

## Cell Dyn 4000 Hematoloji Analizörü Formül Lökosit Parametrelerinin Mikroskopik Değerlendirme ile Karşılaştırılması

Comparison of Differential Leukocyte Counts in Cell Dyn 4000 Analyser and Microscopic Examination

Zühre Kaya

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

### ÖZET

**Amaç:** Tam kan sayım ve formül lökosit sonuçlarının hızlı ölçümü, hekimler ve hastalar için çok önemli kolaylık sağlamaktadır. Çoğu hematoloji analizörlerinin hücre sayımı ve formül lökosit değerlerinin güvenilirliği konusunda kuşular nedeni ile manuel formül lökosit istemleri sıklıkla yapılmaktadır. Bu araştırmanın amacı CELL DYN 4000 analizörü lökosit alt parametrelerini, güvenilir bir yöntem olan mikroskopik değerlendirme ile karşılaştırmaktır.

**Yöntem:** Ardışık 450 çocuğa ait 614 kan örneğinde Cell Dyn 4000 analizörü sonuçları ile mikroskopik değerlendirme sonucu elde edilen lökosit alt parametrelerini karşılaştırdık.

**Bulgular:** Nötrofil, lenfosit ve monositlerin cihaz ve mikroskopik değerlendirme ile elde edilen sonuçları birbiri ile karşılaştırıldığında ortalama değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamasına karşılık sonuçlar arasında güçlü düzeyde anlamlı ilişki bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Blast, immatur granülosit (IG) ve varyant lenfositlerin (VL) hastalıklara özgü değerlendirmesinde düşük sensitivite, yüksek spesifisite saptanırken bu parametrelerin cihazla tespit edilmeleri mikroskopik yöntemle göre orta düzeyde sensitiv ve yüksek düzeyde spesifik bulunmuştur.

**Sonuç:** Otomatik sistemde IG, blast ve VL gibi parametrelerde anormal sinyal yoksa nötrofil, lenfosit ve monosit gibi parametreler mikroskopik değerlerle yüksek korelasyon gösterdiğinden hekimler mikroskopik incelemeye hastaların klinik bulgularına göre karar vermelidir.

**Anahtar Sözcükler:** Otomatik kan sayım parametreleri, mikroskopik değerlendirme

Geliş Tarihi: 24.09.2014

Kabul Tarihi: 17.10.2014

### ABSTRACT

**Objective:** Recently, the rapid availability of the results of complete blood count (CBC) could provide considerable advantage for both patients and clinicians. Many automated hematology counting has replaced manual microscopic counting, but not achieved widespread acceptance in routine practice. The aim of this study was to compare with differential leukocyte counts in microscopic examination and CELL DYN 4000 analyzer.

**Methods:** The differential leukocyte counts of CBC by Cell Dyn 4000 autoanalyzer and microscopic examination were evaluated in 450 consecutive children with 614 samples.

**Results:** The mean neutrophil, lymphocyte and monocyte values were not significantly different between microscopic examination and automated hematology analyzer, but all of each values showed very good correlations ( $p<0.05$ ). Flagging for blast, immature granulocyte (IG) and variant lymphocyte (VL) showed low sensitivity and high specificity for disease diagnosis, but the moderate sensitivity and high specificity for automated hematology analyzer was higher than that of the microscopic examination.

**Conclusion:** It can be concluded that microscopic examination should be preserved in such cases with clinical signs and symptoms even if abnormal flags for IG, blast and VL parameters may not have been apparent from the autoanalyzer.

**Key Words:** Automated hematology analyzer, microscopic examination

Received: 09.24.2014

Accepted: 10.17.2014

**GİRİŞ**

Son yıllarda otomatik kan sayım cihazlarındaki teknolojik gelişmeler, tam kan sayımında elde edilen parametrelerin sayısını artırmış ve hematolojik sistemdeki değişikliklerin daha duyarlı olarak belirlenebilme olanağını sağlamıştır. Bu durum hekimlerin gereksiz periferik yayma istemini ortadan kaldırarak hem ekonomik fayda sağlayacak, hem de hasta ve ailelerinin tetkikler için hastanede geçirdikleri süreyi kısaltarak iş gücü kaybını önleyecektir. Bu konuda en büyük çalışma, 6 ülkeden toplam 17 laboratuvarından toplanan tam kan sayım değerleri ve preparatlardaki pozitif bulguların kurallar olarak belirlendiği uluslararası klinik ve laboratuvarları standartları kılavuzunda yayınlanmıştır (1). Ancak hasta ve sağlam çocuklardan elde edilen bu yeni parametrelerin sonuçlarının mikroskopik değerlendirme ile korelasyonuna ilişkin veriler sınırlıdır (2-5).

Biz bu çalışmada çocuklarda otomatik kan sayım sonuçları ile mikroskopik değerlendirme sonucu elde edilen lökosit parametreleri arasındaki ilişki ve farklılıkları değerlendirdik.

**YÖNTEM**

Bu çalışmaya 2006-2009 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Merkez Hematoloji laboratuvarında tam kan sayımı ve periferik yayma istemi yapılmış olan 0-20 yaş arasında toplam 450 çocuğun farklı zamanlarda çalışılmış 614 örneği çalışmaya dahil edildi. Çalışma öncesinde etik kurul izni (012006-40) alındı.

Hastaların EDTA'lı tüpe alınan kan örnekleri, hematoloji laboratuvarına ulaştıktan sonraki en geç 6 saat içinde çalışıldı. Periferik kan yaymaları ise en geç 2 saat içinde hazırlandıktan sonra Giemsa-Wright boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda tek bir lam örneğinde en az 100 lökosit seri hücreleri sayılıp değerlendirildi. Tüm çocuklarda mikroskopik sonuçlarla karşılaştırılma yapıldığından Cell Dyn 4000 cihazı (Abbott Diagnostics, Santa Clara, CA, USA) ile çalışılmış kan sayım parametrelerinden sadece lökosit seri hücreleri değerlendirmeye alındı. Bu seri hücrelerinden nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil, bazofil yüzde ve sayısal değerleri diğer kan sayım cihazlarında da çalışılan rutin parametreler olup hastanemizde kullanılan Cell Dyn 4000 cihazındaki blast sayısı, varyant lenfosit (VL), immatur granülosit (IG) (promyelosit, myelosit, metamyelosit) gibi yeni parametreler de bu çalışmada kullanıldı. Çalışma sonunda hastaların tanı kodları ICD numaralarına göre sepsis, enfeksiyon, inflamatuvar hastalıklar, malignansiler, yeni doğan ve sağlam çocuklar olarak kaydedildi. Tüm veriler elde edildikten sonra otomatik kan sayım sonuçları ile mikroskopik değerlendirme sonucu elde edilen lökosit parametreleri arasındaki ilişki ve farklılıklar araştırıldı.

**İstatistiksel analiz**

Çalışmada elde edilen veriler Windows SPSS 15.0 bilgisayar programında değerlendirildi. Ölçümlerde elde edilen değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadıkları Kolmogrov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Kategorik veriler Ki Kare testi ile analiz edildi. Değerlendirme sonucunda gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann Wittney-u testi ile yapıldı. Gruplar arası ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman korelasyonu kullanıldı. Anlamlılık düzeyi olarak 0.05 değeri alındı.

**BULGULAR**

Çalışmaya alınan 450 çocuğun %58'i erkek, %42'si kız idi. Mikroskopik değerlendirme ve Cell DYN 4000 cihaz ölçümleri ile elde edilen nötrofil, lenfosit, monosit, immatur granülosit ve blast ortalama değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p>0.05). Ancak eozinofil, bazofil ve varyant lenfositler arasında yapılan karşılaştırmada Cell DYN 4000 cihaz ölçümlerine göre mikroskopik değerlendirmede ortalama değerler istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (Tablo 1).

**Tablo 1.** Mikroskopik değerlendirme ve otomatik kan sayım ölçümleri sonucu elde edilen lökosit parametre değerlerinin karşılaştırılması

Parametreler	Mikroskopik değerlendirme (n:614)	Otomatik kan sayımı değerlendirme (n:614)	p
Nötrofil (%)	46.8±18.2	46.7±18.2	0.88
Lenfosit (%)	40.5±17.7	40.5±17.7	0.97
Monosit (%)	8.9±4.8	8.8±4.6	0.63
Eozinofil (%)	2.8±1.9	2.2±1.8	0.0001
Bazofil (%)	1.8±1.3	0.5±0.2	0.0001
Varyant lenfosit (%)	4.6±2.4	3.1±2.2	0.03
İmmature granülosit(%)	5.3±2.6	4.4±3.2	0.28
Blast (%)	3.1±2.5	3.6±10.2	0.85

Mikroskopik değerlendirme ile Cell DYN 4000 cihaz ölçümleri sonucu elde edilen lökosit parametrelerinin arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde nötrofil (r:0.99), lenfosit (r:0.98), monosit (r:0.80), eozinofil (r:0.88), bazofil (r:0.51) ve VL (r:0.89) değerleri arasında istatistiksel anlamlı güçlü ilişki bulundu (p<0.05). Ancak IG ve blast yüzdeleri değerlendirildiğinde iki ölçüm arasında anlamlı ilişki saptanmadı (p>0.05) (Tablo 2).

**Tablo 2.** Mikroskopik değerlendirme ve otomatik kan sayım ölçümleri sonucu elde edilen lökosit parametreleri arasındaki ilişki

Parametreler	r	p
Nötrofil (%)	0.99	0.0001
Lenfosit (%)	0.98	0.0001
Monosit (%)	0.80	0.0001
Eozinofil (%)	0.88	0.0001
Bazofil (%)	0.51	0.001
Varyant lenfosit (%)	0.89	0.0001
İmmature granülosit(%)	0.65	0.22
Blast (%)	0.21	0.56

Mikroskopik değerlendirmeyle blast %1.6, IG %1.1 ve VL %33.1 olarak tespit edilmiştir. Preparatların %26.8 de VL oranı <%5 in altında bulunmuştur. Cell DYN 4000 cihazı ile değerleri ≥ %1 in üzerinde bulunan blast % 6.7, IG %7.7 ve VL %9.6 olarak saptanmıştır.

Mikroskopik değerlendirme ve Cell DYN 4000 cihaz ölçümlerine göre lökosit alt parametrelerinin tanısal değerleri incelendiğinde cihazla ölçümün mikroskopik değerlendirmeye göre IG, blast ve VL'i saptamada değişken sensitiviteye (%30-100) ve >%90 spesifisiteye sahip olduğu bulunmuştur (Tablo 3).

**Tablo 3.** Mikroskopik değerlendirme ve otomatik kan sayım ölçümlerine göre lökosit alt parametrelerinin tanısal değerleri

	Sensitivite (95% CI)	Spesifisite (95% CI)	Pozitif prediktif değer (95% CI)	Negatif prediktif değer (95% CI)
Varyant lenfosit(%)	%37.6 (31.3-44.2)	%95.3 (92.6-97.2)	%82.8 (74.2-89.5)	%71.7 (67.5-75.5)
İmmature granülosit (%)	%71.4 (29.2-95.4)	%92.6 (90.2-94.5)	%10.0 (3.3-21.8)	%99.6 (98.7-99.9)
Blast (%)	%100.0 (68.9-100.0)	%93.1 (90.7-94.9)	%19.2 (9.6-32.5)	%100.0 (99.3-100.0)

Mikroskopik değerlendirme veya Cell DYN 4000 cihazlarından elde edilen lökosit alt parametrelerinin ICD tanı kodlarına göre tanısal değerleri incelendiğinde ise IG, blast ve VL'e özgü hastalıkları saptamada düşük sensitiviteye ancak yüksek spesifisiteye sahip oldukları bulunmuştur (Tablo 4,5).

**TARTIŞMA**

Bu çalışmada Cell Dyn 4000 otomatik kan sayım cihazında analiz edilen lökosit parametreleri ile mikroskopik değerler arasındaki uyum incelendi. Otomatik kan sayım cihazlarında rutin olarak nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil ve bazofil yüzde ve sayısal parametreleri değerlendirilmektedir (6-8). Kan sayım cihazlarının teknolojisindeki son gelişmelerle bazı hastalıkların tanısına yardımcı olabilecek blast, IG, VL'ler gibi yeni parametreler eklenmiştir. Ancak bu parametrelerin mikroskopik değerlerle karşılaştırıldığı ve korele edildiği çalışmalar sınırlıdır (2-5).

Günümüzde farklı model ve markada pek çok gelişmiş otomatik kan sayım cihazları bulunmaktadır. Bu cihazların karşılaştırıldığı ve referans olarak da bazılarında mikroskopik değerlerin alındığı farklı çalışmalarda nötrofil, lenfosit ve monosit ortalama değerleri arasında anlamlı fark bulunmazken aralarındaki ilişki güçlü olarak bulunmuştur. Buna karşılık eozinofil ve bazofil gibi parametreler sayısal olarak az oranda bulduklarından cihazlar arası karşılaştırmada ortalama değerleri arasında anlamlı fark bildirilmiştir (2-8). Bizim çalışmamızda da otomatik kan sayım cihazlarında analiz edilen nötrofil, lenfosit ve monosit yüzdeleri ile mikroskopik değerler arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken aralarındaki ilişki istatistiksel olarak güçlü bulunmuştur. Ancak cihaz ile mikroskopik değerlerle elde edilen eozinofil ve bazofil ortalama değerleri arasında anlamlı fark bulunurken aralarındaki ilişki de güçlü olarak bulunmuştur.

Bazı hematolojik hastalıklara özgü parametrelerin kullanıldığı sınırlı sayıdaki araştırmalarda blast, VL ve IG parametrelerinin değişken sensitivite ve spesifisiteye sahip olduğu bildirilmiştir (8-12). Örneğin IG'in değerlendirildiği bir araştırmada Sysmex 2100 cihazı ile mikroskobik örneklerde IG in tespit edildiği 203 hastanın 263 örneğinde cihazla elde edilen IG değerleri ile mikroskobik IG değerleri arasında anlamlı yüksek ilişki bulunmuştur. Bu araştırmada mikroskopla değerlendirmede en az 200 hücre sayılması ve 3 lam hazırlanıp en az 2 uzman morfolojistin değerlendirme yapması sonucu bu yüksek ilişkinin bulunduğu bildirilmiştir. Çünkü, IG oranı %5 den az ise gelişmiş cihazların bu düşük oranları yakalayabildiği ancak mikroskobik değerlendirme ile gözden kaçabileceği belirtilmektedir. Sonuçta, bu araştırmada cihaz IG sayımlarının mikroskobik sayıma göre daha güvenilir olduğu bildirilmektedir (9).

**Tablo 4.** Mikroskobik değerlendirme ve ICD tanı kodlarına göre lökosit alt parametrelerinin tanısal değerleri

	Sensitivite (95% CI)	Spesifisite (95% CI)	Pozitif prediktif değer (95% CI)	Negatif prediktif değer (95% CI)
Varyant lenfosit(%)	%38.8 (32.1-46.6)	%62.9 (58.1-67.6)	%33.3 (27.2-39.8)	%68.4 (63.4-73.1)
İmmature granülosit (%)	%7.9 (1.7-21.4)	%98.1 (95.2-99.4)	%42.8 (10.4-81.2)	%85.6 (80.5-89.7)
Blast (%)	%18.2 (8.2-32.7)	%99.1 (96.5-99.8)	%80.0 (44.4-96.8)	%85.1 (79.8-89.2)

Bizim araştırmamızda ise tek bir uzman hematolog tarafından mikroskopta en az 100 hücre sayılması ve  $\geq 1$  IG sayıma dahil edilmesi nedeniyle cihaz sayımı ile mikroskobik sayım karşılaştırılmasında ortalama değerler arasında farklılık bulunmadığı gibi aralarında istatistiksel ilişki de anlamlı bulunmamıştır. Buna karşılık bizim araştırmamızda cihazlarda saptanan IG değerlerinin mikroskobik yöntemle göre yüksek duyarlılık ve özgüllükte bulunması cihazla IG sayımının daha güvenilir olduğuna işaret etmektedir. İmmatur granulositlerin enfeksiyonlu ve sepsisli hastalarda tanısal değerinin araştırıldığı bir başka araştırmada ise IG'in enfeksiyonlu hastalarda nonenfeksiyonlu olanlara göre yüksek oranda bulunmasına karşılık enfeksiyon ve bakteriyemiye tespit etmede tarama testi olarak kullanılabilir sensitivite de bulunmamıştır. Çünkü, IG sadece enfeksiyöz durumlarda değil nonenfeksiyöz (hemoliz, kanama, konvülsiyon, metabolik bozukluklar, ilaç kullanımı gibi) pek çok durumda da tespit edilmektedir. Buna karşılık cihazda IG>%3 ise sepsisli hastalarda mikrobiyolojik testlere yardımcı olarak kullanılabilir spesifisiteye sahip olduğu bildirilmiştir (10).

**Tablo 5.** Otomatik kan sayım ölçümleri ve ICD tanı kodlarına göre lökosit alt parametrelerinin tanısal değerleri

	Sensitivite (95% CI)	Spesifisite (95% CI)	Pozitif prediktif değer (95% CI)	Negatif prediktif değer (95% CI)
Varyant lenfosit(%)	%12.1 (7.9-17.5)	%91.5 (88.4-94.1)	%40.8 (28.1-54.2)	%68.6 (64.6-72.5)
İmmature granülosit (%)	%6.4 (3.6-10.3)	%91.5 (88.2-94.1)	%31.9 (19.1-47.1)	%61.2 (56.8-65.1)
Blast (%)	%10.8 (7.1-15.8)	%95.5 (93.1-97.3)	%56.1 (39.7-71.5)	%67.1 (63.1-70.8)

Bu araştırmalara paralel olarak bizim araştırmamızda da cihaz ve mikroskobik değerlendirme ile enfeksiyonlu hastalarda IG tespiti düşük sensitivite ve yüksek spesifisite de bulunmuştur. Bir diğer parametre olarak blast sayısının tespitinde DxH-800, XN-2000 cihazı ile birlikte Cell Dyn Sapphire'de kullanıldığı bir araştırmada mikroskobik incelemeye göre özellikle XN-2000 cihazının yüksek sensitivite ve spesifisite de blastı tespit ettiği bulunmuştur. Bu durum mikroskobik inceleme gereksinimini %20' den %9'lara düşürmüştür (11). Bizim araştırmamızda da tek başına malignansiyi tespit etmede cihazın düşük sensitiviteye sahip olmasına karşılık cihazla ölçümün mikroskobik değerlendirmeye göre blastı saptamada yüksek sensitivite ve spesifisite de olduğu görülmüştür.

Abbott Sapphire, Siemens Advia 120, Sysmex XE-2100 ve Beckman Coulter DxH 800 cihazlarının karşılaştırıldığı bir diğer araştırmada ise blastı saptamada en yüksek sensitiviteye Sysmex XE-2100 cihazının sahip olmasına karşılık tüm cihazların blast sinyalinin tespit etmede orta derecede sensitivite ve spesifisiteye sahip olması nedeniyle lösemik örnekleri bulmada tek başına blast sinyalinin güvenilir olmadığı bildirilmiştir (2).

Son olarak, VL'in değerlendirildiği enfeksiyöz mononükleozisli hasta örneklerinde 2 farklı cihaz (Coulter STKS ve Sysmex NE-8000) ve mikroskobik örneklerden elde edilen VL'in saptanmasına yönelik sensitivite değerleri değişken ancak spesifisiteleri daha yüksek olarak bulunmuştur (12). Diğer bir çalışmamızda viral enfeksiyonlara işaret eden VL'lerin cihazla sayımda %5 in üzerinde bulunmasının viral enfeksiyonları saptamada yüksek sensitivite ve spesifisiteye sahip olduğunu saptamıştık (13). Bu çalışmamızda ise mikroskobik inceleme ile bulunan VL oranı cihazla bulunana göre yüksek oranda bulunmuş olsa da mikroskopta %5 in üzerindeki VL oranı hesaplandığında cihaz ile sayıma yakın oranda bulunmuştur. Bu nedenle VL'in cihazla ve mikroskobik değerlendirme ile saptanma sensitivitesi düşük bulunurken spesifisitesi yüksektir.

## SONUÇ

Kan sayım cihazlarında IG, blast ve VL gibi parametrelerde anormal sinyal yoksa nötrofil, lenfosit ve monosit gibi parametreler mikroskobik değerlerle yüksek korelasyon gösterdiğinden hekimler mikroskobik incelemeye hastaların klinik bulgularına göre karar vermelidir.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, Simson E. The International consensus group for hematology review: Suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab Hematol.* 2005;11:83-90.
2. Meintker L, Ringwald J, Rauh M, Krause SW. Comparison of automated differential blood cell counts from Abbott Sapphire, Siemens Advia 120, Beckman Coulter DxH800, and Sysmex XE-2100 in normal and pathologic samples. *Am J Clin Pathol.* 2013;139:641-50.
3. Tan BT, Nava AJ, George TI. Evaluation of the Beckman Coulter UniCel DxH 800 and Abbott Diagnostics Cell-Dyn Sapphire hematology analyzers on pediatric and neonatal specimens in a tertiary care hospital. *Am J Clin Pathol.* 2011;135:929-38.
4. Kang SH, Kim HK, Ham CK, Lee DS, Cho HI. Comparison of four hematology analyzers, Cell-Dyn Sapphire, ADVIVA 120, Coulter LH 750, and Sysmex XE-2100 in terms of clinical usefulness. *Int J Lab Hematol.* 2008;30:480-6.
5. Jean A, Boutet C, Lenormand B, Callat MP, Buchonnet G, Barbay V, et al. The new haematology analyzer DxH 800: an evaluation of the analytical performances and leukocyte flags, comparison with the LH 755. *Int J Lab Hematol.* 2011;33:138-45.
6. Lehto T, Hedberg P. Performance evaluation of Abbott CELL DYN Ruby for routine use. *Int J Lab Hematol.* 2008;30:400-7.
7. Kaya Z. Tam kan sayım çıktılarının yorumlanması. *Dicle Tıp Dergisi.* 2013;40:521-8.
8. Grimaldi E, Scopacasa F. Evaluation of the Abbott CELL DYN 4000 Hematology Analyzer. *Am J Clin Pathol.* 2000;113:497-505.
9. Fernandes B, Hamaguchi Y. Automated enumeration of immature granulocytes. *Am J Clin Pathol.* 2007;128:454-63.
10. Ansari-Lari MA, Kickler TS, Borowitz MJ. Immature granulocyte measurement using the Sysmex XE-2100. *Am J Clin Pathol.* 2003;120:795-9.
11. Hotton J, Broothaers J, Swaelens C, Cantinieaux B. A. Performance and abnormal cell flagging comparisons of three automated blood cell counters: Cell Dyn Sapphire, DxH-800, and XN-2000. *Am J Clin Pathol.* 2013;140:845-52.
12. Brigden ML, Au S, Thompson S, Brigden S, Doyle P, Tsaparas Y. Infectious Mononucleosis in an outpatient population. Diagnostic utility of 2 automated hematology analyzers and the sensitivity and specificity of Hoagland's criteria in heterophile positive patients. *Arch Pathol Lab Med.* 1999;123:875-81.
13. Kaya Z, Küçükcongür A, Vuralı D, Emeksiz HC, Gürsel T. Leukocyte populations and C-reactive protein as predictors of bacterial infections in febrile outpatient children. *Turk J Haematol* 2014;31:49-55.