

Zakresy referencyjne

Właściwe znaczenie „zakresów referencyjnych” i ich cel

Po pierwsze, osobny, pojedynczy wynik nie dostarcza wielu informacji. Wnioski można wyciągnąć jedynie na podstawie porównania wyniku z inną wartością. Porównanie z poprzednimi wynikami pacjenta pokazuje czy wartość jest stała, wzrasta, czy też maleje. Odniesienie do wyników zdrowych osób pozwala określić, czy wartość jest w typowym zakresie dla zdrowej populacji czy nie. Natomiast porównanie z decyzyjnymi wartościami granicznymi informuje, czy wskazane jest wykonanie innych badań.

Zakres wartości typowych dla zdrowych osób nazywany jest „zakresem referencyjnym”. Zwykle luźno odnosi się on do „zakresu wartości prawidłowych”. Co to jest „wartość prawidłowa”? Na wartości laboratoryjne wpływa wiele różnych czynników, od płci i wieku, po zwyczaje żywieniowe. Gdy mówimy o „zakresach referencyjnych” bardzo ważne jest, aby wiedzieć do czego się one odnoszą. Czy punkt odniesienia jest odpowiedni? Tylko w takim przypadku zakres referencyjny może być zastosowany dla danego pacjenta.



Ryc.1 Definicje

Populacja referencyjna z definicji składa się z jednostek referencyjnych. W szczególnych sytuacjach, mogą to być wyłącznie poprzednie wyniki tego samego pacjenta. Jednakże, populacja jednostek referencyjnych zwykle składa się z dużej liczby osób, z której wybranie reprezentatywnej grupy może stanowić pewną trudność. Do zdefiniowania populacji referencyjnej można użyć wielu kryteriów (wiek, płeć, przynależność etniczna itd.). Jeśli wiadomo, że wyniki pomiaru zależą od np. płci lub wieku, koniecznym jest zdefiniowanie odpowiednich subpopulacji referencyjnych. Grupy pacjentów, cierpiących na określoną chorobę, również mogą służyć jako populacje referencyjne dla poszczególnych pacjentów z danym schorzeniem. Takie szczególne zakresy referencyjne są pomocne np. w wykrywaniu remisji w ostrej białaczce, po przeszczepie szpiku lub w czasie ciąży. Jak łatwo przewidzieć, najczęściej wykorzystuje się zakresy referencyjne uzyskane

dla zdrowej populacji. Pojawia się więc problem ze zdefiniowaniem pojęcia „zdrowie”. Nie ma żadnych przejrzystych kryteriów pozwalających na wyeliminowanie osób „chorych” z populacji referencyjnej.

Wstępne warunki w wyznaczaniu zakresów referencyjnych

Zakresy referencyjne często odnoszą się do przypuszczalnie „zdrowych” grup ludzi, takich jak dawcy krwi, młodzi lekarze, pielęgniarki, sanitariusze i studenci medycyny. Niemniej jednak, zostało udowodnione, że wyniki od tak łatwo dostępnych grup znacząco różnią się od tych uzyskanych dla ogółu populacji i dlatego nie są reprezentatywne. Oznacza to zatem, że w każdej z tych grup uzyska się inne zakresy referencyjne, chociaż nie zawsze różnice będą duże [1-3]. Aby zakresy referencyjne były użyteczne, konieczne

jest określenie jasnych kryteriów wyboru populacji referencyjnej:

1. Wynik musi być porównany z wartością referencyjną odnoszącą się do danego pacjenta. Ten sam zakres nie może być wykorzystywany w różnych celach (np. fizjologiczne badania u sportowców lub monitorowanie terapii u osoby ze zdiagnozowaną chorobą).
2. Ponadto, kryteria włączania lub wyłączenia osób z populacji referencyjnej muszą być wyjaśnione. Jeśli populacja wymaga podziału na podgrupy (np. ze względu na wiek, płeć), taka charakterystyka musi być znana dla każdej jednostki referencyjnej.
3. Jednostki referencyjne zawsze powinny być jak najbardziej porównywalne do pacjentów, dla których zakresy referencyjne będą używane.

Główne, znane czynniki wpływające na wartości referencyjne, które mogą być wzięte pod uwagę, to:

- płeć, wiek, przynależność etniczna, status społeczny i zawód, warunki środowiskowe
- dieta
- okoliczności pobrania próbki

Czynniki wpływające na różnice zakresów referencyjnych w hematologii:

- warunki przedanalizacyjne, wiek próbki
 - o transport
 - o narażenie na ciepło
- zwyczaje żywieniowe
 - o poziom żelaza
 - o odwodnienie
- aktywność fizyczna
- znaczne różnice w wysokości nad poziomem morza
- narażenie na wybrane czynniki chemiczne w pracy, zanieczyszczenie środowiska, palenie papierosów
- itd.

Tabela 1. Czynniki wpływające na różnice zakresów referencyjnych w hematologii

Czynniki wpływające na różnice zakresów referencyjnych w badaniach moczu:

- czynniki przedanalizacyjne, wiek próbki
 - o transport
 - o konserwanty
 - o narażenie na ciepło i światło
- zwyczaje żywieniowe
- aktywność fizyczna
- sposób pobrania próbki
 - o pierwszy lub drugi poranny mocz
 - o mocz ze środkowego strumienia lub cewnika
 - o higiena miejsc intymnych

- narażenie na wybrane czynniki chemiczne pracy, zanieczyszczenie środowiska, palenie papierosów
- itd.

Tabela 2. Czynniki wpływające na różnice zakresów referencyjnych w badaniach moczu

Procedura wyboru odpowiedniego zakresu referencyjnego

W jaki sposób zagwarantować, że dla danego pacjenta wybrano odpowiedni zakres referencyjny?

Najprostszą metodą i jednocześnie rekomendowaną przez IFCC (Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) [2,7] jest niezależne wyznaczenie własnych zakresów referencyjnych przez laboratorium. W tym celu wybiera się odpowiednie grupy (np. grupa mężczyzn i grupa kobiet) z odpowiedniej populacji referencyjnej. Każda z rozpatrywanych grup powinna liczyć przynajmniej 120 osób, po wykluczeniu tych, którzy nie spełnili wybranych kryteriów. W celu wyeliminowania osób, które nie odpowiadają warunkom grupy referencyjnej (np. przyjmują leki wpływające na wyniki rozpatrywanych badań lub stosują niekonwencjonalną dietę), można posłużyć się ankietą np. taką, jaka znajduje się na stronach 10-11 załącznika C28-A3 CLSI/IFCC. W takich sytuacjach zakres referencyjny określany jest, jako zakres, w którym mieści się 95% wyników uzyskanych od wybranych osób. Jeśli parametr wykazuje jednocześnie patologicznie wysokie i niskie wartości, co zdarza się w przypadku większości parametrów hematologicznych [4-6], zarówno górny, jak i dolny zakres należy zmniejszyć o 2,5% i tak uzyskane wartości traktować jako zakres referencyjny. Jeśli wyniki pomiarów wykazują tylko nieprawidłowo wysokie wyniki, natomiast wyniki zbyt niskie nie mogą być oszacowane, co często ma miejsce w przypadku parametrów ocenianych w osadzie moczu, należy obniżyć górny zakres o 5%, aby otrzymać zakres wartości referencyjnych.

Możliwe jest również wyznaczenie zakresów referencyjnych w oparciu o grupę 80 osób, ale ten sposób wymaga bardziej skomplikowanych obliczeń matematycznych (patrz. tabela 3). Jeśli rozpatrujemy różne subpopulacje, np. mężczyzn i kobiet, uzyskane wartości mogą być porównane w celu ustalenia, czy uzyskane różnice są istotne statystycznie. Jeśli nie są, wartości mogą zostać połączone, w celu wyznaczenia wspólnego zakresu referencyjnego. Jednak często zarówno 80, jak i 120 osób stanowi niewystarczającą liczbę do ustalenia zakresów referencyjnych, zwłaszcza gdy występuje kilka subpopulacji. Wówczas warunek

80 lub 120 osób musi być spełniony dla każdej subpopulacji.

Opisany powyżej sposób wyznaczania zakresów referencyjnych znany jest jako „metoda nieparametryczna”. Do wyznaczania zakresów referencyjnych stosowane są również metody parametryczne, bazujące na obliczeniu: średnia $\pm$ odchylenie standardowe. Ta metoda zakłada, iż rozpatrywane parametry podlegają rozkładowi normalnemu lub rozkładowi Gaussa, co w przypadku licznych parametrów nie jest prawdą. W niektórych przypadkach, przekształcenie logarytmiczne umożliwia zmianę wartości nie mających rozkładu normalnego na wartości o rozkładzie normalnym. Niemniej jednak niesie to ze sobą zwiększone ryzyko błędu ze względu na przekształcenia. Teoretyczną zaletą tej metody jest to, że nie wymaga ona tak dużej próby, jak metody nieparametryczne, ale dla wielu parametrów nie ma bezpośredniego zastosowania, wymaga dodatkowych przekształceń, co zwiększa popełniany błąd matematyczny.

Tabela 3 Parametryczne i nieparametryczne metody wyznaczania zakresów referencyjnych

Badanie przydatności zakresów referencyjnych oznaczonych przez inny ośrodek

Ze względu na przedstawione powyżej przyczyny, bezpośrednie zastosowanie zakresów referencyjnych wyznaczonych przez inne laboratorium jest niedopuszczalne i może być niebezpieczne dla pacjentów. Ich przydatność powinna zostać zweryfikowana w każdym przypadku. W tym celu IFCC proponuje następującą procedurę [7]:

Należy zebrać 20 miejscowych próbek referencyjnych i porównać je z rozpatrywanymi zakresami referencyjnymi. Jeśli nie więcej niż 2 próbki wykraczają poza zakres, może on być stosowany. Jeśli poza zakres wykraczają 3-4 próbki, należy przebadać kolejnych 20 miejscowych próbek referencyjnych. Jeśli z kolejnej dwudziestki nie więcej niż 2 wyniki nie mieszczą się w zakresach, mogą być zastosowane. Jeśli 5 lub więcej spośród pierwszej dwudziestki lub więcej niż 2 z drugiej dwudziestki wyników nie mieści się w zakresach, zakresów nie można stosować dla pacjentów badanych w tym laboratorium. Rozwiązaniem jest wyznaczenie nowych zakresów (jak powyżej) lub walidacja innych, wcześniej wyznaczonych zakresów referencyjnych.

Różnica pomiędzy zakresem referencyjnym a decyzyjną wartością graniczną

Jeśli wynik pacjenta nie mieści się w zakresach referencyjnych, oznacza to, że dla danego pacjenta

wynik tego parametru różni się od większości populacji, ale nie zawsze oznacza konieczność podjęcia leczenia:

Po pierwsze, 5% wartości referencyjnej populacji nie mieści się w zakresie referencyjnym z definicji, a pacjent może należeć do tej grupy (należy pamiętać, że 5% oznacza 1 pacjenta na 20). Po drugie, w łagodnych postaciach wielu chorób nie jest wymagane leczenie. Wynik porównuje się z decyzyjną wartością graniczną, znaną jako „punkt odcięcia” (ang. cut-off). Mogą być one wyznaczone na podstawie analizy krzywej ROC (Receiver Operating Characteristic). Wykroczenie poza „normalny” zakres nie jest kluczowe na wielu płaszczyznach. Ma ono raczej znaczenie w przypadku postawionej diagnozy. W przewlekłych chorobach wartości decyzyjne mogą być wyznaczone np. w oparciu o aspekty terapeutyczne. Powstaje zatem pytanie, w jakich sytuacjach stan pacjenta uznawany jest za stabilny, a kiedy wymagana jest zmiana w terapii. W praktyce, do wyznaczania tych wartości można zastosować te same metody, co do wyznaczania zakresów referencyjnych dla zdrowych populacji. Jednakże, decyzyjne wartości graniczne często bazują na doświadczeniach klinicznych i porozumieniach specjalistów.

Zakresy referencyjne firmy Sysmex

Firma Sysmex jest zobowiązana do dostarczenia zakresów referencyjnych swoim Klientom i wywiązuje się z tego obowiązku przez różne publikacje, niemniej ze względu na przytoczone wcześniej powody, publikowane zakresy nie mogą być bezpośrednio zastosowane dla pacjentów.

Obecnie dostępnych jest kilka publikacji przedstawiających zakresy referencyjne dla analizatorów Sysmex (patrz tabela 4). Badania zostały przeprowadzone głównie przy użyciu analizatorów hematologicznych serii X. Można zauważyć, że zakresy różnią się dla różnych populacji.

Zakresy referencyjne opublikowane dla starszych analizatorów mogą być zastosowane dla analizatorów nowszych, ale po dokonaniu odpowiedniej walidacji. Ponieważ występują różnice w zakresach dla różnych populacji, informacje w tabeli mogą ułatwić wybór odpowiednich zakresów referencyjnych, które należy poddać walidacji.

Zakresy referencyjne dla analizatorów serii XN zostały wyznaczone przez Sysmex Corporation, ale należy zwrócić uwagę, że dotyczą one populacji japońskiej.

Pierwszy autor	Analizator	Parametry	Populacja
Hong et al. [8]	XE-2100	PLT	Chińczycy Han
Qiao et al. [9]	XE-2100	CBC	Chińczycy Han
Ambayya et al. [10]	XE-5000	CBC + parametry badawcze	Różne grupy etniczne Malezji
Sehgal et al. [11]	XE-2100	CBC	Hindusi
El Graoui et al. [12]	XE-2100	CBC	Marokańczycy
Pekelharing et al. [13]	XE-5000	CBC + DIFF + RET	Holandrzy
Sysmex Corporation [14]	Seria XN	CBC + DIFF + RET + PLT-F	Japończycy

Tabela 4 Opublikowane zakresy referencyjne dla analizatorów firmy Sysmex

Źródła

[1] Haeckel R, Wosniok W and Arzideh F. (2007): A plea for intra-laboratory reference limits. Part 1. General considerations and concepts for determination. Clin Chem Lab Med 45 : 1033–1042.

[2] Henny J. (2009): The IFCC recommendations for determining reference intervals: strengths and limitations. LaboratoriumsMedizin 33 : 45–51.

[3] Ceriotti F, Hinzmann R and Panteghini M. (2009): Reference intervals: the way forward. Ann Clin Biochem 46 : 8–17.

[4] Wakeman L, Al-Ismaïl S, Benton A et al. (2007): Robust, routine haematology reference ranges for healthy adults. Int J Lab Hematol 29 : 279–283.

[5] Heil W and Ehrhardt V. (2008): Reference ranges for adults and children. Pre-analytical considerations. Mannheim: Roche Diagnostics.

[6] Bain BJ and England JM. (1975): Normal haematological values: sex difference in neutrophil count. Br Med J. 5953 : 306–309.

[7] Solberg HE. (2004): The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal program. Clin Chem Lab Med 42 : 710–714.

[8] Hong J, Min Z, Bai-Shen P, Jie Z, Ming-Ting P, Xian-Zhang H, Xiao-Ke H, Lan-Lan W, Xin Z, Wei G, Rui Q, Wen-Xiang C, Xin-Zhong W, Yue-Yun M, Hong S. (2014): Investigation on Reference Intervals and Regional Differences of Platelet Indices in Healthy Chinese Han Adults. J Clin Lab Anal; early online.

[9] Qiao R, Yang S, Yao B, Wang H, Zhang J, Shang H. (2014): Complete blood count reference intervals and age- and sex-related trends of North China Han population. Clin Chem Lab Med; early online.

[10] Ambayya A, Su AT, Osman NH, Nik-Samsudin NR, Khalid K, Chang KM, Sathar J, Rajasuriar JS, Yegappan S. (2014): Haematological Reference Intervals in a Multiethnic Population. PLoS One 18; 9(3) : e91968.

[11] Sehgal KK, Tina D, Choksey U, Dalal RJ, Shanaz KJ. (2013): Reference range evaluation of complete blood count parameters with emphasis on newer research parameters on the complete blood count analyzer Sysmex XE-2100. Indian J Pathol Microbiol 56(2) : 120–4.

[12] El Graoui O, Ellaabi S, Igala M, Elalloussi FZ, Nourchafi N, Mifdal H, Serhier Z, Othmani MB, Mikou KA, Oukkache B. (2014): Hematology reference intervals in Moroccan population. Clin Lab 60(3) : 407–11.

[13] Pekelharing JM, Hauss O, de Jonge R, Lokhoff J, Sodikromo J, Spaans M, Brower R, de Lathouder S, Hinzmann R. (2010): Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. Sysmex Journal International Vol. 20. No. 1.

[14] Sysmex Corporation, Japan (2014): Reference ranges analysis document for XN series.