

UDK 612.111/.117-053.2
COBISS.SR-ID 226827788

ISSN 0350-2899. - God. 41, br. 3 (2016), str. 185-189.

REFERENTNE VREDNOSTI KRVNE SLIKE KOD DECE STAROSTI 6 I 7 GODINA

REFERENCE VALUE PARAMETERS OF COMPLETE BLOOD COUNT IN CHILDREN AGING 6 AND 7

Milosava Đelkapić (1), Snežana Lešović (2)

(1) ZDRAVSTVENI CENTAR UŽICE, OJ DOM ZDRAVLJA UŽICE; (2) SPECIJALNA BOLNICA ZA BOLESTI ŠTITASTE ŽLEŽDE I BOLESTI METABOLIZMA „ZLATIBOR“

Sažetak: Nekada se za skup rezultata dobijenih testiranjem zdrave populacije koristio termin „normalne vrednosti“. Napredak u tumačenju laboratorijskih nalaza je postignut upotrebom termina „referentne vrednosti“ koji je precizniji i podrazumeva raspon od 95% vrednosti rezultata koji su dobijeni prilikom određivanja nekog parametra kod referentne populacije. Za pravilnu interpretaciju laboratorijskih nalaza neophodno je detaljno poznavati postupke i metode koji se koriste u laboratoriji, kao i uticaj pojedinih faktora na vrednosti rezultata. Poznato je da većina laboratorija u svetu koristi referentne vrednosti (RV) koje preporučuju proizvođači opreme, koje su već objavljene u literaturi ili koriste RV drugih laboratorija. Cilj našeg ispitivanja je bio da se odrede referentne vrednosti za parametre krvne slike koji odgovaraju uslovima rada u našoj laboratoriji. Istraživanje je trajalo 2 godine, obuhvatilo je 1248 zdrave dece (665 dečaka i 593 devojčice), starosti 6 i 7 godina. Za uzorkovanje venske krvi su korišćene vakutajner epruvete (Vacuette, Grenier-Bio-One, K2E, ljubičasti zapušač). Parametri krvne slike (KKS), leukociti (WBC), eritrociti (RBC), hemoglobin (Hgb), hematokrit (Hct), trombociti (PLT) i eritrocitni indeksi (MCV, MCH, MCHC, RDW) su određivani na hematološkom analizatoru HmX (Beckman-Coulter). Referentne granice su određene kao srednja vrednost ± 2 standardne devijacije, a značajnost razlike je utvrđivana Studentovim t-testom. Dobili smo sledeće RV: za WBC: 3,77–11,61 x 10⁹/L; RBC: 4,03–5,25 x 10¹²/L; Hgb: 111,1–147,22g/L; Hct: 0,34–0,42L/L; MCV: 75,5–90,14fL; MCH: 25,36–30,52pg; MCHC: 310,95–362,15g/L; RDW: 10,66–15,06%; PLT: 178,89–467,73 x 10⁹/L. Analizom podataka po polu utvrdili smo da postoji statistički značajna razlika samo kod RBC i RDW ($p < 0,05$, $p < 0,01$). Za ova dva parametra smo odredili RV za devojčice (RBC: 4,04–5,2 x 10¹²/L; RDW: 10,56–14,96 %) i dečake (RBC: 4,04–5,28 x 10¹²/L; RDW 10,76–15,12%). Poređenjem rezultata sa drugim laboratorijama došli smo do zaključka da se RV za pojedine parametre neznatno razlikuju, dok su kod drugih te razlike znatne, kao što je slučaj sa leukocitima kod kojih je gornja granica od 11,4 do 15,5 x 10⁹/L. S obzirom na to da ovakve razlike mogu otežavati interpretaciju laboratorijskih nalaza, mišljenja smo da svaka laboratorija treba da odredi RV za svoje uslove rada.

Ključne reči: referentne vrednosti, referentni interval, referentni opseg, deca, pedijatrijski.

Summary: The term "normal value" used to be applied for a set of results obtained by testing the health of population. The progress in the interpretation of laboratory results was achieved by using the term "reference value", which is more precise and includes a range of 95% of the results obtained in determining a parameter with the reference population. For the proper interpretation of laboratory findings, it is necessary to know in detail the procedures and methods used in laboratories, and the impact of certain factors on the value of the results. It is known that most laboratories in the world, use the reference value (RV) recommended by the manufacturers of equipment that have already been published in the literature or used as the RV of other laboratories. The aim of our study was to determine reference values for Complete Blood Count (CBC) parameters corresponding to the working conditions in our laboratory. The study lasted for 2 years, included 1.248 healthy children (665 boys and 593 girls), aging 6-7. For the sampling of venous blood vacutainer tubes (Vacuette, Grenier-Bio-One, K2E, purple stopper) were used. The parameters of the CBC leucocytes (WBC), erythrocytes (RBC), haemoglobin (Hgb), haematocrit (Hct), platelets (PLT) and erythrocyte indices (MCV, MCH, MCHC, RDW) were measured at HmX haematology analyzer (Beckman-Coulter). Reference limits were defined as the mean value ± 2 standard deviations and statistical significance of differences was determined by Student's t-test. We got

Adresa autora: Milosava Đelkapić. Dom zdravlja Užice, Jug Bogdanova 4, 31000 Užice, Srbija.

E-mail: dzuelab@gmail.com

Rad primljen: 31. 5. 2016. Rad prihvaćen: 29. 7. 2016. Elektronska verzija objavljena: 7. 11. 2016.

the following RV: for WBC 3.77 - 11.61x10⁹/L, RBC 4.03 - 5.25x10¹²/L, Hgb 111.1-147.22 g/L, Hct 0.34-0.42 L/L, MCV 75.5-90.14 fL, MCH 25.36-30.52 pg, MCHC 310.95-362.15 g/L, RDW 10.66-15.06%, PLT 178.89-467.73x10⁹/L. Analyzing the data by gender we found out that there was a statistically significant difference only in RBC and RDW (p<0.05, p<0.01). For these two parameters, we determine RV for girls (4.04-5.2 RBCx10¹²/L, RDW 10.56-14.9%, and for boys (RBC 4.04-5.28x10¹²/L, RDW 10.76-15.12%). Comparing the results with other laboratories, we came to the conclusion that the RV for some parameters was slightly different, while for others there was a significant difference, as in the case of leukocytes for which the upper limit is 11.4-15.5x10⁹/L. Given that these differences can complicate the interpretation of laboratory findings, we believe that each laboratory should determine RV for their working conditions.

Key words: reference value, reference interval, reference range, children, paediatric

UVOD

Određivanje parametara krvne slike na hematološkom analizatoru predstavlja početak svakog laboratorijskog ispitivanja. Međutim, dobijena vrednost laboratorijskog rezultata sama po sebi ne pruža nikakvu informaciju ako se ne poredi sa već poznatom vrednošću. Tumačenje laboratorijskih rezultata predstavlja specifičan vid zaključivanja putem poređenja sa referentnim vrednostima i koristi se za postavljanje dijagnoze, određivanje terapije, praćenje toka bolesti, ocenu stanja zdravlja osoba i populacije, identifikaciji u osoba kod kojih postoji rizik od nastajanja neke bolesti. Nekada se smatralo da svaka laboratorija treba da odredi sopstvene referentne vrednosti, ali danas laboratorije koriste referentne vrednosti dobijene na drugom mestu (npr, preporuka proizvođača uređaja, studije, udžbenici i sl.).

U prošlosti se često koristio termin „normalne vrednosti”, što je ekvivalent terminu referentne vrednosti dobijene kod zdravih ispitanika. One su podrazumevale područje vrednosti koje se nalazi kod 95% zdravih osoba, a dobijene su u grupi ispitanika izabranih kao reprezentativni uzorak. Međutim, ne postoji apsolutno zdravlje, često postoje razlike u raznim populacijama, pa što je kod jednih „normalno” ne mora biti i za druge. Takođe, referentne vrednosti se ne moraju formirati samo za zdravu populaciju, već se one mogu odnositi i na zdravstveno stanje, npr. trudnoću ili dijabetes. Do zabune može doći jer termin normalna vrednost ima različito značenje u statistici i medicini, pa je IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) preporučila upotrebu termina referentna vrednost (RV), umesto normalna vrednost [1]. Danas se često kao sinonimi koriste izrazi referentna vrednost, referentni interval, referentni raspon i referentni opseg. Referentne vrednosti se dobijaju od osoba koje se nazivaju referentnim

pojedincima, koji su izabrani na osnovu utvrđenih kriterijuma sa ciljem dobijanja referentnih vrednosti. Da bi se adekvatno tumačili laboratorijski nalazi, kliničaru treba da su poznati uslovi pod kojima su dobijeni uzorci biološkog materijala (uticaj temperature, svetla, stajanje uzorka, prisustvo lipemije, hemolize, ikteričnosti, hladnih aglutinina, krioglobulina, makroenzima, autoantitela, EDTA zavisnih antitela), da budu primenjene odgovarajuće standardne metode, kontrole kvaliteta i opreme. Na laboratorijske rezultate mogu uticati pol, starost, rasa, etničko poreklo, geografska lokacija, genetski faktori, fiziološki faktori, socioekonomski status, adaptacija osoba na određene ekološke uslove, uzimanje hrane, pića, lekova i fizička aktivnost [2]

S obzirom na uticaj svih navedenih faktora na vrednost laboratorijskog rezultata, cilj nam je bio da odredimo referentne vrednosti za parametre krvne slike, kod dece starosti 6 i 7 godina, koje odgovaraju uslovima rada u našoj laboratoriji.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je trajalo oko 2 godine, obuhvatilo je 1248 zdrave dece starosti 6 i 7 godina (665 dečaka i 593 devojčice), koja nisu imala hematološke, akutne i hronične respiratorne, endokrinološke i nefrološke bolesti. Da bi se minimizovali uticaji hrane, poveske, mesta uzorkovanja, položaja tela, antikoagulansa u epruveti, stajanja i čuvanja uzorka, pridržavali smo se preporuka za uzorkovanje krvi. Sva deca nisu uzimala hranu 10–12h pre uzorkovanja, zbog uticaja lipida i pojave fenomena pod nazivom „in vitro staza” [3]. Uzorak je uziman našte, u sedećem položaju pacijenta, u vakutajner epruvete (Vacuette, Grenier-Bio-One, K2E, ljubičasti zapušač) sa K2EDTA antikoagulansom. Za uzorkovanje je primenjavana poveska koja je odvezivana odmah

posle uboda, epruveta sa dobijenim uzorkom je invertovana osam puta, a parametri krvne slike su određivani na hematološkom analizatoru HmX (Beckman-Coulter), u period do jednog sata posle uzorkovanja. Za unutrašnju kontrolu kvaliteta korišćena je komercijalna kontrolna krvi 5 Cell Control i Coulter reagensi dizajnirani za ove sisteme. Za statističku obradu podataka korišćen je Studentov t-test, a referentne granice su određene kao $X \pm 2SD$ (srednja vrednost ± 2 standardne devijacije).

CILJ RADA

Cilj rada je bio da se odrede referentne vrednosti parametara krvne slike, kod dece starosti 6 i 7 godina, koje odgovaraju uslovima rada u našoj laboratoriji.

REZULTATI

Na hematološkom analizatoru smo određivali sledeće parametre krvne slike: leukocyte (WBC), eritrocite (RBC), hemoglobin (Hgb), hematokrit (Hct), trombocite (PLT) i eritrocitne indekse (MCV, MCH, MCHC i RDW). Podaci za ove parametre su statistički obrađeni po polu, a dobijene vrednosti su prikazane na tabeli 1.

Tabela 1. Distribucija parametara krvne slike po polu.
Table 1. Distribution of blood count parameters according to gender.

		Parametar									
	n		WBC	RBC	Hgb	Hct	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT
DEČACI	665	X	7,79	4,66	129,23	0,384	82,64	27,87	336,95	12,94	323,18
		SD	1,96	0,31	9,38	0,022	3,3	1,23	8,83	1,09	74,38
DEVOJČICE	593	X	7,58	4,62	129,07	0,383	83,02	28,01	336,1	12,76	323,44
		SD	1,95	0,29	8,63	0,022	4,0	1,35	16,13	1,1	69,74
t			1,855	2,36	0,315	0,816	1,825	1,915	1,168	2,91	0,064
p			>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01	>0,05

n – broj ispitanika; X – srednja vrednost; SD – standardna devijacija; t – Studentov t-test; p – statistička značajnost razlike.

n-number of respondents; X- mean value; SD-standard deviation; t-Student's t-test; p- statistical significance of differences

Poređenjem pojedinačnih parametara KKS dečaka i devojčica, dobili smo statistički značajnu razliku za RBC ($p < 0,05$) i visokostatistički značajnu razliku za RDW ($p < 0,01$). Dečaci su imali više prosečne vrednosti RBC, ali je i variranje kod njih bilo više, tako da smo pri formiranju RV po polu uvideli da se RV neznatno razlikuju samo na gornjoj granici

(dečaci 4,04–5,28; devojčice 4,04–5,2 x 10¹²/L), a pojedinačno formirane RV za RDW se razlikuju za 0,2% (dečaci 10,76–15,12; dev. 10,56–14,96%).

Objedinjavanjem podataka za oba pola i statističkom obradom, formirali smo zajedničke referentne vrednosti što je prikazano na tabeli 2.

Tabela 2. Referentne vrednosti za parametre krvne slike kod dece.
Table 2. Reference values of blood count parameters in children

Parametar	Srednja vrednost (x)	Standardna devijacija (sd)	Referentna vrednost ($x \pm 2sd$)
WBC (x 10 ⁹ /L)	7,69	1,96	3,77–11,61
RBC (x 10 ¹² /L)	4,64	0,307	4,03–5,25
Hgb (g/L)	129,16	9,03	111,1–147,22
Hct (L/L)	0,38	0,02	0,34–0,42
MCV (fL)	82,82	3,66	75,5–90,14
MCH (pg)	27,94	1,29	25,36–30,52
MCHC (g/L)	336,55	12,8	310,95–362,15
RDW (%)	12,86	1,1	10,66–15,06
PLT (x 10 ⁹ /L)	323,31	72,21	178,89–467,73

DISKUSIJA I ZAKLJUČAK

Poslednjih decenija su se menjali stavovi o minimalnom broju ispitanika potrebnih za formiranje RV. Preporuke su se kretale od najmanje 50, pa do najmanje 1000 ispitanika [4, 5]. Po sada važećim preporukama, potrebno je najmanje 120 ispitanika po svakoj grupi za formiranje RV. Radna grupa Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI) predlaže da više laboratorija koje poseduju adekvatan statistički informacioni sistem, koje su umrežene, raspoložu metodama visoke specifičnosti i osjetljivosti, mogu da kombinuju podatke i tako smanje veličinu uzorka na po 20 ispitanika. Ovo je važno iz razloga što se izbegava opterećenje da svaka laboratorija za sebe obezbedi najmanje 120 referentnih pojedinaca (po polu, rasi, godinama), što smanjuje opterećenje laboratorije i materijalne troškove. Ukratko, radna grupa smatra da je svaka laboratorija više nego sposobna da verifikuje primenljivost referentnih intervala na svoju populaciju. Ovo je moguće pod uslovom da se i proizvođači opreme pridržavaju propisanih standarda, primenjuju savremene statističke metode i izvode multicentrične studije [6]. Danas se zajednički RV formiraju u određenom regionu jedne zemlje ili u nekoliko zemalja, dok se ostale laboratorije oslanjaju na ovako dobijene vrednosti [7, 8].

U Srbiji ne postoji regionalna umreženost laboratorija, niti umreženost na nivou zemlje, pa je zadatak svakog biohemičara da odredi RV i izvrši uporedivost sopstvenih rezultata sa drugim laboratorijama. Kao i u našoj zemlji, i u Latinskoj Americi se obično koriste RV koje su određene u nekoj drugoj laboratoriji i nisu prošle validaciju u sopstvenoj [9]. Formiranje RV po polu je relativno lako, ali po starosnim grupama nije tako, pa su obično razlike između laboratorija od jedne do dve godine. Tako, npr, Klinika Mayo ima RV za decu od 6 do 11 godina za sve pojedinačne parametre u krvnoj slici po starosti [10]. Slično je i sa klinikama i bolnicama za decu 6–12 godina u Minesoti [11]. Klinički centar Srbije RV za WBC 6–7. godine, za RBC, Hgb, Hct i eritrocitne indekse 5–10. god, za PLT 6–10. godine [12]. Pojedine laboratorije su izvršile podelu i po polu i po starosti, ali se vidi da u tom uzrastu ne postoji razlika RV po polu [13]. Analizom dobijenih podataka uvideli smo da su naše RV za WBC (3,77–11.61 x 10⁹/L) niže u odnosu na RV

kod prethodno navedenih klinika (4,5–14,5; 5,0–15,5; 5,0–14,5 x 10⁹/L) i da su najpribližnije RV za odrasle osobe. Kod ovih klinika su različiti i rasponi za RBC (3,8–5,2; 4–5,2; 3,6–5,4 x 10¹²/L), kao i za hemoglobin (10,9–14,9; 11,5–15,5; 11–143g/L), a za hematokrit se kreću u rasponu 1–3%. Vrednosti naših RV za sve parametre za ovaj uzrast su najpribližnije sa RV koje je objavio Medicinski centar za decu u Dejtonu [14]. Pošto se vrednost WBC veoma često koristi za postavljanje dijagnoze u akutnim stanjima, gornja granica RV varira između laboratorija (od 11,4 pa do 15,5 x 10⁹/L), što može dovesti do dodatne zabune. Iz dobijenih podataka vidimo da je gornja granica naših RV za WBC 11,61 x 10⁹/L najpribližnija gornjoj granici RV Medicinskog centra za decu u Dejtonu 12 x 10⁹/L i bolnice u Baltimoru (11,4 x 10⁹/L) [15]. Nijedna od navedenih laboratorija nije navela opremu na kojoj je određivala parametre KKS, geografsko područje i rasu, pa smo u poređenju podataka mogli uzeti u obzir samo vrednosti parametara.

ZAKLJUČAK

Uvek treba da imamo u vidu da su referentne vrednosti samo orijentacione smernice za tumačenje laboratorijskih nalaza i ne treba ih poistovećivati sa nivoima kliničke odluke. Laboratorijski nalaz koji je izvan granica referentnog raspona ne mora uvek biti i patološki, jer kliničar treba da uzme u obzir i druge faktore koji mogu uticati na rezultat, kao što su individualne razlike, postupanje sa uzorkom, osobine uzorka, metode kojima je određivan. Ako se koriste RV drugih laboratorija, pored uslova rada u laboratoriji, treba uzeti u obzir i nadmorsku visinu područja za koje su određivane RV, kao i rasu ispitanika. Svi podaci često nisu dostupni kliničaru, pa je potrebno da svaka laboratorija odredi sopstvene RV za metode koje primenjuje i uslove pod kojima radi.

LITERATURA

1. Tietz N. Osnovi kliničke hemije. 3-e izdanje. Beograd: Velarta; 1997.
2. Majkić-Sing N, Spasić S, Stojanov M, Jelić-Ivanović Z, Spasojević-Kalimanovska V. Medicinska biohemija principi i metode. Beograd: Praktikum; 1995.
3. Dopsaj V, Spasojević-Kalimanovska V, Marisavljević D, Terzić B, Memon L. Osnovi laboratorijske dijagnostike anemija. Beograd: 2006; 63–83.
4. Štraus B. Medicinska biohemija. Zagreb: Jumena; 1988.
5. Veselinović G. Laboratorijska dijagnostika: rutinski biohemijski testovi: priručnik. Beograd: Interpres; 2002.
6. CLSI. Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory. Approved Guideline-

- Third Edition, Guideline C28-A3c; 2010; 2 (30). Available from: <http://www.shop.clsi.org/c.1253739/site/Sample-pdf/EP28A3c-sample.pdf>
7. Mekaini AL, Denic S, Al Jabri NO, Narchi H, Souid AK, Al-Hammadi S. Red cell parameters in infant and children from the Arabian Peninsula. *Am J Blood Res*, 2015; 5 (2): 101–107.
 8. Ridefelt P. Population-based pediatric reference intervals in general clinical chemistry: a Swedish survey. *J Med Biochem*, 2015; 34 (1): 64–65.
 9. Fuentes-Arderiu X. Knowledge on the theory of biological reference values in Latin America. *eJIFCC*, 2015; 26 (2): 133–134. Available from: <http://www.ifcc.org/media/283339/eJIFCC%20March%202015.pdf>
 10. Mayo Clinic, Mayo Medical Laboratories. Pediatric Test Reference Values. Available from: <http://www.mayomedicallaboratories.com/test-info/pediatric/refvalues/reference.php>
 11. Childrens Hospital and Clinics of Minnesota. Complete blood count reference values. Available from: <http://www.childrensmn.org/manuals/lab/hematology/018981.asp>
 12. Indeks parametara referentnih vrednosti koji se određuju u kliničko-biohemijskoj laboratoriji. Klinički centar Srbije. Available from: <http://www.komorabiohemsrbije.org.rs/pdf/index-parametara.pdf>
 13. UC Health Laboratory. Reference ranges. Available from: <http://laboratory.uhealth.com/test/reference-ranges>
 14. Normal Values: RBC, Hgb, Hct; and Indices. THE Children's Medical Center of Dayton. Available from: <http://www.childrensdayton.org/cms/sitelet/5469849d44eaf7e3/index.html>
 15. Reference Ranges SHB Hem Pediatrics-Lifebridge Health. Available from: <http://www.lifebridgehealth.org/upload/public/documents/lab/Reference-Hem-Ped.pdf>