

**Informe del II Simpòsium Europeu sobre
El laboratori clínic i la indústria del diagnòstic *in vitro*:
"Valors de referència fisiològics: un negoci en comú?"**

L.M. Cruz Carlos, N. Monge Azemar
Servei de Bioquímica Clínica
Hospital Universitari de Bellvitge
L'Hospitalet de Llobregat

El passat dia 6 i 7 de febrer de 2003 es va celebrar a l'Auditori del Parc Científic de Barcelona el II Simpòsium Europeu "El laboratori clínic i la indústria del diagnòstic *in vitro*", dedicat en aquesta ocasió als valors de referència fisiològics. L'acte el va organitzar l'Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic amb el suport dels seus membres corporatius: BioRad Laboratories S.A., Dade Behring S.A., Pharmacia Spain S.A., Química Farmacéutica Bayer S.A., Roche Diagnostics S.L., Sangüesa S.A. i Sarstedt S.A. El simpòsium va comptar amb la col·laboració de diversos experts en la teoria i la producció de valors de referència: Joseph Henny, Veli Kairisto, Anders Kallner, Alasdair Mc Bain, Per Hyltoft Petersen, Josep Maria Queraltó i Gérard Siest. Xavier Fuentes Arderiu va ser el president i Montse Ferrer Masferrer va ser la secretària tècnica.

El simpòsium es va celebrar en forma de debat sense ponències. El debat es va desenvolupar partint d'una sèrie de preguntes que es van plantejar als experts, primer, i a tots els assistents, després, amb dos objectius: (I) discutir com desenvolupar una estratègia comuna entre els laboratoris clínics i les companyies de la indústria del diagnòstic *in vitro* en la producció de valors de referència fisiològics per a les magnituds biològiques d'interès mèdic; i (II) assolir un consens entre la indústria del diagnòstic *in vitro* i els laboratoris clínics sobre la interpretació i compliment dels requisits relacionats amb els valors de referència fisiològics de la Directiva Europea 98/79-CE i de la norma ISO 15189:2003.

El simpòsium es va dividir en quatre parts, corresponents a grups de preguntes sobre un mateix aspecte dels valors de referència. Els debats d'aquestes quatre parts van ser moderats, cronològicament, per Xavier Fuentes Arderiu, Joan Almarcha Torres, Josep Maria Queraltó Compañó i Jaume Miró Balagué. En aquest informe es mantenen aquestes quatre parts.

Dels aspectes legals i normatius

La Directiva Europea 98/79-CE és un document legislatiu, emès pel Parlament

Europeu i el Consell de la Unió Europea, que estableix uns requisits pels productes sanitaris de l'àmbit del diagnòstic *in vitro*, amb la finalitat de garantir la seguretat i el benestar dels ciutadans europeus. El contingut d'aquesta directiva es considera un objectiu a assolir per totes les empreses dedicades a la venda de productes per al diagnòstic *in vitro* en la Unió Europea.

La primera pregunta del debat feia referència a la interpretació del requisit 8.7 de la Directiva 98/79-CE sobre els productes sanitaris per al diagnòstic *in vitro*: "*Quan calgui, les instruccions d'ús han de contenir els límits de referència de les magnituds que s'hagin de mesurar, tot incloent una descripció de la població de referència apropiada*". Sobre aquest punt, J.M. Queraltó i V. Kairisto consideren aquest requisit força ambigu. Per una banda, no queda clar a què es refereix "*quan calgui*". No s'hauria de donar sempre aquesta informació? De què depèn que es doni o no aquesta informació? Són dubtes que es plantegen en llegir el requisit.

Per altra banda, tampoc queda clar el concepte de *població de referència apropiada* i, per tant, dificulta la correcta interpretació del requisit. Alhora, aquest requisit dona a entendre que la indústria ha de produir els valors de referència, quan el que passa en realitat és que la indústria demana ajuda al laboratori clínic. A. Kallner va estar contundent i va dir que, si la indústria havia acceptat la directiva en el seu moment, havia d'assumir-la i no demanar ajuda al laboratori clínic. Es planteja doncs el primer interrogant: realment hauria de ser la indústria l'encarregada de produir valors de referència o bé cada laboratori hauria de produir els seus propis valors de referència?

Segons X. Fuentes Arderiu, seria convenient crear una norma que ajudés a disminuir la incertesa de la interpretació del requisit.

De les alternatives a la producció pròpia de límits de referència

Una qüestió que es va tractar extensament en el simposium va ser el paper dels laboratoris clínics i de la indústria del diagnòstic *in vitro* en la producció de valors de referència. L'opinió general dels assistents era que hi hauria d'haver una cooperació entre ambdós col·lectius.

Els representants de la indústria presents al debat estaven d'acord en què produir valors de referència resulta difícil i car. Els laboratoris demanen a la indústria que generin mètodes de mesura fiables i que incloguin a les instruccions d'ús dels equips de reactius informació sobre els límits de referència per cada procediment de mesura. És per això que des de la indústria es fa una recopilació de la informació existent a la bibliografia sobre els valors de referència pels diferents procediments i es tria un interval de referència per cadascun d'ells. Referent a aquest punt, van sorgir alguns comentaris que podrien ajudar als laboratoris clínics en la interpretació de la informació recopilada, com el cas de Dade Behring (Itàlia) que donen referències d'alguns estudis on es confirmen els límits de referència triats. D'altra banda, J. Sabater

Tobella va comentar també la importància de comprovar experimentalment els límits de referència establerts i comparar els resultats obtinguts entre diferents països.

A partir d'aquí, els laboratoris clínics han de verificar la informació rebuda dels fabricants i vetllar perquè aquests valors de referència siguin adequats i fiables, tal com diu el requisit 5.5.5 de la norma ISO *"Els intervals de referència biològics s'han de revisar periòdicament, i si el laboratori creu que un interval particular ja no és l'apropiat per a la població de referència, llavors ha d'estudiar el cas i emprendre, si cal, les accions correctives pertinents. Els intervals de referència biològics també s'han de revisar quan el laboratori canvia de procediment de mesura o un procediment premetroloògic"*.

La majoria de laboratoris clínics probablement no podrien complir aquest requisit ja que implica un esforç addicional que molts laboratoris no poden portar a terme. L'opinió de J. Sabater Tobella és que l'esforç hauria de ser compartit entre la indústria i els laboratoris clínics: els primers aportarien els equips de reactius mentre que els segons aportarien els individus. També afegeix que resultaria poc econòmic que cada laboratori produís els seus intervals de referència de forma aïllada. Per tant, s'ha d'establir un criteri comú per a tots els laboratoris, ja sigui compartint intervals de referència comuns per a tots els laboratoris o adoptar-los d'un altre. Perquè això es pugui dur a terme s'haurien de complir una sèrie de requisits. En primer lloc, disposar d'una bona estandardització, com ara uns bons materials de referència, de control, etc. De tota manera, s'hauria de consensuar quines són les magnituds biològiques susceptibles de tenir valors de referència universals. L'adopció de valors de referència d'un altre laboratori depèn de la magnitud biològica que es mesura. En el cas de les concentracions d'ió potassi i de clorur en el plasma, per exemple, podríem tenir valors de referència comuns si es garanteix la transferibilitat de resultats entre procediments de mesura. Seria més difícil en el cas de les magnituds hormonals i altres magnituds que es mesuren mitjançant procediments immunoquímics, degut a la diversitat de procediments i, per tant, la dificultat que això representa alhora de normalitzar. Segons J. Henny, si el laboratori clínic d'on es volen adoptar els límits de referència té el mateix sistema de mesura, només cal verificar que no existeixen errors sistemàtics deguts a la població.

Una solució a la producció de valors de referència podrien ser els estudis multicèntrics. Els valors de referència obtinguts en un estudi d'aquests tipus podrien ser útils per una àmplia part de la població. Els representants d'una part de la indústria, presents a la sala, opinaven que aquests estudis multicèntrics resulten cars i laboriosos. Una opinió contrària va ser la aportada per X. Fuentes Arderiu, qui va exposar tres estudis multicèntrics que es van realitzar amb uns dotze laboratoris clínic en col·laboració amb la indústria; aquesta opinió va ser compartida per M. Gomà Llongueras i R. Mas Serra, de les companyies Bayer i Roche, respectivament, que van participar en aquests estudis. L'experiència va ser molt positiva per tothom i les dues companyies només van haver d'aportar els equips de reactius i els materials de control, per la qual cosa el cost de l'estudi no va resultar gaire alt.

De la metodologia

Aspectes biològics

Quan es produeixen valors de referència s'ha de fer partint d'una població homogènia. Berend Houwen de la companyia Beckman Coulter Inc. (EUA) va aportar dades d'un estudi en el que es demostrava la dificultat de l'homogeneïtat de la població dins un mateix país. Diu que l'homogeneïtat només pot ser possible en aquells països en els que no hi ha mestissatge.

Com conèixer l'homogeneïtat biològica de la població? En P. H. Petersen opina que no existeix un mètode d'estudi d'homogeneïtat d'individus i comenta la possibilitat de crear una seroteca on s'emmagatzemin els sèrums dels individus considerats de referència i poder fer estudis o càlculs de la variabilitat biològica existent entre aquests individus d'arreu del món. Això ens portaria a poder elaborar valors de referència únics universals. En J. Henny va respondre que aquesta seroteca queda incompleta i només pot tenir valor si existeix un banc de dades de cadascuna de les mostres presents a la seroteca tot i afegint que amb aquests dos elements, seroteca i banc de dades, probablement es poden establir millor els criteris de selecció.

Una segona qüestió que es va plantejar va ser com s'ha de definir l'estat de salut acceptable per als individus de referència. G. Siest va parlar de dues alternatives: en primer lloc un mètode basat en un qüestionari: els individus haurien de contestar una sèrie de preguntes per a poder ser inclosos en l'estudi de valors de referència. L'altra alternativa seria fer un seguiment durant uns anys de les persones seleccionades. L'inconvenient d'aquest segon mètode és que només és possible realitzar-ho en centres d'investigació i, tal com després va afegir B. Houwen, es necessita realitzar estudis molt extensos per a poder establir uns valors de referència.

Degut a les característiques de la població (edat, sexe, raça, etc.), segons la magnitud biològica, és necessari establir criteris de partició per tal d'obtenir subgrups més homogenis. X. Fuentes Arderiu va comentar que seguint el criteri de partició de Eugen Harris i James Boyd, en molts casos no caldria dividir la població per fer grups més homogenis, degut a la poca importància clínica d'algunes particions. Actualment, ja es comença a introduir la idea de característiques genètiques per dividir la població a l'hora de fer valors de referència.

Aspectes metrològics i estadístics

Dins dels aspectes metrològics i estadístics a considerar per a la producció de valors de referència està la sostenibilitat de l'interval de referència d'un procediment de mesura. A. Kallner opina que, si l'instrumental no canvia, podem suposar que la qualitat metrològica és la mateixa al llarg del temps i, per tant, podem mantenir els mateixos intervals de referència. Aquesta qualitat metrològica però s'ha d'anar revisant, tot i tenir el mateix sistema de mesura, ja

que la imprecisió i l'error sistemàtic poden variar al llarg del temps. Segons X. Fuentes Arderiu, s'hauria de treballar sempre amb la imprecisió interdiària i l'error sistemàtic que hi havia durant el període de producció dels valors de referència. Segons J. Henny, una manera de verificar la sostenibilitat dels valors de referència és tornar a mesurar sèrums d'individus de referència conservats a les seroteques.

Quina és la mida de la mostra de referència apropiada per a la producció d'interval·ls de referència comuns? Existeix diversitat d'opinions al respecte entre els experts presents al simpòsium però una idea està clara: com més elevada sigui la mostra, més representatius seran de la població sana els valors de referència obtinguts. P.H. Petersen considera que el número mínim d'individus necessaris per poder disminuir la incertesa dels interval·ls de referència és 1000. Altres experts, com J.M. Queraltó Compañó, opinen que amb 300 o 400 individus ja es disminueix aquesta incertesa i, fins i tot, per a les magnituds biològiques més comuns, 120 individus ja serien suficients. L'opinió general va ser finalment que es requereix un mínim de 30 individus si les dades es distribueixen d'acord amb una distribució gaussiana i 120 individus si la distribució no és gaussiana.

De la difusió i l'ensenyament

La teoria dels valors de referència s'ha d'ensenyar a les universitats: els estudiants de farmàcia, medicina i d'altres carreres universitàries relacionades amb la sanitat han de rebre una formació bàsica sobre els fonaments de les ciències de laboratori clínic, fent molt d'èmfasi en la importància dels valors de referència i la seva problemàtica, perquè després ho puguin dur a la pràctica.

A Finlàndia, comenta V. Kairistio, la teoria dels límits de referència s'ensenyava durant el quart curs de medicina. Ell, particularment, considera que és un mal moment degut a què a quart curs els estudiants ja han començat a visitar pacients i, per tant, opina que haurien de conèixer abans aquests conceptes. Actualment, s'està cursant una assignatura d'introducció als valors de referència ja en el tercer curs de la llicenciatura. A Califòrnia, l'ensenyament el duen a terme mitjançant sessions monogràfiques en les que es plantegen diferents casos clínics. La finalitat d'aquestes sessions és la de familiaritzar als estudiants de medicina amb els exàmens de laboratori clínic.

A Catalunya, els alumnes de farmàcia també reben algunes lliçons fonamentals sobre valors de referència en les assignatures relacionades amb les ciències de laboratori clínic que s'imparteixen a la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona.

De tota manera, l'opinió general dels assistents al simpòsium va ser que l'ensenyament no ha de quedar exclusivament a les universitats sinó que s'ha de difondre als metges clínics que exerceixen a les seves consultes, ja que es tracta d'un col·lectiu que fa poc cas als valors de referència i que cal reeducar.

Probablement els principals culpables siguem els professionals del laboratori clínic ja que no oferim prou fiabilitat en els valors de referència.

Els llibres de text són una eina d'ensenyament i difusió important i han de donar una informació general, clara i elemental. Hi ha grans llibres de medicina que presenten els límits de referència sense donar cap mena d'informació, simplement donen uns valors numèrics. Els valors de referència *per se* no són apropiats, no donen cap informació. El que s'ha de fer és acompanyar aquests intervals de referència amb una descripció acurada de les condicions premetrològiques i metrològiques amb que s'han obtingut; una definició detallada de la població de referència (a partir d'uns criteris d'inclusió i exclusió) i finalment, aquells factors de variació com poden ser l'edat, el sexe, la regió geogràfica, etc.

Finalment, als metges clínics se'ls ha de donar una informació clara i, a la vegada, senzilla. Aquesta informació la poden rebre a través dels informes de laboratori clínic, sessions científiques en el lloc de treball, comunicacions periòdiques a través de cartes, correu electrònic, etc. Hem d'estar segurs dels valors de referència que adjuntem als resultats per evitar desconfiança per part dels clínics.

Conclusions

Els requisits de la Directiva 98/79/EC (Annex I 8.7) i de la norma ISO 15189:2003 (subapartat 5.5.5) sobre les responsabilitats de la indústria i els laboratoris clínics per a la producció de valors de referència no és clara i -tal com està escrita- és difícil d'interpretar i seguir. Per tant, es proposa enviar una sol·licitud al Comitè Tècnic 140 del Comitè Europeu de Normalització i al Comitè Tècnic 212 de l'Organització Internacional de Normalització perquè clarifiqui les exigències de la directiva i de la norma. Es va concloure que un document que aclareixi tot això ha de tractar, com a mínim, dels següents punts:

- selecció de les poblacions de referència i definició de la grandària de la mostra de referència;
- criteris de partició de la població de referència;
- definició de les condicions premetrològiques;
- definició de la magnitud biològica;
- selecció del procediment de mesura, incloent-hi els calibradors, els materials de referència, els procediments de control i els requisits metrològics;
- transferibilitat dels resultats;
- sostenibilitat dels intervals de referència;
- càlcul i presentació dels intervals de referència.

Cal que les organitzacions professionals, la indústria i les autoritats sanitàries

col·laborin per tal d'aconseguir uns intervals de referència comuns per a grups homogenis, inclosos els intervals de referència multicèntrics.

El concepte i la interpretació dels intervals de referència s'ha d'ensenyar als estudiants de ciències de la salut de pregrau i de postgrau i als metges.

Citació recomanada per a aquest document:

Cruz Carlos LM, Monge Azemar N. Informe del II Simpòsium Europeu sobre el laboratori clínic i la indústria del diagnòstic *in vitro*: "Valors de referència fisiològics: un negoci en comú?". *In vitro veritas* 2003;4, art.46: <<http://www.acclc.cat/>>