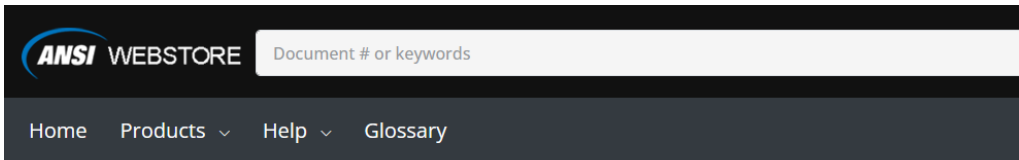


# Referenční meze pro klinickou cytometrii

Stanovení referenčních mezí lymfocytárních subpopulací je klíčové pro interpretaci laboratorních výsledků.

## 1) Tvoříte vlastní referenční meze?

Kde najít doporučení?



## CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)

← BACK



HISTORICAL

### CLSI C28-A3

Defining, Establishing, And Verifying Reference Intervals In The Clinical Laboratory; Approved Guideline - Third Edition

Contains guidelines for determining reference values and reference intervals for quantitative clinical laboratory tests.

AVAILABLE FOR SUBSCRIPTIONS

ADD TO ALERT PDF

CONTENT PROVIDER  
Clinical And Laboratory Sta

PREVIEW



Review Article | Free Access

### Validation of cell-based fluorescence assays: Practice guidelines from the ICSH and ICCS – part V – assay performance criteria

Brent Wood, Dragan Jevremovic, Marie C. Béné, Ming Yan, Patrick Jacobs, Virginia Litwin,  
; on behalf of ICSH/ICCS Working Group

First published: 10 September 2013 | <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21108> | Citations: 171

Correspondence to: Virginia Litwin, Ph.D., Principal Scientist, Hematology, Covance Central Laboratory Services, Inc., 8211 SciCor Drive, Indianapolis, IN, 46214-2985. E-mail: [virginia.litwin@covance.com](mailto:virginia.litwin@covance.com)



Volume 84, Issue 5  
Special Issue: Validation of Cell-Based Fluorescence Assays: Practice Guidelines from the International Council for Standardization of Haematology and the International Clinical Cytometry Society  
September/October 2013  
Pages 315-323

Advertisement

IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)

EFLM (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)

# 1) Tvoříte vlastní referenční meze?

## Jaká jsou doporučení?

- 1) Výběr zdravé populace (referenčního souboru): Měl by zahrnovat reprezentativní vzorek zdravých jedinců (obvykle minimálně 120 osob podle CLSI, 60 žen a 60 mužů).
- 2) V případě pediatrických referenčních mezí je potřeba zohlednit věk: ideální počet jedinců v každé věkové skupině měl být alespoň 120 pro neparametrické výpočty referenčních intervalů (ale většinou je to  $n=30-50$ ).
- 3) Zohlednit věk, pohlaví, etnický původ a další faktory, které mohou ovlivnit měřené analyty. Zdraví jedinci by měli být bez známek akutních či chronických onemocnění a bez medikace ovlivňující imunitu.
- 4) Používat standardizované a validované metody - průtokovou cytometrii s pevně definovanými protilátkami a protokoly.
- 5) Pro stanovení referenčních mezí se používají neparametrické metody (percentily 2,5 a 97,5 %) nebo parametrické metody, pokud data odpovídají normálnímu rozdělení.
- 6) Výjimky a odlehlé hodnoty by měly být odstraněny podle předem definovaných pravidel.
- 7) Pečlivá dokumentace výběru populace, metod, statistických postupů a výsledků.
- 8) Validace vytvořených referenčních mezí na další skupině zdravých jedinců a pacientů.
- 9) Referenční meze by měly být pravidelně přehodnocovány (např. každých 3-5 let nebo po změně metodiky).
- 10) Doporučuje se, aby laboratoře sdílely data a vzájemně si ověřovaly referenční meze (multicentrické studie).

# 2) Používáte publikované referenční meze?

## Na co je třeba dávat pozor?

### 1) Výběr referenčního souboru - velikost souboru, věkové skupiny, pohlaví jedinců

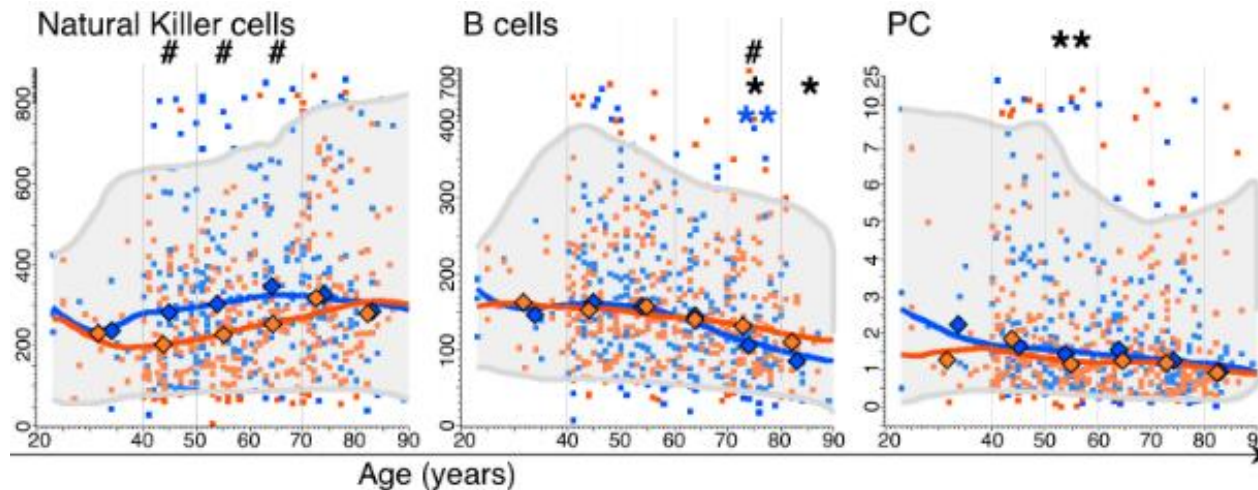
**Lymphocyte subsets' reference ranges in an age- and gender-balanced population of 100 healthy adults-a monocentric German study** (DOI: 10.1016/j.clim.2005.03.020):

- statisticky významný pokles počtu CD3+/CD8+ T buněk a CD19+ B buněk po 50. roce života, zatímco počet NK buněk a poměr CD4+/CD8+ se významně zvýšily

**Reference values of lymphocyte subsets from healthy Polish adults** (DOI: 10.5114/ceji.2024.136371)

- vyšší procento lymfocytů (CD45++), CD4+ T lymfocytů včetně absolutního počtu, nebo class-switched B-lymfocytů u žen v porovnání s muži

**Age- and Sex-Matched Normal Leukocyte Subset Ranges in the General Population Defined with the EuroFlow Lymphocyte Screening Tube (LST) for Monoclonal B-Cell Lymphocytosis (MBL) vs. Non-MBL Subjects** (DOI: 10.3390/cancers15010058)



ženy  
muži

# 2) Používáte publikované referenční meze?

2) Standardizovaný protokol : plná krev - lyse-no-wash, velkolyzace, ...?

3) Definice jednotlivých subpopulací - CD nomenklatura a gejtovací strategie

CD3+ NK cells: CD16+56+ (1)

CD3+4+ CD56+CD3- (2)

CD3+8+ Naive CD4+ T-cells: CD45RA+CD62L+ (1)

CD19+ CD45RA+ (2)

CD45RA+CCR7+ (3)

Memory CD4+ T-cells: CD45RO+ (1)

Central and effector memory: CD45RA-CCR7+ and CD45RA-CCR7- (3)

Plasmablasts: CD20-IgD-CD27+CD38+ (3)

IgM-CD38++ (4)

➤ Využijte takové ref. meze, kde definují subpopulace stejně jako Vy.

4) Klony protilátek – zejména anti-HLA-DR

➤ Používejte klon anti-HLA-DR, který byl použit pro stanovení referenční mezí

5) Znaky aktivace

Early activation markers: CD69, CD25

Intermediate/late activation markers: CD38, HLA-DR

CD8<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> HLA-DR<sup>-</sup> (3)

CD8<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> HLA-DR<sup>+</sup> (3)

(1) Reference values for peripheral blood lymphocyte phenotypes applicable to the healthy adult population in Switzerland, DOI: 10.1046/j.0902-4441.2003.00199.x

(2) Age-matched lymphocyte subpopulation reference values in childhood and adolescence: application of exponential regression analysis, DOI: 10.1111/j.1600-0609.2008.01052.x

(3) Comprehensive flow cytometric reference intervals of leukocyte subsets from six study centers across Europe, DOI: 10.1111/cei.13491

(4) B cell subsets in healthy children: reference values for evaluation of B cell maturation process in peripheral blood, DOI: 10.1002/cyto.b.20536

## 2) Používáte publikované referenční meze?

### **Přehled vybraných evropských studií - dospělí:**

**Comprehensive flow cytometric reference intervals of leukocyte subsets from six study centers across Europe, 2020, DOI: [10.1111/cei.13491](https://doi.org/10.1111/cei.13491)**

- přes 300 zdravých jedinců, věkový rozsah ~20-81 let, muži i ženy

**Reference values of lymphocyte subsets from healthy Polish adults, 2024, DOI: [10.5114/ceji.2024.136371](https://doi.org/10.5114/ceji.2024.136371)**

- zdraví dospělí; nová studie pro polskou populaci

**Age- and Sex-Matched Normal Leukocyte Subset Ranges in the General Population Defined with the EuroFlow Lymphocyte Screening Tube (LST) for Monoclonal B-Cell Lymphocytosis (MBL) vs. Non-MBL Subjects, 2022, DOI: [10.3390/cancers15010058](https://doi.org/10.3390/cancers15010058)**

- velká kohorta (n = 706), rozdělena dle věku a pohlaví

**Reference intervals for leukocyte subsets in adults: Results from a population-based study using 10-color flow cytometry, 2015, DOI: [10.1002/cyto.b.21234](https://doi.org/10.1002/cyto.b.21234)**

- 608 zdravých jedinců, věkové skupiny 40-59 a 60-79 let; muži/ženy

**Lymphocyte subsets' reference ranges in an age- and gender-balanced population of 100 healthy adults--a monocentric German study, 2005, DOI: [10.1016/j.clim.2005.03.020](https://doi.org/10.1016/j.clim.2005.03.020)**

## 2) Používáte publikované referenční meze?

### Přehled vybraných evropských studií - děti:

**Paediatric reference values for the peripheral T cell compartment, 2012,**  
*DOI: 10.1111/j.1365-3083.2012.02671.x*

Cord blood

1 w–2 m

**Age-matched reference values for B-lymphocyte subpopulations and CVID classifications in children, 2011,** *DOI: 10.1111/j.1365-3083.2011.02609.x*

2–5 m

5–9 m

9–15 m

15–24 m

2–5 y

5–10 y

10–16 y

>16 y

**B cell subsets in healthy children: reference values for evaluation of B cell maturation process in peripheral blood, 2010,** DOI: 10.1002/cyto.b.20536

**Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations, 1997,** DOI: 10.1016/s0022-3476(97)70200-2

### 3) Disease-specific reference values

- parametry testu měřeny v kontextu definované klinické entity
- stanovení referenčního rozmezí specifického pro dané onemocnění může být časově náročnější i dražší ve srovnání s definováním referenčního rozmezí u zdravých dárců