

# *Новые возможности автоматизированного гематологического анализа*

**Сухачева Елена, к.б.н.**

специалист по научной поддержке в области гематологии,

**Beckman Coulter Eurocenter, Нион, Швейцария**

**Духин Андрей, к.б.н.**

Генеральный директор ООО «ЛабТэк Лтд»



Simplify • Automate • Innovate



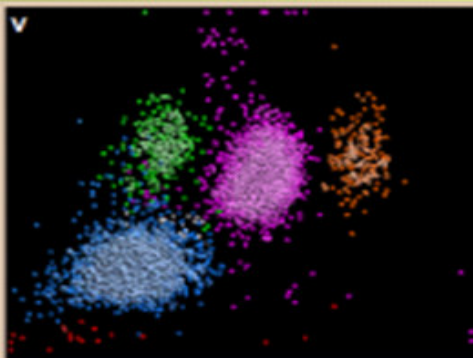
**LH 750**



**DxH800**



**LH 755**



DIFF				
28/10/2008 19:32:53				
Test	Result	Flags	Previous	Days
NE	56.3			
LY	36.7			
MO	3.9	L		
EO	2.5			
BA	0.6			
NE <sup>#</sup>	3.9			
LY <sup>#</sup>	2.6			
MO <sup>#</sup>	0.3			
EO <sup>#</sup>	0.2			
BA <sup>#</sup>	0.0			
NRBC	0.2			

	NE		LY		MO		EO	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
V	159	23.31	97	16.22	170	22.52	143	17.06
C	148	5.70	121	6.64	129	4.16	152	3.61
MALS	127	13.00	84	17.12	91	9.88	193	10.09
UMALS	134	11.85	88	18.53	105	10.04	210	10.13
LMALS	116	18.08	73	19.33	75	13.67	174	12.81
LALS	133	41.96	34	10.30	64	22.74	134	38.73
AL2	135	15.05	68	11.01	112	12.67	117	8.57

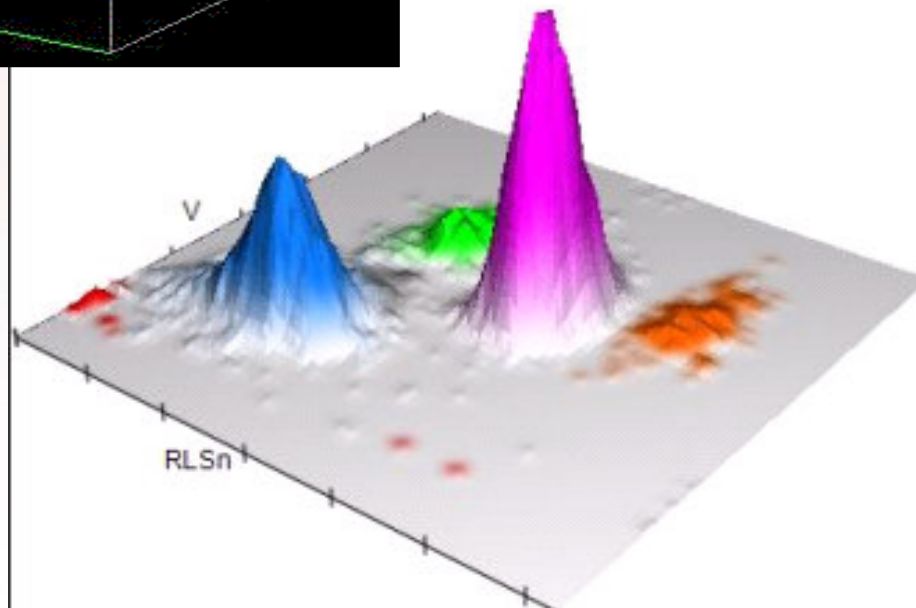
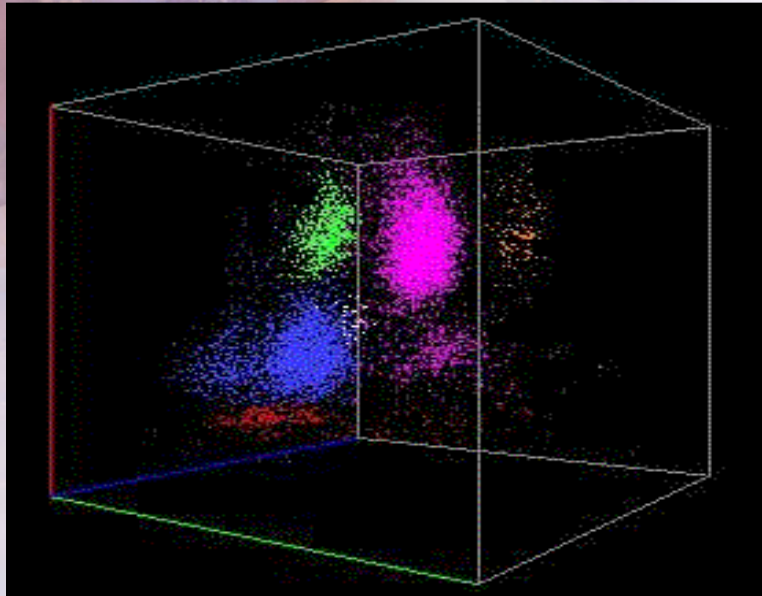


# VCS Технология

**V – Volume**

**C-Conductivity**

**S -Scatter**



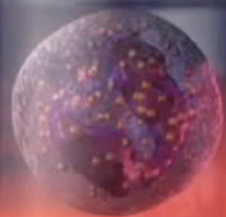
V

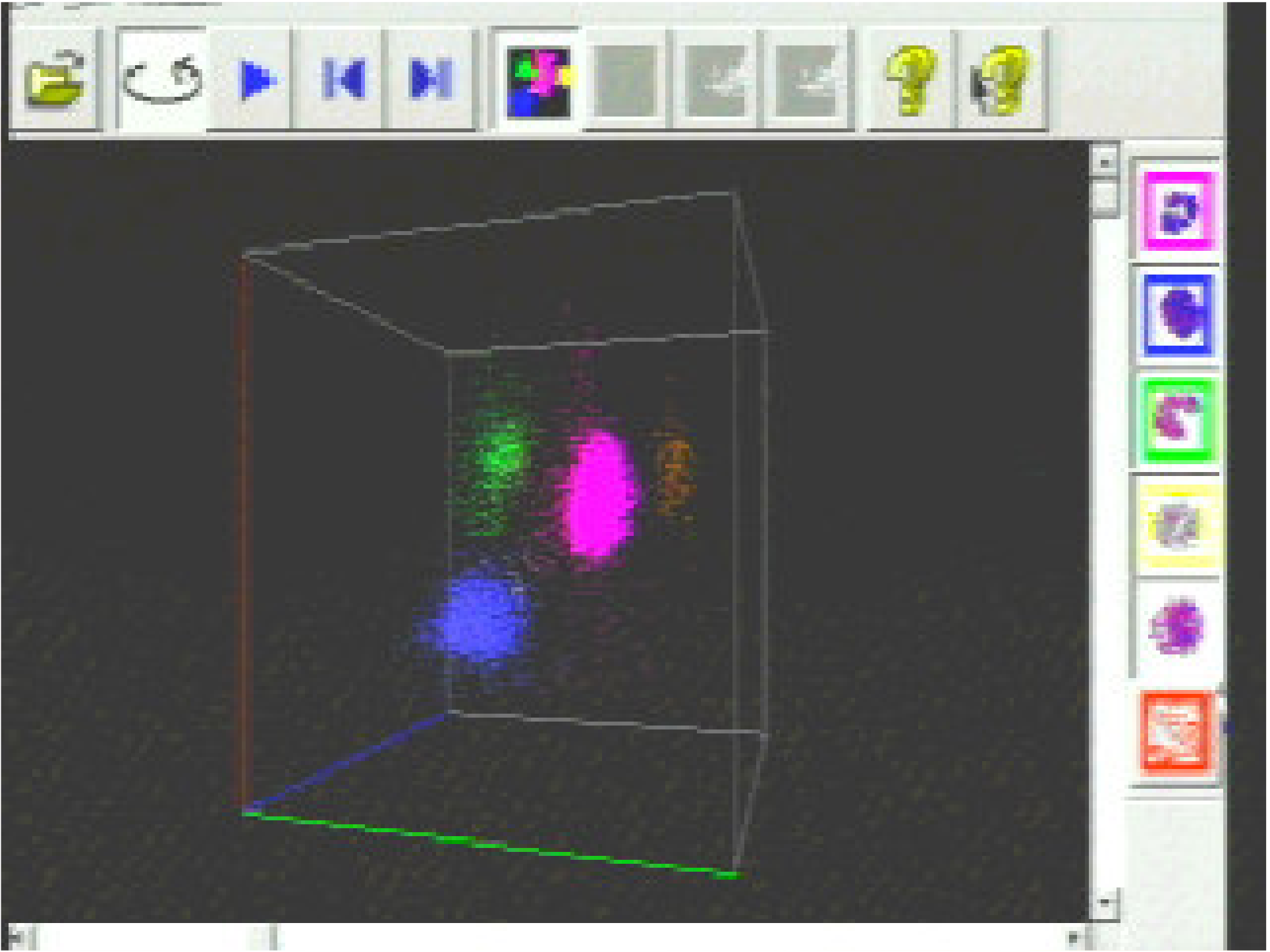


C

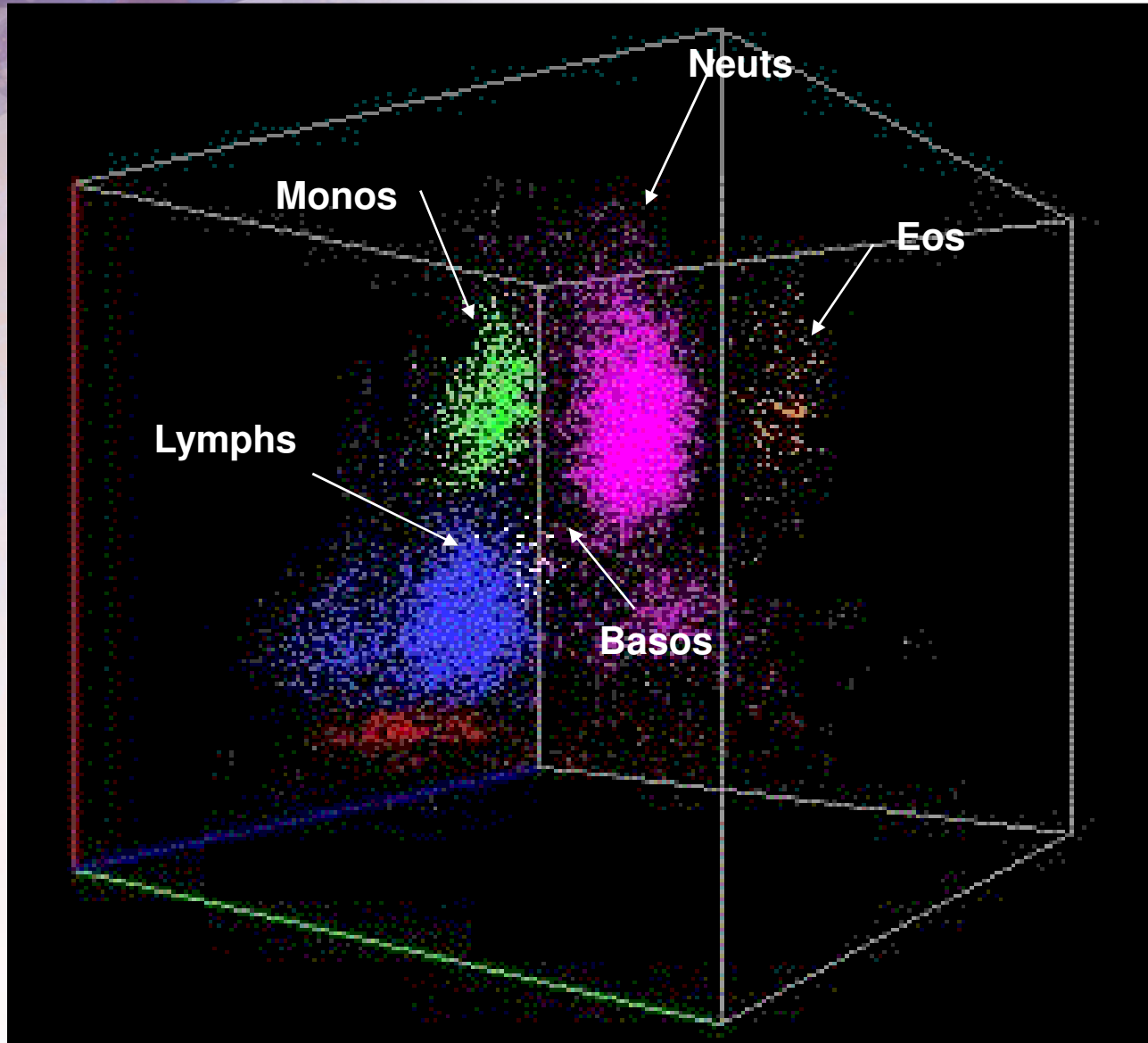


S

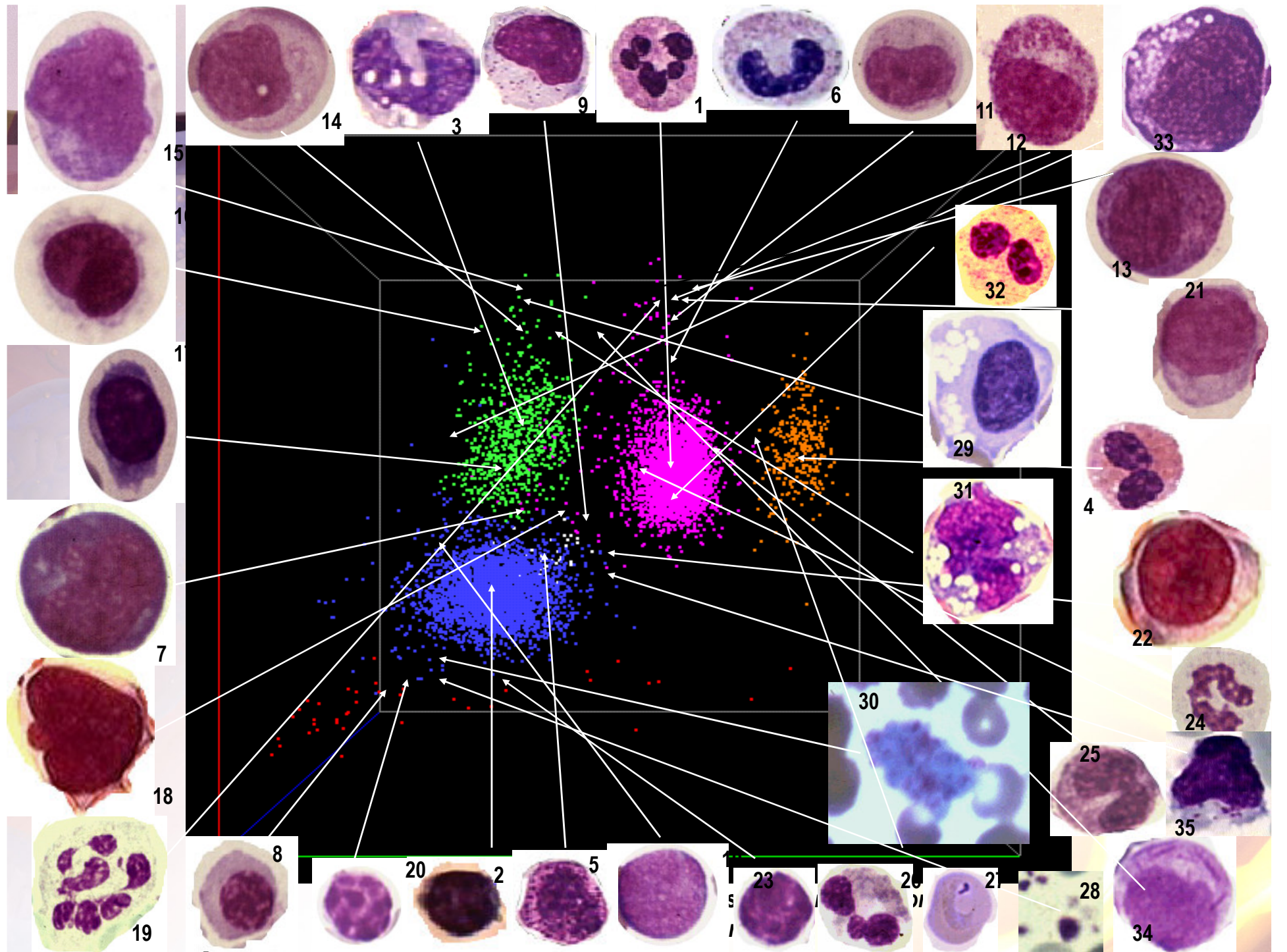





# VCS Technology







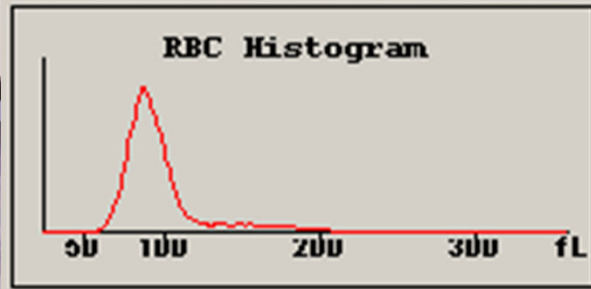


Monos

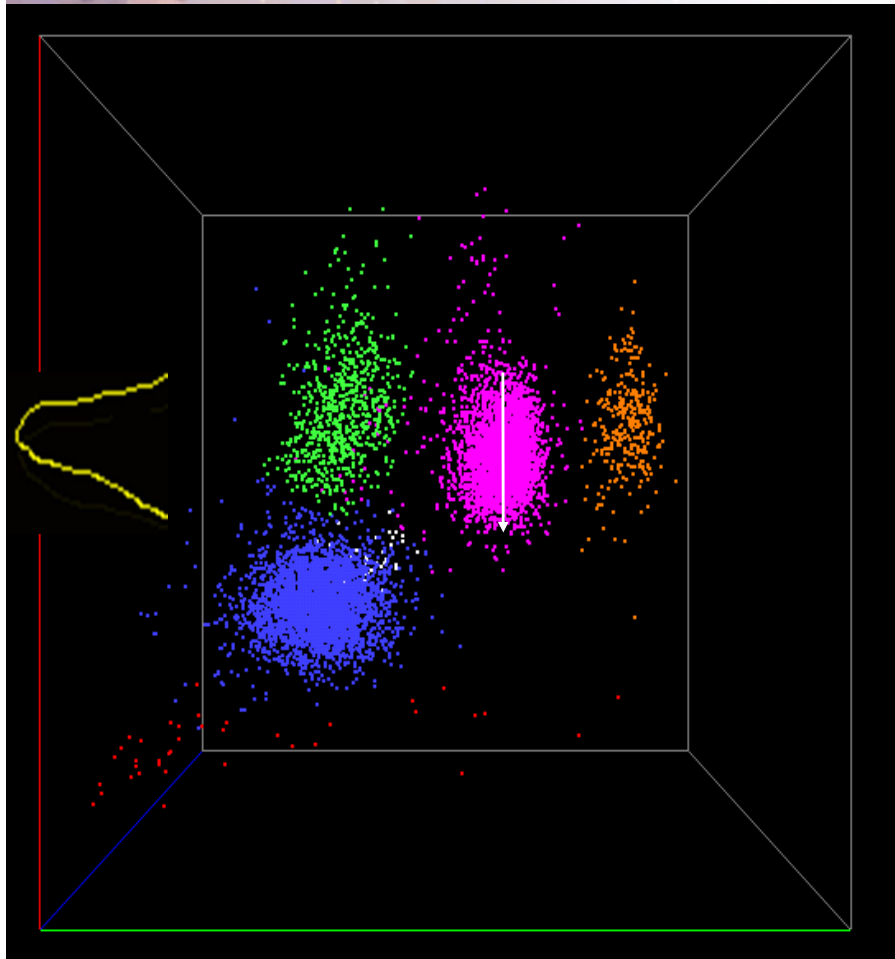
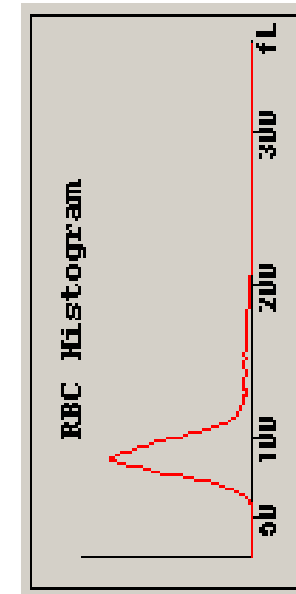
Lymphs

# Анализ морфологии – Flow Cytometric Digital Morphology





RBC	4.51
HGB	13.6
HCT	40.1
MCV	88.9
MCH	30.2
MCHC	34.0
RDW	13.6
PLT	275
MPV	8.1



**Средний объем:**  
 эритроцитов (MCV) -  
 нейтрофилов (MNEV)

**Ширина распределения:**  
 эритроцитов (RDW RBC) -  
 нейтрофилов (NE V SD)

# LH CPD

24 параметра

## WBC Differential Population Data

Sample ID	Cass/Pos	Date	Time	Asp Mode	Com			
00000032140	000402	22/05/98	12:10:52	Auto	Com			
NE		LY		MO		EO		
MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD	
V	139	17.78	82	12.12	156	19.99	151	17.27
C	154	5.54	123	9.45	128	6.15	156	3.83
S	151	10.92	74	14.59	84	11.60	207	7.75

Reticulocyte Popu	Count	Displayed	Analyzed	Total	Listname
Sample ID		8004	/ 8004	/ 8192	01A5M0FF
		Actual	Low	High	Instrument
	Time	5.9	/ 4.7	/ 6.8	AA47576714

# DxH CPD

	NE		LY		MO		EO	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
V	144	17.05	83	13.69	165	16.90	158	17.20
C	151	5.52	118	8.89	127	6.45	152	3.48
MALS	139	10.47	68	16.19	84	10.58	193	8.35
UMALS	139	10.87	68	17.71	94	10.85	207	8.62
LMALS	134	12.35	59	19.26	70	13.91	176	10.16
LALS	147	24.87	29	8.55	73	23.76	165	39.20
AL2	132	10.44	61	9.82	115	10.95	119	7.58

	RETIC		NON-RETIC	
	Mean	SD	Mean	SD
V	56	12.89	44	11.94
C	64	11.61	66	10.60
MALS	114	17.81	51	14.90
UMALS	120	16.64	59	14.48
LMALS	106	20.47	42	15.81
LALS	102	27.83	54	16.97
AL2	102	22.04	77	15.11

	NRBC	
	Mean	SD
V	53	11.96
C	121	38.63
MALS	125	37.78
UMALS	99	40.58
LMALS	158	42.93
LALS	134	34.22
AL2	106	9.21

**56 параметров**

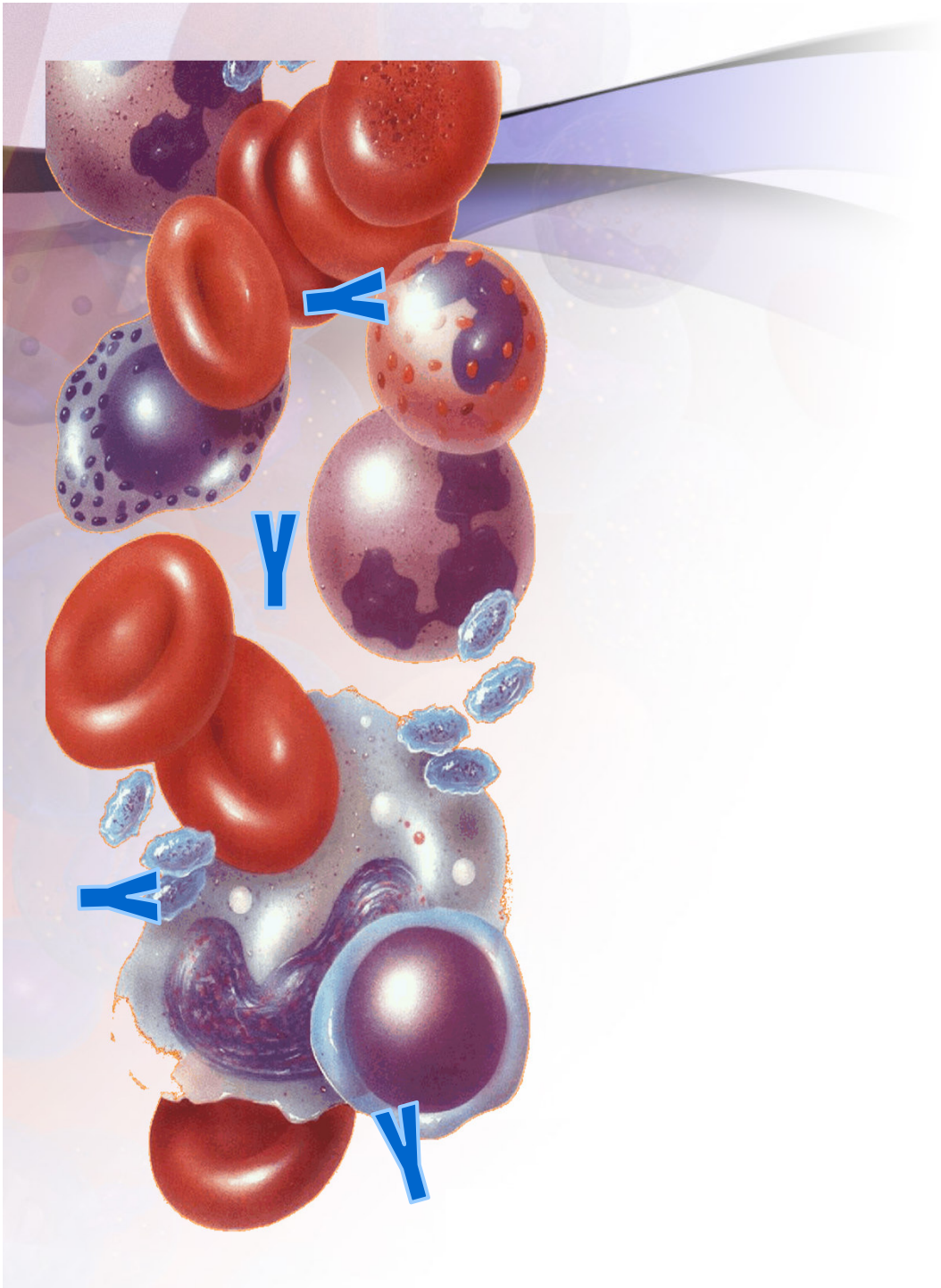




• **Малярия**

• **Анемия**

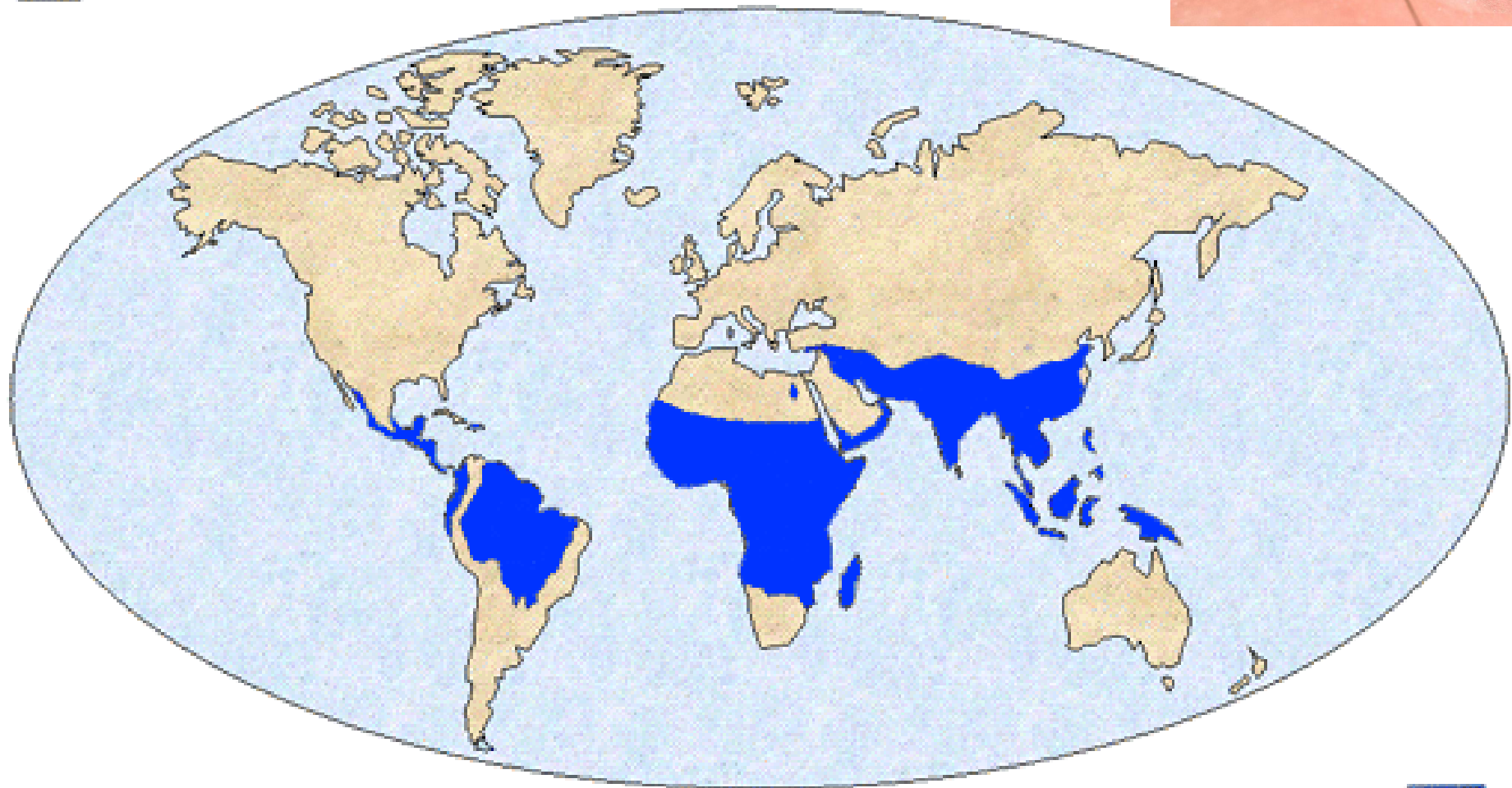
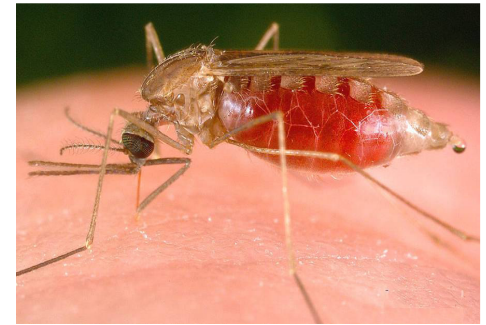
• **Бактериальные  
инфекции и сепсис**



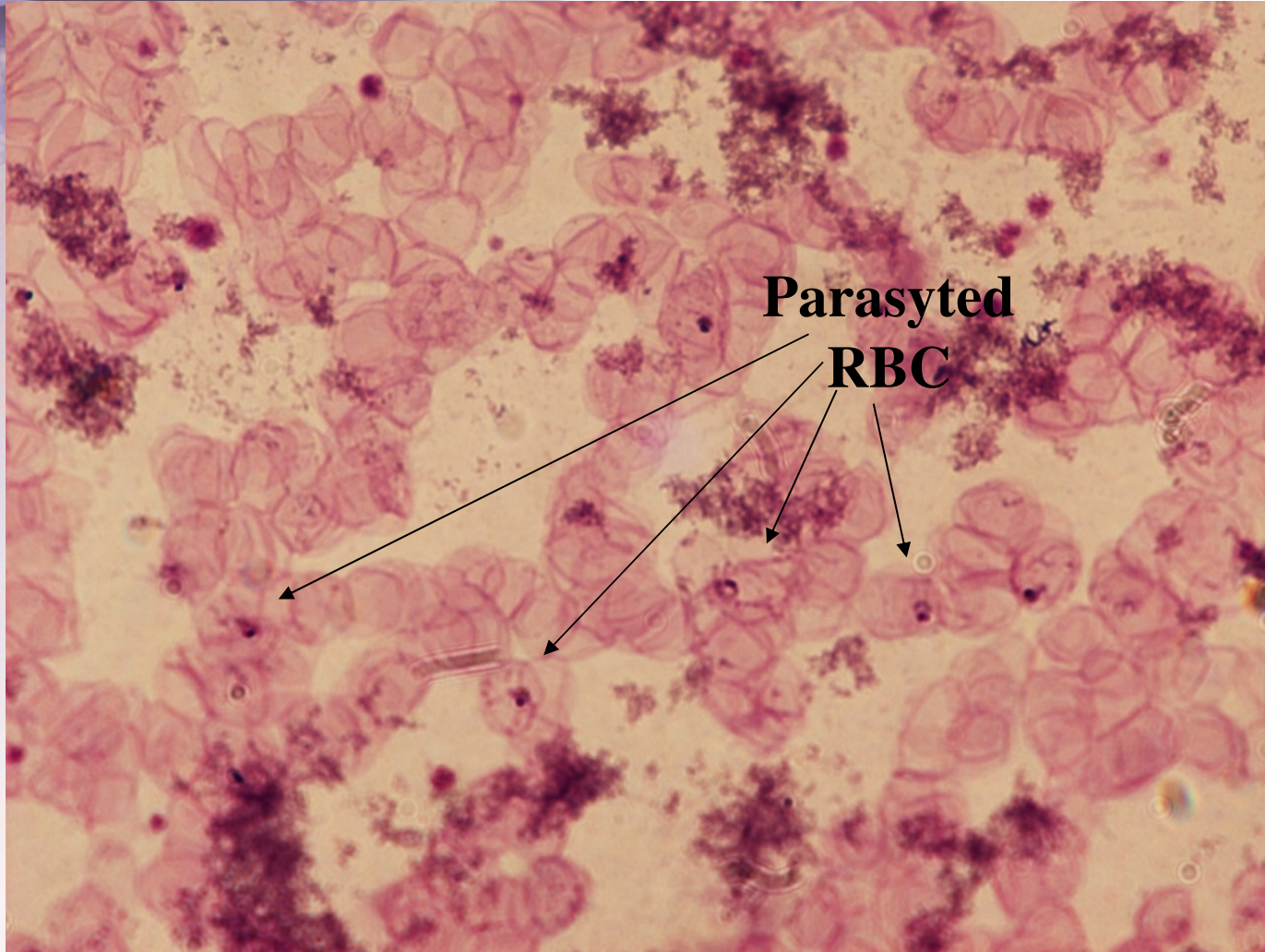
# Малярия



**Distribution of Malaria**

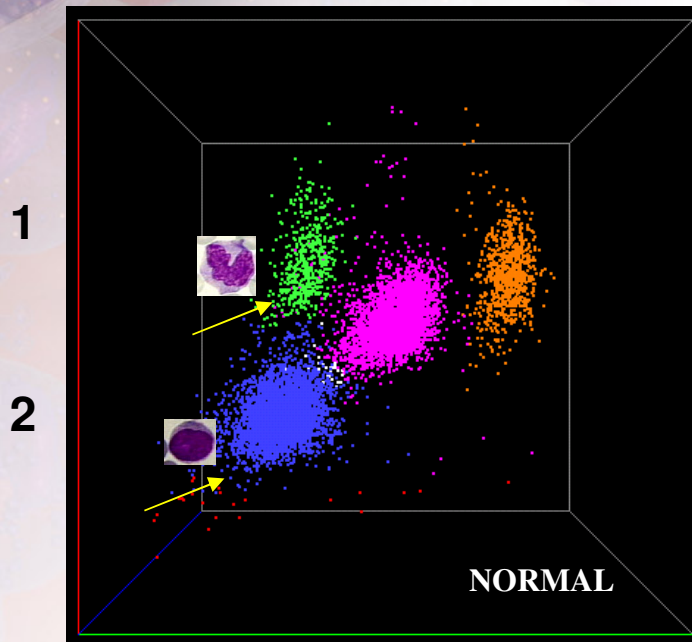




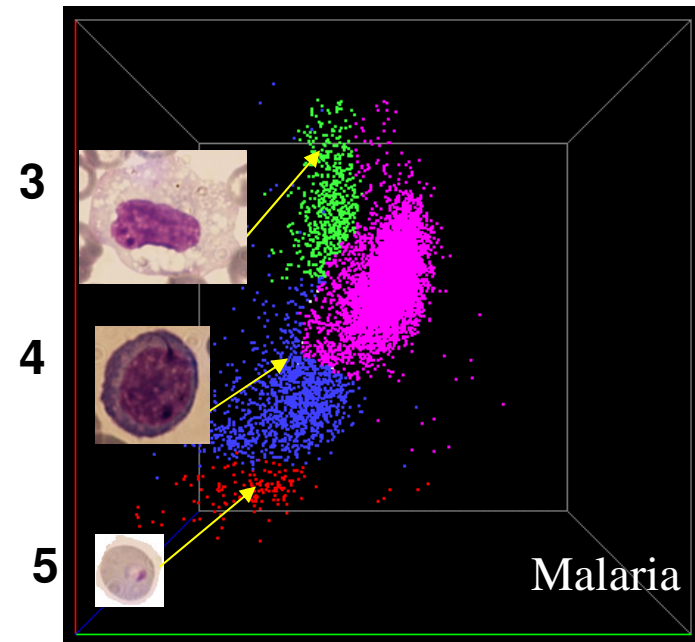


**Thick Blood Smear**

# Распределение клеток в норме и при малярии



1. Normal Monocyte
2. Normal Lymphocyte



3. Large vacuolated Monocytes
4. Reactive Lymphocyte
5. Infected Malaria RBC

# 38.9% Plasmodium falciparum

NE %	69.0	NE #	3.4
LY %	17.4	LY #	0.9
MO %	13.2	MO #	0.7
EO %	0.1	EO #	0.0
BA %	0.3	BA #	0.0
NRBC %	0.0	NRBC #	0.0

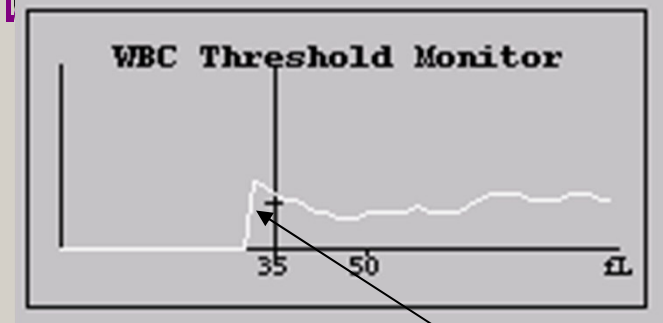
	NE		LY		MO		EO	
	MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD
V	154	25.47	93	21.89	188	34.73	151	4.12
C	148	6.58	117	9.82	121	6.55	157	2.73
S	149	11.80	76	17.49	96	8.55	204	4.66

Temp (\*F)  Setting

Count  /  /

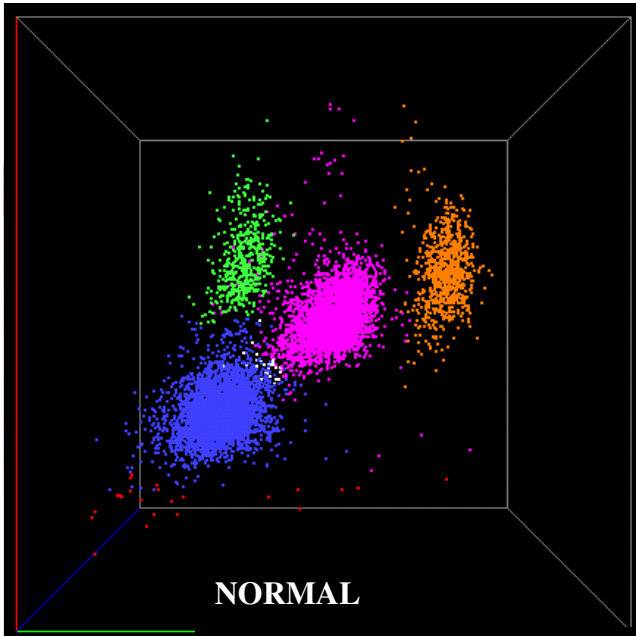
Time  /  /

Platelets 102

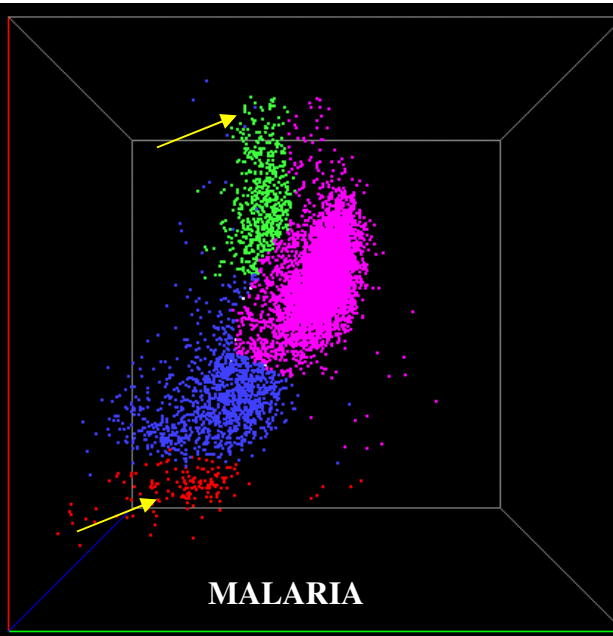


A PEAK AT 35 FL

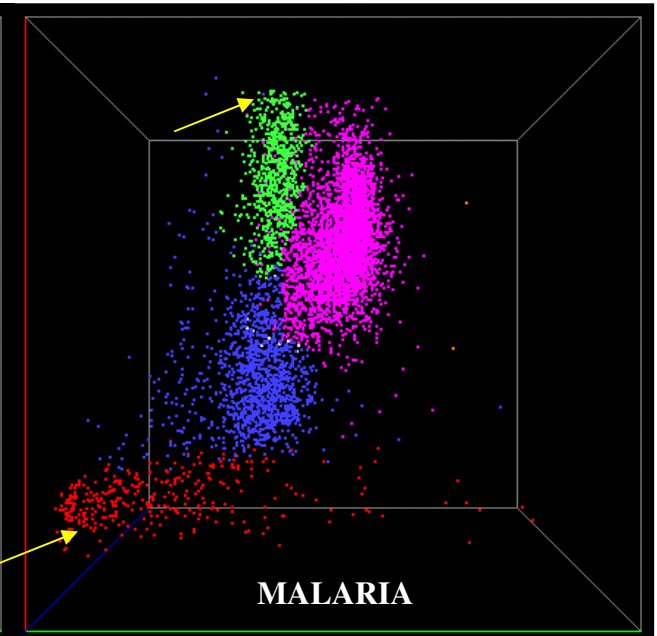




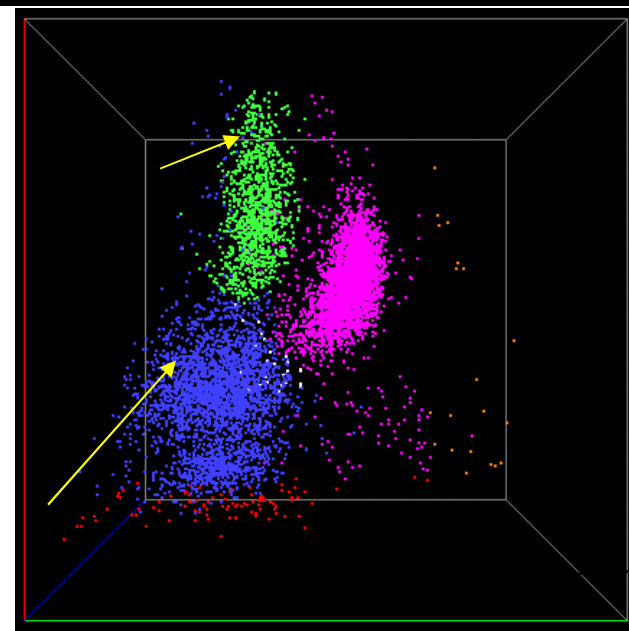
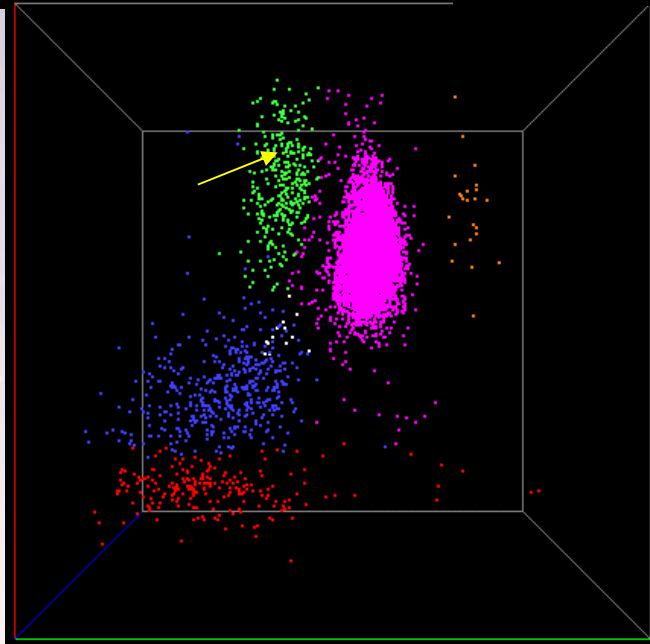
**NORMAL**



**MALARIA**



**MALARIA**



**MALARIA**

# Дополнительные критерии

Malaria Factor > 3.7

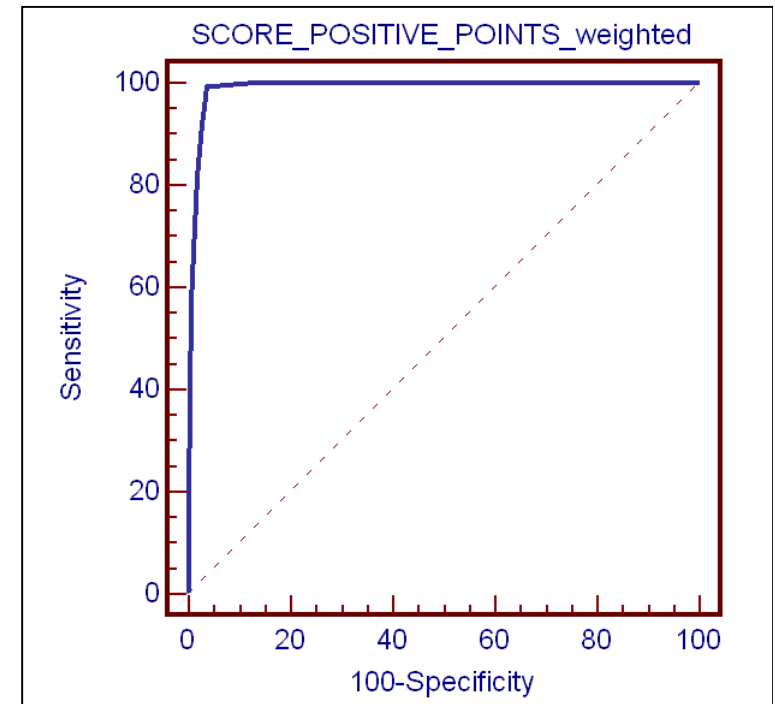
SD volume of the Monocytes > 23.2

Mean Volume of Monocytes > 180

Plt < 150

% EO < 0.15%

WBC threshold monitor histogram



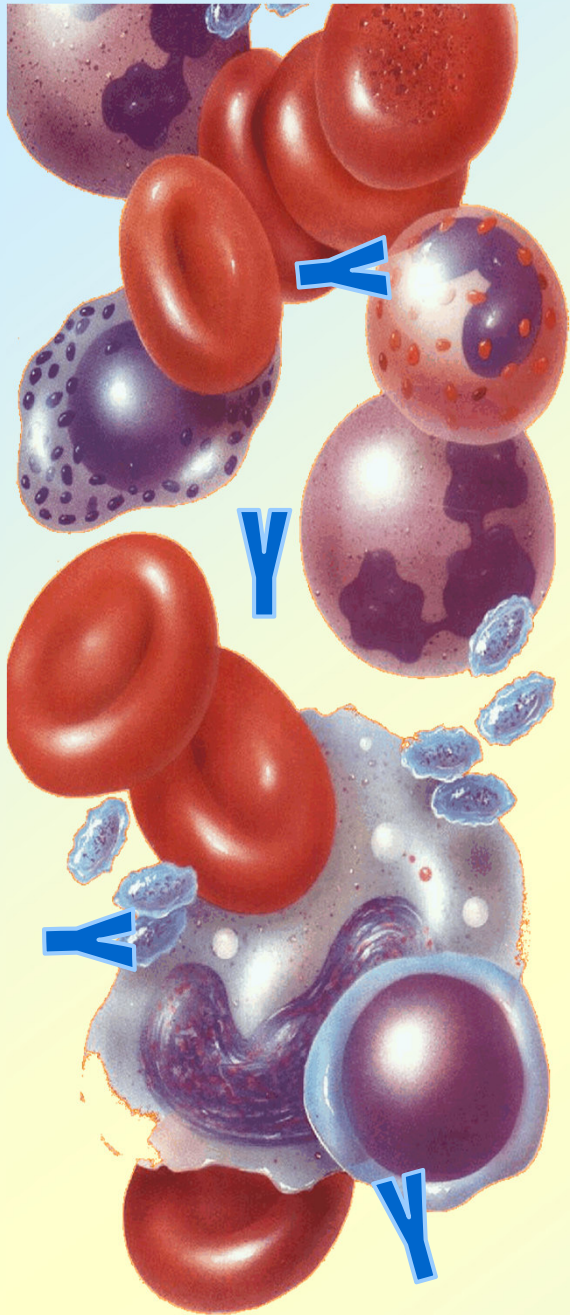
**Чувствительность - 99.3%**

**Специфичность - 96.3%**

**AUC 0.991**

## Выводы

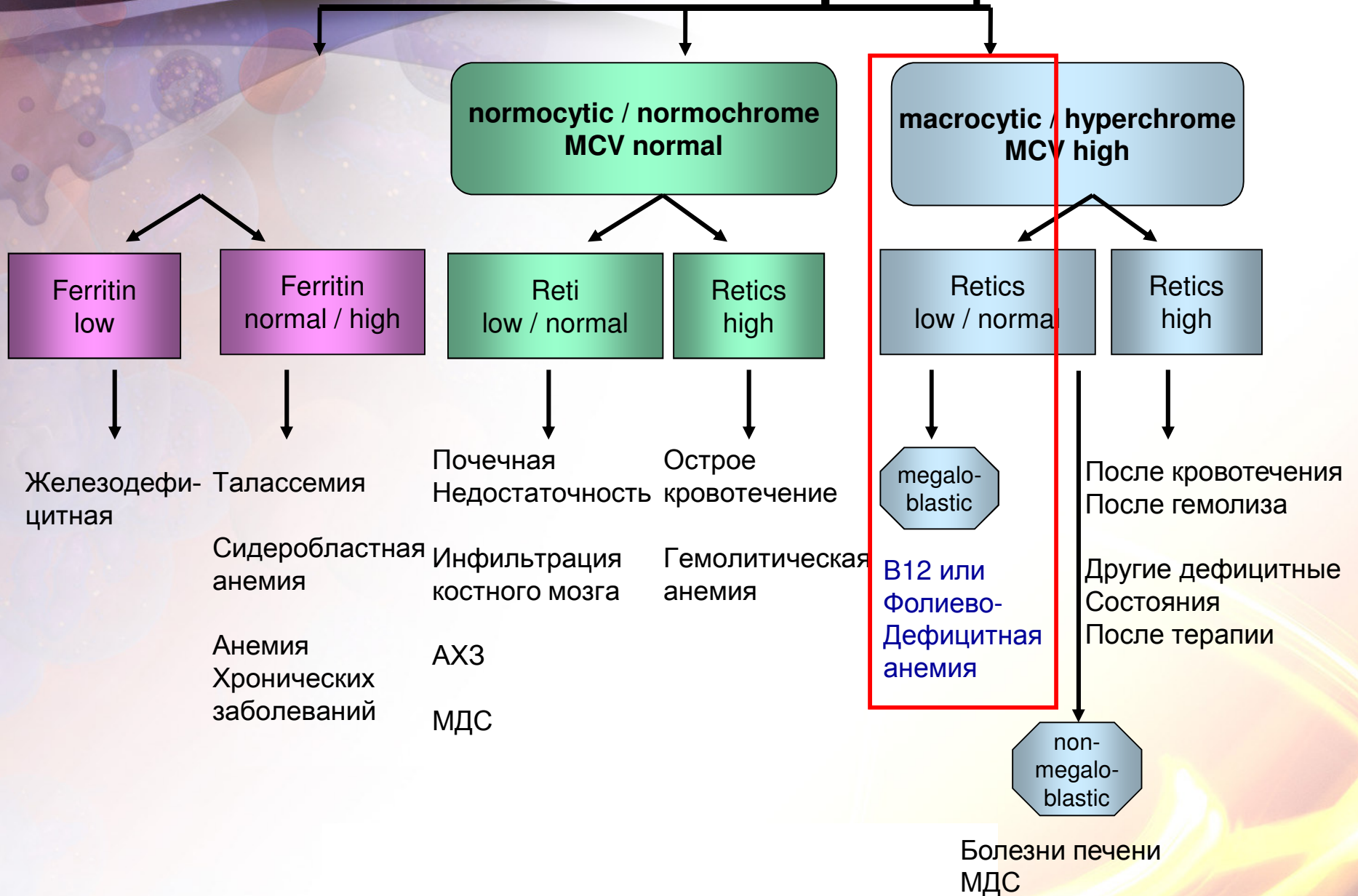
- Рутинный СВС анализ оказывается эффективным для оценки развития малярии
- Дешевый скрининговый тест, пригодный для ранней диагностики
- Оценка параметров популяций является наиболее чувствительным и специфичным методом диагностики малярии



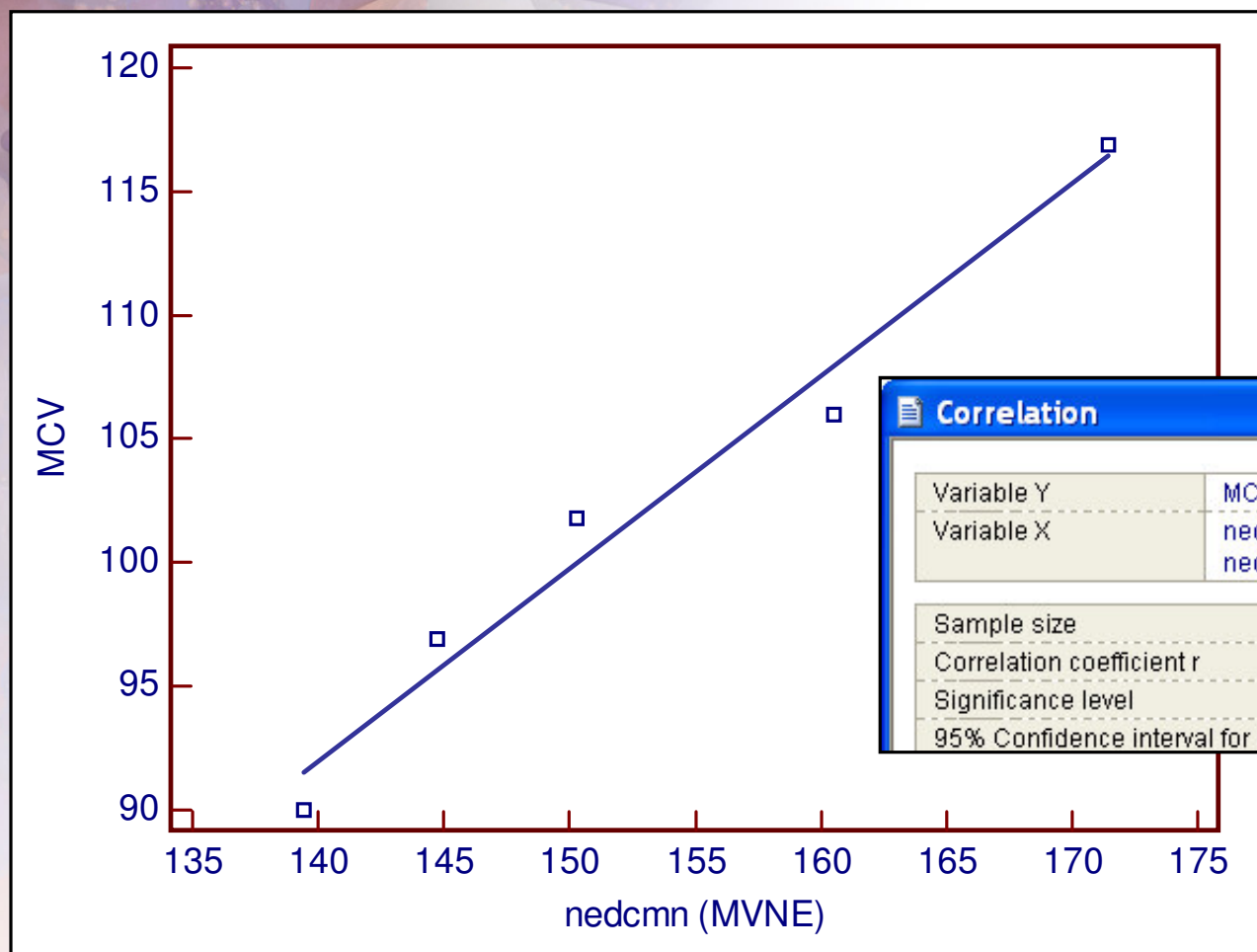
*Новые подходы к диагностике  
В12- и фолиеводефицитных  
анемий*



# Классификация анемий

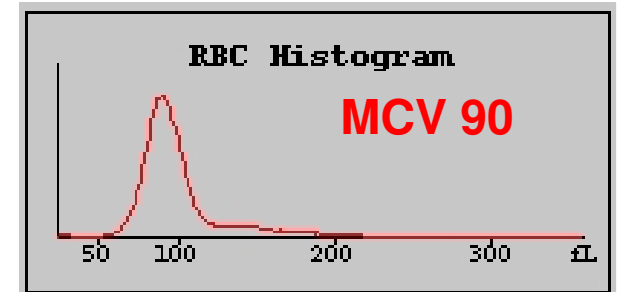
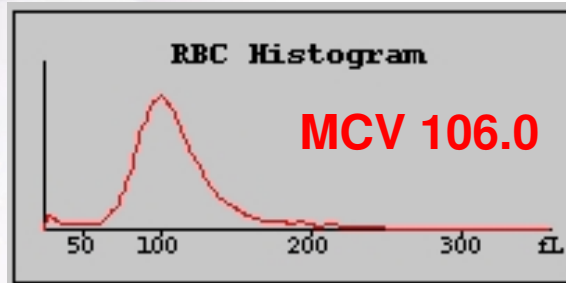
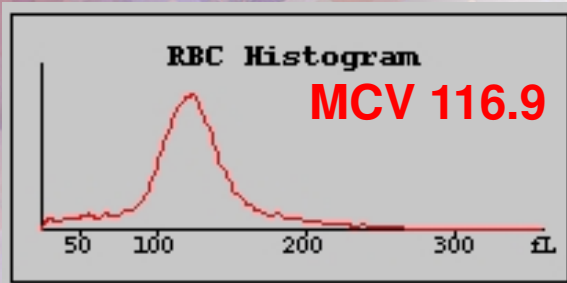


# Корреляция среднего объема нейтрофила и MCV



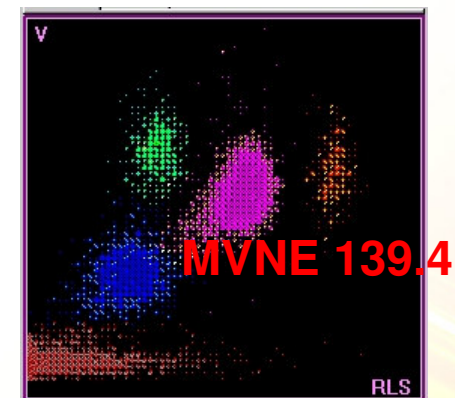
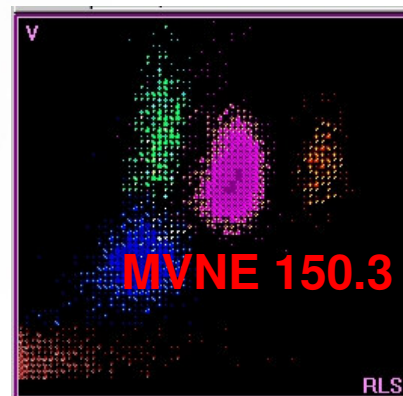
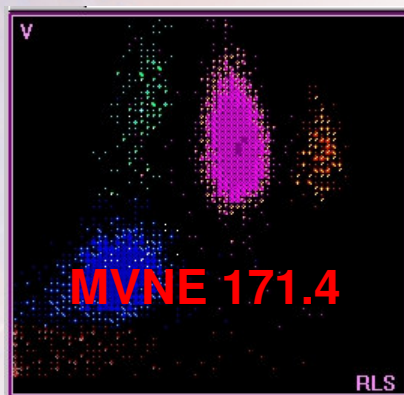
Correlation	
Variable Y	MCV
Variable X	nedcmn__MVNE_ nedcmn (MVNE)
Sample size	5
Correlation coefficient r	0.9860
Significance level	P=0.0020
95% Confidence interval for r	0.7981 to 0.9991

# Динамика клеточных параметров в процессе терапии В12-дефицитной анемии



Через 2 недели

Через 7 недель



19.03.2008

03.04.2008

06.05.2008

Vit B12 = 32

Vit B12 = 1139

Vit B12 = 421


# Результаты

- Частота дефицита В12 среди «нормальных» образцов
  - 5,2 % - нормальный Hgb, нормальный MCV, но дефицит В12 ( $B12 < 145$  pg/mL)
  - 3,5 % нормальный Hgb, нормальный MCV, но промежуточные значения В12 ( $145 < B12 < 180$  pg/mL)
- Частота дефицита В12 и фолата среди анемичных пациентов.
  - Дефицит В12  $13/109 = 11.92\%$ ,
  - Промежуточные значения В12  $6/109 = 5.5\%$ ,
  - Дефицит фолата  $14/109 = 12.8\%$ ,
  - Сочетание дефицита В12 и дефицита фолата  $1/108 = 0.9\%$
  - Сочетание промежуточных значений В12 и дефицита фолата  $1/108 = 0.9\%$



# Статистический анализ

<b>B12 def vs Normals</b>	T-Test	ROC AUC	Sens	Specif	Cut-off	significance ROC
MCV	p = 0.477	0.475	39.1%	100%		p= 0.8154
<b>NE Mean Volume</b>	<b>p &lt; 0.0001</b>	<b>0.826</b>	<b>82.6%</b>	<b>75.9%</b>	<b>&gt;140.32</b>	<b>p=0.0001</b>
<b>MO Mean Volume</b>	<b>p &lt; 0.0001</b>	<b>0.895</b>	<b>87.0%</b>	<b>86.2%</b>	<b>&gt;167.11</b>	<b>p=0.0001</b>
<b>Folate def vs Normals</b>						
MCV	p=0.3322	0.591	52.6%	86.2%	<89.5	0.3761
<b>NE Mean Volume</b>	<b>p &lt; 0.0001</b>	<b>0.844</b>	<b>89.5%</b>	<b>75.9%</b>	<b>&gt;140.32</b>	<b>p=0.0001</b>
<b>MO Mean Volume</b>	<b>p &lt; 0.0001</b>	<b>0.878</b>	<b>73.7%</b>	<b>93.1%</b>	<b>&gt;169.50</b>	<b>p=0.0001</b>



М.О. Егорова,  
Н.В. Цветаева,  
Е.А. Сухачева

---

**ПРАКТИЧЕСКИЕ  
РЕКОМЕНДАЦИИ  
ПО ЛАБОРАТОРНОЙ  
ДИАГНОСТИКЕ НАИБОЛЕЕ  
РАСПРОСТРАНЕННЫХ  
ФОРМ АНЕМИЙ**

*Методическое пособие*

Майск 2018

---



## Выводы

- Выполнение полного клинического анализа крови является необходимым первоочередным этапом, определяющим диагностический поиск нозологической формы анемии

# Выводы

- Выполнение полного клинического анализа крови является необходимым первоочередным этапом, определяющим диагностический поиск нозологической формы анемии





## Бактериальные инфекции и сепсис

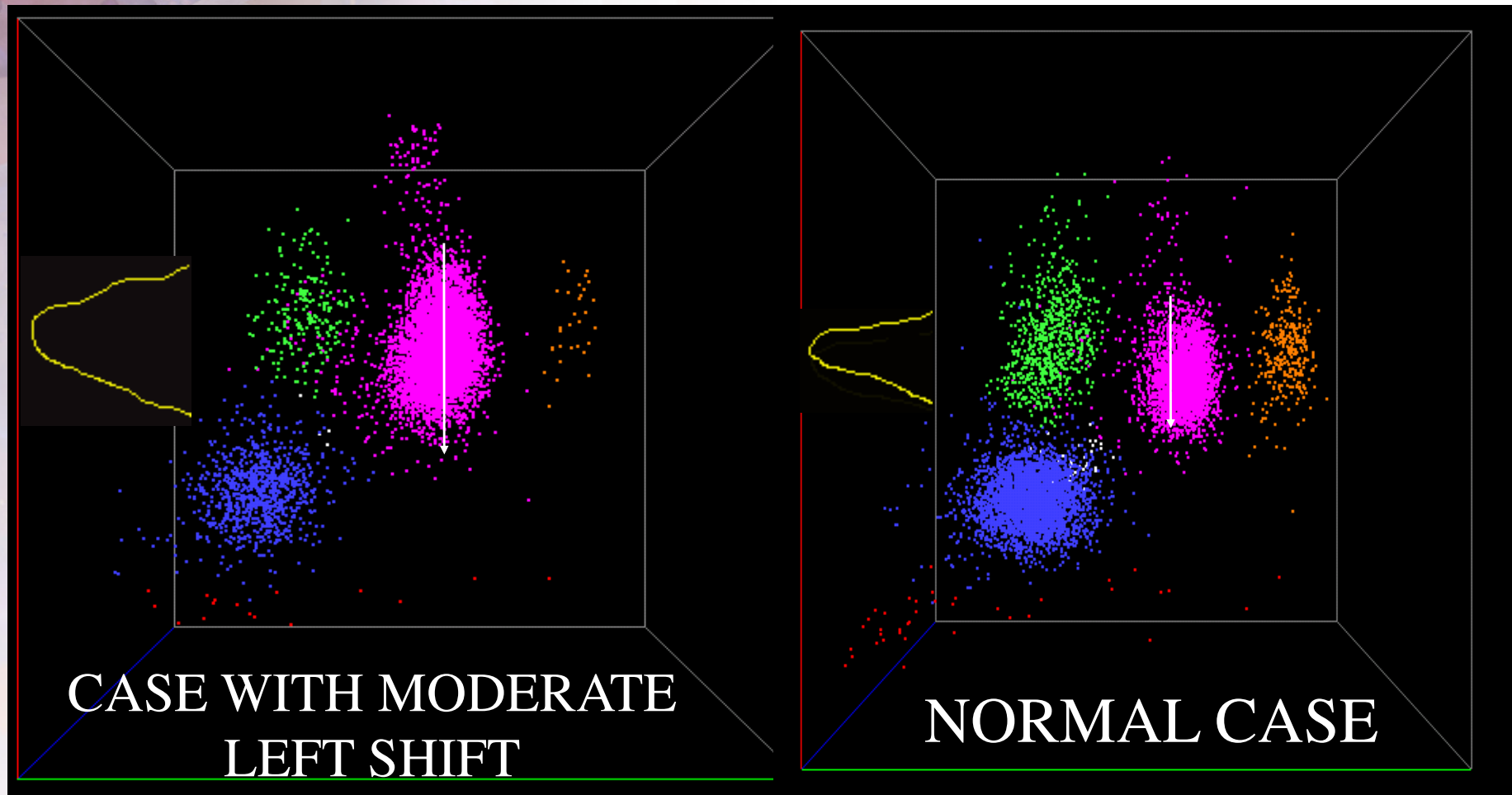
# Лабораторная диагностика

- Культура крови
- С-реактивный белок
- Отношение I/T (отношение количества незрелых форм нейтрофилов к общему количеству нейтрофилов)
- Количество лейкоцитов
- Абсолютное количество нейтрофилов
- Прокальцитонин
- Интерлейкины

**Быстро !!!  
Надежно!!!  
Недорого!!!**

# Анализ популяции лейкоцитов

## Пример – левый сдвиг



# Анализ популяции лейкоцитов

## Пример – левый сдвиг

### WBC Differential Population Data

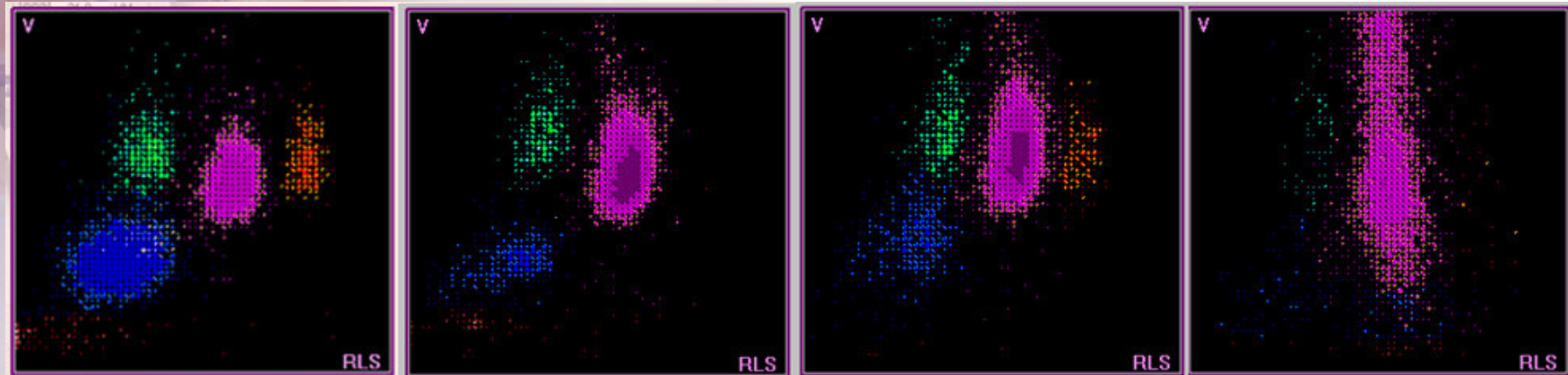
Sample ID	Cass/Pos	Date	Time	Asp Mode	Status	Listname						
-----	000204	7/07/98	12:28:27	Auto	Completed	01A772E8						
<b>NE</b>		<b>LY</b>		<b>MO</b>		<b>EO</b>		Temp	81.55	Setting	High	
	MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD	Count	Displayed	Analyzed	Total
V	152	22.51	86	13.95	165	16.34	163	16.83	7297	7297	8192	
C	148	6.63	120	11.63	124	5.43	150	4.75	Actual	Low	High	
S	140	10.62	62	14.34	81	9.70	201	6.26	Time	3.5	3.0	4.3

**Норма** →

	<b>NE</b>		<b>LY</b>		<b>MO</b>		<b>EO</b>	
	MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD	MEAN	SD
V	139	17.78	82	12.12	156	19.99	151	17.27
C	154	5.54	123	9.45	128	6.15	156	3.83
S	151	10.92	74	14.59	84	11.60	207	7.75



# Анализ популяции лейкоцитов Пример – левый сдвиг



NE		
	MEAN	SD
V	137	17.52
C	144	4.41
S	150	10.50

NE		
	MEAN	SD
V	148	20.81
C	147	5.15
S	150	9.36

NE		
	MEAN	SD
V	160	25.42
C	142	7.24
S	146	9.40

NE		
	MEAN	SD
V	190	61.54
C	155	30.66
S	138	13.02

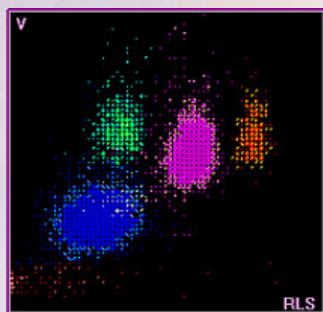
Норма      ->->->->->      увеличение количества Imm NE.

R Simon et al. *Blood* Vol 94 NO 10 supl 1 part 2 Nov 15 1999 page 45b.

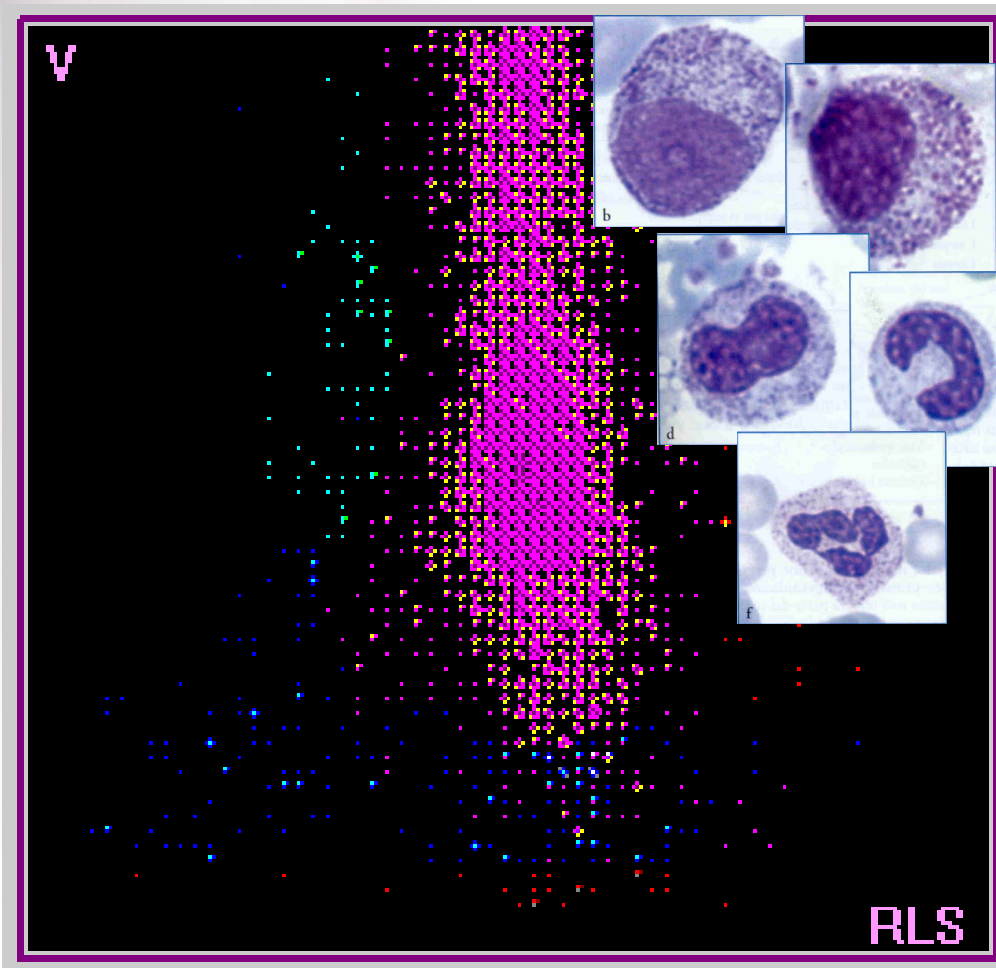
# Анализ популяции лейкоцитов

## Пример – левый сдвиг

Норма



		NE	
		MEAN	SD
V		137	17.52
C		144	4.41
S		150	10.50



Typical positions of neutrophil precursor cells in the scatter vs volume Plot

		NE	
		MEAN	SD
V		190	61.54
C		155	30.66
S		138	13.02

## **Quantitative Determination of Neutrophil VCS Parameters by the Coulter Automated Hematology Analyzer**

New and Reliable Indicators for Acute Bacterial Infection

*Fernando Chaves, MD, Bethany Tierno, MD, and Dongsheng Xu, MD, PhD*

---

**Key Words:** Neutrophil; VCS parameters; Automated hematology analyzer; Bacterial infection

**Am J Clin Pathol 2005;124:**

- MNeV повышен у пациентов с генерализованной бактериальной инфекцией (сепсис).

# Neutrophil VCS Parameters Are Superior Indicators for Acute Infection

*Lab Hematol, 2007; 13: 12-16*

ROBERT BAGDASARYAN, ZHONGREN ZHOU, BETHANY TIERNO, DARA ROSENMAN,  
DONGSHENG XU

*Department of Pathology and Laboratory Medicine, Boston Medical Center, Boston, Massachusetts, USA*

Received December 13, 2006; received in revised form January 22, 2007; accepted January 24, 2007

878.pdf

- **STUDY MAIN STRENGTH:**
  - Included not only severe infection (sepsis), but also localized infection.
  - PROSPECTIVE STUDY, including a REAL-LIFE SCENARIO of routine tests ordered in a hospital laboratory.
  - Comparison with MULTIPLE other tests USED AS STANDARD OF CARE in the diagnosis of infection.
- **MAIN FINDINGS:**
  - MNeV and NeDW were the ONLY PARAMETERS able to discriminate localized infection from no infection.
  - MNeV and NeDW: BEST AREA UNDER THE CURVE at ROC analysis.





Francesco Raimondi  
Dipartimento di Pediatria  
Università Federico II, Napoli  
raimondi@unina.it



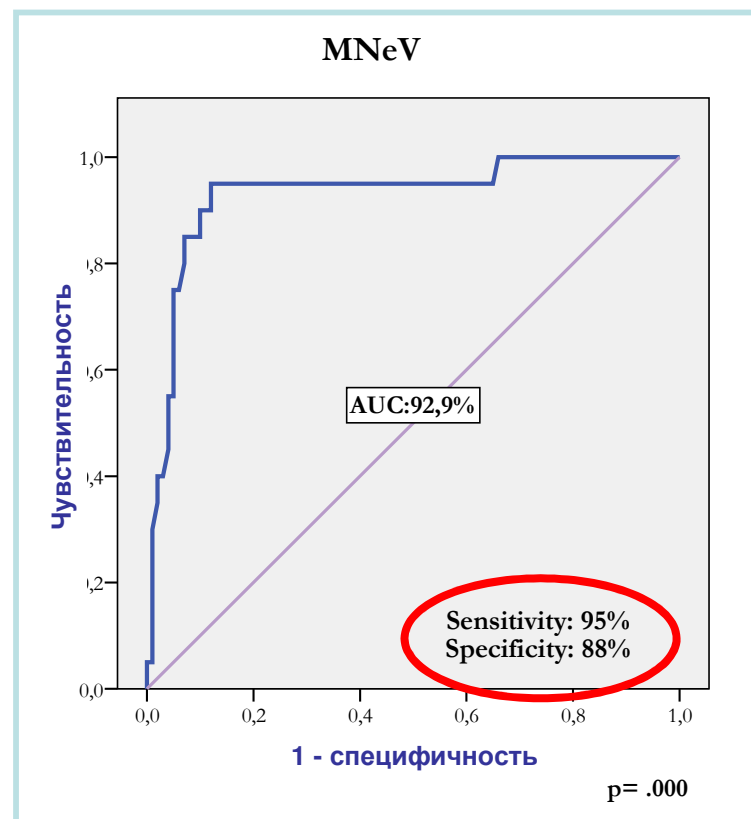
## Позиционные параметры нейтрофилов и перинатальный сепсис



Castle Rosenberg (CZ), September 22, 2009

# Результаты

- MNeV при однократном исследовании давал лучшие результаты, чем любой другой тест этой панели
- чувствительность = 95%
- специфичность = 88%
- пороговое значение=148 au
- Параметр NeDW не был столь показательным



# Результаты

Test(s)	Cut-off	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	AUC
CRP	0.9 (mg/dl)	65	95	76.5	93.2	90.1
I/T ratio	0.2	55	89	41.2	87.4	71.4
Ne #	1.8-7.0 ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	55	66	24.4	88	66.7
NeDW	27.5	80	52	25	92.8	75.4
MNeV	148	95	88	61.3	98.9	92.9
WBCs	4.8-10.8 ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	60	59	22.6	88	51.8
MNeV & CRP	148 – 0.9	95	97	86.4	99	95.7

# Вывод

При комбинации однократного исследования MNeV с измерением C-реактивного белка достигались высочайшие уровни PPV (положительное предсказывающее значение) и NPV (отрицательное предсказывающее значение).



## Comparison of neutrophil volume distribution width to C-reactive protein and procalcitonin as a proposed new marker of acute infection

KHALIL M. CHARAFEDDINE\*, AMIRA M. YOUSSEF\*, RAMI A. R. MAHFOUZ,  
DOJA S. SARIEDDINE & ROSE T. DAHER

*From the Department of Pathology and Laboratory Medicine, American University of Beirut Medical Center, Beirut, Lebanon*

*Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 2011; Early Online, 1–8*

### ➤ **STUDY MAIN STRENGTH:**

- ✓ **Comparison of NDW with CRP and PCT**
- ✓ **A separate group of acute stress patients (post-op) who were not infected was analysed**

### ➤ **MAIN FINDINGS:**

- ✓ **NDW is the best predictor for infection**, with better AUC than Procalcitonin, CRP, WBC count, and Abs. Neu (AUC for NDW is 0.877, CRP – 0.866, PCT – 0.753 infection vs non-infection)
- ✓ **The NDW in acute stress was not statistically significantly different from healthy individuals. Conversely, there was a statistically significant difference between acute stress and infection.**
- ✓ **NDW is a very useful parameter in differentiating an acute inflammatory process from a suspected early infection in postoperative patients, which is not the case for CRP and PCT.**
- ✓ **NDW is stable for 4 hr if blood is stored at 4 Celcius (only 2 hr at RT)**

## Articles – Sepsis

International Journal of Laboratory Hematology

The Official journal of the International Society for Laboratory Hematology



ORIGINAL ARTICLE

INTERNATIONAL JOURNAL OF LABORATORY HEMATOLOGY

### Screening of sepsis using leukocyte cell population data from the Coulter automatic blood cell analyzer DxH800

D.-H. PARK\*, K. PARK\*, J. PARK\*, H.-H. PARK†, H. CHAE\*, J. LIM\*, E.-J. OH\*, Y. KIM\*, Y.-J. PARK\*, K. HAN\*

#### ➤ **Основная тема исследования:**

✓ **Первая статья по использованию CPD для диагностики сепсиса на DxH800**

#### ➤ **Основные результаты:**

✓ многие CPD Ne, Ly, и Mo могут быть использованы для диагностики сепсиса.

✓ комбинации SD-V-NE(19.7), MN-LMALS-NE(142), SD-LALS-NE(26.9), SD-MALS-LY(14.5), SD-LALS LY(9.4), SD-V-MO(20.7) and SD-AL2-MO(12.4) демонстрирует 90.3% чувствительность(130 из 144) и 95.5% специфичность (6 из 134) при диф. диагностике **сепсиса от нормы.**

✓ SD-LALS-LY чувствительность 74.1% и специфичность 72.4% при диф. диагностике фунгемии от бактеремии.

***International Journal of Laboratory Hematology, Vol. 34, Suppl. 1, June 2012 Abstracts  
of the XXV International Symposium on Technical Innovations in Laboratory  
Hematology 21-24 May 2012 Nice, France, p.140***

**MEAN NEUTROPHIL VOLUME AND NEUTROPHIL  
VOLUME DISTRIBUTION WIDTH: GOOD  
INDICATORS FOR POST-OPERATIVE BACTERIAL  
INFECTION**

**Yihua Zhu<sup>1</sup>, Xingjian Cao<sup>1</sup>, Yuxiang Chen<sup>1</sup>, Kexia Zhang<sup>1</sup>,  
Yongwang Wang<sup>2</sup>, Kun Yuan<sup>3</sup>, Dongsheng Xu<sup>4</sup>**  
*1Center of Clinical Laboratory Medicine Nantong, China,  
2Department of Thoracic Surgery Nantong, China, 3Department  
of Orthopedic Surgery, the Second Affiliated Hospital of  
Nantong University Nantong, China, 4CBLPath, Inc Rye Brook,  
NY, USA*



Кажется, что теперь, по  
прошествии многих лет,  
следует обратить более  
пристальное внимание на  
лейкоциты.



**Спасибо за внимание!**

Dr. Van den Driessche, Belgium