

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ПЛЕХАНОВА

Ольга Сергеевна

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ НЕПРЯМЫХ РАСЧЕТОВ
РЕФЕРЕНТНЫХ ИНТЕРВАЛОВ КЛИНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
С.В. Цвиренко

Екатеринбург – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. Современные принципы использования методов расчета референтных интервалов (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	14
1.1. Современная практика оценки результатов лабораторных тестов.....	14
1.1.1. Прямые методы определения референтных интервалов.....	14
1.1.2. Непрямой расчет референтных интервалов.....	16
1.2. Описание методов не прямых расчетов границ референтных интервалов....	16
1.3. Расчет референтных интервалов непрямым способом: свойства и ограничения методов непрямого расчета, опыт применения и нерешенные вопросы.....	21
1.3.1. Способ разделения «здоровых» и «больных».....	21
1.3.2. Размер ячеек данных (распределение данных по ячейкам для расчета)....	22
1.3.3. Расположение и количество патологических значений: применение методов с моделированием реальных лабораторных данных.....	22
1.3.4. Возможности расчета для различных видов распределений аналитов.....	24
1.3.5. Доступность использования и выбор методов непрямого расчета.....	28
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования.....	30
2.1. Определение частоты использования различных источников референтных интервалов.....	30
2.2. Использованные методы непрямого расчета референтных интервалов и критерии оценки их результатов.....	31
2.3. Расчет границ РИ непрямым способом показателей общего анализа крови детей первых 3-х дней жизни... ..	32
2.4. Расчет границ референтных интервалов непрямым способом показателей ОАК у взрослых (21–78 лет)	33
2.5. Расчет границ референтных интервалов непрямым способом для ТТГ у подростков	34
2.6. Расчет границ референтных интервалов непрямым способом для ТТГ (18–64	

лет) у взрослых.....	35
2.7. Установление непрямыми методами нижней границы референтных интервалов для свободного Т4.....	36
ГЛАВА 3. Результаты собственных исследований.....	38
3.1. Источники использования референтных интервалов	38
3.2 Исследование расчетных границ референтных интервалов показателей ОАК	40
3.2.1. Исследование границ референтных интервалов показателей общего анализа крови детей 0–3 дня жизни.....	40
3.2.2. Влияние количества и положения патологических значений гематологических показателей на расчет референтных интервалов непрямыми методами у детей 0–3 дней жизни.....	45
3.2.3. Расчет границ референтных интервалов основных показателей общего анализа крови для взрослых с помощью не прямых методов.....	63
3.2.4. Влияние объёма выборки на результаты расчета референтных интервалов гематологических показателей непрямыми методами у взрослых.....	67
3.3. Установление референтных интервалов ТТГ у подростков непрямыми методами.....	72
3.3.1. Расчет референтных интервалов непрямыми методами всей базы данных.....	72
3.3.2. Расчет референтных интервалов симулированных данных, основанных на исходной выборке значений ТТГ у подростков	73
3.4. Возможности не прямых методов расчета для установления референтных интервалов ТТГ у взрослых.....	82
3.5. Установление непрямыми методами нижней границы референтных интервалов для свободного Т4.....	88
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	91
ВЫВОДЫ.....	107
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	108

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	109
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	110
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	111
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	121

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Клиническая лаборатория сегодня выполняет не только аналитическую, но и информационно-интерпретационную функцию: результат исследования должен сопровождаться контекстом, позволяющим врачу принять обоснованное клиническое решение. Отправной точкой такой интерпретации неизменно служит сопоставление полученного значения с референтным интервалом - инструментом, без которого оценка лабораторного теста в рутинной практике принципиально невозможна [1, 2, 42].

Термины «референтное значение» и «референтный интервал» предложили R. Gräsbeck и N. Saris в 1969 г. на смену широко используемому в медицинской практике и расплывчатому понятию «норма» [91]. Под референтным интервалом понимают диапазон значений, ограниченный двумя пределами и охватывающий центральные 95% результатов специально отобранной референтной популяции, группы как правило здоровых лиц. Ответственность за предоставление референтных интервалов закреплена за специалистами лабораторной диагностики [1, 2].

Анализ действующей нормативно-правовой базы обнаруживает существенные пробелы: профессиональный стандарт для врачей клинической лабораторной диагностики содержит недостаточно чётко сформулированные требования в части референтных интервалов, а профильный ГОСТ не охватывает ряд ключевых вопросов, касающихся их расчёта, верификации и интерпретации [3]. При этом спектр источников, к которым обращаются лаборатории (вкладыши производителей, публикации, справочные издания, данные других учреждений), весьма широк и никак не регламентирован. Далеко не все такие источники получены с соблюдением корректной методологии, а используемые при их формировании популяции нередко не сопоставимы с контингентом конкретной лаборатории [22].

С учётом территориальных, гендерных, расовых особенностей референтных интервалов отличаются у различных контингентов [1]. Для установления

референтных интервалов прямым способом, рекомендуемым международными сообществами [2], необходим минимум 120 условно здоровых лиц для каждого контингента. Очевидно, что это очень непростая логистически, экономически затратная процедура с не всегда ясными критериями отбора референтной группы. Особенно сложен отбор участников исследований для редко выполняемых тестов или специальных групп (дети, подростки, беременные) [4].

Преодолеть эти недостатки с помощью расчетов стало возможным с получившими развитие подходами, многие из которых были автоматизированы. В 1963 г. впервые был предложен расчёт референтных интервалов на основе данных, уже накопленных в базе данных медицинской организации и включающих результаты как здоровых лиц, так и лиц с патологией [56]. С тех пор, по мере развития технологии хранения и обработки данных, непрямые методы определения референтных интервалов, без предварительного рекрутинга референтных лиц, получили значительное развитие.

На сегодняшний день, из доступных в открытых ресурсах можно выделить методы: модифицированный Хоффманна [55], Bhattacharya [26], kosmic [100], TMC (Truncated minimum chi-square, усеченная минимальная оценка хи-квадрат) [96], refineR [13]. В методах можно наблюдать разнообразие подходов, что требует оценки возможности использования для расчета референтных интервалов баз данных с различной долей патологических результатов и с распределением, отличным от нормального. Сложность непрямых расчетов состоит в том, что необходимо учитывать два принципиально важных аспекта: во-первых, в базе, чаще всего, будут и патологические значения, а во-вторых, не нормальное распределение большей части аналитов [35]. В целом, методики непрямого расчета основаны либо на выявлении части здоровой популяции, либо на отсеке патологической. Разнообразие существующих подходов непрямого расчета референтных интервалов подтверждает необходимость изучения свойств каждого из них для возможности применения в том или ином случае.

Степень разработанности темы исследования

В последние годы, с возможностью формирования баз данных и выгрузки из них, с развитием возможности разработки интерактивных веб-приложений и доступностью сред программирования, достигнуты успехи в разработке различных методов непрямого расчета референтных интервалов, часть которых доступна для пользователя – сотрудника клинико-диагностической лаборатории. Для самых первых методов существовало ограничение в расчетах в виде типа распределения аналита: расчет мог осуществляться только для нормального распределения. Далее методы стали совершенствоваться, и появилась возможность расчета референтных интервалов для аналитов с не нормальным распределением.

Поскольку лаборатория несет ответственность не только за выданный результат, но и за его интерпретацию, которая включает в себя референтный интервал, специалист лабораторной диагностики предположительно заинтересован в исследовании источников референтных интервалов, в том числе в расчете непрямыми методами. Для расчета референтных интервалов из баз данных необходимо заранее понимать, какое количество данных оптимально для расчета, какой процент патологических значений может присутствовать в выборке, есть ли ограничения в виде свойств самого аналита. Больше всего информации доступно для методов *kosmic* и *refineR*. Методы позволяют рассчитывать референтные интервалы в присутствии до 15–30% патологических значений, в зависимости от местоположения патологической фракции и самого аналита [13, 100]. Авторами отмечается сложность расчета референтных интервалов для скошенных распределений. В данных статьях исследовался расчет большого количества данных (30–50 тысяч результатов), что не дает информации об оптимальном количестве для расчета. Доверительные интервалы при расчете референтных интервалов также может рассматриваться как косвенный фактор качества расчета. Известно, что в целом оптимальные доверительные интервалы при расчете референтных интервалов могут быть получены на выборках от 5000 результатов [80]. В доступных вариантах расчета доверительных интервалов

могут быть получены для refineR и TMC (для kosmic расчет доверительные интервалы возможен только в варианте расчета в C++, что не рассматривается в данной работе). В указанных работах использована симуляция данных, что, с одной стороны, позволило понять некоторые свойства метода, однако, с другой – требует проверки на реальной базе данных.

Оценка качества полученных результатов референтных интервалов не стандартизована. Часть авторов использует оценку полученных референтных интервалов относительно TE [13, 100], а также относительно предложенного критерия pD [41].

Также обсуждается вопрос предварительной очистки данных – есть ли необходимость проводить эту процедуру до расчета. Мнения авторов расходятся [47, 92].

Методы расчета референтных интервалов предполагают разнообразные подходы, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки. Для того, чтобы выделить один наиболее точный метод, в литературе пока недостаточно данных. Свойства и ограничения существующих методов мало описаны: под вопросом остается минимальное количество пациентов, необходимое для расчета, возможная доля патологических результатов в базе, способ расчета для не нормального распределения необходимость предварительной очистки данных для разных методов и алгоритмы очистки [47, 92]. Не описаны сравнения по этим параметрам между четырьмя доступными методами (TMC, refineR, kosmic, Bhattacharaya), что позволило бы выбрать из них наиболее оптимальный при расчете.

В связи с вышесказанным можно заключить, что в отсутствии исчерпывающего количества информации о свойствах непрямых методов расчета референтных интервалов, необходимо установить возможности их использования при расчете для различных аналитов и при различном общем количестве данных, и доли патологических в их числе. Все сказанное позволило нам сформулировать цель настоящего исследования.

Цель исследования – определить условия использования непрямых методов расчета референтных интервалов на основе госпитальных баз данных в клинико-лабораторной практике для аналитов с различными свойствами.

Задачи исследования:

1. Среди используемых в лабораториях России источников референтных интервалов оценить потребность в применении расчетных методов у специалистов клинической лабораторной диагностики.

2. Проанализировать применимость четырёх доступных непрямых методов расчета референтных интервалов с использованием реальных баз данных лабораторных исследований и определить условия их использования.

3. Охарактеризовать влияние различных типов распределения результатов здоровых в совокупной выборке в базах данных на результаты расчета референтных интервалов непрямыми методами, а также определить необходимость очистки данных от статистических выбросов и преобразования типа распределений данных.

4. Проанализировать влияние размера и положения доли патологических значений в общем распределении данных на результаты расчета референтных интервалов непрямыми методами.

5. Охарактеризовать влияние количества результатов в выборке на расчет референтных интервалов различными непрямыми методами.

Научная новизна

Полученные данные анкетирования лабораторий свидетельствуют о том, что непрямой расчет РИ рассматривается сотрудниками как один из лучших способов установления источников РИ для лабораторий. Для пользователя предполагается необходимость предоставления большей информации для выбора методов, в виде свойств методов, что затрагивается в данной работе. Установлено, что непрямые методы могут быть полезны при необходимости пересмотра РИ или изменении аналитической системы в сочетании с клинической верификацией.

При этом установлено, что, так как методы расчета РИ непрямыми способами, характеризуются различными принципами определения РИ,

результаты расчета также имеют отличия. Основными факторами здесь служат тип аналита, скошенность распределения, количество результатов, доля патологических результатов и их положение в выборке. Также, один из основных факторов – количество данных.

Установлено оптимальное количество данных для расчета границ РИ различными методами, что особенно важно при наличии малочисленной выборки в БД, в том числе в неонатологической практике. Показано, что предварительная очистка данных для снижения количества патологических данных в выборке не имеет значительного влияния на полученный результат расчета. Показана возможность расчета скошенных распределений для метода Bhattacharya, при предварительном проведении нормализации данных.

Теоретическая и практическая значимость работы

Впервые проведено комплексное сравнение не прямых методов установления РИ на реальных базах данных медицинских организаций. Расширены представления о методологической основе непрямого расчета РИ в клинической лабораторной диагностике. В работе впервые показано, что результаты расчета, полученные с использованием четырех различных алгоритмов, имеют значимые различия, обусловленные объемом выборки, степенью скошенности распределения, долей патологических значений и их локализацией относительно основной выборки. Установлена мера влияния характера распределения и доли значений патологических образцов в совокупной выборке на точность расчета. Продемонстрировано, что симуляционное моделирование не отражает в достаточной мере условия реальной лабораторной практики. Обоснована необходимость предварительной нормализации данных для метода Bhattacharya при работе со скошенными распределениями.

Полученные результаты формируют научно обоснованную базу для внедрения не прямых методов в практику здравоохранения. Выявленные закономерности позволяют специалистам клинической лабораторной диагностики принимать обоснованное решение о выборе конкретного метода расчета (TMC, RefineR, kosmic, Bhattacharya) исходя из характеристик имеющихся данных:

объема выборки, типа анализа, характера распределения и предполагаемой доли патологических значений.

Особую практическую значимость имеют данные о минимально необходимом объеме выборки для каждого метода. Доказанная эффективность методов TMC и RefineR на ограниченном объеме исходных данных позволяет использовать их в педиатрической и неонатологической практике, где сбор референтных групп прямыми методами крайне затруднен.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена как ряд расчетов референтных интервалов при различных условиях и свойствах данных: количество данных, распределение анализов, количество патологических данных и их расположение в распределении относительно центра распределения «здоровых», с применением симуляционных исследований, но основанных на реальных данных. Исследовались результаты расчетов параметров общего анализа крови (эритроциты, гемоглобин, тромбоциты, лейкоциты) новорожденных, ТТГ подростков, ТТГ взрослых и свободный тироксин взрослых. Расчет методами TMC, refineR, kosmic, Bhattacharya, производился согласно описаниям, представленным авторами методов, с использованием открытых программ и сред.

Оценка полученных расчетов производилась согласно текущей практике относительно референтных интервалов, рассчитанных ретроспективным прямым способом.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Непрямые методы расчета являются реальным инструментом установления и верификации границ референтных интервалов для различных анализов, особенно для специфических популяций с трудностью реализации прямого метода (в том числе для новорожденных детей), с целью повышения информативности лабораторных исследований в клинике.

2. Определены условия использования определенных методов непрямого расчета референтных интервалов, которые заключаются в учете количества данных, виде распределения результатов исследования анализов, содержании и

расположении патологических значений, а также уточнена необходимость в ряде случаев проведения нормализации данных до расчета и очистки данных от статистических выбросов.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов определяется обследованием достаточного количества данных при расчете референтных интервалов, а также использованием доступных и используемых способов оценки полученных данных для исследуемых методов, относительно прямого способа определения референтных интервалов. Основой научной работы стал подробный анализ полученных данных.

Материалы исследования и основные положения диссертации неоднократно докладывались и обсуждались на Всероссийских и международных конференциях: VII, VIII, IX, X, XI Российском Конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025); Международном форуме "Прорывные технологии в науке и медицинском образовании" - 2022 (Екатеринбург); Уральском форуме «Современная лабораторная медицина для клинических решений» (Екатеринбург, 2021, 2022); Научно-практической конференции с международным участием «Лабораторная диагностика и клиническая практика в эпоху высоких технологий» (Астана, 2025) ; 24, 25, 26 Конгрессе ЕвроМедЛаб EFLM-IFCC (постерные доклады) - 2022 (Мюнхен), 2023 (Рим), 2025 (Брюссель).

Внедрение результатов научных исследований в практику

Результаты исследования внедрены в практику работы и используются в АО «Группа Компаний «Медси», Государственном автономном учреждении здравоохранения Свердловской области «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург: областной перинатальный центр и областной центр детской эндокринологии, а также внедрены в процесс преподавания клинической лабораторной диагностики ординаторам, и специалистам КЛД на курсах повышения квалификации на кафедре медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский

государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, 6 из которых в рецензированных научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальности «клиническая лабораторная диагностика».

Личный вклад автора в проведенные исследования

Автором сформулированы цель и задачи исследования, разработан дизайн и методология исследования, проведен расчет и анализ полученных результатов, интерпретация и обобщение результатов исследования, а также представление научных данных.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 124 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы, главы результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейших исследований, списка литературы. Работа иллюстрирована 27 таблицами (включая 1 таблицу Приложения 1) и 3 рисунками. Список литературы включает 102 источника: отечественных – 9 и иностранных авторов - 93.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРИНЦИПЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ РАСЧЕТА РЕФЕРЕНТНЫХ ИНТЕРВАЛОВ

1.1. Современная практика оценки результатов лабораторных тестов

Одна из задач постаналитического этапа - обеспечить пациента информацией для интерпретации полученных результатов, и, в первую очередь, корректными пределами референтного диапазона измеренного аналита. Референтным интервалом (РИ) называют центральный диапазон значений лабораторного показателя, ограниченный двумя пределами и охватывающий 95% результатов, полученных у референтной популяции – условно здоровых лиц с определёнными характеристиками [1]. Определение референтных интервалов для большинства лабораторных показателей сопряжено с рядом методологических сложностей. Получить их можно различными способами [2].

1.1.1. Прямые методы определения референтных интервалов

Процедура установления РИ регламентирована протоколом C28-A3 CLSI [32] и ГОСТ Р 53022.3-2008 [1]. Основным подходом считается прямой метод, в основе которого лежит расчёт центрального 95% диапазона значений аналита, полученных при обследовании выборки условно здоровых лиц определённой категории (с учётом пола, возраста, массы тела, применяемой аналитической системы и др.).

Практическая реализация прямого метода сопряжена с рядом существенных ограничений. Во-первых, требование о минимальном объёме выборки - не менее 120 человек на каждую субпопуляцию - значительно затрудняет формирование групп для отдельных контингентов: новорождённых, беременных и других проблемных категорий. Во-вторых, поскольку референтные интервалы отражают биологическую вариацию, границы РИ должны устанавливаться отдельно для каждой значимой временной точки и отдельных подгрупп популяции, отличающихся по полу, возрасту, этнической принадлежности, что многократно увеличивает трудоёмкость исследования [1, 32]. В-третьих, репрезентативность

выборки имеет принципиальное значение: если она не соответствует целевой популяции конкретного медицинского учреждения, полученные границы РИ окажутся неприменимыми для клинического использования.

Таким образом, прямое определение РИ является ресурсоёмким, организационно сложным и этически нетривиальным процессом. Для большинства лабораторий самостоятельное проведение такого исследования практически нереализуемо, а число крупных опубликованных валидационных исследований, охватывающих широкий спектр тест-систем, остаётся недостаточным.

Особые сложности представляет определение РИ у детей, новорожденных, беременных женщин, пожилых людей. В условиях трудностей с прямым определением границ РИ возможны процедуры переноса и/или верификации [1,70] опубликованных в различных источниках РИ: инструкции производителя, международные и отечественные рекомендации, справочники или использование значений границ РИ других лабораторий.

Вместе с тем, обращение к готовым источникам РИ не снимает проблему в полной мере: использование таких данных предполагает тщательную оценку соответствия исходной выборки и применённого метода расчёта характеристикам обследуемого контингента конкретной лаборатории. Сложности формирования репрезентативного пула биоматериала для отдельных групп населения в равной степени актуальны как для независимых исследователей, так и для производителей тест-систем. В результате специалист клинической лаборатории нередко оказывается перед необходимостью обоснованного выбора источника референтных значений при отсутствии достаточной доказательной базы.

В качестве альтернативы, позволяющей частично преодолеть указанные ограничения, в последние годы активно развиваются непрямые методы определения РИ. Их принципиальное отличие состоит в использовании уже накопленных в информационных системах лаборатории массивов результатов рутинных исследований, что устраняет необходимость организации специальной выборки условно здоровых лиц [70].

1.1.2. Непрямой расчет референтных интервалов

Такой подход расчета РИ предполагает удаление заведомо патологических результатов из госпитальной базы данных для получения «здоровой» выборки и/или применение математических алгоритмов разделения результатов смешанной выборки: существуют подходы, включающие только селекцию госпитальной базы, селекцию с последующей математической обработкой, а также подходы, в которых математические алгоритмы расчета применяются без предварительной селекции базы данных (БД). В дальнейшем будут рассмотрены особенности наиболее широко используемых алгоритмов разделения смешанных выборок результатов лабораторных исследований с последующим расчетом РИ, без прицельного обсуждения и оценки методов очистки базы от заведомо патологических данных.

Впервые метод непрямого расчета «нормальных» значений предложил Хоффманн в 1963 г. [56]. Этот метод использовался (и в модифицированном виде используются сейчас) в основном для расчета РИ аналитов, результаты которых распределены нормально. В дальнейшем получили развитие методы, с помощью которых возможен расчет РИ при других вариантах распределений (негауссово распределение), с возможностью автоматического расчета.

1.2 Описание методов не прямых расчетов границ референтных интервалов

Любой из способов непрямого расчета РИ основан на способности разделения патологических значений и значений для условно здоровой популяции. Таким образом, «очищенная» от патологических значений популяция подлежит стандартному определению значений 95% интервала, что и представляют собой пределы РИ. При этом все методы основаны на предположении, что выборка, то есть используемая часть лабораторной базы данных медицинской организации, в основном состоит из не патологических значений или значений, соответствующих состоянию условно здоровых лиц.

Тем не менее, подразумевается, что патологические значения в выборке имеются, и различные алгоритмы по-разному выделяют значения нормальной популяции. По способу разделения патологических и не патологических данных возможно разделить принципы методов расчета на три группы.

Первая группа методик основывается на предположении, что популяция «здоровых» расположена в основной части распределения результатов, а патологические результаты представляют собой статистические выбросы, исключив которые, возможно получить рассчитанные таким образом границы РИ. Эта группа не получила распространения, из-за неверного предположения что распределение значений при патологических состояниях не может пересекаться с распределением "нормальных" значений [71].

Во вторую группу могут быть включены методы, в которых, наоборот, предполагается, что суммарное распределение результатов представляет собой смесь накладываются друг на друга «здоровой» и патологической популяции. Соответственно, патологическая популяция не может быть изъята из вычислений просто путем расчета выбросов. Однако, в этом подходе учитывается, что в базе данных в основном находятся результаты «здоровых» и задача алгоритма – найти и охарактеризовать часть нормального распределения результатов, в которой находятся только результаты «здоровых», без пересечения с патологическими, и произвести расчет границ РИ, опираясь на данные найденной части [69, 92]. Так, РИ будут соответствовать 95% центральному интервалу найденного нормального распределения «здоровых».

В указанную группу входит *метод Хоффманна, положенный в основу* существующих на данный момент нескольких вариантов непрямого расчета РИ [55, 56]. Данный метод основан на предположении о модели распределения - нормального или логнормального, которое возможно графически разделить на соответствующие части – «патологическая» и результаты «здоровых». Разделение происходит по двум осям: накопленной частоты значений концентрации и концентрации. В результате графически оказывается возможным расположить распределение в одной графической плоскости, на которой выделяется

«нормальная» часть распределения, по которой далее графически определяются РИ.

Современная, автоматизированная версия (усовершенствованный метод Хоффманна) [58, 28] позволяет трансформировать распределение в нормальное и определить РИ как центральный 95% интервал.

Метод *Прайса (Pryce)* и его модификация были предложены в 1960-1970 гг. [88]. Метод для большей части анализов так же оценивает срединную часть распределения и относит ее к выборке «здоровых», в отличие от анализов, для которых важны результаты исследований только одной границы (например, аспаратаминотрансферазы). В этом случае рассчитывается мода и стандартное отклонение от нее (как 34% значений отклонения от моды влево, если патологические значения расположены по правой стороне выборки).

Метод *Bhattacharya* [26, 68, 30] располагает данные результатов исследования в ячейки, соответствующие диапазону концентраций и исследует ячейки графически. И при дальнейших манипуляциях результаты группы «здоровых», соответствующие нормальному распределению, преобразуясь, выстраиваются в линию на оси ординат. Параметры искомого нормального распределения определяются внутренним алгоритмом графически (среднее значение и стандартное отклонение) [21].

Метод *максимального правдоподобия (TML, оценка максимального правдоподобия на усеченном интервале)* предложен А. Arzideh и соавторами [17, 39, 99]. Определение подгруппы здоровых определяются методом ядерной оценки плотности (kernel density estimation). По оценке плотности вероятности производится поиск «здоровых» и «больных», с использованием преобразования Бокса-Кокса, и далее поиск наилучшего варианта распределения «здоровых», с использованием метода максимального правдоподобия и расчетом РИ по 2,5-й и 97,5-й перцентилям распределения [19] или, в более редких случаях, как точка пересечения распределений «здоровых» и «больных» [17].

Метод *kosmic* продолжает использование оценки максимального правдоподобия (TML) [100].

Метод основан на допущении, что доля «здоровой» популяции может быть смоделирована с помощью распределения Гаусса после преобразования Бокса-Кокса, и что в наборе данных существует интервал, в котором доля патологических результатов теста незначительна (что делает метод устойчивым даже при наличии значительной доли патологических значений). Алгоритм использует минимальное расстояние Колмогорова-Смирнова для оценки качества подбора модели. Автоматический расчет возможен с помощью онлайн-версии или в программных средах Python, C++ [100].

Метод *ТМС (Усеченная минимальная оценка хи-квадрат)* [96], метод, использующий стратегию «подгонки модели» для оценки референтных интервалов. В отличие от методов, которые нормализуют данные, ТМС адаптирует математическую модель к исходным данным для поиска распределения результатов исследований у «здоровых» лиц. Этот подход - определяющее свойство ТМС, позволяющее ему рассчитывать РИ для скошенных распределений, а также работать с данными, сконцентрированными вблизи предела обнаружения (ТТГ, тропонин, С-реактивный белок) [47, 49].

ТМС основан на предположении, что непатологическая часть лабораторных данных подчиняется степенному нормальному распределению. Вместо нормализации самих данных алгоритм ищет оптимальные параметры кривой степенного нормального распределения, которые наилучшим образом соответствуют наблюдаемым исходным данным (λ , μ , σ). Далее данные распределяются алгоритмом по группам (ячейкам), с последующим подбором оптимальных параметров теоретического распределения по критерию хи-квадрат (χ^2) и критерию согласия. Границы РИ определяются как 2.5% и 97.5% перцентили полученного распределения. ТМС может быть выполнен с использованием открытого кода в среде R либо онлайн- и оффлайн-программы, Truncated minimum chi-square [96], что также делает метод доступным для использования.

В третью по принципу разделения патологических и «нормальных» значений группу методов можно отнести техники декомпозиции.

Методы основаны на математическом поиске различных распределений внутри общего распределения, основываясь на том, что в суммарном распределении возможно существование более, чем одного распределения «здоровых» и одного-двух распределений патологических значений (по одной или обеим сторонам распределения «здоровых»). Соответственно, суммарное распределение разделяется (декомпозируется) на несколько составляющих распределений и одно из них является распределением «здоровых», по которым и определяются РИ. В этом типе расчета РИ важно определение типов распределений для корректного проведения методики.

Данные методы сформулированы с применением пакетов в программной среде R: `mixdist`, `flexmix`, `mixmod`, `mixtools` [58, 25]. Использование этих методов предполагает применение большого количества функций и самостоятельное принятие решений по использованию декомпозиции. В этих методах применяется подход максимального правдоподобия для подгонки гауссовского или гамма-распределения к смешанному набору данных.

Метод Bhattacharya – предвестник методов деконволюции, так как в него заложено предположение о смеси различных функций внутри одного распределения, с тем отличием, что для используемой версии метода исследуются параметры определения распределения «здоровых». Был предложен подход расчета РИ, включающий и деконволюцию, и метод Bhattacharya, хотя в нем учитывается расположение патологического компонента только по одну сторону от «здоровых» [82]. Кроме того, метод не имеет простого в использовании автоматического алгоритма.

Алгоритм `refineR` [13] использует обратное моделирование. Алгоритм с помощью функции плотности сначала исследует данные для определения ее параметров, пытается найти модель, которая может лучше всего их объяснить и исходя из найденных параметров преобразовывать данные. В этом одно из основных отличий от других алгоритмов, которые используют подход прямого моделирования и сначала преобразуют данные, а затем подгоняют модель к данным.

в преобразованной области. В этом случае результирующая модель в преобразованной области не обязательно является оптимальной.

1.3. Расчет референтных интервалов непрямым способом: свойства и ограничения методов непрямого расчета, опыт применения и нерешенные вопросы

Возможно выделить некоторые характеристики методов непрямого расчета, свойственные конкретным методам и влияющие на результат расчета границ РИ.

1.3.1. Способ разделения «здоровых» и «больных»

Одна из задач для некоторых алгоритмов расчета непрямыми методами - "отделить" здоровую популяцию от патологической для определения 95% значений (границ РИ) [92]. Это один из основных факторов, влияющих на результат расчета РИ.

Продолжением развития первых методов непрямого расчета выступил ТМС, с возможностью определения интервала нормального распределения, в который попадают только результаты исследования «здоровых» и достраиванием этого распределения до нормального и расчета РИ по его параметрам. Учитывая, что метод использует для расчета только интервал со «здоровыми», он, во-первых, способен рассчитывать РИ и для ненормально распределенных аналитов, а во-вторых, не требует выполнять очистку данных от выбросов. Но, при этом, если этот интервал выделить по той или иной причине невозможно (например, при высокой степени перекрытия «здоровых» и «патологических» значений), будет невозможным определение нормального распределения «здоровых» и верный расчет РИ произведен не будет.

Методы деконволюции способны разделить общее распределение на несколько, но не позволяют точно определить, какое именно из распределений принадлежит здоровой популяции [92]. При этом, для большей части методов, пользователем, вне зависимости от клинической значимости, должно быть

указано и смоделировано количество патологических распределений для исследуемого общего распределения.

1.3.2. Размер ячеек данных (распределение данных по ячейкам для расчета)

Метод Bhattacharya, принадлежащий ко второй группе методов и доступный широкому пользователю для расчета, считается более субъективным ввиду ручного определения оператором минимум двух параметров: линии наилучшего соответствия и количества (соответственно, и ширины) ячеек, в которые распределяются данные для дальнейшего анализа [21, 51, 83]. Хотя, при большом количестве данных, вторая проблема нивелируется, и метод активно используется и сейчас, дополненный некоторыми другими возможностями [92].

К тому же, для использования метода доступны простые в использовании онлайн-ресурсы [68]. Метод ТМС также распределяет данные по ячейкам, что создает необходимость набора достаточного количества данных для набора минимум в 6 ячеек.

На данный момент не опубликованы требования для пользователя к методам расчета относительно распределения данных в ячейки.

1.3.3. Расположение и количество патологических значений: применение методов с моделированием реальных лабораторных данных

Поскольку в методах непрямого определения РИ заложены разные принципы разделения патологической части и «здоровых», возникает вопрос о возможно допустимом проценте патологических значений и их расположении в суммарном распределении в выборке результатов.

Ограничением методов, в которых используется усеченный интервал, называют возможное отсутствие этого искомого выделенного интервала распределения. В найденном интервале эти подходы учитывают возможность нахождения патологических образцов, однако, наличие большого количества патологических значений в интервале будет препятствовать корректному

определению РИ [33]. Это проверяется методиками с помощью критерия согласия. На данный момент в достаточной степени не изучено, какое влияние может иметь распределение патологической группы, располагающееся недалеко от центра распределения здоровых субъектов, то есть, в пределах РИ. При расположении патологических данных вне усеченного интервала патологические данные не должны влиять на расчет РИ исходя из принципа методики. Ограничивает возможность такого расчета, по мнению авторов методики, присутствие более 30% патологических данных на 70 перцентиле распределения. В этом случае внутри методики происходит перерасчет данных с потенциальным ухудшением качества расчета РИ [96]. Помимо этого мнения авторов методики, на данный момент остается неизвестным возможный процент содержания в выборке условно патологических значений, входящих в пределы РИ.

Участок линии наилучшего соответствия для расчета методом Bhattacharya должен занимать не менее 40% всех значений вне присутствия патологических значений) [21]. Метод Хоффманна зависит от распределения патологических значений [47].

Для моделирования ситуации с различным количеством и расположением патологических данных применяют симуляционные исследования с добавлением к распределению результатов здоровых лиц процента патологических значений. Авторы метода *kosmic* [100] также после проведения симуляции обозначают предел патологических значений в БД как 20%, если пики патологических значений находятся на границах РИ или 30% при других положениях. Метод *refineR* [13], по данным авторов метода, позволил приемлемо рассчитать РИ при количестве патологических данных более 20% при перекрывающихся патологических и нормальных данных на границе РИ и 30% и более при других расположениях для тестов альбумин, креатинин, свободный Т4, ТТГ, ГГТ, гемоглобина. Метод *refineR* был более успешен в расчете РИ симуляционных исследований (от 0 до 30% патологических значений на различном расстоянии от медианы распределения). Результаты расчетов симуляций *refineR* и *kosmic* оценивались авторами как разница между РИ симулированного распределения

«здоровых» и рассчитанными. В качестве критерия оценки использовалось сравнение со значением общей ошибки ($\pm 1TE$ и $\pm 2TE$). Результаты расчетов для тестов альбумин, креатинин, свободный Т4, ТТГ, ГГТ для большинства симуляций методом refineR находились в пределах более строгого критерия оценки по общей ошибке по вышеуказанным тестам ($\pm 1TE$), в отличие от гемоглобина, границы РИ которого kosmic определил лучше. Авторы заявляют о приемлемости использования алгоритма до 50% патологических данных [13]. Однако, подтверждения этой информации со стороны независимых авторов на данный момент нет. При расчете без симуляции, на реальной БД тромбоцитарных индексов [54] прямым способом и с помощью kosmic, для индексов MPV, PDW и PCT получен схожий результат расчетов для лиц более 60 лет, что может означать приемлемость расчетов вышеуказанных параметров непрямым способом. Результаты расчета считались схожими при пересечении 90% доверительных интервалов расчета границ РИ и допустимыми значениями неопределенности рассчитанных непрямым способом границ РИ [43].

1.3.4 Возможности расчета для различных видов распределений аналитов

В определении границ РИ различных аналитов важным фактором является вид распределения результатов. Наиболее простым выглядит расчет для нормального распределения. Но большинство распределений, исследуемых в клинической лабораторной практике, помимо гауссовского [32,93], может быть определено как скошенное и гамма-распределение [21, 31].

На данный момент в литературе активно обсуждается вопрос возможности расчета границ РИ скошенных распределений непрямым методом, так как этот вид распределения в лабораторной практике встречается часто, как изначально скошенное распределение аналита, или как доминирующее скошенное распределение патологических значений внутри суммарного [66].

Часть методов непрямого определения РИ использует классическую статистику и рассчитана только на установление границ РИ для аналитов с нормальным распределением (Хоффманн, Bhattacharya) [58, 65].

Но появились и методы, которые предполагается, что могут рассчитывать границы РИ аналитов с другими видами распределений: с гамма-распределением, с другими скошенными распределениями [90]. Из-за близости медианы скошенных распределений к нулю и сложности подобных расчетов, часть методов прибегают к использованию трансформации скошенного распределения в нормальное, что может повлиять на правильность расчета РИ. Возможности определения РИ без применения трансформации описаны с помощью применения коэффициентов асимметрии и эксцесса распределения: при превышении значений 0,6 и 2,7 соответственно, данные нуждаются в трансформации.

При оценке распределения как логарифмически нормальное (скошенное вправо) [44] используется лог-трансформация, что соответствует переводу данных в логарифмическое распределение, с возможностью дальнейших расчетов аналогичных расчетам для Гауссова распределения. В основном скошенные распределения характерны для аналитов, время полувыведения которых больше частоты поступления в кровь (например, гормоны, онкомаркеры, ферменты) [63] и для подобных аналитов описано успешное логарифмическое преобразование [31]. Однако, если распределение сильно скошено (скошенность логарифмического распределения больше ширины самого распределения) подход может стать неинформативным.

Для не нормальных распределений часть методов предлагает изменение данных в виде трансформации Бокса-Кокса [50] (рекомендуют IFCC и CLSI) или Мэнли, в результате проведения которых "скошенные" данные трансформируются в нормальное распределение [16], из-за чего может потеряться точность расчетов и измениться границы РИ.

Методики, работающие со скошенными распределениями, по-разному проводят расчет скошенности, и при неверном определении параметров скошенности (например, лямбда), расчет РИ не будет верным. Параметр лямбда

(определяемый методом подбора) играет решающую роль в преобразовании Бокса-Кокса, поскольку он определяет характер преобразования, применяемого к данным. Он может быть взят из доступных публикаций (однако, характер распределения может быть не однозначным, например, распределение натрия в плазме может расцениваться и как нормальное, и как скошенное в зависимости от данных МО [44]. Когда лямбда равна единице (нормальное распределение), преобразование становится тождественным данным и данные не изменяются. При лямбде равной 0 преобразование применяет к данным натуральный логарифм. Другие значения параметра лямбда предполагают распределение, отличное от гауссова и лог-нормального, и результат расчета РИ в этом случае может не соответствовать реальному [40]. На этапах использования алгоритмов РИ на данный момент неизвестно, верно ли рассчитан параметр лямбда, от которого напрямую зависит правильность расчета границ РИ. Риск неверного расчета в сторону завышения этого параметра возникает также при низком количестве данных (менее 1000 результатов) и, как следствие, неверного предположения о скошенных вправо данных: будет выбрана неверная область для достраивания распределения и выполнен неверный расчет РИ. Как пример, алгоритм непрямого расчета границ РИ, содержащий квартильный алгоритм Боули, сработал неверно при расчете РИ стероидов в случае с малым объемом данных (200 исследований) [15, 73]. На текущий момент не выявлено минимально необходимое количество исследований в БД для избегания подобной проблемы.

Если метод использует удаление выбросов, вместе с выбросами может быть удалена часть данных распределения здоровых лиц, и последующее преобразование также будет неверным [56].

Расчеты методом деконволюции требуют предположения относительно видов распределений, что может быть затруднительно не только потому, что в разных МО для одинаковых аналитов могут быть разные распределения, но и потому, что для скошенных распределений может быть непросто разделить распределение условно здоровых лиц от остальных, особенно в области "хвоста" распределения. Однако эти методы не требуют преобразования данных и,

соответственно, характеризуются отсутствием погрешности, связанной с процессом преобразования [78]. Распределение патологических образцов — обсуждаемый в литературе вопрос, методы декомпозиции требуют указания пользователем типа патологического распределения.

Для методов, основанных на выделении интервала распределения «здоровых» (TMC и TML), информация о распределении патологических значений не требуется. Возможность расчета данных скошенного распределения методом TMC подтверждена экспериментально: для тропонина и С-реактивного белка, в которых часть данных (иногда - большая) находится вне предела чувствительности метода или близко к нему [49].

Для метода *kosmic* [100] не представляется проблемным расчет РИ для гауссова, логнормального распределений, после трансформации Бокса—Кокса. При расчете не делается никаких предположений относительно типа распределения патологических образцов, хотя процентное соотношение патологических образцов в базе данных среди «нормальных» значений исследуется.

Методы *Arzideh*, *Хоффманн*, *Bhattacharya*, могут быть ограничены расчетом РИ только для нормальных и близких к нормальным распределениям [58]. Как пример, при сравнении границ РИ ТТГ, полученных прямым методом и методом *Bhattacharya*, была выявлена несогласованность результатов, вызванная, по мнению авторов, зависимостью метода *Bhattacharya* от вида распределения (скошенное распределение) [83]. Метод *Хоффманна* так же имеет свои ограничения [98].

Метод *refineR* может вычислять и вычитать патологические распределения, и таким образом "очищать" "непатологическое" распределение с расчетом РИ. Это дает преимущество в случае присутствия нескольких патологических распределений, при их верном определении алгоритмом. Но, например, в случае со скошенными распределениями необходима визуальная оценка трансформированного алгоритмом распределения для принятия решения о повторной трансформации. Двухэтапное преобразование также снижает качество

подгонки данных по сравнению с не преобразованными данными [67], метод, который может использоваться в алгоритме refineR для скошенных распределений.

Усовершенствованный метод Хоффманна в основном рассчитан на работу с гауссовым распределением [47]. Тем не менее, метод продолжает использоваться, возможно, из-за доступности готового кода в программной среде R.

Авторы исследования допускают возможность использования расчета РИ методом Хоффманна в большей степени, так как эти расчеты совпадали с результатами прямого исследования, и в меньшей – с методом refineR, где согласованность с прямым определением была несколько ниже (в обоих случаях сравнение производилось по геометрическим средним результатов). В случае определения различных типов распределения расчет методом Хоффманна предоставлял более широкие РИ, а refineR – более узкие [15].

Расчет РИ для аналитов скошенных распределений представляет большой интерес, например, для расчета границ РИ ТТГ. В описании методов расчета можно встретить и информацию о качестве расчета этого аналита. На данный момент авторы методов ТМС и refineR позиционируют представляемые ими методы как способные верно рассчитать границы РИ для скошенных распределений [13], хотя некоторые авторы оказывают предпочтение методу ТМС для работы с границами ТТГ [35]. Авторы [77] рекомендуют для использования скошенных распределений на примере ТТГ у пожилых пациентов методы Хоффманна и Bhattacharya с трансформацией, kosmic и refineR, а также алгоритм ЕМ с трансформацией Бокса-Кокса для сильно скошенных распределений.

1.3.5 Доступность и выбор использования методов непрямого расчета

При выборе методики для расчета РИ в каждом случае возникает вопрос о приемлемости использования для определенных типов распределения аналитов и, соответственно, выбора алгоритма расчета для снижения рисков неверного определения границ РИ [39]. На данный момент релевантными, доступными и достаточно простыми в выполнении и трактовке методами расчета являются kosmic, ТМС, refineR, Bhattacharya.

Важным фактором для оценки результатов расчета по определенной методике является предварительное изменение данных, то есть нормализация выборки программой перед расчетом с помощью преобразования Бокса-Кокса: эту процедуру выполняют `kosmic`, `refineR`, `Bhattacharya`. Пакет `mixdist` в программной среде R позволяет не изменять данные, однако, как было сказано выше, алгоритм не является готовым продуктом для использования. ТМС также не изменяет данные перед расчетом, однако, и ТМС, за счет работы с интервальными данными, и метод `Bhattacharya` требуют достаточного количества данных внутри частей распределения (интервалов), что не всегда является свойством исследуемого анализата. Авторы методов ТМС и `refineR` заявляют о возможности расчета скошенных распределений, однако для части скошенных распределений `refineR` требует двойной трансформации данных, что может сильно исказить результаты расчета РИ. Для ТМС, в теории, большое количество патологических данных внутри распределения, ближе к пику, может помешать расчету РИ, так как этот участок априори взят за участок распределения нормальных значений. Методы ТМС, `kosmic`, позволяют выполнить расчет РИ с учетом пола, возраста и некоторых других параметров [45]. Остается вопрос о количестве данных в небольших выборках для успешного расчета. В литературе встречается информация о количестве 400 и 750 результатов исследований для каждой группы исследуемых [64, 80].

Учитывая особенности каждой методики, необходимо понимание возможностей использования каждой из них для различных анализатов: необходимое количество данных для расчета тем или иным методом, необходимость их трансформации, способность корректно определять РИ скошенных распределений, возможность расположения и доли патологических данных в выборке, очистки данных перед расчетом, зависимости расчета от параметров выборки. На сегодняшний день эта проблема не освещена в литературе в разрезе сравнения использования доступных методов непрямого расчета.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на кафедре медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО УГМУ МЗ РФ (заведующая кафедрой профессор Ворошилина Е.С.).

Опрос относительно источников использования РИ был проведен по решению и при поддержке Ассоциации «ФЛМ» в режиме онлайн.

Для расчета границ РИ непрямыми методами показателей общего анализа крови (ОАК) новорожденных и ТТГ подростков непрямыми способами использовалась база данных ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург. Для расчета границ РИ для ОАК, ТТГ и свободного тироксина (Т₄св) у взрослых использовалась база данных лаборатории SmartLab, АО «Группа компаний Медси».

2.1. Определение частоты использования источников референтных интервалов

С целью установления источников границ РИ, используемых в лабораториях РФ, проведен опрос заведующих или сотрудников лаборатории, обладающих сведениями о референтных интервалах в лаборатории. Проведение опроса об использовании лабораториями источников границ РИ было утверждено Ассоциацией «ФЛМ». с использованием оригинальной анкеты, рецензированной экспертами ассоциации «ФЛМ». Анкета содержала 6 вводных вопросов и 13 основных, из них 2 открытых (Приложение 1). Онлайн-опрос проводился в течение одного месяца через систему опросов Survey Monkey. Респонденты получали вопросы непосредственно от составителей или по ссылке на сайте Федерации лабораторной медицины (ФЛМ). Ответы на вопросы анкетирования были получены от респондентов из 76 городов России и 3 городов Казахстана. Результаты анкетирования были выгружены из Survey Monkey в файл электронной таблицы Excel, на основе которого происходил анализ полученных данных.

2.2. Используемые методы непрямого расчета референтных интервалов и критерии оценки их приемлемости

Во всех случаях непрямого расчета РИ использовались методы: ТМС [96]; refineR [13]; kosmic [100]; Bhattacharya [26, 30, 68, 30], выбранные с учетом их свойств, представленных в литературном обзоре. Все методы доступны в виде программных продуктов, пакетов или алгоритмов в среде R [62].

Оценка качества расчетов непрямыми методами границ РИ основывалась на их близости к границам РИ, установленным с помощью прямого расчета. Данные РИ прямого расчета для сравнения с полученными результатами непрямого расчета были взяты из опубликованных результатов исследований РИ [6, 40]. При оценке качества не прямых расчетов РИ ОАК детей 0–3 дней жизни и ТТГ подростков 13–16 лет, пределы РИ прямым методом устанавливались непосредственно из баз данных [5, 7].

В некоторых случаях перед применением расчета методом Bhattacharya проводилась предварительная трансформация (нормализация) распределений, которую позволяет выполнить ПО [61].

Во всех случаях сравнение пределов РИ, установленных прямым и непрямыми методами производилось с помощью критериев TE и pD.

Критерий TE: оценивалась разница между границами РИ, рассчитанными прямым способом и границами, рассчитанными непрямыми способами. При превышении разницы на 1 расстояние равное допустимой общей ошибке (TE) критерий считался не пройденным. Для оценки качества расчетов использовали значения TE на минимальном, желаемом и оптимальном уровне (TE_{min}, TE_{des}, TE_{opt}) [65] из базы биологической вариации Европейской Федерации лабораторной медицины (EFLM) [29].

Критерий pD: (предел эквивалентности) разработан Немецким обществом Клинической химии и Лабораторной медицины (DGKL) [41]. Авторами предложены допустимые коэффициенты вариации pCVA для аналитов и расчет допустимых отклонений от границ РИ, с учетом значений концентраций границ РИ. Основные параметры критерия учитывают нелинейную связь между

аналитической и биологической вариациями (БВ): для верхней и нижней границ РИ допустимые значения коэффициента различны. Допустимые значения критерия рассчитываются из допустимого стандартного отклонения отдельно для нижних и верхних пределов (psA , RL), $pD = \pm psA, RL \times 1,28$ [48].

Для проведения сравнений использовалась программа Excel и файл с автоматическими расчетами критерия pD от DGKL [34].

Методы TMC и refineR позволяют рассчитать доверительные интервалы (ДИ) полученных значений границ РИ. При расчете TMC ДИ выводятся на экран вместе с остальными расчетами, в отличие от метода refineR. Оценка качества расчета этих методов производилась с учетом ДИ.

2.3. Расчет границ референтных интервалов непрямым способом показателей ОАК детей первых 3-х дней жизни

Для расчета РИ непрямым способом для параметров ОАК (лейкоциты, гемоглобин, эритроциты, тромбоциты) использовались суммарные данные новорожденных, родившихся в Областном перинатальном центре Областной детской клинической больницы Екатеринбурга: условно здоровых новорожденных 836 новорожденных первых трех дней жизни, (переведены из родильного зала в отделение новорожденных и выписанных не позднее 3-го дня и не переведенных в другие отделения клиники [5]), а также 318 новорожденных, результаты исследования которых были классифицированы как патологические (находились в палате интенсивной терапии или не были выписаны на 3 день жизни без перевода в отдел патологии новорожденных). У всех детей было только однократное взятие капиллярной крови. Измерения проводили на гематологическом анализаторе XN-1000 («Sysmex Corporation», Япония). Границы РИ ретроспективным прямым способом для оценки корректности не прямых расчетов, с 95% доверительными интервалами (ДИ), были установлены для концентрации лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов. Расчеты РИ ретроспективным прямым способом выполнялись непараметрическим методом в программе Analyze-it [60]. Нормальность распределения была оценена

с помощью критериев Шапиро-Уилка и Д'Агостино.

Симуляция наличия патологических значений в базе данных проводилась путем добавления к исходным результатам условно здоровых новорожденных случайно-генерируемых пулов нормально распределенных значений, среднее которых сдвигалось в сторону нижней или верхней границы РИ на 1SD, 1,5SD, 2 SD от медианы распределения исходной базы. Последовательно добавлялись 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50% таких значений от общего числа популяции, принятой за референтную при установлении РИ прямым способом (836 новорожденных). Эти значения добавлялись в сторону только нижнего, только верхнего пределов или одновременно к нижнему и верхнему пределам исходного РИ. Для тромбоцитов данные были добавлены только на расстоянии 1SD, так как значения, получаемые при симуляции на больших расстояниях, превышали либо были слишком низкими относительно реальной концентрации тромбоцитов в базе данных [54].

2.4. Расчет границ референтных интервалов показателей ОАК у взрослых (21–78 лет)

Для расчета границ РИ лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов использовалась база данных лаборатории ЕКДЛ АО «Группа компаний «Медси». В качестве биоматериала использована цельная кровь с консервантом K2EDTA. Исследования ОАК выполнены на анализаторе SysmexXN, Sysmex, данные собраны за период июль 2021 г. – ноябрь 2022 г. Процедуры внутреннего и внешнего контроля качества в указанный период проводились своевременно.

В качестве подготовки БД к расчету, с помощью программы Excel были удалены результаты повторных исследований пациентов (оставлены только последние результаты [20]). Таким образом, рассчитаны общие РИ для n=198077, 75489 мужчин, 122588 женщин, от 21 до 78 лет. Нормальность распределения была оценена с помощью критериев Шапиро-Уилка и Д'Агостино.

В дальнейшем пределы РИ, рассчитанные непрямыми методами,

сравнивались с пределами, установленными в исследовании 683 мужчин и 770 женщин 21–78 лет ретроспективным прямым способом [6] и выполненными на анализаторах того же производителя (Sysmex).

Для всех выборок проведено исследование влияния параметров различных распределений (асимметрия, эксцесс, коэффициент вариации) на результат расчета РИ.

2.5. Расчет границ референтных интервалов непрямым способом для ТТГ у подростков

Для расчетов пределов РИ ТТГ использована базу данных исследования по установлению РИ прямым методом у подростков Свердловской области в возрасте от 13 до 16 лет [7]. В базе данных собраны результаты лабораторных исследований 1179 подростков (637 женского пола, 542 мужского). По данным анкетирования, клинического осмотра, УЗИ щитовидной железы (ЩЖ), концентрации Т4св и аТПО были отобраны данные 561 условно здоровых подростков (референсная группа: 271 мальчик, 290 девочек), по которым были рассчитаны пределы РИ непараметрическим методом в соответствии с рекомендациями CLSI [11, 32]. Исследование ТТГ было выполнено на иммунохимическом анализаторе AxSYM, Abbott Diagnostic Division, США. Для расчета РИ непрямыми методами использована вся база данных исследования (1179 человек), без какого-либо предварительного отбора. Соответственно, выборка содержала также патологические и условно-патологические (могут входить в пределы РИ, но не входят в референтную выборку) значения. Нормальность распределения оценивали с помощью критериев Шапиро-Уилка и Д'Агостино. В дальнейшем пределы РИ, рассчитанные непрямыми методами, сравнивались с пределами, установленными в исходном исследовании прямым способом.

На данный момент не установлено минимальное требование к объему выборки для расчета непрямыми способами, однако, известно, что большее количество данных в расчете приводит к большей точности и уменьшению

доверительных интервалов [47]. Для оценки зависимости от объема выборки и устойчивости расчетов непрямыми методами в присутствии условно патологических значений, были проведены симуляционные исследования для увеличения количества значений в исходной выборке. На первом этапе, для перехода от имеющейся малой выборки к большой, методом Бутстреп [74] симулировали выборку из результатов исследований 561 здоровых подростков (референтной группы). Таким образом, симулированное распределение состояло из «размноженных» результатов референтной группы и содержало 10 000 результатов. Далее в выборку вводились «патологические» распределения, симулированные случайным образом на основе 618 значений условно патологических результатов в исходной выборке. Добавлялись патологические значения правее и левее медианы полученного методом Бутстреп распределения. Каждое симулированное распределение содержало 10 000 результатов с последовательным увеличением доли условно патологических значений и уменьшением доли здоровых. В каждое распределение были добавлены 5%, 10% 15% 20% 25% 30% патологического распределения отдельно с правой или с левой стороны от медианы референтного распределения, и одновременно с обоих концов. Симуляция проводилась с помощью программ Microsoft Excel и среды программирования Python.

2.6. Расчет границ референтных интервалов непрямым способом для ТТГ у взрослых (18–64 лет)

Для расчета использовалась база данных лаборатории ЕКДЛ АО «Группа компаний «Медси». Исследования ТТГ выполнены на иммунохимическом анализаторе DXI 800, Beckman Coulter, из сыворотки крови пациентов (венозная кровь). Данные собраны за период август 2021 г. - февраль 2025 г. Процедуры внутреннего и внешнего контроля качества в указанный период проводились своевременно. В БД имелись результаты 152472 исследований ТТГ для лиц 18–64 лет (112829 женщин, 39643 мужчин). В качестве подготовки БД к расчету, были удалены результаты от одних и тех же пациентов (оставлены только последние

результаты исследования пациентов [20]) и удалены результаты исследований, составляющих более 10 мМЕ/л и менее 0,2 мМЕ/л. В итоге для дальнейших расчетов использовали 150770 результатов.

Следующим этапом расчеты выполнены также в выборке с предварительным удалением выбросов методом Тьюки (значения, находящиеся на расстоянии более 3SD от верхней или нижней границы межквартильного интервала). После выполнения этой процедуры количество результатов составило 148979 результатов. Для подготовки данных к расчету использовалась программа Excel, для определения выбросов использовалась надстройка Analyze-it [60].

В дальнейшем пределы РИ, рассчитанные непрямыми методами, сравнивались с пределами, установленными при прямом определении РИ на 599 условно здоровых лиц [38], исследование проводилось так же на DXI800 из сыворотки пациентов.

Значения критериев сравнения составляли: TE_{opt} 12,4%, TE_{des} 24,8%, и pD: 0,07 мМЕ/л для нижней границы и 0,53 мМЕ/л для верхней границы. В исследовании РИ прямым способом были указаны ДИ для расчета границ РИ. Поэтому сравнение расчетов проводилось также с учетом ДИ как прямым, так и непрямым способом (при пересечении границ ДИ непрямого и прямого расчета, результат расчета границ РИ считался не имеющим отличий).

Для всех выборок проведено исследование влияния параметров различных распределений (асимметрия, эксцесс, коэффициент вариации) на результат расчета РИ.

2.7. Установление непрямыми методами нижней границы РИ для свободного Т4

Для расчёта РИ были взяты результаты исследований свободного тироксина (Т4_{св}) из БД лаборатории SmartLab «АО Группа компаний «Медси», выполненных за период 2022-2023гг. на иммунохимическом анализаторе Advia Centaur, Siemens (США).

Границы РИ рассчитывались методами TMC, refineR, cosmic, Bhattacharya.

Расчеты непрямыми методами были произведены для нескольких групп данных:

-данные с исключением результатов из отделений эндокринологии: неочищенные данные, $n=107113$

-дополнительно очищенные данные: удалены «далекие» выбросы, рассчитанные в статистической программе Analyze-it методом Tukey [59] (значения, находящиеся на расстоянии более 3SD от верхней или нижней границы межквартильного интервала), $n=106191$

-очищенные данные: удалены «далекие» и «близкие» выбросы, (значения, находящиеся на расстоянии более 1,5-3SD от верхней или нижней границы межквартильного интервала) $n=104042$

-данные Т4св пациентов, у которых, результаты ТТГ находились в пределах референтного интервала, установленного в лаборатории согласно инструкции производителя, $n=89768$

Верификация полученных результатов проводилась по результатам измерения Т4св условно здоровых лиц, у которых в прошлом не было заболеваний ЩЖ, не имеют клинических признаков заболеваний ЩЖ, у родителей не было заболеваний ЩЖ, ТТГ в пределах РИ, антитела к тиреопероксидазе не определяются, а также экспертного мнения клиницистов [32] (так как от клиницистов был получен запрос на изменение границ РИ, рекомендуемых производителем).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для исследования свойств методов непрямого расчета были рассчитаны границы РИ для различных аналитов с различными свойствами распределений: параметры ОАК (новорожденные 0-3 дня жизни; взрослые), ТТГ (подростки, взрослые), свободный Т4 – нормальное и скошенное распределение. Оценивалась возможность расчета для небольших БД, БД с различной долей патологических данных на разном удалении от центра распределения. Для этой оценки использовалась симуляция данных.

В качестве исследования интереса лабораторий к не прямому расчету РИ было проведено анкетирование лабораторий.

3.1. Источники использования РИ

Среди лабораторий РФ был проведен опрос об используемых и возможных источниках границ РИ. Респондентам было предложено заполнить анкету (Приложение 1), в которую входили вопросы по использованию границ для различных возрастных групп и групп аналитов, а также оценивалось мнение респондентов относительно наиболее правильных источников РИ.

Ответы на вопросы анкеты получены от респондентов 160 лабораторий из 76 городов РФ и 3 городов Республики Казахстан. Большинство лабораторий-участников (61,6%) представляли небольшие учреждения с потоком загрузки до 500 образцов в день; лаборатории с объёмом 500–2500 проб в сутки составили 28,3%, свыше 2500 проб в сутки - 10,1%. Среди респондентов преобладали руководящие сотрудники КДЛ - заведующие и начальники отделов (78,8%), оставшуюся часть (37,5%) составляли врачи и биологи с профессиональным опытом от 2 месяцев до 35 лет и медианным (медиана 8 лет).

Участникам предлагалось указать (в формате множественного выбора) фактически применяемые и желаемые источники референтных интервалов (РИ) безотносительно конкретных аналитов. Наиболее распространённым источником служат инструкции производителей реагентов: их используют 128 из 142 ответивших лабораторий (90,1%). Вместе с тем лишь 49,3% респондентов

считают этот источник достаточным: почти половина выразила потребность в альтернативных данных. В частности, 69,7% хотели бы ориентироваться на РИ из международных и национальных клинических рекомендаций. Результаты крупных популяционных исследований применяют 21,8% лабораторий, ещё 28,9% желали бы их использовать. Справочные издания задействуют около трети учреждений (28,2%), при этом отказаться от данного источника готовы лишь 9,2%. Практика заимствования РИ сторонних лабораторий остаётся единичной: её применяют 2,1% респондентов, а внедрить намерены 2,8%.

Дополнительный блок вопросов был посвящён самостоятельному расчёту РИ. По результатам опроса, собственные вычисления ведут 22 лаборатории; ещё вдвое больше (47 учреждений) выразили такое намерение. Показательно, что 16 из 142 участников при наличии полной свободы выбора предпочли бы опираться исключительно на собственные расчёты (прямыми или косвенными методами, преимущественно косвенными), отказавшись от прочих источников. Полученные данные свидетельствуют о том, что основными барьерами служат трудоёмкость прямых методов и недостаточная осведомлённость о подходах к косвенным расчётам: их выборе, реализации и интерпретации. В ответах в свободной форме респонденты также указывали на необходимость учёта региональной специфики и отдельных контингентов населения при формировании РИ.

Действительно, инструкции производителей как правило не содержат информации о способах отбора референтной группы и её количества для получения РИ, зачастую вовсе отсутствуют сведения для некоторых групп, например, беременных или возрастных групп. Именно для этих групп по результатам опроса респонденты испытывают наибольшие проблемы для использования РИ.

Отдельного внимания заслуживает тот факт, что две трети участников (66,4%) не располагают РИ для пациентов старше 70 лет, что ставит под сомнение корректность интерпретации результатов у пожилых больных, составляющих значительную долю обследуемых в большинстве лабораторий. Сложности с определением источника РИ возникают и применительно к исследованию

системы гомеостаза. Вопрос с источником РИ усложняется ввиду затруднительной стандартизации и проблемы использования реагентов «не родных» для используемых приборов (47,7% респондентов). При этом в большинстве инструкций к реагентам указано, что лаборатории должны рассчитывать РИ самостоятельно.

Таким образом, согласно результатам опроса, в качестве источника используется инструкция производителя, однако, недостаточность качества исследований или отсутствие РИ для определенного контингента, вынуждает лаборатории продолжать поиск альтернативных источников. Половина лабораторий, участвовавших в опросе, проявляют желание преодолеть существующие недостатки. Многие лаборатории уже используют РИ, полученные из качественных источников: качественно проведенных больших международных или национальных исследований. Треть лабораторий проявляет желание рассчитывать РИ непрямым способом (47 из 142 ответивших на вопрос), а некоторые из них уже самостоятельно производят расчет границ РИ (22 из 142 ответивших на вопрос), что актуализирует исследования не прямых методов определения РИ и их адаптацию для использования в широкой клинической практике.

3.2 Исследование расчетных границ референтных интервалов показателей ОАК

3.2.1. Исследование границ референтных интервалов показателей ОАК детей 0–3 дня жизни

Очевидно, что не прямые методы определения РИ актуальны у детей младшего возраста, и особенно у новорожденных, поскольку использование прямого метода у этой категории пациентов чрезвычайно затруднено. Вместе с тем для продвижения методов непрямого расчета в клиническую практику необходимо достаточно полное исследование их возможностей, зависимости их результативности от различных факторов и применимость для конкретных задач. Выполнена сравнительная оценка возможности использования четырех не прямых

методов при расчете границ РИ нескольких показателей общего анализа крови (ОАК) детей 0–3 дней жизни. Результаты непрямых методов определения границ РИ сравнивались с результатами апостериорного прямого метода расчета РИ.

Для расчета границ РИ лейкоцитов (WBC), эритроцитов (RBC), гемоглобина (HGB), тромбоцитов (PLT), непрямые методы использовались результаты исследования клинического анализа крови (ОАК) 1127 новорожденных первых трех дней жизни, из которых 809 были классифицированы как условно здоровые (не были переведены в другие отделения и были выписаны на 3 день после рождения), и 318 новорожденных, результаты исследования которых были классифицированы как патологические (находились в палате интенсивной терапии или не были выписаны на 3 день жизни без перевода в отдел патологии новорожденных) [5]. Для расчета границ РИ в соответствии с апостериорным прямым методом использовались данные 809 условно здоровых новорожденных той же БД.

Отдельно оценивались параметры распределения значений показателей ОАК в подгруппах новорожденных. Характеристики этих распределений представлены в Таблице 1. Вид нормальной и патологической составляющей представлены на гистограммах (рис. 1a-1d). По критерию Шапиро-Уилка распределение результатов лейкоцитов и эритроцитов у здоровых детей было не нормальным ($p < 0,05$, $p = 0,04$, соответственно), в отличие от распределений гемоглобина и тромбоцитов ($p = 0,65$, $p = 0,24$, соответственно). Выборки этих же показателей, включающие в себя обе подгруппы («нормальные» и «патологические» значения), по критерию Шапиро-Уилка и Д'Агостино распределены не нормально ($p < 0,05$), хотя по критерию Д'Агостино распределение тромбоцитов интерпретируется как нормальное ($p = 0,84$), о том же можно судить и по виду гистограммы, и по низкому коэффициенту асимметрии этого показателя. Общее распределение лейкоцитов скошено вправо (длинный хвост распределения расположен справа), остальные показатели – влево. Наиболее выраженная асимметрия наблюдается у гемоглобина (коэффициент асимметрии = 0,519), у остальных этот параметр ниже 0,5 и трактуется как

незначительная асимметрия. Обращает на себя внимание расположение патологической части результатов исследования тромбоцитов: она практически полностью находится внутри распределения, в отличие от распределения патологических результатов эритроцитов и гемоглобина с заметным смещением патологического распределения в сторону низких значений, или лейкоцитов, в патологическом распределении которых наблюдается как смещение влево, так и, в меньшей степени, высокие значения.

Таблица 1 - Характеристики выборок показателей ОАК детей 0–3 дня жизни: выборки здоровых (n=809) и патологические (n=318) выборки

Показатель	Выборка	Среднее	SD	Удаленность от Me в SD	Me	Q1-Q3	Min	Max	Скошенность	Асимметрия	Экспесс
WBC 10⁹/л	здоровые	20,7	6,07		20,1	16,1-24,7	6,7	47	Вправо	0,527	0,286
	патология	15,98		0,9	14,8	9-21,3	1,9	49,3	Вправо	0,852	0,904
	суммарная	19,38	7,2		19	14,6-23,9	1,9	49,3	Вправо	0,328	0,483
RBC 10¹²/л	здоровые	5,7	0,73		5,7	5,2-6,2	3,7	7,9	Влево	0,136	0,014
	патология	4,58		1,5	4,6	4,1-5,1	1,7	6,7	Влево	0,312	0,456
	суммарная	5,39	0,9		5,4	4,8-6,1	1,7	7,9	Влево	0,417	0,314
HGB г/л	здоровые	203	24,9		202	187-220	110	285	Влево	0,035	0,144
	патология	164,6		1,5	167	148-184	68	244	Влево	0,437	0,405
	суммарная	192,3	31,8		194	174,5-214	68	285	Влево	0,519	0,739
PLT 10⁹/л	здоровые	266	68,4		266	221-309	89	436	Влево	0,051	0,013
	патология	232		0,4	237	177-290	16	585	Вправо	0,125	0,495
	суммарная	256	74,2		260	210-304,5	16	585	Влево	0,043	0,311

Примечание. SD – стандартное отклонение, Me – медиана, Min – минимальное значение в выборке, Max – максимальное значение в выборке, Q1-Q3 – значения первого и третьего квартилей

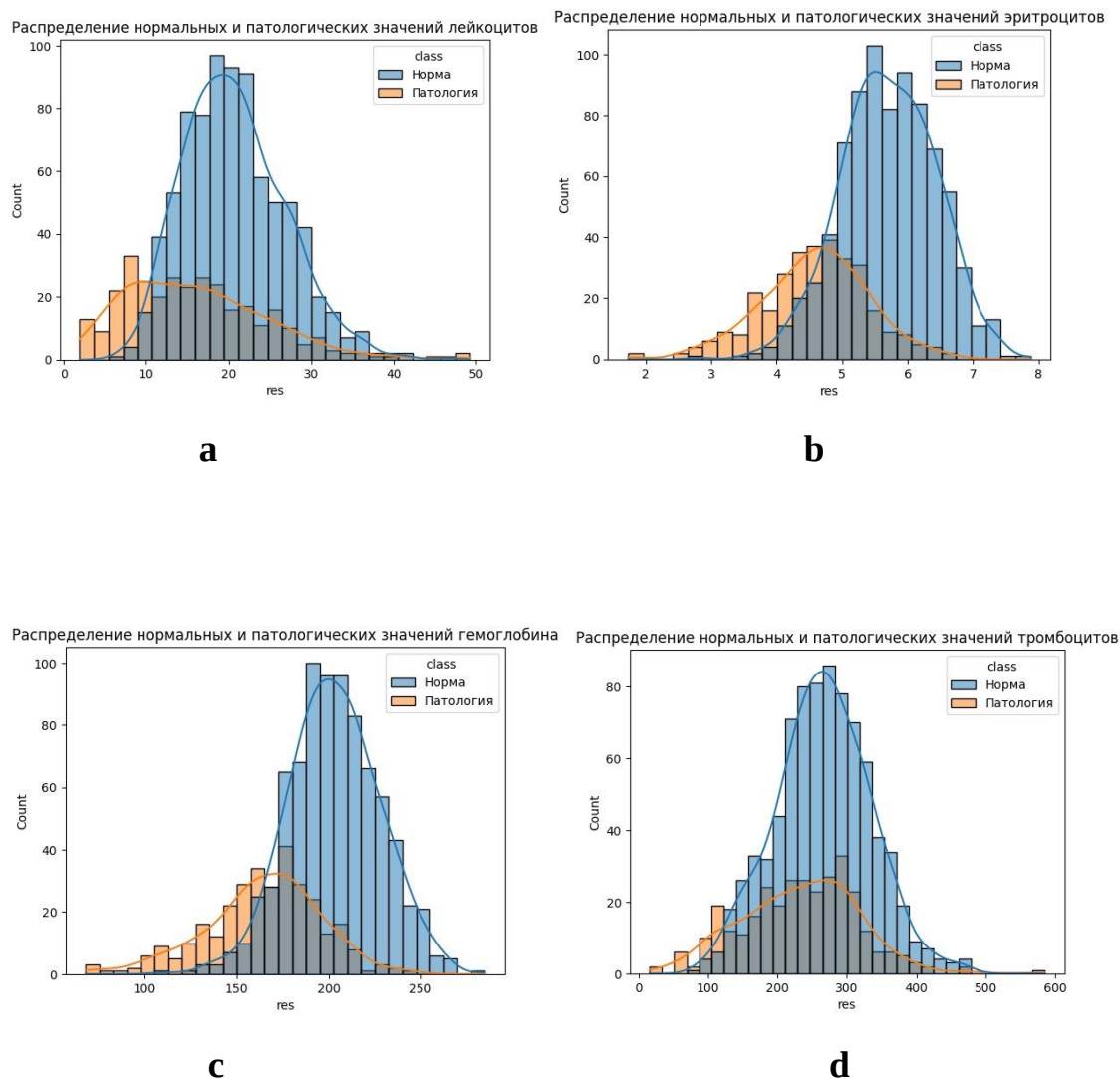


Рисунок 1. Разделение на нормальные и патологические части распределений результатов лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов. Голубым обозначена составляющая условно здоровых детей, оранжевым – патологическая.

Результат расчета границ РИ апостериорным прямым способом указан в Таблице 2. Процент патологических данных в БД Областного перинатального центра относительно рассчитанных прямым способом верхней и нижней границ РИ не превышал 12,6% (Таблица 2).

Значения границ РИ, полученные четырьмя непрямыми методами, и их сопоставимость с РИ, рассчитанными прямым способом: оценка в соответствии с критериями TE и pD представлена в Таблице 2 (здесь и далее - соответствие критерию TE_{орт} обозначено в таблице зеленым, TE_{des} желтым и TE_{min} красным,

соответствие критерию pD обозначено астерiskом) [89]. Для расчета границ РИ лейкоцитов лучшей методикой следует признать *kosmic*, приемлемой – *TMC*. Для эритроцитов единственным методом, соответствующим критериям, стал *refineR*. Нижняя граница РИ гемоглобина не была рассчитана ни одним методом, а верхняя – рассчитана всеми. Для тромбоцитов по самому строгому критерию были рассчитаны РИ методом *TMC*, по менее строгому – *kosmic* и *refineR*, в наименьшей степени – *Bhattacharya* (нижняя граница соответствовала TE_{min}). Методом *Bhattacharya* стал возможен расчет в основном верхних границ для рассчитываемых тестов.

Таблица 2 - Нижние и верхние границы РИ гематологических показателей, установленные различными непрямыми методами ($n=1127$) и результаты их сравнения со значениями РИ, определенными прямым методом с использованием критериев TE и pD у детей 0–3 дней жизни, рассчитанные из всей БД, содержащей нормальные и патологические значения

Параметры	WBC, 10 ⁹ /л		RBC, 10 ¹² /л		HGB, г/л		PLT, 10 ⁹ /л	
Методы определения РИ	Граница РИ							
	L	U	L	U	L	U	L	U
РИ, прямой способ	10,6	32,9	4,3	7,1	158	252	130	391
Кол-во патологических данных в БД**, %	10,6%	3,1%	10,6%	1,9%	12,6%	1,9%	5,5%	3,0%
TMC	8,6 (ДИ)	33,9*	3,75	7,1	141	251*	134*	395*
kosmic	11,2	33,8*	4,53*	6,32	146	251*	143	382*
Bhattacharya	6,1	35,7	3,5	7,5	135	255*	112	394*
refineR	8,38	33,9*	3,99* (ДИ)	6,85* (ДИ)	143	250*	140*	391*

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TE_{opt} , желтым TE_{des} , - красным - TE_{min} , * границы, соответствующие критерию pD ; (ДИ) - за счет ДИ, **количество данных, выходящих за пределы РИ (патологические данные)

Таким образом, при выборе одного метода непрямого расчета для лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов метод *refineR* оказался наилучшим для

данной выборки. При выборе методики для каждого теста по отдельности наилучшим образом себя показали kosmic для лейкоцитов, TMC для тромбоцитов и refineR для эритроцитов. Наилучшего способа для определения РИ гемоглобина выявить не удалось, так как нижняя граница РИ гемоглобина не соответствовала критерию оценки при расчете любым из методов, а верхняя – рассчитана всеми.

3.2.2. Влияние количества и положения патологических значений гематологических показателей на расчет референтных интервалов непрямими методами у детей 0–3 дней жизни

Доля патологических значений и их расположение относительно центра референтной выборки неизвестна. Была исследована возможность различных математических алгоритмов рассчитывать корректные границы РИ с содержанием определенной доли патологических значений путем добавления к данным здоровых пациентов патологических данных, в количестве 10—50% на различном расстоянии от медианы распределения результатов и в разной локации (к верхней, нижней границе РИ и с обеих сторон). Влияние предпринятой симуляции оценивалось относительно границ РИ, рассчитанных прямым способом, в соответствии с критерием pD и общей ошибкой ($\pm 1TE$). Ниже (Таблицы 3–12) представлены результаты проведения симуляции с добавлением патологических значений на разном удалении (1SD, 1,5 SD, 2SD) и в различном процентном соотношении (10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%) для показателей ОАК. На рисунке 2 представлен пример гистограммы распределения результатов при добавлении патологических значений.

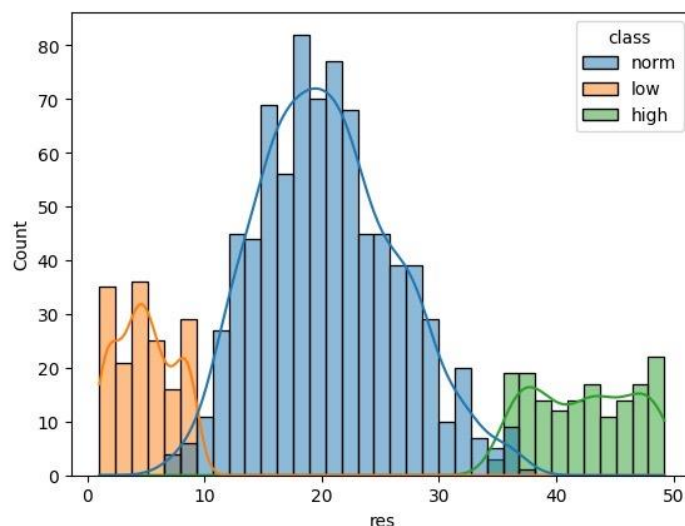


Рисунок 2. Симуляция патологических значений в размере 20% на расстоянии 2SD лейкоцитов на нижнем (отмечена оранжевым) и верхнем (отмечена зеленым) краях распределения результатов исследований референтной выборки.

Проведение симуляции и расчет РИ для лейкоцитов

Результаты проведенной симуляции представлены в Таблицах 3–5. При расположении патологического распределения на расстоянии 1SD все методы приемлемо рассчитывают РИ при содержании патологических значений до 40–50%, кроме refineR (на нижней границе для расчета допустим меньший процент патологии).

С удалением фракции патологических результатов от медианы распределения референтных лиц заметным становится ухудшение качества расчетов нижней границы РИ (при добавлении патологии только к нижней границе), При этом методом Bhattacharya возможно корректно рассчитать РИ при включении до 40% патологических результатов включительно, остальными методами – до 10-15% на расстоянии 1,5SD от медианы референтного распределения. На удалении от медианы на 2SD допустимая доля патологических значений сокращается до 15% Bhattacharya, 10% TMC и cosmic, 0% refineR.

При добавлении патологических результатов с обоих концов распределения и к верхнему, и с увеличением расстояния патологического распределения от центра – метод *kosmic* позволяет, в отличие от других, производить расчет до 20–30% патологии во всех случаях. При оценке возможности расчета и на верхней, и на нижней границах Метод *Bhattacharya* позволяет лучше рассчитать верхнюю границу РИ, чем *kosmic* во всех случаях на расстоянии 1 и 1,5 SD (30–50% патологии), но на 2SD расчет соответствует только *TEmin*, для 10% патологических значений.

Таблица 3 - Границы РИ лейкоцитов детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 1 SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	WBC, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 1SD							
	TMC		kosmic		Bhattacharya		refineR	
	L	U	L	U	L	U	L	U
10L	10,00*	34,30*	12,01	30,33*	8,70	32,60*	9,88*	31,40*
15L	8,90	32,98*	12,21	34,08*	9,70*	33,40*	9,37	33,50*
20L	8,90	33,30*	9,77*	33,82*	9,10	34,72*	8,68	30,80*
30L	9,50	33,10*	9,49	34,29*	8,92	30,90*	7,58	29,90
40L	10,16*	33,07*	8,46	33,54*	9,90*	32,20*	7,78	32,80*
50L	6,51	29,38	7,39	31,08*	9,09	30,50	7,75	32,60*
10H	10,00*	34,35*	9,81*	30,90*	9,40	32,03*	7,48	31,30*
15H	10,10*	34,30*	12,42	35,79	8,93	31,58	10,50*	31,80*
20H	10,60*	35,50	11,43*	31,57*	9,49	33,60*	10,90*	36,30
30H	10,40*	35,50	12,21	32,34*	9,90*	32,20*	11,90	33,80*
40H	11,00*	35,56	10,30*	32,39*	9,90*	32,20*	14,10	36,30
50H	10,29*	36,17	11,96	31,13*	10,25*	30,40	7,92	36,00
10LH	9,96*	33,89*	11,37*	30,23*	8,20	30,88*	10,00*	31,60*
15LH	9,40	34,20*	9,29	31,38*	9,85*	32,70*	10,00*	32,30*
20LH	9,88*	33,11*	9,49	30,36	9,49	33,60*	10,00*	32,70*
30LH	9,00	33,80*	12,26	35,94	8,65	31,02*	9,19	32,00*
40LH	8,99	35,31	9,82*	37,12	9,90*	32,20*	9,15	35,40
50LH	7,68	34,15*	13,18	33,28*	9,90*	32,20*	7,61	34,50*

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию *TEopt*, желтым *TEdes*, - красным – *TEmin*. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно; * - соответствие критерию *pD*

Таблица 4. Границы РИ лейкоцитов детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 1,5 SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	WBC, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 1,5SD							
	TMC		kosmic		Bhattacharya		refineR	
	L	U	L	U	L	U	L	U
10L	10,4*	33,1*	9,11	33,84*	9,75*	32,28*	8,95	33,80*
15L	9,7*	32,9*	8,14	33,96*	9,50	32,45*	9,19	31,00*
20L	8,3	32,9*	6,79	34,11*	9,15	32,70*	5,82	33,20*
30L	7,87	33,3*	8,04	35,40	8,88	32,90*	8,10	32,60*
40L	8,4	34,7*	7,99	36,79	8,54	33,09*	8,20	31,00*
50L	7,5	34,2*	7,38	35,84	7,80	33,30*	6,69	27,20
10H	10,5*	35,4*	10,71*	31,49*	9,76*	32,29*	7,51	31,10*
15H	11,5*	36,5	12,47	34,27*	9,52	32,46*	6,99	29,80
20H	10,8*	37,8	10,56*	29,90	9,18	32,70*	7,26	30,30
30H	10,7*	37,1	11,87*	37,66	8,92	32,89*	7,55	32,10*
40H	11,42*	39,4	11,53*	43,16	8,58	33,16*	7,45	32,10*
50H	10,7*	38,5	10,87*	41,08	8,48	30,00	11,70	34,10*
10LH	9,4	33,3*	9,53	30,21	9,69	32,34*	9,78*	35,20
15LH	9,8*	34,5*	9,84*	29,94	9,45	32,50*	9,27*	32,80*
20LH	9,8*	35,1	9,33	30,99*	9,10	32,76*	9,07*	36,00
30LH	8,8	35,9		31,00*	8,86	32,90*	8,37	33,70*
40LH	8,7	37,3	4,92	32,45*	8,12	33,40*	4,71	32,80*
50LH	9,4	36	8,29	40,58	7,60	31,50*	9,33*	35,80

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TEopt, желтым TEdes, - красным – TEmin. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно; * - соответствие критерию pD

Таблица 5 - Границы РИ лейкоцитов детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 2 SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	WBC, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 2SD							
	TMC		kosmic		Bhattacharya		refineR	
	L	U	L	U	L	U	L	U
10L	11,19*	34,63*	9,45	33,91*	8,57	29,6	8,21	30,1
15L	7,17	32,1*	6,49	31,27*	8,64	29,3	8,31	30
20L	5,52	32,2*	6,84	31,32*	7,59	30,15	6,38	29,4
30L	6,74	32*	8,07	31,79*	7,56	30,18	6,52	29,7
40L	9,58	32,79*	4,55	32,04*	7,44	30,27	6,08	29,9
50L	3,9	34,1*	n/a	n/a	7,27	30,36	2,94	26,8
10H	10,62*	35,96	11,36*	31,12*	8,61	29,6	8,34	30,4
15H	11,2*	39,8	10,64*	31,23*	8,67	29,6	10*	38,7
20H	11,1*	40,12	12,75	32,09*	7,65	30,14	7,76	30,1
30H	11,3*	42,2	9,73*	32,97*	7,62	30,2	9,62*	34,3*
40H	11,4*	43,5	10,86*	42,99	7,49	30,26	8,95	32,1*
50H	11,3*	43,7	10,78*	52,57	7,33	30,35	9,94*	37,8
10LH	7,42	32,35*	10,38*	31,84*	8,66	29,3	9,22	31,8*
15LH	8,6	34,8*	9,92*	30,05	7,74	30,1	8,26	31,6*
20LH	8,17	35,5	10,20*	30,78*	7,65	30,16	7,18	31,6*
30LH	7,9	36,6	11,42*	32,29*	7,58	30,22	6,26	36,1
40LH	5	35,6	5,50	32,66*	7,43	30,3	6,72	36,4
50LH	5,43	34,52*	6,60	32,30*	7,41	30,12	3,27	37,9

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TEopt, желтым TEdes, - красным – TEmin. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно; * - соответствие критерию pD

При симуляции распределения содержания лейкоцитов Критерий pD накладывает большие ограничения на добавление патологических данных. При наличии патологических данных на любом удалении до 10% включительно, TMC рассчитывает РИ при добавлении либо к верхней части распределения, либо к нижней. При одновременном добавлении на обе границы патологическое распределение не должно находиться дальше 1SD от центра распределения. kosmic также при наличии 10% патологических данных рассчитывает добавление патологии к верхней границе, а к обеим – только на 1 и 2 SD. Метод

refineR может рассчитать добавление патологических значений выборочно и только на 1 SD: 15% к верхней границе и 15-20% к обеим.

Если сравнивать результаты симуляции данных с расчетом РИ исходной БД детей 0-3 дня жизни, ($n=1127$), то в симуляционных исследованиях максимально подходящей выборкой станет выборка с расположением патологической фракции на расстоянии 1SD (Таблица 1), 10% патологических значений на нижней границе и 0 или 10% на верхней (Таблица 2). Данные выборки характерны схожим типом распределения (не нормальное), но отличаются коэффициентом асимметрии, от меньшего в выборке детей к большему в симуляциях количества исследований. Такое расположение патологической выборки, судя по данным симуляции (Таблицы 3–5), позволяет провести расчет РИ с достоверностью хотя бы в соответствии с минимальным критерием, кроме метода Bhattacharya.

Таким образом, для исследования границ РИ лейкоцитов наилучшими методами были Bhattacharya, TMC и kosmic – все с исключениями и ограничениями. Для ранее проведенного расчета РИ лейкоцитов из «реальной» БД без проведения симуляции, наилучшим методом был kosmic.

Проведение симуляции и расчет РИ для тромбоцитов

В отличие от других исследований, для тромбоцитов оценивалось добавление патологических данных только на расстоянии 1SD, так как «реальных» патологических значений, выходящих за рамки подобного распределения, в выборке не было.

На расстоянии 1SD добавление до 50 % патологических значений к нижней границе минимальным образом сказывается на расчетах всеми методами, с той разницей, что оценка расчетов методом Bhattacharya (с одним исключением для 30% патологических значений к нижней границе) и TMC соответствует самому жесткому критерию TEopt. Методом Bhattacharya, также, с одним исключением, был возможен расчет при добавлении патологических данных к верхней границе. В то же время, при расчете другими методами нижняя граница РИ не соответствовала критериям, а верхняя - только менее

строгим критериям. При добавлении патологических значений одновременно к верхней и нижней части распределения, *kosmic*, ТМС и *refineR* рассчитали границы РИ. Примечательно, что, в диапазон рассчитанного ТМС ДИ границ РИ входят значения, соответствующие более жесткому критерию ТЕорт. Следовательно, метод *Bhattacharya* возможно использовать при всех вариантах добавления патологических значений по отдельности к верхней и нижней границам РИ и одновременного к двум границам РИ до 15% включительно, при этом почти все расчеты соответствуют критериям ТЕорт и рD. Принимая во внимание расчеты ДИ, аналогичное заключение можно сделать в отношении метода ТМС - РИ соответствуют критериям (кроме добавления 30–50% патологических значений на верхней границе РИ). По критерию рD метод ТМС позволяет расчеты при добавлении патологии к нижней границе до 50%, а к обеим – до 15% включительно. *refineR* по критерию рD позволяет рассчитать результат добавления к нижней границе от 15 до 50%.

Сравнивать результаты симуляции с расчетом РИ всей БД ($n=1127$) для тромбоцитов затруднительно, так как в выборке присутствует менее 10% патологических значений на обеих границах РИ и патологическая фракция

удалена на меньшее расстояние ($0,4SD$, Таблица 1). Однако, сравнение с ближайшей симулированной выборкой с патологией 10% (10LH) на расстоянии $1SD$ выделяет ТМС как наилучший метод расчета (при симуляции близость к результатам прямого расчета также показал *kosmic*). Таким образом, для исследования границ РИ тромбоцитов наилучшими методами были *Bhattacharya* и ТМС – все с исключениями и ограничениями (Таблица 6). Для расчета исходной БД наилучшим методом был ТМС.

Таблица 6 - Границы РИ тромбоцитов детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 1SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	PLT, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 1SD							
	kosmic		Bhattacharya		TMC		refineR	
	L	U	L	U	L	U	L	U
10L	127*	384*	125*	386*	125*	399*	118	394*
15L	134*	397*	127*	394*	125*	398*	122*	395*
20L	134*	404*	129*	385*	126*	400*	126*	395*
30L	139*	417	123*	393*	127*	402*	126*	369*
40L	144	386*	130*	379*	132*	401*	130*	372*
50L	130*	342	125*	394*	130*	404*	130*	370*
10H	169	423	128*	399*	158(ДИ)	420(ДИ)	151	414
15H	164	421*	126*	392*	141(ДИ)	413(ДИ)	164	424*
20H	165	432	130*	394*	154(ДИ)	421(ДИ)	164	424
30H	169	431	130*	398*	177	441(ДИ)	166	436
40H	167	433	124*	391*	179	448(ДИ)	167	443
50H	167	435	121*	402*	176	448	168	445
10LH	133*	394*	154	246	125*	403*	143	409*
15LH	142	412*	154	241	125*	403*	143	409*
20LH	137*	414*	130*	398*	145(ДИ)	418(ДИ)	123*	411*
30LH	134*	407*	132*	382*	123(ДИ)*	399*	129*	419
40LH	138*	430	123*	392*	139(ДИ)*	424(ДИ)	144	425
50LH	142	450	122*	424	137*	439(ДИ)	132*	429

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TE_{opt}, желтым TE_{des}, - красным – TE_{min}. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно. (ДИ) – соответствие критерию ТЕ с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию рD.

Проведение симуляции и расчет РИ для гемоглобина

Корректный расчет РИ при добавлении патологических значений к верхней границе распределения возможен в соответствии с критериями TE_{des}, и рD преимущественно методами Bhattacharya и refineR (Таблицы 7–9). Для refineR по критерию ТЕ с перемещением патологических данных от 1 до 2 SD улучшается качество расчета РИ, в отличие от Bhattacharya (по обоим критериям). У последнего количество расчетов, не прошедших критерий на нижней границе РИ, увеличивается с увеличением расстояния патологического распределения от центра распределения.

Таблица 7 - Границы РИ гемоглобина детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 1SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	HGB, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 1SD							
	kosmic		Bhattacharya		refineR		TMC	
	L	U	L	U	L	U	L	U
10L	155,4	254,7	151,8	256,1	154,0	248,0	154,7 (ДИ)	256,7
15L	153,7	256,1	151,6	251,6	151,0	253,0	152,5 (ДИ)	260,8 (ДИ)
20L	150,1	253,7	153,6	253,1	151,0	259,0	150,7 (ДИ)	260,6 (ДИ)
30L	150,4	245,9	152,9	248,2	151,0	261,0	148,7 (ДИ)	258,6 (ДИ)
40L	146,4	248,2	149,3	258,7	148,0	259,0	145,3 (ДИ)	256,3
50L	148,4	252,4	149,2	247,1	147,0	257,0	141,4	249,1
10H	159,3	251,9	154,9	256,0	160,0	263,0	157,8	275,5
15H	159,4	252,0	152,6	252,1	160,0	263,0	158,0	280,1
20H	160,4	257,8	154,1	248,2	160,0	262,0	157,9	281,9
30H	155,7	294,6	151,4	254,1	160,0	261,0	158,1	273,9 (ДИ)
40H	153,2	315,6	148,9	262,4	152,0	263,0	159,0	297,9
50H	180,9	283,5	153,7	258,9	208,0	278,0	194,3	286,3
10LH	156,8	255,1	147,2	250,2	157,0	256,0	155,9	265,0 (ДИ)
15LH	157,0	257,9	147,1	250,6	157,0	260,0	155,1	272,3 (ДИ)
20LH	154,3	251,3	147,1	250,6	156,0	262,0	154,6 (ДИ)	271,6 (ДИ)
30LH	148,6	249,4	150,7	259,7	152,0	263,0	152,6 (ДИ)	274,1 (ДИ)
40LH	150,3	255,5	149,1	249,5	150,0	262,0	150,9 (ДИ)	276,0
50LH	150,4	249,6	147,2	250,2	150,0	262,0	150,3 (ДИ)	267,7 (ДИ)

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TE_{opt}, желтым TE_{des}, - красным – TE_{min}. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно. (ДИ) – соответствие критерию ТЕ с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию pD.

Таблица 8 - Границы РИ гемоглобина детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 1,5SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	HGB, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 1,5SD							
	kosmic		Bhattacharya		refineR		TMC	
	L	U	L	U	L	U	L	U
10L	155,2	253,0	151,9	259,6	147,0	245,0	147,7 (ДИ)	253,9
15L	150,1	251,9	146,1	257,7	147,0	252,0	154,7 (ДИ)	261,2 (ДИ)
20L	152,8	252,9	149,2	255,2	137,0	250,0	146,4 (ДИ)	258,5 (ДИ)
30L	141,3	254,3	147,9	250,3	130,0	257,0	140,5	257,2 (ДИ)
40L	138,6	253,9	150,0	259,2	126,0	256,0	130,6	256,6
50L	139,6	250,5	143,9	261,8	120,0	255,0	131,8	255,0
10H	159,3	251,9	154,2	256,6	160,0	262,0	157,8	274,6
15H	159,4	252,0	152,1	259,5	160,0	261,0	157,7	279,6
20H	160,4	257,8	146,3	261,9	160,0	257,0	157,6	284,5
30H	159,1	272,8	151,1	259,2	160,0	260,0	158,1	270,7 (ДИ)
40H	154,8	317,8	150,4	259,8	160,0	258,0	157,7	265,8 (ДИ)
50H	151,9	319,2	149,3	260,8	120,0	255,0	158,8	309,8
10LH	159,6	251,8	147,2	250,2	154,0	251,0	158,8	309,8
15LH	153,7	247,1	147,2	250,2	150,0	253,0	151,1 (ДИ)	271,6 (ДИ)
20LH	151,8	251,8	147,2	250,2	147,0	254,0	149,3 (ДИ)	274,0
30LH	149,2	251,4	146,2	250,8	153,0	265,0	144,7 (ДИ)	278,9
40LH	144,5	253,5	144,3	258,0	134,0	254,0	148,6 (ДИ)	283,0
50LH	148,1	249,1	142,9	253,9	132,0	253,0	138,3	287,9

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TE_{opt}, желтым TE_{des}, - красным – TE_{min}. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно. (ДИ) – соответствие критерию TE с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию pD.

Таблица 9 - Границы РИ гемоглобина детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 2SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	HGB, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 2SD							
	kosmic		Bhattacharya		refineR		TMC	TMC
	L	U	L	U	L	U	L	U
10L	157,3	250,6	145,7	262,6	158,0	255,0	159,4	261,3 (ДИ)
15L	160,3	252,4	144,9	263,3	158,0	255,0	156,9	259,2 (ДИ)
20L	160,5	253,1	142,8	265,0	158,0	255,0	152,6 (ДИ)	257,1 (ДИ)
30L	159,9	246,8	153,2	255,9	159,0	265,0	147,8 (ДИ)	257,9 (ДИ)
40L	158,0	242,7	147,0	264,0	159,0	264,0	147,9 (ДИ)	257,9 (ДИ)
50L	133,2	259,9	154,8	244,5	159,0	263,0	97,1	270,6 (ДИ)
10H	159,0	251,1	146,0	262,4	160,0	257,0	157,8	271,9 (ДИ)
15H	159,3	251,9	144,1	264,0	160,0	260,0	157,7	273,6 (ДИ)
20H	160,1	259,1	143,1	264,9	160,0	261,0	157,6	275,9
30H	159,2	266,4	151,9	253,0	160,0	261,0	157,6	280,9
40H	156,1	288,3	154,7	244,6	160,0	261,0	158,2	266,5 (ДИ)
50H	149,6	380,3	148,9	263,0	159,0	252,0	157,6	295,8
10LH	157,4	250,5	142,9	253,9	160,0	254,0	158,3	270,9 (ДИ)
15LH	158,1	251,4	142,9	253,9	159,0	256,0	157,2	276,3
20LH	158,6	251,7	153,0	256,2	159,0	259,0	156,8	280,0
30LH	157,1	250,4	144,5	255,1	160,0	261,0	151,6 (ДИ)	292,9
40LH	158,0	251,0	155,2	252,5	159,0	263,0	152,3 (ДИ)	292,8
50LH	158,0	251,0	156,6	249,0	160,0	260,0	154,1 (ДИ)	282,0

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TE_{ort}, желтым TE_{des}, - красным – TE_{min}. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно. (ДИ) – соответствие критерию TE с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию pD.

В целом, для обоих методов расчет нижней границы РИ соответствует только критерию TE_{min} или не проходит и его на расстоянии 1, 1,5 и 2SD, однако на расстоянии 2SD расчет методом refineR соответствует самому

строгую критерию TE_{opt} при добавлении патологических значений до 50% на нижней границе и 20% на верхней включительно. Метод kosmic позволяет более стабильно рассчитать РИ на обеих границах, но при небольшом добавленном проценте патологических значений (до 20% включительно), обе границы РИ при применении более строгих критериев оценки РИ (TE_{opt} и pD).

Добавление к нижней границе РИ патологических значений недостаточно распознается алгоритмами для расчета на нижней границе: от соответствия только по минимальному критерию TE_{min} на расстоянии 1SD до отсутствия соответствия любому критерию на 1,5SD для нижней границы РИ для методов Bhattacharya и refineR (kosmic и TMC позволяли выполнить соответствующий хотя бы минимальному критерию TE_{min} расчет до 30%). На расстоянии патологической выборки 2SD некоторые алгоритмы (кроме Bhattacharya) лучше выделяют патологическую составляющую и определяют РИ при наличии до 20-40-50% (TMC, kosmic, refineR, соответственно). Метод TMC работает до 30–50% в зависимости от удаленности патологии, но только с учетом ДИ. По критерию pD как более эффективные можно выделить kosmic и refineR: второй метод лучше (до 50% добавления патологии к обоим концам распределения) определяет границы РИ при расположении патологической выборки, близкой к середине распределения (1SD). В то же время kosmic результативнее при более дальнем расположении от центра добавленных патологических результатов (1,5 SD). Оба хорошо разделяют патологическую и нормальную часть распределения на расстоянии 2SD. Авторы методов kosmic и refineR проводили исследование возможности расчета РИ для гемоглобина при различном содержании патологических данных с помощью симуляции данных [100, 13]. Согласно данным авторов, метод kosmic в худшем случае расположения патологических данных (когда пик патологического распределения находится на границе РИ) рассчитывает границы РИ на уровне TE_{opt} или TE_{des} в объеме до 10% включительно, в лучшем случае (другое расположение пика патологического распределения) - 20–30%. Такой же принцип сохраняется и для refineR, но с большими ограничениями по сравнению с kosmic: до 5% на уровне TE_{opt} в

случае расположения данных над границей РИ. В нашем исследовании результат расчета РИ гемоглобина детей при расположении патологических данных на расстоянии центра распределения патологических данных 2SD, соответствующий пику распределения патологии над границами РИ, при расчете методом *kosmic* позволил рассчитать РИ при 40-50% патологии на нижней или обеих границах, а методом *refineR* - 20-30%, что, с одной стороны, подтверждает приемлемость расчета этими методами, а с другой – большую приемлемость расчета методом *kosmic* в случае расчета РИ для гемоглобина. Таким образом, в случае расположения пика патологических данных над границами РИ, метод *kosmic* обладает преимуществом. На меньшем или большем расстояниях патологического распределения от центра нормальной части распределения (1SD, 2SD) метод *kosmic* также рассчитывает при большем процентном соотношении, как по данным авторов методик расчета (20-30% для каждой стороны границы РИ при расчете *kosmic* и 15-20% при расчете *refineR*), так и в нашем исследовании (15-20% *kosmic* и 10-15% *refineR* на 1SD, и 40-50% *kosmic* и 20-30% *refineR* при добавлении патологии к нижней границе и к обеим границам РИ на 2SD).

При одновременном добавлении значений к верхней и нижней границам РИ до 50% доли патологии наиболее эффективен расчет методом *kosmic* как соответствующий наиболее точным критериям (исключение: до 40% на уровне 1,5SD).

Полученные данные показывают, что на максимальном расстоянии патологического распределения (2SD), в объеме до 50%, *kosmic* и *refineR* достаточно хорошо определяют РИ. При любом расположении патологического распределения и его умеренном количестве (до 30%), наилучшим выбором для расчета является *kosmic*.

Аналогичная картина наблюдается с учетом критерия *pD*: *kosmic* служит наиболее подходящим методом для любых вариантов расположения патологического распределения с содержанием до 20% в положении 1 и 1,5 SD и до 50% включительно в положении 2SD.

Моделирование вероятной ситуации присутствия патологических значений на нижней границе РИ показало, что определение РИ возможно по критерию rD методом ТМС, до 20% патологических значений включительно при любом удалении фракции патологических значений.

По результатам симуляции патологических значений возможно предположить, что РИ из исходной БД будут рассчитаны методами ТМС, *kosmic* и *Bhattacharya* (самое близкое сравнение: удаленность патологической фракции на расстоянии 1,5 SD (Таблица 1) и около 10% патологических значений на нижней границе и 0% на верхней (максимальное значение патологической выборки менее максимального значения выборки здоровых). Однако, нижние границы расчета исходной БД не соответствовали никаким критериям, что может объясняться либо сложностями в определении РИ на расстоянии 1,5 SD относительно 1SD и 2SD (Таблицы 7–9), либо не точному соответствию процентного соотношения патологических значений.

Таким образом, для определения границ РИ гемоглобина наилучшим методом был *kosmic*, с помощью которого качество расчета позволяет рассчитать РИ в присутствии до 30% патологических значений. Для всей БД расчет РИ в соответствии с критериями был возможен только на верхней границе для любого способа и невозможен на нижней.

Проведение симуляции и расчет РИ для эритроцитов

Результаты этой части исследования представлены в Таблицах 10 -12. Поскольку количество целых чисел выборки содержания эритроцитов мало, это не дало возможности распределения выборки по группам (ячейкам) и сделало невозможным расчет методом ТМС (метод использует целые числа для расчета). О результативности расчета методом *Bhattacharya* сложно сделать какие-либо выводы, так как при различном процентном содержании патологии в выборке и на разных расстояниях метод ведет себя разнообразно и не удастся выявить какой-либо закономерности с использованием обоих критериев оценки качества расчета РИ. При наиболее вероятном расположении патологических значений – у нижней границы РИ или одновременно на двух границах - метод *kosmic*

позволяет рассчитать границы РИ: на небольшом расстоянии от середины выборки (1SD) - до 20% патологических значений (с одним исключением); на среднем расстоянии (1,5SD) - до 30–40% патологических значений; на дальнем расстоянии (2SD) – до 40-50% патологических значений. При использовании критерия приемлемости результата pD соответственно до 10% на 1 SD до 30% на 1,5 и 2 SD. При том же расположении патологических значений качество расчетов методом refineR по критерию TE улучшается с удалением патологической выборки от середины распределения: на расстоянии 2SD возможно рассчитать РИ при наличии до 30-50% патологических результатов, на расстоянии 1,5SD интерпретация затруднена, а на 1SD возможен расчет с патологией только на нижней границе РИ (до 20% включительно) или до 10% на обеих границах. По критерию pD расчет возможен при патологии до 10–15%.

Если сравнить результаты симуляции с расчетом РИ всей БД ($n=1127$): удаление патологической фракции на расстоянии 1,5 SD и около 10% патологических значений на нижней границе и 0% на верхней (Таблица 1), можно отметить, что наилучшим способом расчета в данном случае оказался refineR.

Таким образом, для установления границ РИ эритроцитов наилучшими методами при наличии патологических результатов были у нижней границы РИ или одновременно у нижних и верхних границ были kosmic и refineR. Причем с отдалением патологической выборки от 1 к 2 SD результаты расчетов улучшались, но с несколько большим количеством исключений для refineR. Для расчета всей БД наилучшим методом был, наоборот, refineR.

Таблица 10 - Границы РИ эритроцитов детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 1SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	RBC, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 1SD					
	kosmic		Bhattacharya		refineR	
	L	U	L	U	L	U
10L	4,17*	6,92*	3,95	6,90*	4,20*	6,90*
15L	4,04	7,29*	3,86	7,00*	4,19*	6,88*
20L	4,00	7,24*	3,80	7,50	4,02	6,93*
30L	3,42	7,40*	4,00	7,20*	3,72	6,68
40L	3,60	7,84	4,00	7,10*	3,75	6,30
50L	3,66	6,83*	4,10*	7,00*	3,70	5,93
10H	4,45*	7,30*	3,90	7,30*	4,49*	7,14*
15H	4,37*	7,66	3,90	7,20*	4,49*	7,06
20H	4,31*	7,92	4,20	7,10*	4,48*	7,11
30H	4,17*	7,99	4,00	7,20*	4,47*	7,13
40H	5,02	7,76	4,10*	7,20*	5,74	7,57
50H	5,15	7,84	4,20*	7,20*	5,84	7,57
10LH	4,31*	7,43	3,89	7,67	4,05	6,94
15LH	4,28*	7,56	3,93	7,53	3,96	7,07
20LH	4,11*	7,46	3,67	7,68	3,99	7,17
30LH	3,97	7,94	3,93	7,53	3,92	7,53
40LH	3,95	8,11	3,92	7,54	3,84	7,46
50LH	4,16*	8,03	3,90	7,55	3,76	7,27

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TE_{opt}, желтым TE_{des}, - красным – TE_{min}. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно. (ДИ) – соответствие критерию ТЕ с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию рD; расчет методом ТМС невозможен

Таблица 11 - Границы РИ эритроцитов детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 1,5SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	RBC, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 1,5SD					
	kosmic		Bhattacharya		refineR	
	L	U	L	U	L	U
10L	4,35*	6,93*	4,09*	7,39*	4,37	7,30*
15L	4,37*	7,02*	3,93	7,52	3,97	7,04*
20L	4,37*	6,92*	3,99	7,20*	4,13	6,86*
30L	4,27*	6,84*	3,99	7,20*	3,99	6,79*
40L	4,35*	6,42	3,93	7,30*	4,10	6,87*
50L	4,52	6,30	4,05	7,39*	3,53	6,82*
10H	4,43*	7,23*	3,93	7,50	4,37	7,60
15H	4,36*	7,74	4,15*	7,49	4,37	7,60
20H	4,23*	7,49	4,00	7,22*	4,37	7,60
30H	4,33*	7,56	3,90	7,38*	4,37	7,60
40H	4,25*	8,30	3,90	7,46	4,36	7,50
50H	4,07	8,77	3,93	7,42	5,66	8,21
10LH	4,41*	7,26*	4,10*	7,33*	4,13	7,35*
15LH	4,35*	7,51	4,21*	7,28*	4,25	7,56
20LH	4,35*	7,46	3,87	7,65	4,03	7,15*
30LH	4,27*	7,50	4,26*	7,46	4,20	7,39*
40LH	4,23*	7,54	3,93	7,47	3,97	7,42
50LH	4,17*	7,60	4,15*	7,64	3,88	7,40*

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TE_{opt}, желтым TE_{des}, - красным – TE_{min}. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно. (ДИ) – соответствие критерию ТЕ с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию рD; расчет методом ТМС невозможен

Таблица 12 - Границы РИ эритроцитов детей 0–3 дней жизни, рассчитанные после проведения симуляции на расстоянии 2SD от медианы распределения

Процент добавленных патологических значений	RBC, рассчитанные границы РИ, симуляция патологии на расстоянии 2SD					
	kosmic		Bhattacharya		refineR	
	L	U	L	U	L	U
10L	4,41*	7,04*	4,14*	7,48	4,30*	6,84*
15L	4,38*	6,99*	4,12*	7,59	4,13*	6,74
20L	4,31*	7,09*	3,89	7,59	4,08	6,87*
30L	4,51*	7,32*	3,85	7,61	4,01	6,89*
40L	4,10*	6,60	3,82	7,63	3,81	6,81*
50L	4,01	7,03*	3,79	7,65	3,87	6,86*
10H	4,43*	7,48	4,15*	7,50	4,37*	7,43
15H	4,20*	7,29*	3,91	7,60	4,34*	7,35*
20H	4,21*	7,28*	3,87	7,61	4,35*	7,40*
30H	4,25*	7,07*	3,86	7,63	4,33*	7,35*
40H	4,53	7,35*	3,80	7,70	4,45*	7,45
50H	4,35*	8,27	4,01	7,67	n/a	n/a
10LH	4,40*	7,18*	4,15*	7,60	4,38*	7,31*
15LH	4,35*	7,52	3,84	7,66	4,40*	7,45
20LH	4,33*	7,52	3,84	7,66	4,36*	7,53
30LH	4,27*	7,54	3,71	7,72	4,29*	7,43
40LH	4,15*	7,44	4,15*	7,69	4,21*	7,47
50LH	4,12*	7,49	3,87	7,43	4,20*	7,52

Примечание. L-нижняя граница РИ, U-верхняя граница РИ. Зеленым отмечены границы РИ, соответствующие критерию TE_{opt}, желтым TE_{des}, - красным – TE_{min}. 10L и т.д., 10H и т.д., 10LH и т.д. – прибавление 10% патологических значений границам РИ и к нижней и верхней границам одновременно, соответственно. (ДИ) – соответствие критерию ТЕ с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию pD; n/a – расчет невозможен; расчет методом ТМС невозможен

Полученные данные говорят о том, что при использовании не прямых методов расчета РИ необходимо учитывать зависимость возможностей методов от различных факторов, таких как допустимый процент и расположение патологических данных в БД.

3.2.3. Расчет границ РИ основных показателей ОАК для взрослых с помощью не прямых методов

Оценив возможности не прямых методов расчета РИ у новорожденных, в значительной степени уникальной группы пациентов, представляется важным сравнить полученные результаты с таковыми у взрослых. В литературе доступна информация о возможности расчета границ РИ гемоглобина для взрослых лиц лишь двумя из четырех исследуемых в нашей работе не прямых методов [13, 100]. Кроме того, следует учитывать отличие границ РИ некоторых аналитов компонентов ОАК у детей и у взрослых.

Было проведено определение границ РИ не прямыми методами для взрослых мужчин и женщин в возрасте от 21 до 78 лет. Границы РИ установлены четырьмя не прямыми методами для лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов на основе БД, содержащей 198077 результатов исследований (75489 мужчин, 122588 женщин). Проведено исследование влияния параметров различных распределений (асимметрия, эксцесс, коэффициент вариации) на результат расчета РИ.

Таблица 13. Характеристики выборок показателей ОАК для взрослых мужчин (n=75489) и женщин (n=122588)

Параметр	Пол	Среднее	SD	Медиана	Q1-Q3	min	max	Скошенность	Асимметрия	Эксцесс
WBC	Ж	6,55	2	6,2	5,2-7,6	0,3	90,3	вправо	34	4945
	М	6,84	2,2	6,5	5,5-7,8	0,9	126,9	вправо	6,612	235,2
RBC	Ж	4,45	0,37	4,4	4,2-4,7	0,5	8	влево	0,029	1,596
	М	5,09	0,41	5,1	4,9-5,4	1,5	7,5	влево	0,506	3,146
HGB	Ж	131,5	11,3	132	125-139	16	197	влево	0,737	2,555
	М	153	11,3	154	147-160	44	210	влево	0,994	5,145
PLT	Ж	252,4	59,2	247	214-285	7	1480	вправо	1,178	8,8
	М	271,8	64,6	266	229-308	7	1897	вправо	1,009	7,145

Характеристики выборок показателей ОАК представлены в Таблице 13. Все распределения этих показателей не являются нормальными (Критерий Шапиро-Уилка $<0,05$) даже в случае удаления выбросов по Тьюки из

распределения. По данным литературы [6], эти показатели также не имеют нормального распределения, кроме эритроцитов у лиц мужского пола. Действительно, коэффициент асимметрии для распределения эритроцитов (в данном случае, и мужчин, и женщин), был минимальным среди остальных распределений, но в случае с распределением мужской части популяции, уже значимым – более 0,5. Распределение лейкоцитов, как и распределение у детей 0–3 дней жизни, скошено вправо, а эритроцитов и гемоглобина влево. Отличие формы этих двух выборок наблюдается в распределении тромбоцитов. В случае со взрослыми оно скошено вправо.

Результаты расчета сравнивались с опубликованными результатами ретроспективного прямого определения для российской популяции показателей ОАК условно здоровых мужчин и женщин 21–78 лет, на анализаторе того же производителя (Sysmex, Япония) [6]. Результаты определения РИ прямыми и непрямыми методами у взрослых, а также мера их сопоставимости представлены в Таблице 14. Значения TEopt и TEdes составляли: для гемоглобина 2% и 3,9%; эритроцитов 2,1% и 4,2%; лейкоцитов 7,1% и 14,3%; тромбоцитов 5,2% и 10,5%, соответственно нижней и верхней границ. Значения pD для нижней и верхней границ для мужчин составляли: для гемоглобина 6,7% и 6,4%; эритроцитов 7,1% и 6,6%; лейкоцитов 14,9% и 12,1%; тромбоцитов 13% и 11%, соответственно. Для женщин: для гемоглобина 7,4% и 6,9%; эритроцитов 7,4% и 7,0%; лейкоцитов 16,5% и 12,8%; тромбоцитов 13,6% и 11,4%, соответственно.

Таблица 14 - Результат расчета границ РИ показателей ОАК с помощью непрямых методов для взрослых лиц (мужчин, n=75489 и женщин, n=122588)

Параметр	Метод	Мужчины		Женщины	
		L	U	L	U
HGB, г/л	Прямой метод	132	172	112	153
	kosmic	136,3*	171,5*	115,2*	149,4*
	TMC	135,6*	172,4*	114,8* (ДИ)	150,8*
	ДИ TMC	135,4-135,8	172,2-172,6	114,6-114,9	150,7-151
	refineR	135*	173*	117 (ДИ)	152*
	ДИ refineR	135-137	172-173	114-117	151-152
	Bhattacharya	135*	174*	113*	156*
RBC, 10 ¹² /л	Прямой метод	4,23	5,72	3,8	5,15
	kosmic	4,4*	5,8*	3,82*	5,14*
	TMC	4,4*	5,81*	3,81*	5,13*
	ДИ TMC	4,39-4,41	5,79-5,81	3,8-3,81	5,13-5,14
	refineR	4,4*	5,84*	3,8*	5,13*
	ДИ refineR	4,38-4,45	5,8-5,85	3,79-3,83	5,11-5,17
	Bhattacharya	4,32*	5,85*	3,8*	5,75
WBC, 10 ⁹ /л	Прямой метод	3,9	10,9	3,4	10,8
	kosmic	3,9*	10,3*	3,63*	10,01
	TMC	3,95*	10,37*	3,65* (ДИ)	10,33*
	ДИ TMC	3,93-3,97	10,32-10,43	3,63-3,66	10,29-10,38
	refineR	3,95*	10,3*	3,66* (ДИ)	10,2*
	ДИ refineR	3,91-3,97	10,1-10,5	3,63-3,67	9,91-10,4
	Bhattacharya	3,7*	5,6	3,2*	7,5
PLT, 10 ⁹ /л	Прямой метод	148	339	152	372
	kosmic	151,7*	334,3*	165,3	384,1*
	TMC	165,3	371,7	166,1	386*
	ДИ TMC	164,6-166	370,2-373,3	165,4-166,8	384,9-387,1
	refineR	162	367	174	405
	ДИ refineR	159-165	363-373	169-176	394-409
	Bhattacharya	156*	342*	150*	383*

Примечание. Сравнение результата расчета границ РИ относительно установленных границ ретроспективным прямым методом с помощью критерия TEopt (выделено зеленым), TE_{des} (выделено желтым). L-нижняя граница РИ; U-верхняя граница РИ. ДИ TMC – доверительные интервалы границ РИ, рассчитанные методом TMC; ДИ refineR доверительные интервалы границ РИ, рассчитанные методом refineR; (ДИ) – соответствие критерию ТЕ с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию pD

По критерию TEdes расчет всеми непрямыми методами гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов схож с результатами определения РИ прямым методом. При этом значения ДИ методов TMC и refineR очень малы, что свидетельствует о соответствии одному из критериев оценки РИ. Некоторое различие в сравнении с прямым методом по TEopt возможно объяснить небольшой разницей в популяции, например распределении возрастов (в соответствии с точечным критерием Фишера для оценки долей, $p < 0,05$), а также выполнением на анализаторах разной серии (*Sysmex XN*, и *Sysmex XT-2000i*). Однако, результаты расчета гемоглобина и эритроцитов всеми методами соответствовали критерию pD, кроме Bhattacharya в случае с эритроцитами, расчеты лейкоцитов - методами TMC и refineR.

Расчет РИ границ тромбоцитов лучше всего был выполнен двумя методами: cosmic и Bhattacharya. При расчете непрямыми методами были получены чаще более высокие и верхние, и нижние границы РИ. Похожие значения, особенно для женщин, приводятся в публикации авт. J.Pekelharing, 2010г. ($166\text{--}308 \cdot 10^9/\text{л}$ для мужчин и $173\text{--}390 \cdot 10^9/\text{л}$ для женщин) [85].

Таким образом, при расчете на большой выборке данных определенные методы позволяют рассчитать корректные границы РИ за некоторыми исключениями, представленными в Таблице 14 (метод Bhattacharya в случае с расчетом эритроцитов и лейкоцитов, и метод refineR в случае с расчетом границ РИ тромбоцитов женщин). Для расчета гемоглобина можно выделить refineR и Bhattacharya, границы РИ для эритроцитов и лейкоцитов с одинаковой степенью качества рассчитали все методы, кроме Bhatt, который, в свою очередь, лучше всего справился с расчетом РИ тромбоцитов (чуть хуже - cosmic).

Следует отметить, что процентное соотношение патологических значений в выборках для расчета у взрослых и детей практически не отличалось – соответственно 5–7% и 8–12% (Таблицы 2 и 15). Вместе с тем объем выборки у взрослых значительно больше. Поточковые исследования ОАК позволяют в короткие сроки собрать большое количество данных для успешного расчета в то

время, как расчет РИ по результатам исследований для более редкого контингента приходится производить зачастую для меньшего объема данных.

В связи с этим полученные данные позволяют предположить, что ограничения в расчете, которые были обнаружены для расчета границ РИ у детей, такие, как некорректный расчет нижней границы РИ гемоглобина, больше связаны с объемом выборки значений, а не столько с особенностями контингента обследованных. Проверке этого предположения посвящен следующий фрагмент исследования.

Таблица 15 - Количество патологических значений в выборке взрослых лиц

Показатели, процент патологии	Мужчины (n = 75489)			Женщины (n=122588)		
	На нижней границе	На верхней границе	Всего	На нижней границе	На верхней границе	Всего
HGB, %	2,7	3,0	5,7	4,4	2,1	6,5
RBC, %	2,0	5,3	7,3	3,2	3,0	6,2
WBC, %	2,0	3,8	5,8	1,3	3,2	4,5
PLT, %	1,9	3,0	4,9	1,4	6,4	7,8

3.2.4. Влияние объёма выборки на результаты расчета референтных интервалов гематологических показателей непрямыми методами у взрослых

Следующим шагом было определение количества данных, необходимых для расчета РИ для показателей ОАК непрямым способом (в случае, когда БД представляет собой ограниченное количество результатов исследований). Для этого выборку из n=198077 исследований последовательно уменьшали до n=10000, 5000, 2000 и 1000, с последующей оценкой по критериям pD и общей ошибки (+/-1TE).

Таким образом, проведенное действие позволило проследить возможность расчета РИ непрямыми методами для разного количества данных (Таблица 16).

Таблица 16 - Результат расчета границ РИ показателей ОАК взрослых мужчин и женщин непрямыми способами при различном количестве данных

Параметр	Пол	Метод	TMC		Refine		Kosmic		Bhattacharaya	
		Выборка, n	L	H	L	H	L	H	L	H
WBC	Ж	1000	3,54*	11,03*	3,12*	10,1*	3,33*	8,99	3,05*	11,1*
		2000	3,6*	10* 3,66* (ДИ)		9,7	3,3*	8,60	3,18	9,02
		3000	3,64*	10,7* 3,69* (ДИ)		9,6	3,56*	10,59*	3,36	8,16
		5000	3,65*	10,6* 3,66* (ДИ)		10,3*	3,62*	10,31*	3,14*	9,09
		10000	3,68* (ДИ)	10,27*	3,64*	10,4*	3,26*	8,62	3,39	8,54
		50000	3,64*	10,28*	3,64*	10,1*	3,58*	9,94	3,38*	8,1
	М	1000	3,94*	10,78*	3,85*	8,92	4,13*	9,46	3,61*	10,48*
		2000	3,91*	10,33*	3,93*	10,1	3,82*	8,76	3,86*	12,33
		3000	3,94*	10,37*	3,93*	10 (ДИ)*	3,85*	9,80	3,13	9,70
		5000	3,95*	10,21*	3,95*	10,1*ди	3,93*	10,1	3,10	9,65
		10000	3,91*	10,61*	3,91*	10,5*	3,79*	9,68	3,5	9,3
		50000	3,95*	10,42*	3,95*	10,3*	3,89*	10,4*	3,69*	8,43
RBC	Ж	1000	3,94*	5,11*	3,78*	5,18*	3,97*	4,6	3,67*	5,19*
		2000	3,86*	5,15*	3,76*	5,11*	4*	4,71	3,74*	5,15*
		3000	3,86*	5,18*	3,81*	5,16*	3,95*	4,82	3,74*	5,15*
		5000	3,84*	5,16*	3,82*	5,17*	3,9*	5*	3,74*	5,15*
		10000	3,8* 4,97* (ДИ)		3,81*	5,17*	3,78*	5,03*	3,71*	5,16*
		50000	3,79*	5,1*	3,79*	5,12*	3,76*	5,06*	3,75*	5,14*
	М	1000	4,46 (ДИ)*	5,76*	4,49	5,85*	4,46	5,78*	4,27*	5,82*
		2000	4,39* (ДИ)	5,81*	4,36*	5,84*	4,54	5,75*	4,35*	5,81*
		3000	4,57	5,77*	4,45*	5,85*	4,64	5,58*	4,32*	5,87*
		5000	4,5	5,79*	4,37*	5,83*	4,4*	5,77*	4,38*	5,79*
		10000	4,42*	5,8*	4,44*	5,8*	4,4*	5,81*	4,33*	5,85*
		50000	4,45* (ДИ)	5,85*	4,44*	5,85*	4,43*	5,78*	4,34*	5,85*
HGB	Ж	1000	115*	150,7*	121	149*	113*	149,8*	131	171
		2000	114,8*	150,7*	116*	151*	116,4	148,8*	115*	150*
		3000	16,7 (ДИ)*	152,3*	116* (ДИ)	152*	117,0	147,2	114*	151*
		5000	114,7*	150,6*	115* (ДИ)	151*	115,2*	149,6*	114*	150*
		10000	116*	149,8*	116* (ДИ)	151*	117,8	148,7*	113*	151*
		50000	114,4*	151,1*	115* (ДИ)	151*	114,4*	150,4*	113*	151*
	М	1000	138,5	172,7*	138	173*	139,4	171,1*	133*	173*
		2000	136,5*	173,3*	137* (ДИ)	171*	136,6	173,5*	135*	172*
		3000	135,6*	172,8*	137* (ДИ)	172*	135,7*	172,7*	134*	173*
		5000	35,1* (ДИ)	172,7*	136* (ДИ)	173*	135,4*	172,7*	134*	172*
		10000	135,8*	173,8*	135*	174*	136,2*	174,0*	134*	173*
		50000	136,7	172,2*	135*	172*	137,4	171*	134*	173*
PLT	Ж	1000	63,9 (ДИ)*	97,1 (ДИ)*	168*	404	168,3	405,9	161*	379
		2000	167,4*ди	91,7 (ДИ)*	174 (ДИ)	404	183,3	397,1	147*	387
		3000	171 (ДИ)	395 (ДИ)*	158*	389*	170,7	397,9	152*	363
		5000	180,1	402	169 (ДИ)*	387*	171,3	388,4*	158*	373
		10000	167,6	96,2 (ДИ)*	165*	392*	175,3	405,1	158*	372
		50000	171,9	382,2*	170 (ДИ)	401	159,5*	366,9*	154*	374*
	М	1000	150,1*	338,4*	149*	339*	150,4*	340,83*	148*	342*
		2000	57,4* (ДИ)	355*	163 (ДИ)*	355*	178,2	326,45*	133	358*
		3000	164	373,7	167 (ДИ)*	373	169,7	326,6*	152*	337*
		5000	57,8* (ДИ)	363,8*ди	159 (ДИ)	374* (ДИ)	171,9	348,3*	149*	335*
		10000	166,8	372	156*	354*	173,4	363,5	150*	336*
		50000	171,8	370,8 (ДИ)	161*ди	366	159,6	333,1*	143*	353*

Примечание. Сравнение результата расчета границ РИ относительно установленных границ ретроспективным прямым методом с помощью критерия TEорт (выделено зеленым), TEdes (выделено желтым). L-нижняя граница РИ; U-верхняя граница РИ. (ДИ) – соответствие критерию TE с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию pD. Процент патологических значений – процент выходящих за пределы РИ значений.

По результатам симуляции количества результатов исследований лейкоцитов можно наблюдать, что: границы РИ по результатам расчета методом ТМС позволяет соответствовать TEopt или pD для мужчин и женщин; то же с refineR (с одним исключением на малой выборке - мужчины, 1000 результатов). Стоит отметить, что для refineR соответствие наблюдается относительно достаточно широких рассчитанных ДИ (значение разницы ДИ превышает значение РИ верхней границы-РИ нижней границы*0,2). Метод kosmic показал более существенные ограничения: соответствие TEopt только на 3000–5000 исследований (женщины) и 3000–10000 (мужчины).

Границы РИ эритроцитов симуляционных выборок разного объема сопоставима с результатами расчета БД, включающей большой объем данных. Для женского пола обе границы РИ, рассчитанные методами ТМС и refineR, соответствуют строгим критериям TEdes и pD на любом размере выборок, от малой до средней (1000–10000) результатов. Стоит отметить, что ТМС рассчитал результат только при предварительной подготовке выборки в виде умножения результата на 100 (изначально результат в БД хранится в виде цифры с сотыми долями), в противном случае расчет не происходит из-за недостаточного количества ячеек данных. Метод kosmic позволил рассчитать РИ при количестве данных от 5000 исследований: на малой выборке рассчитанный результат не соответствует критериям. Рассчитанные верхние границы РИ эритроцитов для мужского пола, как и во всей БД взрослых, соответствовали критерию TEopt, а нижние - только менее строгому критерию TEdes. При этом метод refineR рассчитал приемлемые РИ при количестве от 2000 результатов, kosmic от 5000, а ТМС, наоборот, до 2000 результатов включительно.

При расчете РИ эритроцитов для исходной БД детей 0–3 лет refineR был лучшей методикой для расчета. В данном случае, если оценивать расчет РИ взрослых мужчин и женщин, при малом количестве данных от 2000-3000 refineR остается методом выбора (менее 3000 размер рассчитанных ДИ превышал допустимый критерий соответствия ДИ <0,2 ширины РИ). Методы kosmic и ТМС не рассчитали приемлемо границ РИ в БД детей. В исследовании на

выборках взрослых видно, что *kosmic* корректно рассчитывал РИ от 5000 результатов в выборке, а ТМС – единственный метод, которым можно было рассчитать самые малые выборки: 1000 и 2000, а также полную БД взрослых (Таблица 14). Характеристики асимметрии распределений эритроцитов женщин схожи с характеристиками БД детей 0–3 лет жизни. В случае с детьми, методом выбора оказался *refineR*. Возможно, из-за схожести выборок *refineR* лучше рассчитал границы РИ для женщин, чем для мужчин.

Нижние границы РИ гемоглобина определяются чуть хуже верхних: результаты расчёта ни одним методом не соответствует ТЕ_{opt}. ТМС провел расчёт РИ для всех выборок (на уровне ТЕ_{des} или ТЕ_{opt}), *refineR* - начиная с 2000 результатов, как и *kosmic* (для мужчин), для женщин методом *kosmic* РИ рассчитаны на выборках 1000–5000. Верхние границы РИ, полученные методами ТМС и *refineR*, соответствовали ТЕ_{opt}. Результат расчета выборок методами *refineR* и ТМС повторяет тренд качества расчёта большой выборки БД, где также результат расчёта нижней границы соответствуют менее строгим критериям, а верхней – более строгим. Качество расчета методом *kosmic* остается неизменным: соответствие менее строгим критериям для женского пола и более строгим – для мужского на верхней границе РИ и в выборках 1000–10000 результатов, так и для всей БД взрослых. На выборке детей нижняя граница не рассчитана, что также подсвечивает сложности в определении нижней границы гемоглобина.

Почти все РИ всех выборок тромбоцитов можно было рассчитать методами *refineR* и ТМС, но для *refineR* - часто благодаря тому, что ДИ соответствовали ожидаемым значениям для критериев ТЕ_{opt} или ТЕ_{des}. ТМС чуть более точно рассчитал РИ для женщин. Границы РИ тромбоцитов для разных объемов выборки в результате расчета методом *kosmic* соответствовали критерию ТЕ_{opt} или ТЕ_{des} для малых объемов, около 1000 результатов. Этот же метод, в отличие от других, полностью рассчитал границы РИ в основном в соответствии с ТЕ_{opt} всей БД взрослых, хотя для расчета РИ тромбоцитов БД детей методами выбора стали ТМС и *refineR*. Расчет методом Bhattacharya для

эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов соответствовал в основном критериям TEopt, за исключением выборки с результатами гемоглобина женщин – там расчет осуществлялся от 2000 результатов. Однако, для скошенной выборки лейкоцитов мужчин и женщин расчет был хуже (несоответствие критериям либо соответствие TEdes). Для выборок лейкоцитов была проведена трансформация Бокса-Кокса, и полученные результаты соответствовали в основном TEopt. Примечательно, что удаление выбросов улучшило результаты расчета для выборки женщин (в двух случаях соответствие критерию TEdes изменилось на TEopt, то есть все результаты стали соответствовать TEopt), а в случае с мужской популяцией вся верхняя граница стала соответствовать TEdes вместо TEopt.

Для всех выборок проведено исследование влияния параметров различных распределений (асимметрия, эксцесс, коэффициент вариации) на результат расчета РИ. Статистически значимого влияния этих факторов на корректность расчета границ РИ исследуемых методов обнаружено не было.

3.3. Установление референтных интервалов ТТГ у подростков непрямыми методами

3.3.1. Расчет референтных интервалов непрямыми методами всей базы данных

Общие РИ ТТГ всех подростков при прямом определении составили 0,86–4,7 мМЕ/л, и 0,92–5,17 мМЕ/л и 0,81–4,69 мМЕ/л для подростков мужского и женского пола, соответственно [7]. Результаты непрямого расчета всей выборки без исключения, т.е. содержащей 2,5% и 3,7% патологических результатов за нижней и верхней границами, соответственно, а также 46% условно патологических результатов - входят в пределы РИ, но принадлежат детям с патологией ЩЖ, не вошедшим в референтную группу для расчета РИ прямым методом, представлены в Таблице 17. Сравнение рассчитанных границ РИ производилось с границами, рассчитанными прямым способом. Значимость отличий в границах РИ, рассчитанных прямым и непрямым способом, оценивалась относительно значений общей ошибки (TE), по двум уровням: желаемому TE_{des} и оптимальному TE_{opt} и по значению pD [41]. На желаемом уровне верифицированы РИ (общие, подростки мужского пола, подростки женского пола), рассчитанные refineR и TMC. Методом Bhattacharya, с учетом проведенной трансформации Бокса-Кокса, корректно рассчитаны все границы РИ, на уровне критериев pD и TE_{opt}. На оптимальном уровне, а также по критерию pD успешным можно считать расчет всех границ РИ методом TMC и refineR (за исключением верхней границы РИ лиц женского пола для refineR).

Расчеты методами kosmic практически не соответствовали критериям TE и pD, что могло быть вызвано небольшим количеством результатов в выборке или скошенностью распределения.

Таблица 17 - Результаты расчета РИ ТТГ подростков с помощью прямого и непрямых методов

Метод	Расчетные границы РИ ТТГ, мМЕ/л					
	Ж (n=637)		М (n=542)		Все (n=1179)	
	L	U	L	U	L	U
Прямой метод	0,81	4,69	0,92	5,17	0,86	4,70
Кол-во патологических значений	2,2%	3,6%	3,1%	2,5%	2,5%	3,6%
refineR	0,78 [*]	3,68 [*]	0,96 [*]	4,79 [*]	0,89 [*]	4,70 [*]
Bhattacharya	0,81 [*]	4,57 (Б-К) [*]	0,96 [*] (Б-К) [*]	4,47 (Б-К) [*]	0,83 (Б-К) [*]	4,47 (Б-К) [*]
kosmic	1,27	3,39	1,00 [*]	3,67	0,74	3,50
TMC	0,85 [*]	4,39 [*]	0,96 [*]	4,83 [*]	0,90 [*]	4,72 [*]

Примечание. Сравнение результата расчета границ РИ относительно установленных границ ретроспективным прямым методом с помощью критерия TEopt (выделено зеленым), TEdes (выделено желтым). L - нижняя граница рассчитанного РИ; U - верхняя граница рассчитанного РИ; ^{*} - соответствие критерию pD; (Б-К) с учетом проведенной трансформации Бокса-Кокса

3.3.2. Расчет референтных интервалов симулированных данных, основанных на исходной выборке значений ТТГ у подростков

Поскольку распределение результатов измерения ТТГ по нашим данным и данным литературы [58], имеет скошенное распределение, его параметры могут быть по-разному оценены алгоритмами расчета, с получением отличающихся результатов границ РИ. На качество расчета влияют доля патологических данных и их расположение относительно центральной меры распределения «здоровых». Для изучения влияния этих факторов на возможность корректного расчета РИ ТТГ были проведены специальные исследования. Поскольку ранее нами было определено, что некоторые методы непрямого определения РИ проводят успешный расчет при значительно большем количестве результатов, чем имеется в БД, была проведена симуляция выборок, содержащих 10000 значений. Начальная симулированная выборка была получена методом Бутстреп на основе исходных данных ТТГ у здоровых подростков. Отдельно из общей

базы данных симулировали выборки условно-патологических (значения входят в РИ, но принадлежат детям с установленной патологией ЩЖ или факторами риска болезни ЩЖ) и патологических данных. Далее в симулированных выборках здоровых подростков результаты замещались в различном процентном соотношении условно-патологическими и патологическими данными. В полученных выборках оценивались границы РИ, рассчитанные непрямыми способами.

Симулированные таким образом выборки также были не нормально распределены (критерий Шапиро-Уилка, $p < 0,05$) и скошены вправо, со значениями медиан 2,3–2,7 мМЕ/л.

Метод ТМС обладает возможностью расчета ДИ. Это дает возможность применить дополнительный оценочный критерий. В соответствии с этим критерием ширина ДИ каждой из границ не должна превышать 0,2 от разности верхней и нижней границ. Результаты, полученные с помощью расчетов методом ТМС удовлетворяют этому критерию.

Для метода ТМС оценка и по другим критериям происходила с учетом рассчитанных ДИ.

Результат расчета при оценке по наиболее строгим критериям: TE_{opt} и pD (Таблица 18), оптимален при расчете верхней границы РИ при добавлении 25-30% патологических данных с обеих сторон границ РИ. При расчете нижней границы: при небольшом проценте патологических значений на нижней границе, в сочетании с низким либо высоким процентом патологических значений на верхней границе.

Таблица 18 - Результаты расчета РИ ТТГ подростков с помощью метода ТМС при проведении симуляции с добавлением условно патологических значений

РИ при добавлении патологических данных к нижней границе, ТМС	РИ при добавлении патологических данных к верхней границе, ТМС												
		5%		10%		15%		20%		25%		30%	
		L	U	L	U	L	U	L	U	L	U	L	U
	5%	1,14	4,9*	0,88*	3,7	1,08	5,42	1,07	5,48	0,97*	5,68	1*	5,32
	10%	0,95*	3,51	0,97*	3,59	1,04	5,18	1,05	5,13	0,98*	5,97	1,02*	5,32
	15%	0,93*	3,68	1,13	3,97	1,1	4,21	1,06	4,92*	1,01*	5,4	1*	5,3
	20%	1,06	3,94	1,1	4,06	1,08	4,27*	1,03*	5,36	1,06	4,86*	1,06	5,12*
	25%	1,03*	3,57	1,1	4,18	1,09	4,09	0,99*	5,39	1,06	4,81*	1,04*	5,06*
	30%	1,09	4,04	1,01	4,97*	1,09	3,99	1*	5,26	1,05	4,86*	1,05	4,76*

Примечание. Зеленым отмечено соответствие результата расчета критерию TE_{орт}, желтым - соответствие результата расчета критерию TE_{edes}. L - нижняя граница рассчитанного РИ; U - верхняя граница рассчитанного РИ. * - соответствие критерию pD

По менее строгому критерию TE_{edes} рассчитать РИ возможно для значительной доли условно патологических значений (до 30% включительно с каждой стороны, то есть, до 60% суммарно), с двумя исключениями.

Таким образом, по менее строгому критерию TE_{edes} рассчитаны почти все границы РИ ТТГ, кроме содержания в выборках 5% условно патологических значений и 10% и 25% одновременно, на нижней и верхней границах РИ.

Таблица 19 - Результаты расчета РИ ТТГ подростков с помощью метода refineR при проведении симуляции с добавлением условно патологических значений

РИ при добавлении патологических данных к нижней границе, refineR	РИ при добавлении патологических данных к верхней границе, refineR												
		5%		10%		15%		20%		25%		30%	
		L	U	L	U	L	U	L	U	L	U	L	U
	5%	0,96*	4,09	0,81*	3,6	0,92*	3,85	1,1	5,4	1,02	4,93*	0,98*	4,38*
	10 %	0,94*	4,14	1,0*	4,33*	0,95*	3,91	0,84*	3,4	0,84*	3,51	0,53	4,58
	15%	0,75	3,37	0,77*	3,22	0,86*	3,41	0,92*	3,93	0,97*	4,45*	0,92*	3,6
	20%	0,96*	4,26	1,03	4,81*	0,95*	4,6*	0,99*	5,26	0,98*	4,33*	0,56	4,43*
	25%	1,07	4,21	1,04	4,82*	1,03	4,83*	0,98*	4,91*	1,01	4,82*	0,98*	4,79*
	30%	0,97*	4,27	0,98*	4,74*	1,01	4,81*	1,0*	5,13	0,98*	4,97*	0,98*	4,82*

Примечание. Зеленым отмечено соответствие результата расчета критерию TEopt, желтым - соответствие результата расчета критерию TEdes. L - нижняя граница рассчитанного РИ; U - верхняя граница рассчитанного РИ; * - соответствие критерию pD

Расчет границ РИ методом refineR, по критерию TEopt (Таблица 19) возможен, но с ограничениями, поэтому оценка качества расчета этим методом затруднена.

По критерию TEdes возможен расчет при наличии некоторого количества патологических значений: от 15% патологических значений на верхней границе РИ и до 25-30% на нижней.

По критерию pD и TEopt, превалирует возможность расчета РИ при 20-30% патологических результатов на обеих границах, при этом, в отличие от расчета по критерию TEdes, некорректно была рассчитана верхняя граница, тогда как при более, чем 15% патологических значений на нижней границе, на верхней границе различий в расчетах не было.

Результаты расчета методом *kosmic* (Таблица 20) соответствуют менее строгому критерию TEdes при наличии патологических данных более, чем 10%-15% на верхней границе. По критериям *pD* и TEort, схожим образом, корректно определить границы РИ при наличии 20% патологических значений, на верхней границе при практически любом их содержании на нижней, а также при максимально высоком проценте на обеих границах (30%).

На результаты расчета РИ в сторону снижения обеих границ РИ мог повлиять низкий процент присутствия условно патологических значений (5–10% на верхней границе при 5–25% на нижней), возможно, в сочетании со спецификой распределений (скошенные распределения). Эти данные отличаются от представленных авторами метода (Zierk и соавт.), исследовавшими возможности расчета на симуляционных выборках ТТГ в количестве 50000 результатов исследований.

Таблица 20 - Результаты расчета РИ ТТГ подростков (*kosmic*) при проведении симуляции с добавлением условно патологических значений, 5–30% к верхнему и нижнему концам распределения

РИ при добавлении патологических данных к нижней границе, kosmic	РИ при добавлении патологических данных к верхней границе, kosmic												
	5%		10%		15%		20%		25%		30%		
	L	U	L	U	L	U	L	U	L	U	L	U	
	5%	1,21	3,36	0,75	3,34	1,01*	4,90*	1,02*	5,03*	0,98*	5,25	0,97*	5,37
	10%	1,32	3,58	0,71	3,25	1,00*	4,49*	1,00*	4,97*	0,97*	5,26	1,00*	5,13*
	15%	0,89*	3,39	1*	3,42	1*	3,78	0,98*	4,89*	0,95*	5,57	0,94*	5,37
	20%	1,22	3,93	0,97*	3,61	0,97*	5,02*	0,98*	5,02*	0,95*	5,18	0,96*	5,43
	25%	0,83*	3,30	1,19	4,03	0,99*	4,60*	0,94*	4,40*	0,95*	5,32	1,03*	5,04*
	30%	1*	4,20	0,94*	3,82	1,16	3,9	1,01*	5,14	0,96*	5,34	0,93*	5,24

Примечание. Зеленым отмечено соответствие результата расчета критерию TEort, желтым - соответствие результата расчета критерию TEdes. L - нижняя граница рассчитанного РИ; U - верхняя граница рассчитанного РИ; * - соответствие критерию *pD*

Оценка расчетов РИ методом Bhattacharya в соответствии с более строгими критериями TEort и *pD* схожа, но результаты расчета без предварительной подготовки распределений не имеют видимых закономерностей.

Однако, поскольку известно, что метод предназначен в основном для расчета РИ в выборках с распределением, близким к нормальному, была проведена предварительная нормализация распределений методом Бокса-Кокса, с последующим расчетом границ РИ (Таблица 21). В результате – РИ были рассчитаны в соответствии с ТЕ_{opt} при наличии до 25% патологических значений включительно на обоих концах распределения, и до 30% на уровне ТЕ_{des}, то есть, практически без ограничений количества патологических значений в рамках 30%.

Таблица 21 - Результаты расчета РИ ТТГ подростков методом Bhattacharya, симуляция с добавлением условно патологических значений в объеме 5–30% к верхней и нижней границам распределения после проведения трансформации распределения**

РИ при добавлении патологических данных к верхней границе, Bhattacharya												
	5%		10%		15%		20%		25%		30%	
	L	U	L	U	L	U	L	U	L	U	L	U
5%	0,85 (Б-К)*	4,8 (Б-К)*	0,88*	4,12 (Б-К)*	0,93 (Б-К)*	5,25 (Б-К)*	0,76 (Б-К)*	4,44 (Б-К)*	0,85 (Б-К)*	4,2 (Б-К)*	0,82*	3,67 (Б-К)*
10%	0,89*	4,2 (Б-К)*	0,93*	4,40*	0,95 (Б-К)*	4,83 (Б-К)*	0,9 (Б-К)*	4,1 (Б-К)*	0,84 (Б-К)*	4,3* (Б-К)*	0,87 (Б-К)*	4,15
15%	0,9 (Б-К)*	4,6 (Б-К)*	0,9 (Б-К)*	4,9 (Б-К)*	0,87 (Б-К)*	4,16 (Б-К)*	0,87 (Б-К)*	4,13*	0,95 (Б-К)*	4,21 (Б-К)*	0,84 (Б-К)*	4,17
20%	0,89 (Б-К)*	4,8 (Б-К)*	0,9 (Б-К)*	4,5 (Б-К)*	0,7 (Б-К)*	5,3 (Б-К)*	0,9 (Б-К)*	4,9 (Б-К)*	0,9 (Б-К)*	5,2 (Б-К)*	0,9 (Б-К)*	5,4 (Б-К)
25%	0,83 (Б-К)*	4,16 (Б-К)*	0,81 (Б-К)*	4,28*	0,8 (Б-К)*	4,63* (Б-К)*	0,81 (Б-К)*	4,12*	0,82 (Б-К)*	4,22*	0,84 (Б-К)*	4,15*
30%	0,73 (Б-К)	4,19*	0,69 (Б-К)*	4,33*	0,66 (Б-К)	4,34 (Б-К)*	0,64 (Б-К)	4,5 (Б-К)*	0,82 (Б-К)*	4,12 (Б-К)*	0,85 (Б-К)*	4,01

Примечание. Зеленым отмечено соответствие результата расчета критерию ТЕ_{opt}, желтым - соответствие результата расчета критерию ТЕ_{des}. L - нижняя граница рассчитанного РИ; U - верхняя граница рассчитанного РИ; * - соответствие критерию рD ** в таблице отображены расчеты границ РИ с учетом предварительного проведения трансформации Бокса-Кокса для распределений (ручной поиск параметра лямбда)

Сравнение результатов расчета верхней границы разными методами между собой по критериям ТЕ на оптимальном (ТЕ_{opt}) и желаемом (ТЕ_{des}) уровне представлена в Таблице 22.

Наибольшие различия наблюдались в расчетах методами *kosmic* и *Bhattacharya* (без предварительной нормализации данных) несмотря на то, что для верхней границы оба метода рассчитали границы РИ в основном приемлемо. Наиболее схожие результаты наблюдаются у методов ТМС и *kosmic* при практически любом процентном соотношении патологических образцов несмотря на то, что для расчетов РИ метод *kosmic* предполагает более высокое содержание патологических образцов.

ТМС и *refineR* чаще совпадают в расчетах при большем количестве патологических значений с одной или обоих концов РИ.

Таблица 22 - Сравнение результатов расчета верхней границы РИ между методами непрямого расчета для верхней границы РИ ТТГ подростков при различном количестве условно патологических значений

Верхний предел РИ		Добавление патологических значений к верхней границе																	
		5%			10%			15%			20%			25%			30%		
		TMC	RefineR	Kosmic	TMC	RefineR	Kosmic	TMC	RefineR	Kosmic	TMC	RefineR	Kosmic	TMC	RefineR	Kosmic	TMC	RefineR	Kosmic
Добавление патологических значений к нижней границе	5%	TMC																	
		RefineR						*									*		
		Kosmic	*					*	*										
		Bhattacharya						*	*		*	*	*	*		*	*		*
	10%	TMC																	
		RefineR						*			*			*					
		Kosmic				*			*	*		*			*				*
		Bhattacharya					*		*	*			*		*				*
	15%	TMC																	
		RefineR									*						*		
		Kosmic							*	*					*			*	
		Bhattacharya		*	*		*		*	*			*						*
	20%	TMC																	
		RefineR																	
		Kosmic				*			*	*		*			*				*
		Bhattacharya			*		*		*	*		*		*		*			*
	25%	TMC																	
		RefineR																	
		Kosmic							*	*		*			*				*
		Bhattacharya			*		*		*	*		*		*		*			*
	30%	TMC																	
		RefineR																	
		Kosmic							*	*		*			*				*
		Bhattacharya			*		*		*	*		*		*		*			*

Примечание. Темно-серый: оценка по оптимальному уровню ТЕ; светло-серый: оценка по желаемому уровню ТЕ; * - не прошедшие по указанным критериям сравнения

Сравнение результатов прямого и непрямого и расчета РИ ТТГ на симулированных выборках значений концентрации показало приемлемость оценки границ РИ методами ТМС, *refineR*, *kosmic* относительно TE_{des}, с

наименьшим количеством исключений методом TMC при наличии до 30% условно-патологических значений, близких к обеим границам РИ. Однако, при оценке по критериям pD и TE_{opt} , для методов TMC, *refineR*, *kosmic*, расчет не был успешным, при том, что большая часть расчетов произведена в соответствии с ними. Расчет методом Bhattacharya, после нормализации распределения, соответствовал самым строгим критериям при добавлении патологических значений до 30% с обеих сторон распределения.

Метод *refineR* дает большее количество расчетов, соответствующих более строгому критерию TE_{opt} , но с большим количеством исключений (без исключений: при наличии более 15%-20% патологических значений на нижней границе) а для *kosmic*, наоборот - максимально «качественный» расчет на выборке с большей долей условно патологических значений (начиная с 15%) на верхней границе при любом проценте патологических значений на нижней границе. Метод Bhattacharya при проведении предварительной нормализации производит расчет в соответствии со строгими критериями. В Таблице 23 представлен процент патологических значений в выборке, при наличии которого возможен расчет РИ хотя бы по критерию TE_{des} .

Поскольку реальная БД ТТГ подростков представляет собой определенное сочетание результатов без установленной патологии и условно патологических данных, которое заранее неизвестно, выбор наиболее адекватного метода не прямых расчетов представляется важным. При этом обоснованием могут служить сопоставления результатов расчетов РИ с помощью проведения симуляции, которые свидетельствуют о том, что методы TMC, *refineR*, *kosmic* и Bhattacharya (с предварительной нормализации данных), при определенных условиях, описанных выше, оказались подходящими для расчета. По результатам же расчета реальной БД (без разделения по полу), как было сказано выше, методы TMC, *refineR* и Bhattacharya соответствовали оптимальному критерию TE_{opt} .

Авторами метода *refineR* было проведено исследование [13] и показана возможность проводить расчет РИ ТТГ в присутствии патологических и условно патологических значений в различных соотношениях на нижней и верхней

границах до 30% включительно, с соответствием критерию TE_{opt}. В нашем случае, с расчетом методом refineR удачным проведением симуляции выборки подростков можно обозначить результаты расчетов кроме 10–15% патологических значений.

Таблица 23 - Процент патологических и условно патологических значений, при котором РИ приемлемы по критерию ТЕ на желаемом уровне при расчете РИ ТТГ с помощью не прямых методов расчета

Метод	Содержание пат. значений на границах РИ
TMC	Любое соотношение патологических значений (до 30% включительно на обеих границах РИ)*
refineR	20–30%* условно патологических и патологических значений на нижней границе РИ при любом соотношении условно патологических значений на верхней границе РИ
	5–10% условно патологических и патологических значений на нижней границе РИ при 5–15% условно патологических значений на верхней границе РИ
kosmic	15–30% условно патологических и патологических значений на нижней границе РИ при любом* соотношении условно патологических значений на верхней границе РИ
Bhattacharya	5–10% условно патологических и патологических значений на нижней границе РИ при 5–20% условно патологических значений на верхней границе РИ. Любое содержание условно патологических значений на верхней и нижней границах РИ для определения всех верхних границ РИ Расчет с предварительной трансформацией Бокса-Кокса: до 30% включительно на каждой границе РИ

Примечание. * – есть единичные исключения (см. в тексте); пат. значения – патологические значения

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что условно патологические значения, попадающие в границы РИ, способны исказить результаты не прямых расчётов.

Применительно к ТТГ наиболее надёжными показали себя метод ТМС и метод Bhattacharya с предварительной нормализацией распределения: оба метода стабильно соответствовали установленным критериям как при работе с исходной базой данных, так и в условиях симуляции. Возможность использования ТМС для

аналитов со скошенным распределением согласуется с данными, представленными в литературе [88].

Методы *refineR* и *kosmic* в целом применимы, однако их использование оправдано при соблюдении определённых условий, в частности, при контроле соотношения условно патологических значений у нижней и верхней границ РИ.

Метод *Bhattacharya* без нормализации распределения в большинстве случаев не удовлетворял критериям качества, что, по всей видимости, объясняется его ориентацией на аналиты с нормальным распределением, условием, которое для ТТГ не выполняется.

Однако, после предварительной нормализации выборки методом Бокса-Кокса, расчет РИ в выборках с практически любым количеством условно патологических значений до 30%. Но, расчет подразумевает подбор параметров для определения РИ вручную, что может привести к ошибкам.

3.4. Возможности непрямых методов расчета для установления референтных интервалов ТТГ у взрослых

Для определения возможности расчета РИ был выполнен расчет границ РИ ТТГ в сыворотке крови взрослых с использованием большого количества накопленных данных ($n=152472$, 112807 женщин и 39665 мужчин). Все исследования были выполнены на приборе DxI 800, Beckman Coulter (США). Для расчета взяты исследования лиц 18–64 лет. В качестве подготовки данных к расчетам были удалены результаты повторных исследований пациентов, и оставлены последние из них, а также удалены все результаты более 10 мМЕ/л и менее 0,1 мМЕ/л. На Рисунке 3 графически представлено распределение результатов измерений, характеризующееся выраженной скошенностью.

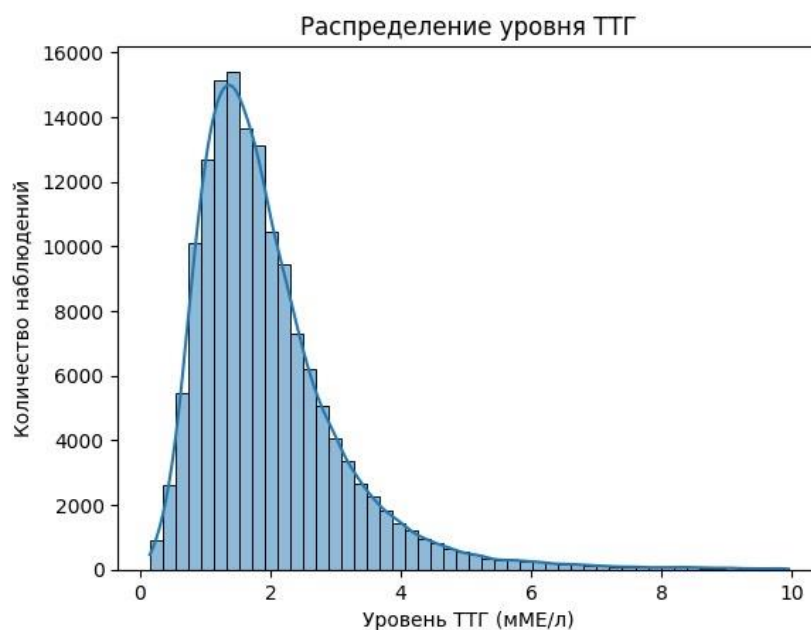


Рисунок 3. Характер распределения в выборке результатов ТТГ 150770 лиц 18–64 лет

Распределение было исследовано с учетом удаления дальних выбросов методом Тьюки. Основные характеристики выборки, исходной и после исключения выбросов, представлены в Таблице 24. Распределение можно охарактеризовать как не нормальное в соответствии с критерием Шапиро-Уилка ($p < 0,05$).

Таблица 24 - Основные характеристики выборок с результатами ТТГ

Тип выборки	Мин	Макс	Ме	Q1-Q3	Асимметрия	Экцентрис	Кол-во результатов	Кол-во пат. результатов ^а
Первичные данные	0	365,3	1,7	1,1-2,4			152472	10085 (6,6%) верхняя граница 4468 (2,9%) нижняя граница
Первичная очистка данных	0,2	10,0	1,8	1,1-2,4	1,97	6,58	150770	9340 (6,2%) верхняя граница 3528 (2,3%) нижняя граница
Удаление выбросов	0,2	6,00	1,75	1,1-2,4	1,16	1,54	148979	7532 (5,1%) верхняя граница 3528 (2,4%) нижняя граница

Примечание. Мин – минимальное значение, Макс – максимальное значение, Ме – медиана, Q1-Q3 – интерквартильный размах

^а-относительно границ РИ (0,6-3,8 мМЕ/л) проведенного прямым способом исследования [38]

Результаты расчета границ РИ непрямыми способами представлены в Таблице 25.

Таблица 25 - Результаты расчета РИ ТТГ непрямыми способами взрослых лиц

Метод	TMC		refineR		kosmic		Bhattacharya	
Параметр	L	U	L	U	L	U	L	U
Первичные данные	0,16 0,15-0,16	6,1 6,09-6,14	0,64* 0,59-0,65	4,64 (ДИ)* 3,96-4,66	0,58*	3,74*	0,4	2,4
ТТГ, первичная очистка данных, мМЕ/л	0,1 0,09-0,1	5,26 5,23-5,28	0,64* 0,59-0,65	4,64 (ДИ)* 3,92-4,66	0,58*	3,74*	0,56 (Б-К)	4,2 (Б-К)
ТТГ с уд. выбросов, мМЕ/л	0,15 0,14-0,15	4,18* (ДИ) 4,16-4,2	0,64* 0,59-0,65	4,64 (ДИ)* 3,95-4,65	0,58*	3,74*	0,55 (Б-К)	3,8 (Б-К)

Примечание. Сравнение результата расчета границ РИ относительно установленных границ ретроспективным прямым методом с помощью критерия TEopt (выделено зеленым). L-нижняя граница РИ; U-верхняя граница РИ. (ДИ) – соответствие критерию TE с учетом рассчитанных ДИ; * - соответствие критерию pD; (Б-К) с учетом проведенной трансформации Бокса-Кокса

Для метода Bhattacharya, как не рассчитанного для определения РИ скошенных распределений, была применена трансформация Бокса-Кокса.

Полученные РИ сравнили с результатом определения прямым способом: в 2021 году в издании PLoS ONE были опубликованы данные по РИ для российской популяции условно здоровых взрослых мужчин и женщин в возрасте 18–64 лет (референтная группа составила 599 человек). Исследование выполнено с учетом также для прибора DxI 800, Beckman Coulter, США [38]. Границы РИ при прямом определении составили 0,6 (90% ДИ 0,5–0,6) мМЕ/л – 3,8 (90% ДИ 3,5–4,0) мМЕ/л.

Значения критериев сравнения составляли TEopt 12,4%, TEdes 24,8%, и pD 0,07 мМЕ/л для нижней границы и 0,53 мМЕ/л для верхней границы. В исследовании РИ прямым способом указаны ДИ для расчета границ РИ. Поэтому сравнение проводилось также с учетом ДИ расчетов как прямым, так и непрямым

способом (при пересечении границ ДИ непрямого и прямого расчета, результат расчета границ РИ считался не имеющим отличий).

Качество расчета ДИ методом refineR и ТМС соответствовало критерию (расстояние между пределами ДИ не превышало 0,2 ширины РИ), и размер ДИ мог оцениваться как приемлемый.

Результаты расчетов полученных границ с помощью методов refineR и Kosmic не имели отличий от расчетов прямым способом, как при расчете из выборки с удалением выбросов, так и в выборке без удаления, результаты оставались прежними. Результат определения РИ методом Bhattacharya при проведении трансформации Бокса-Кокса также соответствовал критерию TEopt, без проведения трансформации соответствия критериям не было. Необходимо отметить, что параметр лямбда трансформации должен был быть задан вручную, что вместе с другой ручной настройкой (ширина ячейки) добавляет возможность ошибки оператора. Результаты расчета методом ТМС отличались: нижняя граница РИ не соответствовала критериям TE, даже на уровне менее строгого TEdes, вне зависимости от удаления выбросов. Расчеты верхней границы зависели от удаления выбросов и были приемлемыми после удаления выбросов в соответствии с критерием TEopt. Расчет границы без удаления выбросов не соответствовал никаким критериям.

Выборки ТТГ подростков и взрослых возможно сравнить, учитывая схожий небольшой процент патологических значений в данной выборке взрослых и выборке подростков. Соответственно, возможно сравнить полученные результаты на выборке взрослых с результатом проведения симуляции выборки подростков, с добавленным количеством патологических значений 5% и 5% к верхней и нижней границам. Как и в случае с симуляцией, в выборке взрослых расчет методом ТМС возможен только на верхней границе, а методом refineR - на обеих границах. Примечательно, что рассчитанные методом ТМС границы РИ зависели от удаления выбросов, хотя интерквартильный размах у выборок с удалением выбросов и без не изменялся (Таблица 25). Расчет методом kosmic отличался в этих двух случаях: на выборке 10000 результатов расчет не соответствовал

критериям, в отличие от выборки взрослых, границы РИ которого соответствовали TEopt. То же самое можно наблюдать и в случае с исходной выборкой подростков: метод не позволяет рассчитать границы РИ в соответствии с критериями. Это различие возможно из-за разного количества данных: возможно, 10000 результатов недостаточно для расчета этим методом в случае скошенным распределением. Метод Bhattacharya в обоих случаях определил границы РИ в соответствии со строгими критериями при предварительной нормализации данных, как и для расчета в исходной выборке.

Метод ТМС, как было сказано выше, позволил рассчитать в соответствии с критерием только верхнюю границу РИ ТТГ и только при очистке от выбросов. При этом нижняя граница во всех трех выборках ТТГ с различной степенью очистки рассчитывалась стабильно, но не совпадала по значению с остальными расчетами. Известно, что РИ для большинства иммунохимических методов специфичны к исследуемому контингенту и зависят от выполняемой методики, однако, полученная верхняя граница РИ непрямыми методами в нашем исследовании схожа с результатом расчета методом Хоффманна границ РИ ТТГ для Roche Cobas (3,54 мМЕ/л) [75]. Кстати, нижняя граница в этом случае 0,2 мМЕ/л, что схоже с расчетами методом ТМС, расчеты нижней границы которого радикально отличались от остальных методов и результатов прямого определения. Однако, ни результат исследования прямым способом, ни другие опубликованные результаты исследования границ РИ не схожи с этим значением, как и результаты расчета тремя остальными методами, которые согласуются как с прямым определением, так и с опубликованным расчетом РИ, например, метод EP Evaluator (Data Innovations) для Advia Centaur, Siemens [37], для лиц 18–49 лет, для исследований: 0,5–4 мМЕ/л.

Также опубликован расчет границ РИ ТТГ методом Bhattacharya в рамках параллельного исследования этого метода и методики расчета непрерывных РИ с помощью квантильной регрессии с моделью RCS [81], которую авторы позиционируют как наиболее точную. В статье указывается, что оба метода аналогично рассчитали верхнюю границу РИ в возрастной группе от 18 до 59 лет.

В нашем исследовании и подростков, и лиц 18–64 лет, результат расчета методом Bhattacharya также не отличался от расчета прямым способом, при проведении предварительной нормализации распределения методом Бокса-Кокса. В исследовании Holmes и соавт. расчет этим методом без предварительной трансформации показал более низкую верхнюю границу РИ для ТТГ ($-0,54$ – $2,98$ мМЕ/л), чем расчет с помощью методов декомпозиции, и отрицательную нижнюю. В нашем исследовании верхние границы РИ также были занижены (и подростков, и взрослых) в случае, если не применялась трансформация Бокса-Кокса. При нормализации данных результаты расчета РИ совпадали с результатами прямого определения (критерий TEopt) во всех случаях расчета границ РИ ТТГ: малочисленная выборка подростков, симуляция с увеличением выборки и добавлением патологических данных, и большая выборка с данными взрослых лиц. Стоит, однако, отметить, что расчет РИ этим методом хоть и автоматизирован, но остается графическим, с ручным определением параметров для нормализации распределения и для построения прямой с последующим расчетом РИ, что делает методику не стандартизированной, а результат – зависимым от оператора.

В исследовании автора Ма и соавт. ТТГ для китайской популяции [77] лиц пожилого возраста сравнивались в том числе результаты расчета методами refineR, kosmic, Bhattacharya – результат расчета верхней границы РИ последним методом был выше, что больше соответствовало определению РИ здоровой популяции. В нашем исследовании выборки взрослых результат расчета был сопоставим с методом refineR в выборке без удаления выбросов, и с kosmic – с удалением выбросов, при этом результат без удаления выбросов был ближе к границам РИ, определенным прямым способом. Как в исследовании Ма и соавт., так и в нашем исследовании, при расчете методом kosmic получены наиболее низкие верхние границы РИ из трех методов, с той разницей, что в случае исследования Ма это было максимальное отличие от прямого определения, в нашем – наиболее близкое к указанному в литературе для взрослой популяции. Примечательно также, что в исследовании ТТГ лиц пожилого возраста Ма

минимальной разницей в расчетах была между расчетами методами *kosmic* и *refineR* (0,27 мМЕ/л), а в нашем случае исследования ТТГ взрослых лиц – максимальной (0,9 мМЕ/л). Для популяции подростков отличия составили на нижней границе от 0,01 мМЕ/л (*refineR* и ТМС) до 0,16 (*kosmic* и ТМС) мМЕ/л и на верхней 0,02 мМЕ/л (*refineR* и ТМС) -1,2 мМЕ/л (*kosmic* и ТМС).

3.5. Установление непрямыми методами нижней границы референтных интервалов для свободного тироксина

Возможности не прямых методов были оценены для решения практической задачи при смене тест-системы для определения свободного тироксина (Т4св) с DxI 800 (Beckman Coulter, США) на систему Advia, Centaur XS (Siemens, Германия) для взрослых изначально были приняты границы РИ, взятые из инструкции, с нижней границей, равной 11,6 пмоль/л. Как часть верификации РИ тест-системы, проводилось сравнение полученных результатов на «новой» и «старой» тест-системах. Для начала провели сравнение результатов концентраций Т4св на 40 пробах с последующим расчетом уравнения регрессии. По полученному уравнению регрессии $-0.94 + 1.31 * \text{DxI}$ были рассчитаны потенциальные значения на новой системе и процент значений, выходящих за пределы нижней границы РИ: для использованной ранее тест-системы, количество патологических результатов было 1,6%, для «новой» при указанных в инструкции РИ этот процент составил бы 12,9%. Такой процент патологических значений не соотносится количеством значений ниже границы РИ, получаемых в медицинском учреждении. Подчеркнем, что смены исследуемой популяции не было, а рассчитанная доля патологических результатов превышает среднюю распространенность гипотиреоза (4,6%) [57, 9, 94]. Таким образом, согласно прогнозу, нижняя граница РИ отличается от указанной в инструкции в меньшую сторону.

В начале клинического применения РИ, установленных производителем, было обнаружено несоответствие между лабораторными данными и клинической картиной, когда концентрации Т4св трактовались как низкие, значения ТТГ

входили в РИ, и у пациентов не наблюдалось клинической картины гипотиреоза. На основании предварительно проведенного сравнения, прогноза и клинической оценки, было принято решение о проведении расчета непрямыми методами.

Далее, были рассчитаны границы РИ свободного тироксина непрямыми методами для взрослых мужчин и женщин (18–65 лет). На момент расчёта количество исследований свободного тироксина в БД МО составляло 107113 результатов. Для расчета использовались методы TMC, Bhattacharya, kosmic, refineR. В литературе затрагивается вопрос удаления выбросов из выборки перед проведением расчёта, встречаются аргументы «за» и «против». Были протестированы выборки без исключения выбросов, с исключением «близких» выбросов, с исключением «далеких» выбросов, а также на выборке пациентов, у которых, результаты ТТГ находились в пределах референтного интервала, установленного в лаборатории согласно инструкции производителя.

Исходя из полученных расчетов (Таблица 26), установлена нижняя граница РИ 10,6 пмоль/л.

Таблица 26 - Результаты расчета нижней границы свободного тироксина в различных условиях удаления выбросов из данных

Данные/Методы	Количество	TMC	refineR	kosmic	Bhattacharya
T4св, пмоль/л, полная БД	n = 107 113	10,56 10,53-10,59	10,6 10,5-10,8	10,67	10,42
T4св, пмоль/л, удалены результаты с ТТГ вне РИ	n = 89 768	10,68 10,65–10,71	10,7 10,6-10,8	10,92	10,51
T4св, пмоль/л, удалены далекие выбросы	n = 106 191	10,56 10,53-10,59	10,6 10,5-10,8	10,68	10,4
T4св, пмоль/л, удалены близкие выбросы	n = 104 042	10,56 10,53-10,59	10,6 10,5–10,7	10,63	10,39

Граница 10,6 пмоль/л T4св была верифицирована клиницистами. Верификация проходила также с использованием результатов условно здоровых пациентов. Были выбраны 20 здоровых мужчин и женщин по критериям: в прошлом не было заболеваний ЩЖ, не имеют клинических признаков

заболеваний ЩЖ, у родителей не было заболеваний ЩЖ, ТТГ в пределах РИ, антитела к тиреопероксидазе не определяются. Результаты исследования Т₄св вошли в пределы новых РИ (20 из 20), при этом распределение результатов было равномерным (визуальная оценка). В публикациях также встречаются данные, согласно которым нижняя граница Т₄св для обсуждаемой тест – системы должна быть ниже предложенной в инструкции 11,6 пмоль/л [86, 23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Референтные интервалы – один из ключевых постаналитических инструментов оценки полученных лабораторных результатов. Ответственность за предоставление РИ в бланке выдачи результата возлагается на лаборатории. Однако при этом разнообразное количество и качество источников получения этой информации принуждает к внимательному их выбору.

В результате проведенного опроса 161 лабораторий РФ и 3 лабораторий Казахстана выяснено, что основной источник РИ для лабораторий – инструкция к реагентам несмотря на то, что эти данные могут быть специфичны для другой популяции или рассчитаны на недостаточном объеме выборки. Учитывая это, респонденты изъявляют желание использовать более качественные источники РИ, чем могут являться результаты больших исследований на здоровой популяции прямым методом, закрепленные в национальных или международных рекомендациях. Отсутствие значений РИ для некоторых групп лиц побуждает к поиску надежных источников РИ. Вместе с тем сложная и дорогостоящая процедура организации и проведения исследований приводит к отсутствию качественных данных для некоторых популяций, что обуславливает рост интереса к использованию непрямых методов [8, 10, 11, 24, 79, 81, 87, 95, 97]. В России по данным нашего опроса в последние годы возрос интерес к непрямому расчету РИ, т.е. возможности расчета РИ для собственного контингента с использованием всех данных лаборатории путем математического вычленения части «здоровой» выборки с последующим определением 95% центрального диапазона значений. По результатам опроса подобные исследования уже проводятся в 22 лабораториях (15,5% из 142 респондентов), а интерес к подобным расчетам проявляют 47 лабораторий (33,1% из 142 респондентов).

Программное обеспечение или пакеты в программных средах для подобного расчета доступны, каждый имеет свои преимущества и недостатки. Для дальнейшего распространения информации о возможности расчета РИ непрямыми методами для различных лабораторных анализов необходимо оценить свойства разных подходов к расчету, в особенности влияние распределения

результатов измерения аналитов и доли патологических результатов в совокупности данных. Важным представляется согласованность результатов расчета, получаемых разными методами.

С недавнего времени, вместе с совершенствованием возможности работы с лабораторными базами данных, получили развитие автоматические методы непрямого расчета. Работа по созданию и совершенствованию алгоритмов расчета активно проводится авторами методов [14, 21, 25, 28, 45, 53, 55, 76, 96, 100]. Наибольший интерес вызывает вопрос возможности расчета РИ более «сложных» аналитов, со скошенным типом распределения, такие, например, как ТТГ, и Т4св, нижняя граница РИ которых уходит за пределы аналитической чувствительности методики либо находится рядом с ней. Интерес представляют также аналиты для специфического контингента, например, новорожденные и дети. Для решения проблемы отсутствия границ РИ компонентов ОАК для детей Zierk и соавт. в 2013-2019гг. были проведены масштабные расчеты непрямым способом [84, 101]: полученные результаты сравнивались с прямым определением в проекте KiGGS (German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents, проект опроса о состоянии здоровья) [36]. Характерно, что прямые исследования для детей менее 1,5 лет в этом проекте по этическим соображениям не были проведены. Проект PEDREF (Next-Generation Pediatric Reference Intervals, референтные интервалы нового поколения для педиатрии) - характерный пример возможности определения РИ непрямым способом. В процессе усовершенствования метода расчета для проекта, рассчитанные РИ немного изменились: для схожих возрастов детей более 1,5 лет среднее смещение между РИ, определенными прямым и непрямым методами уменьшилось. Хочется отметить, что оценка относительно среднего смещения представляется неоднозначной. Во многих других случаях используется иная оценка полученных РИ: пересечение ДИ, разница ДИ относительно разницы РИ [52], критерии ТЕ [13, 29] и pD [41].

В литературе имеются данные о расчете РИ непрямым способом различных аналитов, например, глюкозы [46], липазы [14], ТТГ новорожденных [12],

взрослых [18, 75] и пожилого возраста [77], тромбоцитарных индексов [54] и других [19, 72]. Однако, в большинстве случаев, эти расчеты приводятся без сравнения с результатами прямого или других не прямых методов. При этом известно, что принцип расчета каждого непрямого метода имеет собственные свойства и ограничения, в частности в связи с особенностями распределения результатов исследования аналитов.

Для уточнения возможностей использования не прямых методов в зависимости от свойств аналитов, проведены исследования по расчету границ РИ на примере компонентов ОАК (лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, тромбоциты), ТТГ, свободного тироксина. Для исследования были выбраны 4 метода непрямого расчета: *kosmic*, *refineR*, *Bhattacharaya* и *TMC*. Выборки для расчетов были разнообразными по количеству и возрастному составу. Выборка ТТГ оценивалась как имеющая характеристику сильной скошенности и, как следствие, вызывающая большую сложность в расчете границ РИ для не прямых методов. В некоторых случаях было доступно прямое определение РИ популяции (компоненты ОАК для новорожденных 0–3 дня жизни, ТТГ подростков, компоненты ОАК и ТТГ взрослых – данные из литературы), что давало возможность оценить качество расчета РИ не прямым способом. Вместе с этим оценивалась возможность нахождения различных долей патологической фракции в БД для успешного расчета границ РИ (на примере компонентов ОАК, ТТГ). В БД одного из аналитов (ТТГ) присутствовали в основном условно патологические, а не патологические значения (входят в пределы РИ, но принадлежат детям с патологией ЩЖ, не вошедшими в референтную группу для расчета РИ прямым методом), что являлось изучаемой характеристикой выборки. Для компонентов ОАК было оценено влияние количества исследований в БД на результаты расчета РИ различными не прямыми методами путем проведения симуляции количества данных, сформированных из указанной выше выборки взрослых, от 1000 до 50000 результатов исследований (при фиксированном количестве патологических данных). Для выборок компонентов ОАК и ТТГ также оценивалось влияние очистки данных от выбросов перед проведением расчета

различными непрямыми методами. Для этих же выборок было оценено влияние на расчет методом Bhattacharaya опционального для методики проведения трансформации Бокса-Кокса. Проведено исследование влияния параметров различных распределений (асимметрия, эксцесс, коэффициент вариации) на результат расчета РИ.

В качестве критериев оценки качества расчетов использовалось сравнение с границами РИ прямого определения из той же БД, или по сравнению с результатами больших исследований, представленных в литературе. Численно это сравнение представлено в виде, во-первых, общей ошибки на разных уровнях (TEopt, «более строгий», TEdes, «менее строгий»), во-вторых, критерия rD, специально разработанного для подобных сравнений. Также использовался критерий оценки ширины ДИ как минимальный критерий качества расчета границ РИ для ТМС и в некоторых случаях refineR.

Что касается параметров ОАК (лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, тромбоциты), исследовалась выборка новорожденных с симуляцией присутствия патологических данных в различном процентном соотношении и на разном удалении от центра распределений, и выборка взрослых, с дополнительной симуляцией количества данных для определения минимального количества, необходимого для расчета непрямыми методами. Для БД ОАК был известен пул патологических значений и значений «здоровых» новорожденных, и полученные результаты границ РИ сравнивали с результатами апостериорного прямого определения. Полученные значения РИ новорожденных сложно сравнить с единственным доступным источником масштабных исследований РИ - базы PEDREF, так как в ней границы РИ касаются каждого дня жизни в отдельности [101], а наши расчеты касались первых трех дней жизни суммарно. Полученные значения БД более объемной выборки взрослых 21–78 лет (n=198077), наоборот, сравнивали с историческими данными прямого определения для российской популяции для той же аналитической системы. Также опубликованы более поздние данные для другой аналитической системы, и выборка пула здоровых лиц отличалась по возрасту и составу.

Что касается расчета границ РИ эритроцитов – для немногочисленной выборки новорожденных единственным возможным методом расчета стал refineR. Что касается симуляции доли и расположения патологических значений распределения эритроцитов новорожденных, метод kosmic проводил расчет в большем количестве симулированных выборок, в том числе при удалении патологической выборки от центра (с худшим критерием TE_{des}). Однако, с помощью этого метода не были рассчитаны границы РИ (что может говорить о том, что для расчета методом kosmic нужно большее кол-во исследований). При малом количестве патологических данных до 10% возможен расчет ТМС (на любом расстоянии от центра распределения здоровых лиц), kosmic и refineR (на большем удалении от центра). При присутствии патологических данных только на нижней границе, что может соответствовать содержанию множества БД, метод kosmic позволяет рассчитать РИ в присутствии большего количества (до 30%) патологических значений при их любом расположении (1-2SD), refineR до 10%. Методом Bhattacharaya невозможно было рассчитать границы РИ ни для БД новорожденных, ни в большей части симуляционных исследований. По результатам исследования БД новорожденных и симуляции патологических выборок можно выделить refineR как наилучший метод расчета РИ эритроцитов.

Для большой выборки взрослых все методы рассчитали границы РИ в соответствии с критериями, метод Bhattacharaya показал себя наилучшим образом среди других по соответствию критерию TE_{opt}. При проведении симуляции количества данных стало ясно, что возможность расчета любым непрямым методом начинается от 10000 результатов с количеством патологических значений около 5–10% на нижней границе РИ.

При более прицельном изучении возможностей методов расчета малого количества данных (около 1000 исследований), ТМС и Bhattacharaya являются наиболее приемлемыми, однако такой вывод можно сделать только про выборку взрослых, т.к. на столь же малочисленной выборке новорожденных эти методы не рассчитали РИ в соответствии с установленными критериями (значения эксцессов выборок кардинально отличаются). При количестве данных от 2000 до 10000

большими возможностями обладают Bhattacharaya и refineR, и также kosmic от 5000 результатов.

Также проводилось исследование удаления выбросов из выборок эритроцитов новорожденных и взрослых для изучения необходимости предварительной обработки данных. Выяснено, что для выборки новорожденных удаление выбросов позволило рассчитать границы РИ в соответствии с критериями методом ТМС. Однако, расчет этим методом был затруднен, так как данные были маловариабельны для формирования достаточного количества данных в ячейках и последующего расчета РИ. Границы были рассчитаны только при умножении данных на 10 с последующим делением результата расчета на 10, что вызывает сомнение в использовании этого метода для эритроцитов. Для симуляционных выборок эритроцитов взрослых очистка от выбросов минимально влияет на РИ, в основном на выборках малого объема, положительное влияние оказывается в основном на kosmic, что может снизить количество данных для возможности расчета этим методом.

Выборки лейкоцитов детей и взрослых различаются, начиная со значений медианы и продолжая большей асимметрией у взрослых, поэтому сложно говорить о прямой аналогии расчета выборок. Методом выбора для расчета границ РИ для БД новорожденных послужил kosmic и, при менее строгих критериях, ТМС. Согласно данным проведения симуляции, первым методом возможно рассчитать 10–15% патологии при ее более дальнем расположении, вторым – при более ближнем.

Расчет выборки взрослых, начиная с 50000 результатов, был возможен всеми методами (kosmic при наилучшем соответствии критериям) кроме Bhattacharaya. Расчет ТМС возможен от количества данных 1000, refineR от 2000. Исследование необходимости удаления выбросов показало ухудшение результатов во многих случаях почти для всех методов (в меньшей степени – для ТМС). Распределение лейкоцитов характеризуется скошенностью, и проведение трансформации распределения при использовании метода Bhattacharaya позволило рассчитать РИ большинства распределений количественной симуляции

и данные полной БД лейкоцитов взрослых. В литературе также опубликован лучший вариант расчета РИ лейкоцитов методами Bhattacharaya чем, Хоффманн и kosmic [97]. Подобные данные о возможности наилучшего расчета методом Bhattacharaya.

Таким образом, для расчета выборок лейкоцитов можно выделить метод kosmic, в случае с выборками взрослых - при количестве результатов в БД от 50000, TMC и refineR – при меньшем количестве.

Что касается определения гемоглобина, распределение выборки новорожденных скорее всего имело специфику, которая не позволила ни по одному критерию определить нижние границы РИ ни одним методом. Примечательно, что в распределении гемоглобина новорожденных значения, определенные как патологические, располагались вблизи нижней границы (условно-патологические значения) и могли повлиять на расчет РИ. Возможно, для расчета границ гемоглобина требуется большее количество данных, например, при схожести ширины выборок новорожденных и взрослых (скошенность немного отличается), при большем объеме данных границы РИ взрослых рассчитаны более корректно). В расчете симулированных выборок патологических данных можно выделить метод kosmic, который при менее строгих критериях рассчитал РИ корректно при любом расположении патологической выборки нижней и обеих границ РИ. Получены данные, что метод kosmic обладает преимуществом в определении границ РИ гемоглобина, в том числе над РИ, в особенности, в случае расположения пика патологических данных над границами РИ.

Во многих случаях при большем объеме данных выборки взрослых определение нижней границы РИ гемоглобина также было проблемой, и нижняя граница РИ в основном рассчитывалась в соответствии с менее строгим критерием TEDES. Результаты расчета методами Refine и Bhattacharaya как соответствующие наиболее строгим критериям, и kosmic и TMC как соответствующие менее строгим критериям соответствуют данным прямого определения для российской популяции.

При симуляции количества исследований определено, что лучшие методы определения РИ взрослых, Refine и Bhattacharaya, корректно определяют РИ от 1000 исследований для женщин и от 2000 для мужчин. Для расчета границ РИ гемоглобина на малых выборках (1000 исследований) можно выделить только метод ТМС. В целом, ТМС в данном случае можно расценить как приемлемый метод расчета РИ в большинстве ситуаций: и на малом объеме, и на больших данных, с возможностью качественно определять РИ при наличии патологических данных на нижней границе РИ.

Необходимо добавить, что результаты более поздней публикации прямого исследования компонентов ОАК [89] с использованием анализатора другого производителя, схожи с полученным нами результатом, в соответствии с критерием ТЕ, и в этом случае все методы непрямого расчета могут считаться подходящими для расчета. Таким образом, в случае с гемоглобином оценка полученных результатов зависела от выборки расчета прямого определения.

При исследовании исключения выбросов установлено, что для методов ТМС и refineR результаты расчета в основном незначительно улучшались, в отличие от остальных методов, для которых расчет незначительно ухудшался. Проведение трансформации при использовании метода Bhattacharaya также незначительно ухудшило результаты расчета границ РИ.

При расчете РИ тромбоцитов лучшим в расчете выборки новорожденных был метод ТМС, приемлемые – kosmic и refineR, эти же методы позволяли рассчитать границы РИ в симуляции до 30–50% патологии. Для выборки взрослых лучшими методами были Bhattacharaya и kosmic. При проведении симуляционных исследований количества данных определено, что первым методом возможен расчет от 1000, вторым - от 50000 результатов исследований. На малых выборках, до 3000–5000 исследований, возможен расчет методами ТМС и refineR. Сравнение с результатами прямого определения на другой тест-системе показали разительное отличие результатов: возможно, из-за разницы выборок этих прямых определений.

Изучение возможности удаления выбросов показало, что эта процедура позволяет рассчитать границы РИ методом refineR для лиц женского пола, без этой процедуры расчет не соответствовал критериям. Также удаление выбросов позволило рассчитать границы РИ тромбоцитов новорожденных. В остальном с одной стороны, принципиальных изменений расчетов эта процедура не вызвала (незначительное улучшение расчета ТМС), с другой – в нескольких случаях незначительно ухудшила расчет методом refineR более малочисленных выборок.

Методом Bhattacharaya успешно рассчитаны границы РИ тромбоцитов в соответствии с критериями для выборок и новорожденных (с удалением выбросов), и взрослых, однако, необходимо помнить, что в случае использования этого метода человеческий фактор наиболее выражен (и выбор параметров расчета со стороны оператора на этой выборке сложен). Применение трансформации Бокса-Кокса ухудшили результаты расчета этим методом.

Границы РИ ТТГ, в силу клинической важности и отсутствия стандартизации, активно обсуждаются в литературе, включая проведение непрямого расчета [10, 18, 37, 75, 81, 87, 102]. Специфика распределения ТТГ состоит в скошенности и, соответственно, в предполагаемых сложностях с определением границ РИ. Проведено исследование с последующим расчетом границ РИ непрямыми методами несколько лабораторных БД с выборками: взрослых лиц ($n=152472$), с исключением выбросов и без, и малочисленной выборки подростков, с последующей симуляцией значений для увеличения выборки и добавлением в нее условно патологических (входят в пределы РИ, но не входят в референтную выборку) и патологических данных. Полученные границы РИ было возможно оценить сравнивая с опубликованными данными определения РИ прямым способом: для подростков расчет прямым способом был осуществлен на той же БД с определением группы референтных лиц, для взрослых прямой способ расчета был осуществлен на российской популяции для той же тест системы, на которой проводилось исследование ТТГ взрослых лиц с последующим расчетом РИ непрямыми методами.

Расчет РИ ТТГ подростков из базы с большей частью условно-патологических значений был успешен при расчете методами ТМС, Bhattacharaya (при проведении предварительной трансформации Бокса-Кокса) и, при худшем соответствии, RefineR. При исследовании симуляции присутствия патологических значений Bhattacharaya позволил добавить до 30% условной патологии к любой границе и в любом сочетании при проведении предварительной трансформации Бокса-Кокса, а методом ТМС возможно было рассчитать все варианты присутствия условно-патологических значений, однако, при менее строгом критерии.

Расчет РИ методом *kosmic* не всегда соответствовал критериям, как в выборке подростков, так и при симуляции патологических значений. Возможно, подобное сравнение затруднено в связи с тем, что было меньшее количество патологических значений для успешного расчета РИ, чем заявлено авторами метода [100].

Расчет БД взрослых осуществлялся в трех вариантах: без обработки, но с удалением результатов повторных визитов, далее тех же данных с исключением результатов менее 0,2 мМЕ/л и более 10 мМЕ/л, и с исключением из этих данных выбросов. Расчет методами *refineR* и *kosmic* не зависел от обработки данных, методом Bhattacharaya - потребовал минимальной очистки в виде отсеечения кардинально отличающихся значений. Метод ТМС позволил рассчитать в соответствии с критерием только верхнюю границу РИ ТТГ и только при очистке от выбросов. При этом нижняя граница во всех трех выборках ТТГ с различной степенью очистки рассчитывалась стабильно, но не совпадала по значению с остальными расчетами.

Лучшим методом расчета ТТГ можно определить Bhattacharaya, но сам метод подразумевает выставление настроек оператором, что добавляет риск ошибки. Метод ТМС верно рассчитал РИ подростков, но в случае с распределением взрослых произвел верный расчет только верхней границы РИ при удалении выбросов из выборки. Метод Refine при расчете соответствовал критериям, но только за счет ДИ, а при симуляции патологических значений

можно было наблюдать несколько исключений из успешного расчета РИ. Метод *kosmic* на большом количестве данных рассчитал РИ наилучшим образом, без необходимости какой-либо очистки. В литературе, наоборот, встречается упоминание, что при проведении множественной симуляции, результаты расчетов методом *kosmic* в меньшем проценте случаев попадут в пределы $1TE$, чем результаты расчетов методом *Refine* [13]. Это говорит о необходимости собственных расчетов РИ и изучения свойств методов расчета.

Для исследуемых распределений перед расчетом методом *Bhattacharaya* была выполнена трансформация данных, которая позволила рассчитать границы РИ в соответствии с прямым определением (критерий TE_{opt}), что также соответствует литературным данным [81], для всех случаев расчета границ РИ ТТГ: малочисленная выборка подростков, симуляция с увеличением выборки и добавлением патологических данных, и большая выборка с данными взрослых лиц. Стоит, однако, отметить, что расчет РИ этим методом хоть и автоматизирован, но остается графическим, с ручным определением параметров для нормализации распределения и для построения прямой с последующим расчетом РИ, что делает методику не стандартизированной, а результат – зависимым от оператора.

Скошенность – известное свойство распределения ТТГ. Авторы метода *kosmic* утверждают, что метод способен определять РИ для скошенных распределений, вблизи предела чувствительности метода, даже где большая часть данных находится близко к 2,5 перцентилю, и что расчет не зависит от любой очистки данных. Это подтверждается расчетами в нашей работе на большой выборке БД взрослых сильно скошенного распределения ТТГ (не более 7–10% патологических значений): вне зависимости от очистки данных в виде удаления выбросов, исключения данных из отделений с потенциально большим количеством патологических значений – расчет произведен одинаково во всех выборках взрослых. Разница в качестве расчета РИ методом *kosmic* выборки подростков или симуляции условно патологических значений выборки подростков с опубликованными данными может быть вызвана малым

количеством данных или спецификой патологических данных в распределении подростков. Метод ТМС также позиционируется как пригодный для расчета РИ скошенных распределений и методом выбора для расчета таковых [35]. И при расчете РИ ТТГ выборки подростков результаты соответствовали строгому критерию TEopt, наряду с методом Bhattacharya, и при проведении симуляции все расчеты РИ соответствовали TEopt и TEdes, то есть при любой конфигурации патологических значений до 30% включительно. Однако, при проведении расчета выборки взрослых метод оказался зависимым от исключения выбросов. Единственное исключение при симуляции выборки с малым процентом патологических значений - 5%. В выборке взрослых процент патологических значений приближается также к 5%, возможно, для расчета ТТГ методом ТМС в выборках с выбросами сыграл роль недостаточный процент патологических значений для верного расчета.

Проведенное исследование по расчету границ РИ свободного тироксина подчеркивает критическую важность верификации РИ в условиях реальной клинической практики, при соблюдении должного уровня контроля качества [67]. Полученные данные демонстрируют, что использование границ РИ свободного тироксина (в данном случае 11,6–22,0 пмоль/л), указанных в инструкции к тест-системе, может приводить к гипердиагностике при выявлении гипотиреоза. Выявление случаев, когда у пациентов со значениями ТТГ, входящими в пределы РИ и отсутствием клинических проявлений гипотиреоза уровень свободного Т4 находился в диапазоне 10,5–11,6 пмоль/л, потребовало пересмотра существующих референсных значений.

Применение современных методов непрямого расчета для анализа обширной базы данных позволило ликвидировать случаи несоответствия между значениями ТТГ и Т4св и обеспечить корректность клинической трактовки состояния обследуемых. Эти результаты подтверждают, что предлагаемая корректировка РИ способствует повышению точности диагностики и снижению количества ложноположительных результатов.

Основываясь на расчетах, проведенных для различных выборок и разных возрастов компонентов ОАК, ТТГ и Т4св, выбрать общие правила или условия определения РИ всех компонентов ОАК затруднительно, поскольку каждый метод и анализ имеет свои особенности, в частности в связи с количеством анализируемых данных. Так исследовано необходимое количество данных, для успешного расчёта РИ анализов, для чего использовались выборки 1000–50000 из полной БД компонентов ОАК мужчин и женщин, а также оценка количества данных ТТГ подростков и взрослых. В наибольшей степени такая зависимость просматривается для метода *kosmic*: метод рассчитывает границы РИ в соответствии с критериями от 50000 результатов, в некоторых случаях при меньшем количестве (как пример исключения, скошенное малочисленное распределение лейкоцитов этот метод рассчитал лучше всего). Метод ТМС часто проявлял себя, как позволяющий рассчитать самую малочисленную выборку: от 1000 исследований, метод *Refine* – от 2000 исследований. Примером расчета компонентов РИ ОАК можно проиллюстрировать, что при наличии более 50000 результатов возможен расчет любым непрямым методом, с несколькими исключениями. Данные успешного расчета параметров ОАК методом *refineR* также иллюстрируют возможности расчета метода при большом количестве данных [8]. Не менее важный параметр – очистка данных от выбросов. В большинстве случаев удаление выбросов почти не влияло на расчеты или незначительно улучшало или ухудшало их. Вместе с тем удаление выбросов позволило для выборки новорожденных рассчитать границы РИ эритроцитов методом ТМС в соответствии с критериями, и тромбоцитов методом *Bhattacharaya*, а также рассчитать границы РИ методом *refineR* распределения тромбоцитов взрослых женщин (без этой процедуры расчет не соответствовал критериям). Для ТТГ исключение выбросов оказалось важным для метода ТМС, расчет с помощью которого кардинально изменяется. Расчет методом *kosmic* не зависел от удаления выбросов, что совпадает с наблюдениями авторов метода о независимости от удаления выбросов [100]. Расчет методом *Bhattacharaya* соответствовал критериям при первичной очистке данных более 10 мМЕ/л и

менее 0,2 мМЕ/л и при большей очистке. Результаты расчета свободного Т4 не показали зависимости от очистки данных, при этом не имея отличий от метода к методу.

Обсуждаемым фактором в расчете непрямыми способами является трансформация данных перед расчетом. По умолчанию процедура выполняется в `kosmic` и `refineR`. Из наших данных мы поняли, что перед расчетом методом `Bhattacharaya` РИ скошенных распределений в основном требуется трансформации, а в остальных – трансформация ухудшает расчет. Согласно данным [97] влияние трансформации на полученные РИ также небольшое, но при расчете РИ в скошенных распределениях все равно должно выполняться несмотря на то, что пик распределения в трансформированном варианте может быть смещен и РИ определены неточно, что подтверждается нашими данными.

Среди распределений в нашем исследовании было два сильно скошенных – ТТГ и лейкоциты (в литературе распределения этих аналитов также обозначены как скошенные). ТМС описан как успешный метод для расчета РИ скошенных распределений, который, однако, в случае с ТТГ взрослых не сработал, хорошо определилась только верхняя граница при очистке данных. В случае с лейкоцитами, в отличие от ТТГ, метод `kosmic` хуже остальных методов рассчитывал верхнюю границу РИ. Причиной этому могла служить скошенность вправо распределения лейкоцитов, которая после трансформации преобразовалась в наклон, не позволивший определить РИ верно.

Расположение патологических значений также может служить фактором успешности расчета РИ. Авторами [100] выявлены сложности при определении РИ методом `kosmic` в случае расположения пика патологических данных над границами РИ, то есть приблизительно расстояния 2SD от центра распределения здоровых. В нашем случае – минимум удачных определений РИ происходило на расстоянии 1,5SD. Для ТТГ в случае с выборкой подростков было достоверно известно, что патологические значения находятся преимущественно внутри распределения, что, возможно, повлияло на расчет методом `kosmic`.

Патологическая составляющая выборки новорожденных также зачастую входила большей частью в границы РИ.

Распределение каждого аналита имеет свои характеристики, от которых может зависеть расчёт границ РИ. Были также исследованы параметры распределений ОАК, ТТГ, рассчитаны границы РИ для свободного Т4. При этом зависимости качества полученных результатов от количества результатов, показателей асимметрии и эксцесса, удаления выбросов, скошенности распределения, не выявило. Была выявлена слабая отрицательная зависимость результата определения границ РИ методом Bhattacharaya от коэффициента вариации распределения. Сходные данные были отмечены и другими авторами [97, 77].

В литературе проблема определения РИ обозначена, и все больше распространяется не прямой расчет и как способ верификации текущих РИ [87], и как самостоятельный расчет. Сравнительный анализ не прямых методов расчета РИ разных БД показывают, что при количестве данных более 50000 всеми методами и могут быть получены адекватные результаты расчета границ РИ. В большинстве случаев - с выполнением критериев TEopt и pD и почти всегда TEdes. Даже с учетом того, что сравнение производилось нами относительно прямых методов, и возможна разница в исследуемых популяциях, на больших данных получены адекватные результаты. Следует отметить, что на небольшом количестве результатов существенное внимание должно быть уделено возможности использования разных не прямых методов для конкретных параметров крови, поскольку при малом объеме может не быть возможности использования одного метода для всех показателей. Для определения ТТГ это выражается в том, что на определение границ РИ влияет скошенность распределения – лучшим здесь был ТМС. На большом объеме - refineR и kosmic, а также Bhattacharaya, но с применением «ручного» подхода.

Симуляционные исследования показали, что при небольшом, а в некоторых случаях – и при достаточном объеме данных нужен выбор метода для разных параметров, в особенности при количестве данных до 20000, что сохраняет

необходимость выбора конкретного метода. При этом необходимо отметить, что симуляционные условия при возможности оценить различные варианты количества и расположения данных, в том числе патологических, не отражают реальную картину распределений, и предпочтения могут быть в оценке на реальной БД. Ранее описана симуляция либо «оторванная» от БД [95], либо на основе реальных данных с «назначенными» РИ [13, 97, 100].

Таким образом в нашем исследовании с использованием БД измерения аналитов, различающихся по свойствам, оценена возможность расчета приемлемых границ РИ четырьмя разными популярными непрямыми методами, их преимущества и ограничения, зависимость от величины выборки, характера распределения, количества и расположения «патологических» результатов.

ВЫВОДЫ

1. Проведенный опрос лабораторий показал заинтересованность лабораторий к проведению процедур расчета РИ непрямым способом. Из 160 опрошенных респондентов, 142 проявили интерес к вопросу о расчетных методах РИ. Представители трети ответивших лабораторий считают непрямым способ наиболее приемлемым источником установления референтных интервалов.

2. Для оценки возможностей различных непрямых методов расчета РИ предпочтительнее использовать реальные базы данных. Симуляционные исследования с изменением количества и расположения патологических значений в теоретических выборках могут существенно исказить реальные условия.

3. При расчетах РИ на малых выборках наблюдаются значимые различия в результатах в зависимости от выбранного метода для конкретного аналита. На адекватность расчетов существенно влияют: конкретный аналит, размер выборки, скошенность распределения, а также доля и расположение патологических значений. На малых выборках (от 1000 и 2000 результатов соответственно) наиболее корректный расчет обеспечивают методы ТМС и refineR.

4. Процедура очистки данных в большинстве проанализированных случаев не влияла на результаты расчетов РИ (для параметров ОАК при объеме выборки от 1000 до 50000 результатов, для свободного тироксина на 107113 результатов и ТТГ на 10000 и на 152472 результатов исследований). Вместе с тем, в ряде случаев удаление статистических выбросов позволяет улучшить результаты расчета границ РИ. Так, исключение выбросов оказалось важным для расчетов РИ эритроцитов новорожденных методом ТМС, тромбоцитов новорожденных методом Bhattacharya, тромбоцитов взрослых женщин методом refineR. Важное значение процедура очистки выборки имеет для расчета РИ ТТГ методом ТМС, позволившая кардинально улучшить результаты расчета.

5. Нормализация данных, не предусмотренная ранее для метода Bhattacharya, необходима для расчета РИ скошенных распределений. Предварительная нормализация, не предусмотренная изначально в классическом

методе Bhattacharya, необходима для корректного расчета РИ в случае скошенных распределений.

6. Влияние доли патологических результатов было проанализировано на малых выборках ($n=1127$, параметры ОАК) и на больших массивах со скошенным распределением ($n=10000$, ТТГ). Установлено, что предельная доля патологических значений, не искажающая расчет, зависит от их расположения относительно «здоровой» популяции. На малых выборках наиболее устойчивым оказался метод *kosmic*. На больших объемах данных (ТТГ) корректный расчет был возможен при наличии от 15 до 30% патологических значений на одной из границ (или до 60% суммарно при их симметричном расположении).

Выбор непрямого метода расчета РИ зависит от количества данных в выборке. При наличии в базе данных более 50000 результатов методы *kosmic*, *RefineR* и *Bhattacharya* обеспечивают высокую точность расчета независимо от аналита.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Проведенное исследование и его результаты позволяют сформулировать ряд практических рекомендаций специалистам клинической лабораторной диагностики:

1.Рекомендуется использовать не прямые методы расчета для проведения верификации, в том числе при необходимости пересмотра референтных интервалов. Также не прямые методы расчета могут быть использованы для расчета, например, при изменении аналитической системы, в сочетании с клинической верификацией.

2.Рекомендуется при использовании непрямого метода расчета учитывать следующие условия: при наличии большого числа результатов в базе данных (от 50000), вне зависимости от характера распределения данных, могут быть использованы наиболее доступные методы, которыми являются *kosmic*, *RefineR*, *Bhattacharya*; при наличии базе данных с меньшим количеством данных (от 1000 и 2000) рекомендуется использовать расчет методами *TMC* и *refineR*.

3.Рекомендуется с осторожностью использовать изменение данных в виде нормализации распределения и предварительной очистки от статистических выбросов. В большинстве случаев они не влияют на расчет или ухудшают его. Рекомендуется использовать удаление выбросов для расчетов референтных интервалов эритроцитов (новорожденные) методами TMC и тромбоцитов (новорожденные) методом Bhattacharaya, тромбоцитов (взрослые) методом refineR, ТТГ методом TMC. Нормализация данных необходима для расчета референтных интервалов скошенных распределений методом Bhattacharaya.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективой дальнейшей разработки темы является изучение свойств аналитов и каталогизация видов их распределений для наиболее успешного расчета; поиск наиболее подходящего метода для аналитов, не имеющих биологической вариации (например, онкомаркеров). Важной частью исследования представляется исследование свойств других методов непрямого расчета референтных интервалов, при возможности доступного варианта расчета для пользователя.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БД – база данных

ДИ – доверительные интервалы

ОАК – общий анализ крови

РИ – референтные интервалы

ТТГ – тиреотропный гормон

Т₄св – свободный тироксин

ЩЖ – щитовидная железа

HGB – гемоглобин

KiGGS – проект опроса о состоянии здоровья

PEDREF референтные интервалы нового поколения для педиатрии

PLT – тромбоциты

RBC – эритроциты

SD – стандартное отклонение

TMC – Truncated minimum chi-square, усеченная минимальная оценка хи-квадрат: непрямой способ определения референтных интервалов

TE – общая ошибка

WBC – лейкоциты

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ГОСТ Р 53022.3—2008. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов // Clinical laboratory technologies. – 2008.
2. ГОСТ Р ИСО 15189—2015. Медицинские лаборатории. Частные требования к качеству и компетенции. – М., 2015.
3. Евгина С.А., Клименкова О.А., Плеханова О.С. и др. Анализ нормативно-правовых документов в области референтных интервалов // Лабораторная служба. – 2023. – Т. 12, № 2. – С. 44-50.
4. Евгина С.А., Савельев Л.И. Современные теория и практика референтных интервалов // Лабораторная служба. – 2019. – Т. 8, № 2. – С. 36-44.
5. Елисеева Н.А., Савельев Л.И., Филинкова Е.А. и др. Референтные интервалы показателей клинического анализа крови детей первых дней жизни для анализатора Sysmex XN-1000 // Лабораторная служба. – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 31-36.
6. Казакова М.С., Луговская С.А., Долгов В.В. Референсные значения показателей общего анализа крови взрослого работающего населения // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 6. – С.43-49.
7. Кияев А.В., Савельев Л.И., Герасимова Л.Ю. и др. Референтные значения тиреотропного гормона и распространенность субклинических нарушений функции щитовидной железы у подростков в регионе легкого йодного дефицита // Проблемы эндокринологии. – 2008. – Т. 54, № 4. – С. 14-17.
8. Мельничук О.С., Стаценко Л.В., Лялякина Е.В. и др. Непрямые референтные интервалы шести показателей гемограммы, рассчитанные по госпитальным данным // Лабораторная служба. – 2023. – Т. 12, № 2. – С. 26-32.
9. Трошина Е.А., Платонова Н.М., Панфилова Е.А. Динамика эпидемиологических показателей тиреоидной патологии у населения Российской Федерации: аналитический отчет за период 2009-2018 гг. // Проблемы эндокринологии. – 2021. – Т. 67, № 2. – С. 10-19.
10. Agaravatt A., Kansara G., Khubchandani A. et al. Verification of Reference

Interval of Thyroid Hormones With Manual and Automated Indirect Approaches: Comparison of Hoffman, KOSMIC and refineR Methods // *Cureus*. - 2023. - Vol. 15, № 5. - P. e39066.

11. Ahmed S., Agravatt A.K., Siddiqui A. et al. Indirect Reference Intervals of Serum Calcium in Pakistani Children Using KOSMIC, Bhattacharya, and Hoffman Approach // *Clin. Lab.* - 2023. - Vol. 69, № 9.

12. Ahmed S., Siddiqui A., Jafri L. et al. Reference Intervals of Serum TSH from Mixed Distributions Using Truncation Points and the Kolmogorov-Smirnov Distance // *Clin. Lab.* - 2022. - Vol. 68, № 7. - P.

13. Ammer T., Schützenmeister A., Rank C.M. et al. Estimation of Reference Intervals from Routine Data Using the refineR Algorithm-A Practical Guide // *J. Appl. Lab. Med.* - 2023. - Vol. 8, № 1. - P. 84-91.

14. Amodeo B., Schindler A., Schacht U. et al. Calculation of indirect reference intervals of plasma lipase activity of adults from existing laboratory data based on the Reference Limit Estimator integrated in the OPUS::L information system // *J. Lab. Med.* - 2021. - Vol. 45, № 2. - P. 131-134.

15. Anker S.C., Morgenstern J., Adler J. et al. Verification of sex- and age-specific reference intervals for 13 serum steroids determined by mass spectrometry: evaluation of an indirect statistical approach // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2022. - Vol. 61, № 3. - P. 452-463.

16. Arzideh F., Brandhorst G., Gurr E. et al. An improved indirect approach for determining reference limits from intra-laboratory databases exemplified by concentrations of electrolytes // *J. Lab. Med.* - 2009. - Vol. 33. - P. 52-66.

17. Arzideh F., Wosniok W., Gurr E. et al. A plea for intralaboratory reference limits. Part 2. A bimodal retrospective concept for determining reference limits from intra-laboratory databases demonstrated by catalytic activity concentrations of enzymes // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2007. - Vol. 45, № 8. - P. 1043-1057.

18. Arzideh F., Wosniok W., Haeckel R. Indirect reference intervals of plasma and serum thyrotropin (TSH) concentrations from intra-laboratory data bases from several German and Italian medical centres // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2011. - Vol. 49,

№ 4. - P. 659-664.

19. Arzideh F., Wosniok W., Haeckel R. Reference limits of plasma and serum creatinine concentrations from intra-laboratory data bases of several German and Italian medical centres: comparison between direct and indirect procedures // Clin. Chim. Acta. - 2010. - Vol. 411. - P. 215-221.

20. Arzideh F., Özcürümez M., Albers E. et al. Indirect estimation of reference intervals using first or last results and results from patients without repeated measurements // J. Lab. Med. - 2021. - Vol. 45, № 2. - P. 103-109.

21. Baadenhuijsen H., Smit J.C. Indirect estimation of clinical chemical reference intervals from total hospital patient data: application of a modified Bhattacharya procedure // J. Clin. Chem. Clin. Biochem. - 1985. - Vol. 23. - P. 829-839.

22. Badrick T., El-Khoury J.M., Theodorsson E. Laboratory reference intervals - history and modern approaches for improved utility // Scand. J. Clin. Lab. Invest. - 2025. - Vol. 85, № 4. - P. 229-241.

23. Barth J.H., Spencer J.D., Goodall S.R. et al. Reference intervals for thyroid hormones on Advia Centaur derived from three reference populations and a review of the literature // Ann. Clin. Biochem. - 2016. - Vol. 53, № 3. - P. 385-389.

24. Bechtel J.M. Simplified estimation of normal ranges from routine laboratory data // Clin. Chim. Acta. - 1970. - Vol. 28. - P. 119-125.

25. Benaglia T., Chauveau D., Hunter D.R. et al. Mixtools: an R package for analyzing finite mixture models // J. Stat. Software. - 2009. - Vol. 32. - P. 1-29.

26. Bhattacharya C.G. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components // Biometrics. - 1967. - Vol. 23. - P. 115-135.

27. Brinkworth R.S.A., Whitham E., Nazeran H. Establishment of paediatric biochemical reference intervals // Ann. Clin. Biochem. - 2004. - Vol. 41. - P. 321-329.

28. Bunch D.R., Koch C.D. Reference Intervals: A Hoffmann Method Improvement? // J. Appl. Lab. Med. - 2024. - Vol. 9, № 2. - P. 197-200.

29. Carobene A., Henny J., Vos M.S. et al. The European Biological Variation Study (EuBIVAS): a summary report // Clin. Chem. Lab. Med. - 2021. - Vol. 60, № 4. - P. 505-517.

30. Chesher D. Bellview: A tool to perform Bhattacharya analysis on laboratory data // [<https://sourceforge.net/projects/bellview/>]. Дата обращения: 01.07.2025г.

31. Cleophas T.J., Zwinderman A.H. Gamma distribution for estimating the predictors of medical outcome scores (110 patients) // Machine learning in medicine - a complete overview. - 2015. - P. 651-657.

32. CLSI Document C28-A3c. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline - third edition. - 2010.

33. Cohen A.C. Truncated and censored samples, theory and applications. - 1991.

34. DGKL Sheet. Permissible difference pD. - [<https://dgkl.de/?s=+permissible+difference+pD>]. Дата обращения: 01.07.2025г.

35. Dirks N.F., Schoor N.M., Ittermann T. et al. Should we depend on reference intervals from manufacturer package inserts? Comparing TSH and FT4 reference intervals from four manufacturers with results from modern indirect methods and the direct method // Clin. Chem. Lab. Med. - 2024. - Vol. 62, № 7. - P. 1352-1361.

36. Dortschy R., Schaffrath R.A., Scheidt-Nave C. et al. Bevölkerungsbezogene Verteilungswerte ausgewählter Laborparameter aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS) // Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. - 2009.

37. Drees J.C., Huang K., Petrie M.S. et al. Reference Intervals Generated by Electronic Medical Record Data Mining with Clinical Exclusions: Age-Specific Intervals for Thyroid-Stimulating Hormone from 33038 Euthyroid Patients // J. Appl. Lab. Med. - 2018. - Vol. 3, № 2. - P. 231-239.

38. Evgina S., Ichihara K., Sukhacheva E. et al. Establishing reference intervals for major biochemical analytes for the Russian population: a research conducted as a part of the IFCC global study on reference values // Clin. Biochem. - 2020. - Vol. 81. - P. 47-58.

39. Farrell C.L., Nguyen L. Indirect Reference Intervals: Harnessing the Power of Stored Laboratory Data // Clin. Biochem. Rev. - 2019. - Vol. 40, № 2. - P. 99-111.

40. Fraser C.G. Inherent biological variation and reference values // Clin. Chem. Lab. Med. - 2004. - Vol. 42. - P. 758-764.

41. German Society of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Decision limits/guideline values. - [www.dgkl.de/arbeitsgruppen/entscheidungsgrenzenrichtwerte]. Дата обращения: 01.07.2025г.

42. Haeckel R., Wosniok W., Arzideh F. A plea for intra-laboratory reference limits. Part 1. General considerations and concepts for determination // Clin. Chem. Lab. Med. - 2007. - Vol. 45, № 8. - P. 1033-1042.

43. Haeckel R., Wosniok W., Gurr E. et al. Permissible limits for uncertainty of measurement in laboratory medicine // Clin. Chem. Lab. Med. - 2015. - Vol. 53. - P. 1161-1171.

44. Haeckel R., Wosniok W. Observed, unknown distributions of clinical chemical quantities should be considered to be log-normal: a proposal // Clin. Chem. Lab. Med. - 2010. - Vol. 48. - P. 1393-1396.

45. Haeckel R., Wosniok W., Torge A. et al. Age and sex dependent reference intervals for uric acid estimated by the truncated minimum chi-square (TMC) approach, a new indirect method // J. Lab. Med. - 2020. - Vol. 44. - P. 157-163.

46. Haeckel R., Wosniok W., Torge A. et al. Age and sex dependent reference intervals for random plasma/serum glucose concentrations related to different sampling devices and determined by an indirect procedure with data mining: Urgent plea for studying the diagnostic efficiency of various concepts proposed to improve the pre-examination phase for determining blood glucose concentrations // J. Lab. Med. - 2021. - Vol. 45, № 2. - P. 95-101.

47. Haeckel R., Wosniok W., Streichert T. et al. Review of potentials and limitations of indirect approaches for estimating reference limits/intervals of quantitative procedures in laboratory medicine // J. Lab. Med. - 2021. - Vol. 45, № 2. - P. 35-53.

48. Haeckel R., Wosniok W., Arzideh F. Equivalence limits of reference intervals for partitioning of population data. Relevant differences of reference limits // LaboratoriumsMedizin. - 2016. - Vol. 40, № 3. - P. 199-205.

49. Haeckel R., Wosniok W., Torge A. et al. Reference limits of high-sensitive cardiac troponin T indirectly estimated by a new approach applying data mining. A

special example for measurands with a relatively high percentage of values at or below the detection limit // J. Lab. Med. - 2021. - Vol. 45, № 2. - P. 87-94.

50. Harris E.K. Effects of intra- and interindividual variation on the appropriate use of normal ranges // Clin. Chem. - 1974. - Vol. 20. - P. 1535-1542.

51. Hemel J.B., Hindriks F.R., van der Slik W. Critical discussion on a method for derivation of reference limits in clinical chemistry from a patient population // J. Automat. Chem. - 1985. - Vol. 7. - P. 20-30.

52. Henny J., Vassault A., Boursier G. et al. Recommendation for the review of biological reference intervals in medical laboratories // Clin. Chem. Lab. Med. - 2016. - Vol. 54, № 12. - P. 1893-1900.

53. Hepp T., Zierk J., Rauh M. et al. Latent class distributional regression for the estimation of non-linear reference limits from contaminated data sources // BMC Bioinformatics. - 2020. - Vol. 21. - P. 524.

54. Hermann W., Risch L., Grebhardt C. et al. Reference intervals for platelet indices in seniors and frequency of abnormal results in a population-based setting: a comparison between directly and indirectly estimated reference intervals // J. Lab. Med. - 2021. - Vol. 45, № 2. - P. 125-129.

55. Hoffmann G., Lichtinghagen R., Wosniok W. Simple estimation of reference intervals from routine laboratory tests // J. Lab. Med. - 2015. - Vol. 39. - P. 389-402.

56. Hoffmann R.G. Statistics in the practice of medicine // JAMA. - 1963. - Vol. 185. - P. 864-873.

57. Hollowell J.G., Staehling N.W., Flanders W.D. et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) // J. Clin. Endocrinol. Metab. - 2002. - Vol. 87, № 2. - P. 489-499.

58. Holmes D.T., Buhr K.A. Widespread Incorrect Implementation of the Hoffmann Method, the Correct Approach, and Modern Alternatives // Am. J. Clin. Pathol. - 2019. - Vol. 151, № 3. - P. 328-336.

59. Horn P.S., Feng L., Li Y. et al. Effect of outliers and non-healthy individuals on reference interval estimation // Clin. Chem. - 2001. - Vol. 47. - P. 2137-2145.

60. Analyse-it Software, Ltd. Analyse-it: Statistical software for Microsoft Excel. - [Дата обращения: 01.07.2025г.].
61. GoCrunch. BhattApp: A Shiny application for Bhattacharya analysis. - [Дата обращения: 01.07.2025г.].
62. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. - [Дата обращения: 01.07.2025г.].
63. Hyltoft Petersen P., Blaabjerg O., Andersen M. et al. Graphical interpretation of confidence curves in rankit plots // Clin. Chem. Lab. Med. - 2004. - Vol. 42. - P. 715-724.
64. Ichihara K, Boyd JC, IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL). An appraisal of statistical procedures used in derivation of reference intervals. Clin Chem Lab Med 2010;48:1537–51.
65. Ichihara K., Boyd J.C. An appraisal of statistical procedures used in derivation of reference intervals // Clin. Chem. Lab. Med. - 2010. - Vol. 48. - P. 1537-1551.
66. Ichihara K., Ozarda Y., Barth J.H. et al. A global multicentre study on reference values: 2. Exploration of sources of variation across the countries // Clin. Chim. Acta. - 2017. - Vol. 467. - P. 83-97.
67. Jones G.R.D. The role of EQA in harmonization in laboratory medicine - a global effort // Biochimica medica. - Vol. 27 - P. 23-29.
68. Jones G.R. Bhattacharya spreadsheet. - 2021. - [Дата обращения: 01.07.2025г.].
69. Jones G.R.D., Haeckel R., Loh T.P. et al. Indirect methods for reference interval determination - review and recommendations // Clin. Chem. Lab. Med. - 2019. - Vol. 57. - P. 20-29.
70. Jones G.R.D. Estimates of Within-Subject Biological Variation Derived from Pathology Databases: An Approach to Allow Assessment of the Effects of Age, Sex, Time between Sample Collections, and Analyte Concentration on Reference Change Values // Clin. Chem. - 2019. - Vol. 65, № 4. - P. 579-588.
71. Kallner A., Gustavsson E., Hendig E. Can age and sex related reference

intervals be derived for non-healthy and non-diseased individuals from results of measurement in primary health care? // Clin. Chem. Lab. Med. - 2000. - Vol. 38. - P. 633-654.

72. Katayev A., Balciza C., Seccombe D.W. Establishing reference intervals for clinical laboratory test results; is there a better way? // Am. J. Clin. Pathol. - 2010. - Vol. 133. - P. 175-177.

73. Klawonn F., Hoffmann G., Orth M. Quantitative laboratory results: normal or lognormal distribution? // J. Lab. Med. - 2020. - Vol. 44. - P. 143-150.

74. Kostanek J., Karolczak K., Kuliczowski W. et al. Bootstrap Method as a Tool for Analyzing Data with Atypical Distributions Deviating from Parametric Assumptions: Critique and Effectiveness Evaluation // Data. - 2024. - Vol. 9, № 8. - P. 95.

75. Lo Sasso B., Vidali M., Scazzone C. et al. Reference interval by the indirect approach of serum thyrotropin (TSH) in a Mediterranean adult population and the association with age and gender // Clin. Chem. Lab. Med. - 2019. - Vol. 57, № 10. - P. 1587-1594.

76. Lykkeboe S., Larsen A.H., Petersen P.H. et al. Indirect method for validating transference of reference intervals // Clin. Chem. Lab. Med. - 2018. - Vol. 56, № 3. - P. 463-470.

77. Ma C., Zou Y., Hou L. et al. Validation and comparison of five data mining algorithms using big data from clinical laboratories to establish reference intervals of thyroid hormones for older adults // Clin. Biochem. - 2022. - Vol. 107. - P. 40-49.

78. Macdonald P., Juan D.U. Mixdist: Finite Mixture Distribution Models. - 2018. - [<https://CRAN.R-project.org/package=mixdist>, 2018]. [Дата обращения: 01.07.2025г.].

79. Martinez-Sanchez, Luisa et al. Indirect determination of biochemistry reference intervals using outpatient data. PloS one. Vol. 17,5 e0268522

80. Martinez-Sanchez L., Marques-Garcia F., Ozarda Y. et al. Big data and reference intervals: rationale, current practices, harmonization and standardization prerequisites and future perspectives of indirect determination of reference intervals

using routine data // Adv. Lab. Med. - 2020. - Vol. 2, № 1. - P. 9-25.

81. Mokhtar K.M. TSH continuous reference intervals by indirect methods: A Comparisons to Partitioned Reference Intervals // Clin. Biochem. - 2020. - Vol. 85. - P. 53-56.

82. Neumann G.J. The determination of normal ranges from routine laboratory data // Clin. Chem. - 1968. - Vol. 14. - P. 979-988.

83. Oosterhuis W.P., Modderman T.A., Pronk C. Reference values: Bhattacharya or the method proposed by the IFCC? // Ann. Clin. Biochem. - 1990. - Vol. 27. - P. 359-365.

84. PedRef Study Group. Pediatric reference intervals for hematology parameters. - [www.pedref.org/hematology]. [Дата обращения: 01.07.2025г.].

85. Pekelharing J.M., Hauss O., de Jonge R. et al. // Sysmex J. Int. - 2010. - Vol. 20, № 1. - P. 1-11.

86. Pelanti J., Lamberg T., Salopuro T. et al. Changing Immunochemistry Platforms: Thyroid Function Test Comparison and Reference Intervals Based on Clinical Needs // J. Appl. Lab. Med. - 2022. - Vol. 7, № 6. - P. 1438-1444.

87. Płaczkowska S., Terpińska M., Piwowar A. Establishing laboratory-specific reference intervals for TSH and fT4 by use of the indirect Hoffman method // PLoS One. - 2022. - Vol. 17, № 1. - P. e0261715.

88. Pryce J.D. Level of haemoglobin in whole blood and red blood-cells, and proposed convention for defining normality // Lancet. - 1960. - Vol. 2. - P. 333-336.

89. Ruzhanskaya A., Ichihara K., Sukhacheva E. et al. Derivation of Russian-specific reference intervals for complete blood count, iron markers and related vitamins // PLoS ONE. - 2024. - Vol. 19, № 9. - P. e0304020.

90. Schmidt R.L., Straseski J.A., Raphael K.L. et al. A Risk Assessment of the Jaffe vs Enzymatic Method for Creatinine Measurement in an Outpatient Population // PLoS One. - 2015. - Vol. 10, № 11. - P. e0143205.

91. Siest G., Henny J., Gräsbeck R. et al. The theory of reference values: an unfinished symphony // Clin. Chem. Lab. Med. - 2013. - Vol. 51, № 1. - P. 47-64.

92. Sikaris K.A. Separating disease and health for indirect reference intervals // J.

Lab. Med. - 2021. - Vol. 45, № 2. - P. 55-68.

93. Solberg H.E. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values // J. Clin. Chem. Clin. Biochem. - 1987. - Vol. 25. - P. 645-656.

94. Surks M.I., Hollowell J.G. Age-specific distribution of serum thyrotropin and antithyroid antibodies in the U.S. population: implications for the prevalence of subclinical hypothyroidism // J. Clin. Endocrinol. Metab. - 2007. - Vol. 92, № 12. - P. 4575-4582.

95. Tan R.Z., Markus C., Vasikaran S. et al. Comparison of 8 methods for univariate statistical exclusion of pathological subpopulations for indirect reference intervals and biological variation studies // Clin. Biochem. - 2022. - Vol. 103. - P. 16-24.

96. Wosniok W., Haeckel R. A new indirect estimation of reference intervals: truncated minimum chi-square (TMC) approach // Clin. Chem. Lab. Med. - 2019. - Vol. 57, № 12. - P. 1933-1947.

97. Yang D., Su Z., Mu R. et al. Effects of Using Different Indirect Techniques on the Calculation of Reference Intervals: Observational Study // J. Med. Internet Res. - 2023. - Vol. 25. - P. e45651.

98. Zhang Y., Huang Y., Wang Q. et al. Limitations of the Hoffmann method for establishing reference intervals using clinical laboratory data // Clin. Biochem. - 2019. - Vol. 63. - P. 79-84.

99. Zierk J., Arzideh F., Haeckel R. et al. Indirect determination of pediatric blood count reference intervals // Clin. Chem. Lab. Med. - 2013. - Vol. 51. - P. 863-872.

100. Zierk J., Arzideh F., Kapsner L.A. et al. Reference Interval Estimation from Mixed Distributions using Truncation Points and the Kolmogorov-Smirnov Distance (kosmic) // Sci. Rep. - 2020. - Vol. 10. - P. 1704.

101. Zierk J., Hirschmann J., Toddenroth D. et al. Next-generation reference intervals for pediatric hematology // Clin. Chem. Lab. Med. - 2019. - Vol. 57, № 10. - P. 1595-1607.

102. Zöphel K., Wunderlich G., Grüning T. et al. Wo beginnt die subklinische Hypothyreose? Implikationen zur Definition der oberen Referengrenze für Thyreotropin // Nuklearmedizin. - 2005. - Vol. 44, № 2. - P. 56-61.

Приложение 1

Анкета, предоставленная респондентам для опроса по источникам использования референтных интервалов

Номер п/п	Вопрос	Вариант ответа
1	Пожалуйста, укажите адрес вашей электронной почты	
2	Пожалуйста, укажите ваши ФИО	
3	Пожалуйста, укажите город и название лаборатории, в котором Вы работаете	
4	Как давно вы работаете в данной лаборатории?	
5	Какую должность вы занимаете?	
6	Отметьте тип Вашей лаборатории:	А) Государственная (нецентрализованная) Б) Частная (нецентрализованная) В) Централизованная, государственная Г) Централизованная, частная Д) Государственно-частное партнерство
7	Каковы источники референсных интервалов, используемых в вашей лаборатории? (можно выбрать несколько вариантов)	А) Вкладыши к реагентам Б) Большие исследования, монографии В) Рекомендации (международные и российские) Г) Справочник Тица Д) Опубликованные РИ в других справочниках Е) Взятые РИ из других лабораторий Ж) Самостоятельный расчет РИ из собственной базы данных З) Другое
8	Какое количество проб крови производит Ваша лаборатория в день?	А) до 500 Б) 500 - 2500 В) более 2500
9	Если бы выбор зависел только от Вас, какие источники референсных значений Вы предпочли бы использовать?	

- А) Вкладыши к реагентам
- Б) Большие исследования, монографии
- В) Рекомендации (международные и российские)
- Г) Справочник Тица
- Д) Опубликованные РИ в других справочниках
- Е) Взятые РИ из других лабораторий
- Ж) Расчитанные прямым методом
- З) Самостоятельный расчет РИ из собственной базы данных/перенос РИ (непрямой метод)
- И) Ваш вариант _____

10 Отметьте ниже, для каких из следующих тестов вы предоставляете референсные интервалы отдельно для разных возрастов (Вы можете выбрать несколько вариантов ответов):

- А) Креатинин
- Б) Билирубин
- В) ТТГ
- Г) Т4 свободный
- Д) Железо

11 Каковы источники этих референсных интервалов? (можно выбрать несколько вариантов, если в предыдущем вопросе вы выбрали несколько ответов)

- А) Вкладыши к реагентам
- Б) Большие исследования, монографии
- В) Рекомендации (международные и российские)
- Г) Справочник Тица
- Д) Опубликованные РИ в других справочниках
- Е) Взятые РИ из других лабораторий
- Ж) Самостоятельный расчет РИ из собственной базы данных (непрямой метод)/перенос РИ
- З) Ваш вариант _____

12 Укажите, для каких из следующих тестов вы предоставляете референсные интервалы отдельно для мужчин и женщин (Вы можете выбрать несколько вариантов ответов):

- А) АСТ
- Б) АЛТ
- В) Натрий

13 Предоставляет ли Ваша лаборатория специфические референсные интервалы для людей старше 70 лет по каким-либо анализам?

- А) Да
- Б) Нет

- 14 Если вы ответили «да» на предыдущий вопрос, напишите, пожалуйста, для каких анализов Вы предоставляете отдельные референсные интервалы для людей старше 70 лет:

(перечислить)

- 15 Бывают ли случаи, когда на бланке выдачи Ваша лаборатория предоставляет рекомендации международных сообществ помимо референсных значений (например, холестерин, гликированный гемоглобин)?

- А) Да, для холестерина
- Б) Да, для гликированного гемоглобина
- В) Да, для ПСА
- Г) Да, для ТТГ
- Д) Нет
- Е) Другие анализы

- 16 Предоставляет ли Ваша лаборатория специфические референсные интервалы для беременных женщин по каким-либо анализам?

- А) Да
- Б) Нет

- 17 Если вы ответили «да» на предыдущий вопрос, уточните, пожалуйста, для каких анализов вы предоставляете отдельные референсные интервалы для беременных женщин?

- А) Вкладыши к реагентам
- Б) Большие исследования, монографии
- В) Рекомендации (международные и российские)
- Г) Справочник Тица
- Д) Опубликованные РИ в других справочниках
- Е) Самостоятельный расчет РИ из собственной базы данных/ (непрямой метод) перенос РИ
- Ж) Ваш вариант _____

- 18 Вопрос о гемостазе: если вы используете реагенты, отличные от реагентов производителей приборов (сторонние производители реагентов), пожалуйста, укажите, какие РИ вы используете?

- А) Используются реагенты того же производителя, что и производитель прибора
- Б) Вкладыши к реагентам производителей приборов
- В) Вкладыши к реагентам стороннего производителя реагентов
- Г) Опубликованные РИ в справочниках
- Д) Ваш вариант _____

- 19 **Финальный (открытый)**

(Мы обещали вам короткий опрос и понимаем, что вы очень заняты. Поэтому благодарим вас за участие, вы можете нажать кнопку «завершить». **Но, Если у вас есть время и вы готовы поделиться с нами дополнительной информацией, опишите, пожалуйста, в свободной форме ответы на вопросы:**

Какие источники РИ вы используете для оценки системы гемостаза?
Как вы оцениваете значение МИЧ? Используете ли вы для работы реагенты того же производителя, что и анализатор?

Есть ли какие-то источники РИ по анализам, которые не обсуждались в опросе, отличные от вкладышей к реагентам и справочника Тица, которые вы используете в лаборатории? Если вы используете РИ, взятые из монографий, пожалуйста, укажите, названия и авторов. Как вы выбираете РИ для различных анализов? Есть ли в вашей лаборатории документ, в котором были бы указаны РИ всех анализов, выполняющихся в лаборатории их источники?