

Ενδείξεις επιχρίσματος περιφερικού αίματος

**Νικόλαος Ι. Τσαγκαράκης, MD, PhD
Επιμελητής Α' Ιατρικής Βιοπαθολογίας
Αιματολογικό Εργαστήριο ΓΝΑ «Γ. Γεννηματάς», Αθήνα**

Η σημασία του επιχρίσματος περιφερικού αίματος

- Η αυτοματοποίηση της αιματολογίας τα τελευταία 30 χρόνια έχει μεταμορφώσει την εργαστηριακή διάγνωση.
- Οι σύγχρονοι αιματολογικοί αναλυτές μπορούν να παρέχουν:
 - **πλήρη γενική αίματος (CBC)**
 - **λευκοκυτταρικό τύπο**
 - **δικτυοερυθροκύτταρα**
 - **πολλαπλές νέες κυτταρικές παραμέτρους**
- Παρά την υψηλή ακρίβεια των αναλυτών, η μορφολογική αξιολόγηση του περιφερικού αίματος παραμένει απαραίτητη.

Αιματολογικοί αναλυτές

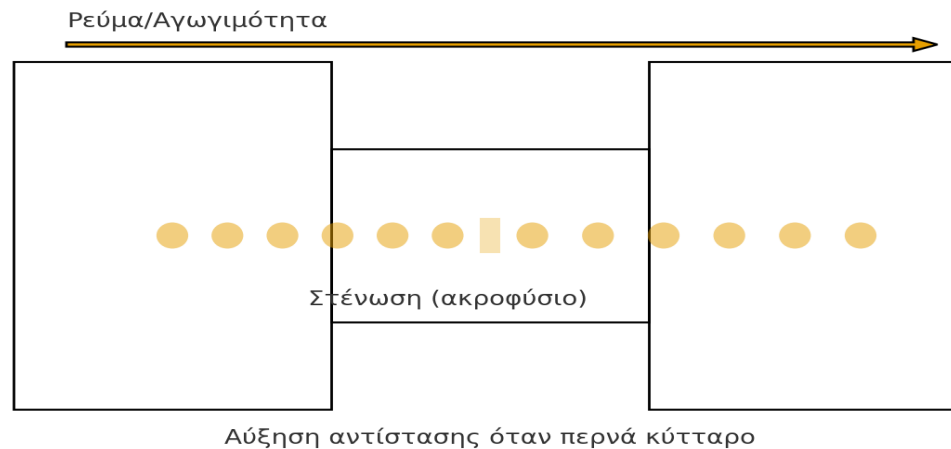
Ιστορικό – Εξέλιξη της Τεχνολογίας

Η τεχνολογία βασίζεται σε δύο κύριες αρχές:

- **Ηλεκτρική αντίσταση** (impedance / Coulter principle): χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Coulter το 1949, μετρώντας τον όγκο των κυττάρων μέσω αλλαγής της ηλεκτρικής αντίστασης.
- **Οπτική ανάλυση** (flow cytometry, διάθλαση φωτός κ.ά.): Συνδυάζει τεχνικές όπως ανάλυση **διάθλασης** και **φθορισμού** για πιο λεπτομερή χαρακτηρισμό των κυττάρων.
- Αυτές οι μέθοδοι εξελίχθηκαν σε **διαχωρισμό κατά όγκο/δομή** και περαιτέρω **βελτιώθηκαν με υδροδυναμική εστίαση και χρήση φωτονικών / ρευματικών σημάτων** (όπως οι συσκευές **VCS** — όγκος, αγωγιμότητα, διάθλαση)

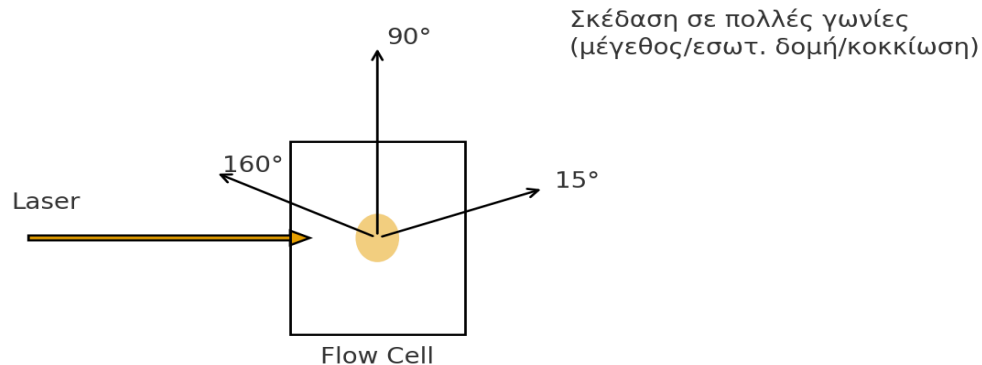
Αρχή Ηλεκτρικής Αντίστασης (Coulter)

- Κάθε κύτταρο περνά από μικρο-άνοιγμα σε ένα ηλεκτρικό κύκλωμα και μετρώνται παλμοί αντίστασης.
- Μέγεθος παλμού → όγκος κυττάρου.
- Βάση καταμέτρησης RBC/PLT, και WBC σε 3-part diff.



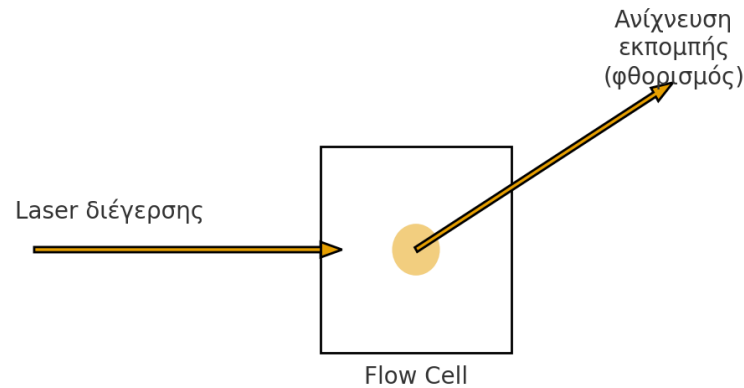
Οπτική Σκέδαση σε πολλαπλές γωνίες (Flow Cytometry)

- Κυψελίδα ροής με υδροδυναμική εστίαση.
- Ανιχνευτές σε διαφορετικές γωνίες → μέγεθος, κοκκίωση, εσωτερική σύσταση.
- Θεμέλιο για 5/6-part WBC διαφορικό.



Φθορίζουσα Κυτταρομετρία Ροής (RNA/DNA Dyes)

- Χρωστικές που δένονται σε νουκλεϊκά οξέα → εκπομπή φθορισμού.
- Διαχωρισμός WBC υποπληθυσμών, Reticulocytes, NRBC.
- Μειώνει manual διαφοροποιήσεις με εξελιγμένους αλγόριθμους.



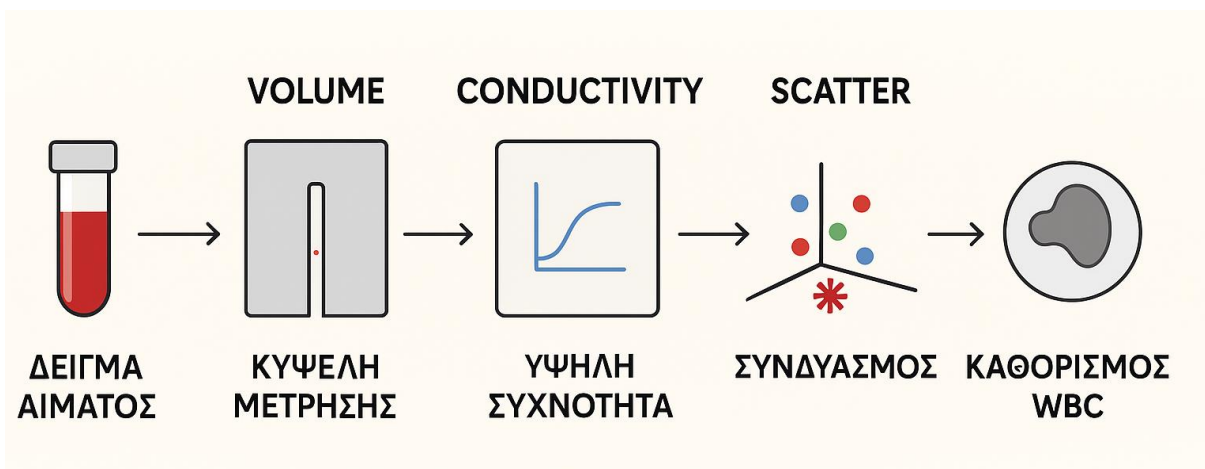
Χρωστικές RNA/DNA → Retic/NRBC/DIFF

VCS: Volume–Conductivity–Scatter

Η τεχνολογία VCS (Volume, Conductivity, Scatter) στους αιματολογικούς αναλυτές Beckman Coulter αφορά μια τρισδιάστατη ανάλυση κάθε λευκού αιμοσφαιρίου (WBC) ξεχωριστά, βασισμένη σε τρεις φυσικές παραμέτρους:

- 1. Volume (Όγκος)** – μετράται με την αρχή του Coulter: όταν το κύτταρο περνά από μικροσκοπικό άνοιγμα με ηλεκτρικό ρεύμα, η αντίσταση μεταβάλλεται ανάλογα με τον όγκο του.
- 2. Conductivity (Αγωγιμότητα)** – υψηλής συχνότητας ρεύμα διεισδύει στο κύτταρο και δίνει πληροφορίες για πυρήνα, κοκκία, κυτταροπλασματική σύσταση.
- 3. Scatter (Σκέδαση φωτός)** – λέιζερ προσπίπτει στο κύτταρο και η γωνία/ένταση της σκέδασης δείχνει μέγεθος, εσωτερική δομή και επιφάνεια.

Με τον συνδυασμό των τριών παραμέτρων, κάθε κύτταρο τοποθετείται σε τρισδιάστατο scatter plot (V–C–S), επιτρέποντας ακριβή διαχωρισμό μεταξύ ουδετερόφιλων, λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων, ηωσινοφίλων και βασεοφίλων χωρίς επιπλέον χρώση.



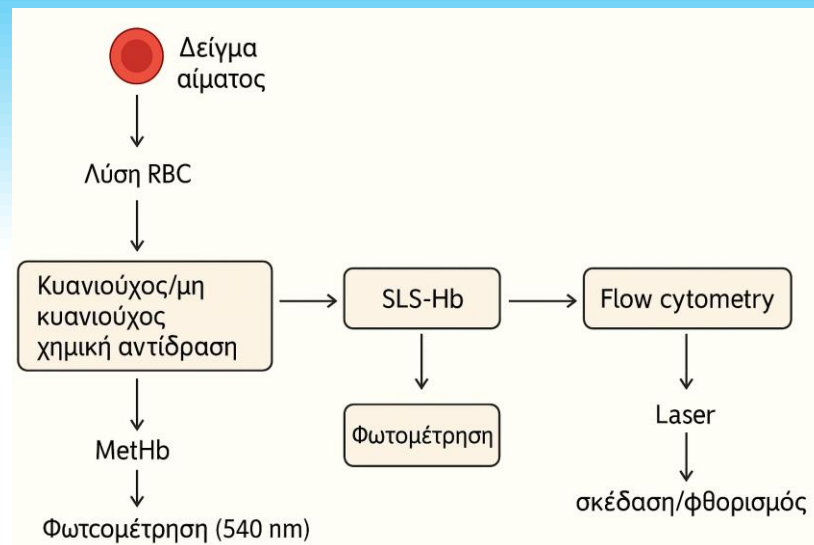
Μέτρηση Αιμοσφαιρίνης (HGB)

Κυανιούχος μέθοδος (Cyanmethemoglobin method):

- Τα RBC λύνονται.
- Το αντιδραστήριο (KCN + KFeCN) μετατρέπει την Hb → **μεθαιμοσφαιρίνη (MetHb)**.
- Στη συνέχεια, η MetHb συνδέεται με το κυανιούχο ιόν → κυανμεθαιμοσφαιρίνη (CyanmetHb), η οποία είναι σταθερή.
- Μετράται φωτομετρικά στα 540 nm.
- Σταθερή μέθοδος αλλά πλέον τείνει να εγκαταλειφθεί λόγω τοξικότητας.

Μη κυανιούχος μέθοδος (SLS-Hb):

- Το SLS (Sodium Lauryl Sulfate) αντιδρά απευθείας με τη Hb σχηματίζοντας σταθερό σύμπλοκο (SLS-Hb).
- Μετράται φωτομετρικά (συνήθως 535–555 nm).
- μέθοδος χωρίς κυάνιο, που χρησιμοποιεί επιφανειοδραστική ουσία· εφαρμόζεται ευρέως από **Sysmex**.



«Non-cyanide» τροποποιημένες μέθοδοι (Mindray, Abbott, Horiba, νεότερη Coulter)

- Αρχή: αντί για κυάνιο ή SLS, χρησιμοποιούν **άλλα οξειδωτικά και απορρυπαντικά (π.χ. sodium azide, ή άλλες οργανικές ενώσεις)** για λύση ερυθρών, οξείδωση Hb → metHb ή παρόμοιο σταθερό παράγωγο, σχηματισμό έγχρωμου συμπλόκου με διαφορετικό φάσμα απορρόφησης (συνήθως γύρω στα 540–555 nm).

➤ **Άρα, η φυσική αρχή μένει ίδια (χημική οξείδωση της Hb και φωτομετρική μέτρηση), αλλά διαφέρει το χημικό αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται για να δώσει σταθερό έγχρωμο παράγωγο.**

Flow cytometry (μέθοδος με laser, σε πιο εξελιγμένους αναλυτές)

- Η αιμοσφαιρίνη ανιχνεύεται έμμεσα μέσα από τη σκέδαση φωτός και φθορισμό.
- Συνδυάζεται με άλλες μετρήσεις, π.χ. ερυθροκυτταρικούς δείκτες.

Αρχές Μέτρησης Αιματολογικών Αναλυτών

Παράμετρος	Sysmex	Beckman Coulter	Abbott	Horiba	Mindray
RBC / PLT	Impedance + Hydrodynamic focusing	Impedance (aperture)	Impedance	Impedance	Impedance
WBC (Diff)	Flow cytometry με laser & φθορισμό	VCS (Volume-Conductivity-Scatter)	MAPSS (Multi-Angle Light Scatter)	Laser Scatter + Impedance	Flow cytometry με laser & φθορισμό
HGB	SLS (χωρίς κυάνιο)	Cyanmethemoglobin ή non-cyanide	Cyanide-free	Cyanide-free	Cyanide-free
Reticulocytes	Fluorescence (RNA)	Flow cytometry (fluorescence)	Fluorescence	Fluorescence	Fluorescence
NRBC	Optical/fluorescence	VCS	Optical scatter	Impedance/fluorescence	Fluorescence

Η σημασία του επίχρισματος περιφερικού αίματος

- Το επίχρισμα επιτρέπει:
 - ✓ άμεση αναγνώριση παθολογικών κυττάρων
 - ✓ διάγνωση αιματολογικών νεοπλασιών
 - ✓ εκτίμηση αιμολυτικών καταστάσεων
 - ✓ αναγνώριση λοιμώξεων
 - ✓ επιβεβαίωση ή διόρθωση ψευδών αποτελεσμάτων αναλυτή
- Έτσι, το επίχρισμα αποτελεί ακόμη το **gold standard** της μορφολογικής αιματολογίας.

Περιορισμοί της αυτοματοποιημένης γενικής αίματος

Παρά την τεχνολογική πρόοδο, οι αναλυτές έχουν περιορισμούς.
Οι κυριότεροι είναι:

✓ Αναγνώριση παθολογικών κυττάρων

Οι αναλυτές συχνά δεν μπορούν να αναγνωρίσουν αξιόπιστα π.χ. blasts, άτυπα λεμφοκύτταρα, προμυελοκύτταρα

✓ Μορφολογικές αλλοιώσεις ερυθρών

- Δεν μπορούν να εκτιμήσουν αξιόπιστα: schistocytes, spherocytes, elliptocytes, sickle cells

Περιορισμοί της αυτοματοποιημένης γενικής αίματος

✓ Προβλήματα αιμοπεταλίων

- platelet clumps
- ψευδοθρομβοπενία από EDTA
- giant platelets

✓ Παρεμβολές στο δείγμα

- ψυχροσυγκολλητίνες
- λιπαιμία
- έντονη λευκοκυττάρωση
- μικροθρόμβοι

❖ Για αυτό απαιτείται σύστημα κανόνων για smear review.

Αξιολογώντας την ανάγκη επιχρίσματος..

- ✓ Πρώτα αξιολογείται το ιστορικό
- ✓ Πρέπει να υπάρχει δυνατότητα αντικειμενικών κριτηρίων αξιολόγησης σε συσχέτιση με το ιστορικό
- ✓ Χωρίς κλινική πληροφορία, παρά μόνο από τις μετρήσεις
- ✓ **Κεντρικό ρόλο σε αυτό κατέχουν οι «DELTA CHECKS»**
- ✓ Η κλινική πληροφορία θα δώσει επιπρόσθετη αξία στην διαδικασία της αξιολόγησης

Consensus Guidelines: Delta Definitions

✓ Delta checks

- Οι **έλεγχοι Delta** έχουν στόχο τη μείωση των αιματολογικών εξετάσεων αναγνωρίζοντας προηγουμένως επικυρωμένες αιματολογικές μετρήσεις.

✓ Delta limits

- Τα **όρια Delta** για μια συγκεκριμένη εξέταση είναι το ποσό κατά το οποίο το πιο πρόσφατο αποτέλεσμα της αυτοματοποιημένης εξέτασης αναλυτή μπορεί να διαφέρει από ένα προηγούμενο αποτέλεσμα της ίδιας εξέτασης, πριν από την εντολή επίστρωσης επιχρίσματος ή άλλης ενέργειας για την επικύρωση του αποτελέσματος του αναλυτή.
- Τα όρια Delta θα πρέπει να καθορίζονται για κάθε εργαστήριο λαμβάνοντας υπόψη τις φυσιολογικές συνθήκες καθώς και τα χαρακτηριστικά του αυτόματου αναλυτή που χρησιμοποιείται στο συγκεκριμένο εργαστήριο.

✓ Delta pass and delta fail

- Το **Delta pass** συμβαίνει όταν το αποτέλεσμα της πιο πρόσφατης αυτοματοποιημένης μέτρησης αναλυτή δεν διαφέρει περισσότερο από το όριο Delta, σε σχέση με το αποτέλεσμα της προηγούμενης μέτρησης.
- **Delta fail** είναι όταν το αποτέλεσμα της πιο πρόσφατης μέτρησης διαφέρει περισσότερο από το προκαθορισμένο όριο Delta, σε σχέση με το προηγούμενο αποτέλεσμα της ίδιας δοκιμής.

Consensus Guidelines: Delta Definitions

✓ Positive delta and negative delta

- **Positive delta** συμβαίνει όταν το αποτέλεσμα της πιο πρόσφατης δοκιμής διαφέρει θετικά από το αποτέλεσμα της προηγούμενης δοκιμής, δηλαδή είναι μεγαλύτερο, ανεξάρτητα από το αν έχει ξεπεραστεί το όριο delta.
- **Negative delta** είναι όταν το αποτέλεσμα της πιο πρόσφατης δοκιμής διαφέρει αρνητικά από το αποτέλεσμα της προηγούμενης δοκιμής, δηλαδή είναι μικρότερο.

✓ Actions related to delta checks

- **Η Διεθνής Ομάδα Συναίνεσης (International Consensus Group) δεν έθεσε όρια delta, αφήνοντάς τα στο κάθε εργαστήριο.**
- Ωστόσο, πρότεινε συγκεκριμένες ενέργειες για καταστάσεις όπου υπερβαίνονται τα όρια delta που ορίζονται από το εκάστοτε μεμονωμένο εργαστήριο.

Διεθνείς κανόνες

- Οι διεθνείς κανόνες που χρησιμοποιούνται ως παγκόσμιο σημείο αναφοράς για το πότε πρέπει να γίνεται επίχρισμα περιφερικού αίματος μετά από αυτόματη γενική αίματος προέρχονται από ομάδα συναίνεσης της International Society for Laboratory Hematology (ISLH).
- Οι κανόνες αυτοί δημοσιεύθηκαν από την International Consensus Group for Hematology Review και αποτελούν το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο σύστημα για smear review μετά από CBC.
- Η ομάδα ειδικών δημιούργησε αρχικά 83 κανόνες, οι οποίοι μετά από αξιολόγηση σε 13.298 δείγματα από 15 εργαστήρια περιορίστηκαν σε **41 κανόνες που χρησιμοποιούνται ως διεθνές πρότυπο.**

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρυσμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

Pre-analytical / technical rules

1. **Νεογνό – πρώτο δείγμα** → smear review
2. CBC παράμετρος (WBC, RBC, HGB, PLT, Retics) **υπερβαίνει linearity** του αναλυτή → αραιώση και επανάληψη
3. WBC ή PLT **κάτω** από το όριο linearity του οργάνου → **επαλήθευση σύμφωνα με SOP** (επίχρισμα?, flag?, παρεμβολές?, νέο δείγμα?)
4. Instrument **vote-out** (**ασυμφωνία μετρήσεων**/μεταξύ διαφορετικών ανεξάρτητων αρχών μέτρησης αναλυτή) (WBC, RBC, HGB, PLT) → έλεγχος για πήγμα και επανάληψη

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρισμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

WBC-related rules

5. WBC $<4.0 \times 10^9/L$ ή $>30 \times 10^9/L$ (πρώτη φορά) → smear review

WBC $<4 \times 10^9/L$

Πιθανές αιτίες:

- μυελοκαταστολή
- ιογενείς λοιμώξεις
- απλαστική αναιμία
- μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα

Το smear μπορεί να δείξει:

- blasts
- atypical lymphocytes
- agranulocytosis

WBC $>30 \times 10^9/L$

Πιθανές αιτίες:

- λευχαιμία
- σοβαρή λοίμωξη
- μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα

Στο smear μπορεί να εμφανιστούν:

- blasts
- left shift
- toxic granulation

6. WBC <4 ή $>30 \times 10^9/L$ + **delta failure (εντός 3 ημερών)** → smear review

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρισμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

Platelet rules

7. PLT $<100 \times 10^9/L$ ή $>1000 \times 10^9/L$ (πρώτη φορά) → smear review
8. PLT οποιαδήποτε τιμή + **delta failure** → smear review

PLT $<100 \times 10^9/L$

Το smear είναι απαραίτητο για αποκλεισμό:

- platelet clumping
- giant platelets
- ψευδοθρομβοπενίας

PLT $>1000 \times 10^9/L$

Απαιτείται αξιολόγηση για:

- μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα
- αντιδραστική θρομβοκυττάρωση

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρυσμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

RBC / erythrocyte rules

9. **Hb** <7 g/dL ή >2 g/dL πάνω από το upper reference limit → smear review
10. **MCV** <75 fL ή >105 fL (ενήλικες, δείγμα <24 h) → smear review
11. **MCV** >105 fL και δείγμα >24 h → smear review ή νέο δείγμα (αν δεν παρατηρούνται μακροκυτταρικές αλλοιώσεις)
12. **MCV delta failure** (δείγμα <24 h) → smear review (μετά από έλεγχο ακεραιότητας δείγματος)

RBC / erythrocyte rules

Σοβαρή αναιμία

Hb <7 g/dL

Απαιτείται smear για αναζήτηση:

- αιμολυτικών μορφών
- schistocytes
- polychromasia

Μακροκυττάρωση

MCV >105 fL

Πιθανές αιτίες:

- μεγαλοβλαστική αναιμία
- μυελοδυσπλασία
- ηπατική νόσος

Στο smear αναζητούμε:

- macro-ovalocytes
- hypersegmented neutrophils

Μικροκυττάρωση

MCV <75 fL

Πιθανές αιτίες:

- σιδηροπενία
- θαλασσαιμία
- χρόνια νόσος

Στο smear πχ:

- μικροκυττάρωση
- υποχρωμία
- ελλειπτοκύτταρα
- στοχοκύτταρα

RBC / erythrocyte rules

13. **MCHC** → **>=2 units** above upper limit of reference range - Check for lipemia, hemolysis, **RBC agglutination, spherocytes (σε επίχρισμα)**

14. **MCHC <30 & normal/high MCV** → Investigate possible IV contamination or other sample specific cause. (αραίωση από ορό, ενδοφλέβια υγρά) → αν στο επίχρισμα φυσιολογικά ερυθρά, χωρίς υποχρωμία → νέο δείγμα

15. **RDW >22 (πρώτη φορά)** → Slide Review
 - ✓ ανισοκυττάρωση
 - ✓ δίμορφος πληθυσμός/μετάγγιση, μικτή αναιμία
 - ✓ μικροκύτταρα και μακροκύτταρα
 - ✓ πολυχρωματόφιλα/αιμολυτική αναιμία, αιμορραγία
 - ✓ αρχόμενη σιδηροπενία, αύξηση πριν πέσει το MCV
 - ✓ έντονη ποικιλοκυττάρωση (σχιστοκύτταρα, σφαιροκύτταρα, στοχοκύτταρα, ελλειπτοκύτταρα)

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρισμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

Differential count rules

16. No diff or incomplete diff → Manual Diff and Slide Review
17. Neutrophils $<1.0 \times 10^9/L$ ή $>20 \times 10^9/L$ (1^η φορά) → Slide Review
18. Lymphocytes $>5.0 \times 10^9/L$ (ενήλικες) ή >7.0 (<12 yrs old) (1^η φορά) → Slide Review
19. Monocytes $>1.5 \times 10^9/L$ (ενήλικες) ή >3.0 (<12 yrs old) (1^η φορά) → Slide Review
20. Eosinophils $>2.0 \times 10^9/L$ (1^η φορά) → Slide Review
21. Basophils $>0.5 \times 10^9/L$ (1^η φορά) → Slide Review

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρισμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

Analyzer flag rules

- ✓ NRBC flag
- ✓ Platelet clump flag
- ✓ Giant platelet flag
- ✓ RBC agglutination flag

NRBC flag

Η παρουσία εμπύρηνων ερυθρών μπορεί να σχετίζεται με:

- σοβαρή υποξία
- αιμολυτική αναιμία
- μυελοϊνωση
- κακοήθεια

Platelet clump flag

Υποδηλώνει πιθανή ψευδοθρομβοπενία.

Giant platelet flag

- Τα γιγαντιαία αιμοπετάλια (μεγαλύτερα από 4-7 microns) συχνά δεν μετρώνται σωστά από τους αναλυτές, καθώς μπορεί να «μπερδευτούν» με μικρά ερυθρά αιμοσφαίρια.
- Αν υπάρχουν πολλά γιγαντιαία αιμοπετάλια, ο αναλυτής μπορεί να δώσει **ψευδώς χαμηλό αριθμό αιμοπεταλίων** (θρομβοπενία), ενώ στην πραγματικότητα μπορεί να είναι φυσιολογικός ή οριακός.

RBC agglutination flag

- Για να επιβεβαιωθεί οπτικά η παρουσία συσσωματωμάτων ερυθρών (clumping) στο μικροσκόπιο.
- Για να διακριθεί η πραγματική συγκόλληση (π.χ. από ψυχροσυγκολλητίνες/cold agglutinins) από το φαινόμενο Rouleaux (στοίβαξη νομισμάτων) ή άλλα τεχνικά προβλήματα.
- Η συγκόλληση προκαλεί ψευδώς χαμηλό αριθμό ερυθρών (RBC), χαμηλό αιματοκρίτη (Hct) και πολύ υψηλό MCHC, καθώς ο αναλυτής μετράει τα συσσωματώματα ως ένα μεγάλο κύτταρο.

Analyzer flag rules

- ✓ Blast flag
- ✓ Immature granulocyte flag
- ✓ Left shift flag
- ✓ Atypical lymphocyte flag
- ✓ Abnormal lymphocyte flag

Blast flag

Υποψία: πχ οξείας λευχαιμίας

Immature granulocyte flag

Μπορεί να συνδέεται με:

- σοβαρή λοίμωξη
- μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα

Πολλά εργαστήρια έχουν θεσπίσει "action limits". Για παράδειγμα, αν το IG% υπερβαίνει ένα όριο (π.χ. >3% ή >5%), το επίχρισμα γίνεται υποχρεωτικά.

Left shift flag

Στο μικροσκόπιο ο εργαστηριακός ιατρός μπορεί να δει επιπλέον στοιχεία «τοξικότητας» (π.χ. τοξική κοκκίωση, σωματίδια Dohle), που υποδηλώνουν σοβαρή λοίμωξη ή φλεγμονή

Atypical lymphocyte flag

Παρατηρείται σε:

- λοιμώδη μονοπυρήνωση
- ιογενείς λοιμώξεις
- αυτοάνοσα νοσήματα
- φαρμακευτικές αντιδράσεις
- λεμφώματα

Abnormal lymphocyte flag

- Αντιδραστικά (Reactive) λεμφοκύτταρα??: Συνήθως υποδηλώνουν μια πρόσφατη ή ενεργή ιογενή λοίμωξη (π.χ. λοιμώδης μονοπυρήνωση από τον ιό EBV).
- Άτυπα/Κακοήθη κύτταρα??: Μπορεί να αποτελούν ένδειξη για αιματολογικές παθήσεις, όπως λεμφώματα ή λευχαιμίες

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρυσμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

Histogram / scattergram abnormalities

- ✓ Abnormal WBC scattergram
- ✓ Abnormal RBC histogram
- ✓ Abnormal platelet histogram

Abnormal RBC histogram

Η ανάγκη για επίχρισμα προκύπτει στις παρακάτω περιπτώσεις:

- **Υποψία Θραυσμάτων (Schistocytes)** - Όταν το γράφημα δείχνει μικρά, ανώμαλα σήματα κάτω από την κύρια μάζα των ερυθρών. Είναι κρίσιμο για τη διάγνωση μικροαγγειοπαθητικών αιμολυτικών αναιμιών
- **Παρουσία Εμπύρηνων Ερυθρών (NRBCs) (BM stress)**
- **Δίμορφος Πληθυσμός (Dimorphic Population)**
- **Συγκόλληση Ερυθρών (Agglutination):** Το γράφημα εμφανίζει σήματα σε περιοχές πολύ μεγάλου μεγέθους. Το επίχρισμα θα δείξει αν τα ερυθρά είναι κολλημένα μεταξύ τους (π.χ. λόγω ψυχροσυγκολλητινών).

Abnormal WBC scattergram

Ένδειξη για μικροσκοπική εξέταση επιχρίσματος στις εξής περιπτώσεις:

- **Ασαφής διαχωρισμός πληθυσμών**
- **Παρουσία "ξένων" πληθυσμών**
 - Βλαστών (Blasts)
 - Άτυπων ή αντιδραστικών λεμφοκυττάρων
 - Εμπύρηνων ερυθρών (NRBCs)
- **Υποψία παρασίτων** (π.χ. Ελονοσία)
- Τεχνικές παρεμβολές (σωροί, RBC resistant κτλ)
- Αδικαιολόγητες μεταβολές (Delta Checks)

Abnormal platelet histogram

- Υποψία Συσσωματωμάτων (**Clumps**)
- Γιγαντιαία Αιμοπετάλια (**Giant Platelets**): Εάν ο πληθυσμός των αιμοπεταλίων "εισβάλλει" στην περιοχή των ερυθρών αιμοσφαιρίων (λόγω μεγέθους)
- Παρουσία **Σχιστοκυττάρων** (παρόμοιο μέγεθος με τα αιμοπετάλια και μπορούν να προκαλέσουν "θόρυβο" ή ανώμαλο σήμα)
- Παρεμβολές από Μικροκύτταρα ή Κρυσταλλίνες

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρισμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

Delta check rules

- ✓ WBC delta failure
- ✓ Hb delta failure
- ✓ PLT delta failure
- ✓ **MCV delta failure**

(τα όρια delta ορίζονται από κάθε εργαστήριο)

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρυσμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

Reticulocyte rules

- ✓ Reticulocyte count abnormal pattern
- ✓ Reticulocyte delta failure

Διεθνείς κανόνες (ISLH) για πότε απαιτείται επίχρισμα περιφερικού αίματος

Οι κανόνες μπορούν να διαχωριστούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- 1) **Pre-analytical / technical rules**
- 2) **WBC-related rules**
- 3) **Platelet rules**
- 4) **RBC / erythrocyte rules**
- 5) **Differential count rules**
- 6) **Analyzer flag rules**
- 7) **Histogram / scattergram abnormalities**
- 8) **Delta check rules**
- 9) **Reticulocyte rules**
- 10) **Special instrument alarms**

Special instrument alarms

- Suspected abnormal cell population
- Blast flag **με προηγούμενο θετικό αποτέλεσμα**
- Blast flag + **WBC delta change**
- Reticulocyte abnormal scattergram

Consensus Guidelines: Positive Smear Findings

- Below is the listing of criteria used to determine **a positive smear finding** for the study of suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis.

1) Morphology

- a. **RBC morphology** at either 2+ / Moderate or greater. The only exception is Malaria, where any finding will be considered a positive finding.
- b. **PLT morphology** (giant platelets) at either 2+ / Moderate or greater.
- c. **Platelet Clumps** at > rare / occasional.
- d. **Dohle bodies** at either 2+ / Moderate or greater.
- e. **Toxic granulation** at either 2+ / Moderate or greater.
- f. **Vacuoles** at either 2+ / Moderate or greater

Consensus Guidelines: Positive Smear Findings

- Below is the listing of criteria used to determine **a positive smear finding** for the study of suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis.

2) Abnormal Cell Types

- a. Blast > 1
- b. Meta >2
- c. Myelo / Promyelocyte > 1
- d. Atypical Lymphs > 5
- e. NRBC > 1
- f. Plasma Cells > 1

Νεότερες αιματολογικές παράμετροι

➤ Οι σύγχρονοι αναλυτές παρέχουν νέους δείκτες που βοηθούν στη λήψη απόφασης για smear

- ✓ Hypochromic RBC %
- ✓ FRC% (Fragmented Red Cells %)
- ✓ MSCV (Mean Sphered Cell Volume)
- ✓ MCV vs MRV
- ✓ Immature Reticulocyte Fraction (IRF)
- ✓ Reticulocyte Hemoglobin (RET-He / CHr)

- ✓ MPV (Mean Platelet Volume)
- ✓ PDW (Platelet Distribution Width)
- ✓ P-LCR (Platelet Large Cell Ratio)
- ✓ PCT (Plateletcrit)
- ✓ IPF (Immature Platelet Fraction)
- ✓ Ret-PLT

- ✓ IG% (Immature Granulocytes)
- ✓ HFLC (High Fluorescent Lymphocyte Count)
- ✓ NEUT-RI (Reactivity Index)
- ✓ NEUT-GI (Granularity Index)
- ✓ RE-LYMP (Reactive Lymphocytes)

Παράμετροι Ερυθρών & Δικτυοερυθροκυττάρων

Ερυθρά σειρά (RBC/δικτυοερυθροκύτταρα)

%Hypochromic RBC

(ποσοστό υπόχρωμων RBC, %Hypo / Hypo-He)

(<28pg)

- **Τι μετράει:** ποσοστό ερυθρών με χαμηλή Hb — δείκτης χρόνιας/λειτουργικής έλλειψης σιδήρου.
 - **Φυσιολογικό <5%**
 - **>5% υποδηλώνει σιδηροπενική ερυθροποίηση, ένδειξη λειτουργικής ή απόλυτης σιδηροπενίας**
- **Κλινική χρήση:** αξιολόγηση σιδηροπενίας σε αιμοκαθαρόμενους ασθενείς, προγνωστικά και για καθοδήγηση θεραπείας σιδήρου.

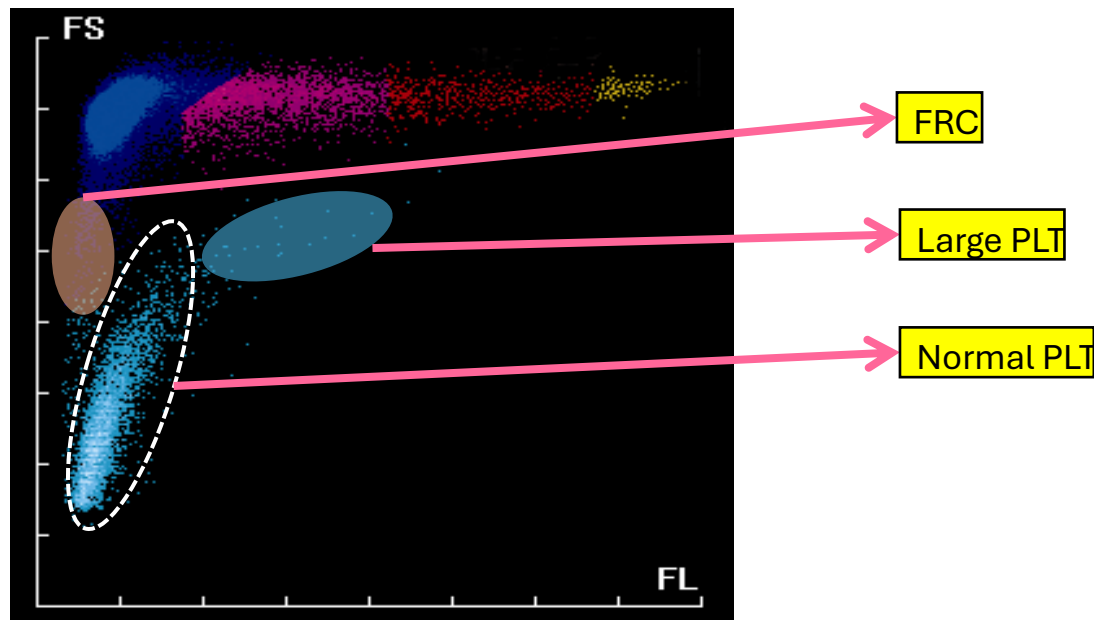


Επίχρισμα? (αξιολόγηση λειτουργικής ή απόλυτης σιδηροπενίας)

Ερυθρά σειρά (RBC/δικτυοερυθροκύτταρα)

FRC% (Fragmented Red Cells %)

- **FRC% = ποσοστό κατακερματισμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων που ανιχνεύθηκαν μεταξύ του συνόλου των ερυθρών αιμοσφαιρίων.**
- Αυτά τα θραύσματα είναι συνήθως σχιστοκύτταρα/μικροκυτταρικά θραύσματα που εμφανίζονται σε συνθήκες μηχανικής καταστροφής των ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- Αναγνωρίζονται από τον χαμηλό πρόσθιο σκεδασμό (FSC) (μικρό μέγεθος) και άλλα χαρακτηριστικά σκέδασης/φθορισμού στο κανάλι RET ή RBC.



Ερυθρά σειρά (RBC/δικτυοερυθροκύτταρα)

FRC% (Fragmented Red Cells %)

- **ICSH (International Council for Standardization in Haematology) recommends that definitive diagnosis of schistocytosis is made by manual smear review, not by FRC% alone.**
- **Analyzer FRC% is a screening/flagging tool, useful to trigger smear review.**
- **Always interpret together with:**
 - ✓ Hemoglobin, LDH, bilirubin, haptoglobin
 - ✓ Clinical suspicion (TMA, prosthetic valve, etc).

FRC% Value	Interpretation / Clinical significance
< 0.2%	Normal. No significant RBC fragmentation.
0.2 – 0.5%	Borderline. Possible minimal fragmentation. Correlate with smear.
0.5 – 1.0%	Suspicious. Suggests increased schistocytes. Review smear for TMA/hemolysis.
> 1.0%	Abnormal. Strongly suggests schistocytosis (>1% on smear). Seen in TTP, HUS, DIC, valve hemolysis.
> 2.0–3.0%	Marked fragmentation. Consistent with severe microangiopathic process or mechanical destruction (ECMO, severe DIC).

Ερυθρά σειρά (RBC/δικτυοερυθροκύτταρα)

MSCV (Mean Sphered Cell Volume)

- Ο **MCV** είναι ο μέσος όγκος ερυθρών και ΔΕΚ σε **ισότονο** περιβάλλον και τα κύτταρα έχουν το φυσικό τους σχήμα και μέγεθος.
- Ο **MSCV** είναι ο μέσος όγκος ερυθρών και ΔΕΚ σε **υπότονο** περιβάλλον που προκαλεί **σφαιροποίηση και τα ίδια κύτταρα έχουν παρόμοιο ή μεγαλύτερο όγκο.**
- **Αντιστροφή των δύο όγκων είναι ένδειξη ύπαρξης σφαιροκυττάρων καθώς κάποια από αυτά σπάνε κατά την διάρκεια της σφαιροποίησης τους.**



ΑΚΡΩΝΥΜΙΟ:

MSCV = Mean Sphered Cell Volume \geq MCV

Κατά την ανάλυση των ΔΕΚ προκαλείται σφαιροποίηση των ερυθροκυττάρων. Άρα ο MSCV πρέπει να είναι μεγαλύτερος ή ίσος από τον MCV (MSCV-MCV $>$ 0).

Αν MSCV - MCV είναι $<$ -10 τότε υπάρχει ευθραυστότητα μεμβράνης κάποιων ερυθροκυττάρων (σφαιροκύτταρα).

Η διαφορά μπορεί να δείξει αν αυτά προέρχονται από κάποια αιμολυτική αναιμία ή κληρονομική σφαιροκυττάρωση.



Επίχρισμα? (αξιολόγηση ύπαρξης σφαιροκυττάρων)

Ερυθρά σειρά (RBC/δικτυοερυθροκύτταρα)

MCV vs MRV

- Τιμές αναφοράς **MCV ~ 79 fl – 98 fl.**
- Τιμές αναφοράς **MRV ~ 105 fl – 125 fl.**
- Η σχέση των τιμών των όγκων ερυθροκυττάρων (MCV) και ΔΕΚ (MRV) είναι αποκαλυπτική της εξέλιξης οποιασδήποτε ενδεχόμενης αλλαγής στην ερυθρά σειρά.
- Με δεδομένο ότι η διάρκεια ζωής των ερυθροκυττάρων είναι 3 – 4 μήνες, **ενώ των ΔΕΚ λίγες μέρες**, οι πιθανές αλλαγές είτε επι τα βελτίω είτε επι τα χείρω «προαναγγέγονται» **από τον όγκο των ΔΕΚ.**
 - **Από μικροκυτταρικά ΔΕΚ (ερυθροποίηση με έλλειψη σιδήρου) παράγονται μικροκυτταρικά ερυθρά.**
 - Από νορμοκυτταρικά ΔΕΚ παράγονται νορμοκυτταρικά ερυθρά.
 - Από μεγαλοβλαστικά ΔΕΚ παράγονται μεγαλοβλαστικά ερυθρά.



Επίχρισμα? (αξιολόγηση ύπαρξης σιδηροπενίας ή πολυχρωματοφιλίας?)

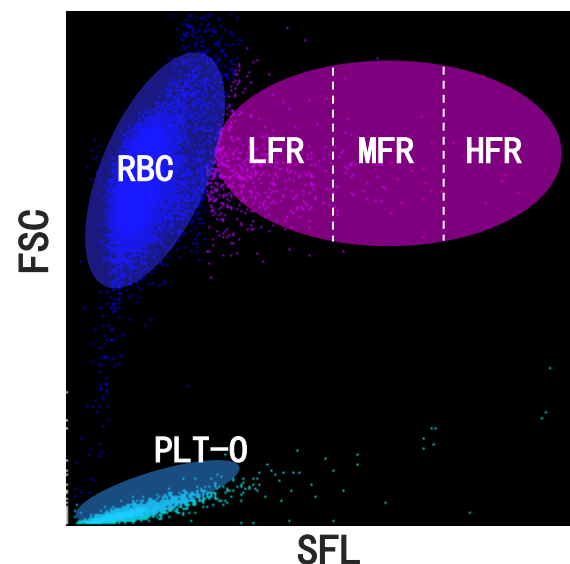
Ερυθρά σειρά (RBC/δικτυοερυθροκύτταρα)

➤ Οι σύγχρονοι αιματολογικοί αναλυτές **κατατάσσουν τα reticulocytes σε τρεις κατηγορίες** ανάλογα με την ποσότητα υπολειμματικού RNA → δηλαδή πόσο “νέα” είναι:

- **LFR% (Low Fluorescence Ratio):** πιο ώριμα ΔΕΚ.
 - **MFR% (Medium Fluorescence Ratio):** μέσης ωρίμανσης.
 - **HFR% ή HLR% (High Fluorescence Ratio):** πολύ νέα, με υψηλή περιεκτικότητα RNA.
- Το HLR% λοιπόν δείχνει το ποσοστό πολύ ανώριμων, “φρέσκων” ΔΕΚ που μόλις βγήκαν από τον μυελό.

Κλινική σημασία

- Αντανακλά την ενεργότητα της ερυθροποίησης και την κινητοποίηση του μυελού.
- **Αυξημένο HLR%** → ένδειξη έντονης απελευθέρωσης ανώριμων ερυθρών → π.χ. αιμολυτική αναιμία, οξεία απώλεια αίματος, ή αρχική φάση θεραπείας με σίδηρο/ερυθροποιητίνη.
- Φυσιολογικό/χαμηλό HLR% → σταθερή ή κατασταλαμμένη παραγωγή → π.χ. αναιμία χρόνιας νόσου χωρίς σιδηροπενία, μυελική ανεπάρκεια.



Ερυθρά σειρά (RBC/δικτυοερυθροκύτταρα)

Immature Reticulocyte Fraction (IRF)

Το Κλάσμα Ανώριμων Δικτυοερυθροκυττάρων (IRF) ορίζεται ως η αναλογία των νεαρών ή ανώριμων ΔΕΚ προς τον συνολικό αριθμό ΔΕΚ.

IRF= (MFR+HFR)/σύνολο ΔΕΚ

Τα ανώριμα ΔΕΚ

- είναι μεγαλύτερα
- έχουν **το υψηλότερο επίπεδο RNA**, άρα τις μεγαλύτερες ιδιότητες σκέδασης φωτός
- αποτελούν κανονικά **<5%** του συνολικού αριθμού ΔΕΚ
- απελευθερώνονται στο περιφερικό αίμα κατά τη διάρκεια περιόδων έντονης ερυθροποιητικής διέγερσης, όπως **αιμορραγία ή σε απόκριση σε θεραπεία** διέγερσης του μυελού των οστών
- **αποτελούν ισοδύναμο** της «αριστερής στροφής» που συνήθως σχετίζεται με τα ουδετερόφιλα



Επίχρισμα? (αξιολόγηση ανάλογα με την αναμενόμενη εικόνα)

Immature Reticulocyte Fraction (IRF)

Clinical Condition	IRF	Reticulocyte Count
Bone Marrow Engraftment	Elevated	Decreased
Hemolytic Anemia	Elevated	Elevated
Iron Deficiency Anemia	Elevated	Normal to Decreased
B ₁₂ or Folate Deficiency	Elevated	Normal to Decreased
Recent Hemorrhage	Elevated	Normal to Elevated
Thalassemia	Normal to Elevated	Elevated
Myelodysplastic Syndromes	Normal to Elevated	Normal to Decreased
Hypoplastic Anemia	Normal to Elevated	Decreased
Aplastic Crisis	Normal to Decreased	Decreased
Myeloid-Lymphoid Malignancies	Decreased	Normal
Aplastic Anemia	Decreased	Decreased

Ερυθρά σειρά (RBC/δικτυοερυθροκύτταρα)

Reticulocyte Hemoglobin Content — RET-Hc / CHr / Ret-Hb (περιεχόμενο Hb δικτυοερυθροκυττάρων)

 **frontiers** | Frontiers in [Medicine](#)

TYPE Original Research
PUBLISHED 09 April 2025
DOI 10.3389/fmed.2025.1577047

 Check for updates

OPEN ACCESS

EDITED BY
Bing Yang,
Tianjin Medical University, China

REVIEWED BY
Santosh Chokkaku,
Chungbuk National University, Republic of
Korea
Gena Huang,
Second Affiliated Hospital of Dalian Medical
University, China

*CORRESPONDENCE
Regina Ruiz de Viñaspre-Hernández
reruizde@unirioja.es

Utility of reticulocyte hemoglobin as a new predictor of anemia in intensive care unit patients

Manuel De la Cruz-Garcinuño¹, Raúl Juárez-Vela^{2,3},
Pablo Lasa-Berasain⁴, Regina Ruiz de Viñaspre-Hernández^{2*},
Michał Czapla^{2,5}, Lourdes García-Muñoz⁶,
Enrique Polo-Andrade⁶, Carmen Sarmiento⁶,
Javier Rodero-Martínez⁶, Mirian Alonso-Arias⁶,
Saray López-Tornero⁶ and Manuel Quintana-Díaz^{3,6}

Ερυθρά σειρά (RBC/δικτυοερυθροκύτταρα)

Delta-He

(Delta = RET-He - RBC-He / ή RET-He minus mature RBC Hb indicators)

- Τι μετράει: **διαφορά μεταξύ Hb ΔΕΚ και ώριμων RBC — αντανακλά απότομες αλλαγές** στην προμήθεια σιδήρου (π.χ. μετά από χορήγηση σιδήρου ή σε φλεγμονή).
- **ΔΕΚ-τρέχουσα κατάσταση σιδήρου, ώριμα ερυθρά-παρελθόν**
- Κλινική χρήση:
 - διαχωρισμός αναιμιών φλεγμονής/χρόνιας νόσου (*μη χρήση σιδήρου παγιδευμένου, Delta-He ~ 0*) –
 - από αναιμία λόγω ανεπάρκειας σιδήρου (*σε έλλειψη μειώνεται γρηγορότερα το Ret-He, Delta-He αρνητικό*) και monitoring θεραπείας.



Επίχρυσμα? (επικουρικά?)

Παράμετροι Αιμοπεταλίων

Αιμοπετάλια (Platelets)

PDW (Platelet Distribution Width)

α) Πώς μετράται:

- Υπολογίζεται από τον αιματολογικό αναλυτή μέσω της κατανομής του όγκου των αιμοπεταλίων (platelet volume histogram).

β) Τι μετράει:

- Δείκτη ετερογένειας μεγέθους αιμοπεταλίων (δηλαδή πόσο ποικίλλει ο όγκος τους).

γ) Αξιολόγηση:

- **Χαμηλό PDW → ομοιογενής πληθυσμός PLT.**
- **Υψηλό PDW → μεγάλη ποικιλία σε μέγεθος (ανάμιξη μικρών και μεγάλων αιμοπεταλίων).**

δ) Κλινική σημασία:

- **Αυξημένο σε: θρομβοκυτταροπάθειες, αυξημένη καταστροφή PLT (ITP), μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα, μετά από αιμορραγία ή θρομβοποίηση (λόγω απελευθέρωσης μεγάλων PLT από τον μυελό).**
- Δεν είναι απόλυτα ειδικό· χρειάζεται συνδυασμός με MPV και κλινική εικόνα.



Επίχρισμα? (αξιολόγηση ετερογένειας αιμοπεταλίων)

Αιμοπετάλια (Platelets)

Platelet-Large Cell Ratio (P-LCR)

α) Πώς μετράται:

- Από το histogram αιμοπεταλίων στον αναλυτή.

β) Τι μετράει:

- **Ποσοστό αιμοπεταλίων με όγκο > 12 fL.**

γ) Αξιολόγηση:

- **Υψηλό P-LCR → παρουσία μεγάλων αιμοπεταλίων («giant platelets»).**
- **Χαμηλό → κυριαρχία μικρών αιμοπεταλίων.**

δ) Κλινική σημασία:

- Υψηλό: αυξημένη παραγωγή PLT (π.χ. μετά από θρομβοπενία, αιμορραγία, ITP, μυελούπερπλαστικά σύνδρομα).
- Χρήσιμος δείκτης ενεργοποίησης αιμοπεταλίων.



Επίχρισμα? (αξιολόγηση ύπαρξης γιγάντιων αιμοπεταλίων)

Αιμοπετάλια (Platelets)

PCT (Plateletcrit)

α) Πώς μετράται:

- $PCT = PLT \text{ count} \times MPV / 10^7$

β) Τι μετράει:

- Τον συνολικό όγκο αιμοπεταλίων στο αίμα (αναλογία όγκου αιμοπεταλίων προς το συνολικό όγκο αίματος, ανάλογο με το Hct των RBC).

γ) Αξιολόγηση:

- Χαμηλό PCT → μειωμένος συνολικός όγκος PLT (θρομβοπενία ή μικρά PLT).
- Υψηλό PCT → θρομβοκυττάρωση ή μεγάλα PLT.

δ) Κλινική σημασία:

- Χαμηλό: αυξημένος κίνδυνος αιμορραγίας.
- Υψηλό: πιθανός αυξημένος θρομβωτικός κίνδυνος.



Επίχρισμα? (αξιολόγηση μεγέθους και αριθμού αιμοπεταλίων)

Αιμοπετάλια (Platelets)

Immature Platelet Fraction (IPF, % ή # — ή «reticulated platelets»)

α) Πώς μετράται:

- Με κυτταρομετρία ροής στους αναλυτές (χρώση RNA των αιμοπεταλίων, π.χ. Sysmex).

β) Τι μετράει:

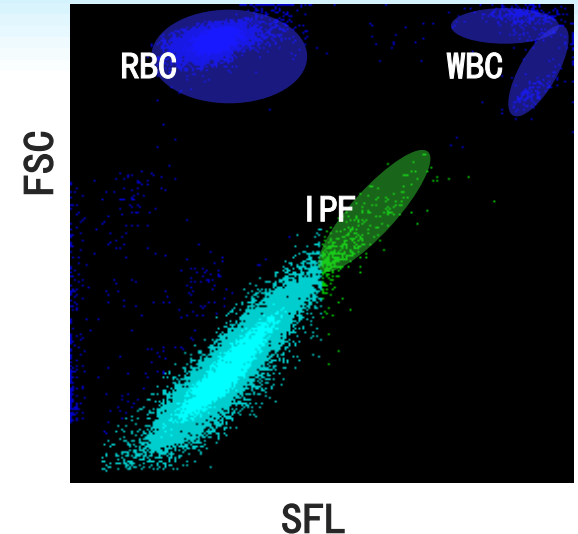
- Το ποσοστό των ανώριμων αιμοπεταλίων που κυκλοφορούν (έχουν ακόμα RNA κατάλοιπα).

γ) Αξιολόγηση:

- **Υψηλό IPF** → αυξημένη παραγωγή PLT από τον μυελό.
- **Χαμηλό IPF** → μειωμένη μυελική παραγωγή.

δ) Κλινική σημασία:

- Χρήσιμο στη διαφορική διάγνωση θρομβοπενίας:
 - **Υψηλό IPF** → περιφερική καταστροφή PLT (ITP, DIC, μετά αιμορραγία).
 - **Χαμηλό IPF** → μειωμένη παραγωγή (απλασία, μυελοκαταστολή, διήθηση μυελού).
- Χρησιμοποιείται και σε παρακολούθηση μετά μεταμόσχευση μυελού.



Αιμοπετάλια (Platelets)

Ret-PLT (Reticulated Platelets)

α) Πώς μετράται:

- Με μέτρηση του RNA σε αιμοπετάλια (μέσω ειδικών χρωστικών σε αναλυτές, παρόμοιο με τα δικτυοερυθροκύτταρα).

β) Τι μετράει:

- Απόλυτος αριθμός ή ποσοστό «νεαρών» αιμοπεταλίων που παράγονται από τον μυελό.
- Είναι πρακτικά το ίδιο με το IPF ($\text{Ret-PLT} = \text{IPF} \times \text{PLT count}$).

γ) Αξιολόγηση:

- **Αυξημένα** → ενεργή παραγωγή PLT.
- **Μειωμένα** → καταστολή ή βλάβη μυελού.

δ) Κλινική σημασία:

- **Διαφορική διάγνωση θρομβοπενίας (όπως IPF).**
- **Δείκτης αναγέννησης αιμοπεταλίων μετά χημειοθεραπεία ή μεταμόσχευση μυελού.**



Επίχρισμα? (αξιολόγηση μεγέθους αιμοπεταλίων?)

**Παράμετροι λευκής σειράς
(WBC / λεμφοκύτταρα / κοκκιοκύτταρα)**

Λευκή σειρά (WBC / λεμφοκύτταρα / κοκκιοκύτταρα)

Immature Granulocyte count (IG%, IG#)

- **Τι μετράει:** αυτόματη καταμέτρηση ωρίμανσης των κοκκιοκυττάρων (προμυελοκύτταρα, μυελοκύτταρα, μεταμυελοκύτταρα) — δείκτης σήματος μυελικής ανταπόκρισης.
- **Κλινική χρήση:** εκτίμηση λοίμωξης/σηψαιμίας, αυτοματοποιεί και βελτιώνει πολιτικές smear-review στο εργαστήριο. Υπάρχει αρκετή βιβλιογραφία που συγκρίνει την ακρίβεια IG με επίχρισμα.



Επίχρισμα? (αξιολόγηση λοίμωξης)

Λευκή σειρά (WBC / λεμφοκύτταρα / κοκκιοκύτταρα)

HFLC / High Fluorescence Lymphocyte Count (ή HFLC#, HFLC%)

- **Τι μετράει:** *λεμφοκύτταρα υψηλού φθορισμού* (π.χ. ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα, μεγάλα μη-συνηθισμένα λεμφοκύτταρα).
- **Κλινική χρήση:** προγνωστικός δείκτης/βοήθεια στη διάγνωση λοιμώξεων (π.χ. μονοπυρήνωση, δάγκειος πυρετός) και πιθανή πρόβλεψη σοβαρότητας.



Επίχρισμα? (αξιολόγηση λεμφοκυττάρων)

Sysmex

Extended Inflammation Parameters (EIP)

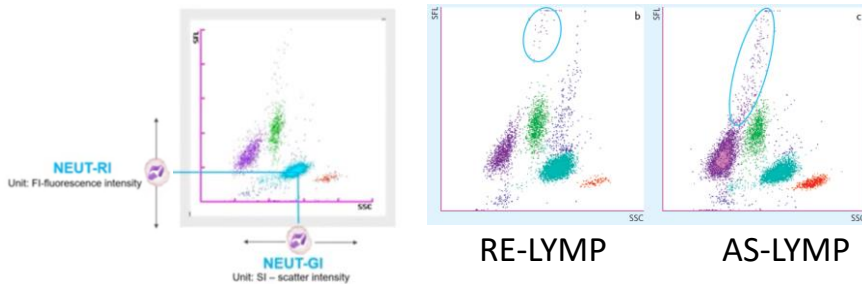
Parameter	What it measures	How it is measured	Clinical Interpretation
NEUT-RI	Functional/metabolic activity of neutrophils	Fluorescence intensity (RNA/DNA content, flow cytometry)	↑ High: Sepsis, bacterial infection ↓ Low: Viral infection, normal state
NEUT-GI	Neutrophil granularity (cytoplasmic granules)	Side scatter (SSC, granule complexity)	↑ High: Toxic granulation (bacterial) ↓ Low: Late sepsis, marrow suppression
RE-LYMP	Reactive lymphocytes (activated, enlarged)	Fluorescence + forward scatter (size, RNA content)	↑ High: Viral infections, immune activation Normal: Healthy state
AS-LYMP	Antibody-synthesizing lymphocytes (plasma-like cells)	Subset of RE-LYMP with very high fluorescence	↑ High: Viral infection, vaccination response
RE-MONO	Activated monocytes (immune activity)	Fluorescence (RNA content)	↑ High: Bacterial infection, systemic inflammation

SYSMEX's —Mindray's inflammatory parameters

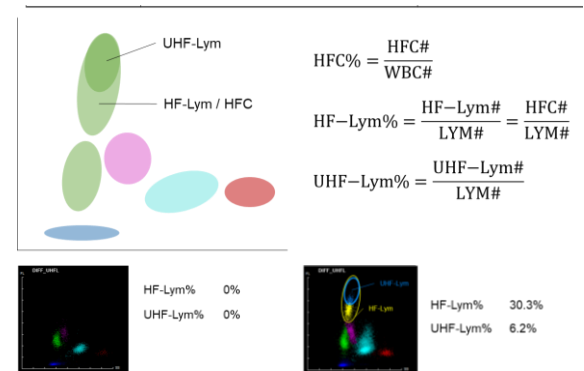
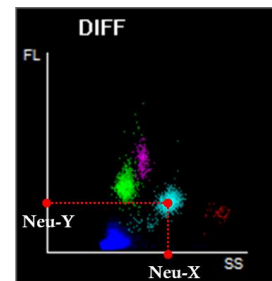


- NEU-GI—neutrophil granularity intensity
- NEU-RI—neutrophil reactive intensity
- RE-LYMP#, %—Reactive lymphocytes
- AS-LYMP#, %—Antibody synthesizing lymphocytes

They help clinicians diagnose, treat and monitor patients with **inflammatory conditions** by providing additional information about activation of the immune response.



- NEU-X—neutrophil distribution-side scatter intensity, Reportable
- NEU-Y—neutrophil distribution-side fluorescent light intensity, Reportable
- HF-Lym—high fluorescence lymphocyte percentage, RUO
- UHF-Lym—ultra high fluorescence lymphocyte percentage, RUO



Mindray solution

➤ The calculation principles of NEU-X, NEU-Y, UHF-Lym%# and HF-Lym%# are consistent with SYSMEX NEUT-GI, NEUT-RI, RE-LYMP, AS-LYMP



Επίχρισμα? (αξιολόγηση λεμφοκυττάρων)

“CELL POPULATION DATA” (CPD)

- ✓ Οι σύγχρονοι αιματολογικοί αναλυτές παρέχουν αυτόματα νέα δεδομένα που ορίζονται ως “cell population data” (CPD).
- ✓ Αυτά τα δεδομένα προορίζονται μόνο για ερευνητικούς σκοπούς.

Cell Population Data @

	NE		LY		MO		EO	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
V	157	51.81	103	19.54	167	32.64	158	2.00
C	144	15.03	118	11.04	127	6.88	197	40.00
MALS	120	27.53	77	19.62	99	13.10	223	13.00
UMALS	120	25.53	80	19.69	100	13.76	225	9.50
LMALS	114	32.27	68	23.14	92	16.00	218	16.00
LALS	128	55.24	41	14.82	91	34.92	195	60.00
AL2	137	33.11	83	11.51	134	18.98	155	67.00

@ For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

Modern analyzers in the diagnosis of myelodysplastic syndrome (MDS)

LETTER TO THE EDITOR

ISLH International Journal of
Laboratory Hematology WILEY

Screening of myelodysplastic syndrome using cell population data obtained from an automatic hematology analyzer

Kim H, Han E, Lee HK, et al. Int J Lab Hematol 2021;43:e54-7

*NEFSC, neutrophil forward scatter light;
NESSC, neutrophil side scatter light.*

- CPD χρησιμοποιήθηκαν για την αναγνώριση ασθενών με MDS, μεταξύ ατόμων με φυσιολογική CBC.
- Αυτή η μελέτη έδειξε ότι **τα CPD που αντιπροσωπεύουν τον όγκο (μειωμένο NEFSC) και την πολυπλοκότητα των ουδετερόφιλων (μειωμένο NESSC) μπορεί να είναι χρήσιμα για τον έλεγχο MDS χρησιμοποιώντας περιφερικό αίμα.**
- Οι υπάρχοντες γνωστοί δείκτες, χαμηλός αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων και αριθμός αιμοπεταλίων έδειξαν την υψηλότερη διαγνωστική αποτελεσματικότητα στον έλεγχο MDS.
- **Ο συνδυασμός αυτών των τεσσάρων δεικτών βελτίωσε σημαντικά την ευαισθησία της ανίχνευσης MDS.**

Modern analyzers in the diagnosis of myelodysplastic syndrome (MDS)

- Δυστυχώς, σχετικά πρόσφατη δημοσίευση του Murphy και των συνεργατών του σχετικά με τη χρήση (CPD) για τη διαφοροποίηση ασθενών με MDS και ασθενών με άλλες μορφές αναιμίας, **δεν διαπίστωσε στατιστικά σημαντική διαφορά στις παραμέτρους των CPD μεταξύ ασθενών με MDS και ασθενών με άλλες νορμόχρωμες αναιμίες.**

Murphy PT, Bergin S, O'Brien M, et al. Int J Lab Hematol 2022;44:e138-9.

- **Συνεπώς, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για την επικύρωση των δεδομένων CPD για τη διάγνωση ασθενών με MDS.**



Επίχρισμα? (αξιολόγηση δυσπλασίας όταν θα μας δίνεται η υποψία)

Inflammation or infections

- Αλλαγές στα ουδετερόφιλα, τα λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της λοίμωξης και της φλεγμονής.
- Ωστόσο, η αναγνώριση αυτών των μορφολογικών αλλαγών είναι συχνά περίπλοκη και επίπονη.
- **Το 2011, οι Park et al. προσδιόρισαν τη χρησιμότητα των CPD λευκοκυττάρων για τον έλεγχο της σήψης και της μυκηταιμίας χρησιμοποιώντας το Beckman Coulter DxH800TM.**
- Οι συγγραφείς έδειξαν ότι πολλές από τις CPD των ουδετεροφίλων, των λεμφοκυττάρων και των μονοκυττάρων μπορούν να θεωρηθούν χρήσιμες παράμετροι σήψης.
- Αυτές οι παράμετροι μπορούν να ενσωματωθούν σε έναν κανόνα απόφασης για τον έλεγχο δειγμάτων σήψης και για τη διάκριση της μυκηταιμίας από τη βακτηριαιμία.

Inflammation or infections

📌 Τι είναι το MDW: Παράμετρος των Cell Population Data που εκφράζει την ετερογένεια των μονοκυττάρων (monocyte distribution width volume–SD).

- **MDW >20** σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο σηψαιμίας (Sepsis-2/Sepsis-3).
- **ΜΕΘ:** MDW υψηλό σε σηψαιμία (cut-off ~24, AUC >0.85).
- **Μετα-αναλύσεις:** καλή ευαισθησία/ειδικότητα (Sepsis-2 ~0.79/0.78).
- **COVID-19:** MDW ≥ 24.7 συνδέεται με βαρύτερη νόσο.
- **Νεογνική σηψαιμία:** MDW + PCT βελτιώνει διαγνωστική ακρίβεια (AUC ~0.89).

-
- **Πλεονεκτήματα:** ταχεία, χαμηλού κόστους μέτρηση με τον ίδιο αιματολογικό αναλυτή.
 - **Περιορισμοί:** διαφοροποίηση cut-off ανά μελέτη, περιορισμένη ειδικότητα σε άλλες φλεγμονές.
 - **Κλινική χρήση:** για screening σηψαιμίας, σε ED/ΜΕΘ, σε συνδυασμό με άλλα κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα.

- Crouser ED et al. Monocyte distribution width: A novel indicator of sepsis-2 and sepsis-3 in the emergency department. *Chest*. 2020. PMID: 32391157
- Aguilar R et al. Diagnostic performance of monocyte distribution width for sepsis in ICU patients. *Crit Care Med*. 2024. PMID: 40850349
- Zhu Y et al. Diagnostic accuracy of monocyte distribution width in sepsis: systematic review and meta-analysis. *J Intensive Care*. 2022. PMID: 35166088
- Ognibene A et al. Elevated monocyte distribution width in patients with COVID-19. *BMC Infect Dis*. 2021. PMID: 34193208
- Ucar F et al. MDW and procalcitonin for neonatal sepsis diagnosis. *BMC Infect Dis*. 2025. PMID: 39715770

Inflammation or infections

- Πολύ πρόσφατα, οι Aguirre et al. ανέφεραν τη **διαγνωστική απόδοση ενός μοντέλου μηχανικής μάθησης χρησιμοποιώντας CPD που παρέχονται από τον αναλυτή Mindray BC-6800-PlusTM για την ανίχνευση σήψης.**
- Το συμπέρασμα του συγγραφέα ήταν ότι τα δεδομένα CPD μπορούν να είναι **χρήσιμα κατά την εισαγωγή του ασθενούς για τη δημιουργία μιας οικονομικά αποδοτικής πρόβλεψης σήψης.**

Aguirre U, Urrechaga E. Diagnostic performance of machine learning models using cell population data for the detection of sepsis: a comparative study. Clin Chem Lab Med 2023;61:356-65

Inflammation or infections

- Οι Urrechaga et al. **διερεύνησαν τον λευκοκυτταρικό τύπο και τις παραμέτρους CPD** από τον αναλυτή Mindray BC-6800-PlusTM σε ασθενείς με σοβαρή (SARS-CoV-2) λοίμωξη και σε ασθενείς με λοιμώξεις διαφορετικής αιτιολογίας που εισήχθησαν στο τμήμα επειγόντων περιστατικών.
- Το συμπέρασμα τους ήταν ότι **μεταξύ των CPD, οι παράμετροι που προέρχονται από τα ουδετερόφιλα είναι χρήσιμες για τη διάκριση μεταξύ SARS-CoV-2 και άλλων λοιμώξεων.**

Urrechaga E, et al. Clin Chem Lab Med 2022;60:e104-7

- Είναι ενδιαφέρον ότι αρκετές μελέτες χρησιμοποίησαν τα δεδομένα CPD για την έγκαιρη διάγνωση της νόσου COVID-19 με σκοπό την παρακολούθηση και για να βοηθήσουν στον καθορισμό της πρόγνωσης και της σοβαρότητας της νόσου.
- **Ωστόσο, οι τιμές CPD εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο του αναλυτή και τα CPD από διαφορετικούς αναλυτές δεν είναι απαραίτητα συγκρίσιμα, γεγονός που εμποδίζει την ευρεία διάδοση αυτών των παραμέτρων.**
- Συνεπώς, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την επιβεβαίωση αυτών των πρώιμων ενθαρρυντικών ευρημάτων.

Lapić I, Brenčić T, Rogić D, et al. Int J Lab Hematol 2021;43:e64-7

Harte JV, Mykytiv V. Clin Chem Lab Med 2021;59:e169-72



Επίχρισμα? (αξιολόγηση λοίμωξης/σήψης)

WPC channel (Sysmex)

Τεχνολογία: φθορίζουσας κυτταρομετρίας ροής (fluorescence flow cytometry).

- Διαχωρίζει πρόδρομα/παθολογικά λευκοκύτταρα: blasts, abnormal lymphocytes, immature granulocytes.
- Χρησιμοποιείται ως reflex κανάλι για αμφίβολα flags DIFF ('Blasts/Abn Lympho?').



Επίχρισμα? (αξιολόγηση ειδικότητας)

Microbiology and hematological analyzers

- **Αρκετές είναι οι αναφορές για περιπτώσεις ψευδοερυθροβλάστωσης που εντοπίστηκαν με αιματολογικό αναλυτή και προκλήθηκαν από σήψη από *Candida*.**
- Η παρουσία **βλαστοσπορίων *Candida albicans* στο ΠΑ**, οδήγησε σε μορφολογικές ανωμαλίες στο κυτταρόγραμμα σύγχρονων αιματολογικών αναλυτών διαφορετικών εταιρειών, οι οποίες εμφανίστηκαν ως «θόρυβος» έως κλείσιμο της ζώνης των ερυθροβλαστών, δημιουργώντας ένα αποτέλεσμα ψευδοερυθροβλάστωσης.
- Αυτά αποτελούν ένα άλλο πρακτικό παράδειγμα του πώς **«δεδομένα μηδενικού κόστους» μπορεί να είναι χρήσιμα**, αφού ερμηνευθούν σωστά, για την αναγνώριση μυκητιασικής λοίμωξης.

- ✓ *La Gioia A, Basile M, Fiorini F, et al. Pseudo-erythroblastosis on Sysmex XN hematology analyzers: a clue to Candida sepsis. Case report and literature review. Clin Chem Lab Med 2022;60:e210-2.*
- ✓ *La Gioia A, Bombara M, Fiorini F, et al. Earlier detection of sepsis by Candida parapsilosis using three-dimensional cytographic anomalies on the Mindray BC-6800 hematological analyzer. Clin Chem Lab Med 2016;54:e239-42.*
- ✓ *La Gioia A, Devito A, Fiorini F, et al. Cytographic changes on BC-6800 Haematological Analyzer related to the presence of Candida albicans in peripheral blood. A new tool to suspect candidemia? J Clin Pathol 2017;70:494-9.*
- ✓ *Gérard D, Lesesve JF. Abnormal dot plots on current automated blood cell analyzer helped to yeast detection. Clin Case Rep 2020;8:776-7.*
- ✓ *Comar SR, Spiri BS, Ferreira DS, et al. Early detection of Candida parapsilosis sepsis in peripheral blood as a result of cytografic changes on the Sysmex XN-3000 hematology analyzer. Int J Lab Hematol 2021;43:e280-3.*

CLINICAL IMAGE

Abnormal dot plots on current automated blood cell analyzer helped to yeast detection

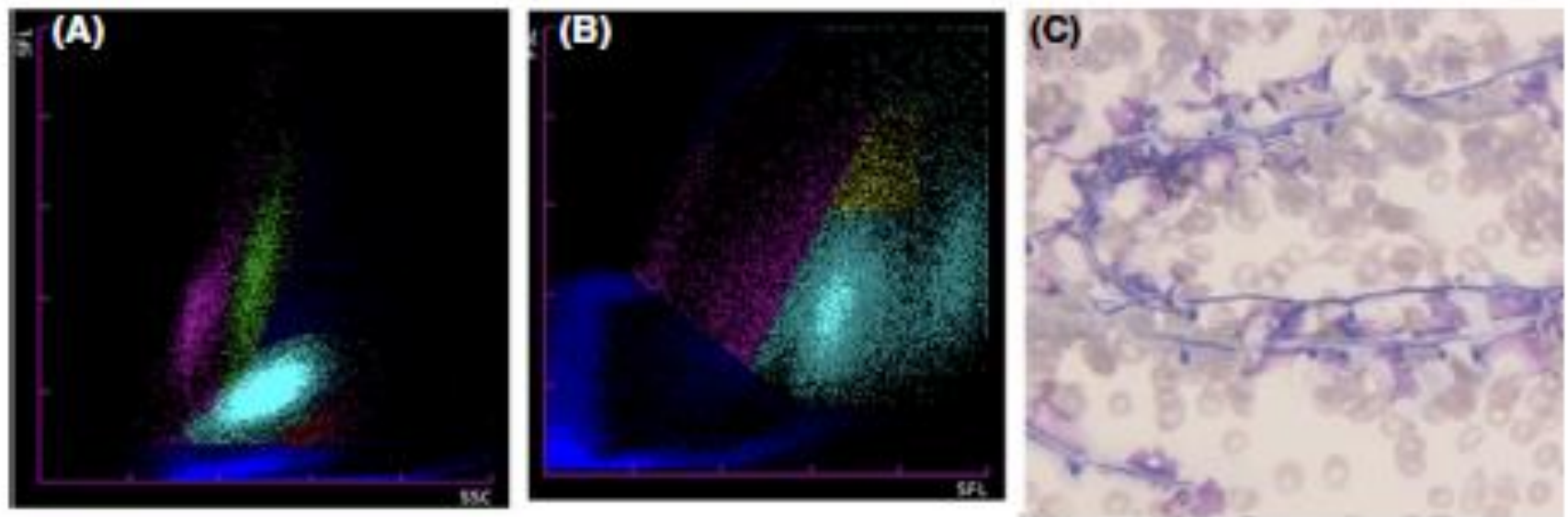
Delphine Gérard  | Jean-Francois Lesesve 

FIGURE 1 Patient 1: Abnormal lymphocytes separation (1A) on the WDF channel; dots misclassified as nucleated red blood cells (1B); and yeast observation (May-Grünwald-Giemsa stain, $\times 400$, 1C)

Microbiology and hematological analyzers

- Ομοίως, *οι Roccaforte et al. περιέγραψαν μια ενδιαφέρουσα περίπτωση απροσδόκητης διάγνωσης Plasmodium falciparum.*
- Η έρευνα ξεκίνησε λόγω παρατήρησης ενός ανώμαλου cluster στο διάγραμμα διασποράς σε σχέση με το κανάλι διαφορικής μέτρησης λευκών αιμοσφαιρίων (WDF) στον αναλυτή XN.
- Πραγματοποιήθηκε μικροσκόπηση που έδειξε εικόνα συμβατή με παρασιτισμένα ερυθρά .
- Αυτή η μελέτη **επιβεβαιώνει προηγούμενα αποτελέσματα που ελήφθησαν με διαφορετικούς αιματολογικούς αναλυτές από τις Beckman-Coulter και Abbott, και υπογραμμίζει τη δυνατότητα αναγνώρισης ατόμων με ελονοσία χάρη στις ανωμαλίες που παρατηρούνται στα κυτταρικά διαγράμματα διασποράς που παρέχονται από διαφορετικούς αιματολογικούς αναλυτές.**

- ❑ *Roccaforte V, Liuzzi G, Porreca WP, et al. A case of malaria diagnosed accidentally with Sysmex XN-9000 automated analyzer. J Lab Precis Med 2019;4:13.*
- ❑ *Campuzano-Zuluaga G, Alvarez-Sánchez G, Escobar-Gallo GE, et al. Design of malaria diagnostic criteria for the Sysmex XE-2100 hematology analyzer. Am J Trop Med Hyg 2010;82:402-11.*
- ❑ *Huh HJ, Oh GY, Huh JW, et al. Malaria detection with the Sysmex XE-2100 hematology analyzer using pseudo eosinophilia and abnormal WBC scattergram. Ann Hematol 2008;87:755-9.*
- ❑ *Mohapatra S, Samantaray JC, Arulselvi S, et al. Automated detection of malaria with haematology analyzer Sysmex XE-2100. Indian J Med Sci 2011;65:26-31.*
- ❑ *Campuzano-Zuluaga G, Hänscheid T, Grobusch MP. Automated haematology analysis to diagnose malaria. Malar J 2010;9:346.*

Latest publications..

- “Integrating **Cell Population Data** With Hematology Analyzer Messages for Improved Detection of Immature White Blood Cells and Laboratory Efficiency”

J Clin Lab Anal. 2025 Sep 10:e70099. doi: 10.1002/jcla.70099. Online ahead of print.

- “Leveraging Machine Learning for Rapid and Accurate Diagnosis of Acute Leukemia”

Int J Lab Hematol. 2025 Sep 9. doi: 10.1111/ijlh.14555. Online ahead of print.

- Key features identified included NE-WY, MO-WZ, LYMPH, NE-WZ, NEUT, and MONO#.
- Conclusion: ML models based on leukocyte and CPD parameters enhance the predictability of AL detection and lineage differentiation at a pre-microscopic level.

- “Exploring **Cell Population Data** for the Diagnosis and Assessment of Severity in Sepsis: A Preliminary Report”

Int J Lab Hematol. 2025 Aug 18. doi: 10.1111/ijlh.14539. Online ahead of print.

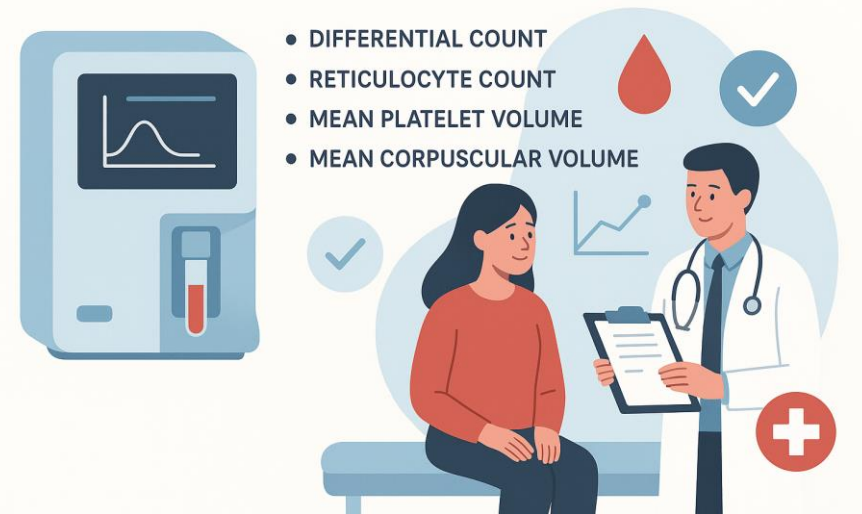
- Several CPD parameters-LY-X, LY-Z, MO-X, MO-Y, NE-WX, NE-WY, NE-WZ, LY-WX, LY-WY, and LY-WZ-were significantly elevated in sepsis. Multivariate analysis identified MO-X, MO-WY, LY-X, and LY-Z as strong discriminators (VIP > 1.15).

Συμπερασματικά..

- Το επίχρισμα περιφερικού αίματος παραμένει απαραίτητο στη σύγχρονη αιματολογία
- Για την αξιολόγηση της ανάγκης επιχρίσματος υπάρχουν **διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες**
- Οι οδηγίες αυτές πρέπει **να προσαρμόζονται ειδικά** στο εκάστοτε εργαστήριο, ανάλογα με τους αναλυτές που διαθέτει και τις ειδικές **SOP** του
- Η ενσωμάτωση:
 - analyzer flags
 - scattergrams
 - νέων αιματολογικών δεικτών

δημιουργεί ένα σύγχρονο σύστημα αξιολόγησης της CBC και **οδηγεί στην ανάγκη συνεχούς επικαιροποίησης των κριτηρίων επίστρωσης επιχρίσματος**

AUTOMATED HEMATOLOGY ANALYZERS



ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ ΠΟΛΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΟΜΟΝΗ ΣΑΣ