

B-Hemoglobin (Hb), B-Erythrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 samt XN-20

B-Hemoglobin (Hb)	NPU28309
B-Erythrocyter	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 erythrocyter. Benmärgen tillverkar 2 miljoner erythrocyter per sekund. Produktionen av erythrocyter, erytropoesen, är kroppens mest prioriterade uppgift. Alla störningar i erytropoesen leder till sänkt antal erythrocyter och därmed sänkt hemoglobinhalt. En normal erythrocyt 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 erythrocyter 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-Erythrocyter 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-Erythrocyter

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

Erc-MCV, erythrocyter medelcellvolym

Baserat på erythrocyternas 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 folsyra-brist. 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].

Metodbeskrivning

B-Hemoglobin (Hb), B-Erythrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 samt XN-20Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

B-EVF, erythrocyter volymfraktion

B-EVF tidigare kallad hematokrit, bestämdes ursprungligen genom centrifugering av helblod i ett rör varvid blodet bildar ett erythrocytskikt, ett gråaktigt skikt med leukocyter och trombocyter (buffy coat) och ett plasmaskikt. B-EVF bestäms 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, erythrocyter medelcellhemoglobinkoncentration**Erc-MCH, erythrocyter medelcellhemoglobinmängd**

Baserat på erythrocyternas medelcellhemoglobinkoncentration/medelcellhemoglobinmängd kan anemier delas in i normo, hypokroma och hyperkroma former.

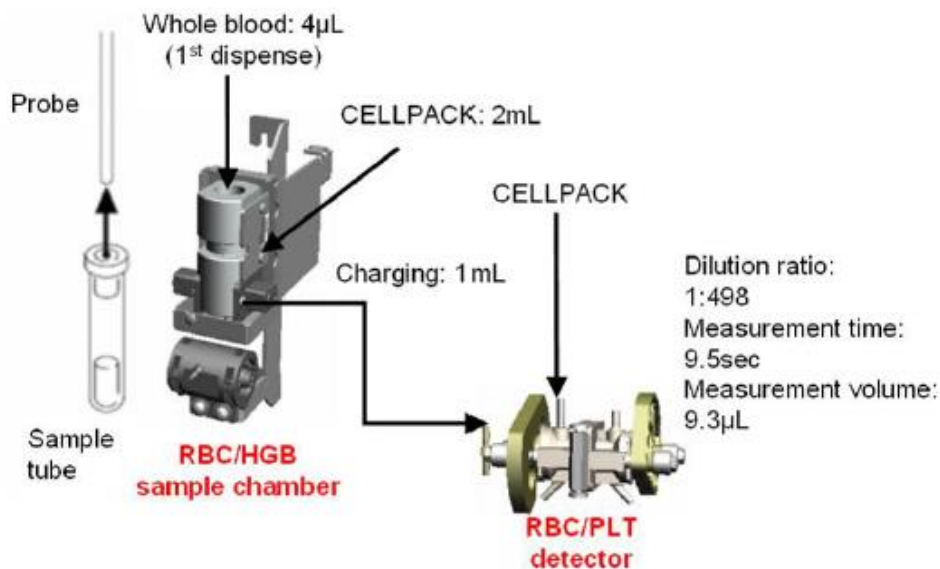
Normokroma erythrocyter ses vid blödning och sekundära anemier. Hypokroma erythrocyter ses vid järnbrist och talassemi. Hyperkroma erythrocyter kan ses vid B12/Folat-brist, alkohol/leversjukdom, myelodysplastiskt syndrom och cytostatikaterapi [8].

Analysprincip

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

Figur 1 [13]

2.8.1 RBC/PLT Analysis



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-Erythrocyter ($\times 10^{12}/L$) 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. $V_{erc} = Ph * K$ där K är en omvandlingsfaktor mellan impedans och volym. Den ackumulerade volymen (V_{erc}) dividerat med antalet pulser = MCV.

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

$\sum VT$ = Totala blodvolymen som mäts.

$EVF = V_{erc} / \sum VT \times 100$

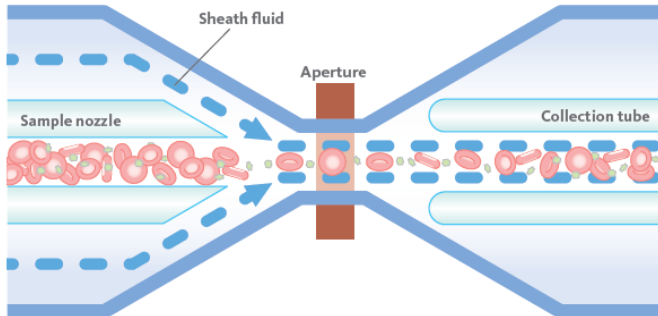
Metodbeskrivning

B-Hemoglobin (Hb), B-Erythrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 samt XN-20

Gäller för
Klinisk kemi

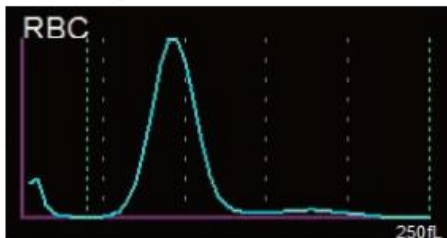
SKÅNE

Figur 2

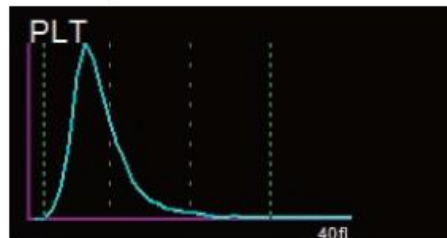


Figur 3

RBC histogram



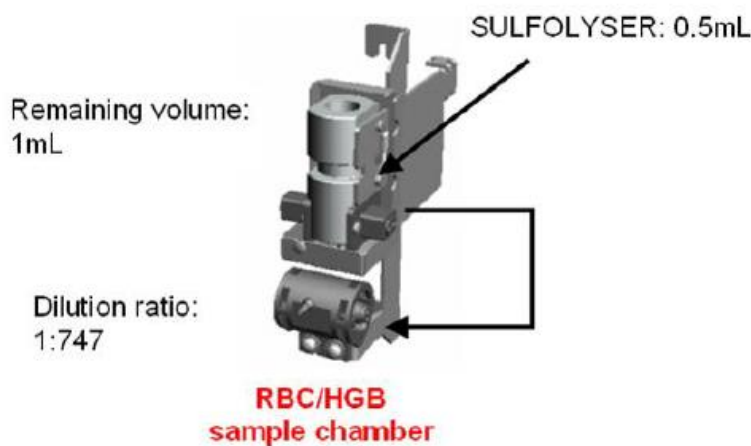
PLT histogram



Figur 4 [13]

2.8.2 HGB Analysis

After RBC sample is taken by charging DP, add SULFOLYSER.



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 erythrocyterna med jonbindning och delvis med hydrofob bindning. Hemoglobin frisätts genom hemolys och genomgår en förändring av sin tredimensionella struktur. Fe²⁺ oxideras till Fe³⁺. De hydrofila grupperna på SLS binder till Fe³⁺ och ett stabilt SLS hemoglobin bildas, se figur 5. Absorption mäts vid 555nm [1].

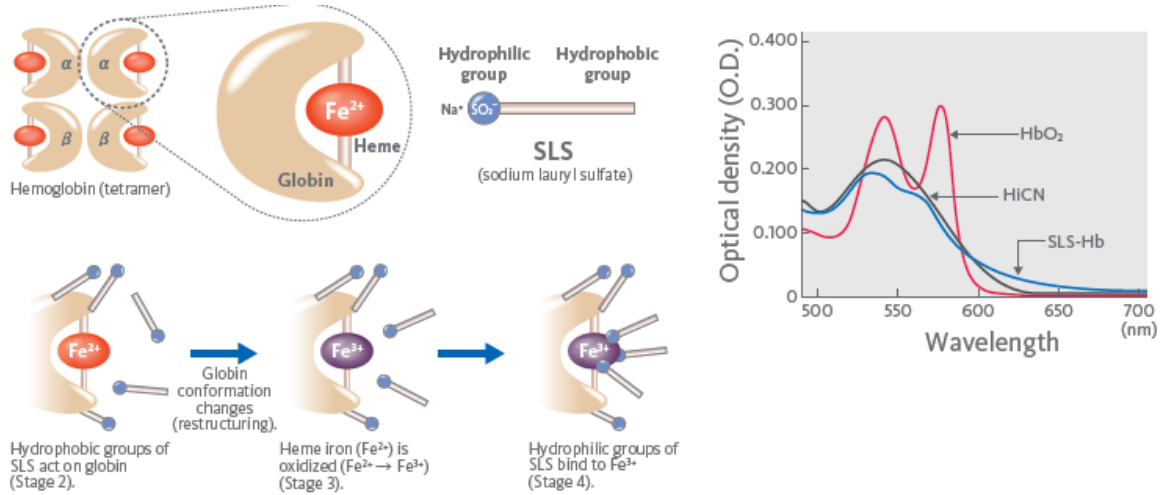
Metodbeskrivning

B-Hemoglobin (Hb), B-Erythrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 samt XN-20

Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Figur 5



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

$$\text{Erc-MCH (pg)} = \frac{\text{B-HB (g/L)}}{\text{B-RBC (x10}^{12}\text{/L)}}$$

$$\text{Erc-MCHC (g/L)} = \frac{\text{B-HB (g/L)}}{\text{B-EVF}}$$

Metodbeskrivning

B-Hemoglobin (Hb), B-Erythrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 samt XN-20Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

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-Erythrocyter

Vuxna [3]

Kvinnor: 3,9-5,2 x10¹²/LMän: 4,2-5,7 x10¹²/L

Barn [11]

0-1 dag: 4,8-5,8 x10¹²/L1-6 dagar: 4,7-6,1 x10¹²/L6-14 dagar: 4,3-5,5 x10¹²/L2-4 veckor: 3,7-5,0 x10¹²/L1-3 månader: 3,3-4,6 x10¹²/L3 månader-3 år: 4,0-4,9 x10¹²/L3-6 år: 4,1-5,2 x10¹²/L6-18 år: 4,1-5,3 x10¹²/L**Erc-MCV**

Vuxna [3]

Kvinnor och män: 82-98 fL

Barn [11]

0-1 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

Metodbeskrivning

B-Hemoglobin (Hb), B-Erythrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 samt XN-20Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Erc-MCH

Vuxna [3]

Kvinnor och män: 27-33 pg

Barn [11]

0-3 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

Metodbeskrivning

B-Hemoglobin (Hb), B-Erythrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 samt XN-20Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Metodkaraktistika

Interferenser och felkällor [4].

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

B-Erythrocyter: Falskt för lågt vid erythrocytaggregation, mikroerythrocyter och fragmenterade erythrocyter.
Falskt för högt vid mycket höga leukocyter och vid mycket höga trombocyter i samband med stora trombocyter.

B-EVF: Falskt för lågt vid erythrocytaggregation, mikroerythrocyter och fragmenterade erythrocyter.

Falskt för högt vid mycket höga leukocyter, svår diabetes, uremi och sfärocytos.

Mätområde [4]

B-Hemoglobin: 0 - 260 g/L

B-Erythrocyter: 0 - $8,60 \times 10^{12}/L$

B-EVF: 0 - 0,75

Detektionsgräns

B-Hemoglobin: 2 g/L

B-Erythrocyter: $0,01 \times 10^{12}/L$

B-EVF: 0,01

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

Metodbeskrivning

B-Hemoglobin (Hb), B-Erythrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 samt XN-20

Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Mätosäkerhet

Sammanställning från inkörning av XN-10/XN-20 i Skåne november 2019 till maj 2020 (n=575 för varje analys och kontrollnivå).

	Nivå kontroll	CV (%)	Ackrediterings omfattning (CV%)*
B-Hemoglobin (g/L)	57	0,8-1,4	2,0
	121	0,4-1,4	2,0
	165	0,4-0,7	-
B-Erythrocyter (*10 ¹² /L)	2,26	0,7-1,7	2,0
	4,43	0,5-1,5	2,0
	5,29	0,5-1,1	-
Erc-MCV (fL)	75	0,4-1,1	2,0
	80	0,5-1,1	2,0
	88	0,4-1,1	-
Erc-MCH (pg)	25,2	0,7-1,8	2,0
	27,1	0,5-1,4	2,0
	30,6	0,6-1,5	-
Erc-MCHC (g/L)	339	0,8-3,0	3,0
	338	0,7-2,2	3,0
	348	0,7-2,3	-
B-EVF	0,17	0,8-2,3	2,0
	0,36	0,7-2,3	2,0
	0,47	0,6-2,0	-

*Ackrediteringens omfattning gäller Skåne 2021-03-11.

Metodbeskrivning

B-Hemoglobin (Hb), B-Erythrocyter, Erc-MCV, Erc-MCH, Erc-MCHC, B-EVF, Sysmex XN-10 samt XN-20

Gäller för
Klinisk kemi

SKÅNE

Spårbarhet

Som referensmetod för fastställande av kalibratorvärde används:

B-Hemoglobin – ICSH standard 1995 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-Erythrocyter – ICSH expertpanel på Cytometri, Clin Lab Hematol. 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 intervals. 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.