

Masteroppgave

Holdbarhetsforsøk av blodgassparametere i venøse hepariniserte
fullblodsprøver: Effekten av oppbevaringstid, temperatur og
prøvebeholder

*Stability of blood gas parameters in venous heparinized whole blood
samples: Effect of storage time, temperature and collection container.*

Masterprogram i helsevitenskap, studieretning radiograf/bioingeniør

Institutt for global helse og samfunnsmedisin

Universitetet i Bergen



Eirik Åsen Røys

Våren 2018

Forord

Veiledere

Astrid-Mette Husøy - spesialbioingeniør ved Laboratorium for klinisk biokjemi (LKB) ved Haukeland universitetssjukehus (HUS) - 1.amanuensis Høgskolen på Vestlandet (HVL).

Kristin M. Aakre - 1 amanuensis UiB, overlege LKB & Hormonlaboratoriet, HUS.

Atle Brun - 1. Amanuensis, Klinisk institutt 2, UiB & overlege LKB, HUS.

Samarbeidspartnere

Laboratorium for klinisk biokjemi - Haukeland universitetssjukehus.

Det var et ønske fra Seksjon for pasientnæreanalyser (PNA) ved Laboratorium for klinisk biokjemi ved Haukeland Universitetssjukehus å gjennomføre dette prosjektet. Min motivasjon for å velge oppgaven var at det ble en videreføring av mitt bachelorprosjekt utført på Høgskulen på vestlandet våren 2016.

Det rettes en stor takk til mine veiledere Astrid-Mette Husøy, Kristin M. Aakre og Atle Brun. Deres innspill og engasjement rundt oppgaven har blitt satt stor pris på. Takk til alle på PNA seksjonen for deres tålmodighet når jeg plutselig dukket opp og okkuperte analyseinstrumentet. Takk til alle som stilte opp under prøvetakingen, og takk til min trofaste assistent og medstudent Birthe Skarbø (Bioingeniør). En spesielt stor takk til ”tacogjengen”: Bjørn Erik Sjøtun (Bioingeniørstudent), Jonas Sætre (Bioingeniør), Monia Melbø (Bioingeniør), Sindre Hauan (Bioingeniør) og Torstein Andvik (Bioingeniør) for deres innsats under studiet. Takk til ledelsen ved LKB for å ha dekket utgifter tilknyttet prøvetakingsutstyr og reagenser til analysering, og takk til bioingeniørfagliginstitutt for økonomisk støtte.

En siste takk til familie og venner for all støtte underveis.

Bergen, 04.06.2018

- Eirik Åsen Røys

Abstrakt

Bakgrunn: Holdbarheten til venøse blodgassprøver er dårlig dokumentert, og tidligere forskning har fokusert på arterielle prøver.

Hensikt: Studien ble utført for å kartlegge holdbarheten til de venøse blodgassparameterne pH, partialtrykket av CO₂ (PCO₂), aktuell bikarbonat (cHCO₃⁻), standard Base Excess (SBE) og laktat.

Metode: Holdbarheten ble vurdert ved å betrakte endringer i blodgassverdiene fra nullprøvene etter 15, 30, 45 og 60 minutter. Prøvene ble oppbevart i heparinrør (HPR) og blodgasssprøyter (BGS) tilsatt litium heparin, og lagret i romtemperatur (RT) og på knust is. Holdbarheten ble vurdert hos friske givere (normale blodgassverdier), friske givere med respiratorisk alkalose oppnådd gjennom hyperventilering og hos dialysepasienter med metabolsk acidose. Klinisk signifikante endringer ble vurdert ut i fra krav til tillatt bias og totalfeil basert på biologisk variasjon.

Resultat: Laktatkonsentrasjonen økte over tid og hadde en holdbarhet på <15 minutter ved alle betingelsene. Økningen var betraktelig lavere ved oppbevaring på is.

PCO₂ var mest stabil på BGS, men det var kun BGS i RT som viste en holdbarhet innenfor målepunktene (15 minutter). pH hadde en holdbarhet på <15 minutter i HPR og på 15 minutter i BGS, uavhengig av temperatur. cHCO₃⁻ og SBE hadde lengst holdbarhet i BGS på is med en holdbarhet på 60 minutter, på grunn av at det var totalt liten variasjon i pH og PCO₂.

Konklusjon: Holdbarheten for venøs blodgass var best ved oppbevaring i BGS på is, med unntak av PCO₂. Holdbarheten var: pH 15 minutter, cHCO₃⁻ og SBE 60 minutter, PCO₂ og laktat < 15 minutter.

Nøkkelord

Venøs blodgass, holdbarhetsstudie, syre/base-forstyrrelser

Abstract

Background: The stability of venous blood gas samples is poorly documented, due to previous studies focusing on arterial samples.

Objective: The studies aim was to examine the stability of the venous blood gas analytes pH, the partial pressure of CO₂ (PCO_2), actual bicarbonate ($cHCO_3^-$), standard Base Excess (SBE) and lactate.

Method: The stability was evaluated by considering changes from baseline after 15, 30, 45 and 60 minutes. The samples were collected in both heparintubes (HPR) and blood gas syringes (BGS) containing lithium heparin. The samples were stored at both room temperature (RT) and on crushed ice. The stability was considered in three participant groups: Healthy subjects, healthy subjects with a respiratory alkalosis achieved through hyperventilation and patients undergoing dialysis with a metabolic acidosis.

Results: The lactate concentration increased over time which led to a stability <15 minutes under all conditions. The increase was substantially lower when stored on ice. PCO_2 were most stable when stored in BGS, but only BGS in RT was stable within the measured time intervals (15 minutes). pH showed a stability of <15 minutes in HPR and of 15 minutes in BGS, independent of temperature. $cHCO_3^-$ and SBE were most stable in BGS on ice, with a stability of 60 minutes, because of a small total variation in pH and PCO_2 .

Conclusion: Venous blood gases were most stable when stored in BGS on ice, except for PCO_2 . The stability was: pH: 15 minutes, $cHCO_3^-$ and SBE: 60 minutes, PCO_2 and lactate: < 15 minutes.

Innholdsfortegnelse

| | |
|---|-----------|
| 1.0 Introduksjon | 1 |
| 1.1 Bakgrunn..... | 1 |
| 1.2 Hva er blodgassanalyser?..... | 1 |
| 1.3 Når benyttes blodgassanalyser? | 3 |
| 1.4 Prøvemateriale | 4 |
| 1.5 Prøvehåndtering | 4 |
| 1.6 Holdbarhet venøs blodgass og laktat blant norske sykehus..... | 9 |
| 1.7 Tidligere holdbarhetsstudier for blodgassparametere..... | 10 |
| 1.8 Tidligere holdbarhetsstudier for laktat..... | 11 |
| 1.9 Kvalitetskrav til holdbarhet..... | 12 |
| 2.0 Målsetting for studie | 15 |
| 2.1 Forskningsspørsmål: | 16 |
| 3.0 Metode | 16 |
| 3.1 Valg av forskningsdesign..... | 16 |
| 3.2 Metodologisk forankring | 17 |
| 3.3 Utvalg..... | 17 |
| 4.0 Resultat | 31 |
| 4.1 Holdbarhet venøs pH (H^+) | 32 |
| 4.2 Holdbarhet venøs PCO_2 | 35 |
| 4.3 Holdbarhet venøs aktuell bikarbonat | 38 |
| 4.4 Holdbarhet venøs Standard Base Excess | 40 |
| 4.5 Holdbarhet laktat i fullblod..... | 42 |
| 4.6 Oppsummering..... | 45 |
| 5.0 Diskusjon | 46 |
| 5.1 Absolutte og relative avvik..... | 46 |
| 5.2 Kvalitetskrav | 47 |
| 5.3 Samlet og separat vurdering av resultatene | 47 |
| 5.4 Holdbarhet venøse blodgassparametere og laktat..... | 48 |
| 5.5 Oppsummert holdbarhet og sammenligning med norske sykehus | 53 |
| 5.6 Studiens validitet..... | 54 |

| | |
|-----------------------------|-----------|
| 6.0 Konklusjon | 55 |
| 7.0 Kilder | 57 |
| 8.0 Vedlegg..... | 61 |

Figur liste

| | |
|--|----|
| Figur 1: <i>Metabolismen og effekten av aerob celleånding fra leukocytter og trombocytter i prøvebeholderen (10).</i> | 5 |
| Figur 2: <i>Anaerob metabolisme fra erytrocyttene, og bikarbonatbuffersystem, i prøvebeholderen (16).</i> 7 | |
| Figur 3¹: <i>Forskyvning av referanseområdet ved anvendelse av minimumskravet til tillatt BIAS</i> | 15 |
| Figur 4²: <i>Forsøk, utvalg, antall deltakere og prøvetakingsoppsett for holdbarhetsforsøkene for venøse blodgassparametere og laktat.</i> | 20 |
| Figur 5³: <i>Arbeidsfordeling mellom prøvetaker og assistent under prøvetaking</i> | 24 |
| Figur 6²: <i>Prøvetakingsprotokoll i pilotforsøk 1: Nullprøven ble analysert umiddelbart. De resterende heparinrørene ble fordelt mellom oppbevaring i romtemperatur og på is. Alle prøvene ble analysert på samme instrument.</i> | 25 |
| Figur 7²: <i>Prøvetakingsprotokoll pilotforsøk 2: Nullprøvene ble analysert umiddelbart. De resterende heparinrørene og blodgass-sprøytene ble fordelt mellom oppbevaring i romtemperatur og på is. Alle prøvene ble analysert på samme instrument.</i> | 26 |
| Figur 8: <i>Relative avvik av pH(H⁺) fra nullprøver fra friske givere oppbevart i heparinrør på is. Blå sirkler viser avvik i enkeltmålinger, røde sirkler er gjennomsnittlige avvik og grenser for tillatt bias og totalfeil er vist gjennom røde og blå linjer.</i> | 33 |
| Figur 9: <i>Relative avvik av PCO₂ fra nullprøver fra friske givere oppbevart i heparinrør på is. Blå sirkler viser avvik i enkeltmålinger, røde sirkler er gjennomsnittlige avvik og grenser for tillatt bias og totalfeil er vist gjennom røde og blå linjer</i> | 36 |
| Figur 10: <i>Relative avvik av laktat fra nullprøver fra friske givere oppbevart i blodgass-sprøyter i romtemperatur. Blå sirkler viser avvik i enkeltmålinger, røde sirkler er gjennomsnittlige avvik og grenser for tillatt bias og totalfeil er vist gjennom røde og blå linjer.</i> | 43 |
| Figur 11: <i>Relative avvik av laktat fra nullprøver fra friske givere oppbevart i blodgass-sprøyter på is. Blå sirkler viser avvik i enkeltmålinger, røde sirkler er gjennomsnittlige avvik og grenser for tillatt bias og totalfeil er vist gjennom røde og blå linjer.</i> | 44 |
| Figur 12: <i>Absolutte avvik fra nullverdi for laktat oppbevart i blodgass-sprøyte i romtemperatur og på is. Avvik er vist for tre givergrupper: friske givere, givere med respiratorisk alkalose og givere med metabolsk acidose</i> | 45 |

¹Inspirert av illustrasjon vist i Fraser CG. Biological variation: from principles to practice: Amer. Assoc. for Clinical Chemistry; 2001.

²Inspirert av illustrasjoner funnet på hos Radiometer og Becton Dickinson sine hjemmesider: Radiometer: <https://www.radiometer.com>, Becton Dickinson: <https://www.bd.com/en-us>.

³Inspirert av illustrasjoner funnet på hos Radiometer sine hjemmesider: <https://www.radiometer.com>.

Liste over forkortelser

[H⁺]: Hydrogenionkonsentrasjonen
C̄: Gjennomsnittskonsentrasjonen
P̄: Gjennomsnittstrykket
ANOVA: Analysis of variance
BGS: Blodgass-sprøyte tilsatt litiumheparin
BIAS: systematisk avvik
CO₂: Karbondioksid
cHCO₃⁻: Aktuell bikarbonat
CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute
CV_a: Analytisk variasjon
CV_G: intra-individuell biologisk variasjon
CV_I: inter-individuell biologisk variasjon biologisk
EPK: Erytrocyttkonsentrasjonen
H⁺: Hydrogenion
H₂CO₃: Karbonsyre
H₂O: Vann
Hb: Hemoglobin
HCO₃⁻: Bikarbonat
HPR: Heparinrør tilsatt litiumheparin
HUS: Haukeland universitetssjukehus
IFCC: International Federation of Clinical Chemistry
KI: Konfidensintervall
LKB: Laboratorium for klinisk biokjemi
LPK: Leukocyttkonsentrasjonen
KOLS: Kronisk obstruktiv lungesykdom
NKK: Norsk Klinisk-kjemisk kvalitets sikring
O₂: Oksygen
PCO₂: Patialtrykket av karbondioksid
PNA: Seksjon for pasientnære analyser
PO₂: Partialtrykket av oksygen
RCT: Randomized controlled trials
RT: Romtemperatur
SBE: Standard Base Excess
T_{CV_a}: Tillatt analytisk variasjon
T_{BIAS}: Tillatt systematisk avvik
TF: Totalfeil
TPK: Trombocyttkonsentrasjonen
T_{TF}: Tillatt totalfeil
VBG: Venøs blodgass

1.0 Introduksjon

1.1 Bakgrunn

Masteroppgaven er gjennomført i samarbeid med Laboratorium for klinisk biokjemi (LKB) ved Haukeland universitetssjukehus (HUS). Bakgrunnen for holdbarhetsstudiet var et ønske fra LKB om å kvalitetssikre de venøse blodgassanalysene som utføres av seksjons for pasientnære analyser (PNA) på LKB. Dette hadde bakgrunn i at de mangler dokumentasjon på holdbarheten. Det utføres per i dag cirka 9000 venøse blodgassprøver i året ved PNA.

1.2 Hva er blodgassanalyser?

Blodgassanalyser omfatter målinger av blodets oksygeninnhold (O_2), karbondioksidinnhold (CO_2) og pH nivå. Samlet vil disse kunne kjennetegne de ulike *syre/base-* og *blodgassforstyrrelsene* som kan oppstå i kroppen (1).

Blodgassforstyrrelser karakteriseres av et unormalt O_2 eller CO_2 innhold blodet. Dette måles gjennom partialtrykket av O_2 (PO_2) og $-CO_2$ (PCO_2). Her benyttes blodgassprøver blant annet til å vurdere nedsatt O_2 tilførsel til vevene (hypoksi) gjennom å påvise en hypoksemi, ofte definert som $PO_2 < 8,0$ kPa i arterielt blod (1). Venøse prøver er uegnet til målinger av PO_2 og kan dermed ikke benyttes til å utrede disse tilstandene. Oppgaven vil derfor videre ha fokus på syre/base-forstyrrelsene. Begrensningene til venøse prøver utdypes senere i kapitlet.

Syre/base-forstyrrelser inntreffer når syre eller base belastningen overskrider kroppens buffersystemer og ekskretoriske kapasitet slik at ekstracellulær pH forandres. Dette oppstår enten på grunn av redusert ekskretorisk kapasitet, typisk ved nedsatt nyre- eller lungefunksjon, eller på grunn av et unormalt stort tap eller tilførsel av base eller syre (1).

pH er definert som negative logaritmen til hydrogenion (H^+) konsentrasjonen: $pH = -\log[H^+]$. For å regulere $[H^+]$, og pH-nivået, er tre mekanismer involvert i kroppen (1):

1. intra- og ekstracellulære buffere i kroppsvæsken
2. respiratorisk utskillelse av CO_2 via lungene
3. reabsorpsjon av bikarbonat (HCO_3^-) og utskillelse av H^+ via nyrene.

Sammenhengen mellom HCO_3^- , CO_2 og H^+ i kroppen illustreres i likevekten som utgjør bikarbonatbuffersystemet:



CO_2 vil kunne reagere med vann (H_2O) og danne den svake syren karbonsyre (H_2CO_3). Tilstedeværelsen av en svak syre (H_2CO_3) og dens konjugerte base (HCO_3^-) utgjør et buffersystem. Bikarbonatbuffersystemet følger Le Châtelier-prinsippet slik at tilførsel av syre eller base vil gi en forskyvning i likevekten. Buffersystemet motvirker slik forandringen helt til likevekten igjen balanseres. Slik regulerer kroppen $[\text{H}^+]$ (1). Bikarbonatbuffersystemet omtales ytterligere under kapittelet *1.4.1 metabolisme og buffersystemer*.

Det er fire parametere som i blodgassanalyser blir brukt for å karakterisere syre/base-forstyrrelser (1):

- pH uttrykker totalsituasjonen ekstracellulært. I arterieblod blir pH under 7,35 betegnet som acidemi og over 7,45 for alkalemi. I perifert veneblod vil dette forskyves med 0,03-0,05 enheter på grunn av et høyere CO_2 innhold i venøst blod (2).
- PCO_2 i blodet uttrykker den respiratoriske komponenten i buffersystemet.
- Standard Base Excess (SBE), ofte bare kalt Base Excess (BE), uttrykker baseoverskuddet i ekstracellulær væske. Parameteren beregnes på grunnlag av målinger av pH og PCO_2 og uttrykker den metabolske komponenten i syre/base reguleringen. Dette er fordi den i liten grad påvirkes av endringer i PCO_2 (3).
- Aktuell bikarbonat (cHCO_3^-) er også en beregnet parameter basert på målinger av pH og PCO_2 som estimerer HCO_3^- . Parameteren slår ut på både metabolske og respiratoriske syre/base forstyrrelser.

Laktat er en parameter som ofte analyseres sammen med blodgassanalysene for å karakterisere syre/base-forstyrrelser. Dette er fordi at dannelse av melkesyre medfører rask økning av $[\text{H}^+]$, og gir en nedgang i pH (4). Teknologien har også tillatt moderne blodgassinstrumenter å inkorporere laktatelektroden sammen med blodgassanalysene.

Syre/base-forstyrrelsene kategoriseres i fire kategorier. De inndeles etter om det primært er den respiratoriske eller metabolske komponenten som danner grunnlag for forstyrrelsen, og om pH er forhøyet eller nedsatt. Primært forhøyede PCO_2 verdier som forårsaker en acidemi

omtales som en respiratorisk acidose. Den motsatte effekten med nedsatte PCO_2 -verdier omtales som en respiratorisk alkalose. Hvis primærårsaken vises i den metabolske komponenten BE, også noen ganger vurdert gjennom $cHCO_3^-$, omtales forstyrrelsene som en metabolsk acidose eller alkalose. Syre/base-forstyrrelsene deles også inn etter om det er en eller flere primærforstyrrelser som forekommer samtidig. Begrepene ukomplisert- eller komplisert-syre/base-forstyrrelse brukes for å skille disse tilstandene (1).

Ved vedvarende syre/base-forstyrrelser vil kroppen kompensere ubalansen gjennom regulering i lunge- eller nyrefunksjonen. Mekanismene bak dette utdypes under delkapittelet *metabolisme og buffersystemer*. Endringene som de kompensatoriske systemene produserer omtales ofte som sekundærrespons. Effekten av de ulike sekundærresponsene på blodgassanalysene vises i Tabell I (1).

Tabell I: Utslag i blodgassanalysene ved primærutfall og kompensatorisk kompensasjon.

| Forstyrrelse | pH | Primært utfall | Kompensatorisk mekanisme |
|------------------------|----|-----------------|--------------------------|
| Respiratorisk acidose | ↓ | PCO_2 ↑ | BE/ HCO_3^- ↓ |
| Respiratorisk alkalose | ↑ | PCO_2 ↓ | BE/ HCO_3^- ↑ |
| Metabolsk acidose | ↓ | BE/ HCO_3^- ↓ | PCO_2 ↑ |
| Metabolsk alkalose | ↑ | BE/ HCO_3^- ↑ | PCO_2 ↓ |

1.3 Når benyttes blodgassanalyser?

Gjennom å påvise syre/base-forstyrrelser vil blodgassanalysene kunne bidra til å avdekke avvik i en mengde underliggende helsetilstander. Generelt er disse ofte relatert til avvik knyttet til de respiratoriske-, sirkulatoriske- eller metabolske systemene i kroppen. Utover dette vil også ulike toksikasjoner kunne gi utslag i blodgassanalysene (1). Under omtales noen av de mange tilstandene blodgassanalysen kan benyttes til å utrede.

Ved påvisning av den hyppigste syre-base forstyrrelsen metabolsk acidose vil diabetes, sepsis, rabdomyolyse, nyresvikt, leversvikt, hjertestans, tap av HCO_3^- ved diaré og tarmfistler være årsaker som ligger til grunn. En økning i SBE, som indikerer en metabolsk alkalose, kan være forårsaket av blant annet tap av saltsyre ved brekningstilstander eller ved tilførsel av bikarbonat. Ensidig ernæring, alkoholisme og diuretika kan også forårsake alkalose (1).

En respiratorisk acidose kan oppstå akutt ved hemming av respirasjonssenteret i sentralnervesystemet. Dette induseres gjerne gjennom medikamenter. Astmaanfall kan også gi en akutt acidose. Ved kronisk respiratorisk acidose kan kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS) eller ekstrem fedme være årsaker. Respiratorisk alkalose kan derimot fremkomme ved hyperventilering eller ved toksikasjoner slik som for eksempel salicylatintoksikasjon (1).

1.4 Prøvemateriale

I blodgassanalyser er det tre prøvematerialer som normalt anvendes: arterielt-, kapillært- eller venøst blod. Arterieblod regnes som gullstandard fordi det oksygenrike blodet fra lungene gir det beste målet på vevens oksygentilførsel. Blodet fra pulsårene benyttes derfor både til å utrede blodgass- og syre/base-forstyrrelser. Kapillært blod kan benyttes som et alternativ til oksygenmålinger, og utredelse av syre/base-forstyrrelser, med en rimelig korrelasjon til arterielle verdier (5). Dette er under forutsetning at de pre-analytiske feilkildene assosiert med kapillærprøvetaking begrenses. Venøst blod kan enten være sentralvenøst, som hentes fra vener nær høyre hjertehalvdel, eller perifert veneblod som typisk hentes fra vener i armen. Venepunksjon av perifere vener er enklere å utføre og er både mindre smerte- og risikofylt for pasienten enn arteriell prøvetaking (6). Venøs prøvetaking av perifere vener er også enklere å standardisere sammenlignet med kapillær prøvetaking (7). Perifert veneblod er derimot ikke anbefalt til målinger av PO_2 fordi de har lite korrelasjon til arterielle verdier. Dette er fordi oksygenmengden som tas opp av vevene varierer etter behov. Det vil også være variasjoner i PCO_2 på grunn av gassutvekslingen med vevene (2). Perifert veneblod er likevel et alternativ god korrelasjon til de resterende blodgassparameterne (8) og kan anvendes til å kartlegge metabolske syre/base forstyrrelser (1).

1.5 Prøvehåndtering

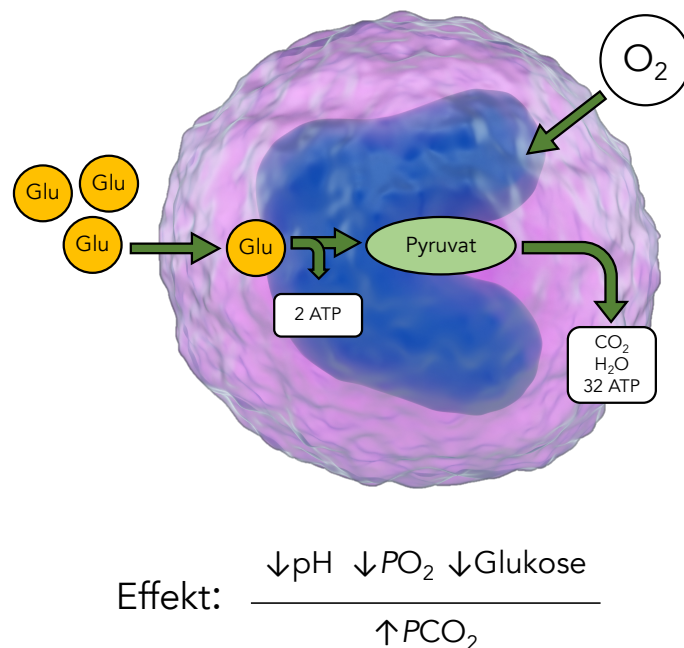
Blodgassprøver krever i likhet med andre laboratorieprøver at de grunnleggende pre-analytiske stegene følges, slik som at: Korrekt analyse er rekvirert, rett prøvemateriale innhentes, prøven er merket med korrekt pasient ID og riktig analyse utføres. Det er likevel spesielle hensyn som må tas i henhold til prøvehåndteringen av blodgassprøver. Dette er på grunn av særegenheter i analyttenes fysiokjemiske egenskaper (9) Disse drøftes under:

1.5.1 Metabolisme og buffersystemer i prøvebeholderen

Cellemetabolisme

Kroppen produserer et overskudd av syrer. Den totale produksjonen av H^+ er omtrent 150 mol per dag og utgjør den største metabolittomsetningen i kroppen. Det er likevel svært små endringer i $[H^+]$ både intra- og ekstracellulært. Dette kommer av at produksjonen er nøye balansert til forbruket i kroppen, og at endringer i $[H^+]$ reguleres av en rekke buffersystem. Cellemetabolismen, ketogenesen og lipolysen er de største biokjemiske bidragsyterne til H^+ produksjon i kroppen (4).

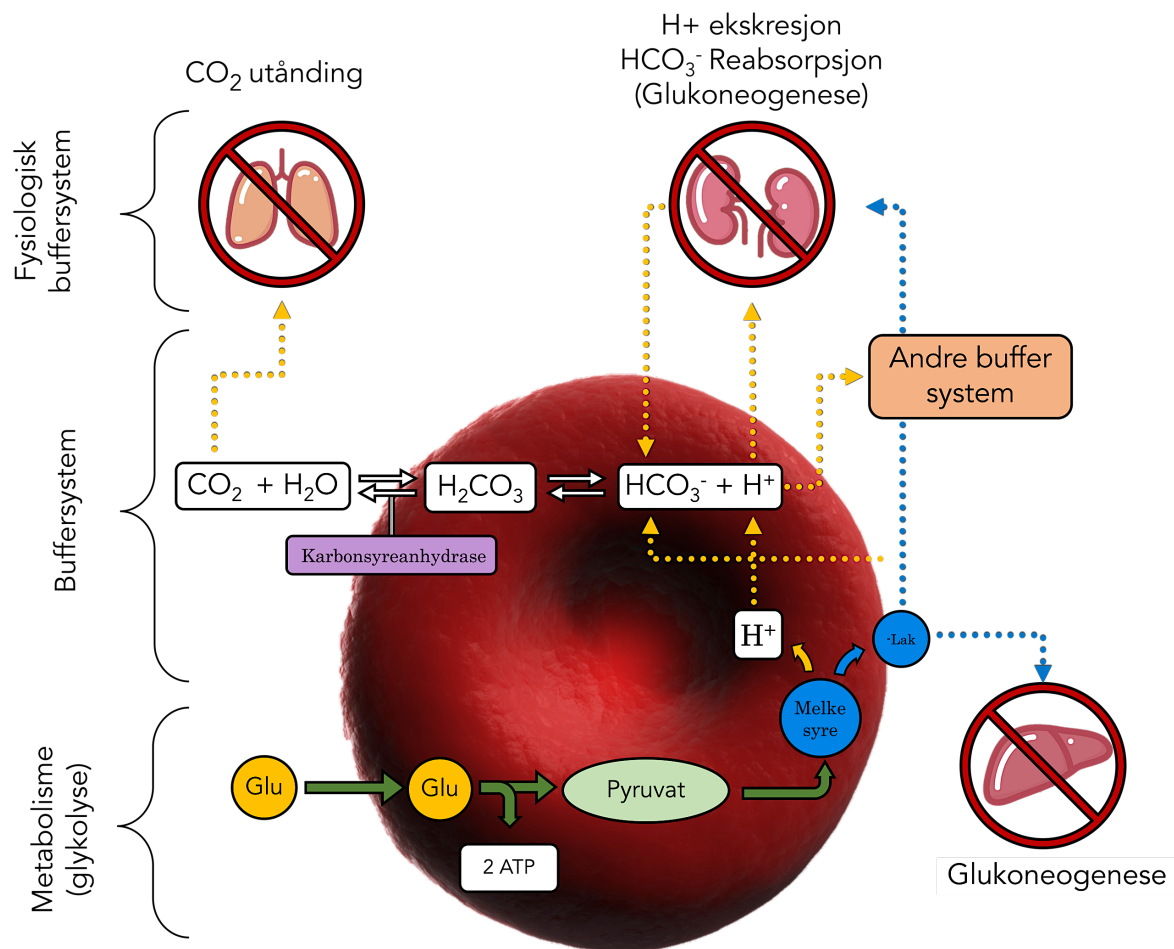
Ved lagring av fullblod vil metabolismen til blodcellene kunne fortsette i prøvebeholderen (9). Leukocytene og trombocytene vil gjennom aerob celleånding produsere ca. $10H^+$ per O_2 -molekyl som forbrukes. Netto økning vil likevel normalt forbli null ettersom H^+ straks fjernes gjennom oksidering av NADH eller NADPH. Det største H^+ bidraget fra aerob celleånding kommer derfor indirekte fra dannelse av CO_2 , som gjennom bikarbonatlikevekten kan omgjøres til H^+ . CO_2 -produksjonen fra trombocytene vil være svært liten sammenlignet med leukocytene. Dette kommer av trombocyttenes relativt lille størrelse (4). Aerob celleånding vil over tid påvirke målinger av både pH, PCO_2 og PO_2 (Figur 1).



Figur 1: Metabolismen og effekten av aerob celleånding fra leukocytter og trombocytter i prøvebeholderen (10).

Anaerob celleånding vil direkte økte $[H^+]$ gjennom dannelsen av melkesyre fra glykolysen. H^+ dannes når melkesyren spaltes til sin konjugerte base laktat. Dette vil over tid påvirke verdiene til både pH og laktat i prøvebeholderen. Leukocytterne og trombocytterne vil utføre glykolyse ved anaerobe betingelser, men dette vil normalt ikke inntreffe i prøvebeholderen. Dette er fordi det vil være et svært lite forbruk av O_2 ved normale blodverdier hvor det er relativt få leukocytter til stede. Et unntak fra dette kan oppstå i sykdomstilstander med svært forhøyede leukocyttd verdier, som for eksempel ved leukemi eller infeksjonstilstander (4, 11). Erytrocyttene vil derimot alltid bryte ned glukose gjennom glykolysen ettersom de mangler mitokondrier. Ved normale blodverdier vil det være en enorm overvekt i erytrocyttkonsentrasjonen (EPK) sammenlignet med leukocyt- (LPK) og trombocyttkonsentrasjonen (TPK). I kroppen gjenvinnes laktat til glukose gjennom glukoneogenesen i leveren og i noe mindre grad i nyrene. Glukoneogenesen forbruker H^+ og utjevner produksjonen fra glykolysen (4). Denne balanseringen av H^+ vil ikke kunne inntreffe i prøvebeholderen fordi enzymsystemene mangler (Figur 2).

I hvor stor grad cellemetabolismen påvirker analyseresultatene vil avhenge av antall blodceller i prøven, og ved hvilken hastighet de bryter ned glukose (11). Avgjørende faktorer for nedbrytningshastigheten er blant annet temperatur og pH-nivå. Ved å senke temperaturen vil reaksjonshastighetene i begge formene for cellemetabolisme også avta. Det har derfor i flere anledninger blitt foreslått å oppbevare på blodgassprøver på is (11-13). pH-nivået i prøven vil påvirke metabolismehastigheten gjennom å stimulere eller nedregulere glykolysen. Dette kan i hovedsak forklares med at fosfofruktokinase enzymet i glykolysen er svært sensitivt til forandringer i pH. Kinasen stimuleres når det er en økning i pH i blodet, og motsatt ved nedgang (4, 14, 15)



Figur 2: Anaerob metabolisme fra erythrocyttene, og bikarbonatbuffersystem, i prøvebeholderen (16).

Buffersystemer

Den første mekanismen til å reagere på store endring i H^+ konsentrasjoner i kroppen er buffersystemene som eksisterer i alle kroppsvæsker. Disse buffersystemene inkluderer blant annet fosfat- og bikarbonatbuffersystemet, samt proteiner og hemoglobin (Hb).

Bufferresponser fra disse systemene vil kunne virke i løpet av sekunder/minutter. I blodet er bikarbonatbuffersystemet og Hb de viktigste bufferne. Hb bidrar gjennom sin evne til å binde O_2 , CO_2 og H^+ (1, 17)

Som tidligere nevnt gir bikarbonatbuffersystemet en sammenheng mellom CO_2 , HCO_3^- og H^+ gjennom sin likevekt. Omdannelsen av CO_2 og H_2O til H_2CO_3 katalyseres ved hjelp av karbonsyreanhydrase. Likevekten har i seg selv en liten bufferkapasitet, men blir gjennom sin

tilknytning til de kompensatoriske egenskapene til lungene og nyrene en svært viktig buffer i kroppen (1, 17):

Lungene kan innen få minutter etter at en syre/base-forstyrrelse inntreffer kompensere likevekten ved å øke eller senke den respiratoriske frekvensen. Frekvensen vil styre mengden CO₂ som kan ventileres ut gjennom alveolene. På denne måten regulerer lungene CO₂-nivået i blodet. Dette vil kunne motvirke et forhøyet eller nedsatt H⁺/HCO₃⁻-nivå. Nyrene kan stimuleres til økt eller nedsatt utskillelse av H⁺ og til reabsorpsjon av HCO₃⁻ i urinen. Slik kan et tap av HCO₃⁻, eller en overdreven eller nedsatt utskillelse av CO₂ via lungene, kompenseres. Kompensasjonen fra nyrene vil tidligst forekomme etter et halvt døgn (1, 17).

I prøvebeholderen vil bikarbonatbuffersystemet og Hb fungere uten tilknytning til de fysiologiske buffermekanismene fra lungene og nyrene (Figur 2).

1.5.2 Gassutveksling

For å ivareta CO₂ ved oppbevaring er det viktig å unngå påvirkning fra omgivelsene. En normal atmosfære vil kun inneholde cirka 0,03% CO₂ og vil derfor ha ett mye lavere partialtrykk av CO₂ enn i blodet. Ved tilstedeværelse av en luftboble i prøvebeholderen vil derfor CO₂ kunne fordampe fra blodet og over i gassfasen, gjennom en gassutveksling (18).

Gassutveksling mellom CO₂ og en luftboble beskrives i studier til å være mer gradvis enn for eksempel O₂. Dette er fordi CO₂ kan bindes seg til vann og danne karbonsyre. CO₂ er 20-25 ganger mer løselig i vann sammenlignet med O₂. Utover løseligheten påvirkes gassutvekslingen av størrelsen på trykkforskjell, temperatur, volum og overflate mellom blodet og luftboblen (18, 19).

1.5.3 Prøvebeholder

Til oppbevaring av prøvematerialet benyttes enten blodgass-sprøyter-, kapillærrør- eller vakuurrør- tilsatt litiumheparin. Prøvebeholdere kan være både av glass og plastikk. Glass har blitt ansett som det beste materialet ettersom det er impermeabelt for gass sammenlignet med plast, som er delvis permeabelt for oksygen (1, 17). Det har likevel blitt mer vanlig å benytte plastsprøyter og plastrør på grunn av at de er enklere å produsere, og at det er en redusert fare for stikkskader dersom glasset knuser. Arterielle prøver oppbevares kun i blodgass-sprøyter tilsatt litiumheparin (BGS). Vakuurrør tilsatt litiumheparin, også kalt heparinrør (HPR), ansees som uegnet til å ivareta oksygenkonsentrasjonen (9, 20). Dette

kommer av designet til HPR. HPR benytter et indre undertrykk for å trekke ut et presist blodvolum under prøvetaking. For at trekraften fra undertrykket ikke skal være for stor vil rørene være kalibrert slik at det ikke fylles fullstendig (21). Dette resulterer i at det blir en gjenværende atmosfære i HPR etter fyllvolumet er nådd. Denne atmosfæren vil gi en gassutvekslingen med blodet (9). HPR har i dag blitt brukt til å oppbevare venøse prøver hvor oksygen ikke er av interesse. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) (22) og Bishop et al. (17) fraråder dette.

1.6 Holdbarhet venøs blodgass og laktat blant norske sykehus

Det ble foretatt et litteratursøk i laboratoriehåndbøkene utgitt på hjemmesidene til 19 norske sykehuslaboratorium. Åtte oppgav å analysere venøs blodgass (VBG) (23-30). Disse prosedyrene er illustrert i Tabell II. Seks av prosedyrene anbefalte oppbevaring i heparinrør (25-30). To prosedyrer anbefalte oppbevaring i BGS (23, 24).

Med hensyn til temperatur foreslo tre av de som anbefalte HPR, at oppbevaring på is ville forlenge holdbarheten (26-28). Prosedyrene som anbefalte BGS benyttet oppbevaring i romtemperatur (RT). Oppbevaringstiden av HPR varierte fra 10-30 minutter i RT og fra 30-120 minutter på is. Oppbevaringstiden av BGS var i begge tilfeller 30 minutter. Med hensyn til hvilke av de venøse blodgassparameterne som ble analysert var det tre sykehus som ikke analyserte PCO_2 (26, 27, 29), et sykehus som ikke analyserte HCO_3^- (26) og et sykehus som ikke analyserte pH (27).

Tabell II: Prosedyrer for håndtering av venøse blodgassprøver, med hensyn til prøvebeholder, parametere, oppbevaringstemperatur og holdbarhet (23-30).

| | Prøvebeholder | Parametere | Oppbevaringstemperatur | Holdbarhet |
|----------------------------------|------------------|--|------------------------|--------------|
| Oslo universitetsykehus | Heparinrør | pH, Base Excess | is | 120 minutter |
| Haukeland universitetssjkehus | Heparinrør | $cHCO_3^-$, Base Excess | is | 60 minutter |
| Haugesund sykehus | Heparinrør | pH, PCO_2 , Base Excess, HCO_3^- | romtemperatur | 30 minutter |
| St. Olavs Hospital | Heparinrør | pH, PCO_2 , Base Excess, HCO_3^- | is | 30 minutter |
| Sykehuset i Levanger | Blodgass-sprøyte | pH, PCO_2 , $cHCO_3^-$, Base Excess | romtemperatur | 30 minutter |
| Universitetssykehuset Nord-Norge | Blodgass-sprøyte | pH, PCO_2 , HCO_3^- , Base Excess | romtemperatur | 30 minutter |
| Førde sykehus | Heparinrør | pH, HCO_3^- , Base Excess | romtemperatur | 15 minutter |
| Sykehuset i Vestfold | Heparinrør | pH, PCO_2 , $cHCO_3^-$, Base Excess | romtemperatur | 10 minutter |

Syv sykehus oppga å analysere laktat i venøst fullblod (31-37). I disse prosedyrene anbefalte fire oppbevaring på is med holdbarhet mellom 30 til 90 minutter (31-34). To prosedyrer anbefalte oppbevaring i RT med holdbarhet mellom 10-20 minutter (35, 36). Den siste prosedyren godtok oppbevaring både i RT (10 minutter) og på is (60 minutter) (37).

1.7 Tidligere holdbarhetsstudier for blodgassparametere

Det er blitt utført flere holdbarhetsforsøk på blodgassparametere. I litteraturen ble det funnet fem studier som har kartlagt holdbarheten til blodgassprøver. Alle disse studiene var utført på arterielle prøver og holdbarheten ble derfor ofte vurdert ut i fra endringer i PO_2 . Metode, resultat og konklusjon fra disse studiene er grovt oppsummert i Tabell III:

Tabell III: Metode, resultat og konklusjon fra seks studier som har undersøkt holdbarheten til blodgassparametere i arterielt blod: **A:** Mohammadhoseini et al.(2015) (13), **B:** Liss et al. (1993) (38), **C:** Smajić et al. (2015) (39), **D:** Schmidt og Muller-Plathe (1992) (11), **E:** Beaulieu et al. (1999) (12).

| Studie | Metode | | | Oppbevaring | Parametere | Resultat Statistisk Signifikans | Konklusjon Holdbarhet & betingelse |
|--------|---|---|--------------|--|-------------------------------------|---|---|
| | Målepunkt | Deltakere | Antall | | | | |
| A | * T_0, T_{30}, T_{60} | Intensiv-pasienter | N = 45 | BGS_A (plast) i RT / is | pH, PO_2 , PCO_2 , HCO_3^- | pH(RT): T_{30}, T_{60} PCO_2 (RT): T_{30}, T_{60} PO_2 (is): T_{60} | 60 min: BGS_A -plast-RT/is |
| B | T_0, T_{15}, T_{30} | Tilfeldig valgte pasienter | N = 75 | BGS_A (plast) i RT / is | pH, PO_2 , PCO_2 | pH(RT): T_{15}, T_{30} pH(is): T_{15} PCO_2 (RT/is): T_{15} PO_2 (RT/is): T_{15}, T_{30} | 30 min: BGS_A -plast-RT |
| C | T_{0-15}, T_{60} | Lunge-pasienter | N = 50 | BGS_A (plast) i RT | PO_2, PCO_2 | PO_2 (RT): T_{60} | 0-15 min: BGS_A -plast-RT: |
| D | T_0, T_{30}, T_{60} | Prøver med normal- og forhøyet Δ LPK / TPK | N = 20 - 30 | BGS_A (plast/glass) i RT / is | pH, PO_2 , PCO_2 | Ikke vurdert | 15 min: BGS_A -plast-RT >15 min: BGS_A -glass-is |
| E | BGS_A (RT): $T_0, T_{15}, T_{30}, T_{60}$ BGS_A (is): $T_0, T_{30}, T_{60}, T_{120}$ | Intensiv-pasienter | N = 11 - 120 | BGS_A (plast) i RT / is | pH, PO_2 , PCO_2 | Signifikant for alle parametere /målepunkt | PO_2 : 30 min, pH/ PCO_2 : 60 min: BGS_A -plast-is |

* T_0, T_{30}, T_{60} = oppbevaring i 0-, 30- og 60 minutter
 BGS_A : Blodgass-sprøyte med arterieblod
 Δ Leukocyt- og trombocyt-konsentrasjon

Tabell III viser at holdbarheten i litteraturen varierer fra 15 til 60 minutter. Det vises også at få studier har fokusert på holdbarheten til de den beregnede parameteren cHCO_3^- . Ingen av studiene inkluderte parameteren SBE. De fleste av studiene har vurdert resultatene sine med hensyn til statistisk signifikante endringer. Holdbarheten ble derimot i de fleste tilfeller vurdert som lengre enn hva som ble regnet som statistisk signifikant. Dette ble begrunnet ut i fra hva studiene regner som klinisk signifikante endringer.

Hvorvidt endringene var av klinisk signifikans ble i studiene vurdert på flere ulike måter: Schmidt og Muller-Plathe (11) vurderte det ut i fra grensene: $\text{PO}_2 < 0,5\text{kPa}$, $\text{PCO}_2 < 0,27\text{kPa}$, $\text{pH} 0,015$ som var anbefalt av IFCC (International Federation of Clinical Chemistry). Beaulieu et al. vurderte klinisk signifikans i blodgassparametere som 5% endring fra utgangsverdien. Mohammadhoseini et al. (13) beskriver i sine resultater at gjennomsnittlige endringer i $\text{pH} < 0.1$, og $\text{HCO}_3^- < 0,5 \text{ mg/L}$ ikke er av klinisk signifikans. Liss et al. (38) og Smajić et al. (39) oppga ikke hvilke grenser de benyttet for å vurdere klinisk signifikante endringer.

Med hensyn til parameterne som analyseres i venøst blod beskriver alle en reduksjon i pH. Det er her en konsensus om at dette kommer fra anaerob celleånding utført av blodcellene i prøven. Alle studiene viser også at nedgangen reduseres ved oppbevaring på is. For PCO_2 beskriver fire av de fem studiene en liten økning over tid (11-13, 39). Dette forklares med at den aerobe celleåndingen til leukocytter og trombocytter produserer CO_2 . Liss et al. fant derimot en liten nedgang i PCO_2 over tid. Dette ble forklart med at nedkjølingen av prøven fra kroppstemperatur kunne ha påvirket PCO_2 .

1.8 Tidligere holdbarhetsstudier for laktat

Flere studier viser at laktatkonsentrasjonen øker i fullblodsprøver ved oppbevaring. Det har også blitt vist at laktatproduksjonen reduseres ved å kjøle ned prøvene. Tabell IV viser resultatene fra 5 holdbarhetsforsøk til laktat oppbevart i hepariniserte fullblodprøver.

Tabell IV: Resultatene fra fem studier som har undersøkt endringene til laktat i fullblod. **A:** Geysant et al. (1985) (40), **B:** Wandrup (1989) (41), **C:** Toffaletti et al. (1992) (42), **D:** Kost et al. (2000) (43), **E:** Calatayud et al. (2003) (44).

| Studie | Temperatur | Endringsrate (mmol/L) |
|--------|---------------|-----------------------------|
| A | 20°C | 0.5 per 60 min |
| | 4°C | "Stabil i 2 timer." |
| B | Romtemperatur | 0.42 per 60 min |
| C | Romtemperatur | 0.5 per 30 min |
| | Isbad | 0.1 per 60 min |
| | | 0.2 per 120 min |
| D | Romtemperatur | 0.010 per minutt til 15 min |
| | | 0.27 per 30 min |
| | | 0.35 per 45 min |
| E | 24°C | 0.36 per 30 min |
| | 4°C | 0.10 per 30 min |

Med hensyn til hvilke økninger i laktatkonsentrasjonene studiene tillater varierer. Toffaletti et al. (42) anbefaler at en endring på 0,1 mmol/L, som var deres resultat etter 60 minutter på is, bør aksepteres. Kost. et al. (43) argumenterer for at laktat bør analyseres innen 15 minutter i RT som tilsvarer det som i deres studie tilsvarte en økning på 11,4% eller 0,15 mmol/L. Calatayud og Tenias (44) foreslår en grense for klinisk relevante økninger i laktatkonsentrasjonen på 0,2 mmol/L. Denne grensen brytes i deres studie etter 16,7 minutter i RT og etter 57,1 min på is.

1.9 Kvalitetskrav til holdbarhet

1.9.1 Holdbarhet og klinisk signifikans

Holdbarhet defineres som prøvematerialets evne til å beholde opprinnelig målverdi innenfor definerte grenser ved bestemte lagringsbetingelser og tidsrom (45). Grensene for tillatt avvik fra målverdi bør være definert slik at klinisk signifikante endringer unngås. Hvilke endringer som er klinisk signifikant har ingen universal definisjon, og har tidligere blitt definert på ulike måter i ulik kontekst (46). Vi definerer her klinisk signifikante endringer som avvik i prøveresultatet som er av en slik størrelse at det *kan* få konsekvenser for det kliniske utfallet til en pasient. Berte & Nevalainen (47) summerer hvordan et prøveresultat fra laboratoriet vil kunne ha påvirkning på det kliniske utfallet gjennom tre spørsmål:

1. Endrer prøveresultatet hva klinikerens tenker om pasienten? Hvis ja:
2. Gir denne endringen utslag i hvordan klinikerer behandler pasienten? Hvis ja:
3. Får ny pasientbehandling konsekvenser for det kliniske utfallet? (dødelighet, morbiditet).

1.9.2 Kvalitetskrav basert på biologisk variasjon.

For å vurdere om endingene i forsøkene kan være av klinisk betydning tar studiet utgangspunkt i Stockholm hierarkiets punkt 2a:” Evaluation of the effect of analytical performance on clinical decisions in general with: a) Data derived from biological variation.” Stockholm hierarkiet er en profesjonell konsensus utarbeidet for å vurdere kvalitetskrav i medisinske laboratorier (48).

Ideelt ville kvalitetskravene blitt utarbeidet ut fra hvilken effekt analysekvaliteten har på det kliniske utfall i en spesifikk klinisk setting, i henhold til Stockholm hierarkiets punkt 1: “Evaluation of the effect of analytical performance on clinical outcomes in specific clinical settings” (48). Dessverre foreligger ikke data om dette for de aktuelle parameterne.

Biologisk variasjon er de naturlige svingningene i biologiske komponenter rundt det homeostatiske likevektspunktet. Disse kan observeres både mellom individer: *inter-individuell variasjon* (CV_I), og i samme individ over tid: *intra-individuell variasjon* (CV_G) (26) Kunnskap om normal biologisk variasjon kan brukes til å skille de naturlige svingningene fra patologiske tilstander (49).

For at en biomarkør skal kunne brukes diagnostisk må de klinisk uvesentlige svingningene, forårsaket av biologisk og analytisk variasjon, være små sammenlignet med endringene i konsentrasjon som oppstår på grunn av sykdom. Ettersom det kun analytisk variasjon som kan begrenses bør denne være så liten at gir et ubetydelig bidrag til den totale støyen. For å forsikre dette kan det settes analytiske kvalitetskrav ut i fra CV_I og CV_G (49).

Forslag til slike kvalitetskrav beskriver Fraser i sin bok: “*Biological Variation: from principles to practice*” (49). Her forslår han at krav til tillatt analytisk variasjon (T_{CV_a}), tillatt systematisk avvik (T_{BIAS}), og tillatt totalfeil (T_{TF}) kan utarbeides i tre ulike nivå: optimal, ønskelig og minimum (Formelsett 1-3):

Formelsett 1:

$$\text{Optimal: } T_{CVa} = < 0.25 \times CV_I$$

$$\text{Ønskelig: } T_{CVa} = < 0.50 \times CV_I$$

$$\text{Minimum: } T_{CVa} = < 0.75 \times CV_I$$

Formelsett 2:

$$\text{Optimal: } T_{BIAS} = < 0.125(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

$$\text{Ønskelig: } T_{BIAS} = < 0.250(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

$$\text{Minimum: } T_{BIAS} = < 0.375(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

Formelsett 3:

$$\text{Optimal: } T_{TF} = < 1.65(0.25CV_I) + 0.125(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

$$\text{Ønskelig: } T_{TF} = < 1.65(0.50CV_I) + 0.250(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

$$\text{Minimum: } T_{TF} = < 1.65(0.75CV_I) + 0.375(CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$$

Analytisk variasjon (CVa), også kalt presisjon, er en analysemetodes evne til å reprodusere det samme analyseresultatet gjentatte ganger. God presisjon vil si liten grad av tilfeldige analytiske feil. BIAS er et mål på konstante systematiske avvik i analyseresultat fra en målverdi. Totalfeil (TF) representerer den helhetlige feilen som kan inntreffe i en prøve både fra tilfeldige feil og systematiske avvik (49).

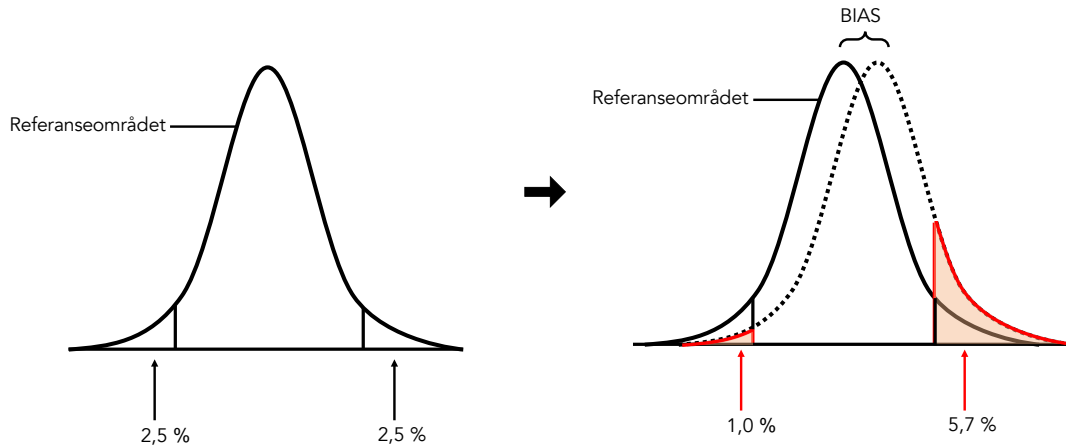
I denne oppgaven ble det valgt å anvende minimumskravet til T_{BIAS} og T_{TF} for å vurdere klinisk signifikans.

Blodgassparameterne er nøye regulert i kroppen og den biologiske variasjonen er derfor liten (50). Dette gjør at kvalitetskravene basert på biologisk variasjon blir strenge.

Minimumskravet ble derfor sett på som et realistisk mål sett i sammenheng med utfordringene tilknyttet feilkildene til blodgassprøvene. Det kan likevel ansees som et fremtidig mål å oppnå kravene til de ønskelige kvalitetsspesifikasjonene. T_{CVa} vil ikke vurderes i studiet utenom at den inngår i T_{TF} . Analytisk CV oppgitt fra LKB er vist under *analytter* i metodekapittelet.

Konsekvensen av å velge minimumskravet illustrerer Fraser ved å koble det til referanseområdene, som også baseres på CV_I og CV_G . Ved å anvende minimumskravet til

T_{BIAS} må det godtas at opp til 5,7% av populasjonen faller utenfor referanseområdet i retningen til BIAS, og at 1,0% faller utenfor på motsatt side (Figur 3).



Figur 3: Forskyvning av referanseområdet ved anvendelse av minimumskravet til tillatt BIAS

Dette er 1,7% flere enn de 5% som naturlig faller utenfor et 95% referanseområde. Gjennom å godta dette vil også størrelsen på totalfeil øke i retningen av BIAS ettersom T_{TF} er en funksjon av både T_{BIAS} og T_{CVa} .

2.0 Målsetting for studiet

I litteraturen har holdbarhetsstudier fokuset på arterielle prøver hvor holdbarheten begrenses av analytten PO_2 (11-13, 38, 39). Det er ingen konsensus blant norske sykehus hvordan venøse blodgassprøver skal oppbevares og det finnes lite dokumentasjon i litteraturen. I lys av disse aspektene er hensikten med dette studiet å kartlegge holdbarheten til parameterne pH, PCO_2 , $CHCO_3^-$, SBE og laktat i venøse, hepariniserte fullblodsprøver ut i fra klart definerte kvalitetsgrenser. Holdbarheten vil kartlegges ved flere ulike patofysiologiske eller mekaniske betingelser som kan tenkes å påvirke denne.

2.1 Forskningsspørsmål:

Målet for studiet er å besvare følgende spørsmål relatert til holdbarheten til blodgassparametere og laktat i venøse prøver:

- Hvor lang holdbarhet har parameterne pH, CO₂, cHCO₃⁻, SBE og laktat i venøse heparinsiserte fullblodsprøver?

Med underspørsmålene:

- Vil holdbarheten til parameterne være ulik på tvers av betingelsene: friske givere, givere med respiratorisk alkalose, givere med metabolsk acidose, oppbevaring i heparinrør, i blodgass-sprøyte, i romtemperatur eller på is?

3.0 Metode

Forskningsdesignet benyttet i oppgaven kan betegnes som et kvantitativt, kvasi-eksperimentelt design. Bakgrunnen for dette valget er gitt under:

3.1 Valg av forskningsdesign

Blodgassanalyser gjenspeiler syre/base-balansen i kroppen gjennom å analytisk tallfeste de innvirkende komponentene. For å kartlegge holdbarheten til blodgassprøver er det derfor naturlig å benytte en kvantitativ metode: en metodikk som befatter seg med målbare data, for å besvare forskningsspørsmålet (51).

Det vil også være hensiktsmessig å bruke et eksperimentelt design som baserer seg på å kartlegge om, eller i hvor stor grad, en påvirkning fører til endring (51). Studiets mål er å undersøke hvordan påvirkningen av den uavhengige variabelen *tid* fører til en endring i den avhengige variabelen *holdbarhet*.

For å bekrefte at endringen i den avhengige variabelen blir forårsaket av den uavhengige, er det vanlig å benytte kontrollgrupper i eksperimentelle design. Kontrollgruppen vil typisk bestå av egne deltakere som mottar ingen, eller en annen, behandling enn den uavhengige variabelen. I dette studiet hvor påvirkning vil være forårsaket av tid, er det lite hensiktsmessig å benytte egne deltakere i kontrollgruppen. Istedenfor ble det analysert en *nullprøve* direkte etter blodprøvetakingen fra hver enkelt deltaker. Disse målepunktene vil da kunne representere tilstanden i prøver upåvirket av tid: en fasitverdi, og vil ha samme funksjon som en kontrollgruppe.

I eksperimentelle design er det også vanlig å benytte en form for randomisering av deltakerne. Disse eksperimentene omtales som: *Randomized controlled trials* (RCT). I dette studiet ble det ikke utført en randomisering av deltakere. Slike eksperimentelle design uten randomisering betegnes som kvasi-eksperimentelle design (51).

3.2 Metodologisk forankring

Forskningsdesignet kan sies å ha en positivistisk, metodologisk tilnærming. Positivismen baserer seg på at sikker kunnskap har opphav gjennom det som kan observeres, måles eller sanses, også kjent som empirisk data. I positivistiske studier vil derfor dataene hovedsakelig være operasjonaliserte parametere som kan observeres og tallfestes. Dette gjør at resultatene i slike studier kan fortolkes, og generaliseres, objektivt gjennom statistiske analyser og sannsynligheter (52).

Objektivitet er et sentralt aspekt i positivismen. Forskeren må distansere seg fra, og i minst mulig grad kunne ha innvirkning på, forskingen som utføres. Dette kan oppnås ved at forskeren kun fokuserer på det som kan regnes som konkret, og basert i faktakunnskap, samtidig som personlige interesser og oppfatninger legges vekk (52).

Forskningsdesignet holder et positivistisk syn, hvor den eksterne faktoren holdbarhet, kartlegges gjennom observerbare målinger som er operasjonalisert som blodgassparameterne. Holdbarheten regnes med andre ord som noe objektivt, og som kan kartlegges ut i fra den eksterne verden. Den objektiv tilnærming ble ivaretatt ved at analyseresultatene ble behandlet med statistiske beregninger og analyser.

3.3 Utvalg

Studiet hadde som mål å kartlegge holdbarheten til blodgassprøver med både normale og endrede syre/base-verdier. Det var derfor nødvendig å rekruttere både friske deltakere og pasienter.

3.3.1 Inklusjonskriterier

For å definere de ulike populasjonene ble flere inklusjonskriterier benyttet. De ulike kriteriene er listet under. Deltakerne ble vurdert med tanke på kriteriene samtidig som informasjon om studiet ble gitt, se vedlegg 3. Kriteriene ble brukt for å sikre et representativt utvalg og redusere den biologiske variasjonen. Blant de friske deltakerne ble det valgt å ekskludere røykere og deltakere som hadde inntatt større mengder alkohol. Dette er fordi lunge- og

nyrefunksjonen, som tidligere nevnt, er spesielt viktige i syre/base balansen. De friske deltakerne hadde hovedsakelig tilknytning til HUS. Rekrutteringen av pasienter ble gjort i samarbeid med den aktuelle avdelingen ved HUS. Pasientene ble valgt ut på bakgrunn av deres sykdomstilstand. Det ble i forkant avklart med sykehusavdelingene at deltakelse i studien ikke ville innebære noe form for risiko for givernes helsetilstand.

Inklusjonskriterier friske givere:

- Samtykker til deltakelse i studiet
- 18 år eller eldre
- Er frisk på det nåværende tidspunktet
- Ikke gravid eller ammende
- Har ikke konsumert mer enn to enheter alkohol de siste 24 timene
- Røyker ikke
- Respiratorisk acidose*

Inklusjonskriterier pasienter:

- Samtykker til deltakelse i studiet
- 18 år eller eldre
- Er tilstrekkelig frisk til å avgi blodprøvene
- Har Metabolsk acidose

* I forsøket med friske givere med respiratorisk alkalose fikk disse friske givene delta hvis de ikke var plaget med angst som ville gjøre hyperventileringen ekstra ubehagelig.

3.3.2 Etiske hensyn

I forkant av prosjektet ble det sendt søknad til Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK). REK er hjemlet i forskningsetikkloven og helseforskningsloven. Medisinske og helsefaglige forskningsprosjekter som er underlagt disse må få forhåndsgodkjennelse av komiteen. Søknaden ble sendt til REK ettersom prosjektet var underlagt §2 i helseforskningsloven fra 1999: ”Loven gjelder for medisinsk og helsefaglig forskning på mennesker, humant biologisk materiale eller helseopplysninger. Slik forskning omfatter også pilotstudier og utprøvende behandling.”

Prosjektet ble vurdert som et kvalitetssikringsprosjekt siden målet var å kvalitetssikre en praksis og ikke skaffe til veie ”ny kunnskap om helse og sykdom” (Helseforskningsloven, 1999, §4) vedlegg 1. Kvalitetssikringsprosjekt trenger ikke å fremlegges for komiteen. Personvernombudet for Helse Bergen ble dermed ansvarlig for å godkjenne oppgaven. Godkjennelsen er vist i vedlegg 2.

3.3.3 Målepunkt og utvalgsstørrelse

I forkant av holdbarhetsstudiet ble det utført to pilotforsøk:

Pilotforsøk 1

Dette første forsøket skulle skaffe et overblikk over hvordan de ulike parameterne utviklet seg over tid. Det ble vurdert at fem serier ville gi tilstrekkelig informasjon til å gjøre en overordnet vurdering av antall nødvendige målepunkter, og hvordan parameterne gjennomsnittlig ville utvikle seg.

Pilotforsøk 2

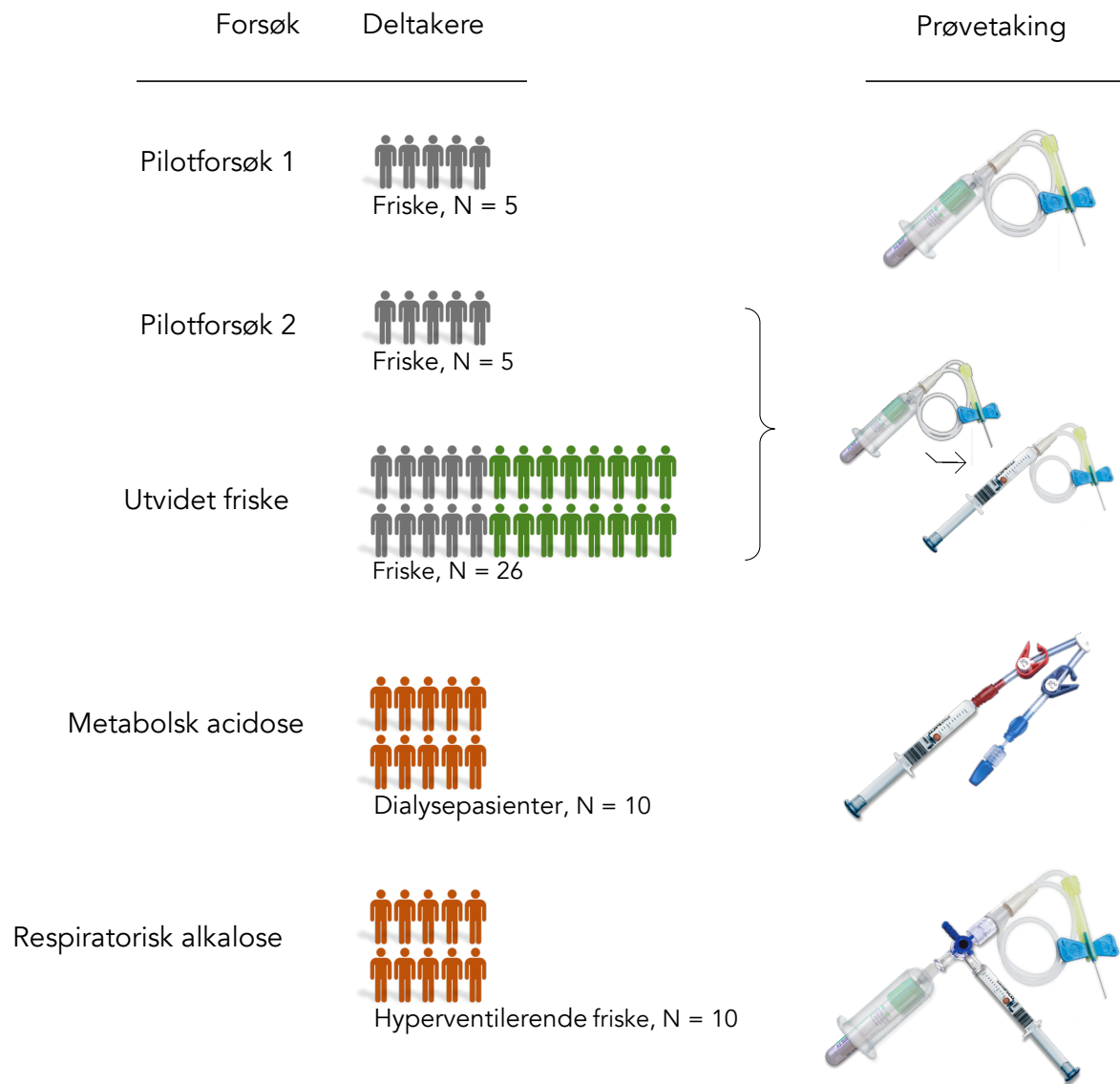
I dette pilotforsøket var målet å vurdere om holdbarheten var lik i HPR og BGS. Det ble også her vurdert at fem deltakere ville være tilstrekkelig til å gi en indikasjon om holdbarheten var sammenlignbar. Forsøket ble utført gjennom å måle både HPR og BGS med samme tidsintervall.

Holdbarhetsforsøk

Ut i fra resultatene i pilotforsøket ble antall målepunkt redusert fra seks til fire, inkludert nullprøven, men begge prøvebeholderne (HPR og BGS) ble inkludert. Det ble også bestemt å utvide holdbarhetsstudiet til 20-30 friske givere.

Utvalgsstørrelsene er i tråd med anbefalinger fra Norsk Klinisk-kjemisk kvalitetssikring (NKK) hvor de anbefaler mellom 10-30 deltakere i et holdbarhetsforsøk (45). I tillegg til å studere holdbarheten ved normal syre/base status, er det også viktig å undersøke holdbarheten både ved acidose og alkalose. For å kartlegge dette ble prøver hentet fra dialysepasienter (metabolsk acidose) og friske givere som frivillig hyperventilerte (respiratorisk alkalose). Det ble vurdert at ti deltakere, som var NKK sitt minstekrav, ville avklare om holdbarheten i disse forsøkene var ulik den som ble funnet hos de friske.

Utvalgsstørrelse for de ulike forsøkene er oppsummert i Figur 4.



Figur 4: Forsøk, utvalg, antall deltakere og prøvetakingsoppsett for holdbarhetsforsøkene for venøse blodgassparametere og laktat.

3.3.5 Variabler

Uavhengige variabler

Oppbevaringstid: 0-, 15-, 30-, 45- og 60 minutter

Temperatur: Romtemperatur 22-24°C, knust is: 0°C

Prøvebeholder: HPR- og BGS tilsatt litiumheparin

Syre/base-forstyrrelse: Metabolsk acidose, respiratorisk alkalose

Avhengige variabler

Analyttene: pH, PCO_2 , Bikarbonat ($CHCO_3^-$), Standard Base Excess (SBE) og laktat

3.3.6 Datainnsamling

Utstyr

Utstyret som ble anvendt var i tråd med hva som rutinemessig benyttes til blodgassanalyser ved LKB. Dette ble gjort for å styrke sammenlignbarheten av resultatene med de gjeldene prosedyrene ved avdelingen. Alt utstyr hadde samme lot-nummer.

Veneprevetakingsett (BD, Vacutainer, Safety-Lok), 3-veiskran (B Braun, Discifix C), kanyleholder (BD), stasebånd, bomull, tape og SoftaSwabs, Litium-heparinrør (Greiner Bio-One, 72 IU litium heparin, Vacuette, 4 ml), Blodgass-sprøyte (Radiometer, SafePico, 80 UI elektrolyttbalansert heparin)

Analyseinstrument

ABL-800 FLEX *Radiometer Medical ApS* (Danmark).

Analytter

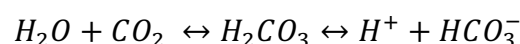
pH

pH måles potensiometrisk med en pH sensitiv elektrode. Elektroden måler den potensiale ladningsforskjellen mellom en bufferløsning med kjent $[H^+]$ og prøvematerialet, over en H^+ sensitiv glassmembran. Potensialet kan korreleres til $[H^+]$ og pH verdi gjennom Nernst ligning og en kalibreringsløsning (53).

Den analytiske presisjonen for pH ved LKB er oppgitt som: $CV_a = 0,1\%$

PCO₂

Til måling av PCO_2 anvendes en kombinert pH og Ag/AgCl referanseelektrode. Elektroden er separert fra prøvematerialet med en H^+ sensitiv glassmembran, og en silikonmembran som ekskluderer ladde ioner slik som H^+ . Mellom glass og silikonmembranen ligger det et tynt lag med elektrolyttløsning som inneholder HCO_3^- . CO_2 i prøven vil diffundere over silikonmembranen frem til det oppstår en likevekt mellom CO_2 og HCO_3^- i løsningen:



Dette resulterer i en økning av $[H^+]$ i løsningen. $[H^+]$ måles potensiometrisk over glassmembranen. Signalet i elektroden kan omgjøres til pH via Nernst ligning

pH verdien relateres så videre til PCO_2 gjennom sammenhengen:

$$pH = K' - \log pCO_2$$

Hvor K' er en samlebetegnelse for likevekts konstanten for karbonsyre (H_2CO_3), HCO_3^- konsentrasjonen og løselighetskoeffisienten for CO_2 i vann (53).

Den analytiske presisjonen for PCO_2 ved LKB er oppgitt som: $CV_A: 2,5\%$

Aktuell bikarbonat

HCO_3^- estimerer konsentrasjonen av bikarbonat i plasma og beregnes på grunnlag av målingene av pH og PCO_2 gjennom formel (53):

$$HCO_3^- = 0,23 \times pCO_2 \times 10^{(pH - pK_p)}$$

Hvor:

$$pK_p = 6,125 - \log[1 + 10^{pH - 8,7}]$$

Standard Base Excess

SBE kalkuleres fra pH og PCO_2 og en standardverdi av Hb (53):

$$Base\ Excess = 0,5 \times \left(\frac{8a' - 0,919}{a'} \right) + 0,5 \times \sqrt{\left(\frac{0,919 - 8a'}{a'} \right)^2 - 4 \times \frac{24,47 - HCO_3^-(5,33)}{a'}}$$

Hvor

$$a' = 4,04 \times 10^{-3} + 4,25 \times 10^{-4} ctHb$$

$$HCO_3^-(5,33) = 0,23 \times 5,33 \times 10^{\left(\frac{pH(st) - 6,161}{0,9524} \right)}$$

$$pH(st) = pH + \log\left(\frac{5,33}{pCO_2} \right) \times \left(\frac{pH(Hb) - pH}{\log pCO_2(Hb) - \log(7,5006 pCO_2)} \right)$$

$$pH(Hb) = 4,06 \times 10^{-2} ctHb + 5,98 - 1,92 \times 10^{(-0,16169 ctHb)}$$

$$\log pCO_2(Hb) = -1,7674 \times 10^{-2} ctHb + 3,4046 + 2,12 \times 10^{(-0,15158 ctHb)}$$

$$ctHb = 3,00\ mmol/L$$

Laktat

Laktat måles amperimetrisk av en elektrode bestående av en sølvanode og en platinakatode.

Elektroden separeres fra prøveløsningen via en membran med tre lag: et laktat permeabelt

ytterlag, et enzymatisk mellomlag og H₂O₂ permeabelt indre lag. Laktat diffunderer inn gjennom ytterlaget og oksideres enzymatisk over mellomlaget.



Produktet H₂O₂ transporteres over det indre laget til katoden. Dette resulterer til at en elektrisk strøm dannes fra katoden til anoden proporsjonal med mengden H₂O₂, og videre konsentrasjonen av laktat i prøven (53).

Den analytiske presisjonen for laktat ved LKB er oppgitt som: $CV_a = 8,0\%$

Programvare

Microsoft Excel versjon 16.9

Analyse it versjon 2.22

IBM SPSS Statistics 2

Kvalitetskontroller og samkjøring

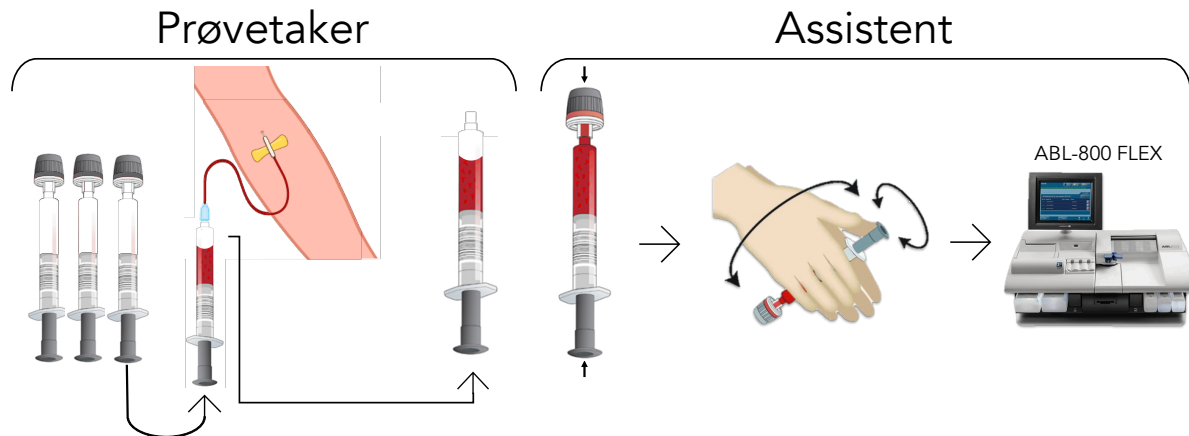
Alle daglige kvalitetskontrollene var godkjent før analysering. Samkjøringsprøver med hovedinstrumentet ABL-800 FLEX var også godkjent i forsøksperioden hvor utplassert instrument ble benyttet. Data ikke vist.

3.3.7 Utførelse

Før hver prøvetaking ble deltakerne gitt skriftlig informasjon om studien og samtlige gav skriftlig samtykke om deltagelse (vedlegg 3). Prøvetaking og analysering ble utført av bioingeniører under standardiserte betingelser i samsvar med prøvetakingsprosedyrene ved LKB:

Før prøvetakingen satt deltakerne rolig i 15 minutter. Hver prøve ble vendt 6-10 ganger både etter prøvetaking og før analysering. BGS ble også blandet med å rulle dem mellom håndflatene (Figur 5).

Luften i BGS ble fjernet straks etter hver aspirering. En semipermeabel membran i korken sikret en rask ventilering og blandingen av prøvene ble fremmet av en integrert blandekule. To personer deltok under prøvetakingen, en prøvetaker og en assistent. Assistenten ventilererte BGS, sørget for at prøvene ble tilstrekkelig blandet og analyserte nullprøvene så raskt som mulig (Figur 5).

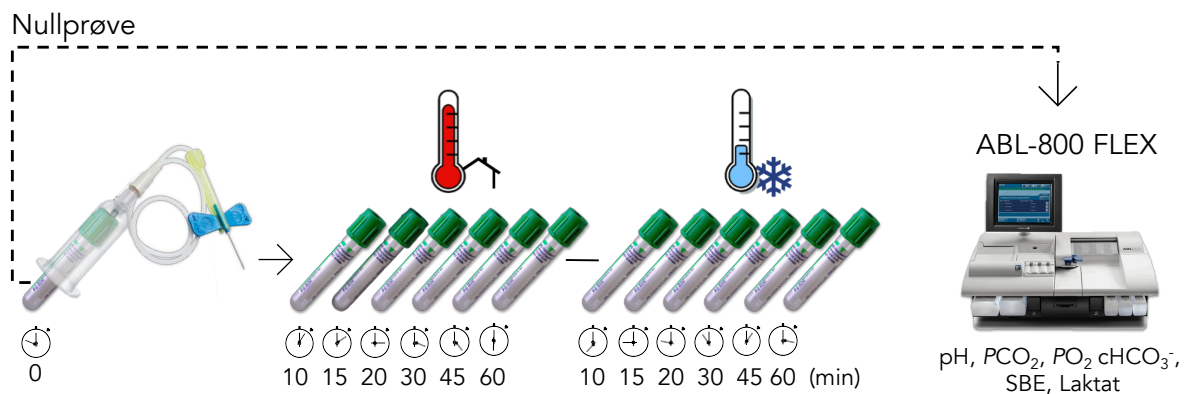


Figur 5: Arbeidsfordeling mellom prøvetaker og assistent under prøvetaking

Pilotforsøk 1: Bestemmelse av antall målepunkt.

I et innledende pilotforsøk ble det tappet 13 heparinrør (4ml) fra fem friske personer. Målet var å kartlegge om endringene var lineære eller ikke, og om enkelte målepunkt var like nok til å ekskluderes.

Prøvematerialet ble tatt i en venepunksjon med veneprøvetakingssett. Et kastglass ble brukt for å fjerne dødvolumet i veneprøvetakingssettet. Seks av heparinrørene ble oppbevart ved RT (22-24°C) og seks ble plassert på is (0°C). Hvilken gruppe prøvene ble plassert i var tilfeldig. Det første røret ble analysert umiddelbart og fungerte som en nullprøve. For å unngå forsinkelse mellom prøvetakingen og analyseringen av nullprøven ble venepunksjonen utført ved siden av analyseinstrumentet. De seks resterende prøvene fra hver av de to gruppene ble så analysert etter 10, 15, 20, 30, 45 og 60 minutter etter prøvetakingen (Figur 6). Ettersom prøvene var fordelt i to grupper med samme målepunkt, og hentet ut i samme venepunksjon, ble det små forsinkelser i forbindelse med analyseringen. Avvik fra målepunktene var maksimalt på halvannet minutt.

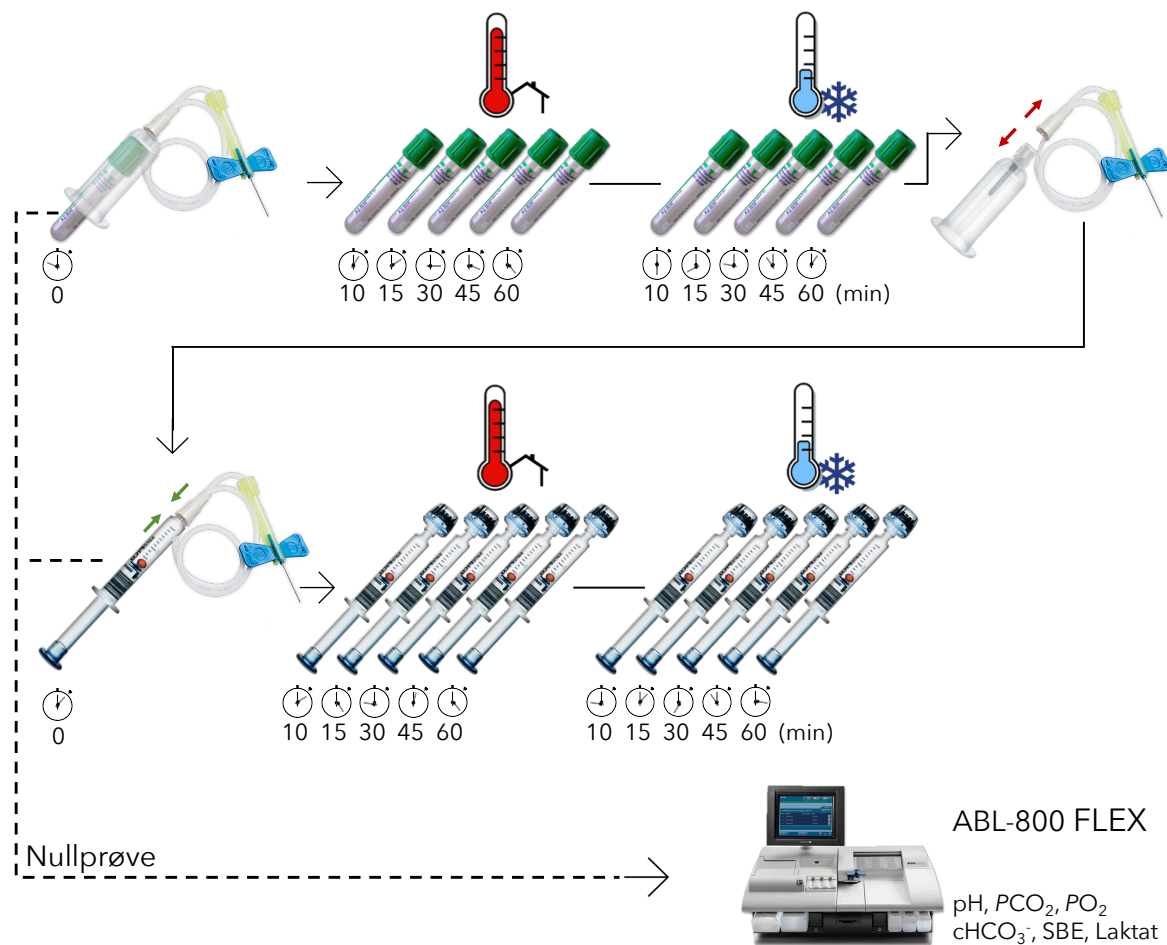


Figur 6: Prøvetakingsprotokoll i pilotforsøk 1: Nullprøven ble analysert umiddelbart. De resterende heparinrørene ble fordelt mellom oppbevaring i romtemperatur og på is. Alle prøvene ble analysert på samme instrument.

Pilotforsøk 2: Sammenlignende forsøk mellom heparinrør og heparinsprøyter

For å kunne tappe et mindre blodvolum fra pasientene som skulle inkluderes i studien, ble det utført et sammenligningsforsøk mellom HPR (4 mL) og BGS (0,7-1,5 mL). Hensikten med forsøket var å undersøke om holdbarheten til parameterne var lik i de to ulike prøvebeholderne. Fem friske givere ble inkludert i forsøket. Det ble utført venepunksjon med venepøvetakingssett og fullblod ble tappet i 11 HPR og 11 BGS. BGS ble fylt etter HPR ved at hylsen ble fjernet og sprøyten festet på adapterkoblingen på slangen til venepøvetakingssettet (Figur 7). Analyseringen ble utført på samme instrument som i det første pilotforsøket.

Det første HPR og den første BGS ble anvendt som nullprøve. Begge prøvene ble analysert umiddelbart gjennom å utnytte prøvetakingstiden som oppstod mellom HPR og BGS. De ti resterende HPR og BGS ble fordelt likt mellom oppbevaring i RT og is. Alle prøvene fra hver gruppe ble så analysert etter 10-, 15-, 30-, 45- og 60 minutter. Reduksjonen til seks målepunkt, prøvetakingstiden og bruken av stoppeklokke reduserte overlappingen mellom gruppene under analyseringen. Avvik fra målepunktene var her maksimalt på to minutt.



Figur 7: Prøvetakingsprotokoll pilotforsøk 2: Nullprøvene ble analysert umiddelbart. De resterende heparinrørene og blodgass-sprøytene ble fordelt mellom oppbevaring i romtemperatur og på is. Alle prøvene ble analysert på samme instrument.

Holdbarhetsforsøk av venøs blodgass: friske givere

Basert på pilotforsøkene ble det besluttet å gå videre med begge prøvebeholderne. Det ble også valgt å redusere målepunktene til fem: nullprøve og analysering etter 15, 30, 45 og 60 minutter. Dette var fordi det var svært små forskjeller mellom analysering etter 10 og 15 minutter. Antall givere er gitt i Tabell V:

Tabell V: Antall givere i holdbarhetsforsøket av venøse blodgassparametere og laktat med friske givere

| Heparinrør | | Blodgass-sprøyte | |
|------------|-------|------------------|-------|
| RT | is | RT | is |
| N= 26 | N= 25 | N= 22 | N= 23 |

Holdbarhetsforsøk: metabolsk acidose

I holdbarhetsforsøket med dialysepasienter ble prøvetakingen utført på den aktuelle kliniske avdelingen ved HUS. Her ble det kun benyttet sprøyter og prøvene ble analysert på et utplassert pasientnært blodgassinstrument (ABL 800 - FLEX), og prøvene ble hentet ut ved hjelp et dialysekateter (Figur 4). HPR ble ikke inkludert for å skåne pasientene ved å la dem avgi et mindre blodvolum. Alle prøvene ble tatt før dialyse.

Utførelse:

Ti dialysepasienter ble inkludert. Prøvetaking ble utført av sykepleier på avdelingen og forsøksansvarlig bioingeniør fjernet luften fra prøvene. Halvparten av prøvene ble plassert på is. Straks etter prøvetakingen ble prøvene fraktet fra dialyseenheten til det nærliggende blodgassinstrumentet på infeksjonsposten. Dette ABL-800 instrumentet ble benyttet for å redusere forsinkelse i analyseringen. Den siste BGS i prøvetakingsserien ble analysert først. Det anslås at forsinkelsen av nullprøvene i alle tilfeller ble holdt under to minutter.

Holdbarhetsforsøk: respiratorisk alkalose

I forsøket med friske givere som frivillig hyperventilerte ble både prøverør og sprøyter benyttet. Prøvene ble analysert ved LKB i likhet med holdbarhetsforsøket av friske.

Utførelse:

Åtte friske givere oppnådde en akutt respiratorisk alkalose gjennom hyperventilering. Deltakerne hyperventilert i minimum 6 minutter. Det ble antatt at hyperventileringen kunne gi raske endringer i kroppens syre/baseverdier. Rekkefølgen av prøvene i prøvetakingsserien ble derfor randomisert for å motvirke at rekkefølgen gav systematiske endringer i prøvesvarene. Det ble tilfeldig valgt hvilke prøver som skulle benyttes som nullprøver og om rørene eller sprøytene skulle hentes ut først. En treveiskran ble benyttet (Figur 4) for å forenkle randomiseringen under prøvetaking.

3.3.8 Analyse

Statistisk analyse

For å undersøke om endringene i forsøkene var av statistisk signifikans ble Friedmans-test benyttet. Friedmans-test er en ikke parametriske test som benyttes til å undersøke om det er statistisk signifikante ulikheter mellom tre eller flere relaterte grupper. Hver gruppe vil her inneholde en repetert måling av den avhengige variabelen fra de samme deltakerne. I vårt

forsøk er gruppene fordelt etter tid gjennom målepunktene (0-, 15-, 30-, 45- og 60 minutter) og den avhengige variabelen er gitt som en av parameterne (pH, PCO_2 , etc.). Resultatene fra hver enkelt deltaker vil så bli rangert etter størrelse på tvers av gruppene. Dette gjør at hver gruppe vil inneholde en kolonne med rangeringer samlet fra de ulike deltakerne. Disse rangeringene blir så summert til en rangsum. Friedmans-test undersøker så om disse rangsummene er signifikant ulike mellom de ulike gruppene. I vårt forsøk undersøkes hypotesene (54-56).

H_0 : Det er ingen signifikante forskjeller i parameteren ved de ulike målepunktene.

H_1 : Det er signifikante forskjeller i parameteren for mellom minst to av målepunktene

Hypotesen vil settes opp for alle de aktuelle parameterne. Friedmans-test er et alternativ til den parametriske testen *Analysis of variance* (ANOVA) for repeterte målinger. Dette vil typisk være når de underliggende betingelse for ANOVA ikke er møtt. ANOVA forutsetter at dataene er normalfordelt og at sfærisiteten mellom gruppene er lik (56).

Slengere

Slengere ble vurdert ut i fra boksplokk, hvor verdier over 3 ganger interkvartilbredde ble ansett som uteliggende. Ved identifisering av en slenger ble det først vurdert om det var oppstått feil i innføringen av datapunktet til databasen. Hvis dette ikke var tilfelle ble det undersøkt om verdien kunne forklares på grunn av metodiske eller analytiske feil. Hvis ingen feil ble funnet, ble verdien betraktet som en reell uteliggende verdi. Både reelle slengere og de som var forårsaket av metodiske feil ble forkastet fra datasettet.

Det ble totalt forkastet en prøveserie og to slengere. Den forkastede prøveserien var fra forsøket med respiratorisk alkalose, og ble forkastet på grunn av ustabil måling i nullprøven. Dette reduserte antall givere i forsøket til $n = 9$. En av slengerne var i forsøket med respiratorisk alkalose og den andre i forsøket med metabolsk acidose. De forkastede målingene avvikte mer enn 3 ganger den indre interkvartilbredden, og skilte seg fra trenden til de resterende dataene. Data på dette er ikke vist.

Tillatt bias og totalfeil

Norsk Klinisk-kjemisk Kvalitetssikring har utarbeidet en modell for holdbarhetsforsøk som sette kvalitetskrav ut i fra biologisk variasjon. Modellen bygger på to grunnleggende krav (45):

1. Gjennomsnittskonsentrasjonen skal endre seg mindre enn utgangsgjennomsnittet \pm tillatt systematisk avvik (T_{BIAS}).
2. Konsentrasjonen i de enkelte prøvene skal endre seg mindre enn utgangsverdi \pm tillatt totalfeil (T_{TF}).

Vurdering av gjennomsnittene

I praksis estimeres gjennomsnittskonsentrasjonene (\bar{C}) gjennom å måle 10-30 målinger og beregne et 90% konfidensintervall (KI). Ligger hele KI innenfor $\pm T_{BIAS}$ ansees parameteren som holdbar, og motsatt hvis KI ligger utenfor. Ligger kun deler av KI utenfor $\pm T_{BIAS}$ ansees dette som et tvilstilfelle.

Vurdering av enkeltmålinger

I praksis bør enkeltmålingen fra minst 20 deltakere vurderes opp i mot T_{TF} . Det blir også vurdert som et rimelig krav at minst 95% av enkeltmålingen ligger innenfor T_{TF} .

Relative- og absolutte avvik

Endringene fra nullprøvene ble både vurdert som relative- og absolutte avvik. For å vurdere absolutte avvik ble T_{BIAS} og T_{TF} omgjort fra prosent til standardavvik. Dette ble oppnådd gjennom å multiplisere T_{BIAS} og T_{TF} med gjennomsnittsverdien oppgitt i forsøkene som undersøkte biologisk variasjon, og dividere med 100. Fordeler og ulemper med relative- og absolutte avvik drøftes i diskusjonen. For å bestemme holdbarheten vil differansen mellom nullprøvene og målepunktene i parameterne pH, PCO_2 , $CHCO_3^-$, SBE og laktat vurderes i henhold til NKK sin modell. Hvis en av de to kravene foreslått av NKK brytes, vil dette tolkes som at oppbevaringen har påvirket parameteren i stor nok grad til å ha klinisk betydning. Dette vil vurderes for hver enkelt parameter i alle de ulike holdbarhetsforsøkene.

Biologisk variasjon

Det er få studier som har undersøkt den biologiske variasjonen til blodgassparametere og laktat. Harding og Fraser har undersøkt den biologiske variasjon til pH, PCO_2 , aktuell HCO_3^- og aktuell Base Excess (57). Standard Base Excess er en korrigert versjon av den beregnede parameteren aktuell Base Excess. Aktuell Base Excess ble modifisert da det ble påvist at ekstreme verdier av PCO_2 *in vivo* påvirket parameteren (3). Biologisk variasjon av pH ble i studiet til Harding og Fraser vurdert gjennom H^+ konsentrasjonen (56). Dette har bakgrunn i pH sin logaritmiske skala. Dette betyr for eksempel at en endring i pH fra 7,5 til 7,6 vil tilsvare en mye større underliggende endring i H^+ konsentrasjonen, enn fra 7,4 til 7,5. For å unngå denne problemstillingen vil vi i vår studie vurdere holdbarheten til pH gjennom kvalitetskrav bygget på den biologiske variasjonen av H^+ , benevnt $pH(H^+)$. Endringene i H^+ vil som tidligere nevnt være motsatt endringene i pH gjennom forholdet: $pH = -\log[H^+]$. Den biologiske variasjonen til blodgassparametere ble kartlagt gjennom kapillærprøver innhentet fra 14 friske deltakere over 10 uker (57).

Panteghini og Pagani undersøke den biologiske variasjonen av laktat i fullblod. Blodprøvene ble hentet fra 8 deltakere over 5 sammenhengende dager (58).

Resultatene fra begge disse studiene er oppgitt i databasen til Westgard QC (59).

Samlet vurdering av resultatene

Holdbarheten ved de ulike betingelsene vurderes både på grunnlag av resultatene fra Friedmans-test og kravene til T_{BIAS} eller T_{TF} . P-verdiene, med signifikansnivå på 0,05, benyttes for å vurdere hvor sannsynlig det er at en endring fra nullprøvene har inntruffet. T_{BIAS} eller T_{TF} brukes for å vurdere om endringene er av klinisk betydning. Parameterne vil ansees som holdbar i tidsintervallet før kravet til T_{BIAS} eller T_{TF} brytes for første gang.

4.0 Resultat

Plott som ikke inkluderes i resultatkapittelet er vist i vedlegg 5

I vedlegg 4 vises p-verdiene fra Friedmans-test og kvalitetskravene til T_{BIAS} og T_{TF} basert på biologisk variasjon.

Informasjonen fra vedleggene er oppsummert i Tabell VI-X. De samlede resultatene fra de tre holdbarhetsforsøkene er her vist i venstre kolonne (her etter kalt samlet), og de resterende kolonnene viser de ulike holdbarhetsforsøkene separat (her etter kaldt friske, alkalose og acidose). Kvalitetskravene er vist til i høyre i tabellen. Dette gjør at differansene i enkeltmålingene, og de gjennomsnittlige differansene fra nullprøvene, enkelt sammenlignes med kravene til T_{BIAS} og T_{TF} . Gjennomsnittsdifferansene er vist sammen med et 90% KI og differansene er enten gitt som relative eller absolutte avvik. Begrunnelsen for hvorfor hvilken av disse som er benyttet drøftes i diskusjonskapitlet.

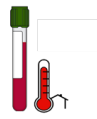
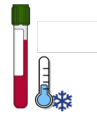
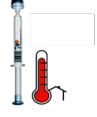
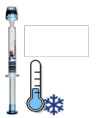
De samlede resultatene er hovedgrunnlaget for å vurdering av T_{BIAS} og T_{TF} . Her markeres resultater som overgår de foreslåtte kravene fra NKK i rødt. Dette er enten når hele, eller deler av-, konfidensintervallene til \bar{C} overgår T_{BIAS} , eller når mer enn 95% av enkeltmålinger overskrider T_{TF} . Antall deltakere i de samlede forsøkene gjorde at to målinger utenfor T_{TF} kunne aksepteres.

De separate forsøkene viser om utviklingen i de enkelte forsøkene tilsvarer de samlede resultatene. Her vurderes ikke T_{BIAS} etter konfidensintervallene på grunn av for få deltakere. Endringer i \bar{C} som overskrider T_{BIAS} markeres fortsatt i rødt. I enkeltforsøkene var en måling utenfor T_{TF} akseptert. Resultatene fra Friedmans-test er også inkludert i tabellene. Her er p-verdier $> 0,05$ markert i grønt og p-verdier $< 0,05$ i rødt. Dette er markert for hver av de ulike betingelsene.

Holdbarheten fra de samlede resultatene er oppsummert til slutt i Tabell XI.

4.1 Holdbarhet venøs pH (H⁺)

Tabell VI: Holdbarheten til venøs pH (H⁺) vurdert gjennom endringer fra nullprøve. Resultatene fra de tre ulike holdbarhetsforsøkene vises sammenslått og separat. P-verdier fra Friedmans-test er illustrert med rød- (p < 0,05) eller grønn- (p > 0,05) trekant øverst for hver betingelse. Kvalitetskrav for tillatt BIAS og tillatt totalfeil er vist til høyre i tabellen. Overskridelse av kvalitetskravene er markert med rød tekst. I de samlede resultatene aksepteres to målinger utenfor tillatt totalfeil, og tillatt BIAS vurderes ut i fra gjennomsnittlige endringer og tilhørende konfidensintervall. I de separate forsøkene aksepteres en måling utenfor tillatt totalfeil og BIAS vurderes *kun* ut i fra gjennomsnittlige endringer.

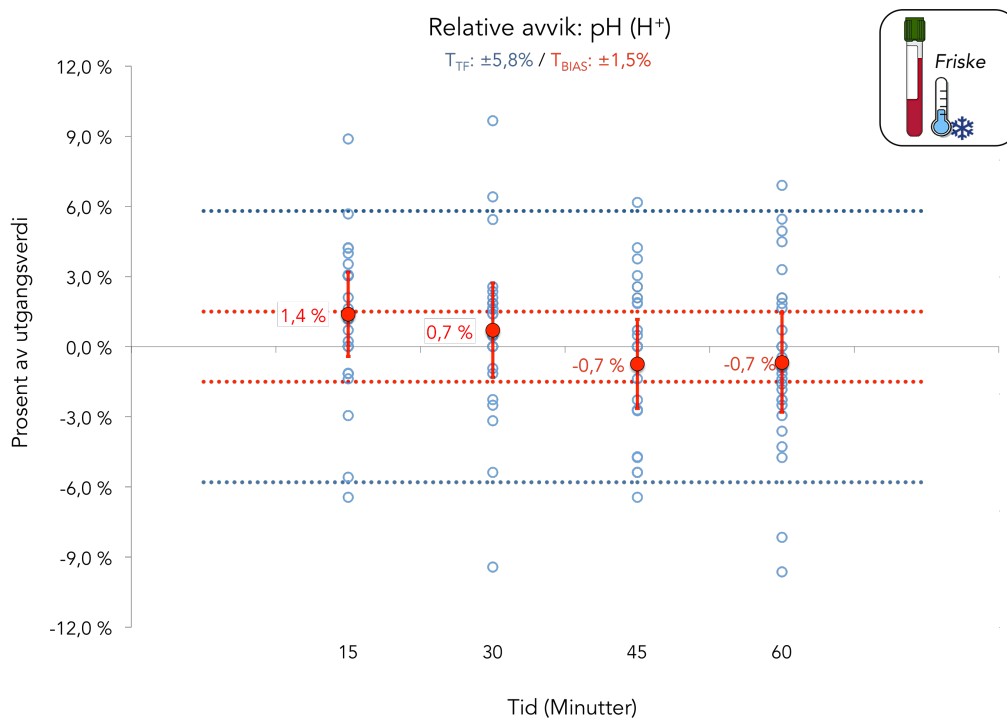
| pH (H ⁺) | | N= 34 - 42 | | N= 22 - 26 | | N= 9 | | N= 10 | | Kvalitetskrav (minimum) | |
|---|-----------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|-------------------------|-------------------|
| | | Samlet | | Friske | | Alkalose | | Acidose | | Tillatt BIAS | Tillatt Totalfeil |
| Betingelse | Tid (min) | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | | |
|  | 15 | 1,9% (±0,9%) | 2 | 2,0% (±1,2%) | 2 | 1,6% (±2,3%) | 0 | | | ±1,5% | ±5,8% |
| | 30 | 1,8% (±1,2%) | 3 | 1,8% (±1,6%) | 1 | 1,7% (±2,8%) | 2 | | | | |
| | 45 | 2,8% (±1,4%) | 7 | 2,4% (±1,9%) | 4 | 3,9% (±3,0%) | 3 | | | | |
| | 60 | 2,6% (±1,4%) | 9 | 2,2% (±2,1%) | 5 | 3,8% (±2,8%) | 4 | | | | |
|  | 15 | 1,4% (±1,2%) | 3 | 1,4% (±1,8%) | 2 | 1,3% (±2,4%) | 1 | | | ±1,5% | ±5,8% |
| | 30 | 0,7% (±1,3%) | 3 | 0,7% (±2,0%) | 3 | 0,6% (±2,7%) | 0 | | | | |
| | 45 | -0,1% (±1,3%) | 3 | -0,7% (±1,9%) | 2 | 1,4% (±2,7%) | 1 | | | | |
| | 60 | -0,3% (±1,4%) | 3 | -0,7% (±2,1%) | 3 | 0,7% (±2,7%) | 0 | | | | |
|  | 15 | 0,1% (±0,7%) | 1 | 0,3% (±1,0%) | 0 | -1,0% (±2,7%) | 1 | 0,8% (±0,9%) | 0 | ±1,5% | ±5,8% |
| | 30 | 1,1% (±0,6%) | 0 | 1,1% (±1,2%) | 0 | 1,0% (±1,8%) | 0 | 1,3% (±0,7%) | 0 | | |
| | 45 | 1,6% (±0,7%) | 0 | 1,2% (±1,4%) | 0 | 1,1% (±1,5%) | 0 | 3,1% (±0,8%) | 0 | | |
| | 60 | 2,6% (±1,2%) | 5 | 1,6% (±1,8%) | 2 | 2,3% (±2,3%) | 2 | 3,8% (±0,9%) | 1 | | |
|  | 15 | -0,1% (±0,8%) | 1 | -0,2% (±1,5%) | 1 | -0,2% (±2,3%) | 0 | 0,2% (±1,2%) | 0 | ±1,5% | ±5,8% |
| | 30 | -0,2% (±0,9%) | 2 | -0,3% (±1,4%) | 1 | -1,5% (±1,0%) | 1 | 0,2% (±0,9%) | 0 | | |
| | 45 | -0,5% (±0,8%) | 1 | -0,3% (±1,4%) | 0 | -2,2% (±1,7%) | 1 | 0,4% (±1,1%) | 0 | | |
| | 60 | -0,5% (±1,0%) | 2 | -0,1% (±1,9%) | 1 | -2,4% (±1,8%) | 1 | 0,2% (±0,8%) | 0 | | |

4.1.1 Holdbarhet pH (H^+) samlet

Tabell VI viser at de samlede resultatene indikerer at $[H^+]$ er stabil i 60 minutter ved oppbevaring i BGS plassert på is. Ved oppbevaring i RT stiger $[H^+]$ både i BGS og i HPR. Stigningen er statistisk signifikant og gjør at HPR overskrider T_{BIAS} og T_{TF} etter 15 minutter. Etter 30 minutter passerer konfidensintervallet til \bar{C} av H^+ i BGS T_{BIAS} . HPR på is viser Friedmans-test en statistisk signifikant nedgang i $[H^+]$ som overgår T_{BIAS} og T_{TF} etter 15 minutter.

4.1.2 Holdbarhet pH (H^+) hos friske givere

Resultatene fra de friske giverne viser samme utvikling som de samlede resultatene: BGS plassert på is er stabil, $[H^+]$ stiger i RT både for BGS og HPR, og $[H^+]$ synker hos HPR på is (Figur 8). Med hensyn på statistisk signifikans, og overskridelse av T_{BIAS} og T_{TF} , er resultatene hos de friske tilsvarende de samlede resultatene med unntak av BGS i RT. Økningen av $[H^+]$ i BGS i RT er her ikke statistisk signifikant i følge Friedmans-test. \bar{C} av H^+ stiger noe saktere enn i de samlede resultatene og overskrider T_{TF} ved 60 minutter. Gjennomsnittsverdien til nullprøvene var $[H^+]$ $3,9 \times 10^8$ mol/L som tilsvarer en pH på 7,40



Figur 8: Relative avvik av $pH(H^+)$ fra nullprøver fra friske givere oppbevart i heparinrør på is. Blå sirkler viser avvik i enkeltmålinger, røde sirkler er gjennomsnittlige avvik og grenser for tillatt bias og totalfeil er vist gjennom røde og blå linjer.

4.1.3 Holdbarhet pH (H^+) ved respiratorisk alkalose

Under forsøket med respiratorisk alkalose viser alle nullprøvene en alkalose med pH mellom 7,44 – 7,62. Tabell VI viser at $[H^+]$ også her øker under oppbevaring i RT for både HPR og BGS. Økningene er statistisk signifikante og T_{BIAS} og T_{TF} brytes etter 15 minutter for HPR og etter 60 minutter i BGS. I kontrast til de tidligere resultatene synker \bar{C} av $[H^+]$ i BGS og øker i HPR ved oppbevaring på is. Økningen i HPR på is er ikke signifikant og $[H^+]$ passerer verken T_{BIAS} eller T_{TF} innen 60 minutter. Nedgang i BGS er signifikant og etter 30 minutter ligger \bar{C} utenfor T_{BIAS} . Gjennomsnittsverdien til nullprøvene var $[H^+]$ $2,9 \times 10^8$ mol/L som tilsvarer en pH på 7,53.

4.1.4 Holdbarhet pH (H^+) ved metabolsk acidose

Alle nullprøvene antydte en acidose med pH verdier mellom 7,33 - 7,37.

Tabell VI viser at $[H^+]$ også her øker ved oppbevaring i RT. Etter 30 minutter passerte \bar{C} til H^+ i BGS i RT T_{BIAS} . Økningen var også statistisk signifikant. BGS på is viser ikke statistisk signifikante forandringer i følge Friedmans-test, og ingen av kvalitetskravene blir brutt.

Gjennomsnittsverdien til nullprøvene var $[H^+]$ $4,5 \times 10^8$ mol/L som tilsvarer en pH på 7,35.

4.2 Holdbarhet venøs PCO_2

Tabell i: Holdbarheten til venøs PCO_2 vurdert gjennom endringer fra nullprøve. Resultatene fra de tre ulike holdbarhetsforsøkene vises sammenslått og separat. P-verdier fra Friedmans-test er illustrert med rød- ($p < 0,05$) eller grønn- ($p > 0,05$) trekant øverst for hver betingelse. Kvalitetskrav for tillatt BIAS og tillatt totalfeil er vist til høyre i tabellen. Overskridelse av kvalitetskravene er markert med rød tekst. I de samlede resultatene aksepteres to målinger utenfor tillatt totalfeil, og tillatt BIAS vurderes ut i fra gjennomsnittlige endringer og tilhørende konfidensintervall. I de separate forsøkene aksepteres en måling utenfor tillatt totalfeil og BIAS vurderes *kun* ut i fra gjennomsnittlige endringer.

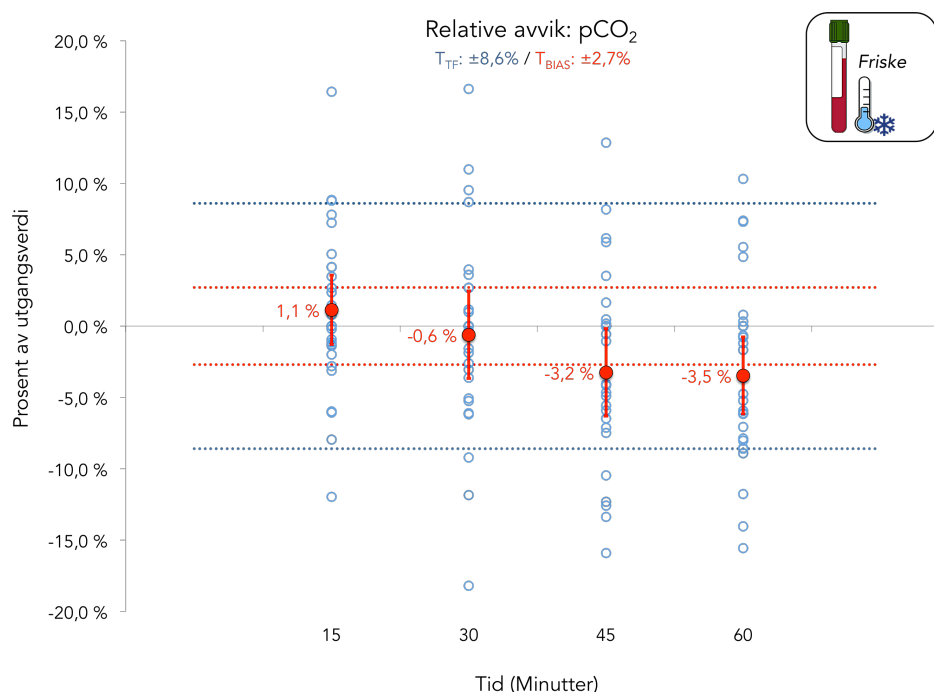
| | | N= 34 - 42 | | N= 22 - 26 | | N= 9 | | N= 10 | | Kvalitetskrav (minimum) | |
|------------|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|-------------------------|-------------------|
| PCO_2 | | Samlet | | Friske | | Alkalose | | Acidose | | | |
| Betingelse | Tid (min) | Gj.snitt (90%KI) | Antall > totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall > Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall > Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall > Totalfeil | Tillatt BIAS | Tillatt Totalfeil |
| | 15 | 1,5% (±1,7%) | 4 | 1,3% (±2,0%) | 3 | 2,1% (±3,5%) | 1 | | | ±2,7% | ±8,6% |
| | 30 | 0,3% (±2,0%) | 6 | -0,3% (±2,4%) | 6 | 1,7% (±4,1%) | 0 | | | | |
| | 45 | 0,5% (±2,4%) | 9 | -0,6% (±2,9%) | 7 | 4,0% (±3,7%) | 2 | | | | |
| | 60 | -0,1% (±2,4%) | 6 | -1,2% (±2,9%) | 6 | 3,0% (±3,8%) | 0 | | | | |
| | 15 | 1,3% (±2,0%) | 6 | 1,1% (±2,4%) | 4 | 2,6% (±3,7%) | 2 | | | ±2,7% | ±8,6% |
| | 30 | -0,2% (±2,4%) | 8 | -0,6% (±3,1%) | 7 | 2,0% (±3,8%) | 1 | | | | |
| | 45 | -1,7% (±2,6%) | 8 | -3,2% (±3,0%) | 6 | 3,5% (±3,9%) | 2 | | | | |
| | 60 | -2,3% (±2,3%) | 6 | -3,5% (±2,7%) | 5 | 2,0% (±3,6%) | 1 | | | | |
| | 15 | 0,1% (±1,4%) | 2 | -0,2% (±2,1%) | 1 | -1,0% (±4,8%) | 1 | 2,4% (±0,9%) | 0 | ±2,7% | ±8,6% |
| | 30 | 0,8% (±1,2%) | 1 | 0,6% (±2,3%) | 1 | 0,1% (±2,8%) | 0 | 2,8% (±0,8%) | 0 | | |
| | 45 | 1,0% (±1,3%) | 1 | 0,3% (±2,6%) | 1 | 0,1% (±2,1%) | 0 | 3,8% (±1,1%) | 0 | | |
| | 60 | 1,7% (±1,7%) | 4 | 0,3% (±3,3%) | 3 | 1,8% (±3,4%) | 0 | 5,0% (±2,2%) | 1 | | |
| | 15 | -0,1% (±1,5%) | 3 | -0,6% (±2,8%) | 3 | -0,0% (±4,1%) | 0 | 1,1% (±0,5%) | 0 | ±2,7% | ±8,6% |
| | 30 | -0,3% (±1,6%) | 4 | -1,2% (±2,7%) | 3 | -2,6% (±5,5%) | 1 | 1,6% (±1,1%) | 0 | | |
| | 45 | -1,3% (±1,4%) | 4 | -1,5% (±2,5%) | 3 | -3,6% (±2,8%) | 1 | 1,1% (±1,8%) | 0 | | |
| | 60 | -0,9% (±1,7%) | 4 | -0,7% (±3,3%) | 3 | -4,2% (±3,2%) | 1 | 1,7% (±0,8%) | 0 | | |

4.2.1 Holdbarhet PCO_2 samlet

Tabell VII viser at med hensyn til kvalitetskravene er PCO_2 kun holdbar ved oppbevaring i BGS i RT. Holdbarheten brytes her etter 60 minutter hvor kravet til både T_{BIAS} og T_{TF} overskrides. Dette samsvarer med Friedmans-test som viser at det med høy sannsynlighet har oppstått endringer. At HPR i RT ikke viser statistisk signifikans samsvarer med endringene i gjennomsnittstrykket (\bar{P}) i de tre siste målepunktene ligger rundt 0%. Spredningen i enkeltmålingene er derimot stor og kravet til T_{TF} og T_{BIAS} brytes her etter 15 minutter. Spredningen er også stor i HPR og BGS på is hvor T_{TF} overskrides for begge betingelsene etter 15 minutter. Etter 15 minutter bryter også HPR på is kravet til T_{BIAS} .

4.2.2 Holdbarhet PCO_2 hos friske givere

I forsøket med friske viser Tabell VII at utviklingene er tilsvarende de samlede resultatene: BGS i RT er stabil i 45 minutter, og de resterende betingelsene bryter med kvalitetskravene etter 15 minutter. Hos de friske givere er det kun HPR som oppbevares på is som viser statistisk signifikante endringer når Friedmans-test ble brukt. PCO_2 -nivået synker her over tid (Figur 9). Dette er i likhet med nedgangen som ble vist for $[H^+]$ ved den samme betingelsen (Figur 8). Gjennomsnittsverdi fra alle nullprøvene var 6,3 kPa PCO_2



Figur 9: Relative avvik av PCO_2 fra nullprøver fra friske givere oppbevart i heparinrør på is. Blå sirkler viser avvik i enkeltmålinger, røde sirkler er gjennomsnittlige avvik og grenser for tillatt bias og totalfeil er vist gjennom røde og blå linjer

4.2.3 Holdbarhet PCO_2 ved respiratorisk alkalose

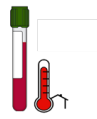
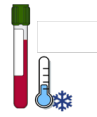
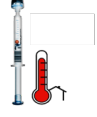
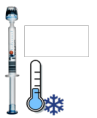
Tabell VII viser at PCO_2 stiger i HPR både på is og i RT, er stabil i BGS i RT, og synker i BGS på is. At PCO_2 stiger over tid i HPR samsvarer ikke med hva som ble observert hos de friske og i de samlede resultatene. Økningen gjør likevel at \bar{P} av PCO_2 i HPR i RT overskrider T_{BIAS} etter 45 minutter. HPR på is overskrider T_{TF} etter 15 min. Nedgangen av PCO_2 i BGS på is samsvarer heller ikke med de andre resultatene. Reduksjonen gjør at \bar{P} av PCO_2 bryter T_{BIAS} etter 45 min. BGS i RT er i henhold til kvalitetskravene holdbar i 60 minutter. At BGS i RT er mest stabil samsvarer de tidligere resultatene. Det er kun HPR i RT som viser endringer av statistisk signifikans i følge Friedmans-test. Gjennomsnittsverdi av alle nullprøvene var 4,3 kPa PCO_2

4.2.4 Holdbarhet PCO_2 ved metabolsk acidose

I forsøket med dialysepasienter som hadde metabolsk acidose stiger PCO_2 verdiene over tid. Dette er tilfellet for BGS både i RT og på is, og det vises statistisk signifikans for begge betingelsene. Økningen er derimot størst i RT som gjør at \bar{P} av PCO_2 overskrider T_{BIAS} etter 30 minutter. For BGS på is er økningen liten nok til at kvalitetskravene ikke brytes. Gjennomsnittsverdi av alle nullprøvene var 6,3 kPa PCO_2

4.3 Holdbarhet venøs aktuell bikarbonat

Tabell VIII: Holdbarheten til venøs cHCO_3^- vurdert gjennom endringer fra nullprøve. Resultatene fra de tre ulike holdbarhetsforsøkene vises sammenslått og separat. P-verdier fra Friedmans-test er illustrert med rød- ($p < 0,05$) eller grønn- ($p > 0,05$) trekant øverst for hver betingelse. Kvalitetskrav for tillatt BIAS og tillatt totalfeil er vist til høyre i tabellen. Overskridelse av kvalitetskravene er markert med rød tekst. I de samlede resultatene aksepteres to målinger utenfor tillatt totalfeil, og tillatt BIAS vurderes ut i fra gjennomsnittlige endringer og tilhørende konfidensintervall. I de separate forsøkene aksepteres en måling utenfor tillatt totalfeil og BIAS vurderes *kun* ut i fra gjennomsnittlige endringer.

| cHCO_3^- | | N= 34 - 42 | | N= 22 - 26 | | N= 9 | | N= 10 | | Kvalitetskrav (minimum) | |
|---|-----------|--------------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|-------------------------|-------------------|
| | | Samlet | | Friske | | Alkalose | | Acidose | | Tillatt BIAS | Tillatt Totalfeil |
| Betingelse | Tid (min) | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | | |
|  | 15 | -0,5% (±0,9%) | 1 | -0,9% (±1,4%) | 1 | 0,3% (±1,5%) | 0 | | | ±2,7% | ±8,6% |
| | 30 | -1,7% (±1,0%) | 1 | -2,2% (±1,5%) | 1 | -0,2% (±1,8%) | 0 | | | | |
| | 45 | -2,3% (±1,1%) | 2 | -3,0% (±1,7%) | 2 | -0,0% (±1,3%) | 0 | | | | |
| | 60 | -2,9% (±1,1%) | 3 | -3,5% (±1,8%) | 3 | -1,1% (±1,9%) | 0 | | | | |
|  | 15 | -0,6% (±1,2%) | 0 | -1,3% (±1,8%) | 0 | 1,2% (±1,8%) | 0 | | | ±2,7% | ±8,6% |
| | 30 | -1,0% (±1,3%) | 1 | -1,9% (±2,0%) | 1 | 1,3% (±1,8%) | 0 | | | | |
| | 45 | -1,7% (±1,5%) | 4 | -3,1% (±2,1%) | 4 | 1,9% (±1,6%) | 0 | | | | |
| | 60 | -2,2% (±1,4%) | 4 | -3,4% (±2,0%) | 4 | 1,3% (±1,8%) | 0 | | | | |
|  | 15 | 0,0% (±0,6%) | 0 | -0,4% (±0,9%) | 0 | -0,6% (±1,9%) | 0 | 1,5% (±0,8%) | 0 | ±2,7% | ±8,6% |
| | 30 | -0,2% (±0,6%) | 0 | -0,6% (±1,2%) | 0 | -0,6% (±1,1%) | 0 | 0,9% (±1,0%) | 0 | | |
| | 45 | -0,8% (±0,6%) | 0 | -1,3% (±1,3%) | 0 | -0,9% (±0,9%) | 0 | 0,5% (±1,2%) | 0 | | |
| | 60 | -1,0% (±0,8%) | 0 | -1,6% (±1,6%) | 0 | -0,7% (±1,5%) | 0 | 0,5% (±1,7%) | 0 | | |
|  | 15 | 0,0% (±0,8%) | 1 | -0,4% (±1,4%) | 1 | 0,2% (±1,8%) | 0 | 0,9% (±1,3%) | 0 | ±2,7% | ±8,6% |
| | 30 | -0,1% (±0,9%) | 0 | -0,8% (±1,4%) | 0 | -1,1% (±2,3%) | 0 | 1,5% (±1,8%) | 0 | | |
| | 45 | -0,6% (±0,8%) | 0 | -1,1% (±1,3%) | 0 | -1,2% (±1,3%) | 0 | 0,7% (±2,5%) | 0 | | |
| | 60 | -0,4% (±0,9%) | 1 | -0,7% (±1,6%) | 1 | -1,8% (±1,8%) | 0 | 1,6% (±1,1%) | 0 | | |

4.3.1 Holdbarhet cHCO_3^- samlet

I de samlede resultatene i Tabell VIII er endringene i cHCO_3^- minst ved oppbevaring i BGS. Det vises her ingen statistisk signifikante endringer verken i RT eller på is. Ingen av kvalitetskravene overskrides heller ikke her innenfor 60 minutter. I HPR synker cHCO_3^- som gjør at T_{BIAS} brytes etter 30 minutter i RT og etter 45 minutter på is. Det er likevel kun HPR i RT som viser at det har inntruffet statistisk signifikante endringer i følge Friedmans-test.

4.3.2 Holdbarhet cHCO_3^- hos friske givere

Tabell VIII viser i stor grad at resultatene fra forsøket med friske givere har de samme tendensene som de samlede resultatene. Det vises her at det har inntruffet statistisk signifikante endringer i BGS i RT, men endringene er ikke store nok til å bryte kvalitetskravene. Under begge oppbevaringstemperaturene viser HPR statistisk signifikante endringer som overskrider T_{BIAS} og T_{TF} etter 45 minutter. BGS på is viser ingen statistisk signifikante endring og holder seg innenfor kvalitetskravene ved alle målepunktene. Gjennomsnittsverdien av nullprøvene var 27,3 mmol/L cHCO_3^- .

4.3.3 Holdbarhet cHCO_3^- ved respiratorisk alkalose

I forsøket med respiratorisk alkalose viser Tabell VIII at cHCO_3^- er stabil ved alle betingelsene med hensyn til kvalitetskravene. Det vises kun statistisk signifikante endringer i følge Friedmans-test ved oppbevaring i BGS på is. Gjennomsnittsverdien av nullprøvene var 24,3 mmol/L cHCO_3^- .

4.3.4 Holdbarhet cHCO_3^- ved metabolsk acidose

I forsøket med dialysepasienter viser Tabell VIII at cHCO_3^- er stabil med hensyn til kvalitetskravene ved begge oppbevaringsbetingelsene. BGS i RT viser likevel at endringene er statistisk signifikante. Gjennomsnittsverdien av nullprøvene var 25,0 mmol/L cHCO_3^- .

4.4 Holdbarhet venøs Standard Base Excess

Tabell IX: Holdbarheten til venøs standard Base Excess vurdert gjennom endringer fra nullprøve. Resultatene fra de tre ulike holdbarhetsforsøkene vises sammenslått og separat. P-verdier fra Friedmans-test er illustrert med rød- ($p < 0,05$) eller grønn- ($p > 0,05$) trekant øverst for hver betingelse. Kvalitetskrav for tillatt BIAS og tillatt totalfeil er vist til høyre i tabellen. Overskridelse av kvalitetskravene er markert med rød tekst. I de samlede resultatene aksepteres to målinger utenfor tillatt totalfeil, og tillatt BIAS vurderes ut i fra gjennomsnittlige endringer og tilhørende konfidensintervall. I de separate forsøkene aksepteres en måling utenfor tillatt totalfeil og BIAS vurderes *kun* ut i fra gjennomsnittlige endringer.

Friedman : $p < 0,05$ $p > 0,05$

| SBE (mmol/L) | | N= 34 - 42 | | N= 22 - 26 | | N= 9 | | N= 10 | | Kvalitetskrav (minimum) | |
|--------------|-----------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|-------------------------|-------------------|
| | | Samlet | | Friske | | Alkalose | | Acidose | | Tillatt BIAS | Tillatt Totalfeil |
| Betingelse | Tid (min) | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | | |
| | 15 | -0,3 (±0,2) | 1 | -0,3 (±0,2) | 1 | 0,0 (±0,3) | 0 | | | ±0,4 mmol/L | ±1,7 mmol/L |
| | 30 | -0,6 (±0,2) | 1 | -0,6 (±0,2) | 1 | -0,1 (±0,3) | 0 | | | | |
| | 45 | -0,8 (±0,2) | 3 | -0,9 (±0,3) | 3 | -0,2 (±0,3) | 0 | | | | |
| | 60 | -0,9 (±0,2) | 3 | -1,1 (±0,3) | 3 | -0,4 (±0,4) | 0 | | | | |
| | 15 | -0,3 (±0,2) | 0 | -0,5 (±0,3) | 0 | 0,2 (±0,4) | 0 | | | ±0,4 mmol/L | ±1,7 mmol/L |
| | 30 | -0,4 (±0,3) | 0 | -0,5 (±0,3) | 0 | 0,3 (±0,3) | 0 | | | | |
| | 45 | -0,5 (±0,3) | 3 | -0,8 (±0,4) | 3 | 0,4 (±0,4) | 0 | | | | |
| | 60 | -0,7 (±0,3) | 4 | -1,0 (±0,4) | 4 | 0,3 (±0,4) | 0 | | | | |
| | 15 | 0,0 (±0,2) | 0 | -0,1 (±0,2) | 0 | -0,1 (±0,4) | 0 | 0,3 (±0,2) | 0 | ±0,4 mmol/L | ±1,7 mmol/L |
| | 30 | -0,1 (±0,2) | 0 | -0,2 (±0,2) | 0 | -0,2 (±0,2) | 0 | 0,1 (±0,3) | 0 | | |
| | 45 | -0,3 (±0,2) | 0 | -0,4 (±0,3) | 0 | -0,3 (±0,2) | 0 | -0,1 (±0,3) | 0 | | |
| | 60 | -0,3 (±0,3) | 2 | -0,4 (±0,4) | 1 | -0,2 (±0,3) | 0 | -0,1 (±0,3) | 1 | | |
| | 15 | 0,0 (±0,2) | 0 | -0,1 (±0,3) | 0 | 0,0 (±0,5) | 0 | 0,3 (±0,4) | 0 | ±0,4 mmol/L | ±1,7 mmol/L |
| | 30 | 0,0 (±0,2) | 0 | -0,1 (±0,3) | 0 | -0,1 (±0,4) | 0 | 0,3 (±0,5) | 0 | | |
| | 45 | -0,1 (±0,2) | 0 | -0,2 (±0,2) | 0 | -0,2 (±0,4) | 0 | 0,1 (±0,7) | 0 | | |
| | 60 | -0,1 (±0,2) | 0 | -0,2 (±0,3) | 0 | -0,3 (±0,3) | 0 | 0,3 (±0,3) | 0 | | |

4.4.1 Holdbarhet Standard Base Excess samlet

Tabell IX viser at SBE i de samlede resultatene er mest stabil ved oppbevaring i BGS på is. Her brytes verken T_{BIAS} eller T_{TF} innenfor 60 minutter, og det vises ingen statistisk signifikante endringer. Både HPR i RT og på is bryter likevel T_{BIAS} etter 15 minutter og T_{TF} etter 45 minutter. Det vises likevel kun statistisk signifikante endringer i følge Friedmans-test i HPR i RT. Endringene i BGS i RT er i ikke av statistisk signifikans men T_{BIAS} brytes etter 45 minutter.

4.4.2 Holdbarhet Standard Base Excess hos friske givere

I forsøket med friske givere er trenden i SBE i stor grad lik de samlede resultatene. Tabell IX viser at ved begge oppbevaringstemperaturene blir SBE ustabil ved oppbevaring i HPR. T_{BIAS} overskrides her etter 15 minutter på is og etter 30 minutter i RT. I BGS holder endringene seg innenfor kvalitetskravene ved begge temperaturene. Dette til tross for av BGS i RT viser statistisk signifikante endringer. Gjennomsnittsverdien av nullprøvene var 2,7 mmol/L SBE.

4.4.3 Holdbarhet Standard Base Excess ved respiratorisk alkalose

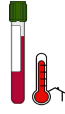
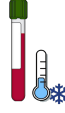
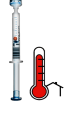
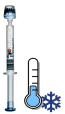
I forsøket med respiratorisk alkalose viser Tabell IX at SBE er stabil ved alle betingelsene med hensyn på kvalitetskravene. Det vises kun statistisk signifikante endringer ved oppbevaring i BGS i RT. Gjennomsnittsverdien av nullprøvene var 1,8 mmol/L SBE.

4.4.4 Holdbarhet Base Excess ved metabolsk acidose

Tabell IX viser ingen statistisk signifikante endringer og at BGS både i RT og på is holder seg innenfor kvalitetskravene ved alle målepunktene. Gjennomsnittsverdien av nullprøvene var 0,1 mmol/L SBE.

4.5 Holdbarhet laktat i fullblod

Tabell X: Holdbarheten til laktat i fullblod vurdert gjennom endringer fra nullprøve. Resultatene fra de tre ulike holdbarhetsforsøkene vises sammenslått og separat. P-verdier fra Friedmans-test er illustrert med rød- ($p < 0,05$) eller grønn- ($p > 0,05$) trekant øverst for hver betingelse. Kvalitetskrav for tillatt BIAS og tillatt totalfeil er vist til høyre i tabellen. Overskridelse av kvalitetskravene er markert med rød tekst. I de samlede resultatene aksepteres to målinger utenfor tillatt totalfeil, og tillatt BIAS vurderes ut i fra gjennomsnittlige endringer og tilhørende konfidensintervall. I de separate forsøkene aksepteres en måling utenfor tillatt totalfeil og BIAS vurderes *kun* ut i fra gjennomsnittlige endringer.

| | | N= 34 - 42 | | N= 22 - 26 | | N= 9 | | N= 10 | | Kvalitetskrav (minimum) | |
|---|-----------|-------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------------|-------------------|
| Laktat | | Samlet | | Friske | | Alkalose | | Acidose | | Tillatt BIAS | Tillatt Totalfeil |
| Betingelse | Tid (min) | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | Gj.snitt (90%KI) | Antall <> Totalfeil | | |
|  | 15 | 33,2% (±7,7%) | 8 | 35,1% (±13,1%) | 6 | 29,1% (±12,0%) | 2 | | | ±12,0% | ±45,6% |
| | 30 | 61,4% (±14,9%) | 17 | 60,6% (±23,4%) | 13 | 54,1% (±32,7%) | 4 | | | | |
| | 45 | 78,4% (±18,3%) | 24 | 77,1% (±31,0%) | 18 | 63,5% (±19,2%) | 6 | | | | |
| | 60 | 94,6% (±19,3%) | 30 | 92,7% (±33,3%) | 22 | 79,4% (±24,5%) | 8 | | | | |
|  | 15 | 16,2% (±5,3%) | 1 | 16,6% (±8,1%) | 1 | 15,9% (±8,7%) | 0 | | | ±12,0% | ±45,6% |
| | 30 | 19,5% (±8,2%) | 4 | 17,2% (±12,4%) | 3 | 21,5% (±14,8%) | 1 | | | | |
| | 45 | 22,9% (±8,6%) | 4 | 20,2% (±14,0%) | 3 | 24,2% (±12,3%) | 1 | | | | |
| | 60 | 24,7% (±10,6%) | 6 | 16,8% (±17,0%) | 4 | 24,6% (±14,1%) | 2 | | | | |
|  | 15 | 27,0% (±5,8%) | 7 | 29,9% (±11,5%) | 5 | 27,0% (±14,4%) | 2 | 20,5% (±6,9%) | 0 | ±12,0% | ±45,6% |
| | 30 | 45,4% (±8,5%) | 15 | 53,2% (±14,2%) | 10 | 40,5% (±25,1%) | 2 | 39,2% (±16,2%) | 3 | | |
| | 45 | 62,2% (±11,7%) | 25 | 75,2% (±22,2%) | 15 | 58,4% (±30,3%) | 4 | 49,9% (±16,8%) | 6 | | |
| | 60 | 74,4% (±13,2%) | 30 | 86,8% (±24,5%) | 18 | 67,3% (±34,2%) | 5 | 63,9% (±21,1%) | 7 | | |
|  | 15 | 11,4% (±4,9%) | 2 | 14,7% (±8,8%) | 2 | 9,2% (±10,3%) | 0 | 5,9% (±5,5%) | 0 | ±12,0% | ±45,6% |
| | 30 | 15,4% (±4,7%) | 3 | 19,1% (±7,5%) | 2 | 20,2% (±12,7%) | 1 | 6,2% (±5,7%) | 0 | | |
| | 45 | 16,1% (±5,4%) | 3 | 20,7% (±10,6%) | 3 | 17,6% (±8,1%) | 0 | 9,2% (±6,8%) | 0 | | |
| | 60 | 19,1% (±5,7%) | 5 | 24,2% (±9,9%) | 3 | 27,1% (±12,7%) | 2 | 6,7% (±5,2%) | 0 | | |

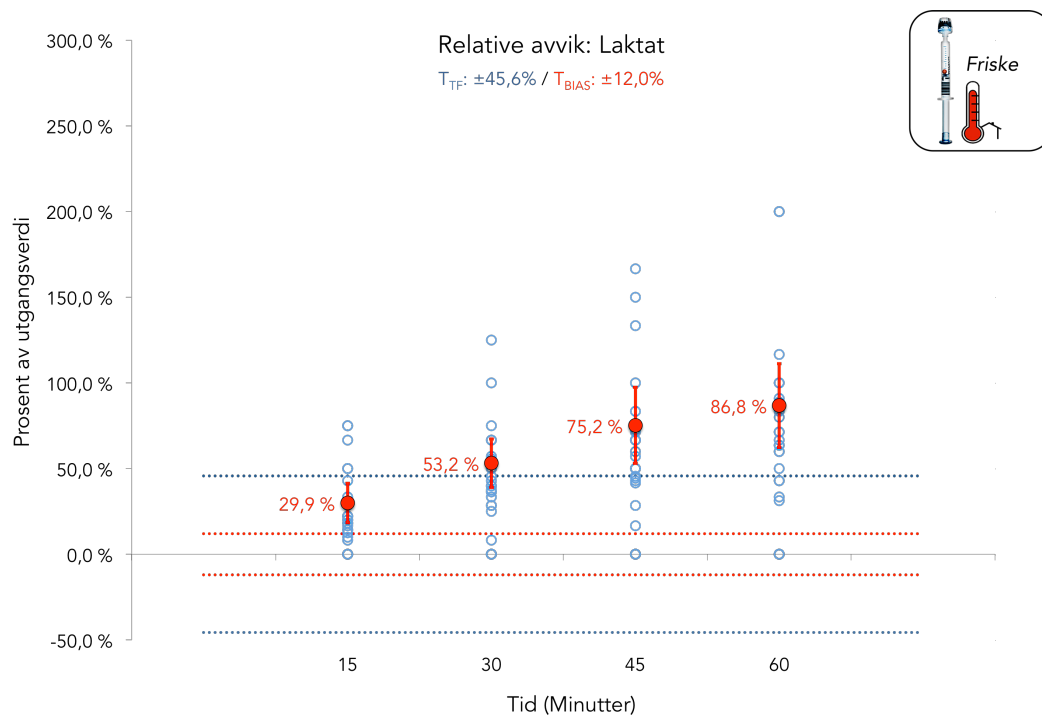
Friedman : p < 0,05 p > 0,05

4.5.1 Holdbarhet laktat samlet

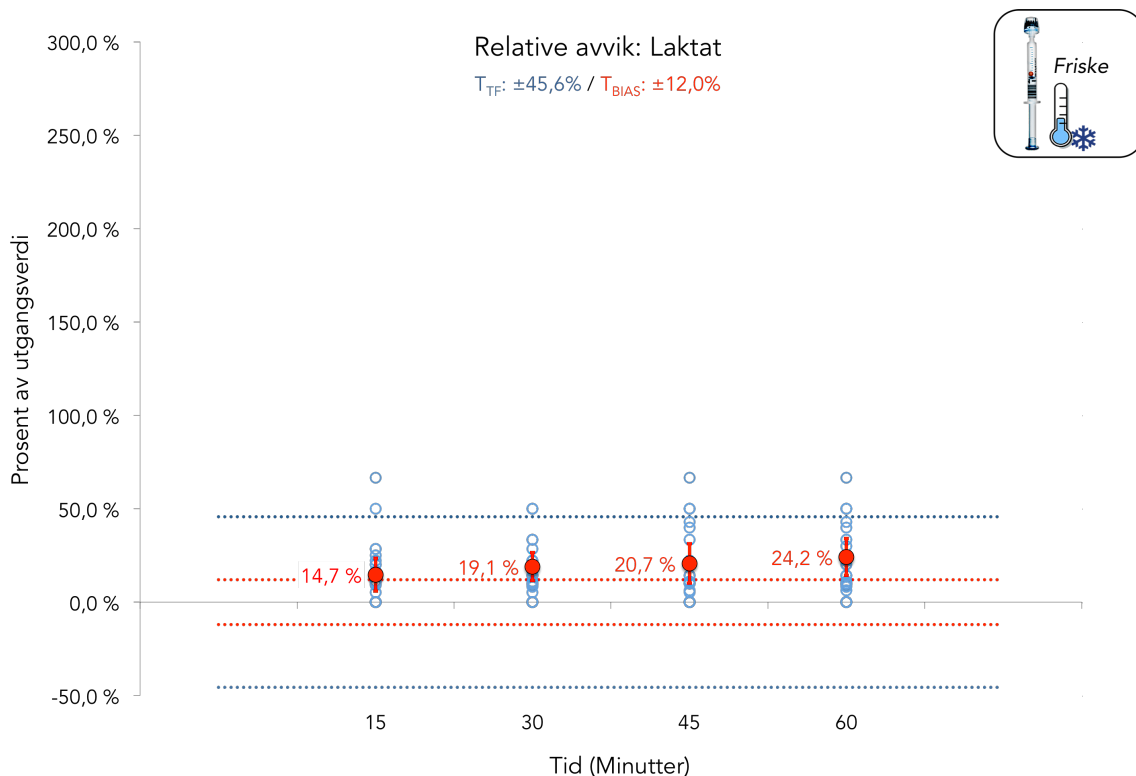
De samlede resultatene i Tabell X viser så stor økning i laktatkonsentrasjonen at begge kvalitetskravene overskrides ved alle betingelsene. Alle endringene er også statistisk signifikante i følge Friedmans-test. Økningen er likevel adskillig større ved oppbevaring i HPR og BGS i RT sammenlignet med HPR og BGS på is. Et eksempel på dette er vist Figur 10-11.

4.5.2 Holdbarhet laktat hos friske deltakere

Tabell X viser at resultatene fra de friske givene er tilsvarende de samlede resultatene: Økningene overgår kvalitetskravene og er statistisk signifikante ved alle betingelsene. Stigningen er også størst i RT sammenlignet med is. Gjennomsnittsverdien av nullprøvene var 0,8 mmol/L laktat.



Figur 10: Relative avvik av laktat fra nullprøver fra friske givere oppbevart i blodgass-sprøyter i romtemperatur. Blå sirkler viser avvik i enkeltmålinger, røde sirkler er gjennomsnittlige avvik og grenser for tillatt bias og totalfeil er vist gjennom røde og blå linjer.



Figur 11: Relative avvik av laktat fra nullprøver fra friske givere oppbevart i blodgass-sprøyter på is. Blå sirkler viser avvik i enkeltmålinger, røde sirkler er gjennomsnittlige avvik og grenser for tillatt bias og totalfeil er vist gjennom røde og blå linjer.

4.5.3 Holdbarhet av laktat ved respiratorisk alkalose

Tabell X viser at resultatene for alkalose er tilsvarende de fra friske givere og samlet.

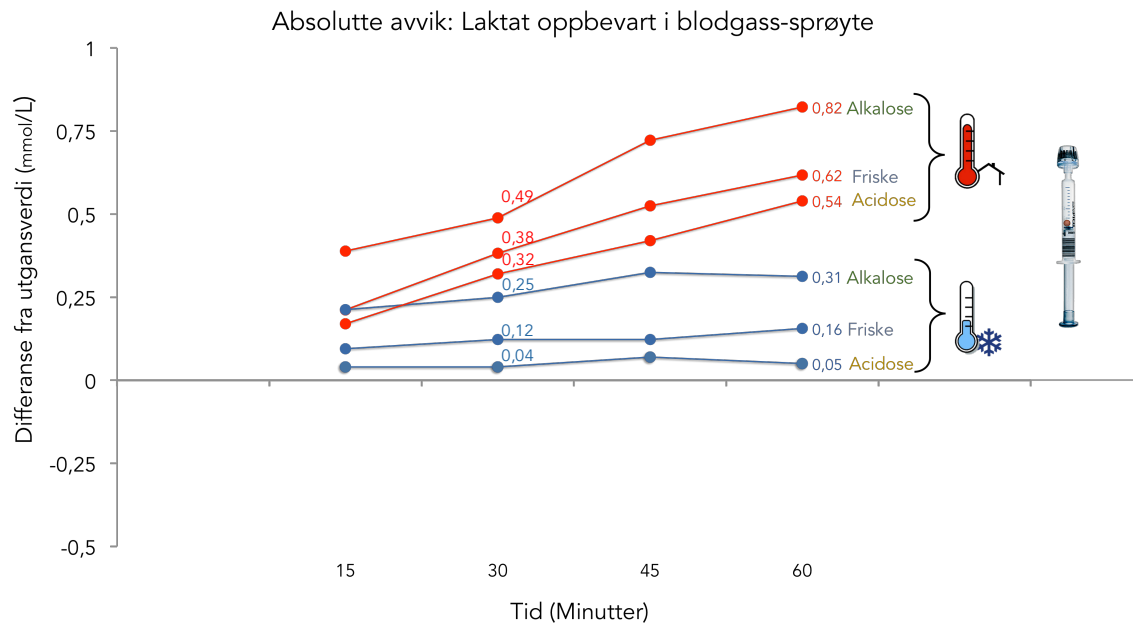
Gjennomsnittsverdien av nullprøvene var 1,5 mmol/L laktat.

4.5.4 Holdbarhet av laktat ved metabolsk acidose

I forsøket med metabolsk acidose øker også laktat ved begge betingelsene, men det er kun BGS i RT som bryter kvalitetskravene. BGS på is viser statistisk signifikante endringer, men holder seg innenfor T_{BIAS} og T_{TF} . Gjennomsnittsverdien av nullprøvene var 1,0 mmol/L laktat.

4.5.5 Absolutte avvik av laktat

I tillegg til effekten av nedkjøling blir det også observert en korrelasjon mellom pH nivået i prøvene og laktatproduksjonen. Produksjonen øker ved alkalose og synker ved acidose, sammenlignet med de friske. Sammenhengen blir observert gjennom de absolutte endringene fra nullprøvene (Figur 12).



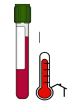
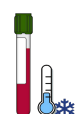
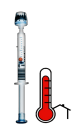
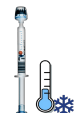
Figur 12: Absolutte avvik fra nullverdi for laktat oppbevart i blodgass-sprøyte i romtemperatur og på is. Avvik er vist for tre givergrupper: friske givere, givere med respiratorisk alkalose og givere med metabolsk acidose

4.6 Oppsummering

Med hensyn til kvalitetskravene til T_{BIAS} og T_{TF} blir det vist ulik holdbarhet ved de ulike oppbevaringsbetingelsene. Tabell XI viser holdbarheten fra de samlede resultatene. Tabellen viser også at holdbarheten i to tilfeller har blitt redusert. Dette er gjort når resultatene i enkeltforsøkene viser en dårligere holdbarhet enn de samlede resultatene. Holdbarheten til pH er redusert til 15 minutter, ved oppbevaring i BGS på is, ut i fra resultatene i forsøket med respiratorisk alkalose. Holdbarheten til PCO_2 i BGS i RT er redusert fra 45 minutter til 15 minutter på grunn av resultatene i forsøket med metabolsk acidose.

Tabell XI: Holdbarheten til pH, PCO_2 , aktuell HCO_3^- , standard Base Excess og laktat i de samlede resultatene (n= 34 - 42) ved ulike oppbevaringsbetingelser. Holdbarheten til pH og PCO_2 er redusert i to tilfeller da de viste en dårligere holdbarhet i enkeltforsøkene sammenlignet med samlede resultat.

Holdbarhet samlede resultat

| | pH | PCO_2 | $cHCO_3^-$ | SBE | Laktat |
|--|---------|---------------------|------------|---------|---------|
|  | <15 min | <15 min | 15 min | <15 min | <15 min |
|  | <15 min | <15 min | 30 min | <15 min | <15 min |
|  | 15 min | 15 min [□] | 60 min | 30 min | <15 min |
|  | 15 min* | <15 min | 60 min | 60 min | <15 min |

*Holdbarhet redusert fra 60 min med hensyn til forsøket med respiratorisk alkalose

□ Holdbarhet redusert fra 45 min med hensyn til forsøket med metabolsk acidose

5.0 Diskusjon

5.1 Absolutte og relative avvik

Relative og absolutte avvik ble vurdert for alle parameterne. Det ble valgt å presentere alle resultatene som relative avvik med unntak av SBE. Fordelen med prosentvise endringer er at de ofte er intuitive og kan enkelt formidles. Bruken av prosent er også gunstig i laboratorievirksomhet hvor ulike laboratorier kan anvende ulike benevninger. Relative avvik har likevel noen ulemper. Prosentvis endring uttrykker alltid endringer relativt til utgangsverdien. Svært lave eller høye utgangsverdier vil med andre ord vektlegge endringer i svært stor eller liten grad. Dette er bakgrunnen for at SBE ble vist som absolutte avvik. Referanseområdet til SBE ved LKB ligger mellom -3 til 3 mmol/L og flere av nullprøvene ble som forventet tilnærmet eller lik 0 mmol/L. Dette gav store variasjoner i de relative avvikene. For eksempel ville en nedgang i SBE på 0.3 mmol/L fra en utgangsverdi på -0.1 mmol/L tilsvare en 400% endring. I kontrast ville den samme nedgangen fra en utgangsverdi på -1.0

mmol/L kun tilsvare en 30% endring. Absolutte avvik ville derimot vist at endringen var lik i begge tilfellene. Det sistnevnte var etter vår vurdering en bedre fremstilling av dataene.

5.2 Kvalitetskrav

Kvalitetskravene til T_{BIAS} og T_{TF} er som beskrevet basert på biologisk variasjon. Den biologiske variasjonen til parameterne er undersøkt i kun to studier (57, 58). Kvaliteten og overførbarheten til de to studiene er også varierende. Harding og Fraser undersøkte den biologiske variasjonen til pH, PCO_2 , $CHCO_3^-$ og aktuell Base Excess i kapillærprøver. At målingene ble gjort i kapillærprøver, og at aktuell Base Excess ble benyttet fremfor SBE, reduserer overførbarheten til vår studie. Vi argumenterer likevel for at studiet kan benyttes. Det antas at den biologiske variasjonen i kapillærprøver og venøse prøver vil være tilnærmet lik. Dette foreslås med bakgrunn i kroppens nøye regulering av syre/base nivået i blodet gjennom buffersystemene. Det forventes at kroppen vil regulere dette nivået likt både før og etter gassutvekslingen med vevene, og gi en lav biologiske variasjonen i begge prøvematerialene. Med hensyn til biologisk variasjon av aktuell Base Excess antas det at denne vil være tilnærmet lik SBE ved normale PCO_2 verdier. Dette er fordi det er ekstreme verdier av PCO_2 , som tidligere nevnt, som påvirker aktuell Base Excess. Harding og Fraser undersøkte biologisk variasjon blant friske deltakere og det forventes at disse hadde normale nivå av PCO_2 .

Med hensyn til kvalitets ville det vært ønskelig at Pantehini og Pagani sin studie hadde observert den biologiske variasjon av laktat over en lengre periode enn fem dager.

5.3 Samlet og separat vurdering av resultatene

Det ble valgt å vurdere resultatene både samlet og separat. Et argument for å samle resultatene er at holdbarhetsprosedyrer ved sykehuslaboratorium er av praktiske årsaker generalisert til å gjelde alle pasientgruppene. De samlede resultatene vil derfor bedre representere alle de faktorene som kan påvirke holdbarheten i praksis. En annen fordel med å slå sammen resultatene er at man får lagt sammen flere målinger fra flere deltakere. Dette vil kunne gi en bedre vurdering av kvalitetskravene gjennom et bedre estimat av gjennomsnittlig endring, og flere observasjoner til å vurdere tillatt totalfeil. Dette er under forutsetning av at det ikke er endringer i de ulike forsøkene som går i motsatt retning og opphever hverandre. Det kan for eksempel tenkes at en parameter kunne økt i forsøket med alkalose, og sunket i forsøket med

acidose, som samlet ville fremstått som stabilt. Resultatene blir derfor også vurdert separat opp i mot de samlede resultatene.

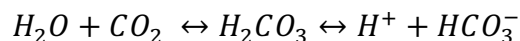
5.4 Holdbarhet venøse blodgassparametere og laktat

5.4.1 Holdbarhet av venøs pH (H^+)

Fra de samlede resultatene fremstår $[H^+]$ som mest stabil ved oppbevaring på BGS plassert på is. Forklaringen på dette ligger nok i stor grad i at nedkjølingen av prøven reduserer produksjonen av H^+ fra metabolismen. Dette stemmer godt med det som er beskrevet i holdbarhetsstudiene av arteriell blodgass (11-13, 38, 39). Det ble i disse studiene vist liten endring i pH i BGS på is og en nedgang i pH i RT som tilsvarer vår økning i $[H^+]$.

Den lille endringen i $[H^+]$ i BGS på is samsvarer også med laktatmålingene som viser en betydelig nedsatt produksjon på is sammenlignet med RT. Laktat indikerer som forklart tidligere, at melkesyre har blitt spaltet til sin konjugerte base og H^+ har blitt dannet.

At $[H^+]$ fremstår som mer stabil på BGS sammenlignet med HPR mistenkes å ha relasjon til PCO_2 . $[H^+]$ og CO_2 har som tidligere beskrevet en tilknytning gjennom likevekten i bikarbonatbuffersystemet:



PCO_2 fremstår som mer stabil på BGS i de samlede resultatene og det antas at dette resulterer i en mindre spredning av $[H^+]$. Dette samsvarer med at BGS har færre $[H^+]$ målinger utenfor T_{TF} , og smalere konfidensintervall, sammenlignet med HPR ved begge oppbevaringstemperaturene.

Endringene observert over tid i forsøket med friske deltakere og dialysepasienter (metabolsk acidose) samsvarer med det som observeres i de samlede resultatene.

Forsøket med respiratorisk alkalose viser derimot at $[H^+]$ synker over tid og blir ustabil. Det observeres også at det samme er tilfelle for PCO_2 . Det mistenkes at forklaringen ligger i relasjonen mellom $[H^+]$ og CO_2 i bikarbonatbufferlikevekten. Nedgangen i PCO_2 drøftes i neste delkapittel.

Med hensyn til den foreslåtte holdbarheten til pH på 15 minutter, både BGS i RT og på is (Tabell XI), er studiet vårt strengere enn hva som oppgitt i flere andre studier. Både Mohammadhoseini et al. og Beaulieu et al. (12, 13) foreslår at pH er holdbar i 60 minutter i BGS på is. Årsaken til at vår anbefalte holdbarhet er vesentlig kortere enn dette, kommer fra vår helhetlige vurdering. Slik Tabell XI viser er holdbarheten i BGS på is satt til 60 minutter før det blir tatt hensyn til resultatene i enkeltforsøkene. Mohammadhoseini et al. argumenter også for at pH i BGS er holdbar i en time ved RT. Liss et al. forslår 30 minutter ved de samme betingelsene. At disse studiene oppgir en lengre holdbarhet i RT sammenlignet med vår anbefaling, kommer antagelig fra en ulik vurdering av klinisk signifikante endringer.

5.4.2 Holdbarhet av venøs PCO_2

I Tabell 7 fremstår PCO_2 som mest stabil ved oppbevaring i BGS i RT. Kvalitetskravene indikerer en holdbarhet på 45 minutter i de samlede resultatene, før holdbarheten er redusert (Tabell XI). Dette samsvarer med observasjonene gjort i forsøkene med friske- og hyperventilerende deltakere. I forsøket med metabolsk acidose er derimot holdbarhet av PCO_2 i BGS adskillig dårligere, som gir en redusert holdbarhet på kun 15 minutter (Tabell XI). Den dårlige holdbarheten kommer i dette forsøket fra en økning i PCO_2 -verdiene over tid, både for BGS på is og i RT. Økningen er imidlertid adskillig større i RT. Dette kan igjen forklares ut i fra bikarbonatbufferlikevekten. Acidemien som dialysepasientene får over tid skaper en overvekt av H^+ . Buffersystemet vil utligne dette gjennom en forskyvning i likevekten. Dette vil øke dannelsen av CO_2 . I kroppen ville dette blitt ventilert ut via alveolene i lungene, men i prøvebeholderen blir CO_2 værende og PCO_2 -verdiene øker over tid. At denne effekten er størst i RT kan skyldes flere faktorer. Nedkjøling kan redusere reaksjonshastigheten i bikarbonatbuffersystemet, og mindre CO_2 dannes. Denne effekten vil i så fall være størst ved oppbevaring på is. En annen faktor kan være glykolysen, som vil ha størst effekt i RT. Glykolysen vil kunne bidra til en enda større forskyvning mot CO_2 i bikarbonatlikevekten, gjennom at nye H^+ dannes. En tredje faktor kan være aerob celleånding, hvor et lite CO_2 -bidrag kan komme fra leukocytene og trombocytene ved oppbevaring i RT.

I HPR blir det derimot observert et fall i PCO_2 nivået over tid, og fallet fremstår også som størst ved oppbevaring på is. Nedgangen kan komme av gassutveksling av CO_2 opp i den gjenværende atmosfæren i HPR. At nedgangen av PCO_2 er størst på is kan også komme av nedkjølingens effekt på metabolismen og bikarbonatbuffersystemet. I HPR i RT dannes det som vist i Tabell VI et overskudd av H^+ over tid. Dette kan bidra til at bikarbonatsystemet i

noen grad kan motvirke tapet av CO_2 . Ved nedkjøling ser vi derimot et tap av H^+ i HPR. Dette kan forklares gjennom kombinasjonen av at bikarbonatlikevekten forskyves mot CO_2 på grunn av gassutvekslingen, og at metabolismen ikke tilfører nye H^+ . At $[\text{H}^+]$ reduseres gjør at tapet av CO_2 i liten grad kan motvirkes.

Resultatene med fra respiratorisk alkalose kan derimot ikke forklares like tydelig. Her stiger PCO_2 i HPR ved begge oppbevaringstemperaturer, er noenlunde stabil for BGS i RT og synker for BGS på is. At PCO_2 i HPR synker mindre i dette forsøket sammenlignet med de friske kunne forventes på grunn av at alkalosen gir reduserte CO_2 verdier. Dette gjør videre at trykkforskjellen mellom blodet og atmosfæren over blir mindre. Stigningen av PCO_2 i HPR, og at den er større sammenlignet med BGS, kan derimot ikke gis en god forklaring. Det samme gjelder PCO_2 som synker i BGS på is, som også som nevnt påvirker pH.

Forklaring kan ligge i at dette forsøket var det vanskeligste å standardisere.

Hyperventileringen ville påvirke begge sidene av bikarbonatbufferlikevekten med nedgang i både CO_2 og $[\text{H}^+]$. Effekten av hyperventilering varierte også fra person til person. Det er derfor vanskelig å si noe om forskyvninger i likevekten. Blodgassverdiene ville også kunne endre seg i løpet av prøvetakingstiden. Dette skulle motvirkes med randomisering. Det kan likevel tenkes at det ville vært nødvendig med en større populasjon for å kompensere for alle de nevnte usikkerhetene.

Med hensyn til tidligere studier (11-13, 38, 39) stemmer gjennomsnittsendringene av PCO_2 , som ble observert i BGS fra friske givere, godt. Her er det små endringer i gjennomsnittrykket av CO_2 både i BGS i RT og på is. Våre samlede resultater viser likevel at CO_2 kun er holdbar i 15 minutter i RT i BGS, og holdbar i mindre enn 15 minutter i BGS på is. Dette er vesentlig kortere enn hva tidligere studier har beskrevet i arterielle blodgassprøver. Både Mohammadhoseini et al. og Beaulieu et al. (12, 13) konkluderte med at PCO_2 var holdbar i 60 minutter i BGS i både RT og plassert på is. Liss et al. (38) oppgav en holdbarhet på 30 minutter. Bakgrunnen for at vi anbefaler en kortere holdbarhet enn dette kommer har to årsaker. Den første er at de tidligere studiene i liten grad har vurdert spredningen av enkeltmålinger, slik vår studie gjør med T_{TF} . Det er på grunn av spredninger i enkeltmålinger, og overskridelse av T_{TF} , som gjør at vi anbefaler en holdbarhet på mindre enn 15 minutter i BGS på is. Den andre årsaken er vår samlede vurdering av alle enkeltforsøkene. Her reduserer

vi holdbarheten i de samlede resultatene fra 45 minutter (Tabell XI) til 15 minutter i BGS i RT på grunn av dårlig holdbarhet i forsøket med metabolsk acidose.

5.4.3 Holdbarhet av venøs aktuell bikarbonat

cHCO_3^- fremstår i de samlede resultatene som mest stabil ved oppbevaring i BGS, både på is og i RT. Her er det verken statistisk signifikante ulikheter eller brudd på kvalitetskravene innen 60 minutter. I enkeltforsøkene brytes heller ikke kvalitetskravene innenfor den første timen ved disse betingelsene. Dette samsvarer godt med resultatene til Mohammadhoseini et al. på arterielle prøver som anbefalte en holdbarhet på 60 minutter (13). Det antas at stabiliteten blant annet kommer av at BGS, som tidligere nevnt, bidrar til å ivareta PCO_2 og til en viss grad $[\text{H}^+]$. Ved oppbevaring på is ivaretas også $[\text{H}^+]$ ved å senke metabolismen. En annen faktor er i hvilken retning PCO_2 og pH utvikles i forhold til hverandre. Ut i fra formelen cHCO_3^- beregnes fra, vil endringer i PCO_2 og pH motvirke hverandre når de utvikler seg i ulik retning. Dette ser vi eksempel på i forsøket med metabolsk acidose. Her ble både pH og PCO_2 ustabile over tid, med nedgang i pH og økning i PCO_2 , ved oppbevaring i BGS i RT. cHCO_3^- holder seg likevel stabil nok til ikke å bryte kvalitetskravene innenfor 60 minutter. For HPR fremstår den samlede holdbarheten som dårligere sammenlignet med BGS. Her brytes kravet til T_{BIAS} etter 15 minutter i RT og 30 minutter på is. Ustabiliteten kommer antagelig fra nedgangen i PCO_2 gjennom gassutveksling. For HPR i RT gjør dette at pH synker på grunn av en økning i $[\text{H}^+]$ og at PCO_2 avtar på grunn av gassutvekslingen. Når PCO_2 og pH utvikles i samme retning vil endringene i cHCO_3^- øke. I HPR på is synker derimot $[\text{H}^+]$ i tråd med PCO_2 . Dette resulterer i at pH og PCO_2 utvikles i ulik retning, noe som antagelig er bakgrunnen for at holdbarheten til cHCO_3^- er lengre ved oppbevaring på is.

5.4.4 Holdbarhet standard Base Excess

SBE fremstår på mange måter likt som cHCO_3^- ettersom de begge har samme beregningsgrunnlag. I de samlede resultatene fremstår BGS også her som mer holdbare enn oppbevaring i HPR. BGS i RT viser seg likevel å være noe dårligere resultater sammenlignet med BGS på is. Dette kommer nok av at SBE er mer sensitiv til endringer i pH enn i PCO_2 noe som gjør at metabolismen har større innvirkning. Dette resulterer i at BGS i RT bryter T_{BIAS} etter 45 minutter i motsetning til oppbevaring på is hvor ingen av kvalitetskravene brytes. BGS på is fremstår også som holdbar i alle enkeltforsøkene. Det ble ikke funnet tidligere studier som har undersøkt holdbarheten til SBE.

5.4.5 Holdbarhet av laktat i fullblod

Laktat fremstår som ustabil ved 15 minutter ved alle betingelser, med unntak i BGS på is i forsøket med metabolsk acidose. Alle forsøkene viser en økning i laktat. Stigningen er også i alle tilfeller betydelig større ved oppbevaring i RT sammenlignet med is. Dette samsvarer godt med tidligere forskning (40-44). At kvalitetskravene brytes ved oppbevaring på is, mistenkes å komme av metabolismen som utføres i tidsintervallet før prøven er nedkjølt. Dette begrunnes med at økningen i laktat flater ut etter 15 minutter ved oppbevaring på is.

Det blir også observert at laktatproduksjonen øker i forsøket med alkalose, og synker med acidose, sammenlignet med friske givere. Dette kan komme av, slik det er forklart i teorien, en stimulering eller inhibering av glykolysen. Fenomenet blir, som vist i resultatkapitlet, observert i de absolutte avvikene. Effekten blir i noen grad skjult av de relative avvik på grunn av økte nullverdier i forsøket med respiratorisk alkalose. De økte verdiene skyldes antagelig den fysiske anstrengelsen knyttet til hyperventileringen. Hvorvidt relative eller absolutte avvik blir benyttet, gir ikke utslag i konklusjonen til i holdbarhetsforsøket. De absolutte avvikene i BGS og på HPR er svært like. Data på dette er ikke vist.

De absolutte endringene observert hos de friske givene (Figur 12) stemmer godt med laktatproduksjonen som beskrives i tidligere studier (40-44). I RT viser Geysant et al. (40) en økning på 0,5 mmol/L og Wandrup et al. (41) en økning på 0.42 mmol/L per time. Andre studier viser at laktat øker med 0,27 - 0,5 mmol/L Per halvtime i RT (41-43). Våre resultater viser en økning på 0,62 mmol/l per time og 0,38 mmol/L per halvtime i BGS i RT (Figur 12). Ved oppbevaring av prøven på is finner Calatayud og Tenias (44) en økning på 0,1 mmol/L etter 30 minutter. Toffaletti et al. (42) finner den samme økningen etter en time på is. Ved oppbevaring i BGS på is finner vi en stigning i laktat på 0,12 mmol/L etter 30 minutter og på 0,16 mmol/L etter 60 minutter (Figur 12). At Calatayud og Tenias og Toffaletti et al. finner den samme økningen etter både 30 og 60 minutter samsvarer med vår teori om at det er metabolismen, som inntreffer før nedkjøling, som forårsaker økningen.

Med hensyn til klinisk signifikante endringer anbefaler vi en holdbarhet mindre enn 15 minutter ved alle betingelsene (Tabell XI). Dette er kortere enn hva tidligere beskriver (42-44) Dette kan ha bakgrunn i både hvilke økninger som ansees som klinisk signifikante, hvordan endringene er vurdert, og hvilke endringer som ble observert i studiene. Studiene har vurdert gjennomsnittlige endringer, og ikke endringene i enkeltmålinger. Toffaletti et al. (42)

argumenterte for en grense på 0,1 mmol/L, som i deres studie tilsvarte en holdbarhet på 60 minutter på is. Ved 60 minutter finner vi i våre resultater en større økning på 0,16 mmol/L i BGS på is. Dette gjør at vi ikke kan anbefale en holdbarhet på 60 minutter selv om vi hadde benyttet den samme grensen. Kost. et al. (43) argumenterer for en holdbarhet på 15 minutter i RT som i deres studie tilsvarte en økning på 11,4% eller 0,15 mmol/L. Etter 15 minutter innfrir ingen av oppbevaringsbetingelsene i vår studie kravet til 11,4%, verken hos friske eller i de samlede resultatene. Dette er med unntak i de samlede resultatene for BGS på is etter 15 minutter, hvor konfidensintervallet til gjennomsnittsmålingene bryter T_{BIAS} og reduserer holdbarheten. Calatayud og Tenias (44) foreslår en grense for klinisk relevante økninger i laktatkonsentrasjonen på 0,2 mmol/L, som i deres studie tilsvare en holdbarhet på 16,7 minutter i RT og på 57,1 på is. Bakgrunnen for at vi anbefaler en kortere holdbarhet kommer her antageligvis fra at vi benytter strengere grenser.

5.5 Oppsummert holdbarhet og sammenligning med norske sykehus

Slik det er vist i Tabell XI ble det tatt hensyn til enkeltforsøket som viste dårligst holdbarhet. Bakgrunn for dette er at det vil være uvisst om en pasient har acidose, alkalose eller normale syre/base verdier før den aktuelle prøven er blitt analysert. Denne uvissheten, i kombinasjon med at en holdbarhetsprosedyre vil omfatte flere pasientgrupper som både kan ha normale og unormale syre/base verdier, bruker vi som argument for at dette er en gunstig tilnærming. En svakhet med denne tilnærmingen er antall deltakere i enkeltforsøkene. Det var her for få deltakere til å gi en god vurdering av T_{BIAS} gjennom konfidensintervallene til de gjennomsnittlige endringene. Et større antall deltakere ville også gitt en bedre vurdering av T_{TF} . En utvidet studie ville derfor kunne gitt en større sikkerhet rundt resultatene i enkeltforsøkene.

Norske sykehus anbefaler, som beskrevet i Tabell II i kapittel 1.6, flere ulike kombinasjoner av oppbevaringsbetingelser, hvilke parametere som analyseres og holdbarhet. Våre anbefalinger viser at det er de beregnede parameterne HCO_3^- og SBE som har lengst holdbarhet, og at holdbarheten øker ved oppbevaring i BGS og på is. Dette samsvarer godt med hva som praktiseres ved LKB ved HUS, både med hensyn på parametere, oppbevaringstemperatur og anbefalt holdbarhet (27). Den eneste ulikhet er at LKB oppbevarer prøvene på HPR. Med hensyn til de to sykehusene som benytter BGS, hvor de oppbevares i 30 minutter i RT, stemmer disse prosedyrene i stor grad med hva vi anbefaler.

Unntaket her er at vi ikke anbefaler å oppbevare pH og PCO_2 lengre enn 15 minutter i BGS i RT. De resterende sykehusene som oppbevarer prøvene i heparinrør benytter lengre holdbarhet for parameterne enn hva vi anbefaler, med to unntak: Vår anbefaling strider ikke med St. Olavs hospitals prosedyre hvor HCO_3^- kan analyseres innen 30 minutter når prøven oppbevares i HPR på is (28). Anbefalingene våre kan heller ikke vurdere Sykehuset i Vestfold sine anbefalte prosedyrer, med oppbevaring i 10 minutter i RT, ettersom vi ikke har undersøkt dette målepunktet (25). Med hensyn til laktat viser våre anbefalinger at prøvene må oppbevares i mindre enn 15 minutter ved alle betingelsene. Dette strider med alle de anbefalingene som ble funnet blant norske sykehus, med unntak av Sykehuset i Vestfold (36) som oppbevarte prøvene i 10 minutter i RT.

5.6 Studiens validitet

5.6.1 Intern validitet

Den interne validiteten beskriver hvor god empirisk sammenheng det er mellom den uavhengige- og avhengige variabelen. Graden av validitet vil med andre ord avhenge av om endringene i den avhengige variabelen kan utelukkende forklares av den uavhengige variabelen, eller om det kan være andre faktorer som spiller inn (60). I vår studie vil en sterk intern validitet tilsi at endringene i de aktuelle parameterne utelukkende kommer fra variasjonene i lagringstid.

De resterende uavhengige variablene som ble benyttet i vår studie: oppbevaringstemperatur, prøvebeholder og givergruppe, ble skilt og holdt konstante ved å utføre flere forsøk. Dette brukes som argument for at det er ulikhetene i lagringstid som har gitt endringene i parameterne, og at dette har gitt en sterk intern validitet. Det må likevel påpekes at det ikke er tatt høyde for alle tenkelige variabler. Studie har blant annet ikke tatt hensyn til at antall blodceller vil kunne variere hos de ulike giverne. Det antas imidlertid at ulikhetene i celleverdiene ikke har hatt stor innflytelse i endringene på parameterne. Dette er fordi at det forventes å være små variasjoner i celleantallet blant de friske givere og dialysepasientene.

5.6.2 Ekstern validitet

En ekstern validitet beskriver hvor godt en sammenheng observert i et utvalg vil være allmengjellende i den helhetlige populasjonen. Dette vil med andre ord bety at resultatene i en

studie med sterk ekstern validitet skal kunne reproduseres gjennom et nytt utvalg. Hvor generaliserbar en observasjon er vil avhenge av hvor godt den tåler variasjoner i den større populasjonen. I vår studie ville det vært ønskelig å kunne overføre resultatene i holdbarhetsforsøket til andre sykehuslaboratorium. Populasjonen i vår studie ble definert gjennom tre utvalg: friske givere, friske givere villig til å hyperventilere og dialysepasienter. Utvalgene ble gjort ut i fra eksklusjons- og inklusjonskriterier. Alle deltakerne ble tilfeldig valgt med unntak av at de hadde tilknytning til HUS. Deres tilknytning til HUS antas ikke å påvirke den eksterne validiteten til andre laboratorium. At det ble benyttet standardiserte prosedyrer i forsøkene taler også for at andre laboratorium kan anvende resultatene hvis de benytter lignende prosedyrer. En reduserende faktor med tanke på overførbarheten til andre laboratorium vil være hvis de anvender et annet analyseinstrument. Dette kan gi ulikheter i analytisk presisjon som kan påvirke holdbarheten. Det tenkes derfor at resultatene har sterkest ekstern validitet til laboratorium som benytter lignende prosedyrer og har samme analyseinstrument som i vår studie.

6.0 Konklusjon

Målsettingen for studie var å finne holdbarheten til parameterne pH, partialtrykket av CO_2 , aktuell HCO_3^- , standard Base Excess og laktat i venøse hepariniserte fullblodsprøver. Det var også et mål og undersøkte om holdbarheten var ulik på tvers av oppbevaringsbetingelsene: oppbevaring i heparinrør, blodgass-sprøyte, romtemperatur og is, og på tvers av givergruppene: friske givere, givere med respiratorisk alkalose og givere med metabolsk acidose.

Holdbarhetsstudien av de aktuelle parameterne viste at aktuell HCO_3^- og standard Base Excess hadde en optimal holdbarhet på 60 minutter ved oppbevaring i blodgass-sprøyte på is. pH var holdbar i 15 minutter, og PCO_2 i <15 minutter ved den samme betingelsen. PCO_2 hadde lengst holdbarhet i blodgass-sprøyte i romtemperatur, med en holdbarhet på 15 minutter. Laktat hadde en holdbarhet <15 minutter ved alle betingelsene.

Det var variasjoner på tvers av de ulike betingelsene, og holdbarheten var generelt lengst ved oppbevaring i blodgass-sprøyte og på is. Det var også ulikheter på tvers av givergruppene. Holdbarheten til parameterne ble derfor satt med hensyn til den givergruppen som viste kortest holdbarhet. Bakgrunnen for dette er at sykehuslaboratoriernes prosedyrer for oppbevaring av venøse blodgasser bør omfatte alle de aktuelle syre-base forstyrrelsene.

Variasjonene i holdbarheten forklares ut i fra at analyttenes fysiokjemiske egenskaper. Cellemetabolisme, gassutveksling av CO₂ og bikarbonatbuffersystemet vil kunne endre analyttkonsentrasjonen over tid. Påvirkningsgraden til disse faktorene kan begrenses gjennom oppbevaringsbetingelsene ved å senke metabolismen med nedkjøling og hindre eksponering for eksogen atmosfære.

Forslag til videre studier:

- Undersøke påvirkningen av forhøyede trombocyt- og leukocytverdier på holdbarheten til venøse blodgassparametere og laktat.
- Utvide holdbarhetsforsøket med flere deltakere for å vurdere tillatt bias og totalfeil separat i hver av deltakergruppene.
- Undersøke den biologiske variasjonen av blodgassparametere venøse hepariniserte fullblodsprøver.

7.0 Kilder

1. Kofstad J. Blodgasser, elektrolytter og hemoglobin: TANO; 1995.
2. Byrne AL, Bennett M, Chatterji R, Symons R, Pace NL, Thomas PS. Peripheral venous and arterial blood gas analysis in adults: are they comparable? A systematic review and meta-analysis. *Respirology*. 2014;19(2):168-75.
3. Higgins C. Base Excess: the basics [Internett]. Acutecaretesting: Radiometer Medical ApS; 2017 [updated okt. 2017. Available from: [https://acutecaretesting.org/-/media/acutecaretesting/files/pdf/base-excess--the-basics\(1\).pdf](https://acutecaretesting.org/-/media/acutecaretesting/files/pdf/base-excess--the-basics(1).pdf).
4. Alberti KG, Cuthbert C. The hydrogen ion in normal metabolism: a review. *Ciba Foundation symposium*. 1982;87:1-19.
5. Heidari K, Hatamabadi H, Ansarian N, Alavi-Moghaddam M, Amini A, Safari S, et al. Correlation between capillary and arterial blood gas parameters in an ED. *The American journal of emergency medicine*. 2013;31(2):326-9.
6. McKeever TM, Hearson G, Housley G, Reynolds C, Kinnear W, Harrison TW, et al. Using venous blood gas analysis in the assessment of COPD exacerbations: a prospective cohort study. *Thorax*. 2015:thoraxjnl-2015-207573.
7. Lenicek Krleza J, Dorotic A, Grzunov A, Maradin M. Capillary blood sampling: national recommendations on behalf of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. *Biochemia medica: Biochemia medica*. 2015;25(3):335-58.
8. Awasthi S, Rani R, Malviya D. Peripheral venous blood gas analysis: An alternative to arterial blood gas analysis for initial assessment and resuscitation in emergency and intensive care unit patients. *Anesthesia, essays and researches*. 2013;7(3):355.
9. Baird G. Preanalytical considerations in blood gas analysis. *Biochemia medica: Biochemia medica*. 2013;23(1):19-27.
10. Somersault1824. Monocyte. Shutterstock: Shutterstock, Inc.; u.å. p. A monocyte is a phagocytic white blood cell or leukocyte in the human immune system capable of the uptake of microbes and pathogens followed by digestion and destruction of this material.
11. Schmidt C, Müller-Plathe O. Stability of pO₂, pCO₂ and pH in Heparinized Whole Blood Samples: Influence of Storage Temperature with Regard to Leukocyte Count and Syringe Material. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 1992;30(11):767-74.
12. Beaulieu M, Lapointe Y, Vinet B. Stability of PO₂, PCO₂, and pH in fresh blood samples stored in a plastic syringe with low heparin in relation to various blood-gas and hematological parameters. *Clinical biochemistry*. 1999;32(2):101-7.
13. Mohammadhoseini E, Safavi E, Seifi S, Seifirad S, Firoozbakhsh S, Peiman S. Effect of Sample Storage Temperature and Time Delay on Blood Gases, Bicarbonate and pH in Human Arterial Blood Samples. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2015;17(3).
14. Guppy M, Attwood PV, Hansen IA, Sabaratnam R, Frisina J, Whisson ME. pH, temperature and lactate production in human red blood cells: implications for blood storage and glycolytic control. *Vox sanguinis*. 1992;62(2):70-5.
15. Relman AS. Metabolic consequences of acid-base disorders. *Kidney international*. 1972;1(5):347-59.
16. Kaulitzki S. 3d rendered illustration of human a red blood cell. Shutterstock: Shutterstock, Inc.; u.å.
17. Bishop ML, Fody EP, Schoeff LE. *Clinical chemistry: principles, techniques, and correlations*. 7th ed. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Hippincott Williams & Wilkins.; 2013. 741 p.
18. Kirschbaum B. Loss of carbon dioxide from serum samples exposed to air. Effect on blood gas parameters and strong ions. *Clinica chimica acta*. 2003;334(1-2):241-4.

19. Toffaletti JG, McDonnell EH. Effect of small air bubbles on changes in blood pO₂ and blood gas parameters: calculated vs. measured effects [Internett]. Acutecaretesting: Radiometer Medical ApS 2012 [Available from: <https://acutecaretesting.org/en/articles/effect-of-small-air-bubbles-on-changes-in-blood-po2-and-blood-gas-parameters>].
20. Dukic L, Kopicinovic LM, Dorotic A, Baršic I. Blood gas testing and related measurements: National recommendations on behalf of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine [Internett]. Acutecaretesting: Radiometer Medical ApS 2017 [Available from: <https://acutecaretesting.org/en/articles/blood-gas-testing-and-related-measurements-national-recommendations-on-behalf-of-the-croatian>].
21. Heiligers-Duckers C, Peters NA, van Dijk JJ, Hoeijmakers JM, Janssen MJ. Low vacuum and discard tubes reduce hemolysis in samples drawn from intravenous catheters. *Clinical biochemistry*. 2013;46(12):1142-4.
22. Gas CB. pH Analysis and Related Measurements; Approved Guideline. CLSI document EP9-A [ISBN 1-56238-283-7]. 2001.
23. BLODGASS, VENØST FULLBLOD (SPRØYTE) [Internett]. Laboratoriehåndbok: Universitetssykehuset Nord-Norge; 2017 [Available from: <https://labhandbok.unn.no/medisinsk-biokjemi/blodgass-venost-fullblod-sproyte-article2589-816.html>].
24. Syrebasestatus (blodgasser) (blod) [Internett]. EQS - Laboratoriehåndbok: Helse Nord-Trøndelag; 2017 [Available from: http://data.hnt.no/ftp/eqspublic/labhandbok/docs/doc_19054/index.html].
25. Syre/base-status (blodgass) [Internett]. Laboratoriehåndboka: Sykehuset i Vestfold; 2018 [updated 20.02. Available from: <https://innolab.sihf.no/labhandboksiv/Display?id=854&s=blodgass&cat=Alle>].
26. Syre/base-status i blodet, blodgass [Internett]. ehandboken: Oslo Universitetssykehus; u.å. [Available from: <http://ehandboken.oslo-universitetssykehus.no/document/105576>].
27. Venøs base [Internett]. Analyseoversikten.no: Haukeland universitetssjukehus; u.å. [updated 28.08.2015. Bergen]. Available from: <http://analyseoversikten.no/analyse/82?query=venøs>.
28. Syre/basestatus [Internett]. Brukerhåndbok - LMK: St.Olavs hospital; u.å. [Available from: http://data.stolav.no/labhandboker/Medisinsk_biokjemi/ambbok.html].
29. Syre/base status [Internett]. Analyseoversikt: Helse Førde; u.å. [updated 10.04.2018. Available from: <http://labanalyse.helse-forde.no/analyse/1024>].
30. Metodeprosedyre for analysering av venøs blodgass. [Intern prosedyre]. In press u.å.
31. Laktat [Internett]. Laboratoriehåndbok: Universitetssykehuset Nord-Norge; u.å. [Available from: <https://labhandbok.unn.no/analyser/category813.html>].
32. Laktat [Internett]. Laboratoriehåndboka: Helse Førde; u.å. [updated 10.04.2018. Available from: <http://labanalyse.helse-forde.no/analyse/995?query=laktat>].
33. Laktat [Internett]. Analyseoversikten: Haukeland universitetssjukehus; 2017 [Available from: <http://analyseoversikten.no/analyse/71?query=laktat>].
34. Laktat (melkesyre) (analysert på blodgassinstrument) [Internett]. eHåndbok: Oslo universitetssykehus; u.å. [Available from: <http://ehandboken.oslo-universitetssykehus.no/document/104808>].
35. 1. Laktat [Internett]. Laboratoriehåndboka: Sykehuset Innlandet HF; u.å. [updated 18.05.2017. Available from: <http://innolab.sihf.no/labhandbok/Display?id=234&s=laktat&cat=Alle>].
36. Laktat [Internett]. Laboratoriehåndboka: Sykehuset i Vestfold; u.å. [Available from: <https://innolab.sihf.no/labhandboksiv/Display?id=841&s=laktat&cat=Alle>].
37. Tyse AG. ABL 800 FLEX. Intern prosedyre ed. Haukeland Universitetssjukehus 2016.

38. Liss HP, Piyne CP. Stability of blood gases in ice and at room temperature. *Chest*. 1993;103(4):1120-2.
39. Smajić J, Kadić D, Hasić S, Serdarević N. Effects of post-sampling analysis time, type of blood samples and collection tubes on values of blood gas testing. *Med Glas (Zenica)*. 2015;12(2):108-12.
40. Geysant A, Dormois D, Barthelemy J, Lacour J. Lactate determination with the lactate analyser LA 640: a critical study. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 1985;45(2):145-9.
41. Wandrup J, Tvede K, Grinsted J, Jordening H. "Stat" measurements of L-lactate in whole blood and cerebrospinal fluid assessed. *Clinical chemistry*. 1989;35(8):1740-3.
42. Toffaletti J, Hammes M, Gray R, Lineberry B, Abrams B. Lactate measured in diluted and undiluted whole blood and plasma: comparison of methods and effect of hematocrit. *Clinical Chemistry*. 1992;38(12):2430-4.
43. Kost GJ, Nguyen TH, Tang Z. Whole-blood glucose and lactate: trilayer biosensors, drug interference, metabolism, and practice guidelines. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2000;124(8):1128-34.
44. Calatayud O, Tenias J. Effects of time, temperature and blood cell counts on levels of lactate in heparinized whole blood gas samples. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2003;63(4):311-4.
45. Aakre KM, Rustad Pl, Eilertsen H, Kalfoss T, Åsberg A, Kristoffersen AH. Nasjonalt prosjekt for standardisering av holdbarhetsforsøk [Internett]. Norsk Klinisk-kjemisk Kvalitetssikring 2015 [Available from: <http://doc.noklus.no/handler.ashx?r=nkk&id=Holdbarhet%20Protokoll%20%20vs%202015%20Nettside.pdf>].
46. Jakobsen JC, Gluud C, Winkel P, Lange T, Wetterslev J. The thresholds for statistical and clinical significance—a five-step procedure for evaluation of intervention effects in randomised clinical trials. *BMC medical research methodology*. 2014;14(1):34.
47. Berte LM, Nevalainen DE. The laboratory's role in assessing patient outcomes. *Laboratory Medicine*. 1998;29(2):114-9.
48. Sikaris K. Application of the Stockholm hierarchy to defining the quality of reference intervals and clinical decision limits. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2012;33(4):141.
49. Fraser CG. *Biological variation: from principles to practice*: Amer. Assoc. for Clinical Chemistry; 2001.
50. Higgins C. Useful tips to avoid preanalytical errors in blood gas testing: pH, pCO₂ and pO₂. 2016.
51. Denis F. Polit CTB. *Nursing research - Generating and Assessing Evidence for Nursing Practice*: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins; 2012. 801 p.
52. Godfrey-Smith P. *Theory and reality: An introduction to the philosophy of science*: University of Chicago Press; 2009.
53. ABL800 FLEX Reference Manual. Radiometer Medical ApS; 2004.
54. Statistics L. Friedman test using SPSS Statistics. [Internett]. 2015 [Statistical tutorials and software guides.]. Available from: <https://statistics.laerd.com/>.
55. Conover WJ, Conover WJ. *Practical nonparametric statistics*. 1980.
56. Kim H-Y. Statistical notes for clinical researchers: Nonparametric statistical methods: 2. Nonparametric methods for comparing three or more groups and repeated measures. *Restorative dentistry & endodontics*. 2014;39(4):329.
57. Harding PJ, Fraser CG. Biological variation of blood acid-base status: consequences for analytical goal-setting and interpretation of results. *Clinical chemistry*. 1987;33(8):1416-8.
58. Panteghini M, Pagani F. Biological variation of lactate and pyruvate in blood. *Clinical chemistry*. 1993;39(5):908-.

59. California State University LB. QUASI-EXPERIMENTAL RESEARCH DESIGNS u.å. [Available from: <http://web.csulb.edu/~msaintg/ppa696/696quasi.htm>.]
60. Polit DF, Beck CT. Nursing research: Generating and assessing evidence for nursing practice: Lippincott Williams & Wilkins; 2008.

8.0 Vedlegg

Vedlegg 1

Tilbakemelding fra REK angående framleggingsvurdering

Emne: Ikke framleggingspliktig
Fra: post@helseforskning.etikkom.no
Dato: 08.08.2017 15:49
Til: eirikroys123@gmail.com
Kopi:

Vår ref. nr.: 2017/1463

Prosjekttittel: "Holdbarhetsstudie av blodgassparametere i venøse fullblodsprøver"

Prosjektleder: Astrid-Mette Husøy

Til Astrid-Mette Husøy.

Vi viser til Framleggingsvurdering mottatt 10.07.2017. Henvendelsen er vurdert av REK vest ved leder og sekretariatet.

Generelt om framleggingsplikten for REK

Helseforskningsloven gjelder for medisinsk og helsefaglig forskning på mennesker, humant biologisk materiale eller helseopplysninger. Medisinsk og helsefaglig forskning defineres som virksomhet som utføres med vitenskapelig metodikk for å skaffe til veie ny kunnskap om helse og sykdom. Slike prosjekter må søke REK.

Vurdering av om prosjektet er framleggingspliktig

Vi er noe i tvil, men etter vår oppfatning er dette prosjektet ikke framleggingspliktig for REK.

Prosjektet er en holdbarhetsstudie av blodgassparameterene som analyseres i venøse blodprøver. Målet med studien er å fastsette grenser for hvor lenge materialet kan oppbevares før prøvene må forkastes. Vi oppfatter at studien er en metodeforbedring av laboratoriearbeid som vil innføres ved LKB og at dette ikke tas sikte på å søke ny kunnskap for å publisere.

REK oppfatter at formålet med studien ikke er å søke etter ny kunnskap om helse og sykdom som sådan og finner at studien faller utenfor helseforskningsloven. Du trenger dermed ikke å søke REK. Du bør kontakte personvernombudet for om studien må meldes dit.

Vi gjør oppmerksom på at konklusjonen er å anse som veiledende, jf. forvaltningslovens § 11. Dersom du likevel ønsker å søke REK vil søknaden blir behandlet i komitémøte og det vil bli fattet enkeltvedtak etter forvaltningsloven.

Med vennlig hilsen
Camilla Gjerstad
rådgiver
post@helseforskning.etikkom.no
T: 55978499

**Regional komité for medisinsk og helsefaglig
forskningsetikk REK vest-Norge (REK vest)**
<http://helseforskning.etikkom.no>



Vedlegg 2

Tilråding fra Personvernombudet i Helse Bergen

Hei,

Viser til innsendt meldeskjema og telefonsamtale nå nettopp.

Jeg forstår det slik at prosjektet nok kan gjennomføres uten at det samles inn person-/helseopplysninger. Når det ikke skal behandles personopplysninger trenger dere ikke noen godkjenning fra meg. Dere bør da gjøre noen justeringer til informasjonsskrivet for å få frem at det utelukkende skal registreres anonyme data. Det vil naturlig nok heller ikke være praktisk mulig å trekke samtykke iom at dere ikke kan finne tilbake til deltakeren når prøven er innhentet.

Skulle dere mot formodning komme til at det er behov for å behandle personopplysninger i prosjektet, (f.eks. av sikkerhetshensyn, behov for kobling mot journaldata e.l.) stiller saken seg annerledes. I så tilfelle må dere gi meg en tilbakemelding før dere starter, så vil jeg behandle prosjektet som samtykkebasert helsetjenesteforskning. Dersom dere er usikker på om det er nødvendig å samle inn personopplysninger fra deltakerne, kan det være lurt å ta kontakt med seksjon for pasientsikkerhet.

Jeg legger ellers til grunn at dere ikke trenger en forskningsbiobank når materialet analyseres og destrueres innen 1 time etter innsamling.

Lykke til med prosjektet!

Jeg registrerer meldeskjema og svar fra meg på saksnummer 2017/11540 i ePhorte.

Vennlig hilsen

Christer Kleppe
Personvernombud
Spesialrådgiver
55975558
Haukeland Universitetssykehus
FoU-avdelingen
Seksjon for forskning og innovasjon
www.helse-bergen.no



Vedlegg 3

Skjema: Forespørsel om deltakelse i forskningsprosjektet

Forespørsel om deltakelse i forskningsprosjektet

«Holdbarhetsstudie av venøse blodgassparametere»

Bakgrunn og hensikt

Dette er et spørsmål til deg om å delta i et forskningsprosjekt for å kartlegge holdbarheten til blodgassparametere i venøse blodprøver. Bakgrunnen for prosjektet er å kvalitetssikre holdbarhetsprosedyrene som i dag benyttes ved Laboratorium for klinisk biokjemi (LKB) ved Haukeland universitetssjukehus (HUS). Deltakelse i studiet vil kunne bidra til å øke kvaliteten til resultatene som rapporteres fra laboratoriet. Forskningsprosjektet vil også inngå i en masteroppgave ved Universitetet i Bergen (UiB) under studieprogrammet: Master i helsevitenskap.

Hva innebærer prosjektet?

Prosjektet innebærer en blodprøvetaking hvor det hentes ut et mindre blodvolum (13-19 ml). Prøvetakingen foregår i tråd med prosedyrer ved sykehuset, og skal ikke innebære noe større risiko eller ubehag. Det vil ikke gis tilbakemelding på resultatene prøvene.

Frivillig deltakelse og mulighet for å trekke sitt samtykke

Det er frivillig å delta i prosjektet. Dersom du ønsker å delta, undertegner du alder og kjønn på samtykkeerklæringen på siste side. Ettersom prosjektet kun registrerer anonyme data vil det ikke være mulig å trekke sitt samtykke fra prosjektet i etterkant.

Dersom du senere har spørsmål til prosjektet kan du likevel kontakte:

Mastergradsstudent / bioingeniør: Eirik Åsen Røys, Laboratorium for klinisk biokjemi, Haukeland universitetssjukehus, Helse Bergen HF.

Telefonnummer: 41588292.

Hva skjer med prøver som blir tatt av deg?

Prøvene som tas vil kun oppbevares frem til analysering (maksimalt 1 time) før de destrueres.

Godkjenning

Prosjektet er godkjent av Regional komite for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk som et kvalitetssikringsprosjekt. Det har også blitt godkjent av personvernombudet ved HUS.

Samtykke til deltakelse i prosjektet

Jeg er villig til å delta i prosjektet

Kjønn (Mann / Kvinne)

Fødselsdato

Vedlegg 4

Resultater fra Friedsmans-test og kvalitetskrav basert på biologisk variasjon

Tabell 1: P-verdier fra Friedmans-test fra samlede resultater og de separerte forsøkene med friske givere, givere med respiratorisk alkalose og givere med metabolsk acidose.

| | pH(H ⁺) | PCO ₂ | cHCO ₃ ⁻ | SBE | Laktat |
|---------------------|---------------------|------------------|--------------------------------|---------|---------|
| Samlet - HPR - RT | 0,0002 | 0,2988 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| Samlet - HPR - is | 0,0044 | 0,0019 | 0,0567 | 0,1393 | <0,0001 |
| Samlet - BGS - RT | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | 0,1749 | <0,0001 |
| Samlet - BGS - is | 0,5461 | 0,0906 | 0,5220 | 0,2807 | <0,0001 |
| Friske - HPR - RT | 0,0092 | 0,4492 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| Friske - HPR - is | 0,0013 | 0,0001 | 0,0004 | <0,0001 | <0,0001 |
| Friske - BGS - RT | 0,0171 | 0,2560 | 0,2144 | 0,0004 | <0,0001 |
| Friske - BGS - is | 0,3582 | 0,6359 | 0,5197 | 0,5648 | <0,0001 |
| Alkalose - HPR - RT | 0,0106 | 0,0853 | 0,1312 | 0,0326 | <0,0001 |
| Alkalose - HPR - is | 0,4834 | 0,9261 | 0,1606 | 0,1555 | 0,0003 |
| Alkalose - BGS - RT | 0,0175 | 0,1227 | 0,7744 | 0,4774 | <0,0001 |
| Alkalose - BGS - is | 0,0250 | 0,1376 | 0,0476 | 0,4308 | <0,0001 |
| Acidose - BGS - RT | <0,0001 | <0,0001 | 0,0408 | 0,0814 | <0,0001 |
| Acidose - BGS - is | 0,8517 | 0,0039 | 0,1382 | 0,3947 | 0,0235 |

Tabell 2: Kvalitetskrav til minimum tillatt bias og minimum tillatt totalfeil basert på intra- og inter-individuell biologisk variasjon (57, 58).

| Parameter | CV _I | CV _G | T _{BIAS} | T _{TF} |
|------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| H ⁺ | 3,5 | 2,0 | 1,5 | 5,8 |
| PCO ₂ | 4,8 | 5,3 | 2,7 | 8,6 |
| Bikarbonat | 4,0 | 4,8 | 2,3 | 7,3 |
| Base Excess | 49,3 | 43,2 | 33,0 | 127,6 |
| Laktat | 27,2 | 16,7 | 12,0 | 45,6 |

Vedlegg 5

Vedlegget viser relative avvik fra nullprøver for H^+ -konsentrasjonen, partialtrykket av CO_2 , aktuell bikarbonat og laktat, og absolutte avvik for Standard Base Excess, illustrert i plott. Avvik i enkeltmåling og gjennomsnittlige endringer, er vist sammen med grenser for tillatt totalfeil og tillatt bias (Figur 1). Gjennomsnittlige endringer er vist med et 90% konfidensintervall, markert som helstrakte røde linjer.

Figur 1: Symbol benyttet i plott for gjennomsnittlige endringer, avvik i enkeltmålinger og grenser for tillatt bias og tillat totalfeil.

