

*Differentialräkning maskinell, leukocyter, B-				Revisionsdatum 2018-12-14
Kapitel 01.09.15.03.04 D	Dokumentnr 136	Ändrad Av Kajsa Sjöner	Fastställd av Kurt Karlsson	
Handbok Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin	Utgåva 7	Utgåva skapad 2016-12-09	Giltighetstid 2017-01-17 - Tillsvidare	Fastställd datum 2017-01-13

Förändringar sedan förra utgåvan

Driftsättning av XN Skellefteå 170117. XE och XT utgår /kas

Dokumenttext***Differentialräkning maskinell, leukocyter, B-,**

Lycksele: Sysmex XN-pure och XN-L med Extended IPU
 Skellefteå: Sysmex XN-1000 och XN-L med Extended IPU
 Umeå: Sysmex: 3 st XN-9000 med Extended IPU

Automatiserad differentialräkning:

- av leukocyter (WDF-kanal)
- erytroblaster (WNR)
- differentiering av abn. lymfocyter och blaster (WPC-kanal XN Umeå)

NPU-kod

NPU 18156, B-Leukocyttyp(diff mask)

Medicinsk bakgrund

Normalt finns i perifera blodet leukocyter stav- och segmentkärniga granulocyter som kan vara av neutrofil, eosinofil samt basofil ursprung. Monocyttära celler liksom lymfocytära mogna celler kan också ses.

De omogna leukocyterna ses vanligtvis i benmärgen och förekomst av dessa i perifert blod talar för en sjuklig förändring. Orsaken kan vara en leukemoid reaktion då t ex en bakterieinfektion ger upphov till en stimulerad myelopoies vilket leder till en vänsterförskjutning av myelopoiesen med ökad förekomst av omogna leukocyter. Orsaken kan också bero av en akut eller kronisk leukemi. Vid den akuta leukemin ses vanligtvis en markerad ökning av främst blaster.

Mätprincip**WDF-kanalen**

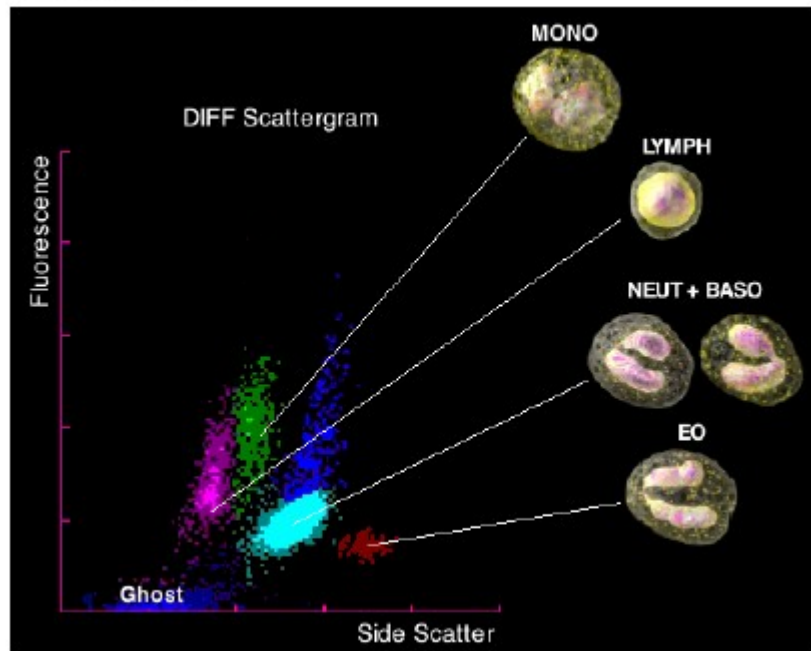
För differentialräkning av leukocyter används flödescytometri med halvledarlaser.

Cellerna färgas in och varje cell belyses med en halvledarlaser i detektorblocket. De individuella cellerna fluorescerar och sprider ljus i varierande grad.

Med hjälp av detta klassificeras fyra leukocytfractioner: neutrofila, lymfocyter, monocyter och eosinofila, samt även en grupp "ghosts" (röda cellrester).

Instrumenten detekterar i DIFF-kanalen (WDF hos XN) sidosprikt ljus (Side scatter), som ger information om blodkropparnas interna cellstruktur och sidofluorescerande ljus (Side Fluorescens light), vilket speglar cellernas DNA/RNA innehåll.

Diff Normal



I gruppen för neutrofila leukocytfractionen ingår även basofila. För beräkning av dessa hämtas värdet ur WBC/BASO kanalen. För beskrivning av mätprincip för WBC/BASO kanalen se metodbeskrivning för B-LPK.

Detektorblocket:

En stråle från halvledarlaser samlas genom en spalt för att fokuseras i mitten av flödescellen. Strålar från halvledarlaser blockeras så att endast spritt och fluorescerat ljus registreras. Efter att icke specifikt spritt ljus tagits bort av "Pinholepanel" separeras ett dikromatiskt filter spritt ljus från fluorescerat ljus. En diod omvandlar det spridda ljuset till digitala signaler och ett fotomultiplikator rör omvandlar det fluorescerande ljuset till digitala signaler.

WDF (Diffkanalen)

17 µL EDTA-blod späds 1:61 med 1,0 mL Lysercell WNR och 20µL Fluorocell WNR och blandas i WDF reaktionskammaren. Efter ca 36 sekunder är de röda blodkropparna lyserade. Därefter sprutas 58,2 µL av det spädda provet in i den optiska detektorn med hjälp av bärarvätska (Cellpack) där det analyseras med flödescytometri.

Presenteras i scattergram som visar sidospritt ljus längs X-axeln och fluoroscens på Y-axeln. Klassificerar Lymfocyter, monocyter, neutrofila samt basofila och eosinofila.

WPC-kanalen

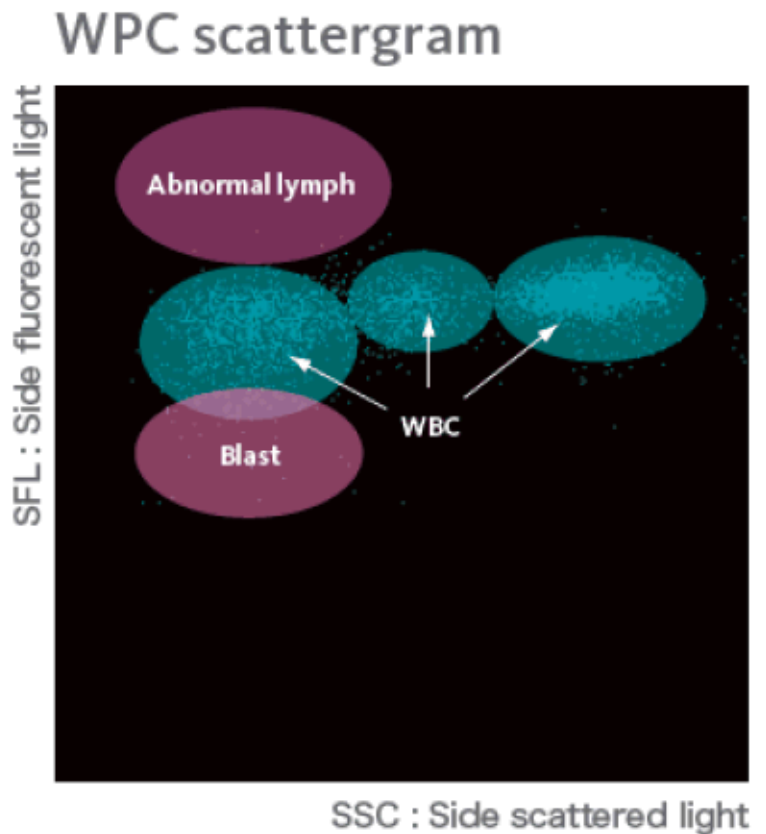
Finns endast hos XN-20 Umeå.

För att vid larm Abn.lymfocyter/blaster? från diffkanal kunna skilja mellan dessa två celltyper används WPC-kanalen hos XN-instrumentet. Flödescytometri med halvledarlaser används.

Cellerna färgas in och varje cell belyses med en halvledarlaser i detektorblocket. De individuella cellerna fluorescerar och sprider ljus i varierande grad.

Instrumentet detekterar i WPC-kanalen sidospritt ljus (Side scatter), som ger information om blodkropparnas interna cellstruktur och sidofluorescerande ljus (Side Fluorescens light), vilket speglar cellernas DNA/RNA innehåll.

Med hjälp av detta precenteras abnormala lymfocyter i ett moln och blaster i ett annat.



Detektorblocket:

En stråle från halvledarlasern samlas genom en spalt för att fokuseras i mitten av flödescellen. Strålar från halvledarlasern blockeras så att endast spritt och fluorescerat ljus registreras. Efter att icke specifikt spritt ljus tagits bort av "Pinholepanel" separeras ett dikromatiskt filter spritt ljus från fluorescerat ljus. En diod omvandlar det spridda ljuset till digitala signaler och ett fotomultiplikator rör omvandlar det fluorescerande ljuset till digitala signaler.

Utförande:

17 µL EDTA-blod späds 1:61 med 1,0 mL Lysercell WNR och 20µL Fluorocell WNR och blandas i WPC reaktionskammaren. Efter ca 36 sekunder är de röda blodkropparna lyserade. Därefter sprutas 58,2 µL av det spädda provet in i den optiska detektorn med hjälp av bärarvätska (Cellpack) där det analyseras med flödescytometri.

Presenteras i scattergram som visar sidospritt ljus längs X-axeln och fluoroscens på Y-axeln. Klassificerar totala leukocyter men används enbart för larmflaggor Abn.lymfocyter? och Blaster?

Body Fluid

Provtagning/ Provhantering

Se referens till provtagningsanvisning i QNova.

Reagens

WDF-kanalen

CELLPACK DCL, Sysmex	
Innehåll:	Natriumklorid, 0,7% Tris buffert, 0,2% EDTA-2K, 0,02%

Beredning:	Bruksfärdig lösning.
Förvaring:	Förvaras i 2 - 35°C.
Hållbarhet:	Obruten förpackning hållbar till utgångsdatum på förpackningen, i instrumentet i 60 dagar.

CELLPACK DST-koncentrat, Sysmex

Innehåll:	Natriumklorid, 15,7% Tris buffert, 4,3% EDTA-2K, 0,4%
Beredning:	Bruksfärdig lösning.
Förvaring:	Förvaras i 2 - 35°C.
Hållbarhet:	Obruten förpackning hållbar till utgångsdatum på förpackningen, i instrumentet i 60 dagar.

Lysercell WDF, Sysmex

Innehåll:	Organiska kvartära ammoniumsalter 0,07% Icke-joniskt ytspänningsnedsättande medel 0,17%
Beredning:	Bruksfärdig lösning.
Förvaring:	Förvaras i 2 - 35°C.
Hållbarhet:	Obruten förpackning hållbar till utgångsdatum på förpackningen, i instrumentet i 60 dagar.

Fluorocell WDF, Sysmex

Innehåll:	Polymetinfärgämne 0,005% Etylenglykol 99,9%
Beredning:	Bruksfärdig lösning.
Förvaring:	Förvaras i 2 - 35°C.
Hållbarhet:	Obruten förpackning hållbar till utgångsdatum på förpackningen, i instrumentet i 90 dagar.

WPC-kanalen

Lysercell WPC, Sysmex

Innehåll:	Anjoniska ytspänningsnedsättande medel 0,031% Icke-joniska ytspänningsnedsättande medel 0,12%
Beredning:	Bruksfärdig lösning.
Förvaring:	Förvaras i 2 - 35°C.
Hållbarhet:	Obruten förpackning hållbar till utgångsdatum på förpackningen, i instrumentet i 60 dagar.

Fluorocell WPC, Sysmex

Innehåll:	Polymetinfärgämne 0,03% Metanol 7,9% Etylenglykol 92,0%
-----------	---

Beredning:	Bruksfärdig lösning.
Förvaring:	Förvaras i 2 - 35°C.
Hållbarhet:	Obruten förpackning hållbar till utgångsdatum på förpackningen, i instrumentet i 90 dagar.

Metodkontroll

Extern kontroll

Se referens till dokument om externa kontroller.

Intern kontroll och analysfrekvens intern kontroll

Se referens till dokument Interna kontroller

Utförande

Se referenser:

Hematologi Extended IPU - Std.Arbetssätt IT

Hematologi Reservrutin - Std arbetssätt IT

Lycksele:

Handhavande Sysmex XN(Skellefteå, Lycksele)

Skellefteå:

Handhavande Sysmex XN(Skellefteå, Lycksele)

Umeå:

Arbetsrutiner XN9000 och Interliner V8

Utrustnings specifikationer

Beräkning/ Tolkning av resultat

Kontrollregler skall följas för godkännande av analys, [se referens](#).

Se referenser:

Hematologi Extended IPU - Std.Arbetssätt IT

Hematologi Reservrutin - Std arbetssätt IT

Svarsrutin

B-Neutrofila, -Lymfocyter, -Monocyter, -Eosinofila, -Basofila differentialräkning: Svaret ges i $n \times 10^9/L$ med 1 decimal.

(2 decimaler anges om resultatet är under $0,1 \times 10^9/L$).

Referensintervall, beslutsgräns

[Se referens](#) till provtagningsanvisningar i QNova.

Metodstandardisering

Någon standardisering av WDF-kanalen sker ej.

Validering/verifiering

Skellefteå

Lycksele

Umeå

XN-9000: Verifiering utförd december 2015. För dokumentation rörande validering/verifiering se referens "01.09.75.15.11.400 LPK, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin", "01.09.75.15.13.150 Neutrofila, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin", "01.09.75.15.11.500 Lymfocyter, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin", "01.09.75.15.12.85 Monocyter, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin", "01.09.75.15.05.160 Eosinofila, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin" och "01.09.75.15.02.35 Basofila, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin".

Anmärkning

Länsgemensam mall för metodbeskrivning börjar användas från utgåva 1..

Skellefteå: Metodbeskrivning Skellefteå 09.10.046 *Diff maskinell, B-leukocyter, ligger till grund för utgåva 1
Lycksele:

Umeå: Pappersoriginal "Automatiserad differentialräkning av omogna leukocyter (IMI-detektion)" version 1,00, ligger till grund för utgåva 1.

Historik

Referenser

1. Bessman JD. White cells, in Bessman ed. Automated blood count and differentials. A practical guide. Baltimore: The John Hopkins University Press, 1986: 84 - 105.
2. Cavill I. Advancing Haematological Techniques. Bailliere's Clinical Haematology 1990; 3: 837 - 1058
3. Inklippta bilder från regelverk, Sysmex (SIS) se externt dokument.

Dokumentrevision

Dokumentslut

Referenser

QNovareferenser

01.09.15.01.195 Externa kontroller - Rutiner i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.15.01.196 Externa kontroller, Metoder, beredning, frekvens mm i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.15.01.343 Interna kontroller-kontrollregler, åtgärder vid larm i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.15.09.287 Hematologi Reservrutin - Std arbetssätt IT i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.15.09.325 Interna kontroller-Hematologi länet i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.75.15.02.35 Basofila, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.75.15.05.160 Eosinofila, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.75.15.11.400 LPK, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.75.15.11.500 Lymfocyter, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.75.15.12.85 Monocyter, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.09.75.15.13.150 Neutrofila, B- i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.10.15.09.03.285 Hematologi - Handhavande XN9000 och InterlineV8. i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.10.15.09.03.843 Utrustningsspecifikationer Hematologi i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin
01.10.15.09.315 Handhavande Sysmex XN(Skellefteå, Lycksele) i Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin

CEL10 Celler, B- i Provtagningsanvisningar

Dokument som refererar till detta

01.09.15.03.03.090 *Celler, Csv- i Kvalitetshandbok
Laboratoriemedicin
01.09.15.03.03.091 *Celler, Plv- i Kvalitetshandbok
Laboratoriemedicin
01.09.15.03.11.446 Ledvätska - LPK, Kristaller i
Kvalitetshandbok Laboratoriemedicin

Attribut

Dokumenttyp	Metodbeskrivning
--------------------	------------------

Dokumenttyper grupp ett	Metodbeskrivning
--------------------------------	------------------