

Metodbeskrivning

B-Leukocyter (PNA), B-Diff (PNA), HemocueGäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

B-Leukocyter (PNA), B-Diff (PNA), Hemocue

B-Leukocyter (PNA)	SKA05138
B-Neutrofila (PNA)	SKA02569
B-Eosinofila (PNA)	SKA04173
B-Basofila (PNA)	SKA02274
B-Lymfocyter (PNA)	SKA09472
B-Monocyter (PNA)	SKA04395

Bakgrund, indikation och tolkning

Hemocue WBC DIFF System bör endast användas för analys med venöst blod då analysresultat från venöst och kapillärt blod har visat sig skilja. Vid kapillär provtagning aktiveras försvarssystemet i kroppen vilket ger ökat antal leukocyter i blodet närmast sticket[4]. Värde från kapillärt blod ger generellt högre värde och kan för leukocyter skilja upp till 8 % och för vissa cellklasser ända upp till 100%, speciellt hos barn [1].

Systemet rekommenderas endast för användning till analys av prover på barn >3 månader samt vuxna. Differentialräkning i Hemocue WBC DIFF System är bara tillämpligt på normala leukocytpopulationer. Atypiska eller maligna cellpopulationer flaggas i de flesta fall ut från instrumentet och vidare analys på laboratoriet är då nödvändig. Erythroblaster kan inkluderas i antalet leukocyter och ge falskt för högt värde för B-Leukocyter [4].

B-Leukocyter

Bestämning av B-Leukocyter används för att upptäcka leukopeni och leukocytos. Vid leukopeni med nivåer under $1,0 \times 10^9/L$ föreligger kraftigt ökad risk för septicemi. Vid både infektion och leukemi kan såväl sänkta som kraftigt förhöjda värden föreligga. Vid stress och efter måltid fås en lätt förhöjning av antalet cirkulerande leukocyter [8].

B-Diff, B-Neutrofila

Om det totala antalet leukocyter är förhöjt eller sänkt, bör komplettering ske med differential-räkning för att utröna i vilket/vilka cellsystem en rubbning föreligger. Differentialräkning bör också företas vid normalt antal leukocyter om klinisk misstanke föreligger om ett förändrat antal av något särskilt cellslag eller leukemi. Differentialräkning av leukocyter ger en uppdelning i fem olika cellslag, neutrofila-, eosinofila-, basofila granulocyter, lymfocyter och monocyter. I benmärgen finns en reservpool av mogna granulocyter som är ca 20 gånger större än granulocytpoolen i kärlbanan. De senare utgörs av en cirkulerande pool (vilken är den vi mäter) och en marginalpool som finns längs väggarna i mindre vener och snabbt kan rekryteras vid behov.

Neutrofil, dvs ökning av antalet neutrofila granulocyter, är ett ospecifikt tecken på inflammatorisk reaktion. Vid svåra infektioner och sepsis kan stegringen bli mycket kraftig. Vid leukemi kännetecknas den vita blodbilden av omogna cellformer vilka endast kan påvisas genom mikroskopering. En neutropeni, brist på granulocyter, ses bl a vid benmärgsskada, leukemi eller som läkemedelseffekt. Risk för svår infektion förekommer om antalet sjunker under $1,0 \times 10^9/L$. Neutropeni kan även vara autoimmunt betingad.

Eosinofili ses vid allergiska tillstånd som astma, läkemedelsallergier och infektioner med vissa parasiter. Även vid bl a reumatiska sjukdomar kan eosinofili föreligga.

Basofili ses framför allt vid myeloproliferativa tillstånd.

Metodbeskrivning

B-Leukocyter (PNA), B-Diff (PNA), HemocueGäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Lymfocytos, dvs ökning av antalet lymfocyter förekommer vid akuta virusinfektioner. Höga och mycket höga värden med en enformig, mogen bild, ses vid kronisk, lymfatisk leukemi. Vid mononukleos ses lymfocyter som är något större än normalt. Lymfopeni, brist på lymfocyter, ses bl a vid behandling med kortikosteroider och cytostatika samt vissa immundefekter.

Monocytos ses vid långdragna inflammatoriska tillstånd såväl infektiösa som icke infektiösa liksom vid maligna sjukdomar.

Erythroblaster förekommer vid grav anemi oavsett anemimekanism (dock ej aplastisk anemi) men är vanligast vid svår hemolytisk anemi. Vid rubbad benmärgsfunktion (leukemi, benmärgsmetastaser) kan erythroblaster återfinnas i perifert blod utan att den erytropoetiska aktiviteten behöver vara hög [8].

Analysprincip

En mikrokvytt fylls med ca 10 µL venöst EDTA-blod och denna kyvett fungerar sedan både som provbehållare och reagenskammare. Kyvetten innehåller ett hemolyseringsmedel för hemolysering av erythrocyterna samt ett färgämne, metylenblått, för infärgning av leukocyterna. Kyvetten placeras i instrumentet och bildas tas av de infärgade cellerna. Ca 1000 celler räknas och klassificeras. Cellernas form, storlek och förekomst av nukleoler registreras och jämförs med ett bibliotek av ca 50 000 cellbilder [2].

Referensintervall**B-Leukocyter**Vuxna [3]: 3,5-8,8 x 10⁹/L

Barn [5]

3 månader-3år: 6,0-16,0 x 10⁹/L3-6 år: 5,0-15,0 x 10⁹/L6-18 år: 5,0-13,0 x 10⁹/L**B-Neutrofila**Vuxna [7]: 1,7-8,0 x 10⁹/L

Barn [6]

3 månader-1 år: 1,6-5,3 x 10⁹/L1-5 år: 1,6-6,5 x 10⁹/L5-10 år: 2,4-6,5 x 10⁹/L10-16 år: 1,2-7,0 x 10⁹/L16-18 år: 1,7-8,0 x 10⁹/L**B-Eosinofila**Vuxna[7]: <0,7 x 10⁹/L

Barn [6]

7 dagar-1 år: <1,1 x 10⁹/L1-10 år: <0,9 x 10⁹/L10-18 år: <0,7 x 10⁹/L**B-Basofila [7]**Vuxna: <0,3 x 10⁹/LBarn: <0,3 x 10⁹/L

Metodbeskrivning

B-Leukocyter (PNA), B-Diff (PNA), HemocueGäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

B-LymfocyterVuxna[7]: 1,1-4,8 x 10⁹/L

Barn [6]

7 dagar-3 månader: 3,0-8,4 x 10⁹/L3 månader-1år: 4,0-8,4 x 10⁹/L1-5 år: 1,8-8,4 x 10⁹/L5-10 år: 1,8-5,0 x 10⁹/L10-16år: 1,5-4,7 x 10⁹/L16-18 år: 1,1-4,8 x 10⁹/L**B-Monocyter**Vuxna[7]: <1,1 x 10⁹/L

Barn [6]

3 månader-5 år: 0,2-1,8 x 10⁹/L5-10 år: 0,2-0,8 x 10⁹/L10-16år: <0,9 x 10⁹/L16-18 år: <1,1 x 10⁹/L**Metodkaraktistika****Interferenser och felkällor**

Felaktig hantering av mikrokyvett kan ge felaktiga värde.


Luftbubblor i mikrokyvett kan ge felaktiga värde.

Ommätning av mikrokyvett kan ge felaktiga värde.

Mätning som påbörjas >1 minut efter fylld kyvett kan ge felaktigt värde

Falskt för låga leukocyter vid förekomst av leukocyttaggregat [4].

Falskt för höga leukocyter vid förekomst av erythroblaster, trombocyttaggregat, lysresistenta erythrocyter, erythrocytaggregat eller stora trombocyter [4].

MätområdeB-Leukocyter: 0,3 – 30,0 x10⁹/L.Resultat <0,3 x10⁹/L visas som LLL. Resultat >30,0 x10⁹/L visas som HHH. [4]*Vid värde <3,0 x10⁹/L skall resultat för B-Leukocyter och samtliga diffparametrar bekräftas med lämplig metod på närmsta laboratorium.**Vid värde >25,0 x10⁹/L skall resultat för B-Leukocyter och samtliga diffparametrar bekräftas med lämplig metod på närmsta laboratorium.*B-Diff: 1,0 – 30,0 x10⁹/LLLL för samtliga diffparametrar visas då B-Leukocyter <1,0 x10⁹/L. [4].*Vid markering med  eller * kan provet innehålla omogna, patologiska eller oidentifierade celler och resultat för B-Leukocyter och samtliga diffparametrar är osäkra och skall bekräftas med lämplig metod på närmsta laboratorium.***Detektionsgräns**B-Leukocyter: 0,3 x10⁹/L [4].

Medicinsk service

Gäller from	Revision	Sida
2018-09-04	01	4(7)
Godkänd av: Charlotte Wigermo 115466		

Metodbeskrivning

B-Leukocyter (PNA), B-Diff (PNA), Hemocue

Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Mätosäkerhet

Utvärdering från inkörning av metod på Klinisk kemi, 20171018 – 20171122.

Leuko- cyter Nivå $\times 10^9/L$	CV%	Ne Nivå $\times 10^9/L$	CV%	Ly Nivå $\times 10^9/L$	CV%	Mo Nivå $\times 10^9/L$	CV%	Eo Nivå $\times 10^9/L$	CV%	Bas Nivå $\times 10^9/L$	CV%
3,2	5,2	0,5	20,1	1,0	9,3	0,1	25,3	1,2	9,2	0,3	26,0
8,2	11,0	2,2	14,0	2,4	7,8	0,3	21,5	2,9	10,1	0,5	31,0
18,0	2,5	8,1	5,7	4,5	6,0	0,7	16,6	4,1	14,2	0,5	44,6

Spårbarhet

Manuell ljusmikroskopi för räkning av leukocyter.

Ackreditering

Metoden är inte ackrediterad.

Referenser

1. Dacie and Lewis, Practical Haematology, 11th edition 2011
2. Produktblad HemoCue WBC DIFF Microcuvettes, aktuell version.
3. NORIP, Nordiska Referensintervallsprojektet 1(10) version 2005-12-14.
4. Bruksanvisning HemoCue WBC DIFF, (aktuell version). HemoCue AB.
5. Hematology: Basic Principles and Practice, 5th ed. On-line version 2008 av Hoffmann.
6. Referensintervall okänd.
7. Nilsson-Ehle P, red. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin, 9:e upplagan. Lund: Studentlitteratur 2012, sid 274.
8. Blodsjukdomar, Gösta Gahrton och Bengt Lundh Tredje upplagan 1997.
9. Produktblad R&D systems, HC WBC Diff Control, AIS168-001 Rev 05/17
10. SKUP utvärderingsrapport SKUO/2010/73

Metodbeskrivning

B-Leukocyter (PNA), B-Diff (PNA), HemocueGäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Provtagning**Rörtyper**

EDTA-rör (lila kork). Fylls med mer än 2/3 av avsedd volym.

EDTA mikrotainerör (lila kork), fylls med 250-500µL.

Analysen kan *inte* utföras med kapillär provtagning direkt i mikrokyvett [10].**Provhantering****Hållbarhet [4]**

EDTA-rör är hållbara 8 timmar i rumstemperatur vid analys med HemoCue WBC DIFF.

EDTA-mikrotainerör är hållbara 4 timmar i rumstemperatur vid analys med HemoCue WBC DIFF.

Fyllt kyvett måste analyseras inom 1 minut. [2]

Vi de tillfällen EDTA rör skall skickas till laboratoriet för analys gäller hållbarhet för respektive analys enligt specifikation i Analysportalen.

Instrument och tillbehör

HemoCue WBC DIFF Analyzer [4].

Tillverkare: HemoCue AB Ängelholm, Sweden.

Reagens

HemoCue WBC DIFF Mikrokyvetter

används för räkning av totalantal leukocyter samt differentialräkning av leukocyter.

Art nr: 113502, 2x25st

HemoCue WBC Mikrokyvetter, används för räkning av enbart totalantal leukocyter.

Art nr: 113002, 4X40st

Art nr: 113005, 1x40st

Tillverkare: HemoCue AB Ängelholm, Sweden

Beredning

Kyvetterna är bruksfärdiga.

Kalibrator

Instrumentet HemoCue WBC DIFF Analyzer är fabrikskalibrerat.

Metodbeskrivning

B-Leukocyter (PNA), B-Diff (PNA), HemocueGäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Interna kontroller**Beteckning**

Kontroll från R&D Systems som levereras av Hemocue används [9].

HC WBC Diff , Art nr: 0HD111DW2.1709

<i>Beteckning</i>	<i>Leuko- cyter Nivå x10⁹/L</i>	<i>Ne Nivå x10⁹/L</i>	<i>Ly Nivå x10⁹/L</i>	<i>Mo Nivå x10⁹/L</i>	<i>Eo Nivå x10⁹/L</i>	<i>Bas Nivå x10⁹/L</i>	<i>Hållbarhet öppnad ampull</i>	<i>För- varing</i>
Control 1	ca 3,2	ca 0,5	ca 1,0	ca 0,1	ca 1,2	ca 0,3	30 dygn	Kyl, stående
Control 2	ca 8,2	ca 2,2	ca 2,4	ca 0,3	ca 2,9	ca 0,5	30 dygn	Kyl, stående
Control 3	ca 18,0	ca 8,1	ca 4,5	ca 0,7	ca 4,1	ca 0,5	30 dygn	Kyl, stående

Beredning

Bruksfärdig.

Kontrollförfarande

Utförs patientanalys dagligen ska interna kontrollen analyseras dagligen. Utförs analys mer sällan ska internkontrollen analyseras i samband med analys av patientprovet eller minst en gång per vecka.

Analysresultat från en ny lot av kontroll bör bekräftas innan den nya kontrollen tas i rutin bruk. Testa ny lot när instrumentet fungerar felfritt och resultaten från föregående lot är godkända.

1. Ta fram flaskorna ur kylskåpet och låt dem anta rumstemperatur (15 – 30 °C) i 15 minuter före blandning.
2. Kontrollera att lotnumret på flaskan är detsamma som i tabellen med angivna gränser.
1. Blanda genom att hålla flaskan i horisontalläge mellan handflatorna.
 - a) Rulla flaskan fram och tillbaka i 20 – 30 sekunder och vänd den ibland. Blanda kraftigt, men skaka inte.
 - b) Fortsätt att blanda på detta sätt tills de röda blodkropparna suspenderats helt. Flaskor som förvarats under lång tid kan behöva blandas extra mycket.
 - c) Vänd flaskan varsamt 8 – 10 gånger omedelbart före användning.
3. Ta av korken från flaskan. Pipettera en droppe av kontrollen på plastfilm eller annat lämpligt material.
4. Analysera kontrollen enligt anvisningar i avsnittet för "Mätning av kontrollmaterial" i användarhandboken till ditt instrument.
5. Resultatet godkänds om mätningen av internkontroll ligger inom leverantörens åsatta gränser.
6. Rengör korken och flaskkanten från kvarvarande material med en luddfri tork. Sätt tillbaka korken så att den sitter tätt.
7. Sätt tillbaka flaskorna i kylskåpet senast 30 minuter efter användning.

Förvaring och hållbarhet

Öppnade flaskor är stabila fram till utgångsdatum.

Öppnad flaska är hållbar 30 dagar vid förvaring i kyl.

Förvara alltid kontrollflaskorna stående.

Medicinsk service

Gäller from	Revision	Sida
2018-09-04	01	7(7)
Godkänd av: Charlotte Wigermo 115466		

Metodbeskrivning

B-Leukocyter (PNA), B-Diff (PNA), Hemocue

Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Externa kontroller


Extern kontroll finns ej.

Tekniskt/medicinskt godkännande

Interna kontroller ska ligga inom leverantörens angivna gränser. Gränser kan ändras från lot till lot.

Vid resultat $<3,0 \times 10^9/L$ skall värde för B-Leukocyter och samtliga diffparametrar bekräftas med lämplig metod på närmsta laboratorium.

Vid resultat $>25,0 \times 10^9/L$ skall värde för B-Leukocyter och samtliga diffparametrar bekräftas med lämplig metod på närmsta laboratorium.

*Vid markering med  eller * på utskrift kan provet innehålla omogna, patologiska eller oidentifierade celler och resultat för B-Leukocyter och samtliga diffparametrar är osäkert och skall bekräftas med lämplig metod på närmsta laboratorium.*


Svarsrapportering

Enhet och antal decimaler

Svar anges i $10^9/L$.

Svar anges med en decimal.

Larmgräns

*Vid markering med  eller * kan provet innehålla omogna, patologiska eller oidentifierade celler och resultat för B-Leukocyter och samtliga diffparametrar är osäkert och skall bekräftas med lämplig metod på närmsta laboratorium.*

Säkerhetsföreskrifter

HemoCue kuvetter och utrustning för provtagning är riskavfall. För övrigt följ lokala anvisningar.

Ansvariga personer

Processledare

Camilla Streimer, Charlotte Wigermo

Medicinskt ansvar

Lisa Walther

Metodansvar

Camilla Streimer

Författare

Camilla Streimer, Eva Lindström