

Wytyczne Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej i Kolegium Medycyny Laboratoryjnej dotyczące badania morfologii krwi do stosowania w medycznych laboratoriach diagnostycznych. 2024

2024 The Polish Society of Laboratory Diagnostics Recommendations for morphology for use in medical diagnostics laboratories

Mirosława Pietruczuk (Przewodnicząca)^{1,2,3}, Makandjou-Ola Eusebio¹, Jacek Golański^{1,4}, Łukasz Kraszula^{1,3}, Jan Kanty Kulpa^{1,5}, Krzysztof Lewandowski^{1,2,6}, Joanna Osada^{1,7}, Aneta Wrzyszczyńska^{1,8}, Urszula Rychlik^{1,2,5} (Z-ca przewodniczącej)

¹Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej

²Stowarzyszenie Kolegium Medycyny Laboratoryjnej w Polsce

³Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, II Katedra Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

⁴Zakład Zaburzeń Krzepnięcia Krwi, Katedra Nauk Biomedycznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

⁵Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy – Oddział w Krakowie, Polska

⁶Zakład Medycyny Laboratoryjnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk, Polska

⁷Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Polska

⁸Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Dolnośląskie Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii, Polska

Received: 03.07.2024

Accepted: 15.08.2024

Published: 19.09.2024

DOI: 10.5604/01.3001.0054.7416

Corresponding author:

prof. dr hab. n. med. Mirosława Pietruczuk, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, II Katedra Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, 90-153 Łódź, ul. Kopcińskiego 22, e-mail: mirosława.pietruczuk@umed.lodz.pl

Cite the article as:

Pietruczuk M, Eusebio MO, Golański J, Kraszula Ł, Kulpa JK, Lewandowski K, Osada J, Wrzyszczyńska A, Rychlik U. 2024 The Polish Society of Laboratory Diagnostics Recommendations for morphology for use in medical diagnostics laboratories. *Diagn Lab.* 2024; 60(3): 137–169



Open access

The content of the journal is available in Open Access formula which means free access to scientific data for researchers and readers.



Copyright

This material is available under the Creative Commons – Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0). The full terms of this license are available on: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Licence

Some right reserved: Polish Society of Laboratory Diagnostics. Published by Index Copernicus Sp. z o.o.

Conflict of interests

The authors declare that they have no competing interests.

Słowa kluczowe: hematologia, morfologia krwi, przedział referencyjny, wytyczne

Keywords: CBC+Diff, haematology, recommendation, reference interval



SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW	139
1. WSTĘP	140
2. ORGANIZACJA WYTYCZNYCH	141
3. PRZYGOTOWANIE PACJENTA DO BADANIA MORFOLOGII KRWI	141
4. POBIERANIE MATERIAŁU DO BADANIA MORFOLOGII KRWI	144
4.1. Kryteria akceptacji/odrzućenia próbki pierwotnej	145
4.2. Istotne dane kliniczne	145
5. WYMAGANIA DOTYCZĄCE TRANSPORTU MATERIAŁU DO BADAŃ LABORATORYJNYCH	146
6. ZALECANE MATERIAŁY DO UDOSTĘPNIENIA ZLECENIODAWCOM	147
7. METODY STOSOWANE W ANALIZATORACH HEMATOLOGICZNYCH	147
7.1. Zasady nadzoru nad wyposażeniem	147
7.2. Metody oznaczania stosowane w analizatorach hematologicznych	147
7.3. Weryfikacja metody automatycznej badania morfologii krwi	149
8. KRYTERIA DO WERYFIKACJI WYNIKU I WSKAZANIA DO OCENY MIKROSKOPOWEJ ROZMAZU KRWI OBWODOWEJ	150
9. SPRAWOZDANIE Z WYNIKÓW BADANIA MORFOLOGII KRWI	156
9.1. Układ wyników w sprawozdaniu z badania morfologii krwi, skróty, rzędy wielkości jednostek	156
9.2. Zalecenia odnośnie do stosowanych komentarzy	156
10. PRZEDZIAŁY REFERENCYJNE	159
10.1. Przedziały wartości referencyjnych w badaniu morfologii krwi żyłnej.....	159
10.2. Wymagania do stosowanie przedziałów referencyjnych, opracowanych przez producentów testów diagnostycznych i analizatorów.....	159
10.3. Przedziały wartości referencyjnych w populacji osób w wieku starszym	160
10.4. Przedziały wartości referencyjnych w populacji pediatrycznej.....	162
11. KONTROLA JAKOŚCI	165
11.1. Zalecenia dotyczące kontroli wewnątrzlaboratoryjnej.....	165
11.2. Zalecenia dotyczące kontroli zewnątrzlaboratoryjnej.....	165
12. MINIMALNE DOŚWIADCZENIE I SPOSÓB PRACY	166
13. PIŚMIENNICTWO	167

WYKAZ SKRÓTÓW

- BASO** – bazofile (ang. *basophiles*)
- CALIPER** – ang. *Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Intervals*
- COLA-BIOCLI** – ang. *Latin America Confederation of Clinical Biochemistry*
- EFLM** – ang. *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*
- EOS** – eozynofile (ang. *eosinophiles*)
- HCT** – hematokryt (ang. *hematocrit*)
- HGB** – hemoglobina (ang. *hemoglobin*)
- ICSH** – ang. *International Council for Standardization in Haematology*
- K₂EDTA** – sól disodowa kwasu etylenodiaminotetraoctowego (ang. *ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt solution*)
- KiGGS** – ang. *German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents*
- LIS** – Laboratoryjny System Informatyczny
- LYM** – limfocyty (ang. *lymphocytes*)
- MCH** – średnia masa hemoglobiny w erytrocycie (ang. *mean corpuscular hemoglobin*)
- MCHC** – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach (ang. *mean corpuscular hemoglobin concentration*)
- MCV** – średnia objętość erytrocytu (ang. *mean corpuscular volume*)
- MONO** – monocyty (ang. *monocytes*)
- MPV** – średnia objętość krwinki płytkowej (ang. *mean platelet volume*)
- NEUT** – neutrofile (ang. *neutrophiles*)
- NRBC** – erytroblasty (ang. *nucleated red blood cells*)
- PLT** – płytki krwi / trombocyty (ang. *platelets*)
- RBC** – krwinki czerwone / erytrocyty (ang. *red blood cells*)
- RDW** – wskaźnik anizocytozy erytrocytów (ang. *red cell distribution width*)
- RETIC** – retikulocyty (ang. *reticulocytes*)
- TAT** – ang. *turnaround time*
- WBC** – krwinki białe / leukocyty (ang. *white blood cells*)
- WBC DIFF** – subpopulacje krwinek białych uzyskanych w analizatorze hematologicznym
- WG-PRE** – ang. *Working Group: Preanalytical Phase*
- WG-PRE-LATAM** – hiszp. *Grupo de Trabajo Latinoamericano para la Fase Preanalítica*
- WHO** – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)

1. WSTĘP

Badanie morfologii krwi pełnej jest podstawowym, rutynowym badaniem laboratoryjnym. Ze względu na wieloparametrowość badania morfologii krwi, jego zastosowanie jest powszechne jako stały element zlecenia na badania laboratoryjne na poziomie lekarza rodzinnego. Badanie to jest również badaniem specjalistycznym w obszarze onkohematologii i onkologii. Obecnie nie ma obszaru medycyny, w którym nie byłoby potrzeby, a właściwie konieczności zlecenia tego badania, opisującego zarówno zmiany ilościowe, jak i jakościowe w trzech układach – białokrwinkowym, czerwonekrwinkowym i płytkowym.

Badanie morfologii krwi dotyczy oceny parametrów morfotycznych: morfotycznych, leukocytów, czyli krwinek białych, erytrocytów, czyli krwinek czerwonych, i trombocytów, tj. płytek krwi. Wykonywane jest we krwi pełnej pobranej na antykoagulant: sól wersenianową (dwu- lub trójpotasową) i oznaczane na analizatorach hematologicznych. Współczesne analizatory hematologiczne są licznikami, które oznaczają parametry białokrwinkowe, czerwonekrwinkowe i płytkowe na podstawie różnych technik. Najczęściej, w medycznych laboratoriach diagnostycznych w Polsce, wykorzystywane są analizatory 5, a przede wszystkim 6 diff, czyli różnicujące krwinki białe na 5 populacji (Neut, Lym, Mono, Eos, Baso) lub 6 populacji (5 diff + dodatkowy parametr, np. IG [ang. *immature granulocytes*, *niedojrzałe granulocyty*]). Liczba krwinek białych oraz ich populacje najczęściej oznaczane są na podstawie techniki cytometrii przepływowej, liczby erytrocytów i płytek krwi, metodą impedancyjną, a stężenie hemoglobiny metodą spektrofotometryczną. Oczywiście producenci analizatorów hematologicznych starają się udoskonalać te metody poprzez wprowadzanie innowacyjnych, specyficznych dla danej firmy rozwiązań technologicznych. Na rynku polskim, pomimo dostępu do różnych typów analizatorów hematologicznych, zdecydowanie dominują analizatory jednego producenta, co umożliwia stosowanie przy ich ocenie kryteriów systemowych (aparatus, metoda, odczynniki). Jednocześnie ten stosunkowo wąski zakres stosowanych technik do oznaczania parametrów morfologii krwi, stanowi podstawę do uporządkowania, ujednolicenia zasad wykonywania badania morfologii krwi pełnej.

Największym wyzwaniem współczesnej medycyny laboratoryjnej, w tym laboratoryjnej hematologii medycznej, są:

- stosowane na wynikach badań laboratoryjnych przedziały wartości referencyjnych, które powinny być właściwe do oznaczanych parametrów, ze wskazanymi ich źródłami;
- czytelna i klinicznie użyteczna prezentacja parametrów oznaczanych jako parametry morfologii krwi (*CBC + Diff*) w następujących aspektach:
 - właściwej kolejności przedstawianych na sprawozdaniach z badań laboratoryjnych parametrów tego badania,
 - miejsc po przecinku prezentowanych wartości liczbowych,
 - stosowanych jednostek,
 - stosowanych komentarzy, jeżeli jest to zasadne.

Obecnie w medycznych laboratoriach diagnostycznych istnieje bardzo duża różnorodność zarówno do źródeł stosowanych przedziałów wartości referencyjnych, jak i sposobu prezentowania wyników badania morfologii krwi na sprawozdaniu z badań laboratoryjnych, co znacząco utrudnia ich wykorzystanie kliniczne i budzi niepokój co do zapewnienia bezpieczeństwa opieki nad pacjentem.

W przypadku badania morfologii krwi pełnej, przy wyborze przedziałów referencyjnych, należy uwzględnić: wiek, płeć, rasę oraz status fizjologiczny (ciąża). Zgodnie z zaleceniami WHO, producenci analizatorów mają obowiązek wsparcia użytkowników poprzez zaproponowanie przedziałów referencyjnych. Jednak to na użytkownikach analizatorów spoczywa obowiązek właściwego stosowania przedziałów wartości referencyjnych, adekwatnych do danej grupy pacjentów i udokumentowanych źródłami. Aktualnie jest to największe wyzwanie i skutkuje tym, że często interpretacja wyniku badania morfologii krwi jest zależna od Laboratorium. Wydaje się to absurdalne w sytuacji, w której badanie to wykonywane jest nawet przy użyciu tego samego typu analizatora.

W badaniu morfologii krwi, tak jak w innych badaniach laboratoryjnych wykonywanych w medycznych laboratoriach diagnostycznych, stosuje się podejście

procesowe na podstawie procesów przed-, analitycznych i poanalitycznych, ponieważ wszystkie są istotne do uzyskania wiarygodnego wyniku badania laboratoryjnego. Ta różnorodność interpretacji wyników badania morfologii krwi, w zależności od laboratorium, w którym je wykonano, stanowi dzisiaj największe wyzwanie i konieczność szybkiego uporządkowania tego obszaru – w aspekcie całego procesu laboratoryjnego dla zapewnienia pacjentowi bezpiecznej opieki o najwyższej jakości.

Na świecie, jak co roku, w dziedzinie hematologii powstało wiele rekomendacji, jednak dotyczą one głównie obszaru klinicznego, diagnostyki / postępowania / algorytmów w określonych zaburzeniach hematologicznych, nie bezpośrednio badań laboratoryjnych, stosowanych do ich diagnostyki.

Dlatego powstała konieczność opracowania *de novo* rekomendacji, aby ujednoczyć podejście w procesie przed-, analitycznym i poanalitycznym w badaniu morfologii krwi.

2. ORGANIZACJA WYTYCZNYCH

1. Członkowie Grupy Roboczej (GR), która przygotowała niniejsze rekomendacje, zostali wybrani i wskazani przez: Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej (PTDL) i Kolegium Medycyny Laboratoryjnej w Polsce (KMLP), jako eksperci laboratoryjnej hematologii medycznej.
2. Grupa Robocza dokonała szczegółowego przeglądu dostępnych źródeł, w tym publikacji, dotyczących postępowania w badaniu morfologii krwi pełnej, przedziałów referencyjnych i danych w sprawozdaniu z badań laboratoryjnych. Źródła te jednak są nieliczne, co wymagało stworzenia *de novo* rekomendacji na podstawie dostępnych skąpych danych oraz doświadczeniu zawodowym w obszarze laboratoryjnej hematologii medycznej, członków GR.

3. Ze względu na główne założenia niniejszych rekomendacji, dotyczące ich zastosowania w praktyce przez medyczne laboratoria diagnostyczne w Polsce, każdy rozdział dodatkowo podsumowano w ramach, zwracając uwagę na informacje konieczne do zastosowania przez diagnostów laboratoryjnych i najważniejsze punkty rekomendacji, w aspekcie ich zastosowania w codziennej praktyce laboratoryjnej.

3. PRZYGOTOWANIE PACJENTA DO BADANIA MORFOLOGII KRWI

Medyczne laboratorium diagnostyczne, zwane dalej „Laboratorium”, zobowiązane jest do opracowania niezbędnych procedur dotyczących przygotowania pacjenta do badań laboratoryjnych, sposobu informowania pacjentów/zleceniodawców, a także transportu materiału do badań. Informacja może być przekazywana zarówno w formie ustnej, papierowej (biuletyny, ulotki), jak i elektronicznej.

W okresie poprzedzającym badanie należy zachować dotychczasową, typową dietę bez ograniczeń. Na 24 godziny przed planowanym pobraniem krwi należy unikać znacznego wysiłku fizycznego i spożywania alkoholu.

Do pobrania krwi należy zgłaszać się na czczo, po co najmniej 8 godzinnej przerwie posiłkowej, po lekkostrawnej kolacji.

Próbki krwi do rutynowego badania morfologii krwi powinny być pobrane pomiędzy 7 a 10 rano. Jest to pora dnia po wypoczynku nocnym, traktowana jako najbardziej miarodajna pod kątem stabilności oznaczanych parametrów.

Sposób pobierania materiału biologicznego nie może wpływać na własności próbki.

W tabeli I wymieniono informacje na temat czynników związanych z przygotowaniem pacjenta do pobrania krwi, które mogą wpływać na wyniki badania morfologii krwi i ich interpretację.

Tabela 1. Przykładowe czynniki wpływające na ilościowe zmiany parametrów morfologii krwi.

CZYNNIK	ZMIANA PRZEJŚCIOWA PARAMETRU	PRZYCZYNA ZMIANY	ZALECENIE
WYSIŁEK FIZYCZNY	↑ WBC	Przesunięcie granulocytów obojętnochłonnych z puli marginalnej do puli krążącej. Wzrost ciśnienia hydrostatycznego – zagęszczenie krwi o ok. 10%.	Na 24 godziny przed planowanym pobraniem krwi należy unikać intensywnego wysiłku fizycznego. Przed pobraniem krwi zaleca się 15-20 minutowy odpoczynek.
DIETA	↑ WBC	Przesunięcie granulocytów obojętnochłonnych z puli marginalnej do puli krążącej. Dotyczy to w szczególności diety bogatobiałkowej.	Na czczo: 8 – 14 h od przyjęcia ostatniego posiłku.
PRÓBKII HIPERLIPEMICZNE	↑ HGB ↑ PLT	Próbki hiperlipemiczne mogą zaburzać pomiar spektrofotometryczny. Lipoproteiny tworzą cząsteczki o dużej objętości, które mogą interferować z płytkami krwi podczas pomiaru.	Dieta lekkostrawna, niskotłuszczowa. Należy rozważyć stosowanie odpowiednich komentarzy u pacjentów z uwarunkowaną genetycznie lub nabytą hipertriglicerydemią lub u pacjentów otrzymujących dożylnie wlewy emulsji lipidów.
NAWODNIENIE	Względna niedokrwistość (↓ RBC, ↓ HGB) Względna nadkrwistość (↑ RBC, ↑ HGB)	Stany przewodnienia prowadzą do względnej niedokrwistości. Stany odwodnienia prowadzą do względnej nadkrwistości.	Odpowiednie nawodnienie organizmu (1-2 l płynów) w dniu poprzedzającym badanie. Dopuszcza się w dniu pobrania krwi wypicie szklanki wody
TEMPERATURA POMIESZCZENIA	↑ WBC	Wysoka temperatura otoczenia sprzyja przesunięciu granulocytów obojętnochłonnych z puli marginalnej do puli krążącej.	Fizjologiczną temperaturą jest temperatura pokojowa pomieszczenia.
STRES	↑ WBC	Stres sprzyja przesunięciu granulocytów obojętnochłonnych z puli marginalnej do puli krążącej.	Przed pobraniem krwi, zaleca się 15-20 minutowy odpoczynek.
CIĄŻA	↑ WBC ↑ PLT	Od 6 tygodnia ciąży zmienia się objętość osocza, która: • w 16 tyg. ciąży zwiększa się o 10%, • w 26 tyg. ciąży osiąga objętość o 50% wyższą, a następnie utrzymuje się na tym poziomie aż do porodu. Występuje fizjologiczna leukocytoza. Całkowita liczba leukocytów zwiększa się w czasie ciąży. Szczyt osiąga w III trymestrze (do $16 \times 10^9/l$), po porodzie i wczesnym połogu (do $25 \times 10^9/l$). Zwiększa się liczba granulocytów obojętnochłonnych. Liczba płytek krwi zmniejsza się w III trymestrze ciąży na skutek zwiększenia objętości osocza oraz wzmożonej degradacji płytek krwi. Po porodzie obserwuje się wzrost liczby krwinek płytkowych.	Zmiany fizjologiczne

Tabela 1. c.d. Czynniki wpływające na ilościowe zmiany parametrów morfologii krwi.

CZNNIK	ZMIANA PRZEJŚCIOWA PARAMETRU	PRZYCZYNA ZMIANY	ZALECENIE
PRZYMOWANE LEKI	Zmiany zależne od rodzaju leku, dawki, czasu stosowania: WBC RBC	Terapia sterydami, chemioterapeutyki, czynniki wzrostu. • Czynniki indukujące niedokrwistości immunohemolityczne (np. penicylina, metyldopa, chinidyna); • Leki indukujące niedokrwistości aplastyczne, antybiotyki; np. cytotstatyki, środki alkilujące, antymetabolity, antybiotyki; • Polekowe niedokrwistości megaloblastyczne, np. metotreksat, fenytoina. Antybiotyki, aspiryna, leki przeciwkrzepliwe.	W miarę możliwości badanie krwi należy przeprowadzić przed przyjęciem porannej porcji leków, chyba że lekarz zaleci inaczej. Jeśli to możliwe, pobranie krwi powinno, odbyć się przed wdrożeniem leczenia. Pacjent, po uzgodnieniu z lekarzem, powinien ograniczyć przyjmowanie leków (z wyjątkiem leków koniecznych) lub wyłączyć leki mogące wpływać na poziom mierzzonego składnika, o ile nie zaburza to procesu terapeutycznego oraz powstrzymać się od stosowania parafarmaceutyków. Pacjent powinien poinformować personel pobierający o stosowanych lekach.
ALKOHOL	↑ MCV	Alkohol powoduje tymczasowe podwyższenie średniej objętości erytrocytów.	Na 2-3 dni przed planowanym pobraniem krwi należy unikać spożywania alkoholu.
BŁĄD „STAZY”		Przedłużający się ucisk stazy powoduje utrudnienie odpływu krwi i w efekcie dochodzi do szybkiego zagęszczenia krwi manifestującego się wzrostem poziomu parametrów morfotycznych krwi. Efekt „stazy” nasila się u osób z obrzękami i niewydolnością krążenia.	Ucisk stazy ograniczyć do niezbędnego minimum (należy zwolnić ucisk stazy w trakcie napływu krwi do pierwszej próbówki).

4. POBIERANIE MATERIAŁU DO BADANIA MORFOLOGII KRWI

Do pobierania krwi do badania liczby i objętości elementów morfotycznych krwi obwodowej, zgodnie z zaleceniami Międzynarodowego Komitetu do Spraw Standaryzacji w Hematologii (ICSH; ang. *International Council for Standardization in Haematology*), zaleca się K₂EDTA (kwas etylenodiaminotetraoctowy) jako antykoagulantu z wyboru. Objętość pobranej krwi powinna zapewnić stałe stężenie antykoagulantu, które dla soli EDTA wynosi 1,5 ± 0,25 mg/ml krwi.

Zgodnie z zaleceniami EFLM-COLABIOCLI (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM), Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE) i Latin American Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE-LATAM)) of the Latin America Confederation of Clinical Biochemistry (COLA-BIOCLI), dotyczącymi pobierania krwi żyłnej u pacjentów hospitalizowanych i ambulatoryjnych, należy zachować odpowiednią kolejność pobierania próbek krwi w zależności od zawartości probówek i celu badania:

1. Probówka na posiew;
2. Probówka z cytrynianem;
3. Probówka bez dodatków lub z aktywatorem skrzepu;
4. Probówka z heparyną;
5. Probówka z EDTA;
6. Probówka z inhibitorem glikolizy;
7. Inne.

Zachowanie zalecanej kolejności przy pobieraniu krwi do kilku probówek pozwala uniknąć możliwych błędów w badaniach i zanieczyszczenia próbek substancjami dodatkowymi.

Nieodpowiednie mieszanie zawartości probówek może prowadzić do uzyskania niewiarygodnych wyników badań.

Kolor korków używanych do identyfikacji zawartości probówek reguluje wydana przez Międzynarodową Organizację Normalizacyjną (ISO; ang. *International Organization for Standardization; International Standards Organization*) Norma 6710:2017 „Single-use containers for human venous blood specimen collection: Intern Organ for Standardization” (tab. II). Norma ta powstała we współpracy z Grupą EFLM ds. standaryzacji kodowania kolorami zamknięć probówek do pobierania krwi (EFLM TFG-STCC).

Tabela II. Identyfikacja zawartości probówek do pobierania krwi żyłnej na podstawie koloru korka na podstawie Normy ISO 6710:2017.

TYP PRÓBKII	DODATEK	KOLOR KORKA	
Surowica	Aktywator skrzepu	Czerwony	
Surowica (żel)	Żel, aktywator skrzepu	Żółty	
Osocze	Heparyna litowa	Ciemnozielony	
Osocze (żel)	Żel, heparyna litowa	Jasnozielony	
Osocze	Cytrynian sodu (1:9)	Jasnoniebieski	
Pełna krew	Cytrynian sodu (1:4)	Czarny	
Pełna krew	EDTA	Lawendowy	
Osocze	Inhibitor glikolizy	Szary	
Osocze (EDTA, żel)	Żel, EDTA	Biały lub perłowy	

4.1. Kryteria akceptacji/odrzućenia próbki pierwotnej

Zaleca się, aby medyczne laboratorium diagnostyczne opracowało procedurę postępowania z materiałem do badań uwzględniającą kryteria akceptacji i odrzućenia próbek pierwotnych.

Procedura powinna uwzględniać co najmniej, wymienione w tabeli III, kryteria.

4.2. Istotne dane kliniczne

Zlecenie badania laboratoryjnego powinno zawierać informację o istotnych danych klinicznych.

Zaleca się, aby w systemach LIS (Laboratoryjne Systemy Informatyczne) pole dotyczące istotnych danych klinicznych umożliwiło ich wybór (tab. IV). Laboratorium ze współpracy ze Zleceniodawcami przygotowują dodatkowo własne informacje o danych klinicznych mających wpływ na oznaczane parametry.

Tabela III. Przykładowe kryteria akceptacji/odrzućenia próbki pierwotnej.

AKCEPTACJA	ODRZUCENIE
Prawidłowo wypełnione skierowanie na badania laboratoryjne	Brak istotnych danych na skierowaniu na badania laboratoryjne
Próbka transportowana w odpowiednim czasie	Przekroczenie maksymalnego czasu transportu próbki do laboratorium
Prawidłowo umieszczony numer kodowy	Brak numeru kodowego
Pobranie do właściwej probówki	Pobranie do niewłaściwej probówki
Brak uszkodzeń probówki lub zabrudzenia materiałem biologicznym	Probówka uszkodzona lub zabrudzona materiałem biologicznym
Objętość próbki zgodna z zaleceniami producenta systemu do pobierania krwi	Za mała objętość próbki
Brak skrzepu	Nadmierna objętość próbki
Brak hemolizy	Obecność skrzepu
Brak hiperlipidemii	Hemoliza (z wyłączeniem jako przyczyny niedokrwistości hemolitycznej)
	Hiperlipidemia (próbka lipemiczna) z wyłączeniem jako przyczyny rodzinnej hipertriglicydemii) lub stosowanego leczenia

Tabela IV. Przykłady istotnych danych klinicznych mających wpływ na wynik badania morfologii krwi.**ZALECANE**

- Stan kliniczny pacjenta (np. stan ostry, niewydolność nerek).
- Wlewy dożylnie, transfuzje (zlecenie powinno zawierać informację o przeprowadzeniu tej czynności oraz czasie jaki upłynął do pobrania próbki).
- Dializy.
- Niedokrwistość (z niedoboru żelaza, folianów lub witaminy B12; hemolityczna; pokrwotoczna; choroba zimnych aglutynin; inne niedokrwistości).
- Choroby rozrostowe układu krwiotwórczego.
- Choroby nowotworowe inne niż z układu krwiotwórczego.
- Stosowane leczenie (preparaty żelaza, preparaty z folianami i/lub wit. B12, erytropoetyna, immunosupresja/chemioterapia/radioterapia, terapia celowana, czynniki wzrostu, diuretyki).
- Zabiegi chirurgiczne.
- Stan nawodnienia: norma, przewodnienie, odwodnienie.
- Narażenie na promieniowanie jonizujące.

PRZYDATNE

- Biopsje.
- Punkcje.
- Zabiegi endoskopowe.
- Próby czynnościowe.
- Immunoscintygrafia.
- Środki kontrastowe.

5. WYMAGANIA DOTYCZĄCE TRANSPORTU MATERIAŁU DO BADAŃ LABORATORYJNYCH

Każdą próbkę należy traktować jako materiał potencjalnie zakaźny. Próbki muszą być transportowane w probówkach/pojemnikach właściwych dla danego rodzaju materiału biologicznego oraz rodzaju badań zleczonych do wykonania. Próbki z miejsca pobrania powinny być transportowane do Laboratorium bezwzględnie w temperaturze pokojowej (20 – 25°C). Próbki w czasie transportu muszą być ustawione w statywie w pozycji pionowej, korkiem/pokrywką zwróconym ku górze. Pojemnik w czasie transportu

nie powinien być narażony na wstrząsy, ponieważ może to doprowadzić do uszkodzenia krwinek i wpływać na wyniki oznaczanych składników. Badanie morfologii krwi powinno być wykonane do 4 godzin od momentu pobrania próbki. Rozmaz krwi obwodowej powinien być wykonany do dwóch godzin po pobraniu krwi. W przypadku konieczności wykonania tego badania, po dłuższym niż wskazanym czasie, należy taką informację umieścić w sprawozdaniu z badania laboratoryjnego.

6. ZALECANE MATERIAŁY UDOSTĘPNIANE ZLECENIODAWCOM

W celu zapewnienia właściwego przepływu informacji pomiędzy Laboratorium i zleceniodawcami badań

laboratoryjnych, rekomendowane jest udostępnienie zleceniodawcom informacji zawartych w tabeli V.

Tabela V. Wykaz materiałów do udostępnienia zleceniodawcom.

ZALECANE	UŻYTECZNE
<p>Lista wykonywanych badań laboratoryjnych Lista zleczanych badań laboratoryjnych podwykonawcom. Formularz zlecenia na badania laboratoryjne Procedury dotyczące:</p> <ul style="list-style-type: none"> • przygotowania pacjenta do badań laboratoryjnych, • zasad pobierania materiału i warunków jego transportu do Laboratorium, • Informacje o czasie oczekiwania na wynik badania laboratoryjnego (TAT; ang. <i>turnaround time</i>), definiowany jako czas pomiędzy zleceniem badania przez lekarza a otrzymaniem przez niego wyniku. 	<p>Wykaz niepewności pomiarowych dla mierzonych parametrów morfologii krwi. Wykaz metod pomiarowych. Wykaz stosowanych procedur badawczych/instrukcji producentów analizatorów i odczynników.</p>

7. METODY STOSOWANE W ANALIZATORACH HEMATOLOGICZNYCH

7.1. Zasady nadzoru nad wyposażeniem

Zaleca się, aby stosowane przez laboratorium zasady nadzoru nad wyposażeniem były oparte na zaleceniach producenta analizatorów i odczynników i uwzględniały co najmniej zalecenia przedstawione poniżej.

Nadzór nad wyposażeniem powinien obejmować:

- analizatory hematologiczne,
- materiały odniesienia (kalibratory i materiały kontrolne),
- materiały zużywalne (odczynniki i drobny sprzęt),
- systemy analityczne (LIS, programy w analizatorach),
- wyposażenie pomocnicze, np. sumatory hematologiczne, mieszadła, lodówki.

Laboratorium powinno:

- opracować procedurę nadzoru nad wyposażeniem,

- opracować listę istotnego wyposażenia pomocniczego,
- wskazać osoby odpowiedzialne za nadzór,
- potwierdzać zgodność metrologiczną wyposażenia z częstotliwością zalecaną przez producenta (przeglądy techniczne, kalibracje),
- tam, gdzie jest to możliwe, zapewnić spójność pomiarową poprzez pozyskanie informacji od producenta analizatora i odczynników,
- opracować procedury zabezpieczające:
 - integralność danych informacyjnych,
 - właściwą konserwację LIS,
 - przed dostępem przez nieupoważnione osoby,
 - przed dokonywaniem zmian przez nieupoważnione osoby,
 - przed zniszczeniem danych przez nieupoważnione osoby.

7.2. Metody oznaczania stosowane w analizatorach hematologicznych

W analizatorach hematologicznych stosowane są różne technologie oznaczania parametrów morfologii krwi. Jedną z podstawowych jest metoda impedancji, która pozwala określić liczbę krwinek

białych, czerwonych i płytek krwi oraz większość wskaźników czerwonokrwinkowych i płytkowych związanych z objętością (wielkością) tych elementów. Metoda impedancji stanowi również podstawę różnicowania krwinek białych na trzy populacje (limfocyty, granulocyty, monocyty).

Do zliczania krwinek białych, czerwonych i płytek krwi stosowane są również metody optyczne, wykorzystujące cytometrię przepływową i pomiar rozproszenia światła lasera przez detektory ustawione pod różnymi kątami, zarówno jako jedyne metody pomiarowe, jak i w połączeniu z impedancją.

Różnicowanie krwinek białych na co najmniej pięć populacji wymaga zastosowania kombinacji kilku metod (impedancja, pomiar rozproszenia światła przez komórki, pomiar fluorescencji, cytoliza, cytochemia), umożliwiających ocenę różnych cech fizyko-chemicznych komórek przepływających przez kilka odrębnych kanałów pomiarowych. Metody te pozwalają różnicować populację krwinek białych na neutrofile, limfocyty, monocyty, eozynofile i bazofile, a niektóre dodatkowo wyodrębniają populacje niedojrzałych neutrofilii i/lub limfocytów, i/lub monocytów.

Wiele parametrów morfologii krwi ma znaczenie kliniczne, jednak nie dla wszystkich zostały określone metody referencyjne, co może być przyczyną różnic w raportowanych wynikach, a także w ich interpretacji klinicznej. W tabeli VI przedstawiono obecnie stosowane metody referencyjne dla analizatorów hematologicznych.

HGB

Metodą referencyjną jest metoda cyjanomethemoglobinowa. Ze względu na toksyczność cyjanku obecne metody oznaczania stężenia hemoglobiny zastępowane są metodami alternatywnymi z odczynnikami nie zawierającymi cyjanku. W związku z tym wymagana jest od producentów weryfikacja metody alternatywnej. Hemoglobina jest jedynym parametrem morfologii krwi, dla którego istnieje norma odniesienia w postaci wzorca międzynarodowego IRR 98/708 (WHO).

HCT

W przypadku hematokrytu metodą referencyjną jest metoda mikrohematokrytowa, w której próbkę krwi odwirowuje się w szklanej kapilarze, a następnie mierzy się wysokość słupka krwinek czerwonych w stosunku do wysokości całego słupka krwi. Metoda mikrohematokrytowa obarczona jest pewnymi wadami, odczyt może być błędny w przypadkach nieprawidłowej morfologii krwinek czerwonych (np. w anemii sierpowatokrwinkowej).

RBC i WBC

W odniesieniu do liczby krwinek czerwonych i liczby krwinek białych metoda referencyjna została opublikowana w 1994 r. przez Zespół Ekspertów ds. Cytometrii ICSH i obowiązuje do dziś. Metoda opiera się na automatycznym zliczaniu komórek metodą impedancyjną i zastąpiła metodę opartą na zliczaniu komórek w komorze z użyciem mikroskopu.

Tabela VI. Metody referencyjne dostępne dla analizatorów hematologicznych.

PARAMETR	METODA REFERENCYJNA
HGB (stężenie hemoglobiny)	Cyjanomethemoglobinowa (WHO IRR 98/708)
HCT (hematokryt)	Mikrohematokrytowa
RBC (liczba krwinek czerwonych)	Impedancyjna
WBC (liczba krwinek białych)	Impedancyjna
PLT (liczba płytek krwi)	Cytometria przepływowa ze swoistymi przeciwciałami monoklonalnymi
RETIC (liczba retikulocytów)	Cytometria przepływowa
WBC DIFF (odsetek subpopulacji krwinek białych)	Mikroskopowa

PLT

W przypadku liczby płytek krwi metodą referencyjną jest cytometria przepływowa, oparta na rozpoznawaniu płytek krwi przez swoiste przeciwciała monoklonalne (np. anty-CD61, anty-CD41a).

RETIC

W przypadku liczby retikulocytów opisano metodę cytometrii przepływowej, w której retikulocyty są oddzielane od dojrzałych erytrocytów na podstawie barwienia RNA w połączeniu z pomiarami wielkości i struktury wewnętrznej komórki. Metoda ta jest dokładniejsza niż metoda mikroskopowa, w której retikulocyty są liczone po zabarwieniu nowym błękitem metylenowym.

DIFF

W przypadku różnicowania krwinek białych na populacje (DIFF) metodą referencyjną jest metoda mikroskopowa. Zaleca się zliczanie 400 komórek do wyciągnięcia średniej z 2 preparatów (do 200 komórek w każdym, przez dwóch wykwalifikowanych i doświadczonych pracowników). Preparaty można wybarwić jedną z wymienionych metod: Romanowskiego, Wrighta, Maya-Grünwalda i Giemsy, Wrighta-Giemsy (metody równoważne).

Uwagi i komentarze do oznaczania płytek krwi metodą impedancyjną

- Oznaczenie PLT metodą impedancyjną jest badaniem powszechnie dostępnym;
- W metodzie impedancyjnej zastosowanie płynnych dyskryminatorów pozwala na optymalne odróżnienie płytek krwi od erytrocytów, w metodzie tej płytki krwi zliczane są w zakresie 2 – 30 fl, a erytrocyty w zakresie 25 – 250 fl). Jeżeli płytki są większe niż 30 fl (np. płytki olbrzymie) albo erytrocyty są mniejsze niż 25 fl (np. fragmentocyty), dokładny rozdział może być zaburzony. W takich przypadkach analizator hematologiczny zwykle wyświetla komunikat ostrzegawczy, wówczas należy sprawdzić wiarygodność wyniku inną metodą.
- W wielu przypadkach w obecności agregatów lub aglutynin w próbce analizatory hematologiczne wyświetlają ostrzeżenia i flagują nieprawidłowy rozkład na histogramie, pod warunkiem, że zostały one zaaspirowane. Jednakże trzeba wziąć pod uwagę fakt, że ze względu na niehomogeniczny

rozkład agregatów w próbce mogą nie zostać zaaspirowane, pomimo ich obecności w próbce.

- Pomiar tylko metodą impedancyjną zawyża liczbę płytek krwi w porównaniu z metodą optyczną i referencyjną (immunologiczną). Różnica pomiędzy metodami pomiaru może dochodzić do 25%, a zmienność pomiarowa (CV) do 8%.

7.3. Weryfikacja metody automatycznej badania morfologii krwi

Zaleca się, aby sposób przeprowadzenia weryfikacji metody badania morfologii krwi z różnicowaniem leukocytów i retikulocytami pozwolił na potwierdzenie jej użyteczności w warunkach Laboratorium, i powinien obejmować:

- Dla metod opracowanych i opisanych przez producenta, proces weryfikacji metody co najmniej:
 - a) ocenę precyzji i poprawności.
- Dla metod komercyjnych modyfikowanych w Laboratorium:
 - a) ocenę powtarzalności, odtwarzalności, poprawności,
 - b) porównanie wiarygodności wyników badań używanych przy użyciu procedury zalecanej przez producenta oraz procedury zmodyfikowanej przez Laboratorium.

W przypadku korzystania z gotowych zestawów odczynnikowych, przygotowanych przez producenta: Laboratorium poddaje analizie wyniki walidacji przeprowadzonej przez producenta. W przypadku gdy wyniki są satysfakcjonujące, umieszcza je we własnej dokumentacji metody badawczej. Zalecany sposób przeprowadzenia weryfikacji metody automatycznej badania morfologii krwi w warunkach Laboratorium:

1. Weryfikacja wstępna metody polega na wykonaniu w serii jednoczesnej co najmniej 20 pomiarów tej samej próbki, dla wszystkich raportowanych przez Laboratorium parametrów. Wartości prawidłowe, patologiczne, niskie i wysokie dla liczby krwinek białych i ich populacji, krwinek czerwonych, stężenia hemoglobiny, liczby płytek krwi oraz innych parametrów mierzonych powinny zostać poddane weryfikacji. Jeżeli Laboratorium wykazuje w raportach z badań parametry, takie jak: erytroblasty i retikulocyty, to próbki użyte do oceny powtarzalności dla tych parametrów powinny być bliskie wartości decyzyjnych. Należy obliczyć

parametry statystyczne, takie jak: średnia – \bar{x} , odchylenie standardowe – SD, współczynnik zmienności – CV, poprawność – B% oraz całkowity błąd analityczny TAE (ang. *Total Analytic Error*). Kryterium akceptacji weryfikacji wstępnej polega na:

- porównaniu wartości współczynnika zmienności wyliczonego przez laboratorium z współczynnikiem zmienności wyznaczonym przez producenta (CV% obliczony < CV% producenta);
- porównaniu wyliczonego podczas oceny wstępnej całkowitego błędu analitycznego TAE, który musi być mniejszy od całkowitego dopuszczalnego błędu pomiar przyjętego przez laboratorium (TAE obliczone < TEA przyjęty przez laboratorium dla danej metody).

2. Weryfikacja zasadnicza metody polega na wykonaniu pomiarów w serii niejednoczesnej i powinna być wykonana z użyciem tego samego materiału, dla wszystkich raportowanych przez Laboratorium parametrów od 20 do 30 dni. Podobnie jak przy ocenie powtarzalności należy uwzględnić wartości prawidłowe, patologiczne, niskie i wysokie dla liczby krwinek białych i ich populacji, krwinek czerwonych, stężenia hemoglobiny, liczby płytek krwi oraz innych parametrów mierzonych. Jeżeli laboratorium raportuje na wynikach takie parametry jak erytroblasty i retikulocyty to próbki użyte do oceny odtwarzalności powinny mieć wartość dla tych parametrów blisko wartości decyzyjnej. Ze względu na wymaganą stabilność wszystkich parametrów przez dłuższy okres czasu, dopuszcza się korzystanie z materiałów kontrolnych dostarczonych przez producenta testu. Należy obliczyć takie parametry statystyczne jak: średnia – \bar{x} , odchylenie standardowe – SD, współczynnik zmienności – CV, poprawność – B% oraz całkowity błąd analityczny TAE (ang. *Total Analytic Error*). Kryterium akceptacji weryfikacji wstępnej polega na:

- porównaniu wartości współczynnika zmienności wyliczonego przez laboratorium z współczynnikiem zmienności wyznaczonym przez producenta (CV% obliczony < CV% producenta),
- porównaniu wyliczonego podczas oceny wstępnej całkowitego błędu analitycznego TAE, który musi być mniejszy od całkowitego dopuszczalnego błędu pomiar przyjętego przez laboratorium (TAE obliczone < TEA przyjęty przez laboratorium dla danej metody).

Wzór do obliczenia obciążenia:

$$B = x_{sr} - x_{nom}$$

$$B\% = (x_{sr} - x_{nom}) / x_{nom} * 100\%$$

gdzie: x_{sr} – wartość średnia; x_{nom} – wartość nominalna; B% – obciążenie wyrażone w procentach; x_{sr} – wartość średnia; x_{nom} – wartość nominalna.

Wzór do obliczenia całkowitego dopuszczalnego błędu pomiaru:

$$TAE = 1,65 * CV\% + B\%.$$

gdzie: TAE – całkowity błąd analityczny (ang. *Total Analytic Error*); CV – współczynnik zmienności; B% – obciążenie wyrażone w procentach.

Uzyskana wartość własnego błędu powinna się mieścić w zakresie założonej dopuszczalnej granicy błędów.

3. Podczas procesu weryfikacji wskazane jest także obliczenie zależności korelacyjnej między analizatorem stanowiącym punkt odniesienia a nowym analizatorem, który poddany jest procesowi weryfikacji. Sugerowana jest ilość co najmniej 20 pomiarów tej samej próbki, dla wszystkich raportowanych przez laboratorium parametrów. Wartości prawidłowe, patologiczne, niskie i wysokie dla liczby krwinek białych i ich populacji, krwinek czerwonych, stężenia hemoglobiny, liczby płytek krwi oraz innych parametrów mierzonych powinny zostać poddane ocenie zależności korelacyjnej.

8. KRYTERIA DO WERYFIKACJI WYNIKU I WSKAZANIA DO OCENY MIKROSKOPOWEJ ROZMAZU KRWI OBWODOWEJ

W celu ujednolicenia kryteriów oceny wyników badań morfologii krwi, uzyskanych metodami automatycznymi, zgodnie z rekomendacjami ICSH, zaleca się co najmniej stosowanie kryteriów przedstawionych w tabeli VII i VIII.

Zaleca się, aby Laboratorium dostarczyło wszystkim zleciodawcom listę możliwych do pojawienia się w sprawozdaniu z badania morfologii krwi „Flag” wraz z ich wyjaśnieniem.

Tabela VII. c.d. Kryteria oceny wyników morfologii krwi metodą automatyczną.

PARAMETR	JEDN.	KRYTERIA DO WERYFIKACJI WYNIKU Z ANALIZATORA	ZALECANE POSTĘPOWANIE	ZALECANY KOMENTARZ W RAPORCIE Z BADAŃ
HGB	g/dl	<p>< 7 g/dl lub > 2 g/dl powyżej górnej granicy przedziału referencyjnego zależnie od płci i wieku*</p> <p>> 2 g/dl powyżej górnej granicy przedziału referencyjnego – próbkę należy sprawdzić w celu wykluczenia/potwierdzenia:</p> <p>1. znacznej lipemii:</p> <ul style="list-style-type: none"> – można odwirować krew, odciągnąć osocze, uzupełnić taką samą ilością izotonicznego płynu (np. diluentu do analizatora) i ponownie oznaczyć HGB, następnie obliczyć MCH i MCHC. Uzyskane wyniki wpisać w miejsce poprzednich. – lub skorzystać z opcji podania próbki w trybie rozcieńczonym; – lub podać wartość tzw. komórkowej hemoglobiny, opartej na pomiarze bezpośrednim stężenia hemoglobiny w pojedynczych krwinkach i odpowiadające jej wskaźniki MCH i MCHC. <p>2. znacznej bilirubinemii</p>	<p>< 7 g/dl: przejrzenie rozmazu krwi pod mikroskopem.</p> <p>jeśli nie uda się skorygować HGB: „znaczną lipemii/bilirubinemia w próbce krwi – stężenie HGB, wartości MCHC mogą być zawyżone”</p>	
		MCHC	g/dl	<p>> 2 jednostek ponad górną granicę przedziału referencyjnego</p>

Próbkę należy sprawdzić w celu wykluczenia/potwierdzenia:

1. Znacznej lipemii/bilirubinemii(j, w.)^a
2. Aglutynacji erytrocytów (ogrzanie próbki krwi w temperaturze 37°C i ponowne oznaczenie)^b,
3. Hemolizy^c,
4. Obecności sferocytów (przejrzanie rozmazu)
5. hiponatremii^d

Tabela VII. c.d. Kryteria oceny wyników morfologii krwi metodą automatyczną.

PARAMETR	JEDN.	KRYTERIA DO WERYFIKACJI WYNIKU Z ANALIZATORA	ZALECANE POSTĘPOWANIE	ZALECANY KOMENTARZ W RAPORCIE Z BADAN
MCHC	g/dl	< 30 g/dl i MCV w przedziale wartości referencyjnych lub powyżej górnej wartości przedziału referencyjnego	Podjęcie błędów przedlaboratoryjnego (wlewy dożylnie, zbyt długi czas od pobrania krwi)	„Podjęcie błędów przedlaboratoryjnego – sugerowane powtórzenie badania morfologii krwi – wynik morfologii wątpliwy”
MCV	fl	< 70 fl lub > 105 fl *	Przejrzanie rozmazu krwi pod mikroskopem.	
RDW	%	> 22%	Przejrzanie rozmazu krwi pod mikroskopem.	Obecność mikro- i/lub makrocytów
RETIC	x 10 ⁹ /l	> 100 *	Przejrzanie rozmazu krwi pod mikroskopem.	Na przykład obecność polichromatofilii
NRBC		Pojawienie się każdej wartości NRBC lub „flagi” sugerującej obecność NRBC	Przejrzanie rozmazu krwi pod mikroskopem. W przypadku, gdy analizator nie posiada opcji ilościowej oceny erytroblastów i nie ma systemu korygującego liczby krwinek białych, lub nie posiada innej dodatkowej metody liczenia WBC bez interferencji NRBC, należy policzyć erytroblasty na 100 leukocytów w rozmazie krwi i skorygować liczbę WBC wg wzoru ^a : $\text{WBC}_{\text{skorygowane}} = \frac{\text{WBC} \times 100}{100 + \text{NRBC}}$ NRBC - liczba erytroblastów znalezionych na 100 leukocytów w rozmazie	^a „Liczba krwinek białych skorygowana ze względu na obecność NRBC”



Tabela VII. c.d. Kryteria oceny wyników morfologii krwi metodą automatyczną.

PARAMETR	JEDN.	KRYTERIA DO WERYFIKACJI WYNIKU Z ANALIZATORA	ZALECANE POSTĘPOWANIE	ZALECANY KOMENTARZ W RAPORCIE Z BADAŃ
„flagi”		<p>„Flagi” sugerujące m.in.:</p> <ul style="list-style-type: none"> – obecność schistocytów (<i>RBC Fragments</i>), – aglutynację krwinek czerwonych (<i>RBC Agglutination</i>) – nieprawidłowe warianty hemoglobinu (<i>Hemoglobin defekt</i>), – heterogenną populację erytrocytów <ul style="list-style-type: none"> – przeważnie brak wartości RDW na wyniku (<i>Dimorphic RBC Population</i>), – interferencję w pomiar hemoglobiny (<i>Turbidity/Hemoglobin interference</i>), – odporne na lizę erytrocyty (<i>RBC Lyse Resistance</i>). 	<p>Ocena próbki pod kątem prawidłowego pobrania.</p> <p>Sprawdzenie warunków transportu oraz czasu jaki upłynął od momentu pobrania do wykonania analizy.</p> <p>Przejrzenie rozmazu krwi pod mikroskopem.</p> <p>Ocena anizocytozy erytrocytów w przypadku nie oznaczenia parametru RDW.</p> <p>Ogrzanie próbki w przypadku sugestii aglutynacji RBC.</p> <p>Ocena stopnia zmętnienia próbki (lipemia, hiperbilirubinemia).</p>	
RBC				
PLT		<p>$< 100 \times 10^9/l$ lub $> 1000 \times 10^9/l$ *</p> <p>i/lub</p> <p>„Flagi” sugerujące:</p> <ul style="list-style-type: none"> – obecność agregatów płytkowych (<i>PLT Clumps</i>), – dużych płytek (<i>Large PLT</i>), – nieprawidłowy histogram rozkładu objętości płytek lub nieprawidłowy skatergram 	<p>Ocena próbki pod kątem prawidłowego pobrania (wykluczyć obecność skrzepu).</p> <p>Orientacyjna ocena liczby płytek krwi w rozmazie.</p> <p>Przejrzenie rozmazu pod mikroskopem pod kątem:</p> <ul style="list-style-type: none"> – obecności agregatów płytkowych, satelityzmu płytek, obecności płytek olbrzymich (pseudotrombocytopenia) – lub obecności schistocytów, fragmentów krwinek białych, zanieczyszczeń próbki (pseudotrombocytoza) 	<p>W przypadku obecności agregatów płytkowych dołączyć komentarz: „Podejrzanie pseudotrombocytopenii werseniano-zależnej, wskazane pobranie krwi do probówek z jonami magnezu (ThromboExact)”.</p> <p>Jeśli laboratorium nie korzysta z wymienionych probówek – „wskazane pobranie krwi na cytrynian”.</p> <p>W przypadku obecności licznych dużych agregatów płytek należy ukryć wartość PLT na wyniku</p> <p>UWAGA! Pseudotrombocytopenia może również wystąpić w obecności cytrynianu sodu.</p>
„flagi”				
PLT				

Tabela VII. c.d. Kryteria oceny wyników morfologii krwi metodą automatyczną.

PARAMETR	JEDN.	KRYTERIA DO WERYFIKACJI WYNIKU Z ANALIZATORA	ZALECANE POSTĘPOWANIE	ZALECANY KOMENTARZ W RAPORCIE Z BADAŃ
MPV	fl	< 5 fl lub 12,5 fl	Przejrzanie rozmazu krwi pod mikroskopem.	
Noworodki			Ocena mikroskopowa rozmazu.	

*** w przypadku pierwszego badania lub zmiany wyniku z dnia na dzień.**

Sugeruje się dostosowanie kryteriów weryfikacji wyników z analizatora do profilu pacjentów (pacjenci ambulatoryjni lub szpitala, a szczególnie oddziałów onkologicznych/hematologicznych), jak również doświadczeń własnych.

Należy ustalić własne kryteria weryfikacji rozmazu dla parametrów i „flag” specyficznych dla danego typu analizatorów hematologicznych uwzględniając przy tym ograniczenia proceduralne analizatora.

W przypadku, gdy analizator nie podaje wyniku leukogramu niezbędna jest ocena ilościowa subpopulacji krwinek białych pod mikroskopem.

Tabela VIII. Kryteria do wykonania oceny mikroskopowej rozmazu krwi obwodowej.

Leukopenia $< 3 \times 10^9/l$ lub leukocytoza $> 30 \times 10^9/l$ w przypadku pierwszego badania lub istotnej zmiany wyniku z dnia na dzień

Neutrofilia lub neutropenia, limfocytoza, eozynofilia, bazofilia (zgodnie z wartościami podanymi w tabeli VII) w przypadku pierwszego badania lub istotnej zmiany wyniku z dnia na dzień

Pojawienie się na wyniku morfologii krwi „flag” sugerujących obecność nieprawidłowych krwinek białych (niedojrzałych granulocytów, pałek, blastów, atypowych limfocytów, limfocytów o charakterze reaktywnym lub nowotworowym)

Nieprawidłowy rozdział / brak rozdziału poszczególnych populacji leukocytów na histogramach / skatergramach WBC

Niedokrwistość **HGB $< 7 \text{ g/dl}$ lub nadkrwistość HGB $> 18 \text{ g/dl}$** w przypadku pierwszego badania lub istotnej zmiany wyniku z dnia na dzień, pod kątem oceny potencjalnych zmian morfologii krwinek czerwonych

MCHC > 2 jednostek ponad górną granicę przedziału referencyjnego, po wykluczeniu lipemii, bilirubinemii, hemolizy, pod kątem obecności sferocytów lub aglutynacji erytrocytów

MCV $< 70 \text{ fl}$ lub MCV $> 105 \text{ fl}$ w przypadku pierwszego badania, pod kątem potwierdzenia mikrocytozy lub makrocytozy erytrocytów oraz oceny potencjalnych zmian morfologii krwinek czerwonych, w tym wzmożonej polichromatofilii

RDW $> 22\%$ w przypadku pierwszego badania, pod kątem potwierdzenia anizocytozy lub brak RDW w przypadku obecności podwójnej (dimorficznej) populacji erytrocytów

Pojawienie się każdej wartości **NRBC** w przypadku pierwszego badania, pod kątem potwierdzenia obecności erytoblastów. Pojawienie się „flagi” sugerującej obecność NRBC celem policzenia erytoblastów na 100 leukocytów i ewentualnego skorygowania liczby WBC (jeśli analizator nie ma opcji ilościowej oceny liczby NRBC)

Liczba **PLT $< 100 \times 10^9/l$ lub PLT $> 1000 \times 10^9/l$** w przypadku pierwszego badania lub istotnej zmiany wyniku z dnia na dzień, „flagi” sugerujące: obecność agregatów płytkowych, dużych płytek, nieprawidłowy histogram rozkładu objętości płytek lub nieprawidłowy skatergram

9. SPRAWOZDANIE Z WYNIKÓW BADANIA MORFOLOGII KRWI

9.1. Układ wyników w sprawozdaniu z badania morfologii krwi, skróty, rzędy wielkości jednostek

Zaleca się stosowanie kolejności wyników, skrótów i jednostek w badaniu morfologii krwi, przedstawionych w tabeli IX. Rekomendowany wzór raportu z badania laboratoryjnego morfologii krwi przedstawia rycina 1.

9.2. Zalecenia odnośnie do stosowanych komentarzy

Zaleca się opracowanie przez Laboratorium listy komentarzy, mających zastosowanie w badaniu morfologii krwi i ocenie rozmazu krwi obwodowej, tak aby były one ujednolicone.

Opracowanie komentarzy musi bazować na aktualnych zaleceniach, w tym terminologii zalecanej w rekomendacjach PTDL i PTHiT, stosowanym słownictwie, zgodnie z zasadami gramatyki i pisowni języka

polskiego, tak aby komentarze były jednoznacznie czytelne i zrozumiałe przez zleceniodawców. Laboratorium stosuje jeden rodzaj komentarzy do

opisania danej patologii. Lista opracowanych przez Laboratorium komentarzy, po ich zatwierdzeniu, powinna zostać przekazana zleceniodawcom badań.

SPRAWOZDANIE Z BADAŃ LABORATORYJNYCH MORFOLOGII KRWI

<i>Nazwa jednostki wykonującej badanie</i>	<i>Zlecenie z: Nr zlecenia: Lekarz (nr PWZ) Zleceniodawca:</i>	<i>Tryb: Nr pacjenta:</i>
Nazwisko i imię	<i>Data urodzenia: PESEL</i>	<i>Płeć:</i>

Data badania:

<i>Nazwa badania</i>	<i>Wynik *</i>	<i>Jednostki</i>	<i>Przedziały wartości referencyjnych</i>
----------------------	----------------	------------------	---

MORFOLOGIA 5DIFF

LEUKOCYTY

WBC	x10 ⁹ /l
#Neutrofile	x10 ⁹ /l
#Limfocyty	x10 ⁹ /l
#Monocyty	x10 ⁹ /l
#Eozynofile	x10 ⁹ /l
#Bazofile	x10 ⁹ /l
# (inne komórki)	x10 ⁹ /l
%Neutrofile	%
%Limfocyty	%
%Monocyty	%
%Eozynofile	%
%Bazofile	%
% (inne komórki)	%

ERYTROCYTY

RBC (erytrocyty)	x10 ¹² /l
HGB (hemoglobina)	g/dl
HCT (hematokryt)	%
MCV	fl
MCH	pg
MCHC	g/dl
RDW-SD /RDW-CV	fl / %
Inne parametry RBC	

Retikulocyty (%)	%
Retikulocyty (#)	x10 ⁹ /l
Frakcje RETIC	
Inne parametry RETIC	

PŁYTKI KRWI

PLT (płytki krwi)	x10 ⁹ /l
MPV	fl
PCT	%
PDW	%

FLAGI
HISTOGRAMY

Badania wykonane na analizatorze:

Wyniki autoryzował/a (nr PWZ):

Data i godzina pobrania materiału

Nazwisko i imię osoby pobierającej materiał:

Data i godzina przyjęcia materiału:

Kod próbki:

* H / ↑ – powyżej wartości; L / ↓ – poniżej wartości

Rycina 1. Zalecany wzór sprawozdania z wyników badania morfologii krwi.



Tabela IX. Kolejność parametrów, skróty i jednostki rekomendowana w sprawozdaniu z wyników badania morfologii krwi.

PARAMETR	SKRÓT	JEDNOSTKA
Liczba krwinek białych (leukocytów)	WBC	$\times 10^9/l$
Liczba neutrofilii	NEUT#	$\times 10^9/l$
Liczba limfocytów	LYM#	$\times 10^9/l$
Liczba monocytów	MONO#	$\times 10^9/l$
Liczba eozynofili	EOS#	$\times 10^9/l$
Liczba bazofilów	BASO#	$\times 10^9/l$
Opcjonalnie: dodatkowe subpopulacje leukocytów charakterystyczne dla określonego typu analizatora		$\times 10^9/l$
Odsetek neutrofilii	NEUT%	%
Odsetek limfocytów	LYM%	%
Odsetek monocytów	MONO%	%
Odsetek eozynofili	EOS%	%
Odsetek bazofilów	BASO%	%
Opcjonalnie: dodatkowe subpopulacje leukocytów charakterystyczne dla określonego typu analizatora		%
Liczba krwinek czerwonych (erytrocytów)	RBC	$\times 10^{12}/l$
Stężenie hemoglobiny	HGB	g/dl
Hematokryt	HCT	%
Średnia objętość erytrocytu	MCV	fl
Średnia masa hemoglobiny w erytrocycie	MCH	pg
Średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach	MCHC	g/dl
Wskaźnik anizocytozy	RDW	% / fl
Opcjonalnie: dodatkowe parametry układu czerwonekrwinkowego charakterystyczne dla określonego typu analizatora		
Liczba erytroblastów	NRBC#	$\times 10^9/l$
Odsetek erytroblastów	NRBC%	%
Liczba retikulocytów	RETIC#	$\times 10^{12}/l$
Odsetek retikulocytów	RETIC%	%
Opcjonalnie: dodatkowe parametry retikulocytarne charakterystyczne dla określonego typu analizatora		
Liczba płytek krwi	PLT	$\times 10^9/l$
Płytkokryt	PCT	%
Średnia objętość płytki krwi	MPV	fl
Opcjonalnie: dodatkowe parametry płytkowe charakterystyczne dla określonego typu analizatora		

10. PRZEDZIAŁY REFERENCYJNE

Medyczne laboratoria diagnostyczne w Polsce, podobnie jak medyczne laboratoria na świecie, są zobowiązane do tego, aby każdy wynik badania laboratoryjnego był opatrzony stosownym przedziałem wartości referencyjnych.

W ostatnich latach, na podstawie Reference Intervals and Decision Limits (C-RIDL) – IFCC, i danych z wielu krajów, opracowano – stosując rekomendowaną metodę pośrednią – przedziały wartości referencyjnych, jako globalne przedziały referencyjne. Takich zakresów nie opracowano na razie dla parametrów hematologicznych, które dotyczyłyby rasy kaukaskiej i naszej szerokości geograficznej.

10.1. Przedziały wartości referencyjnych w badaniu morfologii krwi żyłnej

W sprawozdaniu z badania morfologii krwi żyłnej, obok każdego oznaczonego parametru, należy umieścić właściwe dla tego parametru przedziały wartości referencyjnych. Wiele krajów, takich jak: Włochy, Niemcy, Wielka Brytania, Chorwacja, Kanada, USA, wyznaczyło i dokonało harmonizacji zakresów referencyjnych, stosowanych w badaniach laboratoryjnych; w większości przypadków w odniesieniu do parametrów biochemicznych.

Do tej pory nie wyznaczono/nie dokonano aktualizacji przedziałów wartości referencyjnych dla populacji polskiej, dlatego w okresie przejściowym (do czasu ich wyznaczenia) zaleca się i dopuszcza się, co następuje:

1. Stosowanie przedziałów wartości referencyjnych zalecanych w rekomendacjach w oparciu na udokumentowanych źródłach i wstępne przeprowadzonych analizach przez GR.
2. Stosowanie przedziałów wartości referencyjnych, opracowanych przez producentów testów diagnostycznych i analizatorów, po spełnieniu niżej opisanych warunków.

Komentarz:

W przypadku zastosowania przedziałów wartości referencyjnych, rekomendowanych przez GR, interpretacja wyników morfologii krwi jest niezależna od medycznego laboratorium diagnostycznego.

10.2. Wymagania do stosowanie przedziałów referencyjnych, opracowanych przez producentów testów diagnostycznych i analizatorów

- Sprawdzenie i posiadanie dowodów, że przyjęte przedziały referencyjne są adekwatne do stosowania przez Laboratorium w odniesieniu do grupy pacjentów w aspekcie:
 - liczebności, na której producent wyznaczył oferowane przedziały wartości referencyjnych,
 - wieku, płci oraz rasy grupy referencyjnej, na której je wyznaczono.
- Jeżeli stosowane dotychczas przez Laboratorium przedziały wartości referencyjnych nie były oparte na własnej referencyjnej populacji, to na podstawie zaleceń dokumentu CLSI/NCCLS, protokołu EP09, Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples, 3rd Edition, June 2018, z aktualizacją, należy przeprowadzać ich weryfikację, opierając się na oznaczeniu w zebranych przebadanych próbkach. Należy wykorzystać próbki pacjentów. Głównym ograniczeniem tej metody jest brak pewności, że wszystkie próbki pochodzą od zdrowych ludzi, pomimo spełnienia warunków założonych kryteriów.

Jako metodę alternatywną zaleca się zebranie 20 próbek z zakwalifikowanej grupy referencyjnej (populacja zdrowych ludzi) i wykonanie oznaczeń.

Weryfikacja przedziałów wartości referencyjnych, przeniesionych z udokumentowanego źródła, według przewodnika CLSI EP28-A3C powinna zawierać co najmniej:

1. Zebranie i wykonanie badania morfologii krwi pełnej w 20 zebranych próbkach wg ustalonych dla danej grupy wiekowej i w zależności od płci o ile to jest zasadne, kryteriów *a-priori* i *posteriori*.
2. Usunięcie wyników skrajnych/odstających, stosując do tego adekwatne metody, np. Reeda, Dixona, Tyke'a.
3. Porównanie, czy uzyskane wyniki pokrywają się z 95% wyników z przedziału wartości referencyjnych.
4. Jeżeli odrzucono ≤ 2 wynik (10%) z 20 uzyskanych, które znalazły się poza 95%, to proces weryfikacji potwierdza ich użyteczność i jest zakończony.

5. Jeżeli 3-4 wyników znalazło się poza 95% (15-20%) i zostało odrzuconych, należy wrócić do pkt. 1.
6. Jeżeli odrzucono ≤ 2 wynik (10%) z 20 uzyskanych, które znalazły się poza 95%, to proces weryfikacji potwierdza użyteczność wartości przedziału referencyjnego i jest zakończony pomyślnie.
7. Jeżeli odrzucone wyniki będą stanowiły ≥ 3 z 20 (15%), których wartości stanowiły powyżej 95% wartości przedziału referencyjnego, to weryfikacja nie potwierdziła ich przydatności.
8. W przypadku odrzucenia ≥ 5 wyników przy pierwszej weryfikacji (15%), to weryfikacja nie potwierdziła przydatności tych zakresów do stosowania dla danej grupy badanej.

Przedstawianie wartości liczbowych w badaniu morfologii krwi żyłnej

1. W przypadku stosowania wartości metrologicznych (co do 1 komórki), należy wyznaczyć niepewność pomiaru i udostępnić ją Zleceniodawcom, w zależności od potrzeby. Zaleca się stosowanie obliczonych niepewności w zależności od poziomu materiałów kontrolnych L, N, H.
2. Zaleca się prezentowanie wartości liczbowych badania morfologii krwi żyłnej, tak aby były użyteczne klinicznie.

Zalecane w wytycznych wartości przedziałów referencyjnych zostały oparte na udokumentowanych źródłach (tab. X).

10.3. Przedziały wartości referencyjnych w populacji osób w wieku starszym

Grupą pacjentów, gdzie występują trudności w wyznaczeniu wartości przedziałów referencyjnych, jest grupa osób starszych. Starszy człowiek jest definiowany według kryterium kalendarzowego, czyli osiągnięcie 60. (według WHO) lub 65. r.ż. (według ONZ, Eurostatu). Wiek od 65 do 75 lat określany jest wiekiem podeszłym, 75 – 84 lat starością późną, a osoby 85+ definiuje się jako najstarsze. Wraz z wiekiem zachodzą nieodwracalne procesy fizjologiczne związane ze zmniejszeniem rezerwy fizjologicznej i ograniczeniem zdolności funkcjonalnych, które prowadzą do zmniejszenia możliwości utrzymania stanu homeostazy organizmu. Opracowanie kryteriów *a-priori* i *posteriori* dla grupy referencyjnej jest

ekstremalnie trudne wskutek problemów ze znalezieniem osób w pełni zdrowych, gdyż u większości badanych stwierdza się pełnoobjawowe lub utajone stany chorobowe, schorzenia wielonarządowe, zmiany anatomiczne i fizjologiczne związane z wiekiem. Główne badania w tym obszarze pochodzą z badań CHMS (ang. *Canadian Health Measures Survey*), prowadzone w grupach pomiędzy 3. a 80. rokiem życia. Jednak w tych badaniach zastosowano te same kryteria wyłączenia, niezależnie od wieku, co może nie być właściwe w przypadku grupy geriatrycznej, gdzie większość pacjentów stosuje przewlekłe leki.

Wyniki badań laboratoryjnych w starszym wieku powinny być interpretowane z dużą ostrożnością. Duże znaczenie dla obserwowanych z wiekiem zmian w wynikach laboratoryjnych, oprócz pogorszenia funkcji narządów, mają również stan odżywienia, czynniki metaboliczne, styl życia czy wspomniana obecność wielu schorzeń i związane z nimi stosowane środki farmakologiczne. Na wyniki badań ++laboratoryjnych mają wpływ również czynniki związane ze standaryzacją procesu diagnostycznego (czynniki przedanalityczne, analityczne oraz zmiany biologiczne), m.in.:

- Wśród czynników przedanalitycznych znaczenie ma proces pobierania materiału (przedłużone utrzymywanie opaski uciskowej na wskutek trudności z uzyskaniem dostępu do naczynia).
- Przedłużone unieruchomienie – zmniejszenie objętości osocza o 5%.
- Wzrost temperatury otoczenia – wzrost objętości krwi o 5% po 30 min.
- Nasilone pocenie – odwodnienie, zmniejszenie objętości osocza.
- Niska temperatura – spadek objętości krwi.

U osób starszych wzrasta częstość występowania niedokrwistości, która jest przyczyną pogorszenia jakości życia osób starszych i jest złym czynnikiem predykcyjnym i prognostycznym chorób, zwiększa także ryzyko zespołów geriatrycznych. Wykazano, że u zdrowych osób starszych stężenia hemoglobiny i wartości hematokrytu są niższe niż u osób młodszych, a różnice w wynikach między płciami ulegają zawężeniu:

- Spadek stężenia hemoglobiny związany jest nie tylko ze starzeniem się układu krwiotwórczego,

Tabela X. Zalecane przedziały wartości referencyjnych badania morfologii u osób dorosłych.

PARAMETR	PŁEĆ	WARTOŚĆ DOLNA PRZEDZIAŁU	WARTOŚĆ GÓRNA PRZEDZIAŁU	JEDNOSTKI
WBC	M/K	4,0	10,0	x 10 ⁹ /l
NEUT# o j. pałeczkowatym	M/K	0,0	0,5	x 10 ⁹ /l
NEUT% o j. pałeczkowatym	M/K	0,0	5,0	%
NEUT#	M/K	1,9	7,0	x 10 ⁹ /l
NEUT%	M/K	45,0	70,0	%
LYM#	M/K	1,5	4,5	x 10 ⁹ /l
LYM%	M/K	25,0	45,0	%
MONO#	M/K	0,1	0,9	x 10 ⁹ /l
MONO%	M/K	2,0	9,0	%
EOS#	M/K	0,05	0,5	x 10 ⁹ /l
EOS%	M/K	0,0	5,0	%
BASO#	M/K	0,0	0,1	x 10 ⁹ /l
BASO%	M/K	0,0	1,0	%
RBC	M	4,6	6,5	x 10 ¹² /l
	K	4,2	5,5	
HGB	M	13,5	18,0	g/dl
	K	12,0	16,0	
HCT	M	40	52	%
	K	37	47	
MCV	M/K	80,0	98,0	fl
MCH	M/K	27,0	32,0	pg
MCHC	M/K	31,0	37,0	g/dl
RDW-CV	M/K	11,5	14,5	%
RDW-SD	M/K	36	47	fl
RETIC#	M/K	28	100	x 10 ⁹ /l
RETIC%	M/K	0,5	2,2	%
PLT	M/K	150,0	400,0	x 10 ⁹ /l
MPV	M/K	7,0	12,0	fl
PCT	M/K	0,12	0,36	%

K – kobiety; M – mężczyźni; j. pałeczkowate – jądro pałeczkowate

leczyć także z pogorszeniem się wchłaniania żelaza i witaminy B12, utraty krwi i rozpadu erytrocytów, a także wskutek chorób przewlekłych lub niewydolności nerek.

- Wartość hematokrytu może być odzwierciedleniem zmiany stanu odżywiania albo zaburzeń w ilości spożywanych płynów.

Liczba leukocytów fizjologicznie z wiekiem nie ulega zmianom, jednak w przebiegu zakażeń nie zawsze obserwowany jest ich wzrost.

Liczba krwinek płytkowych może ulec obniżeniu na wskutek pogorszenia z wiekiem funkcji szpiku, jednak częściej obserwuje się pogorszenie ich funkcji.

Wyznaczenie wartości przedziałów referencyjnych opartych na 95 percentylu budzi wątpliwość, ponieważ może nie dawać odpowiedzi na pytanie, czy otrzymany wynik jest wykładnikiem choroby lub jest zależny od procesu starzenia. Należy pamiętać, że wynik prawidłowy nie wyklucza obecności patologii, dlatego w jego interpretacji należy wziąć pod uwagę całościową ocenę chorego.

10.4. Przedziały wartości referencyjnych w populacji pediatrycznej

Powszechnie wiadomo, że wyznaczenie zakresów wartości referencyjnych w populacji pediatrycznej jest wyjątkowo trudne. Dotyczy to głównie problemów etycznych z pozyskaniem materiału do badań w celu ich wyznaczenia. Szczególnie trudne jest uzyskanie materiału w grupie noworodków czy też małych dzieci. W praktyce klinicznej krew do badań pobierana jest z różnych miejsc (krew żylna, krew kapilarna).

Duże osiągnięcia w tym obszarze mają badacze projektu CALIPER, którzy stworzyli biobank zdrowych próbek pediatrycznych od ponad 9700 dzieci i młodzieży w wieku od 1 do 19 lat z większych obszarów Toronto i Hamilton w Kanadzie. Badania te dotyczyły 5 powszechnie używanych platform analitycznych, biochemicznych i immunochemicznych. Jednakże istnieją uzasadnione obawy dotyczące ocenianej populacji. W porównaniu z dziećmi w Kanadzie, dzieci europejskie mają inny sposób odżywiania (np. podaż jodu i witamin) i prowadzą inny tryb życia. Dlatego

też przedziały wartości referencyjnych dzieci kanadyjskich nie zawsze są porównywalne z przedziałami referencyjnymi dla dzieci europejskich.

Znaczący wkład w wyznaczeniu europejskich przedziałów wartości referencyjnych w populacji pediatrycznej mają badania KiGGS Instytutu im. Roberta Kocha w Berlinie. Wyznaczono przedziały wartości referencyjnych dla 28 analitów na podstawie reprezentatywnej niemieckiej grupy 14255 dzieci w wieku od 1,5 do 18 lat, w tym parametry morfologii krwi oceniono w różnych grupach wiekowych u 7365 dzieci.

Porównanie wyznaczonych przedziałów referencyjnych metodą pośrednią pomiędzy KiGGS i CALIPER wykazało dużą zgodność górnych i dolnych granic wartości referencyjnych oraz podział na grupy w zależności od wieku.

Zaproponowany podział na grupy wiekowe w badaniach morfologii krwi w pediatrii wynika z fizjologicznych zmian procesu hematopoezy. Układ krwiotwórczy u dzieci w porównaniu do dorosłych wykazuje różnice w zakresie anatomicznym, morfologicznym i czynnościowym. Duży wpływ na zróżnicowanie wartości przedziałów referencyjnych ma także rozwój fizjologiczny, sposób odżywiania i okres dojrzewania płciowego.

Erytrocyty u noworodka zazwyczaj wykazują cechy makrocytozy, w rozmazie krwi obwodowej często obserwuje się sferocyty i krwinki tarczowate. Erytrocyty, ze względu na zmniejszoną aktywność większości enzymów wewnątrzkomórkowych, wykazują zwiększoną wrażliwość na uszkodzenia, dlatego czas przeżycia erytrocytów jest skrócony i wynosi 65 – 80 dni. Przez pierwsze kilka godzin po porodzie stwierdza się także wysokie wartości hematokrytu. Proces wytwarzania krwinek czerwonych po urodzeniu jest spowolniony ze względu na mały potencjał odtwórczy szpiku kostnego i stopniowo zwiększające się wytwarzanie i uwalnianie erytropoetyny. Z tego względu najniższe stężenie hemoglobiny i liczby erytrocytów obserwuje się między 2. a 3. miesiącem życia (tzw. niedokrwistość pierwszego kwartału). Pomiędzy 10. a 24. m.ż. obserwuje się zwiększenie wytwarzania krwinek czerwonych jednak bez równoległego zwiększania się stężenia hemoglobiny, ze względu na wyczerpanie się ok. 5. m.ż. zapasów żelaza pochodzącego od matki

Tabela XI. Zalecane przedziały wartości referencyjnych dla wyników badania morfologii krwi dla dzieci.

WIEK	HGB g/l	RBC x 10 ¹² /l	HCT %	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	RDW-CV %	RDW-SD fl	RETIC %	PLT x 10 ⁹ /l
PLÓD										
15. tydz.	9,5 – 12,3	2,20 – 3,20	28,0 – 42,0	127,0 – 159,0						120 – 240
16. tydz.	10,9 – 14,1	2,30 – 3,20	34,0 – 42,0	119,0 – 167,0						120 – 240
17. tydz.	10,6 – 14,0	2,60 – 3,60	31,0 – 43,0	121,0 – 153,0						120 – 240
18. – 21. tydz.	9,5 – 14,1	2,40 – 3,80	31,0 – 45,0	119,0 – 143,0						120 – 240
22. – 25. tydz.	9,4 – 14,7	2,70 – 4,30	31,0 – 47,0	109,0 – 141,0						170 – 260
26. – 29. tydz.	10,1 – 15,7	2,50 – 5,10	32,0 – 50,0	103,0 – 134,0						170 – 260
> 30. tydz.	9,2 – 18,0	4,30 – 6,30	32,0 – 58,0	97,0 – 132,0					0,90 – 6,50	40 – 171
KREW PEPÓWINOWA	13,5 – 20,4		48,0 – 56,0	101,0 – 125,0						
NOWORODKI										
0 – 3 dni	15,0 – 24,0	4,50 – 6,30	44,0 – 68,0	95,0 – 125,0	31,0 – 38,0	31,0 – 36,0	14,5 – 17,5	51,0 – 65,0	1,80 – 6,00	148 – 400
4 – 14 dni	13,0 – 20,0	4,10 – 6,10	40,0 – 65,0	88,0 – 124,0	30,0 – 37,0	32,0 – 36,0	14,5 – 17,5	51,0 – 65,0	1,06 – 2,40	88 – 216
15 – 30 dni	10,0 – 18,0	3,80 – 5,60	33,0 – 55,0	82,0 – 123,0	29,0 – 36,0	32,0 – 36,0	13,5 – 16,5	46,0 – 60,0	1,10 – 3,00	51 – 138
DZIECI										
31 – 60 dni	9,0 – 16,0	3,80 – 5,30	28,0 – 48,0	81,0 – 115,0	28,0 – 32,0	32,0 – 35,0	13,5 – 16,5	35,0 – 56,0	1,10 – 3,20	46 – 138
3 – 6 mies.	10,0 – 18,0	3,40 – 5,00	31,0 – 46,0	77,0 – 110,0	26,0 – 31,0	32,0 – 35,0	11,5 – 15,5	35,0 – 44,0	1,10 – 2,70	46 – 138
7 – 24 mies.	10,5 – 14,0	4,10 – 5,10	33,0 – 39,0	74,0 – 84,0	23,0 – 29,0	32,0 – 35,0	11,5 – 15,5	35,0 – 44,0	0,99 – 2,20	46 – 138
3 – 6 lat	11,0 – 13,5	4,20 – 5,10	34,0 – 40,0	77,0 – 86,0	25,0 – 30,0	32,0 – 36,0	11,5 – 14,5	35,0 – 44,0	0,99 – 2,20	40 – 138
7 – 11 lat	11,5 – 13,5	4,20 – 5,20	36,0 – 43,0	79,0 – 89,0	27,0 – 30,0	31,0 – 37,0	11,5 – 14,5	35,0 – 44,0	0,99 – 2,20	40 – 138
12 – 13 lat	12,0 – 15,0	4,20 – 5,30	37,0 – 44,0	81,0 – 90,0	27,0 – 31,0	31,0 – 37,0	11,5 – 14,5	35,0 – 44,0	0,50 – 2,10	30 – 105
14 – 17 lat (dziewczęta)	12,0 – 16,0	4,20 – 5,10	37,0 – 44,0	84,0 – 93,0	27,0 – 32,0	31,0 – 37,0	11,5 – 14,5	36,0 – 47,0	0,50 – 2,10	30 – 105
14 – 17 lat (chłopcy)	13,5 – 17,0	4,60 – 5,70	40,0 – 49,0	84,0 – 93,0	27,0 – 32,0	31,0 – 37,0	11,5 – 14,5	36,0 – 47,0	0,50 – 2,10	30 – 105
od 18 r.ż. (kobiety)	12,0 – 16,0	4,20 – 5,50	37,0 – 47,0	80,0 – 98,0	27,0 – 32,0	31,0 – 37,0	11,5 – 14,5	36,0 – 47,0	0,50 – 2,20	28 – 100
od 18 r.ż. (mężczyźni)	13,5 – 18,0	4,60 – 6,50	40,0 – 52,0	80,0 – 98,0	27,0 – 32,0	31,0 – 37,0	11,5 – 14,5	36,0 – 47,0	0,50 – 2,20	28 – 100

HGB – hemoglobina; RBC – erytrocyty; HCT – hematokryt; MCV – średnia objętość erytrocytu; MCH – średnia masa hemoglobiny w erytrocytach; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach; RDW-CV – współczynnik zmienności szerokości rozkładu objętości erytrocytów; RDW-SD – odchylenie standardowe szerokości rozkładu objętości erytrocytów; PLT – płytki krwi; RETIC – retikulocyty; tydz. – tydzień; mies. – miesiąc; r.ż. – rok życia



Tabela XI c. d. Zalecane przedziały wartości referencyjnych dla wyników badania morfologii krwi dla dzieci.

WIEK	WBC x 10 ⁹ /l	NEUT x 10 ⁹ /l	%	LYM x 10 ⁹ /l	%	MONO x 10 ⁹ /l	%	EOS x 10 ⁹ /l	%	BASO x 10 ⁹ /l	%
PLÓD											
16. – 19. tydz.	3,1 – 6,3	0,1 – 0,3		0,5 – 3,3		< 0,3		< 0,06			
20. – 27. tydz.	2,5 – 6,2	0,1 – 0,4		1,2 – 4,0		< 0,4		< 0,10			
0 – 1 dzień	9,0 – 30,0	2,9 – 14,5	33 – 69,5	3,6 – 7,6	13,0 – 57,0	0,1 – 1,7	5 – 20,0	< 1,00			
2 – 3 dni	9,0 – 26,0	1,5 – 5,5	34,0 – 70,0	2,8 – 9,1	14,0 – 65,0	0,1 – 1,2	2,0 – 11,0	< 0,81	0,0 – 5,0	< 0,05	0,02 – 0,1
2 – 30 dni	9,0 – 20,0	1,5 – 5,5	16,0 – 65,0	2,8 – 9,1	18,0 – 69,0	0,1 – 1,2	2,0 – 11,0	< 0,82	0,0 – 5,0	< 0,06	0,02 – 0,1
DZIECI											
2 – 5 mies.	6,0 – 19,0	1,0 – 5,0	17,0 – 61,0	2,8 – 10,6	32,0 – 80,0	0,1 – 1,2	2,0 – 11,0	< 0,83	0,0 – 5,0	< 0,07	0,02 – 0,1
6 – 12 mies.	6,0 – 17,0	1,8 – 7,0	16,0 – 59,0	2,8 – 10,6	28,0 – 70,0	0,1 – 1,2	2,0 – 11,0	< 0,84	0,0 – 5,0	< 0,08	0,02 – 0,1
2 – 6 lat	5,0 – 15,0	1,5 – 7,5	21,0 – 62,0	2,8 – 7,5	35,0 – 60,0	0,1 – 1,2	2,0 – 11,0	< 0,85	0,0 – 5,0	< 0,09	0,02 – 0,1
7 – 11 lat	4,5 – 11,0	1,6 – 7,2	32,0 – 77,0	1,7 – 4,5	25,0 – 32,0	0,1 – 0,9	2,0 – 9,0	< 0,86	0,0 – 5,0	< 0,10	0,02 – 0,1
12 – 17 lat	4,0 – 10,0	1,8 – 7,0	42,0 – 70,0	1,3 – 4,5	27,0 – 32,0	0,1 – 0,9	2,0 – 9,0	< 0,87	0,0 – 5,0	< 0,11	0,02 – 0,1
od 18. r.ż.	4,0 – 10,0	1,9 – 7,0	45,0 – 70,0	1,5 – 4,5	25,0 – 45,0	0,1 – 0,9	2,0 – 9,0	0,05 – 0,5	0,0 – 5,0	0,0 – 0,1	0,0 – 1,0

WBC – leukocyty; NEU – neutrofile; LYM – limfocyty; MONO – monocyty; EOS – eozynofile; BASO – bazofile; tydz. – tydzień; mies. – miesiąc; r.ż. – rok życia

oraz braku możliwości jego podaży w diecie w tym okresie. W kolejnych miesiącach obserwuje się zwiększenie stężenia hemoglobiny, liczby krwinek czerwonych i wartości hematokrytu, u dzieci > 4. r.ż. wartości parametrów czerwonekrwinkowych zbliżone są do tych u dorosłych i nie wykazują zasadniczo różnicowania w zależności od płci.

Po urodzeniu, u noworodka eutroficznego, liczba leukocytów jest wyższa niż u człowieka dorosłego i może wystąpić fizjologiczne przesunięcie w lewo (pozostałość po „wątrobowym” okresie hematopoezy, gdzie nie funkcjonuje bariera „wątroba”/krew). Zaraz po urodzeniu obserwuje się przewagę neutrofilii, natomiast w 5.-6. dniu życia noworodka, najpóźniej na początku drugiego tygodnia życia, dochodzi do „pierwszego skrzyżowania”, to znaczy, że odsetki neutrofilii i limfocytów zrównują się, a leukocytoza stopniowo się obniża. Po „pierwszym skrzyżowaniu”, do czasu „drugiego skrzyżowania”, które ma miejsce w warunkach fizjologicznych na przełomie 5.-6. roku życia dziecka, w obrazie krwi obwodowej dominują limfocyty nad neutrofilami. Po „drugim skrzyżowaniu”, obraz krwi obwodowej jest taki jak u człowieka dorosłego, czyli z występującą przewagą neutrofilii.

Bezpośrednio po urodzeniu, szczególnie u wcześniaków, można obserwować niższe wartości płytek krwi, nawet < $150 \times 10^9/l$, jednak ich liczba zwiększa się po kilku dniach i utrzymuje się na poziomie wartości spotykanych u dorosłych osób. W tabeli XI przedstawiono propozycję przedziałów wartości referencyjnych dla dzieci będące kompilacją danych z programów KiGGS i CALIPER, danych opublikowanych [25, 30, 40, 55], a także danych z Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie oraz Instytutu „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie.

W przypadku, kiedy pediatrzy wskazują Laboratorium źródła przedziałów wartości referencyjnych dopuszcza się ich stosowanie.

11. KONTROLA JAKOŚCI

11.1. Zalecenia dotyczące kontroli wewnętrzzlaboratoryjnej

Materiały kontrolne należy stosować zgodnie z zaleceniami producentów analizatorów i odczynników

lub certyfikowanego producenta materiałów kontrolnych, niezależnej strony trzeciej.

Zaleca się, aby opracowany i stosowany przez Laboratorium program kontroli wewnętrzzlaboratoryjnej uwzględniał co najmniej przedstawione poniżej działania:

- *Stosowanie materiałów kontrolnych na trzech poziomach, wysokim, prawidłowym i niskim, co najmniej raz dziennie, przed wykonywaniem serii badań laboratoryjnych, po każdej awarii, po każdym przeglądzie technicznym, w razie podejrzenia wystąpienia błędu systematycznego (bias). Nie zaleca się stosowania materiałów kontrolnych w odstępach czasowych, np. rano – poziom prawidłowy, w południe – wysoki, wieczór – niski.*
- *Opracowanie i stosowanie jednoznacznych kryteriów akceptacji/odrzućenia wyników kontroli wewnętrzzlaboratoryjnej.*
- *Opracowanie i stosowanie zasad postępowania w przypadku odrzućenia wyników kontroli wewnętrzzlaboratoryjnej.*

11.2. Zalecenia dotyczące kontroli zewnętrzzlaboratoryjnej

Zaleca się, aby wszystkie parametry morfologii krwi wraz z różnicowaniem leukocytów i retikulocytami wraz z parametrami dodatkowymi prezentowanymi w sprawozdaniu wyników laboratoryjnych były objęte programem kontroli zewnętrzzlaboratoryjnej, z częstością zgodną z zaleceniami Organizatorów tej kontroli.

Zalecenia te obejmują:

- udział personelu wykonującego badania,
- stosowanie kryteriów Organizatora kontroli w ocenie jej wyników,
- opracowanie i stosowanie zasad postępowania w przypadku uzyskania wyników niezgodnych.

W przypadku braku lub niedostępności kontroli zewnętrzzlaboratoryjnej dla parametrów dodatkowych zaleca się podejście alternatywne, zorganizowanie porównań. Jeżeli zorganizowanie porównań

międzylaboratoryjnych nie jest możliwe, to minimalną formą kontroli jest stosowanie certyfikowanych materiałów odniesienia, najlepiej strony trzeciej uznanego niezależnego producenta tych materiałów.

12. MINIMALNE DOŚWIADCZENIE I SPOSÓB PRACY

Pomimo znacznego postępu w automatyzacji laboratoriów medycznych, który na przestrzeni lat dokonał się w pracowniach diagnostyki hematologicznej, wyniki autoryzowane są nie tylko na podstawie wartości parametrów uzyskanych z analizatora, lecz także na ocenie wzrokowej cyto- i histogramów w analizatorze, sugerujących „problem” z próbką – natury technicznej lub związanych z obecnymi zmianami patologicznymi w próbce, co nie zawsze jest równoznaczne z pojawieniem się „flag”. Ponadto

ocena mikroskopowa rozmazu krwi podlega subiektywnej ocenie.

Zaleca się, aby osoby pracujące w pracowni diagnostyki hematologicznej stanowiły STAŁY zespół diagnostów laboratoryjnych i techników analityki medycznej koordynowany przez kierownika pracowni.

Zaleca się, aby minimalny czas szkolenia w Pracowni Diagnostyki Hematologicznej wynosił 1 miesiąc.

Zaleca się, aby kierownik pracowni organizował „wewnątrzpracowniane” sprawdziany mikroskopowej oceny rozmazu krwi wykonywane przez różne osoby i zaleca się, aby uzyskane wyniki sprawdzianu były poddane analizie na podstawie kryteriów opracowanych i stosowanych w Laboratorium.

13. PIŚMIENICTWO

- Agarwal R, Sarkar A, Bhowmik A, et al. A portable spinning disc for complete blood count (CBC). *Biosens Bioelectron.* 2020; 150: 111935.
- Aita A, Sciacovelli L, Plebani M. Laboratory-related errors: you cannot manage what you don't measure. You manage what you know and measure. *Diagnosis (Berl).* 2017; 4(4): 193–195.
- Ammer T, Schützenmeister A, Prokosch HU, et al. A Novel Algorithm for Reference Interval Estimation from Real-World Data. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 16023.
- Bain JB. *Blood cells. A practical guide.* Wiley Blackwell, Oxford, UK. 2015.
- Barth J.H. Clinical quality indicators in laboratory medicine: a survey of current practice in the UK. *Ann Clin Biochem.* 2011; 48: 238–240.
- Biino G, Santimone I, Minelli C, et al. Age- and sex-related variations in platelet count in Italy: a proposal of reference ranges based on 40987 subjects' data. *PLoS One.* 2013; 8(1): e54289.
- Breton M, McCafferty R, Marsden K, et al. Recommendation for standardization of haematology reporting units used in the extended blood count. *Int J Lab Hem.* 2016; 38: 472–482.
- Briggs C, Culp N, Davis B, et al. International Council for Standardization of Haematology. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. *Int J Lab Hematol.* 2014; 36(6): 613–627.
- Briggs C, Harrison P, Machin SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *Int J Lab Hematol.* 2007; 29(2): 77–91.
- Briggs C. Quality counts: new parameters in blood cell counting. *Int J Lab Hematol.* 2009; 31(3): 277–297.
- Bull BS, Fujimoto K, Houwen B, et al. ICSH Expert Panel on Cytometry. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for "surrogate reference" method for the packed cell volume. *Lab Hematol.* 2003; 9(1): 1–9.
- Buttarelli M, Plebani M. Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol.* 2008; 130(1): 104–116.
- Cerioti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward. *Ann Clin Biochem.* 2009; 46(Pt 1): 8–17.
- Choudhary S, Katkar R S, Nagaram D. Storage artefacts in peripheral blood smears. *J Diagn Pathol Oncol.* 2018; 4(3): 187–191.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Reticulocyte Counting (Automated Blood Cell Counters, Flow Cytometry, and Supravital Dyes).* NCCLS document H44-A2. Approved Guideline – Second Edition, 2004; Vol. 24, No. 8.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Reference and selected procedures for the quantitative determination of hemoglobin in blood. H15–A3.* Approved Guideline, 2000.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Reference leukocyte (WBC) differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods.* CLSI document H20-A2. Approved Standard – Second Edition, 2007.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Tubes and Additives for Venous and Capillary Blood Specimen Collection; Approved Standard – Sixth Edition.* CLSI document GP39-A6. 2010.
- Comar SR, Malvezzi M, Pasquini R. Are the review criteria for automated complete blood counts of the International Society of Laboratory Hematology suitable for all hematology laboratories? *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2014; 36(3): 219–225.
- Coşkun A, Carobene A, Kilercik M, et al; European Biological Variation Study of the EFLM Working Group on Biological Variation. Within-subject and between-subject biological variation estimates of 21 hematological parameters in 30 healthy subjects. *Clin Chem Lab Med.* 2018; 56(8): 1309–1318.
- International Council for Standardization in Haematology technical report 1-2009: new reference material for haemoglobin cyanide for use in standardization of blood haemoglobin measurements. *Int J Lab Hematol.* 2010; 32(2): 139–141.
- De la Salle B. Pre- and postanalytical errors in haematology. *Int J Lab Hematol.* 2019; 41 (Suppl 1): 170–176.
- De la Salle BJ, McTaggart PN, Briggs C, et al. The accuracy of platelet counting in thrombocytopenic blood samples distributed by the UK National External Quality Assessment Scheme for General Haematology. *Am J Clin Pathol.* 2012; 137(1): 65–74.
- Deshka M. Pobieranie krwi w praktyce. Poradnik dla personelu medycznego. Bezpieczne pobieranie krwi włośniczkowej i żyłnej w ambulatorium i szpitalu. Kohlhammer Verlag Stuttgart, ISBN: 978-3-17-020830-8.
- Dortschy R, Schaffrath Rosario A, Scheidt-Nave Ch, et al. Bevölkerungsbezogene Verteilungswerte ausgewählter Laborparameter aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS). Robert Koch – Institut, Berlin. 2009. Mercedes-Druck, Berlin, DOI: doi.org/10.25646/3144.
- Eldanasoury AS, Boshnak NH, Abd El Monem RE. Validation of criteria for smear review following automated blood cell analysis in Ain Shams University Laboratory. *Int J Sci Res.* 2016; 5: 484–493.
- Farrell CL, Nguyen L. Indirect Reference Intervals: Harnessing the Power of Stored Laboratory Data. *Clin Biochem Rev.* 2019; 40(2): 99–111.
- Gulati G, Song J, Florea AD, et al. Purpose and criteria for blood smears can, blood smear examination, and blood smear review. *Ann Lab Med.* 2013; 33(1): 1–7.
- Haeckel R, Wosniok W, Arzideh F. A plea for intra-laboratory reference limits. Part 1. General considerations and concepts for determination. *Clin Chem Lab Med.* 2007; 45(8): 1033–1042.
- Heil W, Ehrhardt V. Reference ranges for adults and children. Pre-analytical considerations. Roche Diagnostics, Mannheim. 2008.
- Henny J. The IFCC recommendations for determining reference intervals: strengths and limitations. *J Lab Med* 2009; 33(2): 45–51, DOI: 10.1515/JLM.2009.016.
- Hjelm M, Leyssen MHT, Tentori L, et al. Standardization of blood specimen collection procedure for reference values. International Committee for Standardization in Haematology (ICSH). *Clin lab Haemat.* 1982; 4: 83–86.
- International Council for Standardization in Haematology Expert Panel on Cytometry; International Society of Laboratory Hematology Task Force on Platelet Counting. Platelet counting by the RBC/platelet ratio method. A reference method. *Am J Clin Pathol.* 2001; 115(3): 460–464.
- Izzi B, Bonaccio M, de Gaetano G, et al. Learning by counting blood platelets in population studies: survey and perspective a long way after Bizzozero. *J Thromb Haemost.* 2018; 16(9): 1711–1721.
- Jean A, Boutet C, Lenormand B, et al. Combination of cellular population data and CytoDiff analyses for the diagnosis of lymphocytosis. *Clin Chem Lab Med.* 2011; 49(11): 1861–1868.
- Jones GRD, Haeckel R, Loh TP, et al. IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits. Indirect methods for reference interval determination – review and recommendations. *Clin Chem Lab Med.* 2018; 57(1): 20–29.
- Kawalec W, Grenda R, Ziólkowska H. *Pediatrics.* PZWL, Warszawa. 2020.

38. Kawalec W, Grenda R, Kulus M. *Pediatra*, wyd. III. PZWL, Warszawa. 2024.
39. Kemble S, Briggs C, Harrison P. Platelet Counting. In: Michelson A, Cattaneo M, Frelinger L, Newman P, (eds.). *Platelets*. 4th edition ed. Academic Press (Elsevier), London. 2019: 582–591.
40. Klarmann D, Hintereder G, Thomas L. Reference intervals and orienting ranges for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine in fetuses, newborn and adolescents. Chapter 54 in: Lother T. *Clinical Laboratory Diagnostics*. Germany 2024. www.clinical-laboratory.diagnostics.com.
41. Kratz A, Lee SH, Zini G, et al. International Council for Standardization in Haematology. Digital morphology analyzers in hematology: ICSH review and recommendations. *Int J Lab Hematol*. 2019; 41(4): 437–447.
42. Laboratory management, accreditation, quality assurance. *Clin. Chim. Acta*. 2019; 497–532.
43. Latger-Cannard V, Hoarau M, Salignac S, et al. Mean platelet volume: comparison of three analysers towards standardization of platelet morphological phenotype. *Int J Lab Hematol*. 2012; 34(3): 300–310.
44. Linssen J, Aderhold S, Nierhaus A, et al. Automation and validation of a rapid method to assess neutrophil and monocyte activation by routine fluorescence flow cytometry in vitro. *Cytometry B Clin Cytom*. 2008; 74(5): 295–309.
45. Lippi G, Favaloro EJ, Buoro S. Platelet Transfusion Thresholds: How Low Can We Go in Respect to Platelet Counting? *Semin Thromb Hemost*. 2020; 46(3): 238–244.
46. Lippi G, Simundic AM, European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE). The EFLM strategy for harmonization of the preanalytical phase. *Clin Chem Lab Med*. 2018; 56(10): 1660–1666.
47. Liu W, Bretz F, Cortina-Borja M. Reference range: Which statistical intervals to use? *Stat Methods Med Res*. 2021; 30(2): 523–534.
48. Mokhtari M, Najafi S. Evaluation of the correlation of automated and manual results of complete blood count in oncologic patients. *Comp. Clin. Pathol*. 2016; 25(6): 1151–1154, DOI: 10.1007/s00580-016-2319-9.
49. Omuse G, Maina D, Mwangi J, et al. Complete blood count reference intervals from a healthy adult urban population in Kenya. *PLoS One*. 2018; 13(6): e0198444.
50. Oprisan B, Stoica I, Avadanei MI. Morphological changes induced in erythrocyte membrane by the antiepileptic treatment: Anatomic force microscopy study. *Microsc Res Tech*. 2017; 80(4): 364–373.
51. Palmer L, Briggs C, McFadden S, et al. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int J Lab Hematol*. 2015; 37(3): 287–303.
52. Palur K, Arakeri SU. Effectiveness of the International Consensus Group criteria for manual peripheral smear review. *Indian J Pathol Microbiol*. 2018; 61(3): 360–365.
53. Park IJ, Ahn S, Kim YI, et al. Performance evaluation of Samsung LABGEO(HC10) Hematology Analyzer. *Arch Pathol Lab Med*. 2014; 138(8): 1077–1082.
54. Pekelharing M, Hauss O, de Jonge R, et al. Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. *Diagnostic Perspectives*. 2010; 1(1): 1–11.
55. Piątosa B, Wolska-Kuśnierz B, Siewiera K, et al. Distribution of leukocyte and lymphocyte subsets in peripheral blood. Age related normal values for preliminary evaluation of the immune status in Polish children. *Centr Eur J Immunol*. 2010; 35(3): 168–175.
56. Plebani M, Sciacovelli L, Aita A, et al. Performance criteria and quality indicators for the pre-analytical phase. *Clin Chem Lab Med*. 2015; 53(6): 943–948. DOI: 10.1515/cclm-2014-1124.
57. PN-EN ISO 15189:2013-05 Laboratoria medyczne – Wymagania dotyczące jakości i kompetencji.
58. Proposed reference method for reticulocyte counting based on the determination of the reticulocyte to red cell ratio. The Expert Panel on Cytometry of the International Council for Standardization in Haematology. *Clin Lab Haematol*. 1998; 20(2): 77–79.
59. Reference method for the enumeration of erythrocytes and leucocytes. International Council for Standardization in Haematology; prepared by the Expert Panel on Cytometry. *Clin Lab Haematol*. 1994; 16(2): 131–138.
60. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 marca 2006 r. w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych z późn. zm.
61. SEED Haematology – Reference ranges – and what Sysmex can offer. Sysmex Educational Enhancement and Development. 2015.
62. Sciacovelli L, Aita A, Padoan A, et al. Performance criteria and quality indicators for the post-analytical phase. *Clin Chem Lab Med*. 2016; 54(7): 1169–1176.
63. Simundic AM, Lippi G. Preanalytical phase – a continuous challenge for laboratory professionals. *Biochem Med (Zagreb)*. 2012; 22(2): 145–149.
64. Scherer PS, Moraes D, Terezinha P, et al. New red blood cell and reticulocyte parameters and reference values for healthy individuals and in chronic kidney disease. *J Bras Patol Med Lab*. 2015; 51(2): 77–84.
65. Solberg HE. The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The Ref Val program. *Clin Chem Lab Med*. 2004; 42(7): 710–714.
66. Solnica B, Dembińska-Kieć A, Naskalski JW. *Diagnostyka Laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej*, wyd. V, Edra Urban & Partner, Wrocław. 2022.
67. Specific Criteria for Accreditation of Medical Laboratories, National Accreditation Board for Testing and Calibration Laboratories (NABL 112). 2019.
68. Summeta S, Rajesh K, Nanera A, et al. Sample rejection as a quality indicator for continual improvement of laboratory services, tertiary care hospital. *NJIRM*. 2014; 5(1): 72–75.
69. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th Edition. Lyon, 2008.
70. Szczeklik A, Gajewski P. *Interna Szczeklika*. Medycyna praktyczna, Kraków. 2023.
71. Tate JR, Johnson R, Barth J. Harmonization of laboratory testing – Current achievements and future strategies. *Clin Chim Acta*. 2014; 432: 4–7.
72. Tatsumi N, Miwa S, Lewis SM; International Society of Hematology, and the International Council for Standardization in Haematology. Specimen collection, storage, and transmission to the laboratory for hematological tests. *Int J Hematol*. 2002; 75(3): 261–268.
73. Tohyama K. Present status and perspective of laboratory hematology in Japan: On the standardization of blood cell morphology including myelodysplasia: On behalf of the Japanese Society for Laboratory Hematology. *Int J Lab Hematol*. 2018; 40(Suppl 1): 120–125.
74. Urrechaga E. Standardization and recommendations in the Laboratory of Haematology Hematimetric and reticulocyte indices in the diagnosis of anemia, 2019.

75. Wakeman L, Al-Ismail S, Benton A, et al. Robust, routine haematology reference ranges for healthy adults. *Int J Lab Hematol.* 2007; 29(4): 279–283.
76. Wiwanitkit V. Effect of EDTA K2 and K3 anticoagulants on the complete blood count measured by hematological analyzer. *Arch Hell Med.* 2011; 28(6): 849–850.
77. World Health Organization use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. 2002, who/dil/lab/99.1 Rev.2.
78. Zhang L, Xu J, Gao L, et al. Spurious Thrombocytopenia in Automated Platelet Count. *Lab Med.* 2018; 49(2): 130–133.
79. Zini G; International Council for Standardization in Haematology (ICSH). Stability of complete blood count parameters with storage: toward defined specifications for different diagnostic applications. *Int J Lab Hematol.* 2014; 36(2): 111–113.
80. Zwart A, van Assendelft OW, Bull BS, et al. Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1995) and specifications for international haemoglobinocyanide standard (4th edition). *J Clin Pathol.* 1996; 49(4): 271–274.