FAGLIG

Målingen af MCV er fejlbehæftet! Brug derfor MCH til anæmiudredning

SKREVET AF:

JENS PETER PHILIPSEN
Bioanalytikerunderviser
Nordsjællands Hospital Hillerød, Klinisk Biokemisk Afdeling, mail: jens.peter.philipsen@regionh.dk

KIRSTEN VIKKELSØ MADSEN
Lektor
Københavns Professionshøjskole, Bioanalytikeruddannelsen, mail: kima@kp.dk

Med baggrund i egne undersøgelser og videnskabelig litteratur beskrives kendte fejlkilder på bestemmelsen af erythrocytters Middel Celle Volumen (MCV). Fejlkilder, som også resulterer i fejlagtige beregninger af B-erythrocytvolumenfraktion (EVF) og B-Erythrocyt, middelhæmoglobin, stofkonc. (MCHC). Kvantiteten Middel Celle Hæmoglobin (MCH) er ikke så fejlbehæftet og giver bedre information ved anæmiudredning. Det anbefales derfor, at MCH bruges til anæmiudredning fremfor MCV. EVF, MCV og MCHC kunne altså godt slettes fra analyserepertoiret uden at fejldiagnosticere eller fejlbehandle af den grund, dog med det forbehold, at Polycytæmi Vera-patienter kan få udført en manuel EVF.

Historisk baggrund

I 1929 introducerede Maxwell M. Wintrobe (1901-1986), der fik klinisk hæmatologi etableret som medicinsk subspeciale, en præcis og nogenlunde korrekt metode til bestemmelse af EVF (1). Wintrobe beskrev også beregning af MCV, Middel Celle Hæmoglobin (MCH) og MCHC (2) samt klassifikation af anæmier ud fra disse (3).

I hæmatologiens spæde opstart var kvaliteten af målingerne betydelig anderledes end i dag. Også mængden af krævet prøvemateriale var en del større. Wintrobes bestemmelse af EVF var en såkaldt makro-hæmatokrit, som krævede ca. 1 ml blod og et rør, der var ca. 10 cm langt. Selvom centrifugeringstiden var mindst 1/2 time, blev der lidt plasma tilbage mellem erythrocytterne, såkaldt "trapped plasma", som resulterer i falsk forhøjet EVF. Med mikrohæmatokrit-metoden, som bruges i dag, hvor der benyttes ca. 75 µl fuldblod, er mængden af "trapped plasma" væsentlig mindre. Denne måling kan udføres meget præcist (CV < 0,5%) og med korrektion i henhold til The International Council for Standardization in Haematology (ICSH) (4) også meget korrekt.

Wintrobes måling af EVF var mere pålidelig end målingen af B-hæmoglobin (B-Hb) og især bestemmelsen af antallet af erythrocytter (Ery). Derfor blev bestemmelsen af MCV (EVF/Ery) og MCH (Hb/Ery) tilsvarende upræcise.

I 1953 fik Wallace Coulter patent på sin opfindelse af

Præcision og korrekthed

Ved god præcision fås omtrent samme værdi, når der laves flere målinger på samme prøve. Beskrives med standarddeviation (SD) eller variationskoefficient (CV, oftest i %).

Ved god korrekthed (= akkuratesse) er gennemsnittet af flere målinger tæt på den sande værdi. Beskrives ved afvigelsen fra dette, dvs. den systematiske fejl, som nu oftest kaldes bias.

The International Council for Standardization in Haematology (ICSH)

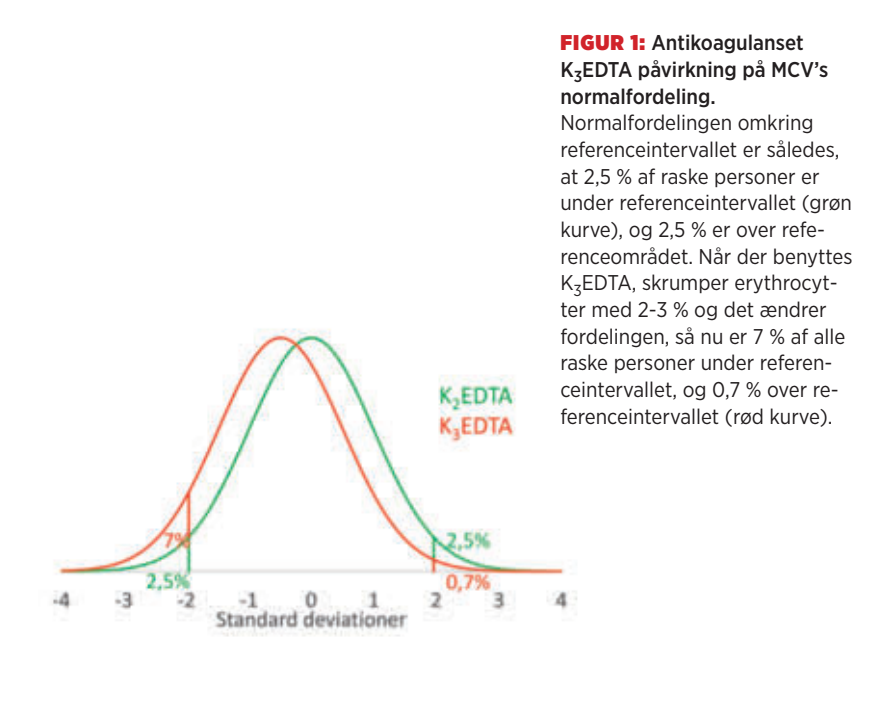
ICSH blev nedsat i 1963 af European Society for Hematology og efterfølgende anerkendt af International Society for Hematology. Formålet er at skabe korrekte og reproducérbare hæmatologiske analyseresultater. For at gøre dette er der nedsat internationale ekspertgrupper, som kommer med forslag til standardisering og etablering af referencemetoder inden for hæmatologi. Rekommandationer herfra bør følges.

Impedans- eller ledningsevne-princippet

Med denne metode ledes cellerne gennem et ganske lille hul (50-100 µm i diameter). Gennem hullet ledes en strøm, og når en celle passerer, stiger den elektriske modstand (ohm) og dermed spændingen (volt). Signalernes antal og størrelse registreres, hvorved antallet og størrelsen af erythrocytter bestemmes.

impedansprincippet til tælling og størrelsesbestemmelse af diverse partikler, herunder B-Erythrocytter (Ery), B-thrombocytter og B-leukocytter. Dette gjorde erythrocyt-tællingen meget mere præcis. Den elektriske impuls, der dannes, når en celle passerer tælle-hullet, er nogenlunde proportional med cellens størrelse. Dog påvirkes målingen også af antikoagulanset, osmolaliteten i plasma og cellernes viskositet (~MCHC).

EVF på hæmatologiapparaterne blev kalibreret over for en centrifugeret EVF, som kunne være korrigeret for "trapped plasma". Mængden af "trapped plasma" blev målt ved at tilsætte radioaktivt albumin eller fibrinogen og målte radioaktiviteten i erythrocytlaget. Derved var det muligt at beregne, hvor meget plasma der var fanget mellem erythrocytterne. Målingerne varierede dog fra 1,3-3,2 %, dvs. de var ret upålidelige. Coulter Electronics, der i kraft af deres patent var enerådende på markedet, valgte i 1974 at korrigere deres kontroller på MCV og dermed EVF ned med ca. 3 %. Dengang var det udbredt praksis at kalibrere på kontrollerne, så pludselig faldt EVF og MCV med 3 %, mens MCHC steg med 3 % (5). Med ICSH's nuværende referencemetode er korrektionen kun ca. 0,7 %. Fejlen på +0,7 % blev ændret til en fejl på -2,3 % ved denne overkorrektion. Selvom Coulter efter patentets udløb fik mange konkurrenter, overtog disse tilsyneladende denne fejlagtige korrektion.



FIGUR 1: Antikoagulanset K_3EDTA påvirkning på MCV's normalfordeling. Normalfordelingen omkring referenceintervallet er således, at 2,5 % af raske personer er under referenceintervallet (grøn kurve), og 2,5 % er over referenceområdet. Når der benyttes K_3EDTA, skrumper erythrocytter med 2-3 % og det ændrer fordelingen, så nu er 7 % af alle raske personer under referenceintervallet, og 0,7 % over referenceintervallet (rød kurve).

Referenceintervaller iflg. NORIP (6)		
KVANTITET	Lav	Høj
B-Hb, g/L ♀	117	153
B-Hb, g/L ♂	134	170
B-Hb, mmol/L ♀	7,3	9,5
B-Hb, mmol/L ♂	8,3	10,5
B-Ery, $*10^{12}$/L ♀	3,94	5,16
B-Ery, $*10^{12}$/L ♂	4,25	5,71
EVF ♀	0,348	0,459
EVF ♂	0,395	0,500
MCV, fL	82	98
MCH, pg	27,1	33,3
MCH, fmol	1,68	2,07
MCHC, g/L	317	357
MCHC, mmol/L	19,7	22,2
P-Natrium, mmol/L	137	144

Tilbage til nutiden

I løbet af de næsten 100 år, der er gået, siden Wintrobe præsenterede hæmatokritten, er præcisionen på hæmatologiudstyr blevet betydeligt bedre. På disse apparater måles/tælles B-Hæmoglobin, B-Erythrocytter og MCV. På basis af disse beregnes:

EVF=Ery × MCV

MCH= Hb/Ery

MCHC=Hb/(Ery × MVC)

På trods af mange års erfaring inden for hæmatologiske målinger findes der stadig fejlkilder på de målte kvantiteter. Eksempelvis målingen af B-Hæmoglobin, hvor uklarhed eller turbiditet giver falsk forhøjede værdier, da det absorberer lys. Det ses især ved lipæmiske prøver, men det kan også med nogle metoder (men ikke alle) ses ved højt leukocyttal. Dermed bliver MCH og MCHC ligeledes falsk forhøjet.

En anden fejlkilde kan være, hvis plasma indeholder kuldeagglutininer, hvor erythrocytterne klumper sammen ved stuetemperatur. Disse klumper bliver enten ikke talt med eller kun som én erythrocyt, derfor bliver erythrocyttallet for lavt. MCHC bliver oftest meget forhøjet ved kuldeagglutininer. Massiv hæmolyse vil også reducere antallet, men det ses sjældent i praksis. Ved meget højt leukocyttal kan især små lymfocytter interferere med målingen, da de forveksles med erythrocytter og dermed tælles som erythrocytter og ikke leukocytter (7).

Typen af antikoagulans kan også påvirke MCV. Erythrocytterne skrumper 2-3 %, hvis blodprøven tages i et K3EDTA- fremfor K2EDTA-stabiliseret glas (8). Herved forrykkes målingerne, så 7 % af "raske" patienter kommer under referenceintervallet, mens kun 0,7 % kommer over referenceintervallet. Hvis prøvetagningsrøret ikke fyldes tilstrækkeligt, så koncentrationen af antikoagulanset stiger, ses noget tilsvarende (9), se figur 1.

K2EDTA blev allerede i 1993 anbefalet af ICSH som antikoagulans til hæmatologiske analyser (10), så det burde for længst være indført på alle laboratorier.

Kuldeagglutininer, lipæmi og lav osmolalitet/lav P-Natrium (P-Na) kan opdages ved, at MCHC

Ønskelig analysekvalitet i forhold til biologisk variation[11]

Præcision (CV%):
½ intraindividuel variation

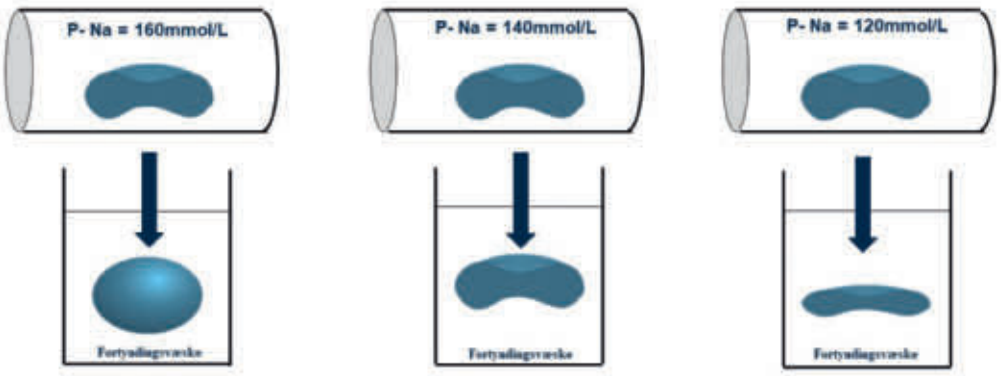
Korrekthed (Bias%):
¼ total variation

Dansk Institut for Ekstern Kvalitetssikring for laboratorier i Sundhedssektoren (DEKS)

10 gange om året udsender DEKS hæmatologikontroller til landets laboratorier. På de hæmatologiske parametre bestemmes middelværdier og spredning. På 4 af kontrollerne bestemmes desuden en korrekt og meget præcis værdi på B-Hb og EVF bestemt med referencemetoder. Disse målinger er det bedste bud på laboratoriets korrekthed.

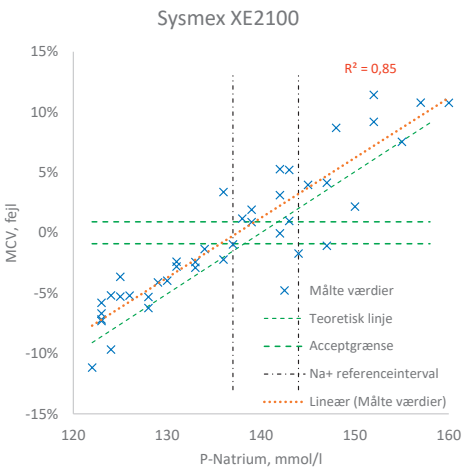
FIGUR 2: MCV´s ændring *in vitro*.

Ved fortynding af erythrocytter vil både størrelsen og volumen af erythrocytten afhænge af den extracellulære væskes osmolalitet. Hvis erythrocytter fra en patient med en høj P-Na fortyndes, vil væske trænge ind i erythrocytten og svulme op. Hvis erythrocytter fra en patient med lav P-Na fortyndes, vil væske trænge ud af erythrocytten og erythrocytten vil skrumpe. Teoretisk vil en erythrocyt fra en patient med P-Na= 160 mmol/l svulme op fra 90 fL til 99 fL og med en P-Na= 120 mmol/L skrumper erythrocytten fra 90 fL til 81 fL (13).



FIGUR 3: MCV-fejlen afhænger af P-Natrium ~ osmolaliteten.

Den målte MCV-fejl beregnes som forskellen mellem den korrekte MCV (manuelt bestemt) og den målte MCV (Sysmex XE 2100). Referenceintervallet for P-Natrium er markeret på figuren. Ønskelig kvalitet på ≤ 0,9 % ligger mellem de 2 stiplede acceptlinjer, som også er markeret på figuren. Selv når P-Natrium er inden for referenceintervallet, er der en del målinger uden for acceptområdet (n=41) (13).



bliver forhøjet. MCHC-værdier over 22,6 mmol/l skyldes faktisk altid en fejlmåling. Der er ikke en tilsvarende grænse nedadtil.

Hvor godt skal det være?

Ønskelig analysekvalitet kan fastlægges i forhold til biologisk variation. Dermed skal såvel variationen inden for personen (= intraindiviuel variation) kendes, samt populationens totale variation. Variationerne findes i European Federation of Clinical Chemistrys database (12). For MCV er total biologisk variation = 3,8 % og ønskelig bias derfor ≤ 3,8 %/4 = 0,9 % eller ca. 0,9 fL, altså et ganske strengt ønske.

Mulige fejlkilder på måling af MCV

Kalibrering:

Som beskrevet ovenfor så har flere producenter af hæmatologiudstyr tidligere leveret kalibratorer, hvor EVF var overkorrigeret for "trapped plasma". Derfor blev MCV beregnet til at være lavere, end den egentlig er. Af samme grund er de fleste referenceintervaller for MCV angivet for lavt. Vurderet ud fra DEKS-resultaterne ser det dog ud til, at denne fejlkalibrering over årene er blevet rettet.

P-Natrium/P-Osmolalitet:

En hæmatologisk automatiseret analyse starter med en fortynding af blodprøven med en isotonisk væske, som har en osmolalitet svarende til 290 mOsmol/kg eller P-Na på 140 mmol/L. Dermed opretholder erythrocytten dens oprindelige volumen, da osmolaliteten inden i erythrocytten er tilsvarende osmolaliteten uden for erythrocytten. Hvis en patients plasma har en ændret osmolalitet i forhold til fortyndingsvæsken, vil det påvirke erythrocyttens størrelse. Væske passerer erythrocyt-membranen via osmose, indtil der er ens osmolalitet på yder- og indersiden af erythrocytten, hvorved erythrocyttens volumen vil ændres. Dermed vil den målte MCV ikke afspejle patientens reelle MCV i kroppen, se figur 2 (13).

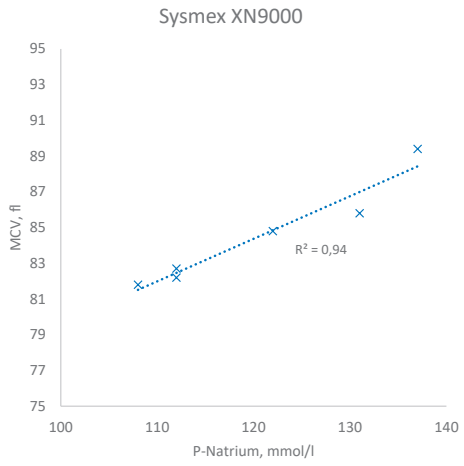
Natrium er den helt dominerende positive ion i plasma og er i almindelighed proportional med osmolaliteten. Ændringer i P-Na ændrer dermed den målte MCV. Også andre osmotisk aktive ioner, f.eks. P-Glucose og P-Carbamid kan påvirke plasmas osmolalitet og dermed resultere i forkerte målinger af MCV (14).

Hvis man vil undersøge, om ovennævnte teoretiske betragtninger også gælder i det virkelige liv, må man sammenligne en korrekt bestemt MCV med MCV-målingen på apparatet. Da den centrifugerede EVF ikke bliver fortyndet, er den uafhængig af patientens P-Na/osmolalitet. Apparaternes tælling af erythrocytter er også tilnærmelsesvis korrekt, og derfor kan man beregne en korrekt MCV: EVF/Ery. Forskellen mellem apparatets MCV-måling og den korrekte er fejlen på MCV, som det ses på figur 3. Dette eksperiment viser overordentlig god sammenhæng mellem, hvad man teoretisk kan beregne (grøn stiplet linje), og hvad der måles (rød stiplet linje) på figur 3 (13).

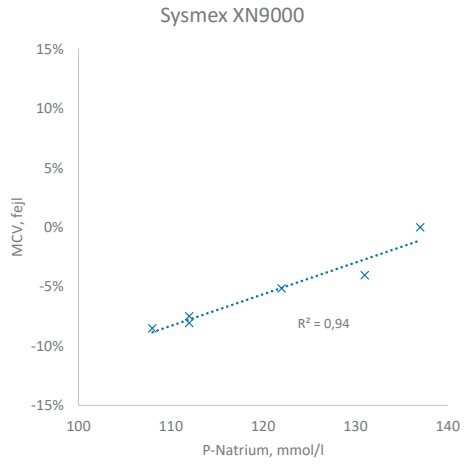
Patientcase

En patient indlægges på Hillerød Hospital med lav P-Na pga. behandling med thiazid, der virker vanddrivende, men også kan resultere i lav P-Na.

Tre uger inden indlæggelsen var patientens P-Na målt til 137 mmol/L, og MCV var 89,4 fL, begge inden for referenceintervallet og formodes at være korrekte. Ved indlæggelsen blev MCV målt til 81,8 fL (Sysmex XN9000) og P-Na var 108 mmol/l. Efter ophør med thiazid-behandling steg P-Na, og samtidig steg den målte



FIGUR 4a



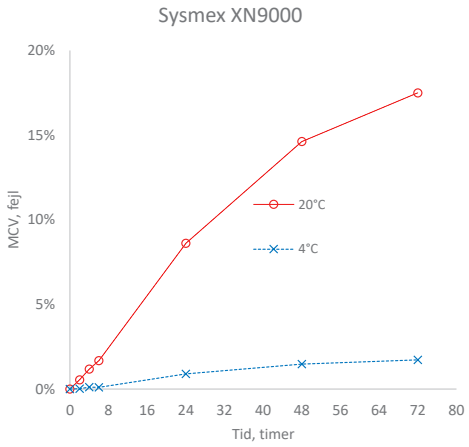
FIGUR 4b

FIGUR 4a, 4b: MCV stiger, når P-Na stiger.

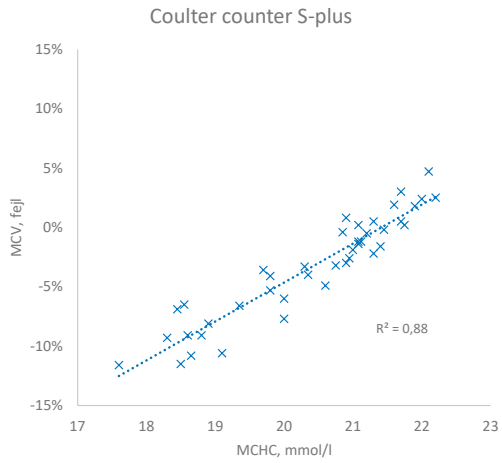
Samhørende målinger af P-Na og MCV-fejlen fra en patient under thiazid-behandling.

a) Den formodede korrekte MCV-måling (89,4 fL) er taget 3 uger inden indlæggelsen (P-Na=137 mmol/L). Fejlen på MCV er beregnet som forskellen mellem den formodede korrekte MCV-måling (89,4 fL) inden indlæggelsen og den aktuelle MCV-måling. Ved indlæggelsen var P-Na = 112 mmol/L og MCV = 82,2 fL, dermed bliver den formodede fejl 7,2 fL. MCV-målingerne blev udført på Sysmex XN9000.

b) Figuren viser den beregnede procentvise MCV-fejl.



FIGUR 5



FIGUR 6

FIGUR 5: MCV's holdbarhed.

MCV blev målt (Sysmex XN9000) efter 0, 2, 4, 6, 24, 48 og 72 timer efter blodprøvetagning på K_2EDTA-stabiliseret blod. Blodprøverne blev opbevaret ved henholdsvis 4°C (n=20) og 20°C (n=20). MCV-fejlen blev beregnet ud fra forskellen mellem målingen til tiden 0 timer og den aktuelle tid.

FIGUR 6: Lav MCHC kan påvirke MCV-målingen på hæmatologisk apparatur uden hydrodynamisk fokusering.

MCV-fejlen er beregnet som forskellen mellem den manuelle bestemte MCHC (B-Hb/EVF manuelt bestemt) og den målte MCV (Coulter CS+). Coulter CS+ har ikke hydrodynamisk fokusering (14).

MCV, se figur 4a. Den procentvise MCV-fejl ses på figur 4b.

En ændring på 1 mmol/L P-Na resulterer altså i en fejl på 0,28 fL på MCV-målingen (Sysmex XN9000), se figur 4a, hvor tidligere eksperimenter har påvist en fejl på 0,47 fL, ved en ændring i P-Na på 1 mmol/L (Sysmex 2100) (13). Dette kan tyde på, at den nye Sysmex XN9000 er bedre til at måle en mere korrekt MCV end den tidligere udgave.

Ændring af MCV ved henstand

Ved valideringen af MCV på Nordsjællands Hospital i Hillerød blev MCV målt på 20 patientprøver efter 0, 2, 4, 6, 24, 48 og 72 timer. Når patientprøven opbevares ved 4° C, forbliver MCV-målingen nogenlunde uændret, også efter 72 timer, hvor MCV-fejlen er 1,7 %. Når blodprøven opbevares ved 20°C, er MCV-fejlen allerede efter 6 timer 1,7 %, og efter 24 timer er fejlen 8,6 %, se figur 5.

Mens B-Hb og B-Ery er holdbare over lang tid, gælder det samme absolut ikke for MCV. Hvis vi anlægger førnævnte krav til manglende korrekthed på <0,9 %, vil prøverne kun være holdbare i ca. 3 timer. Det samme er også gældende for afledte kvantiteter som EVF og MCHC. MCH derimod ændrer sig ikke.

MCV-målingen påvirkes på nogle apparater af MCHC

Hæmatologisk apparatur uden hydrodynamisk fokusering, som Coulter S+ eller nutidens POCT-udstyr, kan måle MCV forkert, især ved lav MCHC. Ved lav MCHC vil erythrocyttens viskositet mindskes, og derfor bliver erythrocytten mere langstrakt, når den passerer tællehullet, så MCV måles mindre, end den reelt er. Denne fejlkilde har været kendt i mange år, og nedenstående eksempel er fra en dansk undersøgelse i Aalborg (15). Som det kan ses på figur 5, måles erythrocytterne mindre ved lav MCHC, hvilket igen påvirker beregningen af MCHC og EVF.

En patient med Polycytæmi Vera (overproduktion af erythrocytter) får målt B-Hb og B-Ery på Sysmex XN9000 og manuelt bestemt EVF, hvorefter MCV og MCHC beregnes, således at de korrekte kvantiteter er:

B-Hb	9,0 mmol/L
B-Ery	7,5 x 10^{12}/L
EVF	0,52
MCV	69,3 fL
MCHC	17,3 mmol/L

Hvis målingen foregår på en Coulter S+, vil målefejlen på MCV være -13,5 % (69,3fL-13,5 %) = 60 fL, altså 9,3fL mindre, end erythrocytten reelt er.

Den beregnede MCHC bliver dermed også fejlbehæftet

$$\left(\frac{9\ \text{mmol/L}}{7{,}5 \times 10^{12}\ \text{/L} \times 60 \times \text{fL}}\right) = 20\ \text{mmol/L}$$

hvor den reelt er 17,3 mmol/L. Tilsvarende er den beregnede EVF ($7{,}5 \times 10^{12}$/L x 60 fL) = 0,45, hvor den reelt er 0,52. Klinikerne vil på basis af EVF=0,45 vurdere, at behandlingen er tilstrækkelig, men med en reel EVF på 0,52 er denne stadig alt for høj, og patienten bør tappes yderligere for blod. Denne fejl har gennem årene antagelig medført fejlbehandling af patienter med Polycytæmi Vera.

Det skal dog anføres, at apparater, der anvender isovolumetrisk sphæring (ADVIA) eller hydrodynamisk fokusering (Sysmex m.fl.), slet ikke, eller kun i begrænset omfang, har denne fejl.

Diskussion

Hurtig og korrekt diagnosticering af anæmi er tidsbesparende og økonomisk fordelagtig både for den enkelte patient, for sundhedsvæsnet og for hele samfundet. Derfor er det vigtigt, at de målte kvantiteter, der diagnosticeres ud fra, er så korrekte som muligt. Denne artikel gennemgår mange kendte fejlkilder på målingen af MCV. Da MCV indgår i beregningen af EVF og MCHC, vil disse kvantiteter også være fejlbehæftede, hvis MCV er målt ukorrekt.

Heldigvis har påvisningen af mange fejlkilder resulteret i ændrede procedurer på laboratorierne, f.eks. benyttes K_2EDTA fremfor K_3EDTA som antikoagulans til hæmatologiske prøver.

Angående indsendte prøver fra praktiserende læger, hvor transporttiden og opbevaringen undervejs kan variere betydeligt, er transporten en betydelig fejlkilde for især MCV. Problemet kan reduceres ved at opbevare prøven ved 4°C indtil analysering. En reel løsning er at benytte MCH i stedet for MCV, da MCH beregnes ud fra B-Hb og B-Ery. Der kan selvfølgelig også være fejl på målingerne af H-Hb og B-Ery, men disse fejl er ikke så hyppige. MCH kunne derfor bruges som første indgang til anæmiudredning i stedet for MCV.

En anden MCV-fejlkilde er osmolaliteten i patientens blod. Hvis man ønsker en korrekt MCV, bør P-Na måles samtidig, og MCV-resultatet bør korrigeres til en P-Na på 140 mmol/L.

Patienter med Polycytæmi Vera behandles ud fra deres EVF, hvor målet for kvinder er EVF < 0,42 og for mænd < 0,45. I den sammenhæng er EVF en vigtig analyse, som skal bestemmes præcist og korrekt. For denne lille patientgruppe bør der udføres en manuel EVF. EVF burde altså være en specialanalyse forbeholdt disse patienter.

MCV, MCH og MCHC bruges først og fremmest til anæmiudredning. MCV og MCH følges i almindelighed ad, men som beskrevet er der mange fejlkilder på MCV. MCH er derfor efter vores opfattelse altid bedre end MCV. Til specielle anæmityper som thalassæmi, hvor der enten dannes for få α- eller β-kæder, er der ofte meget lav MCV og MCH. Her er MCH igen bedre end MCV. I den engelske screening for thalassæmi (16) er det også MCH, der bruges.

Konklusion

Konklusionen er, at målingen af MCV er fejlbehæftet, brug derfor MCH i anæmiudredningen! Både EVF og MCHC beregnes ud fra bl.a. MCV, og dermed er disse kvantiteter også behæftet med usikkerhed. MCHC tilfører ingen ny information, ud over hvad der kan ses af MCH. EVF, MCV og MCHC kunne altså godt slettes fra analyserepertoiret uden at fejldiagnosticere eller fejlbehandle af den grund, dog med det forbehold at Polycytæmi Vera-patienter kan få udført en manuel EVF. Ved at fjerne MCV, MCHC og EVF fra analyserepertoiret vil mængden af overflødig støj reduceres og dermed reducere risikoen for, at et vigtigt resultat overses. ◻

LITTERATUR:

(1) Wintrobe MM. A simple and accurate hematocrit. J Lab Clin Med 1929;15:287–9.

(2) Wintrobe MM. The volume and hemoglobin content of the red blood corpuscle: simple method of calculation, normal findings, and value of such calculations in the anemias. Am J Med Sci 1929;177: 513–23.

(3) Wintrobe MM. Classification of the anemias on the basis of differences in the size and hemoglobin content of the red corpuscles. Proc Soc Exp Biol Med 1930; 27:1071–3.

(4) International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for "Surrogate Reference" Method for the Packed Cell Volume. Laboratory Hematology, 2003; 9(1):1-9 February

(5) Bain BJ. Blood Cells a practical guide p. 16. 1. Ed. 1989. Gower Medical Publishing, London.

(6) Nordin G et al. A multicentre study of reference intervals for Haemoglobin, basic blood cell counts and erythrocyte indices in the adult population of the Nordic countries. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 2004; 64; 385-98.

(7) Zandecki M, Genevieve, J Godon A. Spurious counts and spurious results on hematology analyzers: A review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. International Journal of Laboratory Hematology. 2007, 29, 21-41

(8) Lines RW, Grace E. Choice of anticoagulants for packed cell volume and mean cell volume determination. Clin Lab Haematol, 1984; 7, 305-6

(9) Sortland IF, Sylte MS, Husøy A-M. Fyllingsgradens innvirkning på hematologiske parametre. Bioingeniøren, 6-2018: 26-31

(10) International council for standardization in haematology: Expert panel on cytometry. Recommandations of the international council for standardization in haematology for ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulant of blood for blood cell counting and sizing. AJPC, 1993; 371-2

(11) Kenny D, Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Kallner A. Strategies to set Global Analytical Quality Specifications in Laboratory Medicine – Consensus agreement. Scand J Clin Lab Invest. 1999; 59: 585

(12) https://biologicalvariation.eu/

(13) Philipsen JP, Madsen KV. Hypo- and hypernatremia results in inaccurate erythrocyte mean corpuscular volume measurement in vitro, when using Sysmex XE 2100. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 2015; 75; 588-94

(14) Strauchen JA et al. Inaccuracy in automated measurement of hematocrit and corpuscular indices in the presence of severe hyperglycaemia. Blood, 1981;57: 1065-7

(15) Arnfred T, Kristensen SD, Munck V. Coulter counter model S and model S-plus measurements of mean erythrocyte volume (MCV) are influenced by the mean erythrocyte haemoglobin concentration (MCHC). Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 1981; 41; 717-21.

(16) NHS Sickle Cell and Thalassaemia Screening Programme: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/656094/Antenatal_Laboratory_Handbook.pdf