

Bacheloroppgave

BI301305 Bacheloroppgave

Utprøving av Sysmex XN-2000 til kvalitetskontroll av plasma.

Kandidatnummer: 14, 16

Totalt antall sider inkludert forsiden: 84

Innlevert Ålesund, 29.05.2015.

Obligatorisk egenerklæring/gruppeerklæring

Den enkelte student er selv ansvarlig for å sette seg inn i hva som er lovlige hjelpemidler, retningslinjer for bruk av disse og regler om kildebruk. Erklæringen skal bevisstgjøre studentene på deres ansvar og hvilke konsekvenser fusk kan medføre. **Manglende erklæring fritar ikke studentene fra sitt ansvar.**

Du/dere fyller ut erklæringen ved å klikke i ruten til høyre for den enkelte del 1-6:		
1.	Jeg/vi erklærer herved at min/vår besvarelse er mitt/vårt eget arbeid, og at jeg/vi ikke har brukt andre kilder eller har mottatt annen hjelp enn det som er nevnt i besvarelsen.	<input checked="" type="checkbox"/>
2.	Jeg/vi erklærer videre at denne besvarelsen: <ul style="list-style-type: none">• ikke har vært brukt til annen eksamen ved annen avdeling/universitet/høgskole innenlands eller utenlands.• ikke refererer til andres arbeid uten at det er oppgitt.• ikke refererer til eget tidligere arbeid uten at det er oppgitt.• har alle referansene oppgitt i litteraturlisten.• ikke er en kopi, duplikat eller avskrift av andres arbeid eller besvarelse.	<input checked="" type="checkbox"/>
3.	Jeg/vi er kjent med at brudd på ovennevnte er å <u>betrakte som fusk</u> og kan medføre annullering av eksamen og utestengelse fra universiteter og høyskoler i Norge, jf. Universitets- og høgskoleloven §§4-7 og 4-8 og Forskrift om eksamen §§30 og 31.	<input checked="" type="checkbox"/>
4.	Jeg/vi er kjent med at alle innleverte oppgaver kan bli plagiatkontrollert i Ephorus, se Retningslinjer for elektronisk innlevering og publisering av studiepoenggivende studentoppgaver	<input checked="" type="checkbox"/>
5.	Jeg/vi er kjent med at høgskolen vil behandle alle saker hvor det forligger mistanke om fusk etter høgskolens studieforskrift §30	<input checked="" type="checkbox"/>
6.	Jeg/vi har satt oss inn i regler og retningslinjer i bruk av kilder og referanser på biblioteket sine nettsider	<input checked="" type="checkbox"/>

Publiseringsavtale

Studiepoeng: 15

Veileder: Førsteamanuensis Anne Røsvik
Fagbioingeniør Rigmor Søvik

Fullmakt til elektronisk publisering av oppgaven

Forfatter(ne) har opphavsrett til oppgaven. Det betyr blant annet enerett til å gjøre verket tilgjengelig for allmennheten ([Åndsverkloven §2](#)).

Alle oppgaver som fyller kriteriene vil bli registrert og publisert i Brage HiÅ med forfatter(ne)s godkjennelse.

Oppgaver som er unntatt offentlighet eller båndlagt vil ikke bli publisert.

Jeg/vi gir herved Høgskolen i Ålesund en vederlagsfri rett til å gjøre oppgaven tilgjengelig for elektronisk publisering:

ja nei

Er oppgaven båndlagt (konfidensiell)?

ja nei

(Båndleggingsavtale må fylles ut)

- Hvis ja:

Kan oppgaven publiseres når båndleggingsperioden er over?

ja nei

Er oppgaven unntatt offentlighet?

ja nei

(inneholder taushetsbelagt informasjon. [Jfr. Offl. §13/Fvl. §13](#))

Dato: 29.05.2015

Forord

Denne bacheloroppgaven er utført av to bioingeniørstudenter ved Høgskolen i Ålesund. Oppgaven er skrevet våren 2015 over en tidsperiode på 11 uker. Vi ble tildelt en oppgave om utprøving av Sysmex XN-2000 til kvalitetskontroll av plasma produsert av Blodbanken ved Ålesund sjukehus. Fagbioingeniør ved fagområde for hematologi og koagulasjon ved Ålesund sjukehus ønsket at denne oppgaven skulle utføres da de nåværende metodene for kvalitetskontroll er utilstrekkelige og tidkrevende.

Den praktiske delen av oppgaven er utført på avdeling for medisinsk biokjemi ved Ålesund sjukehus. Avdeling for medisinsk biokjemi har dekket alle de økonomiske utgiftene til laboratoriearbeidet.

Oppgaveprosessen har vært lærerik og spennende, og vi har lært mye om vitenskapelig tenking og vurdering.

Vi ønsker å rette en stor takk til:

Førsteamanuensis Anne Røsvik, for hjelp og veiledning i skriveprosessen.

Fagbioingeniør Rigmor Søvik, for faglig veiledning og hjelp til laboratoriearbeid.

Bioingeniør II Marianne Sjøli, for bidrag i den faglige veiledningen.

Bioingeniørene ved Blodbanken på Ålesund sjukehus, for hjelp med innsamling av prøvemateriale.

Kontaktperson i Sysmex Norge, for informasjon om Sysmex XN-2000 og innspill når det oppsto problemer underveis i det praktiske arbeidet.

Ellers en stor takk til andre lærere ved Høgskolen i Ålesund og bioingeniører ved Avdeling for medisinsk biokjemi som har kommet med innspill og tips underveis.

Sammendrag

Denne oppgaven tar for seg følgende problemstilling: Utprøving av Sysmex XN-2000 til kvalitetskontroll av plasma produsert av blodbanken ved Ålesund sjukehus. Hvor godt samsvarer resultatene fra Sysmex XN-2000 med de nåværende metodene for kvalitetskontroll?

Hensikten med oppgaven var å undersøke om Sysmex XN-2000 kunne brukes til kvalitetskontroll av plasma produsert i blodbank når det gjelder residuale leukocytter, erytrocytter og trombocytter. For å undersøke dette ble plasmaprøver analysert på Sysmex XN-2000, først i kroppsvæskemodus med hensyn på leukocytter og erytrocytter, og deretter i fullblodsmodus med hensyn på trombocytter. Resultatene ble sammenlignet med resultater fra de samme prøvene analysert med de nåværende metodene for kvalitetskontroll av plasma. Referansemethodene var Cell-Dyn Sapphire for leukocytter og trombocytter og manuell telling i Bürker tellekammer for erytrocytter. Deretter ble statistiske metoder brukt til å vurdere om resultatene samsvarer.

Resultatene viste at Sysmex XN-2000 samsvarer godt med de nåværende metodene for kvalitetskontroll når det gjelder analysering av residuale leukocytter, erytrocytter og trombocytter. Imidlertid avdekket oppgaven en svært dårlig intraseriell presisjon for leukocytter i plasma både på Sysmex XN-2000 og referansemethoden. Konklusjonen var at Sysmex XN-2000 kan erstatte de nåværende metodene for kvalitetskontrollen av plasma, men feilkilden for den dårlig intraserielle presisjonen bør undersøkes videre.

Innholdsfortegnelse

1	Innledning	3
1.1	Problemstilling	4
1.2	Teoridel	5
1.2.1	Plasma	5
1.2.2	Residuale celler	6
1.2.3	Transfusjonsreaksjoner	8
1.2.4	Sysmex XN-2000	10
1.2.5	Referansemetoder	13
1.2.6	Metodesammenligning	15
1.2.7	Tidligere studier	17
2	Materiale og metode	20
2.1	Innsamling av prøvemateriale	20
2.2	Analysering av prøver og kontroller.....	21
2.2.1	Kontroller på Sysmex XN-2000 og Cell-Dyn Sapphire	21
2.2.2	Analysering av prøver på Sysmex XN-2000	21
2.2.3	Analysering av prøver på Cell-Dyn Sapphire	22
2.2.4	Manuell telling i Bürker tellekammer	23
2.2.5	Presisjonsanalyse	23
2.3	Eventuelle feilkilder	24
2.4	Metodevalidering.....	25
2.5	Statistiske metoder	26
2.5.1	Hypotesetesting	26
2.5.2	Regresjon- og korrelasjonsanalyse.....	28
2.5.3	Variasjonskoeffisienten	29
3	Resultat	30
3.1	F-test	31
3.2	t-test	32
3.3	Regresjon- og korrelasjonsanalyse	33
3.3.1	Leukocytter	33
3.3.2	Erytrocytter	34
3.3.3	Trombocytter	35
3.4	Intraseriell presisjon	37
3.5	Interseriell presisjon	38
4	Diskusjon	40
4.1	Leukocytter	40
4.1.1	Intraseriell presisjon	40
4.1.2	Interseriell presisjon	42
4.2	Erytrocytter	42
4.2.1	Intraseriell presisjon	42
4.2.2	Interseriell presisjon	43
4.3	Trombocytter	43
4.3.1	Intraseriell presisjon	44
4.3.2	Interseriell presisjon	44
4.5	Validering	45
5	Konklusjon	46
5.1	Forslag til videre studier	47

Oversikt over vedlegg:

Vedlegg 1: Oversikt over reagenser Sysmex XN-2000 og Cell-Dyn Sapphire.

Vedlegg 2: Bakgrunnssjekk Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 3: Bakgrunnssjekk Cell-Dyn Sapphire.

Vedlegg 4: Formler brukt i Statistisk metode.

Vedlegg 5: Resultater og innledende utregninger leukocytter.

Vedlegg 6: Resultater og innledende utregninger erythrocytter.

Vedlegg 7: Resultater og innledende utregninger trombocytter.

Vedlegg 8: Prøve 1 analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 9: Prøve 1 analysert på Sysmex XN-2000 fullblodsmodus.

Vedlegg 10: Prøve 1 analysert på Cell-Dyn Sapphire.

Vedlegg 11: Regneark fra Excel for F-test.

Vedlegg 12: Regneark fra Excel for t-test.

Vedlegg 13: Resultat og innledende utregninger fra presisjonsanalysen for leukocytter.

Vedlegg 14: Analysering nr. 1 presisjonsanalysen Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 15: Analysering nr. 10 presisjonsanalysen Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 16: Analysering nr. 20 presisjonsanalysen Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 17: Bakgrunnssjekk i presisjonsanalysen Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 18: Analysering nr. 21 presisjonsanalysen Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 19: Resultat og innledende utregninger fra presisjonsanalysen for erythrocytter.

Vedlegg 20: Resultat og innledende utregninger fra presisjonsanalysen for trombocytter.

Vedlegg 21: Utdrag fra regneark for intraseriell presisjon mellom parallellene ved manuell metode.

Vedlegg 22: «Control level 1» Sysmex XN-2000 fullblodsmodus.

1 Innledning

I denne oppgaven skal vi undersøke om Sysmex XN-2000 (XN-2000) kan brukes til kvalitetskontroll av plasma produsert i blodbanken ved Ålesund sjukehus. Den delen av kvalitetskontrollen vi skal ta for oss er tellingen av residuale celler, som er det gjenværende innholdet av erytrocytter, leukocyter og trombocytter i plasmaet når det er ferdig produsert. Denne kvalitetskontrollen er viktig fordi ulike transfusjonsreaksjoner kan oppstå hos pasienten som en følge av for høyt innhold av disse residuale cellene i plasmaet.

I dag utføres tellingen av de residuale cellene i plasma på Cell-Dyn Sapphire (Sapphire) og ved manuell telling i Bürker tellekammer¹. Ifølge bioingeniørene ved fagområdet for hematologi og koagulasjon ved Ålesund sjukehus gir ikke Sapphire gode nok resultater for prøver med lavt innhold av blodceller. Også den manuelle metoden er utilstrekkelig da den er tidkrevende, unøyaktig og krever riktig personale til stede for å kunne utføres. På grunn av dette ønsker de nye metoder for å utføre kvalitetskontrollen.

XN-2000 har et kroppsvæskemodus som er beregnet for andre kroppsvæsker enn blod, dette moduset brukes i dag til analysing av cerebrospinalvæske på Ålesund sjukehus². Vi skal undersøke om kroppsvæskemoduset egner seg til telling av residuale erytrocytter og leukocyter i plasma. Siden kroppsvæskemoduset ikke analyserer trombocytter, skal vi også undersøke om fullblodsmoduset på XN-2000 egner seg til telling av residuale trombocytter i plasma. Når en analysemetode skal benyttes til et annet materiale enn hva den er ment for må metoden valideres³. Analysemetodene på XN-2000 er beregnet på kroppsvæsker og fullblod og de må derfor valideres før de tas i bruk til analysing av plasma. For å utføre valideringen skal vi undersøke nøyaktigheten og presisjonen til XN-2000, Sapphire og manuell telling i Bürker tellekammer når det gjelder residuale celler i plasma, og deretter sammenligne disse.

Opgaven inneholder flere temaer som er viktige i bioingeniørryknet. Bioingeniørens kjernekompetanse inkluderer kunnskap om kvalitetssikring, innføring av nye analysemetoder, og vurdering og validering av medisinske laboratorieanalyser^{4,5}. Dette viser at oppgaven vår er relevant for bioingeniørutdanningen.

I kapittel 1.2 presenterer vi relevant teori for oppgaven. I kapittel 2 forklarer vi hvilket materiale vi bruker og hvordan vi har behandlet det, hvordan vi har utført laboratoriearbeidet og hvordan vi skal bruke statistiske metoder til å beregne resultatet. Deretter vil vi presentere resultatene våre i kapittel 3 og diskutere funnene våre i kapittel 4.

1.1 Problemstilling

Utprøving av Sysmex XN-2000 til kvalitetskontroll av plasma produsert av blodbanken ved Ålesund sjukehus. Hvor godt samsvarer resultatene fra Sysmex XN-2000 med de nåværende metodene for kvalitetskontroll?

Den delen av kvalitetskontrollen vi skal ta for oss er tellingen av de residuale cellene, som er det gjenværende innholdet av erytrocytter, leukocytter og trombocytter i ferdig produsert plasma.

Operasjonalisering av problemstillingen:

De residuale cellene skal analyseres på XN-2000 og resultatene vi får skal sammenlignes med resultatene fra de nåværende metodene for kvalitetskontroll ved Ålesund sjukehus, som vil være våre referansemetoder.

- Leukocytter skal analyseres med kroppsvæskemoduset på XN-2000, og Sapphire skal brukes som referansemetode.
- Erytrocytter skal analyseres med kroppsvæskemoduset på XN-2000, og manuell telling i Bürker tellekammer skal brukes som referansemetode.
- Trombocytter skal analyseres med fullblodsmoduset på XN-2000, og Sapphire skal brukes som referansemetode.

1.2 Teoridel

I dette kapittelet skal vi ta for oss relevant teori for oppgaven. Når det gjelder analysemetodene som er brukt har vi valgt å legge hovedvekten på Sysmex XN-2000 da dette er den nye metoden som skal innføres. Cell-Dyn Sapphire og Bürker tellekammer vil bare bli kort presentert.

1.2.1 Plasma

Plasma er en av bestanddelene i humant fullblod. I fullblod er det tre hovedtyper celler: erytrocytter, leukocyter og trombocyter. Disse cellene er omgitt av plasmaet, som består blant annet av omtrent 92% vann, proteiner, karbohydrater, lipider, hormoner og ioner^{6, 7, 8}.

Ved fullblodstapping av blodgivere blir blodet samlet i en tappepose som inneholder antikoagulanten citrat-phosphate-dextrose (CPD)^{6, 9}. Hele posesettet blir sentrifugert for å skille blodkomponentene fra hverandre, erytrocyttene samles på bunnen av posen, plasmaet øverst, og laget mellom kalles buffy coat og består av trombocyter og leukocyter. Deretter blir tappeposen presset og plasmaet vil bli samlet i en egen pose. Buffy coatene blir igjen i tappeposen og kan brukes til produksjon av trombocyttkonsentrat⁹. Erytrocyttene blir blandet med saltvann, adenin, glukose og mannitol, og deretter filtrert for å fjerne leukocyter¹⁰.

Etter at plasmaet er separert fra de andre komponentene skal det fryses ned så raskt som mulig, og blir heretter betegnet som ferskfrosset plasma (FFP)^{9, 11}. Omtrent en gang hver måned blir FFP fra hele Norge sendt til firmaet Octapharma i Østerrike¹². Der blir FFP fra flere blodbanker blandet, virusinaktivert og fraksjonert, deretter blir det brukt til å fremstille plasmabaserte legemidler¹³. Blodgiverne må ifølge Behandlingsbiobankloven¹⁴, §10 samtykke til at deres plasma fraktes ut av Norge til bruk i legemiddelproduksjon¹⁴.

Blodoverføring er en uerstattelig del av medisinsk behandling, derfor er sykehusene avhengige av blodkomponenter og –produkter fremstilt fra donert blod¹⁵. I følge Håndbok i transfusjonsmedisin¹⁰ har sykehusene i Norge handlet plasmaprodukter fra firmaene Baxter og Octapharma i det europeiske plasmamarkedet siden 1.juli 2009¹⁰.

Plasmaproduktene som blir kjøpt tilbake til Norge har mange bruksområder. Virusinaktivert plasma, fremstilt av FFP, benyttes ved store blødninger for å tilføre koagulasjonsfaktorer. Albumin kan gis ved store proteintap. Preparater som inneholder en eller flere koagulasjonsfaktorer kan benyttes til pasienter med lang koagulasjonstid, spesifikke koagulasjonsdefekter eller store, akutte blødninger. Immunglobuliner kan benyttes ved immunglobulinmangel og enkelte autoimmune sykdommer^{10, 13}.

Blodbankene er ansvarlige for at blodproduktene som produseres tilfredsstillende kravene til kvalitet og sikkerhet gitt i Blodforskriften¹⁶. Kravene for residuale celler i plasma til FFP er gitt i Blodforskriften¹⁶:

Erytrocytter:	$< 6,0 \times 10^9 /L$
Leukocyter:	$< 0,1 \times 10^9 /L$
Trombocyter:	$< 50 \times 10^9 /L$

I blodbanken ved Ålesund sjukehus blir denne kvalitetskontrollen utført på to plasmaenheter i løpet av en måned. Minst 75 % av alle målingene i løpet av seks måneder skal tilfredsstillende kvalitetskravet¹.

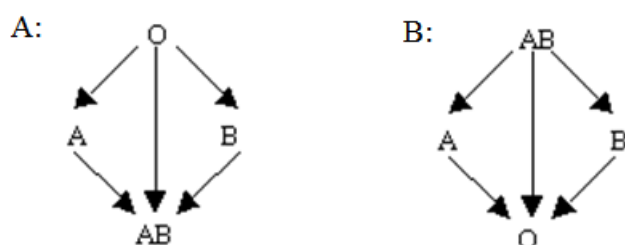
1.2.2 Residuale celler

I dette kapitlet skal vi ta for oss de residuale cellene som kan forårsake reaksjoner ved transfusjon av plasma. Ved å utføre kvalitetskontrollen på plasmaenheten kan slike reaksjoner forhindres. De tre typene residuale celler er erytrocytter, leukocyter og trombocyter.

1.2.2.1 Erytrocytter

Erytrocyttene har antigen plassert på cellemembranen. Hvilke antigen et menneske har på sine erytrocytter avhenger av AB0-blodtypen. Blodtype A har A-antigen, blodtype B har B-antigen, blodtype AB har både A- og B-antigen og blodtype 0 har ingen av dem. I

plasma har mennesket antistoff mot det antigenet de ikke har selv. På grunn av disse antistoffene kan det oppstå reaksjoner ved transfusjon av blod⁶. Ved transfusjon av feil ABO-antigen kan det oppstå en akutt hemolytisk transfusjonsreaksjon som følge av at pasientens antistoff reagerer med de tilførte antigenene og hemolyserer dem^{6, 10}. Ved hemolyse vil cellemembranen på erythrocyttene bli ødelagt og hemoglobin og andre intracellulære komponenter fra erythrocyttene frigjøres⁸. På grunn av dette er det viktig at det ikke er store mengder residuale erythrocytter i plasmaet. I Figur 1 viser vi hvordan transfusjon mellom giver og pasient med ulike ABO-typer kan foregå. Figuren viser at valg av ABO-type til plasmatransfusjon er omvendt av valg av ABO-type for erythrocytter, dersom det er residuale erythrocytter i plasmaet vil det dermed bli transfundert uforlidelige erythrocytter til pasienten.



Figur 1: Valg av erythrocytter (A) og plasma (B) ved transfusjon mellom giver og pasient med ulik ABO-type¹⁷.

1.2.2.2 Leukocytter

På leukocytene befinner det seg en spesiell type antigen som kalles Humane Leukocyte Antigen (HLA). HLA er delt inn i to klasser, klasse I og klasse II. Klasse I finnes på nesten alle kjerneholdige celler, og på trombocytter. Klasse II finnes normalt på antigenpresenterende celler som monocytter, makrofager, dendritiske celler og B-lymfocytter^{6,18}. HLA-antigenene er viktige ved gjenkjennelse og bekjempelse av mikroorganismer som trenger inn i kroppen⁶. Det finnes ulike haplotyper av HLA og dersom en blir eksponert for annen HLA-type enn sin egen enten ved transfusjon eller ved graviditet vil det bli dannet antistoff. HLA-antistoff hos enten giver eller pasient kan føre til febrile transfusjonsreaksjoner og transfusjonsrelatert akutt lungesvikt (TRALI)¹⁰. For å

unngå dannelsen av HLA-antistoff eller transfusjonsreaksjoner som følge av HLA-antistoff er det derfor viktig å unngå residuale leukocytter i plasma.

Cytokiner produseres hovedsakelig av leukocytter. Dersom pasienten har leukocytantistoff som binder seg til giverens leukocytter vil cytokiner med betennelsesfremmende aktivitet (proinflammatoriske cytokiner) bli produsert. Makrofager og monocytter skiller ut flere forskjellige cytokiner med umiddelbar effekt når de blir aktiverte. Dette vil gi en indirekte virkning på hypotalamus som videre kan føre til febril transfusjonsreaksjon^{18, 19}.

1.2.2.3 *Trombocytter*

Leukocytter kan produsere antistoff mot transfunderte trombocytter ved eksponering av genetisk forskjellige trombocytantigen. Dette er spesifikke trombocytantistoff, som oftest anti-HPA-1a. Kvinner kan danne denne typen antistoff ved svangerskap. Det kan også dannes ved transfusjoner, derfor er det viktig at plasmaet ikke inneholder residuale trombocytter^{6, 10}.

Trombocytene har også HLA-klasse 1 antigen som kan føre til transfusjonsreaksjoner på samme måte som nevnt for leukocytene⁶.

1.2.3 **Transfusjonsreaksjoner**

Transfusjonsreaksjoner kan oppstå dersom pasienten har antistoffer mot erytrocytter, leukocytter eller trombocytter i det transfunderte blodproduktet^{6, 10}. Ved å blande et stort antall enkeltenheter av plasma slik som Octapharma gjør vil antistoffene fortynnes. I tillegg vil antistoffene nøytraliseres av trombocytter, leukocytter og løselige HLA-antigener, og antigen-antistoffkompleksene som dannes vil bli fjernet i virusinaktivering. Dette fører til færre reaksjoner ved plasmatransfusjoner¹⁰. Selv om transfusjonsreaksjoner er sjeldne ved plasmatransfusjon vil vi videre ta for oss reaksjonene

som kan oppstå på grunn av residuale celler i plasma, noe som vil vise viktigheten av å utføre kvalitetskontrollen.

1.2.3.1 *Febril transfusjonsreaksjon*

Febril transfusjonsreaksjon er en akutt reaksjon. Reaksjonen kommer av tilstedeværelsen av leukocytantistoff hos pasienten som reagerer med antigen på de residuale leukocytene. Antistoffer mot både klasse I og II av HLA vil føre til at leukocytter destrueres og gir febrile reaksjoner. På grunn av leukocytfiltrering av blodprodukt er det sjelden HLA-antistoff dannes etter transfusjoner, men immunisering kan skje i forbindelse med svangerskap. Reaksjonene er svært sjeldent farlige. Symptomene er feber og frysninger som oppstår etter kort tid, vanligvis går reaksjonen over etter et par timer⁶.

1.2.3.2 *Allergisk transfusjonsreaksjoner*

Allergiske transfusjonsreaksjoner er akutte og forekommer relativt hyppig⁶. Reaksjoner kommer av at pasienten har antistoff mot giveren sine plasmaproteiner, eller at giveren er allergisk og at mottakeren har tilsvarende allergen på sine antistoff¹⁰. Noen få personer har genetisk betinget IgA-mangel, disse kan få allergisk reaksjon på grunn av at de har dannet antistoff mot IgA allerede første gang de får blodoverføring^{6, 10}. Allergiske reaksjoner er blitt sjeldnere etter at plasma fra enkeltgivere ble erstattet med virusinaktivert plasma¹⁰. Alvorlige allergiske transfusjonsreaksjoner kan føre til anafylaktisk sjokk og hjertestans⁶.

1.2.3.3 *"Transfusion-related acute lung injury", TRALI*

TRALI er en akutt transfusjonsreaksjon som inntreffer innen seks timer etter transfusjonen. Reaksjonen kommer av at leukocytantistoff (HLA- eller granulocytantistoff) fra giveren reagerer med mottakerens leukocytter. Dette vil føre til at granulocytene aktiveres, aggregerer i lungekapillærene og fører til kapillærskade. Reaksjonen kan også oppstå

dersom mottakeren har leukocytantistoff som reagerer med residuale leukocytter fra blodproduktet⁶. Ferskfrosset plasma med leukocytantistoffer har vært årsaken til mange tilfeller av TRALI, men etter at virusinaktivert plasma ble innført er det ingen dokumenterte tilfeller¹⁰.

1.2.4 Sysmex XN-2000

Sysmex XN-2000 (XN-2000) er en automatisk celledetektor som kan analysere en rekke forskjellige parametere i ulike kroppsvæsker ved hjelp av fluorescens flowcytometri, impedans (motstandsprinsippet) og optisk metode. Det er kun fluorescens flowcytometri og impedans som blir beskrevet i dette kapitlet siden det er de metodene som brukes i oppgaven. På Ålesund sjukehus brukes XN-2000 til analysing av fullblod og cerebrospinalvæske^{2, 20}. XN-2000 er vist i figur 2.



Figur 2: Sysmex XN-2000²¹.

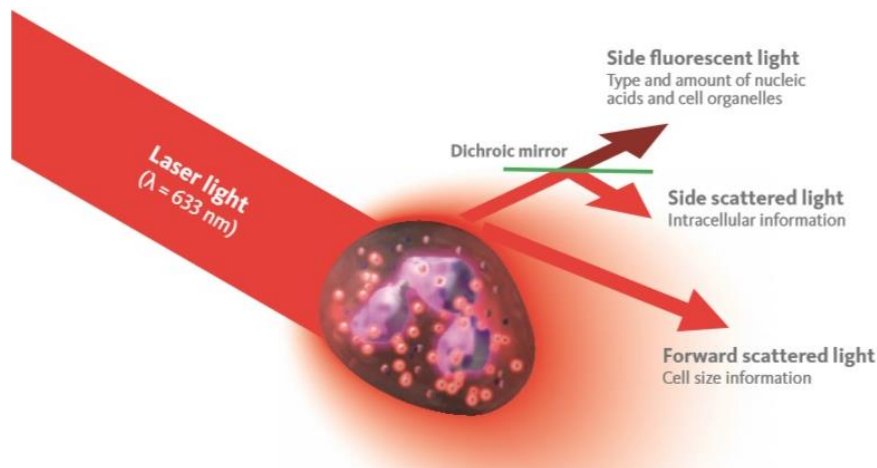
XN-2000 har to ulike analysemodus: fullblodsmodus som brukes til analysing av fullblod og kroppsvæskemodus som brukes til analyse av flere ulike kroppsvæsker, blant annet cerebrospinalvæske²². I denne studien skal trombocytter (PLT) i plasma analyseres ved å bruke fluorescens flowcytometri (PLT-F) og impedans (PLT-I) i fullblodsmodus. I kroppsvæskemodus skal erytrocytter i plasma analyseres ved bruk av impedans, og leukocytter i plasma ved bruk av fluorescens flowcytometri.

Ved bruk av impedans og fluorescens flowcytometri i kroppsvæskemodus vil antallet partikler som blir talt være omtrent ti ganger høyere når det gjelder leukocytter, og tre ganger høyere når det gjelder erytrocytter, sammenlignet med samme metoder i fullblodsmodus²². Metoden for analysing av trombocytter ved hjelp av fluorescens flowcytometri er spesielt utviklet for prøver med svært lave trombocyttdverdier, det blir også analysert et større prøvevolum med denne metoden enn med impedansmetoden²³. Reagensene som brukes til fluorescens flowcytometri har en høyere kostnad enn reagensene som brukes til impedans²⁴.

1.2.4.2 *Analyseprinsipp for fluorescens flowcytometri*

Flowcytometeret består av en kanal med cellefri væske, en 633 nanometer diodelaser og et deteksjonssystem. Ved hjelp av flowcytometri kan enkeltceller telles og klassifiseres ved å bestråle dem med diodelaseren²².

En liten mengde av pasientprøven blir sugd opp av injeksjonssystemet på XN-2000 og det lages en celleduspensjon som blir tilsatt et fluorescerende fargestoff som binder seg til RNA og DNA i cellene^{22, 25}. For at hver celle skal kunne bli bestrålt av laserstrålen må de passere én etter én, dette oppnås ved at celleduspensjonen blir injisert i en strøm av cellefri væske med høyere hastighet. Denne teknikken kalles hydrodynamisk fokusering og gjør at cellene blir samlet i midten, omsluttet av den cellefrie væsken. Etter hvert som cellene når strålen fra diodelaseren vil strålen bli spredt i ulike retninger^{26, 27}. Mengden av lys spredt fremover (FSC) er proporsjonal med cellens størrelse, lys spredt til siden (SSC) gir informasjon om kompleksiteten til den intracellulære strukturen, og fluorescens lys gir informasjon om cellens innhold og mengde av nukleinsyrer og celleorganeller^{22, 27}. En skisse av lysspredningen er vist i figur 3. Det fluorescens lyset oppstår ved at elektroner i det fluorescerende fargestoffet absorberer energi fra diodelaseren og går fra grunntilstand til et høyere energinivå. Når elektronene går tilbake til grunntilstanden blir den absorberte energien emittert i form av fluorescens lys av én spesifikk bølgelengde²⁷.



Figur 3: Skisse av lysspredningen ved fluorescens flowcytometri på Sysmex XN-2000²⁴.

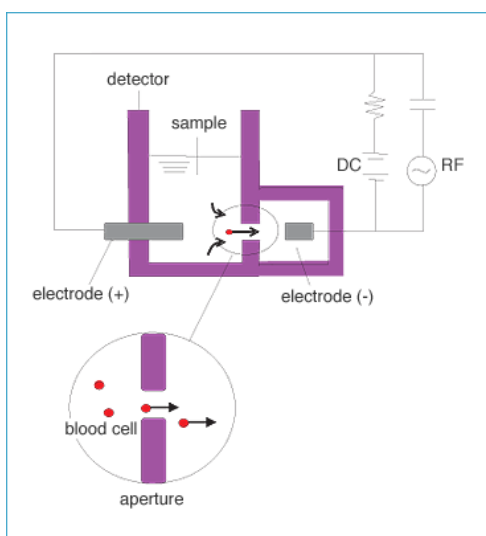
Flowcytometerets deteksjonssystem består av flere fotodioder, som er spesifikke for lys av én bølgelengde. FSC og SSC fanges direkte opp av disse. Det fluorescerte lyset blir sendt gjennom en rekke dikroiske speil hvor det blir delt inn i de ulike bølgelengdene og sendt til den korresponderende fotodioden²⁷. Fotodiodene omdanner spredt og fluorescirt lys til elektroniske signal som er proporsjonale med lysintensiteten som treffer dem⁸. De elektroniske signalene blir prosessert og omformet, og deretter sendt til det tilhørende datasystemet. Sammensetningen av celler i prøven og deres egenskaper vil bli fremstilt i en rekke ulike spredningsdiagram og histogram^{26, 28}.

1.2.4.3 Analyseprinsipp for impedans

Celletelling ved bruk av elektrisk impedans baserer seg på endringer i elektrisk motstand forårsaket av celler. Membranen på en celle har isolerende egenskaper og celler vil derfor lede strøm dårlig.

I analysemaskinen er det en kapillæråpning som står i en fortynningsvæske med god ledningsevne. Det går elektrisk strøm mellom to elektroder, en i fortynningsvæsken og en utenfor. Pasientprøven blandes i fortynningsvæsken og sendes gjennom kapillæråpningen ved hjelp av hydrodynamisk fokusering, som gjør at cellene passerer enkeltvis og sentralt. Elektrodene måler hvilken spenning som trengs for å holde en konstant strøm i

fortynningsvæsken, men hver gang en celle passerer kapillæråpningen vil det oppstå elektrisk motstand i kretsen på grunn av cellenes dårlige ledningsevne, og spenningen må da økes for å holde strømmen konstant. Spenningsøkningen blir registrert som en elektrisk puls. Antallet elektriske pulser som utløses tilsvarer antallet celler i prøven, og størrelsen på hver elektriske puls er direkte proporsjonal med størrelsen på cellen. Denne informasjonen blir sortert og fremstilt i spredningsdiagram og histogram^{25, 27}. Analyseprinsippet for impedans er vist i figur 4.



Figur 4: Analyseprinsipp impedans for Sysmex XN-2000²⁹.

1.2.5 Referansemetoder

Ved blodbanken på Ålesund sjukehus blir kvalitetskontrollen av plasma utført ved at residuale erythrocytter blir talt manuelt i ufortynnet plasma ved bruk av Bürker tellekammer og mikroskop, mens residuale leukocyter og trombocytter blir analysert i Cell-Dyn Sapphire. Det er disse metodene vi skal bruke som våre referansemetoder.

1.2.5.1 Cell-Dyn Sapphire

Cell-Dyn Sapphire (Sapphire) kan måle trombocytter og leukocyter ved tre ulike metoder: optisk måling, impedansmåling og immunologisk metode (CD 61). I dette prosjektet skal

trombocytter (PLT) og leukocytter (WBC) i plasma analyseres ved bruk av optisk måling. Sapphire er vist i figur 5.



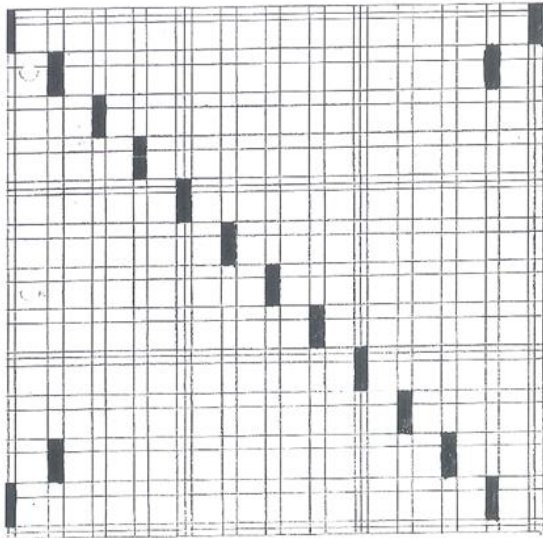
Figur 5: Cell-Dyn Sapphire³⁰.

Leukocytter og trombocytter blir analysert i Sapphire sin optiske kanal med en Multi Angle Polarized Scatter Separation-teknologi (MAPSS). Den optiske kanalen sender prøven gjennom en kvartscelle ved hjelp av hydrodynamisk fokusering. Prøven sendes forbi strålen fra en argonlaser. Lyset blir spredt når cellene passerer og måles ved forskjellige vinkler. 0° lysspredning blir brukt til bestemmelse av cellediameteren. 90° lysspredning blir brukt til bestemmelse av cellulær fasong. 7° lysspredning brukes til å bestemme cellulær kompleksitet og 90° depolarisert lysspredning brukes til evaluering av cellens granularitet. Alle de fire forskjellige kombinasjonene blir brukt for å differensiere og kvantifisere de forskjellige leukocytene og trombocytene²⁷. Logaritmen av lysspredningen ved 90° og 7° fremstilles mot hverandre i et spredningdiagram²⁵.

1.2.5.2 Manuell telling

I dette prosjektet skal vi telle erytrocytter manuelt ved hjelp av Bürker tellekammer og mikroskop.

Bürker tellekammer blir brukt til undersøkelser av celsesuspensjoner. Det består av to avskilte rutenett³¹. Ved telling av erytrocytter er det C- og D-rutene som skal telles, disse rutene er merket i figur 6¹.



Figur 6: Rutenett Bürker tellekammer¹.

1.2.6 Metodesammenligning

Metodesammenligning er en oppgave som utføres jevnlig av de ansatte på biokjemiske laboratorier⁸. Når en ny metode skal innføres er det vanlig å sammenligne den med en gammel, etablert metode, altså en referansemetode. I sammenligningen er det viktig å finne ut om den nye metoden kan erstatte referansemetoden uten at det gir en stor endring i analyseresultatene. For å undersøke dette må det utføres parede analyser på de to metodene, og resultatene må evalueres. Resultatene evalueres ved bruk av ulike statistiske metoder³². Alle statistiske metoder som skal brukes er beskrevet i kapittel 2.3 Statistisk metode.

Når to analysemetoder skal sammenlignes bør minimum 40 prøver analyseres over minst fem dager, men ved analysing av flere prøver over flere dager vil påliteligheten til undersøkelsen øke³³.

1.2.6.1 *Validering*

Validering er å objektivt bevise at kravene for metodens tiltenkte anvendelse tilfredsstilles ved hjelp av en undersøkelse. Kravene bør bestemmes på forhånd for å kunne gjøre en objektiv vurdering av resultatene^{3, 35}. Validering av metoder er viktig for å sikre påliteligheten av et analyseresultat. Alle metoder må valideres før de tas i bruk, enten av produsenten eller av laboratoriet selv. Dersom en metode skal benyttes til noe annet enn det tiltenkte bruksområdet må den valideres³. I dette prosjektet skal vi benytte en metode som er tiltenkt kroppsvæsker og fullblod til å analysere plasma, og vi må derfor validere den.

Valideringen går ut på å beskrive ulike parametere som kan si noe om metodens analytiske kvalitet. Hvilke parametere som skal brukes varierer fra metode til metode og velges ut etter hvor relevant de er^{3, 34, 35}. I denne oppgaven skal vi bruke nøyaktighet og presisjon for å vurdere metodene.

1.2.6.2 *Nøyaktighet*

Nøyaktigheten sier noe om hvor nær resultatet av en analyse eller analyseserie er den sanne verdien. Nøyaktigheten til en metode kan bestemmes ved å analysere de samme prøvene på den aktuelle metoden og på en referansemetode, og deretter sammenligne middelverdiene av resultatene ved bruk av statistiske metoder^{8, 32}.

1.2.6.3 *Presisjon*

Presisjon er evnen en analyse har til å gi likt resultat ved analysering av den samme prøven gjentatte ganger. Presisjonen til en metode bør undersøkes både intraserielt og interserielt. Intraseriell (innen-serie) presisjon sier noe om overensstemmelsen mellom resultatene av gjentatte målinger av samme prøve under de samme betingelsene, disse målingene bør foregå over et kort tidsrom. Interseriell (mellom-serie) presisjon sier noe om overensstemmelse mellom resultatene av gjentatte målinger av samme prøve utført med

ulike betingelser. Ulike betingelser kan være ulike dager og ulike personer som utfører analysen. Ved å beregne standardavvikene og variasjonskoeffisient av resultatene kan vi si noe om metodens presisjon. Presisjonen fra to ulike metoder kan sammenlignes ved hjelp av statistiske metoder^{8, 32, 35}.

1.2.7 Tidligere studier

Dette kapitlet har vært en utfordring siden vi ikke har funnet publiserte studier som sammenligner Sysmex XN-2000 (XN-2000) med Cell-Dyn Sapphire (Sapphire) for kvalitetskontroll av plasma, eller studier hvor plasma er analysert på XN-2000. Vår kontaktperson i Sysmex Norge og vår faglige veileder kjenner heller ikke til slike studier. Vi har derfor valgt å ta med noen andre studier som vi mener kan være relevante for vår oppgave.

I studien «New fluorescent method (PLT-F) on Sysmex XN2000 hematology analyzer achieved higher accuracy in low platelet counting»³⁶ fra 2013 ble presisjonen for analysering av trombocytter med fluorescens flowcytometri (PLT-F) på Sysmex XN-2000 undersøkt på blodprøver med trombocytterverdier lavere enn $50 \times 10^9/L$. Prøvene ble også analysert med impedans (PLT-I) og optisk metode (PLT-O) på både Sysmex XE-2100 og XN-2000 med hensyn på trombocytter. Studien ble utført fordi det for pasienter med svært lave trombocytterverdier er viktig med høy nøyaktighet og høy presisjon i en analyse for at de riktige avgjørelsene for videre behandling kan bli tatt. I studien blir det konkludert med at PLT-F gir svært gode resultater og er en pålitelig metode for analyse av prøver med lave trombocytterverdier³⁶. Denne studien har vi tatt med i oppgaven fordi PLT-F er en av metodene som skal utprøves på lave trombocytterverdier i vår studie òg.

I studien «Application of the ADVIA cerebrospinal fluid assay to count residual red blood cells in blood components»³⁷ fra 2012 skal en metode på ADVIA 120 som originalt er utviklet for å måle erytrocytter og leukocytter i spinalvæske, vurderes for bruk til

analysering av residuale erythrocytter i plasma fra blodbank. Som referansemetode er det brukt manuell telling i tellekammer. Bakgrunnen for studien var at det ikke finnes noen automatisert og nøyaktig metode for analysering av residuale erythrocytter i blodprodukter. Det blir konkludert med at metoden er nøyaktig nok for telling av erythrocytter i plasma, men det var indikasjoner på at ADVIA 120 ga et lavere resultat enn den manuelle tellingen, spesielt for prøvene med høye verdier av erythrocytter³⁷. Denne studien har vi tatt med fordi å vurdere en metode ment for spinalvæske til analysering av residuale erythrocytter er en stor del av vår oppgave.

I studien «Use of the Cell-Dyn Sapphire Hematology Analyzer for Automated Counting of Blood Cells in Body Fluids»³⁸ fra 2010 testes den analytiske og kliniske ytelsen til Cell-Dyn Sapphire (Sapphire) for celletelling i ulike kroppsvæsker. For telling av erythrocytter og leukocytt ble ytelsen sammenlignet med tellekammer. Bakgrunnen for studien var å vurdere om manuell telling kan erstattes av Sapphire, siden manuell telling både har dårlig presisjon og er tidkrevende. Studien viste at Sapphire kan være svært nyttig som et screeningsverktøy for erythrocytt- og leukocytting i kroppsvæsker. Det konkluderes med at på grunn av høy impresisjon for prøver med lave celletall kan Sapphire kun anbefales for kroppsvæsker med leukocyttd verdier høyere enn $50/\mu\text{L}$ ($0,05 \times 10^9/\text{L}$) og erythrocyttverdier høyere enn $3000/\mu\text{L}$ ($3 \times 10^9/\text{L}$). Manuell telling av leukocytt i spinalvæske er nødvendig når Sapphire gir et resultat med leukocyttd verdi mindre enn $50/\mu\text{L}$ ($0,05 \times 10^9/\text{L}$)³⁸. Denne studien kan være nyttig for oppgaven siden Sapphire er en av referansemetodene som er brukt i vår studie, og fordi den kan bekrefte påstandene om at Sapphire ikke er egnet for analysering av prøver med svært lavt innhold av celler.

I studien «Evaluation of the body fluid mode of automated hematology analyzer XN-series for extremely low peripheral white blood cell counts»³⁹ fra 2014 skal ytelsen på kroppsvæskemoduset på Sysmex XN-2000 for prøver med ekstremt lave verdier av leukocytt vurderes. Som referansemetode brukes manuell telling i tellekammer. For analyse av intraseriell presisjon analyseres fem paralleller i fem ulike prøver. Dette gjøres på både kroppsvæskemodus og på modus for lave leukocytt (LW-modus). Studien viser at LW-moduset generelt måler høyere verdier enn manuell metode og dette begrunnes med at det utføres en bakgrunnssjekk før analysering på kroppsvæskemoduset, men ikke på

LW-modus. Det konkluderes med at kroppsvæskemoduset kan erstatte den manuelle metoden fordi den er nøyaktig og har god presisjon³⁹. Denne studien har vi tatt med i oppgaven fordi vår oppgave skal i likhet med studien vurdere kroppsvæskemoduset på Sysmex XN-2000 til analysering av prøver med svært lave leukocytverdier.

2 Materiale og metode

I dette kapitlet skal vi ta for oss hvilket materiale vi har benyttet og hvordan det er behandlet. Videre skal vi ta for oss hvordan analyseringen av kontroller og prøvemateriale er utført. Deretter skal vi forklare hvordan vi har brukt statistiske metoder til å behandle datamaterialet.

Oppgaven vår er en kvantitativ studie og vi skal samle inn målbare data. Datamaterialet skal beskrives med tabeller og grafiske figurer, og analyseres ved bruk av statistiske metoder⁴⁰.

2.1 Innsamling av prøvemateriale

Materialet vi brukte var plasma fra fullblodstappinger i blodbanken. Tappeposene ble sentrifugert og presset slik at plasmaet var samlet i en egen pose og denne ble sveiset av fra resten av tappesettet. Slangen som henger fast i plasmaposen ble sveiset av med en sterilisveis. Prøvematerialet ble tappet ut av slangen ved bruk av kanyler og over i et 4 ml prøveglass uten tilsetning. Glassene ble merket med etiketter med strekkoder. Deretter ble prøvematerialet oppbevart i romtemperatur frem til det skulle analyseres. Alle prøvene er analysert samme dag som de er tatt. Før analysering ble prøvematerialet blandet for hånd eller på vippe.

Det ble samlet og analysert 52 plasmaprøver fra 52 forskjellige blodgivere i løpet av fem dager. For å få nok prøvemateriale til presisjonsanalysen brukte vi plasma fra én plasmapose, som skulle kasseres på grunn av lufttilblanding, fordelt i fem ulike prøveglass som ble analysert den sjette dagen. På grunn av uventede resultater i presisjonsanalysen på Sysmex XN-2000 ble det tatt en ekstra plasmaprøve fra en annen blodgiver for å utføre analysen på nytt. I tillegg ble det brukt plasma fra ett prøveglass tilsatt antikoagulanten EDTA.

Reagenser som ble brukt på Sysmex XN-2000 og Cell-Dyn Sapphire er listet opp i vedlegg 1.

2.2 Analysering av prøver og kontroller

I dette kapitlet skal vi ta for oss hvordan vi har utført analyseringen av plasmaprøvene og kontroller.

- Residuale trombocytter i plasma er analysert ved å bruke fluorescens flowcytometri (PLT-F) og impedans (PLT-I) i fullblodsmoduset på XN-2000, og Sapphire er brukt som referansem metode.
- Residuale erytrocytter i plasma er analysert med impedans på XN-2000 kroppsvæskemodus, manuell telling i Bürker tellekammer er brukt som referansem metode.
- Residuale leukocytter i plasma er analysert ved bruk av fluorescens flowcytometri på XN-2000 kroppsvæskemodus, Sapphire er brukt som referansem metode.

2.2.1 Kontroller på Sysmex XN-2000 og Cell-Dyn Sapphire

Kontrollene for Sysmex XN-2000 (XN-2000) og Cell-Dyn Sapphire (Sapphire) analyseres og godkjennes av bioingeniørene på fagområde for hematologi og koagulasjon. Kontrollen for fullblodsmodus på XN-2000 blir utført tre ganger per dag og for kroppsvæskemodus en gang per dag. Sapphire har tre forskjellige kontroller som blir analysert daglig: en for lave celletall, en for høye celletall og en for normale celletall. Lav eller høy kontroll blir analysert to ganger og normal kontroll en gang.

2.2.2 Analysering av prøver på Sysmex XN-2000

XN-2000 har en startknapp (blå) og en modusknapp (grå) på utsiden. For å stille inn maskinen på manuelt analysemodus brukte vi modusknappen. På den tilhørende datamaskinen til XN-2000 gikk vi inn i "Change Measurement Mode " på kontrollmenyen, der vi kunne velge mellom "Whole Blood", "Low WBC" eller "Body Fluid".

For analysering av trombocytter valgte vi "Whole Blood". Vi analyserte 20 av prøvene med fluorescens flowcytometri (PLT-F) i fullblodsmodus, og alle 52 prøvene med impedans (PLT-I). Vi stilte inn maskinen på fluorescens flowcytometri ved å velge feltet for "PLT-F" i innstillingene for manuelt modus. Når vi analyserte prøver i fullblodsmodus leste maskinen strekkodene på etiketten automatisk, men når vi skulle analysere med PLT-F måtte prøvenummeret skrives inn manuelt ved å velge bort "Read ID", og skrive inn prøvenummeret under "Sample No". Vi valgte bort "Aspiration Sensor", "Raised Bottom Tube", "DIFF" og "RET". Vi blandet prøvene før vi satte dem en og en i den ytterste prøveholderen, og startet analyseringen med startknappen.

For å analysere leukocytter (WBC) og erytrocytter (RBC) skiftet vi til kroppsvæskemodus med modusknappen og valgte "Body Fluid" i "Change Measurement Mode". XN-2000 gjør da en automatisk bakgrunnssjekk. Vi kjørte denne manuelt til den var $0,0 \times 10^9/L$ for RBC og $0 \times 10^6/L$ for WBC, resultatene fra bakgrunnssjekken viser vi i vedlegg 2. I innstillingene for manuell analyse på kroppsvæskemodus valgte vi bort "Cap Open" og "Query to Host". Vi blandet prøvene før vi satte dem inn i den ytterste prøveholderen og startet analyseringen.

For å finne igjen prøvene på datasystemet etter analysering markerte vi det aktuelle prøvenummeret og valgte "Browser" i menylinjen øverst. For å skrive ut resultatet valgte vi "Output" og deretter "Report for Lab Use Only".

2.2.3 Analysering av prøver på Cell-Dyn Sapphire

For analysering av prøver på Cell-Dyn Sapphire måtte vi først kjøre en bakgrunnssjekk. For å utføre denne valgte vi "Run Open Tube" på skjermen, i "Next Open Tube Setup"-vinduet valgte vi "Specimen Type": "Background" og deretter "Normal".

Bakgrunnssjekken startes ved å trykke på aspireringsknappen bak proben som nå var kommet ut av maskinen. Bakgrunnssjekken var $0,00 \times 10^9/L$ før vi startet analyseringen, resultat av bakgrunnssjekken viser vi i vedlegg 3. For å unngå "carry-over" fra fullblodsprøver hadde vi saltvannsløsning i et prøveglass uten tilsetning og plasserte denne i første posisjon i racken. Prøvene ble analysert i "Query mode". Vi blandet plasmaprøvene

lett for hånd før vi satte dem i racken. Den røde tasten bakerst på racken må være presset ned for å signalisere til maskinen at hele racken skal analyseres. Før analyseringen kan starte må "Ready"-signalet lyse grønt. Ved å trykke på "Run Loader" settes maskinen i automatisk modus, og den startet da å blande og analysere alle prøvene.

Siden innholdet av celler i prøvene våre var veldig lavt, fikk vi ofte opp feilmeldingen: "Outside Reportable Range". Vi måtte tvinge maskinen til å fortsette på neste prøve ved å trykke "OK" og deretter "Run Loader".

For å se på resultatet markerte vi det aktuelle prøvenummeret i dataloggen og valgte "Run view". Vi skrev ut alle resultatene ved å velge "Print".

2.2.4 Manuell telling i Bürker tellekammer

For å feste dekkglasset på Bürker tellekammeret blåste vi på kammeret og festet dekkglasset ved å skyve det på. Vi tilførte prøvematerialet til tellekammeret ved å bruke en automatpipette. Tellekammeret sto deretter i fukt-kammer i 15 minutter før vi begynte å telle i mikroskop.

Vi talte to paralleller for hver av de 52 prøvene. De 16 C- og D-rutene som er merket med svart i figur 6 ble talt, disse inneholder til sammen 1/50 µL plasma. Vi talte erytrocyttene inne i rutene og erytrocyttene som lå på venstre langside og nederste kortside, men ikke høyre langside og øverste kortside. For å beregne antall erytrocytter per liter regnet vi ut gjennomsnittet av parallellene, og fortsatte med følgende formel:

$$\text{Antall erytrocytter per liter} = (\text{Gjennomsnitt av telletall/tellevolum}) \times 10^6$$

2.2.5 Presisjonsanalyse

For vurdering av intraseriell presisjon for trombocytter målt med impedans analyserte vi det samme prøveglasset 20 ganger i fullblodsmodus på XN-2000. Deretter analyserte vi et

annet prøveglass 20 ganger på kroppsvæskemoduset for intraseriell presisjon for erythrocytter og leukocyttter. Her analyserte vi uten kork for å unngå at det samlet seg rester fra korken i prøvematerialet, vi valgte da "Cap Open" i innstillingene for manuell analyse. På Sapphire brukte vi det samme prøvematerialet fordelt i to glass, og analyserte dem 10 ganger hver.

Siden vi fikk et uventet prøveresultat på presisjonsanalysen for leukocyttter på XN-2000 gjorde vi ulike forsøk for å prøve å undersøke hva som påvirket prøveresultatene:

- Vi tok en bakgrunnsjekk etter analysering nummer 20 og analyserte deretter prøven på nytt for å se om det skyldes "carry-over".
- I andre forsøk analyserte vi plasma fra en annen plasmapose 20 ganger.
- I tredje forsøk prøvde vi å overføre plasmaet fra den første plasmaposen til en annen type glass og analyserte det åtte ganger på XN-2000, deretter en gang på Sapphire for å sammenligne.
- I fjerde forsøk brukte vi plasma fra et glass tilsatt antikoagulanten EDTA.

For å finne interseriell presisjon brukte vi kontrollene som er analysert hver dag på XN-2000. Vi hentet disse ut fra datasystemet til XN-2000. I menylinjen valgte vi "QC-file ". For kroppsvæskemoduset valgte vi kontrollen "Body Fluid Control Level 1" og "Control Level 1" for fullblodsmodus, der leste vi av middelveidien, standardavviket og variasjonskoeffisienten som var ferdig beregnet. Interseriell presisjon for Cell-Dyn har vi ikke vurdert siden det ikke finnes kontroller i et passende nivå.

2.3 Eventuelle feilkilder

Eventuelle feilkilde kan påvirke resultatet i det praktiske arbeidet. Feilkilder som kan ha oppstått i vårt arbeid er:

- For mye blanding av plasmaet før analysering.
- Manglende erfaring med manuell celledtelling.
- Antikoagulanten som er tilsatt i tappeposene.
- Interfererende stoffer i prøveglassene.
- "Carry-over".

Interferens er når prøveresultatet blir påvirket av en annen substans enn den aktuelle analytten. En prøve kan inneholde andre partikler som kan bli feiltolket som leukocytter, erythrocytter eller trombocytter, og resultatet vil bli falskt for høyt eller falskt for lavt^{25, 28}.

Rester fra tidligere prøver i kuvetten, prøveveien eller i flowcellen på XN-2000 kan også påvirke resultatet²⁵. Når innstillingene på XN-2000 endres til kroppsvæskemodus utføres det en bakgrunnsmåling før analyseringen kan starte. Bakgrunnsmålingen hindrer at resultatet blir feil på grunn av rester i prøveveien fra forrige prøve ("carry-over"). Bakgrunnsmålingen utføres automatisk til resultatet er $1 \times 10^6/L$ for leukocytter og $3 \times 10^9/L$ for erythrocytter^{20, 39}.

2.4 Metodevalidering

For å utføre valideringen har vi satt opp krav som resultatene våre må oppfylle. Siden det er ønskelig å erstatte Sapphire med XN-2000 har vi satt som krav at XN-2000 må gi like gode eller bedre resultater sammenlignet med Sapphire for de parameterne vi har valgt ut. Som krav for interseriell presisjon har vi brukt tall for interseriell presisjon gitt av Sysmex²⁶. Kravene er vist i tabell 1.

Tabell 1: Krav til interseriell presisjon, oppgitt som variasjonskoeffisient.

	Krav for variasjonskoeffisienten
Leukocytter	$\leq 10\%$
Erythrocytter	$\leq 40\%$
PLT-I	$\leq 12\%$
PLT-F	$\leq 10\%$

2.5 Statistiske metoder

Vi har ved bruk av statistiske metoder regnet ut nøyaktighet og den intraserielle presisjonen til analysemetodene for hver av de tre typer av restceller vi har analysert. Alle utregninger og spredningsdiagram er utført ved bruk av egne regneark laget i Excel og ved hjelp av tillegget Dataanalyse, samt regneark tilgjengelig på Norsk Klinisk-Kjemisk Kvalitetskontroll (NKK) sine nettsider⁴³. Alle formler som vises i dette kapittelet er lagt ved i vedlegg 4.

Når en ønsker å undersøke noe om en populasjon, som i dette tilfellet ville vært alle mulige plasmaprøver, kan et utvalg av populasjonen brukes for å si noe om den. Vårt utvalg er de 52 plasmaprøvene. Antall prøver er gitt ved n . For utvalget beregnes middelveiene, \bar{X} og \bar{Y} , henholdsvis for referansemetode og testmetode, som vist i formel 1. Variansen (σ^2) for målingene er ukjent og empirisk varians, s^2 , og standardavvik, s , må derfor beregnes. Formlene for s^2 og s er vist i formel 2 og 3. Empirisk varians og standardavvik vil være estimater av varians og standardavvik for hele populasjonen⁴¹.

2.5.1 Hypotesetesting

Ved bruk av variablene s^2 og s kan ikke en standard normalfordeling benyttes til hypotesetesting, vi har derfor brukt t-fordelingen for t-test og F-fordelingen for F-test. I en hypotesetest må vi selv velge hvilket signifikansnivå som skal brukes. I denne oppgaven har vi benyttet et 5% signifikansnivå. Med et 5% signifikansnivå vil det vil være 5% sannsynlighet for at vi forkaster en hypotese som er sann⁴¹.

2.5.1.1 F-test

F-test er en hypotesetest som kan brukes til å undersøke om to metoders empiriske varians er signifikant forskjellige. Dette har vi brukt til å vurdere om metodenes presisjon er god.

Den observerte F-verdien, som er et estimat for det ukjente forholdstallet σ^2_X / σ^2_Y er regnet ut med formel 4⁴¹.

Den empiriske variansen for metodene, s_X^2 og s_Y^2 , er beregnet ut ifra målingene fra referansem metode og testmetode, som gitt i formel 2. F_{obs} skal alltid være større enn 1, så ligningen arrangeres slik at den høyeste empiriske variansen er over brøkstreken. Vi sammenlignet F_{obs} med kritisk F-verdi, F_{krit} , som avhenger av signifikansnivå (α), antall frihetsgrader (m_X og m_Y) og om testen er en- eller tosidig (henholdsvis α eller 2α)⁴¹. F_{krit} ble beregnet i Excel ved bruk av funksjonen «F.inv.h». Antall frihetsgrader beregnes med formel 5. I denne oppgaven blir tosidig F-test benyttet, α for 5% signifikansnivå blir derfor 0,025. En nullhypotese, H_0 , ble utformet og påstår at metodenes empiriske varians er like. En annen hypotese, H_1 , ble utformet og påstår at metodenes empiriske varians er ulike. Dersom $F_{obs} < F_{krit}$ beholdes nullhypotesen, i det motsatte tilfellet forkastes den og det konkluderes med at metodenes empiriske varians er signifikant forskjellige⁴¹. Vi har brukt egne regneark i Excel for å utføre F-testen.

2.5.1.2 t-test

t-test er en hypotesetest som kan benyttes for å undersøke om to metoders gjennomsnittsmålinger er signifikant forskjellige, det gjøres ved å vurdere om differansen mellom gjennomsnittene er forskjellig fra null^{41,32}. Dette har vi brukt til å sammenligne metodenes nøyaktighet. Differansen av middelverdiene, $\bar{X} - \bar{Y}$, benyttes som et estimat for differansen $\mu_X - \mu_Y$. Et krav for den typen t-test som skal brukes er at metodenes empiriske varians ikke er signifikant forskjellige, og vi måtte derfor først utføre en f-test på målingene. Dersom F-testen viser at det ikke er signifikant forskjell på de empiriske variansene går en videre med t-testen på følgende måte⁴¹. Et samlet estimat for standardavviket, s , ble beregnet med formel 6. To hypoteser ble utformet, nullhypotesen påstår at differansen mellom metodenes forventningsverdier er lik null, og den andre hypotesen påstår at differansen er forskjellig fra null. Observert t-verdi ble beregnet med formel 7. Kritisk t-verdi, t_{krit} , avhenger av signifikansnivå (α), antall frihetsgrader og om testen er en- eller tosidig (som gir henholdsvis α eller 2α), og beregnes i Excel. Vi har brukt tosidig t-test, α for 5% signifikansnivå blir derfor 0,025. Antall frihetsgrader

beregnet vi med formel 8. Dersom $t_{\text{obs}} < t_{\text{krit}}$ beholdes nullhypotesen, men dersom $t_{\text{obs}} > t_{\text{krit}}$ forkastes nullhypotesen og det kan konkluderes med at differansen av middelveidene er forskjellig fra null⁴¹. Vi har brukt dataanalyseverktøyet «T-test: To utvalg med antatte like varianser» i Excel for å utføre disse beregningene.

Viser F-testen at det er signifikant forskjell mellom de to metodenes empiriske varians, må t-testen utføres med en annen metode. Denne metoden beskrives ikke her siden den ikke er brukt.

2.5.2 Regresjon- og korrelasjonsanalyse

Til metodesammenligning har vi brukt regresjon- og korrelasjonsanalyse til å undersøke den lineære sammenhengen mellom testmetoden og referansemetoden. En rett linje, $y = ax + b$ der a er stigningstallet og b er skjæringspunktet med y -aksen, kan da brukes for å si noe om sammenhengen mellom måleresultatene fra de to metodene⁴¹. En perfekt lineær sammenheng mellom to metoder vil gi $a = 1$ og $b = 0$ ⁸.

Korrelasjonskoeffisienten, r , kan beregnes ut fra resultatene og brukes som et mål på hvor godt målingene fra de to metodene kan beskrives av den rette linjen. r beregnes med formel 9 og vil være et estimat for populasjonskorrelasjonskoeffisienten. r vil bli et tall: $[0, 1]$, der 1 betyr perfekt korrelasjon og 0 betyr dårlig korrelasjon⁴¹.

Vi har brukt Excel til å tegne et korrelasjonsdiagram med måleresultater for testmetoden på y -aksen og referansemetoden på x -aksen. Målingene fra testmetoden og referansemetoden for hver prøve ble plottet mot hverandre. Ved bruk av diagramverktøy i Excel har det blitt beregnet en tilpasset rett linje for målingene. Deretter brukte vi funksjonen «Korrelasjon» for å beregne korrelasjonskoeffisienten, r .

2.5.3 Variasjonskoeffisienten

Analysesvar er påvirket av tilfeldige feil, enten feil som gir for høye svar eller for lave svar. Denne usikkerheten på prøvesvarene kan oppgis som variasjonskoeffisienten (CV). Vi har benyttet CV til å si noe om intra- og interseriell presisjon for målingene. CV for intraseriell presisjon på XN-2000 beregner vi med egne regneark i Excel. CV for interseriell presisjon er beregnet av datasystemet til Sysmex XN-2000 ved å bruke resultater fra de daglige kontrollene. Formelen for CV i prosent vises i formel 10⁴².

For å beregne intraseriell presisjon for parallellene i den manuelle tellingen i Bürker tellekammer har vi brukt regnearket «Komponenter av standardavvik med 1 ukjent + 1 eller 2 kjente kilder til variasjon (1 og 2 veis ANOVA)» fra NKK⁴³.

3 Resultat

I dette kapitlet skal vi presentere resultatene vi har fått fra laboratoriearbeidet.

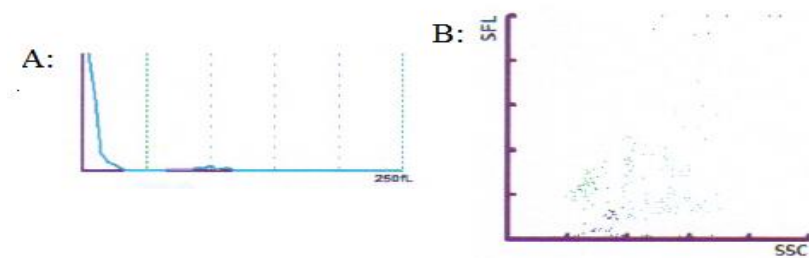
Resultat fra analyseringen av de 52 prøvene og de innledende utregningene er lagt ved i:

- Vedlegg 5 for leukocytter (WBC)
- Vedlegg 6 for erytrocytter (RBC)
- Vedlegg 7 for trombocytter (PLT)

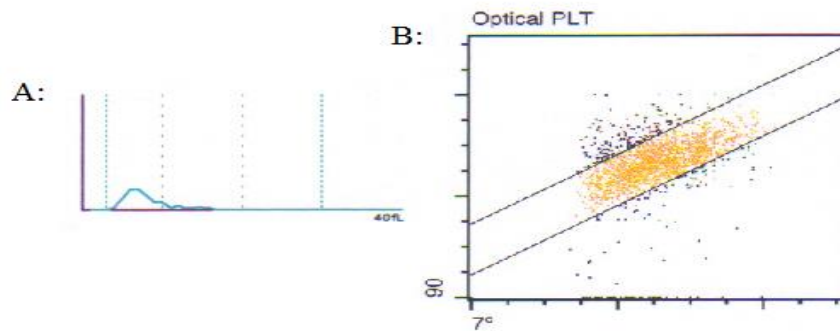
I tillegg har vi tatt med utskrift av resultatene for prøve 1, disse er vist i:

- Vedlegg 8 for Sysmex XN-2000 (XN-2000) kroppsvæskemodus
- Vedlegg 9 for XN-2000 fullblodsmodus
- Vedlegg 10 for Cell-Dyn Sapphire (Sapphire).

I figur 10 viser vi histogram for erytrocytter og spredningsdiagram for leukocytter analysert på XN-2000 kroppsvæskemodus. I figur 11 viser vi histogram fra trombocytter analysert med impedans på XN-2000 fullblodsmodus, og spredningsplot for trombocytter analysert med optisk metode på Sapphire. Begge figurene er fra resultatene for prøve 1.



Figur 7: Histogram og spredningsdiagram fra XN-2000 kroppsvæskemodus. A: Histogram for erytrocytter. B: Spredningsplot for leukocytter.



Figur 8: Histogram og spredningsplot for trombocytter. A: Histogram for trombocytter analysert med impedans på XN-2000. B: Spredningsdiagram for trombocytter analysert med optisk metode på Sapphire.

3.1 F-test

F-testen ble utført med egne regneark i Excel. Regnearkene er lagt ved i vedlegg 11. Vi formulerte nullhypotesen, $H_0: s_X^2 = s_Y^2$ og hypotesen, $H_1: s_X^2 \neq s_Y^2$ for leukocytter erytrocytter og trombocytter, der X er referansemetode og Y er testmetode. Som vi viser i regnearkene i vedlegg 11 ble den observerte F-verdien for både trombocytter målt med impedans (PLT-I), erytrocytter og leukocytter lavere enn den kritiske F-verdien. Vi beholder derfor nullhypotesen i alle disse tilfellene. Vi kan dermed konkludere med at det ikke er signifikant forskjell på de empiriske variansene for referansemetodene og testmetodene på 5% signifikansnivå for hverken leukocytter, erytrocytter eller trombocytter.

Prøve 6-26 ble også analysert med fluorescens flowcytometri på XN-2000 med hensyn på trombocytter (PLT-F). Resultatene sammenlignet vi med de samme prøvene analysert både med Sapphire og med impedans (PLT-I) på XN-2000. Vi utformet hypotesene: $H_0: s_{Y2}^2 = s_Z^2$ og $H_1: s_{Y2}^2 \neq s_Z^2$, der Z er PLT-F og Y2 er PLT-I for prøve 6-26. Og deretter hypotesene $H_0: s_{X2}^2 = s_Z^2$ og $H_1: s_{X2}^2 \neq s_Z^2$, der X2 er prøve 6-26 på Sapphire. Som vi viser i regnearket i vedlegg 11 ble den observerte F-verdien i disse tilfellene lavere enn den kritiske F-verdien, og vi kan konkludere med at det ikke er signifikant forskjell på de

empiriske variansene for XN-2000 PLT-F og XN-2000 PLT-I, og for XN-2000 PLT-F og Sapphire på 5% signifikansnivå.

3.2 t-test

Siden vi i forrige avsnitt fant ut at det ikke er signifikant forskjell mellom metodenes empiriske varians gikk vi videre med t-testen på måten beskrevet i 2.3 Statistisk metode for å undersøke metodenes nøyaktighet. t-testen ble utført med dataanalyseverktøy i Excel, regnearkene er lagt ved i vedlegg 12.

Vi formulerte nullhypotesen, $H_0: \bar{X} - \bar{Y} = 0$, og hypotesen, $H_1: \bar{X} - \bar{Y} \neq 0$ for både leukocytter, erytrocytter og trombocytter, der X er referansemetode og Y er testmetoden. Som vi viser i vedlegg 12 ble de observerte t-verdiene for leukocytter og erytrocytter lavere enn den kritiske t-verdien og vi beholder derfor nullhypotesen i disse tilfellene. Vi kan derfor påstå at testmetoden og referansemetoden ikke gir signifikant forskjellige resultat på 5% signifikansnivå når det gjelder leukocytter og erytrocytter.

Trombocytter analysert med impedans (PLT-I) på XN-2000 ble sammenlignet med Sapphire. I tillegg ble trombocytter analysert med fluorescens flowcytometri (PLT-F) på XN-2000 sammenlignet med PLT-I på XN-2000 for prøve 6-26, her formulerte vi hypotesene $H_0: \bar{Y}_2 - \bar{Z} = 0$ og $H_1: \bar{Y}_2 - \bar{Z} \neq 0$, der Y_2 er PLT-I og Z er PLT-F. Som vi viser i vedlegg 12 ble den observerte t-verdien i begge tilfellene høyere enn kritisk t-verdi og vi må derfor forkaste nullhypotesen og påstå at de to metodene gir signifikant forskjellige resultater i begge tilfellene.

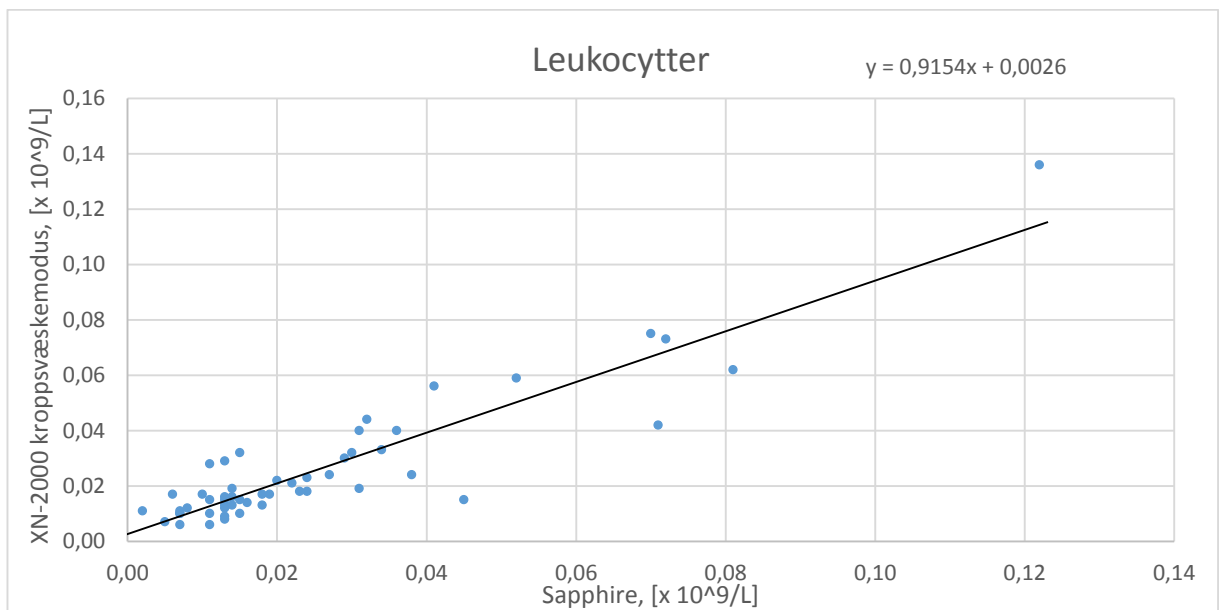
Resultatene fra PLT-F sammenlignet vi også med de samme prøvene analysert på Sapphire med hypotesene $H_0: \bar{X}_2 - \bar{Z} = 0$ og $H_1: \bar{X}_2 - \bar{Z} \neq 0$, der X_2 er prøve 6-26 på Sapphire og Z er PLT-F. Her ble den observerte t-verdien lavere enn kritisk t-verdi og vi beholder nullhypotesen i dette tilfellet.

3.3 Regresjon- og korrelasjonsanalyse

For å vurdere den lineære sammenhengen og korrelasjonen mellom testmetodene og referansem Metodene brukte vi korrelasjonsdiagram tegnet i Excel og beregnet korrelasjonskoeffisient.

3.3.1 Leukocytter

Korrelasjonsdiagrammet for leukocytter er vist i figur 9. Den tilpassede rette linjen i korrelasjonsdiagrammet er beregnet til $y = 0,9154x + 0,0026$. Vi beregnet korrelasjonskoeffisient i Excel, for leukocytter ble denne 0,9142.



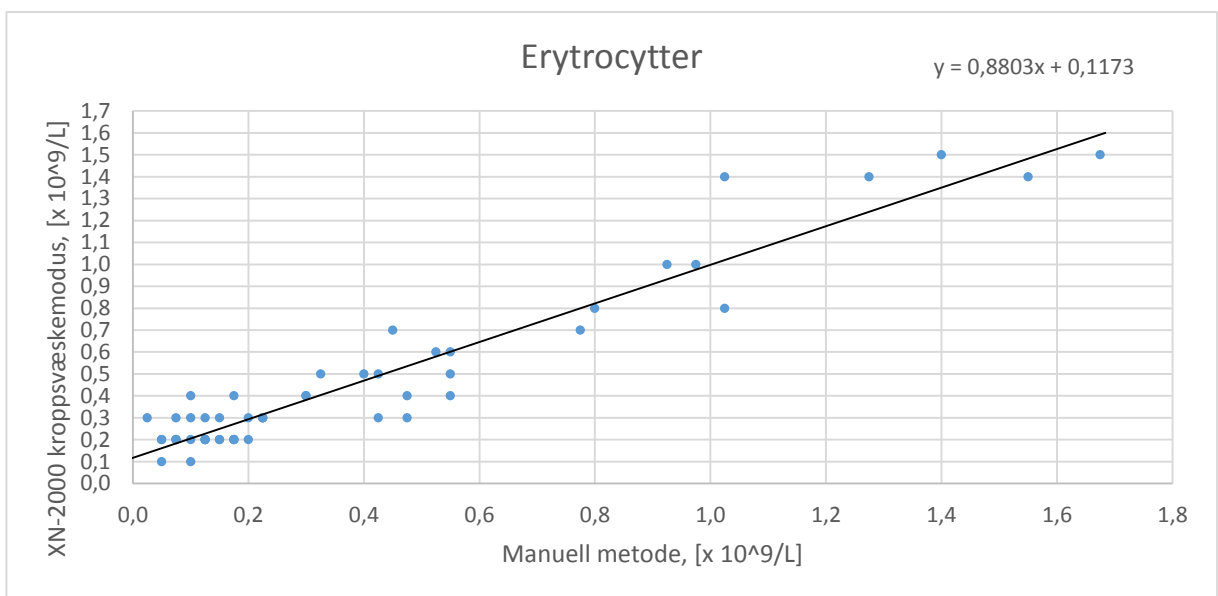
Figur 9: Korrelasjonsdiagram med tilpasset rett linje for leukocytter. Resultat fra Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus vises på y-aksen og fra Cell-Dyn Sapphire på x-aksen.

Som korrelasjonsdiagrammet i figur 9 viser ligger de fleste prøvene nært den tilpassede linjen som betyr at det er liten forskjell på resultatene fra XN-2000 og Sapphire, men for noen av prøvene ga metodene noe ulikt resultat. Skjæringspunktet med y-aksen viser at XN-2000 gjennomsnittlig gir et resultat $0,0026 \times 10^9/L$ høyere enn Sapphire. Stigningstallet, 0,9154, er nært 1, noe som viser god lineær sammenheng mellom

metodene. Korrelasjonskoeffisient er nær 1 og bekrefter god korrelasjon mellom metodene.

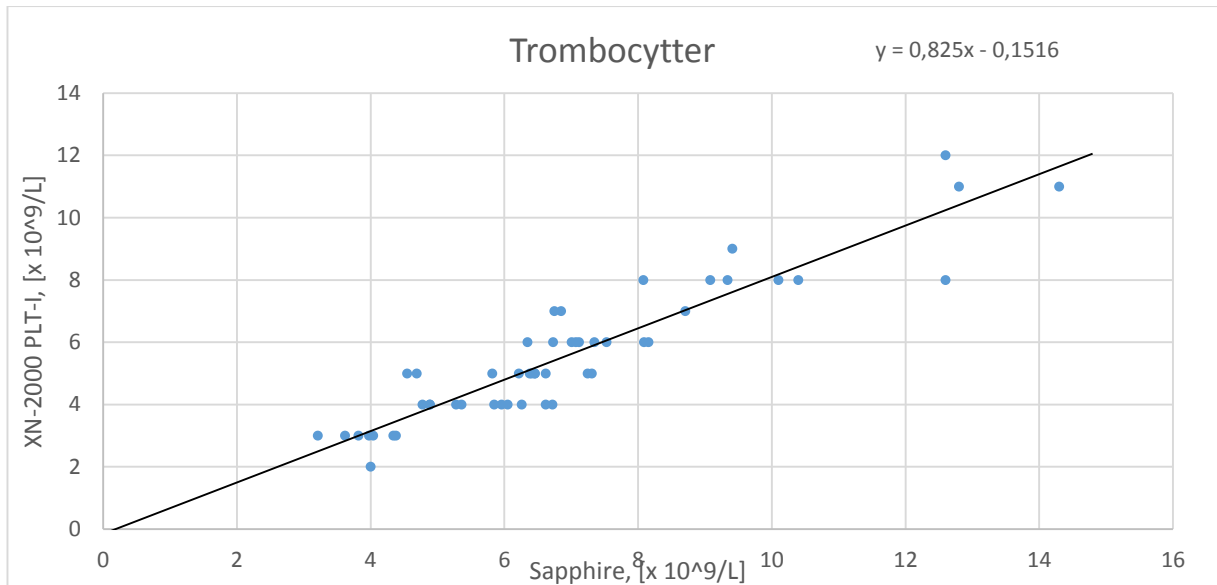
3.3.2 Erytrocytter

Korrelasjonsdiagrammet for erytrocytter er vist i figur 10. Den tilpassede rette linjen i korrelasjonsdiagrammet er beregnet til $y = 0,8803x + 0,1173$. Korrelasjonskoeffisienten for erytrocytter ble 0,9558.



3.3.3 Trombocytter

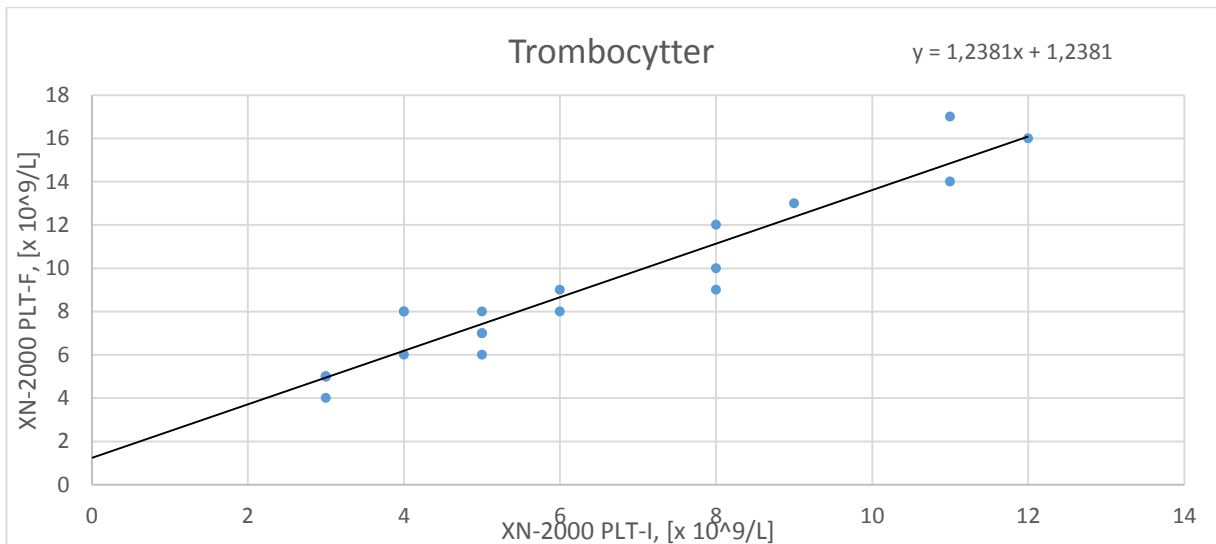
Korrelasjonsdiagrammet for trombocytter analysert med PLT-I på XN-2000 og på Sapphire er vist i figur 11, den tilpassede rette linjen er beregnet til $y = 0,825x - 0,1516$. Korrelasjonskoeffisienten ble beregnet til 0,9263.



Figur 11: Korrelasjonsdiagram med tilpasset rett linje for trombocytter. Resultat for trombocytter analysert med impedans på Sysmex XN-2000 vises på y-aksen og fra Cell-Dyn Sapphire på x-aksen.

Vi ser av korrelasjonsdiagrammet i figur 11 at det varierer hvor godt målingene samsvarer. Skjæringspunktet med y-aksen viser at Sapphire gjennomsnittlig måler $0,1516 \times 10^9/L$ høyere trombocytterverdi enn PLT-I på XN-2000. Det beregnede stigningstallet viser at forskjellen mellom målingene øker noe når konsentrasjonen øker, sammenlignet med hvordan den ideelle rette linjen ville vært. Korrelasjonskoeffisienten er allikevel nær 1 som viser god korrelasjon.

For prøvene som er analysert med PLT-F og PLT-I er korrelasjonsdiagrammet vist i figur 12, den tilpassede rette linjen ble beregnet til $y = 1,2381x + 1,2381$. Korrelasjonskoeffisient ble beregnet i til 0,9579.

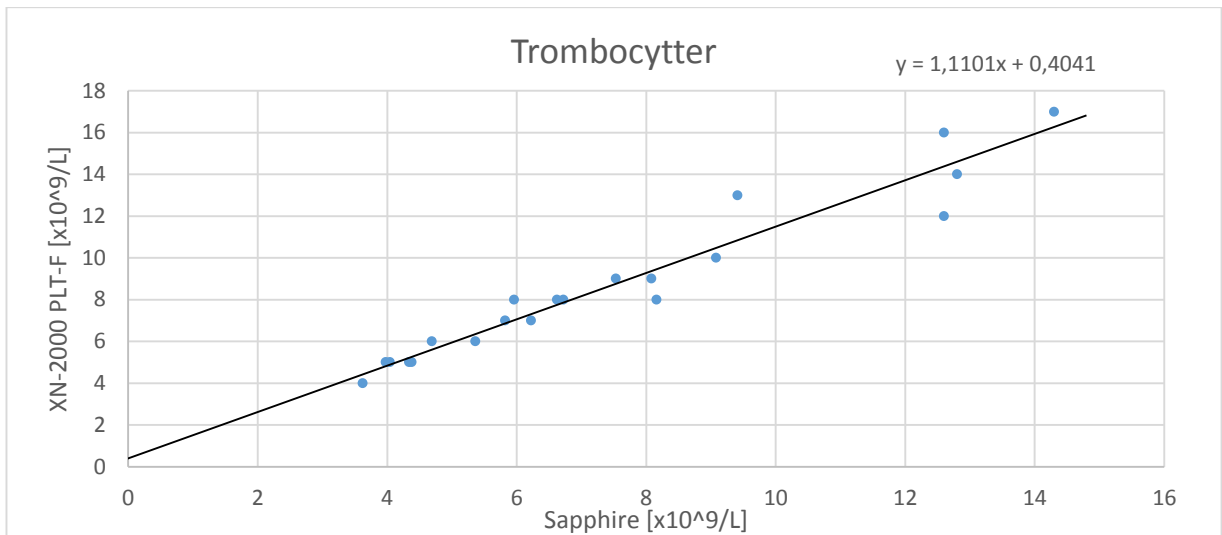


Figur 12: Korrelasjonsdiagram med tilpasset rett linje for trombocytter i prøve 6-26.

Resultat for prøvene analysert med fluorescens flowcytometri vises på y-aksen og impedans på x-aksen.

I figur 12 ser vi av skjæringspunktet med y-aksen at PLT-F gjennomsnittlig måler $1,2381 \times 10^9/L$ høyere resultat enn PLT-I. Sammenlignet med en ideell rett linje ser vi at forskjellen øker noe med konsentrasjonen. Korrelasjonskoeffisienten viser god korrelasjon mellom metodene.

Prøvene som også ble analysert med PLT-F sammenlignet vi også i et korrelasjonsdiagram med resultatene fra de samme prøvene analysert på Sapphire. Korrelasjonsdiagrammet er vist i figur 13. Den tilpassede rette linjen ble beregnet til $y = 1,1101x + 0,4041$. Korrelasjonskoeffisienten ble her $r = 0,9671$.



Figur 13: Korrelasjonsdiagram med tilpasset rett linje for trombocytter i prøve 6-26. Resultat for prøvene analysert med fluorescens flowcytometri vises på y-aksen og for Sapphire på x-aksen.

Av skjæringspunktet med y-aksen i figur 13 ser vi at PLT-F på XN-2000 gjennomsnittlig måler $0,4041 \times 10^9/L$ høyere enn Sapphire. Sammenlignet med en ideell rett linje ser vi at forskjellen øker noe ved økt trombocytverdi. Korrelasjonskoeffisienten viser en svært god korrelasjon mellom metodene.

3.4 Intraseriell presisjon

Resultatene fra presisjonsanalysen for leukocytter er lagt ved i vedlegg 13. Beregning av intraseriell presisjon for leukocytter analysert på Sapphire ga en variasjonskoeffisient på 59,23%. For kroppsvæskemoduset på XN-2000 ble variasjonskoeffisienten 94,99%. Vi så underveis at resultatet ikke var tilfredsstillende, da leukocytverdiene økte svært mye utover i analyseserien. Vi ville derfor utføre noen forsøk for å undersøke hva feilkilden kunne være. Utskrift av resultatene av analysering nummer 1, 10 og 20 på XN-2000 kroppsvæskemodus er lagt ved i henholdsvis vedlegg 14, 15 og 16. For å undersøke om feilkilden til den dårlige intraserielle presisjonen var «carry-over» utførte vi en bakgrunnssjekk etter analysering nummer 20 og analyserte deretter prøven på nytt. Resultatet fra bakgrunnssjekken er lagt ved i vedlegg 17 og fra analysering nummer 21 i vedlegg 18. Vedleggene viser at økningen ikke skyldes «carry-over». I neste forsøk utførte

vi en ny analyseserie med en annen plasmaprøve for å utelukke tilstedeværelse av interfererende stoffer i den opprinnelige plasmaprøven, men vi fant at resultatene viste samme tendens. Deretter forsøkte vi å overføre plasmaet til en annen type glass for å undersøke om prøveglasset inneholdt interfererende stoffer, resultatene herfra viste også samme tendens. For å utelukke at feilkilden var tilsetningen i tappeposen brukte vi plasma fra et prøveglass tilsatt antikoagulanten EDTA, her var økningen mellom de forskjellige analyseringene enda høyere og økte fra $1 \times 10^6/L$ i første analysering til $60 \times 10^6/L$ i tredje analysering. Resultatene fra disse tre siste forsøkene er ikke vedlagt.

Siden Sysmex oppgir i brukerhåndboken at presisjonsanalysen skal utføres med minimum 10 gjentatte analyseringer²⁶, valgte vi å også beregne variasjonskoeffisient for kun de 10 første analyseringene i presisjonsanalysen for leukocytter. Vi fikk da en variasjonskoeffisient på 23,63% for XN-2000 og 39,60 for Sapphire.

Resultatene og de innledende utregningene for intraseriell presisjon for erytrocytter på XN-2000 er lagt ved i vedlegg 19. Variasjonskoeffisient ble beregnet til 64,89%. For trombocytter på XN-2000 har vi kun vurdert impedansmetoden når det gjelder intraseriell presisjon, resultatene og de innledende utregningene herfra er lagt ved i vedlegg 20. Variasjonskoeffisienten ble beregnet til 13,83% for XN-2000 og 15,19% for Sapphire.

For å beregne variasjonskoeffisienten for intraseriell presisjon for manuell telling av erytrocytter brukte vi regnearket «Komponenter av standardavvik med 1 ukjent + 1 eller 2 kjente kilder til variasjon (1 og 2 veis ANOVA)» fra NKK⁴³. Et utdrag av regnearket er lagt ved i vedlegg 21. Variasjonskoeffisient ble beregnet til 37,28%.

3.5 Interseriell presisjon

Den interserielle presisjonen for leukocytter, erytrocytter og trombocytter på XN-2000 vurderte vi ved å se på resultatene fra kontrollprøvene som blir analysert hver dag. Her kunne vi lese av en beregnet variasjonskoeffisient for kontrollprøvene. Som krav for variasjonskoeffisienten har vi brukt tall for interseriell presisjon gitt av Sysmex²⁶.

For leukocytter og erytrocytter brukte vi resultatet fra kontrollen «Body Fluid Control Level 1» analysert over 18 dager, vi presenterer resultatet i tabell 2. Resultatene viser at beregnet variasjonskoeffisient oppfyller målet.

Tabell 2: Interseriell presisjon for leukocytter og erytrocytter på XN-2000 kroppsvæskemodus. Andre kolonne viser krav for variasjonskoeffisienten (CV). Tredje kolonne viser beregnet CV for kontrollprøvene og fjerde kolonne viser middelveiden av kontrollprøvene.

	Krav for CV	Beregnet CV	Middelveiden av kontrollprøvene
Leukocytter	$\leq 10\%$	5,3%	$0,091 \times 10^9/L$
Erytrocytter	$\leq 40\%$	2,6 %	$26 \times 10^9/L$

For trombocytter brukte vi resultatet fra kontrollen «Control Level 1» analysert 54 ganger fordelt på ulike dager, utskrift av resultatet er vist i vedlegg 22, og vi presenterer resultatet i tabell 3. Som vi viser i tabellen oppfyller beregnet variasjonskoeffisient målet.

Tabell 3: Interseriell presisjon for trombocytter analysert med impedans (PLT-I) og fluorescens flowcytometri (PLT-F) på XN-2000. Andre kolonne viser krav for variasjonskoeffisienten (CV). Tredje kolonne viser beregnet CV for kontrollprøvene og fjerde kolonne vis

	Krav for CV	Beregnet CV	Middelveiden av kontrollprøvene
PLT-I	$\leq 12\%$	9,7%	$50 \times 10^9/L$
PLT-F	$\leq 10\%$	4,7%	$46 \times 10^9/L$

4 Diskusjon

4.1 Leukocytter

Resultatene våre viser at hverken metodenes empiriske varians eller gjennomsnittsmålinger er signifikant forskjellige for leukocytter analysert på kroppsvæskemoduset på XN-2000 og på Sapphire. Vi kan dermed konkludere med at metoden for analysing av leukocytter i plasma på XN-2000 er like presis og nøyaktig som referansemetoden Sapphire.

I regresjon- og korrelasjonsanalysen fant vi at det var god korrelasjon mellom metodene, men at XN-2000 gjennomsnittlig ga noe høyere resultater enn Sapphire. Vi har grunn til å stole på resultatet XN-2000 gir selv om det er noe høyere enn referansemetoden i og med at kroppsvæskemoduset på XN-2000 er utviklet for prøver med svært lave verdier²². I studien av Cell-Dyn Sapphire³⁸ ble den funksjonelle sensitiviteten for leukocytter på Sapphire vurdert til å være $0,05 \times 10^9/L$, noe som er høyere enn middelveidien for leukocytter ($0,026 \times 10^9/L$) i våre plasmaprøver. Dette bekrefter bioingeniørene ved fagområde for hematologi og koagulasjon ved Ålesund sjukehus sine påstander om at Sapphire er ikke passende for analysing av så lave celleverdier, og at XN-2000 kan være mer passende enn Sapphire. Ideelt sett skulle vi hatt flere prøver med høyere konsentrasjoner for å kunne vurdere korrelasjonen mer nøyaktig, men det hadde vi ikke tilgjengelig.

4.1.1 Intraseriell presisjon

I presisjonsanalysen fikk vi et uventet resultat for intraseriell presisjon der resultatene viste en stor økning i leukocyttdverdiene mellom den første analyseringen og den tjuende analyseringen både på XN-2000 og Sapphire. Dette resulterte i variasjonskoeffisienter som tyder på dårlig intraseriell presisjon. Vi gjorde ulike forsøk for å undersøke om feilkilden kunne være «carry-over» eller interfererende stoffer i plasmaet eller prøveglasset. Vi fant at resultatene i disse forsøkene viste samme tendens, og disse feilkildene kunne utelukkes.

Vi mistenker at feilkilden skyldes den gjentatte blandingen av prøven mellom analyseringene. Sapphire ga en mindre økning i leukocyttd verdien enn XN-2000, noe som styrker vår mistanke siden vi da brukte to glass med samme prøve og hvert glass ble dermed blandet halvparten så mye som for prøven analysert på XN-2000. Vi forsøkte også med plasma tilsatt antikoagulanten EDTA, noe som ga en raskere og større økning på leukocyttd verdien. Dette kan tyde på at feilkilden også kan være antikoagulanten som er tilsatt i tappeposen.

I studien av kroppsvæskemoduset på Sysmex XN-2000³⁹ vurderes den intraserielle presisjonen for prøver med lave leukocyttd verdier analysert på XN-2000 kroppsvæskemodus. Variasjonskoeffisienten ble her 2,0–9,2% beregnet fra fem analyseringer av den samme prøven³⁹, mens vår ble 23,63% beregnet fra de ti første analyseringene. Dersom vi i likhet med den nevnte studien hadde forholdt oss kun til de fem første analyseringene ville vi trolig fått en sammenlignbar variasjonskoeffisient, da den store økningen i leukocyttd verdien ikke var merkbar før etter ti analyseringer.

Variasjonskoeffisienten beregnet fra kun de ti første analyseringene ble lavere for XN-2000 enn for Sapphire, noe som tyder på at XN-2000 trolig har bedre intraseriell presisjon enn Sapphire. Dette viser at XN-2000 kroppsvæskemodus har god evne til å gjengi like resultater ved analysering av den samme prøven under like betingelser opp til ti ganger når det gjelder leukocytter i plasma. Studien av Cell-Dyn Sapphire³⁸ fremstiller resultatet for intraseriell presisjon i en graf. Ved avlesning av grafen ser vi at en prøve som tilsvarer vår gjennomsnittsverdi for leukocytter gir en variasjonskoeffisient på omtrent 30% for ti analyseringer³⁸. Vår variasjonskoeffisient for ti analyseringer ble 23,63%, dette bekrefter våre funn som viser at XN-2000 er en bedre metode for å analysere residuale leukocytter i plasma enn Sapphire. Før metoden tas i bruk bør det undersøkes videre hva som er grunnen til den dårlige intraserielle presisjonen ved flere enn ti analyseringer for å hindre at denne feilkilden gir falske resultater for kvalitetskontrollen.

4.1.2 Interseriell presisjon

For interseriell presisjon på XN-2000 fikk vi en variasjonskoeffisient som var godt innenfor kravet. Dette viser at XN-2000 har god evne til å gi like resultater for kontrollmaterialet ved analysing av leukocytter utført over forskjellige dager og av forskjellige personer.

4.2 Erytrocytter

Resultatene våre viser at hverken metodenes empiriske varians eller gjennomsnittsmålinger er signifikant forskjellige for erytrocytter analysert på XN-2000 kroppsvæskemodus sammenlignet med de samme prøvene talt manuelt i Bürker tellekammer. Vi kan dermed konkludere med at metoden for analysing av erytrocytter på XN-2000 er like presis og nøyaktig som referansemetoden manuell telling i Bürker tellekammer. I regresjon- og korrelasjonsanalysen sammenlignet vi resultatene fra XN-2000 kroppsvæskemodus med manuell telling i et korrelasjonsdiagram (figur 10). Resultatene viste god korrelasjon, men XN-2000 gir et noe høyere resultat enn den manuelle metoden.

4.2.1 Intraseriell presisjon

Den intraserielle presisjonen for erytrocytter analysert på XN-2000 ga en høy variasjonskoeffisient sammenlignet med variasjonskoeffisienten for den manuelle tellingen. Vi ser ut i fra tallene i presisjonsanalysen på XN-2000 (vedlegg 19) at differansen mellom analysingene er så liten at det ikke vil ha stor betydning for resultatet på kvalitetskontrollen. I studien av Advia 120³⁷ der en metode ment for spinalvæske er vurdert for bruk til analysing av residuale erytrocytter i plasma, ble variasjonskoeffisienten mye lavere enn i vår studie. Dette kan skyldes at der ble brukt plasmaprøver med høyere erytrocyttverdier enn i vår studie. I tillegg krever metoden på Advia 120 at prøvene må fortynnes før analysing, og underveis i studien deres var det

problemer med tilstoppede prøveveier³⁷. Vi hadde ingen slike problemer på XN-2000 og prøvene kan analyseres direkte uten å fortynnes.

4.2.2 Interseriell presisjon

Interseriell presisjon for erytrocytter på XN-2000 kroppsvæskemodus ga en variasjonskoeffisient som ligger godt under kravet. Det vil si at det er liten spredning på resultatene fra kontrollprøvene og metoden har en god evne til å gjengi det samme resultatet under endrede betingelser. Når vi sammenligner den interserielle presisjonen med studien av Advia 120³⁷ ser vi at XN-2000 gir en bedre interseriell presisjon.

En svakhet som kan ha påvirket studien vår når det gjelder analysering av residuale erytrocytter er at vi mangler erfaring med manuell telling. Den subjektive faktor kan også ha påvirket resultatet da det med lite erfaring kan være vanskelig å skille erytrocyttene fra andre partikler i prøven. Resultatene våre viser allikevel at det er god korrelasjon mellom den manuelle metoden og XN-2000. På grunn av den subjektive faktoren er det en fordel om XN-2000 kan erstatte manuell metode i fremtiden.

4.3 Trombocytter

Resultatene våre viser at sammenlignet med Sapphire er det PLT-F som gir de beste resultatene for prøver med lave trombocyttdier på XN-2000, men at det er god korrelasjon mellom PLT-F og PLT-I. PLT-I gir gjennomsnittlig et noe lavere resultat enn PLT-F, noe som stemmer overens med teorien siden PLT-F skal være en bedre metode enn PLT-I for prøver med lave trombocyttdier, samt at et større prøvevolum blir talt²³. I studien av PLT-F på Sysmex XN-2000³⁶ finner forskerne også en god korrelasjon mellom PLT-F og PLT-I, men konkluderer med at PLT-F er den metoden som gir det beste resultatet. En svakhet ved metodesammenligningen vår for trombocytter er at det bare ble brukt 20 prøver til utprøvingen av PLT-F. Dette er noe som eventuelt kan undersøkes

videre med et høyere prøveantall. Studien som er nevnt over har imidlertid konkludert med det samme som oss etter analysering av 37 blodprøver³⁶.

4.3.1 Intraseriell presisjon

Intraseriell presisjon vurderte vi bare for PLT-I på XN-2000 og for Sapphire. PLT-I ga en noe lavere variasjonskoeffisient enn Sapphire. Dette resultatet viser at PLT-I på XN-2000 er bedre enn Sapphire til å gjengi det samme resultatet ved gjentatte analyseringer av samme prøve under de samme betingelsene. I studien av PTL-F på Sysmex XN-2000³⁶ ble variasjonskoeffisienten for en prøve med en trombocytterverdi på $20 \times 10^9/L$ beregnet til 9,3% for PLT-I³⁶, mens vår beregnede variasjonskoeffisient ble 13,83% for en prøve med middelerdi $5,5 \times 10^9/L$. Grunnen til at vår variasjonskoeffisient ble høyere enn i den nevnte studien skyldes nok at det ble brukt en prøve med høyere trombocyttkonsentrasjon enn i vår studie. I studien av PLT-F³⁶ ble variasjonskoeffisienten for PLT-F beregnet til 3% for samme konsentrasjon som over³⁶, dette gir oss grunn til å tro at vi også ville fått en lavere variasjonskoeffisient om vi hadde vurdert intraseriell presisjon for PLT-F.

4.3.2 Interseriell presisjon

For beregning av interseriell presisjon på XN-2000 ga kontrollprøvene en variasjonskoeffisient som var godt innenfor kravene både for PLT-I og PLT-F. Dette viser at både PLT-I og PLT-F på XN-2000 har god evne til å gi like resultater for kontrollmaterialet ved analysering utført over forskjellige dager og av forskjellige personer. Vi har ikke lyktes i å finne noen tidligere studier som kan bekrefte dette funnet.

4.5 Validering

De ulike modusene på XN-2000 er tiltenkt kroppsvæsker og fullblod og vi skulle prøve ut modusene til å analysere plasma. Når en metode skal benyttes til noe annet enn det tiltenkte bruksområdet må den valideres⁴⁴. Vi satte opp krav for den analytiske kvaliteten til metoden for de utvalgte parameterne. Den intraserielle presisjonen for leukocytter ble høyere enn kravet. Kravene vi satt er derfor ikke oppfylt og vi kan dermed ikke fullføre valideringen av metoden.

5 Konklusjon

Hensikten med denne oppgaven var å undersøke om Sysmex XN-2000 (XN-2000) kunne brukes til kvalitetskontroll av plasma produsert i blodbank når det gjelder residuale leukocytter, erytrocytter og trombocytter. For å undersøke dette har vi sammenlignet resultater for plasmaprøver analysert på XN-2000 med resultater fra de nåværende metodene for kvalitetskontroll av plasma. Deretter har vi brukt statistiske metoder for å undersøke om resultatene samsvarer.

Resultatene våre viser at for analysering av residuale leukocytter samsvarer resultatene fra XN-2000 kroppsvæskemodus godt med referansemetoden Cell-Dyn Sapphire (Sapphire). Feilkilden som førte til den dårlige intraserielle presisjonen både på XN-2000 og Sapphire bør undersøkes videre før metoden tas i bruk.

For analysering av residuale erytrocytter samsvarer resultatene fra XN-2000 kroppsvæskemodus godt med referansemetoden manuell telling i Bürker tellekammer. Intraseriell presisjon på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus ble høyere enn den intraserielle presisjonen ved manuell telling, men differansen mellom analyseringene er ikke så stor at det vil ha signifikant betydning for resultatet på kvalitetskontrollen.

Resultatene våre viser at for analysering av residuale trombocytter er det metoden med fluorescens flowcytometri (PLT-F) som samsvarer best med referansemetoden Sapphire. Metoden med impedans (PLT-I) gir gjennomsnittlig noe lavere resultater enn PLT-F. Siden PLT-F har reagenser som gir høyere kostnader enn PLT-I²⁴ må fagområdet for hematologi og koagulasjon og Blodbanken ved Ålesund sjukehus vurdere om de ønsker å bruke denne metoden fremfor PLT-I, eller om PLT-I gir et resultat som er tilfredsstillende nok for kvalitetskontroll av residuale trombocytter²⁴.

5.1 Forslag til videre studier

Den dårlige intraserielle presisjonen for leukocytter i plasma bør undersøkes videre. Vi anbefaler videre studier der det kan undersøkes om det er gjentatt blanding av prøven, antikoagulanten eller andre feilkilder som gjør at analysemaskinene måler falsk for høyt for leukocytter ved gjentatte analyseringer. På grunn av tidsbegrensning har vi ikke fått undersøkt dette i vår studie.

Det kan være nyttig å forske videre på metoden med fluorescens flowcytometri med et prøveantall større enn 20 for å undersøke om denne metoden også da samsvarer like godt med referansemetoden som vår studie viser. I tillegg bør den intraserielle presisjonen for PLT-F også undersøkes.

Referanseliste:

- ¹ Sjøli M, Stige B. Prosedyre: Kvalitetskontroll av blodprodukter, versjon 1.15. [Internett]. Norge: Blodbanken, Ålesund sjukehus, Helse Møre og Romsdal HF; juni 2014. [Hentet 2015.03.18]. Tilgjengelig fra: <http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=316>
- ² Sjøvik R. Prosedyre: Sysmex XN – Analysering av spinalvæske, versjon 1.2. [Internett]. Norge: Avdeling for medisinsk biokjemi, Ålesund sjukehus, Helse Møre og Romsdal HF; januar 2015. [Hentet 2015.03.18]. Tilgjengelig fra: <http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=21896>
- ³ Behdad S. NA dokument nr. 48a: Klinisk kjemi. [Internett]. Norsk Akkreditering, 2004. [Hentet 2015.04.22]. Tilgjengelig fra: <http://www.akkreditert.no/globalassets/na-dokumenter/dok00082.pdf>
- ⁴ IFBLS' Guidelines regarding Core Competence and Core Curriculum. [Internett]. International Federation of Biomedical Laboratory Science. 2012. [Hentet 2015.04.20]. Tilgjengelig fra: http://ifbls.org/images/ifbls_docs/DOCS-325163-v3-2012_IFBLS_Guidelines_regarding_Core_Competence_and_Core_Curriculum%20Final.pdf
- ⁵ Almås SH, Ødegård A. Bioingeniørens kjernekompetanse – en kvantitativ studie. [Internett]. Bioingeniøren, nr. 6/, 2013. [Hentet 2015.04.20]. Tilgjengelig fra: <http://www.nito.no/Bioingenioren/FAG/Bioingeniørens-kjernekompetanse---en-kvantitativ-studie-/>
- ⁶ Harmening D.N. Modern Blood Banking & Transfusion Practices, 6th edition. USA: F.A. Davis Company; 2012. 647 s.
- ⁷ Sand O, Sjaastad Ø.V, Hauge E, Bjålie J.G. Menneskekroppen, 2. utgave. Norge: Gyldendal Norsk Forlag AS; 2006. 544 s.
- ⁸ Burtis C.A, Ashwood E.R, Bruns D.E. Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry, 6th edition. USA: Saunders Elsevier; 2008. 952 s.
- ⁹ Solheim B.G, Hervig T, Flesland Ø, Naper C. Klinisk blodtransfusjon: Hemoterapi, 14. utgave. Norge. 2012. 48 s.
- ¹⁰ Akkøk C.A, Heier H.E, Kjeldsen-Kragh J, Osnes L.T.N, Hervig T, Husebekk A et al. Håndbok i transfusjonsmedisin, 2. reviderte utgave. [Internett]. Norge: Helsedirektoratet; mai 2011. [Hentet 2015.03.20]. Tilgjengelig fra:

<https://helsedirektoratet.no/Lists/Publikasjoner/Attachments/215/Handbok-i-transfusjonsmedisin-IS-1669.pdf>

¹¹ Sjøli M. Prosedyre: Produksjon av humant plasma, versjon 1.9. [Internett]. Norge: Blodbanken, Ålesund sjukehus, Helse Møre og Romsdal HF; mars 2015. [Hentet 2015.03.18]. Tilgjengelig fra: <http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=314>

¹² Flesland Ø, Sjøberg J.J. Blodtransfusjonstjenesten i Norge, Statistikk for 2013. [Internett]. Norge: Blodbanken, Bærum sykehus, Vestre Viken HF; august 2014. [Hentet 2015 03.20] Tilgjengelig fra: <http://www.hemovigilans.no/binary?download=true&id=548>

¹³ Hva skjer med blodet. [Internett]. Norge: Blodbanken Oslo, Oslo Universitetssykehus. [Hentet 2015.03.20] Tilgjengelig fra: <http://www.blodbanken-oslo.no/fakta/tapping.html>

¹⁴ Behandlingsbiobankloven. 2003. [Internett] Lov om behandlingsbiobanker av 2003.02.12. Helse- og omsorgsdepartementet. [Hentet 2015.03.20]. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/NL/lov/2003-02-21-12>

¹⁵ Bli blodgiver. [Internett] Norge: Røde Kors blodprogram. [Hentet 2015.03.20]. Tilgjengelig fra: <https://www.giblod.no/%C3%85GiBlod/BliBlodgiver.aspx>

¹⁶ Blodforskriften. [Internett]. Norge: Helse- og omsorgsdepartementet; april 2005. [Hentet 2015.03.20]. Tilgjengelig fra: https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2005-02-04-80#KAPITTEL_7

¹⁷ Transfusion och kontroller. Sverige: Vårdhandboken, Norrlands universitetssjukehus, Umeå; februar 2015 [Hentet 2015.05.15]. Tilgjengelig fra: <http://www.vardhandboken.se/Texter/Transfusion-av-blodkomponenter/Transfusion-och-kontroller/>

¹⁸ Lea T. Immunologi og immunologiske teknikker. 3.utgave; 2006. Norge. 400 s.

¹⁹ Espinosa A. Utredning ved mistanke om transfusjonsreaksjon. [Internett]. Norge: Norsk Hemovigilansgruppe, Nasjonalt kunnskapssenter for helsetjenesten. [Hentet 2015.05.21]. Tilgjengelig fra: <http://www.hemovigilans.no/binary?download=true&id=378>

²⁰ Lid B. Prosedyre: Sysmex XN – Analysering av prøver, versjon 1.2. [Internett]. Norge: Avdeling for medisinsk biokjemi, Ålesund sjukehus, Helse Møre og Romsdal HF; mars 2014. [Hentet 2015.03.18]. Tilgjengelig fra: <http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=21901>

-
- ²¹ Sysmex launches the XN Series of Flagship Models in the Hematology Field. [Internett]. Sysmex Corporation, mai 2011. [Hentet 2015.04.29]. Tilgjengelig fra: <http://www.sysmex.co.jp/en/news/press/2011/110510b.html>
- ²² Matsushita H, Nakazawa N, Gondo K, Tanaka Y. Clinical Case Report, Vol.3 (BF-mode). Japan: Sysmex Corporation Scientific Affairs; 2012. 29 s.
- ²³ Sysmex – Reshaping compact automation. [Internet]. Amerika: Sysmex Amerika, Inc. [Hentet 2015.04.10] Tilgjengelig fra: https://www.sysmex.com/us/en/Brochures/XN_Compact_Automation_MKT-10-1175.pdf
- ²⁴ Scoffin K. Hematology Analyzers—From Complete Blood Counts to Cell Morphology. [Internett]. USA: Lab compare; mai 2014. [Hentet 2015.05.23]. Tilgjengelig fra: <http://www.labcompare.com/10-Featured-Articles/162042-Hematology-Analyzers-From-Complete-Blood-Counts-to-Cell-Morphology/>
- ²⁵ Strømsheim AM. Prosedyre: Trombocytter i fullblod, versjon 1.2. [Internett]. Norge: Avdeling for medisinsk biokjemi, Ålesund sjukehus, Helse Møre og Romsdal HF; mars 2014. [Hentet 2015.03.24]. Tilgjengelig fra: <http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=9852>
- ²⁶ Matsushita H, Tanaka Yuz., Sakairi K, Tanaka Yum.. Clinical Case Report, Vol.1. Japan: Sysmex Corporation Scientific Affairs; 2011. 79 s.
- ²⁷ Rodak BF, Fritsma GA, Keohane EM. Hematology, clinical principles and applications, 4th edition. USA: Saunders Elsevier; 2012. 864 s.
- ²⁸ XN-2000 - Instructions for use. Sysmex Corporation, Kobe, Japan. 2012.
- ²⁹ The Technologies og Laboratory Testing Field. [Internett]. Japan; Sysmex Corporation. [Hentet 2015.05.09]. Tilgjengelig fra: http://www.sysmex.co.jp/en/r_and_d/lab_test.html
- ³⁰ Abbott – CELL-DYN Hematology Systems. [Internett]. Hospital Management, Kable, Kable Intelligence Limited. [Hentet 2015.04.23]. Tilgjengelig fra: http://www.hospitalmanagement.net/contractor_images/abbot/1-cell-dyn-sapphire.jpg
- ³¹ Bürker tellekammer. [Internett]. [Hentet 2015.04.17]. Tilgjengelig fra: https://no.vwr.com/store/catalog/product.jsp?catalog_number=630-1545
- ³² Thoresen TS. Statistikk for laboratoriet, 5. utgave. Norge: Høgskolen i Tromsø, Avdeling for Helsefag, Bioingeniørutdanninga; 2000. 105 s.
- ³³ Krouwer JS, Tholen DW, Garber CC, Goldschmidt HMJ, Kroll MH, Linnet K, Meier K et al.. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition. [Internett]. Clinical and Laboratory Standards Institute,

guideline EP-9A2. [Hentet 2015.04.22]. Tilgjengelig fra:

<http://yeec.com/uploadimages1/forum/2009-7/20097251016576037.pdf>

³⁴ Wibetoe G. Store Norske Leksikon: Validering. [Internett]. Norge: Foreningen SNL, 2015. [Hentet 2015.04.22]. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/validering>

³⁵ Aakernes AH, Schwetmann L, Søvik R. Prosedyre: Validering og verifisering av metoder og utstyr, versjon 2.0. [Internett]. Norge: Avdeling for medisinsk biokjemi, Ålesund sjukehus, Helse Møre og Romsdal HF; april 2015. [Hentet 2015.05.04]. Tilgjengelig fra: <http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=58355>

³⁶ Schoorl M, Schoorl M, Oomes J, van Pelt J. New fluorescent method (PLT-F) on Sysmex XN2000 hematology analyzer achieved higher accuracy in low platelet counting. [Internett]. American Journal of Clinical Pathology, issue 140; 2013. [Hentet 2015.04.23]. Tilgjengelig fra: <http://ajcp.ascpjournals.org/content/140/4/495.long>

³⁷ Culibrk B, Stone E, Levin E, Weiss S, Serrano k, Devine DV. Application of the ADVIA cerebrospinal fluid assay to count residual red blood cells in blood components. [Internett]. Vox Sanguinis, volume 103, issue 3; oktober 2012. [Hentet 2015.04.23]. Tilgjengelig fra:

<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=80025661&site=ehost-live>

³⁸ De Smet D, Moer GV, Martens GA, Nanos N, Smet L, Jochmans K, MD, De Waele M. Use of the Cell-Dyn Sapphire Hematology Analyzer for Automated Counting of Blood Cells in Body Fluids. [Internett]. American Journal of Clinical Pathology, 133, 291-299; 2010 [Hentet 2015.04.23]. Tilgjengelig fra:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20093239>

³⁹ Tanaka Y, Matsushita H, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Miyachi H. Evaluation of the body fluid mode of automated hematology analyzer XN -series for extremely low peripheral white blood cell counts. International Journal of Laboratory Hematology, vol 36, utgave 1. Februar 2014. [Hentet 2015.04.16]. Tilgjengelig fra:

<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=93630416&site=ehost-live>

⁴⁰ E.Befring. Kvantitativ metode. [Internett]. Norge: De nasjonale forskningsetiske komitéene; april, 2015. [Hentet: 2015.05.11]. Tilgjengelig fra:

<https://www.etikkom.no/fbib/introduksjon/metoder-og-tilnarminger/kvantitativ-metode/>

-
- ⁴¹ Helbæk M. Statistikk for kjemikere, 2. opplag. Norge; Tapir Akademisk forlag, 2008. 296 s.
- ⁴² Statistisk bearbeiding av analytiske kontrollresultater. [Internett] Norge; Noklus Laboratoriet, juni 2014. [Hentet 2015.05.01]. Tilgjengelig fra: http://noklus.osigraf.no/lab/perm2/Kap_25/25.25_Statistisk_bearbeiding.pdf
- ⁴³ Metodevalidering og –kontroll. [Internett]. Norsk Klinisk-Kjemisk Kvalitetskontroll. [Hentet 2015.05.04]. Tilgjengelig fra: <http://www.nkk-ekv.com/84240410>
- ⁴⁴ Behdad S. NA dokument nr. 48a: Klinisk kjemi. [Internett]. Norsk Akkreditering, 2004. [Hentet 2015.04.22]. Tilgjengelig fra: <http://www.akkreditert.no/globalassets/na-dokumenter/dok00082.pdf>
- ⁴⁵ Lid B. Prosedyre: Sysmex XN – Oppstart, vedlikehold og reagensskift, versjon 1.1. [Internett]. Norge: Avdeling for medisinsk biokjemi, Ålesund sjukehus, Helse Møre og Romsdal HF; mars 2014. [Hentet 2015.03.18]. Tilgjengelig fra: <http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=21902>
- ⁴⁶ Strømsheim AM. Prosedyre: Cell-Dyn Sapphire – daglig oppstart og vedlikehold, versjon 1.6. [Internett]. Norge: Avdeling for medisinsk biokjemi, Ålesund sjukehus, Helse Møre og Romsdal HF; mars 2014. [Hentet 2015.03.24]. Tilgjengelig fra: <http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=3786>

Vedlegg 1: Oversikt over reagenser Sysmex XN-2000 og Cell-Dyn Sapphire:

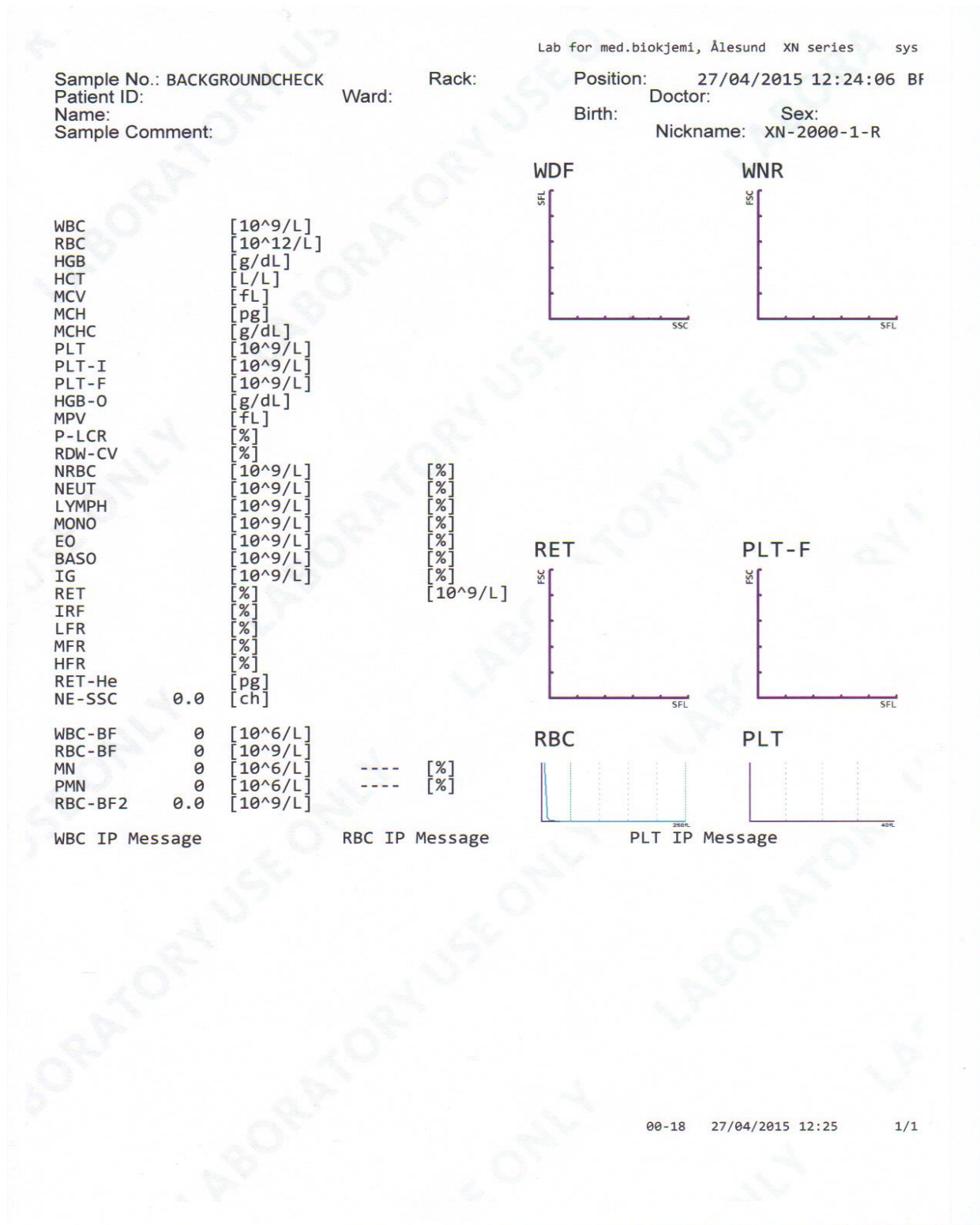
Sysmex XN-2000:

- Cellpack DCL
Saltvannsløsning med god ledningsevne som brukes som fortynningsvæske til impedansemetoden.
- Cellpack DFL
En fortynningsvæske som brukes ved fluorescens flowcytometri.
- Fluorocell PLT
Et fargestoff som brukes sammen med Cellpack DFL til måling av trombocytter med fluorescens flowcytometri. Reagenset inneholder oxacin som binder seg til nukleinsyrer i trombocytene.
- Lysercell WDF
Brukes til telling av leukocytter ved fluorescens flowcytometri. Reagenset lyses erytrocyttene i prøven slik at fargestoffet kommer til på leukocytene.
- Fluorocell WDF
Fargestoff som brukes til å merke leukocytene, stoffet binder seg til nukleinsyrene etter at erytrocyttene er lysert.
- Cellclean Auto
Rengjøringsløsning til XN-2000. Løsningen er sterkt alkalisk og brukes til å fjerne lysesreagens, cellerester og blodprotein^{25,45}.

Cell-dyn Sapphire

- Diluent/Sheath reagens
- WBC A-reagens
- WBC B-reagens⁴⁶.

Vedlegg 2: Bakgrunnssjekk Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.



WBC-BF: Leukocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

RBC-BF2: Erytrocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 3: Bakgrunnssjekk for Cell-Dyn Sapphire.

For Laboratory Use Only

D

Software Version: v4 Analyzer S/N: 42039AZ

CELL-DYN Sapphire Laboratory Worksheet

27/04/15 11:39

Sequence #: 1681 Open Tube

Test Selection: CBC [L]
 Param Set(Chart Page): Bkgrnd
 Limit Set: Background
 Run Date/Time: 27/04/15 11:26

Background/Normal

Specimen ID:

Name:

DOB:

Sex:

Doctor:

User Defined A:

User Defined B:

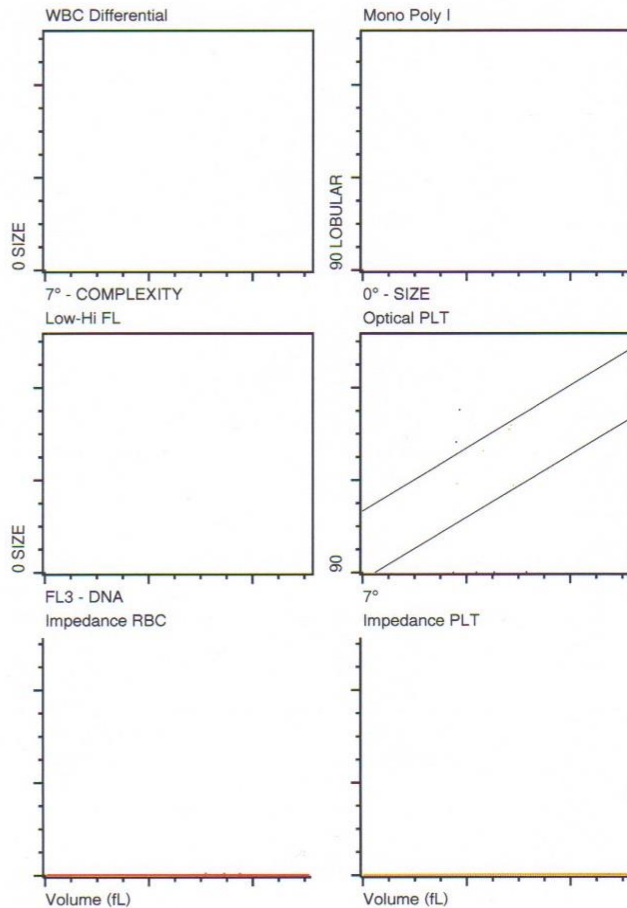
User Defined C:

User Defined D:

X-B WBC RBC PLT RETC

WBC 0.00 10e9/L WVF
 NEU %N
 LYM %L
 MONO %M
 EOS %E
 BASO %B

RBC 0.00 10e12/L RBCo 0.00
 HGB .002 g/dL %MIC
 HCT L/L %MAC
 MCV fL %HPO ----
 MCH pg %HPR ----
 MCHC g/dL
 RDW %CV
 HDW %
 RETC ---- 10e9/L %R ----
 IRF ----
 NRBC 10e9/L NR/W
 MCVr fL
 MCHr pg
 CHCr g/dL
 PLTo .074 10e9/L PLTI .916
 MPV fL CD61 ----
 PDW 10(GSD) PLTs ----
 PCT mL/L PLTI ----
 %rP %



WBC: Leukocyttter

PLTo: Trombocyttter

Vedlegg 4: Formler brukt i kapittel 2.3 Statistisk metode.

Formel 1: $\bar{X} = \frac{X_1 + X_2 + \dots + X_i}{n}$ der $i = 1, 2, \dots, 52$.

Formel 2: $s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}$

Formel 3: $s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{s^2}$

Formel 4: $F_{\text{obs}} = \frac{s_X^2}{s_Y^2}$

Formel 5: $m_X = n_X - 1, m_Y = n_Y - 1$

Formel 6: $s = \sqrt{\frac{(n_X - 1)s_X^2 + (n_Y - 1)s_Y^2}{n_X + n_Y - 2}}$

Formel 7: $t_{\text{obs}} = \frac{|\bar{X} - \bar{Y}|}{s \sqrt{(1/n_X + 1/n_Y)}}$

Formel 8: $m = n_X + n_Y - 2$

Formel 9: $r = \frac{\sum_i^n XY - (\sum_i^n X_i)(\sum_i^n Y_i)}{\left\{ \left[n(\sum_i^n X_i^2) - (\sum_i^n X_i)^2 \right] \left[n(\sum_i^n Y_i^2) - (\sum_i^n Y_i)^2 \right] \right\}^{\frac{1}{2}}}$

Formel 10: $CV (\%) = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$

Vedlegg 5: Resultat og innledende utregninger for leukocytter.

Resultat leukocytter:			
Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus er her forkortet til XN-2000 BF-mode.			
Cell-Dyn Sapphire er forkortet til Sapphire.			
Kolonne nummer 3 viser resultatet fra XN-2000 BF-mode omgjort til $[x 10^9/L]$.			
Prøve nr.	XN-2000 BF-mode, $[x 10^6/L]$	XN-2000 BF-mode, $[x 10^9/L]$, Y	Sapphire, $[x 10^9/L]$, X
1	15	0,015	0,011
2	10	0,010	0,015
3	12	0,012	0,008
4	9	0,009	0,013
5	13	0,013	0,014
6	19	0,019	0,014
7	62	0,062	0,081
8	6	0,006	0,007
9	13	0,013	0,013
10	24	0,024	0,038
11	14	0,014	0,016
12	15	0,015	0,045
13	56	0,056	0,041
14	16	0,016	0,013
15	44	0,044	0,032
16	32	0,032	0,015
17	15	0,015	0,013
18	32	0,032	0,030
19	8	0,008	0,013
20	12	0,012	0,013
21	136	0,136	0,122
22	10	0,010	0,007
23	73	0,073	0,072
24	6	0,006	0,011
25	40	0,040	0,036
26	17	0,017	0,019
27	30	0,030	0,029
28	17	0,017	0,006
29	75	0,075	0,070
30	10	0,010	0,007
31	33	0,033	0,034
32	11	0,011	0,007
33	40	0,040	0,031
34	19	0,019	0,031
35	28	0,028	0,011
36	10	0,010	0,011
37	18	0,018	0,023
38	23	0,023	0,024
39	18	0,018	0,024

40	24	0,024	0,027
41	21	0,021	0,022
42	16	0,016	0,014
43	42	0,042	0,071
44	7	0,007	0,005
45	11	0,011	0,002
46	29	0,029	0,013
47	13	0,013	0,018
48	17	0,017	0,010
49	15	0,015	0,015
50	17	0,017	0,018
51	22	0,022	0,020
52	59	0,059	0,052
		Innledende utregninger, [$\times 10^9/L$]:	
		Gjennomsnitt, \bar{Y}:	Gjennomsnitt, \bar{X}:
		0,02565	0,02513
		Standardavvik, s_Y:	Standardavvik, s_X:
		0,02288	0,02285
		Varians, s_Y^2:	Varians, s_X^2:
		0,00052341	0,00052208

Vedlegg 6: Resultat og innledende utregninger for erythrocytter.

Resultat erythrocytter:					
Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus er her forkortet til XN-2000 BF-mode.					
Kolonne nummer 5 viser: (gjennomsnittet av talletall/tellevolum) x 10 ⁶					
Prøve nr.	Parallell 1	Parallell 2	Gjennomsnitt	Resultat manuell metode, [x10 ⁹ /L], X	XN-2000 BF-mode, [x10 ⁹ /L], Y
1	6	6	6,00	0,300	0,40
2	1	3	2,00	0,100	0,20
3	1	5	3,00	0,150	0,20
4	4	4	4,00	0,200	0,20
5	1	3	2,00	0,100	0,40
6	1	2	1,50	0,075	0,20
7	16	25	20,50	1,025	1,40
8	5	3	4,00	0,200	0,30
9	10	7	8,50	0,425	0,30
10	15	7	11,00	0,550	0,60
11	5	4	4,50	0,225	0,30
12	5	7	6,00	0,300	0,40
13	32	19	25,50	1,275	1,40
14	19	22	20,50	1,025	0,80
15	5	12	8,50	0,425	0,50
16	7	2	4,50	0,225	0,30
17	1	0	0,50	0,025	0,30
18	2	3	2,50	0,125	0,20
19	1	1	1,00	0,050	0,20
20	3	2	2,50	0,125	0,30
21	18	21	19,50	0,975	1,00
22	2	2	2,00	0,100	0,30
23	14	18	16,00	0,800	0,80
24	1	5	3,00	0,150	0,20
25	20	17	18,50	0,925	1,00
26	1	2	1,50	0,075	0,30
27	8	14	11,00	0,550	0,50
28	2	7	4,50	0,225	0,30
29	28	34	31,00	1,550	1,40
30	3	4	3,50	0,175	0,20
31	9	10	9,50	0,475	0,30
32	1	6	3,50	0,175	0,20
33	8	14	11,00	0,550	0,40
34	6	12	9,00	0,450	0,70
35	10	11	10,50	0,525	0,60
36	2	3	2,50	0,125	0,20
37	5	2	3,50	0,175	0,20
38	2	0	1,00	0,050	0,20
39	6	7	6,50	0,325	0,50

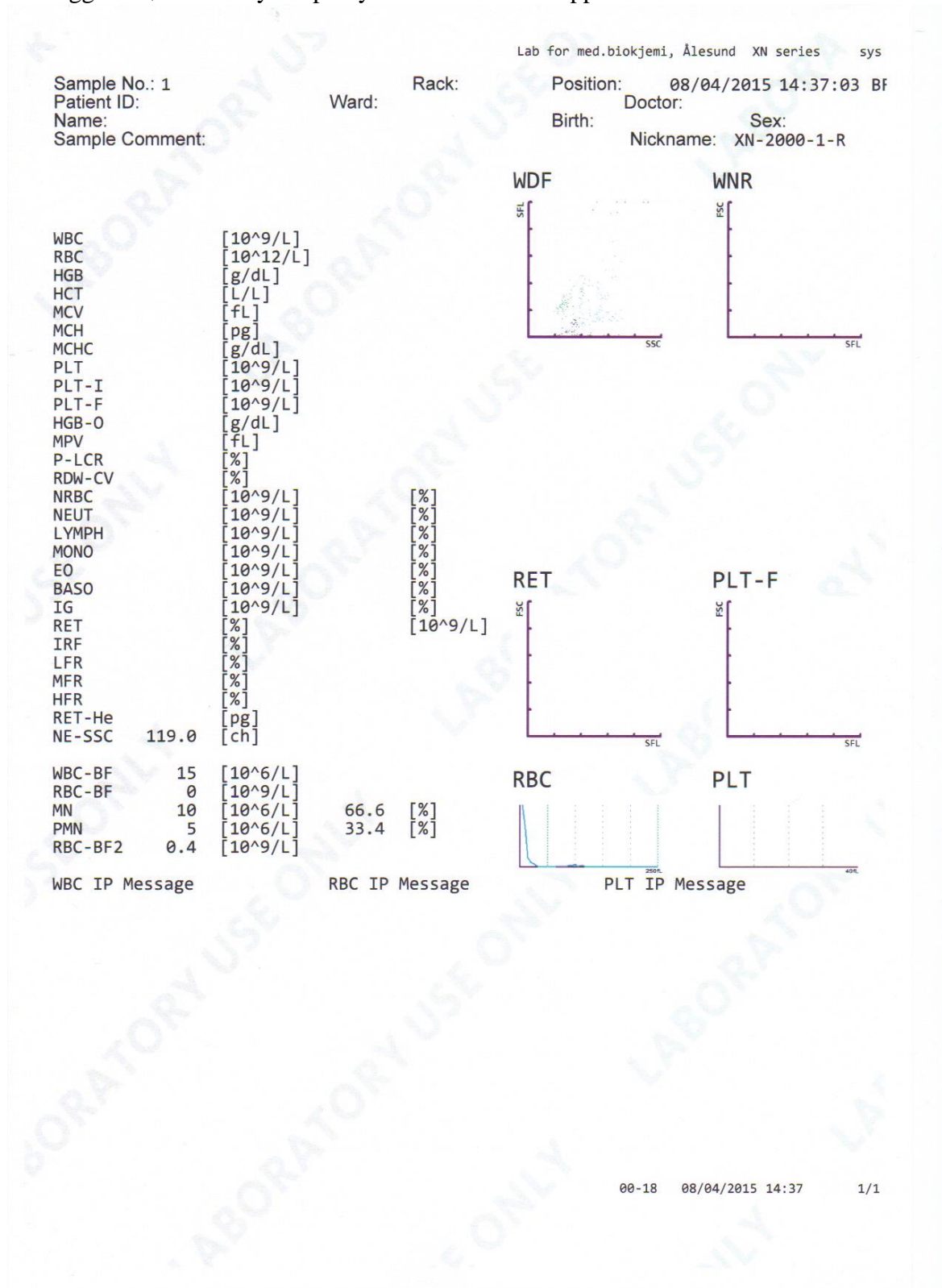
40	1	1	1,00	0,050	0,10
41	10	6	8,00	0,400	0,50
42	2	4	3,00	0,150	0,30
43	26	30	28,00	1,400	1,50
44	2	1	1,50	0,075	0,20
45	3	2	2,50	0,125	0,20
46	17	14	15,50	0,775	0,70
47	3	4	3,50	0,175	0,40
48	2	2	2,00	0,100	0,10
49	3	2	2,50	0,125	0,20
50	10	9	9,50	0,475	0,40
51	0	3	1,50	0,075	0,20
52	40	27	33,50	1,675	1,50
				Innledende utregninger, [$\times 10^9/L$]:	
				<i>Gjennomsnitt, \bar{X}:</i>	<i>Gjennomsnitt, \bar{Y}:</i>
				0,40192	0,47115
				<i>Standardavvik, s_X:</i>	<i>Standardavvik, s_Y:</i>
				0,41435	0,38160
				<i>Varians, s_X^2:</i>	<i>Varians, s_Y^2:</i>
				0,17168741	0,14562217

Vedlegg 7: Resultat og innledende utregninger for trombocytter.

Resultat trombocytter:			
Trombocytter analysert med impedans på Sysmex XN-2000 er forkortet til XN-2000 PLT-I.			
Trombocytter analysert med fluorescens flowcytometri på Sysmex XN-2000 er forkortet til XN-2000 PLT-F.			
Cell-Dyn Sapphire er forkortet til Sapphire.			
Prøve nr	XN-2000 PLT-I, [x 10⁹/L], Y	XN-2000 PLT-F, [x 10⁹/L], Z	Sapphire, [x 10⁹/L], X
1	4		4,89
2	4		5,85
3	4		4,78
4	4		4,89
5	4		5,28
6	5	6	4,69
7	9	13	9,41
8	6	9	7,53
9	8	10	9,08
10	12	16	12,60
11	3	5	4,04
12	8	9	8,08
13	11	14	12,80
14	11	17	14,30
15	8	12	12,60
16	4	6	5,36
17	4	8	6,72
18	4	8	5,96
19	3	4	3,62
20	5	8	6,62
21	3	5	4,34
22	3	5	3,98
23	3	5	4,38
24	6	8	8,16
25	5	7	5,82
26	5	7	6,22
27	5		4,55
28	6		7,01
29	5		6,38
30	6		7,12
31	2		4,00
32	6		7,35
33	6		6,35
34	5		6,46
35	4		6,26
36	5		7,25
37	7		6,75
38	4		6,62
39	7		6,85

40	5		7,31
41	5		6,46
42	8		10,10
43	8		10,40
44	6		8,09
45	6		7,07
46	4		6,05
47	8		9,34
48	6		6,73
49	3		3,21
50	5		6,41
51	3		3,82
52	7		8,71
Innledende utregninger, [$\times 10^9/L$]:			
	Gjennomsnitt, \bar{Y}:		Gjennomsnitt, \bar{X}:
	5,5385		6,897
	Standardavvik:		Standardavvik:
	2,1914		2,4605
	Varians:		Varians:
	4,8024		6,0538
	Gjennomsnitt prøve 6-26, \bar{Y}_2:	Gjennomsnitt, \bar{Z}:	Gjennomsnitt prøve 6-26, \bar{X}_2:
	6,00	8,667	7,443
	Standardavvik prøve 6-26:	Standardavvik:	Standardavvik prøve 6-26:
	2,898275349	3,7461	3,2636
	Varians prøve 6-26:	Varians:	Varians prøve 6-26:
	8,40	14,03	10,65

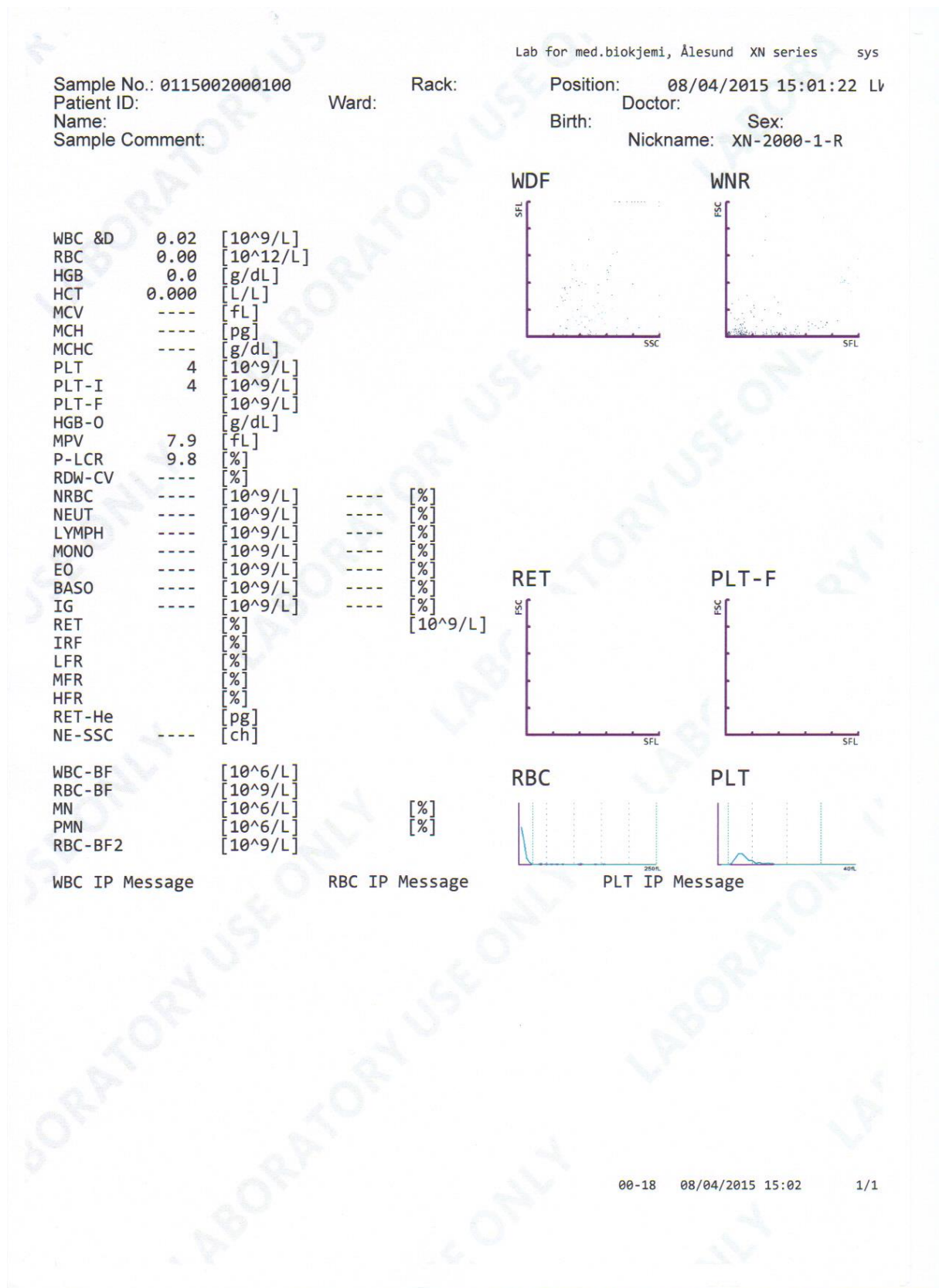
Vedlegg 8: Prøve 1 analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.



WBC-BF: Leukocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

RBC-BF2: Erytrocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 9: Prøve 1 analysert på Sysmex XN-2000 fullblodsmodus.



PLT: Trombocytter analysert på Sysmex XN-2000 fullblodsmodus.

Vedlegg 10: Prøve 1 analysert på Cell-Dyn Sapphire.

For Laboratory Use Only

Software Version: v4 Analyzer S/N: 42039AZ

CELL-DYN Sapphire Laboratory Worksheet

08/04/15 14:41

Sequence #: 675 Autoloader r03t02

Test Selection: CBC [L]

Patient/Human
Specimen ID: 011500200010

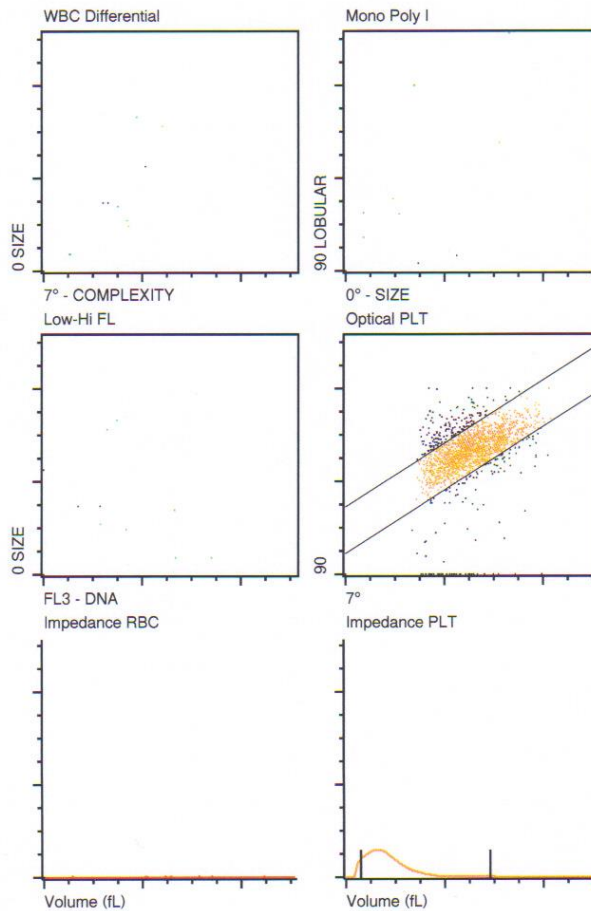
Param Set(Chart Page): 1

Name:
DOB:
Sex:
Doctor:
User Defined A:
User Defined B:
User Defined C:
User Defined D:

Limit Set: 1
Run Date/Time: 08/04/15 14:38

X-B In	WBC 1 Out	RBC In	PLT In	RETC In	
WBC	.011*	10e9/L	WVF	.571*	*InvalidData
NEU	.003*		%N	28.6*	
LYM	0.00*		%L	0.00*	
MONO	0.00*		%M	0.00*	
EOS	.008*		%E	71.4*	
BASO	0.00*		%B	0.00*	

RBC	.001*	10e12/L	RBCo	0.00*
HGB	.016*	g/dL	%MIC	
HCT		L/L	%MAC	
MCV		fL	%HPO	----
MCH		pg	%HPR	----
MCHC		g/dL		
RDW		%CV		
HDW	----	%		
RETC	----	10e9/L	%R	----
IRF	----			
NRBC	0.00*	10e9/L	NR/W	0.00*
MCVr	----	fL		
MChr	----	pg		
CHCr	----	g/dL		
PLTo	4.89*	10e9/L	PLTI	
MPV	5.08*	fL	CD61	----
PDW	10.2*	10(GSD)	PLTs	----
PCT	.025*	mL/L	PLTI	----
%rP	----	%		



Short Sample
RIC/ROC Delta
Outside Reportable Range

WBC: Leukocyttar

PLTo: Trombocyttar

Vedlegg 11: Regneark fra Excel for F-test:

F-test:		
Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus er forkortet til XN-2000 BF-mode.		
Leukocytter:		
Hypoteser: $H_0: s_X^2 = s_Y^2$, $H_1: s_X^2 \neq s_Y^2$.		
Signifikansnivå: 5%		
	<i>XN-2000 BF-mode, Y</i>	<i>Cell-Dyn Sapphire, X</i>
Gjennomsnitt, [x 10 ⁹ /L]	0,025653846	0,025134615
Varians, s ² , [x 10 ⁹ /L]	0,000523407	0,00052208
Observasjoner, n	52	52
Frihetsgrader, m	51	51
F(obs)	1,002543055	
F-kritisk, tosidig	1,742084134	
F(obs) < F-kritisk		
Konklusjon: Beholder nullhypotesen.		
Erytrocytter:		
Hypoteser: $H_0: s_X^2 = s_Y^2$, $H_1: s_X^2 \neq s_Y^2$.		
Signifikansnivå: 5%		
	<i>XN-2000 BF-mode, Y</i>	<i>Manuell metode, X</i>
Gjennomsnitt, [x 10 ⁹ /L]	0,47115	0,40192
Varians, s ² , [x 10 ⁹ /L]	0,14562217	0,17168741
Observasjoner, n	52	52
Frihetsgrader, m	51	51
F(obs)	1,178992251	
F-kritisk, tosidig	1,742084134	
F(obs) < F-kritisk		
Konklusjon: Beholder nullhypotesen.		
Trombocytter:		
Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus er forkortet til XN-2000 BF-mode.		
Trombocytter analysert med impedans er forkortet til PLT-I.		
Trombocytter analysert med fluorescens flowcytometri er forkortet til PLT-F.		
Hypoteser: $H_0: s_X^2 = s_Y^2$, $H_1: s_X^2 \neq s_Y^2$.		
Signifikansnivå 5%		
	<i>Cell-Dyn Sapphire, X</i>	<i>XN-2000 PLT-I, Y</i>
Gjennomsnitt, [x 10 ⁹ /L]	6,897115385	5,538461538
Varians, s ² , [x 10 ⁹ /L]	6,053836614	4,802413273
Observasjoner, n	52	52
Frihetsgrader, m	51	51
F(obs)	1,261	
F-kritisk, tosidig	1,742	
F(obs) < F-kritisk		
Konklusjon: Beholder nullhypotesen.		

Trombocytter, prøve 6-26:		
Hypoteser: $H_0: s_{Y2}^2 = s_Z^2$, $H_1: s_{Y2}^2 \neq s_Z^2$		
Signifikansnivå 5%		
	<i>XN-2000 PLT-F, Z</i>	<i>XN-2000 PLT-I, prøve 6-26, Y2</i>
Gjennomsnitt, [x 10 ⁹ /L]	8,666666667	6,0
Varians, s ² , [x 10 ⁹ /L]	14,03333333	8,40
Observasjoner, n	21	21
Frihetsgrader, m	20	20
F(obs)	1,671	
F-kritisk, tosidig	2,464	
F(obs) < F-kritisk		
Konklusjon: Beholder nullhypotesen.		
F-test trombocytter, prøve 6-26:		
Hypoteser: $H_0: s_{X2}^2 = s_Z^2$, $H_1: s_{X2}^2 \neq s_Z^2$		
Signifikansnivå 5%		
	<i>XN-2000 PLT-F, Z</i>	<i>Cell-Dyn Sapphire prøve 6-26, X2</i>
Gjennomsnitt, [x 10 ⁹ /L]	8,666666667	7,443333333
Varians, s ² , [x 10 ⁹ /L]	14,03333333	10,65136333
Observasjoner, n	21	21
Frihetsgrader, m	20	20
F(obs)	1,318	
F-kritisk, tosidig	2,464	
F(obs) < F-kritisk		
Konklusjon: Beholder nullhypotesen.		

Vedlegg 12: Regneark fra Excel for t-test

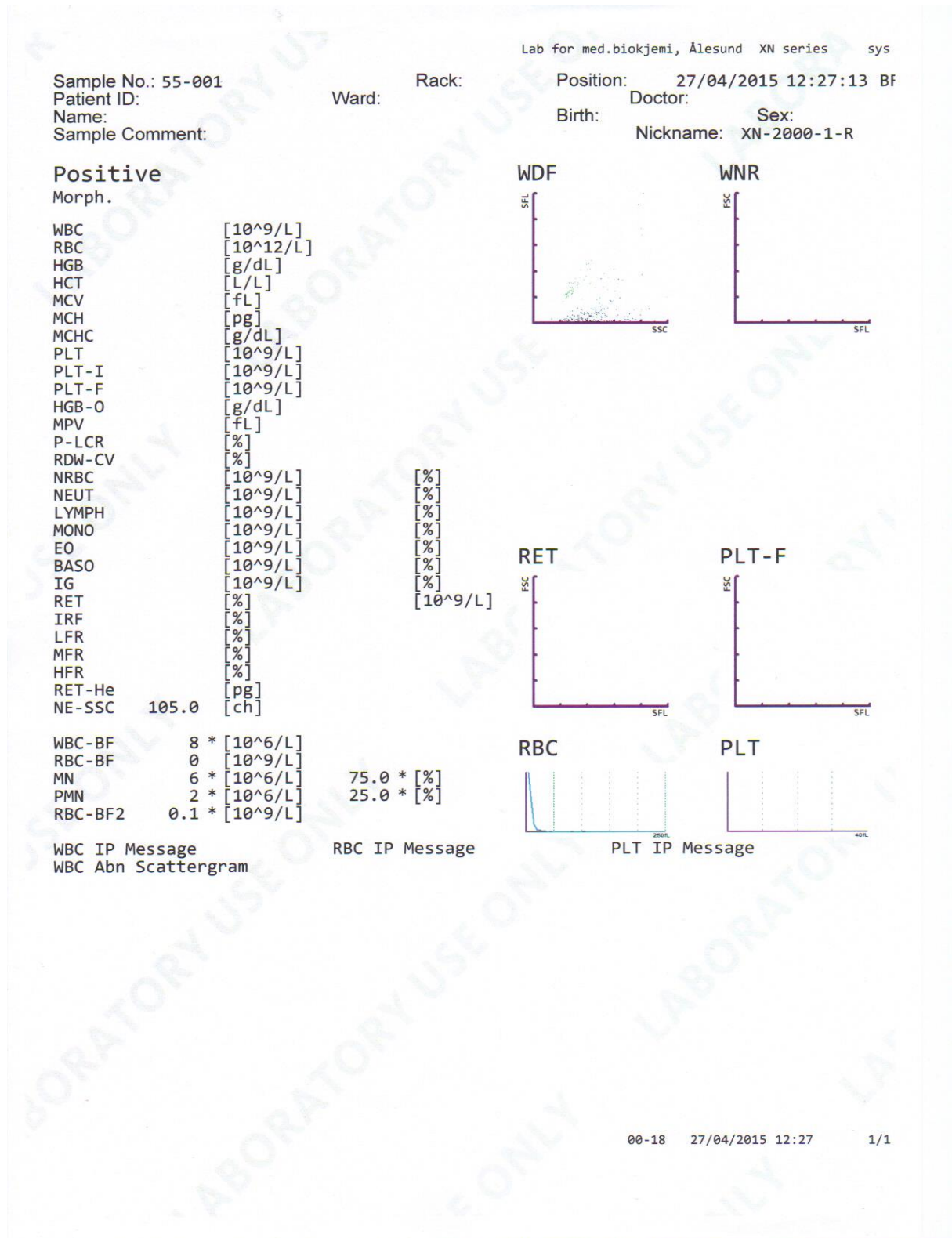
t-test:		
Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus er forkortet til XN-2000 BF-mode.		
Leukocytter:		
"t-Test: To utvalg med antatt like varianser"		
Hypoteser: $H_0: \bar{X} - \bar{Y} = 0$, $H_1: \bar{X} - \bar{Y} \neq 0$.		
Signifikansnivå: 5%		
	<i>XN-2000 BF-mode, Y</i>	<i>Cell-Dyn Sapphire, X</i>
Gjennomsnitt, [$\times 10^9/L$]	0,025653846	0,025134615
Varians, s^2 , [$\times 10^9/L$]	0,000523407	0,00052208
Observasjoner, n	52	52
Frihetsgrader, m	102	
t(obs)	0,115798468	
P($T \leq t$) tosidig	0,908039938	
T-kritisk, tosidig	1,983495259	
t(obs) < t-kritisk		
Konklusjon: Beholder nullhypotesen.		
Erytrocytter:		
"t-test: To utvalg med antatt like varianser"		
Hypoteser: $H_0: \bar{X} - \bar{Y} = 0$, $H_1: \bar{X} - \bar{Y} \neq 0$.		
Signifikansnivå 5%		
	<i>XN-2000 BF-mode, Y</i>	<i>Manuell metode, X</i>
Gjennomsnitt, [$\times 10^9/L$]	0,471153846	0,401923077
Varians, s^2 , [$\times 10^9/L$]	0,145622172	0,171687406
Observasjoner, n	52	52
Frihetsgrader, m	102	
t(obs)	0,886256102	
P($T \leq t$) tosidig	0,377564278	
T-kritisk, tosidig	1,983495259	
t(obs) < t-kritisk		
Konklusjon: Beholder nullhypotesen.		
Trombocytter:		
Trombocytter analysert med impedans er forkortet til PLT-I.		
Trombocytter analysert med fluorescens flowcytometri er forkortet til PLT-F.		
"t-test: To utvalg med antatt like varianser"		
Hypoteser: $H_0: \bar{X} - \bar{Y} = 0$, $H_1: \bar{X} - \bar{Y} \neq 0$.		
Signifikansnivå 5%		
	<i>Cell-Dyn Sapphire, X</i>	<i>Sysmex PLT-I, Y</i>
Gjennomsnitt, [$\times 10^9/L$]	6,897115385	5,538461538
Varians, s^2 , [$\times 10^9/L$]	6,053836614	4,802413273
Observasjoner, n	52	52
Frihetsgrader, m	102	
t(obs)	2,973518047	
P($T \leq t$) tosidig	0,003674177	
T-kritisk, tosidig	1,983495259	
t(obs) > T-kritisk		
Konklusjon: Forkaster nullhypotesen.		

Trombocytter prøve 6-26:		
"t-test: To utvalg med antatt like varianser"		
Hypoteser: $H_0: \bar{Y}_2 - \bar{Z} = 0$, $H_1: \bar{Y}_2 - \bar{Z} \neq 0$.		
Signifikansnivå 5%		
	<i>XN-2000 PLT-F, Z</i>	<i>XN-2000 PLT-I, prøve 6-26, Y2</i>
Gjennomsnitt, [x 10 ⁹ /L]	8,666666667	6
Varians, s ² , [x 10 ⁹ /L]	14,03333333	8,4
Observasjoner, n	21	21
Frihetsgrader, m	40	
t(obs)	2,580069916	
P(T<=t) tosidig	0,013656298	
T-kritisk, tosidig	2,02107539	
t(obs) > T-kritisk		
Konklusjon: Forkaster nullhypotesen.		
t-test trombocytter prøve 6-26:		
"t-test: To utvalg med antatt like varianser"		
Hypoteser: $H_0: \bar{X}_2 - \bar{Z} = 0$, $H_1: \bar{X}_2 - \bar{Z} \neq 0$.		
Signifikansnivå 5%		
	<i>Sysmex PLT-F, Z</i>	<i>Sapphire, prøve 6-26, X2</i>
Gjennomsnitt, [x 10 ⁹ /L]	8,666666667	7,443333333
Varians, s ² , [x 10 ⁹ /L]	14,03333333	10,65136333
Observasjoner, n	21	21
Frihetsgrader, m	40	
t(obs)	1,128341494	
P(T<=t) tosidig	0,265898072	
T-kritisk, tosidig	2,02107539	
t(obs) < T-kritisk		
Konklusjon: Beholder nullhypotesen.		

Vedlegg 13: Resultat og innledende utregninger fra presisjonsanalysen for leukocytter

Intraseriell presisjon, leukocytter:			
Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus er her forkortet til XN-2000 BF-mode.			
Prøve nr	XN-2000 BF-mode, [x 10⁶/L]	XN-2000 BF-mode, [x 10⁹/L], Y	Sapphire, [x 10⁹/L], X
1	8	0,008	0,005
2	7	0,007	0,007
3	8	0,008	0,014
4	8	0,008	0,005
5	9	0,009	0,013
6	8	0,008	0,004
7	11	0,011	0,009
8	9	0,009	0,009
9	12	0,012	0,011
10	14	0,014	0,009
11	18	0,018	0,009
12	20	0,020	0,011
13	19	0,019	0,009
14	37	0,037	0,009
15	37	0,037	0,017
16	45	0,045	0,014
17	58	0,058	0,029
18	68	0,068	0,029
19	83	0,083	0,025
20	94	0,094	0,024
		Innledende utregninger for leukocytter, [x 10⁹/L]:	
		<i>Gjennomsnitt, \bar{Y}:</i>	<i>Gjennomsnitt, \bar{X}:</i>
		0,02865	0,01310
		<i>Standardavvik, s_Y:</i>	<i>Standardavvik, s_X:</i>
		0,027215	0,007759

Vedlegg 14: Analysering nr. 1 i presisjonsanalysen på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

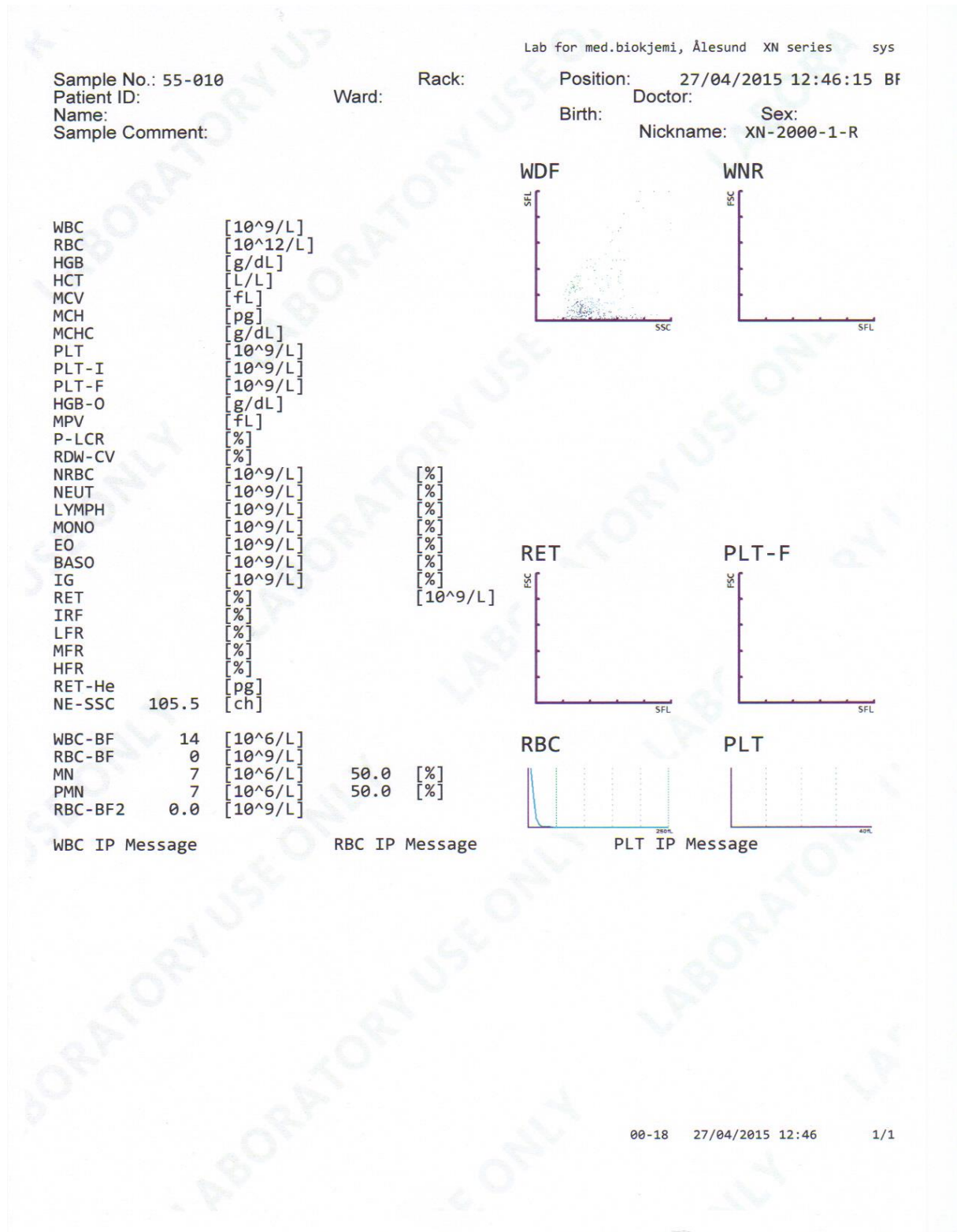


WBC-BF: Leukocyttar analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

RBC-BF2: Erytrocyttar analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 15: Analysering nr. 10 i presisjonsanalysen på Sysmex XN-2000

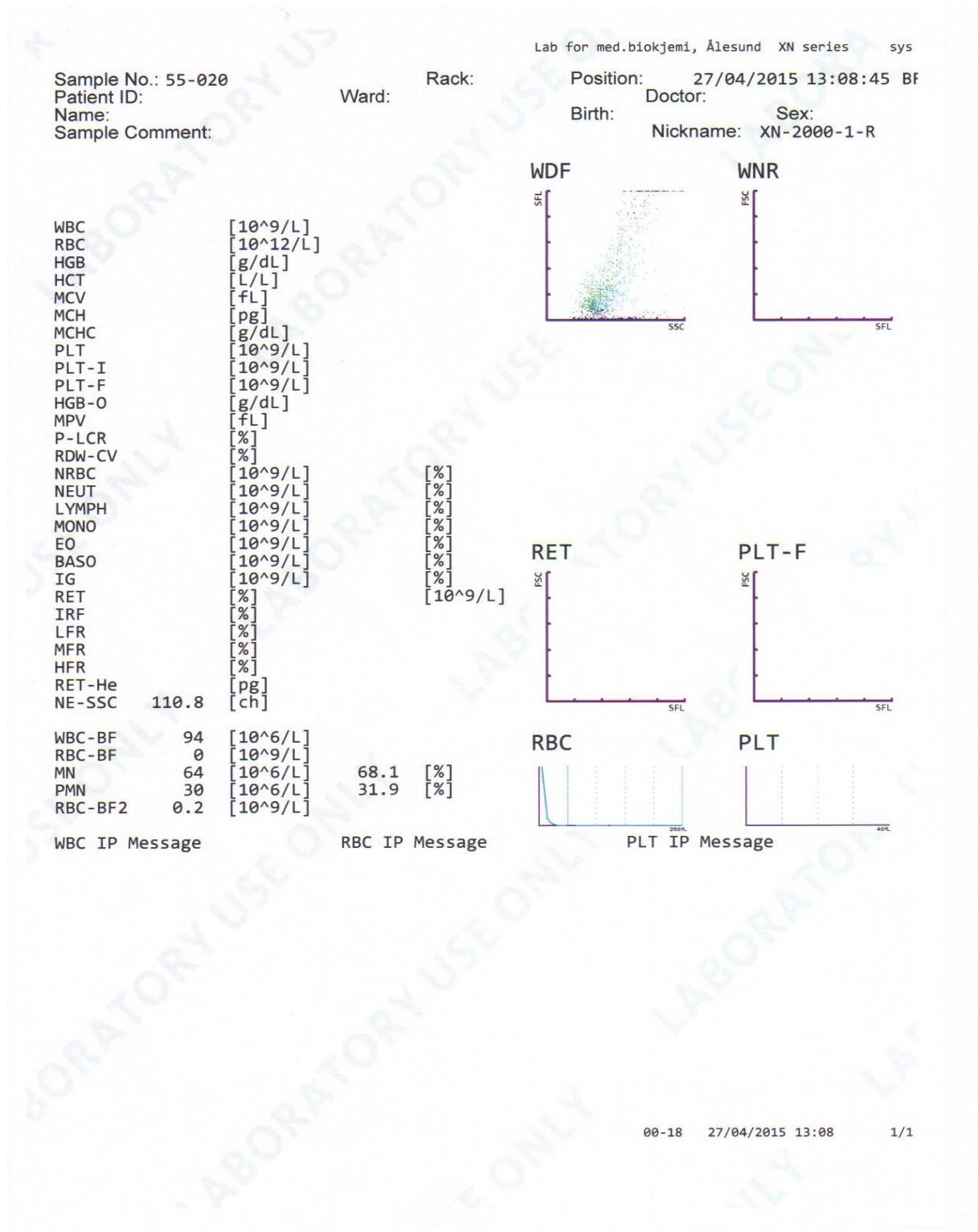
kroppsvæskemodus.



WBC-BF: Leukocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

RBC-BF2: Erytrocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 16: Analysering nr. 20 presisjonsanalysen på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.



WBC-BF: Leukocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

RBC-BF2: Erytrocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 17: Bakgrunnssjekk i presisjonsanalysen på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Lab for med.biokjemi, Ålesund XN series sys

Sample No.: BACKGROUNDCHECK Rack: Position: 27/04/2015 13:10:52 BF
 Patient ID: Ward: Name: Doctor:
 Birth: Sex:
 Sample Comment: Nickname: XN-2000-1-R

WBC	[10 ⁹ /L]		
RBC	[10 ¹² /L]		
HGB	[g/dL]		
HCT	[L/L]		
MCV	[fL]		
MCH	[pg]		
MCHC	[g/dL]		
PLT	[10 ⁹ /L]		
PLT-I	[10 ⁹ /L]		
PLT-F	[10 ⁹ /L]		
HGB-O	[g/dL]		
MPV	[fL]		
P-LCR	[%]		
RDW-CV	[%]		
NRBC	[10 ⁹ /L]	[%]	
NEUT	[10 ⁹ /L]	[%]	
LYMPH	[10 ⁹ /L]	[%]	
MONO	[10 ⁹ /L]	[%]	
EO	[10 ⁹ /L]	[%]	
BASO	[10 ⁹ /L]	[%]	
IG	[10 ⁹ /L]	[%]	
RET	[%]	[10 ⁹ /L]	
IRF	[%]		
LFR	[%]		
MFR	[%]		
HFR	[%]		
RET-He	[pg]		
NE-SSC	128.0 [ch]		
WBC-BF	0 [10 ⁶ /L]		
RBC-BF	0 [10 ⁹ /L]		
MN	0 [10 ⁶ /L]	----	[%]
PMN	0 [10 ⁶ /L]	----	[%]
RBC-BF2	0.0 [10 ⁹ /L]		

WBC IP Message RBC IP Message

WDF

WNR

RET

PLT-F

RBC

PLT

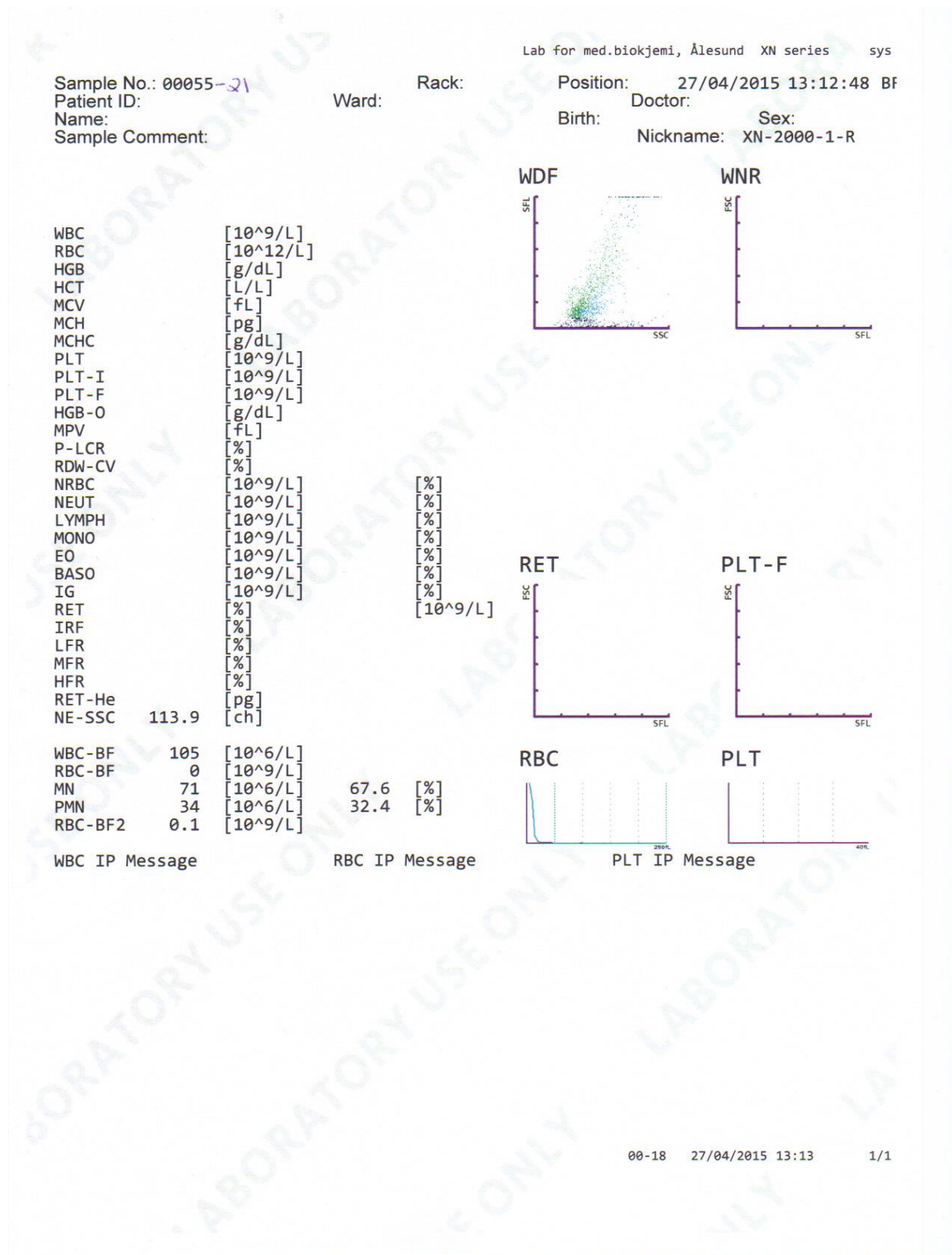
PLT IP Message

WBC-BF: Leukocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

RBC-BF2: Erytrocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 18: Analysering nr. 21 i presisjonsanalysen på Sysmex XN-2000

kroppsvæskemodus.



WBC-BF: Leukocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

RBC-BF2: Erytrocytter analysert på Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus.

Vedlegg 19: Resultat og innledende utregninger fra presisjonsanalysen for erythrocytter.

Intraseriell presisjon erythrocytter:			
Sysmex XN-2000 kroppsvæskemodus er her forkortet til XN-2000 BF-mode.			
Prøve nr	XN-2000 BF-mode, [x 10⁹/L]		
1	0,1		
2	0,1		
3	0,1		
4	0		
5	0,1		
6	0,2		
7	0,1		
8	0,1		
9	0,1		
10	0		
11	0,1		
12	0,1		
13	0,2		
14	0		
15	0,1		
16	0		
17	0,1		
18	0,1		
19	0,2		
20	0,2		
Innledende utregninger for erythrocytter, [x 10⁹/L]:			
<i>Gjennomsnitt:</i>			
0,10000			
<i>Standardavvik :</i>			
0,064889			

Vedlegg 20: Resultat og innledende utregninger fra presisjonsanalysen for trombocytter.

Intraseriell presisjon trombocytter:		
Trombocytter analysert med impedans er forkortet til PLT-I.		
Prøve nr	XN-2000 PLT-I, [x 10⁹/L], Y	Sapphire, [x 10⁹/L], X
1	5	8,17
2	5	6,36
3	5	6,41
4	5	8,22
5	5	6,27
6	4	6,33
7	5	8,28
8	7	6,43
9	6	6,61
10	5	6,41
11	5	6,47
12	6	8,39
13	6	8,09
14	6	6,16
15	5	8,91
16	5	6,48
17	6	8,7
18	6	5,87
19	7	8,58
20	6	5,93
Innledende utregninger for trombocytter, [x 10⁹/L]:		
	Gjennomsnitt, \bar{Y}:	Gjennomsnitt, \bar{X}:
	5,500	7,154
	Standardavvik, s_Y:	Standardavvik, s_X:
	0,760886	1,086338

Vedlegg 22: Resultater fra «Control level 1» på Sysmex XN-2000 fullblodsmodus.

