|  |
| --- |
| B-Hemoglobin (Hb), B-Erytrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 |

**B-Hemoglobin (Hb) NPU28309**

**B-Erytrocyter NPU01960**

**Erc-MCV NPU01944**

**Erc-MCH NPU26880**

**Erc-MCHC NPU28315**

**B-EVF NPU01961**

## Bakgrund, indikation och tolkning

### B-Hemoglobin

Hemoglobinhalten i blod är direkt proportionell mot antalet erytrocyter. Benmärgen tillverkar 2 miljoner erytrocyter per sekund. Produktionen av erytrocyter, erytropoesen, är kroppens mest prioriterade uppgift. Alla störningar i erytropoesen leder till sänkt antal erytrocyter och därmed sänkt hemoglobinhalt. En normal erytrocyt lever 120 dygn och företar under denna tid en resa på 48 mil där passagen genom lungan och syresättningen med tiden skapar oxidationsprodukter, som gör att blodkroppen tappar sin elasticitet och då fastnar i mjälten. Förkortad livslängd (hemolys) eller ökad elimination i mjälten ger sänkt antal erytrocyter och därmed sänkt hemoglobinhalt. Mätning av hemoglobinkoncentration användes för att påvisa anemi. Ökat B-Hb ses vid t.ex. hypoxemi och polycytemia vera (PCV). Snabba ändringar i B-Hb ses vid skiftningar i vätskebalans eller distribution. Förskjutningar av vatten över kapillärmembran vid byte av kroppsställning gör att B-Erytrocyter är i medeltal 8 % högre hos uppegående än hos liggande individer. Upprepade mätningar kan vara indicerade vid behandling (cytostatika, järnterapi, transfusion, vätskeinfusion, etc) [8].

### B-Erytrocyter

Bestämning av antalet erytrocyter är nödvändigt för det beräknade MCH-värdet som är B-Hb dividerat med B-Erytrocyter [8].

### Erc-MCV, erytrocyter medelcellvolym

Baserat på erytrocyternas medelcellvolym kan anemier delas in i makro-, normo- och mikro-cytära former.
Bland de makrocytära anemierna återfinns de som uppkommer till följd av vitamin B12- eller folsyrabrist. Även vid leversjukdomar, ökat alkoholbruk och hemolytiska anemier ses makrocytära anemier.
Normocytära anemier kan vara följden av blödningar, njurinsufficiens eller ett antal andra benigna eller maligna sjukdomar med mindre uttalad inflammatorisk aktivitet. Hemolytiska anemier av måttlig grad är i regel också normocytära.
Mikrocytära anemier ses framför allt vid järnbrist men även vid thalassemi [8].

### B-EVF, erytrocyter volymfraktion

B-EVF tidigare kallad hematokrit, bestämdes ursprungligen genom centrifugering av helblod i ett rör varvid blodet bildar ett erytrocytskikt, ett gråaktigt skikt med leukocyter och trombocyter (buffy coat) och ett plasmaskikt. B-EVF bestämmes numera indirekt. B-EVF bestämt indirekt är generellt lägre än B-EVF bestämt med centrifugering pga den volym som motsvarar "trapped plasma". Hänsyn har tagits till "trapped plasma" i instrumenten för att ge en exakt kalibrering mot referensmetoden.
B-EVF ger likvärdig information som B-Hb, som enstaka analys.
En absolut ökning av B-EVF ses vid polycytemia vera och användes i vårdprogrammen för att styra behandlingen. Ökat B-EVF ses också vid långvarig hypoxemi som vid lunginsufficiens, vissa medfödda hjärtfel och hos storrökare. Relativ polyglobuli ses vid vätskeförluster och andra tillstånd med intorkning.
Låga värden ses vid olika typer av anemier samt tillstånd med ökad plasmavolym [2, 8].

### Erc-MCHC, erytrocyter medelcellhemoglobinkoncentration

### Erc-MCH, erytrocyter medelcellhemoglobinmängd

Baserat på erytrocyternas medelcellhemoglobinkoncentration/medelcellhemoglobinmängd kan anemier delas in i normo, hypokroma och hyperkroma former.
Normokroma erytrocyter ses vid blödning och sekundära anemier. Hypokroma erytrocyter ses vid järnbrist och talassemi. Hyperkroma erytrocyter kan ses vid B12/Folat-brist, alkohol/leversjukdom, myelodyspastiskt syndrom och cytostatikaterapi [8].

## Analysprincip

*B-Erytrocyter: impedansmetod med analys i RBC/PLT kanal, se figur 1*

Figur 1 [13]



EDTA-blod (4µL) späds med CELLPACK DCL/DST (2mL) i RBC/HGB provkammare. Hälften av provet (1ml) injiceras i RBC/PLT detectorn där vätskestrålen fokuseras med s.k. sheath fluid så att bara en cell ryms i strålens bredd, se figur 2. I RBC/PLT detectorn ändras det elektriska motståndet varje gång en cell passerar mellan två elektroder eftersom en cell i en ledande vätska fungerar som en isolator. Detta ger upphov till en elektrisk puls som kan räknas och storleksbestämmas. Antal pulser indikerar partikelantalet och pulsens storlek är proportionell mot cellvolymen. Registrering sker i storleksdistributionshistogram, se figur 3.

*B-Erytrocyter* (x 1012/L) beräknas som antalet pulser mellan en nedre (25-75 fl) och en övre
(200-250 fl) diskriminator [1], dividerat med den analyserade volymen.

*Erc-MCV* (fl) beräknas utifrån impedans och antal enligt följande: Varje puls räknas och pulsstorleken (Ph) ackumuleras. Verc = Ph \* K där K är en omvandlingsfaktor mellan impedans och volym. Den ackumulerade volymen (Verc ) dividerat med antalet pulser = MCV.

*B-EVF* beräknas utifrån impedans och antal erytrocyter enligt följande: Varje puls räknas och pulsstorleken (Ph) ackumuleras. Verc = Ph \* K där K är en omvandlingsfaktor mellan impedans och volym och för att kompensera "trapped plasma", se ovan.

∑ VT = Totala blodvolymen som mäts.

EVF = Verc / VT x 100

Figur 2



Figur 3



Figur 4 [13]

**

EDTA-blod (4µL) späds med CELLPACK DCL/DST (2mL) i RBC/HGB provkammare. Hälften av provet (1ml) går till RBC/PLT kanalen och till resterande prov sätts 0,5ml Sulfolyser som innehåller natriumlaurylsulfat (SLS). SLS är en negativt laddad tensid och binder till membranet på erytrocyterna med jonbindning och delvis med hydrofob bindning. Hemoglobin frisätts genom hemolys och genomgår en förändring av sin tredimensionella struktur. Fe 2+ oxideras tillFe 3+. De hydrofila grupperna på SLS binder till Fe 3+ och ett stabilt SLS hemoglobin bildas, se figur 5. Absorption mäts vid 555nm [1].

Figur 5



*Parametrar beräknade från impedansmätning och B-Hb: Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF* [12].

*Erc-MCH (pg)* = B-HB (g/L)

 B*-*RBC (x1012/L)

*Erc-MCHC (g/L)* = B-HB (g/L)

 B-EVF

## Referensintervall

**B-Hemoglobin**

Vuxna [3]

Kvinnor: 117-153 g/L

Män: 134-170 g/L

Barn [11]

0-1 dagar: 150-240 g/L

1-6 dagar: 140-220 g/L

6-14 dagar: 130-200 g/L

2-4 veckor: 100-180 g/L
1-3 månader: 100-160 g/L

3-12 månader: 100-140 g/L

1-6 år: 100-150 g/L

6-10 år: 105-150 g/L

10-18 år: 110-160 g/L

**B-Erytrocyter**

Vuxna [3]

Kvinnor: 3,9-5,2 x1012/L

Män: 4,2-5,7 x1012/L

Barn [11]

0-1 dag: 4,8-5,8 x1012/L

1-6 dagar: 4,7-6,1 x1012/L

6-14 dagar: 4,3-5,5 x1012/L

2-4 veckor: 3,7-5,0 x1012/L

1-3 månader: 3,3-4,6 x1012/L

3 månader-3 år: 4,0-4,9 x1012/L

3-6 år: 4,1-5,2 x1012/L

6-18 år: 4,1-5,3 x1012/L

**Erc-MCV**

Vuxna [3]

Kvinnor och män: 82-98 fL

Barn [11]

* 1. dagar: 98-118 fL

1-3 dagar: 95-121 fL

3-7 dagar: 88-126 fL

7-14 dagar: 86-124 fL

2-4 veckor: 85-123 fL

1-2 månader: 77-115 fL

2-6 månader: 74-108 fL

6 månader-2 år: 70-86 fL

2-6 år: 75-87 fL

6-12 år: 77-95 fL

12-18 år flickor: 78-102 fL

12-18 år pojkar: 78-98 fL

**Erc-MCH**

Vuxna [3]

Kvinnor och män: 27-33 pg

Barn [11]

* 1. dagar: 31-37 pg

3 dagar-1 månad: 28-40 pg

1-2 månader: 26-34 pg

2-6 månader: 25-35 pg

6 månader-2 år: 23-31 pg

2-6 år: 24-30 pg

6-12 år: 25-33 pg

12-18 år: 25-35 pg

**Erc-MCHC**

Vuxna [3]

Kvinnor och män: 317-357 g/L

Barn [11]

0-1 dag: 300-360 g/L

1-3 dagar: 290-370 g/L

3-14 dagar: 280-380 g/L

14 dagar-2 månader: 290-370 g/L

2 månader-2 år: 300-360 g/L

2-18 år: 310-370 g/L

**B-EVF**

Vuxna [3]

Kvinnor: 0,35-0,46

Män: 0,39-0,50

Barn [11]

0-1 dag: 0,45-0,59

1-6 dagar: 0,57-0,74

6-14 dagar: 0,47-0,59

14 dagar-1 månad: 0,38-0,52

1 månad-1år: 0,34-0,42

1-10 år: 0,37-0,41

10-18 år: 0,38-0,45

## Metodkarakteristika

### Interferenser och felkällor [4].

B-Hemoglobin: Falskt för högt vid mycket höga leukocyter, lipemi och abnormala proteiner.

B-Erytrocyter: Falskt för lågt vid erytrocytaggregation, mikroerytrocyter och fragmenterade erytrocyter.
Falskt för högt vid mycket höga leukocyter och vid mycket höga trombocyter i samband med stora trombocyter.

B-EVF: Falskt för lågt vid erytrocytaggregation, mikroerytrocyter och fragmenterade
erytrocyter.
Falskt för högt vid mycket höga leukocyter, svår diabetes, uremi och sfärocytos.

### Mätområde [4]

B-Hemoglobin: 0 - 260 g/L

B-Erytrocyter: 0 - 8,60 x1012/L

B-EVF: 0 - 0,75

### Detektionsgräns

B-Hemoglobin: 2 g/L

B-Erytrocyter: 0,01 x1012/L

B-EVF: 0,01

Utvärdering från inkörning av metod på Sysmex XN-10 våren 2012.

### Mätosäkerhet

Utvärdering från inkörning av metod på Sysmex XN-10 våren 2012.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Nivå | KD1HEMAXN-LKristianstadImprecisionCV% | KD2HEMAXN-RKristianstadImprecisionCV% | HM1HEMAXN-LLundImprecisionCV% | HM2HEMAXN-RLundImprecisionCV% | Antal |
| B-Hemoglobing/L59125168 | 1,20,50,4 | 1,00,80,6 | 0,90,50,6 | 1,01,00,4 | 30 |
| B-Erytrocyterx1012/L2,214,275,22 | 1,10,80,7 | 1,20,80,7 | 1,01,00,8 | 0,90,80,9 | 30 |
| Erc-MCVfl78,584,791,1 | 0,70,80,8 | 0,80,70,8 | 0,80,90,9 | 1,01,61,1 | 30 |
| Erc-MCHpg26,729,332,2 | 1,31,10,7 | 1,30,90,9 | 1,01,00,9 | 1,21,30,9 | 30 |
| Erc-MCHCg/L341345353 | 1,31,41,4 | 1,51,21,3 | 1,21,41,2 | 1,82,11,5 | 30 |
| B-EVF0,1730,3620,476 | 1,31,10,8 | 1,41,01,1 | 1,41,41,2 | 1,41,81,4 | 30 |

### Spårbarhet

Som referensmetod för fastställande av kalibratorvärde används:
B-Hemoglobin – ICSH standard1995 och specifikation för internationell hemoglobincyanidstandard (4:e upplagan), ICSH expertpanel på hemoglobinometri,J Clin Pathol 1996;49:271-274, CLSI H15-A3 Third edition, fotometri på 1:250-lösningar med lämpligt reagens(rekommenderas av van kampen, Zijlstra) [9].
B-Erytrocyter – ICSH expertpanel på Cytometri, Clin Lab Heamatol. 1994;16,131-138. Räkningar på 1:500 spädningar utförda på SCC (Semi-automatiserad elektronisk impedans cellräknare) [9].

B-EVF – ICSH Standard , ICSH Expertpanel på cytometri, Clin Lab Hematol. 2001;7:148-170. CLSI H7-A3: Microhematokritmetod, 3:e upplagan [9].

## Ackreditering

Metoderna är ackrediterade.

## Referenser

1. Sysmex XN-Series Clinical Case Report Vol 1.

2. Laurells KLINISK KEMI i praktisk medicin, 8:e upplagan.

3. Rustad P, Simonsson P, Felding P, Pedersen M. Nordic Reference Interval Project Bio-bank and
 Database (NOBIDA): a source for future estimation and retrospective evaluation of reference inter
 vals. Scand J Clin Lab Invest. 2004; 64(4):431-8.

4. XN-2000 Instructions for use, Maj 2011.

5. Sysmex produktblad 2011-08-21.

6. Instrumenthandledning Sysmex XN-Serien aktuell version.

7. Instrumenthandledning EPU aktuell version.

8. Blodsjukdomar, Gösta Gahrton och Bengt Lundh Tredje upplagan 1997.

9. Sysmex produktblad XN CAL 02/2011.

10. Sysmex produktblad XN CHECK 02/2011.

11. Hematology: Basic Principles and Practice, 5th ed. On-line version 2008 av Hoffmann.

12. XE-5000 Bruksanvisning Dec. 2008.

13. Sysmex Servicemanual, Schematics, Chapter 2.

14. Extended IPU, regelverk Skåne.

15. Instruktion Larmsvarsrutiner.

## Provtagning

### Rörtyper

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

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

## Provhantering

### Hållbarhet

B-Hemoglobin, B-Erytrocyter, Erc-MCH: EDTA-rör är hållbara 48 timmar i rumstemperatur / kyl.

Erc-MCV, B-EVF, Erc-MCHC: EDTA-rör är hållbara 10 timmar i rumstemperatur / 48 timmar i kyl.

B-Hemoglobin, B-Erytrocyter, Erc-MCH, Erc-MCV, B-EVF, Erc-MCHC:
EDTA-microtainerrör är hållbara 10 timmar i rumstemperatur / kyl.

*Efter kylförvaring rumstempereras proverna 20 minuter före analys.*

## Instrument och tillbehör

Sysmex XN-1000 (Landskrona, Simrishamn)

Sysmex XN-2000 (Kristianstad, Hässleholm, Helsingborg, Ängelholm, Ystad, Trelleborg)

Sysmex XN-9000 (Lund, Malmö)

Sysmex TS-10 (Lund, Malmö)

Sysmex RPU 2100R (Lund, Malmö Kristianstad, Helsingborg)

Sysmex SP-10 (Lund, Malmö)

Sysmex DI-60 (Lund, Malmö)

Sysmex Extended IPU

## Reagens

Reagens från Sysmex Corporation [4, 5].

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| *Beteckning* | *Volym* | *Beskrivning* | *Hållbarhet oöppnad förpackning*  | *Hållbarhet öppnad förpackning.*  | *Farosymbol* | *Artikelnummer* |
| Cellpack DST | 10L | Koncentrat till XN, prepareras i RPU.NaCl, Trisbuffert, EDTA-2K | Se utgångsdatum på fp. | 60 dagar |  | BQ505775 |
| Cellpack DCL | 10L | DiluentNaCl, Trisbuffert, EDTA-2K | Se utgångsdatum på fp. | 60 dagar |  | CU228496 |
| Cellpack DCL | 20L | DiluentNaCl, Trisbuffert, EDTA-2K | Se utgångsdatum på fp. | 60 dagar |  | CT661628 |
| Sulfolyser | 5L | Lyseringsreagens för bestämning av hemoglobinkoncentrationen.Natriumlaurylsulfat. | Se utgångsdatum på fp. | 60 dagar |  | 90411414 |
|  | 1x500 mL |  |  |  |  | 05433514 |
|  | 3x500 mL |  |  |  |  | 90411317 |
| Cellclean | 50ml | Natriumhypoklorit(klorinkonc. 5,0 %) | Se utgångsdatum på fp. | - |  | 83401621 |

### Beredning

Cellpack DST är ett koncentrat som bereds till färdigt reagens i RPU (används i Malmö, Lund,
Kristianstad, Helsingborg).

Övriga reagens är bruksfärdiga.

## Kalibrator

### Beteckning

Sysmex XN Cal artikelnummer 213523 [9].

### Beredning

Bruksfärdig.

### Kalibreringsförfarande

Se Dokument id C-8573 [Instrumenthandledning Sysmex XN-Serie](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=8573&freeText) [6].

### Kalibreringsfrekvens

Se Dokument id C-8573 [Instrumenthandledning Sysmex XN-Serie](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=8573&freeText) [6].

## Interna kontroller

Kontroller från Sysmex Corporation används [10]. För närvarande används XN-Check L1 och L2.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| *Beteckning* | *Hållbarhetöppnad ampull* | *Förvaring* | *Artikelnummer* |
| XN-Check L1 | 7 dygn | Kyl | 213487 |
| XN-Check L2 | 7 dygn | Kyl | 213488 |
| XN-Check L3 | 7 dygn | Kyl | 213489 |

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| *Beteckning* | *Nivåg/LB-Hemoglobin* | *Nivåx1012/L B-Erytrocyter* | *NivåflErc-MCV* | *NivåpgErc-MCH* | *Nivåg/LErc-MCHC* | *NivåL/LB-EVF* |
| XN-Check L1 | ca 60 | ca 2,20 | ca 79 | ca 27 | ca 340 | ca 0,173 |
| XN-Check L2 | ca 125 | ca 4,30 | ca 85 | ca 29 | ca 345 | ca 0,360 |
| XN-Check L3 | ca 170 | ca 5,20 | ca 91 | ca 32 | ca 350 | ca 0,475 |

### Beredning

Bruksfärdig.

### Kontrollförfarande

Se Dokument id C-8573 [Instrumenthandledning Sysmex XN-Serie](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=8573&freeText) [6].

Hållbarhet oöppnad förpackning se ampull.

Tillverkarens åsatta värden används.

Kontroller analyseras 3 ggr/dygn.

### X-barM

X-barM är ett system baserat på kontroll av flytande medelvärde för utvalda analyser. Patientvärde utan suspekta flaggor registreras i batcher. Antalet i varje batch bestäms utifrån antal analyserade prover/dag/instrument. Instrumentet larmar när medelvärde för en batch faller utanför åsatta gränser. De gränser som tillämpas är +/- 3% av medelvärde för analys Erc-MCV, Erc-MCH och Erc-MCHC och +/- 10% för Trc-MPV. Medelvärdet (target value) baseras på minst 300 patientvärde. Medelvärdet kontrolleras och justeras efter kalibrering.

## Externa kontroller

EQUALIS, Sverige. Analyseras var 4:e vecka.

## Utförande

Se Dokument id C-8573 [Instrumenthandledning Sysmex XN-Serie](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=8573&freeText) [6].

## Tekniskt/medicinskt godkännande

Interna kontroller ska ligga inom angivna gränser som är registrerade i XN instrumentet. Gränser ändras från lot till lot. Patientmedelvärde följs och instrumentet larmar ut vid avvikelser från inlagda gränser. Övrigt se Dokument id C-8573 [Instrumenthandledning Sysmex XN-Serie](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=8573&freeText) [6].

Patient resultat valideras i Extended IPU, se Dokument id C-8377 [Instrumenthandledning Extended IPU](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=C-8377&freeText) [7].

Valideringsgränser och omkörningsrutiner styrs genom det regelsystem som beskrivs i
Dokument id C-10363 [Extended IPU, regelverk Skåne](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=10363&freeText) [14].

## Svarsrapportering

### Svarsrutin

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Analys | Intervall | Svarsrutin | Antal decimaler | Enhet |
| **B-Hb** | < 3≥3  | < 3≥3  | 00  | g/L |
| **B-Erytrocyter** |  |  | 1 | x 1012/L |
| **Erc-MCV** |  |  | 0 | fl |
| **B-EVF** |  |  | 2 |  |
| **Erc-MCHC** |  |  | 0 | g/L |
| **Erc-MCH** |  |  | 0 | pg |

## Larmgränser:

Se instruktion Dokument id C-7669 [Larmsvarsrutiner](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=7669&freeText) [15].

## Autovalidering

Resultat autovalideras enligt Dokument id C-10363 [Extended IPU, regelverk Skåne](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=10363&freeText) [14].

## Säkerhetsföreskrifter

Vid arbete med Cellclean undvik produktkontakt med hud, ögon och kläder. Övriga risker och åtgärder se säkerhetsdatablad Cellclean (CL-50) (1.2.2).

Övriga reagens är inte klassade som farliga.

Hantering av avfall se Dokument id C-8573 [Instrumenthandledning Sysmex XN-Serie](http://dokument-public360.skane.se/default.aspx?verksamhetsOmradeId=0&dokTypId=0&ortId=0&procId=0&stodProcId=0&docNo=8573&freeText) [6].

## Ansvariga personer

### Processledare

Camilla Streimer

### Medicinskt ansvar

Lisa Walther

### Metodansvar

Janet Jönsson

### Författare

Sven Björnsson

Janet Jönsson