

## Granulatie-Index (GI) ter vervanging van de microscopische beoordeling van de toxische granulatie van neutrofiële granulocyten

M.P. ZIJLSTRA, A.F. FELLER en M.P.G. LEERS

Een kenmerk van een acute ontstekingsreactie is de aanwezigheid van toxische korreling in de neutrofiële granulocyt. Hiervoor is een microscopische beoordeling van een bloeduitstrijk nodig en is dus tijdrovend. Daar dit een subjectieve beoordeling is, vereist dit de nodige ervaring van de analist. De meetprincipes van moderne automatische bloedanalysers, zoals bijvoorbeeld de hemocytometrie analyzer XE-5000 (Sysmex), berusten op flowcytometrische principes. Zij zijn dus in staat om de korreling (Side Scatter, SSC) van de neutrofiële granulocyten objectief te meten. Hiernaast kan ook informatie over membraancomponenten, celvorm, volume en de totale hoeveelheid van DNA verkregen worden middels een automatische gating methode. De gemiddelde korreling (SSC) van de neutrofiële granulocyten wordt door de XE5000 hemocytometer van Sysmex weergegeven als de NEUT-X waarde. Met behulp van deze NEUT-X waarde kan de zogenaamde granulatie index (GI) berekend worden. Dit is een parameter die in de literatuur beschreven wordt als een objectieve maat voor de korreling van de neutrofiële granulocyten, en corrigeert voor inter-lab variatie. Dit zou de microscopische beoordeling van een bloeduitstrijk kunnen vervangen (1).

Het doel van deze studie was om te onderzoeken of de NEUT-X waarde en de GI index voor onze patiëntenpopulatie in staat is om de mate van korreling goed te voorspellen en hierdoor de subjectieve, tijdrovende microscopische beoordeling van de toxische korreling kan vervangen.

### Materiaal en methoden

De GI onderverdeling is gebaseerd op de standaarddeviatie ( $\pm$  1SD) van de gemiddelde NEUT-X waarde van normale granulocyten zonder toxische korreling. Hiervoor zijn bij circa 100 patiëntenmonsters die in het laboratorium geen afwijkingen lieten zien voor het klein bloedbeeld (Hb, Ht, leukocyten en erythrocyten) de NEUT-X waarden gemeten. Van deze populatie is vervolgens het groepsgemiddelde en de standaarddeviatie berekend. Aan de hand van dit gemiddelde en de standaarddeviatie kunnen de intervallen bepaald worden: GI 0 is het interval van de gemiddelde NEUT-X waarde  $\pm$  1SD, GI 1 is GI 0 - 1SD etc. (zie tabel 1).

Deze distributie laat een normale verdeling rond het gemiddelde zien met 70% van de controles in GI 0, 11% in GI -1 en 17% in GI 1. Vervolgens zijn circa 200 bloedmonsters verzameld die in de microscopische beoordeling van het perifere bloed een toxische korreling van de neutrofiële granulocyten lieten zien (van 1+ tot 3+). Vanwege de subjectiviteit van deze beoordeling is ervoor gekozen om de toxische korreling te laten beoordelen door zeer ervaren analisten. Hierbij werd in de manuele microscopische beoordeling een onderverdeling gemaakt in 3 klassen van toxische korreling: 1+: sporadische aanwezigheid van granules in het cytoplasma die meer intensief aangekleurd zijn dan normaal, 2+: meerdere granules met prominente aankleuring, en 3+: een overmaat van prominent gekleurde granules. Vervolgens is van deze bloedmonsters de bijbehorende NEUT-X waarde opgezocht in het SIS-middleware programma die gekoppeld is met de XE5000. De distributie van de GI is bepaald aan de hand van de eerder berekende intervallen. De one-way ANOVA is gebruikt om de gemiddelden van de verschillende groepen te vergelijken waarna de Tukey-Kramer's test is gebruikt om de gemiddelden van alle groepen onderling te vergelijken.

**Tabel 1.** Distributie van de granulatie index (GI) bij controles en patiënten. Range van NEUT-X waardes is berekend ten opzichte van het gemiddelde van de controle populatie  $\pm$  1SD. GI is granulatie index groep die daar bij hoort, in de kolommen staan de absolute aantallen en de relatieve getallen voor de controle en patiëntenpopulatie.

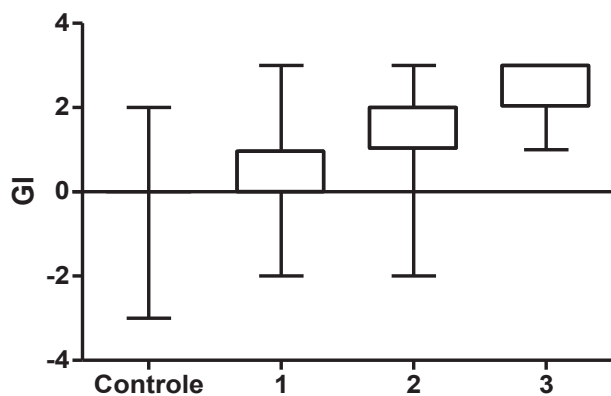
Range (NEUT-X)	GI	Controle (n)	Controle (%)	Patiënten (n)	Patiënten (%)
127,4	<-3	1	1	5	2
127,5-130,1	-2	0	0	8	4
130,2-132,8	-1	11	11	12	5
132,9-138,1	0	72	70	49	22
138,2-140,8	1	18	17	68	30
140,9-143,5	2	1	1	45	20
143,6-146,2	>3	0	0	39	17
Totaal		103	100	226	100

Atrium Medisch Centrum Parkstad, Klinische Chemie & Hematologie, Heerlen

Email: mzijlstra@atriummc.nl

## Resultaten en discussie

Statistische analyse van de resultaten laat zien dat de gemiddelden van de verschillende groepen voor zowel de NEUT-X als GI waarde significant van de controle verschillen. Dit geldt niet alleen voor de controle ten opzichte van de neutrofiële granulocyten met een 1+, 2+ en 3+ toxische korreling, maar ook voor de groepen onderling (controle versus 1+, 2+ en 3+, 1+ versus 2+, 1+ versus 2+ en 1+ versus 3+  $p < 0,0001$  en 2+ versus 3+  $P < 0,05$  figuur 1). Deze resultaten laten zien dat NEUT-X waarde en de GI een goed onderscheidend vermogen hebben voor de aanwezigheid en mate van toxische korreling. Hierdoor kan deze objectieve, geautomatiseerde NEUT-X en GI bepaling de handmatige beoordeling van toxische korreling vervangen. Voor dit onderzoek is de microscopische beoordeling als gouden standaard gebruikt. Hiervan weten we dat dit een subjectieve parameter is. Ondanks een gebrek aan een betere gouden standaard zijn de groepen ruim significant verschillend van elkaar. Dit impliceert dat de voorspellende waarde van de NEUT-X



**Figuur 1.** Gemiddelde GI-waarden van controle en patiënten (onderverdeeld in mate van toxische korreling). De gemiddelden van alle groepen zijn significant verschillend van elkaar.

en GI bepaling die hier naar voren komt zelfs een onderschatting is.

In onze pilot-studie waren er zes patiëntenmonsters waar hypogranulatie in de manuele differentiatie gezien werd. Vijf van deze zes patiënten bleken achteraf bekend te zijn met een MDS/CML.

## Conclusie

Uit dit onderzoek blijkt dat de NEUT-X en GI gebruikt kan worden om de mate van toxische korreling van de neutrofiële granulocyten vast te stellen en kan hierdoor de subjectieve en arbeidsintensieve microscopische manuele beoordeling vervangen. De indeling voor de GI dient elk laboratorium voor zichzelf vast te stellen aan de hand van de spreiding van de NEUT-X waarde van controles. Daar de GI parameter hierdoor corrigeert voor mogelijke interlab-variaties is deze parameter geschikt om resultaten tussen ziekenhuizen te kunnen vergelijken.

Tevens is het mogelijk dat de NEUT-X en GI gebruikt kan worden om hypogranulatie te detecteren, een fenomeen dat bij myelodysplasie en chronische myeloïde leukemie (CML) voorkomt (2, 3).

## References

1. Zimmermann M, Cremer M, Hoffmann C, Weimann K, Weimann A. Granularity Index of the SYSMEX XE-5000 hematology analyzer as a replacement for manual microscopy of toxic granulation neutrophils in patients with inflammatory diseases. *Clin Chem Lab Med.* 2011; 49: 1193-1198.
2. Furundarena JR, Araiz M, Uranga M, Sainz MR, Agirre A, Trassorras M, et al. The utility of the Sysmex XE-2100 analyzer's NEUT-X and NEUT-Y parameters for detecting neutrophil dysplasia in myelodysplastic syndromes. *Int J Lab Hematol.* 2010; 32: 360-366.
3. Le Roux G, Vlad A, Eclache V, Malanquin C, Collon JF, Gantier M, et al. Routine diagnostic procedures of myelodysplastic syndromes: value of a structural blood cell parameter (NEUT-X) determined by the Sysmex XE-2100™. *Int J Lab Hematol.* 2010; 32: e237-e243.