

INTERVALLI DI RIFERIMENTO DEGLI INDICI RETICOLOCITARI DEL SISTEMA SYSMEX XE-2100

Spina R., Burrone G., Cardillo A., Galuppo M., Lanati V., Terulla V.
Servizio Analisi Microbiologiche, IRCCS Policlinico S. Matteo - Pavia

INTRODUZIONE E SCOPO DEL LAVORO

Il sistema ematologico Sysmex XE-2100 esegue l'analisi dei Reticolociti con metodo ottico-laser in fluorescenza. La rilevazione combinata dello scatter frontale di luce laser e dell'intensità di fluorescenza emessa consente di separare i Reticolociti dagli Eritrociti maturi e dalle Piastrine (Fig. 1), suddividendoli in tre classi di maturità LFR, MFR, HFR e nella relativa Frazione di Reticolociti Immaturi IRF, ottenuta dalla somma delle due frazioni maturative più precoci (MFR+HFR).

Diversi autori hanno dimostrato come ulteriori indici di XE-2100 (RET-Y, RBC-Y) siano strettamente correlati al parametro CHR di Bayer (RET-Y^{1,2,3,4}), al contenuto di Hgb degli eritrociti maturi e alla % Hypo (RBC-Y^{2,3,4}), evidenziandone l'utilità clinica e diagnostica nei pazienti con carenza funzionale di ferro.

Il nuovo software "RET Master" di XE-2100 consente l'espressione di tali parametri in picogrammi, come misura del contenuto di emoglobina dei reticulociti (RET-He) e degli eritrociti maturi (RBC-He).

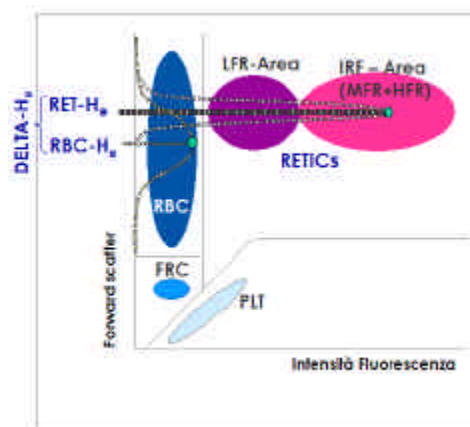


Fig. 1: Schema di citogramma Retic XE-2100

Vengono forniti con RET Master i seguenti ulteriori parametri:

- ✂ D-He: Delta He, calcolato dalla differenza tra RET-He e RBC-He
- ✂ RPI: Indice di Produzione Reticolocitaria. Conta reticulocitaria corretta in base all'ematocrito del paziente e al tempo di maturazione dei Reticolociti nel sangue periferico
- ✂ FRC # e %: quantificazione dei frammenti eritrocitari (schistociti) in nr. assoluto e in percentuale

Considerate le rilevanti potenzialità diagnostiche nei pazienti con carenza funzionale di ferro, abbiamo valutato gli intervalli di riferimento dei parametri reticolocitari forniti da Sysmex XE-2100 con software Ret Master, con particolare riferimento ai nuovi indici RET-He, RBC-He, D-He. Lo studio è stato effettuato su una popolazione adulta sana, senza anomalie ematologiche, verificando le eventuali differenze tra sesso e classi di età.

MATERIALI E METODI

Nel mese di Luglio 2005 sono stati selezionati 247 campioni di sangue fresco, raccolti in K3-EDTA, analizzati sui due strumenti Sysmex XE-2100 in uso presso il nostro laboratorio. I campioni provenivano da pazienti esterni (102 Maschi, 145 Femmine) di età compresa tra 16 e 87 anni, senza allarmi morfologici e/o quantitativi per RBC, PLT, WBC, formula leucocitaria, valore di Hgb > 12,5 g/dL, MCV > 82 fL. Sono stati determinati gli intervalli di riferimento (range 2,5° - 97,5° percentile) e verificate le differenze tra sesso e fra tre diversi classi di età, indicate in tabella 1, con test di Kruskal-Wallis (significatività statistica per p<0.01).

Tab 1: Ripartizione in Classi di Età dei soggetti esaminati

	Classe di età	Nr. soggetti
1	Da 16 a 40 anni	106
2	Da 41 a 65 anni	100
3	Oltre 65 anni	41

RISULTATI

Gli intervalli di riferimento (I.R.) e i relativi dati statistici sono riportati in Tab. 2 (confronto per sesso) e Tab. 3 (confronto per classi di età).

Tab. 2 - Intervalli di riferimento parametri reticolocitari XE-2100: confronto per sesso

	Tutti (n=247)		Maschi (n=102)		Femmine (n=145)		p-value (M/F)
	Mediana	Range	Mediana	Range	Mediana	Range	
RET %	0.93	0.49 – 1.98	0.88	0.51 – 2.00	0.95	0.47 – 2.04	0.106
RET # (x10 ⁹ /L)	43.80	22.10 – 91.82	45.00	26.01 – 98.55	43.60	20.56 – 94.02	0.620
RET-He (pg)	32.60	29.53 – 35.02	32.77	30.61 – 35.14	32.55	29.30 – 34.78	0.121
RBC-He (pg)	29.80	27.33 – 31.44	29.89	27.88 – 31.40	29.71	26.97 – 31.47	0.165
D-He (pg)	2.91	1.51 – 4.13	2.92	1.50 – 4.17	2.84	1.51 – 4.16	0.180
LFR %	94.60	85.02 – 98.95	94.55	84.70 – 98.48	94.60	84.91 – 99.17	0.690
MFR %	5.10	1.05 – 12.73	4.85	1.51 – 13.05	5.10	0.66 – 12.66	0.721
HFR %	0.30	0.00 – 2.28	0.30	0.00 – 2.24	0.30	0.00 – 2.37	0.539
IRF %	5.40	1.05 – 15.00	5.45	1.51 – 15.30	5.40	0.83 – 15.09	0.690
RPI	0.80	0.40 – 1.70	0.90	0.50 – 2.05	0.80	0.30 – 1.70	<0.0001
FRC %	0.00	0.00 – 0.27	0.00	0.00 – 0.21	0.01	0.00 – 0.35	0.152
FRC # (x10 ⁹ /L)	0.000	0.000 – 1.352	0.000	0.000 – 1.070	0.000	0.000 – 1.606	0.219

Tab. 3 - Intervalli di riferimento parametri reticolocitari XE-2100: confronto per classi di età

	da 16 a 40 aa. (n=106)		da 41 a 64 aa. (n=100)		Oltre 65 aa. (n=41)		p-value (M/F)
	Mediana	Range	Mediana	Range	Mediana	Range	
RET %	0.94	0.50 – 1.96	0.91	0.50 – 1.91	0.95	0.35 – 1.69	0.985
RET # (x10 ⁹ /L)	44.40	23.52 – 86.04	43.35	22.44 – 90.34	42.70	16.67 – 79.24	0.896
RET-He (pg)	32.62	29.41 – 34.43	32.55	29.43 – 35.56	32.92	30.16 – 35.47	0.338
RBC-He (pg)	29.71	27.21 – 31.40	29.85	27.32 – 31.52	30.27	27.33 – 31.54	0.278
D-He (pg)	2.92	1.38 – 3.79	2.84	1.67 – 4.22	2.84	0.79 – 5.00	0.808
LFR %	95.50	85.16 – 99.17	94.20	84.27 – 98.84	94.50	81.95 – 99.35	0.029
MFR %	4.40	0.66 – 12.33	5.55	1.16 – 13.43	5.30	0.65 – 15.00	0.036
HFR %	0.30	0.00 – 2.37	0.40	0.00 – 2.25	0.40	0.00 – 3.12	0.064
IRF %	4.50	0.83 – 14.84	5.80	1.15 – 15.73	5.50	0.65 – 18.05	0.029
RPI	0.80	0.40 – 1.60	0.90	0.35 – 1.80	0.80	0.30 – 1.68	0.456
FRC %	0.00	0.00 – 0.28	0.00	0.00 – 0.31	0.01	0.00 – 0.31	0.999
FRC # (x10 ⁹ /L)	0.000	0.000 – 1.240	0.000	0.000 – 1.605	0.040	0.000 – 1.454	0.999

Solo l'RPI (Indice di Produzione Reticolocitaria) ha valori statisticamente diversi tra i due sessi, in quanto l'Ematocrito negli stessi soggetti ha valori significativamente più bassi nelle donne ($p < 0.0001$, I.R. non riportati).

Per tutti i parametri reticolocitari, non si evidenziano differenze statisticamente significative nelle tre classi di età esaminate, nonostante i valori dei limiti inferiore e superiore dei parametri RET % e RET # sono più bassi nei soggetti di età superiore a 65 anni.

Ret-He ha valori più elevati di RBC-He, come dimostra il D-He (differenza tra RET-He e RBC-He) che in tutti i soggetti esaminati ha valori positivi.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La definizione degli I.R. degli indici reticolocitari è di particolare importanza, in quanto dipendenti dal metodo analitico e, per gli indici di maturità, non confrontabili tra strumenti diversi. E' quindi rilevante il riscontro che gli I.R. da noi determinati per RET-He e RBC-He sono confrontabili agli I.R. di CHR e CH di Bayer ADVIA 120 descritti in letteratura^(1, 2, 3). Gli I.R. di RET-He, RBC-He e D-He non dipendono da sesso ed età e possono quindi essere utilizzati in modo univoco per i soggetti adulti. E' al nostro studio la definizione degli I.R. di RET-He e RBC-He nei pazienti in età pediatrica, nei quali l'attività eritropoietica midollare (fisiologicamente diversa da quella degli adulti) si riflette con valori di RET-He e RBC-He significativamente più bassi.

Per l'uso diagnostico di tali parametri riteniamo di particolare interesse la valutazione contestuale del D-He, che in tutti i soggetti sani valutati nel nostro studio ha mostrato valori positivi: la presenza di un valore negativo di D-He potrebbe essere una spia precoce di carenza funzionale di ferro. Altrettanto rilevante può essere la valutazione del D-He nel monitoraggio terapeutico di pazienti con anemia sideropenica o in dialisi, in quanto il parametro esprime in tempo reale il diverso stato di emoglobinizzazione tra i reticolociti e gli eritrociti maturi.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Buttarello M, Tempurin V, Ceravolo R, Farina G, Bulian P – The new reticulocyte parameter (RET-Y) of the Sysmex XE-2100: its use in the diagnosis and monitoring of posttreatment sideropenic anemia. *Am J Clin Path* 2004; 121; 489-495
2. Briggs C, Rogers R, Thompson B, Machin J – New red cell parameters on the Sysmex XE-2100 as potential markers of functional iron deficiency. *Sysmex Journal International*, Vol. 11 No. 2, 2001
3. Franck S, Linssen J, Messinger M, Thomas L – Potential utility of RET-Y in the diagnosis of Iron-restricted erythropoiesis. *Clinical Chemistry*, 2005, 1240 – 1242
4. Maconi M, Formisano D, Gregorini M, Morini M, Brini M – RBC-Y e RET-Y: due nuovi parametri dell'analizzatore ematologico Sysmex XE-2100 come potenziali indicatori di carenza funzionale di ferro in pazienti dializzati