

# Automatiserad cellräkning i likvor

## Värdefullt tillskott i diagnostiken av hjärnsjukdomar

**MARIANN WALL**, biomedicinsk analytiker, sektionsledare, kliniskt neurokemiska laboratoriet, Sahlgrenska universitetssjukhuset, Mölndal  
**NIKLAS MATTSSON**, doktorand, ST-läkare  
**HENRIK ZETTERBERG**, professor, överläkare

**KAJ BLENNOW**, professor, överläkare; de tre sistnämnda vid institutionen för neurovetenskap och fysiologi, Sahlgrenska akademien vid Göteborgs universitet; kliniskt neurokemiska laboratoriet, Sahlgrenska universitetssjukhuset, Mölndal  
 kaj.blennow@neuro.gu.se

Cellräkning i likvor har en central roll i diagnostiken av akuta hjärnsjukdomar såsom subaraknoidalblödning och akut meningit/encefalit. Analysen utförs idag manuellt med räknekammare och mikroskopi, vilket är resurskrävande och kräver stor erfarenhet. Instrument för automatiserad cellräkning har hittills haft för låg känslighet för att användas för klinisk diagnostik av likvorprov. Sedan några år finns det på marknaden några instrument (Siemens Advia 2120i och Sysmex XE-5000) som anges ha tillräckligt hög känslighet för automatiserad cellräkning av likvor. Sysmex-instrumentet tillåter analys av leukocyter i likvor [1], men användbarheten begränsas av att svaret för erythrocyter ges som 1000-tal celler per  $\mu\text{l}$ .

Vi har utvärderat Advia 2120i-instrumentet för användning i klinisk diagnostik. Under en tvåmånadersperiod utfördes både manuell och automatiserad cellräkning på alla likvorprov som kom in till kliniskt neurokemiska laboratoriet, Sahlgrenska sjukhuset, Mölndal, för cellräkning och andra analyser för diagnostik av hjärnsjukdomar. För studien av identifierades proven för att säkerställa fullständig anonymitet. Totalt inkluderades lumballicvorprov från 104 patienter (48 män och 56 kvinnor i åldrarna 7–87 år) och ventrikellikvorprov från 27 patienter (19 män och 8 kvinnor i åldrarna 1–80 år). Manuell cellräkning utfördes av två oberoende erfarna biomedicinska analytiker. Den automatiserade cellräkningen utfördes på Advia 2120i enligt tillverkarens instruktioner (Siemens Healthcare Diagnostics Inc, USA).

För såväl manuell som automatiserad cellräkning sågs höga korrelationer mellan dubbelprov både för erythrocyter och för leukocyter. Vid automatiserad cellräkning kördes två interna driftkontroller med olika celltal. Dessa hade under en period av 6 veckor (70 analyser) en variationskoefficient (CV) på 10–12 procent. Det fanns en hög korrelation mellan manuell och automatiserad räkning av erythrocyter i likvor (Figur 1), även för likvorprov med lågt (<250 celler/ $\mu\text{l}$ ) erythrocyttal. För prov med mindre än 5 erythrocyter per  $\mu\text{l}$  likvor var korrelationen lägre. Denna nivå används därför som referensgräns. Vid jämförelse av manuell och automatiserad cellräkning av ventrikellikvorprov sågs en hög korrelation för antalet erythrocyter (Figur 1), även i likvorprov med låg erythrocytnivå.

Sambandet mellan manuell och automatiserad cellräkning var lägre för leukocyter (Figur 1), beroende på att i prov med högt antal erythrocyter tolkas en andel erythrocyter i cytogrammet felaktigt som lymfocyter eller neutrofila vid automatiserad cellräkning. Vi fann att gränsen för när denna artefakt ligger på cirka 250–500 erythrocyter per  $\mu\text{l}$  likvor. För likvorprov med ett erythrocyttal under denna nivå var korrelationen god (Figur 1). Samma fenomen sågs vid analys av mononukleära celler (monocyter och lymfocyter). För likvorprov med erythrocyttal över denna nivå rekommenderar vi därför komplettering med manuell räkning av leukocyter. För prov med mindre än 3 leukocyter per  $\mu\text{l}$  likvor var korrelationen lägre. Denna nivå används därför som referensgräns.

Likvoranalyser intar en central plats i diagnostiken av flera kroniska sjukdomar i centrala nervsystemet, till exempel multipel skleros [2, 3] och Alzheimers sjukdom [4]. Vid akuta sjukdomar har cellräkning i likvor en viktig roll i diagnostiken av både intrakraniell blödning, i första hand subaraknoidalblödning, och inflammatoriska och infektiösa sjukdomar, exempelvis akut meningit och Borrelia-encefalit [4–6]. Ömvänt är ett normalt celltal i likvor viktigt för att utesluta inflammatoriska och infektiösa sjukdomar vid utredning av kroniska neurodegenerativa sjukdomar [7].

Idag utförs cellräkning i likvor manuellt i ljusmikroskop, vilket kräver stor rutin och vana. Tillräcklig kompetens för metoden kan därmed vara svår att upprätthålla på många mindre laboratorier, och helg- och nattetid även på större laboratorier. Dessutom är metoden arbetskrävande och behäftad med potentiella felkällor. Instrumentet för automatiserad cellräkning har online-kommunikation med laboratoriedatasystemet, vilket förhindrar felinskrivningar. Dessutom kan metodvariationen följas via driftskontroller.

Vid manuell cellräkning räknas antalet erythrocyter och leukocyter, som delas in i polymorfonukleära celler (neutrofila, eosinofila och basofila granulocyter) samt mononukleära celler (lymfocyter, monocyter och plasmaceller).

Vid automatiserad cellräkning ges en uppdelning i erythrocyter, lymfocyter, monocyter och neutrofila celler, vilket ger en mer detaljerad information. För universitetssjukhus med neurokirurgiska kliniker, där celltal och andra parametrar i likvor följs via upprepade prov från en ventrikellikvor, har automatiserad cellräkning också en fördel då ventrikellikvorprov ofta innehåller celler med avvikande morfologi (aktiverade lymfocyter och makrofager) som kan vara svåra att diffe-

»Automatiserad cellräkning bör utföras inom en timme efter provtagning ...«

### ■ sammanfattat

Cellräkning i likvor har en central roll i diagnostiken av akuta hjärnsjukdomar såsom subaraknoidalblödning och akut meningit/encefalit. Traditionellt utförs cellräkning i likvor manuellt med räknekammare och mikroskopi, vilket både är resurskrävande och kräver stor erfarenhet. Automatiserad cellräkning i

likvor med dagens instrument har god samstämmighet med manuell cellräkning, och adekvat känslighet och precision även på cellfattiga likvorprov, vilket gör metoden användbar i kliniken. Fördelen med denna metodik är snabbare och säkrare diagnostik, även vid laboratorier med begränsad erfarenhet av cellräkning i likvor.

»Vi rekommenderar även att alla cytogram granskas visuellt...«

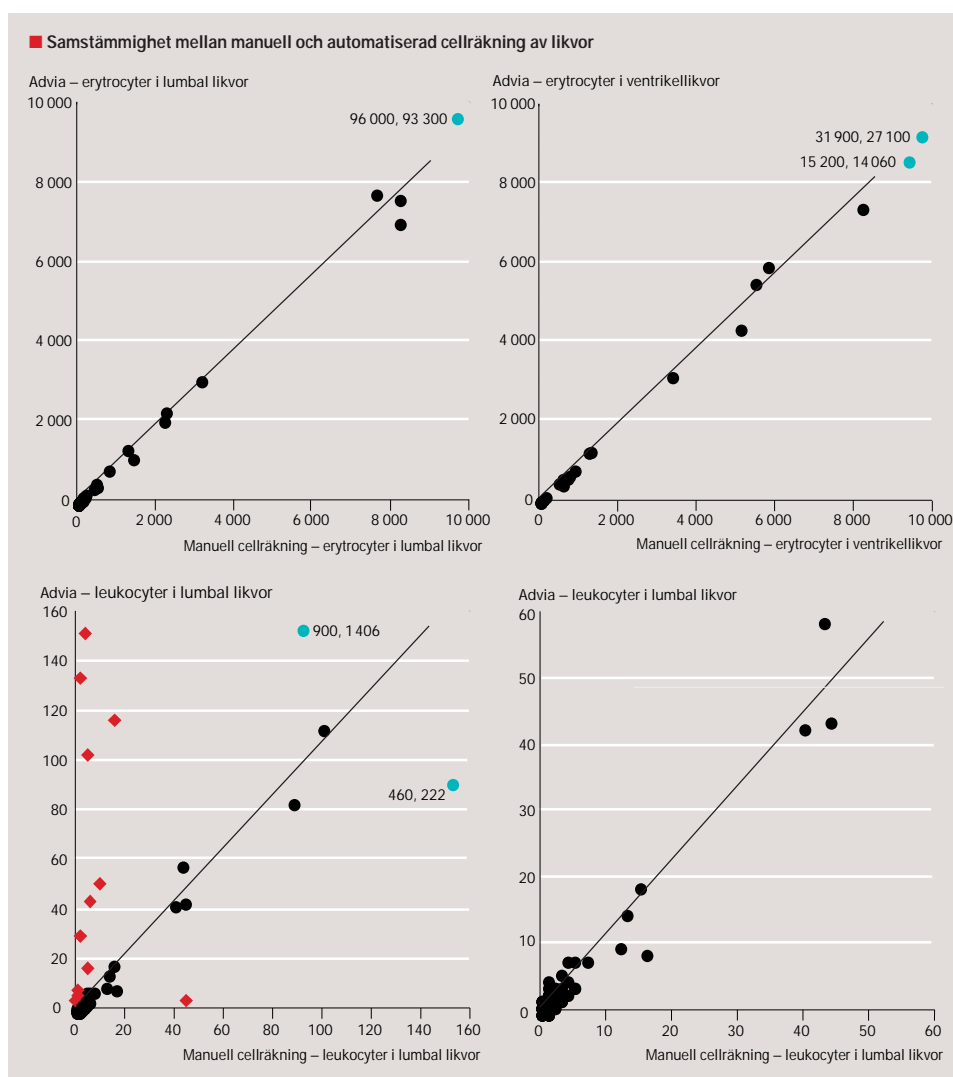
rentiera vid manuell cellräkning. I denna studie fann vi en god samstämmighet mellan automatiserad cellräkning med Advia 2120i-instrumentet och manuell cellräkning. Den analytiska sensitiviteten för instrumentet var tillräckligt god för analys av cellfattiga likvorprov, och den analytiska variationen låg på en acceptabel nivå, vilket gör att likvorprov kan analyseras som enkelprov i kliniskt neurokemisk rutindiagnostik.

Metoden har dock vissa begränsningar. Vid högt (>250–500 per  $\mu\text{l}$ ) antal erythrocyter i likvor fås en otillräcklig separation av erythrocyter från lymfocyter och neutrofila, varför vi i dessa

fall rekommenderar komplettering med manuell cellräkning. Vi rekommenderar även att alla cytogram granskas visuellt för att identifiera atypiskt lokaliserade celler som inger misstanke om maligna celler, då man bör komplettera med likvorcytologi. Automatiserad cellräkning bör utföras inom en timme efter provtagning, då vita blodkroppar, framför allt neutrofila, är instabila i likvor och börjar degraderas [8]. De referensvärden som används vid vårt laboratorium är <5 celler per  $\mu\text{l}$  för erythrocyter och <3 celler per  $\mu\text{l}$  för lymfocyter, monocyter respektive neutrofila.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

**Kommentera** denna artikel på [Lakartidningen.se](http://Lakartidningen.se)



**Figur 1.** Korrelationer mellan manuell och automatiserad cellräkning i likvor. Celltal anges som celler/ $\mu\text{l}$  likvor.

Överst till vänster: Korrelation mellan manuell och automatiserad räkning av erythrocyter i lumbal likvor ( $n = 103$ ; Spearman's  $r = 0,97$ ,  $P < 0,001$ ). Signifikant korrelation ( $r = 0,95$ ;  $P < 0,001$ ) fanns även för likvorprov med lågt (<250 celler/ $\mu\text{l}$ ) erythrocytantal. Blå punkt med angivna nivåer ligger utanför skalan i figuren.

Överst till höger: Korrelation mellan manuell och automatiserad räkning av erythrocyter i ventrikellikvor ( $n = 49$ , Spearman's  $r = 0,99$ ;  $P < 0,001$ ). Signifikant korrelation ( $r = 1,00$ ;  $P < 0,001$ ) fanns även för likvorprov med lågt (<250 celler/ $\mu\text{l}$ ) erythrocytantal. Blå punkter med angivna nivåer ligger utanför skalan i figuren.

Nederst till vänster: Korrelation mellan manuell och automatiserad räkning av leukocyter i lumbal likvor ( $n = 104$ ). Blå punkter med angivna nivåer ligger utanför skalan i figuren. Röda rutor markerar likvorprov med erythrocytantal <250 per  $\mu\text{l}$ .

Nederst till höger: Korrelation mellan manuell och automatiserad räkning av leukocyter i lumbal likvorprov med erythrocytantal >250 per  $\mu\text{l}$  ( $n = 100$ ; Spearman's  $r = 0,78$ ;  $P < 0,001$ ). Grafen är skuren vid en leukocytnivå på 60 per  $\mu\text{l}$  för att tydligare visa korrelationen i det låga intervallet.

**REFERENSER**

- Sandhaus LM, Ciarlini P, Kidric D, Dillman C, O'Riordan M. Automated cerebrospinal fluid cell counts using the Sysmex XE-5000: is it time for new reference ranges? *Am J Clin Pathol.* 2010;134:734-8.
- Luque FA, Jaffe SL. Cerebrospinal fluid analysis in multiple sclerosis. *Int Rev Neurobiol.* 2007;79:341-56.
- Gout O, Bouchareine A, Moulignier A, Deschamps R, Papeix C, Gorochoy G, et al. Prognostic value of cerebrospinal fluid analysis at the time of a first demyelinating event. *Mult Scler.* 2011;17(2):164-72.
- Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurol.* 2010;6:131-44.
- Blennow K. Centrala nervsystemet. I: Peter Nilsson-Ehle, redaktör. *Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin.* Lund: Studentlitteratur; 2003.
- Tumani H, Nölker G, Reiber H. Relevance of cerebrospinal fluid variables for early diagnosis of neuroborreliosis. *Neurology.* 1995;45:1663-70.
- Jesse S, Brettschneider J, Süsmuth SD, Landwehrmeyer BG, von Arnim CA, Ludolph AC, et al. Summary of cerebrospinal fluid routine parameters in neurodegenerative diseases. *J Neurol.* 2011;258(6):1034-41.
- Steele RW, Marmor DJ, O'Brien MD, Tyson ST, Steele CR. Leukocyte survival in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 1986;23:965-966.