

Harmonizace referenčních intervalů

Zima T.

Historie a teorie referenčních intervalů je zatím nedopsanou knihou. Prvá kapitola se odehrává na počátku 50. let. Poprvé je nastolena otázka jak posuzovat laboratorní výsledky a objevují se i prvá řešení nastavení horních a dolních limitů. Druhá kapitola se odehrává v letech 1960-1980. V této době je věnována pozornost biologickým variabilitám, pre-analytickým podmínkám, standardizaci, kontrole kvality a statistickým postupům. Výsledkem je nový koncept referenčních hodnot nahrazující normální hodnoty. Třetí kapitola je psána v letech 1980-2000. Vznikají prvá mezinárodní (IFCC) a národní (Francie, Španělsko, Skandinávie) doporučení týkající se referenčních hodnot, ty se stávají součástí běžné práce v klinických laboratořích. Problémem ale je vznik vlastních intervalů v laboratořích. Čtvrtá kapitola je z let 2000-2010. Mění se teorie a koncepce, referenční hodnoty jsou nahrazeny referenčními intervaly. Vznikají nová doporučení (IFCC, CLSI) s definovanými postupy měření i statistického zpracování. Poslední kapitola je zatím rozepsaná. Jde o koncept „univerzálních“ či „globálních“ referenčních intervalů.

Referenční intervaly jsou již nezbytnou součástí interpretace laboratorních výsledků. Existuje řada doporučení a postupů k jejich stanovení a ověření stejně jako lze nalézt v literatuře referenční intervaly pro prakticky všechny měřené veličiny v klinické laboratoři. Bohužel je zatím nedostatečná shoda mezi uváděnými hodnotami. Potřeba jejich sjednocování pramení jednak z pohybu osob a také ze vzniku sítí laboratoří. Není možné, aby laboratorní výsledky pacienta byly u různých lékařů odlišně hodnoceny. Referenční intervaly by se měly hodnotit pouze v závislosti na rase, pohlaví a věku, ne podle místa měření. Samozřejmě že unifikace referenčních intervalů souvisí i s pokračující standardizací laboratorních metod.

Existují studie vedoucí k cíli sjednocení referenčních intervalů (NORIP, NHANES III, FMMP). Na nás je pak správně tato data získaná na velkých souborech aplikovat po ověření v našich laboratořích.

Práce Šprongla a kol. by mohla být první ukázkou, jak se s uvedeným stavem vypořádat.

Validní referenční intervaly a rozhodovací limity zcela závisí na úrovni harmonizace výsledků laboratorních měření

Bedřich Friedecký, SEKK spol. s r. o. Pardubice

Základní vlastností referenčních intervalů a diagnostických rozhodovacích limitů v medicíně, založené na důkazech použitelných i v „personalizované“ medicíně, je jejich nezávislost na použité metodě a na místě měření - laboratoři, v níž je prováděno. Hodnoty mají být závislé jen na pohlaví, etnicitě a věku [1-3]. Nutnou podmínkou dosažení tohoto stavu je dosažení harmonizace výsledků měření. Nástrojem dosažení harmonizace je standardizace. Ta je založena na existenci a použití (bohužel často neznamená existence také automaticky použití) referenčních metod nebo referenčních materiálů - nejlépe obou současně.

Požadavky na ustanovení referenčních intervalů a rozhodovacích limitů lze shrnout následovně:

- Existence referenčního systému (metody/materiálu)
- Harmonizace výsledků, dosažená návazností na referenční systém
- Účinná kontrola hodnot indikátorů analytické kvality, založená na souhlasu stanovené nejistoty s její požadovanou velikostí
- Dodržení požadované úrovně kvality indikátorů preanalytické fáze
- Validace referenčních intervalů v rutinních laboratořích

Tento přístup získávání referenčních intervalů (někdy označovaných jako „návazné“ referenční intervaly) vyžaduje provádění multicentrických studií, nejlépe mezinárodního charakteru. Počty členů referenční populace by měly být co nejvyšší, jejich výběr velmi přísný a získané výsledky uvážlivě a efektivně selektované do skupin podle věku, pohlaví a etnicity. Problémy tvorby referenčních intervalů a rozhodovacích limitů řeší Pracovní komise IFCC C-RIDL (Commission for reference intervals and decision limits). Pod patronací jejích členů byly recentně uskutečněny dvě velké multicentrické studie s asijskými referenčními populacemi.

Máme na mysli japonskou národní studii s 5748 členy referenční populace a s účastí více, než 100 japonských regionálních laboratoří [4] a asijský projekt (s 3541 členy referenční populace s podílem 63 laboratoří z 6 zemí -Vietnamu, Číny, J. Koreje, Indonésie, Malajsie, Japonska [5].

Kromě harmonizace výsledků, kvalitní preanalytické fáze a pečlivého výběru referenční populace patří mezi prvořadě podmínky úspěšnosti ustanovování referenčních limitů problém, kdo za ně a jejich náležitou úroveň odpovídá. Tuto otázku nelze odpovědět jinak, než že odpovědnost je společně sdílená laboratořemi, výrobci, organizátory EHK, odbornými společnostmi, mezinárodními orgány a metrologickými institucemi (IFCC, JCTLM a další). V nevysoké úrovni organizace, schopnosti a ochoty k tak široké kooperaci je zřejmě kámen úrazu pro dosažení patřičné úrovně.

Nedávno byl uveřejněn protokol C-RIDL IFCC postupu provádění multicentrických studií, pokoušející se o vyjádření komplexnosti celého průběhu [6]. Zahrnuje:

- Organizaci a řízení studie
- Ustanovení referenční populace (zařazení a vyřazení účastníků)
- Metodiku určování stavu zdraví souboru referenční populace
- Cílové analyty
- Odběr krve
- Přípravu a skladování vzorků
- Měření
- Kontrolu průběhu
- Etické problémy studie
- Analýzu dat

Za aktuální problémy kolem referenčních intervalů ve světě lze považovat zejména:

- dosahování pokroků v harmonizaci výsledků měření
- větší množství vykonaných multicentrických studií podle protokolu IFCC C-RIDL
- aplikace postupů a myšlenek C-RIDM v pracovní dokumentaci metod výrobců IVD, která se zatím stereotypně, nedostatečně a bez náležitých souvislostí s harmonizací a standardizací omezuje na nespecifikované doporučení tvorby vlastních referenčních intervalů laboratoří

V našich českých podmínkách by se mi jevilo velmi záhodné vytvořit podrobné doporučení, jak provádět a jak hodnotit výsledky validací referenčních intervalů v rutinních laboratořích, zejména navrhnout postupy pro situace rozporů mezi teoretickými a reálně zjištěnými daty.

Pozitivnější obraz situace, než nepřehledný, málo jistý a místy i neutěšený stav hodnot referenčních intervalů v laboratořích používaných přináší používání diagnostických rozhodovacích limitů, přebíraných z řady mezinárodních doporučení, orientovaných na diagnózu chorob (diabetu, nefropatií, dyslipidemií, kardiálních).

Pregnantními ukázkami problémů referenčních intervalů/rozhodovacích limitů jsou kardiální troponiny I a 25-hydroxyvitamin D. U cTnI jde o nesrovnatelnost horních hranic referenčních intervalů jak mezi metodami, tak i uvnitř stejných metod. V prvním případě (rozdíl mezi metodami) jde o absenci standardizace (každá metoda měří jiné chemické individuum), v druhém případě (různá data různých publikací pro stejné metody) jde o nesprávný výběr referenční populace (do které byli zařazeni pacienti s nedostatečně vyšetřenými kardiálními funkcemi).

U konjunkturálního měření vitamínu D byla recentně zorganizovaná mezinárodní studie VDSP (vitamin D standardization program), která má jako cíl „reformovat“ již používané metody imunochemických měření

jejich harmonizací pomocí metody LC-MS/MS a referenčního materiálu SRM 972a, tedy o jakousi multicentrickou dodatečnou standardizaci.

Ustanovení efektivních, pacientům prospěšných hodnot referenčních intervalů je bez standardizace, harmonizace a návaznosti nedosažitelný cíl.

Literatura

1. **Panteghini, M., Cerriotti, F.** Obtaining reference intervals traceable to reference measurement systems: is it possible, who is responsible, what is the strategy? *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2012, 50: p. 813-817
2. **Braga, F., Panteghini, M.** Verification of in-vitro medical diagnostics (IVD) metrological traceability. Responsibilities and strategies. *Clin. Chim. Acta*, 2014, 432: p. 55-61
3. **Miller, G. W., Tate, J. R., Barth, J. H., Jones, G. R. D.** Harmonization: the sample, the measurement, and the report. *Ann. Lab. Med.*, 2014, 34: p. 187-197
4. **Yamamoto, Y., Hosogaya, S., Osawa, S., Ichihara, K., Onuma, T. et al.** Nationwide multicenter study aimed at the establishment of common reference intervals for standardized clinical laboratory tests in Japan. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013, 51: p. 1663-1672.
5. **Ichihara, Y., Cerriotti, F., Tam, T. H., Suyeoshi, S., Poon, P. M. et al.** The Asian project for collaborative derivation of reference intervals: strategy and major results of standardized analytes. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013: p. 1429-1442
6. **Ozarda, Y., Ichihara, K., Barth, J. H., Klee, G. G.** (C-RIDL IFCC). Protocol and standard operating procedures for common use in the worldwide multicenter study on reference values. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2013, 51: p. 1027-1040