

6. Gerhartz HH, Engelhard M, Meusers P et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as adjunct to induction treatment of high-grade malignant Non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1993; 8: 2329-2339.
7. Petros WP, Rabinowitz J, Stuart AR et al. Disposition of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients receiving high-dose chemotherapy and autologous bone marrow support. *Blood* 1992; 5: 1135-1140.
8. Link H, Boogaerts MA, Carella AM et al. A controlled trial of recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after total body irradiation, high-dose chemotherapy, and autologous bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia or malignant lymphoma. *Blood* 1992; 9: 2188-2195.
9. Eaves CJ. Peripheral blood stem cells reach new heights. *Blood* 1993; 7: 1957-1559.
10. Pettengell R, Testa NG, Swindell R, Crowther D, Dexter TM. Transplantation of hematopoietic cells released into the circulation during routine chemotherapy for Non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1993; 7: 2239-2248.
11. Bishop MR, Anderson JR, Jackson JD et al. High-dose therapy and peripheral blood cell transplantation: effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on the autograft. *Blood* 1994; 2: 610-616.
12. Brugger W, Bross KJ, Glatt M, Weber F, Mertelsmann R, Kanz L. Mobilization of tumor cells and hematopoietic progenitor cells into peripheral blood of patients with solid tumors. *Blood* 1994; 3: 636-640.

Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 91-93

## Linksverschuiving zonder microscoop

G.A. VAN DEN BERG<sup>1</sup>, H. STORM<sup>1</sup> en J.W. SMIT<sup>2</sup>

Door de subjectiviteit en de statistische variabiliteit van de routine microscopische leucocytdifferentiatie is de detectie van een linksverschuiving in de neutrofiële populatie onnauwkeurig. Door toepassing van verschillende technieken is moderne celtelapparatuur tevens in staat aanwijzingen te verschaffen voor een linksverschuiving. Bij een evaluatie, aan de hand van bepaalde criteria, van de indicatie linksverschuiving door de Bayer/Technicon H\*2, Sysmex NE-8000, Coulter STKS en Abbott Cell-Dyn 3500 wordt een sensitiviteit van respectievelijk 59%, 26%, 82% en 62%, en een specificiteit van 72%, 80%, 64% en 92% gevonden. De negatief voorspellende waarde ligt voor alle apparaten boven de 90%. In een oriënterende studie bij 40 patiënten met sepsis blijkt de positief voorspellende waarde van de microscopische linksverschuiving 28% te zijn en van de signalering op de Coulter STKS 90%.

*Trefwoorden: linksverschuiving; celtelapparatuur*

De detectie van kwantitatieve en kwalitatieve veranderingen in de leucocytenpopulatie kan een bijdrage leveren aan de differentiaal diagnose van koorts bij een patiënt. Hoewel deze veranderingen niet specifiek zijn, doen een neutrofilie, een linksverschuiving, de aanwezigheid van toxische korreling en lichaampjes van Döhle een bacteriële infectie vermoeden. Het begrip linksverschuiving is niet of nauwelijks gedefinieerd in de hematologische literatuur. Een omschrijving als - een toename van het aantal staafkernige granulocyten in relatie tot het aantal rijpe neutro-

fielen, maar ook meer onrijpe cellen zoals metamyelocyten, myelocyten, promyelocyten en blasten kunnen aanwezig zijn - draagt niet bij tot gestandaardiseerde detectie van linksverschuiving. Door de statistische variabiliteit (1) is de routine microscopische leucocytdifferentiatie zeer onnauwkeurig. Bovendien maakt de subjectiviteit bij de beoordeling de detectie van een linksverschuiving bijzonder onnauwkeurig, ondanks de aanbevelingen van de CCKL subcommissie hematomorfologie (2), waarin o.a. de diverse neutrofiële granulocyten gestandaardiseerd beschreven zijn. In tabel 1 is weergegeven de spreiding in de leucocytdifferentiatie van een kwaliteitscontrole bloeduitstrijkpreparaat, waarin met name de onrijpe granulocyten aanwezig zijn.

Door toepassing van verschillende technieken is de moderne celtelapparatuur in staat de verschillende witte celttypen te herkennen. Een belangrijk voordeel van deze differentieer-celtelapparatuur is het feit dat veel meer cellen "bekeken" worden dan bij de microscopische beoordeling. Volgens het nomogram van Rümke (1) voor het bepalen van de grenzen van 95% betrouwbaarheidsintervallen voor percentages wordt

**Tabel 1.** Spreiding in de leucocytdifferentiatie (%) voor een QC uitstrijkpreparaat in de regio Groningen, Friesland en Drenthe

Parameter	Spreiding
Segmentkernige	7 - 50
Staafkernige	34 - 82
Lymfocyten	1 - 17
Monocyten	0 - 5
Metamyelocyten	0 - 24
Myelocyten	0 - 11

De uitstrijkpreparaten, afkomstig van één patiënt, werden door 20 laboratoria in de regio Groningen, Friesland en Drenthe, na kleuring in eigen laboratorium, beoordeeld, waarbij 100 cellen werden geteld.

*Stichting Klinisch Chemisch Laboratorium, Leeuwarden<sup>1</sup> en Centraal Klinisch Hematologisch Laboratorium, Academisch Ziekenhuis, Groningen<sup>2</sup>*

Correspondentie: Dr. G.A. van den Berg, Stg. KCL, Postbus 850, 8901 BR Leeuwarden.

**Tabel 2.** Sensitiviteit en specificiteit voor vier verschillende differentieer-celtel-systemen met betrekking tot de signalering van een linksverschuiving ten opzichte van de microscopische differentiatie

Celtelsysteem	Sensitiviteit (%)		Specificiteit(%)		n
	gemiddelde	spreiding	gemiddelde	spreiding	
Sysmex NE	64,8	25,9-92,0	91,0	80,2-99,2	5
Coulter VCS	76,0	66,0-82,5	81,4	63,7-96,6	7
Abbott CD	59,0	44,2-77,6	77,8	34,4-95,0	6
Bayer/Techn. H	51,8	35,8-73,0	88,3	72,2-94,6	5

n: aantal beschouwde studies; NE: NE-serie van Sysmex; VCS: STKS en MAXM van Coulter; CD: Cell-Dyn 3000 en 3500 van Abbott; H: H\*1 en H\*2 van Bayer/ Technicon.

de nauwkeurigheid met een factor 10 vergroot indien met een automatisch apparaat 10.000 in plaats van 100 cellen worden gedifferentieerd. Dit geldt alleen wanneer bij de automatische uitvoering van de differentiatie geen nieuwe bronnen van onnauwkeurigheid worden geïntroduceerd.

### Apparatuur

Voor de onderstaande evaluatie zijn de volgende differentieer-celtelapparaten in beschouwing genomen: Sysmex NE-serie, Bayer/Technicon H\*1 en H\*2, Coulter STKS en MAXM en Abbott Cell-Dyn 3000 en 3500. Deze hematologie-automaten gebruiken meerdere fysische parameters om tot de leucocyten-differentiatie te komen. De Sysmex NE-serie maakt gebruik van een combinatie van impedantiemetingen in een gelijkstroomveld, radiostralen en verschillende lyseerreagentia om de verschillende typen cellen te kunnen identificeren. De Cell-Dyn's gebruiken daartoe flowcytometrische lichtverstrooiingstechnieken. Ook in de H\*1 en H\*2 wordt laserlichtverstrooiing gemeten onder verschillende hoeken en wel in combinatie met cytochemische (kleur)reacties. De STKS en MAXM passen lichtverstrooiing samen met radiofrequentie en directe impedantiemetingen toe.

Bij deze celtellers zijn met behulp van algoritmes en discriminatoren pogingen ondernomen informatie te verschaffen die equivalent is aan de microscopische waarneming van linksverschuiving, toxische granulatie of lichaampjes van Döhle in de bloeduitstrijk. Gezien de kleine verschillen tussen de rijpe en iets meer onrijpe granulocyten is het de vraag of celtellers een linksverschuiving nauwkeuriger kunnen detecteren dan de microscoop. De Cell-dyn 3500 geeft in een research-optie tevens aan hoeveel staafkernige en onrijpe granulocyten gedetecteerd zijn.

### Evaluatie

Met diverse literatuurgegevens (3-8) en met data verzameld door het CKHL van het AZG en het KCL is tabel 2 opgesteld met betrekking tot de sensitiviteit en de specificiteit van de aanduiding linksverschuiving op de diverse celtellers ten opzichte van de microscopische differentiatie.

Hoewel er wel enige verschillen zijn in de gemiddelde sensitiviteit en specificiteit voor de verschillende systemen, is de brede range van de gevonden resultaten het meest opvallend. Behalve door de beschouwde patiëntenpopulatie, het aantal monsters en het aantal getelde cellen in de microscoop, komt dit voor een

groot deel voort uit het feit dat er verschillende criteria (aantal staafkernige en onrijpe granulocyten, toxische korreling en lichaampjes van Döhle) gehanteerd zijn voor linksverschuiving bij de microscopische differentiatie. Bij de Cell-Dyn 3500 neemt de gevoeligheid voor het detecteren van een linksverschuiving toe van 45% naar 60%, wanneer de afkapgrens wordt verhoogd van 3% naar 10% staafkernige granulocyten.

Indien de vier systemen geëvalueerd worden met dezelfde criteria voor linksverschuiving worden de resultaten in tabel 3 verkregen. De data zijn afkomstig uit studies (1000 monsters) van het CKHL van het AZG met betrekking tot de Bayer/Technicon H\*2, Sysmex NE-8000 en de Coulter STKS en van het KCL met betrekking tot de Cell-Dyn 3500 (750 monsters). Voor alle apparaten is de aanduiding op de aanwezigheid van staafkernige (of linksverschuiving) en/of onrijpe granulocyten als criterium genomen voor een linksverschuiving. Bij de microscopische differentiatie zijn 100 cellen geteld en is het scoresysteem, volgens Verheul en medewerkers (8) gebruikt als criterium voor een linksverschuiving. Uit tabel 3 is te zien dat de sensitiviteit bij de Coulter STKS het hoogst is en de specificiteit bij de Abbott Cell-Dyn 3500. De negatief voorspellende waarde is voor alle vier systemen goed te noemen.

De Cell-Dyn geeft in een research-optie het aantal gedetecteerde staafkernige en onrijpe granulocyten aan. De coëfficiënt van variatie van deze beide kwantificeringen ligt boven 20% bij een gemiddelde van zowel 20% staafkernige als onrijpe granulocyten. Voorts bestaat er een slechte correlatie tussen de Cell-Dyn en de microscoop voor wat betreft het aantal staafkernige en onrijpe granulocyten.

**Tabel 3.** Evaluatie linksverschuiving op vier differentieer-celtelapparaten

	H*2	NE-8000	STKS	CD-3500
sensitiviteit (%)	58,9	25,9	82,4	61,8
specificiteit (%)	72,2	80,2	63,7	93,1
vals positief (%)	81,9	88,8	80,8	70,0
vals negatief (%)	5,6	8,2	2,8	1,9
rendement (%)	71,0	75,0	66,2	91,7
+ voorspellende W (%)	8,1	11,2	19,2	30,0
- voorspellende W (%)	94,4	91,8	97,2	98,1

H\*2: Bayer/Technicon; NE-8000: Sysmex; STKS: Coulter; CD-3500: Abbott.

## Klinische betekenis

Het nut van het aantonen van linksverschuiving voor het vaststellen van een infectie is een onderwerp van levendige discussie in Nederland. Om inzicht te krijgen of mogelijkere wijs een op een celtelautomaat gedetecteerde linksverschuiving de microscopische differentiatie kan vervangen is in het AZG een oriënterende studie opgezet.

Van 40 patiënten met bewezen sepsis werd bloed geanalyseerd op de Coulter STKS en een uitstrijkje microscopisch beoordeeld. Door 4 analisten werden hiertoe elk 200 cellen geteld. Indien voor de microscopische linksverschuiving het scoresysteem van Verheul et al (8) wordt gehanteerd, dan kunnen slechts 11 monsters als positief beschouwd worden. Daarentegen was er bij 36 monsters sprake van een aanduiding op de aanwezigheid van staafkernige en/of onrijpe granulocyten door de celtelautomaat. De aanduiding op de Coulter STKS bestaat uit twee signaleringen: IGB1 en IGB2. Het IGB1 signaal komt globaal overeen met minder dan 10% staven, terwijl het andere signaal een hoger percentage aanduidt (informatie fabrikant). Bij 19 van de 40 monsters was er sprake van een IGB2 signaal. Dit betekent dat de positief voorspellende waarde van de microscopische linksverschuiving op het hebben van een infectie 28% is, van de totale signalering linksverschuiving op de Coulter STKS 90% en van het IGB2 signaal 48%.

Door van den Broek (9) was bij 45 patiënten met koorts op de EHBO een positief voorspellende waarde van 76% gevonden met betrekking tot de microscopische linksverschuiving (criterium, staafkernige granulocyten > 10%). Zijn conclusie was dat de microscopische differentiatie nauwelijks iets toevoegde aan de diagnose infectie.

## Slotopmerking

Gezien het feit dat in Nederland nog steeds veelvuldig het aantal staafkernige granulocyten betrokken wordt bij de differentiaal diagnose van koorts, lijkt het interessant uitgebreider te onderzoeken in hoeverre een door apparatuur gedetecteerde linksverschuiving, zonder gebruik te maken van de arbeidsintensieve microscopische differentiatie, klinisch bruikbaar is.

## Literatuur

1. Rümke ChrL. De nauwkeurigheid van percentages; een nomogram voor de bepaling van 95%-betrouwbaarheidsintervallen. *Ned Tijdschr Geneesk* 1983; 127: 885-888.
2. Anonymus. Aanbeveling CCKL subcommissie hematormorfologie, januari 1990; Hematomorfologie. Bijlage *Tijdschr NVKC* 1991; 16: 57-67.
3. Swaim WR. Laboratory and clinical evaluation of white blood cell differential counts; Comparison of the Coulter VCS, Technicon H-1, and 800-cell manual method. *Am J Clin Pathol* 1991; 95: 381-388.
4. Cornbleet PJ, Myrick D, Judkins S, Levy R. Evaluation of the Cell-Dyn 3000 differential. *Am J Clin Pathol* 1992; 98: 603-614.
5. Brigden ML, Page NE, Graydon C. Evaluation of the Sysmex NE-8000; Automated hematology analyzer in a high-volume outpatient laboratory. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 618-625.
6. Buttarello M, Lorenz C, Gadotti M, Toffalori E, Valentini A, Rizzotti P. Diagnostic performance: A comparative study of the leucocyte differential count on four automated haematology analysers. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993; 31: 251-258.
7. Robertson EP, Lai HW, Wei DCC. An evaluation of leucocyte analysis on the Coulter STKS. *Clin lab Haemat* 1992; 14: 53-68.
8. Verheul FEAM, Betgmans CHF. Evaluatie Coulter STKS. *Tijdschr NVKV* 1991; 16: 59-67.
9. Broek PJ van den, Radder AM, Hermans J. De betekenis van lichaamstemperatuur, bezinking, C-reactief proteïne, leucocytenaantal en -differentiatie voor de diagnostiek van infecties op een eerste hulp afdeling voor inwendige geneeskunde. *Ned Tijdschr Geneesk* 1990; 134: 2536-2540.

## Summary

*Leftshift without microscope. Berg GA van den, Storm H en Smit JW. Ned Tijdschr Klin Chem* 1995; 20: 91-93.

Due to subjectivity and statistical variability of routine microscopic leucocyte differential the detection of leftshift in neutrophils is inaccurate. Using various techniques modern automated hematology analysers are able to provide indications for leftshift. Evaluation of the detection of leftshift by Bayer/Technicon H\*2, Sysmex NE-8000, Coulter STKS and Abbott Cell-Dyn 3500 showed a sensitivity of 59%, 26%, 82% and 62%, and a specificity of 72%, 80%, 64% and 93%, respectively. The predictive value of a negative test is greater than 90% for all analysers. A pilot study on 40 patients with septicaemia revealed that the positive predictive value of leftshift is 28% and 90% for the microscopic evaluation and the Coulter STKS respectively.

*Key-words: leftshift; automated hematology analysers.*