

10008
10020
10023
10028

Sammenligne differensialtelling av leukocytter i kapillære og venøse prøver på HemoCue WBC DIFF, samt utføre en metodesammenligning av differensialtelling i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80

BI301305 - Bacheloroppgave i bioingeniørfag

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag

Veileder: Alm, Bente

Medveileder: Engstrøm, Heidi

Mai 2023

10008

10020

10023

10028

Sammenligne differensialtelling av leukocytter i kapillære og venøse prøver på HemoCue WBC DIFF, samt utføre en metodesammenligning av differensialtelling i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80

BI301305 - Bacheloroppgave i bioingeniørfag

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag

Veileder: Alm, Bente

Medveileder: Engstrøm, Heidi

Mai 2023

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Fakultet for naturvitenskap

Institutt for biologiske fag Ålesund



Kunnskap for en bedre verden

Sammendrag

Det ble gjennomført en sammenligning av differensialtelling (DIFF) av leukocytter (WBC) i venøst og kapillært blod på HemoCue WBC DIFF, samt en metodesammenligning av DIFF i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80. Hensikten var å kartlegge om det er overensstemmelse mellom resultatene av DIFF i venøst og kapillært blod. I tillegg var det ønskelig å undersøke om det er samsvar mellom DIFF på HemoCue WBC DIFF og NTNU Ålesund sitt gjeldende hematologiinstrument, ABX Pentra XL 80.

Til prosjektet ble det samlet inn og utført DIFF på prøver fra 51 deltakere i laboratoriet ved NTNU Ålesund. Av samtlige deltakere ble det tatt én kapillær prøve direkte i mikrokyvette og én venøs prøve i EDTA-rør (etylendiamintetraacetat). For å standardisere forsøket og minimere preanalytiske feil, ble det utarbeidet prosedyrer for prøvetaking og analyse på HemoCue WBC DIFF.

Ved sammenligningen av DIFF i kapillære og venøse prøver på HemoCue WBC DIFF var det god overensstemmelse, men dette gjaldt kun for analyttene total WBC og nøytrofile granulocytter. HemoCue WBC DIFF kan derfor ikke benyttes for en komplett fem-parts WBC DIFF, men heller som kontroll av total WBC og nøytrofile granulocytter. Ved metodesammenligning fremkom det god sammenheng mellom de to instrumentene når det gjaldt de to samme analyttene, total WBC og nøytrofile granulocytter.

Abstract

A comparison of the differential count (DIFF) of leukocytes (WBC) in venous and capillary blood was carried out on HemoCue WBC DIFF, as well as a method comparison of DIFF in venous samples on HemoCue WBC DIFF and ABX Pentra XL 80. The purpose was to map whether there is an agreement between the results of DIFF in venous and capillary blood. In addition, it was desirable to investigate if there was agreement between DIFF on HemoCue WBC DIFF and NTNU Ålesund current hematology instrument, the ABX Pentra XL 80.

For the project, samples from 51 participants were collected and analyzed in the laboratory at NTNU Ålesund. From all participants, one capillary sample was directly drawn into a microcuvette and one venous sample in an EDTA tube (ethylenediaminetetraacetic acid). In order to standardize the experiment and minimize preanalytical errors, procedures for sampling and analysis on the HemoCue WBC DIFF were created.

When comparing DIFF in capillary and venous samples on the HemoCue WBC DIFF, there was good agreement. However, this only applied to the analytes total WBC and neutrophil granulocytes. Therefore, we concluded that the HemoCue WBC DIFF cannot be used for a complete five-part WBC DIFF, but rather as a control for total WBC and neutrophil granulocytes. When comparing the methods, there was a good correlation between the two instruments when it came to the same two analytes, total WBC and neutrophil granulocytes.

Forord

Denne oppgaven er skrevet av fire bioingeniørstudenter ved NTNU Ålesund. Oppgavens innhold speiler studieløpet og kunnskapen vi har opparbeidet oss gjennom alle tre årene på veien mot å bli bioingeniører. Begrunnelsen for valg av oppgave er gruppens interesse for hematologi, samt oppgavens potensiale for fordypning i kombinasjon med anvendelse av tverrfaglig forkunnskap.

Arbeidet med prosjektet startet i begynnelsen av sjette semester. Vi benyttet åtte uker til forberedelse av praktisk gjennomføring. Dette innebar å sette seg inn i lignende prosjekter og faglitteratur, samt utarbeide prosedyrer og metoder for den praktiske gjennomføringen. Den praktiske gjennomføringen tok én uke, inkludert én testdag. I etterkant brukte vi syv uker på å skrive og ferdigstille oppgaven.

Vi ønsker å rette en stor takk til vår prosessveileder, universitetslektor Bente Alm, som har bistått med veiledning vedrørende oppgavens innhold og form, og førsteamanuensis Lutz Schwettmann, for veiledning vedrørende statistikk. I tillegg vil vi takke vår faglige veileder, overingeniør Heidi Engstrøm. En stor takk rettes også til avdeling for medisinsk biokjemi, spesielt hematologi, på Ålesund sykehus for bistand med anskaffelse og analyse av kontrollen. Til slutt vil vi takke alle deltakerne i prosjektet.

Innholdsfortegnelse

1 INTRODUKSJON	1
1.1 AVGRENSING AV PROBLEMSTILLING	1
1.1.1 Aidentifisering	2
2 TEORI	3
2.1 LEUKOCYTTER	3
2.2 DIFFERENSIALTELLING	5
2.2.1 Metoder for differensialtelling.....	6
2.2.2 Tolking av plott.....	6
2.3 HEMOCUE WBC DIFF	7
2.3.1 Analyseprinsippet til HemoCue WBC DIFF.....	8
2.3.2 Kvalitetssikring av HemoCue WBC DIFF.....	9
2.4 ABX PENTRA XL 80	9
2.5 PREANALYTISKE VARIABLER	10
2.6 STATISTIKK	11
2.6.1 Statistisk fremstilling	12
3 MATERIALER OG METODER	14
3.1 MATERIALER	14
3.1.1 Innsamling av prøver.....	15
3.2 METODER	15
3.2.1 Kvalitetssikring.....	15
3.2.2 Sammenligning av kapillære og venøse prøver	16
3.2.3 Metodesammenligning av venøse prøver.....	16
3.2.4 Statistiske metoder.....	16
3.2.5 Biologisk variasjon.....	16
4 RESULTATER	18
4.1 SAMMENLIGNING AV PRØVEMATERIALE	18
4.2 METODESAMMENLIGNING	26
5 DISKUSJON	34
6 KONKLUSJON	39
7 LITTERATURLISTE	40
VEDLEGG	44

1 Introduksjon

Differensialtelling (DIFF) avdekker fordelingen av leukocytter, og benyttes blant annet til behandlingskontroller og i utredning av hematologiske sykdommer. Analysen gjennomføres som rutinearbeid i større laboratorier, men instrumenter som HemoCue WBC DIFF har gjort DIFF lettere tilgjengelig for helsetjenesten utenfor sykehus. Instrumentet utfører fem-parts DIFF i både venøst og kapillært blod som pasientnær analyse (PNA). PNA kan effektivisere og forbedre det desentraliserte behandlingstilbudet, ettersom differensialtelling hovedsakelig blir utført av automatiserte instrumenter basert på flowcytometri i større laboratorier. NTNU Ålesund har gått til anskaffelse av HemoCue WBC DIFF, og i den forbindelse er det ønskelig å kartlegge overensstemmelsen mellom resultatene av DIFF i venøst og kapillært blod. I tillegg er det hensiktsmessig å sammenligne resultatene fra DIFF av hvite blodlegemer (WBC) på det nye instrumentet med laboratoriets gjeldende instrument, ABX Pentra XL 80.

Denne oppgaven er todelt og tar for seg både sammenligning av prøvemateriale på HemoCue WBC DIFF, og en metodesammenligning mellom HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80. Hovedvekten av oppgaven er sammenligningen av DIFF i venøst og kapillært blod på HemoCue WBC DIFF.

Opgaven er gitt av Institutt for biologiske fag ved NTNU Ålesund. Problemstillingen er utarbeidet i samråd med veiledere for oppgaven og lyder som følger; «Sammenligne differensialtelling av leukocytter i kapillære og venøse prøver på HemoCue WBC DIFF, samt utføre en metodesammenligning av differensialtelling i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80». For å sikre god helse, miljø og sikkerhet gjennom prosjektet er det utarbeidet en risikoanalyse (vedlegg 1).

1.1 Avgrensning av problemstilling

Ved gjennomføring av en forskningsbasert oppgave er det ønskelig å samle inn data over et bredest mulig område for å øke generaliserbarheten. Dette inkluderer også data utenfor normalområdet. Når det er sagt, er det ikke alltid slik at teori og praksis er forenelig. Deltakerne som er med i dette prosjektet er i hovedsak friske mennesker, og derfor er forventningen at de fleste resultatene vil ligge innenfor analysens referanseområde. Denne

begrensningen er satt av to hovedgrunner; den ene er at det ville være utfordrende å samle inn ferske kapillære og venøse prøver fra pasienter med patologiske resultater, i tillegg til at metoden blir mindre standardisert med tanke på prøvetaking, transport av prøver og tid før analyse. Den andre hovedgrunnen er at formålet med oppgaven er å sammenligne resultatene av DIFF fra kapillært og venøst blod, og dermed er ikke prøvesvarene i seg selv interessante, men heller eventuelle avvik mellom de to prøvematerialene (1).

1.1.1 Aidentifisering

Oppgaven er avhengig av frivillige deltakere som kan bidra til prosjektet i form av å bli tatt blodprøve av. At det benyttes biologisk materiale og sensitive personopplysninger betyr at det stilles krav til hvordan disse håndteres og lagres. Valget stod mellom å anonymisere eller å aidentifisere deltakerne. Ifølge personvernhandboken for forskning kan opplysninger kun kalles anonyme om de ikke på noe som helst tidspunkt under innsamlingen kan spores tilbake til enkeltpersoner. Altså at deltakerne ikke oppgir opplysninger som navn, alder, bosted, eller liknende som kan gjøre at personen kan identifiseres. For oss er det viktig å gi deltakerne mulighet til å trekke seg, og dermed blir det opprettet en kobling som gjør at resultatet kan spores tilbake til personen, slik at dataene og resultatene kan slettes. Derfor er det valgt å aidentifisere opplysninger, i stedet for å anonymisere (2). Det er laget et samtykkeskjema (vedlegg 2) der deltakerne må gi skriftlig samtykke til deltakelse og at de har lest og forstått prosjektets omfang.

2 Teori

I denne delen vil teorien som er benyttet som grunnlag for oppgaven beskrives. Alle hensyn, begrensninger og avgjørelser som er tatt i forbindelse med arbeidet er basert på forskning og litteratur som kommer frem i denne delen. Teoridelen danner utgangspunktet for vurdering av resultater og støtter konklusjonen.

2.1 Leukocytter

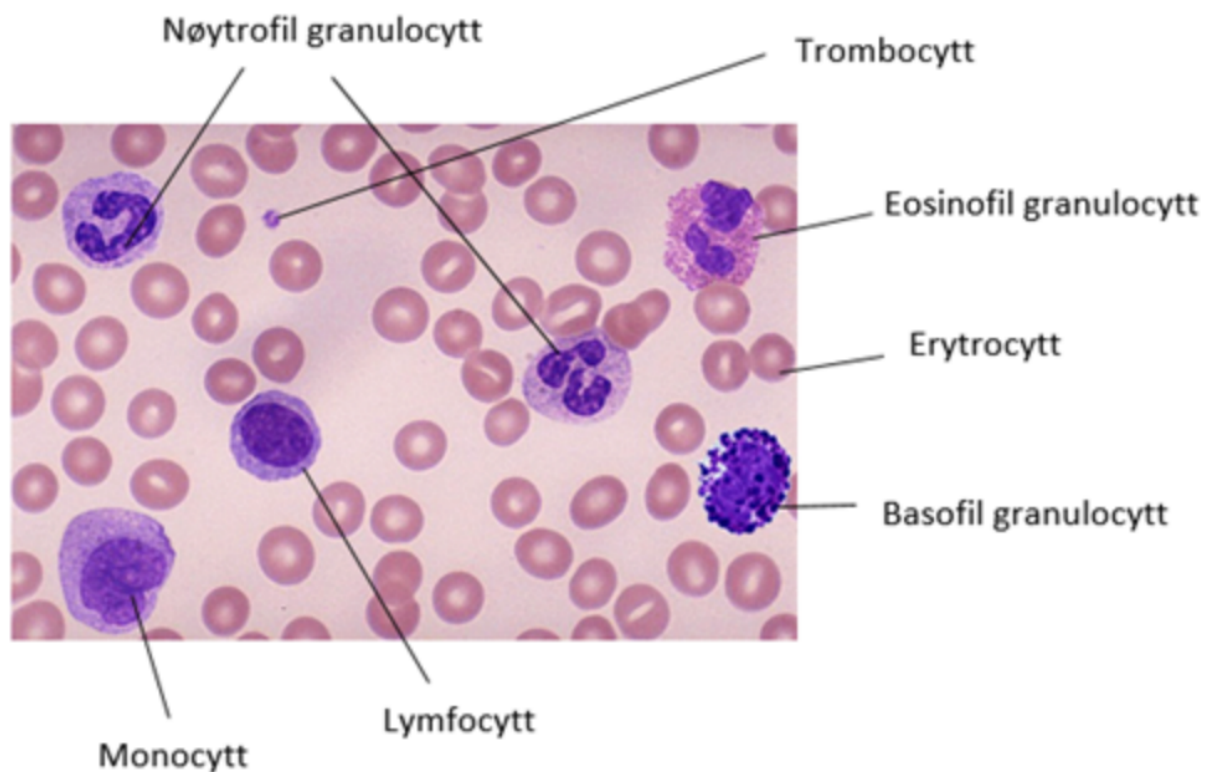
Leukocytter er kroppens viktigste forsvarsmekanisme mot fremmede organismer som bakterier, virus, parasitter og sopp. I tillegg fjerner leukocytter rester av døde og ødelagte celler (3). Leukocytter blir ofte delt inn i to hovedgrupper; segmentkjernede granulocytter og mononukleære celler. Segmentkjernede granulocytter har granulert cytoplasma og uregelmessig, lappedelt cellekjerne. Leukocytter som inngår i denne hovedgruppen er nøytrofile, eosinofile og basofile granulocytter. Det er mulig å skille segmentkjernede granulocytter ved farging, ettersom granula farges ulikt i de forskjellige granulocyttene. Lymfocytter og monocytter blir klassifisert som mononukleære celler, som er celler med rund cellekjerne og cytoplasma uten granula (4).

Total mengde hvite blodlegemer, samt fordelingen av dem, gir viktig informasjon om helsestatusen vår. Sykdommer som leukemi, autoimmune sykdommer, immundefekter og blodsykdommer kan diagnostiseres basert på DIFF av leukocytter (5).

Tabell 1: Oversikt over de ulike leukocytterne, samt deres størrelse, beskrivelse av kjerne og granula, prosentvis andel i kroppen og referanseområde (3, 6, 7, 8).

Leukocytter	Størrelse i diameter	Kjernen	Granula	Prosentandel sirkulerende leukocytter i kroppen	Referanseområde voksne (>12 år) ($\times 10^9/L$)
Nøytrofile granulocytter	10 – 12 μm	Lappedelt cellekjerne (ofte 2 – 5 segmenter)	Granula	40 – 80%	2,0 – 7,0
Eosinofile granulocytter	10 – 12 μm	Nyreformet cellekjerne (ofte 2 segmenter)	Grovt granula som farges rødt av eosin	1 – 6%	0,02 – 0,5
Basofile granulocytter	10 – 12 μm	Nyreformet cellekjerne	Store granula som farges mørkeblått med basiske fargestoffer	1%	0,02 – 0,1
Lymfocytter	6 – 10 μm	Liten og rund cellekjerne	Ingen granula	40%	1,0 – 3,0
Monocytter	10 – 15 μm	Stor asymmetrisk cellekjerne	Ingen granula	4 – 6%	0,2 – 1,0
Total WBC					4,0 – 10,0

Tabell 1 viser en oversikt over karakteristiske trekk ved de ulike leukocytterne. Tabellen viser referanseområde for individer over 12 år, da alle deltakere i prosjektet faller innenfor denne subgruppen. Verdiene er hentet fra brukermanualen til HemoCue WBC DIFF. Leukocyttenes karaktertrekk beskrevet i tabell 1 er illustrert i figur 1.



Figur 1: Normale celler i et blodutstryk sett under mikroskop. Utstryket er farget med May-Grünwald-Giemsa, som er den mest brukte fargemetoden for å fremheve de ulike strukturene i hvite blodlegemer, samt farging av erytrocytter og trombocytter (9).

2.2 Differensialtelling

Differensialtelling er en av de vanligste laboratorieanalysene som gjennomføres på sykehus. Det benyttes for å bestemme den prosentvise fordelingen av ulike typer hvite blodlegemer. Resultatene av DIFF inngår i evalueringen av leukocytproduksjonen i beinmargen for å utrede eller kontrollere hematologiske sykdommer, infeksjoner og allergiske lidelser. Ulike typer infeksjoner og andre tilstander kan kjennetegnes med en unormal fordeling av hvite blodlegemer. Faktorer som ikke er patologiske, men som likevel kan påvirke fordelingen av leukocytter, er blant annet alder og graviditet. Resultatene vil derfor bli vurdert ut ifra referanseområder (tabell 1) som tar hensyn til disse faktorene (10).

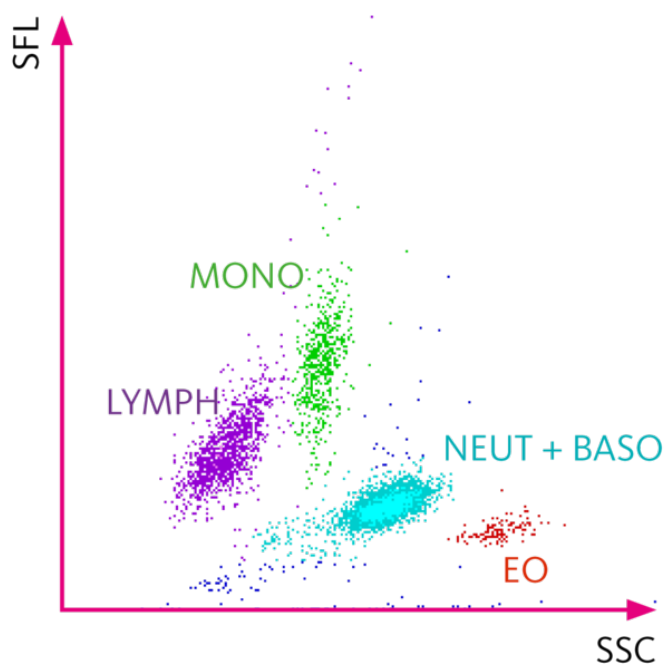
2.2.1 Metoder for differensialtelling

Blodutstryk er en manuell metode for differensialtelling, som krever mye tid og erfaring. Metoden gjennomføres ved å manuelt differensialtelle 100 – 200 leukocytter ved bruk av tellekammer og mikroskop (11).

En mer presis og standardisert metode for differensialtelling er flowcytometri. Dette er det dominerende analyseprinsippet innen sykehushematologi, ettersom det minimerer feilkilder som skyldes menneskelige feil. Flowcytometri benytter hydrodynamisk fokusering for å føre celler eller partikler enkeltvis gjennom flowcytometeret. Dette blir gjort ved at prøven aspireres inn i instrumentet. Prøven blir omgitt av en væske med en annen hastighet enn prøven (sheath væske), slik at de ikke blandes. Prinsippet til instrumentet baserer seg på grad og mengde av spredt lys, som resultat av at cellene passerer en laser som har en bestemt bølgelengde. Ulike detektorer benyttes for å differensiere de ulike cellene. Cellens størrelse måles ved å detektere lysspredning. Forward-scatter benyttes blant annet til å bestemme cellens størrelse, og side-scatter til å si noe om cellens indre kompleksitet (12). Lyssignal detekteres av fotodioder og fotomultiplikatorrør som omdanner spredt lys og fluorescens til elektroniske signal. Informasjonen blir behandlet av et datasystem som lager et spredningsdiagram (13).

2.2.2 Tolking av plott

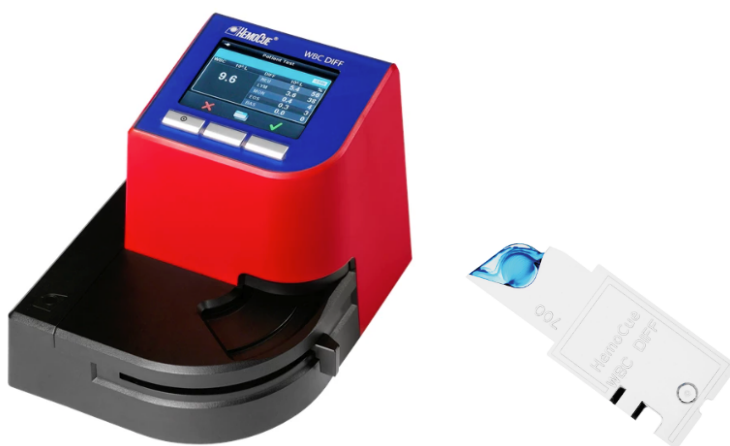
I spredningsdiagrammet blir hver leukocyttopulasjon representert med en unik farge, slik at det er lettere å visualisere fordelingen av populasjonene. Ett punkt i et slikt plot representerer én celle, og posisjonen til punktet er avhengig av de to variablene som blir målt (størrelse og kompleksitet) (figur 2). Side-scatter vises på diagrammets x-akse og forward-scatter vises på y-aksen. (13).



Figur 2: Spredningsdiagram som visualiserer hvor de ulike leukocyttypopulasjonene i en normal prøve befinner seg. Monocyttene er store celler og vil derfor befinne seg høyt på y-aksen, men grunnet manglende granula finnes de til venstre på x-aksen. Eosinofile granulocytter er derimot små celler som inneholder mye granula, og cellene vil derfor befinne seg lavt på y-aksen, og forskjøvet til høyre på x-aksen (14).

2.3 HemoCue WBC DIFF

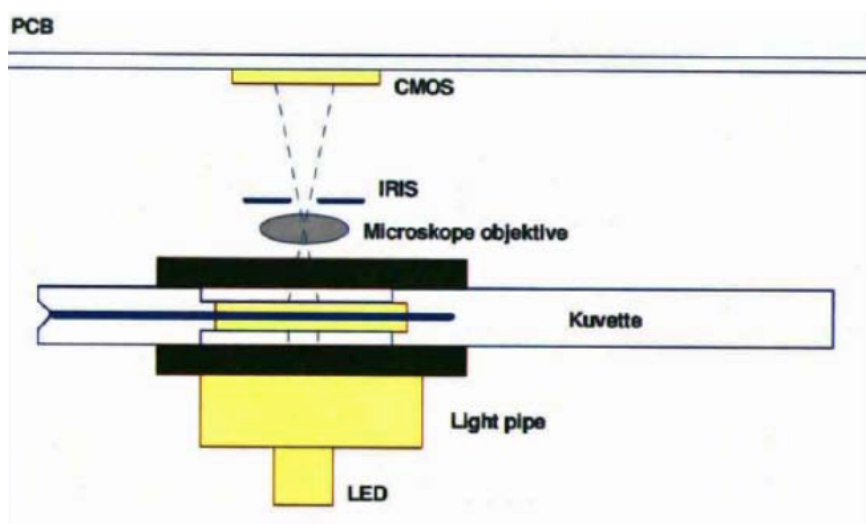
HemoCue WBC DIFF er et lite instrument som benyttes i *in vitro* diagnostikk til konsentrasjonsbestemmelse av leukocytter i blodet (figur 3). Instrumentet kan utføre telling av total WBC og fem-parts DIFF. Analysetiden er inntil fem minutter. På grunn av instrumentets tilgjengelighet og enkelhet, får primærhelsetjenesten mulighet til nærmere og raskere oppfølging av sine pasienter (8).



Figur 3: HemoCue WBC DIFF og HemoCue WBC DIFF Microcuvette (15, 16).

2.3.1 Analyseprinsippet til HemoCue WBC DIFF

HemoCue WBC DIFF Microcuvetter er spesialdesignede mikrokyvetter som kan benyttes for både kapillært og venøst blod (figur 3) (8). Mikrokyvetten rommer 10 μL blod, og plasseres i instrumentet for analysering. Fyllingsgraden til mikrokyvetten har feilmargin på $\pm 0.2 \mu\text{L}$ (17). Prinsippet for differensialtelling av hvite blodlegemer på HemoCue WBC DIFF er vist i figur 4, og baserer seg på bildeanalyse av cellene i instrumentet. I mikrokyvetten blir røde blodlegemer hemolysert av reagensene Triton X-100 og saponin, og kjernene til de hvite blodlegemene blir farget med metylenblå (18). I instrumentet blir det tatt bilder av cellene i mikrokyvetten, og det blir brukt bildegjenkjenning for å identifisere de ulike hvite blodlegemene. Dette skjer i en CMOS-sensor (Complementary metal oxide semiconductor), som muliggjør digital prosessering ved å omdanne fotoner til elektroner (figur 4) (19). Under CMOS-sensoren er det en lysemitterende diode (LED) som belyser cellene, slik at cellene kommer tydeligere frem på bildene. Deretter blir konsentrasjonen av de ulike cellene beregnet. Dersom mikrokyvetten ikke er korrekt fylt, eller det oppdages abnormale celler, oppgis en feilmelding på instrumentets skjerm. Andre årsaker til feilmeldinger kan for eksempel være luftbobler eller ukjente artefakter i prøven. I tillegg markeres patologiske svar med en gul varseltrekant. Laveste leukocyttkonsentrasjon som kan detekteres er $0,3 \times 10^9$ leukocytter per liter, og analyttkonsentrasjonene blir bare oppgitt med én desimal (8).



Figur 4: Analyseprinsippet til HemoCue WBC DIFF. En lyskilde under mikrokyvetten fører til at cellene kommer tydelig frem på bildene. Mellom mikrokyvetten og kamera er det et mikroskopobjektiv som forstørrer cellene på bildene. PCB (polychlorinated biphenyls) er isolasjon i det elektriske utstyret (20, 17).

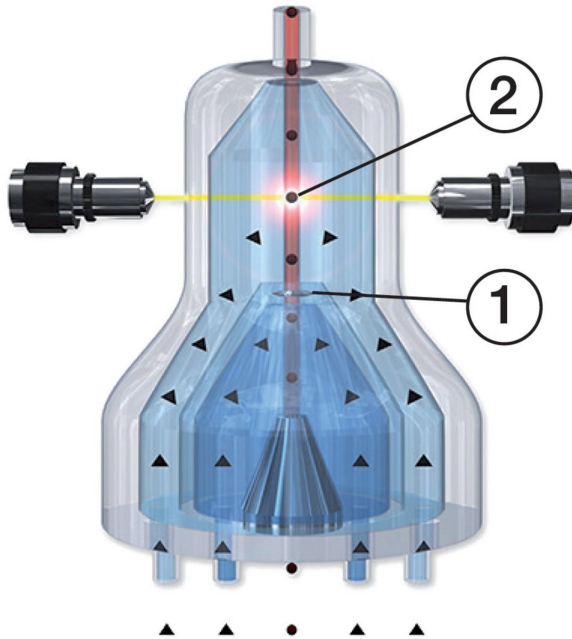
2.3.2 Kvalitetssikring av HemoCue WBC DIFF

Ved oppstart utfører instrumentet en selvtest. Dersom selvtesten ikke godkjennes, vil det vises en feilmelding på instrumentets skjerm. For å sikre pålitelige prøvesvar blir det i tillegg analysert en kontroll hver dag, hvor kontrollresultat blir sammenlignet med gitte verdier fra produsenten. En oversikt over hvor store avvik kontrollen kan ha for å godkjennes er hentet fra HemoCue AB. Mer spesifikt er det total WBC, nøytrofile granulocytter og lymfocytter som blir kontrollert (vedlegg 3). Ved paralleller av total WBC er avvik på inntil 15% som er akseptert. For nøytrofile granulocytter er avvik inntil 20% akseptert, og for lymfocytter er avvik inntil 25% akseptert.

Ved valg av kontrollmateriale er det viktig å ta hensyn til konsentrasjonen av analyttene. Dette er fordi en kontroll med helt annen analyttkonsentrasjon enn pasientprøvene ikke vil være relevant, og heller ikke kan benyttes for å godkjenne eller forkaste pasientprøver (1).

2.4 ABX Pentra XL 80

ABX Pentra XL 80 er et helautomatisk hematologisk instrument, som benyttes i kliniske laboratorier til differensialtelling av leukocytter, samt analyse av en rekke andre parametere. Instrumentet benytter strømningscytometri, som er en form for flowcytometri. Prøven blir aspirert inn i sheath væske før den passerer en laser. Cellevolum blir målt ved impedansendring (endring i motstand) og kompleksitet blir målt som følge av målt lysspredning (figur 5). Informasjonen blir bearbeidet av et datasystem som lager spredningsdiagram. Deteksjonsgrensen satt av leverandøren er $4,0 - 10,0 \times 10^3$ leukocytter per μL (21).



Figur 5: Skjematisk prinsipp til strømningscytometri i ABX Pentra XL 80. Det er et «Double Hydrodynamic Sequential System» (dobbel hydrodynamisk sekvenssystem). Punkt 1 måler impedansendringer (cellevolum) og punkt 2 måler cellens kompleksitet (22).

2.5 Preanalytiske variabler

Den preanalytiske fasen regnes som den mest sårbare delen av analyseprosessen, ettersom to tredeler av alle laboratoriefeil oppstår i denne fasen. Preanalytiske variabler kan føre til tapt diagnose, feildiagnose og forsinket diagnose, som i sin tur kan føre til pasientskade og økte utgifter for helsevesenet (23).

Venøse blodprøver som skal differensialtelles blir tatt i EDTA-rør (etylendiamintetraacetat). Disse rørene inneholder saltet dikalium EDTA, som er en antikoagulant anbefalt for hematologiprøver av International Council for Standardization in Haematology. Anbefalingen skyldes saltets effektivitet til å bevare cellulær morfologi. EDTA-rørene bør ikke fylles mindre enn 10% av det oppgitte volumet. En feilkilde ved underfylte rør er at gjenværende vakuum kan lysere cellene. Dette kan i midlertidig unngås ved å åpne korken på underfylte rør for å frigjøre overskudd av vakuum. Det er viktig å blande prøven godt etter prøvetaking for at blodet skal reagere med tilsetningsstoffene, samt unngå koagulasjon. Hos enkelte individer kan EDTA forårsake pseudotrombocytopeni (trombocyttaggregering). Dette kan gi opphav til feiltolkning av resultater, ettersom de fleste instrumenter som brukes til celledelling ikke klarer å skille mellom trombocyttaggregat og leukocytter. Trombocyttaggregatene kan

derfor bli talt som hvite blodlegemer, som resulterer i falsk leukocytose og falsk trombocytopeni. Stabiliteten til hematologiske parametere endres over tid, og generelt sett bør EDTA-prøver lagres i romtemperatur og analyseres innen 6 timer (23). Ved gjennomføring av DIFF er det anbefalt å vente i minst 10 minutter etter prøvetaking før prøven analyseres, slik at komponentene i prøven skal stabilisere seg. Det er vist signifikant differanse i analyttkonsentrasjon ved analysering av DIFF etter 12 timer henstand i romtemperatur, i forhold til ved analysering 10 minutter etter prøvetaking (24). Dersom anbefalingen om oppbevaring i romtemperatur ikke overholdes, kan det medføre konsekvenser som celle- og kuldeaggregering (25). Prøver som er oppbevart ved 4 – 10 ° C er holdbare inntil 48 timer ved DIFF (24). Dersom prøven blir stående en stund før analysering, vil bestanddelene i blodet skille seg grunnet tyngdekraften. Erytrocyttene vil synke til bunns, mens plasma og hvite blodlegemer vil befinne seg lengre oppe. For å sikre en homogen prøve er det viktig å vende prøven også rett før analysering.

Ved kapillær prøvetaking er det andre preanalytiske variabler som har innvirkning på prøveresultatet enn ved venøs prøvetaking. Hemolyse forårsaket av vakuum i prøverør unngås da kapillære prøver ikke tas på vakuumsprøve, men kan heller oppstå som følge av overdreven klemming på fingeren ved prøvetaking. Vevsskade grunnet klemming eller upresis punksjon kan føre til at prøvematerialet fortynnes med plasma (26). Dersom det blir tatt flere stikk på samme finger, kan dette starte en immunrespons, som vil føre til økning i antall hvite blodlegemer. Disse faktorene kan føre til at kapillære prøver har økte verdier i forhold til venøse prøver, og dermed større avvik i sammenligningen av prøvemateriale (8).

2.6 Statistikk

Hensikten med en sammenligning er å vurdere om det er overenstemmelse mellom to variabler, i dette tilfellet mellom kapillært og venøst blod ved differensialtelling på HemoCue WBC DIFF. En sammenligning kan avdekke avvik mellom prøvematerialene, og i hvilken grad disse kan aksepteres. Ideelt sett skal avviket være null. I de fleste tilfeller er dette uoppnåelig og derfor må definerte grenser, som tar hensyn til sammenligningens karakter, inngå i vurderingen. Det er ønskelig å finne ut om avvikene er systematiske eller tilfeldige. Denne oppgaven tar også for seg en metodesammenligning hvor det foregår parallellanalysing. Det vil si at man analyserer samme pasientprøver med to metoder

(instrument), for å undersøke differansen og samsvaret mellom metodene. For å sikre et godt statistisk grunnlag for videre beregninger, er det anbefalt å samle inn mellom 20 og 40 prøver til en metodesammenligning (1).

Bias

Bias kan defineres som systematiske feil ved en analyse, hvor det forekommer et gjennomsnittlig avvik fra referanseverdien. Kvaliteten av en sammenligning kan vurderes ved å sette en grense for maksimal tillatt bias. Bias kan skyldes flere årsaker, deriblant feilkalibrerte instrumenter og måling ved feil temperatur (27). Årsakene som har størst betydning i dette prosjektet er beskrevet i Preanalytiske variabler (punkt 2.5).

Biologisk variasjon

Biologisk variasjon består av interindividuell- og intraindividuell biologisk variasjon. Interindividuell biologisk variasjon beskrives som variasjoner av komponenten mellom personer, og intraindividuell biologisk variasjon beskrives som variasjoner av komponenten i ett individ over en viss tid. Forandringene kan skyldes variasjoner i sammenheng med for eksempel tiden på døgnet, kroppsmasse, aktivitetsnivå, diett eller sitte-/liggestilling (27).

2.6.1 Statistisk fremstilling

Bland-Altman plot

Bland-Altman plot er et differanseplot som benyttes for å sammenligne to metoder som måler samme variabel, og statistisk fremstille hvor godt de to metodene samsvarer. Metoden anvendes hovedsakelig ved studier innen helse, biologi og analytisk kjemi. Bland-Altman plot er foretrukket i disse typer sammenligninger ettersom det gir et godt visuelt bilde av bias, og om den er konstant. Om den ene metoden alltid gir forhøyede resultater vil alle punktene i plottet ligge over null-linjen. Dersom det ikke er noe mønster og sammenheng mellom differansene av de to målingene, altså ingen konstant bias, vil punktene spres utover hele plottet, både under, over og på null-linjen (28). Bland-Altman plot kan kun si noe om hvor godt metodene samsvarer, men ikke om det er tilfredsstillende. Dette kommer av at det må stilles ulike krav til overensstemmelse mellom metodene avhengig av hvilken analytt de måler. De statistiske resultatene må derfor sees i sammenheng med klinisk signifikans. Den gjennomsnittlige differansen er definert som d . Standardavvik for gjennomsnittet er definert

som Sd . Om det er normalfordelt kan en forvente at 95% av resultatene ligger innenfor $-1,96 Sd$ og $+1,96 Sd$. Dette området er definert som LoA (Limits of Agreement) (29).

Passing-Bablok regresjonsanalyse

Dette er en type regresjonsanalyse som er mer robust for å avdekke slengere, samt tar hensyn til måleusikkerhet i x- og y-verdier, i motsetning til minste kvadraters metode. Dette kommer av at Passing-Bablok-metoden er ikke-parametrisk. I tillegg forutsetter den ikke at det er samme standardavvik ved alle nivå, og dermed trenger ikke y-verdiene å være normalfordelt rundt regresjonslinjen. På dette grunnlaget egner Passing-Bablok-metoden seg godt som regresjonsanalyse for denne oppgaven. Analysemetoden har noen usikkerheter da den er mindre presis i beregningen av regresjonsligninger, samt at den ikke kan benyttes om det ikke er rettlinjert sammenheng mellom x- og y-verdiene (1).

Korrelasjon

Korrelasjon forteller noe om sammenhengen mellom to målbare størrelser. I denne oppgaven vil en korrelasjonsanalyse kunne si noe om sammenhengen mellom målte verdier av venøst og kapillært blod ved analysering på HemoCue WBC DIFF. Korrelasjonsanalysen vil også benyttes for å undersøke sammenhengen mellom venøst prøvemateriale på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80. Siden det er urealistisk å tenke at verdiene vil bli eksakt like ved analyse på ulike instrumenter, er det ikke forventet at de fordeler seg på en rett linje. Det er heller interessant å undersøke hvor store avvik det er fra en rett linje. På denne måten finner man korrelasjonskoeffisienten, r . Denne verdien vil alltid være mellom 1 og -1.

Korrelasjonskoeffisient 1 og -1 tilsvarer total sammenheng, mens 0 indikerer at det ikke finnes noen lineær korrelasjon (30).

3 Materialer og metoder

Under denne inndelingen gis en oversikt over materialer som er benyttet i oppgaven. Metode, i form av instrumenter og datasystemer, blir også beskrevet, i tillegg til at prosedyrer og andre forhold blir avklart.

3.1 Materialer

Materialer som utstyr, dataprogrammer og instrumenter benyttet i prosjektet er fremstilt i tabell 2.

Tabell 2: Oversikt over utstyr benyttet i prosjektet. Dette inkluderer utstyr og instrument benyttet under laboratoriearbeid, samt dataprogrammer brukt til statistiske metoder.

Utstyr	Instrument	Dataprogram
<ul style="list-style-type: none">• HemoCue WBC DIFF Microcuvettes (LOT 2301005)• Vakuumrør K3 EDTA 4 mL Lilla (Vacuette)• Veneprevetakingskanyle med sikkerhetsskjold 0,8 × 32mm grønn (BD Vacutainer)• Veneprevetakingskanyle med sikkerhetsskjold 0,7 × 32mm sort (BD Vacutainer)• Kanyleholder engangs v/venøs prøvetaking (BC Vacutainer)• Tupfer (Mesoft)• Kirurgisk tape med dispenser (3M Micropore)• Kapillær lansett 21g × 1,8mm spiss rosa (BD Vacutainer)• Injeksjonstørk (Cutisoft wipes)• Engangshanske nitril M upudret blå (Tendercare)• Pipette 1,5 mL plast (Pasteur)• Stasebånd med lås kulørt (Kimetec)• Lab benk underlag 39 × 59 cm (OneMed AS)• Hånddesinfeksjon ANTIBAC 85% flyt. 600ml (Antibac)• Venøs EDTA-blod som kontroll fra sykehus	<ul style="list-style-type: none">• HemoCue WBC DIFF• ABX Pentra XL 80	<ul style="list-style-type: none">• Excel med Analyse-it

3.1.1 Innsamling av prøver

Blodprøvene i dette prosjektet ble tatt etter prosedyren «Manual for blodprøvetaking» (vedlegg 4). Prøvetaking foregikk på NTNU Ålesunds laboratorier, og det var i hovedsak studenter som deltok i prosjektet. Alle som deltok i prosjektet leste informasjon om hva prosjektet omhandlet, og gav sitt samtykke via samtykkeskjemaet (vedlegg 2). I samtykkeskjemaet var det også en spørsmålsdel. Svarene deltakerne ga vedrørende alder, kjønn og etnisitet, dannet grunnlaget for fordelingen av biologisk variasjon i prosjektet. Blodprøvene ble aidentifisert, og fikk tildelt et nummer som samsvarte med samtykkeskjemaet. Prøvenummeret gjorde det mulig å spore prøven dersom deltakeren skulle ønske å trekke seg. Innsamlingen av prøver gikk over tre dager. Det ble tatt én venøs og én kapillær prøve av hver deltaker, som ble analysert i mikrokvyetter på HemoCue WBC DIFF. Venøst blod ble også brukt til metodesammenligning på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

3.2 Metoder

3.2.1 Kvalitetssikring

Kvalitetssikring innebærer i denne forbindelse de tiltakene som ble iverksatt for å standardisere og sikre god gjennomføring og beslutningsgrunnlag i prosjektet. Det er i hovedsak to tiltak som ble vektlagt. Det ene var utarbeiding av prosedyrer for det praktiske arbeidet (vedlegg 4 og 5). Prosedyrene ble laget i henhold til brukermanualen til HemoCue WBC DIFF for å sikre at prøvene ble behandlet etter produsentens anbefalinger. Det andre tiltaket omhandlet analyse av kontroller på instrumentene. Dette var en viktig del av laboratoriearbeidet, og kontrollen skulle alltid valideres og godkjennes før pasientprøver kunne analyseres. I dette prosjektet ble én prøve fra Ålesund sykehus benyttet som kontroll. I samråd med produksjonsspesialist på HemoCue WBC DIFF ble det besluttet å gjøre det på denne måten da deres egne kontroller hadde begrenset tilgjengelighet på tidspunktet prosjektet ble utført. Kontrollprøven fra Ålesund sykehus ble analysert på deres hematologiinstrument, Sysmex XN-2000, som overvåkes kontinuerlig og inngår i både eksterne og interne kvalitetsprogram. For å kunne benytte en prøve analysert på Sysmex XN-2000 som kontroll, måtte først de interne kvalitetskontrollene som ble analysert den dagen valideres. Resultatene av de interne kvalitetskontrollene er i vedlegg 6. Kontrollen ble

oppbevart i kjøleskap i totalt 48 timer, og analysert ved oppstart av instrumentene. Ved å analysere kontrollprøven på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80, kunne resultatene sammenlignes med resultatene fra Sysmex XN-2000. Som beskrevet i punkt 2.3.2, bør kontrollen dekke samme måleområde som pasientprøvene. Ettersom deltakerne i prosjektet sannsynligvis var friske unge mennesker, ble det antatt at de aller fleste resultatene ville være innenfor normalområdet. På bakgrunn av dette ble det valgt en kontroll som befinner seg i dette området (vedlegg 7).

3.2.2 Sammenligning av kapillære og venøse prøver

Etter prøvetaking ble alle kapillære prøver analysert innen ett minutt. Venøse prøver ble analysert etter minst ti minutter henstand, og innen 2 timer. EDTA-rørene ble vendt 10 – 20 ganger rett før analysering for å sikre et homogent prøvemateriale. Deretter ble prøvene analysert på HemoCue WBC DIFF i mikrokvytter tilhørende instrumentet. Etter analysering ble alle resultater ført inn i et Excel-ark (vedlegg 8).

3.2.3 Metodesammenligning av venøse prøver

Venøse prøver ble analysert på HemoCue WBC DIFF og på ABX Pentra XL 80. Ved å sammenligne resultatene av de venøse prøvene på HemoCue WBC DIFF med resultatene gitt ved ABX Pentra XL 80, var det mulig å undersøke om det var overensstemmelse.

3.2.4 Statistiske metoder

Analyseresultatene fra de kapillære og venøse prøvene på HemoCue WBC DIFF, samt fra de venøse prøvene på ABX Pentra XL 80, ble fremstilt i et Excel-ark (vedlegg 8). Videre ble resultatene fra sammenligningen av prøvemateriale og metodesammenligningen fremstilt i Bland-Altman plot og Passing-Bablok regresjonsanalyse ved hjelp av Analyse-it. Datasettene som ble benyttet for å generere grafene og plottene under er lagt ved i vedlegg 9.

3.2.5 Biologisk variasjon

For å vurdere kvaliteten til sammenligningen av prøvemateriale, samt metodesammenligningen, ble det satt grenser for maksimalt tillatt bias basert på biologisk variasjon. Tallene ble hentet fra European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) (tabell 3) (31).

Tabell 3: Bias basert på biologisk variasjon. B= bias, O= optimal, Ø= ønskelig, M= minimal (31).

	B (%)		
	O	Ø	M
TOTAL WBC	2,5	4,9	7,4
NØYTROFILE GRANULOCYTTER	3,4	6,9	10,3
LYMFOCYTTER	3,1	6,3	9,4
MONOCYTTER	3,2	6,5	9,7
EOSINOFILE GRANULOCYTTER	8,4	16,8	25,2
BASOFILE GRANULOCYTTER	3,6	7,3	10,9

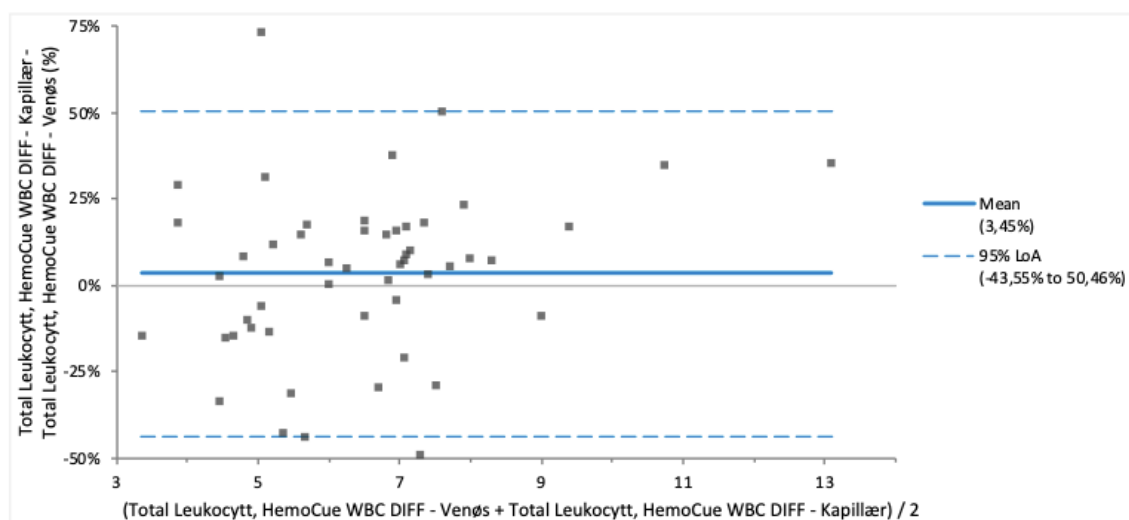
4 Resultater

I denne delen vil resultatene av det praktiske arbeidet presenteres. Først presenteres resultatene fra sammenligningen av prøvemateriale, og deretter fra metodesammenligningen. Resultatene er vist ved Passing-Bablok regresjonsanalyse og Bland-Altman plot. Plot og grafer med absolutte verdier er å finne i vedlegg 10. I tillegg kan datasettene som er benyttet for å generere grafene studeres i vedlegg 9.

4.1 Sammenligning av prøvemateriale

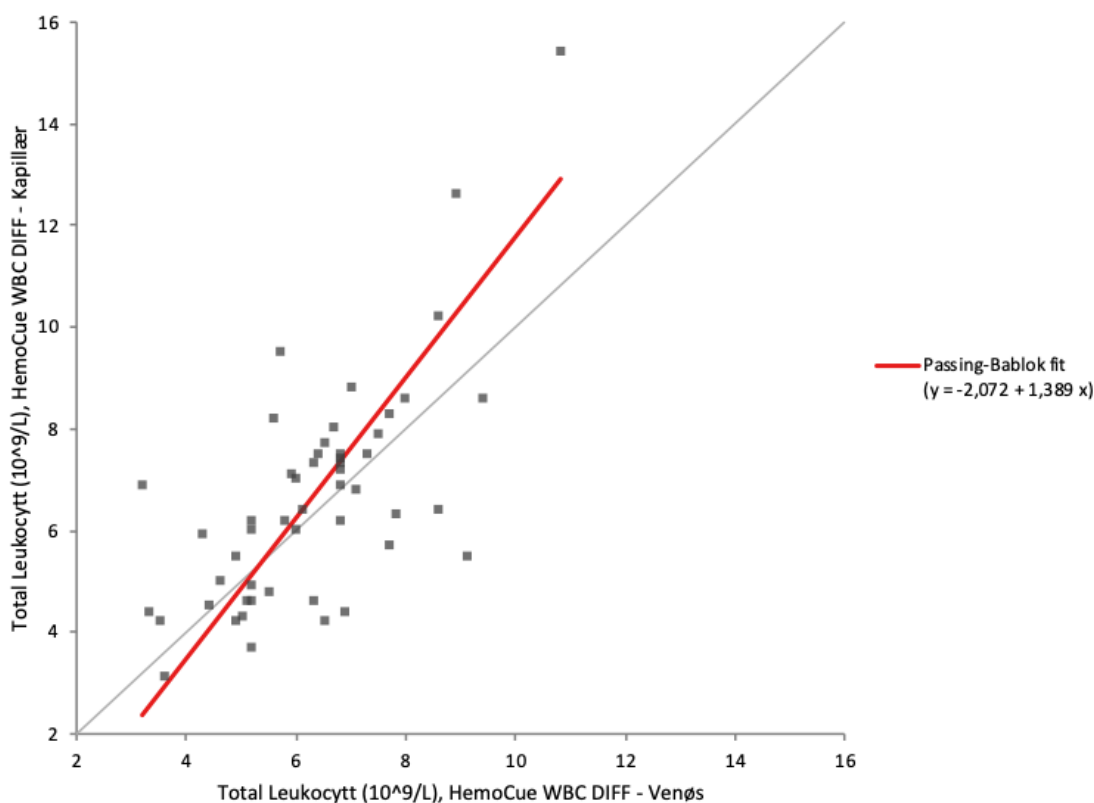
Total WBC

Resultatene fra sammenligning av total WBC i venøst og kapillært blod på HemoCue WBC DIFF ble fremstilt i Bland-Altman plot og Passing Bablok plot. Bland-Altman plottet (graf 1) hadde bias på 3,45%, som betyr at det i snitt ble målt 3,45% mer leukocytter i kapillære prøver enn i venøse prøver. LoA viste området 95% av differansen lå i, og tilsvarte - 43,55% til 50,46%. Så av plottet at det var betydelig spredning både over og under null-linjen, og svært få av de 51 prøvene befant seg på linjen.



Graf 1: Bland-Altman plot som viser total leukocyt-telling i venøst og kapillært blod på HemoCue WBC DIFF, oppgitt i prosent. Y-aksen viser differanse mellom parallelle prøver i prosent og x-aksen viser gjennomsnittlig konsentrasjon mellom prøvematerialene. De stiplede linjene viser LoA og den blå linjen viser gjennomsnittet av forskjellene (mean).

Sammenhengen mellom total WBC i kapillære og venøse prøver på HemoCue WBC DIFF ble gitt ved funksjonen $y = -2,072 + 1,389x$, og illustrert i Passing-Bablok-plot i graf 2. Regresjonslinjen (rød) skar identitetslinjen (grå). Ved lave konsentrasjoner ble verdiene av total WBC i venøse prøver målt høyere enn i kapillære prøver. Da konsentrasjonen av total WBC var høy, var det imidlertid i de kapillære prøvene de høyeste verdiene ble målt. Ved hjelp av Analyse-it ble korrelasjonskoeffisienten beregnet til 0,685, og 95% konfidensintervall (CI) for r var mellom 0,505 og 0,808. 95% konfidensintervall for konstantleddet skal ideelt inneholde 0, og stigningstallet skal ideelt inneholde 1. Av tabell 4 kom det frem at konstantleddet inneholdt 0, men stigningstallet inneholdt ikke 1.



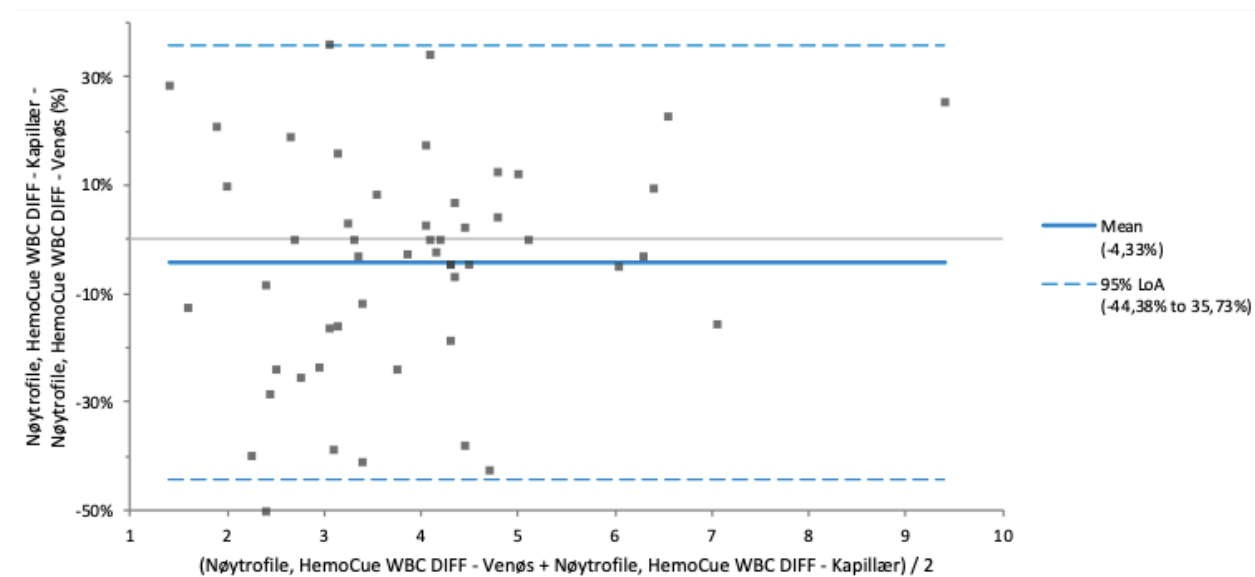
Graf 2: Sammenhengen mellom total leukocyt-telling i venøst og kapillært blod på HemoCue WBC DIFF fremstilt i Passing-Bablok plot.

Tabell 4: Estimert og bootstrap for konstantledd og stigningstall til regresjonslinjen for sammenligningen av total WBC i kapillært og venøst blod.

	ESTIMAT	BOOTSTRAP 95% CI
KONSTANTLEDD	- 2,072	- 4,283 – 0,1163
STIGNINGSTALL	1,389	1,048 – 1,733

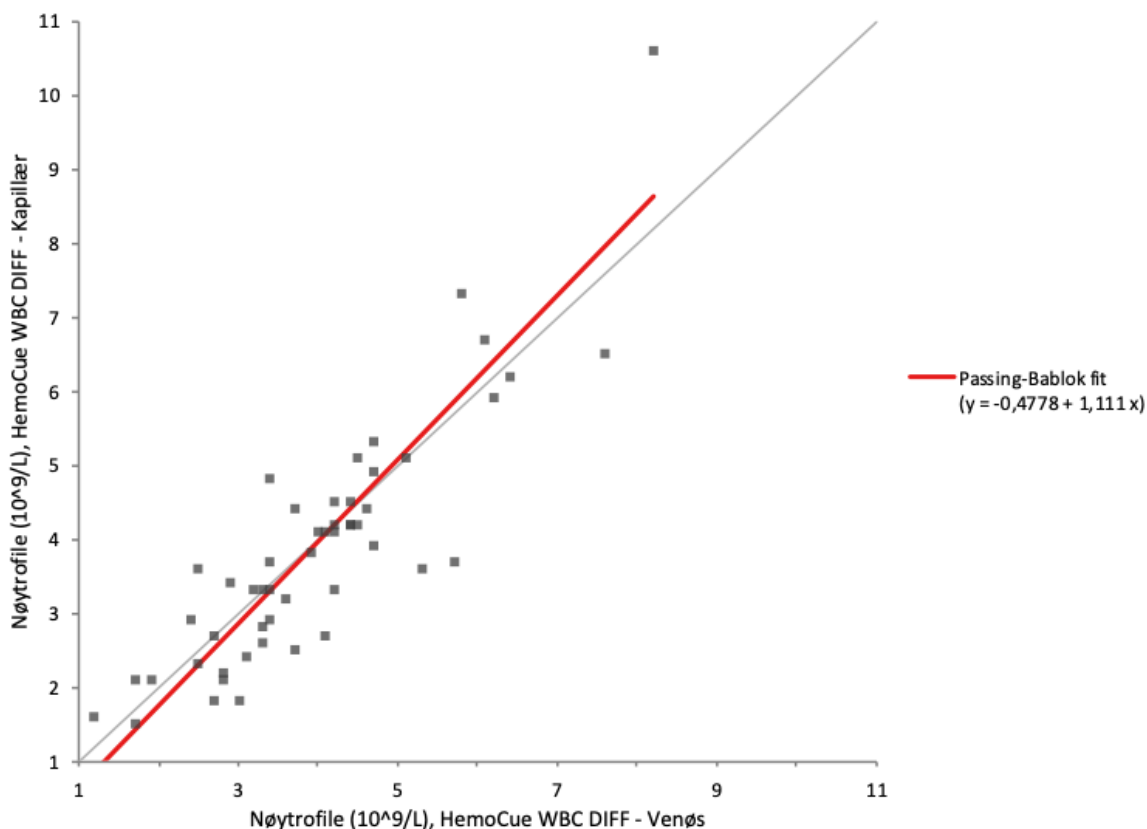
Nøytrofile granulocytter

Resultatet fra telling av nøytrofile granulocytter i kapillære prøver var i gjennomsnitt 4,33% lavere enn i venøse prøver (graf 3). LoA var -44,38% til 35,73%, som tilsvarer -1,66 til $1,45 \times 10^9 /L$ (vedlegg 10). Også her befant de fleste resultatene seg enten over eller under null-linjen, og svært få var på null-linjen.



Graf 3: Bland-Altman plot som viser samsvaret mellom nøytrofile granulocytter i kapillært og venøst blod på HemoCue WBC DIFF, oppgitt i prosent.

Regresjonslinjen $y = -0,4778 + 1,111x$ ble beregnet ved å utføre Passing-Bablok regresjonsanalyse med verdiene fra tellingen av nøytrofile granulocytter i kapillært og venøst blod (graf 4). 95% CI for stigningstall og konstantledd fremkom av tabell 5 og inneholdt de ideelle tallene 0 og 1. Korrelasjonskoeffisienten til graf 4 ble beregnet til 0,879 og 95% CI = 0,797 – 0,930.



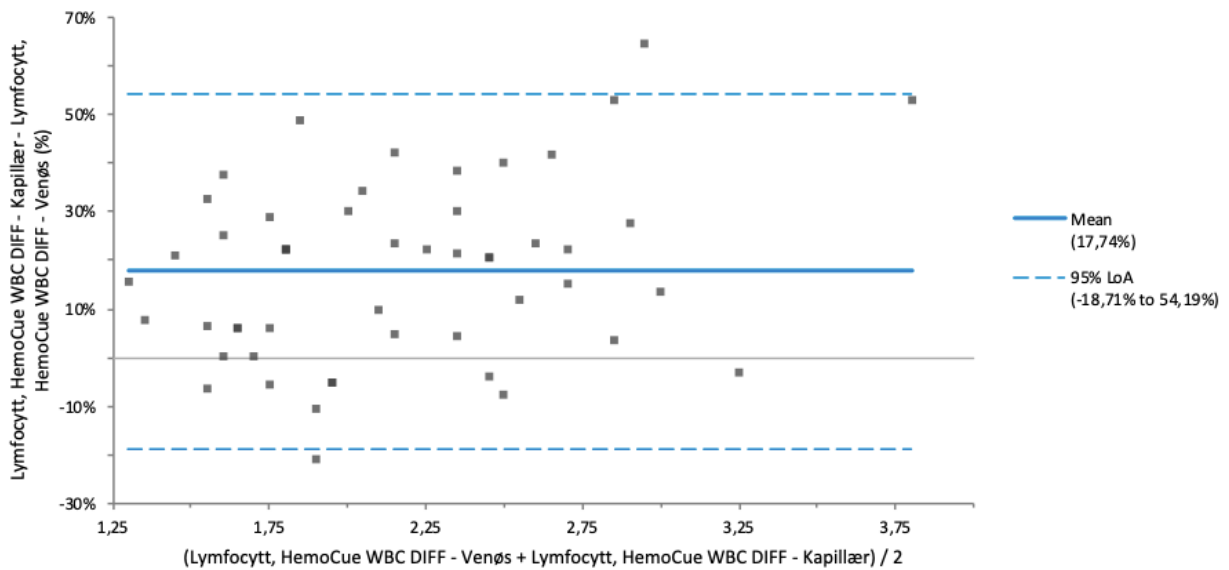
Graf 4: Sammenhengen mellom nøytrofile granulocytter målt i kapillært og venøst blod på HemoCue WBC DIFF er fremstilt i dette Passing-Bablok-plottet.

Tabell 5: Estimat og bootstrap for konstantledd og stigningstall til regresjonslinjen for sammenligningen av nøytrofile granulocytter i kapillært og venøst blod.

	ESTIMAT	BOOTSTRAP 95% CI
KONSTANTLEDD	- 0,4778	- 1,650 – 0,2778
STIGNINGSTALL	1,111	0,9091 – 1,3810

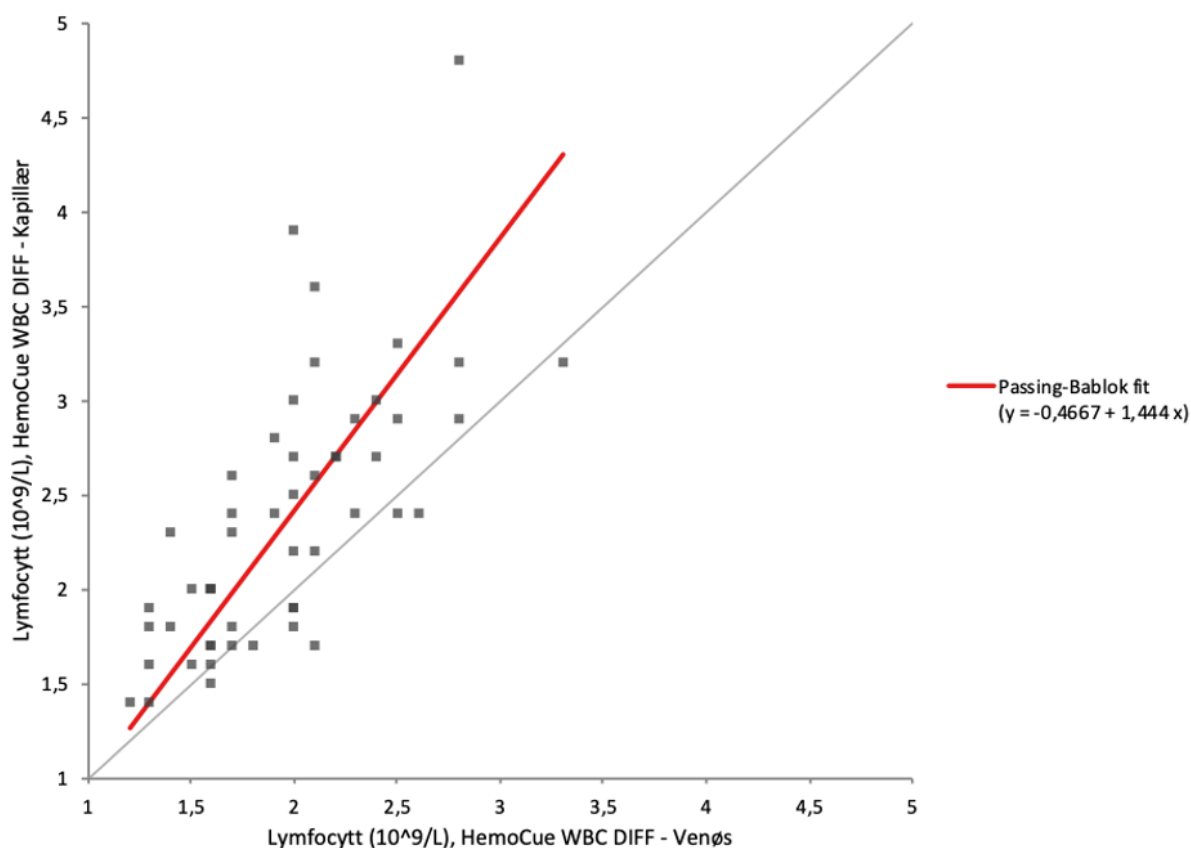
Lymfocytter

Tellingen av lymfocytter resulterte i en gjennomsnittlig forskjell i måleresultater på 17,74%, hvor kapillært prøvemateriale ble målt høyest (graf 5). LoA er - 18,71% til 54,19%. Et par prøver befant seg tilsynelatende på null-linjen, men det var stor overvekt av punkt over null-linjen i hele måleområdet.



Graf 5: Bland-Altman plot som viser samsvaret mellom lymfocytter målt i kapillært og venøst blod på HemoCue WBC DIFF, oppgitt i prosent.

Ved å utføre Passing Bablok regresjonsanalyse ble regresjonslinjen beregnet til $y = -0,4667 + 1,444x$ (graf 6). Hele regresjonslinjen lå over identitetslinjen. Korrelasjonskoeffisienten til graf 6 ble beregnet til 0,708 og 95% CI mellom 0,537 og 0,823. Tabell 6 viser at 95% CI for konstantleddet inneholdt 0, men at stigningstallet ikke inneholdt 1.



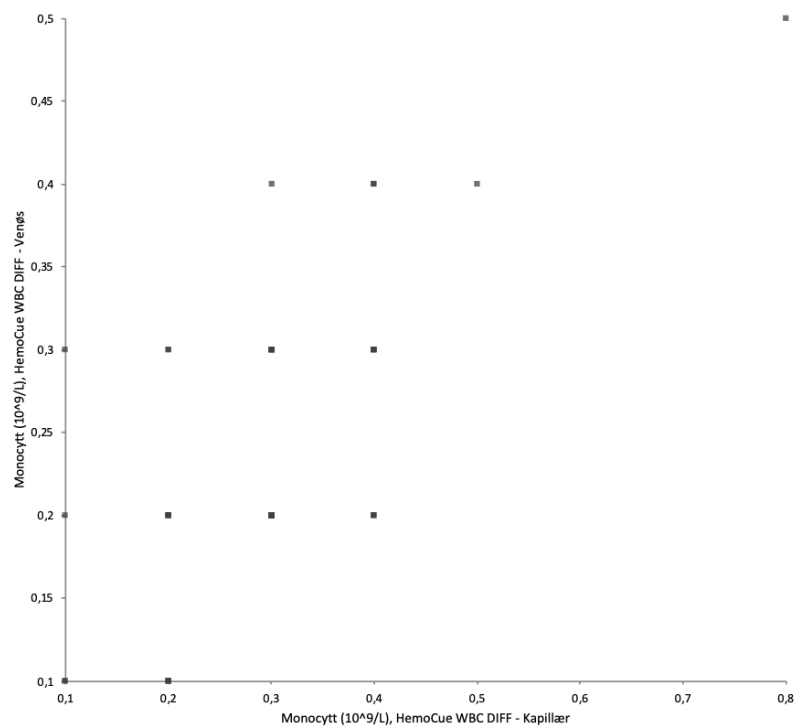
Graf 6: Sammenhengen mellom lymfocytter målt i kapillært og venøst blod på HemoCue WBC DIFF er fremstilt i dette Passing-Bablok-plottet.

Tabell 6: Estimat og bootstrap for konstantledd og stigningstall til regresjonslinjen for sammenligningen av lymfocytter i kapillært og venøst blod.

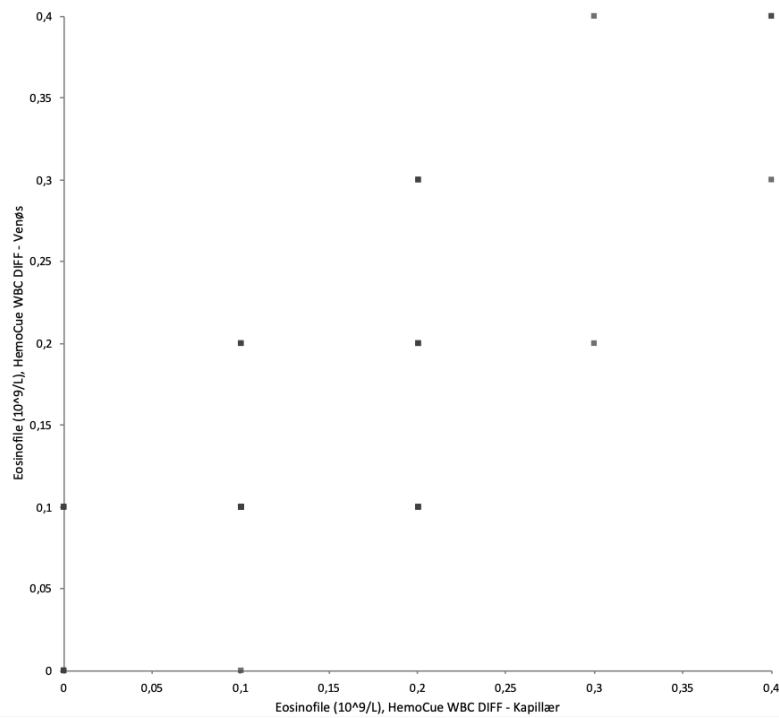
	ESTIMAT	BOOTSTRAP 95% CI
KONSTANTLEDD	- 0,4667	- 1,600 – 0,1538
STIGNINGSTALL	1,444	1,125 – 2,000

Monocytter og eosinofile granulocytter

Resultatene fra sammenligningen av prøvemateriale ved telling av monocytter og eosinofile granulocytter ble fremstilt i spredningsdiagram (graf 7 og 8).



Graf 7: Spredningsdiagrammet viser resultatene fra telling av monocytter i kapillært og venøst blod målt på HemoCue WBC DIFF. Monocytterne er oppgitt med benevningen $\times 10^9/L$. X-aksen viser konsentrasjonen av analytten i kapillære prøver, og y-aksen viser konsentrasjonen av analytten i venøse prøver.



Graf 8: Spredningsdiagrammet viser resultatene fra telling av eosinofile granulocytter i kapillært og venøst blod målt på HemoCue WBC DIFF.

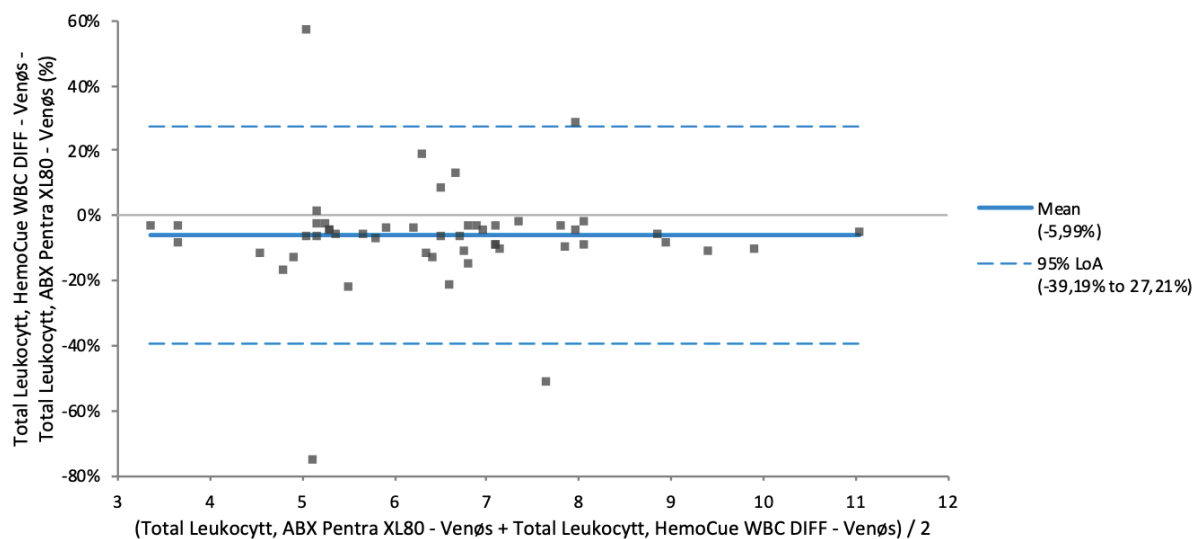
Basofile granulocytter

Resultatene for basofile granulocytter ble ikke fremstilt grafisk, ettersom alle målte verdier av både kapillære og venøse prøver på HemoCue WBC DIFF ble 0,0.

4.2 Metodesammenligning

Total WBC

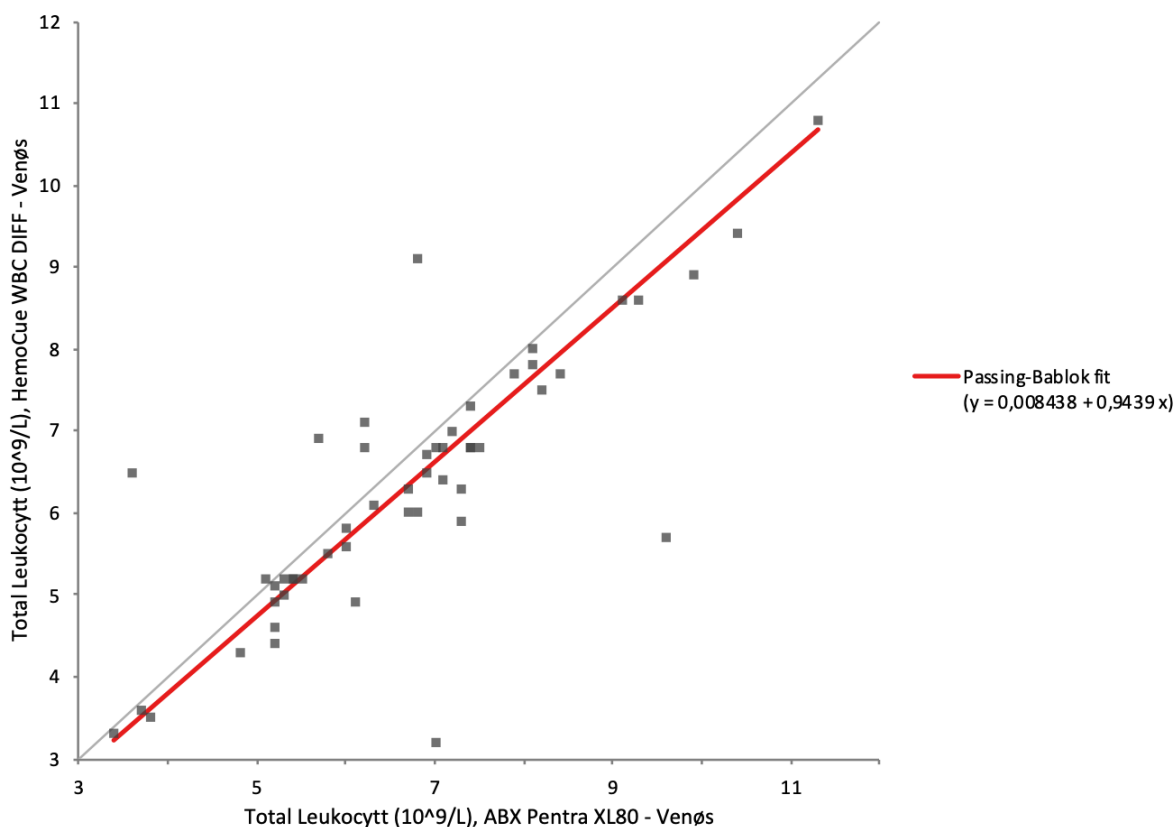
Metodesammenligning gjort i venøst blod på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 viste at resultatene av total leukocyt-telling fra HemoCue WBC DIFF i gjennomsnitt var 5,99% lavere enn fra ABX Pentra XL 80 (graf 9). Dette tilsvarte en gjennomsnittlig differanse på $0,39 \times 10^9/L$. LoA er mellom -39,19% og 27,21%. Av grafen kom det frem at hovedvekten av resultater lå spredt tett rundt gjennomsnittsverdien, med innslag av noen slengere.



Graf 9: Samsvar mellom verdier av totale leukocytter målt i venøst blod på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 fremstilt i Bland-Altman plot, oppgitt i prosent.

Regresjonslinjen $y = -0,008438 + 0,9439x$ viste til sammenhengen mellom måleresultater fra HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 ved telling av total WBC (graf 10).

Regresjonslinjen lå under identitetslinjen. Dette indikerte at total WBC ble målt høyere på ABX Pentra XL 80 enn på HemoCue WBC DIFF. 95% konfidensintervall for konstantledd og stigningstall inneholdt 0 og 1 (tabell 7). Korrelasjonskoeffisienten ble beregnet til 0,812, i tillegg til at 95% konfidensintervall for r ble funnet til å ligge mellom 0,691 og 0,889.



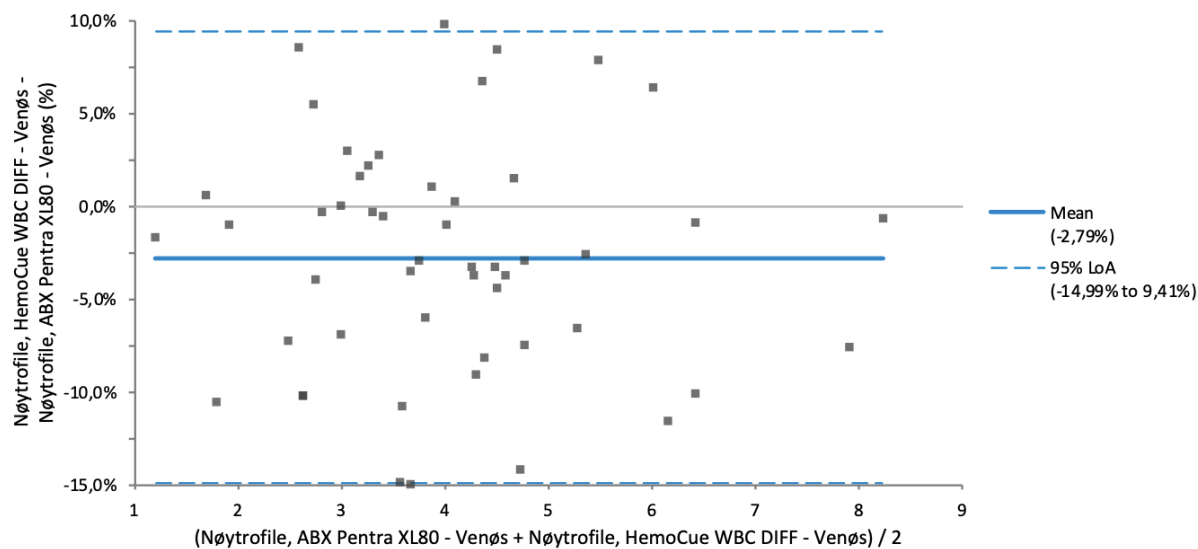
Graf 10: Sammenhengen mellom total leukocyt-telling i venøst blod på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 illustrert i Passing-Bablok plot.

Tabell 7: Estimert og bootstrap for konstantledd og stigningstall til regresjonslinjen for metodesammenligning av total WBC på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

	ESTIMAT	BOOTSTRAP 95% CI
KONSTANTLEDD	0,008438	- 0,4000 – 0,4484
STIGNINGSTALL	0,9439	0,8714 – 1,0000

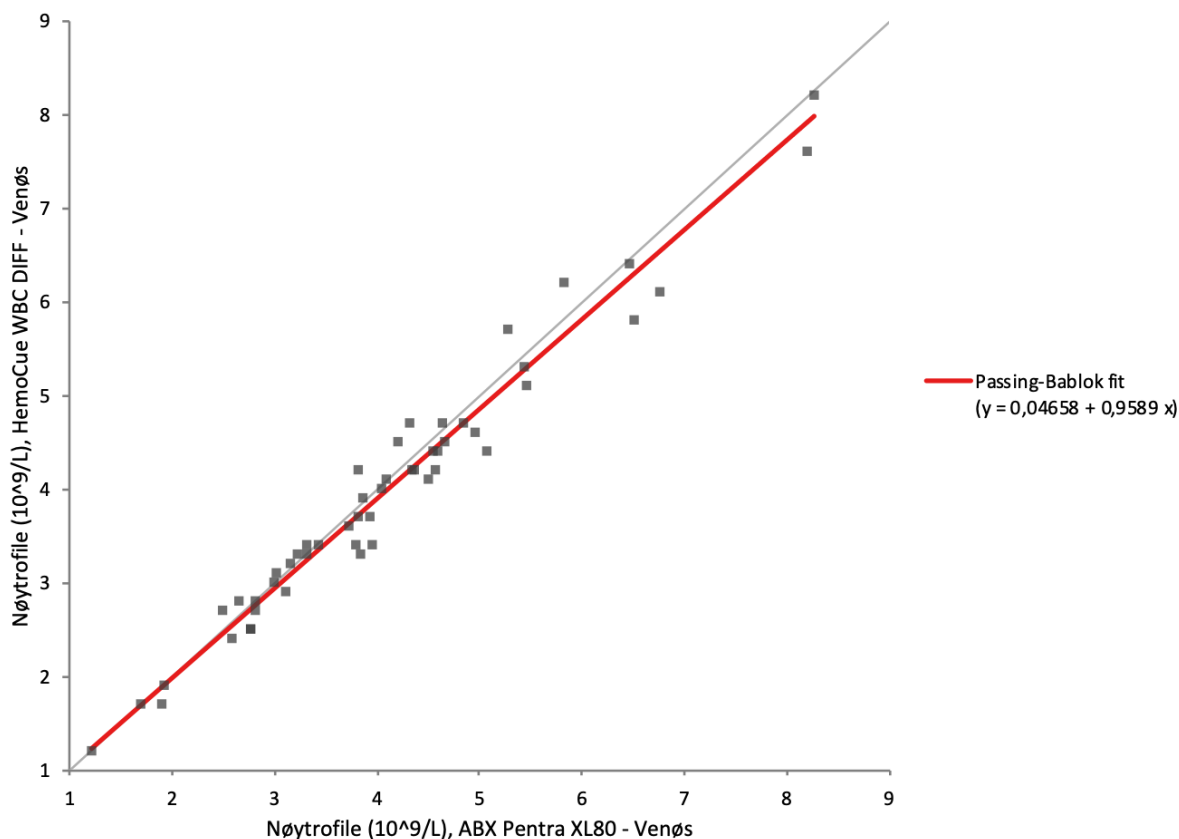
Nøytrofile granulocytter

Nøytrofile granulocytter ble i snitt målt 2,79% lavere på HemoCue WBC DIFF enn på ABX Pentra XL 80 i prøverekken på 51 venøse prøver (graf 11). Grafen viste at prøvene var jevnt spredt innenfor hele intervallet for LoA, som lå mellom - 14,99% og 9,41%.



Graf 11: Samsvaret mellom telling av nøytrofile granulocytter i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 er fremstilt i dette Bland-Altman plottet, oppgitt i prosent.

Sammenhengen mellom måleresultater av nøytrofile granulocytter på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 ble gitt ved $y = 0,04658 + 0,9589x$ (graf 12). Regresjonslinjen lå relativt tett på identitetslinjen, men avstanden økte noe ved økende konsentrasjon. 95% CI for konstantleddet og stigningstallet inneholdt de ideelle verdiene 0 og 1 (tabell 8). Korrelasjonskoeffisienten ble beregnet til 0,983 og 95% CI = 0,971 – 0,991.



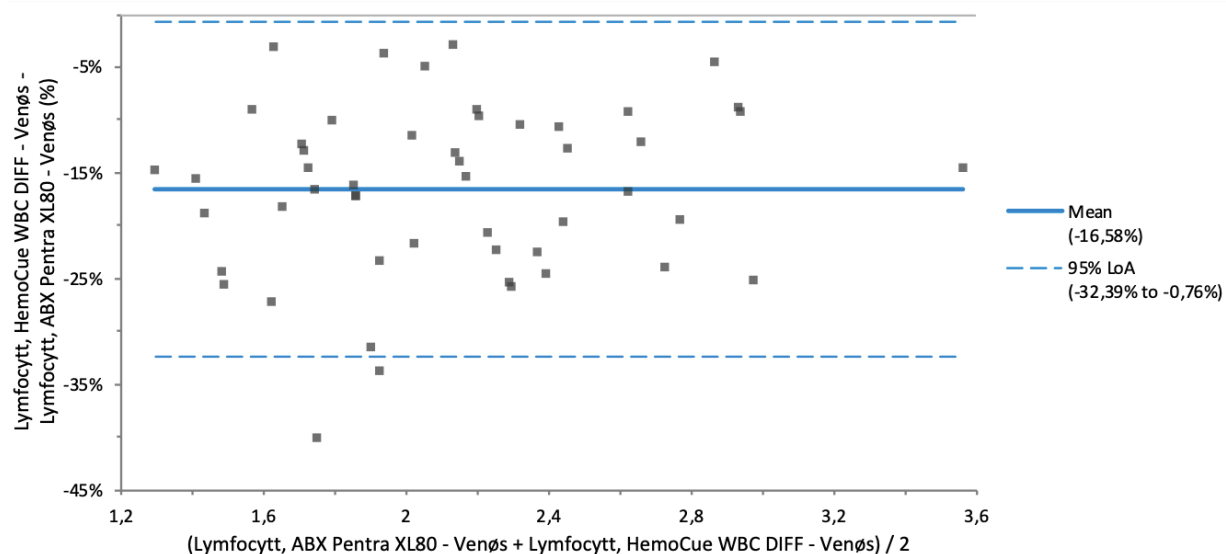
Graf 12: Sammenhengen mellom telling av nøytrofile granulocytter i venøse prøver analysert på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

Tabell 8: Estimat og bootstrap for konstantledd og stigningstall til regresjonslinjen for metodesammenligning av nøytrofile granulocytter på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

	ESTIMAT	BOOTSTRAP 95% CI
KONSTANTLEDD	0,04658	- 0,1858 – 0,3090
STIGNINGSTALL	0,9589	0,8929 – 1,0140

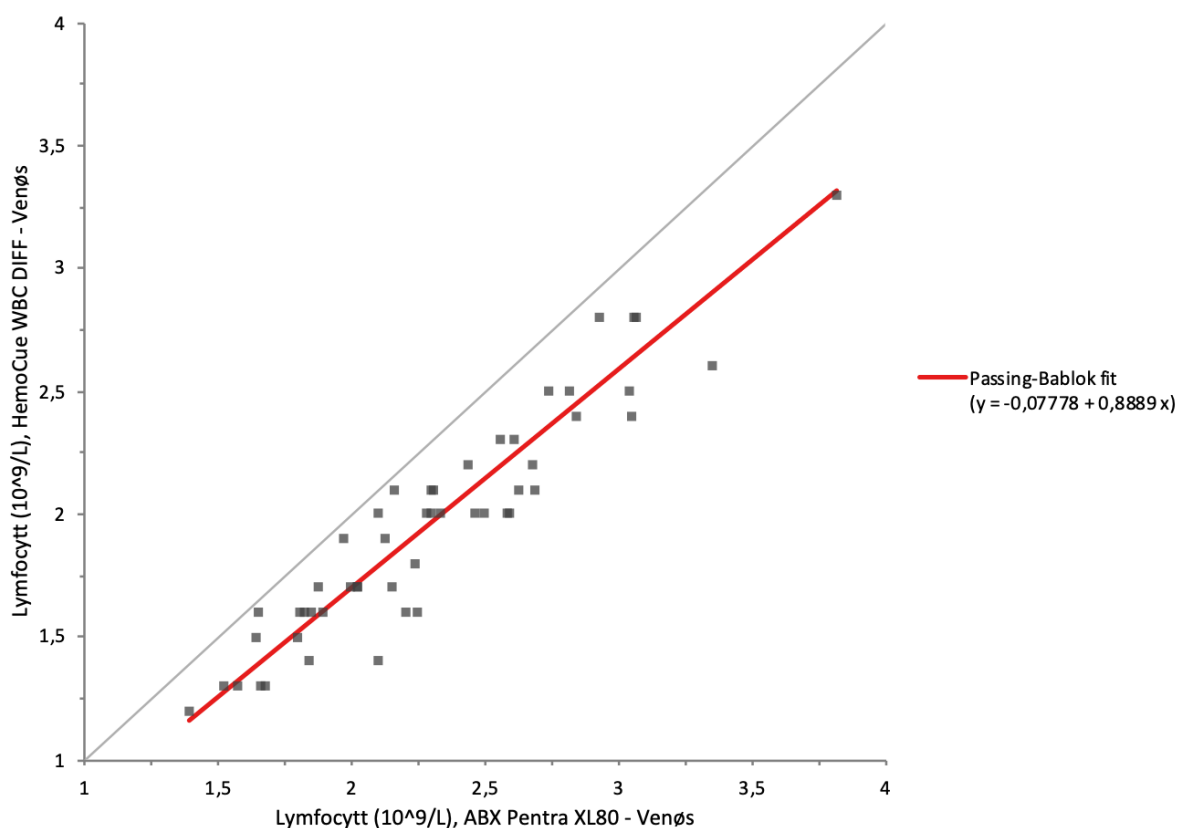
Lymfocytter

Gjennomsnittlig differanse mellom måleresultatene av lymfocytter på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 var 16,58% (graf 13). Analytten ble målt lavest på HemoCue WBC DIFF. LoA er mellom -32,39% og -0,76% som indikerte at samtlige resultater ble målt lavere på HemoCue WBC DIFF.



Graf 13: Samsvaret mellom målingene av lymfocytter i venøst blod gjort på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 kommer frem i Bland-Altman plottet, oppgitt i prosent.

Regresjonslinjen gitt ved $y = -0,07778 + 0,8889x$ illustrerte sammenhengen mellom telling av lymfocytter på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 (graf 14). Grafen viste at samtlige resultater ble målt lavere på HemoCue WBC DIFF. For graf 14 ble r beregnet til 0,942 og 95% CI mellom 0,899 og 0,966. Av tabell 9 fremkom det at 95% CI for konstantleddet inneholdt 0, men stigningstallet inneholdt ikke 1.



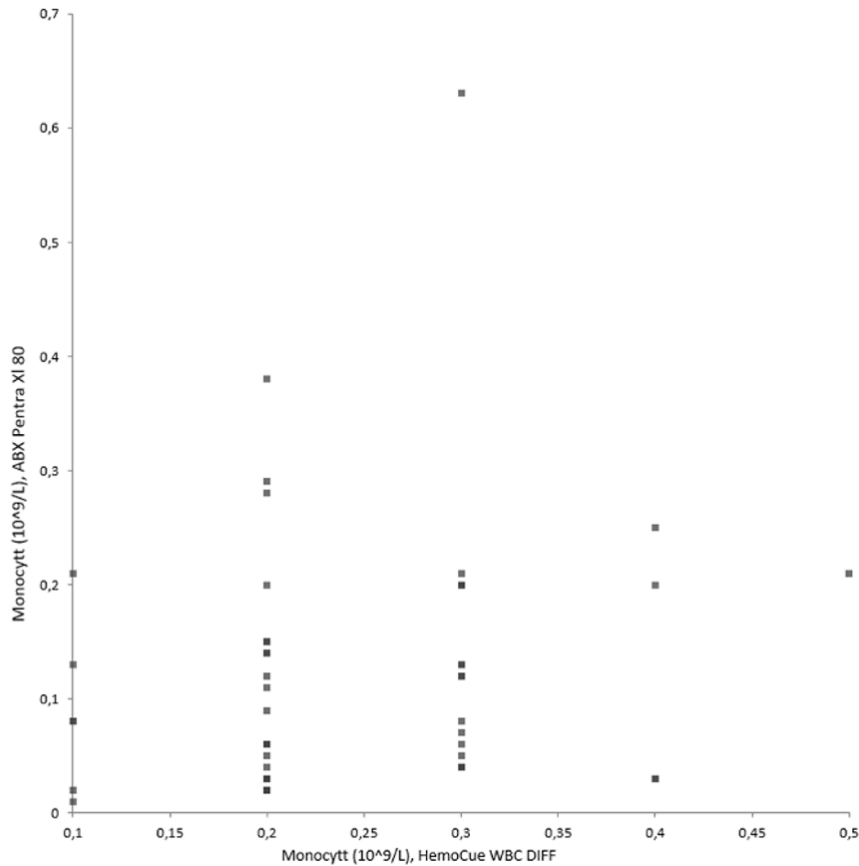
Graf 14: Passing-Bablok plottet viser sammenhengen mellom HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80 ved telling av lymfocytter i venøst blod.

Tabell 9: Estimat og bootstrap for konstantledd og stigningstall til regresjonslinjen for metodesammenligning av lymfocytter.

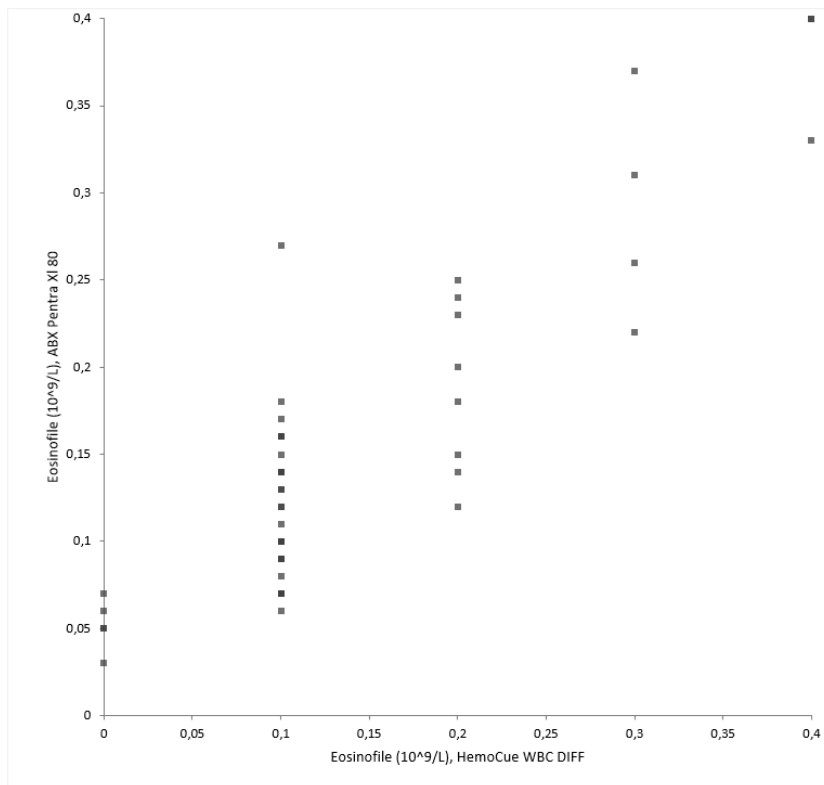
	ESTIMAT	BOOTSTRAP 95% CI
KONSTANTLEDD	- 0,07778	- 0,2512 – 0,1462
STIGNINGSTALL	0,8889	0,7778 – 0,9677

Monocyttar og eosinofile granulocytter

På samme måte som ved sammenligningen av prøvemateriale, var det heller ikke mulig å utføre statistiske beregninger basert på resultatene av metodesammenligning til hverken eosinofile granulocytter eller monocyttar. Derfor ble de fremstilt i spredningsdiagram (graf 15 og 16).



Graf 15: Spredningsdiagram viser resultatene av telling av monocyttar i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80. Monocytene er oppgitt med benevningen $\times 10^9$ /L. X-aksen viser konsentrasjonen av analytten i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF, og y-aksen viser konsentrasjonen av analytten i venøse prøver.



Graf 16: Spredningsdiagram viser resultatene av telling av eosinofile granulocytter i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

Basofile granulocytter

Resultatene for basofile granulocytter ble ikke fremstilt grafisk, ettersom alle målte resultater på HemoCue WBC DIFF ble 0,0. Selv om ABX Pentra XL 80 målte resultater over 0,0, var det ikke tilstrekkelig med kun én variabel for å fremstille resultatene grafisk.

5 Diskusjon

I denne delen blir resultatene vurdert og oppgavens problemstilling diskutert. Resultatene, sett i lys av mulige feilkilder, svakheter og styrker ved prosjektet, samt tidligere forskning, benyttes for å dra en konklusjon av problemstillingen. Vurderingen av resultatene blir basert på biologisk variasjon. Det ble samlet inn prøver fra totalt 51 deltakere, hvorav 33 var kvinner og 18 var menn. Aldersspennet på deltakerne strakk seg fra 19 – 54 år, og etnisk opprinnelse var hovedsakelig norsk, men med variasjon fra ni andre land.

Sammenligningen av prøvemateriale viser ingen signifikant forskjell i resultatene av total WBC og nøytrofile granulocytter. Bias generert for både total WBC (3,45%) og nøytrofile granulocytter (-4,33%) er konstatert ubetydelig, ettersom de er innenfor kravet for maksimal tillatt bias basert på biologisk variasjon (tabell 3). Det bør nevnes at regresjonslinjen for total WBC kan indikere en mulig proporsjonal bias, da den skjærer diagonalen. Dette blir likevel ikke vektlagt da fremstillingen i Bland-Altman plottet viser godt samsvar mellom resultatene. Konfidensintervallet til gjennomsnittet (- 0,128 til 0,783) inneholder 0 og det er dermed ingen statistisk signifikant avvik fra 0 for differansen. Det vil si at det trolig ikke er noen differanse mellom prøvematerialene. En annen indikasjon på at det hverken er statistisk signifikant proporsjonal eller konstant forskjell mellom prøvematerialene, er at 95% konfidensintervall for konstantledd og stigningstall til regresjonslinjen i Passing-Bablok plottet inneholder henholdsvis 0 og 1 (tabell 4). Når det gjelder nøytrofile granulocytter er mange av de samme vurderingene gjort. Regresjonslinjen for nøytrofile granulocytter skjærer også diagonalen, som indikerer proporsjonal bias. 95% CI til stigningstall og konstantledd inneholder ikke de ideelle verdiene 0 og 1. Dette antyder også statistisk signifikant proporsjonal og konstant forskjell mellom prøvematerialene (tabell 5). Faktorer som taler mot dette er korrelasjonskoeffisienten, 0,879, som tyder på god korrelasjon. Dette er ikke entydig med godt samsvar, og sees derfor i sammenheng med bias. Bias er målt til - 4,33% (graf 3), som er innenfor ønskelig bias på 6,9% basert på biologisk variasjon (tabell 3). Konfidensintervallet til gjennomsnittet er - 0,329 til 0,117, som betyr at det sannsynligvis ikke er signifikant differanse mellom prøvematerialene. LoA for både total WBC og nøytrofile granulocytter viser betydelig spredning, men ettersom det er forventet spredning mellom to prøvematerialer, vektlegges ikke dette da bias og r viser til god overensstemmelse. Sammenligningen av

prøvemateriale ved analyse av total WBC og nøytrofile granulocytter vurderes som tilfredsstillende.

Vurderingene gjort ovenfor støttes av et liknende prosjekt gjort i Uppsala, Sverige, i 2017 (10). Studien fra Sverige var noe mer omfattende med tanke på antall prøver og måleområde, men den konkluderte med at HemoCue WBC DIFF kunne benyttes til telling av total WBC og nøytrofile granulocytter, men ikke resterende fraksjoner av fem-parts differensialtellingen. Funnene i vår oppgave tyder også på at det er større usikkerhet ved å benytte HemoCue WBC DIFF til differensialtelling av lymfocytter, monocytter, basofile granulocytter og eosinofile granulocytter. Bland-Altman plot for telling av lymfocytter viser en bias på 17,74% (graf 5). Med kravene for minimal bias basert på biologisk variasjon kan dette ikke godkjennes, da kravet er at den gjennomsnittlige forskjellen er innenfor 9,4% (tabell 3). Konfidensintervallet går heller ikke gjennom 0, som indikerer signifikant differanse mellom metodene. Regresjonslinjen i Passing Bablok plottet viser en tydelig tendens til at verdiene i kapillære prøver er høyere enn i venøse prøver. Sett i sammenheng med stigningstallet tyder det på signifikant proporsjonal bias.

En teori om hvorfor telling av lymfocytter utgjør store måleusikkerheter ble fremlagt av en gruppe danske forskere i 2020 (32). De oppdaget utfordringer med bildegjenkjenningfunksjonen til HemoCue WBC DIFF. Mye tydet på at systemet hadde problemer med å skille lymfocytter og kjerneholdige erytrocytter, som kan være årsaken til store forskjeller i måleresultatet av lymfocytter. Det er trolig ikke kjerneholdige erytrocytter som utgjør problemet i vår oppgave. Alle deltakerne var hovedsakelig friske, og dermed forventes det at de ikke har betydelig mengde kjerneholdige erytrocytter i blodet. Likevel kan funnene i studien, med tanke på usikkerheter i bildegjenkjenningen, ha betydning for dette prosjektet. Trolig har instrumentet utfordringer med å skille hvilke celler som er lymfocytter. Det ble også lagt frem en hypotese om at tiden prøvematerialet befant seg i mikrokyvetten var for kort for lysereagenset til å fullstendig lysere erytrocyttene. Dermed kan interferens av ufullstendig lyserte erytrocytter påvirke deteksjonen av lymfocytter. Det kan være av interesse å videre undersøke om tiden prøvemateriale er i mikrokyvettene kan ha betydning for resultatet.

Betydelig bias ved sammenligning av prøvemateriale ved analyse av lymfocytter på HemoCue WBC DIFF er ikke bare oppdaget i vår oppgave, men også andre studier rapporterer lignende resultater. I studien fra Sverige (10) kunne heller ikke bias for lymfocytterne godkjennes med hensyn til ønskelig eller minimal bias.

Mangelfull data gjør det som nevnt vanskelig å vurdere samsvar og sammenheng i sammenligningen av prøvemateriale ved analyse av monocytter, basofile granulocytter og eosinofile granulocytter. Til tross for dette kan man likevel si noe om samsvaret mellom prøvematerialene, ettersom begge gir tilsvarende samme resultat. En svakhet ved HemoCue WBC DIFF er at instrumentet kun oppgir resultater med én desimal, som fører til upresis svarutgivelse for analytter som har et referanseområde med lav analyttkonsentrasjon.

I likhet med sammenligningen av prøvemateriale, viste også metodesammenligningen at det ikke er indikasjoner på signifikant differanse ved telling av totale leukocytter og nøytrofile granulocytter. En gjennomsnittlig bias på 5,99% er detektert for total WBC. Dette støtter påstanden om overensstemmelse, ettersom det er innenfor minimal bias.

Korrelasjonskoeffisienten viser også god korrelasjon. LoA er smalere ved metodesammenligningen av leukocytter, enn ved sammenligning av prøvemateriale. Altså er maksimal differanse mellom de to instrumentene mindre, selv om bias er større. Noe av den samme tendensen gjelder for LoA for nøytrofile granulocytter. Også her er LoA mindre ved metodesammenligningen. I motsetning til ved telling av total WBC, er bias ved metodesammenligningen lavere enn ved sammenligningen av prøvemateriale ved analyse av nøytrofile granulocytter. Nøytrofile granulocytter har i tillegg god korrelasjon ved metodesammenligningen. For begge de nevnte analyttene er det ABX Pentra XL 80 som måler høyere konsentrasjoner enn HemoCue WBC DIFF.

Metodesammenligningen er enda et bevis på at deteksjon av lymfocytter er krevende. ABX Pentra XL 80 og HemoCue WBC DIFF hadde en bias på - 16,58% ved metodesammenligning av lymfocytter. Selv om korrelasjonskoeffisienten indikerer god sammenheng, er den totale overensstemmelsen mellom metodene dårlig. Av Passing-Bablok plottet kommer det frem at den tilsynelatende gode korrelasjonen skyldes at samtlige resultater ligger under identitetslinjen. Med andre ord måler ABX Pentra XL 80 alle de 51 prøvene høyere enn

HemoCue WBC DIFF. Dette gir god korrelasjon ettersom bias er proporsjonal, men i klinisk sammenheng kan dette gi store feilvurderinger og forskjeller i resultat, avhengig av hvilket instrument som benyttes.

Analysering av lymfocytter ga en bias på omtrent 17% for både metodesammenligningen på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80, og sammenligningen av prøvemateriale på HemoCue WBC DIFF. Det interessante ved dette er at venøse prøver på HemoCue WBC DIFF måles lavere både sammenlignet med kapillære prøver på samme instrument, og med venøse prøver på ABX Pentra XL 80. Siden bias er tilnærmet lik, kan dette tyde på at resultater av kapillære prøver på HemoCue WBC DIFF er tilnærmet like resultatene av lymfocytt-telling i venøst prøvemateriale på ABX Pentra XL 80. Sammenligner man dette med verdiene for lymfocyttelling på Sysmex XN-2000, som er benyttet som kontroll av begge instrumentene, viser dette at ABX Pentra XL 80 målte omtrent 14% høyere enn Sysmex XN-2000. Til sammenligning målte HemoCue WBC DIFF i snitt over to dager omtrent 2,5% lavere enn Sysmex XN-2000. Altså målte ABX Pentra XL 80 omtrent 17% høyere enn HemoCue WBC DIFF også i dette tilfellet. Basert på den prøven vi har analysert kan det tyde på at resultatene av lymfocytt-telling i venøst blod på HemoCue WBC DIFF samsvarer best med Sysmex XN-2000. Ettersom vi bare har én prøve å sammenligne med Sysmex XN-2000, blir det for lite grunnlag å trekke konklusjoner på. Likevel er det en interessant sammenheng, og muligens er det slik at HemoCue WBC DIFF egentlig måler lymfocytter i venøst blod tilsvarende likt Sysmex XN-2000. Det vil i så fall indikere at det er resultater fra lymfocyttelling i kapillære prøver som er årsak til dårlig samsvar mellom prøvematerialene. Dette er bare spekulasjoner, men ved videre studier kunne det vært en interessant hypotese å teste. Noe som eventuelt kan støtte dette er at ABX Pentra XL 80 på NTNU Ålesund ikke har gjennomgått nødvendig kvalitetssikring. Instrumentet bør inngå i et kvalitetssikringsprogram.

Ved avvik i måleresultater er det naturlig å vurdere om det kan skyldes den preanalytiske fasen, ettersom den er en stor kilde til feil i prøveresultat. Høye og lave resultater fra kapillære prøver i forhold til resultatene fra venøse prøver, kan skyldes overdreven klemming. Selv om dette ble forsøkt forhindret ved å følge prosedyre for prøvetaking, kan det likevel ha forekommet hemolyse av celler og fortykning med plasma forårsaket av klemming. Dette kan være en forklaring på at lymfocyttkonsentrasjonen i kapillære prøver er høyere enn i venøse

prøver. Det samme gjelder for konsentrasjonen av total WBC. Også her er konsentrasjonen høyere i kapillære prøver sammenlignet med i venøse prøver. At bias også er betydelig i metodesammenligningen av lymfocytter, svekker mistanken om at preanalytiske variabler er årsaken til dårlig samsvar, i og med at kapillære prøver ikke inngår i metodesammenligningen. Dette støttes av at potensielle fallgruver ved preanalysen ble kartlagt og forsøkt forhindret ved å utarbeide prosedyrer for prøvetaking og analysering, samt retningslinjer for oppbevaring og håndtering av prøver. Før oppstart var alle prøvetakerne godt kjent med prosedyrene for prøvetaking. Ved hver prøvetaking og analysering ble det notert om prosedyrene ble fulgt, og ingen avvik ble rapportert. Likevel kan det ikke utelukkes at det har skjedd en preanalytisk feil, da det var flere prøvetakere.

Tre av prøvene ble markert med varseltrekant av instrumentet ved analyse på HemoCue WBC DIFF. Ved en feiltakelse ble ikke disse pasientprøvene fjernet fra statistikken. Dette skyldes at det kun ble notert totalt antall markerte prøver, men ikke hvilke prøver det gjaldt. På grunn av dette ligger det en usikkerhet i legitimiteten til resultatet av disse prøvene. Markerte prøver som ikke ble fjernet utgjør en feilkilde med konsekvenser som ikke kan avklares. Selv om de ble markert, er det ikke sikkert de ville hatt større bias enn andre prøver som ikke ble markert, av den grunn at de ikke er gjort rede for. I retrospekt burde prøvene vært fjernet for å unngå usikkerheten det medfører at disse prøvene inngår i statistikken. Dette er et forbedringspotensial som fremtidige studier bør vektlegge. Når det er sagt er det kun rapportert om prøver fra totalt tre deltakere som ble markert, som utgjør i underkant av 3% av det totale antallet prøver (både kapillære og venøse prøver). Dermed er det lite sannsynlig at de har hatt avgjørende utslag på resultatet.

En svakhet ved oppgaven er manglende spredning av måleområde og representasjon av pasientgrupper. Selv om resultatene samsvarer med en rekke andre studier, vil den kun speile vurdering av instrumentenes samsvar og sammenheng innenfor normalt måleområde, og generaliserbarheten er derfor dårlig.

Samme vurdering av basofile granulocytter, eosinofile granulocytter og monocytter gjelder for metodesammenligningen som for sammenligning av prøvemateriale. Statistiske beregninger er ikke gjennomførbare, men instrumentene viser likevel god overenstemmelse.

6 Konklusjon

Ved sammenligning av prøvemateriale ble kravene for total WBC og nøytrofile granulocytter oppfylt. God overensstemmelse gir grunn til å vurdere at både kapillært og venøst prøvemateriale kan benyttes for telling av total WBC og nøytrofile granulocytter på HemoCue WBC DIFF. Instrumentets anvendelighet reduseres derimot av svak overensstemmelse mellom de andre analyttene i differensialtellingen. I tillegg svekker prosjektets begrensninger generaliserbarheten. På grunn av dette vurderer vi at HemoCue WBC DIFF ikke kan benyttes til fullverdig fem-parts DIFF, men heller som en kontroll av leukocytter og nøytrofile granulocytter, samt som en indikator på videre utredning. Metodesammenligningen ga i hovedsak samme svar som sammenligningen av prøvemateriale, men åpnet i tillegg opp for nye hypoteser til videre sammenligningen av instrumentene.

7 Litteraturliste

1. Bolann BJ, Åsberg A. Riktig svar på biokjemiske analyser: praktisk veileder i kvalitetskontroll for medisinske laboratorier. 1. utgave, 1. opplag 2020. Oslo: Cappelen Damm akademisk; 2020.
2. Gjennomføre et prosjekt uten å behandle personopplysninger [Internett]. Trondheim: Sikt - Kunnskapssektorens tjenesteleverandør; (ingen dato) [hentet 03. mai 2023]. Tilgjengelig fra: <https://sikt.no/gjennomfore-et-prosjekt-uten-behandle-personopplysninger>
3. Lea T. Immunologi og immunologiske teknikker. 3. utg. Bergen: Fagbokforlaget Vigmostad & Bjørke AS; 2006.
4. Øvstebø C, Vikan, J. Vi undersøker immunceller [Internett]. NDLA; 2022 [hentet 27. mars 2023]. Tilgjengelig fra: <https://ndla.no/article/36403>
5. Kutlu H, Avci E, Özyurt F. White blood cells detection and classification based on regional convolutional neural networks. Medical Hypotheses. [Elektronisk artikkel]. Februar 2020 [hentet 17. februar 2023]; Volume (135), 1-2. Tilgjengelig fra: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306987719310680?via%3Dihub>
6. Holm CK. Immunologi. 2. utgave. København: FADL's Forlag; 2020.
7. Keohane EM, Smith LJ, Walrnga JM. Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications. 5. Utgave. St. Louise: Elsevier Saunders; 2016. s. 3-4.
8. HemoCue®. HemoCue WBC DIFF Bruksanvisning [Internett]. Oslo: HemoCue; Januar 2023 [hentet 24. mars 2023]. Tilgjengelig fra: <https://epion.no/wp-content/uploads/2016/12/HemoCue-WBC-DIFF-Bruksanvisning.pdf>
9. Fag i fokus: Celletellere på legekantor [Internett]. Bergen: NOKLUS; [17. februar 2022; 16. mars 2023]. Tilgjengelig fra: <https://www.noklus.no/aktuelt/2022/februar/fag-i-fokus-1-22-celletellere-pa-legekantor/>
10. Karawajczyk M, Haile S, Grabski M, Larsson A. The HemoCue WBC DIFF system could be used for leukocyte and neutrophil counts but not for full differential counts. ACTA Paediatrica Nurturing the child [Elektronisk artikkel]. Februar 2017 [hentet 02. mai 2023]. 106 (6): s. 974-978. Tilgjengelig fra: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/apa.13790>
11. Roussel M, Benard C, Ly-Sunnaram B, Fest T. Refining the white blood cell differential: The first flow cytometry routine application. Cytometry. [Elektronisk artikkel]. Mars 2010 [hentet 20. mars 2023]; 77A (6). Tilgjengelig fra: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cyto.a.20893>

12. Fenstad MH, Rø AD. Flowcytometri i klinisk praksis [Elektronisk artikkel]. Bioingeniøren. Oktober 2012 [hentet 29. april 2023]. Tilgjengelig fra: <https://bioingenioren.no/contentassets/7374cb802ccf4dc69258d79a06a1a5ef/flowcytometri-i-klinisk-praksis.pdf>
13. Macey MG. Principles of Flow Cytometry. Macey MG (eds) Flow Cytometry. Humana Press. [Elektronisk artikkel]. 2007 [hentet 23. mars 2023]: s. 1-15. Tilgjengelig fra: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-59745-451-3_1
14. Sysmex Europe. WBC differential channel [Internett]. Norderstedt, Tyskland: Sysmex Europe; (ingen dato) [hentet 19. mai 2023]. Tilgjengelig fra: <https://www.sysmex-europe.com/academy/clinic-laboratory/analyser-channels/wbc-differential-channel.html>
15. HemoCue® WBC DIFF Analyzer [Internett]. Kjeller: Triolab; (ingen dato) [hentet 15. mai 2023]. Tilgjengelig fra <https://www.triolab.no/alle-produkter/hemocue-wbc-diff-analyzer/>
16. HemoCue® WBC DIFF Microcuvettes [Internett]. Kjeller: Triolab; (ingen dato) [hentet 15. mai 2023]. Tilgjengelig fra: <https://www.triolab.no/alle-produkter/hemocue-wbc-diff-microcuvettes/>
17. SKUP. HemoCue WBC A system for measurement of the concentration of leukocytes in blood manufactured by HemoCue AB, Sweden. Sverige (2010;73). A report from an evaluation organised by SKUP.
18. HemoCue AB. HemoCue WBC Microcuvettes, 153004 080908 GB_US. (ingen dato) [hentet 03. mai 2023]. Tilgjengelig fra: https://www.woodleyequipment.com/docs/hemocue_wbc_product_insert.pdf
19. Kilic T, Ghoreishizadeh SS, Carrara S. Chapter 9 - CMOS-based microanalysis systems. Microfluidic Biosensors. [Elektronisk artikkel]. 2023 [hentet 12. april 2023]. Tilgjengelig fra: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128238462000067>
20. Andrew E, Levy FES. PCB [Internett]. Oslo: i Store medisinske leksikon på snl.no; 2022 [hentet 12. april 2023]. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/PCB>
21. Horiba ABX Diagnostics. Horiba ABX Pentra XL 80 User Manual [Internett]. Frankrike: Horiba ABX Diagnostics; 2007 [hentet 14. april 2023]. Tilgjengelig fra: https://archive.org/details/manual_Horiba_ABX_Pentra_XL80_User_Manual

22. Horiba Medical. Double Hydrodynamic Sequential System (DHSS) [internett]. California, USA: Horiba Medical; (ingen dato) [Hentet 19. mai 2023]. Tilgjengelig fra: <https://www.horiba.com/sgp/medical/academy/technology/double-hydrodynamic-sequential-system-dhss/>
23. Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 8. utg. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2019. s. 47-48.
24. Unalli SO, Ozarda Y. Stability of hematological analytes during 48 hours storage at three temperatures using Cell-Dyn hematology analyzer. J Med Biochem. Juni 2021 [Hentet 09. mai 2023]. 5;40(3):252-260. Tilgjengelig fra: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34177369/>
25. Fürst. HOLDBARHETSOVERSIKT ANALYSER [Internett]. Oslo: Fürst; mars 2023 [hentet 18. april 2023]. Tilgjengelig fra: https://www.furst.no/forlegkontoret/holdbarhetsoversiktanalyser/?fbclid=IwAR3yhL8X6KjCy_mfZcMtRI4HQCFAX3DOPGAechemY2UZWNQmWkXpsh0FV1-U
26. Unalli OS, Ozarda Y. Stability of hematological analytes during 48 hours storage at three temperatures using Cell-Dyn hematology analyzer. Journal of medical biochemistry. Juni 2021 [hentet 05. mai 2023] 5;40(3):252-260. Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138654/>
27. Fürst. NØYAKTIGHET [Internett]. Oslo: Fürst; (ingen dato) [hentet 02. mai 2023]. Tilgjengelig fra: <https://www.furst.no/om-furst/kvalitetssikring/noyaktighet/>
28. Kalra A. Decoding the Bland–Altman plot: Basic review. J Pract Cardiovasc Sci [Elektronisk artikkel]. 2017 [hentet 23. mars 2023];3: s. 36-8. Tilgjengelig fra: <https://www.j-pcs.org/text.asp?2017/3/1/36/210855>
29. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. Stat Methods Med Res [Elektronisk artikkel]. 1999 [hentet 23. mars 2023]; 8: s. 135 - 160. Tilgjengelig fra: <https://journals.sagepub.com/doi/epdf/10.1177/096228029900800204>
30. Aalen OO. Statistiske metoder i medisin og helsefag. 2.utgave. Oslo: Gyldendal Norske Forlag AS; 2018.
31. Aarsand AK, Fernandez-Calle P, Webster C, Coskun A, Gonzales-Lao E, Diaz-Garzon J, et al. The EFLM Biological Variation Database [Internett]. Milano: (ingen dato); [hentet 02. mai 23]. Tilgjengelig fra: <https://biologicalvariation.eu/>

32. Kur KD, Agersnap N, Holländer NH, Pedersen OBV, Friis-Hansen L. Evaluation of the HemoCue WBC DIFF in leukopenic patient samples. *International Journal of Laboratory hematology (ISLH)* [Elektronisk artikkel]. 2020 [hentet 03. mai 2023]; 42 (3): s. 256-262. Tilgjengelig fra: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.13158>
33. NTNU Ålesund (2023). Figur mottatt ved personlig korrespondanse med Heidi Engstrøm [mottatt 17. mars 2023].
34. Ålesund Sjukehus (2023). Figur mottatt ved personlig korrespondanse med bioingeniører ved hematologisk avdeling [mottatt 20. mars 2023].

Vedlegg

Vedlegg 1 – Risikoanalyse

RISIKOANALYSE (alternativ til bruk av RiskManager)											
Enhet/institutt: Institutt for biologiske fag Ansvarlig linjeleder (navn): Tove Havnegjerde Ansvarlig for aktiviteten som risikovurderes (navn): Deltakere (navn):											
Beskrivelse av den aktuelle aktiviteten, området mv.: Risikoanalysen omfatter laboratoriearbeidet i forbindelse med bcheleoppgaven. Dette innebærer både selve prøvetakingen og arbeidet med analysene i ettertid.											
Aktivitet/arbeidsoppgave	Mullig uønsket hendelse	Eksisterende risikoreduerende tiltak	Vurdering av sannsynlighet (S)			Vurdering av konsekvens (K)			Risikooversikt (S x K)	Forslag til forebyggende og/eller korrigerende tiltak Prioriter tiltak som kan forhindre at hendelsen inntreffer (samsynlighetsreduerende tiltak) fra en skjerper beregning (konsekvensreduerende tiltak)	Restrisiko etter tiltak (S x K)
			(1-5)	Menneske (1-5)	Økt/materiell (1-5)	Tyre miljø (1-5)	Omdømme (1-5)				
Blodprøvetaking	Stikkeklade	Sikre nåla når prøven er tatt og kaste den i risikoavfall	1	2				2	Alle har tatt hepatitt B-vaksine.		
Blodprøvetaking	Besvime	Spørre om tidligere opplevelser, pasienten slapper av og observeres.	1	1				1			
Blodprøvetaking	Stikke feil og treffe en nerve	God opplæring i teoretisk og praktisk blodprøvetaking på skolen, samt mengdetrening i praksisperioden.	1	1				1			
Blodprøvetaking	Stikke feil og treffe sene	God opplæring i teoretisk og praktisk blodprøvetaking på skolen, samt mengdetrening i praksisperioden.	1	1				1			
Blodprøvetaking	Reaksjon på teip	Spørre om de har hatt tidligere allergisk reaksjon på teip	2	1				2			
Blodprøvetaking	Pasienten kaster opp	Spørre om det er sannsynlig at det skjer	1	1		1		2			
Håndtering av blodprøver	Blodsmitte	Alle har tatt hepatitt-B vaksine. Sikre nåler og benytte hansker	1	3				3			
Deltakelse i prosjektet	Blodprøve tatt på feil grunnlag, misforståelse	Alle deltakere skal få god informasjon om prosjektet, både muntlig av den som rekrutterer, samt skriftlig informasjon i form av samtykkeskjemaet. I tillegg skal vi gi informasjonen en gang til når deltakerne kommer på lab for å bli tatt blodprøve av	1	2				5			
Arbeid med oppgaven	Dårlig stemming	Vi har laget gruppegrøt for å forhindre dette	1	2				4			
Rapportering av resultater	Rot i nummersystemet	Det er utarbeidet et oversiktlig excel-dokument hvor all informasjon rundt prøvetaking og deltakere samles	1	2				4	En står ansvarlig for systemet.		
Skriving av oppgaven	Miste dokumenter/data	Renskerede arenitt legges inn i et felles dokument som lagres på PC og sendes i en felles gruppechat slik at en har dokumentet lagret i chaten om en PC skulle strekke	1	4				4	Lagrer dokumentet flere steder.		

Vedlegg 2 – Samtykkeskjema

Samtykkeskjema

Deltakelse til praktisk bacheloroppgave

Formål

I dette prosjektet skal vi gjennomføre differensialtelling av hvite blodlegemer i kapillært og venøst blod.

Hva innebærer det for deg å delta?

Deltakelse i prosjektet innebærer at du blir tatt venøs og kapillær blodprøve av, og at dette benyttes til differensialtelling av hvite blodlegemer. I forbindelse med prøvetaking, blir en bedt om å svare på noen spørsmål, som kan ha betydning for tolkning av prøvesvaret.

Blodprøvetaking utføres av en bioingeniørstudent. Dine prøver vil bli aidentifisert ved å bli gitt et nummer, som vil samsvare med nummeret på spørre- og samtykkeskjema. Dersom du ønsker å trekke deg underveis, vil alle data umiddelbart slettes. Du trenger ikke oppgi noen begrunnelse.

Ditt personvern

Det er kun prosjektansvarlig som har tilgang til dine personopplysninger, og dette vil håndteres i samsvar med helseforskningsloven ([Helseforskningsloven](#)) og grunnleggende personvernprinsipper ([Grunnleggende personvernprinsipper](#)). Spørreskjema vil oppbevares utilgjengelig for andre, og makuleres umiddelbart etter prosjektet er ferdigstilt.

Prøvematerialet vil bli destruert. Alt senest 20 mai 2023.

For mer informasjon kan du kontakte prosjektansvarlig:

████████████████████

Epost: ████████████████████

Telefon: ██████████

Spørreskjema

Alder: _____ år

Biologisk kjønn: __ K __ M

Etnisitet: _____ (For eksempel Norge, Italia eller Etiopia.)

Samtykkeerklæring

Jeg har mottatt og forstått informasjonen om prosjektet, og fått anledning til å stille spørsmål.

Jeg samtykker til:

Å bli tatt venøs- og kapillær blodprøve av, samt å svare på spørreskjema.

At informasjonen kan oppbevares frem til prosjektet er levert.

Navn

Sted, dato

Signatur deltaker

Signatur prosjektansvarlig

Sted, Dato

Vedlegg 3 – HemoCue WBC DIFF aksepterte avvik

Akseptert avvik ved sammenligning av parallelle prøver kjørt på HemoCue® WBC DIFF vs. laboratoriemetode

Ta en venøs prøve som analyseres både på HemoCue WBC DIFF og laboratoriemetoden (samme EDTA-glass skal benyttes, bruk DIFF-safe™ e.l. for å analysere på HemoCue WBC DIFF før glasset sendes til lab).

Godkjent avvik er følgende, for hver parameter:

Totalt leukocytter (WBC)	$\leq \pm 0,4 \times 10^9/L$ eller 15 % (bruk alternativet som gir størst avvik)
Nøytrofile	$\leq \pm 0,5 \times 10^9/L$ eller 20 % (bruk alternativet som gir størst avvik)
Lymfocytter	$\leq \pm 0,5 \times 10^9/L$ eller 25 % (bruk alternativet som gir størst avvik)

Ref: CLIA proficiency testing criteria for acceptable analytical performance, Federal Register February 28, 1992;57(40):7002-186.

NSM263NO 150121



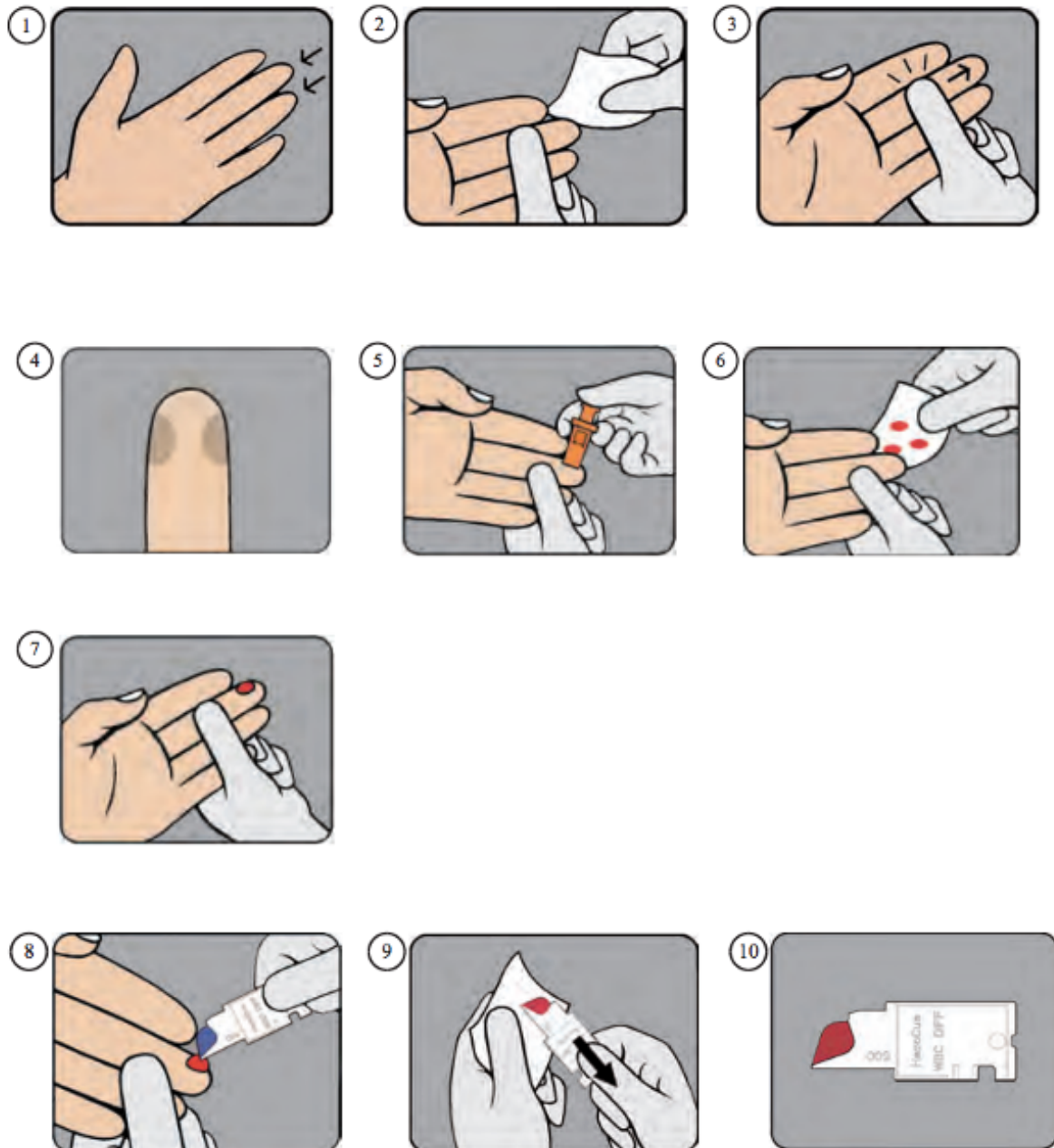
Figur V1: Aksepterte avvik ved sammenligning av parallelle prøver kjørt på HemoCue WBC DIFF og Sysmex XN-2000 (33).

Vedlegg 4 – Manual for blodprøvetaking

Manualen skal benyttes i arbeidet med bacheloroppgaven og alle prøver i oppgaven skal tas etter prosedyren som er beskrevet her. Manualen er basert på og samsvarer med HemoCue sine egne retningslinjer for blodprøvetaking som er beskrevet i brukermanualen for HemoCue WBC DIFF. Det er av praktiske hensyn at dette dokumentet er laget i tillegg.

Kapillær prøvetakning

1. Pasientens hånd skal være varm og avslappet. Bruk kun langfinger eller ringfinger for prøvetaking. Unngå å bruke finger med ringer på.
2. Rengjør fingertuppen med desinfeksjonsmiddel og la det tørke helt.
3. Press lett med tommelen fra det ytterste leddet mot fingertuppen.
4. Ta prøven på siden av fingertuppen.
5. Press lett i fingertuppen og stikk i fingeren med en lansett.
6. Tørk bort de første 2 eller 3 bloddråpene.
7. Trykk lett mot fingertuppen til en ny dråpe kommer frem.
8. Når bloddråpen er stor nok, fyll mikrokyvetten helt i ett drag. IKKE etterfyll!
Kontroller at mikrokyvetten fylles fra tuppen og danner en vinkel på ca. 45 grader.
9. Tørk bort overskudd av blod på utsiden av mikrokyvetten med et tørt, lofritt tørkepapir. Unngå å komme borti mikrokyvettens åpning.
10. Kontroller om det er luftbobler i mikrokyvetten. Hvis det er tilfelle kast mikrokyvetten og ta en ny prøve.



Figur V2: Detaljert instruksjon for kapillær blodprøvetaking (8).

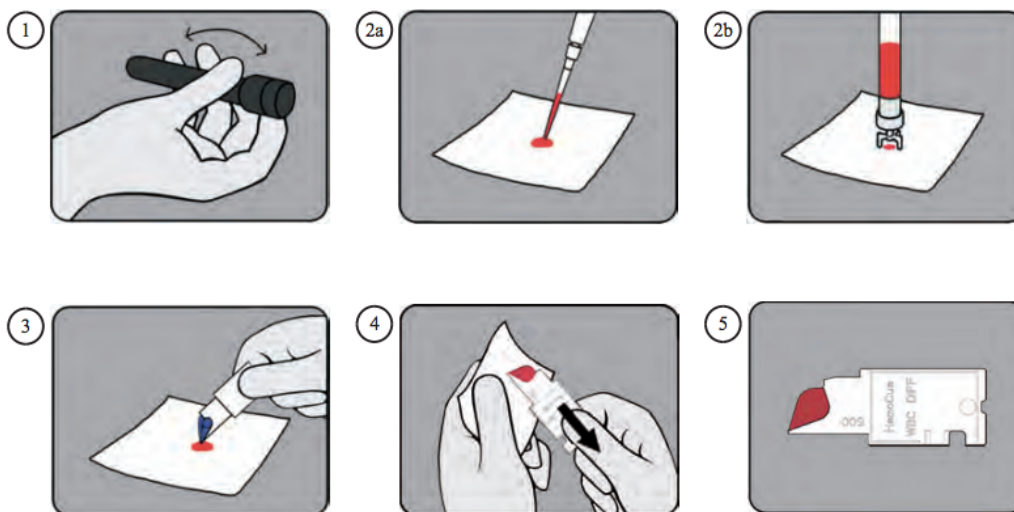
MERK: sørg for at mikrokyvetten fylles på riktig måte, for å unngå luftbobler.

MERK: hvis det skal tas ytterligere en prøve, er det viktig at dette blir gjort etter den første prøven er fullført. Tørk bort resten av bloddråpen og fyll den andre mikrokyvetten med ny bloddråpe, som beskrevet i trinn 8-10 over.

MERK: HemoCue WBC DIFF er ikke validert for hælstikk.

Venøs prøvetaking

1. Blodprøver med venøst blod skal lagres ved romtemperatur (18-30 °C) og analyseres innen åtte timer etter at prøven ble tatt. Bland prøvematerialet grundig på en mekanisk vippe i 1-2 minutter, eller snu prøven 10-20 ganger for hånd. Prøvene kan ikke fryses. For kontrollmateriale må du alltid følge produsentens bruksanvisning.
2. Plasser en bloddråpe eller kontrollmateriale på et hydrofobt underlag ved hjelp av en pipette eller tilsvarende.
3. Fyll mikrokyvetten helt i et drag. IKKE etterfyll!
MERK: Kontroller at mikrokyvetten fylles fra tuppen og danner en vinkel på ca. 45 grader med bloddråpen.
4. Tørk bort overskudd av blod på utsiden av mikrokyvetten med et tørt, lofritt tørkepapir. Unngå å komme borti mikrokyvettens åpning.
5. Kontroller om det er luftbobler i den fylte mikrokyvetten. Hvis det er tilfellet, må mikrokyvetten kastes. Ta en ny kyvette og gjenta prosedyren (8).



Figur V3: Instruksjoner for bruk av venøst prøvemateriale på HemoCue WBC DIFF (8).

Vedlegg 5 – Brukermanual for HemoCue WBC DIFF

For å starte apparatet trekkes kyvettearmen til posisjon for innlegging av prøve. Deretter trykkes den venstre knappen inn, og holdes inne til aktivering av avlesningsvindu. Instrumentet vil nå kjøre en selvtest i ca. 30 sekunder. Når hovedmenyen vises, er instrumentet klart for bruk.

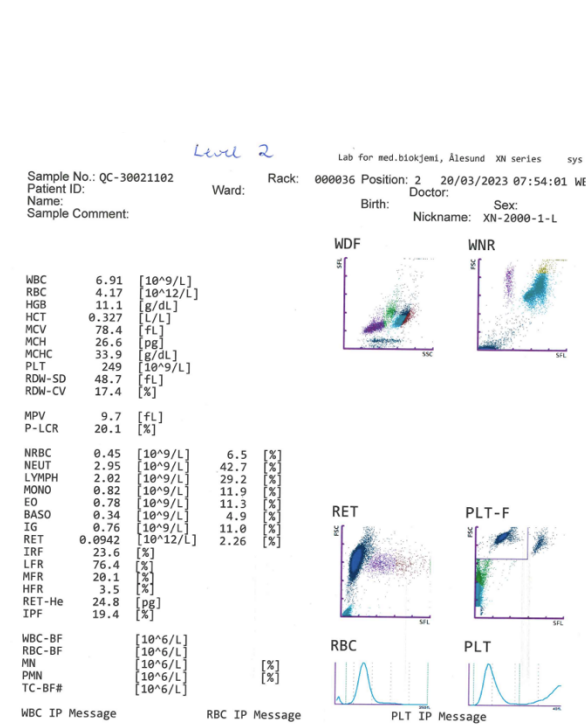
1. En mikrokyvette (HemoCue WBC DIFF Microcuvette) tas ut av pakken, hvor den indre emballasjen åpnes.
2. På instrumentet skal "Pasient Test" trykkes på, før nødvendig data kan legges inn.
3. Deretter skal den høyre knappen trykkes på, slik at dataen blir bekreftet. Instrumentet vil nå vise et symbol for "Sett inn kyvette".
4. En blodprøve tas i henhold til prosedyren (vedlegg 4) vedlagt for dette.
5. Den fylte kyvetten settes i kyvetteholderen, hvor analysen nå kan starte. Analyseringen må starte innen et minutt etter mikrokyvetten er fylt. Under analyseringen vil et målevindu vises, og analyseringen tar opptil fem minutter.
6. Når resultatene er klare kasseres mikrokyvetten i risikoavfall. Resultatene vises på skjermen, og "Godkjenn" må trykkes inn for å bekrefte resultatet.

For å sikre pålitelige prøvesvar blir det analysert kontroller på instrumentet hver dag. Prøveresultatene bør ikke brukes dersom kontrollene ikke blir godkjent.

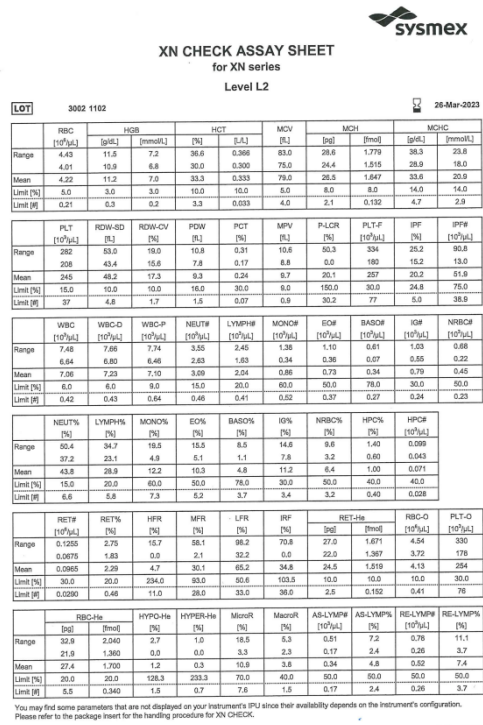
Instrumentet skal vedlikeholdes etter hver dags bruk. Dette er for å forsikre at kvaliteten på instrumentet vedlikeholdes, samt for å unngå interferens etter rester fra gamle prøver eller skittent instrument. Kyvetteholderen skal renses med desinfeksjonssprit (opptil 70%). Deretter skal det gå 15 minutter før kyvetteholderen settes tilbake i posisjon, slik at desinfiseringen får tørke rikelig. Dekselet renses ved samme metode.

Instrumentet har optiske komponenter som må rengjøres. Dersom rengjøring er nødvendig vil en feilkode for vask vises, og det følger med en rengjøringsspatel som skal brukes (8).

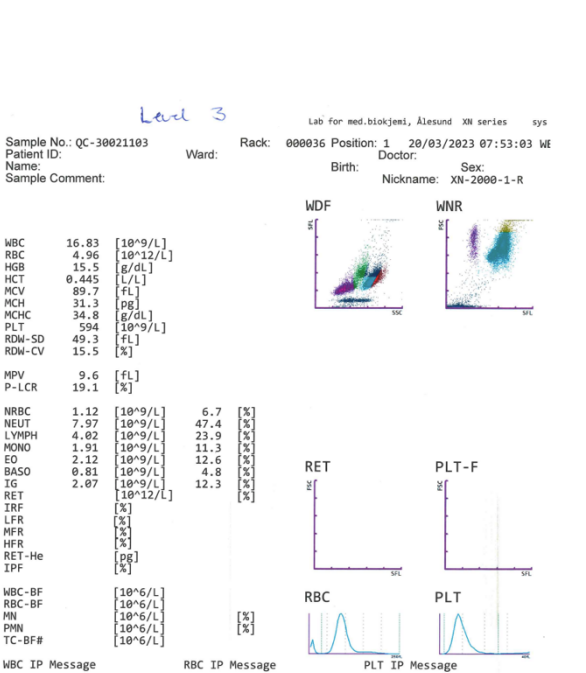
Vedlegg 6 – Interne kvalitetskontroller analysert på Sysmex XN-2000



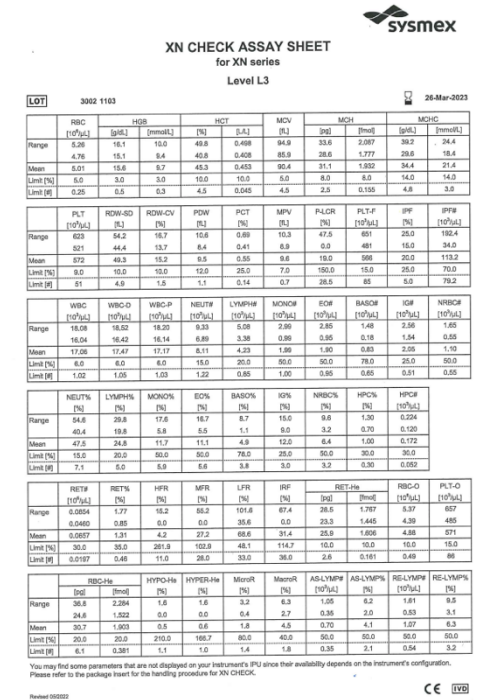
Figur V4: XN CHECK level 2 (normalt nivå) analysert på Sysmex XN-2000 20.03.2023 (34).



Figur V5: XN CHECK ASSAY SHEET for level 2 (34).



Figur V6: XN CHECK level 3 (høyt nivå) analysert på Sysmex XN-2000 20.02.2023 (34).



Figur V7: XN CHECK ASSAY SHEET for level 3 (34).

Vedlegg 7 – Resultater av kontrollen analysert på HemoCue WBC DIFF, ABX Pentra XL 80 og Sysmex XN-2000

Kontroll C 20.03			
	Venøs kontroll på HemoCue WBC DIFF	Venøs kontroll på Sysmex XN-2000	Differanse %
Nøytrofile granulocytter	3,90	4,065	-4,06 %
Lymfocytter	2,20	2,315	-4,97 %
Monocytter	0,20	0,345	-42,03 %
Eosinofile granulocytter	0,20	0,15	33,33 %
Basofile granulocytter	0,00	0,03	-100,00 %
Total WBC	6,40	6,905	-7,31 %
Kontroll C 21.03			
	Venøs kontroll på HemoCue WBC DIFF	Venøs kontroll på Sysmex XN-2000	Differanse %
Nøytrofile granulocytter	3,80	4,065	-6,52 %
Lymfocytter	2,30	2,315	-0,65 %
Monocytter	0,30	0,345	-13,04 %
Eosinofile granulocytter	0,20	0,15	33,33 %
Basofile granulocytter	0,00	0,03	-100,00 %
Total WBC	6,60	6,905	-4,42 %
Kontroll C 22.03			
	Venøs kontroll på HemoCue WBC DIFF	Venøs kontroll på Sysmex XN-2000	Differanse %
Nøytrofile granulocytter	3,60	4,065	-11,44 %
Lymfocytter	2,40	2,315	3,67 %
Monocytter	0,40	0,345	15,94 %
Eosinofile granulocytter	0,10	0,15	-33,33 %
Basofile granulocytter	0,00	0,03	-100,00 %
Total WBC	6,40	6,905	-7,31 %

Figur V8: Kontroll C analysert på HemoCue WBC DIFF og Sysmex XN-2000.

Kontroll C 20.03				
	Venøs kontroll på APX Pentra XL 80	Venøs kontroll på Sysmex XN-2000	Differanse %	Referanse
Nøytrofile granulocytter	4,13	4,065	1,60 %	≤20%
Lymfocytter	2,66	2,315	14,90 %	≤25%
Moonocytter	0,22	0,345	-36,23 %	
Eosinofile granulocytter	0,18	0,15	20,00 %	
Basofile granulocytter	0,04	0,03	33,33 %	
Total WBC	7,2	6,905	4,27 %	≤15%
Kontroll C 21.03				
	Venøs kontroll på APX Pentra XL 80	Venøs kontroll på Sysmex XN-2000	Differanse %	Referanse
Nøytrofile granulocytter	4,21	4,065	3,57 %	≤20%
Lymfocytter	2,64	2,315	14,04 %	≤25%
Moonocytter	0,06	0,345	-82,61 %	
Eosinofile granulocytter	0,18	0,15	20,00 %	
Basofile granulocytter	0,04	0,03	33,33 %	
Total WBC	7,1	6,905	2,82 %	≤15%
Kontroll C 22.03				
	Venøs kontroll på APX Pentra XL 80	Venøs kontroll på Sysmex XN-2000	Differanse %	Referanse
Nøytrofile granulocytter	4,07	4,065	0,12 %	≤20%
Lymfocytter	2,5	2,315	7,99 %	≤25%
Moonocytter	0,31	0,345	-10,14 %	
Eosinofile granulocytter	0,16	0,15	6,67 %	
Basofile granulocytter	0,03	0,03	0,00 %	
Total WBC	7,1	6,905	2,82 %	≤15%

Figur V9: Kontroll C analysert på ABX Pentra XL 80 og Sysmex XN-2000.

Vedlegg 8 – Rådata fra metodesammenligning og parallellanalyse

Vedlagt er en oversikt over rådata fra metodesammenligningen mellom kapillære og venøse målinger av 5-parts differensialtelling utført på HemoCue WBC DIFF.

Tabell VI: Oversikt over rådata fra differensialtelling av kapillære og venøse verdier analysert på HemoCue WBC DIFF.

Prøvenummer	Total leukocytter		Nøytrofile granulocytter		Lymfocytter		Monocytter		Eosinofile granulocytter		Basofile granulocytter	
	Kapillær	Venøs	Kapillær	Venøs	Kapillær	Venøs	Kapillær	Venøs	Kapillær	Venøs	Kapillær	Venøs
1	4,4	3,3	1,6	1,2	2,4	1,7	0,3	0,2	0	0	0	0
2	4,2	6,5	2,1	1,7	1,8	1,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0	0
3	7,5	6,4	4,4	3,7	2,7	2,4	0,2	0,3	0,2	0,1	0	0
4	5,5	9,1	3,3	4,2	1,7	1,7	0,3	0,3	0,2	0,3	0	0
5	9,5	5,7	6,2	6,4	2,5	2	0,4	0,3	0,4	0,3	0	0
6	6,2	6,8	3,3	3,3	2,4	1,9	0,4	0,4	0,1	0,2	0	0
7	7,3	6,3	4,1	4,1	2,9	2,3	0,3	0,3	0,1	0,1	0	0
8	7	6	3,3	3,4	3,3	2,5	0,3	0,3	0,1	0,1	0	0
9	6,8	7,1	3,4	2,9	3,2	2,8	0,2	0,1	0,1	0,1	0	0
10	7,1	5,9	3,9	4,7	2,7	2	0,3	0,2	0,2	0,2	0	0
11	5,5	4,9	3,2	3,6	1,9	2	0,3	0,2	0,1	0,1	0	0
12	4,6	5,2	2,9	3,4	1,4	1,3	0,1	0,1	0,1	0,2	0	0
13	4,4	6,9	1,8	3	2,2	2	0,3	0,2	0	0,1	0	0
14	6,9	3,2	4,1	4,2	2,4	2,5	0,3	0,2	0,1	0,1	0	0
15	5,7	7,7	3,7	5,7	1,6	1,6	0,3	0,3	0,1	0,1	0	0
16	15,4	10,8	10,6	8,2	3,9	2	0,8	0,5	0,1	0,1	0	0
17	6,2	5,8	3,8	3,9	2	1,6	0,3	0,2	0,1	0,1	0	0
18	7,5	6,8	4,1	4	3	2,4	0,3	0,2	0,2	0,1	0	0
19	6,3	7,8	2,7	4,1	3,2	3,3	0,3	0,3	0	0,1	0	0
20	5,9	4,3	3,6	2,5	1,8	1,4	0,3	0,2	0,2	0,1	0	0
21	8,3	7,7	5,1	5,1	2,7	2,2	0,4	0,3	0,1	0,1	0	0
22	6,4	6,1	4,5	4,4	1,6	1,5	0,3	0,2	0	0	0	0
23	6	5,2	3,3	3,2	2,3	1,7	0,4	0,2	0,1	0,1	0	0
24	3,7	5,2	1,8	2,7	1,7	2,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0	0
25	8	6,7	4,9	4,7	2,6	1,7	0,4	0,2	0	0,1	0	0
26	8,6	9,4	6,5	7,6	1,6	1,3	0,4	0,3	0,2	0,2	0	0
27	6,9	6,8	4,2	4,4	2,2	2,1	0,3	0,2	0,1	0,1	0	0
28	7,2	6,8	3,7	3,4	2,9	2,8	0,4	0,3	0,2	0,2	0	0
29	8,6	8	5,9	6,2	2,3	1,4	0,3	0,2	0,1	0,1	0	0
30	6,4	8,6	3,6	5,3	2,4	2,6	0,2	0,3	0,2	0,3	0	0
31	4,2	3,5	2,1	1,9	1,9	1,3	0,2	0,1	0	0,1	0	0
32	12,6	8,9	7,3	5,8	4,8	2,8	0,4	0,2	0,1	0,1	0	0
33	8,8	7	5,1	4,5	3,2	2,1	0,4	0,4	0,1	0	0	0
34	10,2	8,6	6,7	6,1	3	2	0,4	0,3	0,1	0,2	0	0
35	6,2	5,2	2,9	2,4	3,6	2,1	0,3	0,3	0,4	0,4	0	0
36	7,4	6,8	4,2	4,2	2,7	2,2	0,3	0,4	0,1	0,1	0	0
37	7,9	7,5	4,4	4,6	2,9	2,5	0,5	0,4	0,1	0,1	0	0
38	4,9	5,2	2,8	3,3	1,8	1,7	0,3	0,2	0	0,1	0	0
39	7,3	6,8	4,5	4,2	2,4	2,3	0,3	0,3	0,1	0,1	0	0
40	4,8	5,5	2,4	3,1	1,9	2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0
41	4,6	5,1	2,6	3,3	1,7	1,6	0,2	0,1	0	0	0	0
42	6	6	4,2	4,4	1,4	1,2	0,3	0,2	0,2	0,1	0	0
43	8,2	5,6	4,8	3,4	2,8	1,9	0,3	0,2	0,3	0,2	0	0
44	4,2	4,9	2,2	2,8	1,7	1,8	0,1	0,2	0,1	0,1	0	0
45	5	4,6	2,7	2,7	2	1,6	0,2	0,2	0,1	0,1	0	0
46	4,6	6,3	2,5	3,7	1,8	2	0,1	0,3	0,2	0,3	0	0
47	3,1	3,6	1,5	1,7	1,5	1,6	0,1	0,1	0	0	0	0
48	7,7	6,5	5,3	4,7	2	1,5	0,3	0,2	0,2	0,1	0	0
49	4,3	5	2,1	2,8	1,7	1,6	0,2	0,1	0,4	0,4	0	0
50	4,5	4,4	2,3	2,5	2	1,6	0,2	0,2	0,1	0,1	0	0
51	7,5	7,3	4,2	4,5	2,6	2,1	0,3	0,3	0,3	0,4	0	0

Tabell V2: Oversikt over rådata fra differensialtelling av venøse prøver analysert på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

Venøse prøver Prøvenummer	Totalt leukocytter		Neutrofile granulocytter		Lymfocytter		Monocytter		Eosinofile granulocytter		Basofile granulocytter	
	HemoCue WBC DIFF	ABX Pentra XL 80	HemoCue WBC DIFF	ABX Pentra XL 80	HemoCue WBC DIFF	ABX Pentra XL 80	HemoCue WBC DIFF	ABX Pentra XL 80	HemoCue WBC DIFF	ABX Pentra XL 80	HemoCue WBC DIFF	ABX Pentra XL 80
1	3,3	3,4	1,2	1,22	1,7	2,02	0,2	0,11	0	0,03	0	0,03
2	6,5	3,6	1,7	1,89	1,3	1,52	0,2	0,12	0,1	0,07	0	0,03
3	6,4	7,1	3,7	3,93	2,4	2,84	0,3	0,08	0,1	0,16	0	0,04
4	9,1	4,34	4,2	4,34	1,7	2	0,3	0,2	0,3	0,26	0	0,04
5	5,7	6,4	6,4	6,46	2	2,59	0,3	0,12	0,2	0,37	0	0,08
6	6,8	6,2	3,3	3,83	1,9	2,13	0,3	0,03	0,2	0,14	0	0,02
7	6,3	4,1	2,3	4,49	7,3	2,61	0,3	0,04	0,1	0,09	0	0,04
8	6	6,7	3,4	3,42	2,5	3,04	0,3	0,04	0,1	0,12	0	0,05
9	7,1	6,2	2,9	3,11	2,8	2,93	0,1	0,02	0,1	0,09	0	0,04
10	5,9	7,3	4,7	4,32	2	2,5	0,2	0,29	0,2	0,18	0	0,04
11	4,9	6,1	3,6	3,73	2	2,1	0,2	0,12	0,1	0,12	0	0,04
12	5,2	5,1	3,4	3,31	1,3	1,57	0,1	0,01	0,2	0,15	0	0,02
13	6,9	5,7	3	3	2	2,33	0,2	0,2	0,1	0,2	0	0,05
14	3,2	7	4,2	3,81	2,5	2,74	0,2	0,28	0,1	0,1	0	0,03
15	7,7	7,9	5,7	5,27	1,6	1,85	0,3	0,63	0,1	0,07	0	0,08
16	10,8	11,3	8,2	8,26	2	2,58	0,5	0,21	0,1	0,16	0	0,07
17	5,8	6	3,9	3,86	1,6	1,65	0,2	0,38	0,1	0,1	0	0,04
18	6,8	7,5	4	4,04	2,4	3,05	0,2	0,05	0,2	0,27	0	0,04
19	7,8	8,1	4,1	4,09	3,3	3,82	0,3	0,04	0,1	0,13	0	0,05
20	4,3	4,8	2,5	2,77	1,4	1,84	0,2	0,09	0,1	0,12	0	0,03
21	7,7	8,4	5,1	5,45	2,2	2,68	0,3	0,06	0,1	0,15	0	0,03
22	6,1	6,3	4,4	4,55	1,5	1,64	0,2	0,06	0	0,05	0	0,03
23	5,2	5,5	3,2	3,15	1,7	2,02	0,2	0,15	0,1	0,15	0	0,05
24	5,4	5,4	2,7	2,48	2,1	2,69	0,2	0,04	0,1	0,13	0	0,02
25	6,7	6,9	4,7	4,63	1,7	2,15	0,2	0,03	0,1	0,08	0	0,05
26	9,4	10,4	7,6	8,2	1,3	1,66	0,2	0,2	0,2	0,25	0	0,06
27	6,8	7,1	4,4	4,6	2,1	2,31	0,2	0,03	0,1	0,14	0	0,05
28	6,8	7,4	3,4	3,95	2,8	3,07	0,3	0,05	0,2	0,23	0	0,06
29	8	8,1	6,2	5,82	1,4	2,1	0,2	0,03	0,1	0,1	0	0,06
30	8,6	9,1	5,3	5,44	2,6	3,35	0,3	0,04	0,3	0,22	0	0,06
31	3,5	3,8	1,9	1,92	1,3	1,68	0,1	0,08	0,1	0,09	0	0,02
32	8,9	9,9	5,8	6,51	2,8	3,06	0,2	0,06	0,1	0,17	0	0,08
33	7	7,2	4,5	4,67	2,1	2,16	0,4	0,2	0	0,07	0	0,05
34	8,6	9,3	6,1	6,75	2	2,28	0,3	0,07	0,2	0,12	0	0,05
35	5,2	5,4	2,4	2,58	2,1	2,3	0,3	0,13	0,4	0,4	0	0,03
36	6,8	7	4,2	4,36	2,2	2,44	0,4	0,03	0,1	0,1	0	0,03
37	7,5	8,2	4,6	4,96	2,5	2,82	0,4	0,25	0,1	0,07	0	0,05
38	5,2	5,3	3,3	3,31	1,7	1,88	0,2	0,03	0,1	0,06	0	0,03
39	6,8	7,4	4,2	4,56	2,3	2,56	0,3	0,13	0,1	0,07	0	0,05
40	5,5	5,8	3,1	3,01	2	2,46	0,2	0,03	0,2	0,24	0	0,02
41	5,1	5,2	3,3	3,23	1,6	1,81	0,1	0,08	0	0,06	0	0,03
42	6	6,8	4,4	5,07	1,2	1,39	0,2	0,14	0,1	0,14	0	0,03
43	5,6	6	3,4	3,79	1,9	1,97	0,2	0,02	0,2	0,2	0	0,03
44	4,9	5,2	2,8	2,65	1,8	2,24	0,2	0,14	0,1	0,18	0	0,02
45	4,6	5,2	2,7	2,81	1,6	2,2	0,2	0,02	0,1	0,14	0	0,03
46	6,3	6,7	3,7	3,81	2,3	2,3	0,3	0,21	0,3	0,31	0	0,05
47	3,6	3,7	1,7	1,69	1,6	1,82	0,1	0,13	0	0,05	0	0,03
48	6,5	6,9	4,7	4,84	1,5	1,8	0,2	0,06	0,1	0,16	0	0,03
49	5	5,3	2,8	2,81	1,6	1,89	0,1	0,21	0,4	0,4	0	0,03
50	4,4	4,4	2,5	2,77	1,6	2,25	0,2	0,02	0,1	0,1	0	0,02
51	7,3	7,4	4,5	4,21	2,1	2,63	0,3	0,2	0,4	0,33	0	0,05

Vedlegg 9 – Datasett brukt til å generere plot

Datasettene som er brukt til å generere Bland-Altman plot. Informasjonen er beregnet ved hjelp av Excel med tilleggsprogrammet Analyse-it.

Datasettene for Bland-Altman plot laget for venøse og kapillære prøver analysert på HemoCue WBC DIFF.

	N 51	
	Minimum	Maximum
Total Leukocyt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs	3,20	10,80
Total Leukocyt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Kapillær	3,10	15,40
(Total Leukocyt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs + Total Leukocyt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Kapillær) / 2	3,35	13,10

Fit Differences

Parameter	Estimate	95% CI	SE
Mean difference	0,33	-0,128 to 0,783	0,227
95% Lower LoA	-2,84	-3,628 to -2,062	0,390
95% Upper LoA	3,50	2,716 to 4,282	0,390
SD	1,62		

Figur V10: Datasett brukt til å generere dataplot for total WBC målt i venøse og kapillære prøver på HemoCue WBC DIFF.

N	51	
	Minimum	Maximum
Nøytrofile (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs	1,20	8,20
Nøytrofile (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Kapillær	1,50	10,60
(Nøytrofile (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs + Nøytrofile (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Kapillær) / 2	1,40	9,40

Fit Differences

Parameter	Estimate	95% CI	SE
Mean difference	-0,11	-0,329 to 0,117	0,111
95% Lower LoA	-1,66	-2,043 to -1,276	0,191
95% Upper LoA	1,45	1,064 to 1,832	0,191
SD	0,79		

Figur V11: Datasett brukt til å generere dataplot for nøytrofile granulocytter målt i venøse og kapillære prøver på HemoCue WBC DIFF.

N	51	
	Minimum	Maximum
Lymfocytt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs	1,20	3,30
Lymfocytt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Kapillær	1,40	4,80
(Lymfocytt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs + Lymfocytt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Kapillær) / 2	1,30	3,80

Fit Differences

Parameter	Estimate	95% CI	SE
Mean difference	0,41	0,275 to 0,553	0,069
95% Lower LoA	-0,55	-0,792 to -0,315	0,119
95% Upper LoA	1,38	1,142 to 1,620	0,119
SD	0,49		

Figur V12: Datasett brukt til å generere dataplot for lymfocytter målt i venøse og kapillære prøver på HemoCue WBC DIFF.

Datasettene for Bland-Altman plot laget for venøse prøver analysert på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

N	51	
	Minimum	Maximum
Total Leukocyt (10 ⁹ /L), ABX Pentra XL80 - Venøs	3,40	11,30
Total Leukocyt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs	3,20	10,80
(Total Leukocyt (10 ⁹ /L), ABX Pentra XL80 - Venøs + Total Leukocyt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs) / 2	3,35	11,05

Fit Differences

Parameter	Estimate	95% CI	SE
Mean difference	-0,39	-0,677 to -0,103	0,143
95% Lower LoA	-2,39	-2,886 to -1,898	0,246
95% Upper LoA	1,61	1,117 to 2,105	0,246
SD	1,02		

Figur V13: Datasett brukt til å generere dataplot for total WBC målt i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

N	51	
	Minimum	Maximum
Nøytrofile (10 ⁹ /L), ABX Pentra XL80 - Venøs	1,220	8,260
Nøytrofile (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs	1,200	8,200
(Nøytrofile (10 ⁹ /L), ABX Pentra XL80 - Venøs + Nøytrofile (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs) / 2	1,210	8,230

Fit Differences

Parameter	Estimate	95% CI	SE
Mean difference	-0,116	-0,1924 to -0,0401	0,0379
95% Lower LoA	-0,647	-0,7779 to -0,5159	0,0652
95% Upper LoA	0,414	0,2834 to 0,5453	0,0652
SD	0,271		

Figur V14: Datasett brukt til å generere dataplot for nøytrale granulocytter målt i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

N	51	
	Minimum	Maximum
Lymfocyt (10 ⁹ /L), ABX Pentra XL80 - Venøs	1,390	3,820
Lymfocyt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs	1,200	3,300
(Lymfocyt (10 ⁹ /L), ABX Pentra XL80 - Venøs + Lymfocyt (10 ⁹ /L), HemoCue WBC DIFF - Venøs) / 2	1,295	3,560

Fit Differences

Parameter	Estimate	95% CI	SE
Mean difference	-0,347	-0,3967 to -0,2982	0,0245
95% Lower LoA	-0,691	-0,7753 to -0,6059	0,0422
95% Upper LoA	-0,004	-0,0890 to 0,0804	0,0422

SD | 0,175

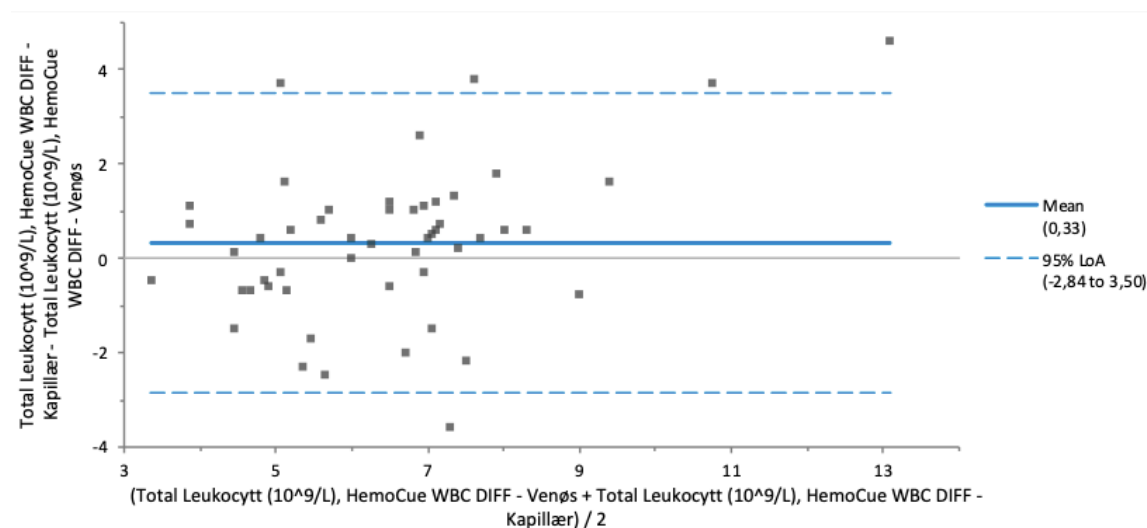
Figur V15: Datasett brukt til å generere dataplot for lymfocytter målt i venøse prøver på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

Vedlegg 10 – Plot med absolutte verdier

Vedlegg 10 er en oversikt over Bland-Altman plot brukt i prosjektet, med absolutte verdier. De statistiske fremstillingene vedlagt gjelder for tre parametere i 5-parts differensialtellingen; total WBC, nøytrofile granulocytter og lymfocytter. For de resterende parametrene, monocytter, eosinofile og basofile granulocytter, ble det ikke laget statistiske fremstillinger. Årsaken til dette var mangel på spredning i resultatene, som førte til at statistiske beregninger ble umulig.

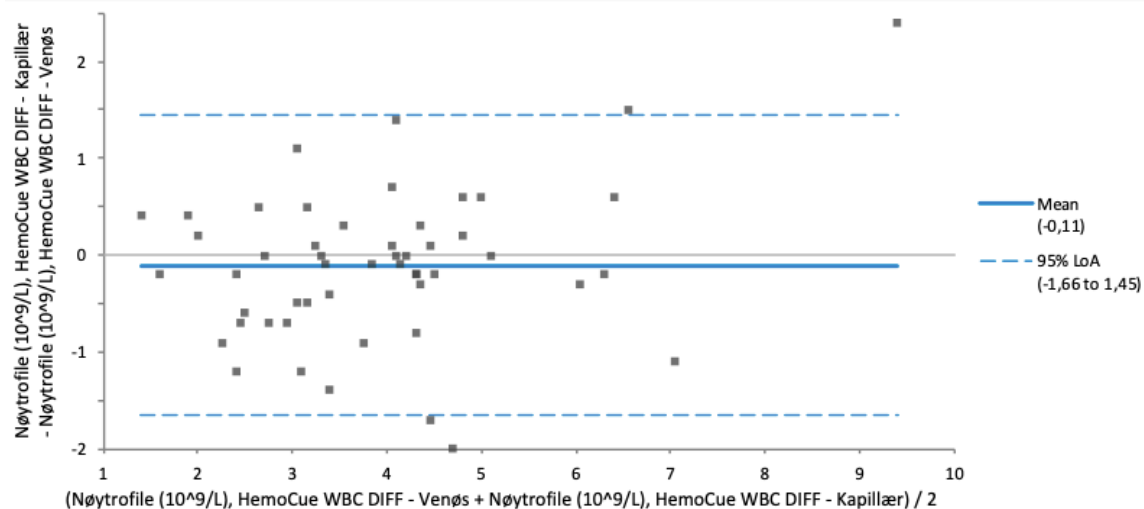
Sammenligning av prøvemateriale

Total WBC



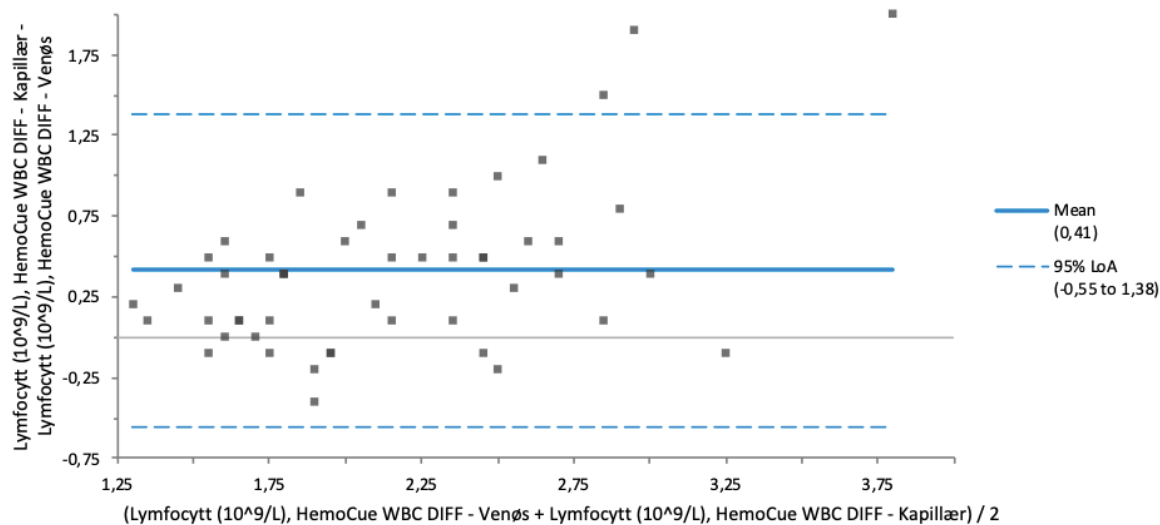
Figur V16: Bland-Altman plot for total WBC i kapillære og venøse prøver målt på HemoCue WBC DIFF.

Nøytrofile granulocytter



Figur V17: Bland-Altman plot for nøytrofile granulocytter i kapillære og venøse prøver målt på HemoCue WBC DIFF.

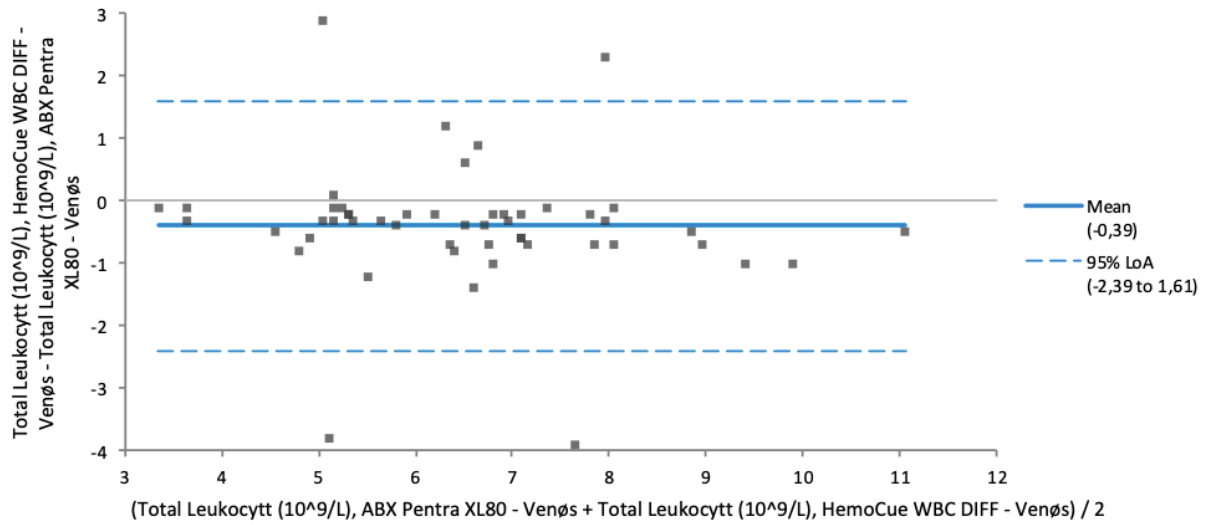
Lymfocytter



Figur V18: Bland-Altman plot for lymfocytter i kapillære og venøse prøver målt på HemoCue WBC DIFF.

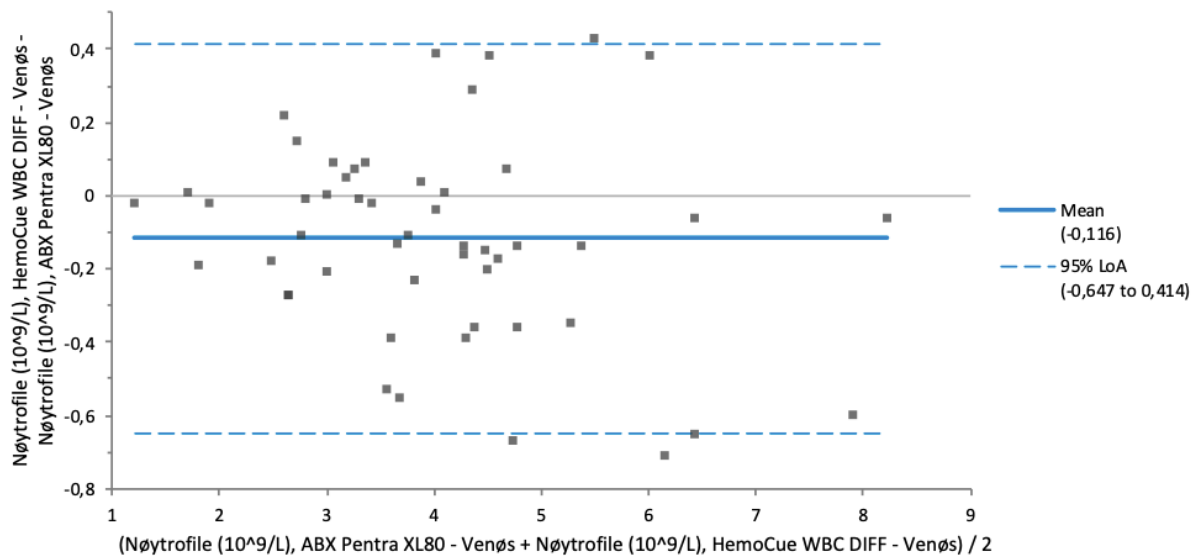
Metodesammenligning

Total WBC



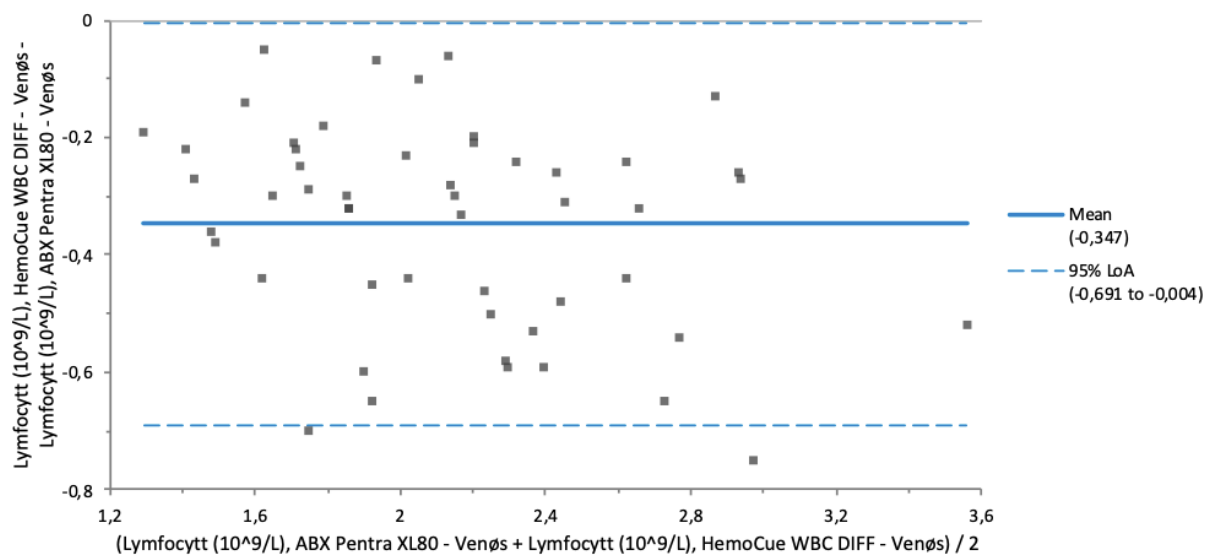
Figur V19: Bland-Altman plot for total WBC i venøse prøver målt på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

Nøytrofile granulocytter



Figur V20: Bland-Altman plot for nøytrofile granulocytter i venøse prøver målt på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

Lymfocytter



Figur V21: Bland-Altman plot for lymfocytter i venøse prøver målt på HemoCue WBC DIFF og ABX Pentra XL 80.

