Gli intervalli di riferimento ematologici in età pediatrica

M. Buttarello[a], P. Bulian[b]

[a]Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Azienda U.L.S.S 16, Padova
[b]Servizio di Onco-Ematologia Clinico-sperimentale, Centro di Riferimento Oncologico I.R.C.C.S., Aviano (PN)

Riassunto

***Premesse*: per il calcolo degli intervalli di riferimento possono essere utilizzati metodi diretti (basati sulla selezione di soggetti di riferimento) e metodi indiretti che utilizzano i dati provenienti da tutti i soggetti appartenenti al gruppo di interesse opportunamente trattati dal punto di vista statistico.**
In ambito pediatrico, trattandosi di soggetti in continuo sviluppo, è necessario procedere al calcolo degli intervalli dopo stratificazione per fasce d'età. In questo lavoro vengono presentati gli intervalli di riferimento per la citoematologia quantitativa, ottenuti con il metodo diretto e raccolti attraverso un'indagine multicentrica.
***Metodi*: sono stati selezionati a priori soggetti di età compresa fra 0 e 168 mesi, suddivisi successivamente in 6 fasce di età. I campioni sono stati analizzati nei singoli centri e l'elaborazione (calcolo dei percentili 2,5 e 97,5) è stata eseguita separatamente per le 2 principali tecnologie utilizzate (Sysmex XE 2100 e Siemens ADVIA 120).**
***Risultati*: i risultati ottenuti indicano come alcuni parametri quali i granulociti neutrofili o i reticolociti siano relativamente costanti, mente altri come i linfociti o la concentrazione di emoglobina mostrino dei trend in diminuzione nel primo caso o in crescita nel secondo, in rapporto all'età.**
***Conclusioni*: nonostante la casistica sia ancora limitata vengono evidenziati dei comportamenti ben definiti quali la diminuzione dei linfociti o l'aumento della concentrazione emoglobinica all'aumentare dell'età. Un'interessante osservazione è il progressivo aumento del volume corpuscolare medio che raggiunge valori prossimi a quelli dell'adulto all'età di 14 anni.**

Summary

Pediatric reference intervals in hematology
Background: the determination of reference intervals is based on direct methods (with selection of reference subjects) or, alternatively, on indirect methods (based on analysis of data from wide database of subjects of selected groups, and underwent to appropriate statistical procedures). Because of the continuous development changes from birth to adulthood of pediatric subjects, we must estimate pediatric reference intervals after age related stratification.
The aim of this work is to present pediatric reference intervals for quantitative cytohematology, obtained with the direct method through a multicentric study.
Medhods: subjects (aged between 0 and 168 months) were selected with the *a priori* method and then classified in 6 age-related group. Each laboratory analized its specimens while the statistical analysis was performed centrally for the two main technologies (impedance and light scattering).
Results: the results suggest that some parameters, as neutrophil or reticulocyte counts, are relatively uniform, while others as lymphocyte counts, hemoglobin concentration and mean corpuscolar volume show a decreasing (the first) or increasing (the seconds) trend.
Conclusions: although our data set is still limited, certain features appear well defined as the progressive increase in hemoglobin concentration and the decrease of lymphocytes during age advance. It remain unclear wherefore the mean corpuscolar volume progressively raises reaching at the age of 14 years values comparable to adulthood.

Ricevuto: 24-04-2007 Pubblicato on-line: 03-05-2007

Corrispondenza a: Dott. Mauro Buttarello, Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale S. Antonio, Via Facciolati n. 72, 35100 Padova.
Tel 049-8216610, fax 049-8216614, e-mail: mbuttarello@yahoo.it

Introduzione

Il confronto dei risultati ottenuti per un determinato analita con i corrispondenti intervalli di riferimento costituisce ancora oggi il metodo maggiormente adottato per l'individuazione di un'anomalia quantitativa in un singolo soggetto, sia nel caso di indagini su popolazioni che nella distinzione fra stato di salute e malattia. La citoematologia quantitativa (esame emocromocitometrico, differenziazione leucocitaria più o meno estesa, conteggio reticolocitario) non sfugge a questa regola nonostante gli indici di individualità evidenzino come tali intervalli risultino utili soltanto nel caso di un numero limitato di parametri quali i leucociti totali e i granulociti neutrofili[1].

Per la popolazione adulta esiste una ricca letteratura tutt'ora valida alla quale si può attingere per l'individuazione degli intervalli con l'accortezza che l'uso di intervalli calcolati su popolazioni presumibilmente diverse deve essere preventivamente verificato e confermato utilizzando le raccomandazioni degli organismi di standardizzazione[2,3].

Per le età estreme, quella pediatrica in particolare, i dati disponibili sono frammentari e poco esiste per la popolazione Italiana. Le difficoltà sono dovute a più fattori: 1) la necessità di considerare il bambino come una realtà in continuo sviluppo; 2) il comportamento dinamico correlato all'età per molti analiti che vale anche per i parametri ematologici; ne consegue la necessità di procedere ad una stratificazione dei risultati in rapporto all'età; 3) la difficoltà a raccogliere campioni di bambini sani, in numero congruo per l'elaborazione statistica, per ciascuna fascia di età presa in considerazione.

Alcuni Autori[4] hanno aggirato quest'ultimo problema utilizzando metodi indiretti per il calcolo, basati sui risultati di tutti i "pazienti" di una determinata fascia di età indipendentemente dal loro stato di salute e procedendo all'esclusione dei dati estremi con opportune metodologie statistiche[5]. Un'ulteriore complicazione è insita nelle tecnologie utilizzate per le determinazioni ematologiche. E' noto infatti che i risultati numerici prodotti per alcuni parametri ematologici, quali l'indice di anisocitosi eritrocitaria (RDW), alcune popolazioni leucocitarie quali i linfociti e i monociti, i reticolociti e i rispettivi indici di maturità (IRF), sono particolarmente strumento dipendenti.

Le procedure consigliate dallo standard internazionale IFCC/ICSH[6] e riprese in buona parte dal più recente standard NCCLS/CLSI C28-A2[3] si basano peraltro sull'uso dei metodi diretti che prevedono la selezione di un numero adeguato di soggetti di riferimento.

Considerate queste problematiche e tenendo conto delle difficoltà per un singolo centro nel procedere alla raccolta della casistica necessaria per il calcolo di tali intervalli, il Gruppo di Studio in Ematologia della Società Italiana di Medicina di Laboratorio (GdS-E SIMeL)* ha deciso di avviare un progetto multicentrico per la raccolta dei dati, considerando anche la differenti tecnologie analitiche utilizzate.

Materiali e metodi

a) *Popolazioni e classi d'età*

I centri che hanno partecipato alla raccolta dei dati hanno selezionato 350 soggetti di razza caucasica, di età compresa fra 1 giorno e 14 anni (168 mesi). I criteri di accettabilità come soggetti di riferimento erano stabiliti *a priori* e basati su dati anamnestici raccolti attraverso i familiari (o direttamente dal medico curante nel caso di soggetti ospedalizzati) e sulla negatività di alcuni test biochimici che dovevano comunque includere le determinazioni di: creatinina, glicemia, transaminasi (AST e ALT) e proteina C reattiva.

In questa prima fase, considerata la ridotta numerosità soprattutto per i primi mesi di vita, si è deciso di procedere a una suddivisione in 6 classi di età (0-12, 13-24, 25-36, 37-72, 73-120, 121-168 mesi) senza distinzione in base al sesso. Nei casi in cui siano stati utilizzati analizzatori ematologici con principi analitici differenti i risultati sono stati elaborati separatamente.

Tutti i campioni sono stati prelevati utilizzando sali bi o tripotassici dell'EDTA come anticoagulante e analizzati entro 4 ore dal momento del prelievo.

b) *Analizzatori ematologici e aree geografiche*

Gli analizzatori ematologici, per la determinazione degli intervalli sugli 8 parametri base dell'esame emocromocitometrico, sono stati raggruppati secondo le due principali filosofie analitiche disponibili: metodo ad impedenza e metodo a dispersione di luce. Per il conteggio reticolocitario e per la differenziazione leucocitaria ogni modello è stato considerato singolarmente.

In particolare, per l'esame emocromocitometrico sono stati raggruppati da un lato gli analizzatori Sysmex XE 2100 (Dasit, Cornaredo, MI) e Beckman-Coulter LH 750 (IL, Milano), e dall'altro gli analizzatori ADVIA 120 e 2120 (Siemens Medical Diagnostics, Milano).

Le prestazioni degli analizzatori sono state controllate per mezzo di un programma di controllo interno che prevede l'utilizzo di materiali ad almeno 2 diverse concentrazioni analitiche, oltre che con la partecipazione a verifiche esterne di qualità.

Le aree geografiche da cui sono pervenuti i risultati sono rappresentate da: Abruzzo, Emilia-Romagna, Friuli-Venezia Giulia, Marche e Veneto.

c) *Metodologia statistica*

Per ogni classe di età sono stati utilizzati diversi metodi per la ricerca degli outliers: ispezione delle distribuzioni, test di Dixon[7] (per gruppi con numerosità < 30) e test di Grubbs[8] (per numerosità > 30 previa normalizzazione delle distribuzioni, quando necessaria). Sui dati rimanenti è stato applicato il test di Shapiro-Wilk[9,10]

Tabella I. Intervalli di riferimento e classi di età (metodo ad impedenza)*.

Parametri	*Classi*	*2.5%*	*Mediana*	*97.5%*	*n*
Leucociti (10^9/L)	1	6.08	10.62	13.68	12
	2	6.56	9.83	14.54	29
	3	5.34	8.40	13.50	23
	4	4.75	7.76	11.86	89
	5	4.21	6.86	10.83	103
	6	4.32	6.48	10.80	74
Eritrociti (10^{12}/L)	1	4.51	4.70	5.22	11
	2	4.41	4.87	5.46	29
	3	4.35	4.85	5.42	23
	4	4.18	4.87	5.46	89
	5	4.44	4.90	5.45	103
	6	4.38	4.92	5.58	74
Piastrine (10^9/L)	1	215	336	580	12
	2	246	334	439	29
	3	240	327	512	23
	4	196	320	528	88
	5	198	293	473	102
	6	202	276	410	76
Emoglobina (g/dL)	1	11.8	12.2	13.2	12
	2	11.2	12.2	13.3	28
	3	11.3	12.2	14.2	23
	4	11.3	12.9	14.2	88
	5	11.7	13.2	14.5	103
	6	12.1	13.5	15.2	74
Volume Medio	1	71	78	82	11
Corpuscolare (fL)	2	67	75	81	29
	3	69	78	83	23
	4	73	79	86	89
	5	74	81	87	103
	6	75	83	93	74
Neutrofili(10^9/L)	1	0.61	2.61	3.44	12
	2	1.40	2.69	6.19	29
	3	0.84	2.66	7.70	23
	4	1.37	3.19	7.54	89
	5	1.34	2.87	6.67	103
	6	1.58	3.16	7.48	74
Linfociti (10^9/L)	1	4.27	6.52	9.80	12
	2	3.06	5.60	9.88	29
	3	3.23	4.37	7.03	23
	4	1.62	3.33	5.44	89
	5	1.63	2.64	4.41	103
	6	1.59	2.50	3.83	74
Reticolociti (10^9/L)	1	30	48	95	10
	2	23	36	64	26
	3	14	38	80	22
	4	16	40	75	86
	5	20	37	79	102
	6	21	39	69	70

* Si consulti il testo per la definizione delle classi di età in mesi.

Tabella II. Confronto fra intervalli di riferimento ottenuti con il metodo indiretto (letteratura)[4] e con il metodo diretto utilizzando lo stesso tipo di analizzatore.

Parametri	*classi di età (mesi)*	*metodo diretto* 2.5%	97.5%	*metodo indiretto* 2.5%	97.5%
Sysmex XE2100					
Leucociti (10^9/L)	25 –72	4.7	13.3	4.9	13.4
	73-144	4.2	11.5	4.3	11.4
Emoglobina (g/dL)	25 –72	11.3	14.5	10.2	12.7
	73-144	11.7	14.7	10.6	13.4
Volume Medio Corpuscolare (fL)	25 –72	72.2	85.7	71.3	85.0
	73-144	73.6	87.1	74.4	87.6
Piastrine (10^9/L)	25 –72	196	528	189	403
	73-144	198	473	199	369
Siemens ADVIA120					
Neutrofili (10^9/L)	25 –72	1.25	6.86	2.1	8.9
	73-144	1.49	7.43	2.1	7.8
Linfociti (10^9/L)	25 –72	1.57	5.5	1.2	4.6
	73-144	1.28	4.99	1.0	3.4
Reticolociti (10^9/L)	25 –72	23.5	94.2	29	83
	73-144	26.2	92.8	37	106

per verificare la normalità o meno delle distribuzioni.

Si è quindi proceduto al calcolo della mediana e dell'intervallo compreso fra i percentili 2,5 e 97,5[3].

Poiché si ritiene di particolare utilità la verifica del *trend* dei vari parametri in rapporto all'età (ricerca di eventuali distribuzioni plurimodali, andamenti in crescita o in diminuzione costante) tutti i risultati utili sono stati riportati in funzione dell'età con sovraimposti i valori della mediana e degli intervalli di riferimento. Per visualizzare graficamente le differenze fra le varie classi di età sono state utilizzate le distribuzioni cumulative di frequenza[11]. Ciò consente di apprezzare se le eventuali differenze sono presenti lungo l'intera distribuzione o limitatamente ad uno o a tutti e due gli estremi.

Nel caso di parametri per i quali era già nota la dipendenza dal metodo di analisi (ad esempio le concentrazioni reticolocitaria e linfocitaria) si è proceduto a verificare se le differenze riscontrate fra i diversi metodi avessero o meno una reale significatività.

Risultati

La Tabella I riporta la mediana, gli estremi degli intervalli e la numerosità per ciascuna classe di età considerata, per i principali parametri studiati, con riferimento al metodo ad impedenza (2 analizzatori) relativamente ai conteggi leucocitari, eritrocitari, piastrinici, alla determinazione della concentrazione emoglobinica e al volume corpuscolare medio. Per il conteggio dei neutrofili, linfociti e reticolociti i dati sono riferiti al solo XE 2100.

La Figura 1 (a, b, c, d) mostra il *plot* dei vari risultati in rapporto all'età, per alcuni parametri scelti per il loro particolare comportamento: a) i granulociti neutrofili, che nel primo anno di vita risultano a concentrazione più bassa (soprattutto sul limite superiore dell'intervallo), risalgono poi lentamente fino ai 72 mesi per mantenere successivamente una certa stabilità; b) i linfociti , con un *trend* in calo progressivo a partire dai primi mesi con l'eccezione di un transitorio incremento intorno al 5° anno; c) la concentrazione emoglobinica che evidenzia un aumento progressivo a partire dai primi mesi fino ai 14 anni; d) il volume corpuscolare medio con un costante incremento dalla nascita fino alla pubertà.

La Figura 2 (a, b) mostra un diverso modo di confrontare i risultati ponendo sullo stesso grafico la distribuzioni cumulative di frequenza per il parametro considerato e per le varie classi di età. Con questo metodo è possibile visualizzare le differenze fra i vari gruppi in ogni punto della distribuzione. La Figura 2a evidenzia chiaramente come il limite inferiore dell'intervallo per i neutrofili sia più basso per la classe 1 e la classe 3, come la differenze fra le classi si attenui nella zona centrale e come la classe 1 mostri valori massimi decisamente inferiori a quelli di tutte le altre classi. Molto diverso è il comportamento dei linfociti di Figura 2b dalla quale si nota come i limiti inferiori dell'intervallo siano molto più ravvicinati fra le varie classi di quanto lo siano i limiti superiori e come la differenza aumenti progressivamente verso i percentili più elevati della distribuzione. Si può anche notare come i valori diminu-

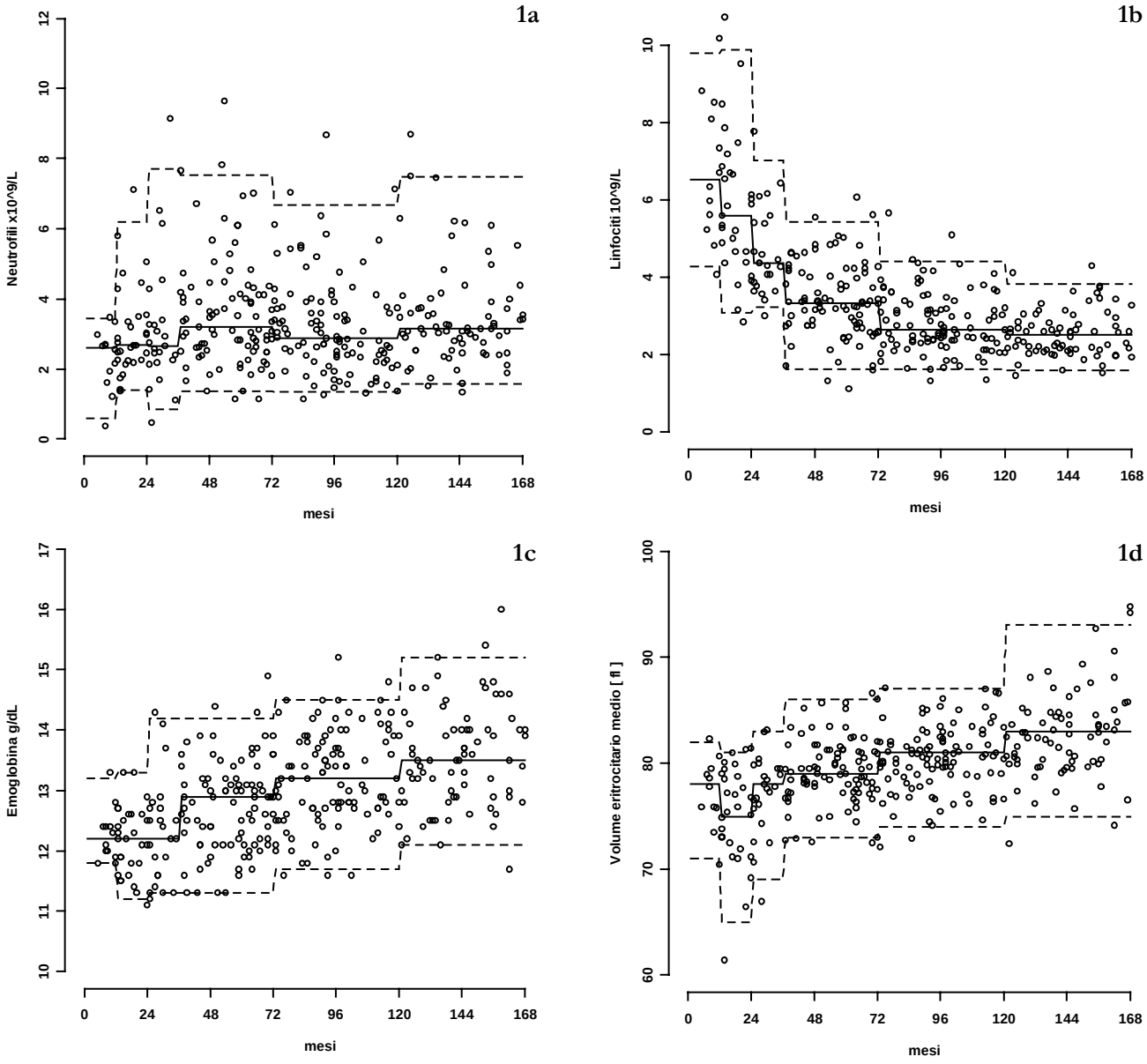


Figura 1 (a, b, c, d). Distribuzione delle concentrazioni dei granulociti neutrofili (a), dei linfociti (b), dell'emoglobina (c) e del volume eritrocitario medio (d) in funzione dell'età. La linea spezzata continua indica la mediana, quelle tratteggiate l'intervallo di riferimento.

iscano progressivamente passando dalla classe 1 alla classe 6.

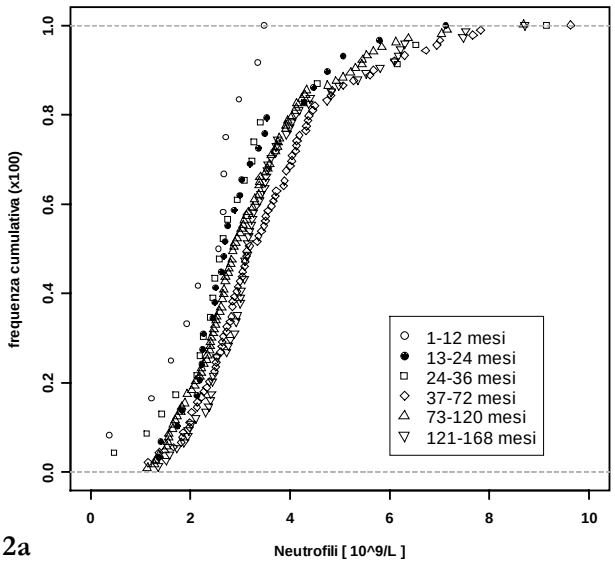
La Tabella II mette a confronto alcuni intervalli pubblicati[4], riferiti all'XE 2100 o all'ADVIA 120, e calcolati con il metodo indiretto, con quelli ottenuti in questo studio. Per questa comparazione si è reso necessario rideterminare 2 classi di età (25-72 e 73-144 mesi) per farle coincidere con quelle della letteratura.

La Figura 3 (a, b), infine, riporta le frequenze cumulative per i linfociti e i reticolociti relativamente a 2 classi di età scelte come esempio al fine di confrontare i risultati ottenuti con analizzatori a differente metodologia analitica. Si nota chiaramente come questi risultati siano tecnologia dipendenti; infatti per i reticolociti esiste una costante differenza fra i 2 metodi, con gli analizzatori ADVIA che forniscono conteggi costantemente più elevati, mentre per i linfociti, a fronte di una sovrapposizione per la classe 37-72 mesi, si nota una costante sovrastima di XE per la classe 13–24.

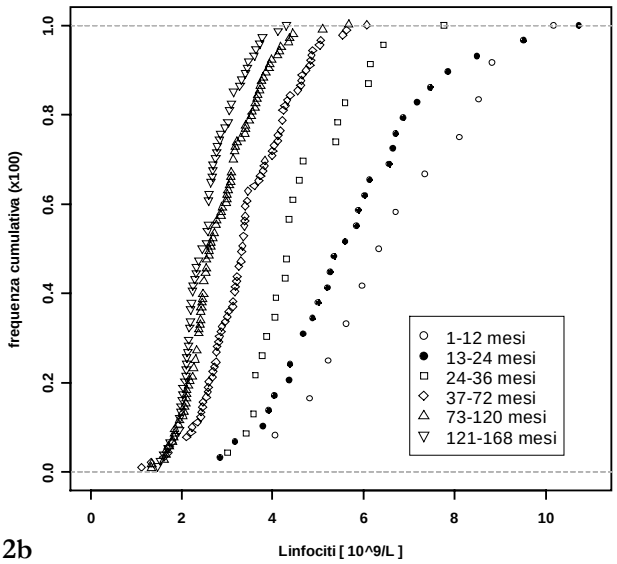
Discussione

Il calcolo degli intervalli di riferimento in ambito pediatrico si è dimostrato utile sia come metodologia per verificare la fattibilità di uno studio multicentrico basato sul metodo diretto che come punto di partenza per il confronto con quanto disponibile in letteratura.

L'utilizzazione del metodo diretto prevede una definizione del soggetto di riferimento basata su specifici

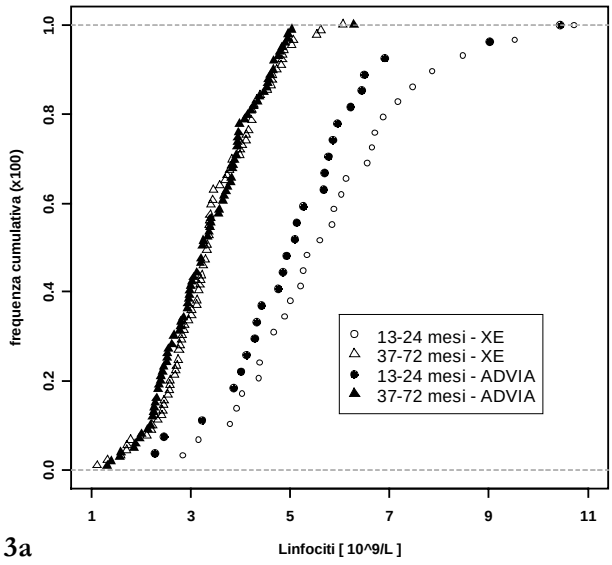


2a

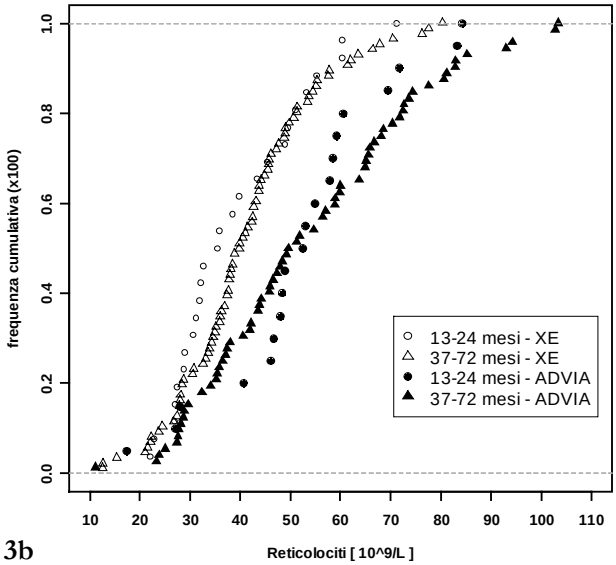


2b

Figura 2 (a, b). Grafici delle frequenze cumulative per i granulociti neutrofili (a) e per i linfociti (b) per le 6 classi di età considerate.



3a



3b

Figura 3 (a, b). Grafici delle frequenze cumulative riferiti alla concentrazione dei linfociti (a) e dei reticolociti (b) per le stesse classi di età ma ottenuta con analizzatori diversi.

criteri di esclusione. Le difficoltà incontrate nella raccolta di soggetti con età compresa fra la nascita e i primi mesi di vita non sono trascurabili in quanto difficilmente soggetti di questa età, se in condizione di piena salute, accedono ai servizi diagnostici. In tal caso diventano particolarmente importanti la sensibilizzazione dei curanti e la disponibilità dei familiari. Per questo motivo in altri Paesi sono stati avviati progetti particolarmente ambiziosi con il coinvolgimento di molti ospedali pediatrici, come ad esempio il "CALIPER" canadese[12].

Attualmente la disponibilità di dati completi per la citoematologia automatizzata, suddivisi per tipologia strumentale e ottenuti con il metodo diretto è assolutamente frammentaria e di fatto inesistente per la popolazione pediatrica italiana.

I dati raccolti in questa fase provvisoria dello studio presentano almeno 2 limitazioni connesse alla ridotta numerosità: 1) non permettono considerazioni sulla fascia d'età al di sotto del primo anno di vita (classe 1), periodo che andrebbe ulteriormente stratificato, e 2) non consentono la separazione secondo i sessi.

E' noto infatti come i primi giorni di vita siano caratterizzati da elevati valori della concentrazione emoglobinica con graduale diminuzione fino a 2-3 mesi e successivo lento incremento[13]. Questo comportamento è connesso da un lato all'adattamento alla maggior saturazione di ossigeno del sangue quando il polmone sostituisce la placenta come organo respiratorio e alla conseguente brusca diminuzione della concentrazione

di eritropoietina[14], e dall'altro alla diminuzione progressiva della concentrazione di emoglobina fetale (HbF) che ha una maggior affinità per l'ossigeno rispetto all'emoglobina adulta (HbA). Un comportamento simile è stato descritto anche per i leucociti totali e per i granulociti neutrofili che sono elevati alla nascita, declinano rapidamente nella prima settimana e poi più lentamente fino al 4°-5° mese. Anche l'elaborazione secondo il sesso ha la sua utilità essendo noti comportamenti differenziati, in particolare il minor incremento dell'emoglobina e della concentrazione eritrocitaria nelle femmine rispetto ai maschi.

Seppur con i limiti citati, i risultati ottenuti si prestano ad alcune considerazioni piuttosto nette:

1) La concentrazione emoglobinica mostra un progressivo aumento fra la 1ª e la 6ª classe per raggiungere in quest'ultima i valori tipici dell'età adulta.
2) Il volume corpuscolare medio evidenzia un *trend* in crescita progressiva a partire dai 24 mesi, mantenendosi tuttavia anche a 14 anni al di sotto dei valori tipici dell'adulto; questo comportamento è stato osservato anche in lavori precedenti[15]. Altri Autori[12] affermano tuttavia che il volume tipico dell'adulto viene raggiunto già alla 9ª settimana, evento che se confermato, sarebbe seguito da una ulteriore diminuzione con una inversione di tendenza soltanto dopo il secondo anno.
3) I leucociti sono caratterizzati da una progressiva diminuzione, in particolare della componente linfocitaria. Quest'ultima popolazione stabilizza il proprio limite inferiore intorno ai 36 mesi mentre continua il calo del limite superiore. L'osservazione visiva della distribuzione fa anche ipotizzare un possibile aumento transitorio fra i 48 e i 72 mesi, comportamento che necessita di conferma su una casistica più ampia.
4) I granulociti neutrofili mostrano un aumento lento e progressivo soprattutto del limite superiore dell'intervallo fino ai 72 mesi seguito da una modesta diminuzione fra i 6 e i 10 anni. Risalgono poi nuovamente fino a raggiungere i valori dell'adulto fra i 10 e i 14 anni.

L'influenza strumentale è particolarmente evidente sul conteggio reticolocitario: la Figura 2b indica come l'analizzatore ADVIA 120 produca risultati sistematicamente più elevati rispetto a XE 2100. Questa differenza sui conteggi è meno marcata per i linfociti ed è irrilevante nella classe 37-72 mesi (nella quale i linfociti sono mediamente a bassa concentrazione), mentre nella classe 13-24 mesi (dove i linfociti sono a concentrazione maggiore) la differenza è evidente e aumenta progressivamente verso i percentili maggiori della distribuzione come se le differenze fra strumenti aumentassero proporzionalmente alla concentrazione linfocitaria del campione.

La comparazione di alcuni intervalli con quanto pubblicato ma basato sui metodi indiretti di calcolo (Tab. II) evidenzia alcune differenze. Le più vistose riguardano la concentrazione emoglobinica per la quale sia il limite inferiore che quello superiore risultano più bassi di almeno 1g/dL. Anche il conteggio dei linfociti mostra valori più bassi (fino a $1.5x10^9$/L) rispetto al metodo diretto.

E'difficile stabilire se queste differenze dipendano dalla ridotta dimensione campionaria del metodo diretto o da eventuali limiti intrinseci al metodo indiretto che, per le modalità di calcolo adottate, potrebbe essere maggiormente influenzato dai valori estremi nella direzione della patologia (emblematico in tal caso sarebbe il comportamento dell'emoglobina).

Le tecnologie ematologiche mettono oggi a disposizione nuovi parametri (ad esempio gli indici reticolocitari o le frazioni immature dei reticolociti e delle piastrine) che si sono dimostrati clinicamente utili ma dei quali poco conosciamo per l'età pediatrica e che necessitano dei rispettivi intervalli di riferimento.

In conclusione possiamo affermare che l'approccio diretto è perseguibile anche per popolazioni "difficili" come quella pediatrica. Per raggiungere risultati definitivi è tuttavia necessario il coinvolgimento di molti più centri, in particolare per stratificare ulteriormente il primo anno di vita e per verificare eventuali differenze legate al sesso. Il raggiungimento di questo obiettivo rappresenterebbe un'esperienza unica su scala nazionale, con possibilità di generalizzare i risultati coerentemente con le tecnologie in uso nei diversi laboratori.

Ringraziamenti

Per il contributo nella raccolta dei dati sui soggetti di riferimento si ringraziano i Colleghi: AM. Cenci, Laboratorio di Patologia Clinica, Nuovo Ospedale S. Agostino-Estense, Modena; C. Feruglio, Dipartimento di diagnostica di Laboratorio, Azienda Ospedaliero-Universitaria, Udine; M. Golato, Servizio di Patologia Clinica, Presidio Ospedaliero di Lanciano (CH); MC. Maconi, Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliera, Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia; V. Miconi, Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale di Arzignano (VI); M. Moretti, Laboratorio Analisi, Ospedale S. Croce, Fano (PU); E. Piva, Servizio di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera, Padova; F. Siviero, Laboratorio di Ricerche Cliniche, Presidio Ospedaliero di Cittadella (PD).

Si ringraziano inoltre, per l'assistenza nella catalogazione dei dati le dr.sse P. D'altoè, R. Pajola, V. Temporin del Servizio di Medicina di Laboratorio dell'Azienda Ospedaliera, Padova.

* Componenti del gruppo di lavoro del GdS-E SIMeL: B. Biasioli, P. Bulian, M. Buttarello, P. Cappelletti, B. Casolari, AM. Cenci, G. Da Rin, P. Doretto, C. Feruglio, M. Golato, MC. Maconi, V. Miconi, M. Moretti, F. Papa, L. Pasini, C. Piccinini, E. Piva, F. Siviero

Bibliografia

1. Buttarello M. Variabilità biologica dei parametri ematologici. Riv. Med. Lab. 2003; 4:88-91.

2. Solberg HE. Approved reccomendations 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; 29:531-35.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; Approved guideline – second edition. Wayne, PA: NCCLS document C28-A2 ; 2000.
4. Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC. Pediatric reference ranges (4ª ed.). Washington DC: AACC press; 2003.
5. Hoffmann RG. Statistics in the practice of medicine. JAMA 1963; 185:864-73.
6. PetitClerc C, Solberg HE. Approved reccomendations on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. J Clin Chem Clin Biochem 1987; 25:639-44.
7. Dixon WJ. Processing data for outliers. Biometrics 1953; 9:74-89.
8. Grubbs FE. Errors of measurement, precision, accuracy and the statistical comparison of measuring instruments. Technometrics 1973; 15:53-66.
9. Shapiro SS, Wilk MB. An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika 1965; 52:591-611.
10. Wright EM, Royston P. Simplified estimation of age-specific reference intervals for skewed data. Statist Med 1997; 16:2785-803.
11. Freedman DS, Gates L, Flanders WD, Van Assendelft OW, Barboriak JJ, Joesoef MR, et al. Black/white differences in leukocyte subpopulations in men. Int J Epidemol 1997; 26:757-64.
12. Anonymous. Pediatric reference intervals: critical gap analysis and establishment of a national initiative. Clin Biochem 2006; 39:559-60.
13. Saarinen VM, Siimes MA. Developmental changes in red blood cell counts and indices of infants after exclusion of iron deficiency by laboratory criteria and continuous iron supplementation. J Pediatr 1978; 92:412-6.
14. Kling PJ, Schmidt RL, Roberts RA, Widness JA. Serum erythropoietin levels during infancy: association with erythropoiesis. J Pediatr 1996; 128:791-6.
15. Koerper MA, Mentzer WC, Brecher G, Dallman PR. Developmental change in red blood cell volume: implication in screening infants and children for iron deficiency and thalassemia trait. J Pediatr 1976; 89:580-3.