

Masteroppgave

Masterstudium i biomedisin

Mai 2021

Klinisk betydning av automatisk varsling av blaster på
hematologiinstrument

Helene Moe Skreosen
Kandidatnummer: 509

MABIO5900

60 studiepoeng

Fakultet for helsevitenskap, Institutt for naturvitenskapelige helsefag

Masterstudium i biomedisin

Masteroppgave, 60 studiepoeng

Tittel:

**Klinisk betydning av automatisk varsling av blaster på
hematologiinstrument**

Navn:

Helene Moe Skreosen

Veiledere:

**Erik Koldberg Amundsen, Heidi Eilertsen og Runa Marie
Grimholt**

Utført ved:

Klinikk for laboratoriemedisin, Avdeling for medisinsk biokjemi,
Oslo universitetssykehus, Ullevål

Fakultet for Helsevitenskap, Institutt for naturvitenskapelige helsefag
OsloMet- storbyuniversitet



Forord

Denne masteroppgaven ble utført ved avdeling for medisinsk biokjemi, Oslo universitetssykehus, Ullevål fra august 2020 til juni 2021 med Erik Koldberg Amundsen som hovedveileder og Heidi Eilertsen og Runa Marie Grimholt som biveiledere.

Først en takk til Erik Koldberg Amundsen, Anne Cecilie Kjeldsen Larstorp og Kristin Wickstrøm for at dere har gitt meg mulighet til å gjennomføre dette prosjektet. Dere har gitt meg god opplæring og faglig innsikt i et spennende tema. Dere har alle tre bidratt på hver deres uvurderlige måte. Takk til Anne Cecilie Kjeldsen Larstorp og Kristin Wickstrøm for faglige innspill og gode diskusjoner. Ikke minst takk for deres positive nærvær i en ellers krevende tid.

En stor takk til min hovedveileder Erik Koldberg Amundsen som har hjulpet meg gjennom dette året. Du har besvart alle mine spørsmål, både gode og mindre gode, med god tålmodighet. Takk for alle faglige innspill, hjelpsomme tilbakemeldinger og støtte. Takk til biveiledere Runa Marie Grimholt og Heidi Eilertsen for gode tilbakemeldinger og faglig hjelp.

Takk til Mari Martinussen for hjelp med programmering og beregning av anbefalingene.

Takk til alle ansatte ved enhet for hematologi, Ullevål, for all hjelp. Dere har besvart alle mine mulige spørsmål og hjulpet meg med alt jeg måtte trenge til nesten alle mulige døgnets tider. Dere har latt meg benytte både instrument og areal til å gjennomføre laboratoriearbeidet, noe jeg er meget takknemlig for.

En siste takk til familie og venner for støtte og oppmuntring gjennom et år fullt av både oppturer og nedtur.

Helene Moe Skreosen

Oslo, 18.mai 2021

Sammendrag

Bakgrunn og formål

Blaster er umodne blodceller som vanligvis finnes i beinmargen, men som ved ulike sykdommer og tilstander kan finnes i perifert blod, for eksempel leukemier. Ved differensialtelling av leukocytter på hematologiinstrumenter flagger noen ganger instrumentene om mulig tilstedeværelse av blaster i prøven. Flagget er basert på at en terskelverdi for en såkalt Q verdi er overskredet. I denne oppgaven har vi sett på den kliniske nytteverdien av slike flagg ved varsel om blaster.

Materialer og metoder

Blodprøver fra pasienter behandlet ved Oslo universitetssykehus (OUS) ble samlet inn fra Sysmex XN instrumenter. Voksne ≥ 18 år med Q verdi ≥ 100 på «Blasts/Abn Lympho?» flagget fra White blood cell differentiation (WDF) kanalen på Sysmex ble vurdert for inklusjon. Pasienter tilhørende rekvirenter fra avdeling for blodsykdommer og eksterne rekvirenter ble ekskludert. Alle blodprøvene ble reanalysert på White precursor cell (WPC) kanalen for å tilegne informasjon om flaggene «Blasts?» og «Abn Lympho?». Blodutstryk ble laget manuelt og med HemaPrep[®] for å undersøke tilstedeværelse av blaster i perifert blod med CellaVision[®] DC-1. Oppslag i journal ble gjort for blodutstryk med funn av blaster og blodutstryk som kunne gi mistanke om annen hematologisk sykdom uten påviste blaster for å undersøke den kliniske betydningen av funnene. Blodprøvene ble også vurdert ut ifra referanseintervallet for hemoglobin, trombocytter og leukocytter i et såkalt «aksesystem». Dessuten ble det undersøkt hvor mange blodutstryk vi potensielt ville laget dersom vi hadde etterlevd internasjonale (ISLH) og nasjonale (Noklus) anbefalinger for oppfølging av varsler for alle de hematologiske cellerekkene.

Resultater

328 pasienter ble inkludert i studien fra september 2020 til desember 2020. 12,5 % hadde funn av blaster i blodutstryk og 8,5 % hadde mistanke om annen hematologisk sykdom uten påviste blaster. Ingen blodutstryk hadde mer enn 1,5 % blaster. WPC kanalen, preklassifiseringen på CellaVision[®] DC-1 og «aksesystemet» hadde alle lav sensitivitet for deteksjon av blaster. Etter oppslag i journal viste det seg at kun to pasienter hadde nyoppstått hematologisk sykdom eller progresjon av hematologisk sykdom. For 53 prøver kunne man ikke dokumentere noen nyoppstått eller forverret hematologisk sykdom, men det ble vurdert som

usannsynlig. Disse vil bli fulgt opp på seks måneder etter inkludering. Vi fant at implementering av alle anbefalingene fra henholdsvis ISLH og Noklus ville resultert i vurdering av blodutstryk for 5,6 % og 3,0 % av prøvene ved vårt laboratorium.

Konklusjon

For de 328 pasientene ble det ikke avdekket funn i blodutstryk som fikk noen betydning for pasientforløpet. Dette vil imidlertid bli undersøkt videre etter seks måneders oppfølging og vi kan derfor ikke utelukke at oppfølging av flagg som varsler om blaster for sykehuspasienter kan ha nytteverdi.

Abstract

Background

Blast cells are immature cells that usually exists in the bone marrow, but in different diseases and conditions, such as leukemia, they can exists in peripheral blood. While performing a white blood cell differential count, automated haematology analyzers can sometimes generate flags in the possible presence of blasts cells. Haematology analyzers generate flags when the threshold values for a so-called Q-value exceeds. In this thesis we have investigated the clinical significance of haematology instrument blast flags.

Materials and methods

Blood samples from patients treated at Oslo University Hospital were collected from Sysmex XN haematology analyzers. Adults ≥ 18 years with Q-value ≥ 100 on the “Blasts/Abn Lympho?” flag from the White Blood Cell Differentiation (WDF) channel were considered for inclusion in this study. Blood samples requested from the haematological department and external requesting clinics were excluded. Blood samples included in this study were reanalyzed on the White Precursor Cell (WPC) channel to receive information about “Blasts?” and “Abn Lympho?” flags. Blood smears were made manually and with HemaPrep[®] to investigate the presence of blast cells in peripheral blood with CellaVision[®] DC-1. Journals from patients with blood smears that had findings of blasts cells – or other findings of possible other haematological diseases – were examined to determine clinical significance. Reference intervals for hemoglobin, thrombocytes and erythrocytes were taken into consideration for all blood samples. Furthermore, we investigated how many blood smears our laboratory would be able to make if we followed international (ISLH) and national (Noklus) guidelines for reviewing complete blood counts and differential counts from automated haematology analyzers.

Results

328 patients were included in this study from September 2020 to December 2020. 12,5% of the patients had blast cells in their blood smear and 8,5% of the patients had suspicions of other haematological diseases. No samples contained more than 1,5 % blast cells. WPC channel, preclassification on CellaVision[®] DC-1 and the “axis system” all had low sensitivity for detection of blast cells. Upon examination of the journals, only two patients had findings that could indicate a clinical significance. For 53 samples no haematological disease could be

found, however these will be re-investigated after six months. We found that the use of guidelines from ISLH and Noklus would result in a blood smear review for 5,6% and 3,0% of the samples in our laboratory.

Conclusions

For the 328 patients we did not expose any findings in the blood smears that had any significant effect for the patient course. However, these patients will be investigated further after six months, and so we cannot rule out the possibility of blast flags having any utility value for hospital patients.

Forkortelser

ALL	Akutt lymfatisk leukemi
AML	Akutt myelogen leukemi
BFI	Bioingeniørfaglig institutt
CBC	Complete blood count (Fullstendig blodtelling)
CSV	Comma-separated values (kommadelte filer)
EDTA	Etylendiamintetraacetat
FSC	Forward scatter (Lys som spres fremover)
GFHC	Groupe francophone d'hématologie cellulaire (French-speaking Cellular Haematology Group)
HGB	Hemoglobin
ISLH	International Society for Laboratory Hematology
KLL	Kronisk lymfatisk leukemi
KML	Kronisk myelogen leukemi
MBK	Avdeling for medisinsk biokjemi
MCV	Mean corpuscular volume
MGG	May-Grünwald-Giemsa
MS	Multippel sklerose
NK-celle	Naturlig drepecelle
Noklus	Norsk kvalitetsforbedring av laboratorieundersøkelser
NPR	Norsk pasientregister
NRBC	Kjerneholdige erytrocytter
NSMB	Norsk selskap for medisinsk biokjemi
OUS	Oslo universitetssykehus
PLT	Trombocytter
RBC	Erytrocytter
RDW	Red cell distribution width
REK	Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk
RNA	Ribonukleinsyre
SFL	Side fluorescence light (Fluorescens)
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSC	Side scatter (Lys som spres til siden)
WBC	Totalt antall leukocytter
WDF	White blood cell differentiation
WHO	World Health Organization (Verdens helseorganisasjon)
WNR	White nucleated red cell
WPC	White precursor cell
µm	Mikrometer

Innholdsfortegnelse

Forord	I
Sammendrag	II
Abstract	IV
Forkortelser	VI
Innholdsfortegnelse	VII
1. Innledning	1
1.1 Hematopoiesen, fra stamcelle til moden blodcelle	1
1.2 Leukocytter	2
1.2.1 Granulocytter	2
1.2.2 Monocytter	5
1.2.3 Lymfocytter	6
1.2.4 Blaster.....	6
1.3 Leukemi, hematologiske sykdommer og tilstander med funn av blaster	7
1.3.1 De vanligste akutte og kroniske leukemiene	7
1.3.2 Andre hematologiske sykdommer og tilstander hvor blaster kan forekomme	9
1.4 Analysering av leukocytter på Sysmex XN-instrument	9
1.4.1 Analyseprinsipp.....	9
1.4.2 IP-meldinger og Q verdi fra Sysmex XN	11
1.5 Blodutstryk	12
1.6 Automatisk mikroskopi av leukocytter med CellaVision® DC-1.....	13
1.7 Bruk av hemoglobin, leukocytter og trombocytter i et «aksesystem»	15
1.8 Internasjonale og nasjonale anbefalinger for når prøver skal oppfølges med blodutstryk	15
2. Formålet med studien	17
3. Materialer og metoder	18
3.1 Inklusjon av pasienter	18
3.2 Laging, farging og kvalitetskontroll av blodutstryk.....	18
3.2.1 Semi-automatisk og manuell laging av blodutstryk	18
3.2.2 Farging av blodutstryk.....	19
3.2.3 Kvalitetskontroll av blodutstryk	19
3.3 Analyse på CellaVision® DC-1	19
3.3.1 Kvalitetskontroll	19
3.3.2 Analysering av blodutstryk og preklassifisering av blodceller	20
3.3.3 Reklassifisering av blodceller og kategorisering av blodutstryk	20
3.4 Vurdering av klinisk betydning	22
3.5 Vurdering av «aksesystemet»	22
3.6 Beregning av totalt antall blodutstryk laget på bakgrunn av anbefalinger	23
3.7 Statistikk	26
3.8 Etske perspektiver.....	26

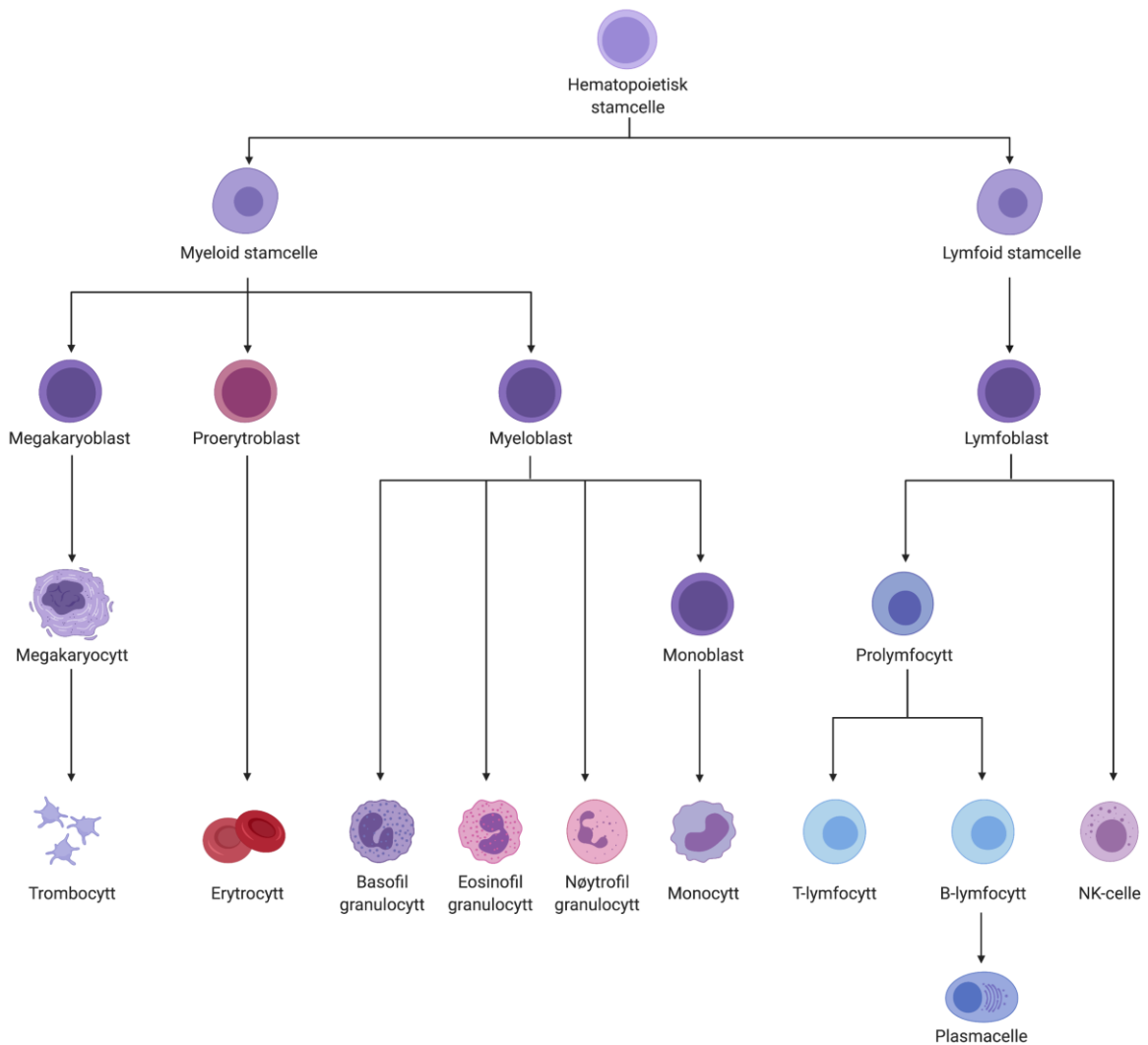
4. Resultater	28
4.1 Beskrivelse av pasientpopulasjonen og karakterisering av prøver i blodutstryk	28
4.2 Funn etter oppslag i journal og diagnoser for pasienter med klinisk betydning	34
4.3 Metoder for å redusere antall unødvendige blodutstryk som må vurderes	36
4.3.1 WPC kanal gruppert for kategorier av funn i blodutstryk	36
4.3.2 Preklassifisering av blaster med CellaVision® DC-1	38
4.3.3 Bruk av resultater for leukocytter, hemoglobin og trombocytter til å vurdere laging av blodutstryk..	39
4.4 Hvor mange blodutstryk ville blitt laget ved rutinedriften dersom man fulgte internasjonale og nasjonale anbefalinger?	40
5. Diskusjon	43
5.1 Har funn av blaster i blodutstryk klinisk nytteverdi?.....	43
5.2 Metoder for å effektivisere utvalget av prøver som vurderes med blodutstryk	46
5.3 Internasjonale og nasjonale anbefalinger i rutinedrift.....	49
5.4 Styrker og svakheter	51
5.4.1 Inkludering av blodprøver	51
5.4.2 Laging av blodutstryk.....	52
5.4.3 Vurdering av funn i blodutstryk	53
5.4.4 Ingen varsling til rekvirent om funn av blaster i blodutstryk.....	54
5.4.5 Oppslag i journal	55
6. Konklusjon	56
7. Videre studier	57
8. Litteraturliste	59
Vedlegg	
Vedlegg 1- Godkjenning fra Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK).....	
Vedlegg 2- Godkjenning fra personvernombudet ved Oslo universitetssykehus	
Vedlegg 3- Reagenser og bruksløsninger til May-Grünwald-Giemsa fargemetode	

1. Innledning

1.1 Hematopoiesen, fra stamcelle til moden blodcelle

Hematopoiesen, som skjer i beinmargen, er utvikling av en hematopoietisk multipotent stamcelle til differensierte blodceller. Hematopoietiske stamceller har en unik mulighet til å utvikle seg og differensiere til alle typer blodceller (figur 1). De mest umodne blodcellene, etter stamcellene, kalles blaster og det finnes ulike typer blaster i hver cellerekke. En hematopoietisk stamcelle kan utvikle seg i to ulike cellerrekker, den myeloide eller lymfoide cellerrekken. Den myeloide stamcellen gir opphav til trombocytter, erytrocytter og leukocytter herunder basofile-, eosinofile- og nøytrofile granulocytter og monocytter. Den lymfoide stamcellen gir opphav til lymfocytter, både B- og T-lymfocytter og naturlig drepercelle (NK-celle). B-lymfocytter gir videre opphav til plasmaceller.

De hematopoietiske stamcellene har sitt opphav i beinmargen hvor blaster og andre umodne celler differensieres til modne trombocytter, erytrocytter og leukocytter, før de frigjøres ut i blodbanen. Granulocytter og monocytter frigjøres ut i blodbanen, hvor de befinner seg i fire til åtte timer før de vandrer ut i vevene (1). Lymfocytter og NK-celler frigjøres ut i blodbanen hvor de kun befinner seg i noen timer før de vandrer ut i vev, og deretter sirkulerer lymfocytter kontinuerlig mellom vev og blodbanen (1).



Figur 1: Hematopoiesen. Utviklingen fra av en hematopoietisk stamcelle til umodne blodceller og videre til modne differensierte blodceller. NK-celle= naturlig drepecelle. Utformet med BioRender.com

1.2 Leukocytter

Leukocytter, også kalt hvite blodceller, er en del av kroppens immunsystem som bekjemper infeksjoner og andre sykdommer. Leukocytter har et referanseområde på $3,5 - 8,8 \times 10^9/L$ i normalt perifert blod hos voksne (2). Det finnes fem ulike typer leukocytter: tre typer granulocytter, monocytter og lymfocytter, som alle har ulike oppgaver og spesialiteter.

1.2.1 Granulocytter

Det finnes tre typer granulocytter, nøytrofile-, basofile- og eosinofile granulocytter.

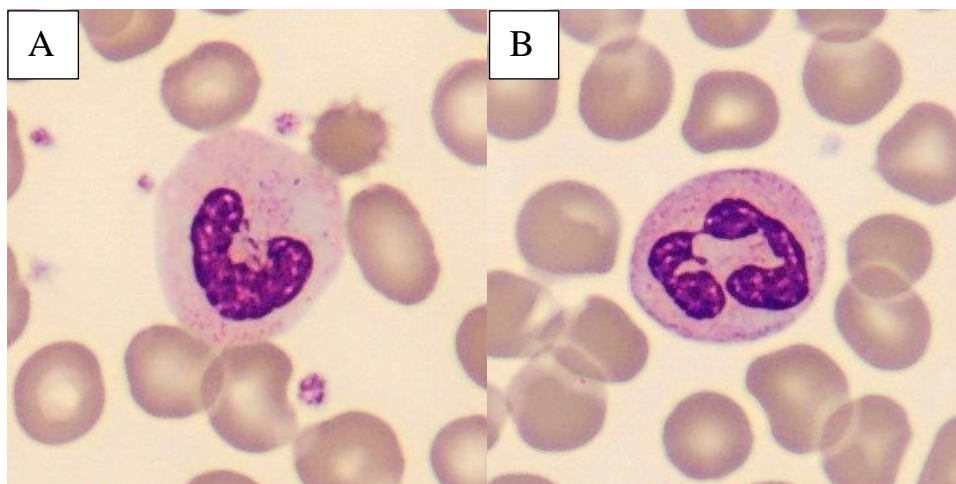
Karakteristisk for granulocytter er at de inneholder granula som gir cytoplasma et

kornet/granulært utseende når cellene farges. Granula farges forskjellig i de tre ulike typene granulocytter som er et viktig kjennetegn (3, 4)

Nøytrofile granulocytter

Nøytrofile granulocytter utgjør omtrent 40-80 %, og har referanseområdet $1,6 - 5,9 \times 10^9/L$ i normalt perifert blod. Nøytrofile granulocytter er svært viktig i kroppens immunforsvar mot infeksjoner, hovedsakelig bakterielle (2, 4, 5). Størrelsen til nøytrofile granulocytter kan variere fra 12-15 mikrometer (μm) og cellekjernen opptar omtrent 1/4 av cellevolumet (4). Cellekjernen er sterkt kondensert med grovt kromatin og cytoplasma har en rødlig farge med rosa granula.

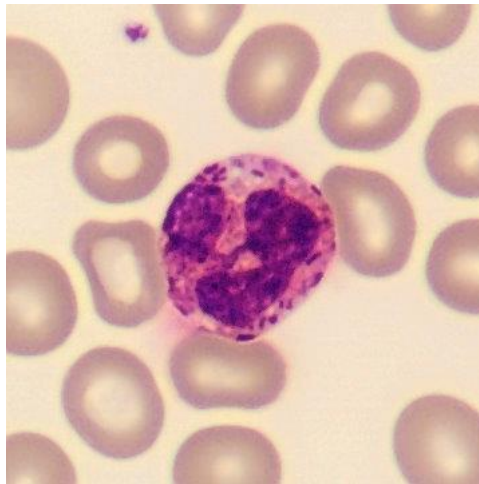
Det finnes to ulike typer nøytrofile granulocytter, stavkjernede og segmenterte. Stavkjernede nøytrofile granulocytter (figur 2A) er forstadiet til den modne segmenterte nøytrofile granulocytten (figur 2B). Stavkjernede granulocytter har en stavformet cellekerne og er <6 % av andelen nøytrofile granulocytter i normalt perifert blod (5). Cellekjernen i en segmentert granulocyt er delt i flere ulike segmenter og dominerer gruppen av nøytrofile granulocytter. Økt antall nøytrofile granulocytter kan finnes ved inflammasjon og infeksjon, myeloproliferative sykdommer og maligne sykdommer (3). Redusert antall nøytrofile granulocytter kan finnes ved kjemoterapi, manglende immunforsvar, medfødt nøytropeni og megaloblastær anemi (4, 6).



Figur 2: Nøytrofile granulocytter. (A) Stavkjernet nøytrofil granulocyt. (B) Segmentert nøytrofil granulocyt. Bilde fra pasientprøve inkludert i studien med CellaVision® DC-1.

Basofile granulocytter

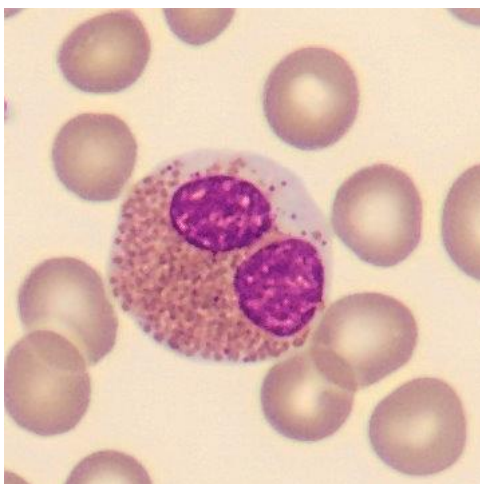
Basofile granulocytter utgjør omtrent <1-2 %, og har referanseområdet $0,1 \times 10^9/L$ i normalt perifert blod. Basofile granulocytter spiller en viktig rolle ved allergi- og betennelsesreaksjoner (2, 5). Størrelsen til basofile granulocytter kan variere fra 10-14 μm (figur 3) (4). Cellekjernen med kondensert kromatin er ofte delt i to segmenter og cytoplasma karakteriseres av mørkfargede lilla granula. Basofile granulocytter kan finnes i økt mengde ved kronisk myelogen leukemi (KML) (7).



Figur 3: Basofil granulocyt. Bilde tatt fra pasientprøve inkludert i studien med CellaVision® DC-1.

Eosinofile granulocytter

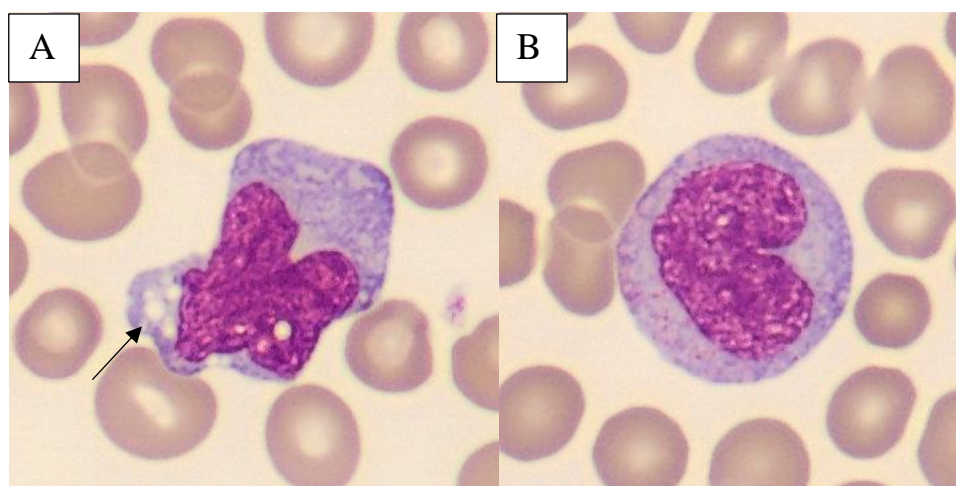
Eosinofile granulocytter utgjør omtrent 1-6 %, og har referanseområdet $0,5 \times 10^9/L$ i normalt perifert blod. Eosinofile granulocytter spiller en viktig rolle ved allergiske reaksjoner og parasittinfeksjoner (2, 5). Størrelsen til eosinofile granulocytter varierer fra 12-17 μm (figur 4) (4). Cellekjernen er kondensert med grovt kromatin og er delt i to eller flere segmenter, og cytoplasma karakteriseres av relativt store, rød/oransje granula. Et økt antall eosinofile granulocytter kan finnes ved allergier, parasittinfeksjoner, benigne og maligne tilstander, blant annet KML (6, 8, 9).



Figur 4: Eosinofil granulocyt. Bilde tatt fra pasientprøve inkludert i studien med CellaVision® DC-1.

1.2.2 Monocytter

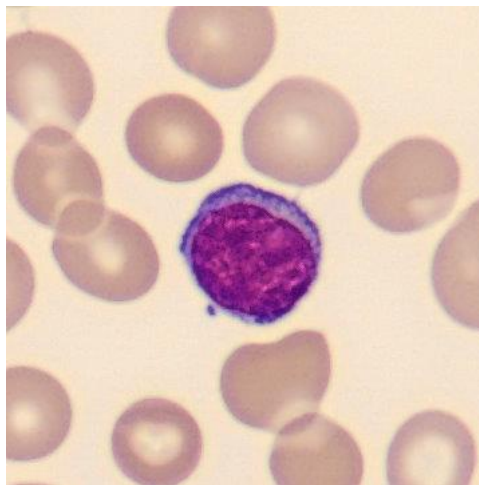
Monocytter utgjør omtrent 2-10 %, og har referanseområdet $0,2 - 0,8 \times 10^9/L$ i normalt perifert blod. Monocytter spiller en viktig rolle ved bekjempelsen av bakterielle infeksjoner (2, 4, 5). Med en størrelse på 12-20 μm , er monocyttene en av de største modne blodcellene i perifert blod (figur 5). Cellekjernen har grovt kromatin med en irregulær form, ofte nyreformet (figur 5B). Cytoplasma er lys blått/grått og inneholder en fin, ofte svak, granulering (figur 5B). Vakuolisering kan også forekomme (figur 5A) (4). Økt antall monocytter kan finnes ved infeksjoner og ulike typer leukemier i monocyttrekken (5). Nedsatt antall monocytter kan finnes ved kortikosteroid behandling og kjemoterapi (10).



Figur 5: Monocytter. (A) Monocytt. Den sorte pilen viser vakuoler. (B) Monocytt. Legg merke til nyreformet kjerne og svak granulering i cytoplasma. Bilde tatt fra pasientprøve inkludert i studien med CellaVision® DC-1.

1.2.3 Lymfocytter

Lymfocytter utgjør omtrent 20-40 %, og har referanseområdet $1,1 - 3,5 \times 10^9/L$ i normalt perifert blod. Lymfocytter er viktige ved virale- og bakterielle infeksjoner, men også infeksjoner med andre mikroorganismer (figur 6) (2, 5). Størrelsen til lymfocytter varierer fra 10-16 μm og cellekjernen er rund og eksentrisk med kondensert kromatin (4). Cytoplasma har en svak blålig farge og noen granula kan forekomme (4). Økt antall lymfocytter kan finnes ved ulike infeksjoner, kronisk lymfatisk leukemi (KLL) og noen få andre typer leukemi. Nedsatt antall lymfocytter kan finnes ved manglende/reduisert immunforsvar (3).

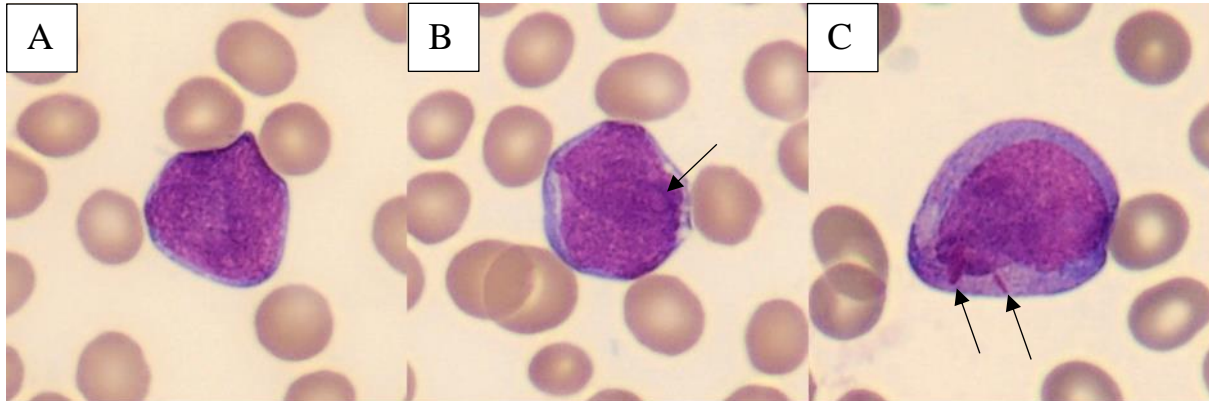


Figur 6: Lymfocytt. Bilde tatt fra pasientprøve inkludert i studien med CellaVision® DC-1.

1.2.4 Blaster

Blastceller, også kalt blaster, er umodne blodceller som differensieres til modne blodceller (figur 7). Det finnes ulike blaster i hver cellerekke for leukocytene (figur 1). Størrelsen er karakteristisk for blastene. De er generelt større enn de modne cellene de er forløpere til, selv om størrelsesforholdet kan variere (11). Myeloblaster og monoblaster har en størrelse på 12-20 μm , mens lymfoblaster kan ha noe mer varierende størrelse, omkring 10-20 μm (4, 5). Til sammenligning er normale, modne lymfocytter 10-16 μm (4). Kjerne/cytoplasma ratio, som betegner kjernens andel av cellevolumet, er høy (figur 7A). Når blodcellene modnes, avtar kjerne/cytoplasma ratioen. Modne lymfocytter har også høy kjerne/cytoplasma ratio og det kan i noen tilfeller være vanskelig å skille disse fra blaster (11). Cellekjernen har fint kromatin, og er et karakteristisk kjennetegn for blaster. For noen pasienter med leukemi kan granula eller vakuoler forekomme i cytoplasma til myeloblastene (12). Funn av blå/røde granula (azurofile korn) eller auerstaver kan skille myeloblaster fra lymfoblaster (figur 7C) (11). Blaster inneholder ofte nukleoler, men er ikke spesifikke for blaster (figur 7B).

Nukleoler er ansamlinger av ribonukleinsyre (RNA) i cellekjernen. RNA inngår i proteinsyntesen, det vil si at celler med en kraftig proteinsyntese, som blaster, får kraftig blått cytoplasma og nukleoler (5, 6, 13).



Figur 7: Tre ulike blaster. (A) Blast. Legg merke til meget høy kjerne/cytoplasma ratio. (B) Blast. Den sorte pilen viser nukleol. (C) Stor myeloblast. De sorte pilene viser auerstaver. Bilde tatt fra pasientprøver inkludert i studien og rutineprøver ved avdeling for medisinsk biokjemi, Oslo universitetssykehus, Ullevål, med CellaVision® DC-1.

Funn av blaster og andre umodne blodceller i perifert blod kan være tegn på patologi (14, 15). Funn av hele cellerekken, altså en betydelig modningsgrad, tyder på regenerativ tilstand, mens et mer umodnet bilde, dominert av blaster tyder på malign eller benign tilstand (4, 16). Blaster finnes sjeldent i perifert blod hos friske mennesker. En studie kom frem til at 0,11 % av lymfocytene og monocytene blant friske mennesker var sirkulerende blaster (16).

1.3 Leukemi, hematologiske sykdommer og tilstander med funn av blaster

Blaster i perifert blod finnes vanligvis ved ulike leukemier, men kan også opptre ved hematologiske sykdommer og andre tilstander.

1.3.1 De vanligste akutte og kroniske leukemiene

Leukemi, blodkreft, er ukontrollert vekst av blodceller i beinmargen. Leukemi finnes både i akutt og kronisk form.

Akutt lymfatisk leukemi

Akutt lymfatisk leukemi (ALL) er den vanligste typen leukemi blant barn og unge. ALL er knyttet til proliferasjon av umodne celler i den lymfoide cellerekken. Funn i blodutstryk er hovedsakelig lymfoblaster, men mer modne lymfocytter kan også forekomme. Lymfoblasterne har et homogent utseende med fint kromatin, høy kjerne/cytoplasma ratio og kan variere i

størrelse (12). Nukleoler og riederfenomen i lymfoblastene kan forekomme (6). Noen barn og flertallet av voksne med ALL har andre, mindre karakteristiske kjennetegn (12). Pasienter med ALL har ofte trombocytopeni og anemi (12).

Akutt myelogen leukemi

Akutt myelogen leukemi (AML) er en leukemi som kan oppstå i alle aldre, men rammer oftest voksne og eldre. AML er knyttet til proliferasjon i hele den myeloide cellerekken. Verdens helseorganisasjon (WHO) har klassifisert åtte subtyper av AML, M0-M7, hvorav alle har ulike kjennetegn (12, 17). Som oftest er blodutstryk dominert av myeloblaster og/eller monoblaster. Avhengig av subtype kan andre blaster, proerytroblaster og megakryoblaster, og andre celler, promyelocytter og myelocytter forekomme. Myeloblastene og monoblastene har fint kromatin og vanligvis nukleoler. Myeloblastene kan i noen tilfeller ha auerstaver. Pasienter med AML har ofte anemi og trombocytopeni (12).

Kronisk lymfatisk leukemi

KLL er den vanligste formen for leukemi og rammer oftest eldre. KLL er knyttet til den lymfoide rekken. Blodutstryk domineres av lymfocytose, en økt mengde modne, homogene lymfocytter, vanligvis av typen B-lymfocytter. I blodutstryk finnes det ofte kjerneskygger. Pasienter med KLL har ofte lett anemi, men både normalt antall trombocytter og trombocytopeni kan forekomme.

Kronisk myelogen leukemi

KML er en type leukemi som kan oppstå i alle aldre, men hovedsakelig hos middelaldrene og eldre. KML er knyttet til den myeloide rekken. Som oftest skyldes KML en mutasjon i den hematopoietiske stamcellen slik at man får dannet Philadelphia kromosom (12). Blodutstryket kan domineres av hele cellerekken av nøytrofile granulocytter, fra myeloblaster til modne nøytrofile granulocytter. Det er vanlig med en økning av nøytrofile- og basofile granulocytter, og myelocytter. Ofte er det også en økning i eosinofile granulocytter, mens resten av cellerekken er redusert (6). En svak monocytose kan forekomme. Pasienter med KML har ofte lett anemi og moderat trombocytose (12).

1.3.2 Andre hematologiske sykdommer og tilstander hvor blaster kan forekomme

Blaster i perifert blod kan finnes ved en rekke hematologiske sykdommer og andre tilstander enn akutte og kroniske leukemier, som for eksempel myelodysplastiske syndromer, myeloproliferative sykdommer og myelomatose (4). Myelodysplasi er proliferasjon av en klon av en hematopoietisk stamcelle i beinmargen, og kan ligne på AML. Myeloproliferative sykdommer inkluderer blant annet KML, men også andre hematologiske sykdommer som myelofibrose, polycytemi vera og essensiell trombocytopeni (4). Myelomatose, beinmargskreft, er proliferasjon av abnormale plasmaceller. Behandling med vekstfaktor, kjemoterapi eller karsinose kan føre til forekomst av blaster i perifert blod (14). Ved kroniske sykdommer som multippel sklerose (MS) og Crohns sykdom (Morbus Crohn) kan det forekomme myeloblaster (18). Blaster kan også finnes i perifert blod ved akutte og kroniske bakterielle- og virale infeksjoner, blant annet sepsis, tuberkulose og mononukleose (12, 14).

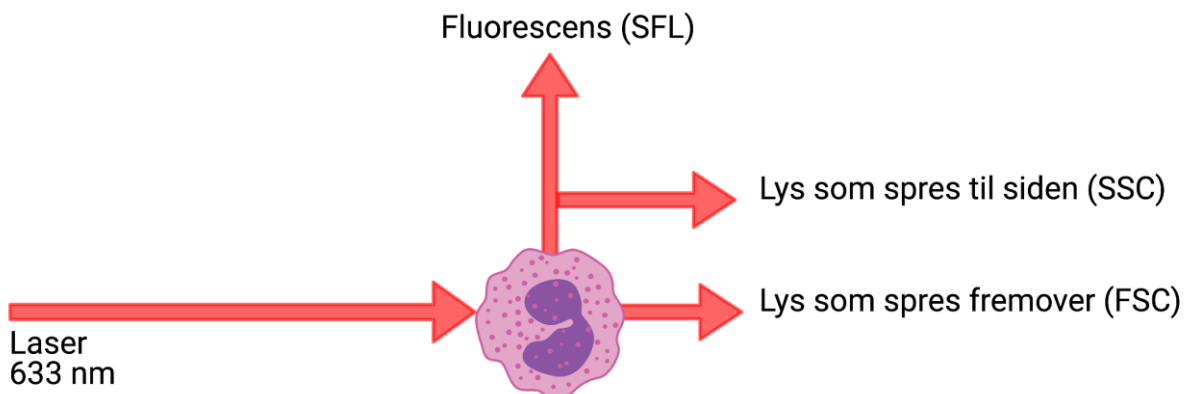
1.4 Analysering av leukocytter på Sysmex XN-instrument

Analysering av hematologiske parametere er en viktig del i diagnostikk og oppfølging av sykdom. Sysmex XN er et automatisert hematologiinstrument som analyserer og gir informasjon om blant annet leukocytter, erytrocytter, trombocytter og hemoglobin. Differensialtelling av leukocytter innebærer telling og klassifisering av de ulike typene leukocytter, og er viktig for å undersøke om det foreligger en økning eller reduisering av noen typer leukocytter og om det er patologiske celler i perifert blod, for eksempel blaster (19). I en 5-parts differensialtelling telles og undersøkes nøytrofile-, eosinofile- og basofile granulocytter, lymfocytter og monocytter. Ved mistanke om abnormale eller mistenkelige funn i prøven genererer Sysmex XN-instrumentene IP-meldinger og Q verdier.

1.4.1 Analyseprinsipp

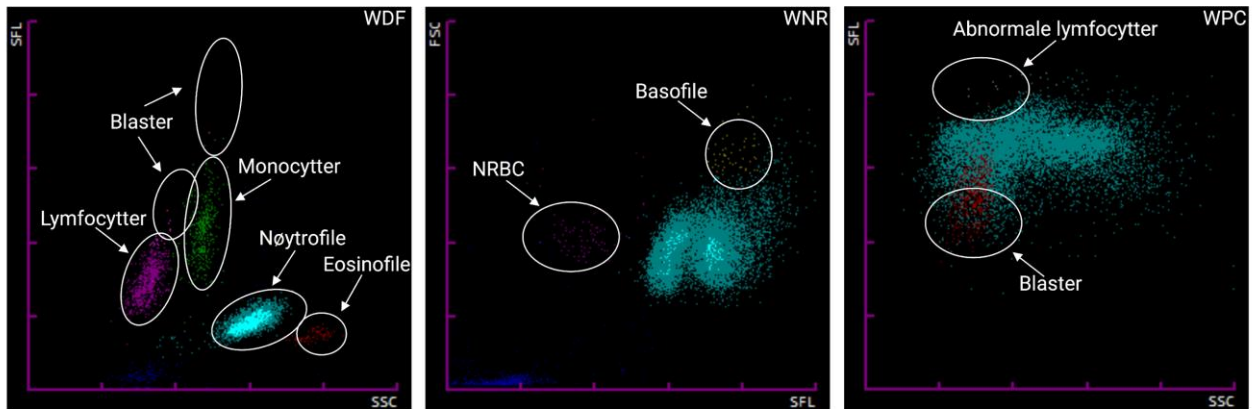
Sysmex XN-instrumentene bruker fluorescens flowcytometri for telling og klassifisering av leukocyttene. Ved bruk av ulike kanaler og reagenser kan Sysmex XN skille blodcellene basert på morfologi. Hver kanal bruker reagenser for hemolysering og et fluorescerende fargestoff, tilpasset kanalen og det som detekteres. Hemolyseringsreagenset hemolyserer erytrocytter og trombocytter, og gjør cellemembranen til leukocyttene mer permeabel. Deretter tilsettes et fluorescerende fargestoff, polymetin, som trenger inn i leukocyttene og binder seg til nukleinsyrer og celleorganeller. Ved hjelp av hydrodynamisk fokusering føres blodcellene inn i en flowcelle og en halvlederlaser med 633 nanometer bølgelengde bestråler

blodcellene. Når laserlyset treffer en blodcelle, vil det spres i ulike retninger. Lyset fanges opp av fotodioder og omdannes til elektriske pulseringer. Lys som spres fremover (FSC) gir informasjon om blodcellens størrelse, sidespredt lys (SSC) gir informasjon om cellens intracellulære innhold, herunder organeller, cellekjerne og granulering, og fluorescens (SFL) reflekterer type og mengde av nukleinsyrer og organeller (figur 8). Ved hjelp av disse tre signalene kan instrumentet differensiere og telle leukocytene.



Figur 8: Analyseprinsipp på Sysmex XN hematologiinstrument. Laser på 633 nanometer bestråler blodcellene og instrumentet måler spredning i lys som spres til siden (SSC), lys som spres fremover (FSC) og fluorescens (SFL). Utformet med BioRender.com

Det er tre ulike kanaler som brukes for differensialtelling av leukocytter. White nucleated red cell (WNR) kanalen teller totalt antall leukocytter (WBC), kjerneholdige erytrocytter (NRBC) og differensialteller basofile granulocytter. White blood cell differentiation (WDF) kanalen differensialteller nøytrofile- og eosinofile granulocytter, lymfocytter og monocytter. White precursor cell (WPC) kanalen detekterer blaster og abnormale celler i lymfocyttrekken (20). Resultatene fra de ulike kanalene presenteres i spredningsdiagram som gir informasjon om cellepopulasjonene (figur 9). Umodne celler, for eksempel blaster, har høyere RNA innhold som avgir mer SFL og vil derfor få sine egne populasjoner utenfor eller i områdene til de «normale» cellepopulasjonene (figur 9) (13, 21).



Figur 9: Oversikt over spredningsdiagram fra WDF, WNR og WPC kanalen på Sysmex XN-9000/1000 med tilhørende populasjoner for de ulike leukocytene og NRBC. X-aksene og Y-aksene viser henholdsvis SFL, SSC og FSC. SFL= fluorescens. SSC=lys som spres til siden. FSC= lys som spres fremover. WDF= White blood cell differentiation kanalen. WNR= White nucleated red cell kanalen. WPC= White precursor cell kanalen. NRBC= kjerneholdige erytrocytter. Spredningsdiagram er hentet fra tilfeldige pasienter på Sysmex XN-9000, Oslo universitetssykehus, Ullevål. Utformet med BioRender.com

1.4.2 IP-meldinger og Q verdi fra Sysmex XN

Sysmex presenterer IP-meldinger, heretter kalt flagg, som genereres ut ifra blant annet numeriske data og spredningsdiagram, og varsler om mulige abnormale funn. Flaggene deles inn i abnormale og suspekter flagg. Suspekter flagg er tilknyttet blant annet abnormal differensialtelling, abnormal cellemorfologi og/eller tilstedeværelse av umodne celler (13, 20, 22). Til de suspekter flaggene følger det med en Q verdi. Q verdi sier noe om sannsynligheten for et bestemt patologisk funn, for eksempel blaster. Q verdi angis fra 0 til 300 og flagg utløses ved verdi ≥ 100 hvor sannsynligheten for at det foreligger abnormalitet øker med tallverdien. Hvis Q verdien til for eksempel flagget «Blasts/Abn Lympho?» viser null, er det liten/ingen sannsynlighet for at det foreligger blaster. Ettersom verdien øker, øker sannsynligheten for å finne blaster i prøven, men det er ikke veldokumentert at en slik sammenheng foreligger. Sysmex opererer med en terskelverdi på 100, satt fra produsenten (Sysmex Corporation), det vil si at alle suspekter flagg med Q verdi ≥ 100 blir flagget og presentert for operatøren. Flere ulike studier har vist at bruken og vurderingene av flagg og Q verdi er usikker da en og samme pasientprøve kan ha varierende Q verdi, alt fra 0-300, og det kan variere mellom ulike instrumenter (21, 23, 24).

I de tilfellene hvor det er mistanke om blaster og/eller abnormale lymfocytter i blodprøven gir Sysmex XN-9000/1000 ut flagget «Blasts/Abn Lympho?» fra WDF kanalen, med tilhørende

Q verdi. WPC kanalen på XN-9000 gir ut «Blasts?» og «Abn Lympho?» flaggene, med tilhørende Q verdi. Flaggene og Q verdiene fra WDF og WPC kanalen indikerer sannsynligheten for at blaster og/eller abnormale lymfocytter er til stede i prøven. Hvis «Blasts/Abn Lympho?» flagget er til stede, vil en reanalysering på WPC kanalen resultere i enten «Blasts?» flagg, «Abn Lympho?» flagg eller at «Blasts/Abn Lympho?» flagget fra WDF kanalen blir fjernet. Det er angitt at bruken av WPC kanalen reduserer falske positive Q verdier fra WDF kanalen og gir en bedre differensiering mellom blaster og abnormale lymfocytter (25-30).

1.5 Blodutstryk

Mikroskopi av blodutstryk er en metode for morfologisk klassifisering og kvalitativ beskrivelse av leukocytter, erythrocytter og trombocytter. Blodutstryk er et viktig verktøy i utredning og vurdering av hematologiske sykdommer. Klassifisering av leukemier har tradisjonelt sett vært basert på morfologi og er fortsatt aktuelt, men andre metoder som beinmargutstryk og flowcytometri er vanligvis nødvendig for å stille diagnose. Blodutstryk brukes også internt på laboratoriet til kvalitetssikring og verifisering av resultater fra hematologiinstrumenter for eksempel ved flagg om blaster eller abnormale lymfocytter. Bruk av blodutstryk til kvalitetssikring og verifisering av resultater påvirker kostnad, effektivitet og forlenger svartiden, det kan også gi rekvirent og pasient bekymringer som kan utløse ytterligere undersøkelser, som i noen tilfeller kan være unødvendige. En forutsetning for korrekt vurdering av blodutstryk er informasjon om kliniske opplysninger og hematologiske parametere fra hematologiinstrument.

Blodutstryk lages ved at en dråpe etylendiamintetraacetat (EDTA) blod fordeles utover et utstryksglass som fikseres og farges for å undersøke de ulike blodcellene i mikroskop. For å lage blodutstryk kan man benytte seg av manuell, semi-automatisk eller hel-automatisk metode. Blodutstrykene fikseres i metanol for å bevare blodcellens morfologi og forhindre videre degradering. Leukocytene er fargeløse i blodet og når blodutstryket farges vil de morfologiske egenskapene komme frem, og de ulike blodcellene kan differensieres fra hverandre (4, 31). En anerkjent fargemetode er May-Grünwald-Giemsa (MGG). MGG inneholder tre komponenter, eosin, azur og metylenblå. Eosin er en sur farge som binder seg til hemoglobin i erythrocytter og granula i eosinofile granulocytter, og farger disse oransje/røde. Azur er en basisk farge i blanding med metylenblå. Denne blandingen binder

seg til fosfatgruppen i nukleinsyrer, granula i basofile granulocytter, svakt til granula i nøytrofile granulocytter og trombocytter, som farges blått og/eller lilla. Fargeblandingen farger også cytoplasma i lymfocytter og monocytter og nukleoler blå.

Kvaliteten på blodutstryket er viktig for å kunne vurdere blaster og andre umodne celler korrekt (11). Funn av umodne celler i blodutstryk er abnormale funn, med unntak hos nyfødte og under svangerskap hos kvinner (5). Ved mistanke om blaster i blodutstryk er det viktig å undersøke hele blodutstryket, spesielt utkanten av blodutstryket. Blaster har en tendens til å spres til sidene på grunn av størrelsen (11). Leukocytter i utkanten av blodutstryket strekkes ut litt mer og det er dermed lettere å se morfologiske forskjeller mellom blaster og andre leukocytter (6, 32). Kjerneskygger, også kalt smudge cells, er celler som blir ødelagt når blodutstryket blir laget. Dette kan være på grunn av abnormalitet eller at blodutstryket ikke er laget innen tilstrekkelig tid. Hvis blodutstryket er laget innen tilstrekkelig tid, kan funn av mer enn en liten prosent kjerneskygger være av betydning (4). Kjerneskygger finnes ofte i tilstander som KLL, men blaster ved AML kan også bli kjerneskygger under laging av blodutstryk.

1.6 Automatisk mikroskopi av leukocytter med CellaVision® DC-1

CellaVision® DC-1 er et automatisk mikroskop som utfører kvalitative og kvantitative undersøkelser av blodceller og kan dermed i noen tilfeller erstatte manuell mikroskopering (33). CellaVision® DC-1 scanner blodutstryket, klassifiserer og utgir en prosentvis fordeling av de ulike leukocytene.

For å lokalisere området som skal undersøkes, starter CellaVision® DC-1 på et fast punkt som ligger 33 mm inn fra utstrykskanten og finner monolayer til leukocytene ved hjelp av erytrocyttene. Monolayer er det området hvor erytrocyttene ligger jevnt fordelt og har klar farge. Monolayer scannes med 100x forstørrelse samtidig som CellaVision® DC-1 tar bilder av et gitt antall celler, vanligvis 100 eller 200. CellaVision® DC-1 har mulighet til både preklassifisering og reklassifisering av leukocytter. Ved preklassifisering plasseres leukocytter automatisk i 12 ulike leukocyttklasser og andre typer blodceller og artefakter plasseres i fem andre ulike klasser (tabell 1). Preklassifiseringen innebærer at CellaVision® DC-1 detekterer og plasserer en celle i en leukocyttklasse eller ikke-leukocyttklasse ved hjelp av avanserte algoritmer og bildegjenkjenning (33-35). Reklassifiseringen foregår ved at operatøren

vurderer preklassifiseringen, og har mulighet til å enten bekrefte klassifiseringen eller flytte celler og artefakter til andre klasser. Reklassifiseringen gjennomføres for å sikre at blodceller og andre komponenter er riktig klassifisert. Feil preklassifisering fra instrument som ikke blir rettet opp, kan ha klinisk betydning for pasient (33). En studie har konkludert med at preklassifisering på CellaVision® DC-1 kan være tilstrekkelig for å utelukke forekomst av blaster i blodutstryk (36).

Tabell 1: Celleklasser av leukocytter og andre typer som inngår i den automatiske preklassifiseringen på CellaVision® DC-1. Hentet fra CellaVision® DC-1 brukermanual (33).

Leukocytter	Andre typer
Nøytrofile stavkjernede granulocytter	Kjerneholdige erytrocytter
Nøytrofile segmenterte granulocytter	Store trombocytter
Eosinofile granulocytter	Trombocyttaggregater
Basofile granulocytter	Kjerneskygger
Lymfocytter	Artefakter
Monocytter	
Promyelocytter	
Myelocytter	
Metamyelocytter	
Blaster	
Varianter av lymfocytter	
Plasmaceller	

Blodutstryk som oppfyller krav fra produsenten (CellaVision AB) er optimalt for analysering på CellaVision® DC-1 (33). Kvaliteten til blodutstryk kan undersøkes med et verktøy kalt SmearChecker, som vurderer blodutstryket basert på kvalitet på monolayer, farge og fargeintensitet (33, 34). SmearChecker gir en indikasjon på hvor optimalt blodutstryket er og om prosedyren for blodutstryk må endres.

CellaVision AB anbefaler kvalitetskontroll minst en gang per dag, hvor blodutstryk med WBC >7 x 10⁹/L benyttes. Kvalitetskontrollen undersøker om CellaVision® DC-1 klarer å lokalisere alle cellene, om instrumentet fungerer og om fargeprosedyren er god nok. Kvalitetskontrollen på CellaVision® DC-1 er forhåndsinnstilt for å forsøke å detektere 200 leukocytter, hvor minst 100 celler må være kjerneholdige, det vi si leukocytter eller NRBC. Leukocytter og NRBC som ikke er lokalisert av CellaVision® DC-1 registreres manuelt. Resultatet av kvalitetskontrollen kommer ut som ratio (leukocytter + NRBC), hvor ratioen indikerer hvor mange blodceller instrumentet ikke har lokalisert i forhold til hvor mange

blodceller instrumentet har lokalisert. Ratio for leukocytter + NRBC ≥ 97 % indikerer en godkjent kvalitetskontroll.

1.7 Bruk av hemoglobin, leukocytter og trombocytter i et «aksesystem»

Et «aksesystem», hvor hemoglobin, leukocytter og trombocytter bedømmes som parametere for de tre hematologiske rekkene (aksene) blir blant annet brukt på avdeling for medisinsk biokjemi (MBK), Oslo universitetssykehus (OUS), Rikshospitalet. Aksene blir benyttet som hjelp for å vurdere om det skal lages blodutstryk av flaggede prøver. Hemoglobin, leukocytter og trombocytter er tre parametere som ofte er utenfor referanseintervallet ved leukemier og andre sykdomstilstander. Det antas at det er svært liten sannsynlighet for at det foreligger hematologisk sykdom dersom ingen eller kun ett av de tre parameterne er utenfor referanseintervallet, og det er derfor ikke nødvendig å vurdere blodutstryk. Hvis to eller tre av de hematologiske parameterne er utenfor referanseintervallet, kan det gi indikasjon på hematologisk sykdom og blodprøven vurderes for blodutstryk.

1.8 Internasjonale og nasjonale anbefalinger for når prøver skal oppfølges med blodutstryk

Vurdering av blodutstryk er tidkrevende og forlenger svartiden. Laboratorier har noe ulik praksis, gjerne basert på egne erfaringer om laboratorium og sykehuspopulasjon, til å bedømme hvorvidt et blodutstryk skal lages eller ikke. For strenge anbefalinger vil øke antall blodutstryk, som fører til økt arbeidsmengde, økte kostnader og lengre tid fra analyse til svar for rekvirent. For få anbefalinger eller anbefalinger som ikke er tilpasset laboratoriet, medfører risiko for å miste prøver med patologi eller klinisk betydning (37-39).

International Society for Laboratory Hematology (ISLH) har utarbeidet internasjonale anbefalinger for når laging av blodutstryk bør vurderes, basert på resultater fra hematologiinstrumentet (22). De internasjonale anbefalingene består av 41 ulike konsensusregler bygget opp på bakgrunn av viktige parametere som kan utløse blodutstryk, blant annet fullstendig blodtelling (CBC), differensialtelling og flagg. Hver anbefaling har en til fire ulike kriterier som utløser en til tre ulike handlinger. Anbefalingene har som utgangspunkt å lage et verktøy som er best mulig egnet til å påvise patologi i blodutstryk, men den kliniske betydning av disse, er ikke diskutert.

Etter behov for nasjonale anbefalinger for når blodutstryk bør lages, tok Norsk kvalitetsforbedring av laboratorieundersøkelser (Noklus) initiativ til utarbeiding av disse (40, 41). Anbefalingene fra 2019 er utarbeidet av en arbeidsgruppe bestående av personer med kompetanse innenfor hematologi og kvalitet. Noklus anbefalingene er basert på allerede eksisterende anbefalinger, blant annet fra ISLH, litteratursøk og egne erfaringer. Anbefalingene har vært til vurdering hos Norsk selskap for medisinsk biokjemi (NSMB), Bioingeniørfaglig institutt (BFI), og ekspertgruppen i Noklus innen medisinsk biokjemi tilknyttet Seksjon for sykehus- og private laboratorier (40). Blodutstryk som et ledd i diagnostikk av sykdom eller behandling, er ikke omfattet av anbefalingene. Noklus definerer voksne som ≥ 16 år, mens ISLH benytter ≥ 18 år. Noklus anbefalingene baserer seg på vurdering av CBC, differensialtelling av leukocytter, flagg, abnormalt spredningsdiagram og andre faktorer som kan tas med i vurderingen. I tillegg medfølger informasjon om hvordan blodutstryk skal vurderes, herunder hva man skal undersøke, ulike celleklasser og hva som skal rapporteres, både for erytrocytter, trombocytter og leukocytter.

2. Formålet med studien

En del blodprøver som analyseres på hematologiinstrumenter får varsel om at blaster kan være til stede i perifert blod. Nytteverdien av slike varsler er usikre og det er varierende meninger og funn i studier som undersøker nytteverdien (21, 23, 24). Til vår kjennskap finnes det ingen studier som har undersøkt på den kliniske betydningen. Det er publisert både nasjonale og internasjonale anbefalinger for lagning av blodutstryk ved slike varsler (22, 40). For å undersøke tilstedeværelse av blaster i perifert blod lages det blodutstryk, som er ressurskrevende og krever mye erfaring.

Hovedformålet med denne studien var ***å undersøke den kliniske nytteverdien av å følge opp flagg om mulig tilstedeværelse av blaster.***

Videre ønsket vi å undersøke om arbeidet med å følge opp «Blasts/Abn Lympho?» flagget kan effektiviseres ved hjelp av:

- WPC kanalen på Sysmex XN-9000
- Preklassifisering av blaster på CellaVision® DC-1
- Vurdering av andre hematologiske parametere som hemoglobin, trombocytter og totalt antall leukocytter

«Blasts/Abn Lympho?» er kun et av mange flagg som kan medføre vurdering av blodutstryk. Vi ønsket også å kartlegge hvor mange blodutstryk som vil vurderes på vårt laboratorium dersom man følger anbefalinger fra ISLH eller Noklus.

3. Materialer og metoder

3.1 Inklusjon av pasienter

Blodprøver fra pasienter behandlet ved OUS ble samlet i K₂-EDTA rør (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Tyskland) og analysert på Sysmex XN-9000 versjon 22.12 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) og Sysmex XN-1000 versjon 22.12 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) ved den daglige rutinen ved enhet for hematologi, MBK, OUS, Ullevål. Blodprøvene ble innhentet og analysert i perioden september 2020 - desember 2020. Blodprøver i studien ble reanalysert på WPC kanalen på Sysmex XN-9000 samme dag som innsamlingstidspunkt for å tilegne informasjon om flaggene «Blasts?» og «Abn Lympho?». Vi ønsket å innhente omtrent 600 blodprøver, hvorav 50-100 hadde funn av blaster.

Inklusjons- og eksklusjonskriterier var satt for å sikre et optimalt datautvalg. Det ble laget blodutstryk av alle inkluderte blodprøver innen seks timer etter analysetidspunkt på Sysmex XN-9000/1000 for å opprettholde holdbarhet. Voksne ≥ 18 år med Q verdi ≥ 100 på «Blasts/Abn Lympho?» flagget fra WDF kanalen på Sysmex ble vurdert for inklusjon i studien. Pasienter tilhørende rekvirenter fra avdeling for blodsykdommer ble ekskludert ettersom disse med stor sannsynlighet allerede hadde kjent hematologisk sykdom. Pasienter som tidligere hadde blodprøver med avdeling for blodsykdommer som rekvirent ble ikke ekskludert. Blodprøver tilhørende eksterne rekvirenter ble ekskludert på bakgrunn av manglende mulighet til oppslag i journal og holdbarhet på blodprøver. Første registrerte blodprøve som oppfylte alle inklusjonskriterier per pasient ble inkludert i studien. Dette var ikke nødvendigvis synonymt med at det var pasients første blodprøve under sykehusoppholdet.

3.2 Laging, farging og kvalitetskontroll av blodutstryk

3.2.1 Semi-automatisk og manuell laging av blodutstryk

To blodutstryk for hver blodprøve ble laget innen seks timer etter analysetidspunkt på Sysmex XN-9000/1000 for å vurdere blodcellenes morfologi og funn av blaster. Semi-automatisk metode med HemaPrep[®] (CellaVision AB, Lund, Sverige) ble hovedsakelig benyttet. Blodutstryk på HemaPrep[®] ble laget etter produsentens anbefalinger for standardiserte blodutstryk, optimalt for CellaVision[®] DC-1 (CellaVision AB, Lund, Sverige) (33, 42). Blodutstryk ble laget manuelt i henhold til anbefalinger i tilfeller hvor HemaPrep[®] ikke var optimalt for laging (4, 32). Alle blodutstryk ble laget uten kjennskap til hemoglobin- og

hematokritverdier. Smear control knob på HemaPrep® ble benyttet for å justere blodutstrykets lengde og tykkelse, slik at kvalitetskrav ble oppfylt i tilfeller hvor første lagde blodutstryk ikke var optimalt (42, 43). Utstryksbladene ble rengjort mellom hver blodprøve etter produsentens anbefalinger (33).

3.2.2 Farging av blodutstryk

Blodutstryk ble farget med MGG fargemetode etter følgende prosedyre: fem minutter i metanol, fem minutter i May-Grünwald bruksløsning, 15 minutter i Giemsa bruksløsning og fem minutter i SP-buffer (Sysmex Corporation, Kobe, Japan). Reagenser og blandingsforhold på bruksløsninger er oppgitt i vedlegg 3, tilleggstabell 3.1.

3.2.3 Kvalitetskontroll av blodutstryk

Ettersom laging av blodutstryk med HemaPrep® var standardisert, ble kvaliteten på de første lagde blodutstrykene undersøkt med CellaVision® SmearChecker (CellaVision AB, Lund, Sverige) på CellaVision® DC-1 (33). De resterende blodutstrykene, både semi-automatisk og manuelt laget, ble evaluert visuelt og sammenlignet med kvalitetssikrede blodutstryk.

3.3 Analyse på CellaVision® DC-1

Blodutstryk i studien ble analysert på CellaVision® DC-1 versjon 7.0 (CellaVision AB, Lund, Sverige) for å vurdere blodutstrykets morfologi og undersøke tilstedeværelse av blaster.

3.3.1 Kvalitetskontroll

Kvalitetskontroll ble utført for å sikre at CellaVision® DC-1 oppfyller kvalitetskrav, verifiserer analysatorens evne til å lokalisere og klassifisere blodceller i blodutstryk, og validerer laging av blodutstryk (33). Kvalitetskontroll ble utført hver dag CellaVision® DC-1 var i drift. To tilfeldige blodprøver med normalt WBC tall $>7 \times 10^9/L$, som anbefalt fra produsent (CellaVision AB), ble benyttet til kvalitetskontroll annenhver gang. Alle kontrollutstrykene ble laget på forhånd med HemaPrep® og MGG. Kvalitetskontrollen ble gjennomført etter produsentens retningslinjer og anbefalinger der ratio leukocytter + NRBC $\geq 97\%$ indikerte en godkjent kvalitetskontroll (33).

3.3.2 Analysering av blodutstryk og preklassifisering av blodceller

Duplikate blodutstryk ble analysert på CellaVision® DC-1 for å undersøke blodcellenes morfologi og vurdere tilstedeværelse av blaster i blodutstryk. CellaVision® DC-1 ble innstilt til preklassifisering av 100 celler per blodutstryk, totalt 200 celler på differensialtelling av leukocytter. I tilfeller hvor WBC var for lavt til at CellaVision® DC-1 klarte å preklassifisere 100 celler per blodutstryk, stoppet instrumentet automatisk opp når ikke flere leukocytter kunne lokaliseres. Erytrocyttkarakterisering og estimering av trombocytter ble ikke utført ettersom dette var tidkrevende og ikke direkte relatert til oppgavens hovedmål.

3.3.3 Reklassifisering av blodceller og kategorisering av blodutstryk

Etter preklassifiseringen ble blodutstrykene undersøkt for blaster og andre patologiske funn, for å kategorisere blodutstrykene i ulike grupper. Preklassifiserte leukocytter ble eventuelt reklassifisert til andre celleklasser eller beholdt celleklassen fra preklassifiseringen (tabell 1). Vurdering av blodutstryk ble gjennomført uten informasjon om hematologiske parametere og Q verdi fra WDF og WPC kanalen på Sysmex XN-9000/1000. Blodutstryk ble kategorisert i fire ulike kategorier på bakgrunn av funn i blodutstryk og ulike kriterier (tabell 2).

Tabell 2: Kriterier for kategorisering av blodutstryk etter vurdering på CellaVision® DC-1.

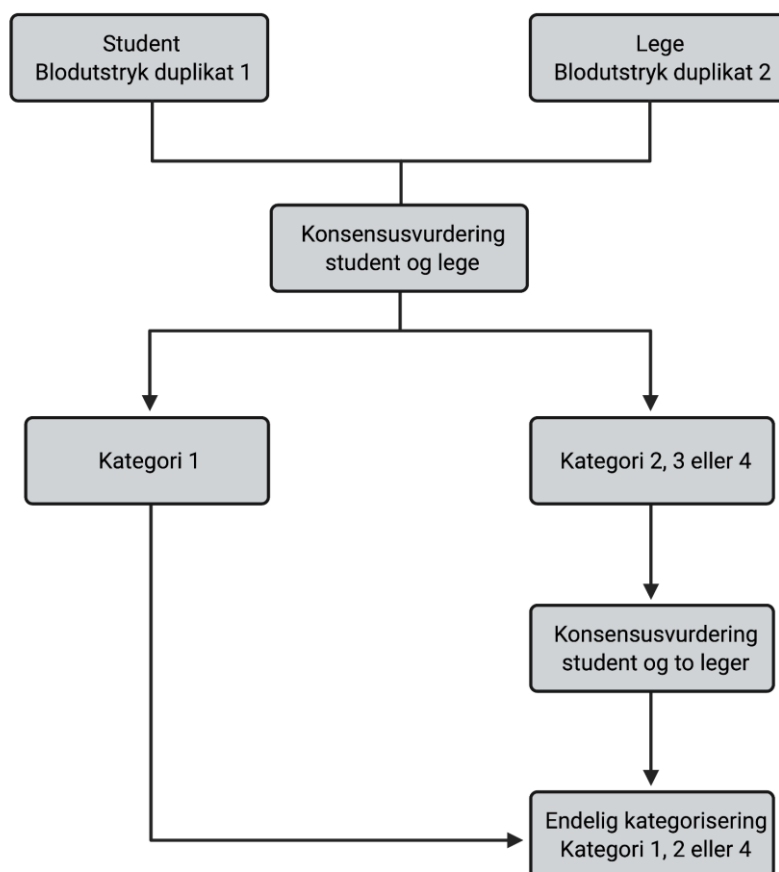
Kategori	Kriterier
1. Ingen funn av blaster	Blodutstryk uten funn av blaster og ingen morfologiske forandringer som gir mistanke om hematologisk sykdom.
2. Funn av sikre blaster	Blodutstryk med funn av sikre blaster. Funn av en sikker blast, en av 200 celler (0,5 %), regnes som positivt funn.
3. Funn av mulige blaster	Blodutstryk med funn av en eller flere suspekter celler, hvor det er mistanke om blaster, men ikke kan si med sikkerhet. Brukt som midlertidig kategori.
4. Funn som kan gi mistanke om hematologisk sykdom uten påviste blaster	Blodutstryk uten funn av sikre blaster, men med funn av morfologiske forandringer som kan gi mistanke om hematologisk sykdom (for eksempel NRBC, lymfocytose, kjerneskygger).

NRBC=kjerneholdige erytrocytter

Kategorisering ble gitt på bakgrunn av individuelle- og konsensusvurderinger.

Konsensusvurdering innebar diskusjon av blodutstryk i kategori 2, 3 eller 4 av student og lege ved MBK. Under konsensusvurdering ble duplikate blodutstryk gjennomgått i tilfeller hvor

det var mistanke om blaster eller et usikkert blodbilde med andre funn. Ettersom en av 200 celler (0,5 %) betraktes som positivt funn, ble alle blodutstryk med mistanke om blaster undersøkt. Student og en lege ved MBK vurderte individuelt hvert duplikat blodutstryk tilhørende en blodprøve (figur 10). Etter individuell vurdering ble blodutstryk med en midlertidig kategorisering i kategori 2, 3 eller 4 av lege og/eller student gjennomgått med konsensusvurdering mellom student og lege. Blodutstryk etter første konsensusvurdering som beholdt eller fikk ny kategori 2, 3 eller 4, ble tatt opp ved en ny konsensusvurdering mellom student og to leger. Ved andre konsensusvurdering fikk alle blodutstryk sin endelige kategorisering i kategori 1, 2 eller 4. Kategori 3 ble brukt som en midlertidig kategorisering og alle blodutstryk i kategori 3 ble omklassifisert til kategori 1, 2 eller 4 etter en avsluttende konsensusvurdering ved studiens slutt.



Figur 10: Oversikt over kategoriseringen av blodutstryk på CellaVision® DC-1. Utformet med BioRender.com.

For blodutstryk med suspekke funn ble det umiddelbart foretatt oppslag i journal etter kategorisering fra CellaVision® DC-1, for å undersøke om det var relevante og/eller ukjente funn som burde rapporteres til rekvirent. Dette endret derimot ikke kategoriseringen gitt etter konsensusvurderingen.

3.4 Vurdering av klinisk betydning

Oppslag i journal ble gjennomført av medisinstudent (M.M) for å undersøke den kliniske betydningen av funn av blaster i blodutstryk klassifisert i kategori 2 og 4, fra kategorisering på CellaVision® DC-1. Klinisk betydning ble satt til ulike kategorier på bakgrunn av funn i journal (tabell 3). Relevante funn fra journaloppslag ble registrert aidentifisert i Epidata (The EpiData Association, Odense, Danmark), dette innebar blant annet alder, kjønn, tidligere relevante diagnoser og diagnose på innsamlingstidspunkt. Etter kategorisering av medisinstudent ble kategoriseringene, med fokus på blodutstryk i kategori 2, diskutert i møte med student, medisinstudent (M.M) og tre leger.

Tabell 3: Kriterier for kategorier av klinisk betydning ved funn av blaster eller ved funn som kan gi mistanke om hematologisk sykdom uten påviste blaster i blodutstryk.

Kategori	Kriterier
1a. Ingen betydning	Kjent hematologisk sykdom.
1b. Usikker betydning	Hematologisk sykdom ikke diagnostisert under sykehusopphold.
2. Klinisk betydning	Hematologisk diagnose, tilbakefall eller progresjon av hematologisk diagnose har blitt oppdaget i blodutstryk.

3.5 Vurdering av «aksesystemet»

Blodprøvene inkludert i studien ble vurdert med referanseintervallene for de tre aksene: hemoglobin, leukocytter og trombocytter, for å vurdere «aksesystemets» effektivitet (tabell 4). Både verdier utenfor nedre- og øvre referansegrense ble betegnet som utenfor referanseintervallet. Blodprøvene ble inndelt i null eller en akse utenfor referanseintervallet og to eller tre akser utenfor referanseintervallet.

Tabell 4: Referanseintervall for hemoglobin, leukocytter og trombocytter ved Oslo universitetssykehus, Ullevål for personer ≥ 18 år. Hentet fra (44-46).

Parameter	Referanseintervall
Hemoglobin	Kvinner: 11,7 - 15,3 g/dL Menn: 13,4 - 17,0 g/dL
Leukocytter	3,5 - 10,0 x 10 ⁹ /L
Trombocytter	145 - 390 x 10 ⁹ /L

3.6 Beregning av totalt antall blodutstryk laget på bakgrunn av anbefalinger

Anbefalingene fra ISLH og Noklus ble beregnet på pasientpopulasjonen ved MBK, for å kartlegge den totale mengden arbeid det ville vært å lage blodutstryk, ved å følge alle anbefalingene (tabell 5). Anbefalingene ble programmert og beregnet med Python (Python Software Foundation, Wilmington, DE, USA).

Alle analyserte blodprøver i tidsperioden 01.08.20 til 30.09.20 ble eksportert uten pasientidentifikasjon fra Sysmex XN i kommadelte filer (CSV filer) og lagret midlertidig som Microsoft Office Excel filer (Microsoft, Redmond, WA, USA) på område for sensitive opplysninger på OUS. Det ble for samme tidsperiode hentet ut data i Microsoft Office Excel filer fra laboratedatasystemet Swislab (NEXUS SWISLAB, Berlin, Tyskland) for alle pasienter der det var bestilt hemoglobin (gjennomført av E.K.A). Dette datasettet inneholdt pasientens personnummer. Det unike prøvenummeret fantes i begge filene og ble brukt til å matche filene. Blodprøver fra pasienter <18 år og blodprøver der det ikke var en match til datasettet fra Swislab, ble slettet. Pasientidentifikasjon ble funnet for 95,7 % av blodprøvene. Deretter ble personnummer erstattet med løpenummere (1, 2, 3 og så videre) og slettet. Opplysninger om prøvetakingsdato og kjønn ble slettet, mens alder og rekvisit ble beholdt. Filene inneholdt et stort nok antall pasienter til at ingen var identifiserbare gjennom unike kombinasjoner av variabler.

Anbefalingene ble tilpasset og modifisert til rutinedriften. Dette innebar blant annet endring av enheter og anbefalinger som ikke var relevante, enten i den grunn av at et slik parameter ikke eksisterte på Sysmex XN-9000/1000 eller at anbefalingen ikke utløste blodutstryk, ble fjernet. Anbefalingene tilknyttet barn og visuell vurdering av for eksempel spredningsdiagram ble utelatt. Kun anbefalinger som kunne vurderes ut ifra kvantitative data fra Sysmex XN ble inkludert. Noklus inneholdt en del anbefalinger som ikke kunne programmeres i et kvantitativt datasett, men alle anbefalinger fra ISLH kunne beregnes direkte. Eksempelvis er

ikke parameteret «Umodne granulocytter (IG flagg)» fra Noklus inkludert i beregningen ettersom kriterium var «Vurder scatterplott, lokale regler» (40). Anbefalingen for hemoglobin fra ISLH var felles for menn og kvinner på det grunnlag av at informasjon om kjønn ikke var tilgjengelig.

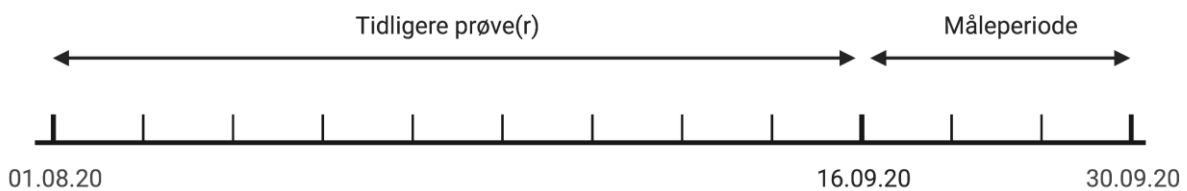
Tabell 5: Tilpassede anbefalinger for lagning av blodutstryk basert på anbefalinger fra Norsk kvalitetsforbedring av laboratorieundersøkelser (Noklus) og International Society for Laboratory Hematology (ISLH) (22, 40).

Parameter	Norsk kvalitetsforbedring av laboratorieundersøkelser (Noklus)		International Society for Laboratory Hematology (ISLH)	
	Kriterium 1	Kriterium 2	Kriterium 1	Kriterium 2
Fullstendig blodtelling				
WBC ($10^9/L$)	<3,0 eller >30,0	og Første gang	<4,0 eller >30,0	og Første gang
PLT ($10^9/L$)	<100 eller >1000	og Første gang	<100 eller >1000	og Første gang
HGB* (g/dL)			<7 eller >19	og Første gang
MCV (fL)			<75 eller >105	og Første gang
RDW (% CV)	>22		>22	og Første gang
Differensialtelling av leukocytter				
Lymfocytter ($10^9/L$)	>5,0	og Første gang	>5,0	og Første gang
Monocytter ($10^9/L$)	>1,5	og Første gang	>1,5	og Første gang
Nøytrofile granulocytter ($10^9/L$)	<1,0	og Første gang	<1,0 eller >20,0	og Første gang
Eosinofile granulocytter ($10^9/L$)	>2,0	og Første gang	>2,0	og Første gang
Basofile granulocytter ($10^9/L$)/(%)	>0,5 og/eller >3	og Første gang	>0,5	og Første gang
Umodne granulocytter (%)	>5	og Første gang		
Kjerneholdige erythrocytter (%)	>1	og Første gang	Påvist ($\geq 0,01$)	og Første gang
Retikulocytter ($10^9/L$)			>100	og Første gang
Flagg**				
RBC fragmenter	Flagg		Flagg	
PLT aggregater			Flagg	
Atypiske lymfocytter	Flagg		Flagg og Første gang	
Blast	Flagg		Flagg og Første gang	

*Felles referanseintervall for menn og kvinner. **Alle flagg er assosiert med Q verdi ≥ 100 .
WBC= totalt antall leukocytter. PLT= trombocytter. HGB= hemoglobin. MCV= mean corpuscular volume. RDW= red cell distribution width. RBC= erythrocytter.

Totalt ble 16 anbefalinger fra ISLH og 13 anbefalinger fra Noklus benyttet i beregningen (tabell 5). Anbefalingene ble beregnet på den daglige driften på Sysmex XN-9000/1000 fra august 2020 - september 2020 (figur 11). 16.09.20 til og med 30.09.20 ble benyttet som måleperiode for beregning av anbefalingene.

De fleste varslene hadde «første gang» som tilleggskriterium. Tidsintervallet siden forrige prøve med varsel var imidlertid ikke definert i anbefalingene. For varsler uten tilleggskriteriet, ble alle prøver med varsler i måleperioden registrert. For varsler med tilleggskriteriet «første gang», ble de seks foregående ukene før måleperioden undersøkt. Dersom pasient ikke hadde tilsvarende varsel i de seks foregående ukene før måleperioden, ble varselet i måleperioden registrert. Derimot, dersom pasient hadde varsel i de seks foregående ukene før måleperioden, ble ikke varselet i måleperioden registrert.



Figur 11: Tidslinje for beregning av anbefalinger fra ISLH og Noklus. Utformet med BioRender.com

3.7 Statistikk

Statistiske analyser ble utført med Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versjon 27 (IBM® SPSS®, Chicago, IL, USA). Et signifikansnivå på 0,05 (5 %) ble benyttet. Data ble ikke korrigert for multippel testing. Deskriptiv statistikk ble beregnet for å tilegne informasjon om pasientpopulasjonen. Mann-Whitney ble benyttet for å undersøke signifikans i Q verdier for flagg fra WDF og WPC kanalen mellom kategori 1, 2 og 4 etter vurdering av blodutstryk på CellaVision® DC-1. 2x2 krysstabell ble benyttet for å beregne sensitivitet, spesifisitet, positiv prediktiv verdi og negativ prediktiv verdi.

3.8 Ethiske perspektiver

Studien ble godkjent av Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK) med hjemmel i helseforskningsloven §10 (REK 155506 og vedlegg 1). Det er gitt dispensasjon fra samtykkekravet og taushetsplikten etter helseforskningsloven §15 annet ledd, §28 første ledd og §35. Studien ble også godkjent av personvernombudet ved OUS (vedlegg 2). Kodenøkkel med personidentifikasjon ble lagret i godkjent Medinsight koblingsregister (Oslo universitetssykehus, Oslo, Norge). Kodenøkkel ble lagret i Microsoft Office Excel med informasjon om analyseringen på Sysmex XN-9000/1000 og i Epidata med informasjon om

funn i blodutstryk og relevant oppslag fra journal. Alle filer ble lagret på sensitivt område på OUS, og kun personer tilhørende studien hadde tilgang.

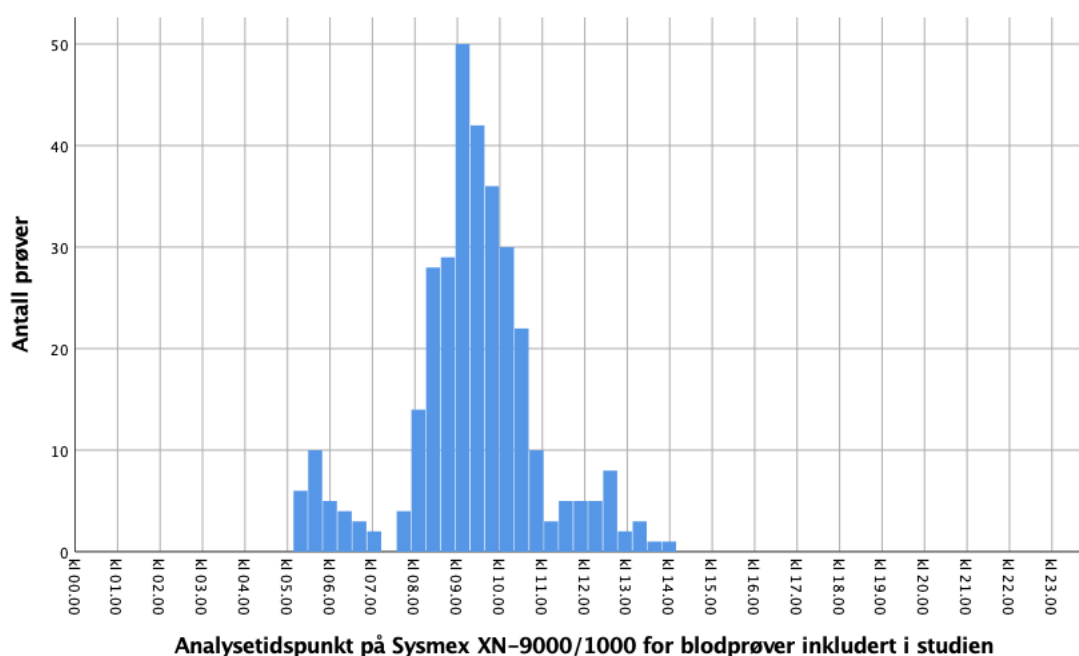
4. Resultater

4.1 Beskrivelse av pasientpopulasjonen og karakterisering av prøver i blodutstryk

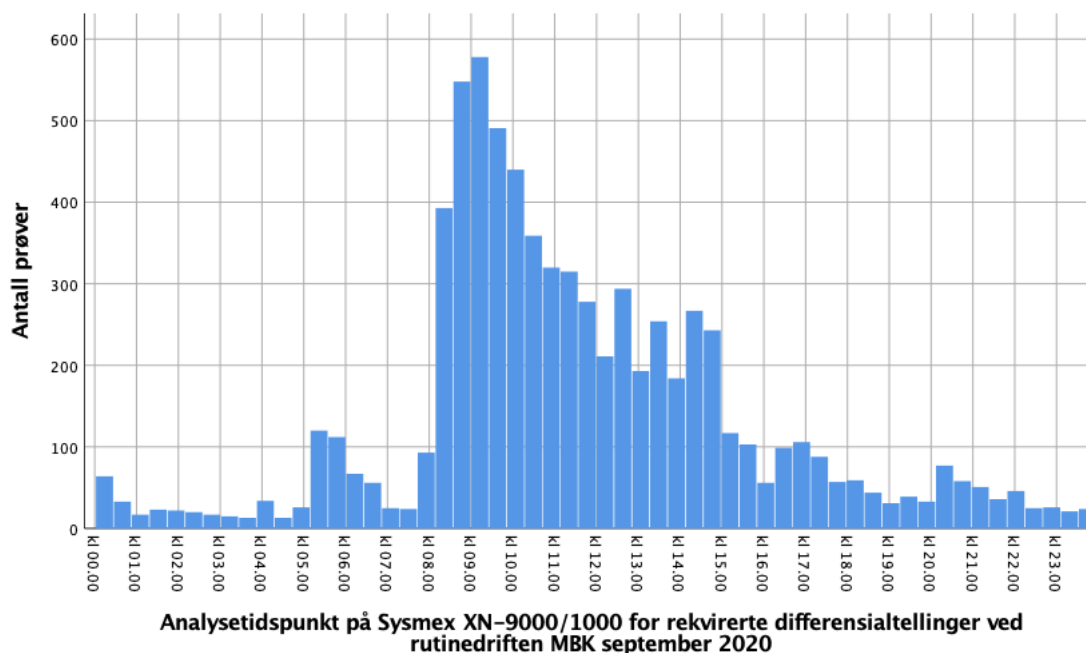
4.1.1 Analysetidspunkt og kategorisering av blodutstryk på CellaVision® DC-1

328 pasienter som oppfylte alle inklusjonskriterier, ble inkludert i studien fra september 2020 - desember 2020.

Blodprøvene ble analysert på Sysmex XN-9000/1000 på dagtid (figur 12). Blodprøvene inkludert i studien hadde relativt lik døgnfordeling som rekvirerte differensialtelling ved rutinedriften til MBK september 2020 (figur 13).



Figur 12: Døgnfordeling av analysetidspunkt for blodprøver på Sysmex XN-9000/1000 inkludert i studien.



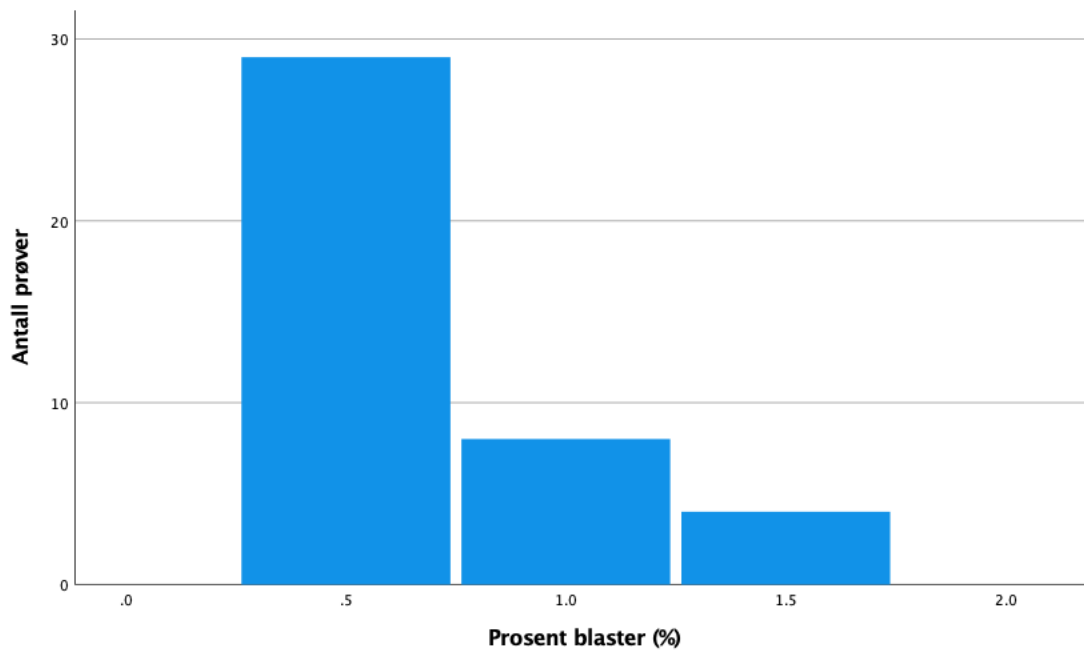
Figur 13: Døgnfordeling av analysetidspunkt ved rutinedriften MBK for blodprøver der differensialtelling var rekvirert på Sysmex XN-9000/1000 i september 2020. MBK=avdeling for medisinsk biokjemi.

Etter endelig kategorisering av blodutstryk på CellaVision® DC-1 viste fordelingen at 259 blodutstryk ikke hadde funn av blaster, 41 blodutstryk (12,5 %) hadde funn av minst en blast og 28 (8,5 %) blodutstryk ble kategorisert med funn som kan gi mistanke om hematologisk sykdom uten påviste blaster (tabell 6).

Tabell 6: Oversikt over endelig kategorisering av blodprøver etter vurdering av blodutstryk på CellaVision® DC-1.

Kategori	Antall prøver
1. Ingen funn av blaster	259 (79 %)
2. Funn av sikre blaster	41 (12,5 %)
4. Funn som kan gi mistanke om hematologisk sykdom uten påviste blaster	28 (8,5 %)
Totalt	328

For de 41 blodutstrykene med funn av blaster, var maksimum prosentandel på 1,5 % blaster (figur 14). I underkant av 30 blodutstryk hadde 0,5 % blaster.



Figur 14: Oversikt over prosent blaster for prøver med funn av blaster i blodutstryk på CellaVision® DC-1.

4.1.2 Oversikt over rekvirenter og fagområder

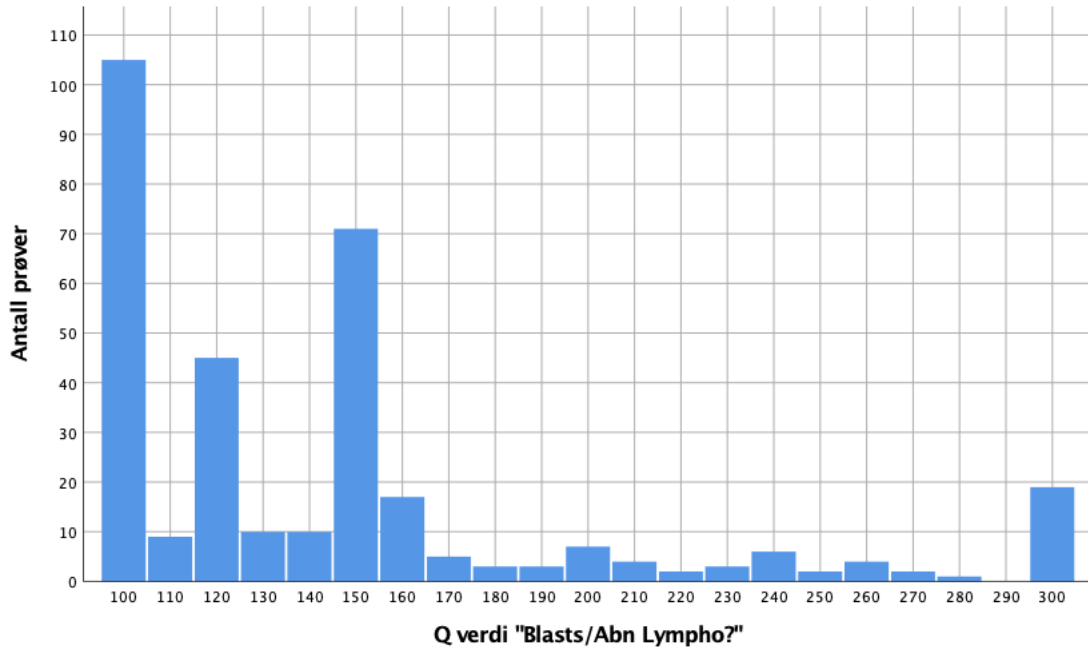
Pasienter inkludert i studien kom fra en rekke ulike rekvirenter og fagområder (tabell 7). 165 pasienter var tilknyttet rekvirenter fra sengeposter og 163 pasienter var tilknyttet rekvirenter fra poliklinikker. 138 pasienter kom fra onkologiske rekvirenter, noe som utgjorde en andel på 42 %. Til sammenligning var 8 % av alle rekvirerte analyser på WBC fra onkologisk poliklinikk i inkluderingsperioden. Totalt 69 pasienter hadde funn av blaster eller mistanke om annen hematologisk sykdom uten påviste blaster i blodutstryk. Prosent som oppgis i tabell 7 gjenspeiler antall pasienter med funn basert på antall pasienter per rekvirent og fagområde. For pasienter med funn av blaster kom 16 pasienter (39 %) av pasientene fra onkologiske rekvirenter. Derimot hadde kun 12 % av totalt antall onkologiske pasienter funn av blaster i blodutstryk, mens 3 % hadde mistanke om annen hematologisk sykdom uten påviste blaster. Pasienter fra infeksjonsmedisinske rekvirenter utgjorde 20 % av kategori 2 og 25 % av kategori 4. Til sammenligning var 3 % av alle rekvirerte analyser på WBC fra infeksjonsmedisin i inkluderingsperioden. Pasienter inkludert fra thoraxkirurgi, hadde funn i blodutstryk i henholdsvis kategori 2 og kategori 4. 50 % av pasientene fra Olafiaklinikken hadde blaster i blodutstryk.

Tabell 7: Oversikt over antall pasienter inkludert i studien per fagområde/revkirent og antall blodutstryk med funn av sikre blaster og funn som kan gi mistanke om hematologisk sykdom uten påviste blaster per fagområde/revkirent. Oppgitt prosent er beregnet ut ifra totalt antall pasienter per fagområde/revkirent.

Fagområde/ revkirent	Antall prøver inkludert i studien		Antall prøver etter kategorisering på CellaVision® DC-1	
	Sengepost	Poliklinikk	Funn av sikre blaster	Funn som kan gi mistanke om hematologisk sykdom uten påviste blaster
Kirurgi				
Gastrokirurgi	2	1	2 (67 %)	
Thoraxkirurgi	2		1 (50 %)	1 (50 %)
Ortopedi	2			
Nevrokirurgi	1			
Medisin				
Akuttmedisin observasjons- post	7			2 (29 %)
Gastromedisin	6	6	3 (25 %)	1 (8 %)
Hjertemedisin	2			
Infeksjons- medisin	42	19	8 (13 %)	7 (11 %)
Lungemedisin	5	6	1 (9 %)	
Generell indremedisin	13		4 (31 %)	
Nyremedisin	11	1		2 (17 %)
Intensiv				
Medisinsk intensiv	15			4 (27 %)
Generell intensiv	1			
Nevrointensiv	3			
Postoperativ	2			1 (50 %)
Hjerteintensiv	4			1 (25 %)
Annet				
Akuttmottak	18		3 (17 %)	3 (17 %)
Psykiatri	4		1 (25 %)	
Onkologi	22	116	16 (12 %)	4 (3 %)
Nevrologi	2	10		2 (17 %)
Føde og gynekologi	1			
Olafiaklinikken		4	2 (50 %)	
Antall	165	163	41	28
Totalt antall		328		69

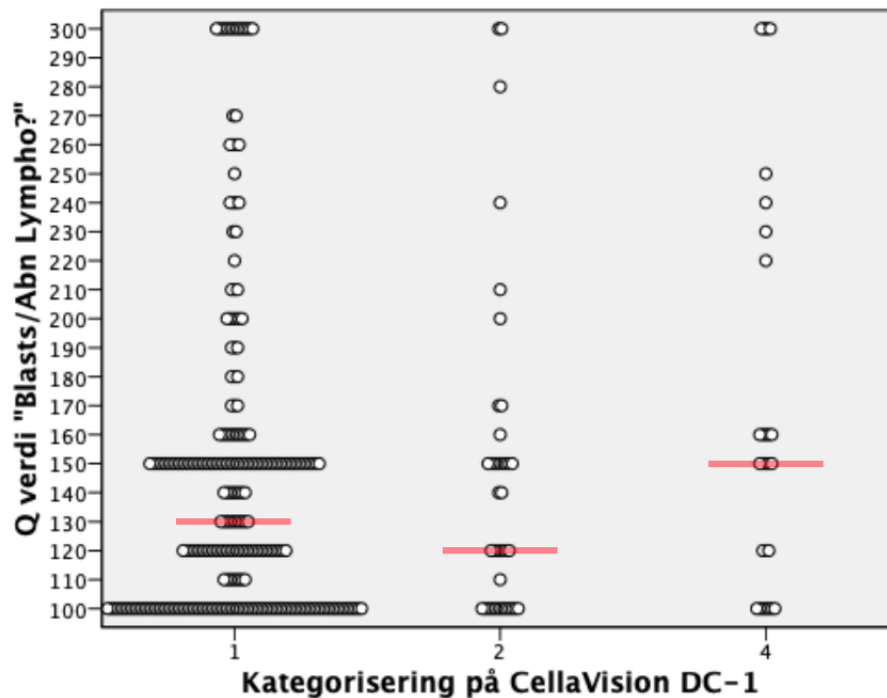
4.1.3 Q verdi fra WDF kanalen gruppert på kategorier

Q verdi for «Blasts/Abn Lympho?» flagget fra WDF kanalen på Sysmex XN-9000/1000 for inkluderte blodprøver, hadde en median på 130 (figur 15).



Figur 15: Q verdi for «Blasts/Abn Lympho?» flagget fra WDF kanalen på Sysmex XN-9000/1000 for blodprøver inkludert i studien.

Q verdi for kategori 2, sikre funn av blaster, hadde en median på 120, noe som var lavere enn i kategori 1 og kategori 4 med henholdsvis 130 og 150 i median (figur 16). For «Blasts/Abn Lympho?» flagget var det en signifikant forskjell i rapporterte Q verdier mellom prøver i kategori 1 og kategori 4 ($p=0,033$) med Mann-Whitney test.



Figur 16: Fordeling av Q verdi fra «Blasts/Abn Lympho?» flagget fra Sysmex XN-9000/1000 for kategori 1, 2 og 4 fra kategorisering på CellaVision® DC-1. Rød strek representerer median.

4.1.4 Beskrivelse av kategorier av funn i blodutstryk

Kategori 4 ble benyttet i tilfeller hvor det var funn i blodutstryk, som kunne gi mistanke om hematologisk sykdom uten påviste blaster. De vanligste funnene i blodutstryk var kjerneskygger, NRBC, lymfocytose eller monocytose, spesielle monocytter, lymfocytter og/eller nøytrofile granulocytter og plasmaceller. De vanligste kliniske mistankene var KLL, KML og myelomatose.

Deskriptiv statistikk vist for kategori 1, 2 og 4 fra CellaVision® DC-1 i tabell 8 og viser ingen tydelig forskjell mellom de tre ulike kategoriene for noen av variablene. Tabellen viser median, minimumsverdi og maksimumsverdi for hematologiske parametere, prosent blaster, antall preklassifiserte blaster og alder. Alle tre kategoriene viser høy spredning, med lave minimumsverdier og høye maksimumsverdier for leukocytter og trombocytter. For hemoglobin hadde alle tre kategoriene lave minimumsverdier både for menn og kvinner. Kategori 1 og kategori 4 hadde preklassifiserte blaster, som ble reklassifisert til andre celleklasser under vurdering av blodutstryk. Alder for pasienter i kategori 2 og 4 var omtrent lik.

Tabell 8: Deskriptiv statistikk av kategori 1, 2 og 4 fra CellaVision® DC-1. Data er presentert med median (minimumsverdi - maksimumsverdi) for hemoglobin, totalt antall leukocytter, trombocytter, prosent blaster (%), preklassifiserte blaster og alder.

	Kategori 1. Ingen funn av blaster	Kategori 2. Funn av sikre blaster	Kategori 4. Funn som kan gi mistanke om hematologisk sykdom uten påviste blaster
HGB (g/dL)	12,0 (5,9 - 18,4)	12,3 (6,7 - 16,8)	11,0 (6,7 - 14,3)
WBC (10⁹/L)	6,5 (0,21 - 34,9)	6,1 (0,62 - 31,4)	5,6 (1,13 - 79,9)
PLT (10⁹/L)	233 (12 - 968)	229 (31 - 400)	198 (23 - 270)
Prosent blaster (%)	0 (0 - 0)	0,5 (0,5 - 1,5)	0 (0 - 0)
Preklassifiserte blaster	0 (0 - 1)	1 (0 - 7)	0 (0 - 1)
Alder (år)	Data ikke tilgjengelig	61 (26 - 87)	66 (23 - 95)

HGB= hemoglobin. WBC= totalt antall leukocytter. PLT= trombocytter.

4.2 Funns etter oppslag i journal og diagnoser for pasienter med klinisk betydning

For å vurdere den kliniske betydningen av funn av blaster i blodutstryk hos sykehuspasienter, ble det foretatt oppslag i journal fra innsamlingstidspunkt til oppslagstidspunkt. Oppslag i journal ble gjennomført av medisinstudent (M.M) januar 2021, altså en til fire måneder etter inklusjon, for prøver i kategori 2 og 4.

Etter oppslag i journal viste det seg at 12 pasienter allerede hadde kjent hematologisk sykdom (tabell 9). 53 pasienter hadde usikker betydning og for to pasienter kunne ikke klinisk betydning fastsettes. For kun to pasienter ble det påvist at funn i blodutstryk kunne være av klinisk betydning, en i kategori 2 og en i kategori 4.

Tabell 9: Kategorisering av klinisk betydning etter oppslag i journal for pasienter med funn av blaster og mistanke om annen sykdom uten påviste blaster fra CellaVision® DC-1.

Kategori	Kategori 2 fra CellaVision® DC-1	Kategori 4 fra CellaVision® DC-1	Totalt
1a. Ingen betydning. Allerede kjent hematologisk sykdom	3	9	12
1b. Usikker betydning. Hematologisk sykdom ikke diagnostisert under sykehusopphold.	35	18	53
2. Klinisk betydning. Hematologisk diagnose, tilbakefall eller progresjon av hematologisk diagnose har blitt oppdaget i blodutstryk.	1	1	2
Klinisk betydning ikke fastsatt	2		2
Totalt	41	28	69

Ingen av de to pasientene hvor det ble fastsatt en klinisk betydning hadde fått laget blodutstryk ved rutinedriften (tabell 10). Begge pasientene fikk diagnoser uavhengig av funn og vurderinger fra blodutstryk i studien. Pasient 1 var en mann i 70 årene fra medisinsk sengepost med kjent hematologisk sykdom (plasmocytom). Blodprøven inkludert i studien var tatt en dag etter innleggelse. Pasienten hadde Q verdi 300 på «Blasts/Abn Lympho?» flagget fra WDF kanalen. Etter reanalysering på WPC kanalen fikk pasienten Q verdi 0 for «Blasts?» flagget og Q verdi 300 for «Abn Lympho?» flagget. Kun 0,5 % blaster ble funnet i blodutstryk, som var preklassifisert på CellaVision® DC-1. Hematologiske parametere fra Sysmex XN var alle utenfor referanseintervallet. Pasient 2 var en kvinne i 70 årene fra onkologisk poliklinikk uten kjent hematologisk sykdom. Blodprøven inkludert i studien var tatt samme dag som innleggelse. Pasienten hadde Q verdi 100 på «Blasts/Abn Lympho?» flagget fra WDF kanalen. Etter reanalysering på WPC kanal fikk pasienten Q verdi 0 for «Blasts?» og «Abn Lympho?» flaggene. Funn i blodutstryk var NRBC, kjerneskygger og spesielle lymfocytter. Både trombocytter og hemoglobin var utenfor referanseintervallet, mens leukocytter var innenfor. Begge pasientene fikk diagnosen myelomatose, henholdsvis 32 dager etter innleggelse for pasient 1 og 10 dager etter innleggelse for pasient 2.

Tabell 10: Oversikt over funn for pasienter med klinisk betydning fra oppslag i journal.

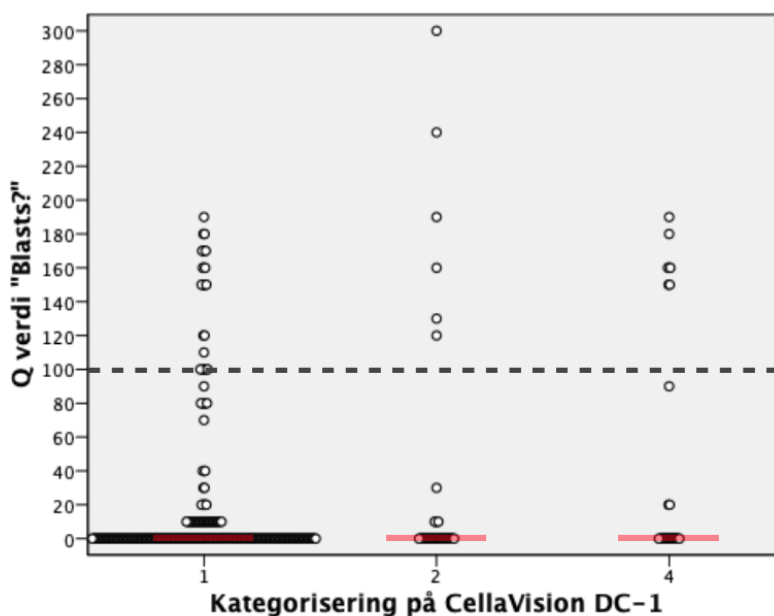
	Utstryk laget i rutine-drift	Q verdi «Blasts/Abn Lympho?»	Q verdi «Blasts?»	Q verdi «Abn Lympho?»	Funn i blodutstryk	Diagnose	HGB (g/dL)	WBC (10 ⁹ /L)	PLT (10 ⁹ /L)
Pasient 1 (Kategori 2)	Nei	300	0	300	0,5 % blaster	Myelomatose	7,8	0,75	87
Pasient 2 (Kategori 4)	Nei	100	0	0	NRBC, kjerne-skygger, spesielle lymfocytter	Myelomatose	9,6	9,69	63

HGB= hemoglobin. WBC= totalt antall leukocytter. PLT= trombocytter.

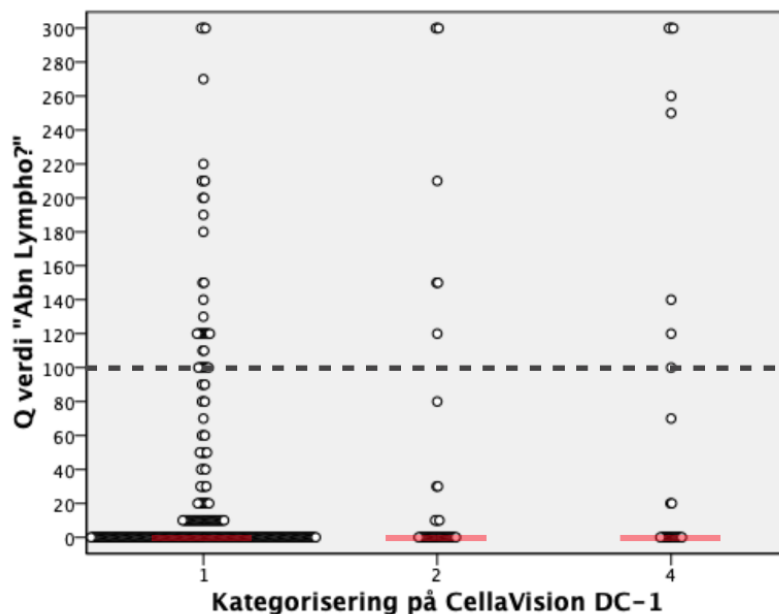
4.3 Metoder for å redusere antall unødvendige blodutstryk som må vurderes

4.3.1 WPC kanal gruppert for kategorier av funn i blodutstryk

Blodprøvene ble reanalysert på WPC kanalen på Sysmex XN-9000 for å undersøke kanalens evne til å redusere falske positive Q verdier fra WDF kanalen (30). En stor andel av blodprøvene fikk ikke utslag på «Blast?» og «Abn Lympho?» flaggene fra WPC kanalen, hvor terskelverdi var 100 (figur 17 og figur 18). For kategori 1, 2 og 4 for «Blasts?» og «Abn Lympho?» flaggene var medianen for Q verdiene 0.



Figur 17: Fordeling av Q verdi fra «Blasts?» flagget fra reanalysering på WPC kanal på Sysmex XN-9000 for kategori 1, 2 og 4 fra kategorisering på CellaVision® DC-1. Rød strek representerer median. Stiplet linje representerer terskelverdi på 100 for Q verdi.

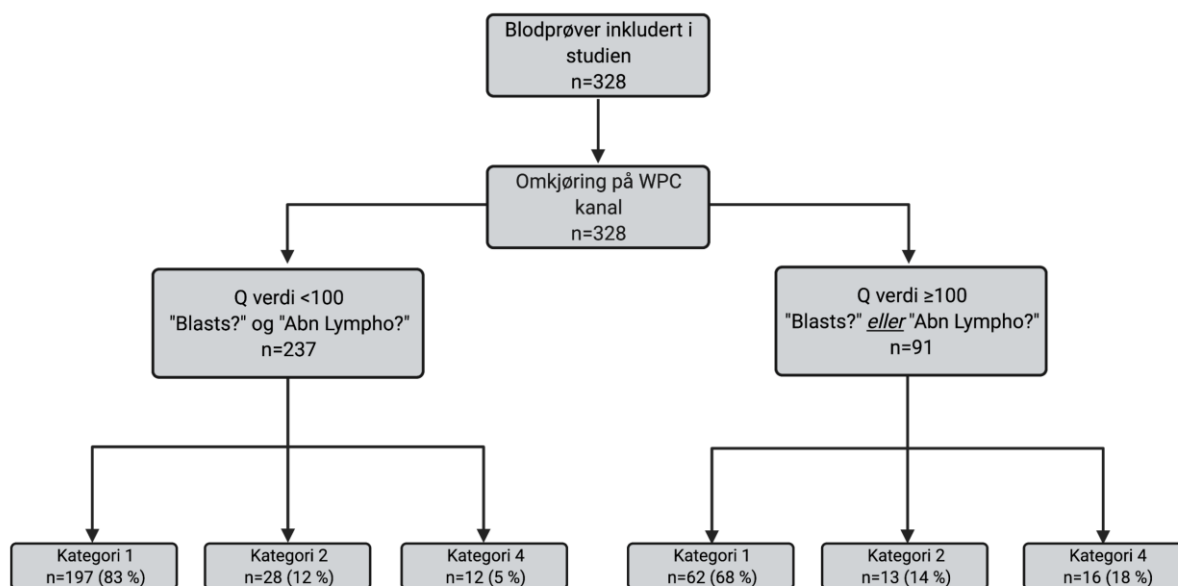


Figur 18: Fordeling av Q verdi fra «Abn Lympho?» flagget fra reanalysering på WPC kanal på Sysmex XN-9000 for kategori 1, 2 og 4 fra kategorisering på CellaVision® DC-1. Rød strek representerer median. Stiplet linje representerer terskelverdi på 100 for Q verdi.

For «Blasts/Abn Lympho?» flagget var det ingen signifikant forskjell i rapporterte Q verdier mellom prøver i kategori 1, 2 og 4 med Mann-Whitney test.

Etter reanalysering på WPC kanalen viser det seg at for de totalt 69 prøvene i kategori 2 og 4, var det 28 blodprøver (41 %) med funn av blaster i blodutstryk og 12 blodprøver (17 %) med mistanke om annen hematologisk sykdom uten påviste blaster, som ikke fikk flagg for «Blasts?» eller «Abn Lympho?» (figur 19). Kun 13 (14 %) blodprøver med funn av blaster i blodutstryk og 16 (18 %) blodprøver med mistanke om annen hematologisk sykdom uten påviste blaster, fikk flagg med Q verdi ≥ 100 for «Blasts?» eller «Abn Lympho?».

Prosentandel i kategori 2 med Q verdi < 100 eller Q verdi ≥ 100 var omtrentlig lik med henholdsvis 12 % og 14 %.



Figur 19: Q verdi fra WPC kanal med flaggene «Blasts?» og «Abn Lympho?» sortert på kategori 1, 2 og 4 etter funn i blodutstryk på CellaVision® DC-1. WPC= White precursor cell (WPC) kanal. Utformet med BioRender.com.

Sensitivitet, spesifisitet, positiv prediktiv verdi og negativ prediktiv verdi for Q verdiene fra reanalysering på WPC kanalen for kategori 2 og kategori 2 og 4 sammenlagt, er vist i tabell 11. Både for kategori 2 og kategori 2 og 4 sammenlagt er beregnet sensitivitet for WPC kanalen lav.

Tabell 11: Sensitivitet, spesifisitet, positiv prediktiv verdi og negativ prediktiv verdi beregnet for reanalysering på WPC fra Sysmex XN-9000 vist for kategori 2 og kategori 2 og 4 sammenlagt etter kategorisering på CellaVision® DC-1.

	Kategori 2	Kategori 2 og 4
Sensitivitet	32 %	42 %
Spesifisitet	73 %	76 %
Positiv prediktiv verdi	14 %	32 %
Negativ prediktiv verdi	88 %	83 %

4.3.2 Preklassifisering av blaster med CellaVision® DC-1

41 blodutstryk hadde funn av blaster og 287 blodutstryk hadde ingen funn av blaster etter reklassifisering på CellaVision® DC-1 (tabell 12). 27 blodutstryk hadde blaster preklassifisert fra CellaVision® DC-1. Fem blodutstryk hadde preklassifiserte blaster som ble reklassifisert til andre celleklasser under bedømmelse av blodutstryk. Blaster ble funnet i blodutstryk av student og lege i 19 blodutstryk som ikke hadde blitt preklassifisert av CellaVision® DC-1.

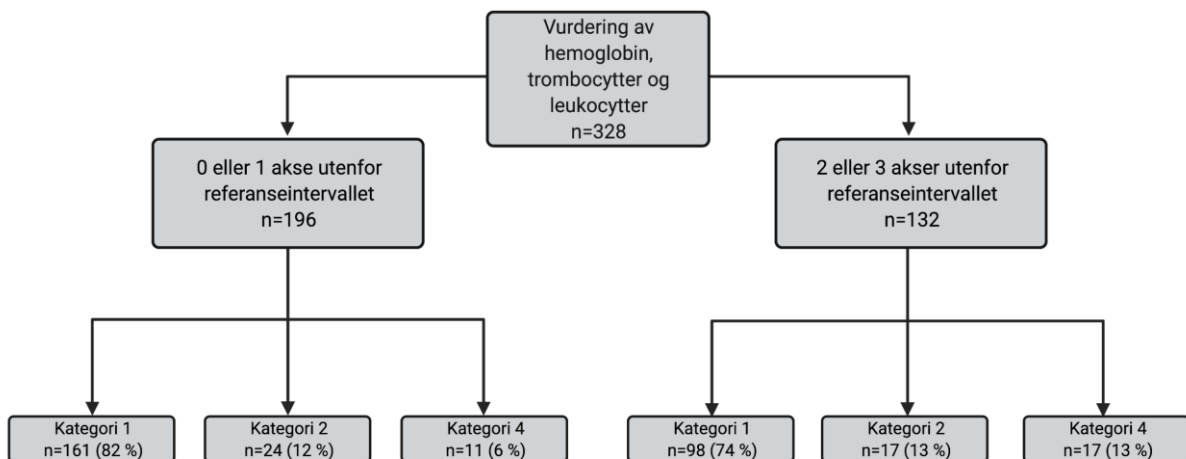
282 blodutstryk hadde ikke preklassifiserte blaster og ingen blaster ble funnet i blodutstryk under reklassifiseringen. Preklassifiseringen til CellaVision® DC-1 hadde sensitivitet på 53 %, spesifisitet på 98 %, positiv prediktiv verdi på 81 % og negativ prediktiv verdi på 94 %.

Tabell 12: Oversikt mellom preklassifiserte blaster og reelle blaster i funn av blodutstryk etter kategorisering på CellaVision® DC-1.

	Preklassifisert blast på CellaVision® DC-1	Ikke preklassifisert blast på CellaVision® DC-1	Totalt
Blaster (Kategori 2)	22	19	41
Ikke blaster (Kategori 1 og 4)	5	282	287
Totalt	27	301	328

4.3.3 Bruk av resultater for leukocytter, hemoglobin og trombocytter til å vurdere laging av blodutstryk

Ved bruk av «aksesystemet» ser vi at for de totalt 69 prøvene i kategori 2 og 4 var det 24 (35 %) av blodprøvene i kategori 2 og 11 (16 %) av blodprøvene i kategori 4, som hadde ingen eller en akse utenfor referanseintervallet for leukocytter, hemoglobin og trombocytter (figur 20). Kun 17 (13 %) blodprøver i kategori 2 og 17 (13 %) blodprøver i kategori 4 hadde to eller tre akser utenfor referanseintervallet. 98 (74 %) blodprøver i kategori 1, hadde to eller tre akser utenfor referanseintervallet.



Figur 20: Vurdering av hemoglobin, trombocytter og leukocytter med «aksessystemet» på inkluderte blodprøver i studien, fordelt på null eller en akse utenfor referanseintervallet og to eller tre akser utenfor referanseintervallet, sortert på kategorisering på CellaVision® DC-1. Uformet med BioRender.com.

Sensitivitet, spesifisitet, positiv prediktiv verdi og negativ prediktiv verdi for aksessystemet for kategori 2 og kategori 2 og 4 sammenlagt fra vurdering av hemoglobin, trombocytter og leukocytter ble beregnet (tabell 13). Kategori 2 alene hadde høyere negativ prediktiv verdi, mens kategori 2 og 4 sammenlagt hadde høyere positiv prediktiv verdi, sensitivitet og spesifisitet.

Tabell 13: Sensitivitet, spesifisitet, positiv prediktiv verdi og negativ prediktiv verdi for kategori 2 og kategori 2 og 4 sammenlagt fra kategorisering på CellaVision® DC-1 ved bruk av «aksessystemet» med hemoglobin, trombocytter og leukocytter.

	Kategori 2	Kategori 2 og 4
Sensitivitet	41 %	49 %
Spesifisitet	60 %	62 %
Positiv prediktiv verdi	13 %	25 %
Negativ prediktiv verdi	88 %	82 %

4.4 Hvor mange blodutstryk ville blitt laget ved rutinedriften dersom man fulgte internasjonale og nasjonale anbefalinger?

I august 2020 og september 2020 ble 14255 prøver fra unike pasienter analysert ved Sysmex XN-9000/1000 på MBK, Ullevål. 4295 unike pasienter hadde totalt 7886 blodprøver som ble analysert på Sysmex XN-9000/1000 innenfor måleperioden. Av de 7886 blodprøvene i

måleperioden hadde anbefalingene fra ISLH varsel 533 (6,76 %) ganger for 439 (5,6 %) unike pasienter og anbefalingene fra Noklus 320 (4,06 %) ganger for 239 (3,0 %) unike pasienter (tabell 14). Blast flaggene, fra WDF og/eller WPC kanalen, ga 153 varsler med Noklus anbefalingene med kun Q verdi ≥ 100 som kriterium og 90 varsler med ISLH anbefalingene med Q verdi ≥ 100 og «første gang» som kriterium. NRBC utgjorde en stor andel av varslene på ISLH anbefalingene, men hadde «påvist» som kriterium i anbefalingene, noe som tilsier at svært lave verdier av NRBC slo ut som varsel. Ved beregning av anbefalingene kunne ikke kvinner med hemoglobin fra 17,3 g/dL til 19 g/dL beregnes. Det er usikkert hvordan dette har påvirket beregningene, men det kan ha medført en liten underestimering av antall varsler for ISLH anbefalingene.

Tabell 14: Antall varsler på anbefalinger fra Norsk kvalitetsforbedring av laboratorieundersøkelser (Noklus) Noklus og International Society for Laboratory Hematology (ISLH). Oppgitt prosent er andel av de 7886 blodprøvene totalt for alle 4295 pasientene i løpet av måleperioden.

Parameter	Norsk kvalitetsforbedring av laboratorieundersøkelser (Noklus)	International Society for Laboratory Hematology (ISLH)
	Antall pasienter med varsel	Antall pasienter med varsel
Fullstendig blodtelling		
WBC ($10^9/L$)	6 (0,08 %)	6 (0,08 %)
PLT ($10^9/L$)	3 (0,04 %)	3 (0,04 %)
HGB* (g/dL)	-	2 (0,03 %)
MCV (fL)	-	64 (0,81 %)
RDW (% CV)	32 (0,41 %)	11 (0,14 %)
Differensialtelling av leukocytter		
Lymfocytter ($10^9/L$)	10 (0,13 %)	10 (0,13 %)
Monocytter ($10^9/L$)	30 (0,38 %)	30 (0,38 %)
Nøytrofile granulocytter ($10^9/L$)	15 (0,19 %)	15 (0,19 %)
Eosinofile granulocytter ($10^9/L$)	1 (0,01 %)	1 (0,01 %)
Basofile granulocytter ($10^9/L$)	1 (0,01 %)	0 (0 %)
Umodne granulocytter (%)	22 (0,28 %)	-
Kjerneholdige erythrocytter (%)	7 (0,09 %)	207 (2,62 %)
Retikulocytter ($10^9/L$)	-	27 (0,34 %)
Flagg**		
RBC fragmenter	20 (0,25 %)	20 (0,25 %)
PLT aggregater	-	41 (0,52 %)
Atypiske lymfocytter	20 (0,25 %)	6 (0,08 %)
Blast	153 (1,94 %)	90 (1,14 %)
Antall unike pasienter	239 (3,0 %)	439 (5,6 %)
Totalt antall varsler	320 (4,06 %)	533 (6,76 %)

*Felles referanseintervall for menn og kvinner. **Alle flagg er assosiert med Q verdi ≥ 100 .
WBC= totalt antall leukocytter. PLT= trombocytter. HGB= hemoglobin. MCV= mean corpuscular volume. RDW= red cell distribution width. RBC= erythrocytter.

5. Diskusjon

I denne studien undersøkte vi problemstillingen «hva er den kliniske nytteverdien av å følge opp flagg om mulig tilstedeværelse av blaster?». Etter oppslag i journal viste det seg at mange pasienter allerede hadde kjent hematologisk sykdom og for kun to av 328 pasienter ble det påvist at funnene i blodutstryk kunne være av klinisk betydning. Disse ble imidlertid fanget opp av behandlende lege, uten at det var sendt ut beskrivelse av blodutstryk fra laboratoriet. Både WPC kanalen, preklassifiseringen på CellaVision® DC-1 og «aksesystemet» viste lav sensitivitet. 12,5 % av blodutstrykene hadde funn av blaster, noe som var forventet andel ut ifra en tidligere studie, men ingen av blodprøvene hadde funn av mer enn 1,5 % blaster i blodutstryk (47).

5.1 Har funn av blaster i blodutstryk klinisk nytteverdi?

Det ble gjennomført oppslag i journal for å vurdere den kliniske betydningen av funn av blaster eller mistanke om annen hematologisk sykdom uten påviste blaster i blodutstryk. Ut ifra vår kjennskap finnes det ingen tidligere studier som har undersøkt den kliniske betydningen. En mulig relevant klinisk betydning ble funnet for to pasienter, hvor en var nyoppstått hematologisk sykdom og en var progresjon av kjent hematologisk sykdom. Tilstandene ble imidlertid oppdaget av rekvirent uavhengig av våre funn. Pasient 1 hadde kun 0,5 % blaster i blodutstryk, det vil si kun en enkelt blast på 200 klassifiserte celler og fikk diagnosen myelomatose. Pasienten hadde en rekke bidiagnoser, deriblant bakterielle- og virale infeksjoner hvor blaster kan forekomme (12). Dette kan indikere at funn av en blast ikke var direkte relatert med diagnosen myelomatose. Pasient 2 hadde NRBC, kjerneskygger og spesielle lymfocytter i blodutstryk. Funn av NRBC i perifert blod kan tyde på malignitet eller sykdom knyttet til beinmarg, men er heller ikke uvanlig ved alvorlig ikke-hematologisk sykdom (48-50). Blodprøvene ble tatt henholdsvis ved innkomst og en dag etter innleggelse og pasientene fikk diagnose etter 32 dager og 10 dager. Det kan tenkes at rapportering av funn i blodutstryk til rekvirent hadde forkortet tiden til fastsatt diagnose, men det er høyst usikkert om forkortning av tid ville hatt betydning for pasientenes sykdomsforløp. Samlet sett betyr det dessuten at liknende funn hos andre pasienter også måtte blitt rapportert til rekvirent. Sammenlignet med dagens rutiner på MBK, Ullevål, ville dette medført et økt ressursbehov for vurdering av blodutstryk. Det kunne også medført unødvendige undersøkelser for pasientene med ingen eller usikker klinisk betydning.

For 53 pasienter fant vi ingen kjent eller nyoppstått hematologisk sykdom etter oppslag i journal. For hver enkelt av disse ble det etter helhetsvurdering, av lege ved MBK, Ullevål, ikke sendt melding om funn til rekvirent i henhold til vanlige rutiner på laboratoriet. Begrunnelser for dette var at hematologisk utredning allerede var igangsatt og/eller ut fra helhetsvurdering ble det vurdert at reaktiv tilstand var betydelig mer sannsynlig enn hematologisk sykdom. Vurderingen støttes av at da det ble foretatt oppslag i journal, hadde det for de fleste av pasientene allerede gått noen uker eller måneder uten at det hadde blitt påvist hematologisk sykdom. Funn av lave konsentrasjoner av blaster i perifert blod (0,11 %) er beskrevet hos friske mennesker (16). I de 35 prøvene med usikker betydning og funn av blaster, var andelen blaster lav. En del pasienter hadde sykdommer eller tilstander hvor blaster i perifert blod kan forekomme, blant annet sepsis eller andre bakterielle- og virale infeksjoner, behandling med kjemoterapi og Chrons sykdom. Det er naturlig å tro at en form for akutt eller kronisk leukemi eller annen alvorlig hematologisk sykdom, hadde gitt høyere andel blaster i blodutstryk. Nytt oppslag i journal og uthenting av diagnoser fra Norsk pasientregister (NPR) vil bli gjennomført minimum seks måneder etter inklusjon i studien for å kartlegge eventuelle nye hematologiske diagnoser. Etter erfaringer fra legene tilhørende studien, forventes det imidlertid ikke flere hematologiske diagnoser etter seks måneder.

Rapportering av varsler eller flagg og undersøkelse av blodutstryk til rekvirent kan ha negative og positive konsekvenser. Anbefalingene fra ISLH diskuterer i liten eller ingen grad de potensielle negative konsekvensene ved å følge opp «Blasts/Abn Lympho?», «Blasts?» flagg og lignende flagg fra andre instrumenter, heretter kalt blast flagg. Oppfølging av blast flagg kan potensielt medføre tidligere diagnose for pasient. Vår erfaring er imidlertid at disse tilfellene er sjeldne i forhold til antall blodutstryk som vurderes i rutinen, noe som passer med funnene i vår studie. Fra et annet perspektiv er det en mulighet at varsler om funn av blaster i blodutstryk kan medføre unødvendige undersøkelser som beinmargsprøve, radiologiske undersøkelser eller ulike blodprøver (51).

På den ene siden kan det være hensiktsmessig at laboratoriet på egenhånd initierer utredning og vurderer blodutstryk, men det er usikkert om rapportering av funn fører til et bedre utfall for pasienten. Ved å følge internasjonale og nasjonale anbefalinger er det nødvendig å ha morfologisk kompetanse tilgjengelig 24 timer i døgnet, noe vårt laboratorium ikke har (41).

Generelt er det vanlig at det er rekvirenten som bestiller laboratorieundersøkelser. I en del tilfeller bestiller imidlertid ansatte på laboratoriet på eget initiativ supplerende undersøkelser ved reflekstesting eller reflektiv testing, som er to komplementære strategier (52).

Reflekstesting kan være tidsbesparende og effektivt og reflektiv testing er en nyttig måte å forbedre prosessen med diagnostisering av pasienter (53-55). Reanalysering på WPC kanal, vurdering av «aksesystemet» og blast flagg som utløser blodutstryk, er alle eksempler på reflekstesting. På Sysmex XN er det satt fra produsenten at prøver med Q verdi ≥ 100 på WDF kanalen automatisk reanalyseres på WPC kanalen, men dette benyttes ikke ved MBK, Ullevål. Vurdering av spredningsdiagram, rekvirent og tidligere prøver, slik som i Noklus anbefalingene, er et eksempel på reflektiv testing. Når den reflektive testen har åpenbar relevanse til den initiale testen(e), kan ytterligere tester gjennomføres uten å nødvendigvis kontakte rekvirent eller pasient (56).

Oppfølging av blast flagg på initiativ fra laboratoriet kan ses på som å flytte mer av ansvaret for utredning av pasienter over til laboratoriet. Hvis laboratoriet relativt ofte rapporterer ut kommentarer om mulige blaster i blodutstryk som laboratoriet selv har bestilt, kan det oppfattes av rekvirent som at de ikke behøver å bestille blodutstryk ved mistanke om for eksempel leukemi. Ved vurdering av spredningsdiagram og blast flagg har laboratoriet noe mer kunnskap om prøvene enn det som formidles til rekvirentene gjennom de ordinære prøvesvarene fra hematologiinstrumentet. Rekvirenten har imidlertid også mye av informasjonen som er tilgjengelig for laboratoriet, i tillegg til å kjenne pasientens sykehistorie og preferanser. Ut fra dette er det ikke åpenbart at det alltid vil være en fordel at laboratoriet utreder blast flagg. Selv laboratorier som velger å følge opp blast flagg i liten grad vil nok imidlertid i noen tilfeller anse det som hensiktsmessig å vurdere blodutstryk på eget initiativ, eventuelt etter å ha kontaktet rekvirenten. Vurdering av blodutstryk er uansett nødvendig i en del tilfeller for å kunne vurdere om differensialtellingen kan utgis til rekvirent. Det er viktig å finne en balansegang som passer laboratoriet og sykehuspopulasjonen og ha klare avtaler med rekvirentene.

Dersom vi ser på det juridiske står det i helsepersonelloven §7 «Helsepersonell skal straks gi den helsehjelp de evner når det må antas at hjelpen er påtrengende nødvendig.» og § 4 «Helsepersonell skal utføre sitt arbeid i samsvar med de krav til faglig forsvarlighet og omsorgsfull hjelp som kan forventes ut fra helsepersonellets kvalifikasjoner, arbeidets karakter og situasjonen for øvrig. Helsepersonell skal innrette seg etter sine faglige

kvalifikasjoner, og skal innhente bistand eller henvise pasienter videre der dette er nødvendig og mulig. Dersom pasientens behov tilsier det, skal yrkesutøvelsen skje ved samarbeid og samhandling med annet kvalifisert personell.» (57). Samtidig sier også helsepersonelloven § 6 «Helsepersonell skal sørge for at helsehjelpen ikke påfører pasient, helseinstitusjon, trygden eller andre unødvendig tidstap eller utgift.» Lovverket kan dermed forplikte til oppfølging av alvorlige funn, men samtidig skal man ikke utføre noe som kan føre til unødvendig ressursbruk. Sannsynligvis vil få personer vurdere et blast flagg alene som alvorlig nok til at det utløser en plikt til oppfølging. Derimot kan det i kombinasjon med andre varsler og flagg fra instrumentet likevel føre til at det lages blodutstryk (58). I pasient- og brukerrettighetsloven §3-1 står det «Pasient eller bruker har rett til å medvirke ved gjennomføring av helse- og omsorgstjenester. Pasient eller bruker har blant annet rett til å medvirke ved valg mellom tilgjengelige og forsvarlige tjenesteformer og undersøkelses- og behandlingsmetoder.» (59). Dette kan potensielt løses dersom rekvirenten er klar over at laboratoriet kan komme til å utføre vurdering av blodutstryk ved bestilling av for eksempel differensialtelling og dermed har mulighet til å diskutere med pasienten på forhånd. Det er også mulig at laboratoriet kan utarbeide pasientrettet informasjonsmateriell.

5.2 Metoder for å effektivisere utvalget av prøver som vurderes med blodutstryk

Det ble i studien foreløpig ikke dokumentert noen åpenbar gevinst av å følge opp blast flaggene. Erfaring tilsier imidlertid at laboratoriet av og til får prøver, der det kan være viktig å varsle rekvirent om mulig hematologisk sykdom. Et forbedret prøveutvalg som følges opp med blodutstryk kan være viktig for å redusere bruk av ressurser, men også for å forhindre unødvendig varsling til rekvirent. Vi har undersøkt tre ulike metoder for å forbedre utvalget av prøver som undersøkes med blodutstryk på bakgrunn av «Blasts/Abn Lympho?» flagget. Samlet sett er det meningen at de tre metodene skal forbedre arbeidsflyt og effektivisere rutinedriften. Den tiltenkte bruken av WPC kanalen og «aksesystemet» er å redusere antall blodutstryk som må vurderes, mens den tiltenkte bruken av preklassifiseringen på CellaVision® DC-1 er å detektere blaster i prøven og presentere de for operatøren. Ingen av de tre metodene hadde tilstrekkelig sensitivitet og spesifisitet i vår studie.

WPC kanalens tiltenkte bruk er å fjerne falske positive flagg fra WDF kanalen, noe den også gjør i vår studie. WPC kanalen hadde en sensitivitet på 32 % for blodprøver med funn av blaster i blodutstryk. Flere studier som har undersøkt WPC kanalen, rapporterer varierende

sensitivitet og spesifisitet (27, 47, 60-64). Noen studier rapporterer høy sensitivitet og spesifisitet og påpeker at WPC kanalen øker effektiviteten (47, 60). En studie som rapporterte høy sensitivitet påpeker at 14 av 221 pasienter med hematologisk sykdom fikk falskt negativt flagg på WPC kanalen (29). Majoriteten av blodprøvene i vår studie var fra onkologiske rekvirenter, en gruppe pasienter som ofte har leukopeni. Dette kan ha påvirket resultatene fra WPC kanalen da studier har rapportert lav sensitivitet for WPC kanalen i blodprøver med lav andel blaster og/eller leukopeni, noe som kan gi usikre Q verdier (58, 62, 65). En grunn til at andre studier har rapportert høyere sensitivitet kan være at noen har brukt «Low WBC count» på instrumentet, noe som ikke ble benyttet i vår studie. «Low WBC count» tar høyde for at det er leukopeni og teller et høyere antall WBC (27, 47, 61). 69 av 329 pasienter i vår studie hadde leukopeni, og 47 av disse hadde ingen funn av blaster på CellaVision® DC-1.

«Aksesystemet» hadde en sensitivitet på 41 %. Pasienter fra onkologiske rekvirenter har ofte parameterne i «aksesystemet» utenfor referanseintervallet. Ettersom en høy andel av blodprøvene i vår studie kom fra onkologiske rekvirenter, kan det ha bidratt til lav spesifisitet i vår studie.

Preklassifiseringen på CellaVision® DC-1 i vår studie hadde en lavere sensitivitet enn andre studier har rapportert (36, 66-69). Det er veldokumentert at det kan være stor inter-observatør variasjon for klassifisering av blodceller i blodutstryk (70, 71). Vi kan derfor ikke utelukke at reklassifiseringen innebærer en overestimering av antall blaster, men også en annen studie rapporterer underestimering i preklassifiseringen (72). Dessuten var andel prøver med blaster vi fant omtrent som forventet sammenlignet med andre studier (23, 47, 73). En studie angir at vurdering av blodutstryk burde utføres med informasjon om hematologiske parametere og flagg fra hematologiinstrumentet (26). Alle blodutstryk ble vurdert uten informasjon om hematologiske parametere og Q verdi, noe som kan ha påvirket reklassifiseringen. En studie som undersøkte flagging viste at flere patologiske celler ble rapportert i tilfeller hvor informasjon om flagg var gitt (74, 75). En økning i en cellepopulasjon er ikke nødvendigvis korrelert med økning i WBC og informasjon om WBC er viktig for å kunne vurdere en prøve klinisk korrekt (19, 76). CellaVision® DC-1 rapporterer i prosent, noe en studie påpeker at har liten nytteverdi hvis det ikke kobles opp mot absolutte verdier (77). Vi var ikke blindet for preklassifiseringen fra CellaVision® DC-1 før reklassifiseringen. Dette er en stor svakhet når vi sammenligner reklassifiseringen med vår vurdering. Det er forventet at informasjon om

preklassifiseringen fører til et bedre utfall for reklassifiseringen, enn om informasjon om preklassifisering av blaster hadde vært utilgjengelig (36). Negativ prediktiv verdi var 94 %. På den ene siden indikerer det at preklassifisering på CellaVision® DC-1 kan bidra til å utelukke forekomst av blaster i blodutstryk til en viss grad, som også beskrevet i en annen studie (36). På en annen side tilsier sensitiviteten at man da vil gå glipp av omtrent halvparten av prøvene med blaster i blodutstryk.

Som nevnt er det lav andel blaster i prøvene og få prøver der vi har dokumentert klinisk betydning av funnene i blodutstryk. Dette kan ha påvirket hvordan de tre ulike metodene fremstår. Det er tenkelig at metodene ville fremstått bedre dersom det var flere prøver med høye andeler blaster i blodutstryk, flere pasienter med hematologisk sykdom og/eller flere friskere pasienter (for eksempel fra primærhelsetjenesten). Vi mener imidlertid at resultatene er relevante for vår rutinedrift og sannsynligvis for andre sykehuspopulasjoner.

Begge pasientene, hvor klinisk betydning ble funnet, ble plukket opp av «aksesystemet». Pasient 1 med 0,5 % blaster, hadde blastcellen preklassifisert på CellaVision® DC-1. Pasient 2 hadde ikke preklassifiserte blaster i blodutstryk. På WPC kanalen fikk begge pasientene 0 for «Blasts?» flagget og henholdsvis 300 og 0 for «Abn Lympho?» flagget. Dette tyder på at alle de tre metodene var gode nok for pasient 1. For pasient 2 var to av tre metoder var gode nok. Det er usikkert om WPC kanalen også er god nok for pasient 2. Pasienten hadde spesielle lymfocytter i blodutstryk, noe som ikke ga utfall på WPC kanalen i vår studie. Derimot er kun to pasienter med klinisk betydning, en meget liten andel. Det er vanskelig å si om utslagene på de tre metodene er en tilfeldighet for pasienter med funn av klinisk betydning eller ikke.

Pasienter tilhørende en sykehuspopulasjon har også andre sykdommer og tilstander som kan påvirke de tre hematologiske parameterne i «aksesystemet». Bruk av WPC kanalen eller «aksesystemet» vil redusere antall blodutstryk som må vurderes, men medfører også deteksjon av færre prøver med blaster i blodutstryk. Det kan imidlertid tenkes at prøver med virkelig betydningsfulle hematologiske forandringer, vil bli fanget opp av WPC kanalen og «aksesystemet». Det er sannsynligvis hensiktsmessig å vurdere «Blasts/Abn lympho?» flagget, WPC kanalen og «aksesystemet» i sammenheng med spredningsdiagram og tidligere prøver for å vurdere blodutstryk som angitt i Noklus anbefalingene (40).

Flere studier har undersøkt om utvalget av blodprøver med blast flagg som undersøkes med blodutstryk, kan optimaliseres ved å tilpasse terskelverdien for Q verdi (terskelverdi satt fra produsent (Sysmex Corporation) er 100). En studie viser at omtrent 13 % av pasientpopulasjonen ved generelle sykehus får flagg for «Blasts/Abn Lympho?» eller «Atypical Lympho?», et flagg som varsler som atypiske lymfocytter (29). I vår studie fant vi ingen signifikant forskjell i Q verdier for «Blasts/Abn Lympho?» fra WDF kanalen mellom kategori 1 og kategori 2. Dette kan gi en indikasjon på at tilpasning av Q verdi ikke vil forbedre utvalget av prøver. Som beskrevet tidligere hadde ingen prøver høy andel blaster, noe som kan ha påvirket resultatene. Q verdier er upresise og lite reproducerbare, spesielt i prøver med lavt antall patologiske celler (62). Det er derimot ingen kjent sammenheng mellom antall blaster og Q verdi. Flere studier har undersøkt å endre terskelverdien for Q verdi for å redusere antall falske positive prøver (23, 78). En studie har sett på økning av terskelverdien fra 100 til 300. Dette økte spesifisiteten for blast flagget, men antall falske negative økte til et uakseptabelt nivå (23). I en studie der terskelverdien ble redusert til henholdsvis 80 og 50 for «Blasts?» og «Abn Lympho?» flaggene, fant man liten reduksjon i spesifisiteten og en økning i sensitiviteten, når man kombinerte endringen i terskelverdi med vurdering av blodprøver med leukopeni (78). På den ene siden kan det tyde på at endring i terskelverdien, slik at den er tilpasset laboratoriet kan være en fordel. På en annen side indikerer funn i vår studie at hvis terskelverdien økes til for eksempel 110 for «Blasts/Abn Lympho?» flagget, vil man overse mange med funn av blaster i blodutstryk (figur 16). Det er tidligere beskrevet at Sysmex XE (Sysmex Corporation) gir laveste antall falske negativ flagg, men til gjengjeld høyeste antall falske positive flagg (79). En studie påpeker at bruk av Sysmex XN øker sensitiviteten av deteksjonen av abnormale celler, og sammenlignet med andre instrumenter reduserer antall blodutstryk. Denne studien inkluderer imidlertid en del pasienter med akutt leukemi og høy andel blaster, noe vi ikke har i vår studie (80).

5.3 Internasjonale og nasjonale anbefalinger i rutinedrift

I denne oppgaven har vi undersøkt den kliniske betydningen av å følge opp blast flagg. Blast flagg er imidlertid bare én type varsel som potensielt kan følges opp. ISLH og Noklus har anbefalinger som gjelder også for andre typer varsler for alle cellerekkene. Disse ble tilpasset til vår rutinedrift og det ble undersøkt hvor mange blodutstryk MBK, Ullevål ville laget dersom anbefalingene fra ISLH eller Noklus ble fulgt.

3,0 % av blodprøvene fikk varsel med Noklus anbefalingene og 5,6 % fikk varsel med ISLH i måleperioden. Basert på beregningene frembringer dette omtrent 100 og 200 blodutstryk hver uke ved å følge Noklus eller ISLH anbefalingene, mot rutinedriftens antall på omkring fire til syv per uke. Rutinedriften sine regler/anbefalinger er stort sett basert på visuell vurdering, tidligere prøvesvar og rekvirent. Ved noen tilfeller lages det blodutstryk og lege undersøker journal for å vurdere om det foreligger kjent hematologisk sykdom. I tilfeller hvor det foreligger kjent hematologisk sykdom, er det en mulighet for at blodutstryk ikke blir vurdert. Noklus anbefaler at man i tillegg til flagg og kvantitative resultater gjør en vurdering i forhold til rekvirent, tidligere funn og spredningsdiagram, før man eventuelt lager blodutstryk. En slik vurdering var ikke mulig å gjennomføre i vår beregning og det er derfor sannsynlig at vi har overestimert antall blodutstryk som ville blitt laget på bakgrunn av Noklus anbefalingene i rutinedriften. ISLH genererte flere varsler, både totalt og for unike pasienter, enn Noklus anbefalingene. En åpenbar grunn til dette er at ISLH hadde flere anbefalinger. Det var svært mange varsler for tilstedeværelse av NRBC ved bruk av ISLH anbefalingene. I disse anbefalingene er det ikke oppgitt noen grenseverdi som definerer hva «påvist» betyr. Vi har satt det ved den laveste verdien Sysmex XN rapporterer ut NRBC som prosentandel av leukocytter. Det hadde vært gunstigere å sette denne grensen på $0,02 \times 10^9/L$, som ifølge en tidligere studie representerer deteksjonsgrensen for NRBC på Sysmex XN (81). Studier viser at flagg utgjorde en stor andel av de falske positive varslene ved bruk av ISLH anbefalingene. Dette kan sees i sammenheng med det høye antallet varsler for flagg i vår beregning av anbefalingene. (79, 82).

Internasjonale og nasjonale anbefalinger gir en god indikasjon og kan være et godt hjelpemiddel. Anbefalingene passer nødvendigvis ikke i praksis og kan med fordel tilpasses eget laboratorium (41, 82). Vår studie kan indikere at det sannsynligvis er behov for lokal tilpasning for «Blasts/Abn Lympho?» flagget. En viktig faktor er at pasientpopulasjonen kan ha stor innvirkning på hvor mange blodutstryk som lages (83). For mange av pasientene er det ikke nødvendig å undersøke blodutstryk, dersom varselet har blitt fulgt opp i tidligere prøver. Måleperioden for tidligere prøver på seks uker, ble valgt ut fra en pragmatisk tilnærming i forhold til størrelse på datasettet. Det kunne kanskje vært ønskelig å ha en lenger tidsperiode, men på en annen side vil vi forvente at perioden på seks uker vil fange opp de fleste som har hatt et positivt funn tidligere. En studie anbefaler å bruke 90 dager som tidsperiode for voksne (38). Ved å øke tidsperioden til 90 dager, er det sannsynlighet for en reduksjon i antall varsler.

Det er flere studier som har undersøkt hvor mange blodutstryk man bør lage ved å følge ISLH anbefalingene (41, 79, 82, 84, 85). De ulike studiene varierer i konklusjonen om anbefalingene. Noen konkluderer med at implementering av anbefalingene vil gi en økning, mens andre konkludere med at det vil medføre en reduksjon. Dette er avhengig av hva som er utgangspunktet for pasientpopulasjonen i studiene.

Det er også utarbeidet «franske» anbefalinger av French-speaking Cellular Haematology Group (GFHC) (38). Anbefalingene fra GFHC er mindre «streng» for noen av variablene enn de andre anbefalingene, blant annet fra ISLH. Bruk av anbefalinger fra GFHC i kombinasjon med «første gang» over en lengre tidsperiode, bidro til reduksjon av antall varsler og blodutstryk (39). En studie som har undersøkt ISLH anbefalingene på ulike instrumenter, konkluderte med at Sysmex XE genererer flere varsler enn andre instrumenter, men ved overgang fra Sysmex XE til Sysmex XN ble antall blodutstryk redusert (39, 79). Ettersom hematologiinstrumenter har ulike evner til å flagge prøver, er det sannsynlig at funnene for andel prøver som bør undersøkes i henhold til anbefalingene, først og fremst er representative for Sysmex XN.

5.4 Styrker og svakheter

5.4.1 Inkludering av blodprøver

328 unike pasienter ble inkludert i studien. Blodprøvene ble innsamlet mandag til fredag, på dagtid. Det optimale hadde vært å inkludere blodprøver hele døgnet med automatisert tillaging. Innsamling på kveldstid og helg ble ekskludert ettersom det var svært få prøver som oppfylte inklusjonskriteriene på disse tidspunktene. Dette kan ha påvirket våre resultater, ettersom pasienter med blaster kan ha havnet utenfor inklusjonstiden. På en annen side la vi merke til at pasienter ofte havnet på inklusjonslisten ved ulike tidspunkt og ulike dager. Det er dermed sannsynlig at pasienter som hadde prøver på kveld og i helger også hadde prøver på dagtid, og at eventuelle blaster ville vært mulig å påvise i flere prøver fra pasienter med alvorlige hematologiske sykdommer. Et høyere antall inkluderte pasienter hadde vært ønskelig, men antall prøver per dag var lavere enn forventet. Vi oppnådde ikke totalt antallet prøver som var ønsket, men antallet prøver med hematologisk funn i blodutstryk som kan gi mistanke om hematologisk sykdom, ble oppnådd.

Ulike studier har vist blandede resultater angående blast flaggingen fra instrumentene (21, 27, 80, 86, 87). Det er vist at ulike Sysmex XE instrumenter kan gi varierende Q verdi, men også at gjentakende blodprøver har varierende Q verdier (23). Dette kan bety at blodprøver med potensielle blaster ikke har blitt inkludert fordi Q verdien er usikker. Det er vist at Sysmex XN ikke flagget en del prøver med blaster, noe som også kan ha funnet sted i vår (24). Ingen av blodutstrykene hadde høy andel blaster og det er naturlig å tro at den lave andelen blaster er representativ for prøvene i rutinen.

I vår studie har vi inkludert onkologiske pasienter. Onkologisk avdeling på Ullevål har kun pasienter med solid tumorer hvorav gastrointestinal, lunge, urologisk og brystkreft utgjør de største pasientgruppene, med andre ord, ingen hematologiske pasienter. Ved vårt laboratorium lages det ikke blodutstryk for pasienter fra avdeling for blodsykdommer med «Blasts/Abn Lympho?» flagg, ettersom disse pasientene allerede blir fulgt opp på avdeling for blodsykdommer. Pasienter med eventuell nyoppdaget hematologisk sykdom, vil kunne bli innlagt på andre poster enn avdeling for blodsykdommer og således bli inkludert. Studier har vist at sensitiviteten til flaggingen i onkologiske/hematologiske pasienter er god og ved ekskludering av denne pasientgruppen faller de mest patologiske prøvene ut (24, 47, 88). Dette gjør at pasientpopulasjonen vår er relativt homogen. Inkludering av hematologiske pasienter fra avdeling for blodsykdommer kunne muligens gi en høyere andel blaster og dermed bedre sensitivitet og spesifisitet for WPC kanalen, «aksesystemet» og preklassifiseringen.

5.4.2 Laging av blodutstryk

Det er anbefalt at blodutstryk bør lages innen fire timer etter prøvetakning (32). Blodutstryk ble laget innen seks timer etter analysetidspunkt på Sysmex XN-9000/1000. Ved MBK, Ullevål er en grense på seks timer benyttet, da erfaring tilsier at det er adekvat og medfører god kvalitet. Vår erfaring tilsier at det er liten forskjell på fire timer og seks timer, men at det først er ved 10 timer at morfologiske forandringer oppstår i stor grad. Prøvetakningstidspunkt er derimot ikke synonymt med analysetidspunkt, og vi kan ikke garantere at grensen på seks timer er opprettholdt for alle blodutstryk. Likevel observerte vi at alle blodutstrykene var av bra kvalitet. Vi fant ingen blodutstryk med tydelige morfologiske forandringer som kunne oppstått på grunn av holdbarhet, og dermed ble ingen blodutstryk ekskludert på bakgrunn av uakseptabel kvalitet.

Blodutstryk ble laget uten kjennskap til hemoglobin- og hematokritverdier, selv om dette kunne påvirke blodutstrykets lengde og tykkelse (4, 43). Det er ikke sikkert at området CellaVision® DC-1 har scannet, har vært representativ for prøven hvis hemoglobin- og hematokritverdier har påvirket blodutstryket i stor grad. Vi opplevde imidlertid at alle blodutstryk hadde høy kvalitet og det var få prøver som varslet om feil ved distribusjon av celler fra CellaVision® DC-1.

5.4.3 Vurdering av funn i blodutstryk

Studenten hadde ikke like mye medisinsk faglig kompetanse til vurdering av blodutstryk som legene ved laboratoriet. I studien ble det benyttet duplikater av blodutstryk, som kan ha hatt individuelle forskjeller, spesielt i tilfeller hvor det er et lavt antall celler, for eksempel blaster (89). Det er velkjent at det er stor tilfeldig variasjon ved klassifisering av cellepopulasjoner med lavt antall celler (89). Dette kan ha påvirket resultatet, og enkelte prøver med lav andel blaster kan ha blitt oversett (43). Klassifisering av blaster i blodutstryk kan være vanskelig. Hos voksne kan både atypiske lymfocytter og dårlig differensierte monocytter forekomme i perifert blod (11, 16). Atypiske lymfocytter har fint kromatin og har likheter med blaster blant annet på størrelse. De atypiske lymfocytene har til gjengjeld en mørk oppklaring ved cellemembranen og cytoplasma som kleber seg til nærliggende erytrocytter. Monocytter kan ha likheter med blaster som stor størrelse og fint kromatin. Atypiske lymfocytter og dårlige differensierte monocytter kan mistolkes som blaster, og kan derfor være grunnen til kategorisering ved konsensusvurderingen (11, 16). En del blodutstryk med lymfocytose og kjerneskygger eller monocytose ble vurdert til kategori 4. Det er mulig kategoriseringen ville fått et annet utfall dersom funn i blodutstryk var korrelert til WBC og absolutte verdier. Eksempel på det kan være vært blodprøver med nøytropeni som har ført til en relativ lymfocytose. Derimot har den ene pasienten med funn av mulig klinisk betydning, pasient 2, ingen økning i noen av cellerekkene, det var funn av NRBC, kjerneskygger og spesielle lymfocytter som talte for annen hematologisk sykdom. Student gjorde imidlertid ingen vurderinger alene og bruken av digital mikroskopi med CellaVision® DC-1 bidro til bedre vurderinger i fellesskap, ettersom alle vurderte de samme blodcellene på konsensusvurderingene. Dersom det hadde vært en høyere andel blaster i prøvene er det naturlig å tro at flere celler hadde blitt preklassifisert. Det er også naturlig å tro at det er lettere å se en høyere prosentandel blaster i hele blodutstryket enn å karakterisere en blast ut av 200 celler. Dette viser også den tydelige fordelene CellaVision® DC-1 har ved å «lagre» bilder av

de ulike blodcellene, noe man ved bruk av manuelt mikroskop ikke har mulighet til. Vi observerte at CellaVision® DC-1 hadde bilder med meget høy kvalitet og dataprogrammet gjorde det enkelt å kunne sammenligne celler mot hverandre. Vi påviste patologiske funn i en god del blodutstryk som viste seg å komme fra pasienter med kjent hematologisk sykdom. Dette argumenterer for at vårt system for vurdering av blodutstryk, har vært adekvat.

Ved laging av blodutstryk har blaster og andre store celler tendens til å spre seg ut til sidene på grunn av størrelsen (4). Leukocytter i utkanten av blodutstryk strekkes ut litt mer og det kan dermed være lettere å granske morfologiske forskjeller mellom blaster og andre leukocytter (6, 32). CellaVision® DC-1 scanner et bestemt område. Ved å bruke manuelt mikroskop, har man mulighet til å undersøke hele blodutstryket, også kantene. Derimot tar manuell mikroskopi mye lengre tid, og man mister muligheten til å se bilder av cellene og sammenligne flere celler mot hverandre, slik man kan med CellaVision® DC-1. Hadde andelen blaster vært høyere, er det naturlig å anta at det ville blitt fanget opp av CellaVision® DC-1. En studie viser at CellaVision® DC-1 klarer å scanne et bra og akseptabelt område (72). Er man i tvil kan det være en fordel å oppjustere antall leukocytter som skal klassifiseres, slik at man har større sjans for å detektere blaster. Dette ble imidlertid ikke gjennomført ettersom det var tidkrevende å utføre analyse med mer enn 100 celler per blodutstryk.

5.4.4 Ingen varsling til rekvirent om funn av blaster i blodutstryk

Ingen varsler ble sendt ut til rekvirent for prøvene med blaster. Dette var en vurdering vi gjorde på forhånd hvor vi ønsket å tilpasse studien til rutinedriften og dermed ikke sende varsler på prøver ved liten mistanke om hematologisk sykdom. Dersom det hadde vært prøver med klar mistanke om nyoppstått hematologisk sykdom, ville det blitt varslet til rekvirent.

For de fleste blodutstryk med blaster undersøkte vi journal etter kategorisering på CellaVision® DC-1, for å vurdere tidligere klinikk og rekvirent. Dette ble utført for å forsikre om at det var forenelig med funnene i blodutstryk. For studien hadde det imidlertid vært enda bedre om vi hadde sendt varsler slik at rekvirentene kunne ha utredet pasienten, hvis de fant det hensiktsmessig. På en annen side er det en styrke at det ble gjort systematisk innhenting av kliniske opplysninger og at pasientene følges opp med nytt journaloppslag og uthenting av diagnoser fra NPR minimum seks måneder etter inklusjon.

5.4.5 Oppslag i journal

For to pasienter med blaster i blodutstryk kunne ikke klinisk betydning fastslås som følge av sperret journal. Funnene hos disse pasientene var forenelig med reaktiv tilstand. Begge pasientene kom fra Olafiaklinikken, hvor det er lav forventning om at pasienter tar kontakt med nyoppstått hematologisk sykdom.

6. Konklusjon

For de 328 pasientene som ble inkludert i studien, ble det ikke avdekket funn i blodutstryk som fikk noen betydning for pasientforløpet. Dette vil imidlertid bli undersøkt videre etter seks måneders oppfølgingstid og vi kan derfor ikke utelukke at oppfølging av blast flagg for sykehuspasienter kan ha nytteverdi.

Det var ingen prøver med mer enn 1,5 % blaster eller andre betydelig funn i blodutstryk. Dette bidro sannsynligvis sterkt til at vi fant lav sensitivitet for de evaluerte metodene for å effektivisere oppfølgingen av «Blasts/Abn Lympho?» flagget (WPC kanal, «aksesystemet» og preklassifisering på CellaVision® DC- 1). Det er mulig at metodene vil fungere bedre i en populasjon med høyere andel pasienter med hematologisk sykdom, men vi antar at funnene er representative for en generell sykehuspopulasjon. Den lave andelen blaster i prøvene inkludert i studien, skaper usikkerhet til funnene. Både «aksesystemet» og WPC kanalen kan være gode hjelpemidler, men passer nødvendigvis ikke for alle pasientpopulasjoner. Det er også tenkelig at resultatene kunne blitt annerledes om vi hadde benyttet et annet hematologiinstrument med noen andre egenskaper.

7. Videre studier

I prosjektet som denne studien er inkludert i, er det allerede planlagt å gjøre oppslag i journal og kobling til NPR seks måneder etter innsamlingstidspunkt. Oppslag i journal på senere tidspunkt kan gi en indikasjon på om nye hematologiske sykdommer er oppdaget og om funnene i blodutstryk kunne være en mulig indikator eller startfasen på hematologisk sykdom under utvikling. Det er også planlagt å utføre en studie ved å sammenligne 2000-5000 pasienter med flagg for «Blasts/Abn Lympho?» og 2000-5000 pasienter uten flagg i en tidsperiode på seks måneder. Pasientene i denne studien skal kobles opp mot diagnosekoder fra NPR og det vil senere utføres statistikk for å undersøke om det er en forskjell mellom disse to gruppene, med tanke på nyoppståtte hematologiske sykdommer i perioden etter den flaggede prøven.

Oppfølging av prøver med blast flagg er antageligvis etablert praksis ved de fleste laboratorier i verden og det er derfor viktig at det gjøres videre studier. Et godt studiedesign for å undersøke klinisk nytteverdi ville vært å randomisere oppfølging av blast flagg i to grupper. En gruppe med oppfølging og med rapportering av alle funn til klinikere og en gruppe uten oppfølging. Ved å dele i to grupper kunne man sammenlignet antall diagnoser og kliniske utfall. Derimot hadde det krevet en helt annen involvering av de kliniske avdelingene der blodutstryk ikke er en vanlig analyse, noe som kan skape unødvendig utredning. Gjennomføring i praksis kan være problematisk da samtykke og oppfølging av alle pasienter kreves, med andre ord noe som er meget ressurskrevende. Om nytteverdien er stor nok til å rettferdiggjøre en slik studie, er usikkert.

Nye studier kan med fordel utføres med automatisert laging av blodutstryk hele døgnet. Ved å fange opp alle potensielle prøver, og ikke bare på dagtid slik som i denne studien, kan føre til en mer representativ pasientpopulasjon.

For å vurdere hvilken rolle laboratoriet bør ha for oppfølging av patologiske prøver, kunne det vært interessant å undersøke hva klinikere og eventuelt pasienter ønsker og forventer av laboratoriet, med en spørreundersøkelse.

Inkludering av barn kan være aktuelt med tanke på at ALL har høyest forekomst hos barn. Derimot må man være observant på at blodutstryk hos barn kan ha et blodbilde som kan mistolkes som leukemi, uten at det nødvendigvis er snakk om patologi (3-5, 11).

8. Litteraturliste

1. Sand O, Sjaastad ØV, Haug E, Toverud KC. Menneskets fysiologi. 1. utgave. Oslo: Gyldendal akademisk; 2001.
2. Rustad P. NORIP referansegrenser for differensialtelling. Basert på preliminært manuskript fra Gunnar Nordin, Equalis. NKK-møtet 2010 i Tromsø: NKK.
3. George TI. Malignant or benign leukocytosis. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2012;2012:475-84.
4. Bain BJ. Blood Cells : A Practical Guide. Hoboken: John Wiley & Sons, Incorporated; 2015.
5. Bain BJ, Bates I, Laffan MA. Dacie and Lewis Practical Haematology. 12. utgave. Marrickville, Australia: Elsevier; 2016.
6. Akershus universitetssykehus. Blodutstryk, vurdering. Morfologisk atlas. [Internett]. 2011 [oppdatert 29.06.2011 versjon 2; sitert 13.08.2020]. Tilgjengelig fra: https://www.uio.no/studier/emner/medisin/med/MEDSEM3/h14/timeplan/blodkurs/blodutstryk_morfologisk_atlas.pdf.
7. Amundsen EK, Henriksson CE, Holthe MR, Urdal P. Is the blood basophil count sufficiently precise, accurate, and specific?: three automated hematology instruments and flow cytometry compared. Am J Clin Pathol. 2012;137(1):86-92.
8. Tefferi A, Patnaik MM, Pardanani A. Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic. Br J Haematol. 2006;133(5):468-92.
9. Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS. Eosinophils: changing perspectives in health and disease. Nat Rev Immunol. 2013;13(1):9-22.
10. Monocyttar. Dokument-ID 105075. Versjon 2. eHåndbok: Oslo universitetssykehus; 2020.
11. Rose G, Heidi Reinhard H, Kahwash SB. Is this a blast? An illustrated practical review on peripheral blood smear examination in the paediatric patient. Malays J Pathol. 2020;42(1):37-49.
12. Bain BJ. A Beginner's Guide to Blood Cells. 3. utgave. Hoboken: John Wiley & Sons, Incorporated; 2017.
13. Inoue H. Overview of Automated Hematology Analyzer XE-2100. Sysmex J Int. 1999;9(1):58-64.
14. Herwartz R, Fuchs R. SEED Haematology - The blast cell - a diagnostic heavyweight: Sysmex Educational Enhancement and Development; 2016.
15. Tefferi A, Hanson CA, Inwards DJ. How to interpret and pursue an abnormal complete blood cell count in adults. Mayo Clin Proc. 2005;80(7):923-36.
16. Oertel J, Oertel B, Schleicher J, Huhn D. Detection of small numbers of immature cells in the blood of healthy subjects. J Clin Pathol. 1998;51(12):886-90.

17. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-405.
18. Meteesatien P, Plevy SE, Fender JD, Fedoriw Y. Circulating Blasts in a Crohn's Patient Treated With Natalizumab. *Laboratory Medicine*. 2010;41(8):453-6.
19. SEED Haematology - The use of absolute figures in haematology: Sysmex Educational Enhancement and Development; 2012.
20. Matsushita H, Tanaka Y, Sakairi K, Tanaka Y. XN-Series, Automated Hematology Analyzer, Clinical Case Report Volume 2. Japan: Sysmex Corporation; 2013.
21. Briggs CJ, Linszen J, Longair I, Machin SJ. Improved flagging rates on the Sysmex XE-5000 compared with the XE-2100 reduce the number of manual film reviews and increase laboratory productivity. *Am J Clin Pathol*. 2011;136(2):309-16.
22. 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. *Int J Lab Hematol*. 2005;11(2):83-90.
23. Eilertsen H, Vøllestad NK, Hagve T-A. The usefulness of blast flags on the Sysmex XE-5000 is questionable. *Am J Clin Pathol*. 2013;139(5):633-40.
24. Furundarena JR, Sainz M, Uranga A, Cuevas L, Lopez I, Zubicaray J, et al. Comparison of abnormal cell flagging of the hematology analyzers Sysmex XN and Sysmex XE-5000 in oncohematologic patients. *Int J Lab Hematol*. 2017;39(1):58-67.
25. Kim H, Hur M, Choi SG, Oh KM, Moon HW, Yun YM. Comparison of white blood cell counts by WNR, WDF, and WPC channels in Sysmex XN hematology analyzer. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(6):869-75.
26. Schoorl M, Schoorl M, Chevallier M, Elout J, van Pelt J. Flagging performance of the Sysmex XN2000 haematology analyser. *Int J Lab Hematol*. 2016;38(2):160-6.
27. Seo JY, Lee ST, Kim SH. Performance evaluation of the new hematology analyzer Sysmex XN-series. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(2):155-64.
28. Blomme S, Boeckx N, Brusselmans C, Claerhout H, Van Laer C. The integration of Sysmex XN-9100' WPC channel reflex testing in the detection of reactive versus malignant blood samples. *Int J Lab Hematol*. 2021;43(2):191-8.
29. Noordegraaf M, Meijer P, Ruinemans-Koerts J. Diagnostic efficiency of the Sysmex XN WPC channel for the reduction of blood smears. *Clin Biochem*. 2016;49(16-17):1292-4.
30. Sysmex Europe GmbH. WHITE BLOOD CELL FUNCTIONALITY. Sensitive assessment of WBC functionality and greater workflow efficiency. [White paper]. Sysmex Europe; 2017 [sitert 03.09.2020]. Tilgjengelig fra: https://www.sysmex-europe.com/fileadmin/media/f100/White_Paper/Haematology/Sysmex_WhitePaper_WHITE_BLOOD_CELL_FUNCTIONALITY.pdf.

31. Horobin RW. How Romanowsky stains work and why they remain valuable - including a proposed universal Romanowsky staining mechanism and a rational troubleshooting scheme. *Biotech Histochem*. 2011;86(1):36-51.
32. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Leukocyte (WBC) Differential Count (Proportional) and Evaluation of Instrumental Methods; approved standard- Second Edition [Standard H20-A2]. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2007 [siteret 17.02.2021].
33. CS (CellaVision AB). CellaVision DC-1. Bruksanvisning. 7.0. (brukermanual). CellaVision AB; 2019.
34. CellaVision AB. CellaVision Review Software. Bruksanvisning. 7.0 (brukermanual). CellaVision AB; 2019.
35. Odden IK. CellaVision DC-1. Superbrukeropplæring. Sysmex; 2020.
36. Eilertsen H, Henriksson CE, Hagve TA. The use of CellaVision™ DM96 in the verification of the presence of blasts in samples flagged by the Sysmex XE-5000. *Int J Lab Hematol*. 2017;39(4):423-8.
37. Bain BJ. Diagnosis from the blood smear. *N Engl J Med*. 2005;353(5):498-507.
38. Geneviève F, Mercier-Bataille D, Wagner-Ballon O, Trimoreau F, Fenneteau O, Schillinger F, et al. Smear microscopy revision: propositions by the GFHC. *Feuillets de Biologie (Vol LVI N° 317)*. 2014.
39. Tamigniau A, Bailly N, Chatelain B, Mullier F. From XE-2100 to XN-9000, from SIS Standard to GFHC recommendations for slide review: potential impact on review rate and turnaround time. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2017;75(3):285-92.
40. Solsvik AE, Hagve T-A, Hager HB, Aune MW, Eilertsen H, Lilleholt K. Når bør det lages blodutstryk basert på celletellinger og/eller flagg fra hematologiinstrumenter? [Internett]. *Noklus*; 2019 [oppdatert 26.06.2019; siteret 21.08.2020]. Tilgjengelig fra: https://www.noklus.no/media/tpyb3ycp/2_anbefalinger-n%C3%A5r-b%C3%B8r-det-lages-blodutstryk-basert-p%C3%A5-celletellinger-og-eller-flagg-fra-hematologiinstrumenter.pdf
41. Aune MW. Passer konsensusreglene fra ISLH for norske laboratorier? *Bioingeniøren*. 2010;3.
42. CellaVision AB. CellaVision HemaPrep. Instructions for use (brukermanual). CellaVision AB; 2017.
43. Münster M. SEED Haematology - The role of the peripheral blood smear in the modern haematology laboratory: Sysmex Educational Enhancement and Development; 2013.
44. Leukocytter, sysmex XN-9000/1000, MBK-UL. Dokument-ID 71359. Versjon 3. eHåndbok: Oslo universitetssykehus; 2019.
45. Trombocytter (TPK, Plater, Blodplater). Dokument-ID 105088. Versjon 2. eHåndbok: Oslo universitetssykehus; 2018.

46. Hemoglobin (Hb). Dokument-ID 105041. Versjon 3. eHåndbok: Oslo universitetssykehus; 2020.
47. Schapkaitz E, Raburabu S. Performance evaluation of the new measurement channels on the automated Sysmex XN-9000 hematology analyzer. *Clin Biochem.* 2018;53:132-8.
48. Schwartz SO, Stansbury F. Significance of nucleated red blood cells in peripheral blood; analysis of 1,496 cases. *J Am Med Assoc.* 1954;154(16):1339-40.
49. Constantino BT, Cogionis B. Nucleated RBCs—Significance in the Peripheral Blood Film. *Lab Med.* 2000;31(4):223-9.
50. Stachon A, Segbers E, Holland-Letz T, Kempf R, Hering S, Krieg M. Nucleated red blood cells in the blood of medical intensive care patients indicate increased mortality risk: a prospective cohort study. *Crit Care.* 2007;11(3):R62.
51. Epner PL, Gans JE, Graber ML. When diagnostic testing leads to harm: a new outcomes-based approach for laboratory medicine. *BMJ Qual Saf.* 2013;22 Suppl 2(Suppl 2):ii6-ii10.
52. Srivastava R, Bartlett WA, Kennedy IM, Hiney A, Fletcher C, Murphy MJ. Reflex and reflective testing: efficiency and effectiveness of adding on laboratory tests. *Ann Clin Biochem.* 2010;47(Pt 3):223-7.
53. Verboeket-van de Venne WP, Aakre KM, Watine J, Oosterhuis WP. Reflective testing: adding value to laboratory testing. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(7):1249-52.
54. Jones BJ, Twomey PJ. Comparison of reflective and reflex testing for hypomagnesaemia in severe hypokalaemia. *J Clin Pathol.* 2009;62(9):816-9.
55. Paterson JR, Paterson R. Reflective testing: how useful is the practice of adding on tests by laboratory clinicians? *J Clin Pathol.* 2004;57(3):273-5.
56. Kilpatrick E. Best practice when providing interpretative comments on laboratory medicine reports. . London: The Association for Clinical Biochemistry & Laboratory Medicine; September 2014.
57. Lov om helsepersonell m.v. (helsepersonelloven) Oslo: Helse- og omsorgsdepartementet.
58. Sejrup J, Pedersen DM, Phillipsen JP, Nielsen J, Koch SPR, Smith J. Performance of the Sysmex White Precursor Channel to discover circulating leukemic blast cells. *Int J Lab Hematol.* 2020;42(6):734-43.
59. Lov om pasient- og brukerrettigheter (pasient- og brukerrettighetsloven) Oslo: Helse- og omsorgsdepartementet.
60. Jones AS, Tailor H, Liesner R, Machin SJ, Briggs CJ. The value of the white precursor cell channel (WPC) on the Sysmex XN-1000 analyser in a specialist paediatric hospital. *J Clin Pathol.* 2015;68(2):161-5.

61. 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.
62. Kweon OJ, Lee MK, Kim HR. Evaluation of the Flagging Performance of the Hematology Analyzer Sysmex XN Series on the Basis of "Q Values". *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(1):83-8.
63. Meintker L, Ringwald J, Rauh M, Krause SW. Comparison of automated differential blood cell counts from Abbott Sapphire, Siemens Advia 120, Beckman Coulter DxH 800, and Sysmex XE-2100 in normal and pathologic samples. *Am J Clin Pathol*. 2013;139(5):641-50.
64. Depoorter M, Goletti S, Latinne D, Defour J. Optimal flagging combinations for best performance of five blood cell analyzers. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(1):63-70.
65. Lee N, Jun JH, Lee DS. Decreased sensitivity of the automatic white precursor cell channel (WPC) for blast flagging in patients with leukopenia. *Clin Biochem*. 2016;49(9):675-81.
66. Eilertsen H, Saether 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.
67. Billard M, Lainey E, Armoogum P, Alberti C, Fenneteau O, Da Costa L. Evaluation of the CellaVision DM automated microscope in pediatrics. *Int J Lab Hematol*. 2010;32(5):530-8.
68. Cornet E, Perol JP, Troussard X. Performance evaluation and relevance of the CellaVision DM96 system in routine analysis and in patients with malignant hematological diseases. *Int J Lab Hematol*. 2008;30(6):536-42.
69. Rollins-Raval MA, Raval JS, Contis L. Experience with CellaVision DM96 for peripheral blood differentials in a large multi-center academic hospital system. *J Pathol Inform*. 2012;3:29.
70. Koepke JA, Dotson MA, Shifman MA. A critical evaluation of the manual/visual differential leukocyte counting method. *Blood Cells*. 1985;11(2):173-86.
71. Fuentes-Arderiu X, García-Panyella M, Dot-Bach D. Between-examiner reproducibility in manual differential leukocyte counting. *Accred Qual Assur*. 2007;12(12):643-5.
72. Rosetti M, Massari E, Poletti G, Dorizzi RM. Could the UKNEQAS program "Manual Differential Blood Count" be performed by the use of an automated digital morphology analyzer (Sysmex DI-60)? A feasibility study. *Clin Chem Lab Med*. 2020.
73. Hoedemakers R, Pennings J, Hoffmann J. Performance characteristics of blast flagging on the Cell Dyn 4000 haematology analyser. *Clin Lab Haematol*. 1999;21(5):347-51.
74. Hoffmann JJ. How useful are haematology analyser flags? *Clin Chem Lab Med*. 2004;42(4):357-8.

75. van der Meer W, Scott CS, de Keijzer MH. Automated flagging influences the inconsistency and bias of band cell and atypical lymphocyte morphological differentials. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42(4):371-7.
76. Jones AR, Twedt D, Hellman R. Absolute versus proportional differential leucocyte counts. *Clin Lab Haematol*. 1995;17(2):115-23.
77. Münster M. SEED Haematology - Overview of the benefits of switching fra a 3-part differensial to a 5-part differential haematology analyser: Sysmex Educational Enhancement and Development; 2012.
78. Pozdnyakova O, Dorfman DM. Sysmex XE-5000 Blast Q Flag Analysis. *Am J Clin Pathol*. 2013;140(6):918-9.
79. Kim SJ, Kim Y, Shin S, Song J, Choi JR. Comparison study of the rates of manual peripheral blood smear review from 3 automated hematology analyzers, Unicel DxH 800, ADVIA 2120i, and XE 2100, using international consensus group guidelines. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(11):1408-13.
80. Hotton J, Broothaers J, Swaelens C, Cantinieaux B. Performance and abnormal cell flagging comparisons of three automated blood cell counters: Cell-Dyn Sapphire, DxH-800, and XN-2000. *Am J Clin Pathol*. 2013;140(6):845-52.
81. Da Rin G, Vidali M, Balboni F, Benegiamo A, Borin M, Ciardelli ML, et al. Performance evaluation of the automated nucleated red blood cell count of five commercial hematological analyzers. *Int J Lab Hematol*. 2017;39(6):663-70.
82. Comar SR, Malvezzi M, Pasquini R. Are the review criteria for automated complete blood counts of the International Society of Laboratory Hematology suitable for all hematology laboratories? *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2014;36(3):219-25.
83. Barth D, Good D. Results of a cross Canada survey of blood film review practice patterns by technologists and pathologists. *Int J Lab Hematol*. 2018;40(6):710-4.
84. Ronez E, Geara C, Coito S, Jacqmin H, Cornet E, Troussard X, et al. Usefulness of thresholds for smear review of neutropenic samples analyzed with a Sysmex XN-10 analyzer. *Scand J Clin Lab Invest*. 2017;77(6):406-9.
85. Froom P, Havis R, Barak M. The rate of manual peripheral blood smear reviews in outpatients. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(11):1401-5.
86. Eilertsen H, Hagve T-A. 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.
87. Genc S, Dervisoglu E, Erdem S, Arslan O, Aktan M, Omer B. Comparison of performance and abnormal cell flagging of two automated hematology analyzers: Sysmex XN 3000 and Beckman Coulter DxH 800. *Int J Lab Hematol*. 2017;39(6):633-40.
88. Petrone J, Jackups Jr R, Eby CS, Shimer G, Anderson J, Frater JL. Blast flagging of the Sysmex XN-10 hematology analyzer with supervised cell image analysis: Impact on quality parameters. *Int J Lab Hematol*. 2019;41(5):601-6.

89. Rümke CL. The imprecision of the ratio of two percentages observed in differential white blood cell counts: a warning. *Blood Cells*. 1985;11(1):137-40.

Vedlegg

Vedlegg 1- Godkjenning fra Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK)



Region:	Saksbehandler:	Telefon:	Vår dato:	Vår referanse:
REK sør-øst A	Tove Irene Klokk	22845522	07.09.2020	155506

Deres referanse:

Erik Koldberg Amundsen

155506 Klinisk betydning av automatisk påvisning av blaster på hematologi-instrument

Forskningsansvarlig: Oslo universitetssykehus HF

Søker: Erik Koldberg Amundsen

Søkers beskrivelse av formål:

Bakgrunn: Hematologi-instrumenter brukes til å utføre vanlige hematologiundersøkelser som hemoglobin, telling av trombocytter og leukocytter. De er flow cytometere som registrerer en stor mengde informasjon om hver karakteriserte celle. Instrumentene varsler om mulig tilstedeværelse av umodne celletyper (blaster) som kan gi mistanke om malign blodsykdom. Det er omdiskutert hvordan varslene bør håndteres. Det ble publisert internasjonale anbefalinger i 2005, og i 2019 norske anbefalinger fra Noklus. Det er imidlertid lite kunnskap om betydningen av å påvise umodne celler i pasientpopulasjoner som kan ha diverse «ikke-hematologiske» tilstander. Det er svært ressurskrevende å følge anbefalingene og det kan medføre forsinkelse av svarutgivelse. Mange laboratorier bruker derfor egne regelverk eller kun deler av anbefalte regelverk. I dette prosjektet vil vi evaluere innføringen av de internasjonale/nasjonale anbefalingene i en prosjektperiode på Ullevål sykehus. Målsetningen er å undersøke den kliniske nytteverdien av å vurdere flaggede prøver i blodutstryk.

Metode: Prosjektet består av to hoveddeler.

1a. Det vil bli vurdert blodutstryk i henhold til internasjonale/nasjonale anbefalinger i en prosjektperiode på 3-8 uker for deler av pasientgruppen på Ullevål sykehus, anslagsvis 600 pasienter. Funn som kan være av betydning vil bli rapportert til rekvirent, på samme måte som ved dagens praksis. Det vil bli registrert opplysninger om resultater fra hematologi-instrument, resultater fra andre relevante blodprøver, resultat av vurdering av blodutstryk, alder, kjønn, rekvirerende avdeling, tidligere relevante diagnoser, diagnose ved aktuelle sykehuskontakt. Det vil bli gjort målrettet oppslag i pasientjournal for å innhente opplysningene for pasientene som har funn ved blodutstryk. Pasientene vil så bli kategorisert i forhold til om resultat fra undersøkelse av blodutstryk hadde noe betydning for videre utredning, diagnose eller behandling. Data vil bli oppbevart i det godkjente registersystemet eReg. For en del av pasientene beskrevet over forventer vi å finne lave konsentrasjoner av umodne celler som ikke får noe sikker betydning. Vi ønsker å slå opp disse pasientene i NPR og eventuelt kreftregisteret etter 6 mnd. for å undersøke om noen utvikler malign hematologisk sykdom.

1b. Det er mulig å hente ut utvidede resultater fra hematologi-instrumentene til excel. Her finnes f. eks. de kvantitative verdiene som ligger til grunn for flaggene som instrumentene produserer. I delprosjekt 1 vil vi av kapasitetshensyn kun innføre et utvalg av de antatt viktigste reglene som ligger i anbefalingene. Ved å hente ut aidentifiserte data fra rutineproduksjonen har vi mulighet til å kvantitere det totale antallet blodutstryk vi skulle laget dersom vi fulgte alle reglene i anbefalingene.

REK sør-øst A

Besøksadresse: Gullhaugveien 1-3, 0484 Oslo

Telefon: 22 84 55 11 | E-post: rek-sorost@medisin.uio.no

Web: <https://rekportalen.no>

2. Vi vil undersøke om det er høyere forekomst av nyoppståtte maligne blodsykdommer for pasienter med blastflagg sammenlignet med en matchet pasientgruppe uten blastflagg. 10000 pasienter som har fått analysert blodprøve på hematologi-instrumentet vil bli inkludert. 5000 «flagget» med mistanke om blast og 5000 uten blastflagg. Pasientenes alder, kjønn og resultater fra instrumentet vil bli registrert i eReg og deretter koblet til diagnoser og overlevelse fra NPR og eventuelt krefregisteret 6 mnd etter undersøkelsestidspunktet.

Resultater:

1a. Hovedendepunktet for prosjektet vil være antall pasienter der vurdering av blodutstryk kan tenkes å ha hatt en betydning for pasientens forløp som andel av alle pasienter hvor det er vurdert utstryk. Dette vil bli sett opp mot ressursbruk og andre positive og negative effekter av å vurdere blodutstryk.

1b. Andel av prøver undersøkt på hematologi-instrument som bør undersøkes med blodutstryk i henhold til anbefalinger.

2. Antall pasienter med blastflagg på hematologi instrument som får diagnostisert malign blodsykdom innen 6 mnd. sammenlignet med antall i pasientgruppen uten blastflagg.

REKs vurdering

Vi viser til søknad om forhåndsgodkjenning av ovennevnte forskningsprosjekt. Søknaden ble behandlet av Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK sør-øst A) 20.08.2020. Vurderingen er gjort med hjemmel i helseforskningslovens § 10.

Prosjektet søkte først dispensasjon fra taushetsplikt annen forskning, men prosjektet ble av komiteen vurdert til å være innenfor helseforskningslovens virkeområde, jf. vedtak av 25.05.2020 (REK 107669). Det ble derfor sendt inn prosjektsøknad, med revidert forskningsprotokoll.

Formålet med prosjektet er å vurdere den kliniske betydningen av varsler om umodne celler ved hematologiske analyser av blodprøver ved å sammenlikne varslede og normale blodprøver ved Oslo Universitetssykehus.

Ved hematologiske analyser av blodprøver finner man ofte varsler om blaster (umodne celler), som kan være et tegn på leukemi. Dagens praksis er å følge opp slike varsler ved å vurdere blodutstryk i mikroskop, noe som er kostnadskrevende og sjelden gir funn av betydning. Man vil derfor undersøke den prognostiske verdien av disse blastene.

Prosjektet består av to delprosjekter

1. Delprosjekt 1: Det vil bli vurdert blodutstryk i henhold til internasjonale/nasjonale anbefalinger i en prosjektperiode på 3-8 uker for deler av pasientgruppen på Ullevål sykehus, OUS, anslagsvis 600 pasienter. Funn som kan være av betydning vil bli rapportert til rekvirent, på samme måte som ved dagens praksis. Det vil bli registrert opplysninger om resultater fra hematologi-instrument, resultater fra andre relevante blodprøver, resultat av vurdering av blodutstryk, alder, kjønn, rekvirerende avdeling, tidligere relevante diagnoser, diagnose ved aktuelle sykehuskontakt. Det vil også bli gjort målrettet oppslag i pasientjournal for å innhente opplysningene for pasientene som har funn ved blodutstryk. Pasientene vil så bli kategorisert i forhold til om resultat fra undersøkelse av blodutstryk hadde noe betydning for videre utredning,

diagnose eller behandling. For en del av pasientene forventes det å finne lave konsentrasjoner av umodne celler som ikke får noe sikker betydning. Disse vil man slå opp i Norsk pasientregister (NPR) og eventuelt kreftregisteret etter 6 mnd. for å undersøke om noen utvikler malign hematologisk sykdom. For en andel av deltakerne vil det bli hentet ut utvidede resultater fra hematologiinstrumentet.

2. Delprosjekt 2: Man vil undersøke om det er høyere forekomst av nyoppståtte maligne blodsykdommer for pasienter med blastflagg sammenlignet med en matchet pasientgruppe uten blastflagg. 10 000 pasienter som har fått analysert blodprøve på hematologi-instrumentet vil bli inkludert. 5000 «flagget» med mistanke om blast og 5000 uten blastflagg. Pasientenes alder, kjønn og resultater fra instrumentet vil bli registrert i eReg og deretter koblet til diagnoser og overlevelse fra NPR og eventuelt kreftregisteret 6 mnd etter undersøkelsestidspunktet.

Det søkes om fritak fra samtykke for bruk av opplysningene som beskrevet. Dette er begrunnet med at studien ikke har noe å si for pasientenes behandling, og at det kan skape unødvendig uro dersom pasientene blir kontaktet.

I henhold til helseforskningsloven § 35 kan REK bestemme at helseopplysninger kan eller skal gis fra helsepersonell til bruk i forskning, og at det kan skje uten hinder av taushetsplikt. Det samme gjelder opplysninger innsamlet i helsetjenesten. Dette kan bare skje dersom slik forskning er av vesentlig interesse for samfunnet og hensynet til deltakernes velferd og integritet er ivaretatt.

Bestemmelsen må tolkes tilsvarende helseforskningslovens §§ 15 annet ledd og 28 første ledd. I praksis betyr dette at det også skal være vanskelig å innhente nytt samtykke.

Komiteen mener at samfunnsnyten av prosjektet er stor da det er viktig å undersøke om metoder som benyttes ved norske sykehus faktisk har klinisk betydning. Alle opplysninger skal behandles avdekket, og det er kun opplysninger som er relevante for å oppnå formålet med studien som skal benyttes. Deltakernes velferd og integritet synes derfor for ivaretatt. Det kan også anses som vanskelig å innhente samtykke fra over 10 000 deltakere.

Komiteen innvilger fritak fra samtykke, jf. helseforskningsloven § 35, for bruk av opplysninger som beskrevet i prosjektet. Prosjektet godkjennes slik det er beskrevet i søknad og protokoll.

Vedtak

Godkjent

REK har gjort en helhetlig forskningsetisk vurdering av alle prosjektets sider. Prosjektet godkjennes med hjemmel i helseforskningsloven § 10.

Vi gjør samtidig oppmerksom på at etter ny personopplysningslov må det også foreligge et behandlingsgrunnlag etter personvernforordningen. Det må forankres i egen institusjon.

Godkjenningen gjelder til 31.07.2025.
Komiteens avgjørelse var enstemmig.

Med hjemmel i helseforskningslovens § 35 innvilger komiteen fritak for samtykke,

herunder dispensasjon fra taushetsplikten, for tilgang til helseopplysninger som beskrevet.

Av dokumentasjonshensyn skal opplysningene oppbevares i 5 år etter prosjektslutt. Opplysningene skal oppbevares aidentifisert, dvs. atskilt i en nøkkel- og en datafil. Opplysningene skal deretter slettes eller anonymiseres.

Vennlig hilsen

Knut Engedal
Professor dr. med.
Leder REK sør-øst A

Tove Irene Klokk
Seniorrådgiver
REK sør-øst

Kopi til forskningsansvarlig institusjon(er) og medbruker(e).

Klageadgang

REKs vedtak kan påklages, jf. forvaltningslovens § 28 flg. Klagen sendes til REK sør-øst A. Klagefristen er tre uker fra du mottar dette brevet. Dersom vedtaket opprettholdes av REK sør-øst A, sendes klagen videre til Den nasjonale forskningsetiske komité for medisin og helsefag for endelig vurdering.

Sluttmelding

Søker skal sende sluttmelding til REK sør-øst A på eget skjema senest seks måneder etter godkjenningsperioden er utløpt, jf. hfl. § 12.

Søknad om å foreta vesentlige endringer

Dersom man ønsker å foreta vesentlige endringer i forhold til formål, metode, tidsløp eller organisering, skal søknad sendes til den regionale komiteen for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk som har gitt forhåndsgodkjenning. Søknaden skal beskrive hvilke endringer som ønskes foretatt og begrunnelsen for disse, jf. hfl. § 11.

Vedlegg 2- Godkjenning fra personvernombudet ved Oslo universitetssykehus



Oslo universitetssykehus HF

Postadresse:
Postboks 4950 Nydalen
0424 Oslo

Sentralbord:
02770

Org.nr:
NO 993 467 049 MVA

www.oslo-universitetssykehus.no

PERSONVERNOMBUDETS UTTALELSE

Til: Erik Koldberg Amundsen, overlege ved avdeling for
medisinsk biokjemi OUS

Fra: Personvernombudet ved Oslo universitetssykehus

Saksbehandler: Silje Vetteland Melås

Dato: 16.09.2020

Offentlighet: Ikke unntatt offentlighet

Sak: Personvernombudets tilråding til behandling av
personopplysninger

Saksnummer: 20/09737

Personvernombudets vurdering for:

«Klinisk betydning av automatisk påvisning av blaster på hematologi-instrument»

Formål: Vi ønsker å se på den kliniske betydningen av å vurdere varsler fra hematologi-instrumentet, ved å koble et større antall varslede og normale blodprøver fra rutineproduksjonen på Oslo universitetssykehus Ullevål med hematologiske diagnoser fra Norsk Pasientregister (NPR) 6 måneder senere. Vi vil også ta et visst antall varslede blodprøver, undersøke de videre med blodutstryk, og vurdere prøvene hvor vi finner umodne celler i mot journalopplysninger og diagnoser for å se på den kliniske betydningen. Resultatet fra vår studie håper vi vil kunne ha internasjonal betydning i forhold til bedre målrettet diagnostikk.

Prosjektet er todelt:

- *Vurdere blodutstryk i henhold til nasjonale og internasjonale anbefalinger*
- *Undersøke om det er høyere forekomst av nyoppståtte malgine sykdommer for pasienter med blaster, sammenlignet med de uten.*

Oslo universitetssykehus er dataansvarlig virksomhet.

Studien er godkjent av Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (ref. **155506**), med hjemmel i helseforskningsloven § 10. Det er videre gitt dispensasjon fra samtykkekravet og taushetsplikten etter helseforskningsloven § 15 annet ledd, § 28 første ledd og § 35.

Etter ikrafttredelse av ny personopplysningslov, så er det lovlige grunnlag for behandling av person- og helseopplysninger i prosjektet GDPR art. 6 nr. 1 e) og art 9 nr. 2 bokstav j), supplert med hjemmel i personopplysningsloven §§8 og 9.

Personvernombudet viser også til ovennevnte etiske vurdering og forhåndsgodkjenning av REK, som er det nasjonale rettsgrunnlag for behandling av opplysningene i prosjektet, jf. art. 6 nr. 3.

Med hjemmel i forordning (EU) nr. 2016/679 (generell personvernforordning) artikkel 37, er det oppnevnt personvernombud ved Oslo Universitetssykehus (OUS).

Den dataansvarlige skal sikre at personvernombudet på riktig måte og i rett tid involveres i alle spørsmål som gjelder vern av personopplysninger, jf. artikkel 38. Artikkel 30 pålegger OUS å føre oversikt over hvilke behandlinger av personopplysninger virksomheten har. Behandling av personopplysninger meldes derfor til sykehusets personvernombud.

Databehandlingen tilfredsstiller forutsetningene for melding etter forordning (EU) nr. 2016/679 (generell personvernforordning) artikkel 30.

Data i behandles samsvar med sykehusets retningslinjer, jf. foreliggende tillatelser.

Den dataansvarlige anser at det ikke er nødvendig med en særskilt vurdering av personvernkonsekvenser, jf. generell personvernforordning artikkel 35. Det vises i denne sammenheng til innsendt egenerklæring for DPIA, samt godkjenning fra Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk.

Prosjektet er registrert i sykehusets offentlig tilgjengelig database over forsknings- og kvalitetsstudier.

Med hilsen

Silje Vetteland Melås
Personvernrådgiver

Oslo universitetssykehus HF
Direktørens stab | Personvern

E-post: personvern@oslo-universitetssykehus.no
Web: www.oslo-universitetssykehus.no/personvern



Vedlegg 3- Reagenser og bruksløsninger til May-Grünwald-Giemsa fargemetode

Tilleggstabell 3.1: Reagenser og blandingsforhold til bruksløsninger ved May-Grünwald-Giemsa fargemetode.

Reagens	Produsent	Bruksløsning	Merknader
Metanol AnalaR NORMAPUR® ACS, Reag. Ph. Eur., Analytisk reagens	VWR (Radnor, PA, USA)		
May-Grünwald eosin- metylenblå løsning modifisert for mikroskopi	Merck (Darmstadt, Tyskland)	1:1 SP-buffer + May-Grünwald eosin- metylenblå løsning modifisert for mikroskopi	
Giemsas azur eosin metylenblå løsning for mikroskopi	Merck (Darmstadt, Tyskland)	9:1 SP-buffer + Giemsas azur eosin metylenblå løsning for mikroskopi	Filtreres før bruk
SP-buffer	Sysmex Corporation (Kobe, Japan)		

