



BIOANALYTIKER JENS KANSTRUP KJÆR  
KLINISK BIOKEMISK AFDELING, ÅRHUS SYGEHUS TAGE-HANSENS GADE.

BIOANALYTIKER HENRIK GAEDT JENSEN.  
KLINISK IMMUNOLOGISK AFDELING, HOLSTEBRO SYGEHUS.

# Kvalitets

Hvilken metode er mest optimal til kvalitetssikring af trombocyt pools på Klinisk Immunologisk Afdeling, Sygehus Viborg? Denne problemstilling var udgangspunktet i de uger i efteråret 2005, hvor vi udførte vores professionsbachelorprojekt.

Ved hjælp af en referencemetode fik vi korrigeret afdelingens nuværende apparatur til trombocyt tælling, så værdierne fremover er mere troværdige.

## Projektets baggrund

Klinisk Immunologisk Afdeling i Viborg fremstiller cirka 500 trombocyt pools hvert år. Heraf udtages der 96 prøver til kvalitetskontrol. I Klinisk Biokemisk Afdeling analyseres de 96 prøver ved hjælp af Sysmex XE-2100, som kan udføre trombocyt tælling ved henholdsvis en optisk og en impedans måling.

Førstnævnte metode måler fluorescens fra intracellulære organeller opstået ved cellefarvning, mens sidstnævnte baserer tællingen på ledningsevneprincippet.

Resultaterne fra kvalitetskontrolmålingerne på de to metoder har i nogle år varieret indbyrdes, og producenten af Sysmex besluttede, at impedans resultatet ville være mest korrekt at anvende. Se figur 1. Dette resultat har imidlertid også været det laveste af de to målinger, men blev valgt, fordi der var en mistanke om overestimering ved den optiske måling, da suspensionsvæsken i trombocyt poolen, ifølge Sysmex, kan have fluorescerende effekt.

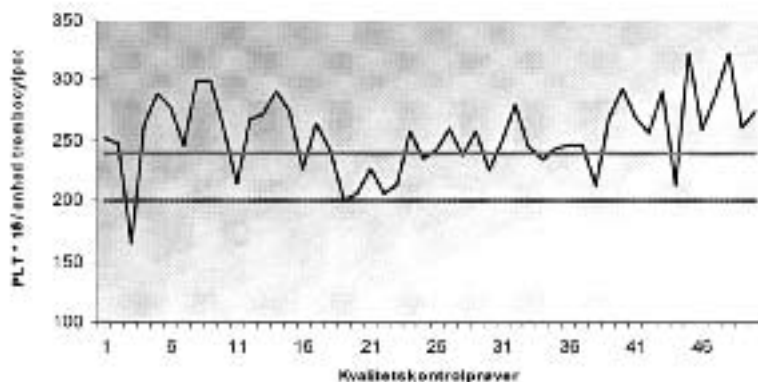
Afdelingen har imidlertid aldrig fået undersøgt problemet omkring de varierende resultater fra Sysmex XE-2100 til bunds og hermed klarlagt, hvilken af de to metoder, som måler mest kor-

rekt med henblik på trombocyt tælling i trombocyt pools.

## Valg af metode

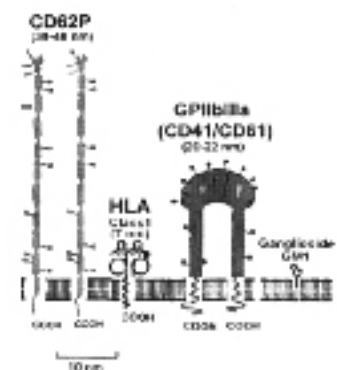
For at afklare om den optiske måling eller impedansmålingen på Sysmex XE-2100 er mest korrekt, valgte vi at foretage en metodesammenligning mellem Sysmex XE-2100 og en referencemetode. Hertil benyttede vi et flowcytometer på Immunologisk Afdeling, Skejby Sygehus. Dette apparatur, BD FACSCalibur, benytter antigen-antistof reaktioner til at markere overfladereceptorer og herefter tælle trombocytterne ved hjælp af fluorescens og flowcytometri. Dette er en anerkendt referencemetode ifølge flere artikler og vil komme så tæt på den sande værdi af trombocytter i en trombocyt pool som muligt, da både aktiverede og inaktive

FIGUR 1



Kvalitetskontrol af trombocyt pools på KIA Viborg 2004. Målt med impedans kanalen på Sysmex XE-2100. Nedre acceptgrænse:  $240 \times 10^9$  trc/portion. Kassationsgrænse:  $200 \times 10^9$  trc/portion.

FIGUR 2



Celleoverflade på trombocyt. Viser blandt andet glykoproteinkomplekset GPIIb/IIIa (mf. th.), som blev anvendt i forsøget.

# Sikring af trombocyt-pools

- Et professionsbachelorprojekt udført på Klinisk Immunologisk Afdeling, Sygehus Viborg.

trombocytter detekteres. Samtidig er ulempen omkring autofluorescerende stoffer fra suspensionsvæsken fjernet, da flowcytometeret i samarbejde med et databehandlingsprogram opdeler fluorescens signaler. Hermed bliver signaler fra trombocytten registreret for sig selv.

Resultatet fra referencemetoden vil derfor kunne fastslå, hvilken af de to metoder hos Sysmex XE-2100, som måler mest korrekt. Herefter vil der være mulighed for at indføre en korrektionsfaktor.

## Udførelsen

Trombocyt-pools er forholdsvis dyre at fremstille, så det og en tidsmæssig begrænsning gjorde, at vi i alt fik fremstillet 34. Herfra blev udtaget prøver, som først blev analyseret på Sysmex XE-

2100, med både impedans og optisk metode. Senere blev prøverne analyseret på BD FACSCalibur i Skejby.

Med hjælp fra firmaet Becton Dickinson fik vi sponsoreret "Plasma Count kit" til BD FACSCalibur. Analysekittet indeholder fluorescensmærkede antistoffer rettet mod antigenet CD41a, et glykoproteinkompleks, hvis funktion er at indgå i aggregationen og blandt andet binde fibrinogen. Se figur 2.

Ulempen ved metoden er, at den er beregnet til plasma, ikke trombocyt-pools. Så der skulle foretages en fortynding på en faktor 1:100, inden vores prøver kunne analyseres, da koncentrationen af trombocytter i trombocyt-pools er langt højere end i plasmaprøver. Fortyndingsfaktoren blev for alle prøverne tjekket på Sysmex XE-2100.

Resultaterne fra BD FACSCalibur blev

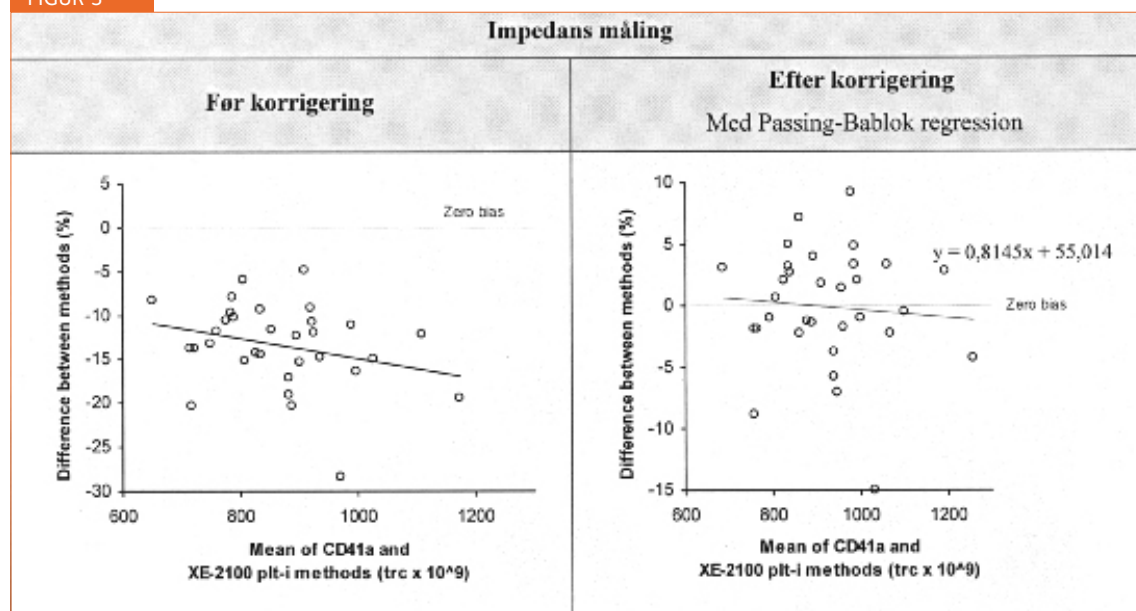
behandlet i WinMDI, som udregnede det observerede antal trombocytter i hver prøve. Herefter var det muligt at begynde den statistiske metodesammenligning.

## Resultatet

Resultatet viste, i modsætning til Sysmex' påstand, at den optiske måling er mest korrekt til trombocyt-tælling i trombocyt-pools. Figur 3 og 4 viser Altman-Bland blot med de to metoder før og efter korrigering med Passing-Bablok regression. Denne type regression benyttes ofte i forbindelse med metodesammenligninger.

Her ser man tydeligt, at impedans målingen underestimerer med cirka 15%, mens den optiske måling er meget tæt på referencemetoden.

FIGUR 3



Korrigering af impedans måling på Sysmex XE-2100. Viser, at denne metode underestimerer afdelingens resultater med cirka 15 %.



## Konklusionen

Konklusionen af de ni ugers arbejde blev, at afdelingen fremover anbefales at benytte den optiske måling. Dette betyder samtidig, at deres kvalitetskontrolresultat forbedres signifikant. I alt med cirka 15 %.

Efter projektets afslutning besluttede både Klinisk Immunologisk og Klinisk Biokemisk Afdeling på Sygehus Viborg, at resultatet fra den optiske måling fremover skal afleveres som kvalitetskontrolresultatet for trombocytallet i trombocyt pools.

## Kvalitetssikring på landsplan

I forbindelse med projektet oplevede vi stor interesse fra andre Klinisk Immunologiske Afdelinger. Flere oplever nemlig samme problem som i Viborg.

På den baggrund har vi i projektet opfordret afdelingerne til at få foretaget korrigerende af deres analyseapparat til trombocyt tælling med en lignende fremgangsmåde, som den vi har benyttet.

Vi har i januar måned taget kontakt til DEKS, som står for eksternt kvalitetssikring på laboratorier i sundhedssektoren. De har på nuværende tidspunkt ikke noget eksternt kvalitetssikringsprogram til målinger af trombocyt pools. Men de vil i sommeren 2006 igangsætte et pilotprojekt, omtalt i februarudgaven af "DEKS informerer", hvor blandt andet trombocytindholdet tælles.

Vi mener, at indførelsen af både korrigerende og den eksterne kvalitetskontrol vil give en ny og mere optimeret kvalitetssikring af trombocyt pools på landsplan. ■

## TROMBOCYTPOOLS

Trombocyt pools er et koncentrat fremstillet af fire portioner donorblod med samme ABO type. Efter centrifugering og fraktionering er portionerne opdelt i tre poser, hvoraf den ene, buffycoat, benyttes til trombocyt pools. De to andre indeholder erythrocytter og plasma.

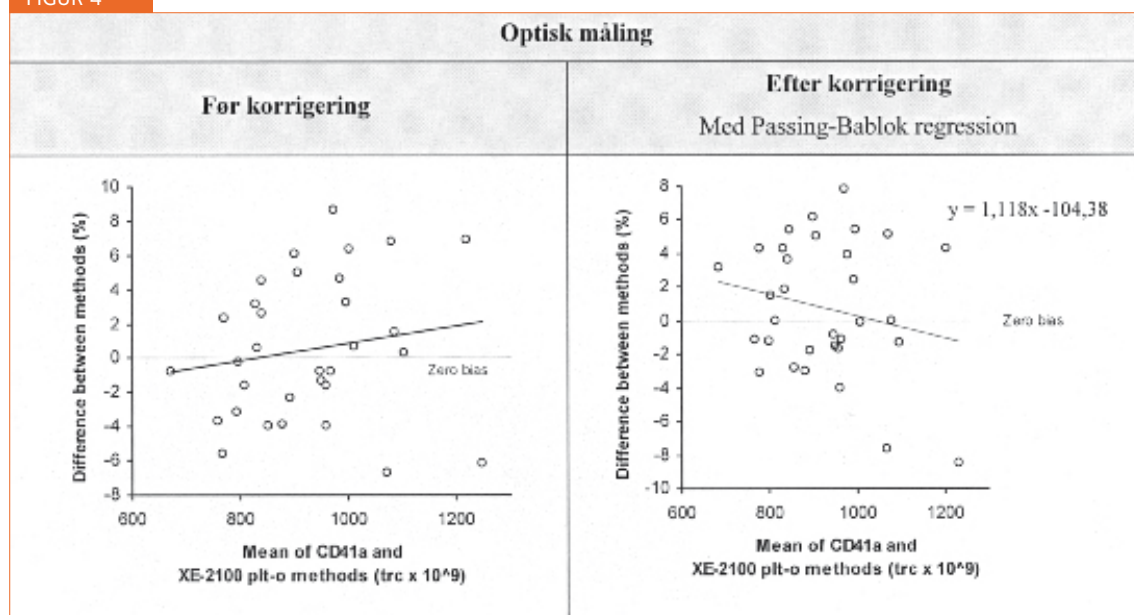
Fire portioner pools og tilsættes suspensionsvæske, ofte T-SOL, hvorefter der centrifugeres igen. Herefter foregår den sluttelige "høst" af trombocytter, og trombocyt poolen opbevares herefter i inkubator i op til syv døgn.

## KLINISK BRUG

Trombocyt pools gives blandt andet ved trombocytopeni med trombocytaltal under  $20 \times 10^9/l$ . Dette kan skyldes nedsat produktion eller øget forbrug på grund af sygdom. Kan også opstå som følge af trombocyt tab i forbindelse med massiv blødning, hvor blodvolumen er erstattet med erythrocytprodukter.

Da Trombocyt pools er et lægemiddel og derfor underlagt kvalitetskrav, er det vigtigt at trombocyt tællingerne er præcise.

FIGUR 4



Korrigerende af optisk måling på Sysmex XE-2100. Viser, at denne metode måler tæt på referencemetoden og dermed er mest optimal at anvende.