Лабораторная служба
2019, Т. 8, № 2, с. 17–24
https://doi.org/10.17116/labs2019802117

Laboratory Service=Laboratornaya sluzhba
2019, vol. 8, no2, pp. 17–24
https://doi.org/10.17116/labs2019802117

Практические подходы к установлению референтных интервалов эритроцитов на основе данных пациентов

© О.О. ИВОЙЛОВ[1], Н.Л. МАКСИМОВА[2], А.Б. КРИВОРУЧКО[2], А.М. ИВАНОВ[2]

[1]ФГКУ «Центральный клинический военный госпиталь», Москва, Россия;
[2]ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Разработка референтных интервалов (РИ) — важная задача любой клинико-диагностической лаборатории. Она может быть эффективно решена с помощью косвенных подходов путем анализа массива данных пациентов.

Цель исследования — поиск возможности разработки РИ эритроцитарных параметров на основе анализа массива данных пациентов многопрофильного стационара с использованием метода Bhattacharya.

Материал и методы. Проведен статистический анализ массива данных пациентов, полученных на гематологическом анализаторе Sysmex XT-4000i. РИ Hb, RBC и MCV были исследованы с помощью метода Bhattacharya. Из дальнейшего анализа были исключены записи пациентов, результаты которых выходили за пределы полученных РИ. Были проанализированы RDW-CV, RDW-SD, Hct, MCH, MCHC с применением стандартного непараметрического метода. Это позволило исключить влияние патологических компонентов по краям референтного распределения на полученные результаты. Также была предложена оптимизация расчета выборочного среднего и стандартного отклонения по методу Bhattacharya для использования с ПО MS Excel.

Результаты. Предложенный дизайн исследования позволил получить референтные интервалы для эритроцитарных параметров. Обосновано использование только одного нижнего референтного предела для MCHC (5-й перцентиль) и только одного верхнего предела для RDW (95-й перцентиль). За счет возможности метода Bhattacharya разделять общую выборку на гауссовские компоненты была выявлена неоднородность референтного распределения индексов RDW.

Заключение. Исследование продемонстрировало пригодность графического метода Bhattacharya для разработки РИ эритроцитарных показателей, а также рациональность комбинирования его со стандартными статистическими методами. С практической точки зрения примененный подход явился рациональным и объективным способом разработки рабочих РИ для лаборатории многопрофильного стационара, не располагающей возможностями массового привлечения здоровых амбулаторных пациентов.

Ключевые слова: *референтные интервалы, данные пациентов, эритроциты, метод Bhattacharya, косвенный подход, MCHC, RDW.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:
Ивойлов О.О. — https://orcid.org/0000-0002-4684-8440
Максимова Н.Л. — https://orcid.org/0000-0003-2877-545X
Криворучко А.Б. — https://orcid.org/0000-0003-2035-4888
Иванов А.М. — https://orcid.org/0000-0002-8899-7524

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Ивойлов О.О., Максимова Н.Л., Криворучко А.Б., Иванов А.М. Практические подходы к установлению референтных интервалов эритроцитов на основе данных пациентов. *Лабораторная служба*. 2019;8(2):17-24. https://doi.org/10.17116/labs2019802117

Practical approaches to establishing reference intervals of red blood cells based on patient data

© O.O. IVOYLOV[1], N.L. MAKSIMOVA[2], A.B. KRIVORUCHKO[2], A.M. IVANOV[2]

[1]Central Clinical Military Hospital, Moscow, Russia;
[2]Military Medical Academy, St.-Petersburg, Russia

ABSTRACT

Introduction. The establishing of reference intervals is an important task of any clinical diagnostic laboratory. It can be effectively solved using indirect approaches by analyzing the patient database.

Objectives. To study the determining possibility of erythrocyte parameter reference intervals based on patient data analysis using the Bhattacharya method.

Автор, ответственный за переписку: Ивойлов Олег Олегович — e-mail: kbld@mail.ru; тел.: +7(916)081-2631; https://orcid.org/0000-0002-4684-8440

Corresponding author: Ivoylov O.O. — e-mail: kbld@mail.ru; tel.: +7(916)081-2631; https://orcid.org/0000-0002-4684-8440

Materials and methods. We used the database of patient samples results obtained using a Sysmex XT-4000i hematology analyzer. Reference intervals Hb, RBC and MCV were investigated using the Bhattacharya method. At the next stage, the records of patients whose results went beyond the obtained reference intervals were excluded from further analysis. After that, RDW-CV, RDW-SD, Hct, MCH, MCHC were analyzed using the standard non-parametric method. This allowed us to exclude the effect of pathological components along the edges of the reference distribution on the results obtained. An Optimization of the sample mean and standard deviation calculation by the Bhattacharya method for use with MS Excel software was proposed.

Results. The proposed design of the study allowed us to obtain reference intervals for erythrocyte parameters. We supposed it was reasonable to use only one lower reference limit for the MCHC (5th percentile) and only one upper limit for the RDW (95th percentile). The heterogeneity of the reference distribution of the RDW indices was identified due to the ability of the Bhattacharya method to divide the total sample into Gaussian components.

Conclusion. The suitability of the Bhattacharya graphical method for determining reference intervals of erythrocyte parameters as well as the rationality of combining it with standard statistical methods has demonstrated. From a practical point of view, the applied approach was a rational and objective way of establishing working reference intervals for a laboratory of a multidisciplinary hospital, which does not have the potential for mass involvement of healthy outpatients.

Keywords: *reference intervals, patient data, erythrocytes, Bhattacharya method, indirect approach, MCHC, RDW.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Ivoylov O.O. — https://orcid.org/0000-0002-4684-8440
Maksimova N.L. — https://orcid.org/0000-0003-2877-545X
Krivoruchko A.B. — https://orcid.org/0000-0003-2035-4888
Ivanov A.M. — https://orcid.org/0000-0002-8899-7524

TO CITE THIS ARTICLE:
Ivoylov OO, Maksimova NL, Krivoruchko AB, Ivanov AM. Practical approaches to establishing reference intervals of red blood cells based on patient data. *Laboratory Service = Laboratornaya sluzhba.* 2019;8(2):17-24. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/labs2019802117

При интерпретации результатов количественных исследований клиницисты, а равно и специалисты лабораторий чаще всего прибегают к оценке соответствия результата референтным пределам. В соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 15189-2015 каждая лаборатория должна сама устанавливать их для измеряемых аналитов и пересматривать в случаях, когда они перестают отвечать характеристикам обслуживаемой популяции, а также при внесении изменений в преаналитические или аналитические процедуры. Референтные интервалы (РИ) определяют, исходя из особенностей обследуемого контингента, характеристик используемых аналитических систем, достижения необходимой диагностической эффективности методики, собственных практических и экономических возможностей. Учитывая сложное взаимоотношение этих условий, можно говорить об адекватности установленного интервала и его пределов задачам конкретной лаборатории, но не об их «пригодности» в отношении того или иного аналитического метода, теста, аналита в принципе.

Вопрос разработки или переноса РИ лежит не только в плоскости биомедицинской статистики. В нем есть составляющие аналитического качества и даже аспекты организации и экономики здравоохранения. Важно помнить, что выбор референтных пределов, равно как и величина аналитического смещения, влияет на чувствительность и специфичность методики посредством изменения количества ложноотрицательных и ложноположительных результатов. К. Фрейзер в своей монографии иллюстрирует нелинейность этого влияния [1]. Таким образом, вопрос адекватности тех или иных РИ непосредственно связан с величиной аналитического смещения, присущей данной тест-системе, а также с пониманием задач, поставленных перед лабораторией клиницистами. Этот тезис следует пояснить. В случае скринингового характера исследований, проводимых лабораторией, РИ должен быть достаточно узким, чтобы обеспечить необходимую чувствительность. В то же время чрезмерно «строгий» РИ может привести к увеличению затрат за счет назначения повторных исследований или дополнительных тестов.

Клинический анализ крови, будучи включенным в стандарты оказания помощи при всех без исключения заболеваниях, по праву может быть признан самым распространенным из всех видов лабораторных тестов [2]. В то же время данное исследование представляет собой набор многочисленных показателей, весьма разнородных по своему применению и не всегда взаимосвязанных. Более того, учитывая несколько различных методов (каналов) измерения, применяемых в современном гематологическом анализаторе, можно говорить де факто и о разных аналитических системах, объединенных в одном приборе. В качестве важнейшей отдельной составляющей клинического анализа крови можно рассматривать комплекс эритроцитарных параметров, применяе-

мых главным образом для диагностики анемического синдрома, а также полицитемии.

Диагностическими критериями ВОЗ для диагностики анемий у женщин являются концентрация гемоглобина (Hb) менее 120 г/л, число эритроцитов (RBC) менее 3,8 млн/мкл, гематокрит (Hct) менее 36%. Для мужчин эти цифры составляют менее 130 г/л, 4,0 млн/мкл и 39% соответственно [3]. В 2016 г. ужесточились диагностические критерии ВОЗ в отношении истинной полицитемии. Пороговый уровень Hb был снижен для мужчин со 185 до 165 г/л, для женщин со 165 до 160 г/л [4]. В качестве альтернативного варианта стал учитываться уровень Hct: выше 49% для мужчин и 48% для женщин [5]. Столь близкое расположение диагностических критериев патологии к физиологической области накладывает весьма жесткие требования к установлению нижних референтных пределов этих параметров. В то же время помещение результата исследования в «прокрустово ложе» старых «норм», известных с советских времен, недопустимо как противоречащее современной концепции РИ.

Подходы к определению РИ разделяют на прямые, рекомендованные IFCC [6], и непрямые (косвенные). Первые в свою очередь делятся на «a priori» и «a posteriori». Прямые подходы являются предпочтительными. Однако они сопряжены с рядом сложностей, особенно в отношении эритроцитарных параметров, требующих обязательной стратификации по полу. Главным образом это проблемы организационно-экономического характера — не всякая лаборатория может позволить себе в относительно короткий промежуток времени отобрать и обследовать не менее 240 здоровых человек для формирования мужской и женской референтных групп. Сюда следует добавить затраты на анкетирование или привлечение врачей-клиницистов для предварительного обследования кандидатов в референтные индивидуумы. Также нельзя исключать того, что эти масштабные исследования придется повторить спустя какое-то время в целях пересмотра РИ. Не всегда бывает возможно обеспечить референтную группу, репрезентативную интересующей лабораторию популяции. Особенно это касается пожилых пациентов и детей. Существенные трудности с подбором референтной группы естественным образом возникают у лабораторий, обслуживающих исключительно стационарных пациентов.

В этом случае проблема определения РИ может быть эффективно решена с помощью косвенных подходов, путем анализа накопленного массива данных пациентов. Обычно после применения тех или иных критериев включения/исключения используются стандартные статистические методы анализа полученной выборки: параметрические или непараметрические. Однако могут быть применены и другие математические инструменты, в частности графический метод разделения смешанных выборок по C. Bhattacharya [7], обладающий своими преимуществами. Непрямые подходы не требуют дополнительных затрат, но имеют свои особенности. Концепция их применения к разработке гематологических РИ недостаточно изучена и раскрыта.

Цель исследования — поиск возможности разработки РИ эритроцитарных параметров на основе анализа массива данных пациентов многопрофильного стационара с использованием метода Bhattacharya.

Материал и методы

Проведен статистический анализ данных, накопленных в процессе рутинной эксплуатации гематологического анализатора Sysmex XT-4000i, по показателям Hb, RBC, MCV, RDW-CV, RDW-SD, Hct, MCH, MCHC. В отношении анализаторов серии XT к настоящему времени опубликовано достаточное количество работ с данными по РИ, определенными различными методами и для разных популяций, что представляет возможности для объективного сравнения наших результатов. Для работы был использован массив необработанных данных взрослых пациентов многопрофильного стационара за 8 мес одного года. Все результаты были получены при анализе венозной крови, взятой в вакуумные пробирки с антикоагулянтом K_2ЭДТА. В исследование включали только записи пациентов, проходивших однократное обследование по клиническому анализу крови в течение указанного периода. Это преследовало две цели. Во-первых, пациент, у которого тест повторяется неоднократно, с большей вероятностью окажется болен и будет иметь патологические результаты, вклад которых в расчет мы старались минимизировать [8, 9]. Во-вторых, что важнее, повторное включение данных одних и тех же пациентов приведет к превалированию компонента внутрииндивидуальной вариации над межиндивидуальной и в, конечном счете, к сужению ширины рассчитанного РИ. Из анализа исключали пациентов гематологического отделения, а также доноров отделения переливания крови. Исходный массив данных не включал в себя сколь-нибудь значимое число результатов анализов беременных женщин в силу отсутствия соответствующих клинических подразделений в составе лечебно-профилактического учреждения. В результате в исследование были включены 4977 записей, из них 3057 мужских и 1920 женских. Женскую и мужскую выборки данных анализировали раздельно. Их возрастные характеристики были следующими: медиана возраста мужчин 58 лет (межквартильный размах 42—68), женщин 56 лет (43—64). Целесообразность дальнейшей стратификации этих групп по возрасту была оценена методами Sinton и соавт. [1], а также Harris and Boyd [1, 9].

Далее полученные выборки были проанализированы по методу Bhattacharya для получения РИ непосредственно измеряемых аналитов, таких как Hb,

RBC и MCV. Интервалы между концентрациями для частотного распределения результатов по каждому из этих параметров были выбраны с учетом величины выборок с тем, чтобы ход распределения в интересующей нас области был в достаточной мере аппроксимированным гауссовской кривой: для Hb 5 г/л, RBC 0,2 млн/мкл, MCV 2 фл. Сама методика в ее классическом варианте описана в литературе [7]. Построение графиков частотного распределения, а также графиков зависимости *Dlg y* от величины показателя *x* выполняли в программе MS Excel. При этом использование функции построения линии тренда для нисходящих участков графика *Dlg y* vs *x* обеспечивало автоматический расчет коэффициентов уравнения регрессии, которые в свою очередь использованы нами в формулах расчета среднего и стандартного отклонения. Это несколько видоизменило классические формулы расчета, упростив их и позволив избежать «ручного» определения величины угла *q* и необходимости ввода дополнительных коэффициентов для коррекции взаимоотношения шкал осей графика. В нашем виде формулы расчета выборочного среднего (X) и стандартного отклонения (s) приобрели следующий вид:

$$X=\frac{a}{|b|}+\frac{h}{2};\qquad s=\sqrt{\frac{\lg(e)\times h}{|b|}-\frac{h^2}{12}};$$

где *a* — коэффициент сдвига уравнения регрессии, *b* — коэффициент наклона уравнения регрессии, *h* — интервал между концентрациями в частотном распределении.

Референтные пределы для вышеуказанных аналитов рассчитывали параметрическим методом, исходя из вычисленных выборочных средних и стандартных отклонений, как $X\pm1{,}96s$.

РИ расчетных показателей Hct, MCH, MCHC, а также индексов RDW-CV и RDW-SD были получены на следующем этапе с применением стандартных статистических методов. При этом из дальнейшего анализа исключали записи пациентов, у которых хоть одно из значений показателей Hb, RBC или MCV выходило за пределы ранее рассчитанных для них РИ. Данный алгоритм позволил, не прибегая к специальным методам, удалить «хвосты» распределения [10], в которых могут содержаться так называемые выбросы (outliers) — значения, выпадающие из непрерывного статистического распределения. Далее применяли непараметрический метод расчета. В отношении Hct и MCH были установлены двусторонние РИ, в отношении MCHC — рассчитан нижний референтный предел (R_L), а для RDW-CV и RDW-SD — верхний (R_U). Во всех случаях референтные пределы устанавливали с учетом охвата 95% референтного распределения.

Результаты и обсуждение

В результате статистических расчетов по методу Bhattacharya получены выборочные средние и стандартные отклонения для измеряемых аналитов, на основе которых рассчитаны их РИ **(табл. 1)**.

У здоровых людей разброс значений большинства эритроцитарных показателей формирует частотное распределение, близкое к нормальному [11], которое может быть описано с помощью среднего значения и стандартного отклонения. Однако за счет присутствия в общей выборке патологических результатов и даже отдельных подгрупп пациентов с той или иной патологией общий вид распределения будет непараметрическим: скошенным или полимодальным. Поэтому даже в больших и, казалось бы, репрезентативных выборках, анализируемых стандартными статистическими методами, зачастую наблюдают распределения, отличные от нормального. Этим объясняется и тот факт, что один и тот же показатель в группе мужчин (например, Hb) может иметь параметрический характер распределения, а у женщин — нет [2]. При статистической обработке такой выборки могут возникать определенные трудности, обусловленные влиянием патологических компонентов, находящихся по краям распределения. В частности, получение РИ Hb для женщин стандартными статистическими методами приводит к тому, что интервал захватывает зону анемии (R_L=112 г/л), вступая в противоречие с критериями ВОЗ.

Таблица 1. **РИ, рассчитанные с применением метода Bhattacharya, в сравнении с данными литературы**

Показатель	Пол	Собственные результаты		М.С. Казакова, 2012, Sysmex 2000i [2]		Рекомендованные производителем	
		R_L	R_U	R_L	R_U	R_L	R_U
RBC, млн/мкл	М	4,13	5,84	4,28	5,78	4,63	6,08
	Ж	3,91	5,42	3,80	5,15	3,93	5,22
Hb, г/л	М	130	173	132	172	137	175
	Ж	117	156	112	153	112	157
MCV, фл	М	82,6	99,2	82	99	79,0	92,2
	Ж	81,6	98,4	82	98	79,4	94,8

Таблица 2. **Сравнение выборочных характеристик, полученных на основе анализа данных пациентов с применением метода Bhattacharya и стандартных статистических методов**

Показатель	Пол	Метод Bhattacharya, собственные результаты			М.С. Казакова, 2012, Sysmex 2000i [2]		
		X	s	Me	X	s	Me
RBC, млн/мкл	М	4,99	0,43	5,00	5,03	0,38	5,05
	Ж	4,66	0,38	4,66	4,45	0,35	4,44
Hb, г/л	М	151,3	11,0	150,0	153,4	10,2	154,0
	Ж	136,2	9,9	136,0	133,0	10,3	133,0
MCV, фл	М	90,9	4,2	91,0	90,2	4,3	90,0
	Ж	90,0	4,3	90,3	90,4	4,0	91,0

Метод Bhattacharya же предусматривает разделение параметрических компонентов смешанной выборки. Расчет стандартного отклонения происходит по наклону логарифмического графика в центральной части распределения, вблизи среднего, совпадавшего, по нашим наблюдениям, с медианой **(табл. 2)**. Это позволяет исключить влияние на конечный результат компонентов по краям распределения, которые могут содержать выбросы или результаты патологических подгрупп пациентов [9]. Данный метод позволяет достаточно эффективно вычленить группу результатов здоровых людей, которая будет вполне репрезентативна в отношении референтной популяции.

Индексы MCH, MCHC приобретают диагностическое значение в том случае, если имеются патологические сдвиги со стороны измеряемых аналитов красной крови. Hct, ранее самостоятельный диагностический показатель, в настоящее время также стал расчетным параметром. Следовательно, мы вправе ожидать в целом «нормальных» значений расчетных индексов у пациентов, не имеющих патологических сдвигов со стороны Hb, RBC и MCV, а применение стандартных статистических методов к определению РИ индексов в рамках предложенного нами алгоритма представляется оправданным. Использование 95% доверительного интервала для полученной таким образом выборки позволяет несколько сузить РИ индексов. Рациональность этого проиллюстрирована скаттерограммами на **рис. 1**, где референтные пределы MCH и Hct отсекают некоторые результаты, попадающие в РИ Hb, RBC и MCV, но имеющие маргинальные и, по всей видимости, патологические их соотношения. При таком подходе расчетный индекс может нести дополнительную диагностическую информацию, позволяющую выявить тенденции к пока еще не явным патологическим сдвигам. Статистические характеристики полученных в исследовании референтных распределений гематологических индексов приведены в **табл. 3**.

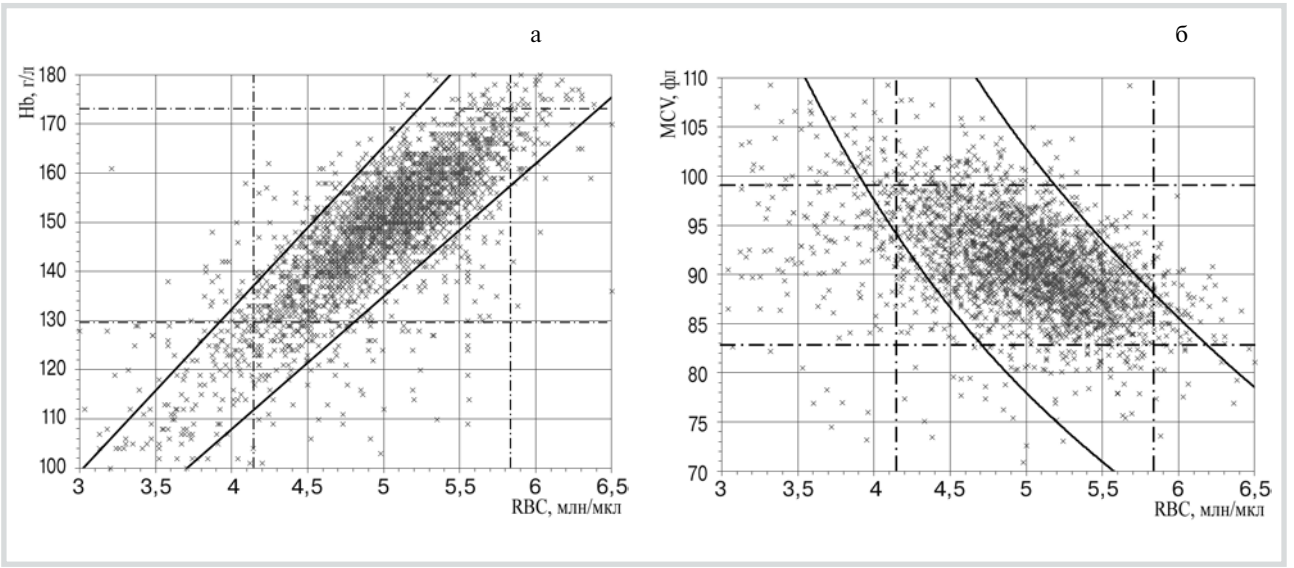

Рис. 1. **Скаттерограммы распределения результатов измерения у мужчин.**

а — Hb и RBC. Пунктиром обозначены РИ данных аналитов. Сплошной линией — 95% РИ MCH; б — MCV и RBC. Пунктиром обозначены РИ данных аналитов. Сплошной линией — 95% РИ Hct.

Таблица 3. **Референтные распределения гематологических индексов в группах, собственные результаты**

Показатель	Пол	2,5%	5%	1-й квартиль	Me	3-й квартиль	95%	97,5%
Hct, %	М	39,0*	40,1	43,6	45,8	47,8	50,5	51,4*
	Ж	36,3*	37,5	40,3	42,1	44,0	46,6	47,3*
MCH, пг	М	27,0*	27,6	29,0	29,9	30,9	32,5	33,1*
	Ж	26,1*	26,7	28,3	29,2	30,2	31,6	32,1*
MCHC, г/л	М	312	315**	324	329	334	343	346
	Ж	308	311**	318	323	328	336	339
RDW-CV, %	М	12,1	12,3	12,9	13,3	13,9	15,2**	15,8
	Ж	12,2	12,3	12,9	13,4	14,1	15,3**	15,8
RDW-SD, фл	М	38,6	39,2	41,6	43,5	45,6	49,7**	51,6
	Ж	38,7	39,4	41,7	43,4	45,5	48,9**	50,5

Примечание. * — границы двустороннего РИ; ** — один референтный предел.

Индекс MCHC имеет особенности интерпретации. Его повышение связано фактически с единственным заболеванием — наследственным микросфероцитозом. Распространенность данной нозологической формы невысока, для жителей Северной Европы — 1 случай на 5000 населения [12]. Исследованиями показано, что при установлении cutoff MCHC на уровне 345 г/л [13] диагностическая чувствительность индекса в отношении наследственного микросфероцитоза составляет 86,17%, специфичность — 90,43%. При использовании порогового значения 355 г/л эти характеристики принимают величину 41,07 и 94,47% соответственно [14]. Рассчитав с учетом частоты заболевания прогностическое значение положительного теста [15] для одной и второй величины cutoff, получим 0,21 и 0,36%. Это означает, что, установив R_U даже на уровне 355 г/л, мы отсечем популяцию, в которой на 1 больного (истинно-положительный результат) будут приходиться 276 здоровых пациентов (ложноположительные результаты). Очевидно, что величина R_U для MCHC малоинформативна с точки зрения скрининга.

В то же время снижение MCHC происходит при гипохромных анемиях, наиболее распространенных из всех анемий. Следовательно, выбор R_L, отсекающего основную массу результатов пациентов с признаками гипохромии, напротив, имеет существенное диагностическое значение — он не должен захватывать излишнее количество патологических результатов. Однако для MCHC по аналогии со всеми другими аналитами и индексами традиционно устанавливают двусторонний РИ. Целесообразность этого сомнительна. В этом случае, очевидно, возникает диспропорция: верхние 2,5% популяции, выходящие за пределы R_U, будут более чем на 99% состоять из здоровых пациентов, а в нижнюю часть РИ в то же время попадет существенное число лиц с гипохромией эритроцитов. Следовательно, одновременно увеличивается доля и ложноположительных результатов с одной стороны РИ, и ложноотрицательных — с другой. На наш взгляд, для MCHC как явно «одностороннего» диагностического показателя следует устанавливать только R_L на уровне нижних 5% референтного распределения, а отдельно принимать пороговое значение для диагностики наследственного микросфероцитоза. Поскольку часто повышение MCHC носит ложный характер и связано с лабораторными ошибками, клинико-диагностическая лаборатория в качестве альтернативы также может установить для себя технический флаг на высокие значения этого показателя, который не будет выдаваться заказчику исследования.

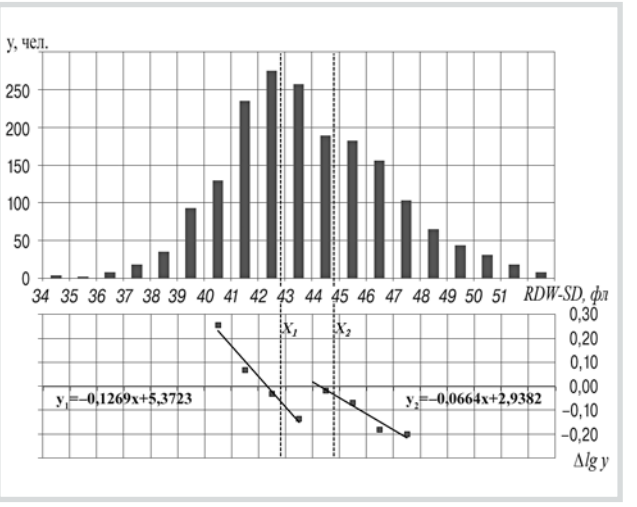

Рис. 2. **Частотное распределение результатов RDW-SD у женщин в сопоставлении с логарифмическим графиком изменения частоты.**

Продемонстрирован бимодальный характер распределения, имеющий 2 нисходящих участка логарифмического графика. Пунктиром обозначены средние значения обоих компонентов выборки. Приведены уравнения регрессии нисходящих участков графика, коэффициенты сдвига и наклона которых используются для расчета выборочных средних и стандартных отклонений.

Индексы RDW-CV и RDW-SD, строго говоря, не являются расчетными. Они выражают дисперсию объема эритроцитов — измеряемого параметра, и представляют собой самостоятельный лабораторный показатель. Величина RDW не связана с основными количественными характеристиками клеток, на что указывает слабость корреляционных связей между ними. В нашем исследовании коэффициенты корреляции Пирсона между RDW-SD и RBC, Hb и MCV (в общей группе) составили -0,35, -0,29 и 0,38 соответственно. Для RDW-CV: -0,15, -0,41 и -0,21. Поэтому вначале здесь также был применен метод Bhattacharya. Интервалы были избраны следующим образом: RDW-CV 0,4%, RDW-SD 1 фл. Однако при дальнейшем анализе были получены признаки неоднородности выборок. Наиболее явно это прослеживалось в женской группе, в которой распределение RDW-CV и RDW-SD имело бимодальный характер. Так, для RDW-SD были обнаружены два компонента со следующими характеристиками: X_1=42,8, s_1=1,8; X_2=44,8, s_2=2,5 (**рис. 2**). Для RDW-CV компоненты выборки характеризовались X_1=13,2, s_1=1,3; X_2=13,5, s_2=0,7. Нетрудно рассчитать, что в последнем случае один компонент имел существенно большую дисперсию, чем второй, и полностью перекрывал его. В отношении группы мужчин не прослеживалось бимодальной картины, но характер логарифмического графика также указывал на неоднородность выборки.

В литературе имеются данные о существенном влиянии возраста пациентов на величину RDW, особенно в его абсолютном (RDW-SD) выражении [16]. При этом не только сдвигается медиана этого показателя, но и расширяется доверительный интервал. Вероятно, прогрессирующее увеличение RDW в пожилом возрасте ассоциируется и со снижением механической прочности и деформируемости эритроцитов, и с имеющейся хронической патологией, а также может рассматриваться как предиктор летальности [17]. Однако данных, позволяющих уверенно говорить о патологическом характере возрастных изменений показателя, недостаточно. Утверждение о самостоятельной диагностической роли RDW в отсутствие других сдвигов со стороны красной крови, по-видимому, тоже преждевременно. Стратификация же по узким возрастным группам требует кратного увеличения выборки пациентов. Учитывая эти аспекты, было принято решение применить в отношении расчета РИ RDW ту же тактику, что и для других эритроцитарных индексов. Результаты приведены в **табл. 3**.

Несмотря на то что RDW изменяется отнюдь не только при анемиях, но и при многих других заболеваниях, что отразилось в геометрической прогрессии роста количества публикаций, посвященной клиническим применениям этого параметра [18], при интерпретации оценивается лишь его повышение. В этом случае по аналогии с МСНС представляется оправданным использование одного референтного предела — верхнего, на уровне 95 перцентиля референтного распределения.

Заключение

Проведенное исследование продемонстрировало пригодность графического метода Bhattacharya для разработки РИ эритроцитарных показателей, а также некоторые его преимущества перед стандартными статистическими методами. В частности, на примере Hb в женской группе мы видим, что на РИ, рассчитанный с помощью выбранного нами математического инструмента, меньше влияют патологические результаты пациенток с гипохромией, неизбежно попадающие в выборку. Оба вышеперечисленных подхода могут эффективно комбинироваться. Кроме того, за счет возможности метода Bhattacharya разделять общую выборку на гауссовские компоненты попутно может быть оценена и ее однородность. Это дает важную научно-практическую информацию и может повлиять на дизайн самого исследования. С практической точки зрения примененный подход явился рациональным и объективным способом разработки рабочих РИ для лаборатории крупного многопрофильного стационара, не располагающей возможностями массового привлечения здоровых амбулаторных пациентов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Фрейзер К.Г. *Биологическая вариация: от теории к практике.* Пер. с англ. Арефьева И.А. М.: Медиздат; 2010.
Fraser CG. *Biologicheskaya variatzia: ot teorii k praktike.* Per. s angl. Aref'eva I.A. M.: Medizdat; 2010. (In Russ.).
2. Казакова М.С., Луговская С.А., Долгов В.В. Референтные значения показателей общего анализа крови взрослого работающего населения. *Клин. лаб. диагностика.* 2012;6:43-49.
Kazakova MS, Lugovskaya SA, Dolgov VV. The reference values of indicators of total blood analysis of adult working population. *Klin. lab. diagnostika.* 2012;6:43-49. (In Russ.).
3. World Health Organization. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. Geneva. 2011. http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin/en/

4. Misawa K, Yasuda H, Araki M, et al. The 2016 WHO diagnostic criteria for polycythemia vera renders an accurate diagnosis to a broader range of patients including masked polycythemia vera: Comparison with the 2008 WHO diagnostic criteria. *Am J Hematol*. 2017;92(7):128-130. https://doi.org/10.1002/ajh.24752
5. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and indepth discussion. *Blood Cancer J*. 2018;8(2):15. https://doi.org/10.1038/s41408-018-0054-y
6. CLSI. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline — Third Edition. CLSI document EP28-A3c. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008;28(30). https://clsi.org/standards/products/method-evaluation/documents/ep28/
7. Bhattacharya CG. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. *Biometrics.* 1967;23(1):115-135.
8. Grossi E. The REALAB Project: A New Method for the Formulation of Reference Intervals Based on Current Data. *Clinical Chemistry*. 2005;51(7):1232-1240. https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.047787
9. Jones GRD, Haeckel R, Loh TP, et al. Indirect methods for reference interval determination — review and recommendations. *Clin Chem Lab Med*. 2019;57(1):20-29. https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0073
10. Grasbeck R. Референтные значения: развитие концепции. Лабораторная медицина. 2011;11:79-83. Grasbeck R. Referensnye znacheniya razvitie koncepcii. *Laboratornaya medicina*. 2011;11:79-83. (In Russ.).
11. Hoffmann JJ, van den Broek NM, Curvers J. Reference intervals of extended erythrocyte and reticulocyte parameters. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(5):941-948. https://doi.org/10.1515/cclm-2011-0796.
12. Smedley JS, Bellingham AJ. Current problems in haematology 2: Hereditary spherocytosis. *J Clin Pathol.* 1991;44:441-444.
13. Eberle SE, Sciuccati G, Bonduel M, Díaz L, Staciuk R, Torres AF. Erythrocyte indexes in hereditary spherocytosis. *Medicina (B Aires)*. 2007;67:698-700.
14. Tao YF, Deng ZF, Liao L, Qiu YL, Chen WQ, Lin FQ. Comparison and evaluation of three screening tests of hereditary spherocytosis in Chinese patients. *Ann Hematol*. 2015;94:747-751. https://doi.org/10.1007/s00277-014-2270-2
15. Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 53022.3-2008 Технологии лабораторные и клинические. Требования к качеству лабораторных исследований. Правила оценки клинической эффективности лабораторных тестов (утв. приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии РФ от 18 декабря 2008 г. №557-ст). Nacional'nyj standart RF GOST R 53022.3-2008 Clinical laboratory technologies. Requirements for quality of clinical laboratory tests. Part 3. Assessment of laboratory significance (utv. prikazom Federal'nogo agentstva po tekhnicheskomu regulirovaniyu i metrologii RF ot 18 dekabrya 2008 g. №557-st). (In Russ.). URL: http://base.garant.ru/70218414/
16. Hoffmann JJ, Nabbe KC, van den Broek NM. Effect of age and gender on reference intervals of red blood cell distribution width (RDW) and mean red cell volume (MCV). *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(12):2015-2019. https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0155.
17. Lippi G, Salvagno GL, Guidi GC. Red blood cell distribution width is significantly associated with aging and gender. *Clin Chem Lab Med*. 2014;52:197-198. https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0353
18. Lippi G, Plebani M. Red blood cell distribution width (RDW) and human pathology. One size fits all. *Clin Chem Lab Med*. 2014;52(9):1247-1249. https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0585

Поступила 07.12.18
Received 07.12.18
Принята к печати 11.01.19
Accepted 11.01.19