



Точная оценка левого сдвига

01

Палочкоядерные нейтрофилы
и «точность» их подсчёта



- Ежедневно большое количество лабораторий тратит очень много времени на пересмотр мазков в том числе для оценки левого сдвига и выдачи лейкоформулы глазами. Во многих клиниках по прежнему востребован такой показатель как палочкоядерные нейтрофилы.
- В то же время современные анализаторы имеют множество возможностей для точной оценки и измерения левого сдвига. Эти возможности не изучены или порой не воспринимаются всерьёз. Считается что глаза – это лучше, хотя сегодня мы ещё раз убедимся в обратном.
- На основе выдаваемых показателей клиницисты принимают свои решения. Знание и умение использовать новые технологии – это уверенность лаборатории. Уверенность – ключ к успеху и новому уровню качества получаемых результатов и диагностике.

Letter to the Editor

Vanja Radišić Biljak* and Ana-Maria Simundic

Counting and reporting band count is unreliable practice due to the high inter-observer variability

Неточность даже выше чем мы подозреваем...

Differential leukocyte counts	1		2		3		4		5		6	
	Mean		Mean		Mean		Mean		Mean		Mean	
	(range)	CV	(range)	CV	(range)	CV	(range)	CV	(range)	CV	(range)	CV
Segmented neutrophils	57 (39–66)	16.7	83 (60–92)	10.0	78 (49–88)	14.2	80 (69–89)	6.7	84 (64–93)	8.9	80 (78–87)	3.4
Band neutrophils	11 (5–23)	56.6	10 (2–35)	88.1	15 (7–41)	68.5	5 (1–14)	73.7	6 (0–19)	93.5	3 (1–8)	70.1

Здесь математика работает против нас



- Как правило при подсчёте клеток глазами учитывается не более 100 лейкоцитов.
- Концентрация палочкоядерных нейтрофилов в норме приблизительно 1 – 6%, поэтому в итоге мы учитываем только 1 – 6 событий
- Подсчёт опирается только и только на восприятие человеческим глазом и очень субъективен, в результате кто-то может увидеть 2 клетки, а кто-то 8.

ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features

L. PALMER*, C. BRIGGS[†], S. MCFADDEN[‡], G. ZINI[§], J. BURTHEM[¶], G. ROZENBERG^{**},
M. PROYTCHIEVA^{††}, S. J. MACHIN[†]

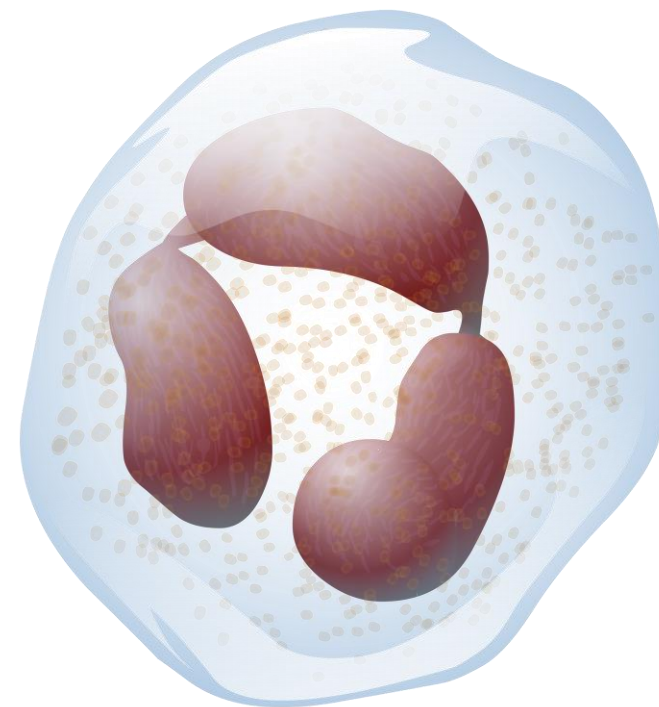


Band neutrophil

Band neutrophils are 10–14 μm in diameter and have a nucleus that is nonsegmented or has rudimentary lobes that are connected by a thick band rather than a thread. Cytoplasm is abundant, pink and contains many small violet-pink neutrophilic or secondary granules distributed evenly throughout the cell.

Many laboratories do not report band neutrophils on adult patients or children due to interobserver variation in band neutrophil classification; this is a well recognized and acceptable practice.

It is recommended that band neutrophils be counted as segmented neutrophils in the differential. Appropriate comments may be made if increased numbers are seen in the blood film.

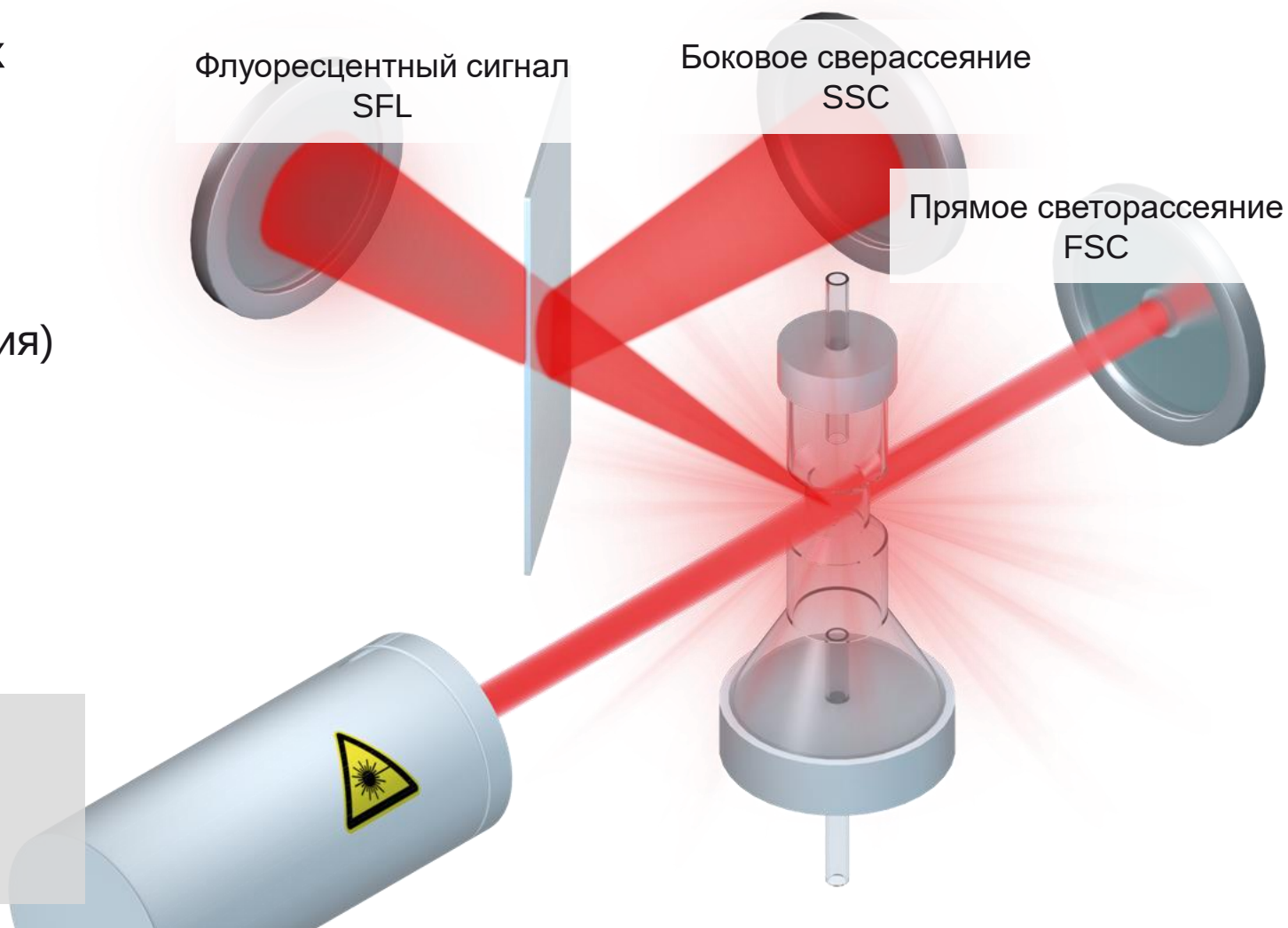


02

Новые технологии на службе
лабораторной медицины

Флуоресцентная проточная цитометрия

- Специфичное окрашивание внутриклеточных нуклеиновых кислот с использованием флуоресцентного маркера:
 - » проницаемость клеточной мембраны (зрелость)
 - » содержание ДНК/РНК (активация)
 - » гранулярность
- Измерение
 - » флуоресценция → ДНК/РНК
 - » гранулярность клетки
 - » размер



метаболическая
активность↑↑ SFL ↑↑
гранулярность↑↑ SSC ↑↑

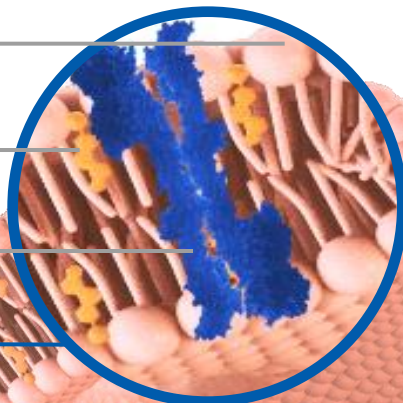
Проницаемость мембраны зависит от клеточной функциональности

Насыщенные фосфолипиды

Холестерол

Трансмембранный белок

Липидный рафт



Липидный состав клеточной
мембраны зависит от:

- » активации клетки
- » зрелости
- » малигнизации

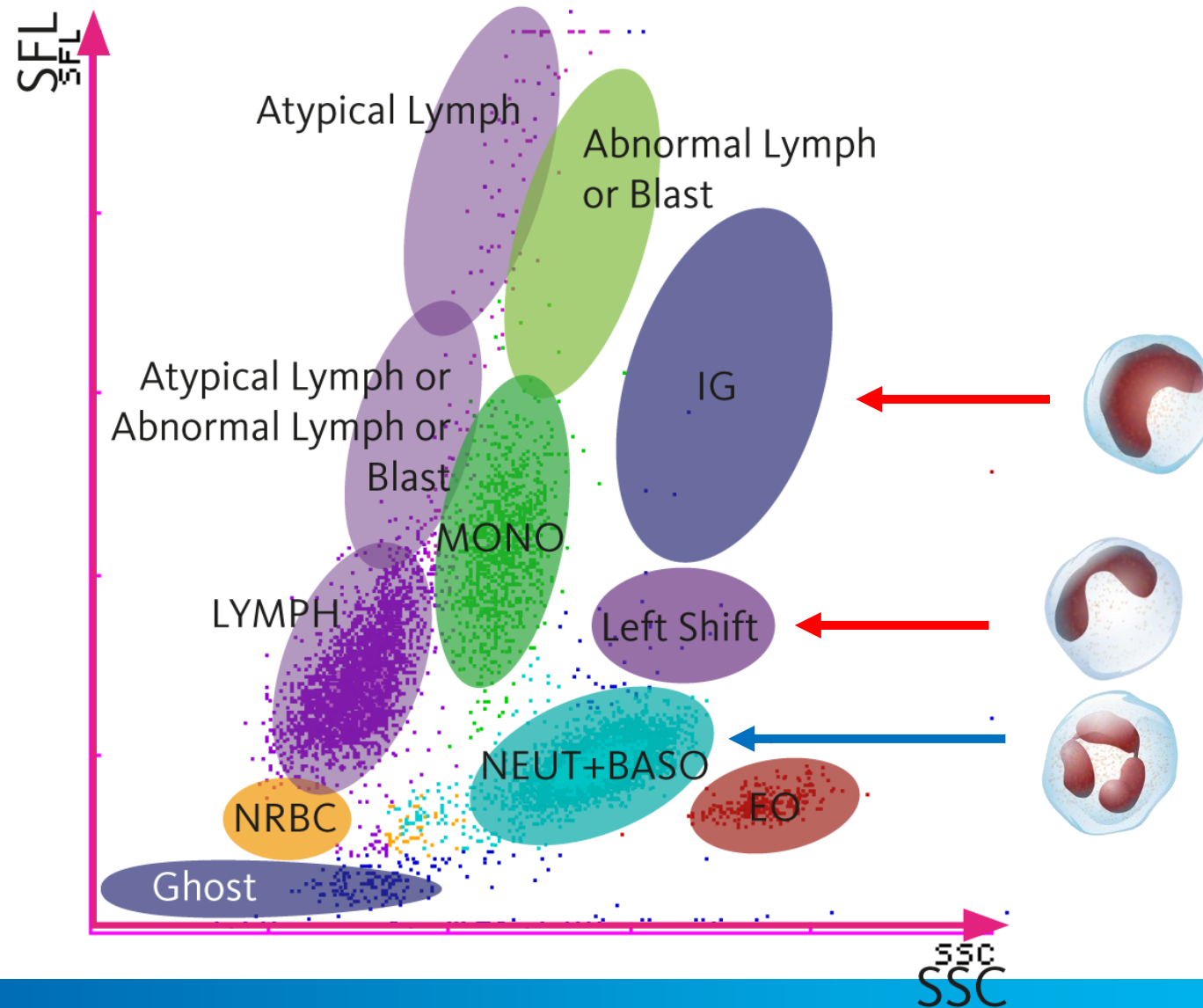
Активированные клетки содержат высокое количество 'липидных рафтов': микродомены в клеточной мембране, богатые холестерином и содержащие гликолипиды

Флуоресцентный сигнал зависит от:

- » Степень пермеабилзации клеточной мембраны
→ отражает количество липидных рафтов
- » Количество ДНК
- » Количество РНК

Скатерограмма и аномальные паттерны

added value
XN-DIFF

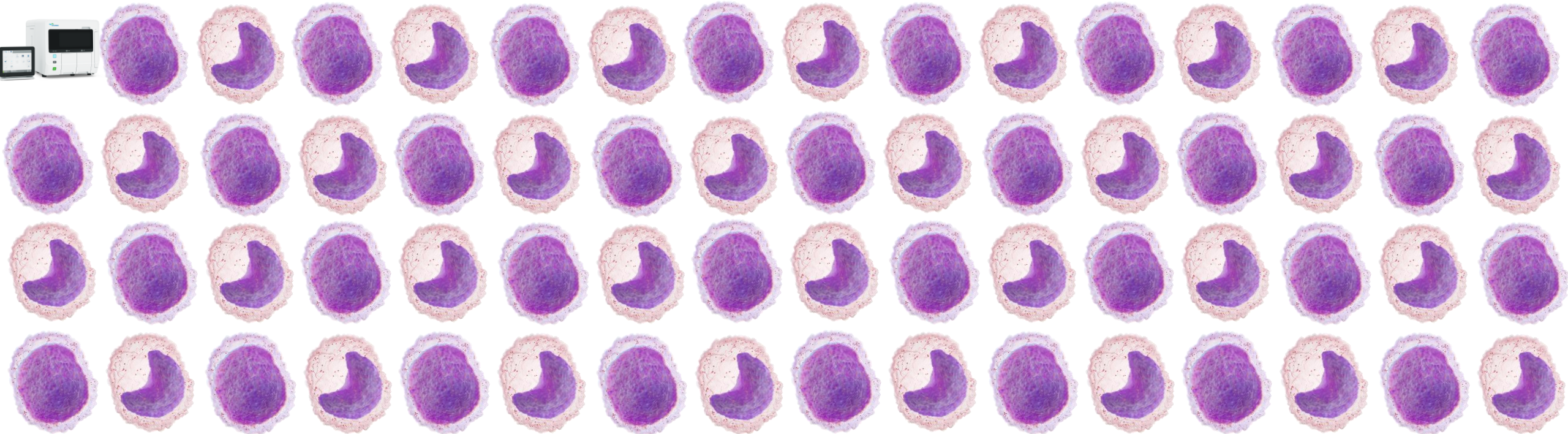
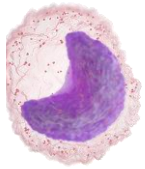


Незрелые гранулоциты на графике



Как считаем мы и как считает прибор?

1 незрелый гранулоцит в образце.

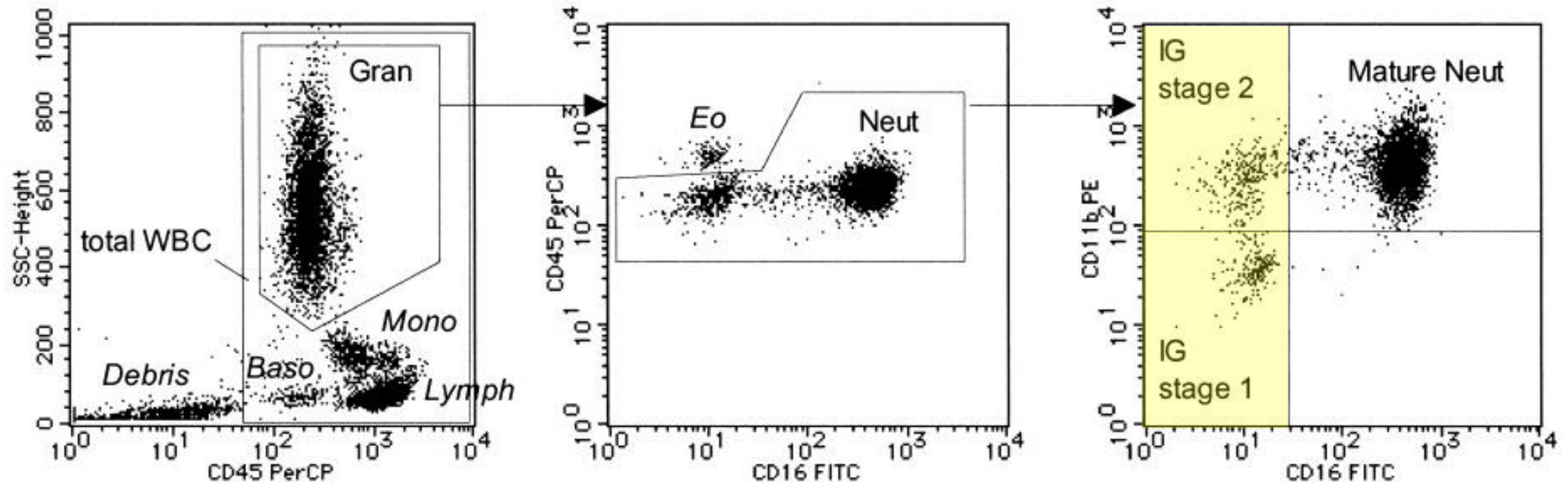


К чему это приведёт если считать глазами?

Sample contains	95 % prediction intervals of reported IG % with a 100 cell microscopical WBC differential	
1% IG	0	3
2% IG	0	5
3% IG	0	7
4% IG	1	8
5% IG	2	10
6% IG	2	11
7% IG	2	12
8% IG	3	14
9% IG	4	15
10% IG	5	16

Fig. 2 The expected statistical variability in white blood cell differential counting, 95 % prediction intervals

Золотой стандарт для IG – метод проточной цитометрии



Study	Method	Parameter	n	r
Fernandes and Hamaguchi, 2007 (3)	XE-2100	IG#	201	0.93
Fernandes and Hamaguchi, 2007 (3)	Microscopy	IG#	201	0.70
Fernandes and Hamaguchi, 2007 (3)	XE-2100	IG%	201	0.95
Fernandes and Hamaguchi, 2007 (3)	Microscopy	IG%	201	0.78

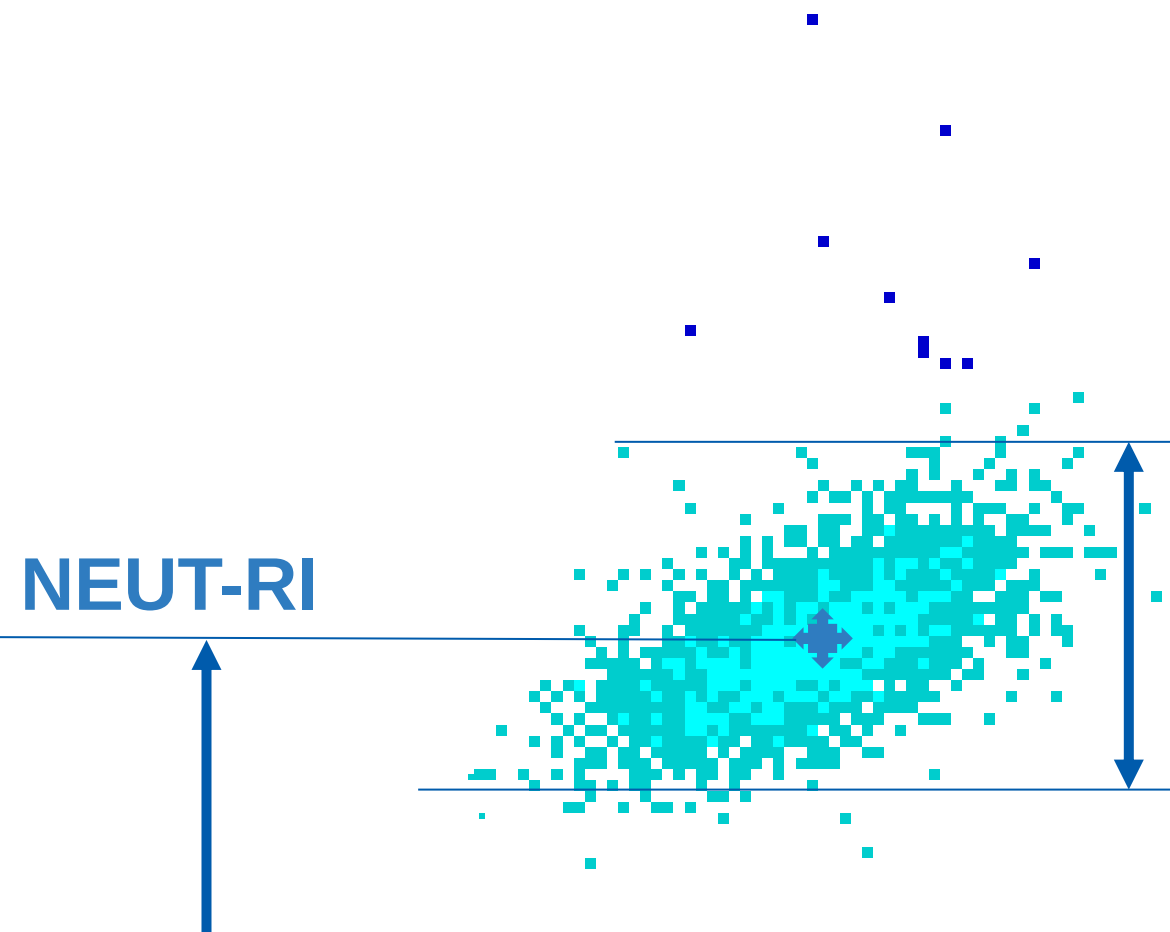
Table 1: correlation coefficients for CD16/CD11b flow cytometry (n, number of samples; r, correlation coefficient)

Fernandes and Hamaguchi (2007). Automated Enumeration of Immature Granulocytes. Am J Clin Pathol 128: 454

03

Уникальное решение
компании Sysmex

Каким образом мы можем оценить концентрацию палочкоядерных нейтрофилов на приборах Sysmex?

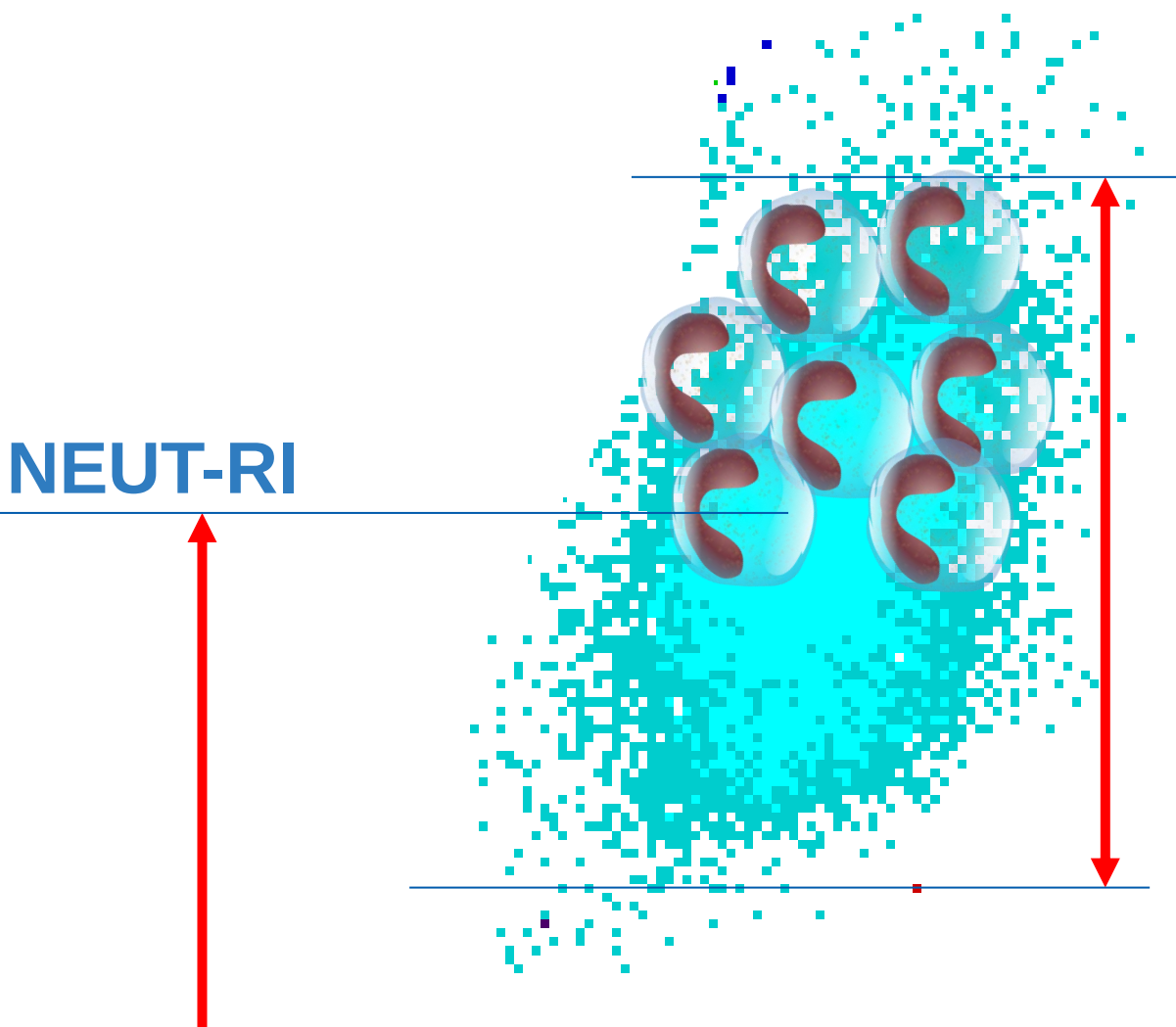


ИНДЕКС ЛЕВОГО СДВИГА (ILS)

$$ILS = \frac{NE-WY \times NEUT-RI}{1000}$$

референсный диапазон: до 37.00

Каким образом мы можем оценить концентрацию палочкоядерных нейтрофилов на приборах Sysmex?



ИНДЕКС ЛЕВОГО СДВИГА (ILS)

$$ILS = \frac{NE-WY \times NEUT-RI}{1000}$$

референсный диапазон: до 37.00

ИНДЕКС ЛЕВОГО СДВИГА (ILS)

$$ILS = \frac{NE-WY \times NEUT-RI}{1000}$$

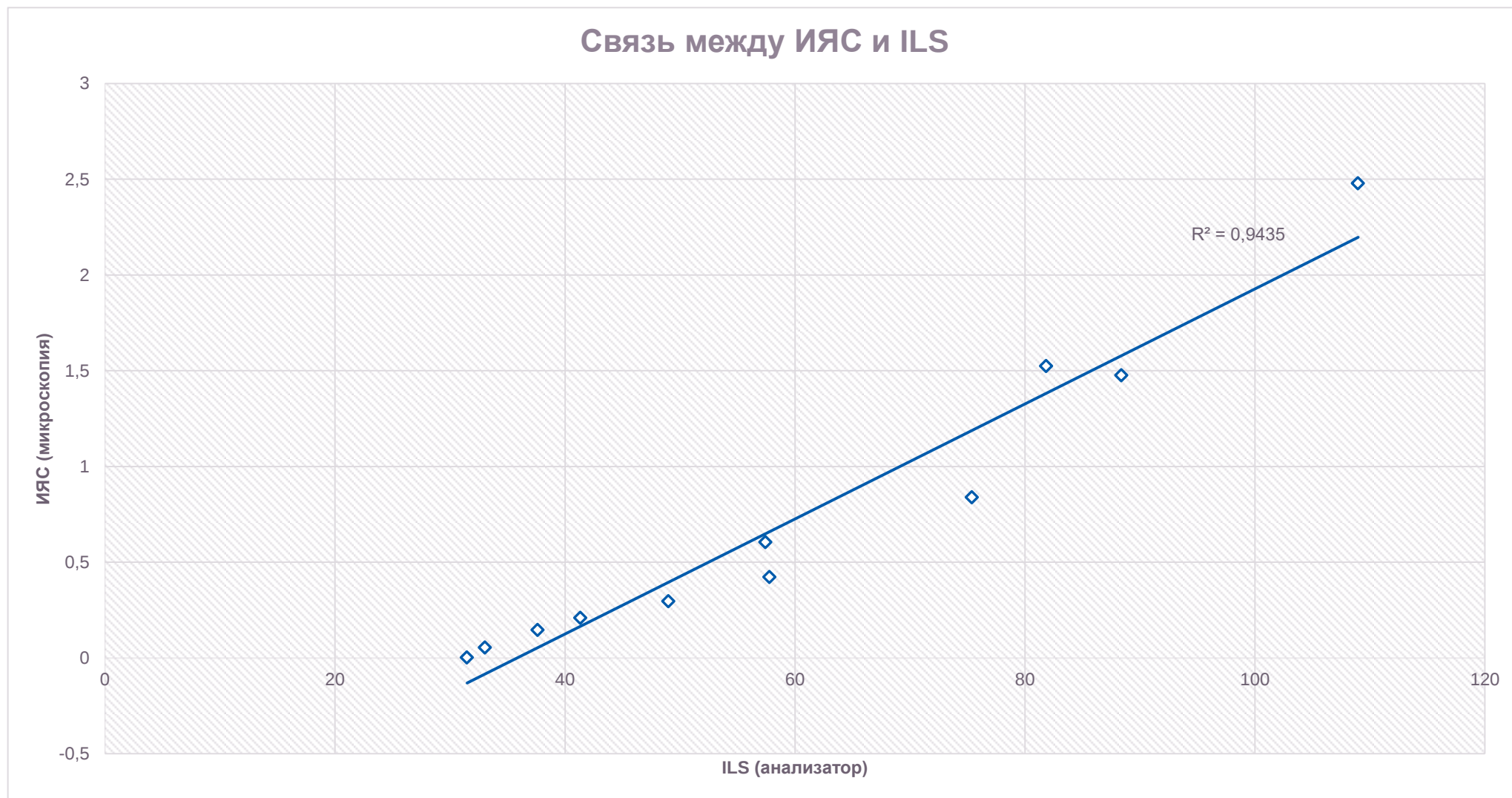
референсный диапазон: до 37.00

ИНДЕКС ЯДЕРНОГО СДВИГА (ИЯС)

$$ИЯС = \frac{IG\% + BAND\%}{SEG\%}$$

референсный диапазон: до 0.10

Прямая корреляция между ИЯС и ILS



BAND% ПАЛОЧКИ

SEG% СЕГМЕНТЫ

IG% ПРОМИЕЛОЦИТЫ + МИЕЛОЦИТЫ + МЕТАМИЕЛОЦИТЫ

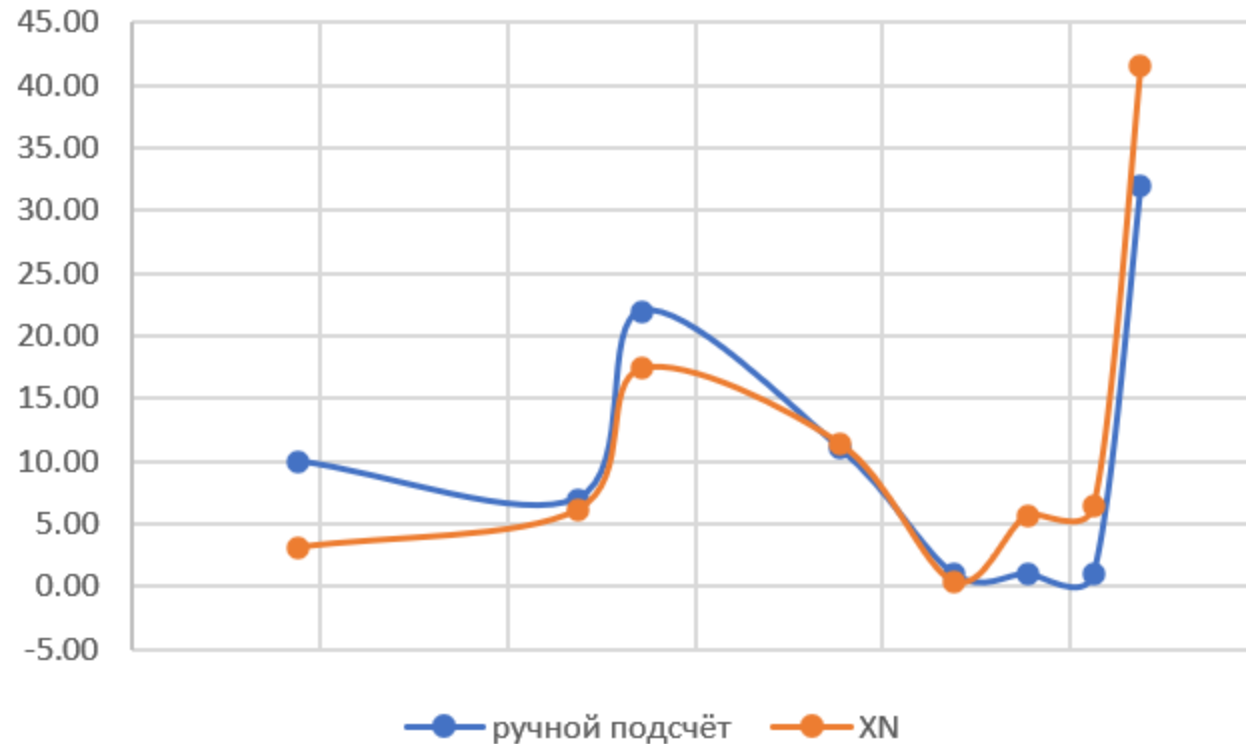
NEUT% = IG% + BAND% + SEG%

TOTAL IG% = IG% + BAND%

Новая формула для подсчёта палочкоядерных нейтрофилов

- Измерение палочек (BAND), IG (незрелых гранулоцитов) и TOTAL IG (всех незрелых нейтрофилов) на любом приборе XN и XN-L
- Стандартизация и воспроизводимость
- Снижение количества мазков
- Внедрение в ЛИС и Extended IPU
- Нет аналогов в мировой практике

Данные в динамике
(неизвестный пациент)



Результаты при cut-off палочки(микроскопия) > 20% (данные ещё не опубликованы)

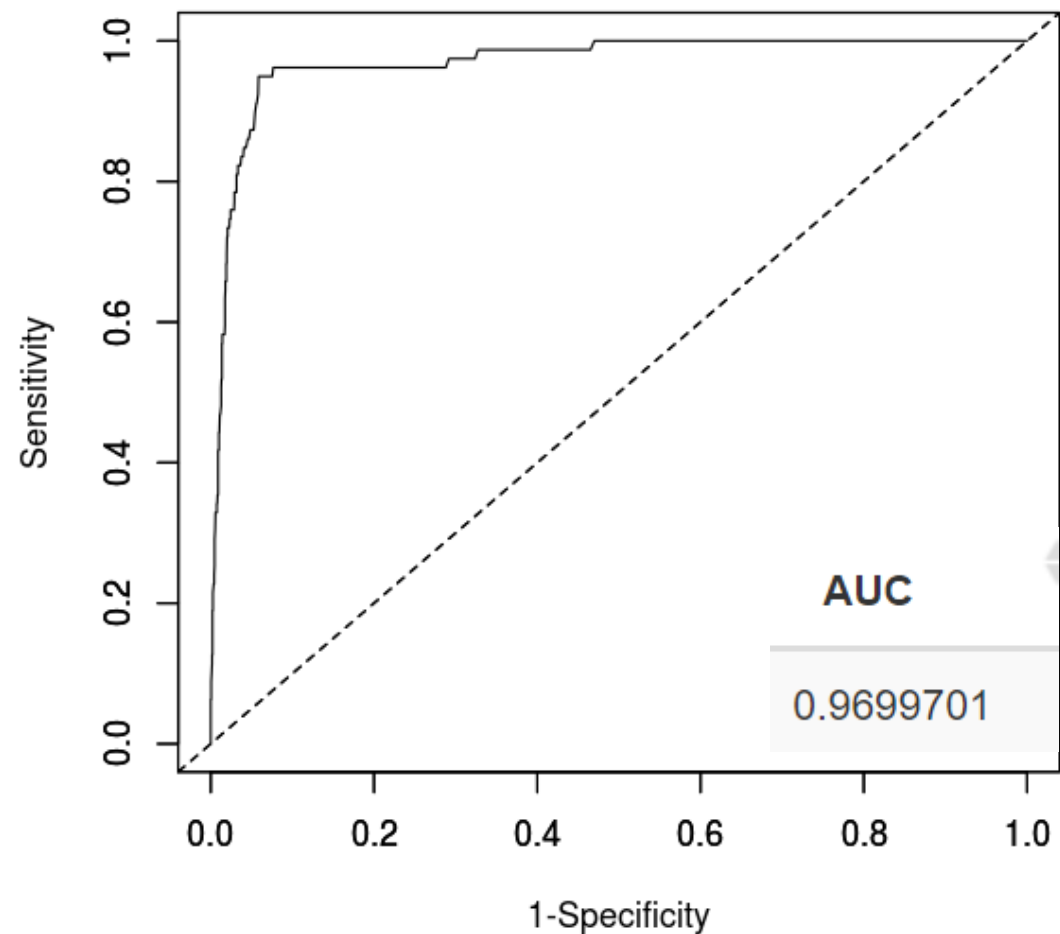


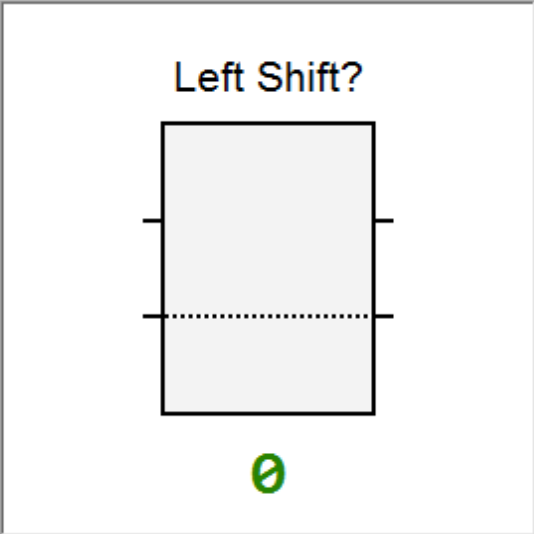
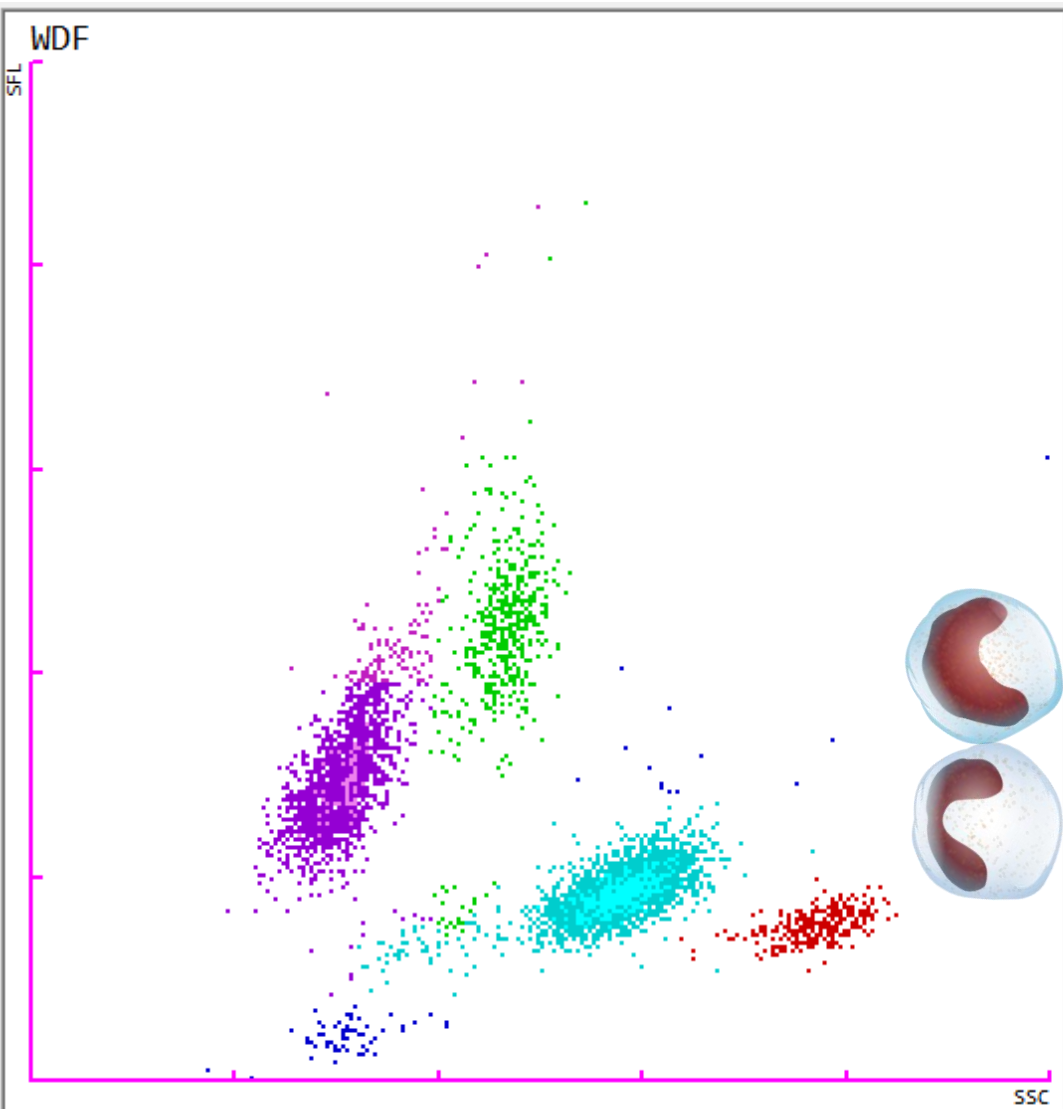
Table 1. Cut-off Results

Optimal cut-off method : Youden
Optimal cut-off point : 20.4
Optimal criterion : 0.8908228

Table 2. Performance Measures

		Value
Sensitivity	:	0.949
Specificity	:	0.941

Нормальный образец



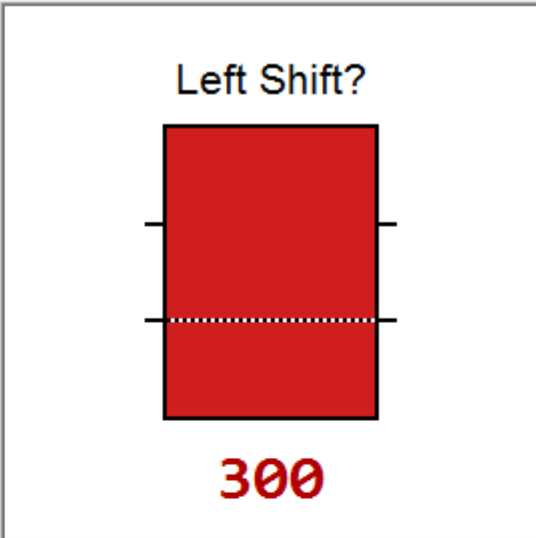
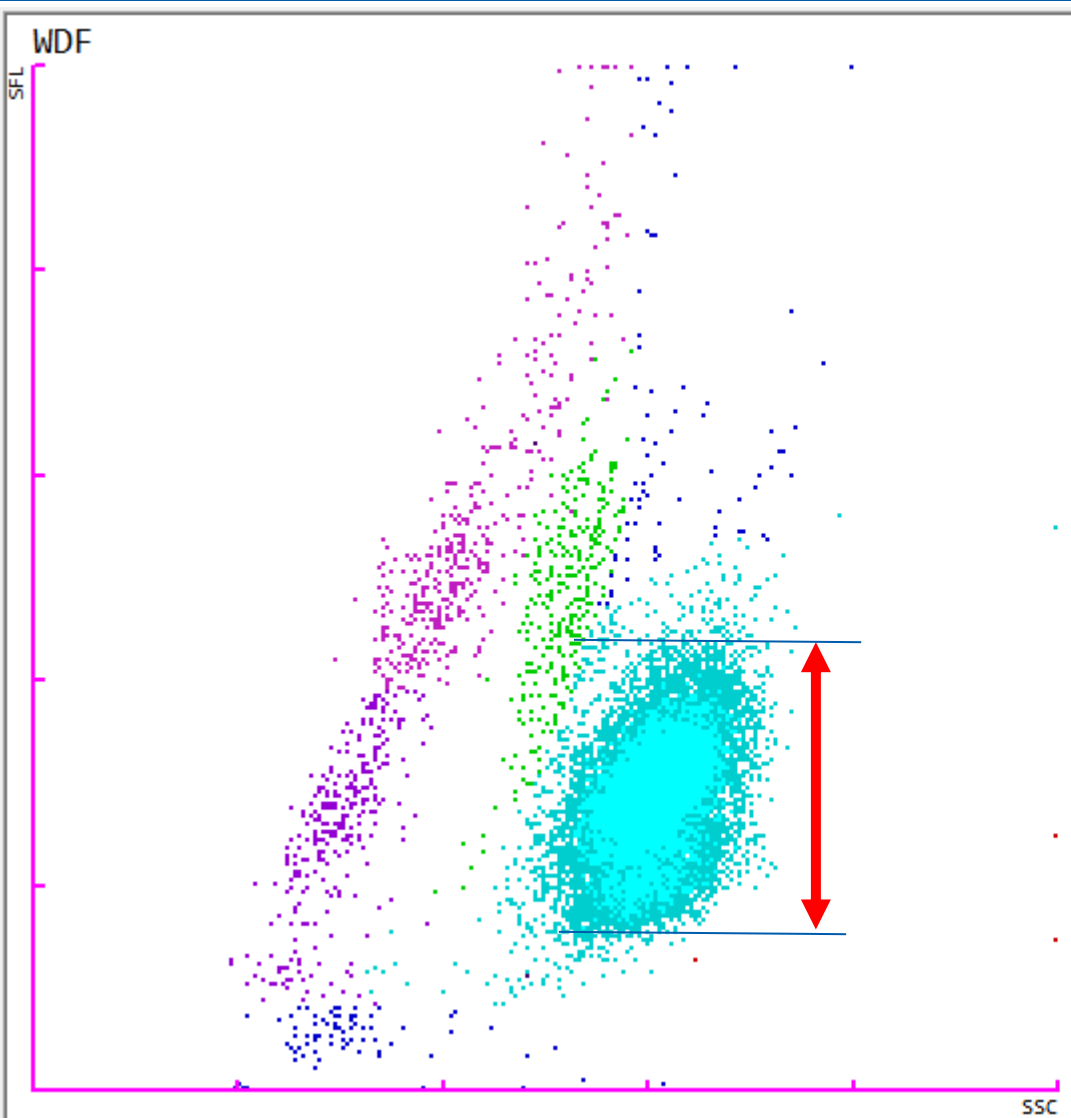
Пар.	Данн	LL	UL	Ед.
IG%	0.2			%
IG#	0.01			10 ³ /uL

Пар.	Данн	LL	UL	Ед.
NEUT-RI	47.0			FI
NE-SFL	47.0			ch
NE-WY	638	510-711		

Пар.	Данн	LL	UL	Ед.
WBC	5.57			10 ³ /uL
NEUT#	2.70			10 ³ /uL
NEUT%	48.4			%

ILS = 29,99
BAND% = 0,0%

Палочкоядерный сдвиг (более 30%)



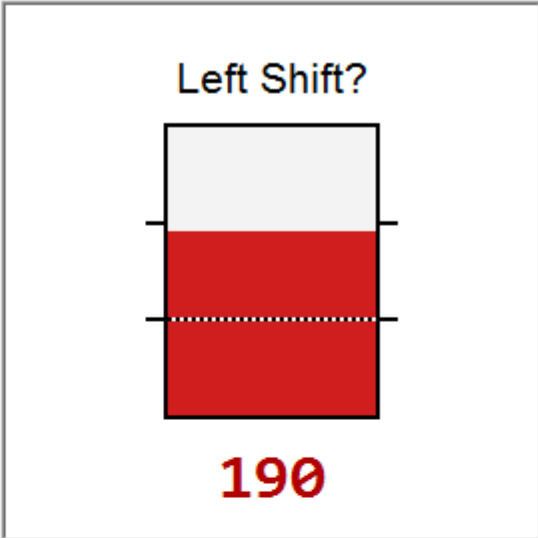
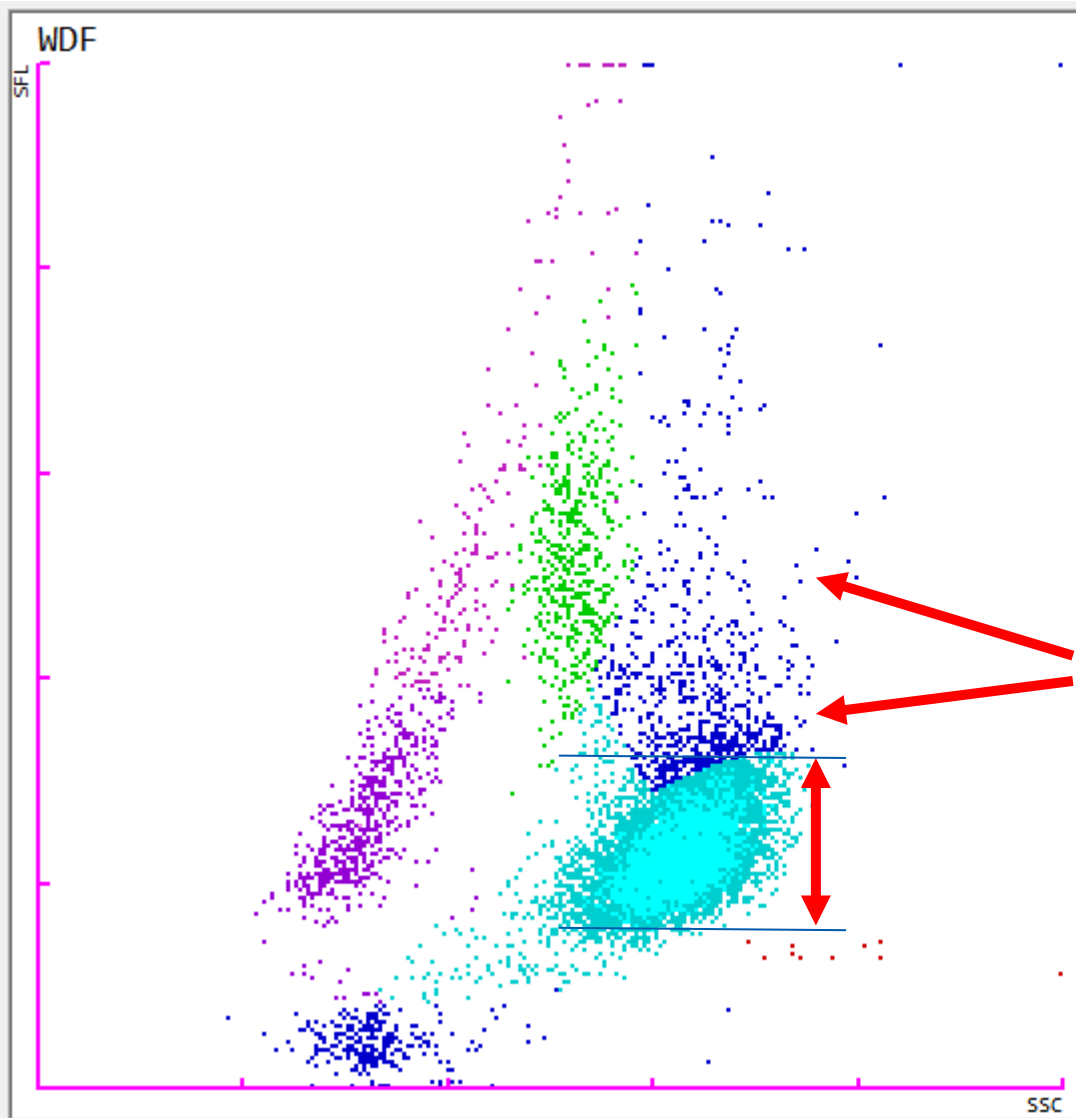
Пар.	Данн	LL	UL	Ед.
IG%	0.4 *			%
IG#	0.08 *			10^3/uL

Пар.	Данн	LL	UL	Ед.
NEUT-RI	74.0 *			FI
NE-SFL	74.0 *			ch
NE-WY	1001	510-711		

Пар.	Данн	LL	UL	Ед.
WBC	19.13 +			10^3/uL
NEUT#	18.06 *			10^3/uL
NEUT%	94.3 *			%

ILS = 74,07
BAND% = 44,1%

Смешанный левый сдвиг



Пар.	Данн	LL	UL	Ед.
IG%	6.9 *		●	%
IG#	0.82 *		●	10 ³ /uL

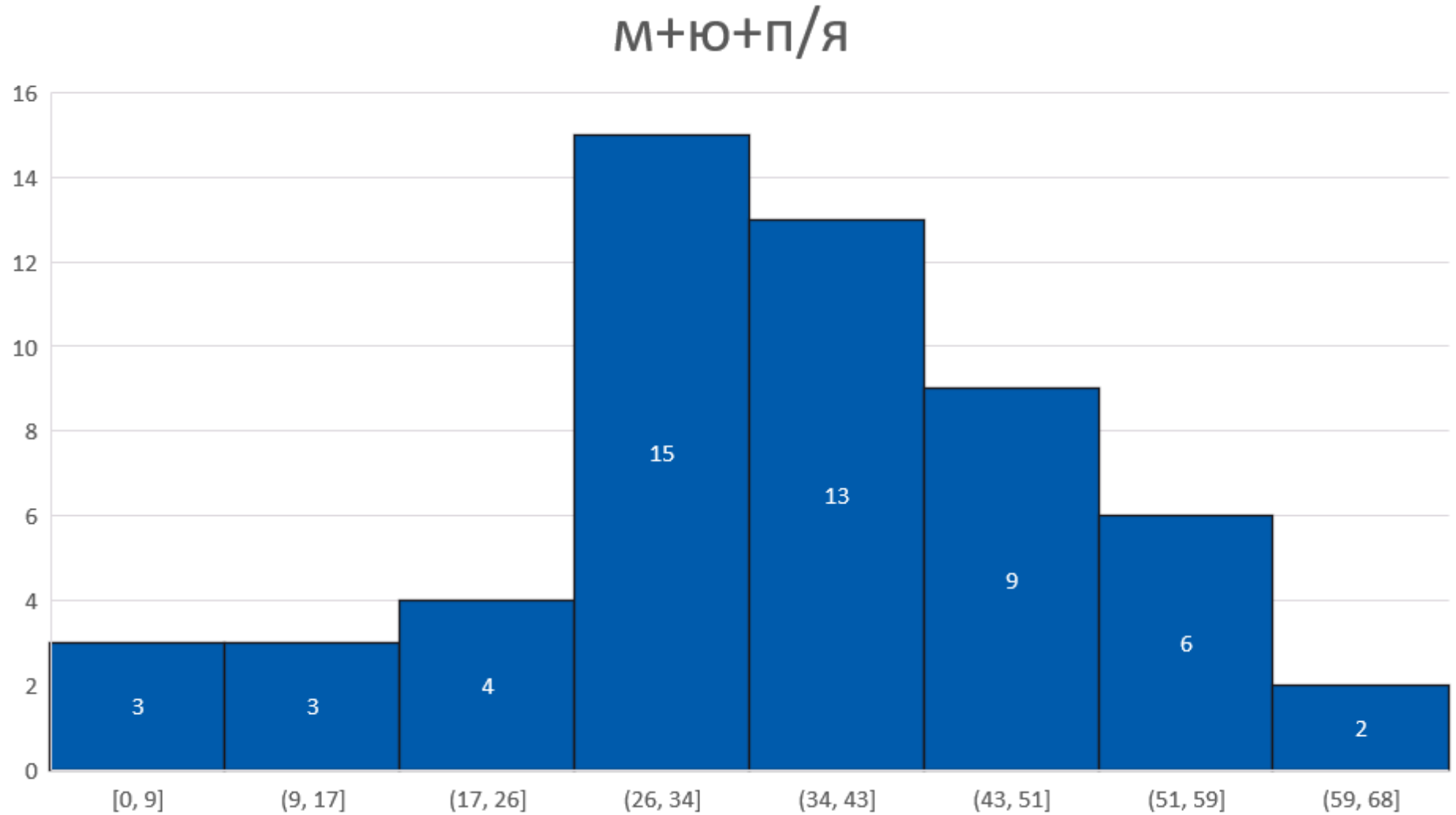
Пар.	Данн	LL	UL	Ед.
NEUT-RI	57.2 *		●	FI
NE-SFL	57.2 *			ch
NE-WY	926	510-711		

Пар.	Данн	LL	UL	Ед.
WBC	11.96		●	10 ³ /uL
NEUT#	10.60 *		●	10 ³ /uL
NEUT%	88.6 *		●	%

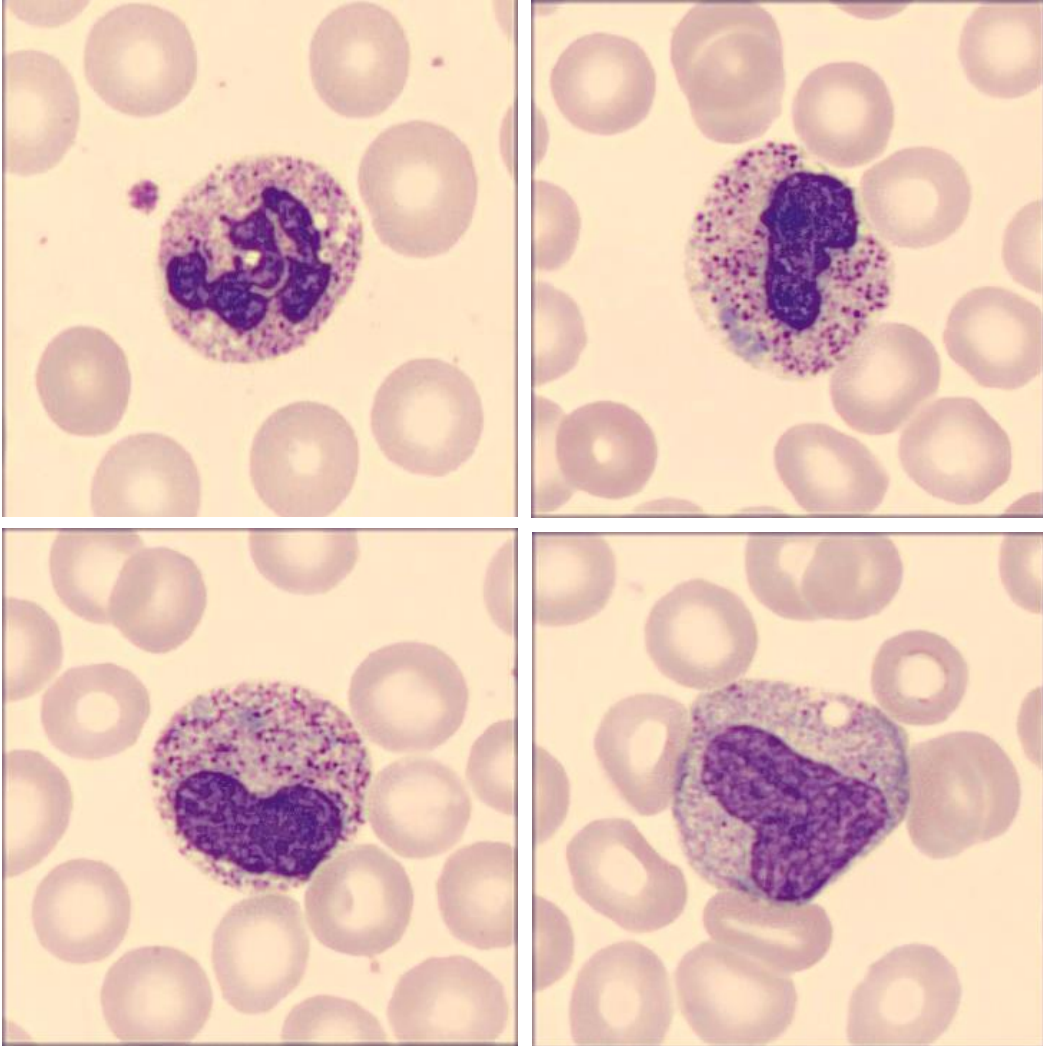
ILS = 52,97
BAND% = 20,8%
IG% = 6,9%

Разброс результатов на конкурсе по подсчёту лейкоформулы на стенде Sysmex РКЛМ 2022

CV = 36%



Дополнительные морфологические находки в таких образцах



- Нейтрофильные гранулоциты показывают признаки активации, такие как:
 - » вакуолизация
 - » токсогенная зернистость
 - » Тельца Деле

Пациент 3.,93 года

26 апреля госпитализирован в отделение травматологии с закрытым переломом шейки бедра, субкапитальным переломом левой бедренной кости.

29 апреля отказался от дальнейшей госпитализации, выписан.

6 мая повторная госпитализация с диагнозом копростаз.

18 мая после реанимационных мероприятий диагностирована смерть, причина смерти – ТЭЛА.

	11 мая		16 мая		17 мая	
WBC	9.34		17.98		23.78	
NEUT%	79	-	87.9	95	90.5	87
BAND%	0	-	29.4	9	40.3	43
SEG%	-	-	57.9	85	40.7	39
TOTAL IG	-	-	30	10	49.8	48
NE-WY	629		867		1284	
IG%	0.6	-	0.6	1	9.5	5
ILS	27		56		90	

Случай предоставлен Мариной Владимировной Кулакевич, врач КДЛ, Николаевская больница,
г. Санкт-Петербург

Точная оценка левого сдвига

Оценка левого сдвига глазами – это:

- Отсутствие точности
- Отсутствие стандартизации и воспроизводимости
- Отсутствие контроля качества
- Клиническая значимость?

Измерение левого сдвига на приборе – это:

- Лучшая точность
- Стандартизация и воспроизводимость на любом анализаторе XN и XN-L
- Внутренний и внешний контроль качества (для показателя IG)
- Доказанная клиническая значимость (для показателей IG и NEUT-RI(NE-SFL))

Спасибо за внимание!

Артём Москаленко, старший менеджер по продукции гематология, научным и медицинским проектам Sysmex RUS,
+7-963-961-14-22, Viber, WhatsApp, Telegram