baltaro R, Berman M, Chakraborty S, et al. Analysis of Body Fluids in Clinical Chemistry. *Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards*. 2018;.
22. for Standardization IO. In vitro diagnostic medical devices—measurement of quantities in biological samples—metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials. *EN ISO*. 2003;p. 17511.
23. Traceability M. Its Implementation; A Report. *CLSI Document EP32-R Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA*. 2006;.
24. Westgard JO, Miller WG, Allen K, Boone DJ, Caine P, Cooper G, et al. Statistical quality control for quantitative measurement procedures: principles and definitions; approved guideline. *CLSI*; 2006.
25. Stamm D. Control of analytical variation in the production of reference values. *Grasbeck R Alstrom T editors, Reference values in laboratory medicine, John Willey and sons ltd*. 1981;p. 109–26.
26. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*. Elsevier Health Sciences; 2012.
27. Linnet K. Nonparametric estimation of reference intervals by simple and bootstrap-based procedures. *Clinical chemistry*. 2000;46(6):867–869.
28. Harris EK, Boyd JC. *Statistical bases of reference values in laboratory medicine*. CRC Press; 1995.
29. Solberg H. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *Clinica Chimica Acta*. 1987;170(2-3):S13–S32.
30. Horn PS, Pesce AJ. *Reference intervals: a user's guide*. American Association for Clinical Chemistry Washington, DC; 2005.

31. Linnet K. Two-stage transformation systems for normalization of reference distributions evaluated. *Clinical chemistry*. 1987;33(3):381–386.
32. Barnett V, Lewis T. Outliers in statistical data. Wiley; 1974.
33. Dixon W. Processing data for outliers. *Biometrics*. 1953;9(1):74–89.
34. Tukey JW. Exploratory data analysis. vol. 2. Reading, Mass.; 1977.
35. Box GE, Cox DR. An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*. 1964;p. 211–252.
36. Sinton T, Cowley DM, Bryant SJ. Reference intervals for calcium, phosphate, and alkaline phosphatase as derived on the basis of multichannel-analyzer profiles. *Clinical chemistry*. 1986;32(1):76–79.
37. Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clinical Chemistry*. 1990;36(2):265–270.
38. Lahti A, Petersen PH, Boyd JC, Rustad P, Laake P, Solberg HE. Partitioning of nongaussian-distributed biochemical reference data into subgroups. *Clinical chemistry*. 2004;50(5):891–900.
39. Lahti A. Are the common reference intervals truly common? Case studies on stratifying biochemical reference data by countries using two partitioning methods. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2004;64(4):407–430.
40. Harris EK, Wong ET, Shaw S. Statistical criteria for separate reference intervals: race and gender groups in creatine kinase. *Clinical chemistry*. 1991;37(9):1580–1582.
41. Tukey JW, Mosteller F, Hoaglin DC. Understanding robust and exploratory data Analysis. Wiley; 1983.
42. Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. Reference interval computation using robust vs parametric and nonparametric analyses. *Clinical chemistry*. 1999;45(12):2284–2285.
43. Arzideh F, Brandhorst G, Gurr E, Hinsch W, Hoff T, Roggenbuck L, et al. An improved indirect approach for determining reference limits from intra-laboratory data bases

- exemplified by concentrations of electrolytes/Ein verbesserter indirekter Ansatz zur Bestimmung von Referenzgrenzen mittels intra-laboratorieller Datensätze am Beispiel von Elektrolyt-Konzentrationen. *Laboratoriumsmedizin*. 2009;33(2):52–66.
44. Arzideh F, Wosniok W, Haeckel R. Reference limits of plasma and serum creatinine concentrations from intra-laboratory data bases of several German and Italian medical centres: comparison between direct and indirect procedures. *Clinica Chimica Acta*. 2010;411(3-4):215–221.
45. Arzideh F, Wosniok W, Gurr E, Hinsch W, Schumann G, Weinstock N, et al. A plea for intra-laboratory reference limits. Part 2. A bimodal retrospective concept for determining reference limits from intra-laboratory databases demonstrated by catalytic activity concentrations of enzymes. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*. 2007;45(8):1043–1057.
46. Haeckel R, Wosniok W, Arzideh F. A plea for intra-laboratory reference limits. Part 1. General considerations and concepts for determination. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*. 2007;45(8):1033–1042.
47. Oosterhuis W, Modderman TA, Pronk C. Reference values: Bhattacharya or the method proposed by the IFCC? *Annals of clinical biochemistry*. 1990;27(4):359–365.
48. Dalgaard P. Introductory statistics with R. Springer Science & Business Media; 2008.
49. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, Daly CH, Brinc D, Venner AA, 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. *Clinical chemistry*. 2012;p. clinchem–2011.
50. Dortschy R, Rosario AS, Scheidt-Nave C, Thierfelder W, Thamm M, Gutsche J, et al. Bevölkerungsbezogene verteilungswerte ausgewählter laborparameter aus der studie zur gesundheit von kindern und jugendlichen in Deutschland (KiGGS). 2009;.

51. Fraser C, Peterson PH, Larsen ML. Setting analytical goals for random analytical error in specific clinical monitoring situations. *Clinical chemistry*. 1990;36(9):1625–1628.
52. Ricos C, Alvarez V, Cava F, et al.. Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from biologic variation. Westgard QC Web page; 2008.
53. Ceriotti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward. *Annals of clinical biochemistry*. 2009;46(1):8–17.
54. DeBoer MD, LaFranchi SH. Pediatric thyroid testing issues. *Pediatric endocrinology reviews: PER*. 2007;5:570–577.
55. Laurberg P, Andersen S, Carlé A, Karmisholt J, Knudsen N, Pedersen IB. The TSH upper reference limit: where are we at? *Nature Reviews Endocrinology*. 2011;7(4):232.
56. Hennessey J, Scherger J. Evaluating and treating the patient with hypothyroid disease. *The Journal of family practice*. 2007;56(8 Suppl Hot Topics):S31–9.
57. Tachman ML, Guthrie Jr GP. Hypothyroidism: diversity of presentation. *Endocrine reviews*. 1984;5(3):456–465.
58. Dominguez LJ, Bevilacqua M, DiBella G, Barbagallo M. Diagnosing and managing thyroid disease in the nursing home. *Journal of the American Medical Directors Association*. 2008;9(1):9–17.
59. Samuels MH. Cognitive function in untreated hypothyroidism and hyperthyroidism. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 2008;15(5):429–433.
60. Zierk J, Arzideh F, Rechenauer T, Haeckel R, Rascher W, Metzler M, et al. Age- and sex-specific dynamics in 22 hematologic and biochemical analytes from birth to adolescence. *Clinical chemistry*. 2015;p. clinchem–2015.
61. Ceriotti F. Establishing pediatric reference intervals: a challenging task. *Clinical Chemistry*; 2012.
62. Shaw JL, Cohen A, Konforte D, Binesh-Marvasti T, Colantonio DA, Adeli K. Validity of establishing pediatric reference intervals based on hospital patient data: a comparison of the modified

- Hoffmann approach to CALIPER reference intervals obtained in healthy children. *Clinical biochemistry*. 2014;47(3):166–172.
63. Bock BJ, Dolan CT, Miller GC, Fitter WF, Hartsell BD, Crowson AN, et al. The data warehouse as a foundation for population-based reference intervals. *American journal of clinical pathology*. 2003;120(5):662–670.
64. Solberg HE. Using a hospitalized population to establish reference intervals: pros and cons. *Clinical chemistry*. 1994;40(12):2205–2206.
65. Sakia R. The Box-Cox transformation technique: a review. *The statistician*. 1992;p. 169–178.
66. Zierk J, Arzideh F, Haeckel R, Rascher W, Rauh M, Metzler M. Indirect determination of pediatric blood count reference intervals. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2013;51(4):863–872.
-

S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU (2013-KAEK-64)
KARAR FORMU

SAYI:

Tarih: 17.05.2018

KONU: Etik Kurulu Kararı

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Pediyatrik Popülasyonda Tiroid Hormonlarının Yaşa ve Cinsiyete Göre Sürekli Referans Aralıklarının İndirekt Tepiti
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Doktor Erkin Cad. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi
	TELEFON	216 570 91 90
	FAKS	216 565 55 26
	E-POSTA	etik@sbgztepehastanesi.gov.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Ferruh Kemal İşman				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi				
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI					
	DESTEKLEYİCİ					
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)					
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ					
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TURU	FAZ 1	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>			
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>			
FAZ 4		<input type="checkbox"/>				
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>				
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>				
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>				
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>				
Retrospektif		<input checked="" type="checkbox"/>				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER		TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama		
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ					
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	ILAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2018/0151	Tarih: 17.05.2018				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Derya Büyükkayhan
İmza:

S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU (2013-KAEK-64)
KARAR FORMU

SAYI:

Tarih: 17.05.2018

KONU: Etik Kurulu Kararı

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Pediyatrik Popülasyonda Tiroid Hormonlarının Yaşa ve Cinsiyete Göre Sürekli Referans Aralıklarının İndirekt Tepiti
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E	K	H	E	H	H	
Prof. Dr. Derya Büyükkayhan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	T.C. Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Aytekin OĞUZ	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Işıl MARAL	Halk Sağlığı Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Asif Yıldırım	Üroloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Süleyman Daşdağ	Biyofizik	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Asiye KANBAY	Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Şükrü Sadık ÖNER	Tıbbi Farmakoloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Sebahat Dilek Torun	Halk Sağlığı	Özel Kuruluş	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Sıdıka Şeyma ÖZKANLI	Tıbbi Patoloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hacer Hicran Mutlu	Aile Hekimliği	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Avukat Mahmut ÇELİK	Avukat	Çelik Gönen Hukuk Bürosu	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Saliha Şahin	İşçi		E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Karar: Onaylandı Reddedildi

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Derya Büyükkayhan
İmza: