

Ověření referenčního intervalu pro vyšetření parametrů štítné žlázy (TSH, fT3 a fT4) na analyzátoru Dxl 800 firmy Beckman Coulter

Vaingátová S.^{1,2}, Franeková J.^{1,2}, Jabor A.^{1,2}

¹Oddělení klinické biochemie, Pracoviště laboratorních metod, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

²3. lékařská fakulta UK, Praha

SOUHRN

Cíl studie: Ověření výrobcem udávaného referenčního intervalu pro stanovení tyreotropinu, volného trijodtyroninu a volného tyroxinu imunoanalytickými metodami na analyzátoru Dxl 800 firmy Beckman Coulter.

Typ studie: původní práce.

Název a sídlo pracoviště: Institut klinické a experimentální medicíny, Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha 4

Materiál a metody: K ověření referenčního intervalu pro metody Access TSH (3rd IS), Access free T3 a Access free T4 firmy Beckman Coulter bylo změřeno celkem 110 vzorků sér zdravých dobrovolníků (55 mužů a 55 žen). K vyloučení dosud nemanifestovaného onemocnění štítné žlázy byla séra probandů testována na přítomnost protilátek proti tyreoperoxidáze metodou Access TPO Antibody taktéž od firmy Beckman Coulter. Výsledné hodnoty byly statisticky vyhodnoceny pomocí robustní metody CLSI C28-A3 a Box-Cox transformace v programu MedCalc Statistical Software version 17.2.

Výsledky: V případě TSH byl stanoven referenční interval 0,67 - 4,31 mIU/l (firemní údaj 0,38 - 5,33 mIU/l), pro metodu fT3 4,99 - 7,49 pmol/l (firemní údaj 3,8 - 6,0 pmol/l) a pro metodu fT4 7,46 - 13,04 pmol/l (firemní údaj 7,86 - 14,41 pmol/l).

Závěr: Referenční interval udávaný výrobcem reagensů pro metodu TSH lze považovat za ověřený a platný. Námi stanovený referenční interval pro metodu fT3 se neshoduje s doporučeným referenčním intervalem výrobce, zjistili jsme vyšší hodnoty dolní i horní referenční meze. Před zavedením metody do rutinního provozu je vhodné tento interval upravit dle naměřených dat. V případě metody pro stanovení fT4 je vhodná drobná modifikace doporučeného referenčního intervalu výrobcem směrem k nižším hodnotám.

Klíčová slova: TSH, fT3, fT4, Dxl 800, referenční interval.

SUMMARY

Vaingátová S., Franeková J., Jabor A.: Verification of the reference range for examination of thyroid parameters (TSH, fT3 a fT4) on the analyzer Dxl 800 from Beckman Coulter

Objective: Verification of the reference ranges given by the manufacturer for the determination of thyrotropin (TSH), free triiodothyronine (fT3), and free thyroxine (fT4) by immunoanalytical methods on a Beckman Coulter Dxl 800 analyzer.

Design: Original Article.

Settings: Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha 4

Materials and methods: A total of 110 samples of healthy volunteer sera (55 men and 55 women) were measured to verify the reference interval for Beckman Coulter's Access TSH (3rd IS), Access Free T3, and Access Free T4 methods. To exclude an unmanifested thyroid disease, proband sera were tested for the presence of thyroid peroxidase antibodies by the Access TPO Antibody method (Beckman Coulter). The resulting values were statistically evaluated using the robust CLSI C28-A3 method and the Box-Cox transformation in the MedCalc Statistical Software version 17.2.

Results: For the TSH method, a reference interval of 0.67 - 4.31 mIU/l (company figures 0.38 - 5.33 mIU/l) was established, for the fT3 method 4.99 - 7.49 pmol/l (company figures 3.8 - 6.0 pmol/l) and for the fT4 method 7.46 - 13.04 pmol/l (company figures 7.86 - 14.41 pmol/l).

Conclusion: The reference interval specified for the TSH method by the reagents' manufacturer can be considered as verified and valid. The reference interval we determined for the fT3 method does not match the reference interval recommended by the manufacturer - we found higher values for both the lower and upper reference limits. We would recommend adjusting this interval according to the measured data prior to routine implementation. As for the fT4 determination method, we would suggest to shift the recommended reference interval towards lower values.

Keywords: TSH, fT3, fT4, Dxl 800, reference interval (RI).

Úvod

Obecně platí, že hodnoty referenčních intervalů u parametrů získaných pomocí různých imunochemických metod nejsou shodné. Tyto rozdíly mohou být způsobeny mnoha faktory, kdy nejvýznamnějším je obvykle použití různých monoklonálních protilátek namířených proti odlišným epitopům stanovo-

vaného analytu v reakční směsi. Velkým problémem je současně také omezená dostupnost či dokonce neexistence mezinárodně použitelných referenčních standardů a návaznost kalibračních roztoků výrobců reagensů k těmto standardům, případně neexistence referenční metody pro stanovení daného analytu. Členové Committee for Standardization of Thyroid Function Tests (C-STFT) založené IFCC vyzvali všechny

zúčastněné strany (odborné společnosti, lékaře i laboratorní pracovníky) k posouzení výhod, rizik a způsobu implementace harmonizovaných a standardizovaných metod [1]. V laboratorní praxi uživatelé běžně přejímají referenční intervaly z příbalového letáku dané metody. Cílem práce bylo zjistit, zda jsou referenční intervaly pro jednotlivé parametry štítné žlázy získané na americké populaci aplikovatelné při použití téže metody i na populaci našich pacientů.

Materiál a metody

Pro ověření referenčního intervalu TSH, fT3 a fT4 na analyzátoru Dxl 800 firmy Beckman Coulter bylo vybráno celkem 110 vzorků sér (55 mužů a 55 žen) ze souboru biologických materiálů od zdravých dospělých jedinců (dále Biobanka). Věkové rozmezí mužů bylo 18 až 48 let s průměrem 32 let, věkové rozmezí žen 18 až 40 let s průměrem 29 let, ženy v době odběru nebyly těhotné ani kojící. Žilní krev od těchto jedinců byla odebrána vsedě, nalačno a standardizovaným způsobem pomocí uzavřeného odběrového systému (Vacuette Greiner), centrifugována a sérum bylo následně uchováno v kryozkumavkách při teplotě -70 °C.

Použitá metodika

Vzorky byly měřeny na analyzátoru UniCel Dxl 800 (Beckman Coulter, Inc.) ve dvou samostatných sériích, vzorky mužů a žen zvlášť. S každou sérií byly změřeny vzorky interní kontroly kvality na třech resp. dvou hladinách. Jednalo se o nezávislý kontrolní materiál Liquichek Immunoassay Plus Control od firmy Bio-Rad (kat. č. 360 šarže: 40940, Exp: 6/2019) pro TSH, fT3 a fT4 a Liquichek Specialty Immunoassay Control taktéž od firmy Bio-Rad (kat. č. 364 (L1) a kat. č. 365 (L2) šarže 60220, Exp: 7/2019) pro anti-TPO. Všechny tři parametry byly stanoveny současně vždy v každém vzorku. V rámci přípravy k analýze byly alikvoty vzorků rozmrazeny za laboratorní teploty. Po rozmražení byly vzorky centrifugovány 10 minut při 10 000 otáčkách/min, supernatanty napipetovány do připravených kepek a neprodleně analyzovány.

TSH, fT3 a fT4 byly stanoveny pomocí metody Access TSH (3rd IS) s katalogovým číslem B63284, Access Free T3 (kat. č. A13422), resp. Access Free T4 (kat. č. 33880) [2-4]. Při stanovení koncentrace TSH

je využíváno tzv. sendvičového uspořádání reakce, kdy TSH ze vzorku reaguje s myší protilátkou značenou alkalickou fosfatázou obsaženou v reagentii a s další myší monoklonální protilátkou imobilizovanou na povrchu paramagnetických částic. Celý komplex je následně oddělen od reakční směsi pomocí magnetického pole a kvantifikován. Volný trijodtyronin je stanoven kompetitivním způsobem reakce. fT3 ze vzorku reaguje s monoklonální protilátkou proti T3 značenou alkalickou fosfatázou. Následně jsou do reakční směsi přidány paramagnetické částice potažené streptavidinem s navázaným biotinylovaným analogem T3, který se váže na neobsazená místa konjugátu. Paramagnetické částice s navázanou značenou protilátkou jsou ze směsi separovány magnetickým polem a kvantifikovány. Volný tyroxin je stanovován dvoukrokovou imunoanalýzou, kdy v prvním kroku dochází k navázání biotinylované monoklonální protilátky proti T4 na paramagnetické částice potažené streptavidinem a na volný tyroxin ve vzorku. Po separaci a promytí jsou volná vazebná místa protilátky proti T4 obsazena přidaným T3, značeným alkalickou fosfatázou. Vzniklý komplex je po inkubaci opět separován pomocí magnetického pole a kvantifikován. Ke kvantifikaci je ve všech případech využíváno luminiscenční záření vzniklé jako následek reakce alkalické fosfatázy a chemiluminiscenčního substrátu Lumi-Phos* 530 (derivát adamantanu). Měřicí rozsahy jednotlivých metod jsou uvedeny v Tabulce 1. V případě TSH se jedná o metodu třetí generace s požadovanou funkční citlivostí < 0,01 mIU/l. Všechny tyto metody jsou kalibrovány na firemní kalibrátory na šesti koncentračních hladinách. Kalibrátor pro metodu TSH má deklarovanou metrologickou návaznost na specifikaci WHO 3rd International Standard 81/565, u ostatních kalibrátorů (fT3 a fT4) je deklarována návaznost pouze k pracovním kalibrátorům výrobce [5-7]. V případě TSH výrobce v příbalovém letáku deklaruje vždy dvě různé hodnoty pro LoD i LoQ. Tzv. „určená“ hodnota LoD ≤ 0,005 mIU/l je shodná s dolní mezí měřicího rozsahu metody, hodnotu LoQ 0,001 mIU/l udává výrobce na základě vlastních experimentů. Metoda by současně měla dosáhnout LoQ ≤ 0,01 mIU/l při variačním koeficientu mezi sériemi CV ≤ 10 %. Experimentálním firemním ověřením byla stanovena hodnota LoQ 0,001 mIU/l při CV ≤ 10 % [2].

V rámci stanovení námi sledovaných parametrů byly u všech vzorků současně měřeny protilátky proti tyreoperoxidáze (anti-TPO) z důvodu eventuálního vyloučení probandů ze studie při pozitivním nálezu těchto protilá-

Table 1: Analytical characteristics of methods for the determination of TSH, fT3 and fT4 on a Beckman Coulter Dxl 800 analyzer

	TSH (3 rd IS) (mIU/L)	Free T3 (pmol/L)	Free T4 (pmol/L)
Measuring range	0.005 – 50.0	1.4 – 46.0	3.2 – 77.2
LoD	0.001*	1.4	3.2
LoQ	0.001*	1.4	3.2
Total precision	≤10 %	≤ 12 %	≤ 10 %
Number of calibration points	6	6	6

*The data were received from a study based on CLSI EP17-A2 as described in [2]

tek (hodnoty vyšší než 9 IU/ml). Ke stanovení anti-TPO byla použita opět imunochemická metoda firmy Beckman Coulter Access TPO Antibody s katalogovým číslem A12985 na analyzátoru Dxl 800 [8].

Výsledné hodnoty pro jednotlivé parametry byly statisticky zpracovány s využitím robustní metody CLSI C28-A3 a Box-Cox transformace v programu MedCalc Statistical Software version 17.2 [9]. Výsledky byly hodnoceny po skupinách dle pohlaví testovaných jedinců, zároveň bylo provedeno statistické zpracování všech hodnot pro každý parametr jako celku.

Výsledky

Rozmezí hodnot TSH, které jsme získali ve skupině mužů, žen a v celém souboru vzorků je uvedeno v Tabulce 2. Výsledky vzorků, u kterých byla zjištěna koncentrace protilátek proti tyreoperoxidáze vyšší než 9 IU/l (4 muži a 7 žen), byly ze statistického zpracování vyloučeny. Pro celou testovanou populaci byl vypočten 95% referenční interval 0,67–4,31 mIU/l, 90% konfidenční interval dolní a horní referenční meze je rovněž uveden v tabulce Tabulce 2.

Změřené hodnoty fT3 byly v rozmezí uvedeném v tabulce Tabulce 2. K vyhodnocení dat byla opět použita robustní metoda s transformací dat. Výsledný 95% referenční interval je 4,99 – 7,49 pmol/l.

Posledním hodnoceným parametrem byl fT4. Získané rozmezí hodnot u mužů i u žen je uvedeno v Tabulce 2. Statistickým zpracováním s použitím stejné metodiky jako u předchozích parametrů byl stanoven referenční interval 7,46 – 13,04 pmol/l.

Výsledky vzorků interní kontroly kvality se nacházely v obou sériích u všech testovaných parametrů v povoleném rozmezí výrobce kontrolního materiálu.

Diskuse

Námi stanovené referenční intervaly jsme v první řadě porovnávali s intervaly výrobce, to byl hlavní cíl naší studie. Porovnávali jsme je však také s dalšími referenčními intervaly čerpanými z literatury a s doporu-

ručením ČSKB [10] (Tabulka 3). Referenční intervaly v tomto doporučení vznikly spojením očekávaných hodnot uváděných jednotlivými výrobci diagnostik a doporučení NACB 2002. Na intervalech uvedených v tomto doporučení je patrná velká variabilita mezi jednotlivými výrobci diagnostik. Jak bylo řečeno v úvodu, důvodů může být více. Neshody ve výsledcích pacientů, vyšetřovaných v různých laboratořích pomocí různých technologií, mohou vést k nejasnostem v diagnostice a zbytečnému ekonomickému zatěžování léčebné péče. Standardizace či harmonizace metod by výrazně přispěla k větší porovnatelnosti hodnot, a tím i k lepší orientaci ošetřujících lékařů ve výsledcích pacienta získaných v různých laboratořích. Potřebou standardizace (pro stanovení hladin fT3 a fT4) a harmonizace (pro stanovení TSH) se dlouhodobě zabývá vědecká skupina v rámci IFCC Committee for Standardization of Thyroid Function Tests (C-STFT). Pilotní studie procesu standardizace metod pro stanovení fT3 a fT4 je popsána v publikaci [11]. Pro fT4 byl vyvinut a validován referenční měřicí postup založený na rovnovážné dialýze a LC-MS/MS s isotopovou dilucí [12]. 13 výrobců IVD následně pod vedením této vědecké skupiny provedlo recalibraci svých metod pomocí matematického modelu. Byl sledován vliv recalibrace jednotlivých metod na možnost sjednocení referenčního intervalu [13]. Tato práce prokázala přínos recalibrace metod, postup však není zatím obecně aplikovatelný pro všechny klinické situace a vyžaduje provedení dalších studií. V případě TSH bohužel referenční měřicí postup k dispozici není. Výrobci IVD podílející se na studii (tentokrát 14 výrobců) tedy recalibrovali své metody na upravené hodnoty svých master-kalibrátorů. Tyto upravené hodnoty byly získány pomocí robustní faktorové analýzy. Studie opět prokázala, že harmonizace měření TSH je cestou ke sjednocení referenčních intervalů mezi výrobci [14].

Porovnáním rozmezí změřených hodnot parametru TSH na našem pracovišti mezi skupinou mužů a skupinou žen jsme zjistili, že mezi pohlavími nejsou významné rozdíly. Výsledky měření fT3 a fT4 imunoanalytickými metodami na analyzátoru Dxl 800 firmy Beckman Coulter vykazují vyšší rozsah měřených hodnot u mužů než u žen, nicméně na základě naměřených hodnot lze stanovit společný referenční interval pro obě pohlaví.

Table 2: Results of the TSH, fT3 and fT4 values in 48 males and 51 females (after exclusion of samples with positive anti-TPO)

	TSH (mIU/L)	fT3 (pmol/L)	fT4 (pmol/L)
Men – measured values (minimum – maximum)	0.635 – 4.434	4.83 – 8.98	6.50 – 13.76
Men - median	1.747	6.04	10.71
Women – measured values (minimum – maximum)	0.654 – 4.673	4.95 – 6.91	7.57 – 12.14
Women - median	1.968	5.825	10.195
All values - median	1.808	5.96	10.36
Lower reference range (90% confidence interval)	0.666 (0.572 – 0.780)	4.99 (4.89 – 5.12)	7.46 (7.03 – 7.91)
Upper reference range (90% confidence interval)	4.306 (3.834 – 4.791)	7.49 (7.18 – 7.84)	13.04 (12.66 – 13.40)

Table 3: Comparison of manufacturer (Beckman Coulter) reference intervals, reference intervals determined in this study, reference intervals recommended by the Czech Society for Clinical Biochemistry (ČSKB) and reference interval taken from literature.

Method	Manufacturer (Beckman Coulter) reference interval	Determined reference interval (this study)	Reference interval recommended by the ČSKB	Reference interval –Clinical Laboratory Diagnostics - L. Thomas [15]	Reference interval – Laboratorní diagnostika – T. Zima – [18]	Reference interval based on NACB Criteria and Regular Ultrasonography of the Thyroid – J. Kratzsch [19]
TSH (mIU/L)	0.38 – 5.33 ^{a)}	0.67 – 4.31	(0.35 – 0.4) – (2.5 – 5.5)	0.4 – 4.0	0.37 – 5.0	0.36 – 3.44 (Males) 0.44 – 3.94 (Females)
fT3 (pmol/L)	3.8 – 6.0 ^{b)}	4.99 – 7.49	(3.2 – 3.6) – (6.1 – 6.5)	5.4 – 12.3 ^{d)} 5.4 – 8.8 ^{e)}	3.4 – 6.3	4.09 – 6.80 (Males) 3.84 – 6.70 (Females)
fT4 (pmol/L)	7.86 – 14.41 ^{c)}	7.46 – 13.04	(9.0 – 11.0) – (21.0 – 24.0)	10.0 – 23.0	9.8 – 23.1	13.0 – 21.4 (Males) 12.2 – 20.0 (Females)

a) RI was defined as the mean reference interval of 97.5 % apparently healthy adult subjects (n = 393) with the correct function of the thyroid gland.

b) RI was determined based on serum measurements of 200 healthy probands after processing by non-parametric method as a 95 % value range.

c) RI was determined based on the measurement of serum of 300 subjects without any known thyroid disease as a 95% interval of values.

d) Values for the 2.5 – 97.5th percentile range [16]. The values were obtained using different test kits.

e) The 5 - 95th percentile range [17]. The values were obtained using the test kit of one manufacturer.

To je ve shodě s doporučením ČSKB, podle kterého je referenční interval platný pro celou dospělou populaci nezávisle na pohlaví (výjimku tvoří těhotné ženy, jimiž jsme se však v rámci této práce nezabývali).

Z Tabulky 3 je patrná dobrá shoda referenčního intervalu TSH výrobce s doporučením ČSKB. Námi stanovený referenční interval je užší než udává výrobce, referenční interval výrobce lze nicméně považovat za ověřený a platný. V případě stanovení fT3 je situace zcela jiná. Referenční interval udávaný výrobcem je v dobré shodě s doporučením ČSKB, námi stanovené hodnoty však tento interval nepotvrdily. Kdybychom získané hodnoty porovnávali s intervalem výrobce diagnostické soupravy, 45 probandů (27 mužů a 18 žen) z celkového počtu 99 testovaných (tj. 45 % výsledků) bychom hodnotili jako falešně zvýšených. Vyšší hodnoty referenčního intervalu stanovili i autoři, jejichž výsledky byly použity jako podklady k soubornému dílu L. Thomase Clinical Laboratory Diagnostics [15]. Mírně vyšší hodnoty jsme našli i v publikaci J. Kratzsch a kol. [19], zde ale autoři referenční interval stanovovali s použitím reagentů a analyzátoru firmy Roche. Porovnáme-li však např. výsledky získané metodou firmy Beckman Coulter v posledním cyklu EHK SEKK E11/18 [20] u obou testovaných vzorků s výsledky ostatních výrobců reagentů (skupina metod CLIA, CMIA, ECLIA), patří tato metoda spíše mezi metody vydávající nižší hodnoty. V rámci stanovení referenčního intervalu pro fT4 jsme získali interval s dolním referenčním limitem mírně posunutým k nižším hodnotám, než udává výrobce.

V porovnání s doporučením ČSKB i s intervaly získanými z literatury se oba tyto intervaly pohybují spíše okolo spodního referenčního limitu doporučení. Z vyhodnocení zmíněného cyklu SEKK vyplývá, že robustní průměr skupiny tohoto výrobce koreluje s naším zjištěním nižších výsledků u stejných vzorků měřených pomocí reagentů různých výrobců, zejména v oblasti fyziologických hodnot. To může souviset s odlišným uspořádáním reakce (jedná se o dvoukrokovou imunoanalýzu) či s použitím jiných monoklonálních protilátek.

Závěr

Ověřili jsme, že výrobcem uvedený referenční interval pro stanovení TSH je vyhovující pro naši populaci, v případě stanovení fT4 je potřeba výrobcem udaný referenční interval mírně posunout k nižším hodnotám. Referenční interval výrobce pro stanovení fT3 je však nastaven na zřetelně nižší hodnoty, než se vyskytují v naší zdravé populaci, a proto je nutné ho před zavedením metody do rutinního provozu upravit.

Literatura

1. Thienpont, L. M., Faix, J. D., Beustall, G. Standardization of Free thyroxine and Harmonization of Thyrotropin Measurements: A Request for Input from Endocrinologist and Other Physicians. *Thyroid*, 2015, 25(12), p. 1379-80

2. **Beckman Coulter Inc.**, Návod k použití B77706 B - Příbalový leták k metodě Access TSH (3rd IS), česká verze, *prosinec 2015*, 13 s.
3. **Beckman Coulter Inc.**, Návod k použití A33730 H - Příbalový leták k metodě Access Free T3, česká verze, *prosinec 2016*, 13 s.
4. **Beckman Coulter Inc.**, Návod k použití B01902 D - Příbalový leták k metodě Access Free T4, česká verze, *prosinec 2015*, 12 s.
5. **Beckman Coulter Inc.**, Návod k použití B77707 B - Příbalový leták ke kalibrátoru Access TSH (3rd IS), česká verze, *prosinec 2015*, 5 s.
6. **Beckman Coulter Inc.**, Návod k použití B50142 C - Příbalový leták ke kalibrátoru Access Free T3, česká verze, *prosinec 2016*, 4 s.
7. **Beckman Coulter Inc.**, Návod k použití B50143 C - Příbalový leták ke kalibrátoru Access Free T4, česká verze, *leden 2016*, 5 s.
8. **Beckman Coulter Inc.**, Návod k použití A83813 D - Příbalový leták k metodě Access TPO Antibody, česká verze, *prosinec 2015*, 11 s.
9. MedCalc Statistical Software version 17.2, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <http://www.medcalc.org>; 2017
10. **Límanová, Z., Pikner, R., Springer, D.** Doporučení pro laboratorní diagnostiku funkčních a autoimunitních onemocnění štítné žlázy. *Klin. Biochem. Metab.*, 2011, 19(40), č. 1, p. 48–61
11. **Thienpont L.M., Van Uytfanghe, K., Beastall, G. et al.** Report of the IFCC Working Group for Standardization of Thyroid Function Tests; Part 2: Free Thyroxine and Free Triiodothyronine. *Clin. Chem.*, 2010, 56(6): p. 912-920
12. **Van Houcke, S.K., Van Uytfanghe, K., Shimizu, E., Tani, W., Umemoto, M., Thienpont, L.M.** IFCC international conventional reference procedure for the measurement of free thyroxine in serum. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) Working Group for Standardization of Thyroid Function Tests (WG-STFT). *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2011 49(8), p. 1275-81
13. **De Grande, L.A.C., Van Uytfanghe, K., Reynders, D. et al.** Standardization of Free Thyroxine Measurements Allows the Adoption of a More Uniform Reference Interval. *Clin. Chem.*, 2017, 63(10), p. 1642-52
14. **Thienpont, L.M., Van Uytfanghe, K., De Grande, L.A.C. et al.** Harmonization of Serum Thyroid-Stimulating Hormone Measurements Paves the Way for the Adoption of a More Uniform Reference Interval. *Clin. Chem.*, 2017, 63(7), p. 1248-1260
15. **Thomas L.** Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results. Frankfurt/Main: TH-Books, 1. vydání, 1998, 1527 s. ISBN 3-9805215-4-0.
16. **Röcker, L., Janiszewski, Ch., Hopfenmüller, W.** Determination of reference ranges for thyroid hormones in serum for the population of Berlin (West) with special emphasis of age- and gender- dependence. *Lab. Med.*, 1988, 12, p. 213-22
17. **Liappis, N., v Bernstorff, W., Schlebusch H.** Reference values for the concentration of free triiodothyronine, triiodothyronine, free thyroxine, thyroxine, thyrotropin and thyroxin-binding globulin in serum of euthyroid adults. Influence of oral contraceptives. Method: luminiscence-enhanced enzyme immunoassay. *Ärztl Lab*, 1990, 36, p. 8-11
18. **Mrázová, K. et al.** Referenční hodnoty laboratorních vyšetření. In Zima, T. et al. *Laboratorní diagnostika*, Praha: Galén, 2013, s. 1100-1101
19. **Kratzsch, J., Fiedler, G.M., Leichtle, A. et al.** New Reference Intervals for Thyrotropin and Thyroid Hormones Based on National Academy of Clinical Biochemistry Criteria and Regular Ultrasonography of the Thyroid. *Clin. Chem.*, 2005, 51(8), p.1480-86
20. Cyklus EHK E11/18 – Endokrinologie 1, Souhrnná statistika – kvantitativní výsledky, SEKK s r.o., *březen 2018*, 11 s.

Střet zájmů: Autoři prohlašují, že nejsou ve střetu zájmů.

Do redakce došlo 8. 8. 2018

*Adresa pro korespondenci:
RNDr. Silvie Vaingátová
Oddělení klinické biochemie
Pracoviště laboratorních metod
Institut klinické a experimentální medicíny
Václavská 1958/9
140 21 Praha
e-mail: silvie.vaingatova@ikem.cz*