

Referensintervall för barn för vanliga klinisk-kemiska analyser

PETER RIDEFELT, överläkare, docent, Klinisk kemi och farmakologi, Akademiska sjukhuset, Uppsala
peter.ridefelt@akademiska.se

MATTIAS ALDRIMER, överläkare, Klinisk kemi, laboratoriemedicin Dalarna, Falu lasarett

PEO RÖDÖÖ, överläkare, barn- och ungdomsmottagningen, Hallands sjukhus, Kungälv; vid tidpunkten för studien barn- och ungdomsmedicin, Falu lasarett

JAN GUSTAFSSON, professor, överläkare, institutionen för kvinnors och barns hälsa, Akademiska barnsjukhuset, Uppsala

FRANK NIKLASSON, docent, fd överläkare, Klinisk kemi, laboratoriemedicin Dalarna, Falu lasarett

DAN HELLBERG, adjungerad professor, institutionen för kvinnors och barns hälsa, Uppsala universitet; Centrum för klinisk forskning Dalarna, Falun

Tillförlitliga data för barnreferensintervall har länge varit en bristvara, men under 2012 och 2013 har tre stora projekt publicerats i vilka blodprov från friska barn har samlats prospektivt i förskolor och skolor. I en studie från Falun mättes allmänkemiska och hematologiska analyser på 700 friska barn. I studier från Kanada och Danmark har också blod samlats för allmänkemiska analyser.

Tidigare data

Referensintervall bör skapas efter mätningar på blodprov från referenspersoner som är friska och definierade med avseende på ålder, kön och etnisk grupp. I det nordiska samarbetsprojektet NORIP (Nordiska referensintervallprojektet) [1] mättes allmänkemiska analyser på 3 600 friska individer från 18 års ålder [2]. De referensintervall som togs fram i detta projekt implementerades vid de flesta klinisk-kemiska laboratorier i de nordiska länderna för cirka tio år sedan. Motsvarande studier på barn har varit svåra att genomföra. Etikkommittéerna har varit restriktiva vad gäller att låta forskare samla in prov från friska barn, och logistiken kan vara besvärlig, varför vi länge har varit hänvisade till att använda barnreferensintervall av varierande kvalitet.

Vad har funnits tidigare av barnreferensintervall? Diagnostikaindustrins förslag är oftast bara för vuxna. Den stora bibeln på området har länge varit Soldins »Pediatric reference ranges« [3], men många av källorna boken utgörs av retrospektiva utsökningar ur laboratoriernas databaser. Nackdelarna med detta är många. I vissa fall har man använt olika statistiska procedurer för att minska inflytandet av de mest avvikande resultaten, som skulle kunna tänkas komma från patienter med en sjukdom eller behandling som påverkar det man vill mäta. I andra fall har man eliminerat data från särskilda enheter, tex hematologiska och onkologiska avdelningar, där man kan förvänta sig svårt sjuka barn med klart avvikande laboratorievärden. Andra studier har använt överblivet provmaterial från barn som bedömts vara relativt friska, tex från öppenvårdsmottagningar eller viss elektiv kirurgi. Men även sådana infallsvinklar har uppenbara svagheter – på barn tas blodprov bara när det är mycket välmotiverat!

En annan kompromissmetod som tillämpats är att samla blod i samband med anestesi vid planerad kirurgi på barn som är metabolt friska. Denna utgångspunkt har använts i Uppsala och vid ARUP labs ChildX-projekt i USA [4, 5]. Detta sätt att arbeta kräver stora resurser. Patientunderlaget blir också lätt skevt med avseende på kön och ålder – små pojkar med urola-

»Tillförlitliga data för barnreferensintervall har länge varit en bristvara, men under 2012 och 2013 har tre stora projekt publicerats ...«

giska missbildningar och tonårsflickor med skolios kan tex vara vanliga på operationsschemat.

Prospektiva studier på friska barn

Prospektiva studier av referensintervall för friska barn beträffande de analyser som ingår i våra dygnet runt-sortiment är förvånansvärt få. Många studier är av äldre datum, och analyserna har utförts med metoder och instrument där överensstämmelsen med dagens laboratorieresultat är varierande och där beskrivningen av metoder, reagens och kalibratorer är bristfällig [6].

Det kanadensiska projektet CALIPER har under de senaste åren publicerat flera studier på data från mätningar på överblivet provmaterial, uppdelat på olika instrumenttillverkare [7-9]. Under 2012 kom dock ett stort prospektivt arbete från CALIPER [10], där man hade rekryterat 2 188 friska barn i åldern 0-18 år från skolor och kyrkor i Toronto-området. För barn under 1 års ålder tvingades man dock att använda överblivet provmaterial från sjukvården. Arbetet redovisade även en del data efter uppdelning i de största etniska grupperna. Studien omfattade ca 40 allmän- och proteinkemiska analyser utförda med instrument från tillverkaren Abbott. Nyligen publicerades också en studie från Köpenhamn [11]. Den inkluderade 1 429 individer i åldern 6-20 år, där prov samlats in i skolor. I studien analyserades ett 20-tal allmänkemiska analyser med instrument från tillverkaren Roche.

Faluprojektet

Faluprojektet är ett samarbete inom regionen Uppsala-Örebro. Studien inkluderade 701 barn i åldern 6 månader till 19 år efter godkännande av regionala etikprövningsnämnden i Uppsala. Barnen rekryterades på barnavårdscentraler, förskolor och skolor i Faluområdet. Sjuksköterskor och lärare på barnavårdscentraler respektive skolor ställde upp med lokaler och schemaavbrott. De mindre barnens blodprov togs under lugna förhållanden på en barnmottagning, medan provtagningen på skolbarnen ägde rum i skolorna. Alla uppmanades att sitta och vila 15 minuter före provtagningen.

Barn med kronisk sjukdom eller infektion de senaste tio dagarna ombads att inte delta. Barnen och deras föräldrar fick fylla i en enkät som innehöll bl a frågor om hälsa, sjukdomar, allergier och läkemedel, både receptfria och receptbelagda. Fyra barn exkluderades: två med typ 1-diabetes, ett med neurofibromatos och ett med tyreotoxikos. Däremot inkluderades den stora grupp som angav någon form av allergi eller astma. Vid provtagningen togs serum- och EDTA-rör venöst. De

SAMMANFATTAT

Tillförlitliga data för barnreferensintervall har länge varit en bristvara.

I en prospektiv studie från Falun

samlades blod från 701 friska barn. Referensintervall för ett 50-tal allmänkemiska och hematologiska analyser beräknades.

KLINIK & VETENSKAP RAPPORT

TABELL I. Ålders- och könsspecifika (K = kvinnligt, M = manligt kön) referensintervall för barn. Princip för angivande av ålder: 6 mån–3 år innebär 6,00 månader till 3,99 år. Allmänkemiska analyser gjordes på serum, men de beräknade referensvärdena är väsentligen även tillämpbara på plasma.

Analyt	Ålder	Kön	Nedre	Övre	Enhet
Ridefelt et al [12]					
Natrium	6 mån–18 år	KM	138	145	mmol/l
Kalium	6–12 mån	KM	4,1	5,1	mmol/l
	1–18 år	KM	3,7	4,8	
Klorid	6 mån–18 år	KM	103	111	mmol/l
Kalcium	6–12 mån	KM	2,45	2,75	mmol/l
	1–18 år	KM	2,32	2,67	
Fosfat	6–12 mån	KM	1,64	2,13	mmol/l
	1–7 år	KM	1,35	2,03	
	8–12år	K	1,11	1,83	
	8–12 år	M	1,28	1,99	
	13–18 år	K	0,94	1,63	
13–18 år	M	0,94	1,80		
Magnesium	6 mån–18 år	KM	0,76	1,00	mmol/l
Kreatinin, enzymatiskt	6 mån–1 år	KM	18	48	µmol/l
	2–5 år	KM	22	53	
	6–10 år	K	31	70	
	6–10 år	M	31	76	
	11–14 år	K	36	70	
	11–14 år	M	44	90	
	15–18 år	K	49	86	
15–18 år	M	55	106		
Cystatin C	6–12 mån	KM	0,77	1,08	mg/l
	1–18 år	KM	0,63	1,08	
Urea	6–12 mån	KM	2,1	6,5	mmol/l
	1–10 år	KM	3,1	7,8	
	11–18 år	KM	2,7	7,1	
Urat	6 mån–8 år	KM	160	350	µmol/l
	9–12 år	KM	130	350	
	13–18 år	K	110	340	
	13–18 år	M	170	470	
Aldrimer et al [13]					
TSH	6 mån–12 år	KM	0,90	5,0	mE/l
	13–18 år	K	0,40	3,4	
	13–18 år	M	0,80	3,6	
T4, fritt	6 mån–12 år	KM	11,0	16,5	pmol/l
	13–18 år	KM	10,0	16,0	
T3, fritt	6 mån–12 år	KM	4,5	7,1	pmol/l
	13–18 år	K	4,1	6,0	
	13–18 år	M	4,5	6,8	
Prolaktin	6 mån–1 år	KM	4,2	26	µg/l
	2–9 år	KM	4,0	19	
	10–18 år	KM	4,2	25	
Kolesterol, totalt	6 mån–2 år	K	1,9	5,1	mmol/l
	6 mån–2 år	M	2,8	5,7	
	3–18 år	K	3,2	6,1	
	3–18 år	M	2,9	6,0	
LDL-kolesterol	6 mån–8 år	K	0,70	2,6	mmol/l
	6 mån–8 år	M	0,83	2,8	
	9–18 år	K	1,2	5,0	
	9–18 år	M	1,1	3,6	
HDL-kolesterol	6 mån–8 år	KM	0,67	1,6	mmol/l
	9–18 år	KM	0,84	1,9	
Triglycerider	6 mån–18 år	KM	0,42	2,7	mmol/l
Aldrimer et al [14]					
Hemoglobin	6 mån–7 år	KM	107	134	g/l
	8–11 år	KM	118	148	
	12–18 år	K	112	158	
	12–18 år	M	126	170	

TABELL I. fortsättning

Analyt	Ålder	Kön	Nedre	Övre	Enhet
EVF	6 mån–7 år	KM	0,30	0,39	l/l
	8–11 år	KM	0,32	0,42	
	12–18 år	K	0,33	0,45	
	12–18 år	M	0,36	0,49	
Erythrocyter	6 mån–7 år	KM	4,0	5,6	10 ¹² /l
	8–18 år	K	4,1	5,4	
	8–18 år	M	4,3	5,8	
MCV	6 mån–7år	KM	72	85	fL
	8–11 år	KM	74	87	
	12–18 år	K	77	90	
	12–18 år	M	76	88	
MCH	6 mån–18 år	KM	25	31	pg
MCHC	6 mån–11 år	KM	330	380	g/l
	12–18 år	K	320	360	
	12–18 år	M	325	370	
Retikulocyter	8–18 år	K	36	100	10 ⁹ /l
	8–18 år	M	45	110	
Leukocyter	6 mån–8 år	KM	3,5	14,0	10 ⁹ /l
	9–18 år	KM	4,1	12,0	
Lymfocyter	6 mån–5 år	KM	1,8	7,8	10 ⁹ /l
	6–12 år	KM	1,3	4,1	
	13–18 år	KM	1,2	3,6	
Monocyter	6 mån–18 år	KM	0,21	0,77	10 ⁹ /l
Neutrofiler	6 mån–14 år	KM	1,6	6,7	10 ⁹ /l
	15–18 år	KM	2,0	9,6	
Eosinofiler	6 mån–13 år	KM	0,05	0,70	10 ⁹ /l
	14–18 år	KM	0,03	0,60	
Basofiler	6 mån–18 år	KM	0,01	0,10	10 ⁹ /l
Trombocyter	6 mån–10 år	KM	210	590	10 ⁹ /l
	11–18 år	KM	190	460	
Järn	6 mån–11 år	KM	5,0	28	μmol/l
	12–18 år	KM	5,0	34	
Transferrin	6 mån–11 år	KM	2,1	3,5	g/l
	12–18 år	K	2,4	4,3	
	12–18 år	M	2,4	3,8	
Transferrin mättnad	6 mån–11 år	KM	0,06	0,41	
	12–18 år	KM	0,06	0,48	
Rödö et al [15], Ridefelt et al [17]					
ALAT	6 mån–8 år	K	0,13	0,39	μkat/l
	6 mån–8 år	M	0,12	0,29	
	9–18 år	KM	0,17	0,51	
Albumin (BCP)	6 mån–11 år	KM	38	47	g/l
	12–18 år	KM	41	50	
Alkaliska fosfataser	6 mån–1 år	KM	1,7	7,6	μkat/l
	2–8 år	KM	1,8	4,6	
	9–14 år	KM	1,3	8,0	
	15–18 år	K	0,61	3,7	
	15–18 år	M	1,1	5,3	
Amylas, pankreas	6 mån–1 år	KM	0,02	0,39	μkat/l
	2–14 år	KM	0,10	0,60	
	15–18 år	KM	0,16	0,80	
ASAT	6–12 mån	KM	0,55	1,1	μkat/l
	1–4 år	KM	0,41	0,93	
	5–8 år	KM	0,40	0,80	
	9–18 år	KM	0,28	0,72	
Bilirubin	6 mån–7 år	KM	1,8	8,0	
	8–12 år	KM	2,0	14,0	
	13–18 år	KM	3,8	30,0	
Bilirubin, konjugerat	6 mån–7 år	KM		<3,7	μmol/l
	8–12 år	KM		<5,8	
	13–18 år	KM	2,0	12,2	

TABELL I. fortsättning

Analyt	Ålder	Kön	Nedre	Övre	Enhet
CRP	6 mån–18 år	KM		<3	mg/l
Kreatinkinas (CK)	6 mån–1 år	KM	0,6	6,3	μkat/l
	2–9 år	KM	0,6	3,8	
	10–13 år	KM	0,8	6,6	
	14–18 år	KM	0,7	9,0	
Gamma-GT	6 mån–7 år	KM	0,11	0,27	μkat/l
	8–12 år	KM	0,15	0,43	
	13–18 år	KM	0,15	0,60	
HbA _{1c} (Mono S)	6 mån–18 år	KM	3,7	4,7	procent
HbA _{1c} (IFCC)	6 mån–18 år	KM	28	39	mmol/mol
Laktat-					
dehydrogenas	6 mån–3 år	KM	2,2	4,9	μkat/l
	4–8 år	KM	2,0	4,1	
	9–18 år	KM	1,9	4,3	
Myoglobin	6 mån–18 år	KM	13	90	μg/l

allmänskemiska analyserna gjordes på serum, men de beräknade referensintervallen bör till stora delar även kunna tillämpas på plasma. För ett par av de nu aktuella analyserna (kalium och fosfat) noterades smärre skillnader mellan serum och plasma i NORIP [1]. Analys av ett 50-tal komponenter utfördes med Abbott Architect (allmän kemi), Siemens Bayer Advia (hematologi) samt Mono S och Tosoh system (HbA_{1c}). Barnen var inte fastande. NORIP:s serum X användes för spårbarhet till erkända referensmaterial och i vissa fall för korrigering av rådata. Resultaten finns publicerade i fyra delarbeten [12–15]. Överblivet provmaterial från projektet finns också tillgängligt för framtida egna eller externa studier.

Liknande upplägg i studierna från Falun och Köpenhamn

Faluprojektet och Köpenhamnsstudien har haft liknande upplägg med avseende på den statistiska bearbetningen med utgångspunkt i NORIP. Detta inkluderar uträkning av icke-parametriska 2,5- och 97,5-percentiler, Dixons test för detektion av extremvärden samt uppdelning i ålder och kön enligt Lahti-modellen [16].

Uppdelning med avseende på ålder utgör en särskild fråga vad gäller barnreferensintervall. Flera studier har använt fasta intervall för alla analyser, tex CALIPER:s förstudier på överblivet material. Både Faluprojektet, CALIPER och Köpenhamnsstudien har använt »kvalificerade gissningar» för att utifrån tidigare publicerade data och egna siffror börja bearbeta rådata vad gäller uppdelningar.

Puberteten är ett särskilt problem vad gäller barnreferensintervall. Pubertetsutvecklingen har bara bedömts enligt Tanner-skalan i ett fåtal barnreferensintervallstudier. Samtidigt är det inte rimligt att laboratorier avkräver beställaren sådan information vid analys av rutinprov. Dessutom är det svårt för laboratorier när man skickar provsvar att med dagens IT-system koppla ihop resultaten med referensintervall som tagit hänsyn till pubertetsutvecklingen. I Köpenhamnsstudien, som utgick från blodinsamling i samband med ett projekt om pubertet, noteras att vissa analyser förändras under puberteten, tex kreatinin, som ökar kontinuerligt med åldern.

Jämförelse av data från Falun, Köpenhamn och Kanada

Hur står sig data från Falun, Köpenhamn och Kanada vid en jämförelse? För vissa analyser ses tydliga skillnader; för andra är samstämmigheten god. Eftersom köns- och åldersuppdelningar varierar är det svårt att göra direkta jämförelser. Detta kan illustreras med fosfat, där alla källor uppvisar samma tendens till att mittpunkten på referensintervallen sjunker med åldern. Hos de yngsta barnen ses inga skillnader mel-

lan könen, men åldern för när könsdifferenser först observeras varierar sedan mellan 8 och 14 år. Uppdelningen i olika åldersgrupper varierar mellan två till fem i de olika studierna. För de äldre tonåringarna stämmer de flesta referensintervall väl med referensintervallen för 18-åringar i NORIP-projektet [12–15].

Tabell I sammanfattar de referensintervall som tagits fram genom Faluprojektet. Många av de allmänskemiska analysernas referensintervall bör kunna användas vid laboratorier med andra instrument, medan en del av de immunkemiska analysernas referensintervall, tex för tyreoidhormoner, i första hand är tillämpbara på samma analysplattform.

Referensintervall för de allra yngsta barnen saknas

Falustudien innehåller endast data på barn från 6 månaders ålder. De flesta analyser uppvisar stora förändringar hos friska barn under de första veckorna efter födelsen. För en del analyser, tex inom hematologi, tar det flera månader innan de analyserade parametrarna har stabiliserats. CALIPER-studien innehåller data på barn ända ner till 0 dagars ålder. Dessa data kan i viss mån användas för att extrapolera Falustudiens referensintervall då projektet saknar mätningar på barn i åldern 0–6 månader. Detta är dock en procedur med stor osäkerhet.

Ett alternativ är att laboratorier vid utskick av svar på prov från barn 0–6 månader lämnar en textkommentar om de värden som gäller för barn från 6 månaders ålder och uppåt i stället för ett riktigt referensintervall. Nackdelen med detta är att ett sådant förfarande i dagens laboratoriedatasystem och elektroniska patientjournaler inte kommer att generera några markeringar för avvikande värden, tex stjärnor eller avvikan- de färg på siffersvaret.

Kommentarer till specifika analyser

För blodfetter (kolesterol, HDL, LDL, triglycerider) anges i tabellen 2,5–97,5-percentiler. I bland används även 5–95-percentilpercentiler i referensintervall för vuxna. Dessa siffror finns angivna i Aldimer et al [13]. För cystatin C pågår ett standardiseringsarbete (inkluderande omräkningsformler till glomerulär filtrationshastighet, GFR), varför endast absolutvärden i mg/l angivits för den metod och kalibrering som använts i Falun och Uppsala under de senaste åren.

Dessutom är de formler som används för att beräkna GFR från cystatin C som regel enbart validerade på vuxna. Den använda metoden är inte optimerad för att mäta riktigt låga halter av CRP, varför den uppskattade gräns som anges mer är att betrakta som en medicinsk beslutsgräns än som ett sant referensintervall. Flera barn under 2 år hade klart förhöjda halter av alkaliskt fosfat. Detta har beskrivits förr och tros bero på uteslutningsdiagnosen benign transient hyperfosfatemi. Vid beräkning av referensintervallen har dessa barn exkluderats [17]. Kalcium redovisas i Tabell I endast som P-kalcium. I Ridefelt et al [12] visas data för albuminmodifierat kalcium enligt den formel som används i Falun.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

1. Rustad P, Felding P, Franzson L, et al. The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. Scand J Clin Lab Invest. 2004;64:271–84.
2. Simonsson P, Mårtensson A, Rustad P. Nya gemensamma nordiska referensintervall inom klinisk kemi. Bättre bas för klinisk bedömning och samarbete. Läkartidningen. 2004;101:901–5.
3. Soldin SJ, Wong EC, Brugnara C, et al. Pediatric reference intervals. 7th ed. Washington, DC: AACC Press; 2011.
4. Sköldenberg EG, Larsson A, Jakobson A, et al. The angiogenic growth factors HGF and VEGF in

KLINIK & VETENSKAP RAPPORT

- serum and plasma from neuroblastoma patients. *Anticancer Res.* 2009;29:3311-9.
5. CHILDX [citerat 3 apr 2013]. <http://www.childx.org/files/permission.2007.6mo-7.pdf>.
 6. Burritt MF, Slockbower JM, Forsman RW, et al. Pediatric reference intervals for 19 biologic variables in healthy children. *Mayo Clin Proc.* 1990;65:329-36.
 7. Chan MK, Seiden-Long I, Aytekin M, et al. Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Interval Database (CALIPER): pediatric reference intervals for an integrated clinical chemistry and immunoassay analyzer, Abbott ARCHITECT ci8200. *Clin Biochem.* 2009;42:885-91.
 8. Blasutig IM, Jung B, Kulasingam V, et al. Analytical evaluation of the VITROS 5600 Integrated System in a pediatric setting and determination of pediatric reference intervals. *Clin Biochem.* 2010;43:1039-44.
 9. Kulasingam V, Jung BP, Blasutig IM, et al. Pediatric reference intervals for 28 chemistries and immunoassays on the Roche cobas 6000 analyzer – a CALIPER pilot study. *Clin Biochem.* 2010;43:1045-50.
 10. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, et al. Closing the gaps in pediatric laboratory reference intervals: a CALIPER database of 40 biochemical markers in a healthy and multiethnic population of children. *Clin Chem.* 2012;58:854-68.
 11. Hilsted L, Rustad P, Aksglæde L, et al. Recommended Nordic pediatric reference intervals for 21 common biochemical properties. *Scand J Clin Lab Invest.* 2013;73:1-9.
 12. Ridefelt P, Aldrimer M, Rödöö PO, et al. Population-based pediatric reference intervals for general clinical chemistry analytes on the Abbott Architect ci8200 instrument. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50:845-51.
 13. Aldrimer M, Ridefelt P, Rödöö P, et al. Reference intervals on the Abbott Architect for serum thyroid hormones, lipids and prolactin in healthy children in a population-based study. *Scand J Clin Lab Invest.* 2012;72:326-32.
 14. Aldrimer M, Ridefelt P, Rödöö P, et al. Population-based pediatric reference intervals for hematology, iron and transferrin. *Scand J Clin Lab Invest.* 2013;73:253-61.
 15. Rödöö P, Ridefelt P, Aldrimer M, et al. Population-based pediatric reference intervals for HbA1c, bilirubin, albumin, CRP, myoglobin and serum enzymes. *Scand J Clin Lab Invest.* 2013;73:361-7.
 16. Lahti A, Hyltoft Petersen P, Boyd JC, et al. Objective criteria for partitioning Gaussian-distributed reference values into subgroups. *Clin Chem.* 2002;48:338-52.
 17. Ridefelt P, Aldrimer M, Hellberg D. Alkaline phosphatase in healthy children: prevalence of elevated levels and reference intervals [abstract]. 20th IFCC-EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Milano, Italien, maj 2013.

SUMMARY

Reliable data for pediatric clinical chemistry reference ranges have long been in short supply. In 2012 and 2013 three major projects from Sweden, Denmark and Canada have been published in which blood samples from healthy children have been collected prospectively in kindergartens and schools. In the population-based Swedish study blood samples were obtained from 701 healthy children. Age- and gender-specific pediatric reference intervals were defined for approximately 50 general clinical chemistry and hematology components. The data generated is primarily applicable to a Caucasian population, but could be used by any laboratory if verified for the local patient population.