

Проект по разработке российских референсных интервалов для аналитических платформ Beckman Coulter в рамках международной работы IFCC

Татьяна Окша
Специалист по продукции Гематология, Биохимия
Beckman Coulter

© 2019 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.

Move healthcare forward.



Определение референтного интервала



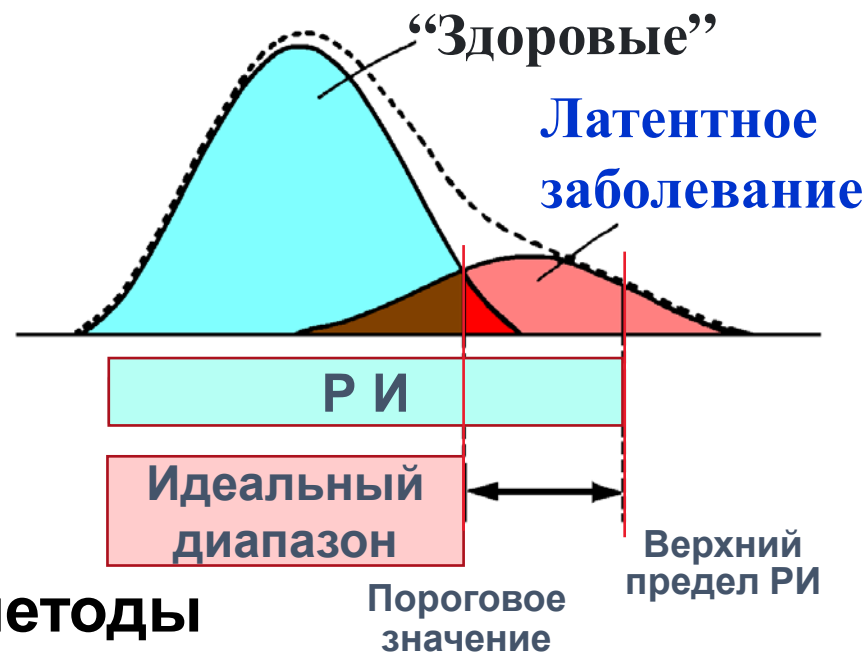
Нелегко
определить



Несмотря на глобальную стандартизацию лабораторных тестов РИ остаются дискордантными

Почему?

1) **Кто** рассматривается как референтный индивидuum?



2) Сложные статистические методы

3) Требуется **большая выборка** индивидuumов

➔ Необходимо мультицентровое исследование для установления общих РИ

Задачи глобального исследования IFCC



■ Гармонизация мультицентрового исследования

(1) Использование странами-участницами **общего протокола исследования;**

(2) Обеспечить **прослеживаемость результатов** до референтной процедуры измерения.

■ Сравнение референтных значений между странами

(3) Обеспечить **сопоставимость результатов** между странами через измерение общей панели сывороток;

(4) Изучить **источники вариации*** в глобальном масштабе.

***Раса, регион, пол, возраст, индекс массы тела и образ жизни**

Цели российского проекта

- › Установить референтные интервалы (РИ) для российской популяции
- › Изучить возможные источники вариации РИ в России: региональные и этнические отличия, пол, возраст, индекс массы тела, курение, потребление алкоголя, физическая активность
- › Сопоставить российские РИ с референтными интервалами других стран участниц проекта

Yesim Ozarda, Kiyoshi Ichihara*, Julian H. Barth, George Klee and on behalf of the Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL), International Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

Protocol and standard operating procedures for common use in the worldwide multicenter study on reference values

Участники проекта в России

- ✓ ООО «Бекмен Культер»
- ✓ ООО «НПФ «Хеликс»
- Лабораторный комплекс г. Санкт-Петербург
- Лабораторный комплекс г. Екатеринбург
- Лабораторный комплекс г. Москва



Критерии включения добровольцев

✓ Участники должны чувствовать себя субъективно хорошо



✓ Возраст старше 18 лет:
80% должны быть от 18 до 65 лет с равным распределением по возрасту и полу, кроме возрастной группы старше 65 лет.

Критерии исключения добровольцев

Первичное исключение

Донорство
крови
≤ 3 недели
назад



Отклонения
в клиническом
анализе крови



Участие в другом
исследовании с
приемом
эксперименталь-
ных препаратов
≤ 12 недель
назад



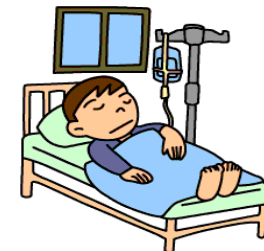
Беременность,
≤ 1 года после
родов



Хронические
заболевания;
Диабет



≤ 4 недель после
госпитализации



Гепатит В,С
или ВИЧ



Календарь проекта

1. Заполнение анкеты общего состояния здоровья.
2. Измерение давления, веса, роста, окружности живота.
3. Взятие крови: 3 – сывороточные пробирки, 1 – на клинический анализ крови.
4. Маркировка пробирок.
5. Центрифугирование.
6. Приготовление пула сывороток и аликвотирование в криовials.
7. Замораживание при $t^{\circ} -70$.
8. Для Екб и Мск: транспортировка в СП-б на сухом льду.

Список анализов

AST

ALT

ALP

LDH

CK

Amylase

TG

T-Chol

HDL-C

LDL-C

Na K Cl

Phos

Fe

Mg

Glucose

Total Protein

Creatinine

Urea

Urea Acid

Total Bilirubin

Albumin

High sens CRP

Transferrin

IgG

IgA

IgM

C3

C4

TSH

fT4

fT3

Total T4

Total T3

Anti TG

Anti TPO

Prolactin

FSH

LH

Estradiol

Progesterone

Testosterone

Growth Hormone

Cortisol

PTH

Insulin

CEA

CF125

CF19.9

CF15.3

AFP

Ferritin

Vitamin B12

Folate

SHBG

FAI

Итого:

57 анализов

б/х – 32

и/х - 25

Схема аналитического - биохимия

➤ Анализ сывороток добровольцев

Разморозка аликвоты:

≥ 1 ч и ≤ 4 ч при комнатной температуре



Генерация
штрих-кодов
для пробирок б/х

32 б/х анализа

Анализатор AU 5800

Beckman Coulter:

- **40-80 сывороток в день = 1280-2560 анализов в день**
- **Всего: 25600 анализов**

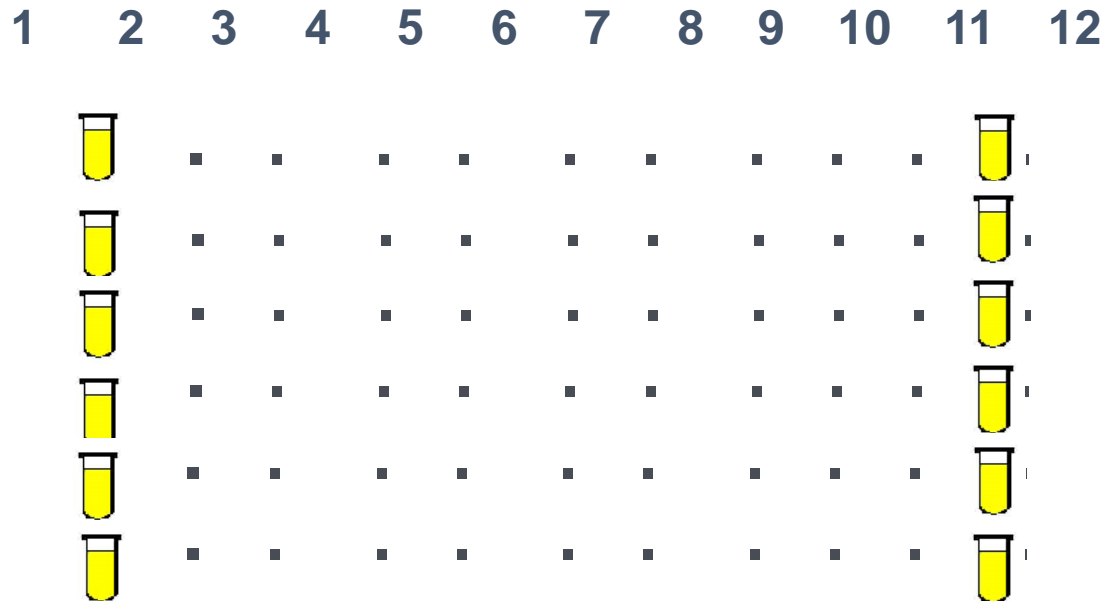
Анализ мини-панели сывороток

Цель: оценка междневного коэффициента вариации (CV%)

6 добровольцев:

Дни постановок

6: б/х

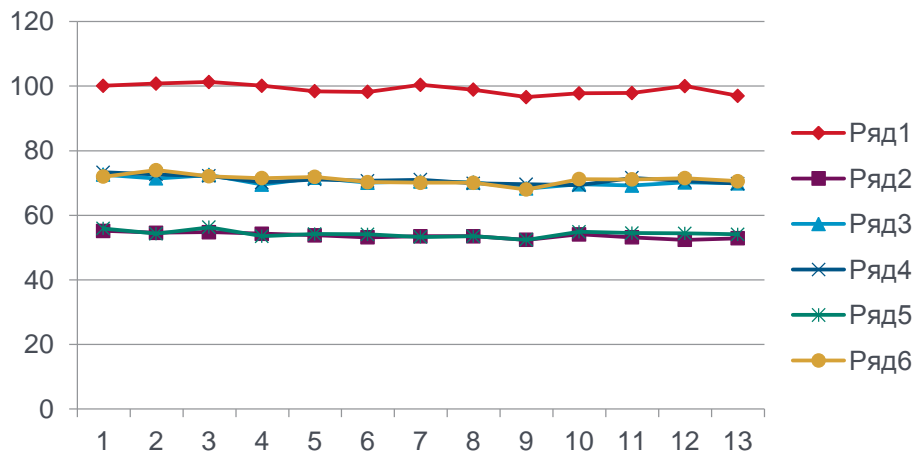


Заморожено по 30
аликвот от каждого
добровольца

Ежедневная постановка по 1 аликвоте
от каждого добровольца

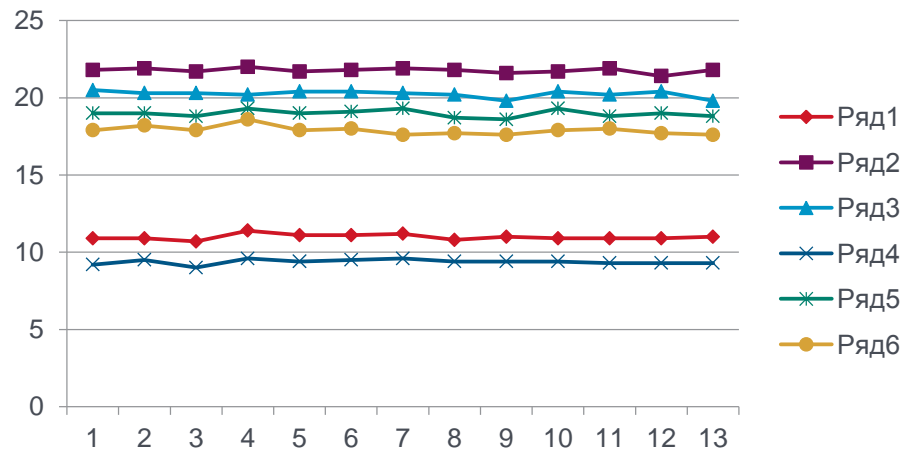
Анализ результатов мини-панели Биохимия

ALP



Ср. знач.	99.03	53.68	70.43	70.92	54.26	71.10
SD	1.50	0.88	1.27	1.23	1.03	1.40
CV%	1.52	1.64	1.80	1.74	1.91	1.97
CV% (инстр.)	0.99	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48
Ср. знач. (инст)	260	21	21	21	21	21

Fe



Ср. знач.	10.98	21.76	20.24	9.37	18.97	17.89
SD	0.18	0.15	0.21	0.16	0.23	0.28
CV%	1.65	0.71	1.07	1.74	1.21	1.57
CV% (инстр.)	2.09	1.77	1.77	2.09	1.77	1.77
Ср. знач. (инст)	9.59	28.34	28.34	9.59	28.34	28.34

Анализ панели сывороток: перекрестное тестирование

- Цель:

- Обеспечить сопоставимость результатов между странами путем перекрестного тестирования образцов
- Возможность сравнения результатов между странами и выявление источников вариации в глобальном масштабе



Общее количество аликвот:
стандартно 80 штук

Мультицентровое перекрестное иссл.-е



ВС Mishima Лаборатория,
Япония



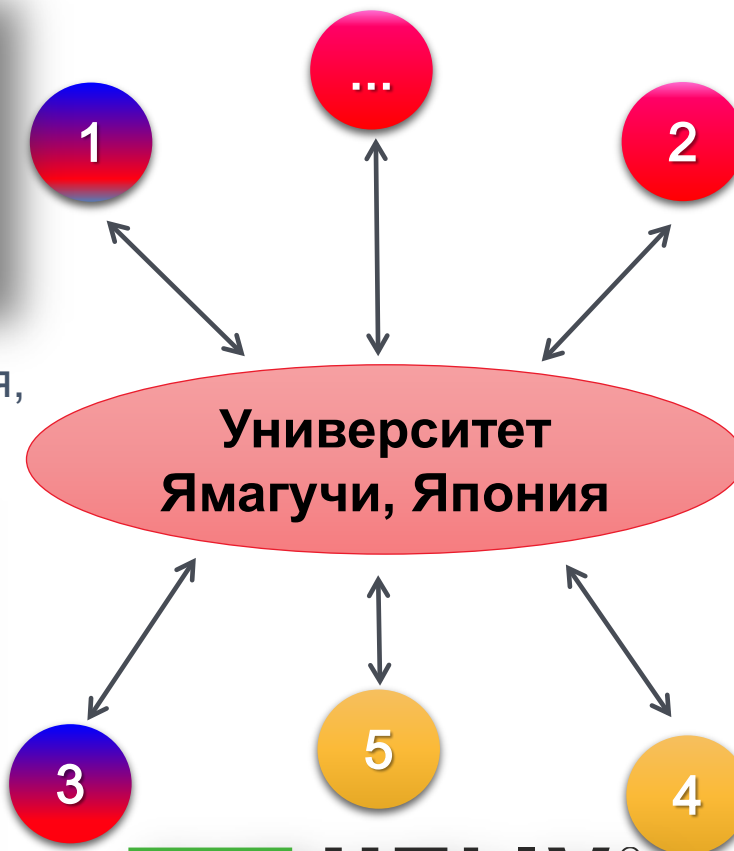
Клиника Mayo,
Манчестер, США



Университет Uludag,
Турция



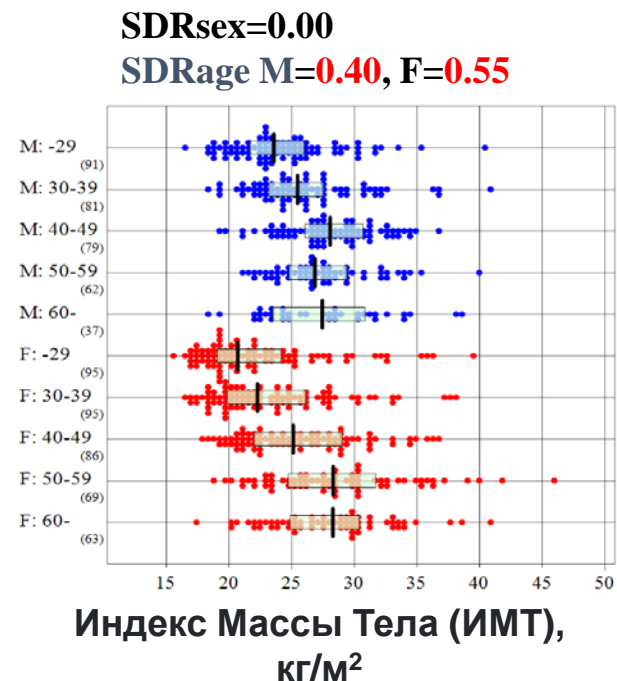
ARUP лаборатории,
Salt Lake City, США



НПФ Хеликс; Санкт-Петербург Россия

Добровольцы и образцы сыворотки

Город	Мужчины	Женщины	Общее
Санкт-Петербург	243	280	523 (66%)
Москва	61	72	133 (17%)
Екатеринбург	67	70	137 (17%)
Общее:	371	422	793
ИМТ (медиана)*:	26.1	23.7	
ИМТ 95% перцентиль	19.4-36.3	17.4-39.5	



*Индекс Массы Тела (ИМТ) >28: 34% среди мужчин и 30% среди женщин

32 анализа были измерены в сыворотках крови на анализаторе AU (Beckman Coulter, Inc.) в лаборатории Хеликс (Санкт-Петербург)



Муж – синий, Жен- красный

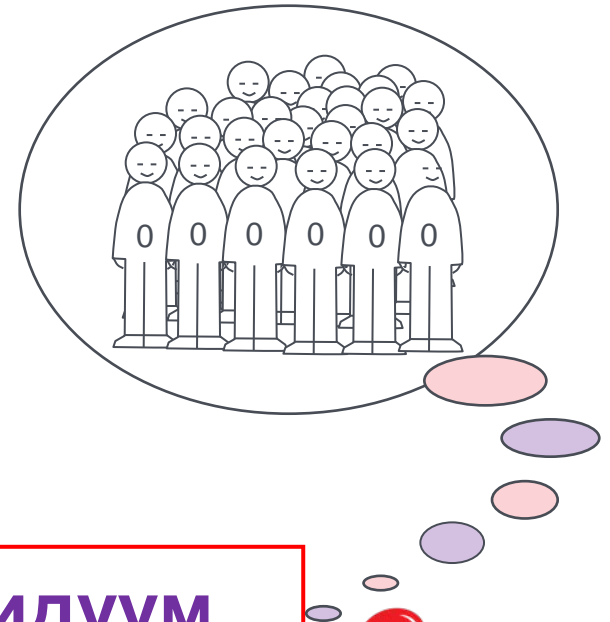
Метод вторичного исключения результатов

LAVE – Latent Abnormal Values Exclusion

Метод Исключения Латентных Аномальных Результатов
(непосредственно при расчете РИ)

Исключение результата при получении аномальных результатов по основным тестам:

1. С-реактивный белок (СРБ),
2. Мочевая кислота,
3. Глюкоза,
4. Триглицериды (ТГ),
5. Аланинаминотрансфераза (АЛТ),
6. Аспартатаминотрансфераза (АСТ),
7. Гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ)
8. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)
9. Креатинкиназа (СК)



Здоровый референтный индивидуум

Методы

1. Множественный регрессионный анализ (MRA)

Выявление источников вариации: пол, возраст, ИМТ, курение, потребление алкоголя, регулярные физические нагрузки

$-0.2 \geq r_p \geq 0.2$ - как критерий

2. 3-хуровневый метод Анализа источников вариации (ANOVA)

Расчет соотношения стандартного отклонения пола, возраста и региона (города) к межиндивидуальному:

$SDR \geq 0.3$ - как направляющий критерий

3. **Параметрический метод:** для большинства тестов - Вох-Сох трансформация

4. **Непараметрический метод:** для 4 тестов иммунохимии: гормон роста, прогестерон (женщины в пременопаузе), эстрадиол (женщины в постменопаузе), TgAb.

Референтные интервалы - биохимия

- Ферменты
- Липидный спектр + глюкоза
- Белковый обмен
- Билирубин
- Электролиты
- Белки воспаления

I. ФЕРМЕНТЫ

- АЛТ, АСТ, ЛДГ, ГГТ, ЩФ, АМИЛАЗА, КРЕАТИНКИНАЗА
- **Исключение методом LAVE:**
 - отсутствие аномальных результатов по 9 тестам: АЛТ, АСТ, ГГТ, ЛДГ, КК, ТГ, СРБ, глюкоза, мочевиная кислота
 - для всех ферментов, кроме амилазы (LAVE-независ.)
- **Зависимость от Индекса массы тела (ИМТ):**
 - исключение добровольцев с ИМТ >28
 - для всех, кроме амилазы и креатинкиназы
 - зависимые анализы - желтым цветом в таблицах

Ферменты

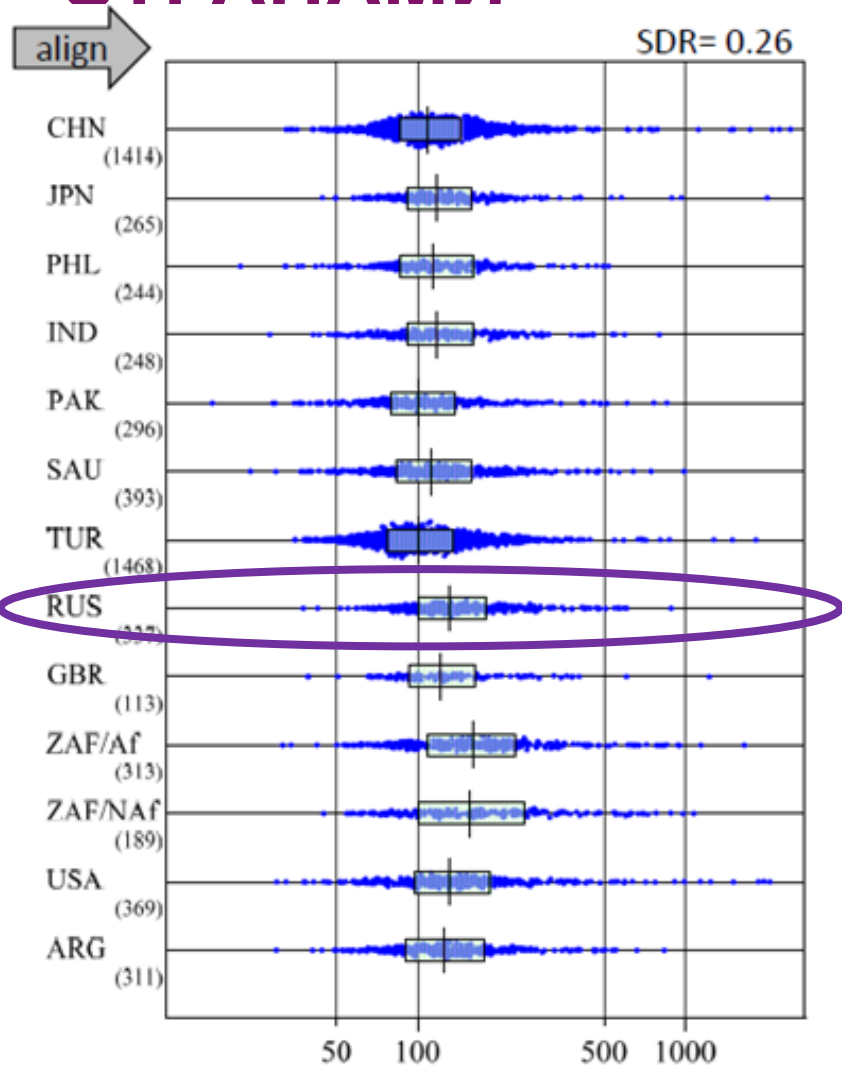
МУЖЧИНЫ

ЖЕНЩИНЫ

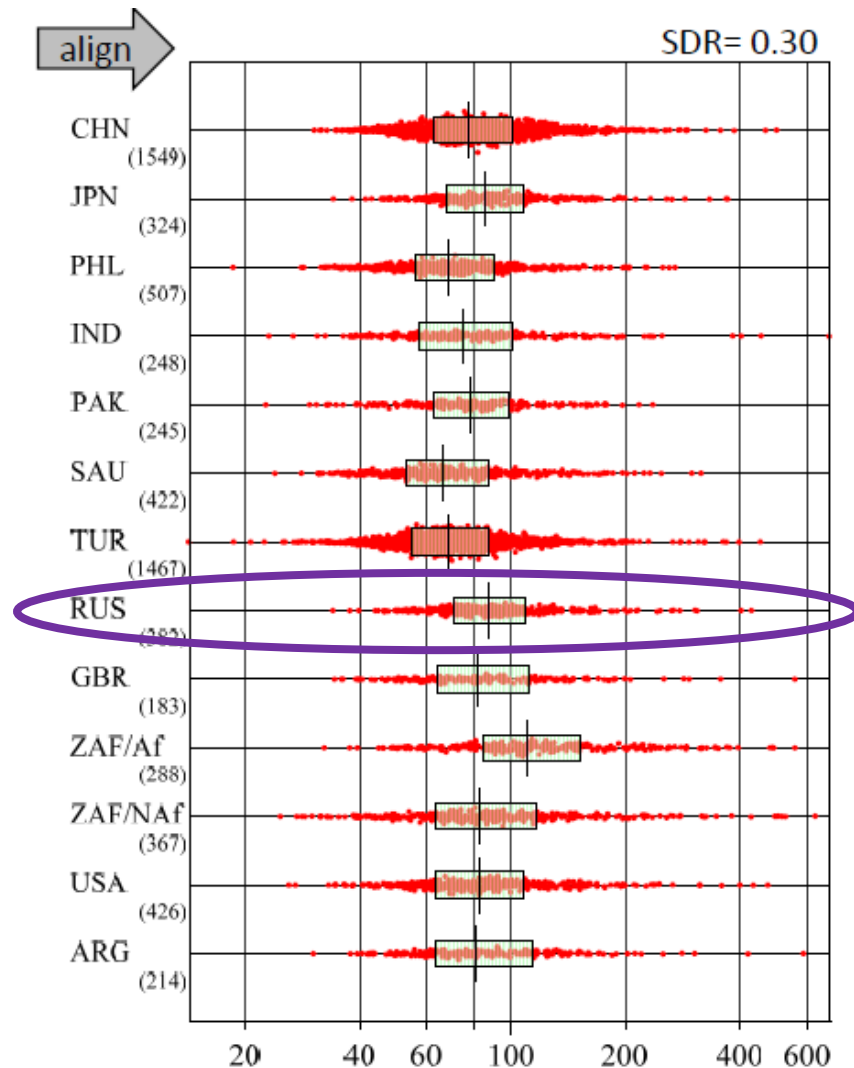
	Возраст	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел
АЛТ	все	180	11	20	51	243	7	13	31
Инструкция Ед/л			<50			<35			
АСТ	все	181	15	21	37	240	14	18	31
Инструкция Ед/л			<50			<35			
Креатинкиназа	все	276	66	132	427	315	43	84	186
Инструкция Ед/л			<171			<145			

- › РИ для АЛТ и АСТ будут выше, если не исключать добровольцев с ИМТ ≥ 28
- › Наибольшее отличие от инструкции – креатинкиназа

КРЕАТИНИНАЗА – СРАВНЕНИЕ МЕЖДУ СТРАНАМИ



Мужчины, КК ед/л



Женщины, КК ед/л

Ферменты

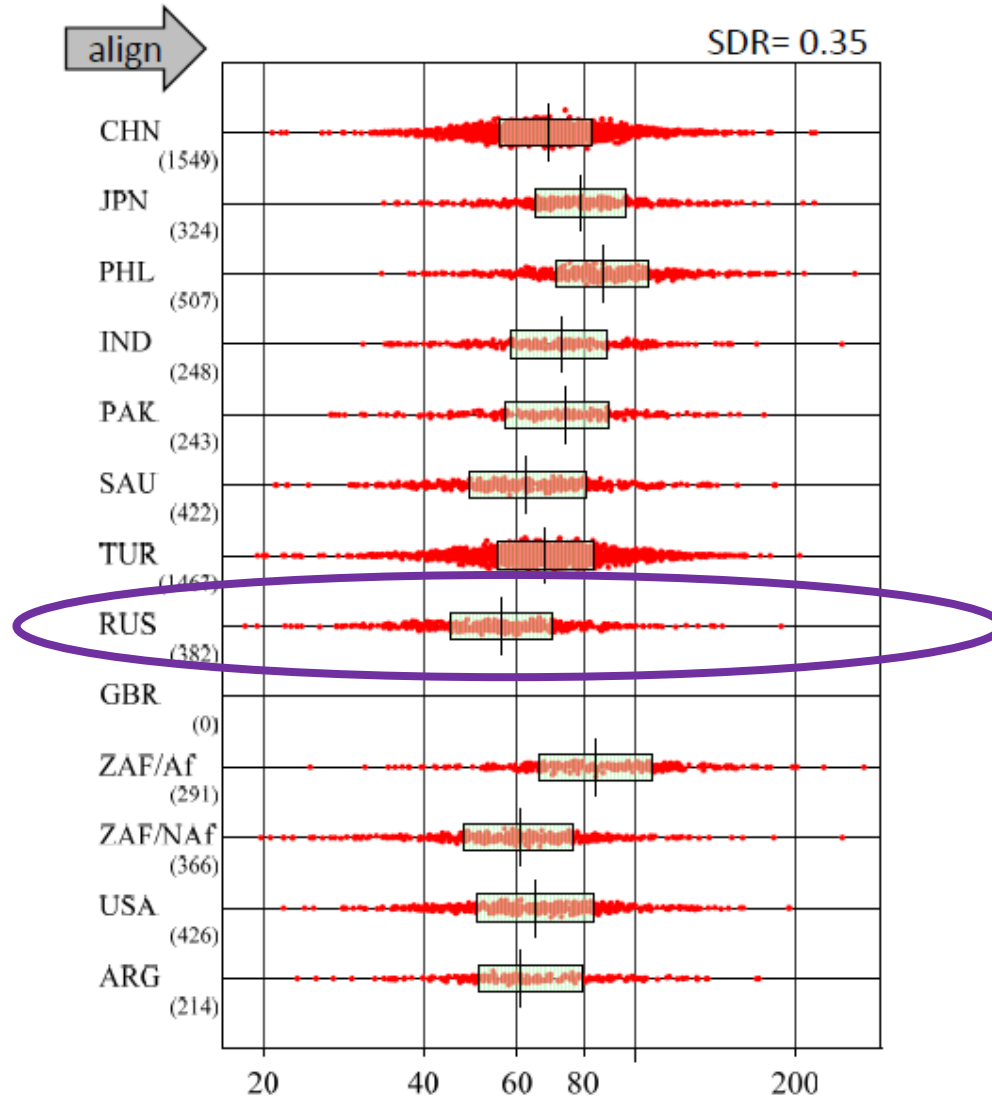
МУЖЧИНЫ

ЖЕНЩИНЫ

	Возраст	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел
Щелочная фосфатаза	все	271	46	77	121				
	<45					158	37	56	86
	≥45					87	39	72	123
Инструкция Е/л			30		120		30		120
Амилаза	все	332	27	55	100				
	<45					195	26	55	97
	≥45					94	28	57	120
Инструкция Е/л			28		100		28		100
ЛДГ	все	181	124	161	234				
	<45					162	112	153	206
	≥45					88	131	177	250
Инструкция Е/л					<248				<247

› Разная возрастная динамика у мужчин и женщин › разделение по полу

Амилаза - СРАВНЕНИЕ МЕЖДУ 12 СТРАНАМИ



Женщины, амилаза ед/л

Гамма-глутамилтрансфераза

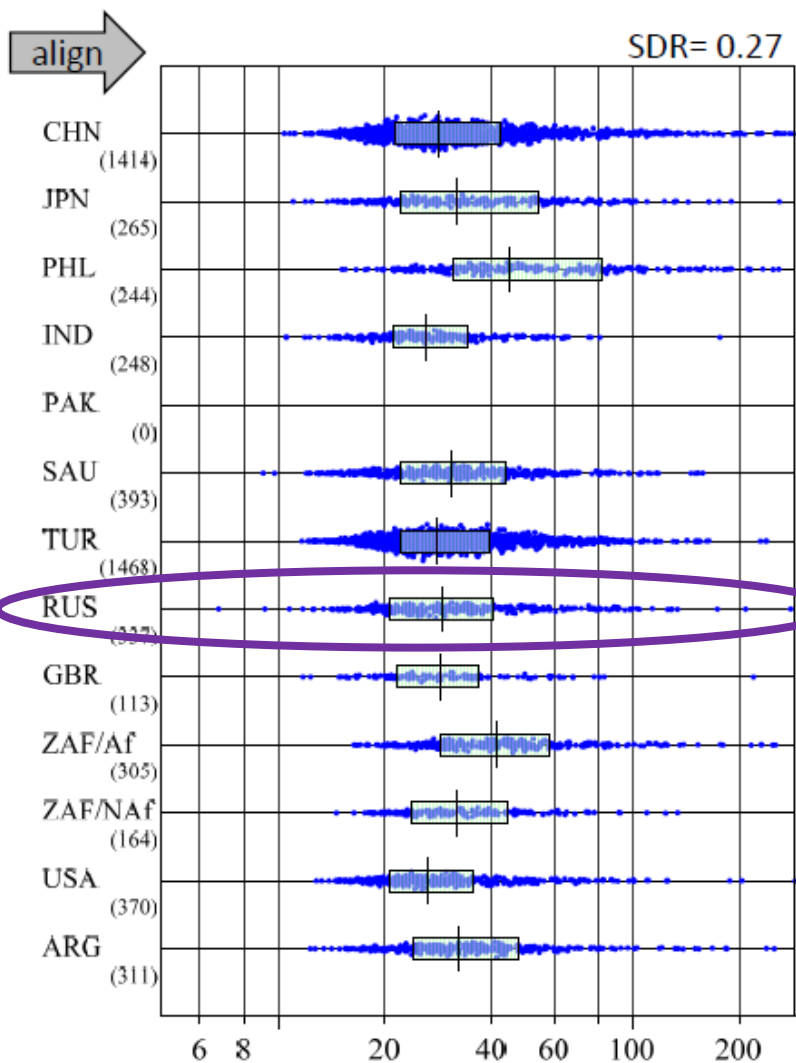
Мужчины

Женщины

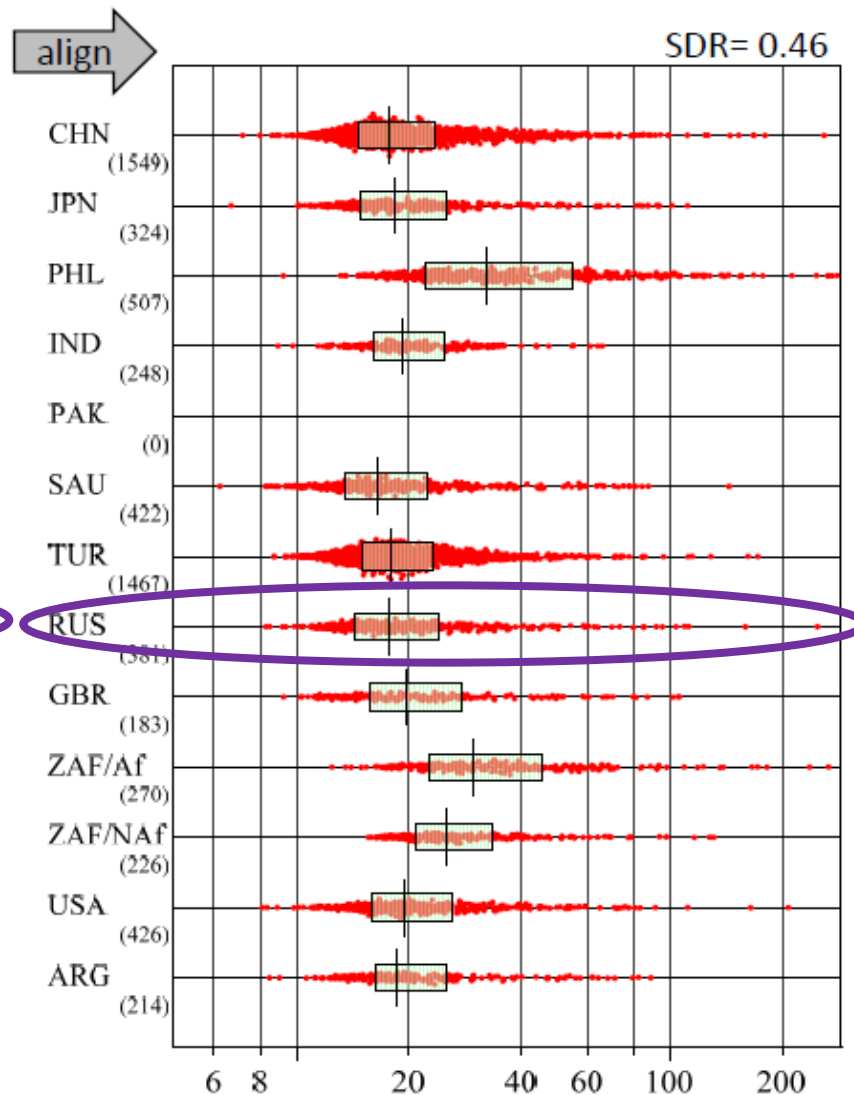
	Возраст	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел
ГГТ	все	177	13	23	70	235	9	14	32
	искл.этанол > 50 г	160	10	19	55	230	9	14	32
	Если не искл ИМТ>28	281	12	25	101	319	9	15	51
	<45	109	12	22	54	135	9	13	25
	≥45	56	12	27	94	74	8	16	41
Инструкция Ед/л			<55			<38			

- › Незначительное отличие между употребляющими алкоголь и нет
- › В старшей возрастной группе мужчин верхний предел выше инструкции
- › Без исключения по ИМТ верхние пределы РИ выше, чем в старшей возрастной группе

ГГТ – сравнение между 12 странами



Мужчины, ГГТ ед/л



Женщины, ГГТ ед/л

II. Липидный спектр

- ТГ, ХС, ХС ЛНП, ХС ЛПВ
- **Исключение методом LAVE:**
 - отсутствие аномальных результатов по 9 тестам:
АЛТ, АСТ, ГГТ, ЛДГ, КК, ТГ, СРБ, глюкоза, мочева
кислота
 - для всех кроме ХС ЛПВ
- **Зависимость от Индекса массы тела (ИМТ):**
 - исключение добровольцев с ИМТ >28
 - желтый цвет в таблицах
- **Ожидаемое различие между референтными интервалами и пороговыми значениями для принятия решения**

Липидный спектр – пороговые значения для принятия решения

Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза

Российские рекомендации

V пересмотр.

Москва. 2012 год

Разработан Комитетом экспертов Российского кардиологического общества (РКО), Национального общества по изучению атеросклероза (НОА) и Российского общества кардиосоматической реабилитации и вторичной профилактики (РосОКР)

Таблица 5. Оптимальные значения липидных параметров (в ммоль/л) в зависимости от категории риска.

Липидные параметры	В популяции (низкий риск)	Пациенты с умеренным риском	Пациенты с высоким риском	Пациенты с очень высоким риском
ОХС	≤5,5	≤5,0	≤4,5	≤4,0
ХС ЛНП*	≤3,5	≤3,0	≤2,5	≤1,8
ХС ЛВП**	муж.>1.0 жен.>1.2	муж.>1.0 жен.>1.2	муж.>1.0 жен.>1.2	муж.>1.0 жен.>1.2
ТГ	≤1.7	<1.7	<1.7	<1.7

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЙ РИСК И ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК: СТРАТЕГИИ КАРДИО-НЕФРОПРОТЕКЦИИ

Комитет экспертов Российского кардиологического общества (РКО), Научного общества нефрологов России (НОНР), Российской ассоциацией эндокринологов (РАЭ), Российского медицинского общества по артериальной гипертонии (РМОАГ), Национального общества по изучению атеросклероза (НОА), Российского научного медицинского общества терапевтов (РНМОТ).

Национальные рекомендации составлены на основании соответствующих разделов международных и национальных рекомендаций по хронической болезни почек, профилактике и лечению атеросклероза, артериальной гипертонии, сахарного диабета и сердечной недостаточности.

Российский кардиологический журнал 2014, 8 (112): 7-37

Министерство здравоохранения
Российской Федерации
Российская ассоциация эндокринологов
ФГБУ Эндокринологический научный центр

АЛГОРИТМЫ
СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ
МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ
БОЛЬНЫМ
САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Под редакцией И.И. Долова, М.В. Шестаковой

6-й выпуск
Москва
2013

Холестерин

МУЖЧИНЫ+ЖЕНЩИНЫ

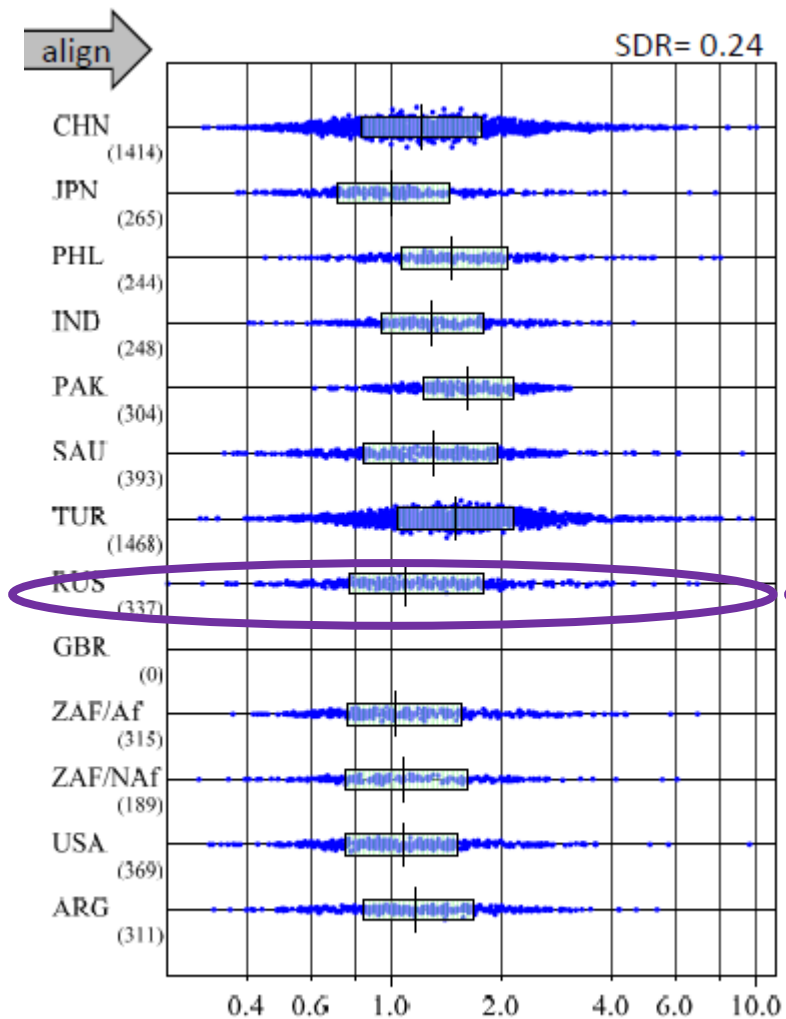
МУЖЧИНЫ

ЖЕНЩИНЫ

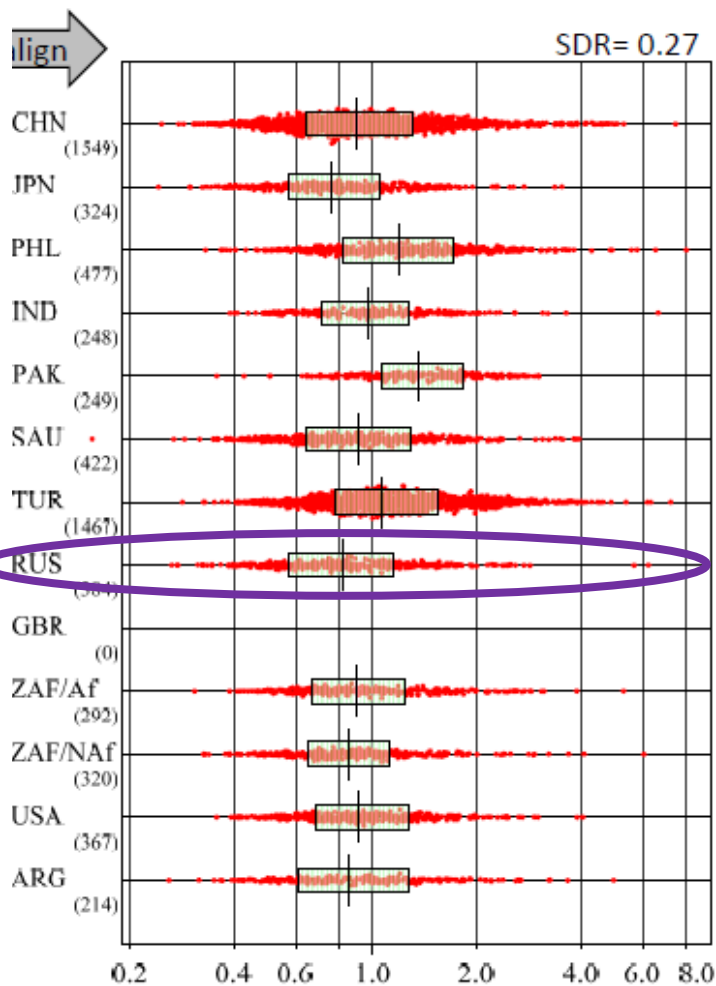
	Возраст	N	Нижний предел	Медиа на	Верхний предел	N	Нижний предел	Медиа на	Верхний предел	N	Нижний предел	Медиа на	Верхний предел
ХС общий	все	406	3,37	4,81	7,08								
	<45					125	3,25	4,65	6,85	159	3,25	4,56	6,33
	≥45					77	3,82	5,41	7,36	85	3,70	5,41	7,75
Инструкция ммоль/л					< 5.2								
ХС ЛНП	все	406	2,02	3,09	4,99								
	<45					125	1,91	3,09	4,85	159	1,86	2,84	4,16
	≥45	162	2,3	3,64	5,24								
Инструкция ммоль/л					< 2.6								

Липидные параметры	В популяции (низкий риск)	Пациенты с умеренным риском	Пациенты с высоким риском	Пациенты с очень высоким риском
ОХС	≤5,5	≤5,0	≤4,5	≤4,0
ХС ЛНП*	≤3,5	≤3,0	≤2,5	≤1,8

Триглицериды – сравнение между странами

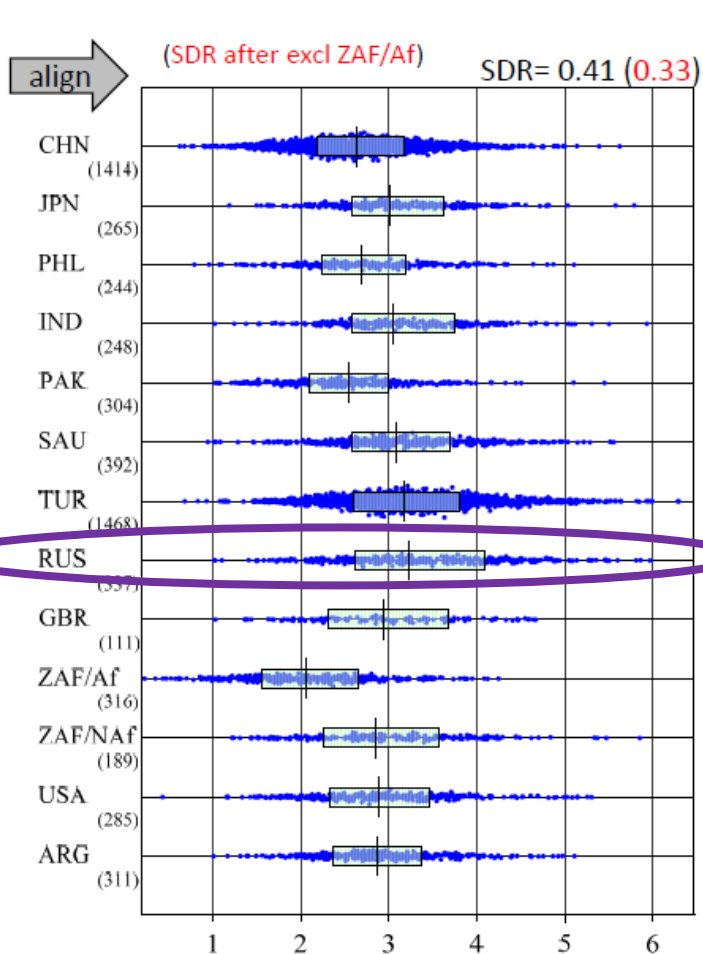


Мужчины, ТГ ммоль/л

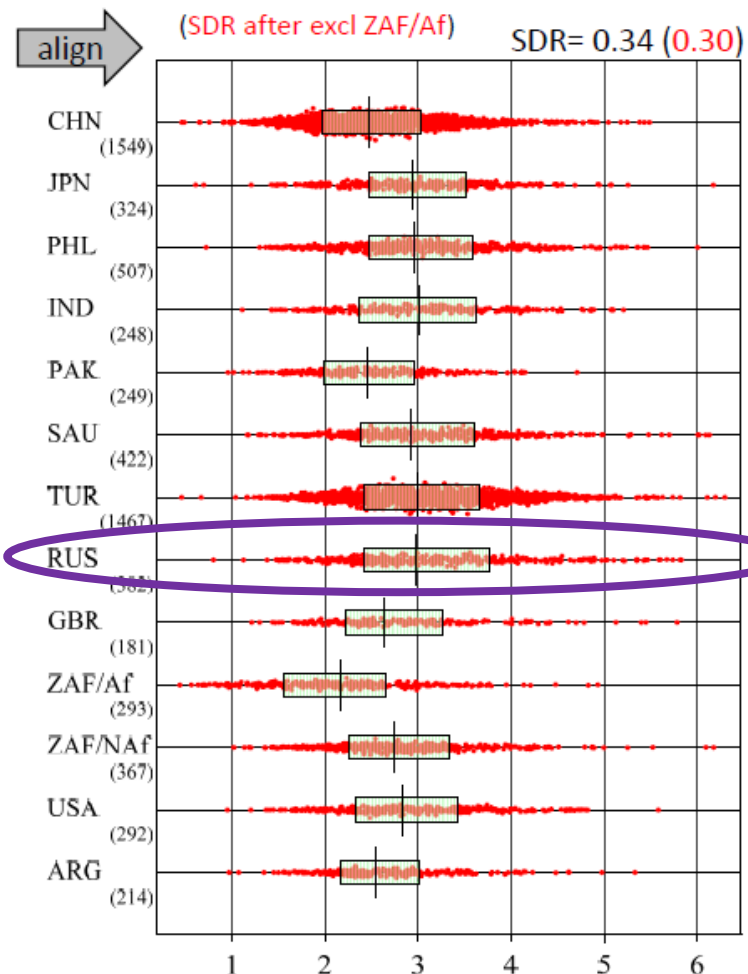


Женщины, ТГ ммоль/л

Холестерин липопротеидов низкой плотности



Мужчины, ХС ЛНП ммоль/л



Женщины, ХС ЛНП ммоль/л

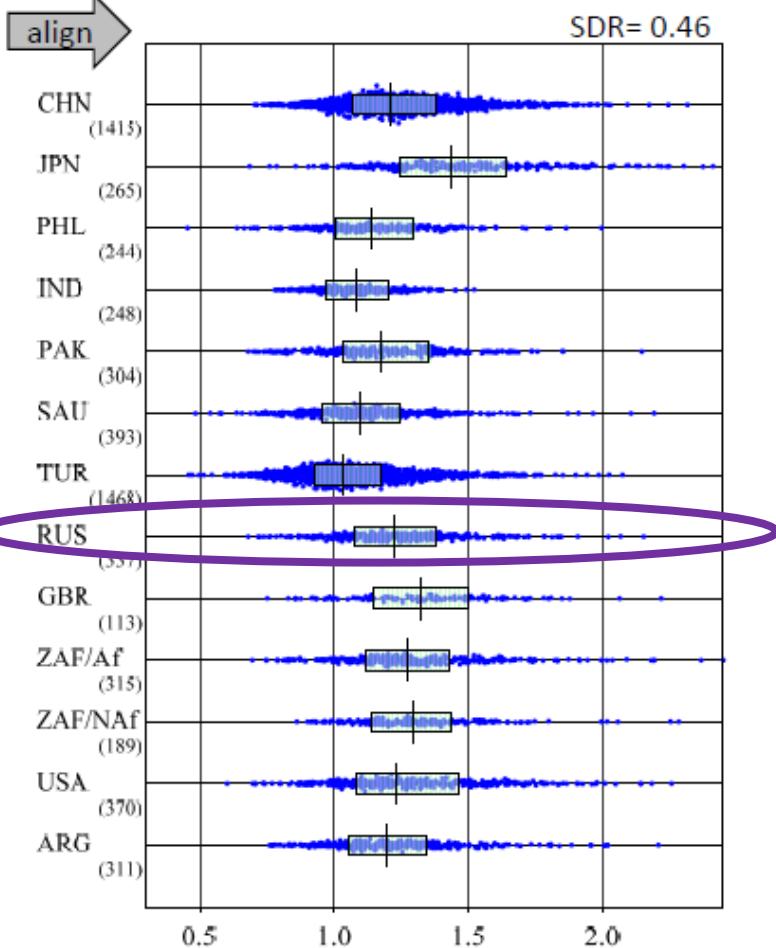
Холестерин липопротеидов высокой плотности

Мужчины

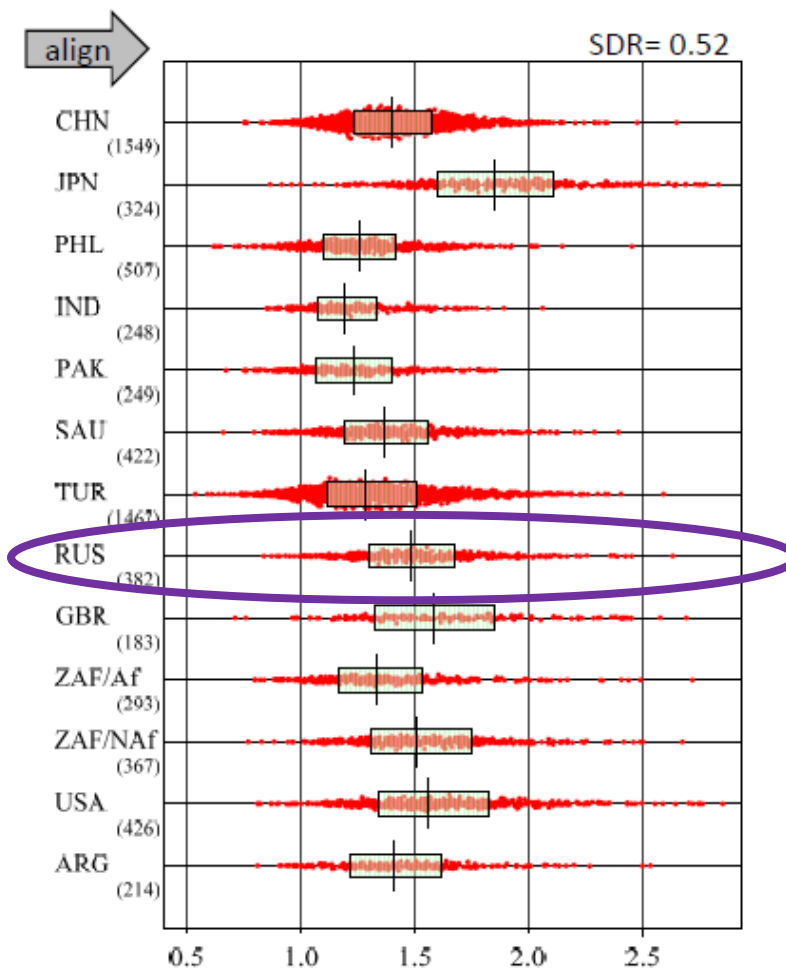
Женщины

	Возраст	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел		
Холестерин ЛВП	все	221	0,79	1,25	1,85	269	1,01	1,54	2,28		
Инструкция ммоль/л			>1,03						>1,03		
Нац.Клин.Рекомендации			>1.0						>1.20		

Холестерин липопротеидов высокой плотности



Мужчины, ХС ЛВП ммоль/л



Женщины, ХС ЛВП ммоль/л

Глюкоза

МУЖЧИНЫ + ЖЕНЩИНЫ

	Возраст	N	90% ДИ нижнего предела		Нижний предел	Медиана	Верхний предел	90% ДИ верхнего предела	
Глюкоза	все	419	4,26	4,49	4,43	5,11	6,12	5,98	6,23
	без иск ИМТ >28	602	4,56	4,68	4,62	5,36	6,61	6,5	6,72
	<45	287	4,25	4,47	4,39	5,04	5,93	5,79	6,06
	≥45	163	4,21	4,63	4,49	5,27	6,33	6,16	6,68
Инструкция ммоль/л					4,1		5,9		
Алгоритмы специал мед помощи СД							5,6		
Нац.Клин.Рекомендации метаб синдр (2009) – дополнительный критерий							> 6.1		

- Ожидаемое различие между референтными интервалами и пороговыми значениями для принятия решения

III. Обмен белков

- Общий белок, альбумин, креатинин, мочеви́на, мочева́я кислота
- **Исключение методом LAVE не применялось:**
 - отсутствие аномальных результатов по 9 тестам:
АЛТ, АСТ, ГГТ, ЛДГ, КК, ТГ, СРБ, глюкоза, мочева́я кислота
- **Зависимость от Индекса массы тела (ИМТ):**
 - только мочева́я кислота (для нее исключение добровольцев с ИМТ >28)

Альбумин, общий белок

	N	90% ДИ нижнего предела		Нижний предел	Медиана	Верхний предел	90% ДИ верхнего предела	
Общий белок	702	66	66	66	73	81	80	81
Инструкция г/л				66		83		
Альбумин	700	39	40	39	44	50	49	50
Инструкция г/л				35		52		

› Снижение альбумина с возрастом было незначительным с практической точки зрения

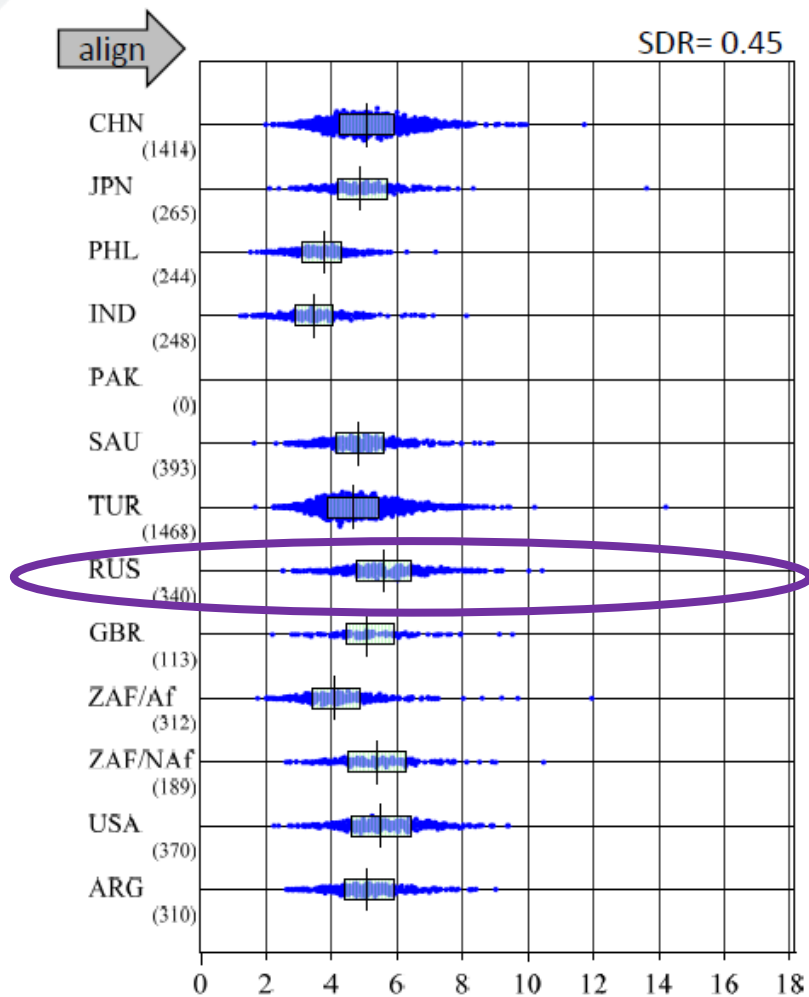
Мочевина, Креатинин

МУЖЧИНЫ

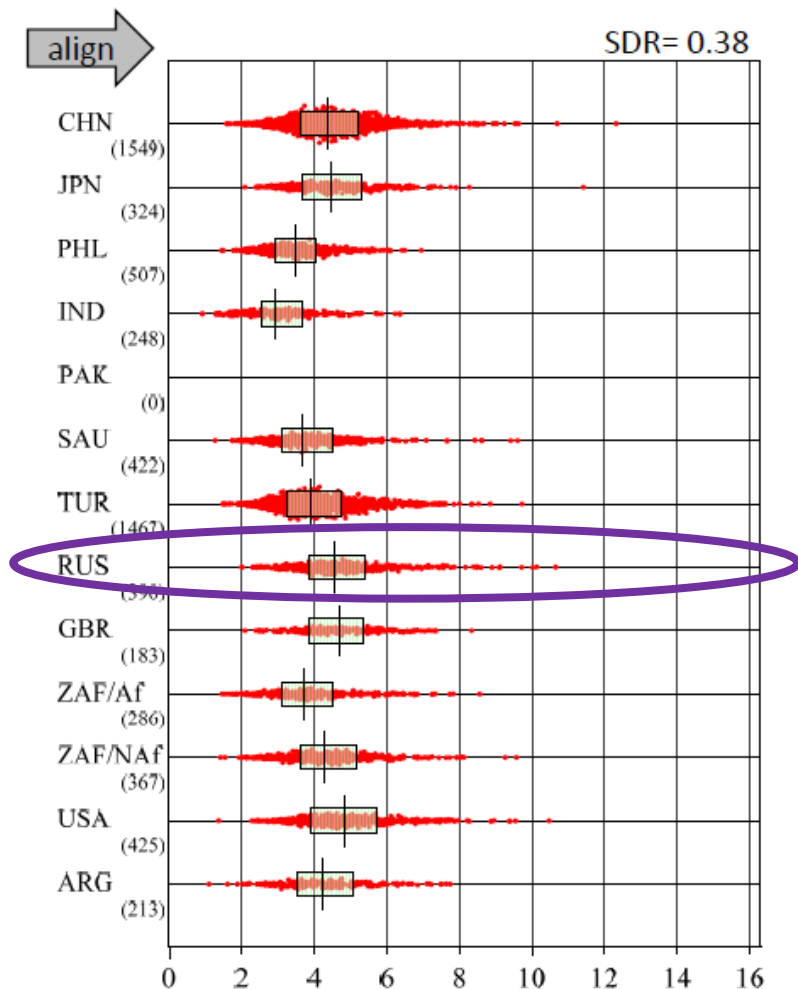
ЖЕНЩИНЫ

	Возраст	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел
Креатинин	все	331	75	93	114	367	61	75	92
Инструкция мкмоль/л			64		104		49		90
	Возраст	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел
Мочевина	все	327	3,1	5,1	7,8				
	> 45					230	2,3	4,0	6,2
	≤ 45					170	2,8	4,8	8,4
Инструкция млмоль/л			2,8		7,2		2,8		7,2

Мочевина – сравнение между странами



Мужчины, мочевина ммоль/л



Женщины, мочевина ммоль/л

IV. Билирубин

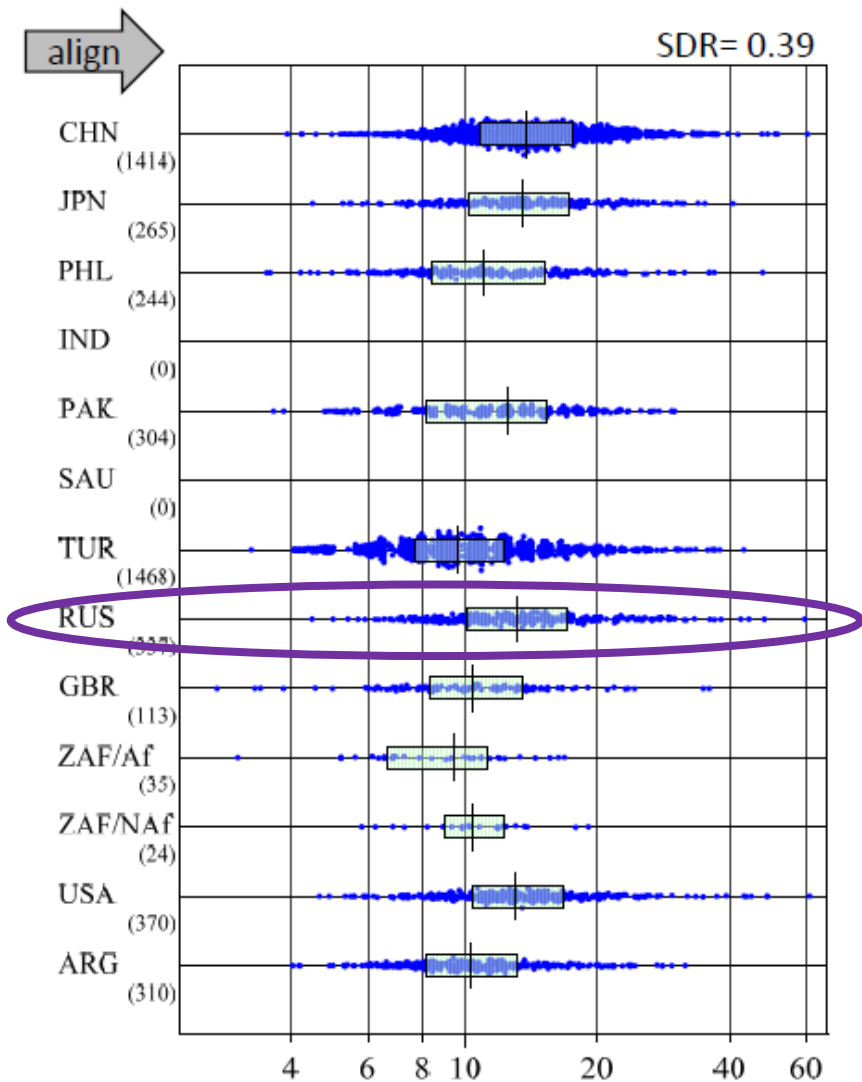
МУЖЧИНЫ

ЖЕНЩИНЫ

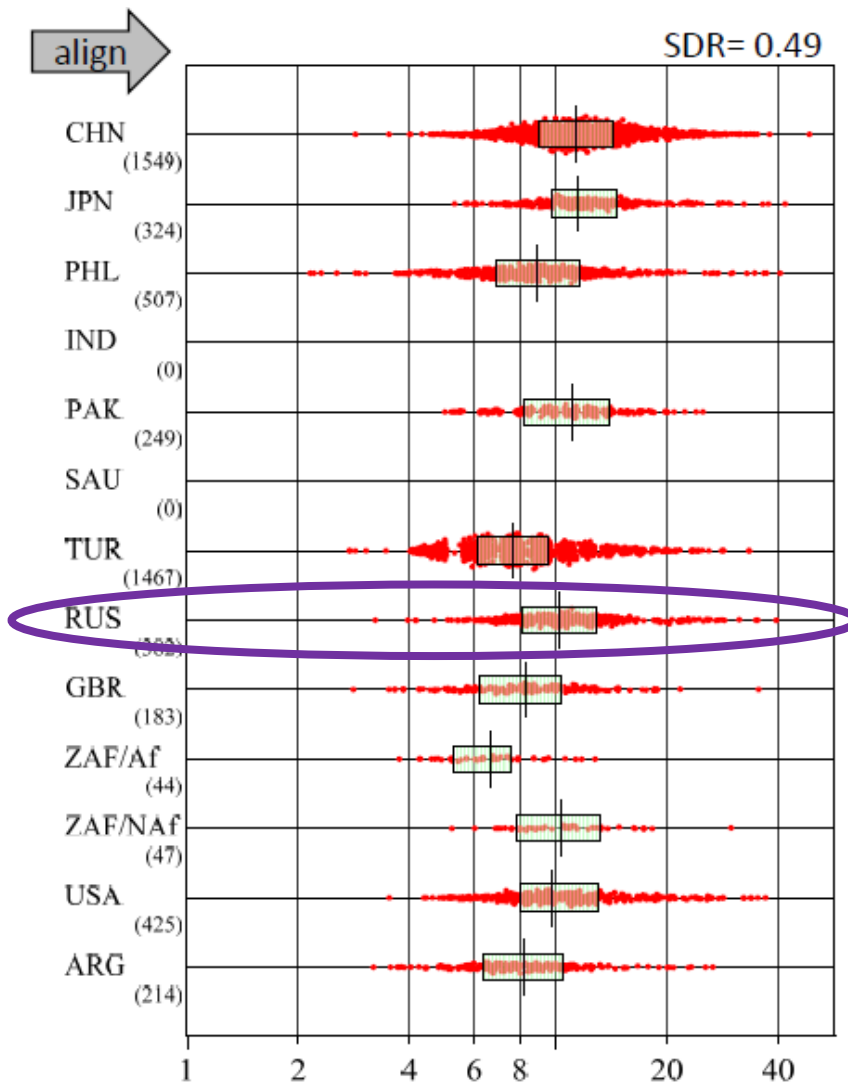
	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел	N	Нижний предел	Медиана	Верхний предел
Общий билирубин	229	6.6	11.9	28.2	276	5.6	9.8	22.7
Инструкция мкмоль/л		5		21		5		21
Прямой билирубин	229	1,3	2,4	5,7	276	1,0	2,0	4,6
Инструкция мкмоль/л				<3,4				<3,4
Непрямой билирубин	229	5,8	9,9	23,1	276	4,8	8,1	19

- › Увеличение верхних пределов у мужчин
- › Применение LAVE – нет аномальных результатов по АЛТ, АСТ, ГГТ, ЛДГ, ГГТ, КК, ТГ, СРБ, мочевой кислоте
- › Возможно присутствие индивидуумов с синдромом Жильбера
- › Распространенность среди европейцев 3-7%, в 8-10 раз чаще у мужчин

Билирубин – сравнение между странами



Мужчины, билирубин мкмоль/л



Женщины, билирубин мкмоль/л


V. Электролиты

МУЖЧИНЫ + ЖЕНЩИНЫ

Тест	N	90% ДИ нижнего предела		Нижний предел	Медиана	Верхний предел	90% ДИ верхнего предела		Инструкция
Na⁺	699	134	135	135	138	141	141	142	136–146
K⁺	684	3,5	3,6	3,5	4,0	4,5	4,5	4,5	3,5–5,1
Cl⁻	701	99	100	99	103	107	108	109	101–109
Ca	701	2,22	2,25	2,23	2,4	2,58	2,56	2,59	2,20–2,65
Фосфор неорган	700	0,77	0,82	0,79	1,11	1,44	1,41	1,47	0,81–1,45
Магний	700	0,72	0,73	0,72	0,83	0,94	0,93	0,94	0,73-1,06

- › Нет разбиения по полу и возрасту
- › Нет зависимости от ИМТ и различий при исключении методом LAVE
- › РИ практически идентичны инструкции, несколько ниже верхние пределы для K⁺ и магния


Публикация результатов глобального проекта



Contents lists available at ScienceDirect

Clinica Chimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinchim



A global multicenter study on reference values: 1. Assessment of methods for derivation and comparison of reference intervals

Kiyoshi Ichihara ^{a,*}, Yesim Ozarda ^b, Julian H Barth ^c, George Klee ^d, Ling Qiu ^e, Rajiv Erasmus ^f, Anwar Borai ^g, Svetlana Evgina ^h, Tester Ashavaid ⁱ, Dilshad Khan ^j, Laura Schreier ^k, Reynan Rolle ^l, Yoshihisa Shimizu ^m, Shogo Kimura ^a, Reo Kawano ^{a,n}, David Armbruster ^o, Kazuo Mori ^p, Binod K Yadav ^q, on behalf of, Committee on Reference Intervals and Decision Limits, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine:



Contents lists available at ScienceDirect

Clinica Chimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinchim



A global multicenter study on reference values: 2. Exploration of sources of variation across the countries

Kiyoshi Ichihara ^{a,*}, Yesim Ozarda ^b, Julian H Barth ^c, George Klee ^d, Yoshihisa Shimizu ^e, Liangyu Xia ^f, Mariza Hoffmann ^g, Swarup Shah ^h, Tandi Matsha ⁱ, Janette Wassung ^j, Francois Smit ^{ij}, Anna Ruzhanskaya ^k, Joely Straseski ^l, Daniel N Bustos ^m, Shogo Kimura ^a, Aki Takahashi ⁿ, on behalf of, Committee on Reference Intervals and Decision Limits, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and Science Committee, Asia-Pacific Federation for Clinical Biochemistry:

Выводы

- **Потенциальная возможность глобальных РИ (SDR<0.3)**

Мужчины (11) – мочевая кислота, ГГТ, АСТ, ГГТ, ЛДГ, ЩФ, ХС, ТГ, фосфор, IgA, IgM

Женщины (4) – ЩФ, ЛДГ, ТГ, фосфор, IgM

- **Отличие РИ от инструкции – 11 анализов**

Мужчины (6) – билирубин, ГГТ, креатинкиназа, креатинин, мочевины, мочевая кислота

Женщины (2) – амилаза, мочевины

Оба пола (3) – магний, калий, IgA

- **Дополнительное разбиение – 8 анализов**

По полу: билирубин

По возрасту: Оба пола – ГГТ, IgA

Мужчины – СРБ

Женщины – ЩФ, ЛДГ, амилаза, мочевины



Thank you

Спасибо за
внимание!

© 2019 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved.
Beckman Coulter, the stylized logo, and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

» Move healthcare forward.

