SYSMEX EDUCATIONAL ENHANCEMENT AND DEVELOPMENT | Duben 2015

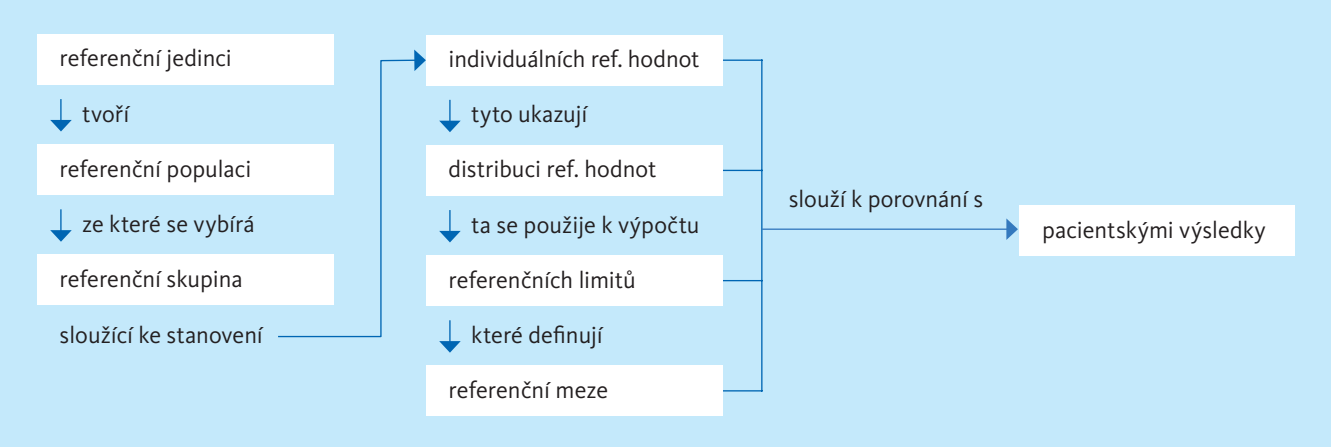
SEED Hematologie

Referenční meze a co může nabídnout Sysmex

Význam referenčních mezí

Je potřeba si uvědomit, že samostatný výsledek nemá sám o sobě velkou výpovědní hodnotu; závěry lze vyvodit až po jeho porovnání s dalšími souvisejícími výsledky. Porovnání s předchozími výsledky stejného pacienta ukáže, zda hodnota stagnuje, stoupá, nebo klesá. Porovnání s hodnotami naměřenými u zdravých osob umožní posoudit, zda je výsledek ve fyziologickém rozmezí nebo ne. Porovnání s rozhodovacími limity pomůže stanovit případná další lékařská opatření.

Referenčními mezemi se označuje rozsah hodnot, které se vyskytují u zdravých jedinců. Někdy se můžeme setkávat s termínem *normální meze*. A co lze považovat za *normální*? Laboratorní hodnoty ovlivňuje řada faktorů, např. věk, pohlaví nebo stravovací návyky (viz dále). Pokud mluvíme o *referenčních mezích*, musíme vědět, k jaké populaci se vztahují.



***Grafika 1** Definice*

Referenční populace se skládá ze všech referenčních jedinců. Ve zvláštním případě může obsahovat pouze jednoho pacienta a jeho předchozí výsledky. Většinou se však jedná o velký počet jedinců, ze kterého je potřeba vybrat reprezentativní vzorek. Ke správnému sestavení reprezentativního vzorku je třeba jasně definovat kritéria výběru (věk, pohlaví, etnický původ atd.). Pokud je známo, že výsledky měření se liší například v závislosti na věku nebo pohlaví, je potřeba odpovídajícím způsobem definovat podskupiny referenčních osob. Skupiny pacientů s určitým onemocněním mohou sloužit jako referenční populace pro jednotlivé pacienty se stejným onemocněním. Tyto speciální referenční meze jsou užitečné například při stanovení remise u akutních leukémií, po transplantaci kostní dřeně nebo během těhotenství. Jak lze očekávat, nejčastěji používané referenční meze jsou odvozeny od zdravé populace. To však vyvolává otázku, jak definovat *zdravé*, protože kritéria, na základě kterých by se jasně vyloučily *nemocné* osoby z referenční populace, neexistují.

Podmínky pro stanovení referenčních mezí

Referenční meze zpravidla vycházejí ze *zdravých* referenčních skupin, jako jsou dárci krve, mladí lékaři, zdravotní sestry, zdravotničtí záchranáři a studenti medicíny. Výsledky takových skupin jsou sice snadno dostupné, ale ukazuje se, že se výrazně liší od výsledků běžné populace, a tedy nemohou být považovány za reprezentativní. Stručně řečeno, ať už provedeme jakékoliv výběry, vždy získáme různé referenční rozsahy, i když rozdíly mohou být nepatrné [1–3]. Následující jasně stanovený pracovní postup zajistí aplikovatelnost referenčních mezí:

1. Výsledky měření pacienta je nutné porovnávat s referenčními hodnotami, které se k němu vztahují. Stejné referenční hodnoty nelze použít pro různé účely (např. fyziologické studie u sportovců nebo sledování léčby konkrétního onemocnění), proto musí být účel referenčních hodnot předem definovaný.

2. Musejí být nastavena kritéria, podle kterých jsou jednotlivci zařazeni nebo vyloučeni z referenční populace. Pokud je nutné populaci rozdělit do podskupin (např. věk, pohlaví), musejí být tyto charakteristiky známy pro každého referenčního jedince.

3. Referenční jedinci by měli být vždy co nejvíce srovnatelní s pacienty, u kterých se referenční meze použijí.

Hlavní známé faktory, které ovlivňují referenční hodnoty a je třeba je zvážit, jsou:

- pohlaví, věk, etnický původ, sociální postavení a povolání, podmínky prostředí
- nutriční stav
- okolnosti odběru vzorků

Faktory způsobující odchylky referenčních mezí v hematologii:

- *preanalytika, stáří vzorku*
  - *transport*
  - *expozice teplu*
- *stravovací návyky*
  - *množství železa*
  - *dehydratace*
- *fyzická aktivita*
- *nadmořská výška*
- *vystavení chemikáliím na pracovišti, znečištění životního prostředí, kouření, ...*
- *a další...*

Grafika 2 *Faktory ovlivňující referenční meze v hematologii*

Faktory způsobující odchylky referenčních mezí v močové analýze:

- *preanalytika, stáří vzorku*
  - *transport*
  - *konzervační činidla*
  - *expozice světlu a teplu*
- *stravovací návyky*
- *fyzická aktivita*
- *způsob odběru vzorků*
  - *první vs. druhá ranní moč*
  - *střední proud moči, katetrizace, ...*
  - *hygiena oblasti genitálií*
- *vystavení chemikáliím na pracovišti, znečištění životního prostředí, kouření, ...*
- *a další...*

Grafika 3 *Faktory ovlivňující referenční meze v močové analýze*

Postup stanovení referenčních mezí

Nejjednodušší metodou, která je zároveň doporučenou metodou Mezinárodní federací klinické chemie a laboratorní medicíny (IFCC) [2, 7], je nezávislé stanovení referenčních mezí laboratoří. Základem je zvolit vhodné referenční skupiny (např. skupina mužů a skupina žen) vybrané z vhodné referenční populace. Každá sledovaná skupina by měla zahrnovat nejméně 120 subjektů splňujících předem stanovená kritéria.

Pomocí dotazníku (např. str. 10 a 11 doporučení Klinického a laboratorního standardu CLSI / IFCC C28–A3) lze vyloučit nevhodné subjekty (např. pacienty na medikaci, která ovlivňuje výsledky měření, nebo pacienty s nevhodnou dietou). Referenční mez je pak definována jako rozmezí, ve kterém se nachází 95 % výsledků. Pokud určitý parametr může nabývat jak patologicky zvýšených, tak snížených hodnot, jako je tomu u většiny hematologických parametrů [4–6], vyloučí se jak horních, tak spodních 2,5 % výsledků a zbývající rozmezí se použije jako referenční mez. Pokud může být výsledek měření pouze patologický zvýšený, ale nelze předpokládat příliš nízké hodnoty, jako tomu bývá v případě počtu buněk při analýze moči, získá se referenční mez vyřazením horních 5 % hodnot.

Další možností stanovení referenčních mezí je použití matematicky složitější metody založené pouze na 80 subjektech (viz grafika 4). Pokud naměřené hodnoty u různých podskupin, např. muži a ženy, nevykazují statisticky významné rozdíly, lze výsledky sloučit do společné referenční meze. Nevýhodnou těchto postupů je značná náročnost daná vysokým počtem analyzovaných subjektů, zejména pokud má být daný počet subjektů (80 nebo 120) dodržen i při analýze jednotlivých podskupin.

Popsaná metoda stanovení referenčních mezí je neparametrickou metodou. Použitelné jsou i parametrické metody, u kterých se referenční meze stanoví výpočtem střední hodnoty ± dvojnásobek směrodatné odchylky. Parametrické metody nejsou použitelné pro všechny parametry, protože předpokládají, že zkoumaný parametr vykazuje normální neboli gaussovské rozložení. Soubory bez normálního rozložení lze normalizovat logaritmickou transformací. Výhodou je, že je možné pracovat s malými soubory dat, nevýhodou je matematická náročnost metody.

Grafika 4 *Parametrické versus neparametrické metody, jak vypočítat referenční meze*

Ověření vhodnosti referenčních mezí pocházejících z jiných zdrojů

Z výše uvedených důvodů je zřejmé, že referenční meze stanovené jinde než ve vaší laboratoři mohou být použity až po jejich ověření. V opačném případě může dojít k ohrožení pacienta. IFCC navrhuje následující postup ověření [7]:

Referenční meze porovnejte s 20 referenčními vzorky z vaší laboratoře. Pokud jsou maximálně 2 z 20 vzorků mimo rozsah, meze můžete použít. Pokud jsou 3–4 vzorky mimo rozsah referenčních mezí, rozšiřte analyzovanou skupinu o dalších 20 nových vzorků z vaší laboratoře. Pokud jsou maximálně 2 z těchto 20 vzorků mimo rozsah, meze můžete použít. Pokud je na začátku procesu ověřování 5 vzorků mimo publikované referenční meze nebo v druhém kroku ověřování více než 2 vzorky mimo publikované meze, nejsou referenční meze pro vaše pacienty vhodné. Alternativou je pak stanovení vlastních referenčních mezí (viz výše), nebo ověření jiných referenčních mezí.

Významy referenčních mezí a rozhodovacích limitů

Pacient, jehož výsledky jsou mimo referenční meze, nevyžaduje nutně lékařskou péči:

Vezmeme-li v úvahu metodu výpočtu referenčních mezí, 5 % hodnot referenční populace stojí mimo referenční rozmezí a takový pacient může být jednoduše součástí této skupiny (mějte na paměti, že 5 % znamená *1 pacient z 20*). Další možností jsou mírné formy nemocí, které mnohdy nevyžadují lékařskou intervenci. Takový výsledek je vhodné porovnat s rozhodovacími limity známými jako *mezní hodnoty*. Ty se stanoví například pomocí ROC křivky (Receiver Operating Characteristic, operační charakteristika přijímače).

Rozhodovací limity se stanovují i u chronických onemocnění, např. aby bylo možné určit, zda je pacient stabilní, nebo vyžaduje zahájení či změnu terapie. Referenční meze chronicky nemocných pacientů se stanovují stejně, jak je popsáno výše, pouze s využitím kohorty pacientů se stabilizovaným onemocněním. Takové rozhodovací limity často vycházejí pouze z lékařských zkušeností a konsensu v rámci příslušné specializace.

Referenční meze analyzátorů Sysmex

Společnost Sysmex má jako výrobce povinnost poskytnout uživatelům referenční meze ke svým přístrojům, a činí tak formou publikací. Tyto referenční meze slouží, vzhledem k důvodům uvedeným výše, pouze jako vodítko ke stanovení vlastních referenčních mezí v laboratoři.

V současné době existuje několik vědeckých studií (viz tabulka 1), které byly provedeny na hematologických analyzátorech třídy X a XN. Z publikacích je zřejmé, jak se rozsah referenčních mezí mění v závislosti na sledované populaci.

Publikované referenční meze pro starší řadu analyzátorů mohou být použity i pro novější generaci, ale pouze po jejich předchozím ověření. Vzhledem k tomu, že u různých populací existují rozdíly, informace uvedené v tabulce 1 usnadňují výběr vhodných mezí jako výchozí bod pro ověření vlastních referenčních mezí. Důležité je zvolit referenční meze, které byly stanoveny na populaci vhodné pro vaši laboratoř, protože mezi různými populacemi mohou existovat rozdíly.

První autor	Analyzátor	Parametry	Populace
Hong *et al.* [8]	XE-2100	PLT	Čína
Qiao *et al.* [9]	XE-2100	KO	Čína
Ambayya *et al.* [10]	XE-5000	KO + výzkumné parametry	Malajsie
Sehgal *et al.* [11]	XE-2100	KO	Indie
El Graovi *et al.* [12]	XE-2100	KO	Maroko
Pekelharing *et al.* [13]	XE-5000	KO + DIF + RET	Nizozemsko
Sysmex Corporation [14]	XN-Series	KO + DIF + RET + PLT-F	Japonsko
Part *et al.* [15]	XN-2000	KO + DIF + RET + PLT-F	Jižní Korea
Imperiali *et al.* [16]	XN-2000	PLT-F	Španělsko
Arbiol-Roca *et al.* [17]	XN-2000	KO + DIF	Španělsko
Florin *et al.* [18]	XN-1000	KO + DIF + RET	Belgie

Tabulka 1 *Přehled vybraných publikovaných referenčních mezí analyzátorů Sysmex*

Literatura

[1] ***Haeckel R, Wosniok W and Arzideh F.*** *(2007): A plea for intra-laboratory reference limits. Part 1. General considerations and concepts for determination. Clin Chem Lab Med 45 : 1033–1042.*

[2] ***Henny J*** *(2009): The IFCC recommendations for determining reference intervals: strengths and limitations. LaboratoriumsMedizin 33 : 45–51.*

[3] ***Ceriotti F, Hinzmann R and Panteghini M*** *(2009): Reference intervals: the way forward. Ann Clin Biochem 46 : 8–17.*

[4] ***Wakeman L, Al-Ismail S, Benton A et al.*** *(2007): Robust, routine haematology reference ranges for healthy adults. Int J Lab Hematol 29 : 279–283.*

[5] ***Heil W and Ehrhardt V*** *(2008): Reference ranges for adults and children. Pre-analytical considerations. Mannheim: Roche Diagnostics.*

[6] ***Bain BJ and England JM*** *(1975): Normal haematological values: sex difference in neutrophil count. Br Med J. 5953 : 306–309.*

[7] ***Solberg HE*** *(2004): The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal program. Clin Chem Lab Med 42 : 710–714.*

[8] ***Hong J, Min Z, Bai-Shen P, Jie Z, Ming-Ting P, Xian-Zhang H, Xiao-Ke H, Lan-Lan W, Xin Z, Wei G, Rui Q, Wen-Xiang C, Xin-Zhong W, Yue-Yun M, Hong S*** *(2014): Investigation on Reference Intervals and Regional Differences of Platelet Indices in Healthy Chinese Han Adults. J Clin Lab Anal; early online.*

[9] ***Qiao R, Yang S, Yao B, Wang H, Zhang J, Shang H*** *(2014): Complete blood count reference intervals and age- and sex-related trends of North China Han population. Clin Chem Lab Med; early online.*

[10] ***Ambayya A, Su AT, Osman NH, Nik-Samsudin NR, Khalid K, Chang KM, Sathar J, Rajasuriar JS, Yegappan S*** *(2014): Haematological Reference Intervals in a Multiethnic Population. PLoS One 18; 9(3) : e91968.*

[11] ***Sehgal KK, Tina D, Choksey U, Dalal RJ, Shanaz KJ*** *(2013): Reference range evaluation of complete blood count parameters with emphasis on newer research parameters on the complete blood count analyzer Sysmex XE-2100. Indian J Pathol Microbiol 56(2) : 120–4.*

[12] ***El Graoui O, Ellaabi S, Igala M, Elalloussi FZ, Nourchafi N, Mifdal H, Serhier Z, Othmani MB, Mikou KA, Oukkache B*** *(2014): Hematology reference intervals in Moroccan population. Clin Lab 60(3) : 407–11.*

[13] ***Pekelharing JM, Hauss O, de Jonge R, Lokhoff J, Sodikromo J, Spaans M, Brower R, de Lathouder S, Hinzmann R*** *(2010): Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. Sysmex Journal International Vol. 20. No. 1.*

[14] ***Sysmex Corporation, Japan*** *(2014): Reference ranges analysis document for XN series.*

[15] ***Park SH, Park CJ, Lee BR, Kim MJ, Han MY, Cho YU, Jang S*** *(2015): Establishment of Age- and Gender-Specific Reference Ranges for 36 Routine and 57 Cell Population Data Items in a New Automated Blood Cell Analyzer, Sysmex XN-2000. Ann Lab Med.36(3) : 244–9.*

[16] ***Imperiali CE, Arbiol-Roca A, Sanchez-Navarro L, Dastis-Arias M, Lopez-Delgado JC, Cortes-Bosch A, Sancho-Cerro A, Dot-Bach D*** *(2018): Reference interval for immature platelet fraction on Sysmex XN haematology analyser in adult population. Biochem Med:28(1) : 010708.*

[17] ***Arbiol-Roca A, Imperiali CE, Montserrat MM, Cerro AS, Bosch de Basea AC,Navarro LS, Dot Bach D, Politi JV*** *(2018): Reference intervals for a complete blood count on an automated haematology analyser Sysmex XN in healthy adults from the southern metropolitan area of Barcelona. EJIFCC:29(1) : 48–54.*

[18] ***Florin L, Oyaert M, Vandevenne M, Van den Bossche J, Vanden Driessche M, Claeys R, Marcelis L, Robbrecht J, Jacobs N, Nijs A, Janssen K, Van Ruymbeke A, de Mûelenaere G, Stove V*** *(2020): Establishment of common reference intervals for hematology parameters in adults, measured in a multicenter study on the Sysmex XN-series analyzer. Int J Lab Hematol. 42(3) : e110–e115.*

Distributor Česko: Sysmex CZ s.r.o. Elgartova 683/4, 614 00 Brno, Česko · Tel. +420 548 216 855 · Fax +420 548 216 343 · office@sysmex.cz · **www.sysmex.cz**
Distributor Slovensko: Sysmex Slovakia s.r.o. Trenčianska 47, 821 09 Bratislava, Slovensko · Tel. +421 2 6453 2881–2 · Fax +421 2 6428 1651 · office@sysmex.sk · **www.sysmex.sk**
Autorizovaný zástupce: Sysmex Europe GmbH Bornbarch 1, 22848 Norderstedt, Německo · Tel. +49 40 52726-0 · Fax +49 40 52726-100 · info@sysmex-europe.com · **www.sysmex-europe.com**
Výrobce: Sysmex Corporation 1-5-1 Wakinohama-Kaigandori, Chuo-ku, Kobe 651-0073, Japonsko · Tel. +81 78 265-0500 · Fax +81 78 265-0524 · **www.sysmex.co.jp**
Kontakt na obchodní zastoupení společnosti Sysmex ve vaší zemi naleznete na stránkách www.sysmex-europe.com/contacts
SEEDREFR.CS.03/21