

Hovedbudskap

- Sysmex XN, CellaVision DM96 etter omklassifisering av leukocytterne og manuell mikroskopi måler høyere verdier av nøytrofile granulocytter enn flowcytometrisk immunfenotyping (IFCM) i prøver rapportert med flagget «Blasts/Abn Lympho?».
- Målefeilen er minst i målingene fra Sysmex XN.
- Det er ingen sammenheng mellom «WBC Abn Scattergram»-flagget og målefeilens størrelse.

Sammendrag

Innledning: Hensikten med studien var å undersøke om nøytrofile granulocytter kan rapporteres fra Sysmex XN uten å vurdere blodutstryk, når prøvene er assosiert med flagget «Blasts/Abn Lympho?», og om flagget «WBC Abn Scattergram» kan identifisere prøver der det er formålstjenlig å analysere nøytrofile granulocytter med en alternativ metode.

Metode: Differensialtelling av leukocytter ble analysert i 208 blodprøver, og nøyaktigheten til målingene av nøytrofile granulocytter fra Sysmex XN, CellaVision DM96 og manuell mikroskopi ble undersøkt ved å sammenligne med flowcytometrisk immunfenotyping (IFCM).

Resultater: Regresjonsanalysen viste at Sysmex XN, CellaVision DM96 etter omklassifisering av cellene og manuell mikroskopi av blodutstryk i gjennomsnitt målte høyere verdier av nøytrofile granulocytter enn IFCM-metoden. Bland-Altman analysen viste at gjennomsnittsdifferansen var minst i sammenligningen mellom Sysmex XN og IFCM, og størst mellom CellaVision etter omklassifisering av cellene og IFCM. Spredningen av differansene var størst i sammenligningen mellom CellaVision DM96 før omklassifisering og IFCM. Krysstabellanalysen viste ingen sammenheng mellom rapportering av «WBC Abn Scattergram»-flagget og målefeilens størrelse ($p = 0,890$).

Konklusjon: Sysmex XN måler nøytrofile granulocytter mer nøyaktig enn blodutstryks-metodene i blodprøver rapportert med flagget «Blast/Abn Lympho?». «WBC Abn Scattergram»-flagget gir ingen indikasjon på hvilke prøver som krever oppfølging med alternative metoder.

Nøkkelord

Hematologi, differensialtelling, flagg, nøytrofile granulocytter, Gjør kloke valg-kampanjen

Nøytrofile granulocytter fra Sysmex XN – kan vi stole på svaret når flagget «Blasts/Abn Lympho?» rapporteres?

Heidi Eilertsen, Runa Marie Grimholt og Jorunn Marie Andersen

Fakultet for helsevitenskap, Institutt for naturvitenskaplige helsefag, Bioingeniørutdanningen, OsloMet – storbyuniversitetet

Kontaktforfatter: heie@oslomet.no

Innledning

«Gjør kloke valg» er en kampanje som oppfordrer helsearbeidere til å redusere bruken av undersøkelser som ikke tydelig er til fordel for pasientene (1). Bioingeniørmangel, økende bruk av laboratorieundersøkelser, samt oppfordringen om å begrense unødvendige undersøkelser utfordrer oss bioingeniører til å jobbe smartere. Vi er opplært til å sørge for kvalitet, og vi gjør gjerne tilleggsundersøkelser for å sikre best mulig kvalitet på prøveresultatene vi skal gi ut. Men tjener merarbeidet alltid hensikten? Vil det føre til bedre og raskere behandling av pasienten? Eller er det bare en tidstyv, som forsinker svarutgivelsen?

Flere organisasjoner anbefaler å undersøke blodutstryk når konsentrasjonen av nøytrofile granulocytter fra hematologiinstrumentene er mindre enn $1,0 \times 10^9/L$ eller større enn $20,0 \times 10^9/L$ (2, 3). En slik ekstra kontroll er tidkrevende og basert på vår erfaring kan den også være unødvendig.

Nøytrofile granulocytter analyseres på bred indikasjon. Økt antall (nøytrofil) ses blant annet ved bakterielle infeksjoner,

myelogene leukemier og fysisk anstrengelse. Lavt antall (nøytropeni) ses ved sepsis, ondartete prosesser i beinmargen og behandling med cellegift (kjemoterapi). Ved alvorlig nøytropeni (nøytrofile granulocytter mindre enn $0,5 \times 10^9/L$) ses økt risiko for alvorlige bakterielle infeksjoner (4).

Ifølge resultatrapportene fra hematologiutsendelsene fra Norsk kvalitetsforbedring av laboratorieundersøkelser (NOKLUS) bruker de fleste laboratorier i Norge Sysmex XN-instrumenter til differensialtelling av leukocytter. I Sysmex XN-instrumentene blir leukocytterne merket med polymethine og analysert med fluorescens flowcytometri. Klassifiseringen av cellene baseres på lysspredningsdata, fluorescensdata og gitte algoritmer i programvaren. Konsentrasjon av nøytrofile granulocytter som rapporteres, inkluderer standardmessig umodne granulocytter (IG). Dersom helningen, distribusjonen og posisjonen til dataklyngen som representerer nøytrofile granulocytter i scattergrammet avviker fra det typiske mønsteret, vil flagget «WBC Abn Scattergram» bli rapportert (5). Unormale celler, slik som blaster og avvikende lymfocytter blir ikke målt kvantitativt, men rapporteres kvalitativt ved flagget «Blasts/Abn Lympho?» (6). Ved rapportering av flaggene «Blasts/Abn Lympho?» og «WBC Abn Scattergram», vil det kvantitative resultatet for nøytrofile granu-

■ Bioingeniøren er godkjent som vitenskapelig tidsskrift. Artikkelen er fagfellelvurdert og godkjent etter Bioingeniørens retningslinjer.

locytter være merket med en stjerne (*) som indikerer at målingen er usikker (5). I slike tilfeller anbefaler både instrumentleverandøren og nasjonale og internasjonale retningslinjer at blodutstryk undersøkes for mulig forekomst av unormale celler. I tilfeller der unormale celler oppdages bør resultatene kvalitetssikres ved differensialtelling i blodutstryk (2, 3, 5, 7-9). Differensialtelling og morfologiske vurderinger av celler i blodutstryk kan gjøres manuelt i et lysmikroskop eller digitalt ved hjelp av bildegjenkjenningssystemer som CellaVision DM96 (10). Differensialtelling med immunfenotyping og fluorescens flowcytometri anses å ha betydelig høyere analytisk kvalitet enn differensialtelling i blodutstryk (11). Til tross for dette er manuell differensialtelling av 400 leukocytter fremdeles referansemethode for differensialtelling av leukocytter (12).

Hovedhensikten med denne studien var å undersøke om nøytrofile granulocytter kan rapporteres fra Sysmex XN uten å vurdere blodutstryk når prøvene er assosiert med flagget «Blasts/Abn Lympho?». I tillegg ble det undersøkt om flagget «WBC Abn Scattergram» kan gi nyttig informasjon med hensyn på å identifisere prøver der det er formålstjenlig å analysere nøytrofile granulocytter med en alternativ metode. For å vurdere dette ble nøyaktigheten til målingene fra Sysmex XN, CellaVision DM96 og manuell mikroskopi undersøkt ved å sammenligne med målinger fra flowcytometrisk immunfenotyping (IFCM).

Materiale og metode

Blodprøvene i studien var rutineprøver, tatt av voksne pasienter innlagt ved Akershus universitetssykehus (Ahus) i perioden november 2016 til juni 2017. Utvalget var rekruttert fra den generelle sykehuspopulasjonen. Prøvene var tappet på rør tilsatt K₂EDTA (Greiner Bio One, Frickenhausen, Germany) og differensialtelling av leukocytter ble analysert på Sysmex XE-5000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) ved Avdeling for tverrfaglig laboratoriemedisin og medisinsk biokjemi, Ahus. Totalt 240 prøver ble tilfeldig utvalgt basert på tilstedeværelse av ett eller flere leukocytfflagg, som tidligere beskrevet av Eilertsen et al. (13). Leukocytfflaggene inkluderte «Blasts?», «ImmGran?», «AbnLy/L-blast?» og/eller «Atypical Lymph?». Prøvene ble videre analysert på flowcytometeret Cytomics FC 500 med

antistoffpanelet CytoDiff og CytoDiff CXP, programvareversjon 2.0 (Beckman Coulter, Miami, FL, USA) ved Ahus, som tidligere beskrevet (13). Etter analysering på Ahus, ble prøvene sendt til Først Medisinsk Laboratorium for differensialtelling på Sysmex XN-9000 (Sysmex Corporation), programvareversjon 00-18. Alle prøvene ble analysert på samtlige tre instrumenttyper innen seks timer etter prøvetaking. Av de 240 prøvene som viste et eller flere leukocytfflagg på Sysmex XE-5000, ble 208 prøver rapportert med flagget «Blasts/Abn Lympho?» på Sysmex XN-9000, og disse ble inkludert i studien. Terskelverdien (Q-verdien) for rapportering av «Blasts/Abn Lympho?»-flagget var satt til 100 etter leverandørens anbefalinger. To blodutstryk fra hver prøve ble preparert og farget med May Grünwald Giemsa rett etter prøvetaking i utstryks- og fargemaskinen SP-1000 (Sysmex Corporation). Alle blodutstryk ble analysert med CellaVision DM96 (Sysmex Corporation) og ved manuell lysmikroskopi på Ahus. Manuell lysmikroskopi ble utført ved at to bioingeniører hver talte og vurderte 100 leukocytter i separate blodutstryk. I CellaVision DM96 ble totalt 120 leukocytter per utstryk forhåndsklassifisert. Forhåndsklassifiseringen ble deretter vurdert av to bioingeniører, som vurderte hvert sitt parallelle utstryk. Leukocytter som var feilklassifisert ble omklassifisert til riktig kategori. Konsentrasjonen av nøytrofile granulocytter inkluderte både modne (segment- og stavkjernede celler) og umodne (metamyelo-, myelo- og promyelocytter) celler og ble for alle metodene målt som absoluttverdi ($\times 10^9/L$). Alle prøvene ble anonymisert og studien er godkjent av personvernombudet ved Ahus.

Statistikk

Statistiske analyser ble utført i SPSS versjon 28 (SPSS, Chicago, IL) og Diagnostic test evaluation calculator, versjon 22.021 (MedCalc, Ostend, Belgia). Resultatene for nøytrofile granulocytter ($\times 10^9/L$) ble oppsummert som gjennomsnitt, median og laveste og høyeste målte verdi. Pearson korrelasjonskoeffisient ble benyttet for korrelasjonsanalyser og ordinær lineær regresjonsanalyse (OLR) ble brukt til å estimere sammenheng mellom resultatene fra IFCM-metoden og resultatene fra henholdsvis Sysmex XN, CellaVision DM96 og manuell mikroskopi av blodutstryk. Bland-Altman analyse med 95%-gren-

ser for samsvar (LoA) ble brukt til å vurdere overensstemmelse mellom resultatene fra IFCM-metoden og resultatene fra henholdsvis Sysmex XN, CellaVision DM96 og manuell mikroskopi av blodutstryk. Alle konfidensintervaller ble beregnet som 95% konfidensintervaller (95% KI). Data om biologisk variasjon ble brukt til å vurdere klinisk nytteverdi og ble hentet fra databasen til European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (14). Kvalitetsnivået «ønskelig» ble brukt som mål for tillatt systematisk feil og tillatt upresisjon, og tillatt totalfeil for analysen ble beregnet til $\pm 18,7\%$. Absolutt og relativ differanse mellom nøytrofile granulocytresultatene fra IFCM-metoden og resultatene fra henholdsvis Sysmex XN, CellaVision DM96 og manuell mikroskopi av blodutstryk ble beregnet. Konsentrasjonsområdene $< 0,50 \times 10^9/L$, $0,50 - 0,99 \times 10^9/L$ og $1,00 - 100,00 \times 10^9/L$ ble benyttet for å vurdere nøyaktigheten til metodene ved konsentrasjonsnivåer som dekker alvorlig nøytropeni (15), anbefalingen gitt av NOKLUS (2), samt referanseverdier og nøytrofilie. Variabelen «relativ differanse» ble omkodet til en dikotom variabel med verdiene «relativ differanse ligger innenfor grensen for tillatt totalfeil» og «relativ differanse ligger utenfor grensen for tillatt totalfeil». Flagget «WBC Abn Scattergram» ble omkodet til en dikotom variabel med verdiene «flagget er rapportert» og «flagget er ikke rapportert». Kjikkvadrattest ble benyttet for å se på sammenheng mellom de to dikotome variablene «relativ differanse» og «WBC Abn Scattergram». Flaggets sensitivitet og spesifisitet ble beregnet i henhold til Galen og Gambino's metode (16). Dersom «WBC Abn Scattergram» ble rapportert på prøver med relativ differanse mindre enn tillatt totalfeil, ble det kategorisert som et falskt positivt funn. Omvendt, dersom flagget ikke ble rapportert på prøver med en relativ differanse større enn tillatt totalfeil, ble det kategorisert som et falskt negativt funn.

Resultater

Konsentrasjonen av nøytrofile granulocytter i de 208 prøvene analysert med IFCM og CytoDiff-panelet varierte fra $0,02 \times 10^9/L$ til $86,29 \times 10^9/L$ med median verdi lik $3,67 \times 10^9/L$ og gjennomsnittsverdi lik $8,08 \times 10^9/L$. For Sysmex XN og blodutstrykmetodene er tilsvarende ➤

data vist i tabell 1. Korrelasjonsanalysen viste sterk lineær sammenheng mellom konsentrasjonen av nøytrofile granulocytter målt med IFCM-metoden og målingene fra henholdsvis Sysmex XN, CellaVision DM96 og manuell mikroskopi av blodutstryk. Korrelasjonskoeffisienten varierte mellom 0,984 (CellaVision DM96 før omklassifisering av celler mot IFCM) og 0,998 (Sysmex XN mot IFCM) (tabell 2). Regresjonsanalysen viste at Sysmex XN, CellaVision DM96 etter omklassifisering av cellene og manuell mikroskopi av blodutstryk i gjennomsnitt målte høyere verdier av nøytrofile granulocytter enn IFCM-metoden. Verdiene fra CellaVision DM96 før omklassifisering av cellene var lavere enn verdiene fra IFCM-metoden (tabell 2). Bland-Altman analysen viste at gjennomsnittsdifferansen var minst i sammenligningen mellom Sysmex XN og IFCM, og størst i sammenligningen mellom CellaVision etter omklassifisering av cellene og IFCM (tabell 2). Spredningen av differansene er vist i figur 1. Spredningen av differansene og intervallet mellom nedre og øvre samsvarsgrense (LoA) var størst i sammenligningen mellom CellaVision DM96 før omklassifisering og IFCM (figur 1C). Her indikerer plottet at differansene varierer over måleområdet og at den observerte negative gjennomsnittsdifferansen i hovedsak kan tilskrives målinger over $15 \times 10^9/L$ nøytrofile granulocytter. De øvrige sammenligningene viste ingen tegn til proporsjonal skjevhet, men enkelte uteliggere ble observert. Nedre

TABELL 1: Median, gjennomsnitt og lavest og høyest konsentrasjon av nøytrofile granulocytter i 208 blodprøver fra voksne, hospitaliserte pasienter analysert med flowcytometrisk immunfenotyping og CytoDiff panel, Sysmex XN, manuell mikroskopering av blodutstryk i lysmikroskop og digital mikroskopering av blodutstryk med CellaVision DM96 før og etter omklassifisering.

Nøytrofile granulocytter	Median (x10 ⁹ /L)	Gjennomsnitt (x10 ⁹ /L)	Lavest målte verdi (x10 ⁹ /L)	Høyest målte verdi (x10 ⁹ /L)
IFCM med CytoDiff	3,67	8,08	0,02	86,29
Sysmex XN-9000	3,92	8,28	0,07	88,84
Manuell mikroskopi	3,78	8,46	0,04	85,91
CellaVision DM96 før omklassifisering	3,93	7,59	0,00	74,39
CellaVision DM96 etter omklassifisering	4,20	8,83	0,00	94,00

og øvre 95% samsvarsgrense (LoA) for sammenligningene er vist i tabell 2.

Nøytrofile granulocytter $<0,50 \times 10^9/L$ målt med IFCM og CytoDiff-panel

Totalt 33 av 41 relative differanser (80,1%) ble observert utenfor grensene for tillatt totalfeil i sammenligningen mellom Sysmex XN og IFCM (figur 2A). «WBC Abn Scattergram» ble rapportert for 19 av de 33 prøvene (58%). For manuell mikroskopi og CellaVision DM96 før og etter omklassifisering var antall relative differanser utenfor grensene henholdsvis 21 (51%), 28 (68%) og 24 (59%) (figur 2B-D).

Nøytrofile granulocytter $0,50 - 0,99 \times 10^9/L$ målt med IFCM og CytoDiff-panel

Totalt 2 av 14 relative differanser (14,3%)

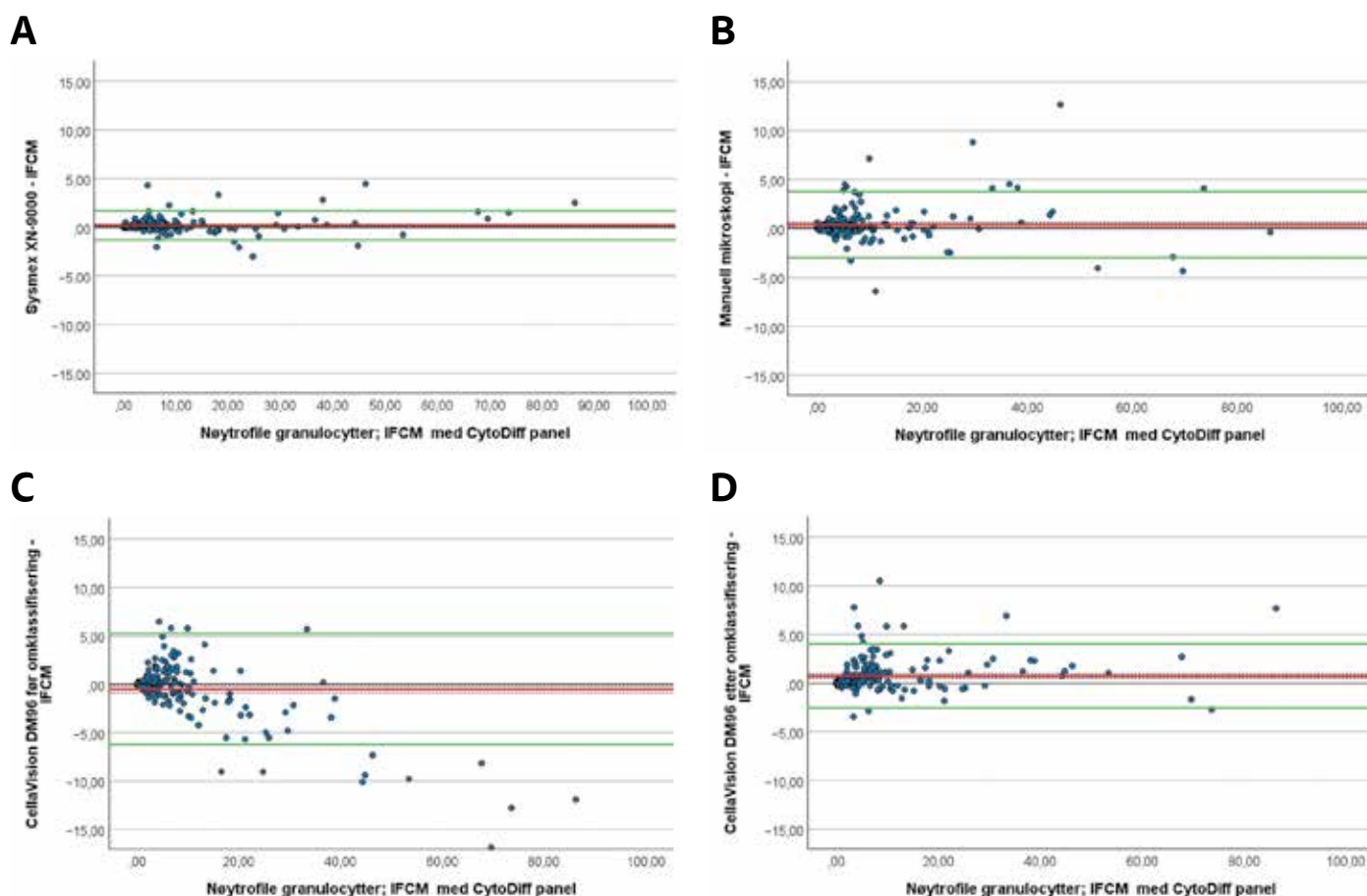
ble observert utenfor akseptgrensene for totalfeil i sammenligningen mellom Sysmex XN og IFCM (figur 2A). Ingen av prøvene med relativ differanse utenfor grensene ble rapportert med «WBC Abn Scattergram». For manuell mikroskopi og CellaVision DM96 før og etter omklassifisering var antall relative differanser utenfor grensene henholdsvis 5 (36%), 7 (50%) og 6 (43%) (figur 2B-D).

Nøytrofile granulocytter $1,00 - 86,29 \times 10^9/L$ målt med IFCM og CytoDiff-panel

Totalt 8 av 153 relative differanser (5,2%) ble observert utenfor akseptgrensene i sammenligningen mellom Sysmex XN og IFCM-metoden (figur 3A). «WBC Abn Scattergram» ble rapportert på 83 av 145 prøver (57%) med differanser

TABELL 2: Korrelasjonskoeffisient og regresjonsligning basert på ordinær lineær regresjon (OLR), samt gjennomsnittsforskjell og samsvarsgrenser (LoA) for sammenligningene av nøytrofile granulocytter fra henholdsvis Sysmex XN, manuell mikroskopi av blodutstryk i lysmikroskop og CellaVision DM96 før og etter omklassifisering mot IFCM med CytoDiff panel basert på Bland-Altman analyse. Totalt 208 blodprøver fra voksne, hospitaliserte pasienter er analysert.

Nøytrofile granulocytter (x10 ⁹ /L)	Korrelasjonskoeffisient (r)	OLR y= bx (95% KI) + a (95% KI)	Gjennomsnittsdifferanse (95% KI for gjennomsnittet) (x10 ⁹ /L)	Samsvarsgrense (LoA) (nedre - øvre) (x10 ⁹ /L)
Sysmex XN mot IFCM	0,998	y = 1,013 × (1,006 - 1,021) + 0,097 (-0,022 - 0,216)	0,21 (0,10 - 0,31)	-1,30 - 1,71
Manuell mikroskopi mot IFCM	0,992	y = 1,016 × (0,998 - 1,034) + 0,248 (-0,027 - 0,523)	0,38 (0,14 - 0,61)	-3,01 - 3,76
CellaVision DM96 før omklassifisering mot IFCM	0,984	y = 0,841 × (0,821 - 0,862) + 0,796 (0,475 - 1,117)	-0,49 (-0,88 - (-0,09))	-6,02 - 5,25
CellaVision DM96 etter omklassifisering mot IFCM	0,993	y = 1,027 × (1,010 - 1,044) + 0,529 (0,266 - 0,792)	0,75 (0,52 - 0,98)	-2,54 - 4,04



FIGUR 1: Bland-Altman plot viser konsentrasjonen av nøytrofile granulocytter ($\times 10^9/L$) målt med flowcytometrisk immunfenotyping med CytoDiff panel (IFCM) på x-aksen og den absolute differansen i målt konsentrasjon mellom A) Sysmex XN-9000 og IFCM, B) manuell mikroskopi og IFCM, C) CellaVision DM96 før omklassifisering og IFCM og D) CellaVision DM96 etter omklassifisering og IFCM på y-aksen. Den røde linjen viser gjennomsnittet av differansene, de grå stiplede linjene viser 95% konfidensintervall for gjennomsnittet og de grønne linjene viser 95% grenser (LoA) for samsvar mellom de respektive metodene. Tall for gjennomsnittsdifferanser og samsvarsgrenser (LoA) er vist i tabell 2.

innenfor grensene og 6 av 8 prøver (75%) med differanser utenfor grensen for tillatt totalfeil. For manuell mikroskopi og CellaVision DM96 før og etter omklassifisering var antall relative differanser utenfor grensene henholdsvis 39 (25%), 71 (46%) og 54 (35%) (figur 3B-D).

Diagnostisk nøyaktighet

Krysstabellanalysen viste ingen sammenheng mellom rapportering av «WBC Abn Scattergram» og variabelen «relativ feil» ($p = 0,890$). Frekvensfordelingen er vist i tabell 3. Sensitiviteten og spesifisiteten til flagget ble beregnet til henholdsvis 0,58 (95% KI: 0,42-0,73) og 0,43 (95% KI: 0,35-0,51).

Diskusjon

I denne studien ble det undersøkt om nøytrofile granulocytterresultater merket

med stjerne kan rapporteres uten å undersøke blodutstryk når Sysmex XN melder «Blast/Abn Lympho?». Videre ble det evaluert om «WBC Abn Scattergram» gir nyttig informasjon om hvilke prøver som presumptivt trenger oppfølging med alternativ metode. Totalt ble 208 blodprøver analysert ved bruk av Sysmex XN, CellaVision DM96 og manuell mikroskopi av blodutstryk, og

sammenlignet med resultatene fra IFCM.

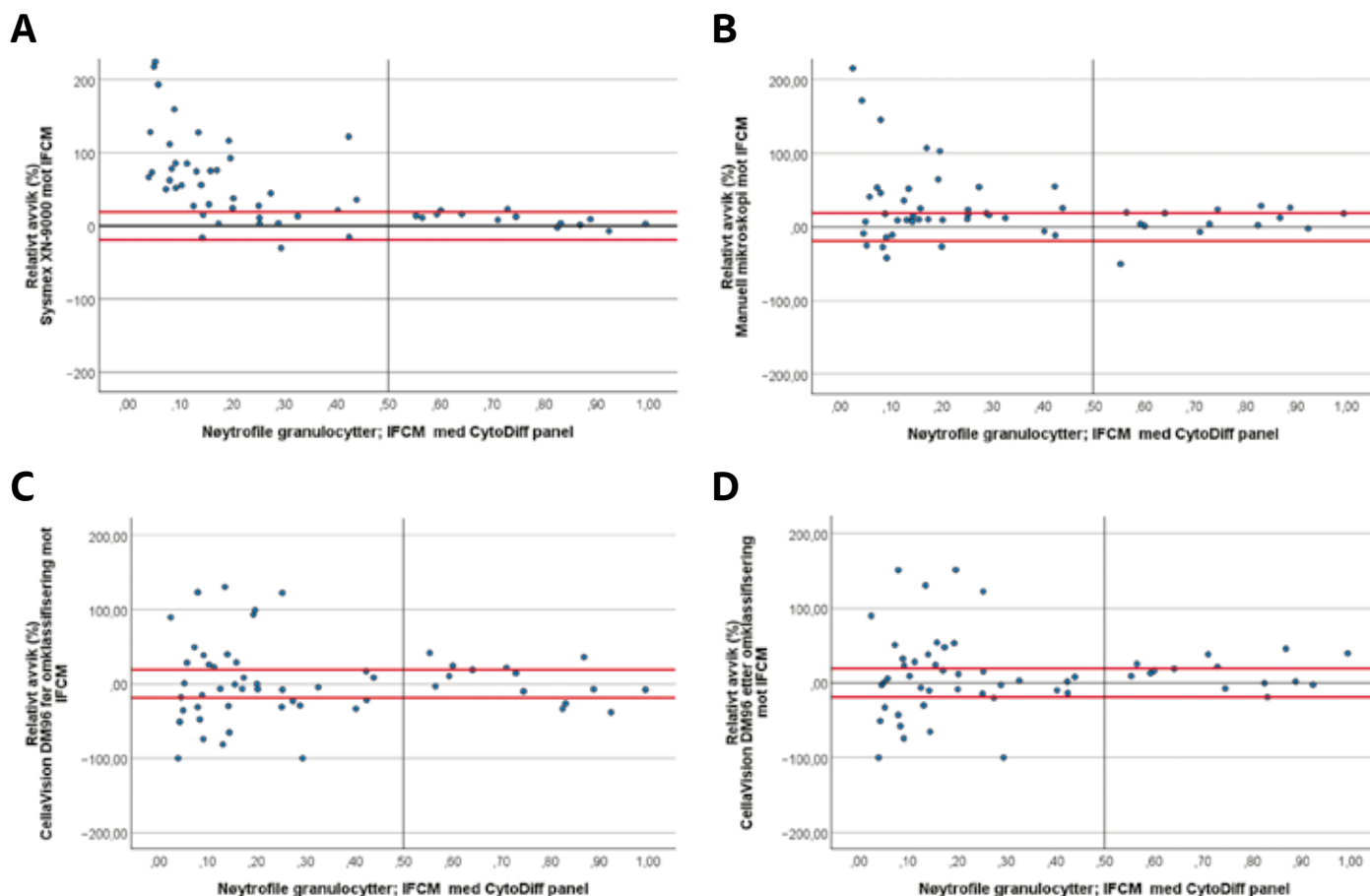
Det var god korrelasjon og høy grad av overensstemmelse mellom målingene fra Sysmex XN og IFCM for verdier i området $0,02-86,29 \times 10^9/L$.

For verdier i området $0,5-86,29 \times 10^9/L$ lå 6% av de relative differansene utenfor grensen for tillatt totalfeil. For verdier $< 0,5 \times 10^9/L$ overskred 80,1% av de relative differansene grensene, med de fleste og ➤

TABELL 3: Sammenheng mellom rapporteringen av flagget «WBC abn scattergram» og relativ feil i konsentrasjonen av nøytrofile granulocytter målt med Sysmex XN.

	Relativ differanse > TFtillatt	Relativ differanse < TFtillatt	Total
+ «WBC Abn Scattergram»	25	94	119
- «WBC Abn Scattergram»	18	71	89
Total	43	165	208

TF, totalfeil



FIGUR 2: Bland-Altman plot som viser konsentrasjonen av nøytrofile granulocytter under $1,00 \times 10^9/\text{L}$ målt med flowcytometrisk immunfenotyping med CytoDiff panel (IFCM) på x-aksen og den relative differansen i målt konsentrasjon mellom A) Sysmex XN-9000 og IFCM B) manuell mikroskopi og IFCM, C) CellaVision DM96 før omklassifisering og IFCM og D) CellaVision DM96 etter omklassifisering og IFCM på y-aksen. De røde linjene viser grensene for tillatt totalfeil (18,7%). Den sorte loddrette linjen indikerer konsentrasjonen $0,50 \times 10^9/\text{L}$.

største avvikene observert for verdier $< 0,2 \times 10^9/\text{L}$. Dette kan skyldes mindre presise målinger ved lave verdier (17), samt at relativ endring gir større tallverdier enn absolutte forskjeller ved lave forekomster.

Sysmex XN viste en høyere grad av nøyaktighet i målingen av nøytrofile granulocytter enn blodutstryksmetodene. Ved sammenligningen med IFCM var den gjennomsnittlige systematiske feilen mindre, og samsvarsgrensene betydelig snevrere enn for de øvrige metodene. Disse funnene indikerer at nøytrofile granulocytter kan rapporteres fra Sysmex XN, også i tilfeller der instrumentene indikerer usikre resultater knyttet til flagget «Blast/Abn Lympho?». Dette funnet samsvarer med tidligere studier som viser at nøytrofile granulocytter kan gis ut fra Sysmex-instrumentene ved tilstedeværelse av flagg (17, 18), og utfordrer nytteverdien av de gjeldende retningslinjene som anbefaler blodutstryk

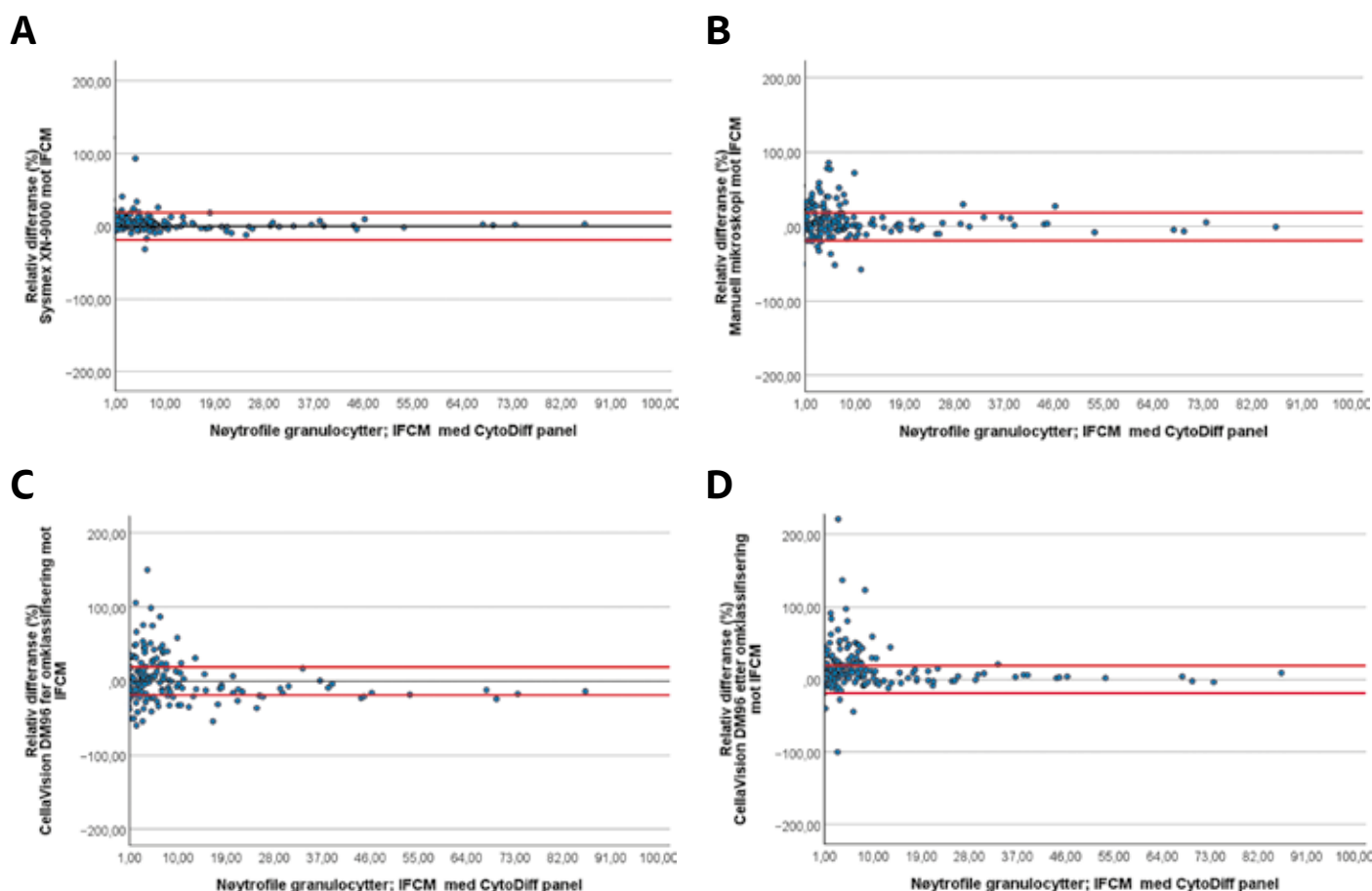
for verifikasjon av usikre resultater.

Pasienter med lave nivåer av nøytrofile granulocytter har økt infeksjonsrisiko, og ved alvorlig nøytropeni ($< 0,5 \times 10^9/\text{L}$) er dødeligheten høy. For verdier $< 0,5 \times 10^9/\text{L}$ var målingene usikre med alle de undersøkte metodene. Imidlertid indikerer resultatene at nøytrofile granulocytter $> 0,2 \times 10^9/\text{L}$ mest sannsynlig kan rapporteres fra Sysmex XN når «Blast/Abn Lympho?» rapporteres, uten behov for forsinkende bekreftelse i blodutstryk.

Å følge opp flagg og usikre resultater fra hematologiinstrumenter ved å undersøke blodutstryk er arbeidskrevende. I tillegg har metoden flere kjente feilkilder, inkludert feilklassifisering av celler, ujevn cellefordeling i utstryket samt en iboende statistisk usikkerhet i tellingene som følge av at et begrenset antall celler telles (19). Valget av passende laboratoriemetoder er derfor avgjørende for effektiv ressursutnyttelse i laboratoriet. Mange

laboratorier benytter i dag digitale verktøy, som for eksempel CellaVision, for å følge opp usikre resultater og flagg fra hematologiinstrumentene. Imidlertid eliminerer ikke slike verktøy usikkerheten i tellingene, da det vanligvis telles et tilsvarende lavt antall celler som ved manuell mikroskopi. I tillegg er det en begrensning ved at kun et begrenset område av utstryket vurderes.

Riktig bruk av laboratorieundersøkelser har vært et sentralt tema i laboratoriemiljøer i flere tiår. I 2023 ga Helse- og omsorgsdepartementet helseregionene i oppdrag å redusere overforbruk av laboratorie-, bilde- og radiologitjenester ved å iverksette tiltak som fremmer kunnskapsbasert praksis, kvalitet, bærekraft og effektiv ressursbruk (20). Overforbruk i en laboratoriekontekst omfatter ikke bare analyser som bestilles uten klinisk begrunnelse. For hver blodprøve som analyseres på et hematologiinstrument gene-



FIGUR 3: Bland-Altman plot som viser konsentrasjonen av nøytrofile granulocytter i området 1,00 til 100,00 $\times 10^9/L$ målt med flowcytometrisk immunfenotyping med CytoDiff panel (IFCM) på x-aksen og den relative differansen i målt konsentrasjon mellom A) Sysmex XN-9000 og IFCM B) manuell mikroskopi og IFCM, C) CellaVision DM96 før omklassifisering og IFCM og D) CellaVision DM96 etter omklassifisering og IFCM på y-aksen. De røde linjene viser grensene for tillatt totalfeil (18,7%).

rerer det flere titalls prøvesvar. Noen er bestilt av rekvirent, andre ikke. I tillegg vil det forekomme flagg og meldinger. Mange av disse har lav diagnostisk styrke (13, 21). Dette utgjør en betydelig etisk og ressursmessig utfordring. Spørsmål som ofte oppstår, inkluderer blant annet om laboratoriet skal følge opp stjernemerkede prøvesvar og flagg med alternative metoder. Hvordan skal disse i så fall følges opp? Skal flagg og ikke-bestilte analysesvar rapporteres til behandlende lege? Hvordan skal da legen forholde seg til denne informasjonen? Ansvar for kvalitet, bærekraft og effektiv ressursbruk kan ikke utelukkende tilskrives laboratoriene og kliniske avdelinger. Instrumentprodusenter og leverandører har også et vesentlig ansvar. Denne studien reiser spørsmål ved påliteligheten til stjernemerkingen av nøytrofile granulocytter analysert med Sysmex XN-serien.

Omfangsrike og defensive faglige retningslinjer representerer ytterligere en fak-

tor som bidrar til overaktivitet i laboratoriene. Sysmex XN-serien er utstyrt med et regelbasert valideringsverktøy som bygger på leverandørens erfaringer og publiserte retningslinjer (23). Vår studie viser at stjernemerkede nøytrofile granulocytter med fordel kan rapporteres fra Sysmex XN når prøven er merket med flagget «Blast/Abn Lympho?». Når det gjelder flagget «WBC Abn Scattergram», har tidligere studier antydnet at nøytrofile granulocytter kan rapporteres fra hematologiinstrumentet Sysmex XE-2100 når flagget er tilstede (17). Vår studie bekrefter denne antagelsen. Vi fant ingen statistisk signifikant sammenheng mellom unøyaktigheten i målingene av nøytrofile granulocytter (relativ målefeil) og rapporteringen av «WBC Abn Scattergram» ($p=0,890$).

Intensjonen med Sysmex XN-seriens regelbaserte valideringsverktøy er sannsynligvis å sikre generell høy kvalitet på prøveresultatene. Denne studien anty-

der imidlertid at flaggene «Blast/Abn Lympho?» og «WBC Abn Scattergram» er lite egnet til å identifisere usikre nøytrofile granulocytresultater. Målingene er mest sannsynlig pålitelige og oppfølging av stjernemerkingen med undersøkelse av blodutstryk fremstår som en driver for unødvendige undersøkelser. Laboratoriene bør derfor vurdere å etablere laboratoriespesifikke retningslinjer for å avgjøre hvilke flagg som kan ignoreres ved stjernemerkede resultater. Dette vil kunne gi færre kontroller i blodutstryk som igjen kan forkorte svartiden (18) og redusere forsinkelser i pasientenes behandling.

Det kan argumenteres for å vurdere blodutstryk ved tilstedeværelse av flagg for å påvise blaster eller tegn til lymfoproliferativ sykdom, der slik sykdom ikke tidligere er påvist. Tidligere studier har imidlertid vist at det er stor risiko for falsk negative resultater når blodutstryk benyttes for å påvise blaster (13).

Konklusjon

Et sentralt funn i denne studien er at Sysmex XN måler nøytrofile granulocytter med større nøyaktighet enn blodutstrykmetodene i blodprøver rapportert med flagget «Blast/Abn Lympho?». Verdier $\leq 0,5 \times 10^9$ nøytrofile granulocytter/L har sannsynligvis tilstrekkelig nøyaktighet til å identifisere alvorlig nøytropeni, og kan dermed rapporteres fra Sysmex XN uten behov for undersøkelse av blodutstryk. «WBC Abn Scattergram»-flagget gir ingen indikasjon på hvilke prøver som krever oppfølging med alternative metoder. «Gjør kloke valg»-kampanjen oppfordrer til begrenset bruk av undersøkelser som ikke har en klar nytteverdi for pasientene, og i laboratoriekontekst kan dette innebære å overse flagg med lav diagnostisk nøyaktighet. Laboratoriespesifikke retningslinjer kan være veien å gå for å redusere overaktivitet og frigjøre kapasitet i laboratoriene. Vår studie indikerer at stjernemerkede nøytrofile granulocytter merket med «WBC Abn Scattergram»-flagget kan rapporteres fra Sysmex XN uten annen oppfølging. Det kan forkorte svartiden og spare ressurser. ■

Forfatterens bidrag

HE utformet studien, analyserte dataene, utførte statistiske analyser og utarbeidet manuskriptet. RMG deltok i diskusjon av resultatene og hjalp til med utforming av manuskriptet. JMA deltok i diskusjon av resultatene og hjalp til med utforming av manuskriptet.

Interessekonflikter

Ingen interessekonflikter

Referanser

1. Gjør kloke valg: <https://www.legeforeningen.no/kloke-valg/> (29.3.2025).
2. NOKLUS. Anbefalinger: Når bør det lages blodutstryk basert på celletellinger og/eller flagg fra hematologiinstrumenter?: https://www.noklus.no/media/qvggqqaq/anbefalinger-29jan19_rev-2021.pdf (27.3.2025).
3. International Society for Laboratory Hematology. Consensus guidelines: Rules: https://www.islh.org/web/consensus_rules.php (27.3.2025).
4. Laboratoriehåndbok (SiV). Nøytrofile (nøytrofile granulocytter): <https://metodebok.no/index.php?action=topic&item=BuNHDajz> (27.3.2025).
5. Sysmex. XN-Series Flagging Interpretation Guide. Version 2. Norderstedt: Sysmex Europe SE: 2022.
6. Briggs C, Longair I, Kumar P, Singh D, Machin SJ. Performance evaluation of the Sysmex haematology XN modular system. *J Clin Pathol*. 2012;65(11):1024-30.
7. Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, Simson E. The international consensus group for hematology review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab Hematol*. 2005;11(2):83-90.
8. Gulati G, Song J, Florea AD, Gong J. Purpose and criteria for blood smear scan, blood smear examination, and blood smear review. *Ann Lab Med*. 2013;33(1):1-7.
9. Geneviève F, Galois A, Mercier-Bataille D, Wagner-Ballon O, Trimoreau F, Fenneteau O, et al. Smear microscopy revision: propositions by the GFHC. *Feuill Biol*. 2014;4:317-25.
10. Cornet E, Perol J-P, Troussard X. Performance evaluation and relevance of CellaVisionTMDM96 system i routine analysis and in patients with malignant hematological diseases. *Int J Lab Hematol*. 2008;30:536-42.
11. Briggs C, Culp N, Davis B, d'Onofrio G, Zini G, Machin S. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. *Int J Lab Hematol*. 2014;36(6):613-27.
12. CLSI. Reference Leukocyte (WBC) Differential Count (Proportional) and Evaluation of Instrumental Methods; Approved Standard—Second Edition. CLSI document H20-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, Pennsylvania: 2007.
13. Eilertsen H, Sæther PC, Henriksson CE, Petersen AS, Hagve TA. Evaluation of the detection of blasts by Sysmex hematology instruments, CellaVision DM96, and manual microscopy using flow cytometry as the confirmatory method. *Int J Lab Hematol*. 2019;41(3):338-44.
14. European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Neutrophils: <https://biologicalvariation.eu/search?query=Neutrophils> (19.2.2025).
15. Norsk forening for infeksjonsmedisin. Febril nøytropeni: <https://metodebok.no/index.php?action=topic&item=Nyiu89RV> (27.3.2025).
16. Galen RS, Gambino SR. Sensitivity, specificity, prevalence and incidence. I: Galen RS, Gambino SR, red. Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnosis. New York: Wiley; 1977.
17. Amundsen EK, Urdal P, Hagve T-A, Holthe MR, Henriksson CE. Absolute neutrophil counts from automated hematology instruments are accurate and precise even at very low levels. *Am J Clin Pathol*. 2012;137(6):862-9.
18. Linko-Parvinen AM, Turkia H. Reporting Sysmex XN Absolute Neutrophil Count in Samples with Leukocyte Analyzer Flagging. *Lab Med*. 2021;52(2):168-73.
19. Bain B. Blood Cells: A Practical Guide. 5. utgave. UK: John Wiley & Sons Ltd; 2015.
20. Oppdragsdokument 2023 Helse Vest RHF. Oslo: Helse- og omsorgsdepartementet; 2023.
21. Eilertsen H, Hagve TA. Do the flags related to immature granulocytes reported by the Sysmex XE-5000 warrant a microscopic slide review? *Am J Clin Pathol*. 2014;142(4):553-60.
22. Størdal K, Hjørleifsson S. Fem år med Gjør kloke valg-hjelper det? *Tidsskr Nor Legeforen*. 2023;143.
23. Sysmex. The new Sysmex rule set of the Extended IPU implements biomedical validation rules according to peer-reviewed recommendations: https://www.sysmex-mea.com/fileadmin/media/fl00/Academy/Documents/SEED/Sysmex_SEED_Haematology_Biomedical_Validation.pdf (27.3.2025).

Om forfatterne



Heidi Eilertsen: Bioingeniør, PhD, Førsteamanuensis ved Fakultet for helsevitenskap, institutt for naturvitenskaplige helsefag, Bioingeniørutdanningen, OsloMet



Runa Marie Grimholt: Bioingeniør, PhD, Førsteamanuensis ved Fakultet for helsevitenskap, institutt for naturvitenskaplige helsefag, Bioingeniørutdanningen, OsloMet. Forsker ved Avdeling for medisinsk biokjemi, Oslo Universitetssykehus



Jorunn Marie Andersen: Bioingeniør, PhD, Førsteamanuensis ved Fakultet for helsevitenskap, institutt for naturvitenskaplige helsefag, Bioingeniørutdanningen, OsloMet