

Mi (nem) számít normálisnak? – A laboratóriumi referenciaintervallum meghatározásának kihívásai napjainkban

Papp Éva Katinka dr.  ▪ Vásárhelyi Barna dr. ▪ Láng Orsolya Márta dr.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Budapest

Az orvosi döntéshozatal egyik alapja a laboratóriumi diagnosztika, egy interpretatív tudományterület. Az eredmények értékeléséhez elengedhetetlen a fiziológias és a kóros értékek definiálása a referenciaintervallumok alapján. A referenciaintervallumok mai modern keretrendszere a klinikai kémia és a laboratóriumi orvoslás fejlődésével párhuzamosan alakult ki. Ma már számos módszer teszi lehetővé a referenciaintervallum meghatározást, amelyek használatát nemzetközi irányelvek szabályozzák. A referenciapopuláció létrehozásához szükséges mintaválasztás megközelítései alapján az irányelvek direkt és indirekt módszereket különböztetnek meg. Az aranystandardnak számító direkt módszer mellett a laboratóriumi orvoslás, a számítástechnika és a statisztika fejlődésével egyre nagyobb teret nyernek az indirekt mintavételezésen alapuló módszerek. Az indirekt módszerek lehetővé teszik a rutinmérések során keletkező, akár több tíz- vagy százezer eredményből álló adatsor feldolgozását és retrospektív elemzés révén a referenciaintervallum-számítás elvégzését. A jelen áttekintés célja, hogy bemutassa a referenciaintervallum koncepcióját, valamint röviden ismertesse a meghatározásához alkalmazott főbb direkt és indirekt módszereket. Orv Hetil. 2026; 167(36): 1415–1428.

Kulcsszavak: referenciaintervallum, laboratóriumi diagnosztika, direkt és indirekt referenciaintervallum-számolási módszerek, adatbányászat

What is (not) considered normal? – Contemporary challenges of establishing laboratory reference intervals

One of the foundations of medical decision-making is laboratory diagnostics, an interpretive field of science. The interpretation of results requires the definition of normal and pathological values based on reference intervals. The modern framework of reference intervals has gradually evolved, in parallel with the development of clinical chemistry and laboratory medicine. Nowadays, there are numerous statistical methods available for determining reference intervals, regulated by international guidelines. Based on the approaches to select the required samples for establishing a reference population, current guidelines distinguish between direct and indirect methods for determining reference intervals. In addition to the direct method, which is considered the gold standard, methods based on indirect sampling are gaining ground with the development of laboratory medicine, computer technology and statistics. The indirect methods enable the processing of data sets consisting of tens or hundreds of thousands of results generated during routine measurement, and through retrospective analysis, the calculation of reference intervals. The aim of this review is to present the concept of the reference interval and to provide a concise overview of the main direct and indirect methods used for its establishment.

Keywords: reference interval, laboratory medicine, direct and indirect reference interval calculation methods, data mining

Papp ÉK, Vásárhelyi B, Láng OM. [What is (not) considered normal? – Contemporary challenges of establishing laboratory reference intervals]. Orv Hetil. 2026; 167(36): 1415–1428.

(Beérkezett: 2026. május 4.; elfogadva: 2026. június 6.)

Rövidítések

ALP = (alkaline phosphatase) alkalikus foszfatáz; CDL = (clinical decision limit) klinikai döntési határérték; CI = (confidence interval) konfidenciaintervallum; CLSI = (Clinical and Laboratory Standards Institute) Klinikai és Laboratóriumi Szabványok Intézete; C-RIDL = (Committee on Reference Interval and Decision Limits) Referenciaintervallumok és Döntési Határok Bizottsága; DGKL = (Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin) Német Klinikai Kémiai és Laboratóriumi Medicina Társaság; EHR = (Electronic Health Records) Elektronikus Egészségügyi Nyilvántartás; EM = (expectation maximization) elvárásmaximalizálás, indirekt statisztikai megközelítés a referenciaintervallumok becsléséhez; EU IVDR (2017/746) = (EU In Vitro Diagnostic Medical Devices Regulation) átfogó jogi szabályozás, amely az *in vitro* diagnosztikai orvostechinikai eszközök forgalomba hozatalát és használatba vételét szabályozza az Európai Unióban; fT3 = (free triiodothyronine) szabad trijód-tironin; fT4 = (free thyroxine) szabad tiroxin; GAMLSS = (generalized additive models for location, scale and shape) helyzet-, skála- és alakparaméterekre vonatkozó általánosított additív modellek; GDPR = (General Data Protection Regulation) az Európai Unió Általános Adatvédelmi Rendelete; GGT = gamma-glutamil-transzferáz; HDL = (high-density lipoprotein) nagy sűrűségű lipoprotein; Hgb = hemoglobin; IFCC = (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) Nemzetközi Klinikai Kémiai és Laboratóriumi Orvostudományi Szövetség; IgG = immunglobulin-G; ISO = (International Organization for Standardization) Nemzetközi Szabványügyi Szervezet; LIS = (laboratory information system) laboratóriumi informatikai rendszer; LR = (likelihood ratio) valószínűségi arány; Q-Q = (quantile–quantile) kvantilis–kvantilis; RLE = (reference limit estimator) referenciahatár-becslő szoftver; SD = szórás; SPSS = (Statistical Package for the Social Sciences) statisztikai programcsomag a társadalomtudományokhoz; TF-GRID = (Task Force – Global Reference Interval Database) Globális Referenciaintervallum-adatbázis Munkacsoport; TMC = (truncated minimum chi-square) csonkolt minimum khi-négyszet-teszt, indirekt statisztikai megközelítés a referenciaintervallumok becsléséhez; TML = (truncated maximum likelihood) csonkolt legnagyobbvalószínűség-számítás, indirekt statisztikai megközelítés a referenciaintervallumok becsléséhez; TSH = (thyroid-stimulating hormone) pajzsmirigy-stimuláló hormon

Az orvoslás egyik alapja a megfelelő tudományos bizonyítékokon alapuló tájékozott döntéshozatal [1]. Egyes becslések szerint, az orvosi döntések mintegy 70%-a laboratóriumi eredményeken alapul, ezeknek óriási szerepük van az akut döntéshozatal és a későbbi prognózis megítélése szempontjából egyaránt [2, 3]. A laboratóriumi eredmények megfelelő interpretálásához elengedhetetlen a referenciaintervallumok precíz meghatározása, amelyek alapvető támpontot jelentenek a diagnózis, a prognózis és a terápiamonitorozás szempontjából [4, 5].

A normáltartománytól a referenciaintervallumig

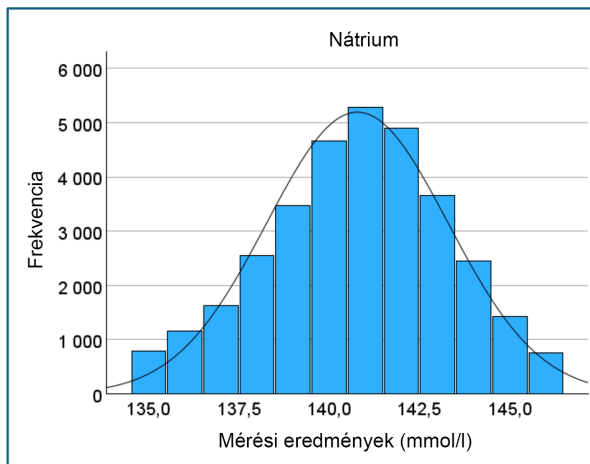
A referenciaintervallum fejlődése szorosan összefügg a laboratóriumi orvoslás fejlődésével, mely utóbbi gyökerei a 19. század elejére nyúlnak vissza, ekkor kezdték el rendszeresen alkalmazni a klinikai kémiát az orvostudományban. A 19. század második felére a kórházak elkezdtek integrálni a laboratóriumokat a gyógyító gyakorlatukba, ennek következtében az ágy melletti megfigyelésekkel szemben előtérbe kerültek a pontos laboratóriumi mérések. A laboratóriumi diagnosztika a betegellátás rendszeres részévé vált [6, 7].

A 20. században a laboratóriumi orvoslás önálló tudományterületté vált, fejlődésének meghatározó mérföldköve volt a referenciaintervallumok koncepciójának bevezetése, amelyet először normáltartományként emlegettek [8]. A kifejezés megváltoztatásának oka egy újonnan felismert jelenség volt, miszerint a nem beteg populációban az analitok többségének értékei inkább log-normális eloszlást követnek, nem pedig normális (Gauss-) eloszlást. *Gräsbeck és Saris* megkérdőjelezték az akkoriban használt „normálérték” fogalmát, és egy 1969-es kongresszuson új, „referenciaértékekre” épülő referenciaintervallum-koncepciót vezettek be; az ezen alapuló keretrendszer ma is a laboratóriumi diagnosztika alapját képezi [9–11].

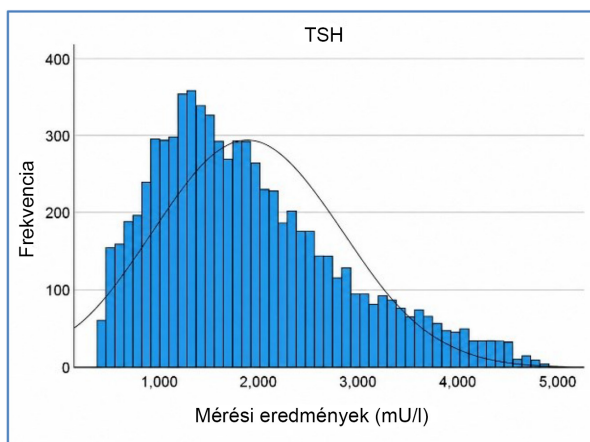
Az *I. ábra* szemlélteti a normális és log-normális (jobbra ferde), valamint a transzformált normális eloszlást. A homeosztatikusan jól kontrollált analitok, mint például az elektrolitok, többnyire szimmetrikus, közel normális eloszlást mutatnak, ahogy ez a nátrium esetében is látszik az *I/A ábrán* [9]. Az analitok többsége azonban inkább log-normális eloszlást követ, amire jó példa a pajzsmirigy-stimuláló hormon (TSH) jobbra ferde eloszlása *I/B ábra*. Az adatok transzformálása lehetővé teszi, hogy a nem normális eloszlás átalakítható legyen közel normális eloszlássá, amit a TSH esetében log-transzformáció után az *I/C ábra* szemléltet.

Általánosan megfogalmazva: az analitok túlnyomó hányadánál Gauss- és nem-Gauss-eloszlás esetén is a referenciaintervallum az az értéktartomány, amely magában foglalja a referenciaértékek központi 95%-át, vagyis a nem beteg egyének (referenciaegyének) eredményeit, és a maradék 5% (alsó és felső 2,5%) tartalmazza az extrém értékeket. A referenciaegyének alkotják azt a referencia-populációt, amelyből a referenciaértékeket méri, és ezek eloszlásának statisztikai elemzése alapján számítják ki a referenciaintervallum határait [12].

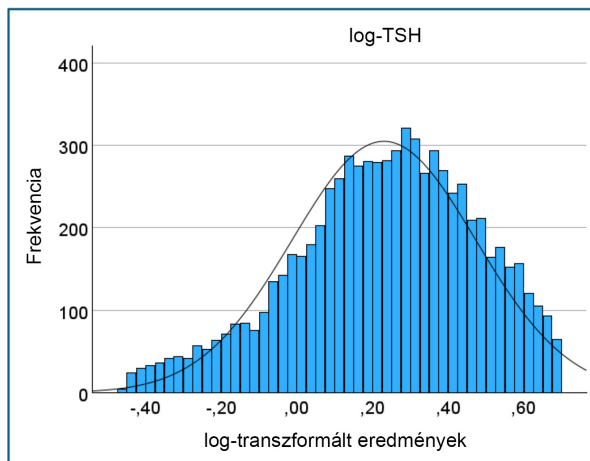
1987-ben az International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) a következők szerint definiálta a referenciaintervallum fogalmát: „a referenciahatárokat magában foglaló intervallum, amelyet egy referencia-populáció alapján hoznak létre” [12].



(A) Normális eloszlás



(B) Log-normális eloszlás



(C) Log-transzformálás

1. ábra

Analitikus mérési eredményeinek jellemző eloszlása: (A) Na normális eloszlás, (B) TSH log-normális eloszlás, (C) log-transzformált TSH-eredmények

Megj.: az adatok az SE LMI Központi Laborjának laborinformatikai rendszeréből származó 2 havi nátrium- és TSH-mérési eredmények, 18 év feletti egyénektől. A normalitástesztelés és az adatábrázolás SPSS-ben történt (31.0.0.0 verzió)

SE LMI = Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet; SPSS = statisztikai programcsomag a társadalomtudományokhoz; TSH = pajzsmirigy-stimuláló hormon

A referenciaintervallum-meghatározás szabályozása

A referenciaintervallum meghatározásának módszertanát nemzetközi irányelvek és ajánlások szabályozzák; 1987 és 1991 között az IFCC 6 ajánlást publikált a referenciaértékekhez kötődően [12–18], amelyek közül egy felmérés szerint az alapkoncepción kívül az 5. rész, a statisztikai módszerek kapta a legnagyobb figyelmet, ez volt az egyik legtöbbször hivatkozott rész [16].

1992-ben a Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kiadott egy nemzetközi irányelvet, amely az IFCC korábbi ajánlásain alapul. Ez a szabályozó dokumentum jelenleg is a klinikai laboratóriumok referenciaintervallumainak meghatározására és ellenőrzésére vonatkozó legfontosabb nemzetközi irányelv, amely részletes útmutatást ad a referenciapopuláció kiválasztásáról, a mintavétel és a mérés módjáról, valamint a referenciaintervallum meghatározásához szükséges statisztikai módszerekről. Az irányelv 3. módosított kiadása (CLSI C28-A3c) 2010-ben jelent meg, amelyről a legutóbbi, 2020-as felülvizsgálat során megállapították, hogy revízió nélkül továbbra is érvényes [4].

A CLSI-irányelv a referenciaegység kiválasztásához szükséges mintavételezés alapján a referenciaintervallum meghatározásának módszereit direkt és indirekt kategóriákba sorolja, és elsősorban a direkt referenciaintervallum-meghatározás módszereit szabályozza. Az indirekt módszereket, valamint a referenciaintervallum transzferrálását más forrásokból alternatívaként említi, amennyiben a direkt módszer nehezen alkalmazható. Az indirekt megközelítésen alapuló módszerekhez még nem állnak rendelkezésre harmonizált irányelvek. Az IFCC az indirekt technikák alkalmazását azonban egyre inkább javasolja, és törekszik arra, hogy az indirekt referenciaintervallum-meghatározás is egységes előírások alapján történjen [5, 19–21].

A magyar laboratóriumok általában a műszaki dokumentációból származó referenciaintervallumot veszik át. A direkt és indirekt referenciaintervallum-módszerek alkalmazását illetően kevés a hazai tapasztalat, szélesebb körű használatukat számos módszertani, biostatistikai, informatikai kihívás lassítja. Ugyanakkor a laboratóriumspecifikus referenciaintervallum-meghatározás szakmai igénye Magyarországon is felmerült már.

Korai hazai példaként említhető Góth 1991-es vizsgálata, amelyben 742 egészséges egyén bevonásával vizsgálta a szérumbilirubin-aktivitást és referenciaintervallumát (nemenként, több korcsoportban), ami jól szemlélteti, hogy a megfelelő elemszámú alcsoportok kialakítása komoly kihívást jelenthet [22].

Az indirekt módszerek hazai alkalmazása még kialakulóban van. A rutinszerű alkalmazást korlátozza többek között a laboratóriumi adatbázisok heterogenitása, (eltérő vizsgálati populáció, különböző készülékek és analitikai módszerek), amely nehezíti az egységes adatfeldolgozást. Limitált a tapasztalat az indirekt módszerek

validációjával, kihívást jelenthet a bonyolult biostatistikai algoritmusok alkalmazása, e módszerek oktatásának hiánya, a szükséges informatikai infrastruktúra implementálása és az adatvédelmi (GDPR) szabályozási követelményeknek való megfelelés [5, 23].

A jelen összefoglaló célja, hogy ismertesse a referenciaintervallum-meghatározás főbb kihívásait, a direkt és indirekt módszereket, valamint javaslatot adjon arra, hogy az irodalmi adatok alapján melyek lehetnek a legelőnyösebb indirekt referenciaintervallum-számítási módszerek.

A referenciaintervallum meghatározásához használt adatok forrásai

Az IFCC és a CLSI irányelvei szerint a klinikai laboratóriumok kötelesek önállóan felállítani és időszakosan ellenőrizni a saját referenciaintervallumaikat [4, 5, 24, 25]. A kórházak és a laboratóriumok által használt referenciaintervallumok három fő forrásból származhatnak az ISO 15189:2022 szabvány alapján, összhangban az EU IVDR (2017/746) rendelettel [21]:

- laboratóriumi analízátorokat és reagenseket gyártó vállalatok által a műszaki dokumentációkban feltüntetett referenciaintervallumok (ezek validálása a laboratóriumok felelőssége);
- más megbízható forrásból származó referenciaintervallumok (például regionális vagy nemzeti referenciaintervallum-adatbázisok);
- saját populáción és módszeren alapuló meghatározott referenciaintervallumok.

A gyakorlatban az esetek többségében a laboratóriumok a műszaki dokumentációból származó referenciaintervallumot implementálják. Ezeket a gyártók általában jól megalapozott eljárással határozzák meg, *Badrick és mtsai* azonban rámutattak arra, hogy számos limitációja lehet az így használt referenciaintervallumnak (például esetlegesen régebbi vizsgálatokra hivatkoznak, nem megfelelő statisztikai módszert alkalmaznak, kis elemszámmal dolgoznak, stb.), amelyek miatt a klinikai döntéshozatalra nem mindig a műszaki dokumentáció a legmegfelelőbb referenciaintervallum-forrás [26].

Amennyiben a referenciaintervallum meghatározása saját populáción és módszeren alapul, standard módszerként a CLSI a direkt megközelítést ajánlja. Ez a referenciaszemélyek kiválasztására, meghatározott bevásztási és kizárási kritériumok alapján, közvetlen mintavételi eljárást alkalmaz [4]. A kiválasztott referenciapopuláció tagjaitól, csoportonként (például nem, életkor alapján definiált) legalább 120 személytől mintát gyűjtenek, majd paraméteres vagy nemparaméteres módszerrel meghatározzák azt az értéktartományt, amely az összes mért érték 95%-át foglalja magában. A minimumelemszámnak statisztikai oka van, ennyi referenciaérték szükséges ahhoz, hogy nemparaméteres módszerrel a konfidenciaintervallum megfelelően becsülhető legyen, illetve a szélsőértékek torzító hatása csökkenthető legyen [4,

20, 27, 28]. Az alcsopontonként legalább 120 fő bevásztása gyakran nehézségekbe ütközik (például kapacitás-, pénz- és időigényes többek között a kérdőívek és beleegyező nyilatkozatok elkészítése, amelyek alapján felmérhető a bevásztható egyének egészségi állapota, és kivitelezhető a vizsgálat), ugyanakkor a statisztikai erő szempontjából egy ekkora elemszámú minta nem számít ideálisnak.

A direkt módszer hátránya, hogy nagymértékben függ a megfelelő referenciaszemélyek kiválasztásától, hiszen a módszer alapfeltétele a feltehetően egészséges egyénekből álló referenciapopuláció [5, 25]. A referenciaintervallumokat számos biológiai és környezeti tényező befolyásolhatja, ezért figyelembe kell venni többek között az életkort, a nemet, az etnikai hátteret, az életmódot és akár a földrajzi tényezőket is a referenciapopuláció kialakítása során. Az IFCC nemzetközi vizsgálatai is tártak fel populációs-specifikus különbségeket bizonyos analitikus esetekben, például a HDL-koleszterin értékei alacsonyabban voltak a török populációban, ami feltehetően genetikai és életmódbeli különbségekre vezethető vissza [20]. A környezeti tényezők közé tartozhatnak bizonyos földrajzi adottságok is, mint a tengerszint feletti magasság, mivel a magaslati hypoxiához történő adaptáció egyes hematológiai paraméterek eltérő eloszlásához vezet [29].

A direkt módszerek hátrányai miatt egyre nagyobb teret nyernek az indirekt módszerek, amelyek a laboratóriumi informatikai rendszerből (LIS) származó, már meglévő nagy adathalmazokra támaszkodnak. Ezek elemzése alapján a direkt módszerhez képest általában szélesebbek a referenciaintervallumok. A nagy adathalmazon alapuló szélesebb referenciaintervallum jobban tükrözi a laboratórium saját populációját és az ott alkalmazott módszertant, illetve munkafolyamatokat [26]. Az indirekt módszerek forrásai tehát a napi munka során generált hatalmas digitális adatmennyiségből, „big data”-ból származnak [5]. Az ebből származó információk feldolgozását és elemzését adatbányászatnak nevezzük [30].

Az indirekt módszerek egyik fontos kihívása, hogy statisztikai elemzésekkel kell elkülöníteni a nagy adatmennyiségből a nem beteg populációt a beteg populációtól [5, 25]. A direkt és indirekt módszerek esetében közös probléma a szélsőértékek és az extrém adatok zavaró hatása, amit a megfelelő statisztikai módszerekkel lehet kezelni [25, 31]. A direkt és indirekt módszerek főbb előnyei és hátrányai az 1. táblázatban találhatók.

A referenciaintervallum-meghatározás folyamata

A referenciaintervallum-meghatározás folyamata összefoglalható öt fő lépésben: (1) a referenciapopuláció kiválasztása, (2) adatgyűjtés, (3) adattisztítás, (4) statisztikai analízis és (5) referenciaintervallum-számolás. A direkt és indirekt megközelítések elsősorban a folyamat első és utolsó lépésében különböznek. Ezt a vizsgálni kívánt po-

1. táblázat | A direkt és indirekt módszerek előnyei és hátrányai

	Direkt módszerek	Indirekt módszerek
Alkalmazás	Szigorú beválasztási és kizárási kritériumok alkalmazása révén rendelkezésre áll legalább 120 fő (egészségesnek tekintett) referenciaegyénekből álló referencia-populáció.	Az eredmények a laboratóriumi informatikai rendszerben tárolt rutinadatokról, az esetek többségében kevert populációból (beteg és nem beteg egyének) származnak. Több tízezer/százezer adat elemzésére is alkalmas, feltehetően kis patológiás arány (<20%) mellett.
Előnyök	• IFCC/CLSI által javasolt aranystandard • Megbízhatóan reprezentált egészséges populáció • Transzparens, egyszerűbb statisztikai módszerek	• Rutinadatokra épül, könnyen elérhető és költséghatékony • Könnyen reprodukálható • Nagy adatmennyiség feldolgozására is alkalmas, ami a statisztikai erőt is előnyösen befolyásolhatja • Ritka mérési eredmények (például várandósok, gyermekek) is könnyebben elérhetők a nagy adatmennyiség révén
Hátrányok	• Költséges és időigényes • Nagy munkaerő-kapacitást igényel (kérdőívek összegyűjtése, bekegyező nyilatkozat megszerzése stb.) • Nehezen definiálható az egészség fogalma • A nagyszámú egészséges populáció toborzása (min. 120) nehézséget jelenthet, különösen speciális populációk esetében (például gyermekek, idősök stb.)	• Az adatok kevert populációból származnak (nem tisztán egészséges), a kóros értékek nem megfelelő kezelése torzíthatja az eredményeket • A választott adattisztításra/adattranszformálásra szánt módszer befolyásolhatja az eredményeket, az adatminőség kritikus jelentőségű • Jelentős statisztikai jártasságot igényelhet, egyes módszerek bonyolultak, szubjektív elemzést és verifikálást igényelnek

IFCC/CLSI = Nemzetközi Klinikai Kémiai és Laboratóriumi Orvostudományi Szövetség/Klinikai és Laboratóriumi Szabványok Intézete

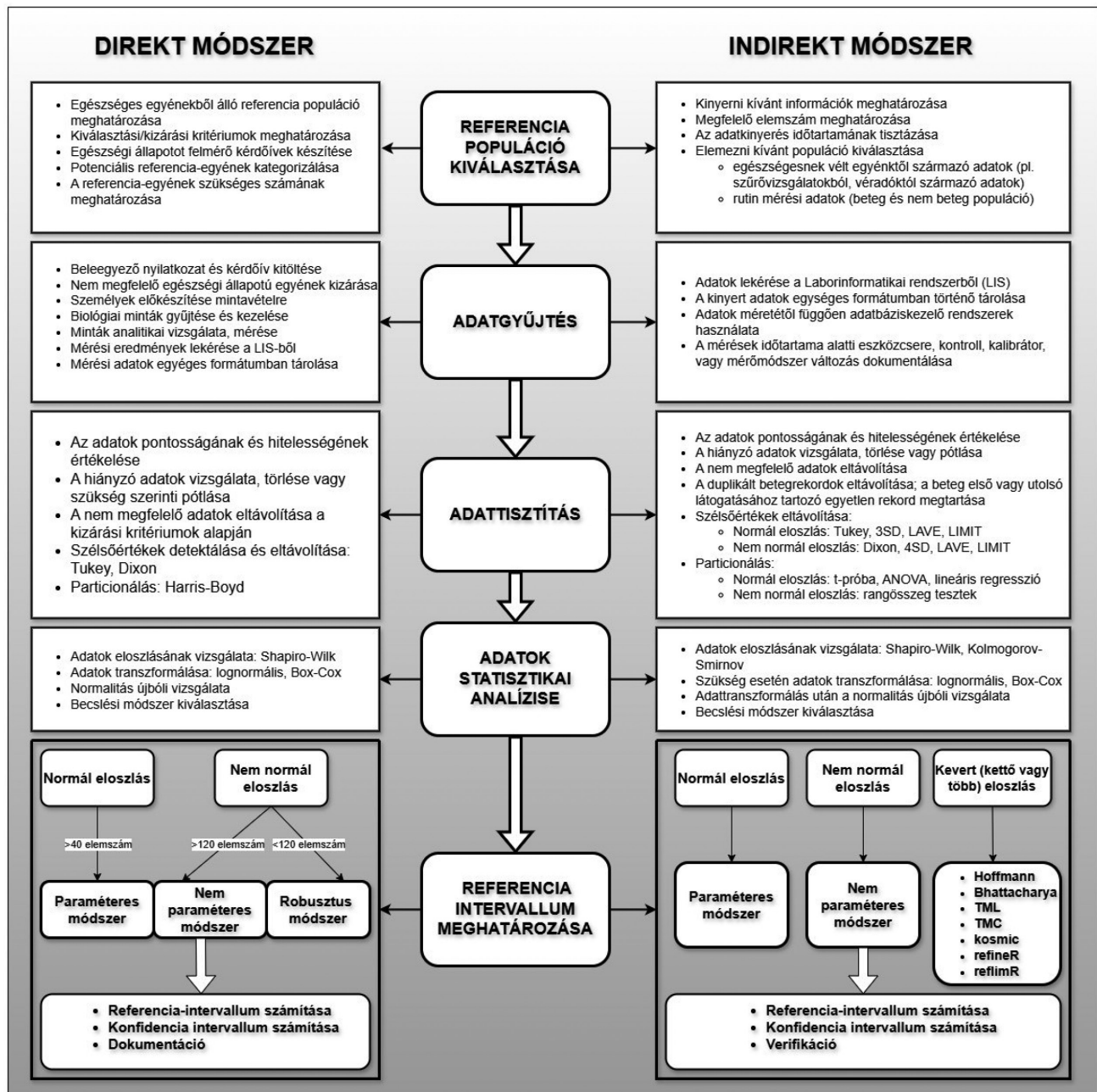
populáció kvalitatív és kvantitatív tulajdonságai határozzák meg, illetve ezek a tulajdonságok szabják meg azt is, hogy mely statisztikai eljárások segítségével határozható meg a referenciaintervallum. Ha már rendelkezésre áll a vizsgálni kívánt populáció, az adatok gyűjtése, tisztítása és transzformálása azonos logikát követ, csak eltérő mintaszámmal, eloszlással és patológiás mintaarányal dolgozik. Az öt fő lépésből részletesebben az utolsó lépésre térünk ki, amelyben a referenciaintervallum számolásához szükséges főbb statisztikai módszereket foglaljuk össze. A referenciaintervallum-meghatározás folyamatát a 2. ábra összegzi [4, 23].

A referenciapopuláció kiválasztása

A referenciaintervallum-módszerek kiindulási alapja a referenciapopuláció; az ebbe a populációba tartozó egyének (vagy minták) beválogatásának megközelítési módszerei alapján különböztetünk meg direkt és indirekt referenciaintervallum-meghatározási módszereket. A referenciapopuláció meghatározásához szigorú beválasztási és kizárási kritériumokat kell felállítani. A minták (illetve adatok) kiválasztása történhet előzetes („a priori”) vagy utólagos („a posteriori”) módszerrel. Az „a priori” módszer esetén a mintavétel előtt alkalmazzák a beválasztási és kizárási kritériumokat, míg az „a posteriori” mintavétel esetében a kizárási kritériumokat a mintavétel és a mérések elvégzése után alkalmazzák [20].

A direkt módszerrel történő referenciaintervallum-meghatározáshoz legalább 120 referenciaegyéntől vesznek mintát és nyernek adatokat [32]. Minimum 120 elemszám szükséges ahhoz, hogy érdemben csökkenthető legyenek a szélsőértékek torzító hatásai, amelyek befolyásolnák a normális eloszlás alapján számított referenciaintervallumokat [26]. A CLSI-irányelv is a minimum 120-as elemszámmal hivatkozik, azonban az IFCC referenciaintervallumokkal foglalkozó bizottsága ennél nagyobb elemszámokra is tett javaslatot. Eszerint a megbízható referenciaintervallum felállításához legalább 400 fő bevonására lenne szükség minden alcsoportban [33].

Az indirekt módszerrel történő referenciaintervallum-meghatározáshoz a korábban elvégzett mérések közül az adatok kiválasztása mindig utólag („a posteriori”) történik [32]. A LIS-ben tárolt adathalmaz eredete alapján az indirekt módszerek kétféle populációval dolgozhatnak. Az első esetben a LIS-ből lekért adatok egészségesnek vélt egyénektől származnak (például szűrővizsgálatokból, véradó központokból származó adatok). A második esetben nincs előzetes szűrőfeltétel, a LIS-ben tárolt heterogén populációs adatokat statisztikai módszerekkel dolgozzák fel, hogy elkülönítsék a nem beteg személyektől származó adatokat a beteg egyénektől származó adatoktól [34]. Az indirekt módszeren alapuló adathalmaz javasolt elemszámával kapcsolatban több kutatást folytattak; konszenzus alapján legalább 5000 elemszám szükséges, ha az adathalmazban jelentős számban vannak jelen a beteg személyektől származó értékek [23].



2. ábra

A direkt és indirekt referenciaintervallum-meghatározás folyamata [4, 23]. A referenciaintervallum-meghatározás fő folyamatainak összefoglalása a CLSI-irányelvek [4] és *Ma és mtsai* folyamatábrája [23] után módosítva. Az ábra a draw.io szoftver segítségével készült

CLSI = Klinikai és Laboratóriumi Szabványok Intézete

Adatgyűjtés, adattisztítás és az adatok statisztikai analízise

A megfelelő populáció kiválasztása után következik az adatgyűjtés. A mérési eredményeket a laborinformatikai rendszer tárolja, a lekérés innen történik. A mérés és az adatgyűjtés előtt azonban figyelembe kell venni a preanalitikai és analitikai szempontokat is, hiszen az intra- és interindividuális variabilitás mellett a referenciaintervallumokat befolyásolja a mérési módszer analitikai variabilitása is. Preanalitikai és analitikai tényezők például a

mintavétel időpontja; éhgyomri vagy nem éhgyomri állapot; a minta kezelése, szállítása, tárolása; az alkalmazott mérőmódszerek analitikai variabilitása; az automaták, műszerek, reagensek jellemzői. Ezek mindegyike befolyásolhatja a kapott eredményeket, ezért az előírásokat követve egységes szempontok szerint kell eljárni, és a körülményeket részletesen kell dokumentálni [23, 35].

Az adatok „tisztítása” gyakran használt kifejezés a laboratóriumi szakirodalomban, a referenciaintervallum meghatározásának is az egyik alapvető lépése, amely azonban nem önkényes adatmódosítást jelent, hanem

olyan adatok azonosítását és kezelését, amelyek nem reprezentálják megfelelően a referenciapopulációt (például duplikátumok, hibás értékek vagy más meghatározott kritériumoknak nem megfelelő értékek). Az adattisztítás mindig mérlegelést igényel, mivel a túlzott adatszűrés olyan intervallumokat idézhet elő, amelyek nem tükrözik megfelelően a valós vizsgált populációt [32].

Az adatok rendelkezésre állása után meg kell vizsgálni az eloszlásukat, mivel a referenciaintervallum meghatározására használt módszerek egy részénél feltétel az adatok normális eloszlása. A normalitás tesztelésére több módszer is rendelkezésre áll, amelyek közül elsőként a Shapiro–Wilk-teszt alkalmazása javasolt, mivel nagyobb statisztikai ereje miatt pontosabb eredményt ad; kiegészítő ellenőrzésként például Kolmogorov–Szmirnov-teszt, illetve vizuális módszerek is alkalmazhatók [23]. A nem beteg populációban mért analitikai eredmények általában normális (Gauss-) vagy ferde eloszlásúak, azonban számos analit referenciáértékei nem-Gauss-eloszlást követnek (általában mérsékeltén nagy pozitív ferdeséget mutatnak, például log-normális vagy khi-négyszet [χ^2]-eloszlás) [36]. Ezért szükséges lehet az adattranszformálás, ami az adatokat normális eloszlásúvá alakítja, erre elsőként a logaritmikus transzformáció javasolt, mivel biológiailag indokolt ferdeség esetén jól teljesít, és könnyen értelmezhető; ha ez nem elegendő a Box–Cox-transzformáció rugalmasabb alternatívát kínál, eredménye azonban nehezebben értelmezhető, és bizonyos adateloszlások esetén megbízhatatlan referenciahatárokat adhat [33, 36]. Az adatok transzformálásán kívül biztosítani kell a gyűjtött adatok minőségét, kezelni kell a hiányzó értékeket, detektálni kell és el kell távolítani a szélsőértékeket, erre a CLSI két módszert javasol: általánosan a Tukey-módszer ajánlott, illetve alkalmazható a Dixon–Reed-módszer is, különösen, ha a referenciaintervallumot nemparaméteres módszerrel határozzák meg [4]. Szükség esetén csoportosítani kell az adatokat például nem, életkor szerint (például Harris–Boyd-módszerrel), és meg kell határozni a konfidenciaintervallumokat [23, 25, 37].

A referenciaintervallum számolása

Az alapvető referenciaintervallum-számolási módszerek a direkt és az indirekt megközelítés esetében is lehetnek paraméteres és nemparaméteres módszerek. Az alsó referenciahatár általában a 2,5. percentilis, míg a felső referenciahatár a 97,5. percentilis, amelyet a referenciapopuláció vizsgálati eredményeinek eloszlásából becsülnek [25].

A paraméteres és nemparaméteres módszereken kívül számos további statisztikai módszer áll rendelkezésre, ami felveti a kérdést: miért lehet szükség többféle módszerre is?

Ennek oka, hogy az egyes statisztikai módszerek alkalmazhatóságát számos tényező befolyásolhatja. Ilyen a minta elemszáma, a mérési eredmények eloszlása, a szél-

sőértékek torzító hatása, a populáció összetétele (beteg, nem beteg, kevert populáció), a patológiás értékek aránya a vizsgált populációban stb. Vannak analitikok, amelyek referenciaintervalluma konzisztens tartományt követve módszertől és eloszlástól függetlenül (például a felnőtteknél a szérumnátriumszint), vannak azonban olyan analitikok is, amelyek referenciaintervalluma jelentős varianciát mutat az alkalmazott meghatározási módszertől, a feltételezett eloszlástól és határérték-meghatározási módszertől függően. Erre jó példa a troponin T, amelynél a mérési tartomány alsó részén található eredmények aránya és statisztikai kezelése befolyásolhatja a referenciaintervallum meghatározását. Ezért fontos a tájékozódás és a legmegfelelőbb módszer alkalmazása [32].

A fentiek értelmében egy adott laboratóriumban használt referenciaintervallumok eltérhetnek más laboratóriumok értékeitől, ha azok különböző vizsgálati módszereket, eszközöket, analízatorokat alkalmaznak, és eltérő betegpopulációkat vizsgálnak.

A direkt megközelítés statisztikai módszerei

Az IFCC/CLSI ajánlása alapján a referenciaintervallum meghatározására a direkt módszerek jelentik az aranystandardot. A mintaszám nagysága és a referenciaértékek feltételezett eloszlása szerint három főbb statisztikai módszert különböztetnek meg, amelyek a következők:

- *Nemparaméteres módszer:* az irányelvek által elsődlegesen ajánlott, minimum 120 mintát megkövetelő módszer, amely nem tesz feltételezést a megfigyelt referenciaértékek eloszlásáról, növekvő sorrendbe rendezi a referenciaértékeket, rangsorszámot rendel hozzájuk, kiszámítja az α percentilis rangszámát: $\alpha (n + 1)$, ahol „n” a minta elemszáma, és meghatározza az alsó és felső 2,5 percentilishez tartozó értékeket. A 90%-os konfidenciaintervallum nem határozható meg, ha a minta kevesebb mint 119 értéket tartalmaz [4, 18, 38, 39].
- *Paraméteres módszer:* normális eloszlást feltételező, átlag- és szórásértékeken alapuló módszer. Gauss-eloszlás esetén bármely valószínűséghez tartozó konfidenciaintervallum (CI) kiszámítható az eloszlás átlaga és szórása (SD) segítségével. A referenciaintervallum az eloszlás 95%-os konfidenciaintervallumának felel meg, és átlag $\pm 1,96 \times SD$ képlettel határozható meg [4, 33, 40].
- *Robusztus módszer:* a referenciapopuláció mérete nagyon gyakran nem elegendő (<120 fő) a nemparaméteres módszerhez. A megfelelő mintaszám elérése nehézséget jelenthet például gyermekek, idősök vagy várandósok populációja esetén. Ezért a kis elemszámok kiküszöbölésére Horn és Pesce 1998-ban kifejlesztett egy robusztus módszert a referenciaintervallum direkt meghatározására. Ez kevésbé érzékeny a szélsőértékekre és a mintaszámra. A CLSI által is ajánlott

módszer, súlyozott átlag- és szórásbecslésen alapul, a referenciaintervallumot a $\mu \pm 1,96 \times \sigma$ képlettel számolja ki [4, 41].

Az optimális módszer kiválasztása a direkt megközelítés esetében az adateloszlástól és az elemszámtól függ. Normális eloszlású adatok esetén a paraméteres módszerek hatékonyan alkalmazhatók, mivel a referenciahatárok az átlag és szórás alapján közvetlenül becsülhetők, a CLSI azonban megfelelő mintaszám esetén elsősorban a nemparaméteres eljárásokat javasolja, mivel ezek nem igényelnek eloszlásra vonatkozó feltételezést, míg kis elemszám esetén alkalmazható a robusztus módszer.

Az indirekt megközelítés statisztikai módszerei

A számítástechnika fejlődésével és az adatbányászat térnyerésével egyre szélesebb körben használják az indirekt referenciaintervallum-meghatározást. Az elmúlt fél évszázadban számos ilyen statisztikai módszert dolgoztak ki, és az utóbbi években újabb hullám tapasztalható az új eljárások megjelenésében. Az indirekt módszerek többféle szempont szerint is csoportosíthatók, például a vizsgált populáció egészségi állapota vagy az alkalmazott matematikai modellek alapján [34, 42]. A kategorizálást nehezíti, hogy az eredeti módszerek mellett számos módosított és kombinált módszer is létezik, illetve folyamatosan új módszerek is megjelennek.

A vizsgált populáció egészségi állapota alapján *Farrell és mtsai* két nagy módszertani csoportot különböztetnek meg. Az első csoportba tartozó módszereknél az azonosított egyénekről feltételezik, hogy egészségesek (mivel csak azokat választják be, akik rendszeres egészségügyi monitorozásban vesznek részt), a második csoportba tartozó, gyakrabban alkalmazott módszereknél az adathalmaz kevert populációt tartalmaz (beteg és nem beteg egyéneket egyaránt), ezért a cél a nem beteg egyének statisztikai algoritmusokkal történő elkülönítése a referenciaintervallum meghatározására [21, 34].

Az adatok transzformálása és a megfelelő matematikai modell illesztése alapján *Ammer és mtsai* „inverz” és „forward” modelleket különböztetnek meg. Az „inverz” megközelítés megkeresi azt a modellt, amelyik a legjobban magyarázza az eredeti tartományban megfigyelt adatokat, és ezután határozza meg a referenciaintervallumot, szemben a „forward” modellel, amelyek először végeznek adattranszformálást, és ezután illesztik a megfelelő modellt az átalakított tartomány adataira. Az „inverz” módszer a nemrég kifejlesztett *refineR*, míg a „forward” alá sorolják a korábban publikált egyéb módszereket [43].

A jelen áttekintésben egyszerű kronológiai megközelítés alapján klasszikus és modern statisztikai módszereket különböztetünk meg a főbb indirekt módszerek bemutatására. A szakirodalom számos további módszert vagy módszermodifikációt említ (például *GAMLSS*, *Self*

Organizing Map, *Gaussian Mixture Model*, *bootstrap-eljárások*, *Gram-Charlier stb.*), a jelen összefoglalóban azonban csak a főbb módszereket emeljük ki.

Klasszikus indirekt statisztikai módszerek

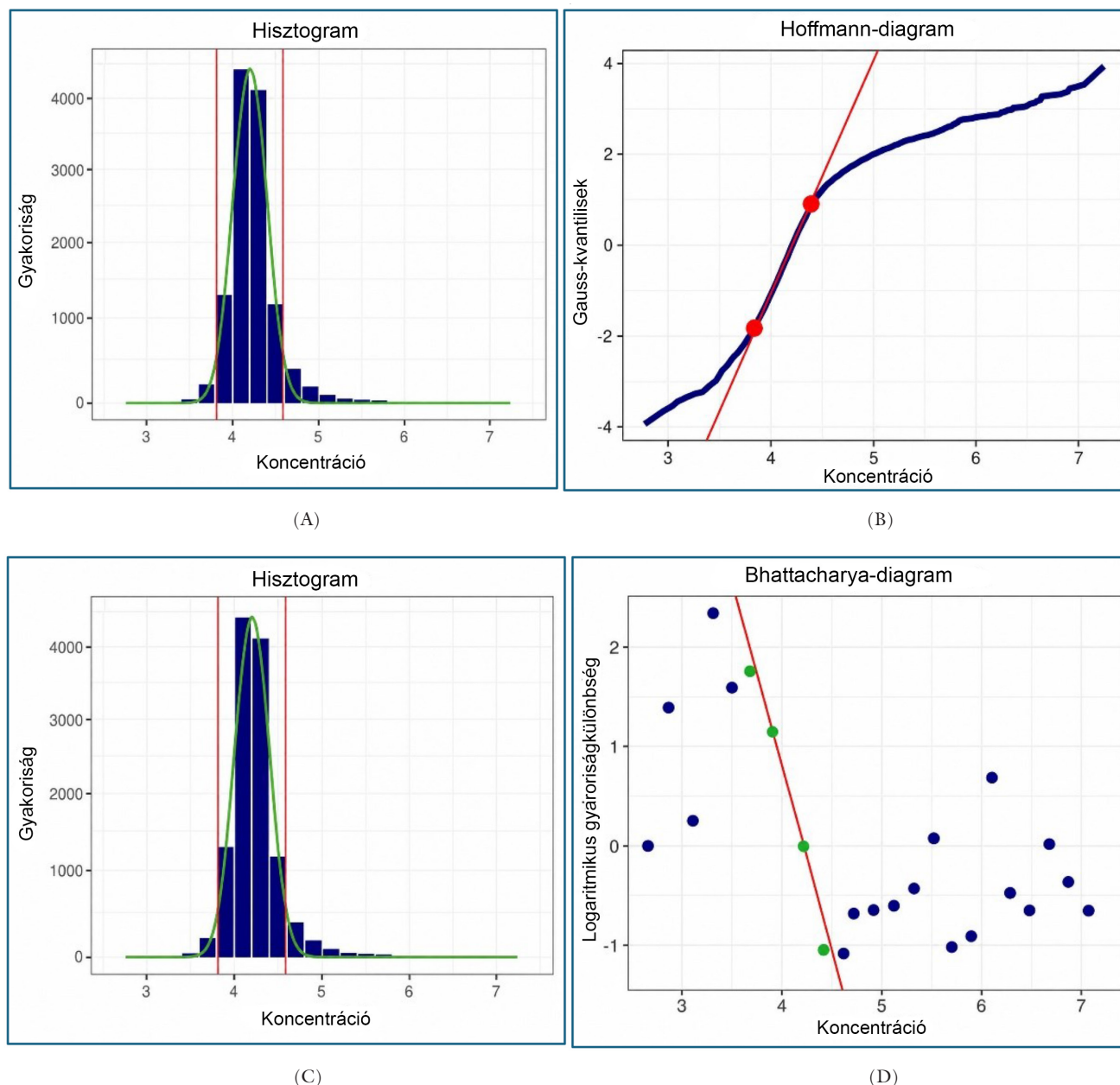
Az 1960–70-es években a referenciaintervallum fogalmának átalakulásával párhuzamosan kezdték el kidolgozni (eredetileg még papíralapon) az indirekt módszerrel történő számoláshoz szükséges főbb statisztikai módszereket. Az indirekt referenciaintervallum-meghatározás is lehetséges paraméteres és nemparaméteres módszerrel, azonban *Pryce*, *Hoffmann* és *Bhattacharya* létrehoztak olyan algoritmusokat, amelyek képesek kevert eloszlású (beteg és nem beteg) adathalmaz paramétereivel is dolgozni [5, 25]. A *Hoffmann* és a *Bhattacharya* által fejlesztett módszerek grafikus eljárások, a *Pryce*-módszert ma már nem alkalmazzák széles körben:

- *Pryce-módszer*: 1960-ban kidolgozott módszer, amely egy kevert eloszlás központi komponensét elemzi, feltételezve, hogy azok egészséges egyénektől származnak, és normális (Gauss-) eloszlást követnek. Ma már nem elterjedt [33, 44].
- *Hoffmann-módszer*: 1963-ban kidolgozott módszer, amely képes elkülöníteni a Gauss-eloszlású adatokat egy olyan populációból, amely nem-Gauss-eloszlású adatokat is tartalmaz. Az adatokban található Gauss-komponensek egyenes szakaszként jelennek meg a grafikonon, az elemzőnek erre a szakaszra egy egyenest kell illesztenie, amelynél azok az x -értékek jelentik a referenciaintervallum alsó és felső határát, ahol az egyenes az $y = -1,96$ és $y = +1,96$ pontokon metszi a tengelyt [25, 45, 46].
- *Bhattacharya-módszer*: 1967-ben kifejlesztett módszer, szintén képes elkülöníteni a Gauss-eloszlást követő adatokat egy grafikus eljárás révén, amely az adatok ábrázolása előtt matematikailag „kiegyenesíti” a Gauss-eloszlásokat, így azok lefelé lejtő egyenes szakaszokként jelennek meg a *Bhattachagramon*. Az egyenes szakaszok alapján meghatározzák a Gauss-eloszlás átlagát és szórását, majd ezekből számítják a referenciaintervallumot [25, 34, 47–49].

A 3. ábrán látható példában a *Hoffmann*- és *Bhattacharya*-módszer esetében az adatsor kevert eloszlásából elválasztott normális eloszlásnak megfelelő egyenes szakasz látszik (feltételezett egészséges egyénekből származó adatok). Mindkét módszerben vannak szubjektív elemek, többek között az egyenes szakasz kijelölése az elemző feladata, amelyek befolyásolhatják a kapott eredményeket [45, 47].

Modern indirekt statisztikai módszerek

A számítástechnika fejlődése a 2000-es évek elejére lehetővé tette olyan referenciaintervallum-számolásra alkalmas szoftverek kialakítását, amelyek modern statisztikai



3. ábra

A Hoffmann- és a Bhattacharya-módszer: egyenes illesztése az adatok transzformálása után a központi Gauss-eloszlást reprezentáló adatsorra [45, 47]. A Hoffmann- (A, B) és a Bhattacharya-módszer (C, D) is grafikus eljárás, képesek a kevert populációjú adathalmazból elválasztani a feltehetően nem beteg egyénektől származó, normális eloszlást mutató adatokat (A és C). A normális eloszlást mutató adatok az elemzés során egyenes vonalként (B) vagy egyenes szakaszként (D) jelennek meg, mely szakaszra az elemzőnek kell egyenest illesztenie (piros egyenes a B és D ábrákon), mely segítségével extrapolálhatók a referenciahatárok

Megj.: az adatok az SE LMI Központi Laborjának laborinformatikai rendszeréből származó 3 havi kreatininmérési eredmények, 18 év feletti egyénektől. A log-transzformálás és referenciaintervallum-bebecslés a goCrunch szoftverrel történt [45, 47]

SE LMI = Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet

programok vagy programnyelvek révén akár több tíz- vagy százazres nagyságrendű adathalmaz feldolgozására és elemzésére is alkalmasak. A modern technikák közül 6 módszert emelünk ki, amelyekre a leggyakrabban hivatkoznak az irodalomban. Ezeket a módszereket az alapjukat képező statisztikai algoritmusok alapján nevezték el, vagy fantáziánévvvel látták el őket. Publikálásuk időrendi sorrendjében ezek a következők:

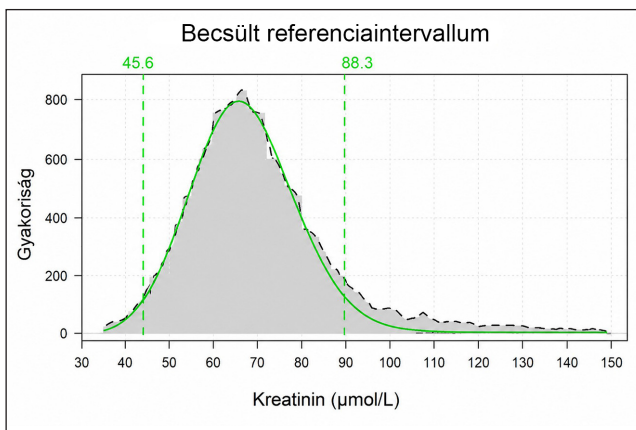
- **TML (truncated maximum likelihood):** 2007-ben *Arzideh és mtsai* által kidolgozott módszer. Magfüggvényes sűrűségbecsléssel kapott adatok központi részéből (feltételezett egészséges populáció) határozza meg a hatvány-normáloszlás paramétereit (átlag, szórás, λ), és ezek alapján számítja a referenciaintervallumot. A módszerhez fejlesztett szoftver (RLE) elérhető a Német Klinikai Kémiai és Laboratóriumi Medicina Társaság (DGKL) honlapján [25, 34, 42, 50, 51].

- *EM (expectation maximization)*: 2009-ben *Concordet és mtsai* által kidolgozott iteratív módszer. Egy elvárás ('E') és egy maximalizálás ('M') fázisból áll, mely iterációk ismétlődnek a konvergenciafeltételek teljesüléséig, majd az eltérő eloszlások átlaga és szórása alapján történik a referenciaintervallum kiszámítása [52, 53].
- *TMC (truncated minimum chi-square estimation)*: 2019-ben *Wosniok és mtsai* által kidolgozott módszer, amely khi-négyzet-távolság minimalizálásával egy trunkált (csonkolt) adatintervallumban becsüli meg az eloszlás paramétereit, majd ezekből számítja ki a 95%-os referenciaintervallumot. Alkalmas olyan adateloszlások elemzésére, amelyek nagy ferdeséget mutatnak, és amelyekben jelentős arányban fordulnak elő az észlelési határnál lévő vagy az alatti értékek [37, 54].
- *kosmic*: 2020-ban *Zierk és mtsai* által kidolgozott módszer, amely kevert populáció adataiból a Kolmogorov–Szmirnov-távolság minimalizálásával a megfigyelt eloszlás trunkált részére illeszt normális eloszlást

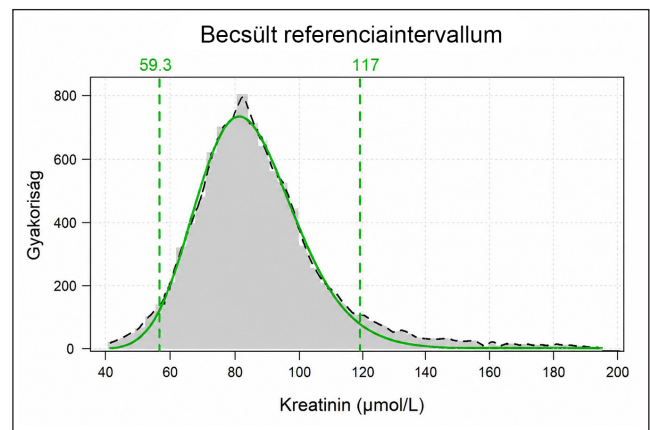
(Box–Cox-transzformáció után), majd az így becsült eloszlás alapján számítja ki a referenciaintervallumot [37, 55].

- *refineR*: 2021-ben *Ammer és mtsai* által kifejlesztett, R nyelven alapuló módszer, amely feltételezi, hogy a rutinlaboradatok nagy része nem beteg egyénektől származik, és modellezhető normális eloszlással (Box–Cox-transzformáció után), majd három lépésben származtatja a referenciaintervallumot [37, 42].
- *reflimR*: 2024-ben *Hoffmann és mtsai* által fejlesztett, R nyelven alapuló módszer. Három lépésben származtatja a referenciahatárokat egy trunkált normális kvantilis–kvantilis (Q–Q) ábráról. A csomagba integráltak egy algoritmust, amely jelzi, hogy a becsült referenciaintervallumok mennyire egyeznek a laboratóriumban használt, előre meghatározott határértékekkel [56] (4. ábra).

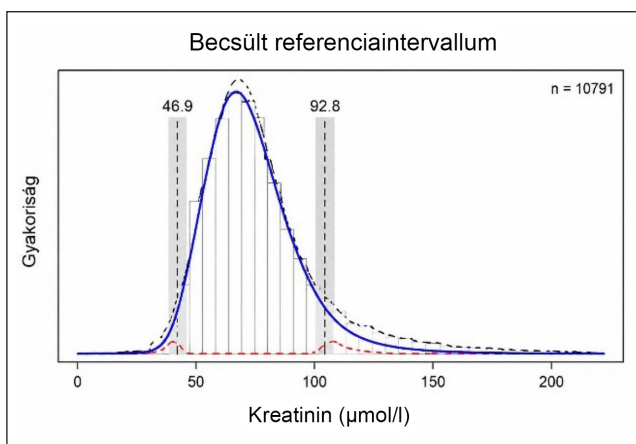
Jelenleg a laboratóriumi szakemberek számára azok a leginkább hasznos indirekt módszerek, amelyek kevert



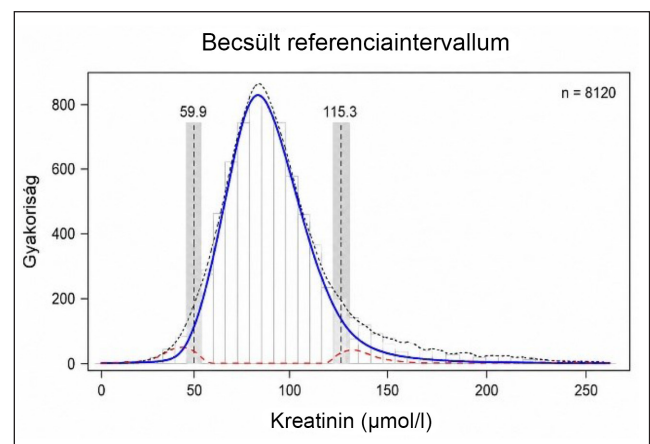
(A)



(B)



(C)



(D)

4. ábra

Indirekt referenciaintervallum-meghatározás *refineR* és *reflimR* módszerrel. Az (A) ábrán a nőkre, a (B) ábrán a férfiakra vonatkoztatott kreatinin-referenciahatárok láthatók, 18 év feletti korcsoportban, *refineR* indirekt becslést alkalmazva. A (C) ábrán a nőkre, a (D) ábrán a férfiakra vonatkoztatott kreatinin-referenciahatárok láthatók, 18 év feletti korcsoportban, *reflimR* indirekt becslést alkalmazva

Megj.: az adatok az SE LMI Központi Laborjának laborinformatikai rendszeréből származó 3 havi kreatininmérési eredmények, 18 év feletti egyénektől. A referenciaintervallum-becslés az RStudio (verzió: 2025.09.1 Build 401) *refineR* és *reflimR* csomagjai segítségével történt

SE LMI = Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet

adathalmazokra (beteg és nem beteg populáció) is alkalmazhatók, lehetővé téve a rutinvizsgálatokból napi szinten keletkező betegadatok felhasználását [41].

Referenciaintervallum, validáció és verifikáció

A referenciaintervallum meghatározása és alkalmazhatósága kapcsán a szakirodalom gyakran felváltva használja a validáció és a verifikáció fogalmát, noha a validáció általában átfogóbb és részletesebb értékelést jelent. Az ISO 15189 definíciója szerint a verifikáció meghatározott követelmények teljesülésének objektív bizonyítékokon alapuló igazolása, míg a validáció annak igazolása, hogy egy adott célra vagy alkalmazási területre vonatkozó követelmények teljesülnek. A fentiek értelmében a referenciaintervallum-meghatározás módszerének kialakítása és a meghatározott referenciaintervallum klinikai alkalmazhatóságának helyi ellenőrzése két összefüggő, de eltérő mélységű és részletességű folyamat.

A validáció a referenciaintervallum meghatározására szolgáló módszer kialakítását, a szükséges adatok gyűjtését és azok átfogó értékelését jelenti, míg a verifikáció annak igazolása, hogy egy meghatározott vagy más forrásból átvett referenciaintervallum a helyi laboratóriumi körülmények és a vizsgált populáció esetében is alkalmazható [57, 58].

A CLSI három lehetséges verifikációs módszert javasol, mely lehet szakértői véleményen alapuló szubjektív módszer vagy két direkt módszer, amely 20 vagy 60, a labor saját populációjából származó egészséges személy mérési eredményeinek vizsgálatán alapul. A 20 elemszámú módszer esetén például a meghatározott referenciaintervallum akkor fogadható el, ha a 20 mérési eredményből legfeljebb 2 esik a referenciaintervallumon kívül [4, 5].

Szabályozási és minőségirányítási szempontból az alkalmazott módszertől függetlenül dokumentálni kell a referenciaintervallum meghatározásához és verifikációjához felhasznált adatok forrását és fő jellemzőit, a fontosabb döntési pontokat, valamint az alkalmazott statisztikai eljárásokat, módszereket, eszközöket és szoftvereket. Az ISO 15189 szabvánnyal összhangban a laboratóriumoknak javasolt időszakosan felülvizsgálni az alkalmazott referenciaintervallumot, és tudniuk kell igazolni, hogy az jól reprezentálja a vizsgált populációt, például helyi verifikációval vagy más, validált forrásokkal történő összevetéssel. A validációs és a verifikációs folyamat részletes dokumentációja megfelelő szakmai alapot biztosíthat akkreditációs és hatósági audit során [57, 58].

A megfelelő módszer kiválasztása és a számolás eszközei

A direkt és indirekt módszerek összehasonlítása mellett egyre több olyan kutatást végeznek, amelyben indirekt

módszereket vetnek össze egymással, hogy különböző szempontok alapján megállapítsák, melyik módszer nyújtja a legjobb teljesítményt.

Az eredmények transzferálhatóságát figyelembe véve *Liu és mtsai* a Hoffmann-, Bhattacharya-, refineR és refilmR módszereket hasonlították össze IgG-szintek esetében. Az indirekt módszerekkel meghatározott referenciaintervallum-értékek magasabbak voltak, és szélesebb tartományt fedtek le, mint a nemzeti standard és mint a műszaki dokumentációból származó referenciaintervallum; ezt a szerzők elsősorban a kórház geriátriai profiljával magyarázzák, mivel a betegpopuláció átlagéletkora magasabb volt (medián: 60 év, 75. percentilis: 69 év), és az IgG-szintek eloszlásának szóródása időskorban jellemzően nagyobb. Ez alátámasztja a labor- és régióspecifikus referenciaintervallum-meghatározás jelentőségét. A két klasszikus (Hoffmann-, Bhattacharya-) módszerrel kapcsolatban kiemelték, hogy bár gyakorlati használatuk továbbra is elterjedt, meghatározásuk szubjektív lépéseket is tartalmaz (például az egyenest az elemző illeszti), ami befolyásolhatja az eredmények reprodukálhatóságát. Ezt a limitációt kiküszöbölik a modern R-alapú módszerek [24].

Az adatok eloszlásától függően *Zhong és mtsai* 5 indirekt módszert vetettek össze (Hoffmann, Bhattacharya, EM, kosmic, refineR) a pajzsmirigyhormonok esetében. Eredményeik szerint a Hoffmann-, Bhattacharya-, kosmic és refineR módszerek jól teljesítettek az enyhén ferde, közel normális eloszlás (például fT3 és fT4) esetében, míg az EM-módszer csak a jelentősen ferde eloszlású (mint például a TSH) adatok esetében teljesített jól [53].

A megfelelő adat-előkészítés függvényében *Sasso és mtsai* a TML-módszert vizsgálták TSH esetében. Eredményeik alapján a számos elérhető indirekt módszer közül a többváltozós megközelítésen alapuló modellek gyakran megbízhatóbbak lehetnek, azonban az általuk alkalmazott egyváltozós megközelítésen alapuló TML is jó eredményt adhat megfelelő adat-előkészítés után [59]. A TML-módszert egy másik adatszimulációs kísérletben is vizsgálták, amely alapján a módszer felülmúlta a Hoffmann- és Bhattacharya-módszereket. Ennek ellenére alkalmazása egyelőre kevésbé terjedt el a gyakorlatban [34].

Ma és mtsai szerint a 6 főbb indirekt módszer (Hoffmann, Bhattacharya, EM, kosmic, TMC és refineR) közül a kosmic és a TMC a legelterjedtebb, mivel mindkettő nagy stabilitással rendelkezik, és nagyfokú automatizáltságot tesznek lehetővé [37].

A modern indirekt módszereket összevetve a direkt módszerekkel, *Ammer és mtsai* a refineR és a kosmic teljesítményét vetették össze 6 szimulált biomarker-értékészlet esetében (ALP, kreatinin, Hgb, fT4, TSH, GGT) egy szintén szimulált, 120 és egy 400 elem alapján végzett direkt módszerrel. Eredmények alapján a refineR az esetek többségében felülmúlta nemcsak az elterjedt kosmic módszert, de a két direkt megközelítést is [43].

Az irodalmi adatok alapján a klasszikus, szubjektív elemeket tartalmazó módszereket (Hoffmann és Bhattacharya) felülmúlják a modernebb eljárások, amelyek közül a kosmic és a TMC a legelterjedtebbek közé tartoznak. A legújabb, refineR és reflimR módszerek a legfrissebb kutatások alapján még jobb teljesítményt nyújthatnak, mint a régebben publikált és ezáltal elterjedtebb más indirekt módszerek.

A módszerválasztás klinikai jelentőségét jól szemléltetik az egyes gyakran kért laboratóriumi paraméterek, mint például a fentebb említett, vesefunkciót, májműködést és pajzsmirigyfunkciót jellemző analitok. A kreatinin esetében az indirekt módszerek gyakran szélesebb referenciaintervallumot eredményeznek, mivel a rutinatáblázatok tartalmaznak magasabb kreatininmérési eredményekkel rendelkező, még nem diagnosztizált vesebetegségben szenvedő egyéneket, akik potenciálisan bekerülhetnek a referenciapopulációba. Hasonló módon a májenzimeknél (például ALT, GGT) a referenciaintervallum szélességét befolyásolhatja az obesitas, a metabolikus szindróma, a kezdődő májbetegség, míg például a TSH esetében magasabb lehet a felső referenciaérték, ha szubklinikai hypothyreosisban szenvedőket is bevonnak. Demográfiai tényezők is szélesíthetik a referenciaintervallumot, amit Liu és mtsai demonstráltak geriátriai populációban vizsgált IgG esetében [24]. Az indirekt módszerek tehát gyakran szélesebb referenciaintervallumot eredményeznek a direkt módszerrel szemben, mivel a nagy rutinatáblázatok elkerülhetetlenül tartalmaznak korai stádiumú, még nem diagnosztizált kórképben szenvedő egyéneket. Ugyanakkor a szélesebb referenciaintervallum jobban tükrözheti a vizsgált populáció valós demográfiai és klinikai kontextusát [5, 24, 34].

A referenciaintervallum számolásához számos eszköz áll rendelkezésre. Ezek lehetnek például Microsoft Excel-alapú alkalmazások, statisztikai szoftverek (például MedCalc, SPSS), webes alkalmazások (például ReferenceRangeR), illetve Java- vagy R-alapú programcsomagok (például RStudio). A DGKL több eszközt is elérhetővé tesz a honlapján, amelyekkel alkalmazhatók többek között a TML, TMC, kosmic, refineR és reflimR módszerek is [50]. Az R nyelv térnyerésével az egyes korábbi eszközök fejlesztése egyre inkább háttérbe szorult.

Kitekintés

A direkt és indirekt módszereket alkalmazó, populációalapú referenciaintervallum-meghatározás mellett léteznek más koncepciók is a laboratóriumi mérési eredmények interpretálására. Ilyen például a klinikai döntési határérték (CDL), a z-érték, a „likelihood ratio” (LR) és a személyre szabott referenciaintervallum [26].

A populációalapú referenciaintervallum jövője kapcsán még két fő koncepciót kell megemlíteni: a folyamatos és a közös referenciaintervallumot. A folyamatos referenciaintervallum megszünteti a partíciókat (például kor,

nem), amelyek mesterséges törést hoznak létre a referenciaintervallumban. Bevezetésének egyik akadályát az adatok tárolására használt rendszerek (LIS, EHR), amelyek csak rögzített értékeket fogadnak el, nem pedig a folyamatos referenciaintervallumhoz szükséges dinamikus intervallumokat [41]. A közös referenciaintervallum három feltétel teljesülését igényli: (1) rendelkezésre kell állnia referenciamódszernek az adott analitra, (2) a vizsgálatoknak visszavezethetőnek kell lenniük a referenciamódszerre, és (3) többközpontú referenciaintervallumvizsgálatot kell végezni közös protokollal. Az IFCC számos ilyen vizsgálatot indított például Törökországban, Kenyában, Kínában és Oroszországban [41, 60].

A CDL és a referenciaintervallum fogalmát gyakran keverik, míg azonban a referenciaintervallum a referenciapopulációban megfigyelhető eredmények eloszlását írja le, addig a CDL olyan határértéket jelent, amely egy adott betegség diagnosztikus jele lehet, vagy nagyobb kockázatú, kedvezőtlen klinikai kimenetel kockázatát jelzi [61].

A standardizált pontszám (z-érték) megmutatja, hogy egy mérési eredmény a referenciaintervallum átlagértékétől hányszoros szórásértékkel tér el. Kiszámításához a mérési eredményből ki kell vonni a referenciapopulációban mért átlagot, és a különbséget osztani kell a referenciapopulációban mért szórással. A z-érték előnye, hogy az eredményeket a referenciapopuláció által meghatározott skálához viszonyítja, így elkerülhetővé válik a rögzített referenciahatárok használata [26].

A referenciaintervallumokat és a CDL-eket is elsősorban a döntéshozatal támogatására használják, míg az LR azt fejezi ki, hogy egy adott laboreredmény előfordulása mennyivel valószínűbb egy beteg személyben, szemben egy nem beteg személlyel, ezzel figyelembe véve minden elérhető információt. Az LR segít a betegség valószínűségének becslésében, mivel a biomarkerek eloszlása a nem beteg és a beteg populációban gyakran átfed [26].

A 21. század egyik legérdekesebb új koncepciója a személyre szabott orvoslás és ezzel összefüggésben a személyre szabott referenciaintervallum [62]. Standard referenciaintervallum esetén elképzelhető, hogy a beteg analitja nagy intervallumon belül mozoghat anélkül, hogy kórosnak minősülne, illetve egyes egyéneknél kisebb lehet a variáció az analitkoncentrációban, mint az általános populációban, amelyből a standard referenciaintervallumot származtatják. Továbbá az is elképzelhető, hogy a vizsgált analit valójában csak az aktuális egyensúlyi állapotot jelzi, ami nem feltétlenül jelent normális anyagszere-állapotot, még akkor sem, ha az analit a referenciaintervallumon belül mozog [63]. Szükség van tehát szenzitívebb, személyre szabott viszonyítási alapra. A személyre szabott referenciaintervallum szűkebb referenciaintervallumot hoz létre az egyén számára, ami lehetővé teszi, hogy a LIS korai szakaszban jelezze és figyelmeztesse a klinikusokat azokra az apró változásokra, amelyek kóros állapot kialakulására utalhatnak [62, 64].

Következtetés

Az orvosi döntéshozatal sarkalatos pontja a laboreredmények megfelelő interpretálása, amelynek alapfeltételei a pontos és megbízható referenciaintervallumok meghatározása és azok alkalmazása. A referenciaintervallum meghatározásához a számítástechnika és az adatbányászat fejlődésével egyre több új statisztikai módszer válik elérhetővé, nincs azonban még egyértelmű közös álláspont arról, hogy milyen esetekben melyik módszert javasolt használni. A CLSI által javasolt aranystandard direkt módszer mellett az IFCC széles körben vizsgálja és javasolja az indirekt módszereket is, illetve a különböző bizottságok és munkacsoportok (C-RIDL, TF-GRID) révén azon dolgozik, hogy konszenzusmódszereket alakítson ki a klinikai döntéshozatalt támogató referenciaintervallum meghatározására.

Anyagi támogatás: A tanulmány megírása és a kapcsolódó kutatómunka nem részesült anyagi támogatásban.

Szerzői munkamegosztás: P. É. K.: A kézirat koncepciójának összeállítása, irodalomkutatás, a kézirat megírása és javítása. L. O. M.: A kézirat koncepciójának összeállításában való részvétel, irodalomkutatás. V. B.: A kézirat koncepciójának összeállításában való részvétel. A közlemény végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Irodalom

- [1] Horváth AR. Evidence-based laboratory medicine. [Bizonyítékokon alapuló laboratóriumi orvoslás.] Orv Hetil. 2003; 144: 869–876. [Hungarian]
- [2] Katayev A, Balciza C, Secombe DW. Establishing reference intervals for clinical laboratory test results: is there a better way? Am J Clin Pathol. 2010; 133: 180–186.
- [3] Kovacs K, Pászthy-Szabó B, Dobi M, et al. Role of early laboratory parameters in treatment of cooled asphyxiated infants. [A korai laboratóriumi vizsgálatok jelentősége hűtött asphyxiás újszülöttek kezelésében.] Orv Hetil. 2024; 165: 1843–1853. [Hungarian]
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory. Approved guideline – third edition (CLSI document C28-A3c). CLSI, Wayne, PA, 2010. Available from: <https://clsi.org/shop/standards/ep28/> [accessed: October 20, 2025].
- [5] Jones GR, Haeckel R, Loh TP, et al. IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits. Indirect methods for reference interval determination – review and recommendations. Clin Chem Lab Med. 2018; 57: 20–29.
- [6] Büttner J. Clinical chemistry as scientific discipline: historical perspectives. Clin Chim Acta 1994 Dec 31; 232(1–2): 1–9.
- [7] Rosenfeld L. Clinical chemistry since 1800: growth and development. Clin Chem. 2002; 48: 186–197.
- [8] Rosenfeld L. A golden age of clinical chemistry: 1948–1960. Clin Chem. 2000; 46: 1705–1714.
- [9] Gräsbeck R. The evolution of the reference value concept. Clin Chem Lab Med. 2004; 42: 692–697.
- [10] Whyte MB, Kelly P. The normal range: it is not normal and it is not a range. Postgrad Med J. 2018; 94: 613–616.
- [11] Friedberg RC, Souers R, Wagar EA, et al. The origin of reference intervals. Arch Pathol Lab Med. 2007; 131: 348–357.
- [12] Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values, and International Committee for Standardization in Haematology (ICSH), Standing Committee on Reference Values. Approved Recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1: The concept of reference values. J Clin Chem Clin Biochem. 1987; 25: 337–342.
- [13] Petitclerc C, Wilding P. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section. The theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. J Clin Chem Clin Biochem. 1984; 22: 203–208.
- [14] Solberg HE, Petitclerc C. International Federation of Clinical Chemistry, (IFCC), Scientific Committee, Clinical Section, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3: Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. J Clin Chem Clin Biochem. 1988; 26: 593–598.
- [15] Solberg HE, Stamm D. International Federation of Clinical Chemistry, Scientific Division: approved recommendation on the theory of reference values. Part 4: Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1991; 29: 531–535.
- [16] Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry, Expert Panel on Theory of Reference Values. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5: Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. J Clin Chem Clin Biochem. 1987; 25: 645–656.
- [17] Dybkaer R. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)1),2) the theory of reference values. Part 6. Presentation of observed values related to reference values. J Clin Chem Clin Biochem. 1982; 20: 841–845.
- [18] Solberg HE. The IFCC recommendation on estimation of reference intervals: The RefVal program. Clin Chem Lab Med. 2004; 42: 710–714.
- [19] International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). Task Force on Global Reference Interval Database (TF-GRID). Available from: <https://ifcc.org/executive-board-and-council/eb-task-forces/task-force-on-global-reference-interval-database-tf-grid/> [accessed: October 20, 2025].
- [20] Ozarda Y. Reference intervals: current status, recent developments and future considerations. Biochem Med (Zagreb). 2016; 26: 5–16.
- [21] Martinez-Sanchez L, Cobbaert CM, Noordam R, et al. Indirect determination of biochemistry reference intervals using outpatient data. PLoS ONE 2022; 17: e0268522.
- [22] Góth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clin Chim Acta 1991; 196: 143–151.
- [23] Ma S, Yu J, Qin X, et al. Current status and challenges in establishing reference intervals based on real-world data. Crit Rev Clin Lab Sci. 2023; 60: 427–441.
- [24] Liu W, Xie Z, Wang M, et al. Comparison of four indirect methods for establishing sex- and age-specific reference intervals for IgG: based on real world data. Clin Chim Acta 2025; 576: 120420.
- [25] Yang D, Su Z, Zhao M. Big data and reference intervals. Clin Chim Acta 2022; 527: 23–32.
- [26] Badrick T, El-Khoury JM, Theodorsson E. Laboratory reference intervals – history and modern approaches for improved utility. Scand J Clin Lab Invest. 2025; 85: 229–241.

- [27] Bunch D. Modern reference intervals. CLN Feature Articles. 2021. Available from: <https://myadlm.org/cln/articles/2021/july/modern-reference-intervals> [accessed: October 20, 2025].
- [28] Placzkowska S, Terpińska M, Piwowar A. Establishing laboratory-specific reference intervals for TSH and fT4 by use of the indirect Hoffman method. PLOS ONE 2022; 17: e0261715.
- [29] Mairbäurl H, Kilian S, Seide S, et al. The increase in hemoglobin concentration with altitude differs between world regions and is less in children than in adults. Hemasphere 2023; 7: e854.
- [30] Krauß M, Tóth T, Hanika H, et al. Big data – challenges and risks. [Big data – kihívások és kockázatok.] Orv Hetil. 2015; 156: 1979–1986. [Hungarian]
- [31] Wang Y, Zhang YX, Zhou YL, et al. Establishment of reference intervals for serum thyroid-stimulating hormone, free and total thyroxine, and free and total triiodothyronine for the Beckman Coulter DxI-800 analyzers by indirect method using data obtained from a Chinese population in Zhejiang Province, China. J Clin Lab Anal. 2017; 31: e22069.
- [32] Haeckel R, Adeli K, Jones G, et al. Definitions and major prerequisites of direct and indirect approaches for estimating reference limits. Clin Chem Lab Med. 2023; 61: 402–406.
- [33] Ichihara K, Boyd JC, on behalf of the 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: 1537–1551.
- [34] Farrell CL, Nguyen L. Indirect reference intervals: harnessing the power of stored laboratory data. Clin Biochem Rev. 2019; 40: 99–111.
- [35] Timbrell NE. The role and limitations of the reference interval within clinical chemistry and its reliability for disease detection. Br J Biomed Sci. 2024; 81: 12339.
- [36] 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; 48: 1393–1396.
- [37] Ma C, Yu Z, Qiu L. Development of next-generation reference interval models to establish reference intervals based on medical data: current status, algorithms and future consideration. Crit Rev Clin Lab Sci. 2024; 61: 298–316.
- [38] Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. Clin Chem. 1971; 17: 275–284.
- [39] Ichihara K. Statistical considerations for harmonization of the global multicenter study on reference values. Clin Chim Acta 2014; 432: 108–118.
- [40] Harris EK, DeMets DL. Estimation of normal ranges and cumulative proportions by transforming observed distributions to Gaussian form. Clin Chem. 1972; 18: 605–612.
- [41] Horn PS, Pesce AJ, Copeland BE. A robust approach to reference interval estimation and evaluation. Clin Chem. 1998; 44: 622–631.
- [42] Doyle K, Bunch DR. Reference intervals: past, present, and future. Crit Rev Clin Lab Sci. 2023; 60: 466–482.
- [43] Ammer T, Schützenmeister A, Prokosch HU, et al. RefineR: A novel algorithm for reference interval estimation from real-world data. Sci Rep. 2021; 11: 16023.
- [44] Pryce JD. Level of haemoglobin in whole blood and red blood cells, and proposed convention for defining normality. Lancet 1960; 2(7146): 333–336.
- [45] GoCrunch. Principles of the Hoffmann method. Available from: <https://www.gocrunch.tech/hoffmann/principles-of-the-hoffmann-method/> [accessed: October 20, 2025].
- [46] Hoffmann RG. Statistics in the practice of medicine. JAMA 1963; 185: 864–873.
- [47] GoCrunch. Principles of the Bhattacharya analysis. Available from: <https://www.gocrunch.tech/bhattacharya/principles-of-bhatta/> [accessed: October 20, 2025].
- [48] Baadenhuijsen H, Smit JC. Indirect estimation of clinical chemical reference intervals from total hospital patient data: application of a modified Bhattacharya procedure. J Clin Chem Clin Biochem. 1985; 23: 829–839.
- [49] Bhattacharya CG. A simple method of resolution of a distribution into Gaussian components. Biometrics 1967; 23: 115–135.
- [50] Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (DGKL). Decision limits and reference limits. Criteria for distinguishing between healthy and ill. Available from: <https://dgkl.de/en/the-dgkl/areas-of-expertise/decision-limits-and-reference-limits/> [accessed: October 20, 2025].
- [51] Arzideh F, Wosniok W, Gurr E, et al. A plea for intra-laboratory 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; 45: 1043–1057.
- [52] Concordet D, Geffré A, Braun JP, et al. A new approach for the determination of reference intervals from hospital-based data. Clin Chim Acta 2009; 405: 43–48.
- [53] Zhong J, Ma C, Hou L, et al. Utilization of five data mining algorithms combined with simplified preprocessing to establish reference intervals of thyroid-related hormones for non-elderly adults. BMC Med Res Methodol. 2023; 23: 108.
- [54] Wosniok W, Haeckel R. A new indirect estimation of reference intervals: truncated minimum chi-square (TMC) approach. Clin Chem Lab Med. 2019; 57: 1933–1947.
- [55] Zierk J, Arzideh F, Kapsner LA, et al. Reference interval estimation from mixed distributions using truncation points and the Kolmogorov–Smirnov distance (kosmic). Sci Rep. 2020; 10: 1704.
- [56] Hoffmann G, Klawitter S, Trulsson I, et al. A novel tool for the rapid and transparent verification of reference intervals in clinical laboratories. J Clin Med. 2024; 13: 4397.
- [57] Ozarda Y, Higgins V, Adeli K, et al. Verification of reference intervals in routine clinical laboratories: practical challenges and recommendations. Clin Chem Lab Med. 2019; 57: 30–37.
- [58] Meyer A, Müller R, Hoffmann M, et al. Comparison of three indirect methods for verification and validation of reference intervals at eight medical laboratories: a European multicenter study. J Lab Med. 2023; 47: 155–163.
- [59] 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; 57: 1587–1594.
- [60] Ichihara K, Ozarda Y, Barth JH, et al. A global multicenter study on reference values: 1. Assessment of methods for derivation and comparison of reference intervals. Clin Chim Acta 2017; 467: 70–82.
- [61] Ozarda Y, Sikaris K, Streichert T, et al. Distinguishing reference intervals and clinical decision limits – a review by the IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits. Crit Rev Clin Lab Sci. 2018; 55: 420–431.
- [62] Gulácsi L, Békássy S, Bittner N, et al. Personalized medicine and healthcare: where are we now, where should we go? [Személyre szabott orvoslás és egészségügy: hol tartunk, merre menjünk?] Orv Hetil. 2023; 164: 202–209. [Hungarian]
- [63] Simon K, Wittmann I. The blood glucose value does not necessarily indicates correctly the cellular metabolic state. [A vércukorérték nem feltétlenül jellemzik megfelelően a sejanyagcsere-állapotot.] Orv Hetil. 2017; 158: 409–417. [Hungarian]
- [64] Coşkun A, Sandberg S, Unsal I, et al. Personalized reference intervals in laboratory medicine: a new model based on within-subject biological variation. Clin Chem. 2021; 67: 374–384.

(Papp Éva Katinka dr.,
Budapest, Nagyvárad tér 4., 1089;
e-mail: papp.eva.katinka@semmelweis.hu)

A cikk a Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) feltételei szerint publikált Open Access közlemény. (SID_1)