



## *Coulter® GEN•S™ Sisteminin Retikülosit Sayımındaki Performansı(\*)*

### *Reticulocyte performance on the Coulter® GEN•S™ System*

C. KESSLER<sup>1</sup>

S.J. MACHIN<sup>2</sup>

Y. POLLARD<sup>2</sup>

D. GRANT<sup>2</sup>

B. SHERIDAN<sup>3</sup>

C.CHARLES<sup>3</sup>

K. KRAEMER<sup>3</sup>

R.V. PIERRE<sup>4</sup>

#### ÖZET

Bu çalışma COULTER® GEN•S™ Sisteminin otomatize retikülosit sayımındaki performansını değerlendirmek üzere üç ayrı klinik merkezde gerçekleştirildi. IntelliKinetics™ Application ve AccuGate™ bilgisayar yazılımları kullanılarak yapılan çalışmalarda, sistemin otomatize retikülosit sayımındaki performansının memnuniyet verici düzeyde olduğu görüldü. Belirgin derecede anormal özellikler taşıyan numunelerin analizlerinde bile aynı örneklerin tekrar çalışılması sonucunda elde edilen farklılıklar, RET% parametresi için -0.01 ile 0.04 arasında, RET# parametresi için ise -4 ile  $3 \times 10^9/L$  arasında değişiklik gösterdi. Doğruluk (accuracy) da kabul edilebilir düzeyde bulundu. Normal dışı bütün numuneler analize dahil edildiğinde bile, bias'ın RET% için -1.0 ile 0.4 arasında ve RET# için -9 ile 23 arasında değiştiği görüldü. Bütün normal dışı özellikleri işaretleme açısından, GEN•S ile mukayese edilen sistemler arasında %76.9 ile %89.3 arasında değişen oranda uyumluluk olduğu görüldü. Bu çalışma, COULTER® GEN•S™ Sisteminin, rutin laboratuvar ortamında otomatize retikülosit sayımı gereksinimini karşılayabilecek özelliklere sahip olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Hematoloji otomasyonu, COULTER® GEN•S™ Sistemi, retikülosit

#### ABSTRACT

Performance of the automated reticulocyte counting on the COULTER® GEN•S™ System was assessed at three clinical sites. Satisfactory performance of the automated reticulocyte was demonstrated using the new In-

telliKinetics™ Application and AccuGate™ Software. Paired imprecision for RET% gave mean differences that ranged between -0.01 and 0.04, while RET# mean differences ranged between -4 and  $3 \times 10^9/L$ , even when grossly abnormal specimens were included in the analysis. Accuracy was acceptable, with observed biases between -1.0 and 0.4 for RET% and -9 and 23 for RET#, even when all flagged specimens were included in the analysis. Overall flagging agreement between the GEN•S and instrument systems comparator ranged between 76.9 and 89.3%. The study suggests that the COULTER GEN•S System will meet the need for automated reticulocyte instrumentation in tertiary care or commercial reference laboratory environment with patient specimens similar to those tested in this study.

**Keywords:** Hematology automation, COULTER® GEN•S™ System, Reticulocyte

#### GİRİŞ

Retikülosit sayımı ve eritropoetik aktivite değerlendirilmesinde, otomatize hematoloji ve flow sitometri metodları, manuel gözle sayım metodunun ve halen bazı hematoloji cihazlarında bulunan yarı otomatik sayım metodlarının yerini almaya devam ediyor(1). COULTER® GEN•S™ Sisteminde bulunan retikülosit sayımı metodu bir laboratuvara, sırf bu iş için bir flow sitometre satın alma gereksinimi olmaksızın otomatize retikülosit sayabilme imkanı sağlar. Bu çalışmada, COULTER® GEN•S™ Sis-

1 Coulter Corporation, Miami, FL

2 University College Hospital, London, WC1E 6AU, UK

3 MDS Laboratories, Toronto, Ontario Canada

4 USC School of Medicine/Los Angeles County Hospital, Los Angeles, CA

(\*) Bu yazı Laboratory Hematology Dergisinin 1997, 3: 41-47 sayısından tercüme edilmiştir.



teminin otomatize retikülosit sayma performansı üç ayrı klinik merkezde değerlendirildi. Bilgiler, COULTER® GEN•S™ Sisteminin seri üretim öncesi versiyonları kullanılarak toplandı.

Retikülosit sayımlarının doğruluğu, çeşitli klinik patolojilere sahip örnekler kullanılarak değerlendirildi. Özellikle manuel veya flow-cell metodlarıyla intereferans yapan maddeleri içeren örnekler seçildi. GEN•S ile elde edilen neticeler, manuel retikülosit sayım sonuçları, COULTER MAXM analizörü ve Sysmex® R-1000 ile elde edilen sonuçlarla mukayese edildi. Ayrıca, cihazın anormal hücre morfolojisini belirleme yeteneği de değerlendirildi.

## METODLAR

### Teknoloji

GEN•S, bir kan örneğinin aspirasyonu ile kırmızı kan hücreleri, trombosit morfolojisi ve lökosit formülü dahil olmak üzere CBC neticeleri ve retikülosit sayımı sonuçlarını verebilme özelliğine sahiptir. VCS (volum, conductivity ve scatter) teknolojisinin retikülosit sayımı için etkin bir şekilde kullanılabilmesi, daha önce COULTER STKS ve MAXM hematoloji analizörleri kullanılarak kanıtlanmıştır(2-4). GEN•S ölçüm sistemi, IntelliKinetics™ Application ve AccuGate™ Software programları kullanılarak tamamen otomatize edilmiş ve daha kullanışlı bir hale getirilmiştir.

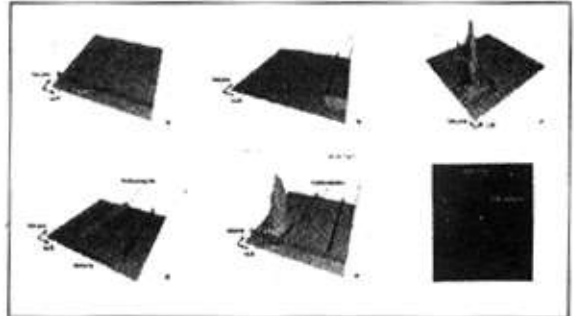
IntelliKinetics™ Application, laboratuvar ortamında meydana gelebilen değişimlerin kontrolüne yardımcı olmak üzere geliştirilmiş hardware ve software yönetim aracıdır. Bu araç sayesinde, zamanın, reaktiflerin reaksiyon sıcaklığının ve hacim ölçümlerinin otomatik olarak ayarlanması yoluyla retikülosit boyanma reaksiyonu hassas bir şekilde kontrol edilmektedir. Retikülositlerin boyanması için, modifiye edilmiş yeni metilen mavisinin 200 µl'si ısıtılır ve 31µl hasta kan örneği ile 37°C'de inkübe edilir. GEN•S, retikülosit sayım siklusu sırasında, ortam sıcaklığındaki değişiklikleri izleyip gereken ayarlamaları yaparak, kan boya karışımının bulunduğu clearing chamber'a eklemeye önce clearing reaktifinin sıcaklığını optimum hale getirir. Fazla boyalardan arındırılan örnek, bundan sonra flow cell'e gönderilir.

Gelişmiş elektronik sinyaller ve kontrollü bir şekilde gerçekleştirilen retikülosit reaksiyonu kom-

binasyonu sayesinde flow cell'de daha iyi bir sinyal/noise oranı elde edilir. Bu sayede, VCS teknolojisi(5) problemlerine ve analiz programına daha net hale getirilmiş data sinyalleri gönderilir.

Kırmızı hücreler önce hidrodinamik olarak odaklanır, ardından da hacim, ışık saçılımı ve opasiteleri ölçülerek alt grupların doğru ve hassas bir şekilde birbirinden ayrılması sağlanır. Hacim ölçümü Coulter'ın elektriksel impedans prensibi kullanılarak gerçekleştirilir. Opasite ölçümleri, hücre hacmi, hücrenin iç yapısı ve yoğunluğu ile ilişkili olan hücre iletkenliği hakkında bilgi sağlar. Opasite aynı zamanda kırmızı hücrelerin, hücre kalıntılarında ve kırmızı kan hücresi dışındaki hücrelerden ayrılmasına da yardımcı olur. Helyum-neon laser probu kullanılarak sağlanan ışık saçılım okumaları, hücre hacminden etkilenmeksizin hücrelerin iç yapısı, granülaritesi ve yüzey morfolojisi hakkında bilgi sağlar.

Liste halinde toplanan bilgiler, AccuGate Software sayesinde, örtüşen hücre popülasyonlarını tanımlamaya yardımcı olan istatistik yöntemler uygulanarak analiz edilir. Kırmızı kan hücreleri matür veya immatür olma açısından var-yok şeklinde iki gruba ayrılamaz. Bu iki grup arasında tedrici bir devamlılık vardır. AccuGate Software, vizüel olarak örtüşme gösteren küçük hücre alt popülasyonlarını birbirinden ayırmak amacıyla nonlineer ayırma teknikleri ve çoklu rezolüsyon analizi kullanır (bkz. Şekil 1). Separasyonların düzensiz olması durumunda, VCS teknolojisi kriterlerine göre normal



Şekil 1. AccuGate Software kullanılarak gerçekleştirilen retikülosit analizinin iki boyutlu gösterimi. A. Önce trombositler sınıflandırılır. B. Sonra beyaz hücreler tanımlanır. Çekirdekli kırmızı hücreler aynı lokalizasyonda sınıflamaya tabi tutulur. C. Olgun kırmızı hücreler, Coulter'ın matematiksel mikroskopi metodu kullanılarak immatür retikülositlerden (D) ayrılır. E ve F. İzolasyon işleminden sonra retikülositlerin olgunluk derecesi hesaplanabilir. Hücre popülasyonları rutin olarak iki veya üç boyutlu olarak gösterilir.

olarak tanımlanan hücre kümelerine, sayı ve lokalizasyonlarına bakılmaksızın, tekrarlayan analizler uygulanır. Periferik kan yaymasında anormal kırmızı hücre morfolojisi tespit edilmesi durumunda, örtüşme ve kayma gösteren hücre popülasyonlarına, "retikülosit gating" algoritması kullanılarak uyumlu-yıcı konturlama (adaptive contouring) uygulanır.

Adaptive gating uygulamasının çeşitli yararları vardır. "Yalnızca Araştırma Amaçlı" uyarısı ile rapor edilen yeni parametreler(6) ve yeni uyarı işaretleri kullanılması (flagging), özellikle morfolojik anormallikler bulunduğu sonuçların doğruluğuna (accuracy) ve kesinliğine (precision) katkıda bulunur. Yeni kullanılmaya başlanan "Yalnızca Araştırma Amaçlı" parametreler arasında, immature retikülosit fraksiyonu (IRF), ortalama retikülosit hacmi (MRV), ortalama sferik hücre hacmi (MSCV), yüksek ışık saçılım yüzdesi (HLR%) ve bunun mutlak sayısı (HLR#) bulunur. Yeni uyarı işaretleri arasında ise "Verify Retic" ve "Abnormal Retic Pattern suspect" bulunur. "Yalnızca Araştırma Amaçlı" uyarılarıyla, sickle, thalassemia veya interference gibi yönlendirici bir tanımlama yapılarak, 'Abnormal Retic Pattern' işareti daha ileri alt kategorilere ayrılır.

Retikülosit bilgileri, dansiteye bağlı renk artışı ve hücre kategorilerini de içeren tarzda, çok boyutlu formatlarda sunulabilir. Kullanıcı, matür kırmızı hücreleri, immatüre kırmızı hücreleri (retikülositler), trombositler ve/veya beyaz kan hücrelerini, kırmızı hücre dataplot'u üzerinde gösterme fonksiyonunu isteğe bağlı aktif hale getirebilir veya kapatabilir.

#### Protokol

Dört haftalık bir dönem boyunca yaklaşık olarak 200 kan örneği analiz edildi. Bu örnekler, laboratuvarlara rutin analiz için gelen, K3EDTA ile toplanmış, ve oda sıcaklığında bekletilmiş numuneler arasından seçildi. Numuneler, normal ve anormal neticelerin elde edildiği, çeşitli klinik servislere hizmet veren üç klinik laboratuvara gelen hastalara aitti (bkz. Tablo 1). Mukayese amacıyla kullanılan retikülosit sayımı çalışmaları, her bir laboratuvarın kendi standard uygulamasına göre yapıldı.

**Tablo 1.** Analiz edilen örneklerin klinik tanıları.

Hematolojik		Diğer	
ALL	9	Karın Ağrısı	2
AML	5	Abn., yorumsuz	80
CGL/CML	10	Anemi	3
CLL	2	Antenatal	2
CMML	5	Kemoterapi	6
ET	1	Çöliak hastalığı	
Hairy cell	1	Kanser	5
Hereditör Sferositoz	1	DVT	1
Hb G/D	1	Hematüri	1
Hb S+	37	HIV+	1
Hb SC	2	Trombosit artışı	1
MDS	8	Sarılık	3
Miyelofibrozis	2	Jüvenil artrit	2
NHL	2	Karaciğer hastalığı/yetmezlik	2
Lenfoproliferatif	2	Sitmo/anamnezde	4
SLE	1	Mikrositoz	1
Talasemi++	29	Miyozit	1
TTP	1	Normal	52
Onkoloji	1		
PPH	1		
Pankreatit	1		
Postoperatif	3		
Preoperatif	1		
Solunum yetmezliği	1		
Boğaz ağrısı	1		
Vaskülit	1		

+ Bir vaka, 'sickle trait', geri kalanlar orak hücre hastalığı olarak bildirilmiştir.

++ 26 hasta ile ilgili açıklamalar şu şekildedir: beta veya talasemi trait (5), talasemi major (7), talasemi intermedia (1), yalnızca talasemi (13)

Manuel retikülosit sayımları, Miller diski kullanılarak yapıldı (7). Mukayese için kullanılan Sysmex® R-1000 sistemi, fluoresin olarak Auramine O kullanan bir flow sitometredir (8). COULTER MAXM ise, yeni Metilen Blue supravital boyası kullanarak yarı otomatik retikülosit sayımı yapar. Bütün mutlak sayımlar standard uluslar arası birim olan  $10^9/L$  birimiyle rapor edildi veya bu birime dönüştürüldü.

GEN•S sistemi ile yapılan retikülosit sayımlarının performans karakteristikleri daha önce yapılan bir çalışmada belirlenmişti (9). Bu çalışmada, aynı örnekten yapılan çift çalışmaların presizyonunun, doğruluğunun ve klinik kullanışlılığının değerlendirilmesi için analizler yapıldı. Uyarı işareti olan ve olmayan bütün sonuçlar analize dahil edildi.

Çift çalışmaların presizyonu, fark analizi (bias analysis) yapılarak, hastaların örneklerinden elde edilen tekrar çalışma sonuçlarının karşılaştırılmasıyla belirlendi.



Korelasyon değerlendirmesi, her laboratuvarın rutin metoduyla elde edilen sonuçların (x-axis) GEN•S sistemi ile elde edilen sonuçlarla (y-axis) mukayesesi ile yapıldı ve saçılım grafikleri (scatterplot) şeklinde gösterildi. Bu mukayeseler, retikülosit yüzdesi ve mutlak sayısı ile sınırlı tutuldu (Yalnızca Araştırma Amaçlı parametrelerin performansı başka yayınlarda değerlendirilecektir). Least-squares regresyon ve fark analizleri, Microsoft® EXCEL Version 5.0 kullanılarak gerçekleştirildi.

Uyarı işareti koyma (flagging) ile ilgili performans değerlendirmesi, tek tek laboratuvar bazında yapıldı. Eğer 'Verify Retic' veya 'Abnormal Retic Pattern' şüphesini belirten uyarı işareti ve/veya linearitynin aşıldığını gösteren '+' uyarı işareti elde edildiye, GEN•S retikülosit sonuçları pozitif olarak (anormal enstruman) kabul edildi. 'Platelet Discrimination Error', 'Retic Overflow Error' ve/veya % ya da # için cihazın sayma aralığı aşıldığını gösteren "\*" uyarı işareti bulunması durumlarında R-1000 pozitif (anormal enstruman) olarak kabul edildi. MAXM ise, neticenin yanına R harfi konularak anormal bir patern bulunduğunun bildirildiği durumlarda veya linearitynin aşıldığını gösteren '+' işareti bulunduğu pozitif (anormal enstruman) olarak kabul edildi.

## SONUÇLAR

### Çift çalışmaların impresizyonu

Çift çalışmalardan elde edilen farkların impresizyonu 207 çift örnek kullanılarak yapıldı. Ortalama fark (çalışma 1 - çalışma 2) şeklinde hesaplandı. Sonuçlar Tablo 2, Tablo 3, Şekil 2A ve Şekil 2B'de gösterilmektedir.

**Tablo 2.** Üç farklı merkezde çift çalışmaların impresizyonu. Bütün neticeler değerlendirmeye alınmıştır.

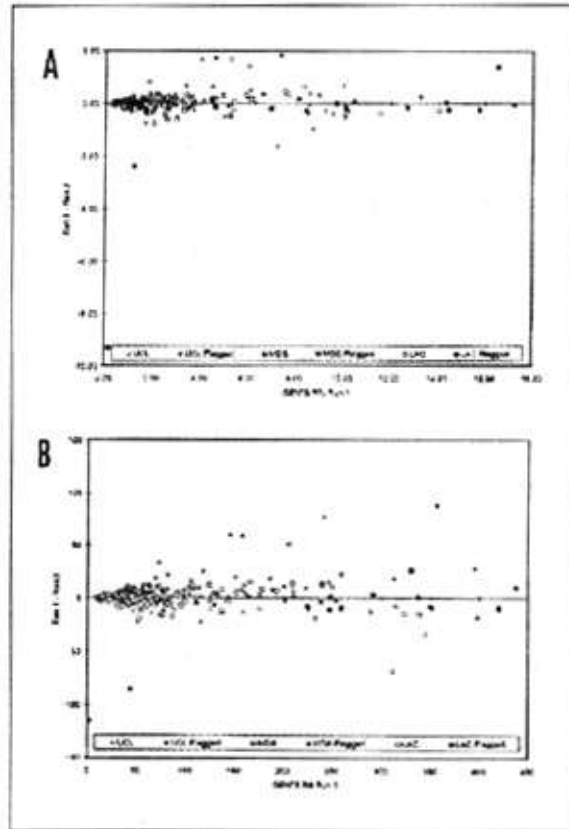
	UCL	MDS	LAC
n	173	55	36
RET% mean difference	0.1	-0.1	-0.3
RET% SD	0.38	0.44	1.55
RET% minimum value	0.2	0.4	0.1
RET% maximum value	13.2	17.3	16.0
RET# mean difference	3	-2	-4
RET# SD	15	14.18	19.83
RET# minimum value	7	13	2
RET# maximum value	438	354	429

**Tablo 3.** Üç farklı merkezde çift çalışmaların impresizyonu. Yalnızca uyarı işareti bulunmayan neticeler değerlendirmeye alınmıştır.

	UCL	MDS	LAC
n	150	49	29
RET% mean difference	0.04	-0.04	-0.01
RET% SD	0.33	0.24	0.18
RET% minimum value	0.2	0.4	0.4
RET% maximum value	10.5	14.3	7.5
RET# mean difference	2	-1	-0.2
RET# SD	12.94	7.94	5.59
RET# minimum value	7	13	11
RET# maximum value	415	354	208

### Doğruluk

Çalışmanın yapıldığı her bir laboratuvarında mukayese için kullanılan metodlar farklı olduğu için, doğruluk her bir laboratuvar için ayrı ayrı değerlendirildi. GEN•S'in neticenin başka bir metodla teyid edilmesinin gerektiğini belirten 'Verify Retic' şüphe işareti vermesi durumunda bu sonuçlar değerlendirme dışı tutuldu. Sonuçlar, Tablo 4, Tablo 5, Şekil 3A-F'de verilmektedir.



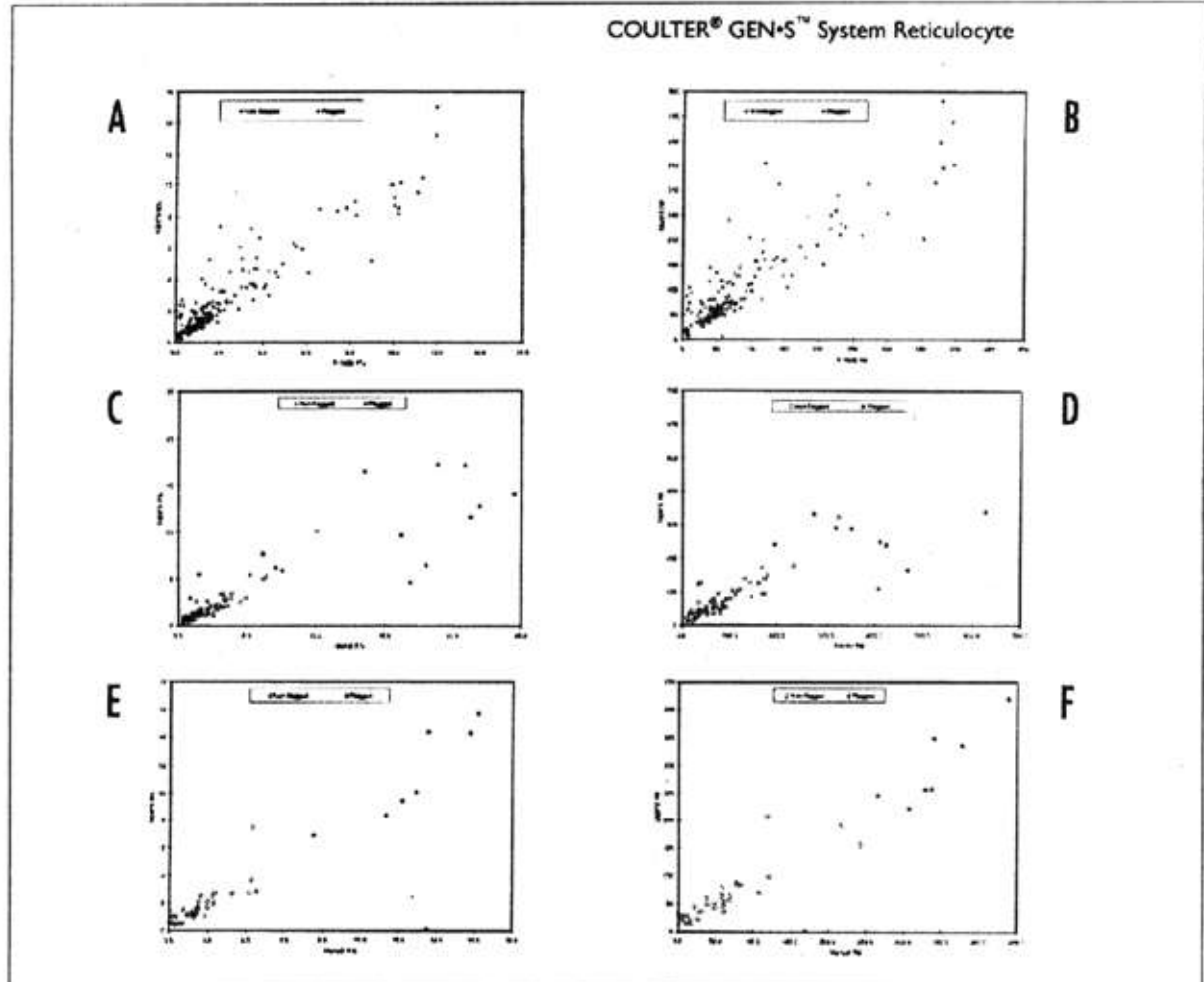
**Şekil 2.** Retikülosit impresizyonu, A. RET%. B. Ret#. UCL: University College of London. MDS: MDS laboratories. LAC: Los Angeles County Hospital.

**Tablo 4.** Üç farklı merkezde doğruluk (accuracy).  
Bütün neticeler değerlendirmeye alınmıştır.

	UCL/R-1000	MDS/MAXM	LAC/Manual
n	178	75	40
RET%			
Mean difference	0.4	-1.0	-0.4
SD	1.00	2.89	2.37
Mean (comparator)	2.3	4.4	3.8
Mean (GEN-S)	2.8	3.4	3.4
Range	0.1-15.0	0.4-24.5	0.0-16.2
Regression line	0.930x+0.6	0.611x-0.7	0.743x+0.6
r	0.932	0.896	0.872
RET%			
Mean difference	17	-23	-9
SD	39.3	68.7	41.8
Mean (comparator)	84	116	111
Mean (GEN-S)	101	91	102
Range	3-480	11-628	0-438
Regression line	0.925x+23	0.558x-27	0.817x+11
r	0.901	0.851	0.942

**Tablo 5.** Üç farklı merkezde doğruluk (accuracy).  
Uyarı işareti bulunan neticeler değerlendirilmeye alınmamıştır.

	UCL/R-1000	MDS/MAXM	LAC/Manual
n	138	60	32
RET%			
Mean difference	0.4	2.1	0.2
SD	0.77	1.69	.83
Mean (comparator)	1.5	3.5	1.6
Mean (GEN-S)	2.0	2.4	1.8
Range	0.1-10.2	0.5-10.1	0.0-7.5
Regression line	0.800x-0.05	0.818x+0.1	0.830x-0.5
r	0.890	0.936	0.800
RET%			
Mean difference	17	-10	3
SD	31.2	23.7	27.2
Mean (comparator)	61	81	59
Mean (GEN-S)	78	71	62
Range	4-312	11-324	0-243
Regression line	0.727x+4	0.812x+5	0.741x+18
r	0.856	0.915	0.874



**Şekil 3.** Retikülosit sayımının doğruluğu (accuracy). A. University College of London. RET%. B. University College of London. Ret#. C. MDS laboratories. RET%. D. MDS laboratories. Ret#. E. Los Angeles County Hospital. RET%. F. Los Angeles County Hospital. Ret%.





### Uyarı işareti koyma değerlendirilmesi

Uyarı işareti sayıları, üç ayrı merkezde kullanılan üç GEN•S arasında ve GEN•S ile mukayese için kullanılan enstrumanlar arasında karşılaştırıldı. Gözlenen uyarı işareti sayıları Tablo 6'da gösterilmektedir. Tablo 7, R-1000 ve GEN•S'te verilen uyarı işaretlerinin dağılımını göstermektedir.

**Tablo 6.** Üç farklı merkezde uyarı işareti verme oranları

	GEN•S positive	GEN•S negative
R-1000 positive	14/178 (7.9%)	17/178 (9.6%)
R-1000 negative	9/178 (5.0%)	138/178 (77.5%)
MAXM positive	7/75 (9.3%)	6/75 (8.0%)
MAXM negative	2/75 (2.7%)	60/75 (80.0%)
Manual method	9/69 (13.0%)	60/69 (87.0%)

**Tablo 7.** R-1000 ve GEN•S'te verilen uyarı işaretlerinin dağılımı

	GEN•S ARP <sup>1</sup> (interferencoz)	GEN•S ARP (thalassemia)	GEN•S ARP (sickle)	GEN•S nonlagged
RF*, R%*				1
RF*, R%*, PDE <sup>2</sup> , ROE <sup>3</sup>			1	
PDE, ROE	2	3	2	4
PDE only	2	1	2	11
ROE only			1	
R-1000 nonlagged		1	8	138

<sup>1</sup>ARP is Abnormal Retic Pattern flag.

<sup>2</sup>PDE is Platelet Discrimination Error.

<sup>3</sup>ROE is Reticulocyte Overflow Error.

Çalışmanın yapıldığı UCL ve MDS merkezlerinde 'Verify Retic' uyarı işareti hiç gözlenmedi. Hiçbir merkezde GEN•S sistemi ile %0-30 ve 0-750x10<sup>9</sup>/L arasındaki linearite aralığını geçen sonuç elde edilmedi. Bu arada, R-1000 cihazının bulunduğu laboratuvarın bu cihaz tarafından verilen uyarı işaretlerini anlamlı olarak kabul etmediğini ve bu uyarı işaretlerini neticelerin doğruluğu veya kesinliğinin bir göstergesi olarak dikkate almadığını belirtmenin önemli olduğunu düşünüyoruz.

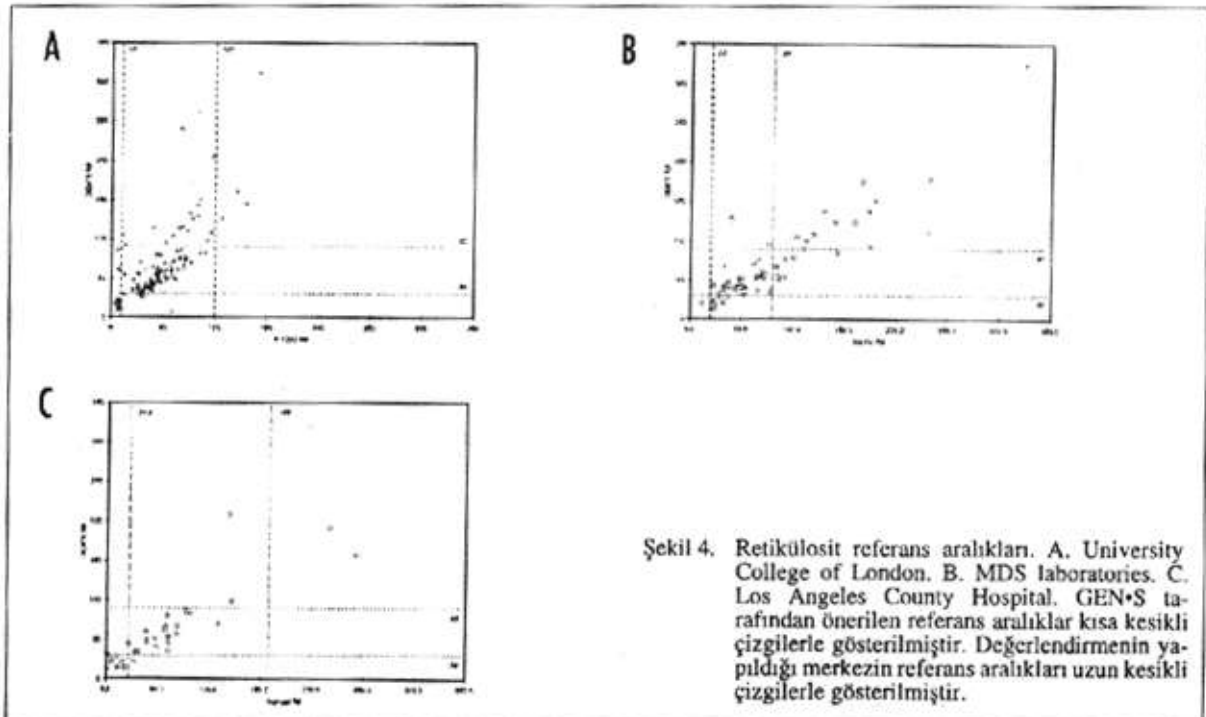
### Referans Aralıkların Mukayesesi

Sonuçlar, laboratuvarların mevcut referans aralıkları ile ve GEN•S için güvenlik ve etkinlik datalarının toplandığı sırada belirlenen 'tavsiye edilen referans aralık' ile mukayese edildi. Sonuçlar Şekil 4A-C'de gösterilmektedir.

### TARTIŞMA

COULTER GEN•S retikülosit sayımını (oran ve mutlak değer olarak) başarılı bir şekilde otomatize eden bir sistemdir. Bu sistem aynı zamanda referans laboratuvarlarında ve rutin laboratuvarlarda karşılaşılan morfolojik anormalliklerin belirlenmesi olanağı da sağlar.

Aynı numunelerin tekrar çalışmaları ile elde edilen sonuçların değişkenliği (variability), uyarı işaretli neticeler değerlendirmeye dahil edilse de edilmese de



**Şekil 4.** Retikülosit referans aralıkları. A. University College of London. B. MDS laboratories. C. Los Angeles County Hospital. GEN•S tarafından önerilen referans aralıklar kısa kesikli çizgilerle gösterilmiştir. Değerlendirmenin yapıldığı merkezin referans aralıkları uzun kesikli çizgilerle gösterilmiştir.

kabul edilebilir sınırlar içinde bulundu. Morfolojik olarak anormallikler içeren çok sayıda numunenin çalışmaya dahil edilmiş olmasına rağmen, farkların ortalama ve SD değerleri kabul edilebilir düzeyde idi.

Morfolojik olarak anormallik içeren ve uyarı işaretli örneklerin de değerlendirmeye dahil edilmiş olmasına rağmen, neticelerin doğruluk (accuracy) analizi sonuçları, genel olarak daha önce yayınlanmış çalışmalarda elde edilen sonuçlarla uyumlu bulundu(8,10). GEN•S sisteminin çalışmanın yapıldığı üç laboratuvarın ikisinde retikülosit sayısını hafif düzeyde yüksek olarak ölçtüğü görüldü. GEN•S neticeleri manuel sayım sonuçları ile mukayese edildiğinde bu fazla sayma durumu gözlenmedi. Laboratuvarlar arasında farklılıklar bulunmakla birlikte doğruluk kabul edilebilir düzeyde bulundu.

Doğruluk değerlendirmesinde, düşük düzeylerdeki sonuçların daha çok sayıda olması, %15'ten fazla retikülosit içeren örneklerin çok az sayıda bulunması, uyarı işareti koyma açısından cihazlar arasında geniş bir aralıkta değişkenlik bulunması gibi nedenlerle, lineer regresyon ve korelasyon analizi, fark analizine göre daha az tercih edilebilir durumdadır. İki merkezde elde edilmiş olan bütün uyarı işaretli sonuçlar (hem GEN•S ile hem de mukayese metodlarıyla elde edilenler) hariç tutulduğunda, lineer regresyon ve korelasyon bilgileri daha iyi hale gelmektedir. UCL merkezinde uyarı işaretli sonuçların atılması, GEN•S ve R-100 değerlendirmesinde, yalnızca intercept değerinde bir düzelme sağlamıştır.

Bazı değerler uç değer kabul edilerek değerlendirilmeye alınmamıştır. Bunların çok büyük kısmı uyarı işaretli sonuçlardır. GEN•S'in manuel metodla mukayese edilmesi durumunda uç değer sayısı en az düzeyde, R-1000 ile mukayese edilmesi durumunda ise en yüksek düzeyde bulunmuştur. GEN•S sistemlerinin seri üretim öncesi modellerinde uyarı verme sistemleri kısmi veya tam tıkanma durumlarını da belirtebilecek şekilde tam olarak otomatize edilmemiş olduğu için, değerlendirme dışı bırakılmak zorunda kalınan bazı sonuçlar, tıkanmaya sebep olmuş numunelere ait olabilir. Uyarı verme oranı açısından GEN•S ile R-1000 arasında %85.4 oranında, GEN•S ile MAXM arasında ise %89.3 oranında bir uyumluluk olduğu görülmüştür.

Manuel metod ile GEN•S arasında böyle bir mu-

kayese yapmak iki sebepten dolayı zor olmuştur. Bunlardan birincisi, analiz edilen bütün numuneler için kırmızı hücre morfolojisi ve interferans yapma ihtimali olan maddelerin bulunup bulunmadığı hakkında yeterince bilgi mevcut olup olmaması; ikincisi ise retikülosit analizinin klinik yararının belirlenmesi ve tanımlanması için oturmuş bir klinik standardın bulunmamasıdır. NCCLS H44-P standardı, retikülosit sayımlarının analitik sensitivite ve spesifitesinin belirlenmesi için gerekli bilgileri içerdiği halde klinik yararın değerlendirilmesi ile ilgili bilgiler bu standardda yer almamaktadır(10).

Daha önce parçalanması zor olan hücreler içeren numunelerde uyarı işareti koyma oranının daha yüksek olduğu bildirilmişti. GEN•S AccuGate Software'ini anormal hücre popülasyonlarına adapte ederek, referans manuel mukayese metodu değerleriyle uyumlu değerlerin elde edilebilmesi avantajını taşımaktadır. Diğer metodlarla teyid çalışması yapılmasını gerektiren uyarı işaretli neticeler nadiren elde edilmektedir.

Bu performans bilgileri, şüphe bildiren spesifik uyarı işaretleri ile karşılaşıldığında, manuel retikülosit sayımı yapmak veya boyalı preparattan kırmızı hücre morfolojisini değerlendirmek yerine otomatize retikülosit sayım neticelerinin dikkate alınmasının uygun olduğunu desteklemektedir. Uyarı işaretlerini ihmal etme uygulaması, bazı üreticilerin sistemlerini kullananlar arasında yaygın olarak görülmektedir. Özellikle uyarı işaretlerinin, sonuçların klinik sensitivitesini etkilemediğini belirleyen laboratuvarlar için bu durum geçerlidir. Üreticiler, bu tip sensitivite değerlendirmesi için standard kriterlerin belirlenmesini teşvik etmelidirler.

GEN•S ile mukayese amacıyla kullanılan diğer iki metod arasında fark bulunması, yeni metodoloji ve/veya enstruman sisteminin kullanılmaya başlanması durumunda, laboratuvarın kendi referans aralıkları yerine üretici firmanın önerdiği referans aralıkları kullanmaya başlamadan önce bunların geçerliliğini teyid etmesini gerektirir. Bu çalışmada, GEN•S için önerilen referans aralık manuel metod ve MAXM için önerilen referans aralığa çok yakın bulunmuştur (bkz Şekil 4B ve C). GEN•S ve R-1000 arasındaki fark daha büyüktür (bkz şekil 4A). GEN•S'de kullanılan supravital boya, manuel metodta ve MAXM'de kullanılan boya ile benzer olduğu, ancak R-1000'de kullanılan fluorokrom bo-



yasından farklılık gösterdiği için bu beklenmeyen bir durum değildir. Bu çalışmada gözlenen farklılıklar, son CAP Surveyler'de STKS, MAXM, manuel metod ve Sysmex metodları arasında gözlenen farklar düzeyindedir.

Üreticiler, neticenin uyarı işareti ile rapor edildiği durumlarda bile retiküosit sayımının doğru olmasını sağlayacak sistemleri geliştirmeye devam etmelidirler. Bu durum, sistemlerin performansının değerlendirmesini yapanlardan önemli derecede bilgi akışını gerektirir. GEN•S, herhangi bir değerlendiricinin elde ettiği ham datayı bulunduğu yerden liste modunda merkeze göndermesini sağlayacak şekilde dizayn edilmiştir. Laboratuvarlara uyarı işaretlerini gereksinimlerine uygun bir şekilde kullanabilme olanağı sağlanmıştır. Retiküositlerin doğru bir şekilde değerlendirilmesi ve uyarı işaretleri ile ilgili yenilikler, kullanıcı tarafından tanımlanan karar verme kuralları ve kendi kendini teyid etme sistemi gibi GEN•S çalışma ünitesi bilgisayar programının sağladığı kolaylıklar laboratuvarın etkinliğini ve iş verimini artırmasına yardımcı olur.

#### REFERANSLAR

- 1- College of Amerikan Pathologists: Reticulocyte Survey 1996 Sc RT-C; Participant summary. CAP Surveys Program, 1996.
- 2- Hamilton J, Pollard Y, Grant D, Patterson K, Machin SJ: Evaluation of semi-automated reticulocyte counting method by using the Coulter(STKS-2A blood cell counter. Clin Lab Haematol 17:145,1995.
- 3- Evaluation of the Coulter( reticulocyte method on the Coulter STKS and MAXM. Coulter Corp., PN 4206655A, July 1994.
- 4- Buttarello M, Bulian P, et.al. Reticulocyte by Coulter MAXM VCS (volume, conductivity, light scatter) technology. Clin Chem 12:1930,1996.
- 5- Coulter(STKS with reticulocyte analysis reference manual. Coulter Corp., PN 4237182A, December 1993.
- 6- Coulter(GEN•S System on-line reference manuel. Coulter Corp., PN 4237221, December 1996.
- 7- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Reticulocyte counting by flow cytometry; proposed guideline. NCCLS document H44-P. Villanova, PA: NCCLS,1993,13:18.
- 8- Tatsumi N, Tsuda I, Kojima K, Niri M, Setoguch K. An automated reticulocyte counting method: Preliminary observations. Med Lab Sci 157:180,1989.
- 9- Coulter Corp. Coulter(GEN•S system safety and effectiveness data. Coulter Corp. Technical Monograph, in press.
- 10- Davies SV, Cavill I, Bentley N et.al. Evaluation of erythropoiesis after bone marrow transplantation: Quantitative reticulocyte counting. Br J Haematol 81:563,1992.
- 11- Davis BH. Clinical practice in reticulocyte testing. Insights from the CAP reticulocyte proficiency testing program. CAP Today, 1996, p.25-28.