
Proposta di procedura comune per la valutazione e revisione degli intervalli di riferimento.

a cura di:

Ugo de Grazia, Marco Cantù, Pierantonio Menna

Gruppo di Studio (GdS)
“TDM e Personalizzazione della Terapia”

Il Gruppo di Studio (GdS) “TDM e Personalizzazione della Terapia” ha posto tra i suoi principali obiettivi quello di stilare “raccomandazioni” finalizzate all’armonizzazione dei valori di riferimento per alcuni gruppi di sostanze. Dal momento che riteniamo questo compito non facile si è deciso di provare a definire prima un “consensus” che permetta in seguito di stilare questi documenti nella maniera più omogenea possibile, sia per quanto riguarda i valori da assegnare ai vari analiti che per la modalità con cui gli autori affronteranno la tematica.

Con il presente documento si intende pertanto individuare un percorso comune per raggiungere l’obiettivo proposto.

Alcune definizioni:

1. Popolazione di riferimento:

è la popolazione dalla quale si seleziona un gruppo campione di riferimento sul quale effettuare le misure necessarie per ottenere i valori di riferimento. I valori così ottenuti avranno una loro distribuzione di riferimento che andrà analizzata con metodi statistici per ottenere una stima dei limiti di riferimento.

2. Valori di Riferimento:

2.1 descrivono la variabilità di un analita in un campione di riferimento, ottenuto da una popolazione di riferimento

2.2 permettono di confrontare i dati ottenuti in un paziente con dati di riferimento derivati da una popolazione di riferimento.

3. Limiti di riferimento:

descrivono il campione di riferimento e sono strettamente dipendenti dalle caratteristiche della popolazione considerata.

4. Intervallo di riferimento:

Gli intervalli di riferimento di un analita risentono fortemente dalla variabilità metabolica intra- ed interindividuale della popolazione di riferimento scelta; pertanto, la numerosità del campione ha una grande rilevanza per “normalizzare” queste eventuali variabilità biologiche. Lo si definisce come l’intervallo compreso tra i due limiti di riferimento a certi predefiniti percentili (si considera il 95% centrale, ed i limiti sono il 2.5° ed il 97.5° percentile).

5. Valore osservato o risultato:

valore ottenuto mediante misura dell’analita in questione da comparare con valori, limiti, intervalli di riferimento.

6. Range Terapeutico:

intervallo di concentrazioni di un farmaco in un fluido biologico entro il quale è attesa una risposta terapeutica. Tale intervallo è compreso tra il limite inferiore che definisce livelli di farmaco probabilmente subterapeutici ed uno superiore che definisce i livelli di farmaco probabilmente tossici (vedere Figura 1).

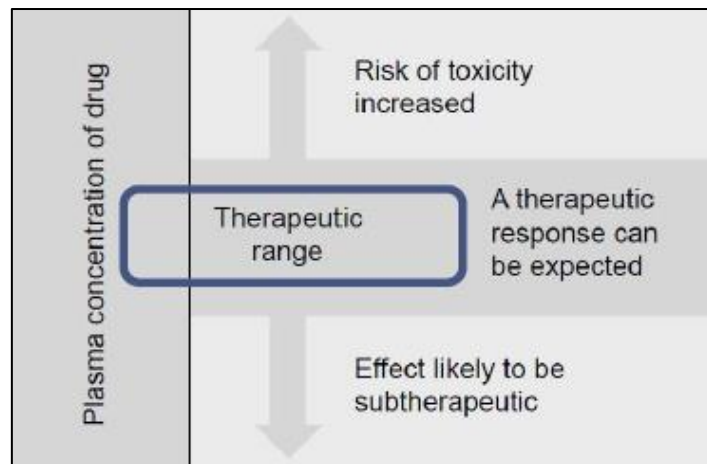


Figura 1.

I limiti di riferimento, o intervalli, sono alcuni degli strumenti più utilizzati nel processo decisionale medico. La loro determinazione è lunga, difficile e costosa, soprattutto a causa della necessità di selezionare un numero sufficiente di individui di riferimento secondo criteri ben definiti.

Essenzialmente questo obiettivo potrebbe essere raggiunto attraverso due percorsi distinti e, nella maggior parte dei casi, alternativi.

Il primo, più scientifico e che sarebbe più radicato nelle proprie realtà di popolazione, prevede la determinazione di tali valori mediante studi diretti sulla popolazione con studi possibilmente multicentrici per avere un ampio numero di campioni. Il vantaggio di tale tipo di studio è di avere appunto valori stabiliti sulla popolazione reale che andiamo a misurare e non su altre popolazioni (classicamente i “caucasici” del Nord America). Lo svantaggio di questo tipo di studio sono i costi e i rigidissimi criteri di inclusione/esclusione codificati nella procedura CLSI document EP28-A3c (CLSI EP28-A3c) e fatti propri anche dalla nostra Società in alcune applicazioni (F. Ceriotti, 2017). Sono talmente stringenti che per fare solo un esempio, si prevede l’esclusione dei fumatori da studi di questo tipo.

L’alternativa, largamente praticata in tutto il mondo, prevede una partenza dello studio basata sulla revisione sistematica della letteratura con successiva metaanalisi, con criteri ben definiti (ad esempio dalla Cochrane Library; www.thecochranelibrary.org). Questa strategia è ovviamente preferita, soprattutto per il costo pari a zero. Il suo successo dipende da molti fattori, tra i quali elenchiamo brevemente i seguenti: una scelta più che ponderata delle parole chiave con le quali estrarre le pubblicazioni dai database, i criteri per includere/escludere detti lavori dalla revisione...si veda l’esempio nella figura 2 nella pagina successiva:

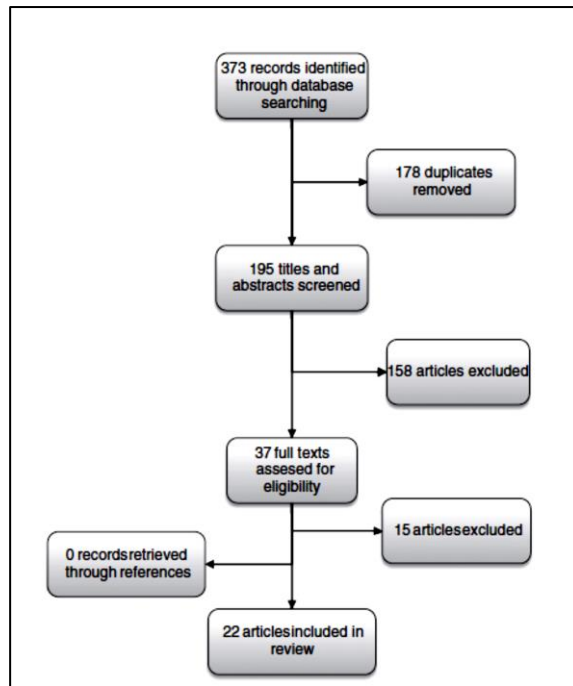


Figura 2

(tratta da Daly C.H. et al. Clinical Biochemistry 46 (2013))

Per le considerazioni fin qui esposte crediamo quindi che il GdS possa orientare il proprio lavoro con una forma di revisione sistematica adattata prendendo spunto dallo schema illustrato in figura 3.

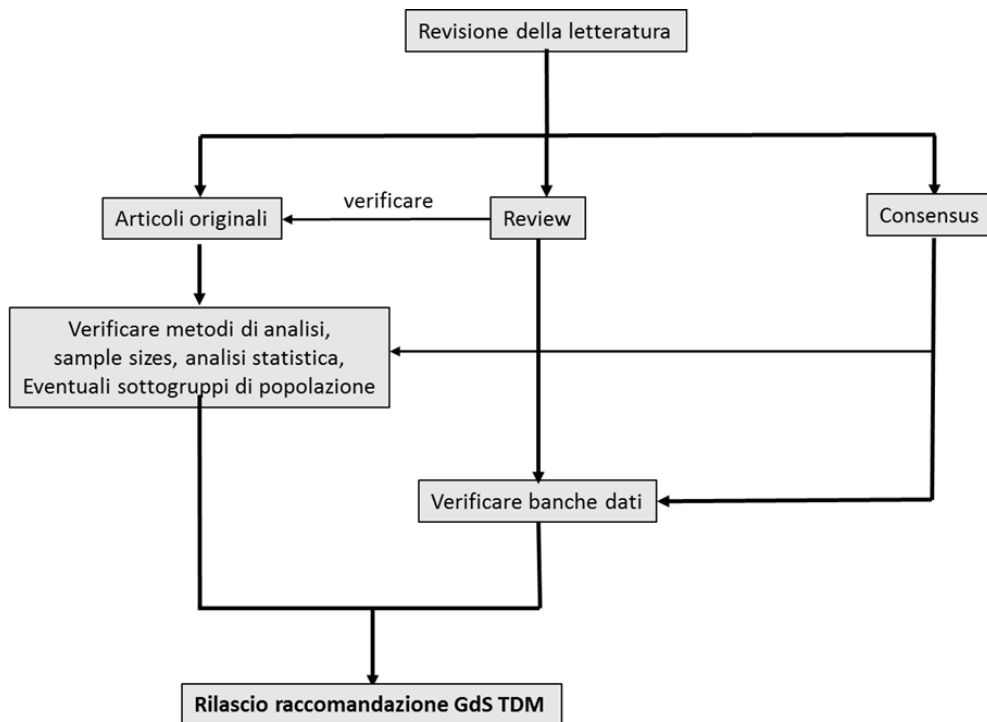


Figura 3

Proponiamo che il flusso di lavoro sia il seguente: a partire da una revisione sistematica dei valori di un qualche gruppo di sostanze, pubblicata recentemente, passare ad una analisi delle referenze bibliografiche citate per ogni analita. In questo passaggio bisognerà tener conto con la massima attenzione la popolazione oggetto dello studio e la sua numerosità. Se ad es. lo studio fosse limitato alla popolazione anziana occorrerà andare alla ricerca di pubblicazioni aventi come oggetto popolazioni infantili...e così via. Ove possibile sarebbe utile rintracciare i report FDA/EMA per la messa in commercio del farmaco in oggetto e studi effettuati sulla popolazione italiana o Europeo mediterranea per livellare il più possibile eventuali effetti della base genetica della popolazione. In questa fase occorre anche considerare i metodi di analisi adottati e quindi eventualmente suddividere i risultati per metodi in maniera da poterne tener conto nella raccomandazione finale. Sarà necessario anche assicurarsi dell'omogeneità dell'analisi statistica, cioè degli strumenti impiegati dagli autori per le loro conclusioni.

E' importante definire all'inizio dello studio (facendo particolare riferimento agli studi di fase 2/3) a quali soggetti di riferimento ci si riferisce distinguendo tra *soggetti sani* o con *portatori di particolari condizioni fisiologiche* (gravidanza, crescita, ecc.) o ancora, appartenenti a particolari aree geografiche.

Una possibile strategia prevede la selezione di individui utilizzando prefissati criteri di esclusione (alcolismo, malattia recente, allattamento, obesità, tossicodipendenza, fumo, terapie farmacologiche, compromissioni funzionalità renale e/o epatica, gravidanza, ecc.) e di ripartizione (razza, età, sesso, ecc.) (Giavarina D. et al. 2001).

Nella fase successiva i componenti del GdS potrebbero giocare un ruolo chiave, ove questo fosse possibile: organizzare i propri database per poterli confrontare con quelli raccolti nella prima fase. Questa operazione è sicuramente molto difficile, dipendendo da numerosi fattori, in primis da come sono stati raccolti i dati del paziente/campione ma non impossibile. Ogni sottogruppo (la cui tipologia deve essere ancora determinata, ad es per classe di farmaci) può valutare se ha le forze e le caratteristiche necessarie per produrre anche questi dati. Su questo particolare aspetto potrebbe essere interessante la lettura di questo articolo:

- D. Concordet, A. Geffré, P. Braun, C. Trumel. A new approach for the determination of reference intervals from hospital-based data. *Clinica Chimica Acta* 405 (2009) 43–48

In questo paper si sottolinea come i dati dei pazienti ricoverati sono numerosi e facilmente disponibili. Anche se di solito non sono disponibili tutte le informazioni necessarie per il calcolo di un intervallo di riferimento diretto, questi dati contengono informazioni che possono essere utilizzate per ricavare almeno informazioni approssimative. Contiene anche alcuni algoritmi che possiamo valutare.

La raccolta complessiva dei dati da letteratura ed eventualmente da banche dati “nazionali” nate dalla cooperazione intra-gruppo andrà a quel punto confrontata con le tabelle che tutti noi abbiamo emesso per generare la “raccomandazione consensus” a firma del nostro gruppo e da far adottare a SIBIOC.

Sarebbe utile partire da revisioni della letteratura comuni a tutti, pur lasciando ad ogni gruppo la scelta sulla base delle proprie conoscenze ed esperienze.

Le principali due revisioni sistematiche da considerare potrebbero essere le seguenti, sia perchè sono note a tutti e anche perchè molto usate per la compilazione delle nostre tabelle per l'armonizzazione degli intervalli di riferimento:

- Schulz et al.: Therapeutic and toxic blood concentrations of nearly 1,000 drugs and other xenobiotics. *Critical Care* 2012 16:R136.

- Hiemke C, Bergemann N, Clement HW, et al. Consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in neuropsychopharmacology: update 2017. *Pharmacopsychiatry* 2018; 51(01/02): e1.

La prima revisione (Schulz et al.) comprende principalmente i dati relativi a sostanze attive, come ipnotici, sedativi, ansiolitici, antipsicotici, litio, antidepressivi, analgesici, antiepilettici e stimolanti, nonché farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS), corticosteroidi, antistaminici, antibiotici, antimicotici, antiretrovirali, diuretici, ACE-inibitori, sartani, beta-bloccanti, calcioantagonisti, glicosidi cardiaci, antiaritmici, antiasmatici e anestetici locali, inoltre sono stati elencati alcuni su altri xenobiotici, come droghe ricreative, metalli pesanti e pesticidi.

La seconda prende in considerazione i farmaci neurotropi.

La bibliografia in esse contenuta è molto estesa e quindi suscettibile di fornire un buon numero di informazioni supportate da evidenze.

Tra i principali documenti di riferimento sulla definizione degli intervalli, oltre alla già citata CLSI document EP28-A3c crediamo possa essere utile citare quelli a firma di F. Ceriotti, in quanto già fatti propri dalla SIBIOC ed espressione del lavoro di gruppi italiani:

- F. Ceriotti, M. Panteghini, E. Guerra, R. Leoncini, G. Cevenini. Intervalli di riferimento standardizzati della fosfatasi alcalina sierica in soggetti pediatrici. *biochimica clinica*, 2017, vol. 41, n. 2, 166-174 (*in questa referenza, anche se l'oggetto è il nuovo range di riferimento per la fosfatasi alcalina, è interessante analizzare l'applicazione dei concetti illustrati nell'allegato 1*)
- F. Ceriotti, R. Hinzmann and M Panteghini. Reference intervals: the way forward. *Ann Clin Biochem* 2009; 46: 8–17.
- D. Giavarina, R. M. Dorizzi, G. Guerra Linee guida per la produzione di intervalli di riferimento (*Riv Med Lab - JLM, Vol. 2, S.1, 2001*)

Alleghiamo a questa proposta una serie di slides con cui Ceriotti illustra le modalità di definizione dei valori di riferimento tratte da CLSI document EP28-A3c (allegato 1).

REFERENZE

Ceriotto F. et al. Reference intervals: the way forward. *Ann Clin Biochem*, 2009, vol. 46: 8–17.

Ceriotto F. Intervalli di riferimento nel nuovo millennio. *Biochimica Clinica*, 2007, vol. 31, n. 4

Ceriotto F. et al. Intervalli di riferimento standardizzati della fosfatasi alcalina sierica in soggetti pediatrici. *Biochimica Clinica*, 2017, vol. 41: 166-174.

CLSI. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline -Third edition. CLSI document EP28-A3c. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.

Concordet D. et al. A new approach for the determination of reference intervals from hospital-based data. *Clinica Chimica Acta*, 2009, vol. 405: 43–48.

Daly C.H. et al. A systematic review of statistical methods used in constructing pediatric reference intervals. *Clinical Biochemistry*, 2013, vol. 46: 1220–1227.

Giavarina D. et al. Linee guida per la produzione di intervalli di riferimento. *Riv Med Lab - JLM*, 2001, vol. 2, S.1.

Hiemke C. et al. Consensus guidelines for therapeutic drug monitoring in neuropsychopharmacology: update 2017. *Pharmacopsychiatry* 2018, vol 51(01/02): e1.

Miller W.G. et al. Reference Intervals: Strengths, Weaknesses, and Challenges. *Clinical Chemistry* 2016, vol 62(7): 916–923.

Jönsson AK et al. Sedative and hypnotic drugs--fatal and non-fatal reference blood concentrations. *Forensic Sci Int*. 2014, vol. 236: 138-45.

Schulz et al.: Therapeutic and toxic blood concentrations of nearly 1,000 drugs and other xenobiotics. *Critical Care* 2012. vol. 16:R136.