

## *Retikülosit Sayımları için Manuel Metotla Otomatik Kan Sayım Cihazı ve Akım Sitometrik Yöntemlerin Karşılaştırılması*

### *Comparison of the Manuel Method With Automated Hematology Analyzer and Flow Cytometer For Reticulocyte Counts*

Selime AYZAZ\*

Mustafa BALCI\*

Sevinç YILMAZ\*

Klara DALVA\*\*

#### Özet

Hastanemizin değişik departmanlarından sağlanan örneklerde; retikülosit sayımları otomatik kan sayım cihazı, akım sitometre ve manuel metotla ölçüldü. Sayımlarla birlikte retikülosit mutlak, düzeltilmiş retikülosit sayısı ve retikülosit indeksi de değerlendirildi. Bu çalışmada ortalama retikülosit yüzde, düzeltilmiş retikülosit, retikülosit mutlak ve retikülosit index değerleri akım sitometre için %2,17±4.2, %1.92±3.5, 101.3±163 #, 1,36±2.2 ; otomatik kan sayım cihazı için %1.93±3.6, 1.71±3.2, 83.5±123 #, 1,23±2.1 ve manuel metot için %2.0±3.1, %1.78±2.8, 92,5±123 #, 1.3±1.9 bulundu. Manuel metotla otomatik metotlar karşılaştırıldığında her üç yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p =NS ). Korelasyon katsayıları : GenS % retikülosit ve FACScan % retikülosit; GenS % retikülosit ve FACScan % retikülosit ve Manuel % retikülosit; sırasıyla r=0.83, r=0.95, r=0.82 bulundu. Manuel metotta CV % 16-22 arasında iken otomatik metotlarda bu değer ise % CV 11.3 dir. Manuel yöntemde oda sıcaklığı ve 4°C'de 24 saat beklemede sayımlar stabil iken otomatik yöntemlerde bu süre 50 saate çıkmaktadır.

Bu veriler göstermektedir ki ; otomatik retikülosit sayımları, manuel sayıma gerçek bir alternatif metot olabilir. Ancak bu sonuçlar yeni çalışmalarla desteklenmelidir.

**Anahtar sözcükler :** Manuel Retikülosit Sayımı, Flow Sitometrik Retikülosit Sayımı, Otomatik Kan Sayım Cihazı, Coulter Gen S

#### Abstract

In this study, reticulocyte analyses in the samples col-

lected from different departments of our hospital, were evaluated using an automatic counter (GenS), flow cytometry and manual method. Besides the direct reticulocyte counts of samples; absolute reticulocyte counts, corrected reticulocyte number and reticulocyte index were also calculated. The results of reticulocyte counts, corrected and absolute reticulocyte numbers and reticulocyte index were 2,17±4.2%, 1.92±3.5%, 101.3±163 #, 1,36±2.2 ; with flow cytometry; 1.93±3.5%, 1.71±3.2%, 83.5±123 #, 1,23±2.1 using the automatic counter and 2.0±3.1%, 1.78±2.8%, 92,5±123 #, 1.3±1.9 using the manual method. There was no statistically significant difference between two counts. Coefficient of correlation between Gen S % reticulocyte vs Flow % reticulocyte; Gen S % reticulocyte vs manual % reticulocyte; Flow % reticulocyte vs manual % reticulocyte were 0.83 , 0.95 , 0.82 respectively. Coefficient of variation for the manual method is 16-22 % , for the automatic counting is 11.3 % . In manual method results were stable whereas for 24 hours at room temperature and at 4°C. In automatic method this period is goes up to 50 hours.

These results suggest that automatic reticulocyte counts can be a true alternative to the manual counts. The results must be confirmed with the new studies.

**Key words:** Manuel Reticulocyte Count, Automated Haematology Analyzers, Flow Cytometric Reticulocyte Counts, Coulter GenS

#### GİRİŞ

Retikülosit sayımı; çeşitli hematolojik ve sistemik hastalıklarda gözlenebilen aneminin pa-

\* T. Yüksek İhtisas Hastanesi Hematoloji Laboratuvarı  
\*\* İbni Sina Hastanesi Hematoloji Laboratuvarı



togenezi araştırılırken veya hastanın tedaviye yanıtı izlenirken kemik iliğindeki eritropoietik aktivitenin göstergesi olarak kullanılan basit ve noninvaziv bir testtir(1-2). Retikülositler eritropoiezde olgun eritrositlerden bir önceki hücreler olup ince granüler RNA artıkları içerirler. Bu artıkların supravital boyalarla yapılan manuel incelemeler zaman ve değerlendirme açısından zorluk oluşturmaktadır. Son yıllarda RNA'ya bağlanan floresan boyalar ile sitometrede veya laser saçınımı ile hücre sayan cihazlarda otomatik retikülosit sayımları kullanılmaya başlanmıştır. Akım sitometrik yöntemler nükleik asitlere bağlanan boya yöntemi ile geliştirilmiş analitik yöntemlerdir(3-4). Laser saçınımı ile hücre sayan kan sayım sistemlerinde otomatik retikülosit sayımı rutinde kullanılmaya başlanmıştır. Bu sistemlerde RNA içeren eritrositler, metilen mavisi ile boyanmakta ve retikülositler VCS teknolojisi ile otomatik olarak ölçülmektedir (5-6).

Bu çalışmada rastgele seçilen ve bilinen bir hastalığı olmayan kişilerde retikülosit sayımları kan sayım cihazı, akım sitometre ve manuel metotla ölçüldü. Bu metotların analitik performansı araştırıldı ve referans manuel metotla karşılaştırıldı.

#### MATERYAL VE METOT

**Olgular:** Polikliniklere başvuran ve bilinen bir hastalığı olmayan rastgele seçilen ve Hemoglobin değeri normal kabul edilen 150 olguda retikülosit düzeyleri, akım sitometre ( FacScan, Becton Dickinson), otomatik kan sayım cihazı ( Coulter Gen S) ve manuel metotla ölçüldü. Sayımlarla birlikte mutlak retikülosit sayısı, düzeltilmiş retikülosit sayısı ve retikülosit indexi değerlendirildi (Tablo 1).

**Örneklerin Toplanması:** Kan örnekleri venöz yoldan K<sub>3</sub>EDTA içeren tüplere alındı. Tam kan sayımları kan sayım cihazında (Coulter Gen S) yapıldı.

**Laser Saçınımı ile Retikülosit Sayımı (Tam kan sayım cihazı Coulter Gen S) :** Doğru akım,

radio frekansı ve laser saçınımı ile hücre sayan cihazlarda retikülosit sayımı da artık otomatik olarak ölçülmektedir. Bu teknoloji ile aynı anda hücrelerin hacmi (volum), iç karakteristikleri (geçirgenlik, opasite, conductivity gibi) ve yüzey karakteristikleri (ışın saçınımı, scatter) ölçülür. Bu sistemde metilen mavisi eritrosit içindeki artık RNA'ları çöktürür. Sonra örnek hipotonik bir çözelti ile seyreltilerek hemoglobinin uzaklaştırılması ama boyanmış RNA'nın hücre içinde kalması sağlanır ve bu çözeltide hücre hacim ve laser saçınımı ölçülür. Bu işlemler sonucunda retikülosit sayısı, % retikülosit veya birim hacimdeki retikülosit sayısı olarak rapor edilir.

**Akım Sitometresinde (FACScan, Becton Dickinson) Retikülosit Sayımı :** Bu yöntemde 5 (1 tam kan örneği 1 ml tiazole orange solüsyonu ile oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübe edilerek ölçümler Retic-Count yazılım programı ile prosedüre uygun olarak FACScan akım sitometre cihazında yapıldı.

**Manuel Retikülosit Sayımı (Referans Metot) :** Hall ve Malia'nın (12) tanımladığı metoda göre yapıldı. 50 µl tam kan örneği eşit hacimde brilliant cresyl blue ile karıştırılarak 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Bu karışımdan yapılan ince yaymalarda en az 1000 eritrosit sayılarak retikülositlerin yüzdesi belirlendi. Kişiler arası değerlendirme varyasyonunu azaltmak için örneklerin hepsi tek bir uzman tarafından değerlendirildi.

#### ANALİTİK PERFORMANS ÇALIŞMALARI

**Prezisyon (Tekrarlanabilirlik) :** Otomatik ölçümlerde ; günler arası prezisyon çalışmaları için 20 gün boyunca retikülosit kontrol örneklerinde (Düzye I, Düzye II, Düzye III) retikülosit sayısı ölçüldü. Gün içi prezisyon çalışmalarında kontrol örneklerinde 20 kez retikülosit sayısı ölçüldü. Manuel metot için aynı örneklerden 20 yayma yapılarak aynı gün 20 kez ve 20 gün art arda mikroskopik sayımlar yapıldı. Ortalama değer, standart sapma (SD) ve varyasyon kat-

**Tablo 1.** Kan Sayım Cihazı Akım Sitometri ve Manuel Metotla Ölçülen Retikülosit %, Düzeltilmiş Ret%, Retikülosit Mutlak # ve Retikülosit Index Değerleri

	Retikülosit % ( $\bar{x} \pm 2SD$ )	Düzeltilmiş Retikülosit % ( $\bar{x} \pm 2SD$ )	Retikülosit Mutlak / # ( $\bar{x} \pm 2SD$ )	Retikülosit Index ( $\bar{x} \pm 2SD$ )
Kan Sayım Cihazı N = 150	1.93 $\pm$ 3.6	1.71 $\pm$ 3.2	83.5 $\pm$ 123	1.23 $\pm$ 2.1
Akım Sitometre N = 150	2.17 $\pm$ 4.2	1.92 $\pm$ 3.5	101.3 $\pm$ 163	1.36 $\pm$ 2.2
Manuel Metot N = 150	2.0 $\pm$ 3.1	1.78 $\pm$ 2.8	92.5 $\pm$ 123	1.3 $\pm$ 1.9

sayısı (CV) hesaplandı.

**Carry-over (Ölçümler arası etkileşim):** Retikülosit konsantrasyonu yüksek olan bir örnek (Y1,Y2,Y3) art arda 3 kez sayıldı. Bunun hemen arkasından retikülosit konsantrasyonu düşük olan örnek (D1,D2,D3) 3 kez art arda test edildi. Carry-over yüzdesi ICSH-84'in formülüne göre hesaplandı.

$$\frac{D1-D3}{Y3-D3} \times 100\%$$

**Stabilite :** Stabilite çalışmaları 4 kan örneğinde 4°C ve 22°C'de yapıldı. Örnekler ikiye bölünerek 4°C ve 22°C'de bekletildi. Kan örnekleri laboratuvara ulaştırıldıktan hemen sonra ve 24, 48 ve 72 saat sonra analiz yapıldı.

**Analitik recovery (geri elde edilebilirlik) :** Çeşitli seviyelerdeki örnek havuzlarında retikülosit düzeyleri her üç yöntemle ölçüldü. Daha sonra bunlara analizi yapılan maddenin bilinen miktarı eklenerek ölçümler tekrarlanır. Bu çalışmalar sonucunda beklenen değerlerin ölçülmesi ideal durumdur. % 95 - %100 arasındaki değerler çoğunlukla kabul edilen bir sınırı belirler. Recovery ölçümleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

Ölçülen konsantrasyon = İkinci ölçülen konsantrasyon- başlangıç konsantrasyonu

% recovery = (ölçülen konsantrasyon x100 ) / ilave edilen madde konsantrasyonu

İstatistiksel Çalışmalar Pearson's korelasyon katsayısı ve student's t testi ile yapıldı.

#### ANALİTİK PERFORMANS SONUÇLARI

**Günler arası prezisyon :** Değişik konsantrasyonlarda 3 kontrol örneği (Retic C Cell Kontrol Düzey 1, 2, 3) 20 gün boyunca test edildi. Coulter

Retic C Cell kontrol değerleri sırasıyla 1.10 %, 2.8 %, 10.20 %'dir. Bizim çalışmamızda ortalama retikülosit değerleri Kan Sayım Cihazı cihazı için % 1.13, %2.71, %10.27, CV değerleri ise %7.5, %6.92, %1.85 ve Akım sitometre için retikülosit değerleri %1.11, %2.16, %9.68, CV değerleri ise %13.5, %13.4, %11.0'dır (Tablo 2-3). Bir örnekten 20 değişik yayma yapılarak sayımlar yapıldı. Ortalama retikülosit sayısı % 2.0 CV ise %16.8 bulundu.

**Gün içi prezisyon :** Art arda 20 kez test edilen 3 kan örneğinin ortalama retikülosit değerleri GenS cihazı için ve akım sitometre cihazı için gün içi prezisyon çalışma sonuçları Tablo 4-5'de sunulmuştur.

**Carry-over :** Kan Sayım Cihazı ve akım sitometre cihazında carry over çalışmaları retikülosit konsantrasyonu yüksek (%10.2) olan bir örneğin art arda 3 kez test edilmesinden sonra düşük konsantrasyonlu(%1.1) örneğin 3 kez ölçülmesinden sonra hesaplandı. Kontaminasyon gözlenmedi. Carry over yüzdesi her iki cihaz için % 0'dır.

**Stabilite :** Oda sıcaklığı ve 4°C' de 48 saat bekletilen örneklerde anlamlı değişiklikler gözlenmedi. 4°C'de 72 saat bekletilen örneklerde retikülosit düzeylerinde hafif bir artış; oda sıcaklığında bekletilen örneklerde ise hafif bir düşüklük gözlemlendi. Bu düşüklük ve yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak 4°C'de bekletilen örneklerden hesaplanan CV değerleri oda sıcaklığında bekletilen örnek değerlerinden daha iyi bulundu .

**Recovery:** Farklı konsantrasyondaki kontrol kan numunelerinin karıştırılmasıyla elde edilen tam kan pool'u üç ayrı tübe ayrıldı. Birinci kan olduğu gibi bırakıldı ikinci ve üçüncü tübe sırasıyla % 1.3 ve %3.0 konsantrasyonundaki kontrol kanları örneklere

**Tablo 2.** Kan Sayım Cihazında 3 Kontrol Örneğinde Günler Arası Prezisyon Değerleri

	Düzey I	Düzey II	Düzey III
Tanımlanan Değer	1,1	2,8	10,2
Analiz Sayısı	14	14	14
Ortalama Değer (%)	1,13	2,71	10,27
2 SD	0,17	0,37	0,38
CV %	7,5	6,92	1,85

**Tablo 3.** Akım Sitometre Cihazında 3 Kontrol Örneğinde Günler Arası Prezisyon Değerleri

	Düzey I	Düzey II	Düzey III
Tanımlanan Değer	1,1	2,8	10,2
Analiz Sayısı	14	14	14
Ortalama Değer (%)	1,11	2,16	9,68
2 SD	0,3	0,58	2,13
CV %	13,5	13,4	11,0



**Tablo 4.** Kan Sayım Cihazında Gün İçi Prezisyon Çalışmalarında 20 Kez Test Edilen 3 Örnekte Retikülosit Düzeyleri

	Örnek I	Örnek II	Örnekl III
Ortalama Retikülosit %	1,29	3,13	10,51
Aralık %	1,10-1,48	1,93-4,33	8,0-12,0
2 SD	0,13	0,38	0,24
CV %	4,95	6,06	1,14

**Tablo 5.** Akım Sitometre Cihazında Gün İçi Prezisyon Çalışmalarında 20 Kez Test Edilen 3 Örnekte Retikülosit Düzeyleri

	Örnek I	Örnek II	Örnek III
Ortalama Retikülosit %	1,09	2,11	9,6
Aralık (%)	0,93-1,3	1,7-2,6	8,1-10,3
2 SD	0,24	0,58	1,48
CV %	11,0	13,7	7,7

ilave edildi. Her üç yöntemle % recovery değerleri hesaplandı. Kan sayım cihazı , Akım sitometre, manuel metotla hesaplanan recovery değerleri sırasıyla % 101, 100, 97 olarak bulundu.

**Metotların karşılaştırılması:** 150 örnekte; kan sayım cihazı, flow sitometre ve manuel yöntemle çalışılan % retikülosit, düzeltilmiş retikülosit, #retikülosit ve retikülosit Index değerleri tablo-1' de sunulmuştur. Her üç yöntem ile ölçülen tüm parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p=NS). GenS% retikülosit ve FACScan% retikülosit, GenS % retikülosit ve Manuel % retikülosit, FACScan % retikülosit ve manuel % retikülosit değerleri karşılaştırıldığında , korelasyon katsayıları sırasıyla  $r=0.83$   $y=0.886x + 0.94$ ,  $r=0.95$   $y=1.060x + 0.27$  ve  $r=0.82$   $y=821 + 0.95$  olarak bulundu (Tablo 6).

**Tablo 6.** Kan sayım cihazı, flow sitometre ve manuel yöntemle 150 örnekte çalışılan % retikülosit değerlerinin karşılaştırılması

	N	r değeri	$y=ax+b$	p değeri
GenS % Ret ve FACScan% Ret	150	0.83	$y = 862x+25$ $y=GenS, x=FACScan$	<0.001
GenS%Ret ve Manuel %Ret	150	0.95	$y=1.060x+0.27$ $y=GenS, x=Manuel$	<0.001
FACScan%Ret ve Manuel%Ret	150	0.82	$y=821 x +0.95$ $y=FACScanx=Manuel$	<0.001

## TARTIŞMA

Birçok laboratuvarlarda retikülosit analizleri referans kabul edilen manuel yöntemle yapılmaktadır. Son yıllarda ise retikülosit sayımı için çeşitli otomatik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler içerisinde Coulter GenS, Sysmex R-3000, Toa Medical Electronics, H3, Bayer diagnostik ve akım sitometridir. Bu yöntemlerin klinik laboratuvarlara sağladığı avantaj doğru ve kesin ve hızlı sonuç vermesidir (9, 10, 13,14).

Manuel retikülosit sayımlarında doğruluk ve hassasiyetteki oynamalar pekçok spesifik analitik faktörle izah edilmiştir. Bunlardan en önemlileri teknisyenler arası retikülosit belirleme farklılıkları ve kişiden kişiye değişen sayma hatalarıdır (3-7,15). Manuel metotta; gözlemciler arasında %25-50' ye varan varyasyon katsayıları bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bu farklılığın ; preparatların boyasından veya mikroskopik sayımdan olup olmadığı test edildi. Bizim çalışmamızda kişiler arası varyasyonu önlemek için preparatlar tek bir uzman tarafından değerlendirildi. Her iki faktörün tayini için 20 kez tekrar yapıldı, CV % 16.8 bulundu. Tek mikroskopik sayımda ise CV % 22.26'a çıkmaktadır. Davis ve arkadaşları (16) ise CV'yi %24.1 bulmuştur. Bu sonuçlar hatanın en çok mikroskopik değerlendirme aşamasında olduğunu göstermektedir. Manuel me-

todun değişkenliğine rağmen bizim çalışmamızda örnekler tek bir uzman tarafından değerlendirildiğinde; otomatik metotlar ile manuel metot arasında yüksek korelasyon bulundu. Örnekler farklı teknisyenler tarafından değerlendirildiğinde; otomatik metotlar ile manuel metot arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Bu sonuçlar Brugnara ve arkadaşlarının (13) çalışmasıyla uyumludur. Buda göstermektedir ki örneklerin değerlendirilmesi deneyimli tek bir uzman tarafından yapılmalıdır.

Akım sitometrik retikülosit sayımlarında, manuel mikroskopik metoddan farklı olarak bazı klinik olgularda potansiyel hata kaynakları tanımlanmıştır. Bunların başlıcaları; hücre kümeleşmesi (soğuk aglutininler), nonspesifik otofluoresan (ilaçlar, porfirin bileşikleri), eritrosit bölgesinde diğer hücresel bileşenlerin kontaminasyonu (trombositler ve lökositler), kırmızı hücre dışı, RNA olmayan ve fluoresan boyaya bağlanan bileşenler (çekirdekli eritrositler, Howell-Jolly cisimcikleri, parazitler)dir (17-21). Ayrıca rutin klinik hematoloji laboratuvarlarında bu yöntemin kullanılması hem vakit alıcı hem de pahalı bir yöntemdir. Otomatize hücre sayan cihazlar ile elde edilen retikülosit sayıları düşük varyasyon katsayıları ile güvenilir verilerdir. Otomatik olarak retikülosit sayan kan sayım sistemlerinde sadece eritrosit morfoloji bozukluğu olan hastalarda (sferositoz, orak hücre, talassemi majör) interferans saptanmaktadır (11,20). Bizim çalışmamızda; otomatik kan sayım cihazında elde edilen retikülosit sonuçları ile manuel sayım sonuçları arasında lineer bir ilişki bulundu. CAP retikülosit işlemi ile ilgili yayınlarda (7); otomatik sistemlerin  $r$  değişiminin 0.95'den büyük ve CV'nin % 15 veya daha düşük olması gerektiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda  $r=0.95$ ; CV ise % 12.3 bulundu.

Bu çalışmada, otomatik retikülosit metotların analitik performansı araştırıldı. Analitik performans sonuçlarımız birçok araştırmacının sonuçları ile uyumlu bulundu (10, 13, 17, 21). Akım sitometri ve kan sayım cihazında retikülosit ölçümlerinin presizyonu iyi ve örnekler arasında etkileşim gözlenmedi. Kan sayım sisteminde retikülosit sayımlarının 72 saat stabil olduğu gözlemlendi. +4 °C'de oda sıcaklığından daha iyi stabilite saptandı. Oda sıcaklığında bekletilen örneklerde Akım sitometri cihazında ölçülen retikülosit değerleri kan sayım cihazına göre daha yüksek bulundu. Bu çalışmada, manuel retikülosit sayımının 24 saat boyunca oda sıcaklığında veya 4 °C'de bekleme ile değişmediği gösterildi. Buna karşın oda sıcaklığı veya 4 °C'de 24 saatten daha uzun beklemeelerde retikülosit sayımlarının belirgin olarak değiştiği görüldü. Kan Sayım Cihazında retikülosit sayımının oda sıcaklığında 50 saate kadar 4 °C'de 72 saate kadar bekleme ile değişmediği görüldü. Newman ve Easterling (5) ise sayımların daha uzun sürede de stabil kaldığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak; çalışmamızda tam otomatik ve

manuel retikülosit sayımları arasında iyi bir korelasyon bulundu. Tam otomatik retikülosit sayan kan sayım sistemlerinde retikülosit ölçüm metodu iyi, güvenilir bir yöntem olarak kabul edilebilir. Bu sonuçlar birçok laboratuvarın çalışmasını kolaylaştıracak bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

#### KAYNAKLAR

1. Cavill I. (1993) : The rejected reticulocyte. *Br J Haematol* 84, 563-568
2. Deiss A, Kurth D. (1970) Circulating reticulocytes in normal adults as determined by the new methylene blue method. *Am J Clin Pathol* 53, 481-486
3. Lofsness K.G., Kohnke M.L. & Geier N.A. (1994) Evaluation of automated reticulocyte counts and their reliability in the presence of Howell-Jolly bodies. *American Journal of Clinical Pathology* 101, 85-90.
4. Lohmann R.C., Crawford L.N. & Wood D.E. (1994) Proficiency testing in reticulocyte counting. *Clinical and Laboratory Haematology* 16, 57-64.
5. Newman T.B. & Easterling M.J. (1994) Yield of reticulocyte counts and blood smears in term infants. *Clinical Pediatrics* 2, 71-76.
6. Peebles d., Hochberg A. & Clark T. (1981) Analysis of manual reticulocyte counting. *American Journal of Clinical pathology* 76, 713-717
7. Savage R., Skoog D. & Rabinovitch A. (1985) Analytical inaccuracy and imprecision in reticulocyte counting. *American Journal of Clinical Pathology* 76, 713-717
8. Lohmann RC, Crawford Ln, Wood DE. (1994) Proficiency testing in reticulocyte counting. *Clin Lab Haemat* 16, 57-62
9. Lee LG, Chen CH, Chiu LA. (1986) Thiazole orange : A new dye for reticulocyte analysis. *Cytometry* 7, 508-515
10. Tichelli A, Gratwohl A, Driessen A, Mathys S, Pfeifferkorn E, Raganass A. (1990) Evaluation of the SysmexR-1000. An automated reticulocyte analyser. *Am J Clin Pathol* 93, 70-78
11. Coulter. Evaluation of the Coulter Reticulocyte Method on the Coulter STKS and MAXM. 1-11
12. Hall R. & Malia R.G. (1991) *Medical Laboratory Haematology*, 2nd Edition. Butterworth-Heinemann, Oxford
13. Brugnara C., Hipp M.J., Irving P.J. et al. (1994) Automated reticulocyte counting and measurement of reticulocyte counting and measurement of reticulocyte cellular indices. Evaluation of the Miles H3 blood analyser. *American Journal of Clinical Pathology* 102, 623-632



14. J.I.Davies, M.S.Smyth, J.H.J.Martin (1997) Automated reticulocyte counting: evaluation of the Culter STKS Haematology Analyser reticulocyte counting function 19, 89-92
15. K.Emek, G. Haklar, Ö. Şirikçi . (1997) Retikülosit İndeksi, *Biyokimya Dergisi*, 22( 3), 16-21
16. Davis B.H., Brigelow N.C., Koepke J.A. et al (1994) Flow cytometric reticulocyte analysis-Multiinstitutional interlaboratory correlation study. *American Journal of Pathology* 102, 468-477
17. Van Peteghem M, cartuyvels R, De Schouwer P, Van Duppen V, Goossens W, Van hove L.(1993) Comparative evaluation of three flow cytometers for reticulocyte enumeration. *Clin Lab haemat* 15, 103-109
18. Corash L., Rheinschmidt M., Lieu S., Meers P.&Brew E. (1998) Enumeration of reticulocytes using fluorescence-activated flow cytometry. *Pathology Immunopathology Reserch* 7, 381-394.
19. Ferguson D.J., Lee S.& Gordon P.A.(1990) Evaluation of reticulocyte counts by flow cytometry in a routine laboratory correlation study. *American Journal of Clinical Pathology* 102, 468-477.
20. Bruce H.Davis & Nancy C. (1993) Flow Cytometric Reticulocyte Analysis and reticulocyte maturity index. *Annals New York Academy of Sciences* 281-290
21. G. d'Onofrio, Young Ran Kim, S. Schulze, T.Lorentz, K.Dögner, W. Goossens (1997) Evaluation of the Abbott Cell Dyn 4000 automated fluorescent reticulocyte measurements: comparison with manual Facscan And Sysmex R 1000 methods 19, 253-260