

Niedojrzałe granulocyty – pierwsza informacja o zapaleniu



Zliczać więcej

Wyzwaniem dla nowoczesnych analizatorów hematologicznych jest możliwość wiarygodnej analizy krwinek białych, wykraczającej poza klasyczne pięcioczęściowe różnicowanie. Analizatory serii XN i XN-L oferują możliwość zliczania oraz raportowania liczby niedojrzałych granulocytów na wyniku jako parametr IG (ang. immature granulocytes).

Jakość i wiarygodność zliczania IG została potwierdzona w różnych publikacjach (patrz „Źródła”) i uznana przez FDA (Food and Drug Administration) w 2003 roku. Tysiące laboratoriów na całym świecie zaufało automatycznemu zliczaniu niedojrzałych granulocytów. Umożliwiło to znaczną redukcję ilości wykonywanych analiz mikroskopowych.

Podstawą przydatności klinicznej IG są wiedza i dowody naukowe dotyczące rodzajów komórek uwzględnionych w zliczaniu. Mianem populacji niedojrzałych granulocytów określane są metamielocyty, mielocyty i promielocyty. Pałeczki, mieloblasty oraz promielocyty typu I (te, które nie są w stanie formowania ziarnistości) są wyłączone z tej liczby. Różne publikacje potwierdzają te wyniki.

Zliczanie IG

Ciągły postęp rozwoju analizatorów Sysmex w różnicowaniu komórek krwi pozwala użytkownikowi

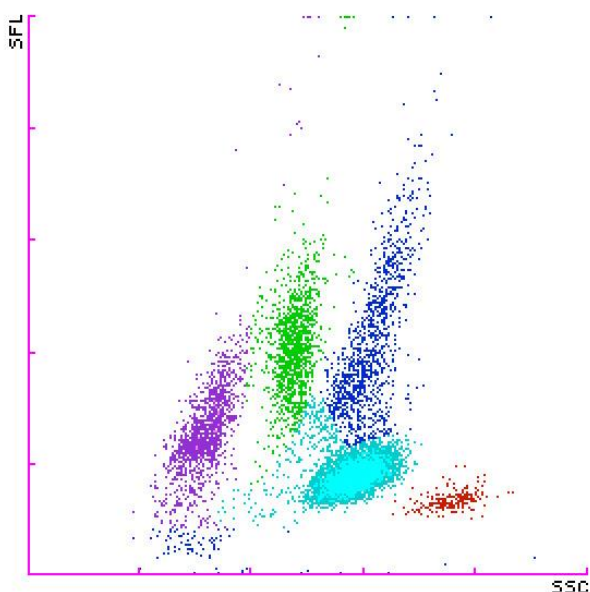
na zastąpienie flagowania nieprawidłowych populacji komórek rzeczywistą liczbą tych komórek (zarówno bezwzględną jak i względną liczbą IG). Pomiar wykorzystuje technologię fluorescencyjnej cytometrii przepływowej połączonej z unikalnym adaptacyjnym algorytmem bramkowania. W ten sposób zliczanie IG zapewnia niezawodne, rozszerzone różnicowanie.

Wysoka powtarzalność zliczania IG wpływa na statystycznie wysoką wiarygodność, w porównaniu do tradycyjnego sposobu różnicowania 100 komórek metodą mikroskopową. Przy niskich ilościach IG (około $0,5 \times 10^3/\mu\text{l}$) analizator uzyskuje wartość IG z współczynnikiem zmienności (CV) wynoszącym tylko 7%, podczas gdy rutynowa metoda manualna oferuje teoretyczną wartość CV około 50%.

Publikacje dr Rümke wykazują niedokładność ręcznego zliczania 100 leukocytów, spowodowaną ograniczeniami wynikającymi ze statystyki – z uwagi na niewielką ilość zliczonych komórek w porównaniu do liczby WBC zliczonej w analizatorach. Tabele Rümke pokazują, że jeśli próbka zawiera 2% IG to przy zliczeniu 100 komórek wartość IG może być podawana w zakresie od 0 - 5%.

Jeśli podstawowy analizator hematologiczny oflaguje dany wynik z powodu obecności IG, zazwyczaj skłania to do wykonania różnicowania mikroskopowego. Automatyczne zliczanie IG pozwala na zmniejszenie ilości próbek ocenianych manualnie. U pacjentów z historią medyczną, np. w przypadku terapii monitorowanej, wystarczające jest zapewnienie automatycznego zliczania, co ogranicza wykonywanie rozmazów i skraca czas pracy.

W przypadku pacjentów pierwszorazowych czas ten może być przeznaczony na ocenę morfologii IG, a nie na ich zliczanie. Dzięki temu wynik IG dostarczony przez laboratorium jest bardziej wiarygodny i szybciej dostępny.



Ryc. 1 Skatergram WDF z wysoką liczbą IG (chmura w kolorze granatowym)

Sposób raportowania wyniku

Analizatory Sysmex umożliwiają wydawanie wyniku różnicowania leukocytów w postaci rozdziału 5-Diff lub 6-Diff. Różnica polega na sposobie raportowania parametru IG. W raportowaniu 5-Diff liczba IG jest włączona do liczby neutrofilii, zatem na wyniku widzimy rozdział na 5 podstawowych populacji (neutrofile - uwzględniające segmenty, pałki i niedojrzałe granulocyty, limfocyty, monocyty, eozynofile, bazofile), natomiast w razie potrzeby liczba IG może zostać raportowana osobno. Z kolei rozdział 6-Diff składa się z 5 podstawowych populacji oraz wyniku IG, przy czym liczba neutrofilii nie uwzględnia liczby IG (jest skorygowana o wartość IG). Aby rozpoznać rodzaj rozdziału należy zsumować poszczególne wartości względne. Jeżeli suma 6 populacji wynosi 100% mamy do czynienia

DIFF		
Item	Data	Unit
NEUT#	2.24	10 ³ /uL
LYMPH#	2.06	10 ³ /uL
MONO#	0.47	10 ³ /uL
EO#	0.07	10 ³ /uL
BASO#	0.03	10 ³ /uL
NEUT%	45.9	%
LYMPH%	42.1	%
MONO%	9.6	%
EO%	1.4	%
BASO%	0.6	%
IG#	0.02	10 ³ /uL
IG%	0.4	%

Ryc. 2 Przykładowy wynik rozdziału 6-Diff

z rozdziałem 6-Diff. Natomiast jeśli suma przekracza 100% wtedy sposób raportowania wyniku to 5-Diff. Sam sposób raportowania wyniku na analizatorach hematologicznych Sysmex może być dostosowany wedle preferencji użytkownika.

Informacje istotne klinicznie w stanach zapalnych

Obecność niedojrzałych granulocytów we krwi obwodowej może wskazywać odpowiedź organizmu na zakażenie, zapalenia lub inny czynnik stymulujący szpik kostny we wczesnym etapie u pacjentów w stanach ciężkich np. po rozległych urazach lub w podejrzeniu sepsy. Dlatego szybkie i wiarygodne określenie IG oferuje nowe możliwości diagnostyczne w przypadku niektórych schorzeń. Jest również pomocne w ocenie pacjentów monitorowanych.

Obecnie obszary badań dotyczące diagnostycznego znaczenia krążących IG skupiają się na szybkim odróżnieniu infekcji bakteryjnej od wirusowej, w szczególności u dzieci. Innym ważnym polem jest wczesne rozpoznanie infekcji bakteryjnej u noworodków i dorosłych z podwyższonym ryzykiem sepsy na oddziałach intensywnej terapii. Pierwsze wyniki badań sugerują, że zmniejszająca się liczba IG lub ich brak u pacjentów na oddziałach intensywnej terapii, może być markerem prognostycznym dla tych pacjentów.

Ważne informacje dla natychmiastowego działania

Wysoka precyzja zliczania IG pozwala na ponowne wyznaczenie zakresów referencyjnych i w ten sposób dostarcza odpowiednie narzędzie do postawienia diagnozy lub ukierunkowania kolejnych badań. Do tej pory zakres referencyjny IG wynosił 0 – 1 %, jednakże

badania przeprowadzone na analizatorach Sysmex wykorzystujących fluorescencyjną cytometrię przepływową wykazały, że u zdrowej populacji osób dorosłych maksymalna ilość IG wynosi 0,5% lub ich wartość maksymalna mieści się w zakresie $0,03 - 0,05 \times 10^3/l$. Zastosowanie tak ulepszonych narzędzi zmienia rutynowe procesy w badaniach hematologicznych. Dla każdego badania ze zleceniem rozdziału, wartość IG jest wyświetlana automatycznie.

Parametry IG# oraz IG% są uwzględnione w kompleksowym systemie kontroli jakości opartym na materiale kontrolnym Sysmex. Zakres kontroli jakości jest rozszerzony również o kontrolę XbarM, opartą o prawidłowe wyniki pacjentów.

Źródła:

[1] Bruegel M et al.: Reference values for immature granulocytes in healthy blood donors generated on the Sysmex XE-2100 automated hematology analyser. Sysmex J Int 14: 5–7, 2004.

[2] Frings DP et al.: Immature granulocytes, immature myeloid cells and outcome in adult severe sepsis and septic shock. Poster at 16th Annual Congress of the ESICM October: 5–8, 2003.

[3] Briggs C, Kunka S, Fujimoto H, Hamaguchi Y, Davis BH, Machin SJ: Evaluation of Immature Granulocyte Counts by the XE-IG Master: Upgraded Software for the XE-2100 Automated Hematology Analyzer. Lab Hem 9: 117–124, 2003.

[4] Weiland Th, Kalkman H, Heihn H: Evaluation of the Automated Immature Granulocyte Count (IG) on Sysmex XE-2100 Automated Haematology Analyser vs. Visual Microscopy (NCCLS H20-A). Sysmex J Int 12: 63–70, 2002.

[5] Fujimoto H et al.: Flow Cytometric Method for Enumeration and Classification of Reactive Immature Granulocyte Populations. Cytometry 42: 371–378, 2000.

[6] Rümke C: Statistical Reflections on Finding Atypical Cells. Blood Cells 11: 141–144, 1985.

[7] Ross D: Automated cytochemistry and the blood cell differential in leukaemia. Blood Cells 6: 455–470, 1980.

[8] Rümke C: The statistically expected variability in Differential Leukocyte Counting. 'Differential Leukocyte Counting', edited by Koepke JA, College of American Pathologists: 39–45, 1977.

[9] Sandhaus L: Performance of an Automated Immature Granulocyte Count as a Predictor of Neonatal Sepsis. Am J for Clin Path. 123: 618–624, 2005.

[10] Nierhaus A, Kreyman KG (Eds.): Sepsis, SIRS, Immune Response – Concepts. Diagnostics and Therapy (Update 2005): page 69 –72, Pabst Science Publishers.