

Harmonizace referenčních intervalů. Kdy, jak, proč.

Friedecký B., Kratochvíla J.

Referenční intervaly (RI) jsou už mnoho let integrální součástí výsledků laboratorních vyšetření. Jejich exaktní určení (včetně variability jejich mezí) s použitím referenční populace a jednotné kalibrace, založené na referenčních měřících systémech a použití vhodných výpočtů a statistiky, poprvé komplexně zpracoval a publikoval v osmdesátých letech v Norsku H. E. Solberg a spol. V Československu, dle Solbergových textů exaktně určila RI základních biochemických analytů v klinických laboratořích poprvé pracovní skupina českých a slovenských laboratoří vedená Jánem Ballou a Janem Hendlem a publikovala je včetně statistických postupů zpracování a měření v roce 1992 (1). Harmonizace RI a jejich mezí je bez diskuzí trvale potřebná a vyžadovaná. Přitom harmonizaci RI lze jednoduše chápat jako eliminaci závislosti jejich hodnot na použité metodě / platformě měření. A tato je zatím uskutečnitelná jen u omezeného počtu základních analytů séra (plasmy, krve) v případech, kdy existuje celosvětově standardizovaný / harmonizovaný systém měření založený na referenci.

NORIP 2000 (The Nordic Reference Interval Project 2000)

Harmonizace RI provedena na podkladě výsledků přímých měření v rutinních klinických laboratořích Skandinávie, zejména Švédska. Studie se účastnilo 102 laboratoří, každá analyzovala 25 vzorků jedinců, splňujících kritéria IFCC pro referenční populaci. Kalibrace všech měření ve všech účastnických laboratořích byla prováděna certifikovanými referenčními materiály, dodávanými centrálně. Preamalytické operace byly předem definovány a dodržovány. Výsledkem byla publikace RI u 25 analytů v roce 2004 (2).

AACB (The Australasian Association of Clinical Biochemists)

Australská společnost klinické biochemie provádí proces harmonizace RI prostřednictvím programů externího hodnocení kvality RCPA-QAP (Royal College of Pathologists of Australasia - Quality Assurance Programs) kontinuálně. Metodou je sběr dat RI z laboratoří účastníků EHK (92 až 123 účastníků

v letech 2013 až 2016), jejich ověřování výsledky EHK a poté návrhy expertů. Soudobý stav procesů AACB byl publikován v roce 2017 (3).

Pathology Harmony Group (The Association for Clinical Biochemistry and Laboratory Medicine – UK)

Návrhy harmonizace RI založeny na konsensu expertů a publikovány na webové adrese (4).

NHANES III (National Health and Nutrition Examination Survey)

Databáze RI v grafické formě s respektováním vlivů věku a pohlaví a uveřejněna na webové adrese (5).

Multicentrické studie

Reprezentativním příkladem moderní multicentrické studie harmonizace referenčních intervalů je práce velkého mezinárodního kolektivu asijských a evropských autorů (6, 7). Obsahem je harmonizace RI u 24 analytů krevního séra s existujícími referenčními systémy měření 12 zemí (Čína, Japonsko, Rusko, USA, Velká Británie a další), jejich závislosti na pohlaví a na regionech. Studie pracovala se zajištěnou harmonizací preanalytické fáze a zajištěnou harmonizací kalibrace měření prostřednictvím centrálně distribuovaných kalibrátorů z Referenzinstitut für Bioanalytik Bonn (a jeho referenčních laboratoří v Bonnu a Hannoveru). Bylo použito přímého měření, kdy účastníci analyzovali po 80 sérech jedinců referenčních populací. U některých analytů jsou difference etnického a regionálního původu signifikantní i přes provedenou harmonizaci.

Verifikace referenčních intervalů

Navzdory existenci harmonizovaných RI u standardizovaných metod je třeba respektovat zaměření laboratoře, charakter populace jejich klientů a provádět korekci RI v případě potřeby. To znamená, že harmonizované hodnoty RI je nutné před použitím verifikovat v každé konkrétní laboratoři. Jde přitom o základní požadavek procesu akreditace jednotlivých laboratoří. Verifikace je popsána v doporučení CLSI-EP28-A3c (8). Je založena na analýze 20 vzorků s hodnotami analytů přibližně v oblasti RI, z nichž by 19 mělo vykazat hodnoty uvnitř RI. Koordinovaný přístup k verifikacím byl velkým přínosem k celkové efektivitě validace. Příkladem může být validace hodnot RI v Irsku, kde je prováděna spoluúčastí asi 50 laboratoří pomocí 20 vzorků jedinců referenční populace, rozesílaných a hodnocených centrálně v rámci programů EHK. Tabulka 1 uvádí přehled některých harmonizovaných referenčních intervalů.

Tabulka 1. Harmonizované referenční intervaly u základních analytů krevního séra. Austrálie (RCPA-QAP), Skandinávie (NORIP), Velká Británie (Pathology-Harmony- PH-UK).

| Analyt / jednotka | RCPA-QAP | NORIP | PH-UK |
|-------------------------------------|------------|-------------|-----------|
| Sodný kation (mmol/l) | 135 - 145 | 137 - 145 | 133 - 146 |
| Draselný kation (sérum) / (mmol/l) | 3,5 - 5,2 | 3,6 - 4,7 | 3,5 - 5,3 |
| Draselný kation (plazma) / (mmol/l) | - | 3,5 - 4,4 | - |
| Chloridový anion (mmol/l) | 95 - 110 | - | 95 - 108 |
| Vápník celkový (mmol/l) | 2,1 - 2,6 | 2,17 - 2,51 | 2,2 - 2,6 |
| Fosfáty anorg. (mmol/l) | 0,75 - 1,5 | 0,75 - 1,65 | 0,8 - 1,5 |
| Hořčík celkový (mmol/l) | 0,7 - 1,1 | 0,71 - 0,94 | 0,7 - 1,0 |
| Kreatinin muži-(M) (μmol/l) | 60 - 110 | 64 - 100 | - |
| Kreatinin ženy-(Ž) (μmol/l) | 45 - 90 | 51 - 84 | - |
| Bilirubin celkový (μmol/l) | 1 - 20 | 5 - 25 | - |
| Bílkovina celková (g/l) | 60 - 80 | 62 - 78 | 60 - 80 |
| Albumin (g/l) | - | 36 - 48 | 35 - 50 |
| Močovina M < 50 let (mmol/l) | 3,5 - 8,0 | 3,2 - 8,2 | 2,5 - 7,8 |
| Močovina M > 50 let (mmol/l) | 4,0 - 9,0 | - | - |
| Močovina Ž < 50 let (mmol/l) | 3,0 - 7,0 | - | - |
| Močovina Ž > 50 let (mmol/l) | 3,5 - 8,0 | - | - |
| Kyselina močová M (μmol/l) | - | 230 - 480 | 200 - 430 |
| Kyselina močová Ž (μmol/l) | - | 155 - 350 | 140 - 360 |
| Glukóza sérum (mmol/l) | - | 4,0 - 6,1 | - |
| Glukóza plazma (mmol/l) | - | 4,2 - 6,3 | - |
| Cholesterol < 50 let (mmol/l) | - | 3,3 - 6,9 | - |
| Cholesterol > 50 let (mmol/l) | - | 3,9 - 7,8 | - |
| LD (μkat/l) | 2,0 - 4,2 | 1,75 - 3,4 | - |
| ALP (μkat/l) | 0,5 - 1,85 | 0,58 - 1,75 | - |
| ALT M (μkat/l) | 0,1 - 0,67 | 0,17 - 1,17 | - |
| ALT Ž (μkat/l) | 0,1 - 0,58 | 0,16 - 0,75 | - |
| AST M (μkat/l) | 0,1 - 0,58 | 0,25 - 0,75 | - |
| AST Ž (μkat/l) | 0,1 - 0,5 | 0,25 - 0,58 | - |
| CK M (μkat/l) | 0,79 - 4,2 | 0,8 - 6,7 | - |
| CK Ž (μkat/l) | 0,5 - 3,0 | 0,6 - 3,5 | - |
| GGT M (μkat/l) | 0,1 - 0,83 | 0,17 - 1,33 | - |
| GGT Ž (μkat/l) | 0,1 - 0,58 | 0,25 - 0,75 | - |

Faktory, ovlivňující meze harmonizovaných referenčních intervalů:

Pohlaví: závislost hodnot RI je zřejmá zejména u enzymů, kyseliny močové, kreatininu a močoviny

Věk: tento vliv není zpracovaný dostatečně a v tabulce je zřejmý jen u močoviny a cholesterolu. Referenční

intervaly u dětí jsou speciálním, zde neanalyzovaným, ale dlouhodobě řešeným problémem (9).

Metoda: ovlivnění RI metodami měření reflektuje nedostatky ve standardizaci analytických procesů a rozdíly v analytické specifičnosti metod. Značné je ovlivnění volbou metody při stanovení albuminu

(metoda BCP by měla být preferována před BCG), použití nebo absence pyridoxal-5-fosfátu při měření katalytické koncentrace ALT a AST (viz. rozdíly u dat RCPA-QAP a NORIP). Publikované hodnoty RI u albuminu RCPA-QAP nebyly zatím pro předpokládaný silný vliv metod uzavřeny.

Etnické diference: jsou velmi nápadné při stanovení kat. k. GGT a ALT/AST u skandinávské populace

Problém validity: Hodnoty RI u cholesterolu a glukózy ukazují výhodu preference diagnostických rozhodovacích limitů.

Rozdíly hodnot v séru a plasmě: jsou zatím uváděny jen u skandinávských hodnot NORIP. Nejvýznamnější jsou podle očekávání při stanovení draselného kationtu.

Jak přistupovat k uvedeným harmonizovaným referenčním intervalům?

Vhodnost české alternativy harmonizovaných RI u standardizovaných metod se zdá být nesporná. Mohla by sloužit jako nástroj edukace, pomoc při akreditaci a materiál k srovnávání. Jak postupovat při harmonizaci metod bez standardizace / harmonizace již vyžaduje jiné sdělení.

Literatura

1. Balla J, Hendl J.: Referenční hodnoty. Zdravotnické aktuality 224, 1992,7:125-146.
2. Rustad R, Felding P, Franzson L, Kairisto V, Lahti A. a spol.: The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25

common biochemical properties. Scand J Clin Lab Invest 2004,64/4:271-284.

3. Koerbin G, Sikaris K, Graham Jones RD, Flatman R, Tate JR.: An update report on the harmonization of adult reference intervals in Australasia. Clin Chem Lab Med doi.org/10.1515/cclm-2017-0920.
4. Webová adresa: <http://www.acb.org.uk/searchresults.aspx?indexCatalogue=search%2D2&searchQuery=%5DHarmonisation+of+Reference+Intervals+&wordsMode=1>
5. Webová adresa: <http://www.mylaboratoryquality.com/referenceintervals1x.htm>
6. Ichihara K, Ozarda Y, Barth JH, Klee G, Qui L. a spol.: A global multicenter study on reference values: 1. Assessment of methods for derivation and comparison of reference intervals. Clin Chim Acta 2017,467:70-82.
7. Ichihara K, Ceriotti F, Tam TH, Sueyoshi S, Poon Priscilla MK. a spol.: The Asian project for collaborative derivation of reference intervals: (1) strategy and major results of standardized analytes. Clin Chem Lab Med 2013,51/7:1429-1442.
8. CLSI-EP28-A3c: Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory. 3rd Edition, 2010. (www.clsi.org)
9. Higgins V, Khosrow A.: Advances in pediatric reference intervals: from discrete to continuous. J Lab Precis Med 2018,3/3:1-4.