NTNU
Kunnskap for en bedre verden

Bacheloroppgave

BI301305 Bacheloroppgave

Kandidatnummer 616, 603 og 607

Totalt antall sider inkludert forsiden: 69

Ålesund 01.06.2016

NTNU
Kunnskap for en bedre verden

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.**	☒
2.	**Jeg/vi erklærer videre at denne besvarelsen:** • 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.	☒
3.	**Jeg/vi er kjent med at brudd på ovennevnte er å betrakte som fusk og kan medføre annullering av eksamen og utestengelse fra universiteter og høgskoler i Norge, jf. Universitets- og høgskoleloven §§4-7 og 4-8 og Forskrift om eksamen §§14 og 15.**	☒
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**	☒
5.	**Jeg/vi er kjent med at høgskolen vil behandle alle saker hvor det forligger mistanke om fusk etter høgskolens studieforskrift §31**	☒
6.	**Jeg/vi har satt oss inn i regler og retningslinjer i bruk av kilder og referanser på biblioteket sine nettsider**	☒

Publiseringsavtale

Studiepoeng: 15

Veileder:
Faglig veileder førsteamanuensis Anne Synnøve Røsvik ved NTNU Ålesund.
Praktisk veileder Linda Myklebust og fagbioingeniør Rigmor Søvik ved Ålesund Sykehus avdeling for medisinsk biokjemi.

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 HiM med forfatter(ne)s godkjennelse.
Oppgaver som er unntatt offentlighet eller båndlagt vil ikke bli publisert.

Jeg/vi gir herved NTNU 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: 01.06.2016

Forord

Denne bacheloroppgaven ble utført av tre bioingeniørstudenter ved NTNU campus Ålesund, våren 2016. Oppgaven handler om preanalytiske variabler ved analysering av hematologiske prøver. Den praktiske delen ble utført på analysemaskinen Sysmex XN-1000, på kreftavdelingen ved Ålesund sykehus.

Vi vil rette en stor takk til bioingeniørene ved kreftavdelingen for at vi fikk utføre det praktiske arbeidet på laben. Takk til praktiske veiledere, Linda Myklebust og fagbioingeniør Rigmor Søvik, for veiledning under hele det praktiske arbeidet på laben.

En stor takk til prosessveileder vår, førsteamanuensis Anne Røsvik, for veiledning gjennom hele arbeidsperioden.

Vi vil rette en stor takk til førsteamanuensis Frede Frisvold og Lars Christian Gansel for veiledning for statistikk-delen av bachelor-oppgaven vår.

Sammendrag

Målet med bacheloroppgaven var å finne ut om hematologiprøvene kan analyseres rett etter prøvetaking, i forhold til å vente 15 minutter som gjøres i dag.
Det praktiske arbeidet foregikk på kreftavdelingen ved Ålesund Sykehus. Vi samlet 60 pasientprøver til studien, og benyttet analysemaskinen Sysmex XN-1000.
Prøvene ble analysert tre ganger, i tillegg til en gang til de som rekvirerte prøven. De ble analysert så fort som mulig innen 5 minutter, etter 15 minutter og en siste gang etter 30 minutter. Etter ønske fra sykehuset analyserte vi parametrene leukocytter, nøytrofile granulocytter og trombocytter målt med impedans og flowcytometri.

Undersøkelsene viste at det ikke var signifikant forskjell på analysesvarene for nøytrofile granulocytter, leukocytter og trombocytter målt med flowcytometri, noe som tilsier at man kan analysere rett etter prøvetaking. For trombocytter målt med impedans oppdaget vi at det var signifikant forskjell på svarene fra de forskjellige analysetidene, og derfor kan man ikke analysere rett etter prøvetaking. Alle som benytter Sysmex XN-1000 vil ha stor nytte av våre funn da de indikerer at det er mulig med raskere analysetid for leukocytter, nøytrofile granulocytter og trombocytter målt med flowcytometri. Det er til stor nytte ved øyeblikkelig hjelp at bioingeniørene vet at de kan analysere med en gang og gi ut pålitelige svar.

Innholdsfortegnelse

Forord **4**

Sammendrag **5**

1 Innledning **9**

1.1 Bakgrunn 9

1.2 Problemstilling 10

1.3 Begrensinger 11

1.4 Oppbygging av oppgaven 11

2 Teori **12**

2.1 Prøvetaking og preanalytiske variabler 12

2.2 Kreft 14

2.2.1 Kreftpasienter og øyeblikkelig hjelp 14

2.2.2 Generelt om kreft 15

2.2.3 Diagnostikk 15

2.2.4 Behandling 16

2.3 Utvalgte parametere 16

2.3.1 Trombocytter/Blodplater (PLT) 17

2.3.2 Leukocytter (WBC) 18

2.3.3 Nøytrofile granulocytter 20

2.4 Sysmex XN-1000 21

2.4.1 Analyseprinsipp Sysmex XN-1000 21

2.4.2 Elektrisk impedans 22

2.4.3 Sheat-flow DC metode 23

2.4.4 Fluorescens flowcytometri 25

2.5 Tidligere Forskning 28

3 Material og metode **29**

3.1 Material 29

3.2 Metode 29

3.2.1 Prøvetaking 29

3.2.2 Fremgangsmåte for Sysmex XN-1000 30

3.3 Matematiske metoder 31

3.3.1 Sentermål 32

3.3.2 Spredningsmål 32
3.3.3 Forventningsverdi 32
3.3.4 Hypotesetest 33
3.3.5 T-test i par 33
3.3.6 Regne-eksempel med pasientverdier fra trombocytter (PLT-F) 34

4 Resultat 35

4.1 Resultater for kontroller og pasientprøvene 36
4.2 Beregninger ved hjelp av statistisk metode for de ulike parameterne 37
4.2.1 Resultat for Trombocytter målt med fluorescens flowcytometri (PLT-F) 37
4.2.2 Resultat for Trombocytter målt med impedans (PLT-I) 38
4.2.3 Sammenligning av PLT-F og PLT-I 40
4.2.4 Resultat for leukocytter 41
4.2.5 Resultat for nøytrofile granulocytter 42

5 Diskusjon 43

5.1 Sammenhengen mellom problemstilling og resultat 43
5.2 Trombocytter 44
5.3 Leukocytter 46
5.4 Nøytrofile Granulocytter 47
5.5 Mulige feilkilder 47
5.6 Styrker med studien 48
5.7 Svakheter med studien 48
5.8 Konklusjon 49
5.9 Forslag til videre studier 49

Vedlegg 1 Tabeller **51**

Vedlegg 2 Figurer **52**

Vedlegg 3 Resultat og differanseverdier for PLT-F **53**

Vedlegg 4 Resultater og differanseverdier for PLT-I **54**

Vedlegg 5 Sammenligning av PLT-F og PLT-I **55**

Vedlegg 6 Resultater og differanseverdier for WBC **56**

Vedlegg 7 Resultater og differanseverdier for nøytrofile granulocytter **57**

Vedlegg 8 Pasientutskrift **58**

Vedlegg 9 Kontroller **59**

Vedlegg 10 Formler brukt i statistisk metode **62**

Vedlegg 11 Kvantiltabell for t-fordeling **63**

Vedlegg 12 Utstyr **64**

Vedlegg 13 Reagenser **65**

Vedlegg 14 Analysemodus på Sysmex XN-1000 **66**

Referanseliste **68**

1 Innledning

I løpet av bioingeniørstudiet har det vært stort fokus på preanalytiske variabler og korrekt prøvetaking etter gjeldende prosedyre.
Analysesvarene må være mest mulig nøyaktige og gjenspeile de faktiske forhold med pasienten.
I dag står hematologiprøvene i 15 minutter før analysering, og på bakgrunn av dette ønsker vi å undersøke hvilken betydning det har for prøvesvarene om disse prøvene analyseres rett etter prøvetaking. Vi blir engasjert over muligheten til å bidra med kunnskap som kan resultere i raskere analysesvar for pasientene.

Det praktiske arbeidet foregikk på kreftlaboratoriet ved Ålesund sykehus. Sysmex XN-1000 er analysemaskinen på kreftlaboratoriet, og ble benyttet til vår studie.

1.1 Bakgrunn

Sykehuset i Ålesund ønsket å finne ut om det blir riktige prøvesvar ved raskere analysering, vi har i samarbeid mellom skolen og sykehuset utarbeidet problemstillingen vår for å kunne bidra til ønsket informasjon på området.

I dag er det tidskrevende for de ansatte å passe på at prøvene står i minst 15 minutter før analysering. Dette kan føre til mindre effektiv arbeidsdag for bioingeniørene og lenger ventetid for pasientene. Det er derfor viktig å finne ut om denne tidsbruken er nødvendig.

Kreftpasienter er en pasientgruppe som kan ha god nytte av raskere analysesvar siden de fleste prøvene fra denne pasientgruppen er hasteprøver/ø-hjelps prøver.

Vi har fått opplyst at det tidligere har blitt analysert på maskinene Cell Dyn og Advia. Da ventet de 15 minutter mellom prøvetaking og analysering. Sykehuset byttet ut maskinene med Sysmex XN-1000, og fortsatte med den faste ventetiden på 15 minutter før analysering. De har i etterkant reflektert over om det er nødvendig å fortsette med 15 minutters ventetid på den nye maskinen og dette ønsker de å få klarhet i ved denne bacheloroppgaven.

Sysmex er et eget firma som har anbefalt alle forbrukere å la prøvene vente litt før analysering. Anbefalingen gir ikke noe konkret tidspunkt for ventetid. Vi har kontaktet Sysmex Norge og spurt om de har gjort tidligere studier om preanalytiske variabler på Sysmex XN-1000. De har ikke utført noen lignende studie tidligere på deres maskiner.

Sykehuset har heller ikke gjort en slik studie tidligere på Sysmex XN-1000. Vi fant heller ingen litteratur som dreide seg om dette konkrete studiet på Sysmex XN-1000.

På grunn av viktigheten av korrekte og raske prøvesvar for pasientene, og på bakgrunn av at det ikke har blitt gjort tidligere studie, fikk vi utdelt denne studien som vår bachelor-oppgave. Bioingeniørene ved Ålesund sykehus ønsker å eliminere ventetiden slik at analysene blir så effektive som mulig. De ønsker en forskning på hvor mye ventetid som kan elimineres uten at prøvesvarene blir påvirket.

1.2 Problemstilling

Vi har formulert følgende problemstilling:

I hvilken grad blir prøvesvarene påvirket av å bli analysert rett etter prøvetaking?

For å svare på problemstillingen skal vi analysere 60 pasientprøver rett etter prøvetaking og innen 5 minutter. I dag står prøvene på benk i 15 minutter før analysering. Vi vil sammenligne analysesvarene ved øyeblikkelig analysering mot de tilsvarende analysesvarene etter 15 minutters ventetid. For å styrke studien har vi valgt å analysere de samme prøvene etter 30 minutter for å kunne sammenligne opp mot disse også. Vi antar at de prøvesvarene som foreligger etter 15 og 30 minutters ventetid er sanne.

1.3 Begrensinger

Oppgaven vår er basert på å sammenligne hematologiske prøvesvar ved gitte tidsintervaller. Vi velger å begrense oss til én pasientgruppe, kreftpasienter. Studien begrenses også til kun én analysemaskin, Sysmex XN-1000. Etter ønske fra sykehuset, har vi ytterligere begrenset oss til følgende parametere: Trombocytter, leukocytter og nøytrofile granulocytter.
På grunn av tiden vi har til rådighet, har vi begrenset oss til 60 deltakere etter anbefaling fra veiledere.

1.4 Oppbygging av oppgaven

Bacheloroppgavens oppbygging følger IMROD-modellen. IMROD-modellen består av innledning, material og metode, resultat og diskusjon.

2 Teori

I teorien har vi valgt å skrive om preanalytiske variabler, prøvetaking, kreft, utvalgte parametere og analyseprinsippene for Sysmex XN-1000. Blodprøvetaking ble utført av bioingeniørene etter sykehusets prosedyrer, og det har vært en relevant utførelse til vårt studie. Preanalytiske variabler blir nevnt fordi prøvene kan påvirkes av ulike faktorer til enhver tid. Hvordan prøvesvarene kan påvirkes av de ulike faktorene er viktig å nevne.

Pasientgruppen vi har valgt å begrense oss til og som har deltatt i vårt studie, er kreftpasienter. Teori om kreftpasienter og om kreft nevnes i denne forbindelsen. Vi har valgt å skrive teori om de utvalgte parameterne som sykehuset ønsket av vi skulle bruke til vårt studie. Vi velger å begrense oss til disse parameterne, uten å fokusere på de andre blodcellene.
Tilslutt ønsker vi å informere om de ulike analyseprinsippene som Sysmex XN-1000 benytter for de utvalgte parameterne. Dermed nevnes teori om elektrisk impedans, sheat flow DC-metode og fluorescens flowcytometri.

2.1 Prøvetaking og preanalytiske variabler

Blodprøvetakingen i forbindelse med vårt studie, ble utført av bioingeniørene etter gjeldende prosedyre for blodprøvetaking ved Ålesund Sykehus. Ved henvendelse til Ålesund Sykehus, kan prosedyren fremskaffes.

Preanalytiske variabler er ulike faktorer som kan påvirke prøven fra den er rekvirert til selve analysen er utført. Det finnes forskjellige faktorer som kan gi unøyaktig prøvesvar, som i verste tilfelle kan gi feil diagnose til pasienten. Alle laboratorier burde ha oppdaterte prosedyrer på kvalitetssikring for å redusere muligheten for preanalytiske feil. Oppdages det unormale prøvesvar på et sykehus og en mistenker preanalytiske feil, blir det vanligvis rekvirert en ny prøve.
Det er mange faktorer som kan påvirke prøvesvarene: [1 2]

- Identifisering av pasient og merking av prøvene

- Hygiene
- Prøvetaking:
    - Kroppsstilling,
    - Langvarig stase
    - Rekkefølge av glass
- Stress
- Hvordan prøven blir behandlet:
    - Tid, holdbarheten til prøven og tiden det tar før prøven stabiliserer seg i prøveglasset.
    - Temperatur
    - Lys
    - Sentrifugering.
    - Tilsetningsstoffene i prøveglassene, for eksempel EDTA`s innvirkning på cellers morfologi. Trombocytter som i utgangspunktet er elliptiske vil sfæres av EDTA og få en litt annen størrelse.[3]
- Interferens:
    - Hemolyse
    - Stasebruk
    - Lipemi
- Biologiske variabler:
    - Hormonelle svingninger
    - Svangerskap
    - Diett
    - Medikament

2.2 Kreft

Blodprøver kan være et hjelpemiddel for å utrede kreft, men flere analysemetoder bør gjennomføres for å sette diagnose.
I dette kapittelet vil vi presentere teori om pasientgruppen som har bidratt til vårt studie, kreftpasienter. Vi omtaler pasientgruppen først, etterfulgt av teori om sykdommen kreft. I forbindelse med kreft, er det viktig med rask diagnostisering og behandling. Ulike metoder for kreftdiagnostikk og behandlingsmetoder blir dermed nevnt videre i teksten. For at rask diagnostisering og behandling skal bli en realitet, må prøvene analyseres snarest og ventetiden må reduseres.

2.2.1 Kreftpasienter og øyeblikkelig hjelp

Kreftpasienter tilhører en gruppe som kalles ø-hjelpspasienter og kan beskrives på følgende måte:

«*En pasient trenger øyeblikkelig hjelp hvis vedkommende er i en tilstand eller situasjon der utredning eller behandling er påtrengende nødvendig.*
Tilstanden behøver ikke være kritisk eller livstruende, men pasienten har behov for utredning eller behandling uten unødvendig venting.».[4]

Sykehusene har et system der prøveglassene for ø-hjelppasienter merkes «haster». «Haster» - prøvene skal prioriteres i forbindelse med analysering. Prøvesvarene kan gi en indikasjon på hvilken behandlingsmetode som er aktuell for pasientens kreftdiagnose. Raske tilbakemeldinger på prøvesvar kan gi rask behandling, der det i enkelte tilfeller kan være avgjørende for overlevelse. Dermed er eliminering av ventetid og forsinkelser ved analysene viktig. Dette gjelder pasientgrupper med mistanke om kreft, og for pasientgrupper der analysesvarene indikerer kreft. Ventetiden kan også være en psykisk belastning for pasientene, siden de er uvitende om eventuell diagnostisering eller utredning av kreft.

Korrekte prøvesvar er også en svært viktig faktor for ø-hjelpspasientene. Konsekvensene kan være alvorlige for pasientene dersom disse er ukorrekte. Eksempel på eventuell konsekvens kan være at de friske kan få falske positive svar. Dette kan føre til unødvendig behandling og belastning for pasienten.

2.2.2 Generelt om kreft

Kreftsykdommer kan karakteriseres ved ukontrollert celledeling hos unormale celler. Årsaken til dette kan for eksempel være endring i DNA-ets basesekvens, en såkalt mutasjon.[5]
Da er den normale vekstkontrollen ofte skadet, og fører til ustyrlig celledeling av maligne celler. Mutasjonen forstyrrer det genetiske materiale, noe som kan påvirke genmaterialet til den neste generasjonen. Det finnes også andre faktorer enn mutasjon i det genetiske materialet, som kan ha en kreftfremkallende effekt. Eksempler kreftfremkallende faktorer er røyking og soling.
Kreftsykdommens omfang kan variere. Det kan oppstå store eller små maligne endringer i kroppen i forhold til hvordan det var normalt. I alvorlige tilfeller kan kreft ramme hele organ og/eller organsystemer. Det er da en komplisert krefttype, der behandlingsmetoder ofte kan være vanskelig å utføre. I slike tilfeller kan kreft føre til dødelighet. En gruppe unormale celler kan danne maligne (ondartet) tumorer, og metastasere til andre plasser i kroppen. Det finnes også benigne (godartet) tumorer, som karakteriseres ved at de ikke kan metastasere til andre plasser i kroppen.[6]

2.2.3 Diagnostikk

Det finnes ulike metoder for kreftdiagnostikk. Metoden tilpasses til den krefttypen det er mistanke om.
Bildediagnostikk kan omfatte flere metoder, som for eksempel CT, MR, ultralyd, røntgen og nukleærmedisinske undersøkelser. CT, MR, ultralyd og røntgen er metoder hvor ulike bilder blir tatt av ønsket område i kroppen. Disse typene er spesialisert på forskjellige deler av

kroppen. For eksempel gir MR snittbilder av for eksempel hjernen. Nukleærmedisinsk metode baserer seg på å injisere et radioaktivt stoff i kroppen og hvor konsentrasjon av stoffet i tumoren måles. En dataskjerm viser områder i kroppen der det finnes høye og lave konsentrasjoner av radioaktivt stoff som ønskes og påvises. [7], [6]
Screening en diagnostisk metode der flere undersøkelser, rettet mot forskjellige krefttyper, utføres.
Blodprøver, urinprøver og biopsier gir oss informasjon om cellebildet i kroppen, og konsentrasjoner av ulike stoffer i kroppen. Andre diagnostikkmetoder er spesialisert for bestemte krefttyper, for eksempel gastroskopi for utredning av kreft i magesekken. [7,6]

2.2.4 Behandling

Det finnes ulike behandlingsmetoder mot kreft. Det er vanlig å kombinere flere behandlingsmetoder for å øke sannsynligheten for å bekjempe sykdommen. Noen pasienter vil merke bivirkninger som følge av behandlingsmetodene.
Medikamenter og hormoner er eksempler på behandlingsmetoder, der målet er å tilføre kroppen stoffer som virker mot kreftceller. For eksempel kan cytostatika tilføres venøst til kroppen, der hensikten er å blokkere celledelingen til de maligne cellene.[6]

Strålebehandling er en behandlingsmetode, der prinsippet baserer seg på ioniserende stråler, som skal krympe eller destruere maligne svulster. Denne behandlingsmetoden er svært vanlig og ideell å utføre før en operasjon, fordi resultatet av strålebehandlingen kan være med på å avgjøre hvor omfattende en eventuell operasjonen vil bli. Det vurderes for eksempel om lymfeknuter bør fjernes. Dersom man har klart å drepe en god del kreftceller med strålebehandling før operasjon, kan dette eventuelt føre til en mindre komplisert operasjon. [6]

2.3 Utvalgte parametere

De utvalgte parameterne for studiet er trombocytter, leukocytter og nøytrofile granulocytter.

2.3.1 Trombocytter

Blodet inneholder normalt 150 - 400 x 10^9 plater/L med diameter 2,5µm. Blodplater har ikke kjerne. Blodplatene har viktige funksjoner i forbindelse med å stanse blødning, da de påvirker koagulasjonen og blodkarets kontraksjonsevne. Blodplatene består av cellefragmenter fra megakaryocytter i beinmargen. [8]
Blodplater inneholder rikelig med cytoplasmatiske enzymer og celleorganeller. Det er de som sørger for produksjonen av ATP, og for syntesen av mange biologisk viktige substanser, som blir lagret i blodplatenes tallrike sekretoriske vesikler. [8]

Trombocyttose er en tilstand der kroppen produserer for mye trombocytter, og det spiller en stor rolle i dannelse av blodpropp. Denne tilstanden kan gi uttrykk for en annen underliggende sykdom eller det kan skyldes en produksjon av trombocytter fra beinmargen som er ukontrollert. [9]

Trombocytopeni er en tilstand hvor det for få trombocytter i kroppen. Når antallet trombocytter synker, vil ikke kroppen være i stand til å danne blodpropper, og en vil da være ute av stand til å kontrollere blødningen. Etter små skader kan blåflekker og blødninger oppstå. [10]

Til vårt studie ble trombocyttene målt med to ulike metoder. PLT-I er måling av trombocytter med impedansmetoden, og PLT-F er måling av trombocytter med fluorescens flowcytometri. Metodene beskrives i avsnitt 2.4.2 elektrisk impedans og 2.4.4 fluorescens flowcytometri. Senere i teksten vil forkortelsene PLT-I og PLT-F benyttes, og vi skal sammenligne de to analysemetodene for måling av trombocytter.

Til måling av trombocytter på Sysmex XN-1000 brukes prøverør med EDTA.
EDTA har en innvirkning på cellers morfologi. Trombocytter som i utgangspunktet er elliptiske vil sfæres av EDTA og få en litt annen størrelse. Denne prosessen skjer når blodprøven blir tatt og blandes i prøveglasset. Det tar litt tid før prøvematerialet stabiliserer seg.[3]

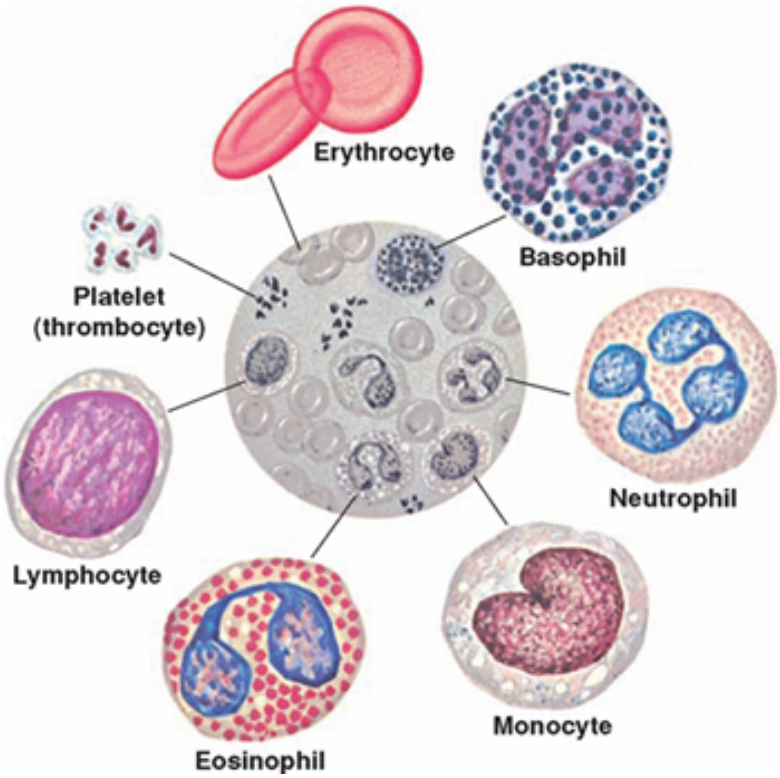
2.3.2 Leukocytter

Leukocytter er en gruppe celler som utfører viktige funksjoner i forbindelse med immunforsvaret vårt. Det finnes flere ulike typer leukocytter, og det er vanlig å dele de inn i to hovedgrupper:

1. **Segmentkjernede granulocytter med granulert cytoplasma og en lappedelt kjerne.**
    - Nøytrofile granulocytter
    - Eosinofile granulocytter
    - Basofile granulocytter
2. **Mononukleære celler**
    - Monocytter
    - Lymfocytter: b-lymfocytter, t-lymfocytter og naturlige dreperceller [11]

Nøytrofile granulocytter, eosinofile granulocytter og basofile granulocytter utgjør den første hovedgruppen som kalles granulocytter. De kjennetegnes ved segmentert kjerne (lappedelt) eller stavformet kjerne, og cytoplasma inneholder granula. Ved farging av preparat tar granula opp ulike pigmenter, noe som fører til at hver type granulocytt får en karakteristisk cytoplasma-farge. Det vil på denne måten bli enklere å utføre differensialtelling av cellene manuelt i mikroskop. *Se figur 1* for illustrasjon av cytoplasmafargene til granulocyttene. [11]

Monocytter og lymfocytter tilhører hovedgruppen mononukleære celler. De har også viktige funksjoner i immunforsvaret, i likhet med granulocyttene. B-lymfocyttene kan omdannes til plasmaceller, som først og fremst er ansvarlig for produksjon av antistoffer. T-lymfocyttene er ansvarlig for cellebundet immunitet og regulering av immunforsvaret. Naturlige dreperceller frigjør cytotoksiner som kan drepe ulike målceller, for eksempel kreftceller. Monocyttene er fagocytterende celler, og bidrar til ødeleggelse av patogener i kroppen. Monocyttene kan også bevege seg ut av blodbanen og over til ulike vev i kroppen. De kalles da for makrofager. [11]



Figur 1 *Viser en oversikt over de viktigste blodkomponentene* [12]

Forholdet mellom ulike hvite blodceller og aldersstadiet til disse er en viktig del av diagnostikken. Differensialtelling er en tellemetode som teller antall leukocytter og kvantiterer antallet av de forskjellige typene leukocytter. *I tabell 1* finner man referanseområdet for hver type leukocytt.

Høye verdier for leukocytter kan indikere infeksjon eller betennelse. Det kan også indikere leukemi dersom verdiene er meget høye eller lave.[13]

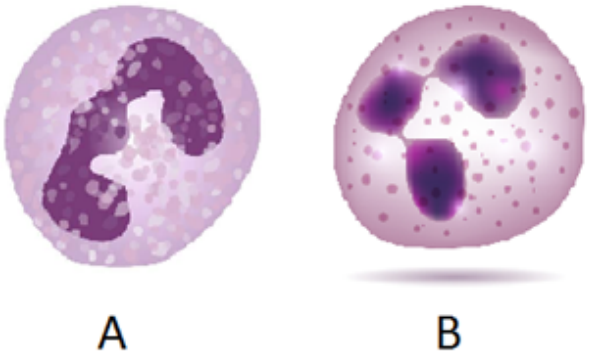
Tabell 1 *Viser referanseområdet til de forskjellige leukocyttene, uttrykt i tallverdier og prosentverdier.* [1]

Celletype	**%**	**Referanseområdet**
Nøytrofile granulocytter	35-77	1,5 - 8,1 x 10^9/L
Lymfocytter	24-44	1,0 - 4,4 x 10^9/L
Monocytter	1-10	0,1 - 1,0 x 10^9/L
Eosinofile granulocytter	0-4	0,0 - 0,4 x 10^9/L
Basofile granulocytter	0-2	0,0 - 0,2 x 10^9/L

Sykehuset valgte nøytrofile granulocytter som en av parameterene til vårt studie, og vi velger dermed å vektlegge denne typen leukocytt. Kun nøytrofile granulocytter nevnes i teksten nedenfor.

2.3.3 Nøytrofile granulocytter

Nøytrofile granulocytter utgjør omtrent 50-75% av det totale antallet for leukocytter i blodbanen. Nøytrofile tilhører gruppen granulocytter, i likhet med eosinofile og basofile.[12] Funksjonene til de nøytrofile granulocyttene utøves i forbindelse med vårt immunforsvar. De flytter seg til områder der patogener prøver å forårsake betennelse og infeksjoner. De fagocytterende evnene til nøytrofile granulocytter er til god hjelp ved bekjempelse av patogener. [14]
De nøytrofile granulocyttene dannes i beinmargen. Cytostatika behandling som hemmer beinmargen eller maligne prosesser i beinmargen kan gi lave verdier for nøytrofile granulocytter. Høye verdier av nøytrofile granulocytter kan være en indikasjon på maligne blodsykdommer. [14]



[15] [16]

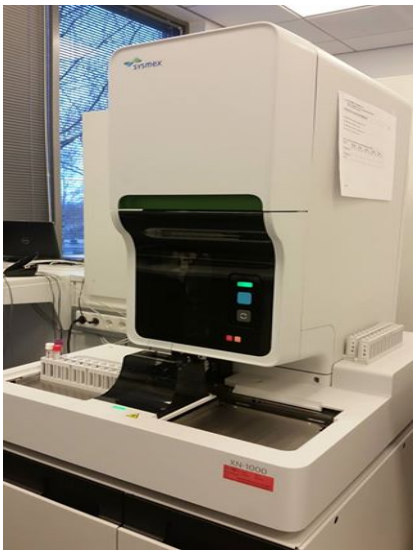
Figur 2 *Viser to nøytrofile granulocytter, hvor bildet A er en stavformet kjerne, og bildet B viser en segmentert kjerne.*

Nøytrofile granulocytter med stavformet kjerne er umodne nøytrofile, *se figur 2A*.
Ved flere umodne nøytrofile i blodbanen enn normalt har vi et venstre skifte, og det kan måles ved differensialtelling på Sysmex XN-1000. Venstre skifte ser vi ofte ved betennelsesreaksjoner.

2.4 Sysmex XN-1000

Sysmex XN-1000 er navnet på analysemaskinen som ble brukt til de hematologiske analysene vi utførte i forbindelse med denne bacheloroppgaven.

Analysemaskinen kan analysere 44 ulike parametere og har en kapasitet på 100 prøver per time. Selve analysemaskinen har to knapper, *se figur 3*. Den blå er startknappen og den grå knappen er for å endre analysemodus. Se *vedlegg 14* for mer detaljer om analysemodus som benyttes på maskinen. [17]



Figur 3 *Viser analysemaskinen Sysmex XN-1000, som vi analyserte prøvene våre på***.**

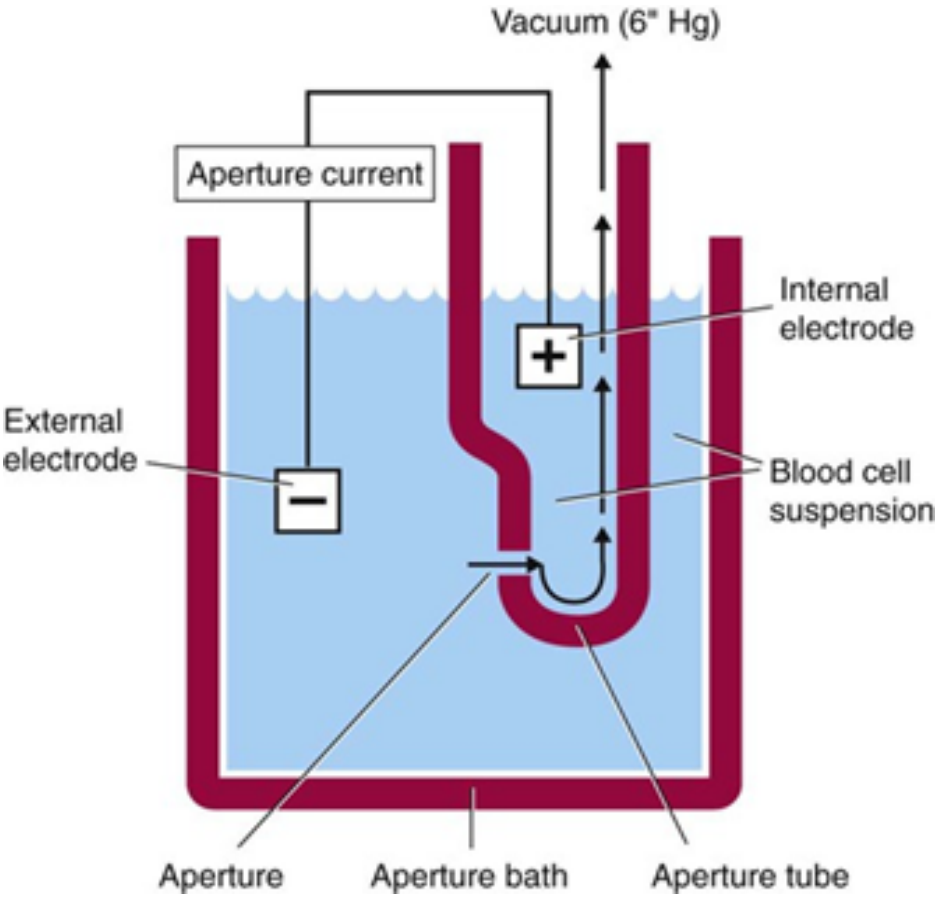
2.4.1 Analyseprinsipp Sysmex XN-1000

Her har vi valgt å redegjøre for de analyseprinsippene som er gjeldene for de parameterne vi har valgt ut:

- Elektrisk impedans
- Sheat flow DC-metode
- Fluorescens flowcytometri

2.4.2 Elektrisk impedans

Elektrisk impedans er en metode for celletelling som benyttes i de fleste hematologiske analyser. Impedansmetode for celletelling baserer seg på et prinsipp som blir kalt for Coulter-prinsippet. Ved bruk av dette prinsippet er det mulig å måle cellevolumet og telle antallet celler i en prøve. [18]



Figur 4 *Viser en oversikt over impedanssystemet.* [13]

Impedanssystemet er illustrert i *figur 4*. *Figur 4* viser to elektroder i et apertur-kar, som kalles for ytre og indre elektrode. De befinner seg på hver sin side av kapillæråpningen. Altså er den ytre elektroden plassert på utsiden av kapillæråpningen, mens den indre elektroden er plassert på innsiden av kapillæråpningen. Pilene i *figur 4* illustrerer hvilken vei cellene vil bevege seg gjennom impedanssystemet. Cellene beveger seg fra den ytre elektroden, gjennom kapillæråpningen, og til den indre elektroden.[18]

Coulter-prinsippet

En konstant strøm settes til mellom den ytre og den indre elektroden. Cellene i prøven er dårlige til å lede strøm på grunn av den isolerende effekten til cellemembranen. Prøven fortynnes dermed før analysering med en elektrolytt-væske, for eksempel saltvann som leder elektrisk strøm godt. Fortynningen reduserer celleantallet i prøven, slik at det blir lettere å få én og én celle gjennom kapillæråpningen. Maskinens vurdering av cellene vil få bedre kvalitet dersom én og én celle passerer kapillæråpningen av gangen. [18 19 20]

Før analyseringen måles spenningen i strømmen mellom elektrodene. Én og én celle beveger seg gjennom kapillæråpningen, og fører til økt motstanden i strømkretsen når de passerer kapillæråpningen. På grunn av økt motstanden må spenningen økes tilsvarende for å holde strømmen konstant. Spennings økningen registreres som en puls, og indikerer når en celle har passert kapillæråpningen og størrelsen til pulsen er proporsjonal med størrelsen til cellen som passerer. De elektriske pulsene registreres i systemet. Antall pulser er proporsjonal med antall celler i pasientprøven som har passert. Dette prinsippet kalles for Coulter-prinsippet. [18 19 20]

Celletelling og beregning av cellevolum kan gjøres ut fra informasjonen man får fra de elektriske pulsene som registreres. Dette fordi antall elektriske pulser tilsvarer antall celler som har passert kapillæråpningen. En liten puls tilsvarer en liten celle, en stor puls tilsvarer en stor celle totalt antall pulser tilsvarer cellevolumet .[18 19 20]

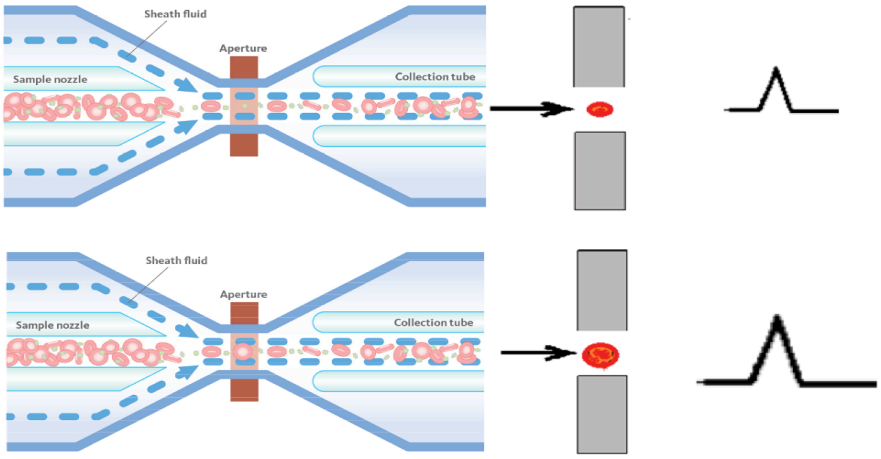
2.4.3 Sheat-flow DC metode

Sheat-flow DC prinsipp bygger på impedans (motstand) med hydrodynamisk fokusering for telling av erytrocytter og trombocytter. Forkortelsen DC står for direct current, som betyr likestrøm, og er en elektrisk strøm som flyter i èn retning med tilnærmet konstant styrke. På hver side av kapillæråpningen er det en elektrode med spenning som gjør at det går strøm gjennom kapillæråpningen, *se figur 5*. Prøven er fortynnet med en elektrolyttvæske kalt Cellpack. Når cellene i prøven passerer kapillæråpningen, vil de kunne måles, siden cellene har større motstand enn elektrolyttvæsken som de fortrenger.[21 22]

Spenningsforskjellen som skapes vil være direkte proporsjonal med cellens størrelse, da større celler vil skape mer motstand enn mindre celler.

På *figur 5* ser vi først en trombocytt som passerer gjennom kapillæråpningen. Den fortrenger mindre væske enn celler som er større (eksempelvis erytrocytter). Det måles en elektrisk puls ut fra motstanden til cellen som passerer, og vi ser at erytrocytten som passerer gir større motstand og puls enn trombocytten.

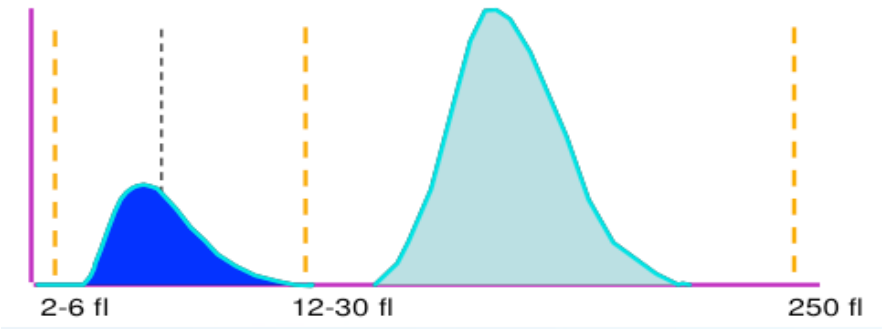
Hensikten med "Sheat fluid" er å sikre hydrodynamisk fokusering slik at cellene passerer enkeltvis ellers kan det oppstå feilkilder ved at for eksempel to små celler passerer samtidig og registreres som en stor.[21 22]



Figur 5 *Illustrasjon av Sheat Flow DC metode.* [22]

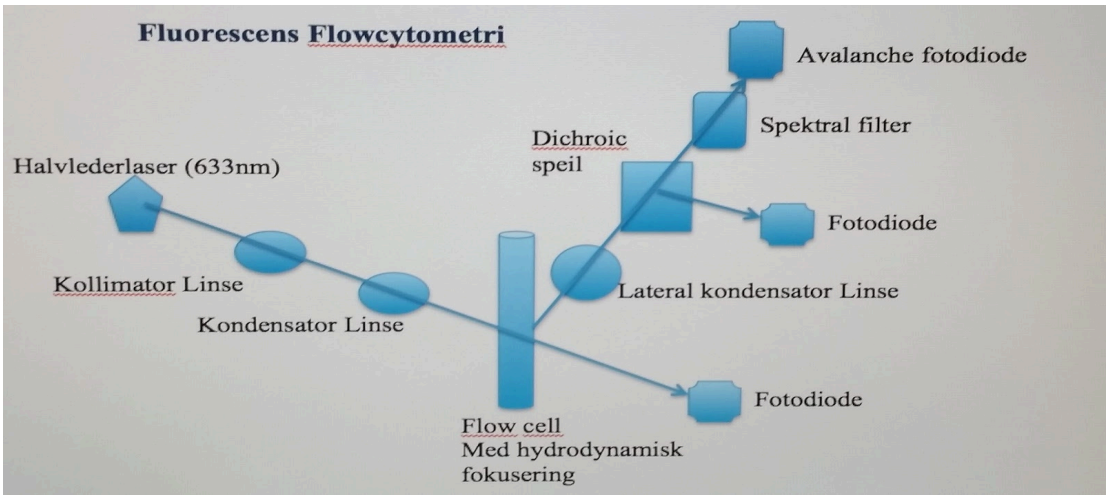
Dette skjer med pasientprøven når det måles med Sheat-flow DC metode:

- Pasient prøven aspireres med kjent volum og fortynnes med Cellpack. (Elektrolyttvæske)
- Pasientprøven presses mot kapillæråpningen gjennom prøverøret.
- Sheat-reagens presses rundt prøverøret og gjennom kapillæråpningen i stor hastighet og fører til at cellene i pasientprøven passerer enkeltvis.
- Ved et kjent pasientvolum vil alle spenningsforskjeller og pulser registreres og omgjøres til antall celler pr/L blod samt presenteres i et histogram med størrelsesfordelingen, *se figur 6.*[21 22]



Figur 6 *Histogram med trombocytter og erytrocytter, Sheat-flow DC metode.* [22]

2.4.4 Fluorescens flowcytometri

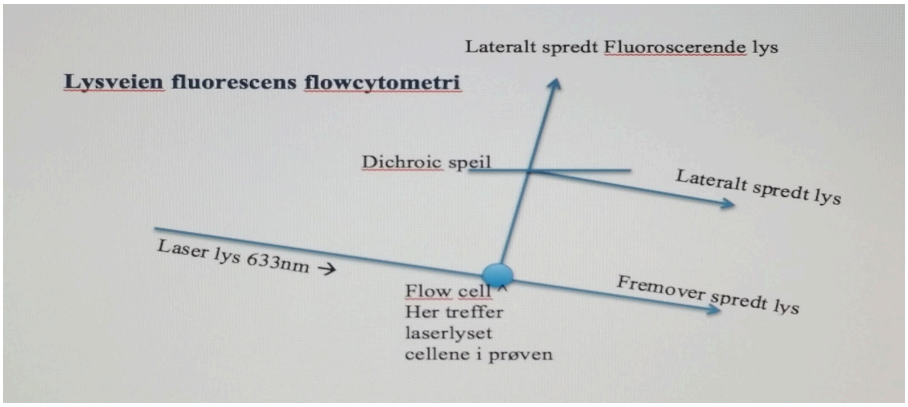


Figur 7 *Oversikt over Fluorescens flowcytometri.*

Fluorescens flowcytometri består av: ***Se figur 7.***

- Halvlederlaser (λ=633nm)
- Kollimator linse
- Kondensator linse x 2
- Dichroic speil
- Spektral speil
- Fotodiode for fremmoverspredt lys
- Fotodiode for lateralt spredt lys
- Avalanche fotodiode for lateralt fluorescrende spredt lys

- Flow cell med Hydrodynamisk fokusering
- Deteksjonssystem [22]



Figur 8 *Viser lysveien i fluorescens flowcytometri.*

Dette skjer med prøven: ***se figur 8.***

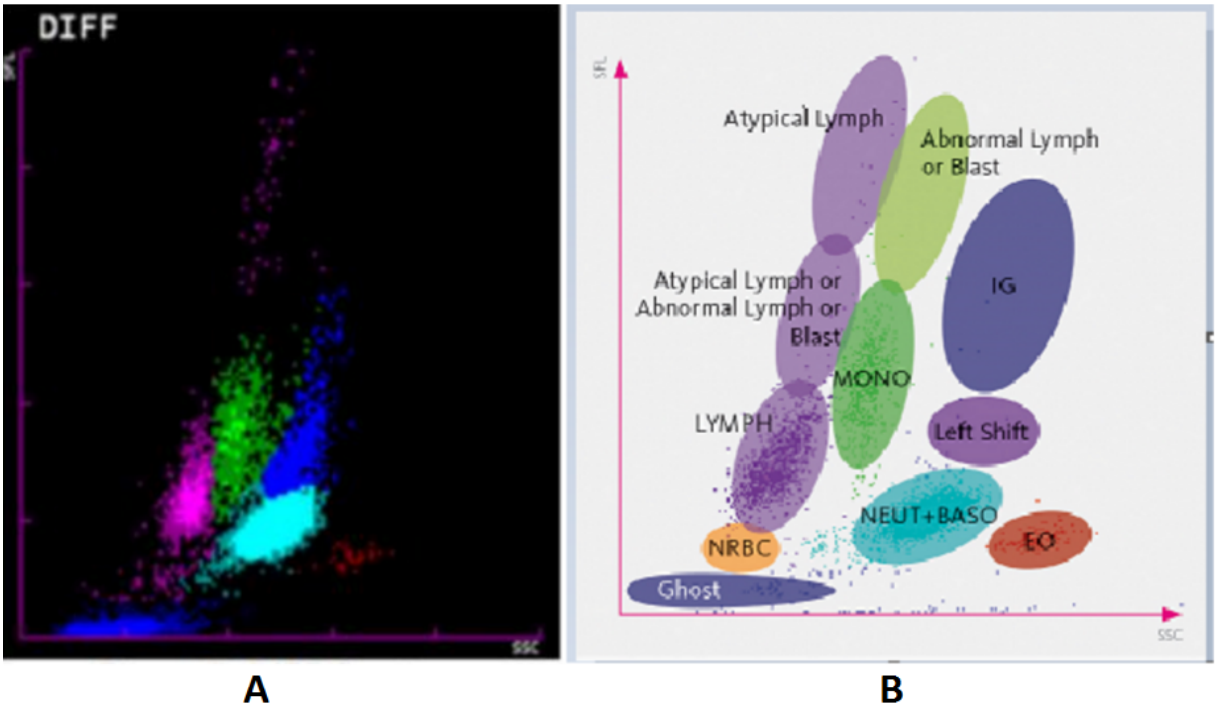
- Injeksjonssystemet på Sysmex XN-1000 suger opp 88µl av Pasientprøven. Fullblod, lukket EDTA rør.
- Blodprøven aspireres, fortynnes og farges med et fluoriserende fargestoff som binder seg til RNA/DNA.
- Prøven blir hydrodynamisk fokusert og ført inn i flowcellene.
- I flowcellen bestråler en halvlederlaser (λ= 633nm) cellene enkeltvis med intens monokromatisk lys.
- Når cellene bestråles blir noe av lyset spredt mens noe av lyset blir absorbert av de fargede bestanddelene i cellen. De vil da fluorescere og sende ut et lys med lengre bølgelengde som spres i alle retninger.
- Lyset som spres fremover og lateralt fanges opp av fotodioder.
- Det fluorescerende lyset som spres lateralt fanges opp av avalanche fotodiode.
- Deteksjonssystemet omdannes lyset som treffer fotodiodene til elektriske pulseringer, slik er det mulig å innhente informasjonen om cellene i prøven. [17]

Informasjonen fluorescens flowcytometri gir om cellene:

- Lateralt fluoroserende lys (avalanche fotodiode) sier noe om hvor mye fargestoff cellene har absorbert, og det fargestoffet bandt seg til RNA/DNA, dermed vet vi hvor mye RNA/DNA hver enkelt celle inneholder.

- Lateralt spredt lys detekterer den intracellulære strukturen. Kjernestørrelse, celleorganeller og granula.
- Fremover spredt lys gir opplysning om cellens størrelse. [17]

Flowcytometeret gir informasjon om antall celler, cellens størrelse og struktur og informasjon om cellens innhold med organeller og mengde av nukleinsyrer (RNA/DNA). Og kan dermed klassifisere og differensiere ulike typer celler. [17]
Resultatet av hver analyse representeres i et scatterplot, *se figur 9A*.



Figur 9 A: *Scatterplot for differensialtelling av leukocytter. B: Tolkning av scatterplot.* [22]

Figur 9A viser et eksempel på plot med differensialtelling på Sysmex XN-1000
Plottet med tilhørende tallmateriale er resultatet av differensial analysen CBC+DIFF på Sysmex XN-1000. Cellepopulasjonene vurderes ut ifra *figur 9B*.

Ved framstilling av både scatterplot og tallverdier får vi informasjon om fordelingen av leukocyttene og modningen til cellene. Denne informasjonen har stor diagnostisk verdi. [21 22]

2.5 Tidligere Forskning

Det har vært en utfordring å finne publisert forskning og studier om hvorfor prøvene må stå på benk i 15 minutter før analysering. Vi kontaktet Sysmex Norge og de hadde ikke kjennskap til relevant studie. Faglig veileder på skolen hadde heller ikke kjennskap til dette. Sykehuset i Ålesund ønsket at vi skulle utføre denne bachelor-oppgaven på bakgrunn av manglende studie med vår problemstilling.
Vi har derfor valgt ut noen andre studier som vi mener kan være relevant for oss.

Vi har tatt med studien «New fluorescent method (PLT-F) on Sysmex XN2000 hematology analyzer achieved higher accuracy in low platelet counting" [23] fra 2013. I studien sammenlignes måling av trombocytter målt med fluorescens flowcytometri, impedans metode og optisk måling. Målingene blir utført på analysemaskinene Sysmex XN-2000 og Sysmex XE-2100. Studien omhandler lave trombocyttverdier under $50x10^9$/L. I denne studien konkluderes det med at PLT-F er en utmerket metode for analysering av lave trombocyttverdier med god nøyaktighet og presisjon.
Vi har tatt med denne studien fordi vi også skal måle trombocytter med fluorescens flowcytometri og for kreftpasienter er det viktig med nøyaktig måling av lave trombocyttverdier.

I det danske studiet «Holdbarhedsundersøgelse af leukocytter til differensialtelling på Sysmex XN-9000» fra 2013 [24] undersøkte de holdbarheten på EDTA-fullblodsprøver. Produsenten av Sysmex XN-9000 hevdet at prøvene kunne stå i romtemperatur opptil 72 timer, og enda gi pålitelige resultater. De benyttet 70 pasientprøver, og valgte parameterne leukocytter og differensialtelling av leukocytter. Prøvene ble analysert innen 2 timer og etter 24, 48 og 72 timer. De brukte den statistiske metoden ANOVA til å finne eventuelle signifikante forskjeller for hvert tidsintervall. Basert på produsentens påstand om at prøvene kan stå opptil 72 timer før analysering, forventes det like svar for de gitte tidsintervallene.
Vi har valgt å ta med denne studien fordi de også ser på hvordan tiden før analysering kan påvirke prøvesvarene. For parameter Leukocytter fikk de signifikant like svar frem til analysering etter 72 timer. For Nøytrofile granulocytter fikk de forskjellige svar for de gitte tidsintervallene. Teorien i denne studien er at morfologien til cellene forandrer seg underveis. [24]

3 Material og metode

Material omhandler utstyret som ble brukt. Metode omhandler fremgangsmåte og den statistisk metoden vi brukte for utregning av resultat.

3.1 Material

Det ble benyttet utstyr til blodprøvetaking som var tilgjengelig på sykehuset. Alle prøvene ble analysert på Sysmex XN-1000. Gjeldende prosedyre for venøs blodprøvetaking ved sykehuset i Ålesund ble fulgt. Vi benyttet kun fulle EDTA`prøverør. For detaljert utstyrsliste se *vedlegg 12 utstyr.*
Det ble i enighet med veiledere bestemt at samtykkeskjema ikke var nødvendig til dette studiet. Dette fordi det ikke var noe ekstra belastning for pasienten. Kun rekvirerte pasientprøver ble tatt, altså ingen ekstra stikk eller ekstra glass. I tillegg er alle opplysninger om pasientene anonymiserte.

3.2 Metode

Vi har valgt en kvantitativ forskningsmetode. Formålet med metoden er å teste om det gir signifikant forskjellige analysesvar, avhengig av tiden prøven står på benk før analysering. Vi skal belyse fremgangsmåte og statistisk metode.

3.2.1 Prøvetaking

- 60 pasientprøver, tilsammen 180 analyser
- Prøvene ble tatt på kreftpoliklinikken og av inneliggende kreftpasienter
- Fullt EDTA prøverør, fullblod analyse på Sysmex XN-1000.
- Hver pasientprøve ble anonymisert og analysert 3 ganger slik:
  - 1. analyse, rett etter prøvetaking, 0-5 minutter

- 2. analyse, 15 minutter etter prøvetaking
- 3. analyse, 30 minutter etter prøvetaking.

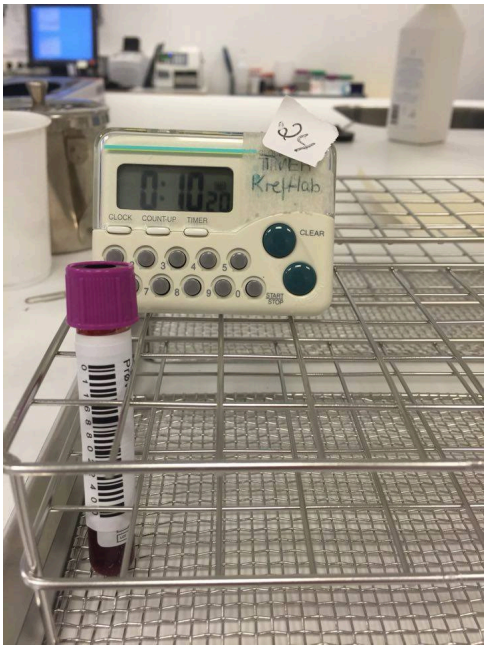
3.2.2 Fremgangsmåte for Sysmex XN-1000

Det kjøres daglige kontrollanalyser på Sysmex XN-1000, på morgenen og formiddagen. Se *vedlegg 9* for kontrollene som ble kjørt i den perioden vi utførte analysene til denne bacheloroppgaven. Vi undersøkte om de gjeldende kontrollene var innenfor akseptområdet før vi startet med våre analyser.
IT support laget 180 etiketter med unike barkoder som vi bestilte analysene våre på.
Vi bestilte CBC+diff og PLT-F som var de analysene vi måtte bestille for å få med de utvalgte parameterne.

Tabell 2: *Oversikt over utvalgte parameter og gjeldende analysemetode*

Utvalgte Parameter	Analysemetode	Analyse kanal
Trombocytter målt med Flowcytometri	Fluorescens flowcytometri	PLT-F
Trombocytter målt med Impedans	Impedans med Sheat flow DC detection mode.	RBC/PLT
Leukocytter	Fluorescens flowcytometri.	WNR
Nøytrofile Granulocytter	Fluorescens flowcytometri, analyse differensialtelling.	WDF

Før prøvene ble analysert festet vi vår etikett over pasientprøven for å anonymisere den. Siden tiden på benk er den avgjørende faktoren for våre analyser, utarbeidet vi et system med stoppeklokke før vi startet analyseringen, *se figur 10*. Stoppeklokkene ble merket med pasientnummer, slik at vi hele tiden hadde kontroll på hvilken stoppeklokke som tilhørte hvilken pasientprøve.



Figur 10: *Pasientprøve i stativ med tilhørende stoppeklokke.*

3.3 Matematiske metoder

Formålet med metoden er å teste om det gir signifikant forskjellige analysesvar, avhengig av tiden prøven står på benk før analysering.
Vi analyserer 60 pasientprøver 3 ganger og sammenligner om analysesvarene i målingene er signifikant forskjellige. Utfordringen med pasientprøvene er at forventningsverdien er ukjent. Fordelen med ulike verdier for pasientene er at vi finner ut om det er samsvar mellom analysesvarene over et stort målområde.

Dette er analysegruppene vi ønsker å sammenligne:
X : T-test i par for differansen mellom 1 og 2 analysering.
Y : T-test i par for differansen mellom 1 og 3 analysering.
Z : T-test i par for differansen mellom 2 og 3 analysering.

Vi velger å sammenligne resultatene for X og Y ved hjelp av tosidig t-test i par.
I dag står prøvene i 15 minutter før analysering. Vi antar derfor at Z gir signifikant like prøvesvar da det i teorien ikke skal være forskjell mellom å analysere etter 15 og 30 minutter.

Dersom X og Y gir signifikant ulike prøvesvar vil vi også teste Z for å bekrefte at det er signifikant like prøvesvar mellom 15 og 30 minutter.

3.3.1 Sentermål

Middelverdi/gjennomsnittsverdi er et sentermål, hvor alle målingene summeres og divideres på antall målinger (n). Se formel 1 i *vedlegg 10*. [25]

3.3.2 Spredningsmål

Spredningsmål er et mål for presisjon, standardavvik og varians er de mest brukte spredningsmålene.
Varians:
Dersom variansen er en kjent størrelse uten usikkerhet brukes symbolet σ^2
Vi bruker et estimat for σ^2. Empirisk varians s^2 er beregnet fra n målinger. Se formel 2 i *vedlegg 10*.
Standardavvik:
Dersom standardavviket er en kjent størrelse uten usikkerhet brukes symbolet σ.
Vi bruker empirisk standardavvik s som et estimat for σ. Se formel 3 i *vedlegg 10* [25]

3.3.3 Forventningsverdi

Forventningsverdien, μ my, er en størrelse uten usikkerhet. [25]

3.3.4 Hypotesetest

En hypotesetest benyttes i dette tilfellet til å svare på om en påstand fra et utvalg er sann eller ikke. Det settes opp to hypoteser, som skal være det motsatte av hverandre. Den ene hypotesen kalles nullhypotesen (H0) og den andre kalles alternativhypotesen (H1).
I en tosidig t-test vil hypotesene formuleres slik:
H0: $\mu = 0$
H1: $\mu \neq 0$
Signifikansnivået er en grenseverdi gitt i prosent, som settes for å vurdere om resultatene fra forsøket er statistisk signifikant. Det er mest vanlig å velge et signifikansnivå på 5 %.[26]

Det beregnes en empirisk tallverdi for målingene (t_{obs}). Se formel 4 i *vedlegg 10.*
t_{obs} skal sammenlignes med en kritisk verdi (t_{krit}). Det kritiske tallet finner man i en tabell ved å finne riktig verdi for α-kvantilen og antall frihetsgrader (m=n-1). Se *vedlegg 10.*
Slik vurderes resultatet:

- Dersom $t_{obs} < t_{krit} \rightarrow$ Vi beholder H0
- Dersom $t_{obs} > t_{krit} \rightarrow$ Vi forkaster H0 [26]

3.3.5 T-test i par

T-test i par er en matematisk metode for sammenligning av middelverdi.
Hypotesene blir: H0: $\mu = 0$ og H1: $\mu \neq 0$
t_{obs}-verdien beregnes etter formel 4 i *vedlegg 10.*
Vi brukte Excel til å regne ut gjennomsnitt og standardavvik.
t_{krit}-verdien leses av i tabellen i *vedlegg 11*. Verdien leses av på 5 % signifikansnivå
Frihetsgrader (m = n-1 = 60-1 = 59 ≈ 60). Hvor N er antall prøver.
$t_{0,025,60} = 2,000$ [26]

3.3.6 Regne-eksempel med pasientverdier fra PLT-F

I dette regneeksempelet har vi tatt et lite utvalg av tallverdiene fordi det blir veldig omfattende å vise med 60 pasientprøver. Her ser vi de 10 første pasientverdiene for PLT-F.
Prøve 1 er analysert etter 0-5 minutter.
Prøve 2 er analysert etter 15 minutter.
X er differansen mellom første og andre analysering for hver enkelt pasient. Middelverdien er gjennomsnittet for X verdiene.

Tabell 3: *Oversikt over regneeksempel med 10 pasientprøver for PLT-F*

Pasientprøve nr.	**Prøve 1** X_1	**Prøve 2** X_2	**X** $(X = X_1 - X_2)$
1	536	539	-3
2	207	210	-3
3	427	434	-7
4	156	156	0
5	36	37	-1
6	302	309	-7
7	384	380	4
8	253	249	4
9	460	452	8
10	230	227	3

H0: $\mu d = 0$

H1: $\mu d \neq 0$

Middelverdi og standardavvik er beregnet på Excel.

Middelverdi = -0,2

Standardavvik =4,962

Antall frihetsgrader (n= antall pasienter)

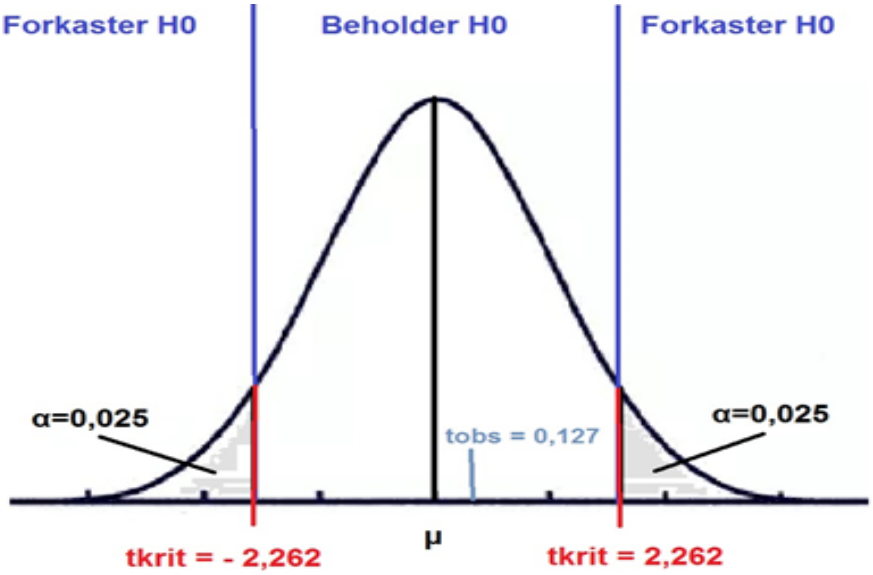
m = n-1 = 10-1 = 9

Tosidig t-test i par med signifikansnivå 5% α = 0,025

t_{krit}-verdien finner man i tabellen i *vedlegg 11.*

$t_{\alpha,m} = t_{0,025\,,\,9} = \underline{2,262}$

$t_{obs} = 0,2\ (\sqrt{10}/4,962) = \underline{0,127}$



Figur 11 *Tolkning av resultat normalfordelingskurve*

Normalfordelingskurven bestemmes av middeltall (μ) og standardavviket (s) $\mu \pm t_{krit}$ 2,262 som tilsvarer 95% av arealet under normalfordelingskurven. Ved 5% signifikansnivå blir α= 0,05 siden vi har to sider blir α=0,025 for hver side.

t_{obs}=0,127 t_{krit}=2,262

$t_{obs} < t_{krit}$ 0,127< 2,262

Vi beholder H0 på 5 % signifikansnivå. Vi kan med 5% usikkerhet fastslå at prøvesvarene er signifikant like.

4 Resultat

Denne delen inneholder en presentasjon av de resultatene som er oppnådd. Resultatet presenteres skriftlig med henvisning til tabeller, og datagrunnlaget for tabellene er tilgjengelig i vedlegg.

4.1 Resultater for kontroller og pasientprøvene

Kontrollene som ble analysert under forsøket, er innenfor akseptområdet.
Utskrift for kontrollene er i *vedlegg 9*.
Vi analyserte 60 pasientprøver 3 ganger etter definerte tidsintervall. Totalt ble det 180 analyser med tilhørende laboratorie-utskrift. Eksempel på en utskrift av en pasientprøve *se vedlegg 8.*
I laboratorie utskriften ser vi analysesvarene for alle parametrene, med tilhørende plot og kurver. Bioingeniørene som vurderer pasientsvarene vil se om populasjonene i plottene fra WDF og WNR kanalene er godt separert fra hverandre. Kurvene for erytrocytter (RBC) og trombocytter (PLT) *se vedlegg 8* forteller bioingeniøren om analysesvarene er pålitelige. Ved fine kurver og skille mellom parametrene vil PLT-I utgies, ved dårlig skille mellom paramtrene kan bioingeniøres etterbestille PLT-F. Det er til stor nytte for bioingeniørene å ha plottene og kurvene som tilleggsinformasjon ved vurdering av pasientprøver.
De utvalgte parameterne er i denne utskriften markert. Disse danner grunnlaget for tallmaterialet vårt. Ved forespørsel kan de 180 analyseutskriftene fremvises.

Vi har samlet tallmaterialet og innledende utregninger for hver parameter:

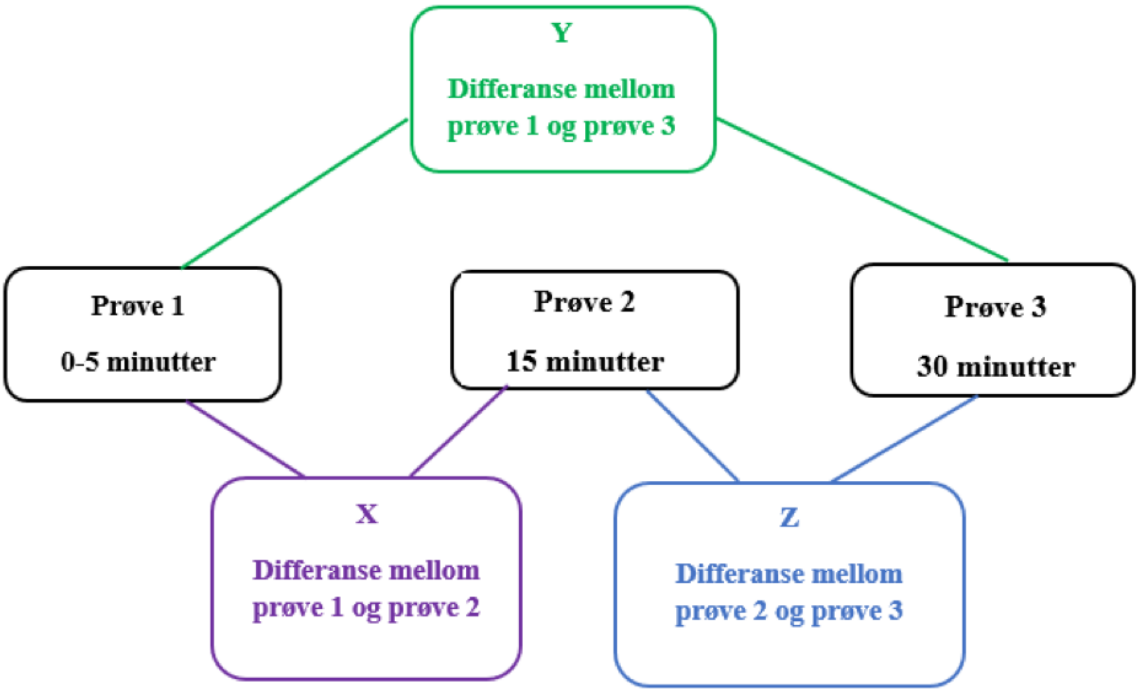
- PLT-F *Vedlegg 3*
- PLT-I *Vedlegg 4*
- Sammenligning PLT-F og PLT-I *Vedlegg 5*
- Leukocytter *Vedlegg 6*
- Nøytrofile granulocytter *Vedlegg 7*

4.2 Beregninger ved hjelp av statistisk metode for de ulike parameterne

Relevante beregninger for vårt studie er gjennomført ved hjelp av Excel og formler fra *vedlegg 10*. Beregningene for X, Y og Z er gjennomført for å finne eventuell signifikant forskjell mellom de aktuelle tidsintervallene. Vi benyttet tosidig T-test i par med 5 % signifikansnivå.

X, Y og Z tilsvarer følgende: *Se figur 12*

- X : T-test i par for differansen mellom 1 og 2 analysering.
- Y : T-test i par for differansen mellom 1 og 3 analysering.
- Z : T-test i par for differansen mellom 2 og 3 analysering.



Figur 12: *Analyseplan*

4.2.1 Resultat for PLT-F.

Tabell 4 viser resultatet for PLT-F. I *vedlegg 3* er oversikten over alle analysesvarene for de 60 pasientprøvene med innledende utregninger som danner grunnlaget for *Tabell 4*.

Tabell 4 *Beregninger og resultater for PLT-F.*

	X Differanse mellom Prøve 1 og prøve 2	Y Differanse mellom Prøve 1 og prøve 3
Middelverdi	0,150	-0,950
Standardavvik	3,526	3,860
n	60	60
t_{obs}	0,330	1,906
t_{krit}	2	2
Hypotese	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$	H0:$\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$
Resultat	$t_{obs} < t_{krit}$ Vi beholder H0	$t_{obs} < t_{krit}$ Vi beholder H0

For PLT-F:

X: $t_{obs}<t_{krit}$ (0,33<2) Vi beholder H0

Y: $t_{obs}<t_{krit}$ (1,906<2) Vi beholder H0

Når vi analyserer prøvene rett etter prøvetaking har vi ut i fra *tabell 4* påvist at prøvesvarene er like.

4.2.2 Resultat for PLT-I

Tabell 5 viser resultatet for utregningene av Trombocyttverdiene som er målt med Impedans metoden på Sysmex XN1000. Tabell 5 er laget ut i fra de målte verdiene i *Vedlegg 4*.

X : T-test i par for differansen mellom 1 og 2 analysering.

Y : T-test i par for differansen mellom 1 og 3 analysering.

Z : T-test i par for differansen mellom 2 og 3 analysering.

Vi har utført T-test på differansen mellom 1 og 2 analysering (X) og 1 og 3 analysering (Y). Som du ser i tabellen nedenfor har vi også regnet ut for Z, differansen mellom 2 og 3 analysering. Teoretisk skal det ikke være forskjell på prøvesvarene mellom 15 og 30 minutter. Ut i fra resultatet for X og Y ønsket vi å bekrefte at prøvesvarene som blir analysert etter 15 og 30 minutter (Z) er signifikant like.

Tabell 5 *Beregninger og resultater for PLT-I*

	X Differanse mellom Prøve 1 og prøve 2	Y Differanse mellom Prøve 1 og prøve 3	Z Differanse mellom Prøve 2 og prøve 3
Middelverdi	-9,659	-10,717	-1,067
Standardavvik	10,792	10,402	6,704
n	60	60	60
t_{obs}	6,933	7,981	1,233
t_{krit}	2	2	2
Hypotese	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$
Resultat	$t_{obs} > t_{krit}$ Vi forkaster H0	$t_{obs} > t_{krit}$ Vi forkaster H0	$t_{obs} < t_{krit}$ Vi beholder H0

For PLT-I:

X: $t_{obs}>t_{krit}$ (6,933>2) Vi forkaster H0

Y: $t_{obs}>t_{krit}$ (7,981>2) Vi forkaster H0

Z: $t_{obs}<t_{krit}$ (1,233<2) Vi beholder H0

Når vi analyserer prøvene rett etter prøvetaking har vi i *tabell 5* funnet at prøvesvarene er signifikant forskjellige. På bakgrunn av resultatet ønsket vi å bekrefte at prøvesvarene er like mellom 15 og 30 minutter. Når prøvene står på benk i 15 minutter før analysering er prøvesvarene like, se Z tabell 5.

4.2.3 Sammenligning av PLT-F og PLT-I

Vi har målt Trombocytter med 2 forskjellige metoder på Sysmex XN-1000. Vi skal sammenligne analysesvarene for PLT-F og PLT-I. *Tabell 6* viser resultatet for sammenligningen av PLT-I og PLT-F. Analyseverdiene med innledende utregninger er i *vedlegg 5*.

Tabell 6 *Beregninger og resultater for sammenligning av PLT-F og PLT-I.*

	A Differanse mellom prøve 1 for PLT-F og prøve 1 for PLT-I	B Differanse mellom prøve2 for PLT-F Og prøve 2 for PLT-I	C Differanse mellom Prøve 3 for PLT-F Og prøve 3 for PLT-I
Middelverdi	22,450	12,650	12,683
Standardavvik	28,951	22,068	21,860
n	60	60	60
t_{obs}	6,007	4,440	4,494
t_{krit}	2	2	2
Hypotese	H0:$\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$
Resultat	$t_{obs} > t_{krit}$ Vi forkaster H0	$t_{obs} > t_{krit}$ Vi forkaster H0	$t_{obs} > t_{krit}$ Vi forkaster H0

Sammenligning mellom PLT-I og PLT-F:

A: $t_{obs}>t_{krit}$ (6,007>2) Vi forkaster H0

B: $t_{obs}>t_{krit}$ (4,440>2) Vi forkaster H0

C: $t_{obs}>t_{krit}$ (4,494>2) Vi forkaster H0

Ut fra resultatene i *tabell 6* har vi påvist signifikant forskjell på prøvesvarene for A, B og C.

4.2.4 Resultat for leukocytter

Tabell 7 viser resultat for Leukocytter, tabellen er laget ut fra analyseverdiene og innledende utregningene for leukocytter i *vedlegg 6*.

Tabell 7 *Beregninger og resultater for leukocytter*

	X Differanse mellom Prøve 1 og prøve 2	Y Differanse mellom Prøve 1 og prøve 3
Middelverdi	0,011	0,028
Standardavvik	0,151	0,183
n	60	60
t_{obs}	0,564	1,185
t_{krit}	2	2
Hypoteser	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$
Resultat	$t_{obs} < t_{krit}$ Vi beholder H0	$t_{obs} < t_{krit}$ Vi beholder H0

For leukocytter:

X: $t_{obs}<t_{krit}$ (0,564<2) Vi beholder H0

Y: $t_{obs}<t_{krit}$ (1,185<2) Vi beholder H0

Når vi analyserer prøvene rett etter prøvetaking har vi ut i fra *tabell 7* påvist at prøvesvarene er like.

4.2.5 Resultat for nøytrofile granulocytter

Tabell 8 viser resultat for Nøytrofile granulocytter, tabellen tar utgangspunkt i tallmaterialet og utregningene i *vedlegg 7.*

Tabell 8 *Beregninger og resultater for nøytrofile granulocytter*

	X Differanse mellom Prøve 1 og prøve 2	Y Differanse mellom Prøve 1 og prøve 3
Middelverdi	0,022	0,038
Standardavvik	0,197	0,203
n	60	60
t_{obs}	0,865	1,500
t_{krit}	2	2
Hypoteser	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$	H0: $\mu = 0$ H1: $\mu \neq 0$
Resultat	$t_{obs} < t_{krit}$ Vi beholder H0	$t_{obs} < t_{krit}$ Vi beholder H0

For nøytrofile granulocytter:

X: $t_{obs}<t_{krit}$ (0,865<2) Vi beholder H0

Y: $t_{obs}<t_{krit}$ (1,500<2) Vi beholder H0

Når vi analyserer prøvene rett etter prøvetaking har vi ut i fra *tabell 8* påvist at prøvesvarene er like.

5 Diskusjon

I denne delen skal vi tolke resultatene og sette de i sammenheng med den teoretiske bakgrunnen. Vi skal drøfte mulige feilkilder, metodiske problem, svakheter og styrker ved studien og betydningen av disse forholdene for våre funn. Sammenhengen mellom problemstilling og resultatet presenteres. Det er viktig for pasienter å få riktige og raske prøvesvar. Spesielt for pasienter som trenger øyeblikkelig hjelp vil det være stor nytte å få raskere prøvesvar, også vil det hjelpe bioingeniørene i hverdagen om de kan analysere prøvene fortløpende uten å bruke tid på stoppeklokker og venting. Det er gjort mye tidligere forskning på holdbarheten til prøvene når de står lenge og under forskjellige temperaturer, men vi har ikke funnet noen publiserte studier på hvor raskt man kan analysere etter prøvetaking. Bakgrunnen for at vi fikk denne bachelor oppgaven i oppdrag fra Ålesund Sykehus var at de ikke kjente til noen forskning med vår problemstilling. Vi kontaktet den norske leverandøren av Sysmex, og de har ikke utført noen tester på hvor raskt prøvene kan analyseres etter prøvetaking. Tradisjonelt må prøvene" stå litt" før analysering og det har blitt en uprøvd sannhet som vi ønsker å finne ut av. Analysemaskinene har fått bedre sensitivitet og nøyaktighet og reagensene videreutvikles kontinuerlig, det kan derfor tenkes at prøvene kan analyseres raskere.

5.1 Sammenhengen mellom problemstilling og resultat

Vi har jobbet mot å svare på problemstillingen vår.

I hvilken grad blir prøvesvarene påvirket av å bli analysert rett etter prøvetaking?

Med utgangspunkt i at sykehuset ønsket å finne ut om prøvesvarene ble riktige ved raskere analysering har vi laget en oversiktlig tabell hvor vi svarer på problemstillingen for de utvalgte parametrene. *Se tabell 9.*

Tabell 9 *Oversikt over funn i sammenheng med problemstilling*

Parameter	**Funn**	**Svar på problemstilling:**
PLT-F	Like prøvesvar	Prøvene kan analyserer rett etter prøvetaking
PLT-I	Forskjellige prøvesvar	Prøvene må stå på benk i minst 15 minutter før analysering
Leukocytter	Like prøvesvar	Prøvene kan analyseres rett etter prøvetakning
Nøytrofile granulocytter	Like prøvesvar	Prøvene kan analyseres rett etter prøvetakning
Sammenligning PLT-I og PLT-F	Forskjellige prøvesvar	For alle tidsintervallene blir prøvesvarene forskjellige

5.2 Trombocytter

PLT-F kan analyseres rett etter prøvetaking. PLT-I kan ikke analyseres rett etter prøvetaking. Tidligere forskning [25] bekrefter at PLT-F er en pålitelig metode for analysering av lave trombocyttverdier. Kreftpasienter er en pasientgruppe som kan ha lave trombocyttverdier som følge av cytostatika-behandling, akutt leukemi, myelomatose og denne pasientgruppen er ofte Ø-hjelps pasienter som har behov for raske prøvesvar i forbindelse med utredning, behandling, operasjon og blodoverføring. Derfor er det veldig viktig at vi har tatt med lave trombocyttverdier i denne bachelor oppgaven slik at våre funn kan blir gjeldene for den pasientgruppen som har størst nytte av raskere svar.

Resultatene innebærer at det er mulig for sykehuset å analysere øyeblikkelig etter prøvetaking, og fortsatt utgi pålitelige prøvesvar for PLT-F.

Resultatene fra måling med impedansmetoden, viser at prøvene ikke kan analyseres øyeblikkelig etter prøvetaking. Den teoretiske bakgrunnen viser at trombocytter som i utgangspunktet er elliptiske vil sfæres av EDTA og få en litt annen størrelse. Ved impedansmetoden, registreres spenningsøkningen som oppstår når cellene vandrer gjennom kapillæråpningen. Denne spenningsøkningen vil være proporsjonal med størrelsen til cellene og cellene kategoriseres ut i fra størrelsen i et deteksjonssystem. Når trombocyttene endrer morfologien sin i kontakt med EDTA kan det tenkes at det er grunnen til forandringene i prøvesvarene ved øyeblikkelig analysering med PLT-I.

PLT-F gir informasjon om trombocyttenes innhold av RNA i organellene til trombocyttene, cellens størrelse og kompleksitet. Ved å kombinere denne informasjonen om hver enkelt celle, unngår man feilregistreringer som er basert bare på informasjon om størrelse. Fluoroscenssignalet fra trombocyttene vil gjenspeile organellens innhold av DNA/RNA. Erytrocytter har ikke kjerne eller organeller og vil derfor ikke utgi noe fluorescerende lyssignal eller kunne interferere med prøvesvaret med PLT-F.

Ved PLT-I separeres erytrocytter og trombocytter med bakgrunn i størrelsen,
Forhold som kan føre til for lav trombocyttverdi ved PLT-I:

- Store trombocytter eller trombocytt aggregater kan feilregistreres som erytrocytter.
- Ved øyeblikkelig analysering før prøven stabiliseres med EDTA kan størrelsen til trombocyttene være for små til å bli registrert riktig.
- To eller flere trombocytter kan passere kapillæråpningen samtidig og dermed bli registrert som erytrocytt.

Forhold som kan føre til for høy trombocyttverdi med PLT-I:

- Fragmenterte erytrocytter kan feilregistreres
- Fragmenterte leukocytter kan feilregistreres

Det fremkommer av at spredningstallet for PLT-F har en bedre presisjon enn PLT-I.
Begge disse metodene for måling av trombocytter blir brukt i dag.
PLT-F er en mer kostbar analyse enn PLT-I, dersom trombocyttverdien er under referanseområdet vil det være nyttig å analysere PLT-F for å få nærmest sann verdi.

Eksempel: En pasient har en trombocyttverdi innenfor referanseområdet målt med PLT-I, det vil da ikke ha noen betydning for pasienten å analysere med PLT-F. Verdien av å måle med PLT-F vil være ved måling av lave trombocyttverdier, utenfor referanseområdet. PLT-F gir mer informasjon enn cellevolum, og er meget nyttig i slike tilfeller. Forskjellen mellom lave verdier har stor betydning for videre behandling og oppfølgning. PLT-I som er en billigere analyse kan fungere fint som en screening for når man skal etterbestille PLT-F. Sykehuset i Ålesund etterbestiller PLT-F ved Trombocyttverdi under 100, det er nyttig med to forskjellige metoder når de blir brukt til å utfylle hverandre. Det er nyttig for sykehuset og for alle som bruker Sysmex XN-1000 å vite at for hastepasienter kan PLT-F utgis ved øyeblikkelig analysering mens PLT-I vil gi feil prøvesvar.

5.3 Leukocytter

Resultatene for leukocytter innebærer at øyeblikkelig analyse kan utføres, og fortsatt gi pålitelige prøvesvar.

Vi fant ingen tidligere studier som kan bidra til å svare på problemstillingen vår om leukocytter, og hvor analysene er utført på Sysmex XN-1000. En dansk holdbarhetsstudie [26] analyserte på Sysmex XN-9000 og er relevant til vår forskning. De diskuterte hvordan leukocyttene kunne forandre sin morfologi når prøven sto for lenge før analysering. Det kan ha ført til at analysemaskinen ikke klarte å skille populasjonene fra hverandre, og at prøvesvarene blir forskjellige ved analysering lenge etter prøvetaking. Resultatene for leukocyttene var forskjellige etter 72 timer. Basert på morfologiske endringer som oppstod i den danske studien, kan det også tenkes at morfologiske forandringer er gjeldende for vårt studie.

De morfologiske trekkene endrer seg i det prøvene står på benk. Det som kan være årsaken til at våre resultater var like for hvert tidsintervall, kan være at disse morfologiske endringene ikke har vært så store.

Siden kontrollene er innenfor referanseområdene, og metodene vi har valgt er pålitelig, velger vi å godkjenne prøvesvarene.

5.4 Nøytrofile Granulocytter

Våre funn tilsier at prøvene kan analyseres rett etter prøvetaking for parameter nøytrofile granulocytter. Sysmex Norge har satt en anbefalt holdbarhet på analysering inntil 48 timer etter prøvetaking for maskinell differensialtelling. Vi har undersøkt og det er vanskelig å finne tidligere forskning på minimum tid før analysering for denne analysemaskinen.

Vi har funnet studier som går på maksimal tid prøvene kan stå før analysering, men ingen studier om minimumstid før analysering.[26] På Sysmex XN-1000 blir leukocyttene differensiert i WDF-kanalen. Reagenset Lysercell WDF lyserer erytrocytter og trombocytter, og gjør cellemembranen til leukocyttene permeabel. Reagenset Fluorocell WDF kan dermed gå inn i cellene og binde seg til RNA/DNA i cellenes kjerne, ribosomer og mitokondrier. De ulike undergruppene av leukocytter, deriblant nøytrofile granulocytter, separeres ut i fra intensiteten til lysspredningen ved ulike vinkler og fluorescens. Tradisjonelt må prøvene "stå litt" på benk før analysering, det kan tenkes at reagensene til Sysmex XN-1000 og deteksjonssystemet er blitt så videreutviklet i forhold til tidligere analysemaskiner slik at prøvene ikke lenger trenger å hvile på benk før analysering for parameter nøytrofile granulocytter.

5.5 Mulige feilkilder

Større utvalg vil statistisk representere den sanne verdien bedre enn mindre utvalg. Middelverdien og standardavviket kan lettere påvirkes av falskt for høye eller falskt for lave tall ved mindre utvalg.
Alle prøvene til denne studien ble tatt etter prosedyren for blodprøvetaking ved Ålesund sykehus. Mulig feilkilde kan være at bioingeniøren ikke fulgte gjeldende prosedyre for blodprøvetaking, for eksempel ved blanding etter prøvetaking.
Andre feilkilder kan være preanalytiske forhold som er utenfor vår kontroll, for eksempel om pasienten går på medikamenter som kan påvirke analysesvarene. Stress, sykdom, trening eller andre forhold kan også bidra til å påvirke svarene.

5.6 Styrker med studien

En styrke med studien er at vi kun benyttet fulle prøveglass. Dette er en styrke for det gjør at alle prøvene inneholdt like mye prøve. Det gjør også at det ikke er noe problem for noen å gjenta forsøket fordi de bare skal fylle glassen ¾ fullt f.eks.

Alle analysene ble utført på samme analysemaskinen, Sysmex XN-1000. Vi har i samarbeid med sykehuset valgt å forholde oss til fire parametere leukocytter, nøytrofile granulocytter, PLT-F og PLT-I. Et utvalg parametere og én analysemaskin gjør at studien blir mer spesialisert.

Ved å velge kreftpasienter som målgruppe har vi prøvesvar over et stort målområde. Dermed kan vi se om det er samsvar mellom prøvesvarene også for verdier utenfor referanseområdene for friske personer. Funnene for denne studien blir dermed gjeldene for et stort målområde.

Det er en styrke at studien kan bidra til raskere utgivelse av prøvesvar, slik at pasientene slipper unødvendig ventetid. Dette kan igjen føre til raskere behandling. Det kan bidra til å forenkle bioingeniørenes arbeid, ved at de ikke trenger stoppeklokker for hematologiske prøver.

Studien kan være til hjelp for alle sykehus som analyserer hematologiske prøver med Sysmex XN-1000 på verdensbasis. Vi har utført arbeidet i godt samarbeid med sykehuset og de som jobber der. Det er pasienter fra det virkelige liv og dette gjør at prøvesvarene blir mer reelle.

5.7 Svakheter med studien

Svakhet med studien kan være at det enkelte ganger oppstod kø under analyseringen, slik at noen prøver ble analysert opp mot 30 sekunder senere enn forutbestemt tidsintervall.

Vi valgte antall pasienter ut i fra råd fra faglig veileder og tiden vi hadde til rådighet. Vi analyserte kun 60 pasientprøver, noe som kan være en svakhet i forhold til å gi en standardisert konklusjon for studien.

En svakhet kan også være at vi ikke har funnet tidligere publiserte artikler som er direkte relevant for vår studie. Det hadde vært ideelt å kunne sammenligne våre teorier og resultater med andre studier.

Ved PLT-I fant vi at prøvesvarene er forskjellige ved analysering rett etter prøvetaking. En svakhet med studien er at vi ikke undersøker årsakene til forandringen.

Pasientprøvene er over et stort målområde. For trombocytter er nøyaktig analysesvar viktigere under referanseområdet, det kan være en svakhet med studien at ikke alle analysene våre hadde lave trombocyttverdier.

5.8 Konklusjon

For parameterene leukocytter, nøytrofile granulocytter og PLT-F kan prøvene analyseres øyeblikkelig etter prøvetaking.
For parameter PLT-I blir prøvesvarene feil ved å analysere rett etter prøvetaking.

I praksis betyr våre funn at prøvene kan analyseres rett etter prøvetaking dersom man gir ut PLT-F, eller holder igjen analysesvaret for PLT-I.
Funnet i denne Bachelor-oppgaven er av stor nytte for pasienter som trenger øyeblikkelig hjelp. Ø-hjelp prøver som analyseres med PLT-F kan analyseres rett etter prøvetaking og gi pålitelige analysesvar.

5.9 Forslag til videre studier

Et forslag til videre studier er å finne ut årsakene til forandringer i prøvesvarene ved PLT-I. Vi har ikke sett på hva som påvirker prøvesvarene, bare om de har blitt påvirket eller ikke.

Det hadde også vært mulig å forske på flere parametere enn leukocytter, nøytrofile granulocytter, PLT-F og PLT-I. Vi fikk utskrift av alle parameterne som Sysmex XN-1000 analyserte, men vi fokuserte på de fire parameterne etter ønske fra sykehuset. Flere

parametere ville ha bidratt til større bredde i studiet, og gitt oss en mer styrket konklusjon om prøvene kan analyseres med en gang, eller om ventetid er nødvendig.

Et forslag er å utføre samme studie med kun lave trombocyttverdier, for denne gruppen er det viktigst med nøyaktige svar.

Vedlegg 1 Tabeller

Tabell 1: Viser referanseområde for forskjellige leukocytter. *S.*

Tabell 2: Viser utvalgte parameter og analysemetoden for dem. *S.*

Tabell 3: Trombocytter målt med PLT-F. *S*

Tabell 4: Trombocytter målt med fluorescens flowcytometri (PLT-F). *S*

Tabell 5: Trombocytter målt med impedans (PLT-I). *S*

Tabell 6: Sammenligning av PLT-F og PLT-I. *S*

Tabell 7: Leukocytter. *S*

Tabell 8: Nøytrofile granulocytter. *S*

Tabell 9: Oversikt over konklusjonen

Vedlegg 2 Figurer

Figur 1: Viktigste blodkomponentene. *S.*

Figur 2: Viser nøytrofile celler. *S.*

Figur 3: Sysmex XN-1000

Figur 4: Oversikt over impedanssystemet. *S.*

Figur 5: Sheat Flow DC metode. *S.*

Figur 6: Histogram med trombocytter. *S.*

Figur 7: Oversikt over fluorescens flowcytometri. *S.*

Figur 8: Lysvei i fluorescens flowcytometri. *S.*

Figur 9: Differensialtelling av leukocytter. *S.*

Figur 10: Pasientprøve i stativ. *S.*

Figur 11: Tolkning av resultat (normalfordelingskurve)

Vedlegg 3 Resultat og differanseverdier for PLT-F

		PLT - F 10^9/L			
	Prøve 1	Prøve 2	Prøve 3	X	Y
Pasientnr.	0-5 minutter	15 minutter	30 minutter	Prøve 1-Prøve 2	Prøve 1-Prøve 3
1	536	539	548	-3	-12
2	207	210	210	-3	-3
3	427	434	434	-7	-7
4	156	156	155	0	1
5	36	37	37	-1	-1
6	302	309	306	-7	-4
7	384	380	376	4	8
8	253	249	254	4	-1
9	460	452	458	8	2
10	230	227	233	3	-3
11	314	317	321	-3	-7
12	423	412	412	11	11
13	219	218	221	1	-2
14	183	181	182	2	1
15	344	345	346	-1	-2
16	370	376	378	-6	-8
17	244	238	240	6	4
18	504	505	507	-1	-3
19	437	434	436	3	1
20	304	306	299	-2	5
21	32	33	33	-1	-1
22	407	408	408	-1	-1
23	210	211	211	-1	-1
24	55	55	55	0	0
25	75	75	76	0	-1
26	118	118	118	0	0
27	306	302	308	4	-2
28	276	276	282	0	-6
29	253	252	255	1	-2
30	15	13	11	2	4
31	88	86	87	2	1
32	228	225	226	3	2
33	106	103	104	3	2
34	230	231	231	-1	-1
35	335	338	337	-3	-2
36	369	368	372	1	-3
37	263	260	264	3	-1
38	353	352	355	1	-2
39	235	232	232	3	3
40	507	503	507	4	0
41	176	176	175	0	1
42	208	210	206	-2	2
43	215	213	213	2	2
44	241	249	251	-8	-10
45	220	215	216	5	4
46	77	76	78	1	-1
47	16	16	15	0	1
48	65	65	65	0	0
49	128	132	129	-4	-1
50	227	230	231	-3	-4
51	207	207	208	0	-1
52	156	157	154	-1	2
53	241	240	245	1	-4
54	219	220	219	-1	0
55	319	315	321	4	-2
56	271	271	274	0	-3
57	275	275	277	0	-2
58	162	166	162	-4	0
59	293	298	300	-5	-7
60	225	229	228	-4	-3

Innledende Utregninger		
	X	Y
Middelverdi	0,15	-0,95
Standardavvik	3,526	3,860

Vedlegg 4 Resultater og differanseverdier for PLT-I

	PLT- I 10^9/L					
	Prøve 1	Prøve 2	Prøve 3	X	Y	Z
Pasientnr.	0-5 minutter	15 minutter	30 minutter	Prøve 1-Prøve 2	Prøve 1-Prøve 3	Prøve 2 - Prøve 3
1	479	499	497	-20	-18	2
2	188	192	197	-4	-9	-5
3	403	411	416	-8	-13	-5
4	142	147	143	-5	-1	4
5	34	29	32	5	2	-3
6	277	283	280	-6	-3	3
7	353	366	360	-13	-7	6
8	244	249	248	-5	-4	1
9	418	443	439	-25	-21	4
10	216	231	219	-15	-3	12
11	260	276	277	-16	-17	-1
12	359	369	375	-10	-16	-6
13	198	201	204	-3	-6	-3
14	174	176	183	-2	-9	-7
15	274	296	298	-22	-24	-2
16	316	350	351	-34	-35	-1
17	210	227	233	-17	-23	-6
18	459	490	482	-31	-23	8
19	369	380	385	-11	-16	-5
20	302	297	303	5	-1	-6
21	25	28	36	-3	-11	-8
22	388	397	418	-9	-30	-21
23	196	203	215	-7	-19	-12
24	51	51	51	0	0	0
25	73	77	72	-4	1	5
26	86	87	91	-1	-5	-4
27	261	287	286	-26	-25	1
28	221	247	248	-26	-27	-1
29	221	235	238	-14	-17	-3
30	15	15	12	0	3	3
31	83	79	80	4	3	-1
32	229	222	229	7	0	-7
33	102	100	102	2	0	-2
34	210	226	218	-16	-8	8
35	349	376	351	-27	-2	25
36	323	332	340	-9	-17	-8
37	272	279	274	-7	-2	5
38	341	355	351	-14	-10	4
39	218	232	231	-14	-13	1
40	324	372	376	-48	-52	-4
41	164	166	168	-2	-4	-2
42	206	204	214	2	-8	-10
43	210	212	216	-2	-6	-4
44	235	238	246	-3	-11	-8
45	190	208	200	-18	-10	8
46	77	79	78	-2	-1	1
47	20	23	22	-3	-2	1
48	61	62	63	-1	-2	-1
49	117	131	129	-14	-12	2
50	228	229	230	-1	-2	-1
51	204	209	208	-5	-4	1
52	147	159	158	-12	-11	1
53	219	220	218	-1	1	2
54	204	204	210	0	-6	-6
55	293	310	311	-17	-18	-1
56	250	274	269	-24	-19	5
57	261	266	273	-5	-12	-7
58	140	150	150	-10	-10	0
59	283	295	296	-12	-13	-1
60	216	216	231	0	-15	-15

Innledende Utregninger			
	X	Y	Z
Middelverdi	-9,659	-10,717	-1,067
Standardavvik	10,792	10,402	6,704

Vedlegg 5 Sammenligning av PLT-F og PLT-I

			PLT-F og PLT-I 10^9/L						
	Prøve 1 (PLT-F)	Prøve 1 (PLT-I)	Prøve 2 (PLT-F)	Prøve 2 (PLT-I)	Prøve 3 (PLT-F)	Prøve 3 (PLT-I)	A	B	C
Pasientnr.	0-5 minutter	0-5 minutter	15 minutter	15 minutter	30 minutter	30 minutter			
1	536	479	539	499	548	497	57	40	51
2	207	188	210	192	210	197	19	18	13
3	427	403	434	411	434	416	24	23	18
4	156	142	156	147	155	143	14	9	12
5	36	34	37	29	37	32	2	8	5
6	302	277	309	283	306	280	25	26	26
7	384	353	380	366	376	360	31	14	16
8	253	244	249	249	254	248	9	0	6
9	460	418	452	443	458	439	42	9	19
10	230	216	227	231	233	219	14	-4	14
11	314	260	317	276	321	277	54	41	44
12	423	359	412	369	412	375	64	43	37
13	219	198	218	201	221	204	21	17	17
14	183	174	181	176	182	183	9	5	-1
15	344	274	345	296	346	298	70	49	48
16	370	316	376	350	378	351	54	26	27
17	244	210	238	227	240	233	34	11	7
18	504	459	505	490	507	482	45	15	25
19	437	369	434	380	436	385	68	54	51
20	304	302	306	297	299	303	2	9	-4
21	32	25	33	28	33	36	7	5	-3
22	407	388	408	397	408	418	19	11	-10
23	210	196	211	203	211	215	14	8	-4
24	55	51	55	51	55	51	4	4	4
25	75	73	75	77	76	72	2	-2	4
26	118	86	118	87	118	91	32	31	27
27	306	261	302	287	308	286	45	15	22
28	276	221	276	247	282	248	55	29	34
29	253	221	252	235	255	238	32	17	17
30	15	15	13	15	11	12	0	-2	-1
31	88	83	86	79	87	80	5	7	7
32	228	229	225	222	226	229	-1	3	-3
33	106	102	103	100	104	102	4	3	2
34	230	210	231	226	231	218	20	5	13
35	335	349	338	376	337	351	-14	-38	-14
36	369	323	368	332	372	340	46	36	32
37	263	272	260	279	264	274	-9	-19	-10
38	353	341	352	355	355	351	12	-3	4
39	235	218	232	232	232	231	17	0	1
40	507	324	503	372	507	376	183	131	131
41	176	164	176	166	175	168	12	10	7
42	208	206	210	204	206	214	2	6	-8
43	215	210	213	212	213	216	5	1	-3
44	241	235	249	238	251	246	6	11	5
45	220	190	215	208	216	200	30	7	16
46	77	77	76	79	78	78	0	-3	0
47	16	20	16	23	15	22	-4	-7	-7
48	65	61	65	62	65	63	4	3	2
49	128	117	132	131	129	129	11	1	0
50	227	228	230	229	231	230	-1	1	1
51	207	204	207	209	208	208	3	-2	0
52	156	147	157	159	154	158	9	-2	-4
53	241	219	240	220	245	218	22	20	27
54	219	204	220	204	219	210	15	16	9
55	319	293	315	310	321	311	26	5	10
56	271	250	271	274	274	269	21	-3	5
57	275	261	275	266	277	273	14	9	4
58	162	140	166	150	162	150	22	16	12
59	293	283	298	295	300	296	10	3	4
60	225	216	229	216	228	231	9	13	-3

Innledende Utregninger			
	A	B	C
Middelverdi	22,450	12,650	12,683
Standardavvik	28,951	22,068	21,860

Vedlegg 6 Resultater og differanseverdier for leukocytter

	WBC 10^9/L				
	Prøve 1	Prøve 2	Prøve 3	X	Y
Pasientnr.	0-5 minutter	15 minutter	30 minutter	Prøve 1-Prøve 2	Prøve 1-Prøve 3
1	15,75	15,7	15,74	0,05	0,01
2	4,92	4,93	4,97	-0,01	-0,05
3	16,87	16,8	16,68	0,07	0,19
4	3,79	3,87	3,74	-0,08	0,05
5	2,51	2,44	2,42	0,07	0,09
6	6,72	6,77	6,67	-0,05	0,05
7	13,37	13,28	13,26	0,09	0,11
8	8,53	8,55	8,4	-0,02	0,13
9	5,92	6,1	5,82	-0,18	0,1
10	4,41	4,48	4,5	-0,07	-0,09
11	6,06	5,94	6,11	0,12	-0,05
12	8,74	8,94	8,75	-0,2	-0,01
13	10,32	10,25	10,38	0,07	-0,06
14	3,97	3,8	3,94	0,17	0,03
15	9,41	9,6	9,51	-0,19	-0,1
16	13,51	13,3	13,41	0,21	0,1
17	5,53	5,45	5,33	0,08	0,2
18	6,25	6,12	6,32	0,13	-0,07
19	4,22	4,18	4,16	0,04	0,06
20	9,57	9,15	9,54	0,42	0,03
21	2,41	2,43	2,35	-0,02	0,06
22	11,63	11,62	11,58	0,01	0,05
23	6,7	6,7	6,67	0	0,03
24	3,56	3,6	3,38	-0,04	0,18
25	3,12	3,04	3,21	0,08	-0,09
26	2,59	2,62	2,59	-0,03	0
27	5,92	5,94	5,77	-0,02	0,15
28	29,17	29,73	29,55	-0,56	-0,38
29	8,01	7,78	7,7	0,23	0,31
30	5	5,12	4,93	-0,12	0,07
31	8,39	8,16	8,13	0,23	0,26
32	5,08	5,07	5,15	0,01	-0,07
33	4,59	4,7	4,86	-0,11	-0,27
34	3,51	3,53	3,44	-0,02	0,07
35	19,26	19,53	19,25	-0,27	0,01
36	3,82	3,7	3,75	0,12	0,07
37	12,22	12,26	12,32	-0,04	-0,1
38	6,9	7,05	7,11	-0,15	-0,21
39	7,99	7,79	8,13	0,2	-0,14
40	9,2	9,07	9,11	0,13	0,09
41	7,17	7,09	6,93	0,08	0,24
42	5,76	5,84	5,87	-0,08	-0,11
43	10,54	10,76	10,86	-0,22	-0,32
44	3,36	3,39	3,48	-0,03	-0,12
45	4,87	4,98	4,86	-0,11	0,01
46	2,99	3,16	2,99	-0,17	0
47	171,31	171,27	170,33	0,04	0,98
48	3,44	3,24	3,32	0,2	0,12
49	6,17	5,96	5,99	0,21	0,18
50	5,35	5,44	5,36	-0,09	-0,01
51	7,42	7,43	7,54	-0,01	-0,12
52	3,11	3,08	3,1	0,03	0,01
53	6,82	6,87	6,92	-0,05	-0,1
54	6,93	6,77	7,01	0,16	-0,08
55	6,3	6,3	6,22	0	0,08
56	5,95	6,03	6,05	-0,08	-0,1
57	6,42	6,37	6,3	0,05	0,12
58	4,9	4,82	5,01	0,08	-0,11
59	6,6	6,39	6,44	0,21	0,16
60	11,36	11,28	11,31	0,08	0,05

Innledende Utregninger		
	X	Y
Middelverdi	0,011	0,028
Standardavvik	0,151	0,183

Vedlegg 7 Resultater og differanseverdier for nøytrofile granulocytter

		NEUT 10^9/L			
	Prøve 1	Prøve 2	Prøve 3	X	Y
Pasientnr.	0-5 minutter	15 minutter	30 minutter	Prøve 1-Prøve 2	Prøve 1-Prøve 3
1	12,11	12,14	12,13	-0,03	-0,02
2	3,12	3,11	3,11	0,01	0,01
3	10,39	10,19	9,97	0,2	0,42
4	2,17	2,25	2,17	-0,08	0
5	1,56	1,52	1,54	0,04	0,02
6	3,89	3,91	3,9	-0,02	-0,01
7	10,05	9,99	10,03	0,06	0,02
8	7,5	7,53	7,41	-0,03	0,09
9	4,25	4,35	4,2	-0,1	0,05
10	3,02	3,08	3,06	-0,06	-0,04
11	3,97	3,86	3,99	0,11	-0,02
12	7	7,2	7,02	-0,2	-0,02
13	6,22	6,14	6,16	0,08	0,06
14	2,49	2,43	2,58	0,06	-0,09
15	7,1	7,24	7,09	-0,14	0,01
16	11,14	10,87	10,95	0,27	0,19
17	2,87	2,82	2,74	0,05	0,13
18	3,96	3,91	4,09	0,05	-0,13
19	2,59	2,51	2,5	0,08	0,09
20	5,32	5,05	5,26	0,27	0,06
21	1,92	1,93	1,88	-0,01	0,04
22	6,08	6,07	6,13	0,01	-0,05
23	3,08	3,1	3,11	-0,02	-0,03
24	2,15	2,21	2,07	-0,06	0,08
25	1,75	1,74	1,84	0,01	-0,09
26	0,99	1,07	0,99	-0,08	0
27	3,21	3,18	3,04	0,03	0,17
28	21,98	22,48	22,53	-0,5	-0,55
29	5,41	5,29	5,2	0,12	0,21
30	2,45	2,43	2,37	0,02	0,08
31	5,6	5,42	5,33	0,18	0,27
32	3,11	3,21	3,21	-0,1	-0,1
33	2,82	2,86	2,94	-0,04	-0,12
34	1,41	1,42	1,35	-0,01	0,06
35	14,43	14,59	14,36	-0,16	0,07
36	2,24	2,14	2,18	0,1	0,06
37	8,37	8,52	8,4	-0,15	-0,03
38	3,54	3,57	3,54	-0,03	0
39	4,83	4,76	5,06	0,07	-0,23
40	6,31	6,29	6,27	0,02	0,04
41	5,73	5,66	5,57	0,07	0,16
42	3,93	4,04	3,99	-0,11	-0,06
43	5,94	6,05	6,02	-0,11	-0,08
44	1,5	1,6	1,52	-0,1	-0,02
45	3	2,97	2,97	0,03	0,03
46	1,65	1,68	1,64	-0,03	0,01
47	6,76	5,53	5,53	1,23	1,23
48	2,03	1,87	2,02	0,16	0,01
49	3,98	3,91	3,84	0,07	0,14
50	3,26	3,31	3,28	-0,05	-0,02
51	2,86	2,87	2,84	-0,01	0,02
52	1,74	1,7	1,71	0,04	0,03
53	5,38	5,43	5,53	-0,05	-0,15
54	2,89	2,82	2,84	0,07	0,05
55	3,35	3,3	3,22	0,05	0,13
56	3,57	3,68	3,76	-0,11	-0,19
57	4,11	4,14	4	-0,03	0,11
58	2,6	2,49	2,58	0,11	0,02
59	4,06	4	4,01	0,06	0,05
60	6,81	6,78	6,73	0,03	0,08

Innledende Utregninger		
	X	Y
Middelverdi	0,022	0,038
Standardavvik	0,197	0,203

Vedlegg 8 Pasientutskrift

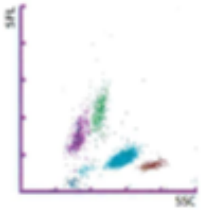
LMB, Kreftlaboratoriet XN series Sys

Sample No.: 011688011400 Rack: 137 Position: 1 31/03/2016 11:25:31 WB
Patient ID: Ward: Doctor:
Name: Birth: Sex:
Sample Comment: Nickname: XN-1000-1-A

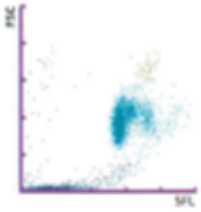
Positive
Diff.

WBC	3.97	[10^9/L]		
RBC	4.84	[10^12/L]		
HGB	15.0	[g/dL]		
HCT	0.445	[L/L]		
MCV	91.9	[fL]		
MCH	31.0	[pg]		
MCHC	33.7	[g/dL]		
PLT &F	183	[10^9/L]		
PLT-I	174	[10^9/L]		
PLT-F	183	[10^9/L]		
HGB-O		[g/dL]		
MPV	10.1	[fL]		
P-LCR	26.1	[%]		
RDW-CV	13.6	[%]		
NRBC	0.00	[10^9/L]	0.0	[%]
NEUT	2.49	[10^9/L]	62.8	[%]
LYMPH	0.70 -	[10^9/L]	17.6 -	[%]
MONO	0.47	[10^9/L]	11.8	[%]
EO	0.25	[10^9/L]	6.3 +	[%]
BASO	0.06	[10^9/L]	1.5 +	[%]
IG	0.01	[10^9/L]	0.3	[%]
RET		[%]		[10^9/L]
IRF		[%]		
LFR		[%]		
MFR		[%]		
HFR		[%]		
RET-He		[pg]		
NE-SSC	151.0	[ch]		

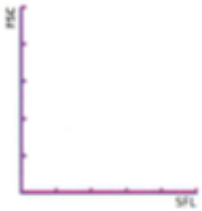
WDF



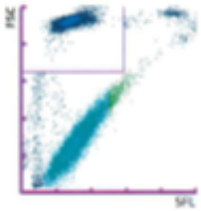
WNR



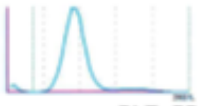
RET



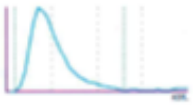
PLT-F



RBC



PLT



WBC IP Message
Lymphopenia

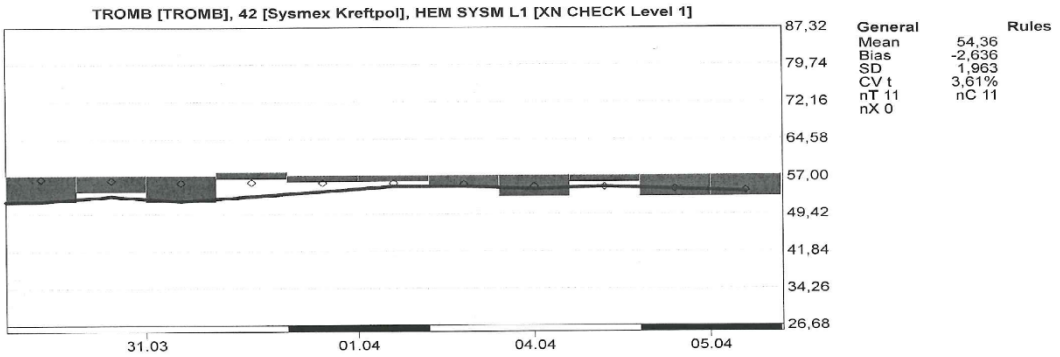
RBC IP Message

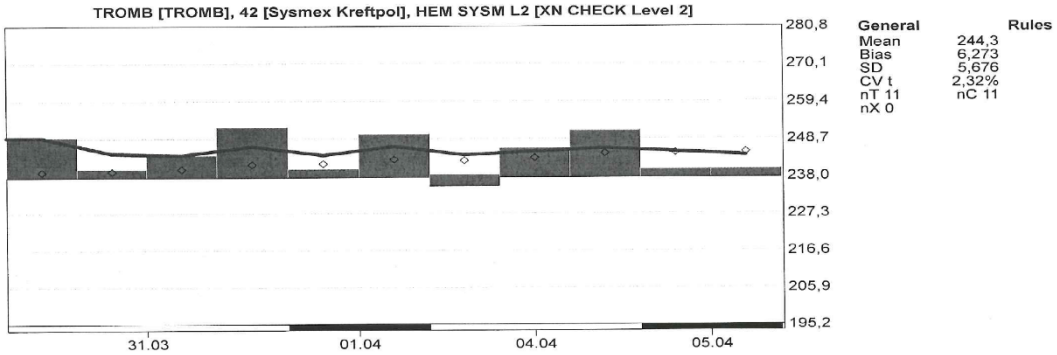
PLT IP Message

00-18 04/04/2016 11:04 1/1

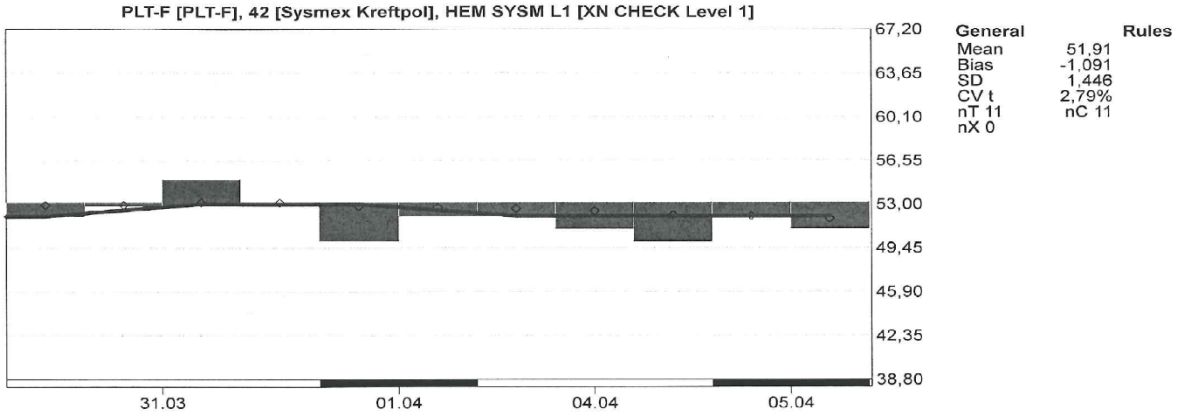
Vedlegg 9 Kontroller

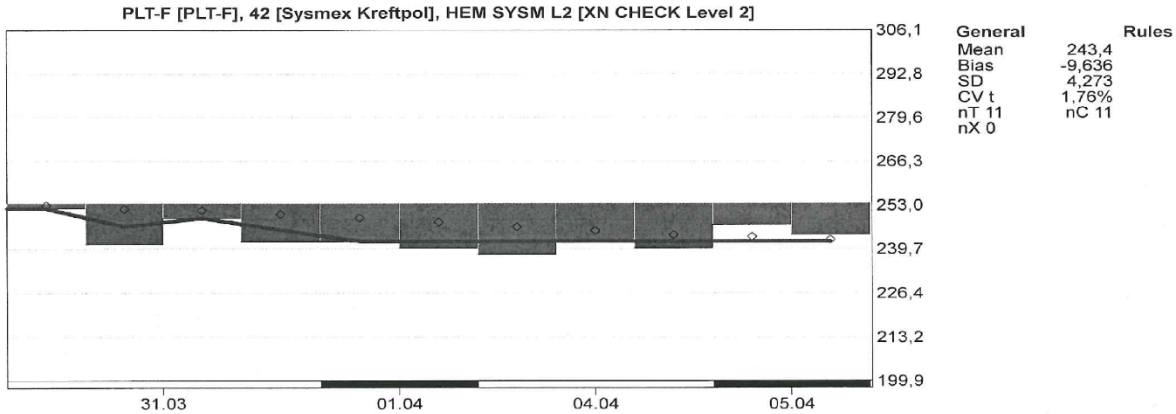
Kontroll for trombocytter



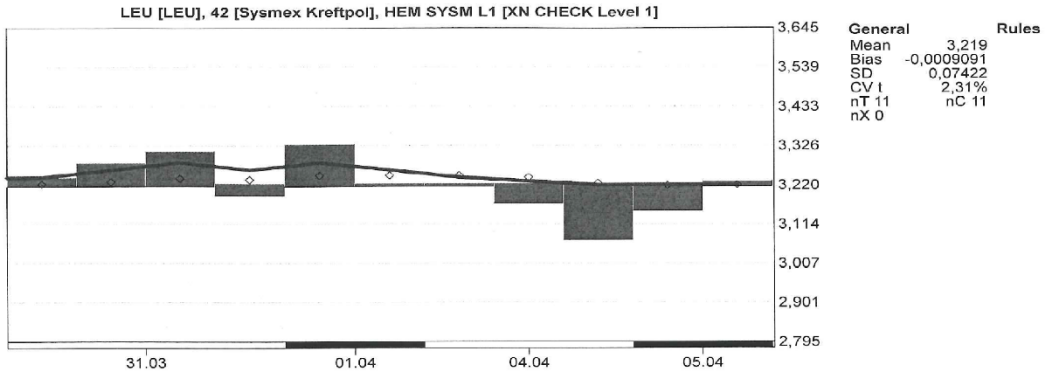


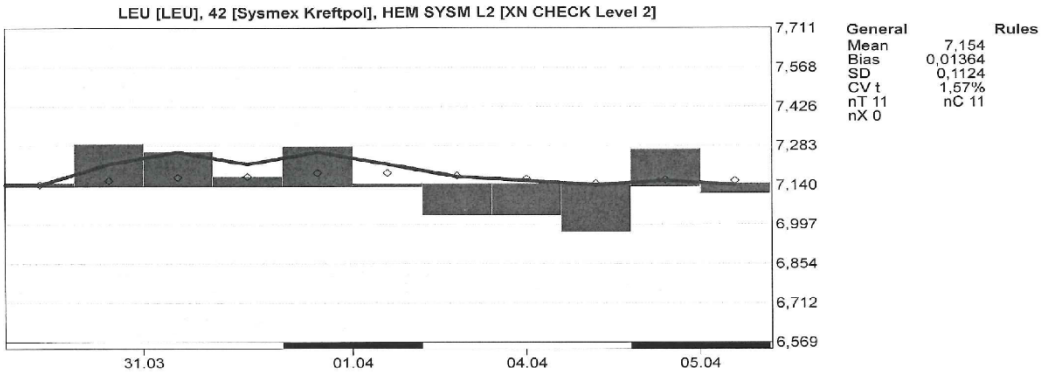
Kontroll for PLT-F



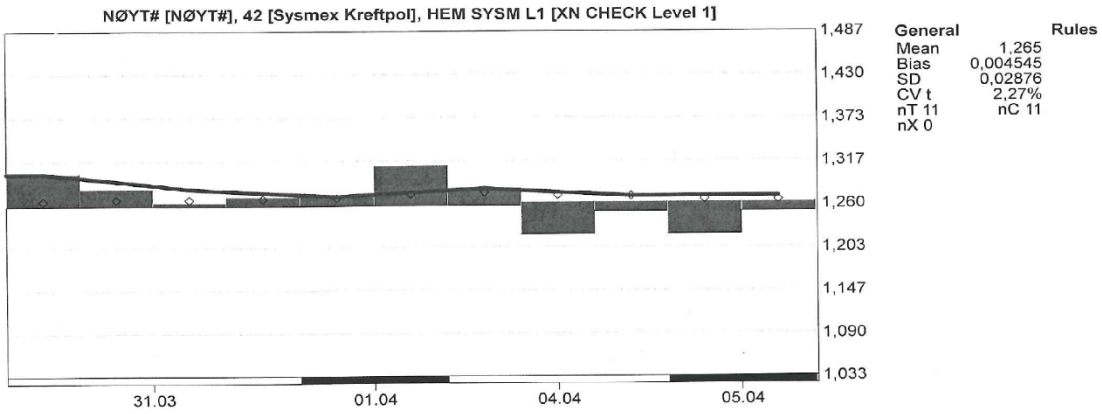


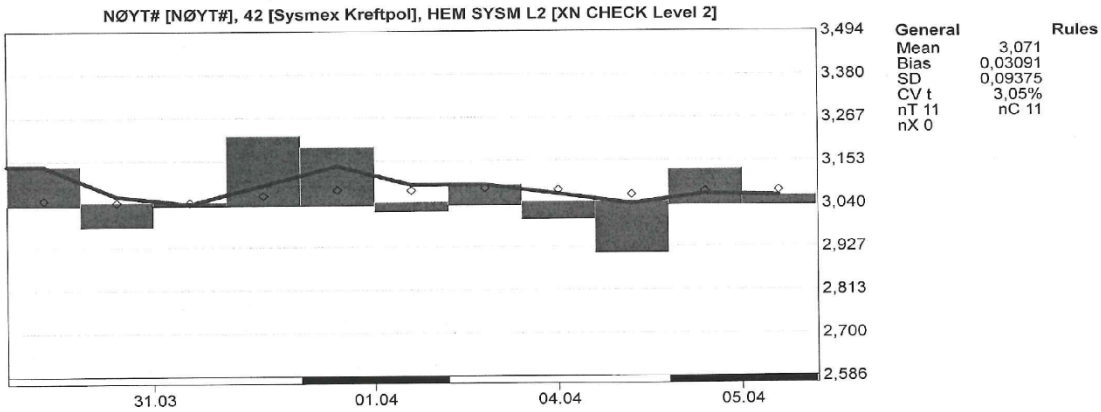
Kontroll for leukocytter



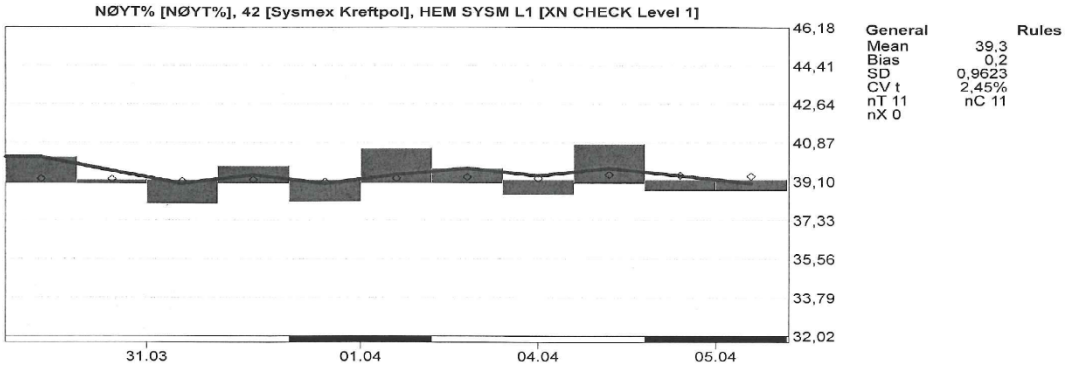


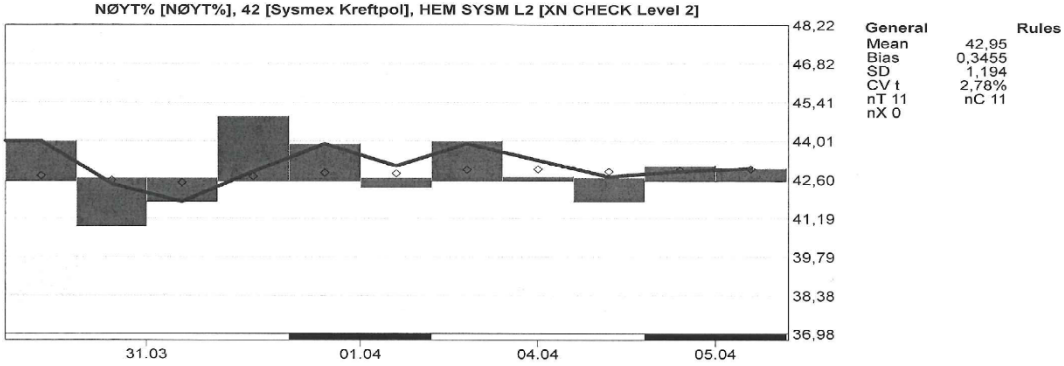
Kontroll for nøytrofile granulocytter





Kontroll for nøytrofile granulocytter





Vedlegg 10 Formler brukt i statistisk metode

1. $$\overline{X} = \frac{\sum_{i=1}^{n} Xi}{n}$$

2. $$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

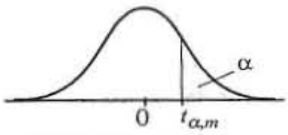
3. $$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

4. $$tobs = |\overline{Xd}| \ \frac{\sqrt{n}}{Sd}$$

Vedlegg 11 Kvantiltabell for t-fordeling

F. Kvantiltabell for t-fordelinger

Tabellen viser α-kvantilen $t_{\alpha,m}$, slik at $P(T > t_{\alpha,m}) = \alpha$
($m = n - 1$ = antall frihetsgrader).



	α										
m	0,4	0,25	0,2	0,1	0,05	0,025	0,02	0,01	0,005	0,0025	0,0005
1	0,325	1,000	1,376	3,078	6,314	12,706	15,895	31,821	63,657	127,32	636,59
2	0,289	0,816	1,061	1,886	2,920	4,303	4,849	6,965	9,925	14,089	31,598
3	0,277	0,765	0,978	1,638	2,353	3,182	3,482	4,541	5,841	7,453	12,924
4	0,271	0,741	0,941	1,533	2,132	2,776	2,999	3,747	4,604	5,598	8,610
5	0,267	0,727	0,920	1,476	2,015	2,571	2,757	3,365	4,032	4,773	6,869
6	0,265	0,718	0,906	1,440	1,943	2,447	2,612	3,143	3,707	4,317	5,959
7	0,263	0,711	0,896	1,415	1,895	2,365	2,517	2,998	3,499	4,029	5,408
8	0,262	0,706	0,889	1,397	1,860	2,306	2,449	2,896	3,355	3,833	5,041
9	0,261	0,703	0,883	1,383	1,833	2,262	2,398	2,821	3,250	3,690	4,781
10	0,260	0,700	0,879	1,372	1,812	2,228	2,359	2,764	3,169	3,581	4,587
11	0,260	0,697	0,876	1,363	1,796	2,201	2,328	2,718	3,106	3,497	4,437
12	0,259	0,695	0,873	1,356	1,782	2,179	2,303	2,681	3,055	3,428	4,318
13	0,259	0,694	0,870	1,350	1,771	2,160	2,282	2,650	3,012	3,372	4,221
14	0,258	0,692	0,868	1,345	1,761	2,145	2,264	2,624	2,977	3,326	4,140
15	0,258	0,691	0,866	1,341	1,753	2,131	2,249	2,602	2,947	3,286	4,073
16	0,258	0,690	0,865	1,337	1,746	2,120	2,235	2,583	2,921	3,252	4,015
17	0,257	0,689	0,863	1,333	1,740	2,110	2,224	2,567	2,898	3,222	3,965
18	0,257	0,688	0,862	1,330	1,734	2,101	2,214	2,552	2,878	3,197	3,922
19	0,257	0,688	0,861	1,328	1,729	2,093	2,205	2,539	2,861	3,174	3,883
20	0,257	0,687	0,860	1,325	1,725	2,086	2,197	2,528	2,845	3,153	3,849
21	0,257	0,686	0,859	1,323	1,721	2,080	2,189	2,518	2,831	3,135	3,819
22	0,256	0,686	0,858	1,321	1,717	2,074	2,183	2,508	2,819	3,119	3,792
23	0,256	0,685	0,858	1,319	1,714	2,069	2,177	2,500	2,807	3,104	3,768
24	0,256	0,685	0,857	1,318	1,711	2,064	2,172	2,492	2,797	3,091	3,745
25	0,256	0,684	0,856	1,316	1,708	2,060	2,167	2,485	2,787	3,078	3,725
26	0,256	0,684	0,856	1,315	1,706	2,056	2,162	2,479	2,779	3,067	3,707
27	0,256	0,684	0,855	1,314	1,703	2,052	2,158	2,473	2,771	3,057	3,690
28	0,256	0,683	0,855	1,313	1,701	2,048	2,154	2,467	2,763	3,047	3,674
29	0,256	0,683	0,854	1,311	1,699	2,045	2,150	2,462	2,756	3,038	3,659
30	0,256	0,683	0,854	1,310	1,697	2,042	2,147	2,457	2,750	3,030	3,646
40	0,255	0,681	0,851	1,303	1,684	2,021	2,123	2,423	2,704	2,971	3,551
50	0,255	0,679	0,849	1,299	1,676	2,009	2,109	2,403	2,678	2,937	3,496
60	0,254	0,679	0,848	1,296	1,671	2,000	2,099	2,390	2,660	2,915	3,460
80	0,254	0,678	0,846	1,292	1,664	1,990	2,088	2,374	2,639	2,887	3,416
120	0,254	0,677	0,845	1,289	1,658	1,980	2,076	2,358	2,617	2,860	3,373
∞	0,253	0,674	0,842	1,282	1,645	1,960	2,054	2,326	2,576	2,807	3,291

Vedlegg 12 Utstyr

Utstyr til blodprøvetaking

- Grønn kanyle
- Engangs kanyleholder
- Alcotipp desinfeksjonsmiddel
- Plaster
- Tupfer
- Stase
- EDTA prøverør

Øvrig utstyr

- Analysemaskin Sysmex XN-1000
- Rack og stativ
- Stoppeklokke
- Etiketter

Vedlegg 13 Reagenser

Reagenser vi brukte til Sysmex XN-1000

- Cellpack DCL
- Cellpack DFL
- Lysercell WNR
- Fluorocell WNR
- Lysercell WDF
- Fluorocell WDF

Vedlegg 14 Analysemodus på Sysmex XN-1000

Analysemodus	Beskrivelse	Merknader
Fullblod modus	Ved analyse av fullblod	• Antikoagulasjonsagens tilsettes • Manuell analyse/ prøvetakeranalyse • Denne modusen velges automatisk ved prøvetakeranalyse
Low WBC Modus ved lavt antall leukocytter	Lav WBC analyseres i WDF-kanalen med 3 ganger så høyt målevolum. For å få en bedre presisjon i lavt området.	• Antikoagulasjonsagens tilsettes • Manuell analyse • Prøvetakeranalyse ved reflex-testing når WBC < 1x10^9/L
BF, Body Fluid-modus Kroppsvæske	Brukes for analyse av kroppsvæsker. Cerebrospinalvæske Leddvæske Pleuravæske Ascitesvæske CAPDvæske	• Kun manuell analyse.

Fullblod analysemodus for våre utvalgte parameter:

Parameter	Analyse kanal	Analyse prinsipp	Betilt Analyse
PLT-F	PLT-F, egen anakysekanal	Fluorescens flowcytometri	PLT-F
PLT-I	RBC/PLT kanal	Impedans med Sheat flow DC detection mode.	CBC + DIFF

Leukocytter	WNR kanal	Fluorescens flowcytometri	CBC + DIFF
Nøytrofile granulocytter	WDF kanal	Fluorescens flowcytometri	CBC + DIFF

Referanseliste

1. *Blodprøvetaking – utstyr og teknikker (Versjon 2013)* Prosedyreperm for faget BI101305 Medisinsk laboratorieteknologi, redaktør: Willy Sæther, medforfattere: Anne Røsvik og Heidi Engstrøm

2. A. Husøy (2005) *Blodprøvetaking i praksis* 1.utg. Kap.1 *Prøvetaking og preanalytiske forhold* A. Husøy, Akribe as

3. Samples: From the Patient to the laboratory - The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results 2nd edition 2001 W.G.Guder, S.Narayanan, H.Wisser, B.Zawta s54 special aspects with each analyte

4. Direkte sitert fra: https://helsedirektoratet.no/samhandlingsreformen/oyeblikkelig-hjelp-dogntilbud-i-kommunen (hentet 14.04.16)

5. Sand, Sjaastad, Haug og Bjålie (2006) *Menneskekroppen Fysiologi og anatomi,* 2. utgave, kap. 2 *Celler* Sand, Sjaastad, Haug og Bjålie Gyldendal akademisk

6. Anne Marie Reitan Tore Kr. Schjølberg (2000) *Kreftsykepleie, Pasient-utfordring-handling,* del II generell onkologi *Generell onkologi,* Ole Nome, Akribe forlag AS

7. https://curato.no/undersokelser *(hentet 31.04.2016)*

8. Rodak, Fritsma og Keohane (2012) *Hematology clinical principles and applications,* 4 utg. Kap 13 *Platelet Production, Structure and Function* George A. Fritsma, Elsevier Saunders

9. http://ec.estalos.com/trombocytose *(hentet 05.04.2016)*

10. http://nhi.no/forside/animasjoner/blod-og-lymfe/lavt-antall-blodplater-32301.html *(hentet 06.04.2016)*

11. Rodak, Fritsma og Keohane (2012) *Hematology clinical principles and applications*, 4 utg. Kap. 12 Leukocyte *Development, Kinetics, and functions* Anne Stiene-Martin, Elsevier Saunders.

12. www.memrise.com/mem/3242384/platelets/ *(hentet 08.04.2016)*

13. Rodak, Fritsma og Keohane (2012) *Hematology clinical principles and applications*, 4 utg. Kap. 39 *Automated Cell-Counting Instrumentation,* Sharral Longanbach, Deanne H. Chapman, Martha K. Miers, Elsevier Saunders.

14. Tor Lea (2006) *Immunologi og immunologiske teknikker* 3 utg. Kap. 3 *Første forsvarslinje* Tor Lea, Fagbokforlaget

15.http://dccdn.de/pictures.doccheck.com/images/ff4/f2b/ff4f2b5d2d7e660a7a6f2f391eadae42/61308/m_1407855922.jpg *(hentet 15.04.2016)*

16. http://www.draxelrad.com/wp-content/uploads/2015/03/Human-White-Blood-Cell-Neutro-68460559.jpg *(hentet 15.04.2016)*

17. https://www.sysmex.com/us/en/Brochures/XN-1000%20R%20Change%20the%20Way%20You%20Perform%20Hematology.pdf (08.04.16)

18. http://www.labcompare.com/10-Featured-Articles/162042-Hematology-Analyzers-From-Complete-Blood-Counts-to-Cell-Morphology/ *(hentet 08.04.2016)*

19. Håskjold, Myklebust, Strømsheim (2016)Prosedyre for Trombocytter i fullblod Versjon 2.0 *Analyseprinsipp Sysmex XN-1000.* Avdeling for medisinsk biokjemi, seksjon Ålesund *(Fått utskrift 31.03.2016)* Beskyttet åndsverk, kan fremvises ved forespørsel.

20. http://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/measurement-technologies/dc-sheath-flow-detection-method.html *(hentet 21.04.2016)*

21. www.sysmex-europe.com *(hentet 22.04.2016)*

22. Hiromichi Matsushita Department of laboratory medicine, Tokai University school of medicine. (2011) *Sysmex XN-Series Clinical Case Report Vol.1* 1 utg., Sysmex Corporation Scientific Affairs, soyink

23. http://ajcp.oxfordjournals.org/content/140/4/495 *(hentet 25.04.2016)*

24. https://www.ucviden.dk/student-portal/files/21142920/professionsbachelorprojekt_Studnr.32110543.pdf *(hentet25.04.2016)*

25. Morten Helbæk (2001) Statistikk for kjemikere 1.utg. Kap.2 Sannsynlighet og sannsynlighetsfordelinger Morten Helbæk, Tapir akademisk forlag

26. Morten Helbæk (2001) Statistikk for kjemikere 1.utg. Kap.3 Statistiske tester og konfidensintervall Morten Helbæk, Tapir akademisk forlag