

**«In vitro kvalitet og hemostatisk funksjon i  
kaldlagret CPDA-1 fullblod etter gjentatte  
temperatursvingninger til 28 °C»**

**Joar Sivertsen**

Veiledere:

Torunn O. Apelseth og Tor A. Hervig  
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin  
Haukeland universitetssjukehus

**Masteroppgave**

Masterprogram i helse og samfunn  
Institutt for global helse og samfunnsmedisin



---

Høst 2021

## **FORORD**

Takk til veiledere Torunn O. Apelseth og Tor A. Hervig for godt samarbeid og støtte. En stor takk også til Hanne Braathen, Turid Helen Felli Lunde og Geir Strandenes i forskningsgruppen Blood Far Forward for godt og nært samarbeid.

Takk til avdelingsjef Einar K. Kristoffersen for muligheten og midler til å gjennomføre oppgaven ved avdelingen.

Takk til biostatistiker Jörg Assmus ved kompetansesenteret for klinisk forskning fortjener også en takk for sin statistiske kompetanse.

Jeg vil også takke alle ansatte ved avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin og avdeling for medisinsk biokjemi og farmakologi for hjelp underveis. En særskilt takk til seksjon for sekretæroppgaver for hjelp med innkalling av blodgivere samt seksjon for blodgiving for uvurderlige hjelp med å tappe blodgivere.

Sist, men ikke minst, takk til Elisabeth for støtte.

## INNHALDSFORTEGNELSE

1. INNLEDNING .....	1
1.1. Bakgrunn .....	1
1.2. Tidligere forskning .....	4
1.2.1. Fullblod .....	4
1.2.2. Erytrocytter .....	9
1.2.3. Blodplater .....	10
1.2.4. Plasma .....	10
2. Hensikt og problemstilling .....	11
3. Metode .....	12
3.1. Introduksjon .....	12
3.2. Etikk .....	12
3.3. Forundersøkelse av temperaturendring i blodpose .....	12
3.4. Tapping av blod .....	13
3.5. Oppbevaring og temperatursvingning .....	13
3.6. Prøvetaking .....	14
3.7. Laboratorieanalyser .....	15
3.7.1. Hematologi .....	15
3.7.2. Hemolyse .....	16
3.7.3. Bakterievekst .....	16
3.7.4. Viskoelastisk hemostatisk funksjon .....	17
3.7.5. Koagulasjon .....	21
3.7.6. Klinisk kjemi .....	21
3.8. Statistiske beregninger .....	22
4. RESULTATER .....	23
4.1. Forundersøkelse av temperatur i blodposer .....	23
4.2. Hemolyse .....	24

4.3. Hematologi .....	24
4.4. Metabolisme .....	25
4.5. Viskoelastisk hemostatisk funksjon .....	25
4.6. Koagulasjon.....	28
4.7. Bakterieoppvekst.....	28
5. DISKUSJON .....	29
5.1. Resultater.....	29
5.2. Metode.....	32
5.3. Avvik.....	33
5.4. Videre studier .....	33
6. KONKLUSJON .....	34
LITTERATURLISTE .....	35

## VEDLEGG

- Vedlegg I. Utdrag fra lokal prosedyre for praktisk transfusjon med beskrivelse av tillatt oppbevaringstid for fullblod
- Vedlegg II. Protokoll for 2017/157 Laboratorieanalyser av fullblod og blodkomponenter gitt til pasienter ved blødning
- Vedlegg III. Prosjektsamarbeid med laboratoriene i Laboratorieklinikken
- Vedlegg IV. Retningslinjer for forfattere i tidsskriftet Transfusion
- Vedlegg V. Laboratorieprotokoll
- Vedlegg VI. Vedtak fra regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk
- Vedlegg VII. Egenevalueringsskjema for personvernkonsekvensvurdering
- Vedlegg VIII. Informasjons- og samtykkeskjema for 2017/157 Laboratorieanalyser av fullblod og blodkomponenter gitt til pasienter ved blødning
- Vedlegg IX. Arbeidsark
- Vedlegg X. Rådata for alle utførte analyser

## SAMMENDRAG

**Bakgrunn:** Blodprodukter blir ofte utsatt for romtemperatur eller høyere i lengre perioder enn tillatt av retningslinjer. Jeg undersøkte om dette førte til målbar effekt på mye brukte kvalitetsparametere og viskoelastisk hemostatisk funksjon.

**Metode:** 450 ml fullblod fra 16 O Rh(D)-positive blodgivere ble tappet på poser inneholdende 63 ml med CPDA-1 og lagret kaldt. Åtte poser ble utsatt for fem ukentlige fire timers lange temperatursvingninger til 28 °C. Åtte poser ble lagret kontinuerlig ved 4 °C som kontroll. Prøver ble tatt på som grunnlinje på dag 1, etter første svingning på dag 1 og deretter en uke etter hver temperatursvingning (dag 7, 14, 21, 28 og 35). Hemolyse, hematologiske parametere, pH, glukose, laktat, kalium, tromboelastografi, INR, APTT, fibrinogen og faktor VIII ble målt.

**Resultater:** Testgruppen viste ikke redusert kvalitet sammenlignet med kontrollgruppen på dag 35. To poser i testgruppen hadde hemolyse på 1,1 og 1,2 %, og to poser i kontrollgruppen hemolyse på 0,8 %. Gjenværende tromboelastografi-klottstyrke (MA) på dag 35 var 51.7 mm (44.8, 58.6) i testgruppen og 46.1 (41.6, 50.6) i kontrollgruppen ( $p=0.023$ ). Blodplatetallet var bedre bevart i testgruppen (166.7 [137.8, 195.6] mot 117.8 [90.3, 145.2],  $p=0.018$ ). En pose i testgruppen var positiv på *C. acne* på dag 35+6.

**Konklusjon:** Hemolysefunnene bør undersøkes videre. Andre faktorer ble ikke negativt påvirket av forbigående temperatursvingninger.

**Nøkkelord:** CPDA-1, fullblod, lagringstemperatur, temperaturoverskridelse, lagringsskade

## **ABSTRACT**

**Background:** Blood products are frequently exposed to room temperature or higher for longer periods than permitted by policy. I aimed to investigate whether this resulted in a measurable effect on common quality parameters and viscoelastic hemostatic function.

**Method:** 450 ml of whole blood from 16 O Rh(D) positive donors was collected in bags containing 63 ml of CPDA-1 and stored cold. Eight bags were exposed to five weekly four-hour long transient temperature changes to 28°C. Eight bags were stored continuously at 4°C as a control. Samples were collected at baseline on day 1, after the first cycle on day 1 and one week after each subsequent cycle (day 7, 14, 21, 28 and 35). Hemolysis, hematological parameters, pH, glucose, lactate, potassium, thromboelastography, INR, APTT, fibrinogen and factor VIII was measured.

**Results:** The test group did not show reduced quality compared to the control group on day 35. Two units in the test group had hemolysis of 1.1 and 1.2%, and two units in the control group hemolysis of 0.8%. Remaining thromboelastography clot strength (MA) on day 35 was 51.7 mm (44.8, 58.6) in the test group and 46.1 (41.6, 50.6) in the control group ( $p=0.023$ ). Platelet count was better preserved in the test group (166.7 [137.8, 195.6] vs 117.8 [90.3, 145.2],  $p=0.018$ ). One bag in the test group was positive for *C. acne* on day 35+6.

**Conclusion:** Hemolysis findings warrant further investigation. Other factors were not negatively affected by transient temperature changes.

**Keywords:** CPDA-1, whole blood, storage temperature, temperature violations, storage lesion

# 1. INNLEDNING

## 1.1. Bakgrunn

Blodbanking som konsept oppstod på slutten av første verdenskrig, etter Karl Landsteiners beskrivelse av ABO-blodtypesystemet, Reuben Ottenbergs bruk av ABO-forlik og Richard Lewisohns og Oswald H. Robertsons arbeid med oppbevaringsløsninger på begynnelsen av 1900-tallet. Det ble nå mulig med forsvarlig blodbehandling av blødning eller tilstander som fører til mangel eller dysfunksjon. I årene siden da har feltet gradvis blitt videreutviklet i tråd med den generelle teknologiske utviklingen i samfunnet.

I dag er blodbank et velregulert vitenskapsbasert felt. I Norge reguleres driften gjennom «Forskrift om tapping, testing, prosessering, oppbevaring, distribusjon og utlevering av humant blod og blodkomponenter og behandling av helseopplysninger i blodgiverregistre (blodforskriften)»<sup>1</sup> og Europarådets publikasjon «Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components».<sup>2</sup>

Mens man i blodbankens spede begynnelse tappet og transfunderte fullblod på glassflasker, begynte man etter hvert å dele opp blodet i tre bestanddeler, såkalte blodkomponenter, ved sentrifugering: Erytrocytter, plasma og trombocytter. Overgangen til blodposer av plast på 1970-tallet gjorde denne produksjonen betydelig enklere. Dette praksisen gjorde at man nå kunne bedre tilpasse blodbehandlingen til den enkelte pasient og utnytte hver blodgiving maksimalt – en pasient med trombocytopeni kunne transfunderes trombocytterne, mens plasma og erytrocytter gikk til en annen pasient.

Hvert av disse blodproduktene har ulike krav til tilsetningsløsninger, oppbevaring og ulik holdbarhet. Erytrocytter oppbevares i kjøleskap ved 4 °C i inntil 35 dager, plasma nedfrost ved -20 °C, og trombocytter i inntil 7 dager ved 22 °C under konstant bevegelse.<sup>2,3</sup>

Dette fører til logistiske utfordringer for oppbevaring, transport og etterforsyning utenfor blodbanken. For blødende pasienter tilstreber man tidlig balansert transfusjon, det vil si at man gir pasienten et tilnærmet fysiologisk balanse av erytrocytter, plasma og trombocytter.<sup>4,5</sup> Når disse kommer i tre ulike poser byr det på praktiske utfordringer. Det



fører også til transfusjon av store mengder tilsetningsløsning med dertil hørende fortykning av blodet.

På grunn av disse faktorene har man derfor militært valgt fullblod som foretrukket produkt til behandling av pasienter med traumatisk hemoragisk sjokk.<sup>4</sup> Militært brukes og oppbevares blod både på feltsykehus, helt fremskutt på kjøretøy og også på personell under oppdrag.

Etterforsyning av blod og opprettholdelse av kjølekjeden kan her være svært utfordrende, og man er avhengig av produkter som er enkle å oppbevare, har best mulig holdbarhet og at man gjør alt man kan for at disse ikke må kasseres.<sup>6</sup>



Figur 1.1. Kjøleboks for blodprodukter

I senere år har det i sivil sektor vært økt fokus på blodberedskap og å bringe blodbehandlingen ut av sykehusene slik at pasienter med akutt behov for blod kan behandles så tidlig som mulig, potensielt helt fremme på skadestedet.<sup>7,8</sup> Der man tidligere kun hadde saltvannsløsninger tilgjengelig, har alle luftambulanse- og redningshelikoptertjenester i Norge nå blod om bord.<sup>9</sup> Det har også blitt etablert prosedyrer for tapping og bruk av blod på plattformer og på skip,<sup>7,8</sup> og bruk av såkalte vandrende blodbanker ved kriser.<sup>10,11</sup> Videre er det planlagt utvidelse av blodberedskapen til å også dekke samfunn der man potensielt har lang transporttid til sykehus og i perioder også kan være helt isolert fra omverdenen uten muligheter for etterforsyning.<sup>12</sup>

Retningslinjer, praksis og tidligere forskning er i stor grad rettet mot produksjon og bruk i strengt kontrollerte omgivelser i blodbanker og sykehus. Et system med mer prehospital bruk av blod fører med seg behovet for ny forskning og at eksisterende retningslinjer revurderes i forhold til hva som er mulig i ulike situasjoner.<sup>13</sup>

Det mest hensiktsmessige produktet for militær og prehospital bruk er fullblod.<sup>14</sup> Det finnes i dag kommersielt tilgjengelige løsninger for å produsere to ulike kaldlagrede fullblodsprodukter der hovedforskjellen er tilsetningsløsning og mulighet for å fjerne leukocytter.<sup>2,15</sup>

Dersom fullblodet er tilsatt en sitrat-fosfat-dekstrose-løsning (CPD) gis det i Norge vanligvis en holdbarhet på 21 dager ved 4 °C. I Norge er det et krav om leukocyttfiltrering av blodprodukter for å redusere risikoen for transfusjonsreaksjoner, og det benyttes derfor hovedsakelig leukocyttfiltrert CPD-fullblod.<sup>1</sup>

Hvis situasjonen tilsier at det er behov for økt holdbarhet eller man ikke har anledning, eller tid, til å filtrere bort leukocytene, kan man benytte en tilsetningsløsning som også inneholder adenin (CPDA-1). Dette øker holdbarheten til inntil 35 dager<sup>2</sup>, men det finnes her ikke løsninger for leukocyttfiltrering.<sup>15</sup> Den økte holdbarheten er primært grunnet bedre bevaring av erytrocyttenes ATP-syntese ved tilsetning av adenin.<sup>16</sup> Det er ikke vist at det fører til bedre bevart blodplatefunksjon. Det norske forsvaret benytter ved behov CPDA-1 på grunn av den økte holdbarheten.

Etter dagens retningslinjer må blod transfunderes innen fire timer etter at de er tatt ut av kjøleskapet. Hvis det har gått mindre enn 30 minutter, kan de tas tilbake i blodbankens beholdning. Det tillates en transportperiode på 24 timer der temperaturen aldri skal overstige 10 °C. Hvis produktet ikke blir transfundert eller ikke kan tas tilbake, må det kastes (Vedlegg I).<sup>17,18</sup>

Når man lagrer blod over tid fører det til en stadig økende grad av lagringsendringer (*storage lesions*). Dette er en samlebetegnelse på alle endringer som reduserer kvaliteten på blodet. Etter hvert som tiden går vil blodet bruke opp stadig mer av energikildene og danne avfallsstoffer. Konsentrasjonen av glukose, adenosintrifosfat (ATP) og 2,3-difosfoglyserat (2,3-DPG) går ned, mens laktat og kalium øker.<sup>19,20</sup> Etter hvert blir de røde blodcellene mer skjøre og mindre i stand til å endre form når de skal gjennom de minste blodårene. Man får hemolyse, og intracellulær hemoglobin og ulike mikropartikler kommer ut i blodet. På grunn av dette er hemolyse et viktig kvalitetsmål når man produserer blodprodukter.

En bekymring ved oppbevaring av blod er risiko for bakterieoppvekst. Denne risikoen er størst med romtemperaturlagrede blodplatekonsentrat der studier har antydnet at mellom 1 av 1000 til 1 av 3000 er kontaminert med bakterier.<sup>21</sup> Risikoen er også til stede for kaldlagrede erytrocytter og fullblod, men er her mindre (1 av 500 000).<sup>21</sup>

## **1.2. Tidligere forskning**

Det ble utført litteratursøk ved hjelp av PubMed og Google Scholar. Søket ble i hovedsak begrenset til studier som benytter sammenlignbare oppbevaringsløsninger, tilsetninger og analysemetoder. Sluttdato for litteratursøk var 31.10.2021.

De fleste studier oppgir resultater enten som tall eller i figurform. Det er få studier som også inkluderer en fullstendig tabell over resultater. I gjennomgangen av artikler er det brukt verktøyet WebPlotDigitizer til å estimere tallverdier fra figurer der tallverdier ikke er tilgjengelig.<sup>22</sup> Dette innebærer en viss grad av usikkerhet<sup>23-25</sup>, og tabellene viser derfor kun en prosentvis endring fra første til siste måletidspunkt og ikke eksakte måleresultater.

### **1.2.1. Fullblod**

Fullblod som et eget produkt fikk en militær renessanse med krigene i Afghanistan og Irak på 2000-tallet. Etter dette er det gjort mye forskning for å vurdere produktet fra et moderne perspektiv. Produktet har også tidligere vært brukt i krig på 1900-tallet, men da hovedsakelig som fersktappet, varmt fullblod. Trenden nå er mot kaldlagret fullblod, og det ble viktig å dokumentere kvaliteten og funksjonen under langtidslagring.

Ved en gjennomgang av tidligere litteratur fant jeg 20 studier som omhandler sammenlignbare in vitro kvalitetsmål. Hovedforskjellene mellom studiene var om det ble brukt CPD eller CPDA-1 som tilsetningsløsning, hvorvidt produktet var leukocytffiltrert eller ikke, og hvilken temperatur blodet ble oppbevart ved.

#### *Hemolyse*

Mange av studiene målte kun hemoglobin og hematokrit, og oppga ikke hemolyse. Ni av studiene målte hemolyse. Ved lagring ved 4 °C fant de fleste under 0,8 % hemolyse på utløpsdatoen (dag 21 eller 35 avhengig av tilsetningsløsning).<sup>15,26-31</sup>

Yazer et al. (2016) fant imidlertid en betydelig økning i hemolyse fra 0,5 % på dag tre til 1,4 % på dag 21. De spekulerer at det kan skyldes at posene ikke fikk tilstrekkelig tid til å romtemperes før prøvetaking.<sup>32</sup>

Hughes et al. (2007) og Sivertsen et al. (2018) undersøkte også høyere temperaturer og fant hemolyse på 0,2 % eller mindre etter tre dager ved 19, 22 eller 25 °C, eller to timer

ved 32 °C.<sup>28,33</sup> En tredje studie som undersøkte lagring ved 22 °C i 21 dager fant en bratt økning i hemolyse etter dag fem.<sup>26</sup>

Det er få studier som har varmet opp kaldlagret blod og så kjølt det ned igjen. Tzounakas et al. (2017) skrev en artikkel basert på CPDA-1 fullblod som ved et uhell hadde blitt varmet opp fra 4 til 17 °C under transport fra tappestedet til blodbanken. Når blodet kom frem ble noe lagret ved 4 °C igjen og noe brukt til produksjon av erytrocyttkonsentrat. Ved utløpsdagen på dag 35 fant de 0,2 % hemolyse i fullblodet. I 52 % av erytrocyttkonsentratene fant de derimot hemolyse over 0,8 %.

### *Hematologiske parametere*

Den generelle konklusjonen etter gjennomgang av litteraturen er at det er små eller ingen endringer i hemoglobinkonsentrasjon og hematokrit under lagring av fullblod, selv ved temperaturer opp mot 22 °C. Unntaket er en studie fra 2018 som fant en stigning i hemoglobin fra  $13,0 \pm 0,7$  på dag 0 til  $14,9 \pm 3,9$  etter 21 dager ved 4 °C, men det var her et høyt standardavvik.<sup>34</sup>

Leukocyttkonsentrasjon går gradvis ned over tid ved langtidslagring. Studier som undersøkte gjennomsnittlig blodplatevolum fant at dette gikk ned over tid.<sup>15,30</sup> En studie så også på gjennomsnittlig erytrocyttvolum og fant at dette økte med lagring.<sup>15</sup>

Blodplatetallet går også ned over tid, men som vist i Tabell 1.1 var det stor variasjon i hvor mye. Forskjellen kan til dels skyldes ulike målemetoder.<sup>35</sup>

Lagring ved 19, 22 eller 25 °C i tre dager, 32 °C i to timer, eller 22 °C i 21 virker å gi mindre grad av endring i blodplatetall enn ved kaldlagring.<sup>26,28,33</sup>

Tabell 1.1. Prosentvis endring i blodplatetall fra startdag til sluttdag i ulike studier

Forfatter	Løsning	LR	Temp.	Startdag	Sluttdag	Endring
Remy et al. (2018) <sup>36</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	15	-57 %
Pidcoke et al. (2013) <sup>26</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	21	-29 %
Morris et al. (2019) <sup>37</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	21	-10 %
Thomas et al. (2019) <sup>38</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	21	-52 %
Meledeo et al. (2019) <sup>29</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	35	-41 %
Hughes et al. (2007) <sup>33</sup>	CPD	Nei	19 °C	0	3	-1 %
Pidcoke et al. (2013) <sup>26</sup>	CPD	Nei	22 °C	0	21	-3 %
Hughes et al. (2007) <sup>33</sup>	CPD	Nei	25 °C	0	3	-5 %
Haddaway et al. (2019) <sup>39</sup>	CPD	Ja	4 °C	3	14	-44 %
Remy et al. (2018) <sup>36</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	15	-41 %
Yazer et al. (2016) <sup>32</sup>	CPD	Ja	4 °C	3	10	-20 %
Huish et al. (2019) <sup>31</sup>	CPD	Ja	4 °C	1	21	-49 %
Bjerkvig et al. (2020) <sup>30</sup>	CPD	Ja	4 °C	1	21	-22 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	21	-16 %
Zielinski et al. (2018) <sup>34</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	21	-39 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	22 °C	0	3	5 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	35 °C	0	2 timer	3 %
Jobs et al. (2011) <sup>40</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	1	31	-77 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	1	35	-15 %
Meledeo et al. (2019) <sup>29</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	0	35	-10 %

LR: Leukocytffiltrert.

### Metabolisme

Tidligere studier viser at ved lagring forbruker erytrocyttene og blodplatene glukose, det dannes laktat, og pH synker. Over tid frigis det mer og mer kalium fra erytrocyttene. En oppsummering av prosentvis endring i disse parameterne i ulike studier er vist i Tabell 1.2.

Tabell 1.2. Prosentvis endring i metabolske parametere fra startdag til sluttdag i ulike studier

Forfatter	Løsning	LR	Temp.	Startdag	Sluttdag	pH	Glukose	Laktat	Kalium
Morris et al. (2019) <sup>37</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	21	-4 %			193 %*
Ekaney et al. (2018) <sup>41</sup>	CPD	Nei	4 °C	1	25	-4 %		570 %	
Meledeo et al. (2019) <sup>29</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	35	-8 %		1100 %	
Huish et al. (2019) <sup>31</sup>	CPD	Ja	4 °C	1	21				1140 %
Huish et al. (2019) <sup>31</sup>	CPD	Ja†	4 °C	1	21				1135 %
Bjerkvig et al. (2020) <sup>30</sup>	CPD	Ja	4 °C	1	21	-4 %	-32 %	287 %	386 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	21				570 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	22 °C	0	3				109 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	35 °C	0	2 timer				0 %
Baliarsingh et al. (2014) <sup>42</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	0	28				731 %
Jobs et al. (2011) <sup>40</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	1	31	-6 %	-30 %	433 %	‡
Sivertsen et al. (2020) <sup>15</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	1	35	-7 %	-46 %	968 %	847 %
Meledeo et al. (2019) <sup>29</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	0	35	-8 %		755 %	

LR: Leukocytffiltrert. \*Kurven flater ut etter dag 7, men det er ikke oppgitt at verdiene er over målegrense. †Leukocytffiltrert med filter som fjerner blodplater. ‡ Over målegrense

### Viskoelastisk hemostatisk funksjon

Lagring av fullblod fører generelt til mindre endringer i hvor lang tid det tar før klotting begynner (R/CT) som trolig har lite klinisk relevans. Den største endringen sees i hastigheten på klottedannelse (angle) og hvor sterk den endelige klotten blir (MA/MCF).

Det er lite forskjell i om blodet er leukocytffiltrert eller ikke og hvilken tilsetningsløsning som brukes, men lagringstid og temperatur ser ut til å være en faktor.

Resultatene av viskoelastisk hemostatisk funksjon vurdert ved tromboelastografi (TEG) eller tromboelastometri (ROTEM) er vist som prosentvis endring fra første til siste måletidspunkt i Tabell 1.3 og 1.4.

Tabell 1.3. Prosentvis endring i tromboelastografi (TEG) fra startdag til sluttdag i ulike studier

Forfatter	Løsning	LR	Temp.	Start-dag	Slutt-dag	R	K	Angle	MA
Remy et al. (2018) <sup>36</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	15				-21 %
Pidcoke et al. (2013) <sup>26</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	21	-12 %	35 %	-12 %	-15 %
Hughes et al. (2007) <sup>33</sup>	CPD	Nei	19 °C	0	3	-10 %		16 %	2 %
Pidcoke et al. (2013) <sup>26</sup>	CPD	Nei	22 °C	0	21	10 %	222 %	-29 %	-61 %
Hughes et al. (2007) <sup>33</sup>	CPD	Nei	25 °C	0	3	-5 %		12 %	2 %
Yazer et al. (2016) <sup>32*</sup>	CPD	Ja	4 °C	4	10		92 %	-24 %	-18 %
Haddaway et al. (2019) <sup>39</sup>	CPD	Ja	4 °C	3	14	4 %	50 %	-14 %	-9 %
Haddaway et al. (2019) <sup>39</sup>	CPD	Ja†	4 °C	3	14	-3 %		-3 %	14 %
Huish et al. (2019) <sup>31</sup>	CPD	Ja	4 °C	1	21	-33 %	61 %	-5 %	-15 %
Huish et al. (2019) <sup>31</sup>	CPD	Ja†	4 °C	1	21	-22 %		11 %	0 %
Bjerkvig et al. (2020) <sup>30</sup>	CPD	Ja	4 °C	1	21	-9 %	80 %	-18 %	-15 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	21	-5 %	117 %	-23 %	-15 %
Polites et al. (2015) <sup>43</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	21				-29 %
Remy et al. (2018) <sup>36</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	15				-7 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	22 °C	0	3	11 %	-6 %	0 %	-7 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	35 °C	0	2 timer	10 %	6 %	0 %	-2 %
Jobes et al. (2011) <sup>40</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	1	31	8 %	133 %	-29 %	-30 %
Sivertsen et al. (2020) <sup>15</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	1	35	-2 %	96 %	-20 %	-30 %

LR: Leukocytffiltrert. R: Tid til første klottedannelse. K: Tid til 20 mm klottstyrke. Angle: Hastighet på klottedannelse. MA: Maksimal klottstyrke.

\*Leukocytffiltrert med et filter som fjerner blodplater. †Analysert med RapidTEG

Huish et al. (2019) utførte en studie med tromboelastografi på CPD fullblod som er leukocytffiltrert med et filter som fjerner blodplater. De fant at maksimal klottstyrke (MA) på dag 1 kun var 20 % av det som ble sett i fullblod filtrert med platesparende filter.<sup>31</sup> I en lignende studie av Haddaway et al. (2019) så man tilsvarende resultater med kun 24 % på dag 3.<sup>39</sup>

Tabell 1.4. Prosentvis endring i tromboelastografi fra startdag til sluttdag i ulike studier

Forfatter	Løsning	LR	Temp.	Start-dag	Slutt-dag	CT	CFT	Angle	MCF
Remy et al. (2018) <sup>36</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	15				-29 %
Pidcoke et al. (2013) <sup>26</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	21				
Morris et al. (2019) <sup>37</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	21				-24 %
Thomas et al. (2019) <sup>38</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	21	52 %	179 %		-12 %
Meledeo et al. (2019) <sup>29</sup>	CPD	Nei	4 °C	0	35	6 %		-36 %	-45 %
Remy et al. (2018) <sup>36</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	15				-24 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	21	33 %	316 %	-27 %	-22 %
Polites et al. (2015) <sup>43</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	21				-28 %
Strandenes et al. (2015) <sup>44</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	21	55 %		-22 %	-20 %
Zielinski et al. (2018) <sup>34</sup>	CPD	Ja	4 °C	0	21	34 %		-49 %	-27 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	22 °C	0	3	21 %	2 %	-1 %	0 %
Sivertsen et al. (2018) <sup>28</sup>	CPD	Ja	35 °C	0	2 timer	-3 %	4 %	-1 %	2 %
Meledeo et al. (2019) <sup>29</sup>	CPDA-1	Nei	4 °C	0	35	24 %		-14 %	-36 %

LR: Leukocytfiltrert. CT: Tid til første klottdannelse. CFT: Tid til 20 mm klottstyrke. Angle: Hastighet på klottdannelse. MCF: Maksimal klottstyrke.

Pidcoke et al. (2013) og Sivertsen et al. (2018) fant lite endring på tromboelastografi etter én dag ved 22 °C, men en reduksjon i klottstyrke (MA) på rundt 7 % etter tre dager.<sup>26,28</sup> Pidcoke et al. fortsatte å lagre varmt i 21 dager og fant da en gjenværende klottstyrke på rundt 45 % av det som ble sett i kaldlagret blod.

### Koagulasjon

Som vist i Tabell 1.5 sees det ved lagring av fullblod mindre økninger i INR, APTT og fibrinogen. Faktor VIII påvirkes sterkt av lagring. Da disse analysene er plasmabasert, bør de også suppleres med analyse av hemostatisk funksjon i fullblod.

Tabell 1.5. Prosentvis endring i koagulasjonsparametere fra startdag til sluttdag i ulike studier

Forfatter	Løsning	LR	Temp.	Start-dag	Slutt-dag	INR	APTT	Fibrinogen	Faktor VIII
Thomas et al. (2019)	CPD	Nei	4 °C	0	21			-9 %	
Hughes et al. (2007)*†	CPD	Nei	19 °C	0	3	5 %	2 %	-2 %	-19 %
Hughes et al. (2007) *†	CPD	Nei	25 °C	0	3	8 %	1 %	-1 %	-10 %
Haddaway et al. (2019) *†	CPD	Ja	4 °C	3	14	9 %	0 %		
Haddaway et al. (2019) *†	CPD	Ja‡	4 °C	3	14	7 %	0 %		
Huish et al. (2019)*	CPD	Ja	4 °C	1	21	44 %	22 %	-8 %	-56 %
Huish et al. (2019)*	CPD	Ja‡	4 °C	1	21	19 %	5 %	-3 %	-39 %
Bjerkvig et al. (2020)	CPD	Ja	4 °C	1	21	10 %	10 %	0 %	-42 %
Sivertsen et al. (2018)	CPD	Ja	4 °C	0	21	20 %	18 %	-4 %	-61 %
Sivertsen et al. (2018)	CPD	Ja	22 °C	0	3	10 %	-6 %	0 %	-39 %
Sivertsen et al. (2018)	CPD	Ja	35 °C	0	2 timer	0 %	0 %	0 %	1 %
Sivertsen et al. (2020)	CPDA-1	Nei	4 °C	1	35			-13 %	-89 %

LR: Leukocytfiltrert. \*INR viser PT-måling. †APTT viser PTT-måling. ‡Leukocytfiltrert med et filter som fjerner blodplater

### *ATP og 2,3-difosfoglyserat*

Erytrocyttene er avhengige av ATP og 2,3-DPG for å opprettholde funksjonen. Dersom konsentrasjonen av 2,3-DPG går ned, ville de få en større affinitet for oksygen og dermed få redusert evne til å transportere oksygen til vevet.

En studie fra 2019 av Huish et al. fant en 21 % reduksjon i ATP fra dag 1 til 14 ved oppbevaring i CPD ved 4°C. På dag 21 var konsentrasjonen redusert med 97 %. De fant også en stor reduksjon i 2,3-DPG på 71 % på dag 14 og 87 % på dag 21.

Valeri et al. (1982) oppbevarte fullblod i CPDA-1 og fant kun en mindre nedgang i ATP på rundt 7 % fra dag 0 til 21. I CPDA-1 holdt 2,3-DPG seg stabil de første fire dagene og falt så raskt med nesten 100 % mot dag 10. Ved høyere temperaturer faller 2,3-DPG enda raskere, ifølge Hughes et al. (2007). De fant en reduksjon på rundt 90 % etter tre dager ved 19 eller 25 °C. Reduksjonen i ATP var rundt 10 % ved 19 °C og 20 % ved 25 °C.

### ***1.2.2. Erytrocytter***

Mye av reglene for oppbevaring er satt basert på studier av erytrocyttkonsentrat. Dette er erytrocytter lagret i en tilsetningsløsning med saltvann, adenin og mannitol for å best mulig bevare erytrocyttene og deres ATP-syntese. Holdbarheten på produktet er 35 dager.

Lignende forsøk som for fullblod er gjort med erytrocyttkonsentrat. Under lagring ser man lignende endringer i pH, glukose, laktat, kalium, ATP og 2,3-DPG som beskrevet for fullblod. Disse endringene går fortere ved høyere temperaturer, og ved lengre perioder med varmlagring er effekten stor.<sup>45</sup>

Forsøk med kortere svingninger i temperatur har også vært gjennomført. Thomas et al. (2012) undersøkte effekten av tre timer lange temperatursvingninger til 22 °C på dag 3, 8 og 15, etterfulgt av fem timer på dag 29 på erytrocytter i SAGM. Ved prøvetaking på dag 35 fant de ingen effekt på hemolyse, pH, kalium, ATP eller 2,3-DPG.<sup>46</sup> En annen studie utsatte erytrocytter i CPDA-1 for seks timer lange temperatursvingninger på dag 5, 15 eller 30 og fant heller ingen forskjell i hemolyse, glukose, laktat eller kalium. Noe reduksjon i ATP ble sett, med en gjenværende konsentrasjon på 2,92 µmol/g Hb.<sup>47</sup>



### **1.2.3. Blodplater**

Et av hovedargumentene for å bruke fullblod er at det også inneholder blodplater. Blodbanker produserer også blodplatekonsentrat, et produkt der større mengder blodplater (ofte tilsvarende fem-seks blodgivere) lagres i en blanding av plasma fra blodgivere og tilsetningsløsning. Disse tilsetningsløsningene inneholder salter som natriumklorid, kaliumklorid, magnesiumklorid, trinatriumsitrat, mononatriumfosfat og natriumacetat. Hensikten med dette er å gi blodplatene best mulige forutsetninger for å opprettholde kvaliteten.

De samme trendene som i fullblod sees også i blodplatekonsentrat. Under lagring forbrukes glukose slik at konsentrasjonen av dette faller kraftig, med en tilsvarende økning i laktat. Braathen et al. (2019) fant god funksjon målt ved tromboelastografi helt frem til dag 21, med maksimal klottstyrke (MA) på 60 mm.<sup>48</sup> Det ble også sett god funksjon ved aggregometri. Blodplatekonsentratene oppbevares vanligvis i konstant bevegelse ved 22 °C. Man har i nyere tid også begynt å lagre de kaldt ved 4 °C<sup>49</sup>, da dette øker den potensielle lagringstiden og fører til en delvis aktivering som kan gjøre de mer gunstig for behandling av blødning.<sup>50-52</sup> Nyere studier viser at lagring inntil 21 dager med akseptabel kvalitet kan være mulig.<sup>48,53</sup>

McGill presenterte i 1978 en ny måte å lagre blodplatekonsentrat på der man vekslet mellom varm- og kaldlagring for å best vedlikeholde kvaliteten og in vivo overlevelse av blodplatene.<sup>54,55</sup> Forskning på dette har blitt gjenopptatt i nyere tid av en amerikansk forskningsgruppe. Metoden innebærer å veksle mellom lagring ved 4 °C i 11-12 timer og 37 °C i 30-60 minutter.<sup>56-58</sup> Blodplater gjennomgår en delvis formendring og aktivering når de lagres kaldt, og denne typen veksling mellom temperatur skal hindre disse endringene fra å bli irreversible. Vostal et al. (2018) fant at denne behandlingen ga bedre aggregometrirespons ved stimulering med en kombinasjon av ADP og kollagen.<sup>58</sup>

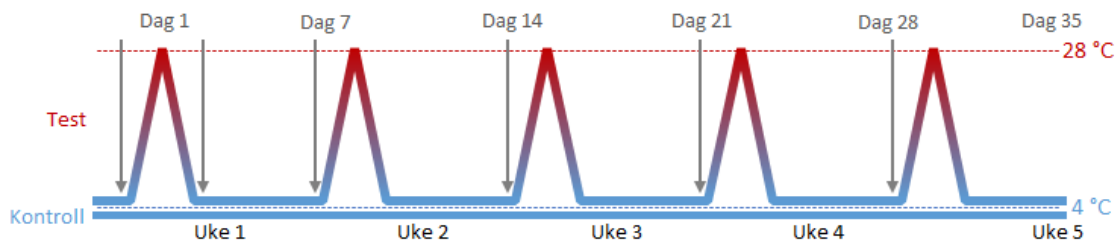
### **1.2.4. Plasma**

Plasma inneholder de samme koagulasjonsfaktorer som fullblod og viser den samme trenden med stabil fibrinogen over tid og et stort fall i faktor VIII i løpet av kort tid.<sup>59,60</sup> For å bedre bevare labile faktorer som faktor VIII lagres plasma ofte fryst.

## 2. Hensikt og problemstilling

Studien ble gjennomført å undersøke effekten av gjentatte kortvarige temperaturendringer på kvaliteten til kaldlagret CPDA-1 fullblod over 35 dager. Hovedhensikten var å finne ut om det var in vitro indikasjoner på at blodet 1) ikke var trygt å transfundere til pasienter, og/eller 2) ikke hadde gjenværende hemostatisk funksjon.

Som intervensjon i testgruppen ble blod lagret kaldt ved 4 °C og eksponert for 28 °C i fire timer én gang i uken. Dette ble gjentatt over totalt fem uker. Kontrollgruppen var blod lagret kontinuerlig ved 4 °C (Figur 2.1).



Figur 2.1. Oppsett for temperatursvingninger i studien. Piler viser prøvetidspunkt. Stiplede linjer viser temperatur for test- og kontrollgruppen

Utfallsmålene var om denne intervensjonen førte til

- økt grad av hemolyse,
- forskjell i hemoglobininnhold, hematokrit og mengde hvite blodceller
- økt reduksjon i pH,
- økt utslipp av kalium,
- økt metabolisme målt ved glukose- og laktatkonsentrasjon,
- mindre gjenværende energikilde i form av glukose,
- økt lagringsskade basert på en helhetsvurdering av punkt a-g,
- redusert hemostatisk funksjon målt ved viskoelastisk hemostatisk analyse,
- redusert konsentrasjon av koagulasjonsfaktorene fibrinogen og faktor VIII,
- redusert koagulasjon målt med INR og APTT, og/eller
- forskjell i antall positive bakterieprøver.

### **3. Metode**

#### **3.1. Introduksjon**

Oppgaven var en prospektiv laboratoriestudie gjennomført ved avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin, Helse Bergen HF. Oppgaven var en delstudie i et større prosjekt om kvalitet på blodprodukter gitt til pasienter ved blødning (Vedlegg II).

Noen analyser er utført i samarbeid med avdeling for medisinsk biokjemi og farmakologi. Samarbeidsavtale er lagt ved som Vedlegg III. Artikkelen var planlagt innsendt til tidsskriftet *Transfusion* i kategorien «original research» og er skrevet etter deres retningslinjer (Vedlegg IV). Laboratorieprotokollen for hvordan studien ble gjennomført er lagt ved som Vedlegg V.

#### **3.2. Etikk**

Studien innehar godkjenning fra regional etisk komité (ref.nr. 2017/157, Vedlegg VI). Prosjektet ble også vurdert av personvernombudet i Helse Bergen HF. Det overordnede prosjektet studien inngår i hadde sin oppstart før personvernforordningen (2016/679) tredd i kraft, men det ble likevel utført egnevaluering av personvernrisiko (vedlegg VII). Alle deltakere signerte informert samtykke før inklusjon (Vedlegg VIII). Forsknings- og databehandlingsansvarlig var Helse Bergen HF. Innsamlet data ble lagret på et sikkert, tilgangsstyrt lagringsområde administrert av Helse Vest IKT.

#### **3.3. Forundersøkelse av temperaturendring i blodpose**

Før oppstart av hovedstudien gjorde jeg undersøkelser for å se hvordan temperaturen i blodposen ville endre seg når det ble flyttet fra 4 til 28°C og tilbake. Dette ble gjort ved å plassere en kalibrert temperatursensor (FT006/30/XBT002, ICU Scandinavia, Täby, Sverige) ble plassert i midten av blodposen og temperaturen målt hvert tredje minutt. Hensikten med dette var å undersøke hva den faktiske temperaturen under lagring og prøvetaking ville være for sammenligning med tidligere litteratur.

### 3.4. Tapping av blod

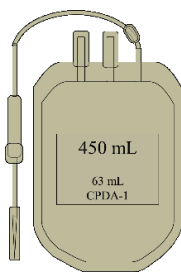
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisins vanlige prosedyrer for tapping av blodgivere ble fulgt. Dette innebærer at givere fylte ut spørreskjema for blodgivere, gjennomgikk intervju, tok blodprøver og ble tappet av kvalifisert personale ansatt ved avdelingen.



Figur 3.1. Merking av blodpose ved tapping

Blodgiverne var godkjente blodgivere med blodtype O

Rh(D) positiv som var frisk på tappendagen og ikke hadde inntatt platehemmende medikamenter eller naturpreparater.



Figur 3.2. Tappesett

450 ml blod ble tappet på enkeltposer inneholdende CPDA-1 tilsetningsløsning (Figur 2) (PB-1CD456M5S, Terumo BCT, Lakewood, CO, USA). Disse posene er laget for å transfundere direkte fra posen uten videre behandling. Etter at tapping er fullført sveises slange med nål av med en håndsveis og produktet er klart for bruk. Posene ble merket med informasjon om studien som vist i Figur 3.1 for å sikre at de ble håndtert

i henhold til studieprotokollen. Informasjon om tappetid, volum og utstyr brukt ble notert på arbeidsark (Vedlegg IX).

### 3.5. Oppbevaring og temperatursvingning



Figur 3.3. Inkubator brukt til temperatursvingning

Studien skulle simulere en situasjon der blod blir tatt ut fra overvåket lagring ved 4 °C og utsatt for temperaturer opptil 28 °C, for deretter å bli tatt tilbake i kjøleskap.

For å sikre at dette ble gjort under kontrollerte forhold, ble det brukt et validert, temperaturovervåket blodbankkjøleskap (iHB125, Helmer Scientific, IN, USA) og en temperaturovervåket inkubator (MIR-154, Sanyo Electric Co., Ltd, Osaka, Japan)(Figur 3.3).

Dagen etter tapping ble det gjort en grunnlinjeprøvetaking for å se hvordan det tappede produktet var før noe videre behandling. Blodet hadde da lagt i kjøleskap i cirka et døgn.

Etter prøvetaking ble blodet flyttet til inkubator og varmet opp ved 28 °C i fire timer. Det ble så lagt tilbake i kjøleskap og ny prøve tatt etter ytterligere fire timer. Hensikten med denne delen var å se hvilken effekt den første temperatursvingningen hadde umiddelbart etterpå. For de resterende temperatursvingningene ble prøven tatt én uke etter.

Informasjon om når posene ble tatt ut og lagt tilbake ble notert på arbeidsark (Vedlegg X).

### 3.6. Prøvetaking

Som illustrert i Figur 3.4 vil fullblod oppbevart i ro over tid skille seg. Det er ikke vist at dette fører til reduksjon i kvalitet sammenlignet med konstant bevegelse.<sup>28,32</sup> Det krever likevel nøye blanding før prøvetaking for å gi korrekte analyseresultat.



Figur 3.4. Blodpose som har vært lagret stående

Ved hvert prøvetakingstidspunkt ble posen tatt ut av kjøleskap og blandet godt med roterende bevegelser. Posen ble så visuelt inspisert for tegn til koagler, utfelling eller aggregater.

Alt prøvetakingsutstyr ble gjort klart og merket før posen ble tatt ut av kjøleskap. For å sikre at et representativt volum var igjen i posen på dag 35 tilstrebet jeg å ta ut så lite prøveprøvevolum som mulig. Det ble tatt ut maksimalt 125 ml, slik at resterende volum på dag 35 var minst 388 ml.

Prøvematerialet ble tatt fra posen ved å koble på en 150 ml pose (BB\*T015CM, Terumo BCT, Lakewood, CO, USA). Dette ble gjort ved hjelp av en sterilisveis (Figur 3.5), en maskin som kobler sammen to plastslanger sterilt (TSCD-II, Terumo BCT, Lakewood, CO, USA). Dette gjør at hele prosessen er lukket, og man reduserer dermed sannsynligheten for kontaminering av produktet.



Figur 3.5. Sterilisveis som brukes til å koble sammen plastslanger



Figur 3.6. Prøvetakingsutstyr med prøvepose, prøverør, alikvoteringsrør og blodkulturflasker

Oppsettet for prøvetaking er vist i Figur 3.6. Ønsket prøvevolum ble overført fra blodposen til prøveposen ved hjelp av en vekt.

Det ble tatt cirka 30 ml ved første og siste prøvetidspunkt, og 15 ml ved de resterende.

For prøvetaking til bakterieundersøkelse ble det sveiset på en prøvetakingshylse på prøveposen og denne brukt til å fylle en aerob (FA Plus 410851) og aerob (FN Plus 410852, bioMérieux SA, Marcy-l'Etoile, Frankrike) blodkulturflaske. Slangen på prøveposen ble så klippet over og blod helt over i de andre prøveglassene.

Prøve til hemostatisk funksjon og sentrifugering til plasma ble tatt på rør uten tilsetning (Vacuette Z No Additive, 454241) og hematologi på K2EDTA-rør (Vacuette K2E K2EDTA, 454246, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Østerrike).

Prøvetaking til pH ble gjort ved hjelp av 1 ml sprøyte (SS+01T1, Terumo Europe NV, Leuven, Belgia). Etter sentrifugering ble plasma overført til mikrorør (SafeSeal 72.695.500/72.664, Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrech, Tyskland) for analyse.

Lotnummer på alt forbruksmateriale samt registreringsnummer på teknisk utstyr ble notert på arbeidsark for å kunne spore tilbake dersom det skulle oppstå feil (Vedlegg X). Eventuelle avvik ble ført på eget avviksskjema.

### **3.7. Laboratorieanalyser**

#### **3.7.1. Hematologi**

Hematologianalyser ble utført på rutineinstrument som også benyttes til kvalitetskontroll av blodprodukter (Cell-Dyn Sapphire, Abbott Diagnostics, Abbott Park, Illinois, USA). Instrumentet har to ulike metoder for å telle blodplater, en basert på impedans og en optisk. Den optiske kanalen benyttes vanligvis til analyse av pasientprøver. Basert på internt arbeid gjort er det kommet frem til at impedansmålingene stemmer best overens med flowcytometrisk telling på blodprodukter.

Det er også vist at det ved lagring i CPDA-1 over tid kan oppstå mikroaggregater av blodplater. Det er mulig at disse løses opp når blodet transfunderes til pasienten. For å få en mer korrekt telling av blodplater har man valgt å tilsette K<sub>2</sub>EDTA til prøvemateriale.<sup>35</sup>

### 3.7.2. Hemolyse

Lagringsskadene på erytrocyttene vil etter hvert nå et nivå der membranen sprekker og det intracellulære hemoglobinet slippet ut i blodet. Dette kvantiteres ved hemolyse, som er prosentandel av erytrocyttmassen som er blitt ødelagt, justert for hematokrit:

$$\% \text{ hemolyse} = \frac{\text{Hemoglobin i plasma} \times (100 - \text{hematokrit})}{\text{Total hemoglobin i produktet}}$$

Blodforskriften og de europeiske retningslinjene sier at hemolyse skal være «under 0,8 % av erytrocyttmassen ved utløpet av holdbarhetsperioden» i minst 90 % av stikkprøver tatt med en frekvens bestemt ved statistisk prosesskontroll<sup>1</sup>.

Hemoglobin i plasma ble målt ved hjelp av et automatisert fotometer med engangskyvetter (HemoCue Plasma/Low Hb System, Hemocue, Radiometer Medical, Brønshøj, Denmark). Instrumentet benytter en modifisert azidmethemoglobinreaksjon og måler transmisjon ved to bølgelengder for å korrigere for turbiditet.<sup>61</sup> Da analysen er optisk vil den påvirkes av eventuell lipemi i prøvematerialet. Metoden er standard ved produksjon av blodprodukter ved avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin, Helse Bergen HF.



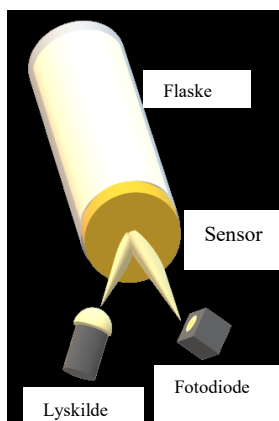
Figur 3.7. HemoCue fotometer brukt til måling av hemoglobin i plasma

### 3.7.3. Bakterievekst



Figur 3.8. BacT/ALERT inkubatorokammer

Potensiell bakterievekst ble overvåket ved hjelp av det automatiserte deteksjonssystemet BacT/ALERT 3D 60 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Systemet oppdager bakterievekst indirekte. Prøvematerialet tilsettes til en aerob og/eller anaerob blodkulturflaske som inneholder vekstmedium og en kolorimetrisk sensor i bunnen. Flasken plasseres så i en spesiell inkubator ved 36 °C under jevnlig agitering i syv dager (Figur 3.8).



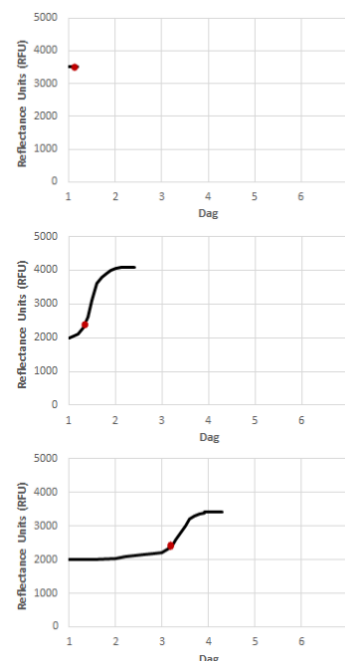
Figur 3.9. BacT/ALERT deteksjonsprinsipp

Inkubatoren har en lyskilde som skinner lys mot flaskens sensor hvert tiende minutt. Ved hjelp av en fotodiode måler den hvor mye lys som reflekteres av sensoren (Figur 3.).

Dersom det er oppvekst av bakterier som produserer CO<sub>2</sub> vil pH i sensoren gå ned og føre til at den endrer farge. Denne fargeendringen fører til en endring i mengden lys som reflekteres (*reflectance units, RFU*).<sup>62</sup>

Systemet har tre algoritmer for å vurdere oppvekst. Den første har som mål å oppdage flasker som allerede har hatt vekst før de ble satt inn i inkubatoren. Den gjør dette ved å sammenligne RFU med en terskelverdi over de to første timene. Dersom målingene overskrider terskelen, vurderes prøven som positiv. Den andre metoden er basert på hastighet i RFU-endring. Prøven betraktes som positiv dersom det sees en stor endring i RFU over kort tid. Den siste metoden fanger opp vekst ved å se på en mer gradvis økning i RFU over tid.<sup>63</sup>

Fordi systemet er et indirekte mål ble prøver som ga utslag sendt videre til et mikrobiologisk laboratorium for bekreftelse og identifisering av den spesifikke bakterien.



Figur 3.10. Ulike typer BacT/ALERT vekstkurver

### 3.7.4. Viskoelastisk hemostatisk funksjon



Figur 3.11. TEG 5000 tromboelastograf

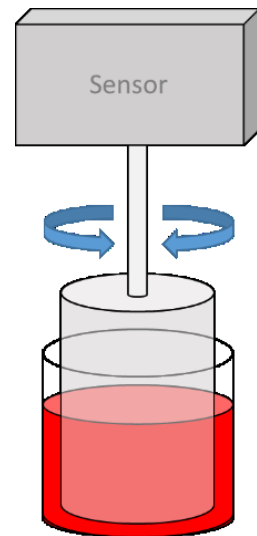
Tromboelastografi er en veletablert viskoelastisk hemostatisk analyse som benyttes for å vurdere det helhetlige hemostatiske bildet i en pasient. Metoden ble først beskrevet av Hellmut Hartert i 1948 som trombusstressografi<sup>64</sup> og senere videreutviklet som tromboelastografi.

Metoden er i rutinebruk ved flere norske sykehus. I denne oppgaven har jeg valgt å benytte TEG 5000 (Haemonetics, Boston, Massachusetts, USA).



Analysen baserer seg på blodets viskoelastiske egenskaper når det blir tilsatt en aktivator som fører til at klotting. Ved å tilsette kalsiumklorid og kaolin som aktivator får man en aktivering av koagulasjonskaskaden. Sluttproduktet av koagulasjonskaskaden er trombin som aktiverer blodplatene og fibrin som danner et fibrinnettverk rundt cellene.

Instrumentet benytter små engangskvyetter med blod som varmes opp til kroppstemperatur. En plastpinne festes til en metallstav på instrumentet og settes oppi blodet. Denne staven er koblet til en spenningsstråd som går gjennom en elektromagnetisk transduser. Instrumentet roterer kvyetten kontinuerlig sakte frem og tilbake (Figur 3.12).

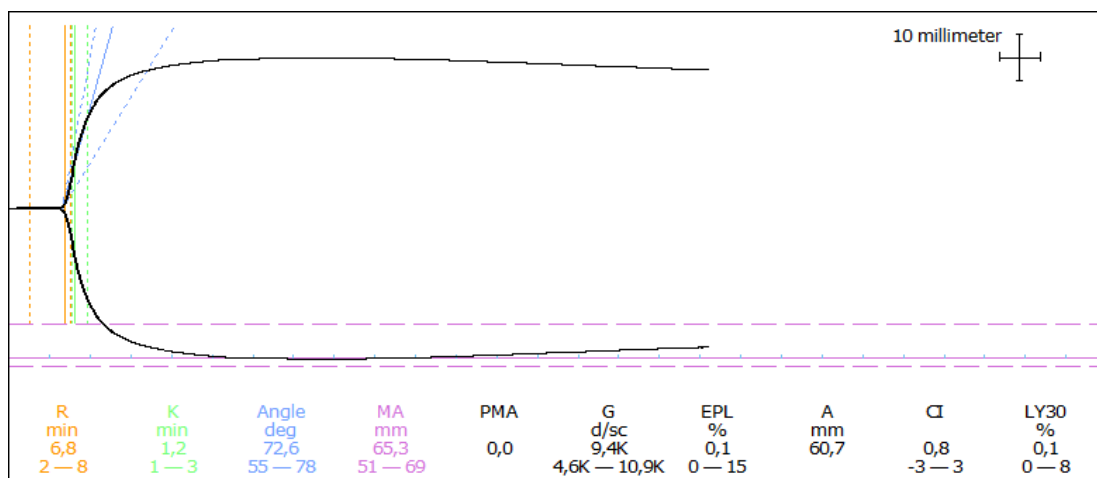


Figur 3.12. Måleprinsipp tromboelastografi

Etter hvert som blodet klotter vil det bli mer og mer elastisk og dermed utøve mer spenning på pinnen. Dette oversettes til en kurve der bredden er proporsjonal med styrken på klotten. Denne kurven benyttes så til å beregne ulike parametere som beskriver hemostasen.

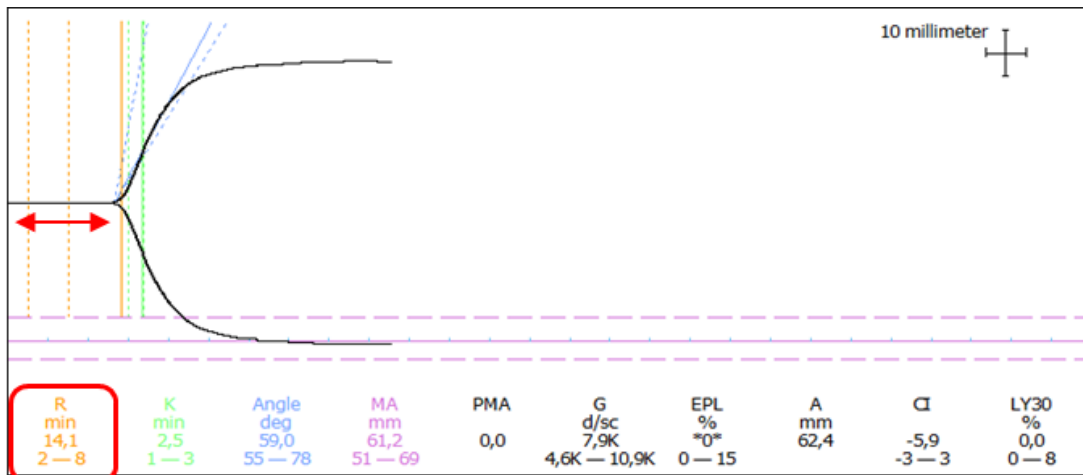
Analysen blir ikke vanligvis brukt til kvalitetskontroll av blodprodukter og det er ikke etablert normalområder for slike. Analysen er mye dog brukt på blodprodukter i forskning og det finnes en rekke publikasjoner på dette som beskrevet i kapittel 1.2.1. Man undersøker vanligvis da endringen i målingene over tid, ikke bare enkeltmålinger.

Analyseresultat består av en kombinasjon av kurve og ulike tallverdier (Figur 3.13).



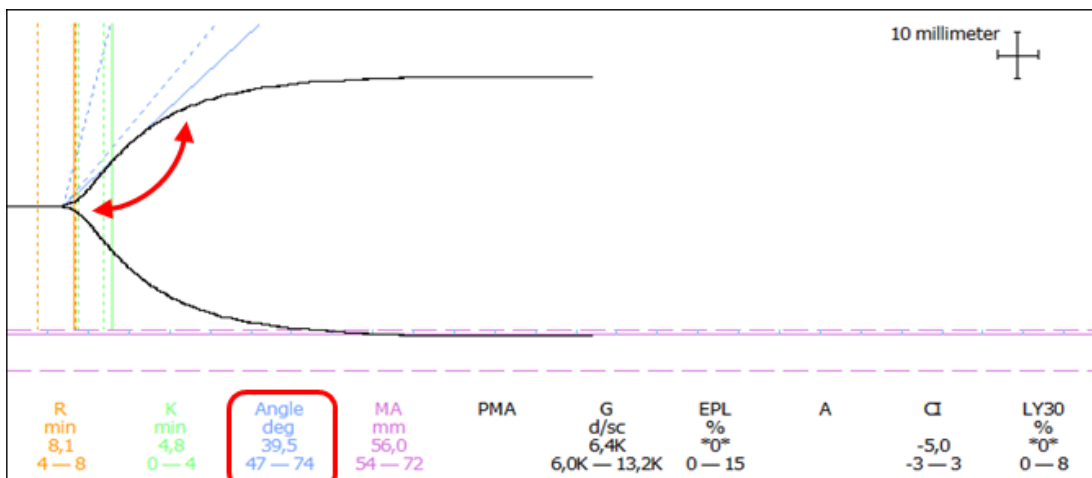
Figur 3.13. Eksempel på tromboelastografiresultat for frisk person

Tallverdiene er avledet fra kurven og brukes for å vurdere prøven opp mot normalområder. Selve kurven brukes for å gi en rask visuell presentasjon av resultatet. Punktene der de ulike målingene er tatt vises i heltrukne fargede linjer, mens de stiplede linjene viser normalområdene. Kurven består av to deler, en koagulasjonsfase der klotten bygges opp og en fibrinolysefase der den brytes ned. Det er viktig at alle parametere i analysen vurderes sammen.



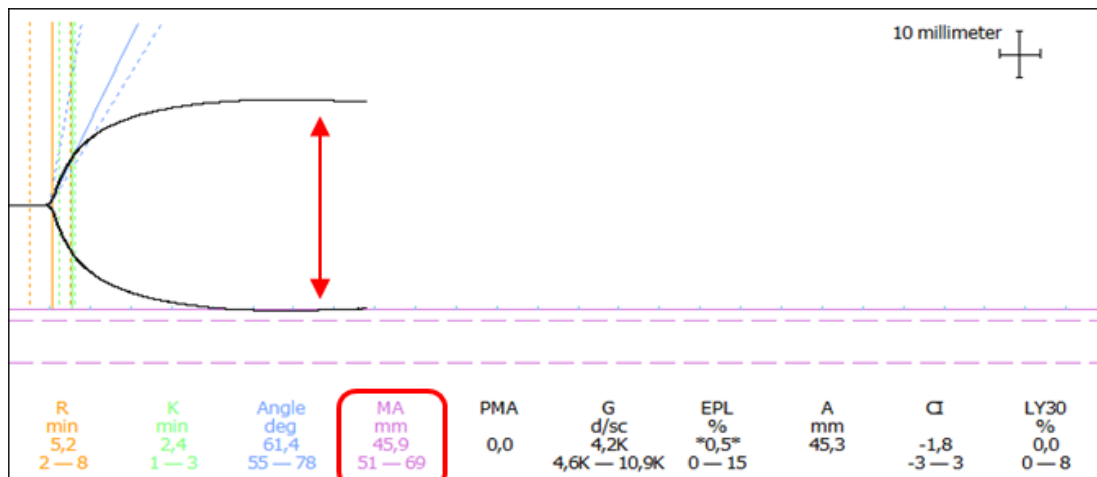
Figur 3.14. Eksempel på tromboelastografiresultat som viser faktormangel

Den første delen av kurven viser den enzymatiske delen av koagulasjonen, tallfestet ved reaksjonstid, R. Denne beskriver hvor mange minutter det tar fra aktivator er tilsatt til første dannelse av fibrin. Dersom blodet har mangel på plasmafaktorer vil dette vise seg som en forlengelse av R-tiden (Figur 3.14).



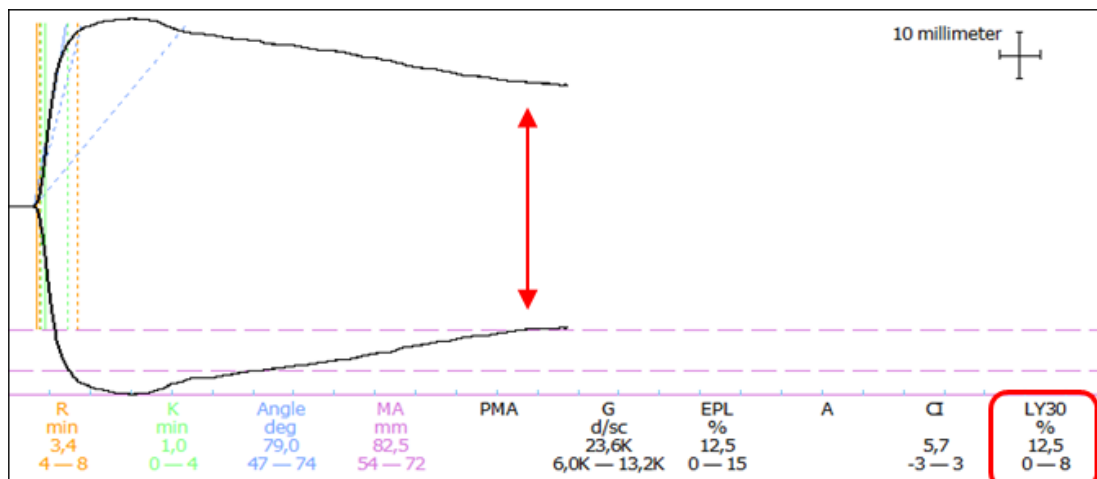
Figur 3.15. Eksempel på tromboelastografiresultat som viser fibrinogenmangel

Klottedkinetikken beskrives med K og  $\alpha$ -vinkel (angle). Førstnevnte viser hvor mange minutter det før klotten når en bestemt styrke på 20 mm. Dette gir informasjon om den initiale hastigheten på klottedannelsen.  $\alpha$ -vinkel viser hastigheten på dannelsen av klotten (kryssbinding og fibrindannelse). I Figur 3.15 vises et typisk bilde på fibrinogenmangel.



Figur 3.16. Eksempel på tromboelastografiresultat som viser blodplatemangel

Den totale styrken på klotten representeres ved maksimal amplitude (MA) og består av cirka 80 % blodplater og 20 % fibrinogen. Dersom det er mangel på blodplater eller disse ikke fungerer, vil man forvente en reduksjon i MA som vist i eksempelet i Figur 3.16.



Figur 3.17. Eksempel på tromboelastografiresultat som viser fibrinolyse

LY30 gir prosentvis reduksjon i klottstyrke 30 minutter etter MA ble oppnådd. Figur 3.17 viser hvordan sekundær fibrinolyse i en pasientprøve kan se ut. Det sees vanligvis ikke fibrinolyse i blodprodukter.

### **3.7.5. Koagulasjon**

Den viskoelastiske hemostatiske analysen ser på blodets koagulasjon i sin helhet. For å få et mer nyansert bilde av plasmafraksjonen av fullblodet har jeg i denne oppgaven valgt å supplere med de tradisjonelle koagulasjonsanalysene protrombintid (omregnet til internasjonal normalisert ratio, PT-INR) som tester koagulasjonsfaktor I, II, V, VII og X, og aktivert partiell tromboplastintid (APTT) som tester II, V, VIII, IX, X, XI, XII og fibrinogen, samt konsentrasjonene av fibrinogen og faktor VIII.

### **3.7.6. Klinisk kjemi**

pH ble målt ved hjelp av et blodgassinstrument som vanligvis brukes til å måle pasientprøver (ABL825 FLEX, Radiometer Medical, Brønshøj, Denmark). pH-verdien instrumentet oppgir er ved 37 °C.

### 3.8. Statistiske beregninger

Valg av statiske metoder er gjennomgått med biostatistikere ved kompetansesenter for klinisk forskning, Helse Bergen HF. Alle statistiske beregninger er utført ved hjelp av analyseprogrammet R og utvidelsespakken NLME.

Før oppstart av studien ble posene trukket ut til enten test- eller kontrollgruppen med følgende R-skript:

```
set.seed(NULL)
randomisering = sample(c(rep(1, 8), rep(2, 8)), 16, replace = F)
factor(randomisering, labels = c("Test", "Control"))
```

En lineær blandet modell (linear mixed effect, LME) ble benyttet som hovedanalyse i oppgaven. Den blandete modellen tar hensyn til både faste og tilfeldige effekter. De faste effektene er de jeg forventet at ville påvirke utfallsmålene. I denne oppgaven var dette lagringstid og temperatursvingningene testgruppen ble utsatt for. Jeg ønsket ikke at tilfeldige forskjeller mellom de ulike blodposene skulle påvirke analysen.

I artikkelen oppgir jeg flere ulike p-verdier for LME-analysen. Den første,  $p_{\text{time}}$ , viser om endringen fra prøven før første temperatursvingning på dag 1 til hvert enkelt etterfølgende prøvetidspunkt er statistisk signifikant i kontrollgruppen. Den andre,  $p_{\text{test}}$ , viser om endringen fra prøven før første temperatursvingning på dag 1 til hvert enkelt etterfølgende prøvetidspunkt i testgruppen er statistisk signifikant forskjellig fra kontrollgruppen. Man ser altså på  $p_{\text{time}}$  for å se om kontrollgruppen endrer seg over tid, og  $p_{\text{test}}$  for å se om testgruppen endrer seg annerledes enn kontrollgruppen. I figurene oppgis kun  $p_{\text{test}}$ .

LME er utført som følger:

```
lme(variabel~gruppe*tidspunkt, random=~1|posenummer,
    datasett, na.action="na.omit", method="ML")
```

I tillegg ble det utført en t-test av gjennomsnittene i de to gruppene på hvert prøvetidspunkt. Det er her brukt Welchs t-test, en variant av t-test som ikke forutsetter lik varians i gruppene. P-verdier for dette er oppgitt som  $p_{\text{mean}}$ .

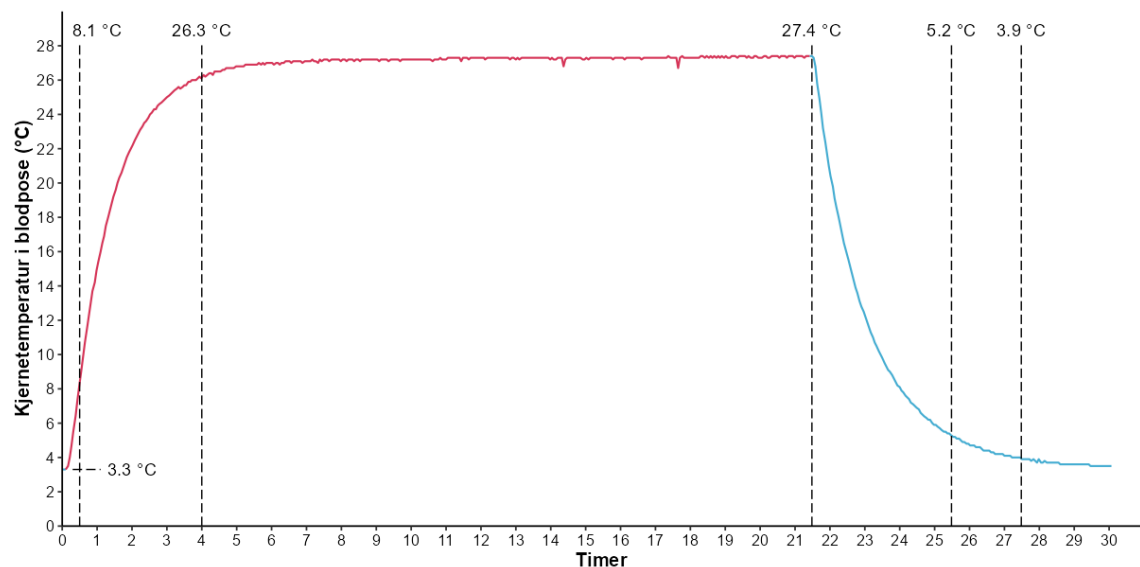
```
t.test(datasett.testgruppe$variabel,
    datasett.kontrollgruppe$variabel)
```

## 4. RESULTATER

I dette kapitlet utdyper jeg funnene som er beskrevet i artikkelen. En utfyllende oversikt over alle resultater kan sees i vedlegg X. Oppsummerte resultater for alle analyser er vist i «supplemental table» i artikkelen.

### 4.1. Forundersøkelse av temperatur i blodposer

Når blodposen ble tatt ut av kjøleskap og flyttet over i inkubator var kjernetemperaturen inne i posen 3.3 °C. Etter 30 minutter var temperaturen steget til 8.1 °C. Når det var gått fire timer var temperaturen 26.3 °C. Posen ble deretter liggende i inkubatoren over natten og temperaturen stabiliserte seg til 27.4 °C. Posen ble så lagt tilbake i kjøleskap, og nådde 5.2 °C etter fire timer og 3.9 °C etter seks timer.

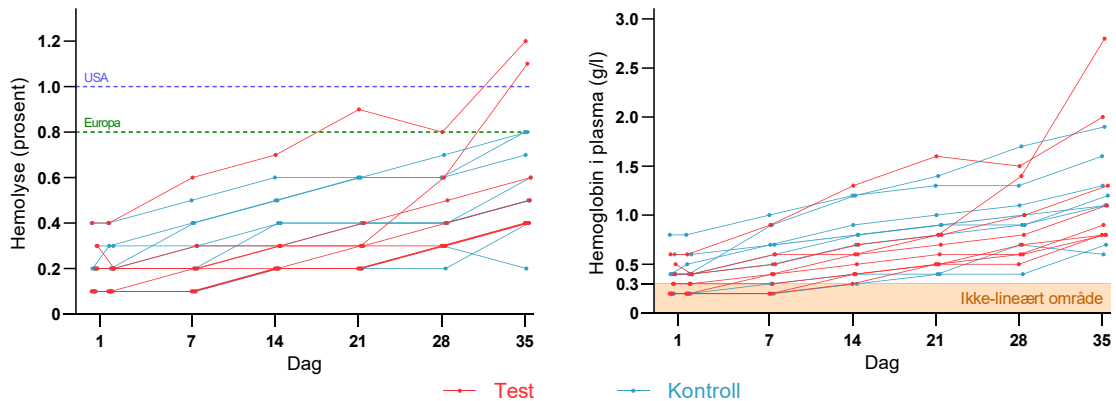


Figur 4.1. Kjernetemperatur i CPDA-1 blodpose over tid. Vertikale linjer viser temperatur 30 minutter og 4 timer etter posen ble tatt ut av kjøleskap, samt ved retur til kjøleskap, 4 timer etter retur til kjøleskap og 6 timer etter retur til kjøleskap

Disse funnene betyr at blodposer som utsettes for intervensjonen i denne studien vil være ca. 8 °C når de overskrider grensen på 30 minutter for å ta tilbake til blodbankbeholdning, og rundt 26 °C når grensen for transfusjon går ved fire timer.

## 4.2. Hemolyse

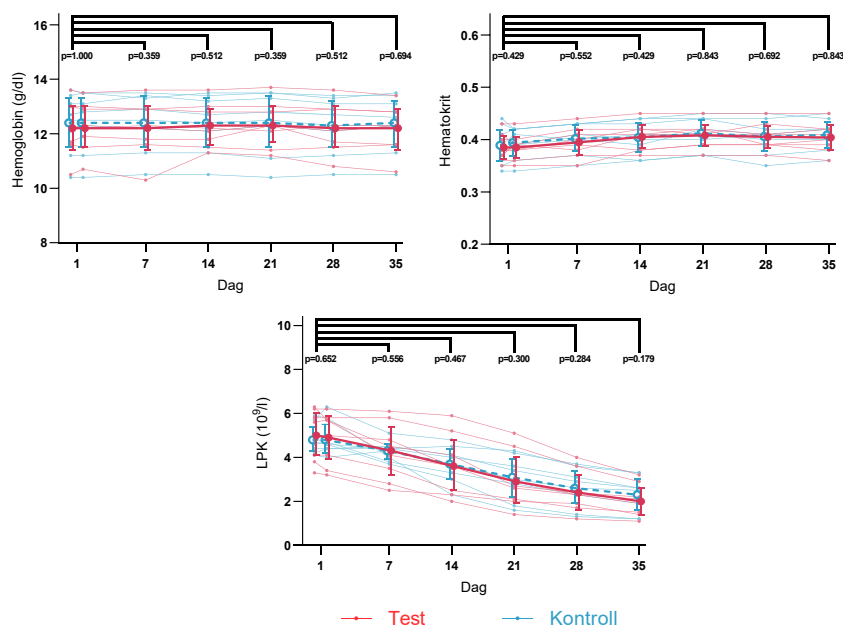
Det var ingen statistisk signifikant forskjell i gjennomsnittlig hemolyse mellom test- og kontrollgruppen. Hemolyse er et beregnet parameter der hemoglobin i plasma er en av variablene. Figure 4.2 viser hemolysenivå og hemoglobinkonsentrasjon i de enkelte posene. Instrumentet som ble brukt har et lineært måleområde på 0,3 til 30 g/l. Målinger under dette må tolkes med forsiktighet.<sup>61</sup> 13 av målingene av hemoglobin var under 0,3 g/l, men verdier i dette området vil ikke føre til hemolyse på 0,8 % eller mer.



Figur 4.2. Hemolyse og hemoglobin i plasma. Linjer viser individuelle blodposer for test- og kontrollgruppen. Stiplede linjer viser kvalitetskrav ifølge europeiske og amerikanske retningslinjer.

## 4.3. Hematologi

Som vist i Figur 4.3 var det ingen forskjell i hemoglobin, hematokrit eller LPK mellom test- og kontrollgruppen. Den store variasjonen i målingene skyldes at det er stor donorvariasjon i disse parameterne.



Figur 4.3. Gjennomsnittlig hemoglobin, hematokrit og LPK med 95 % konfidensintervall. P-verdier viser signifikans for forskjell i endring fra dag 1 til hvert prøvetidspunkt sammenlignet med kontrollgruppen (lineær blandet modell, R versjon 4.1.1 med NLME versjon 3.1-152, The R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria). Tynne linjer viser individuelle blodposer for test- og kontrollgruppen

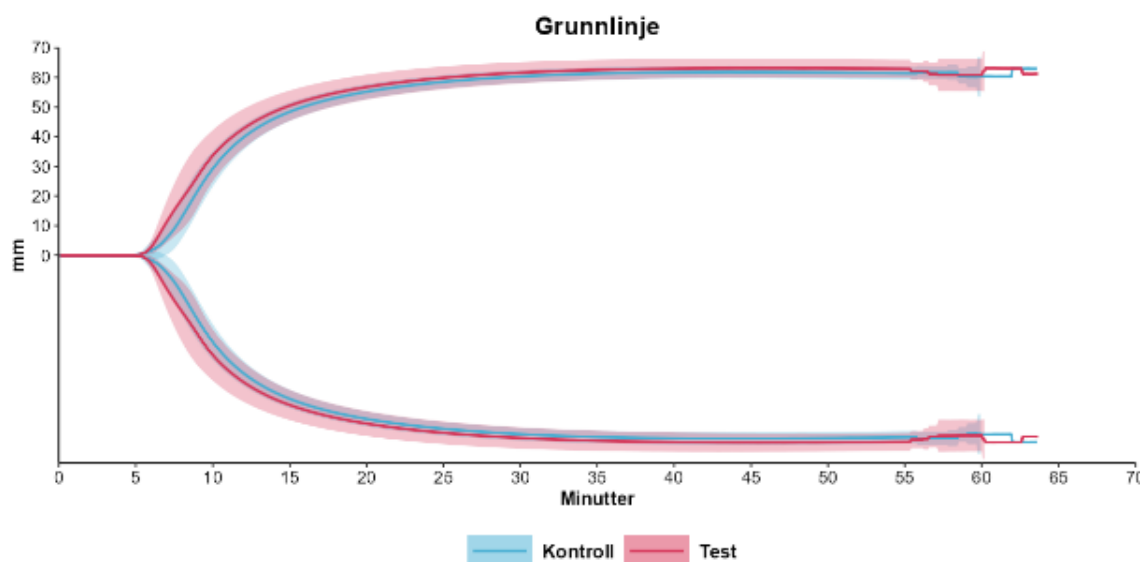
#### 4.4. Metabolisme

Målemetoden brukt til kalium har et øvre måleområde på 25 mmol/l. Verdier over dette ble regnet som 25 mmol/l i statistiske beregninger.

#### 4.5. Viskoelastisk hemostatisk funksjon

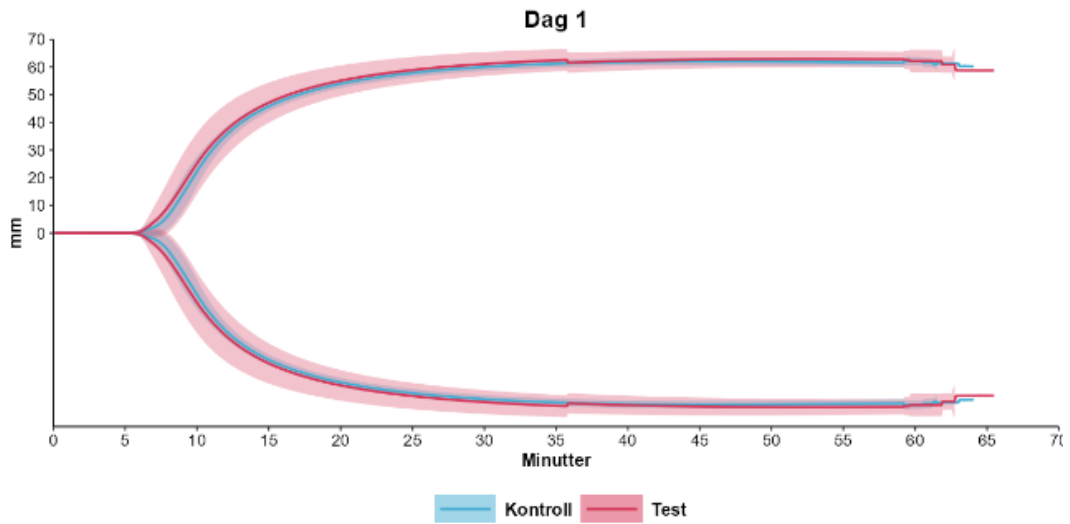
Hovedkonklusjonen var at tromboelastografi viste en reduksjon i klotthastighet (K/angle) og klottstyrke (MA) over tid, og at denne var størst i kontrollgruppen.

Gjennomsnittlig kurve for hvert prøvetidspunkt er vist på de neste sidene (Figur 4.4 til 4.10). På dag 35 er funksjonen i testgruppen statistisk signifikant bedre enn kontrollgruppen.

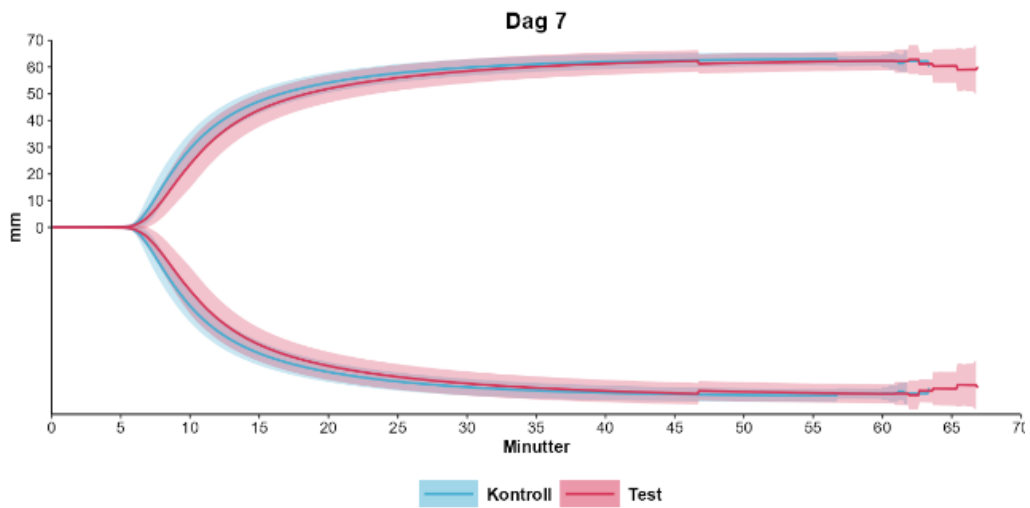


Figur 4.4. Gjennomsnittlig tromboelastografiske kurver for test- og kontrollgruppen ved grunnlinjemåling på dag 1. Linjer viser gjennomsnitt av alle blodposere på den spesifiserte dagen for de to studiegruppene. Skravert område viser 95 % konfidensintervall.

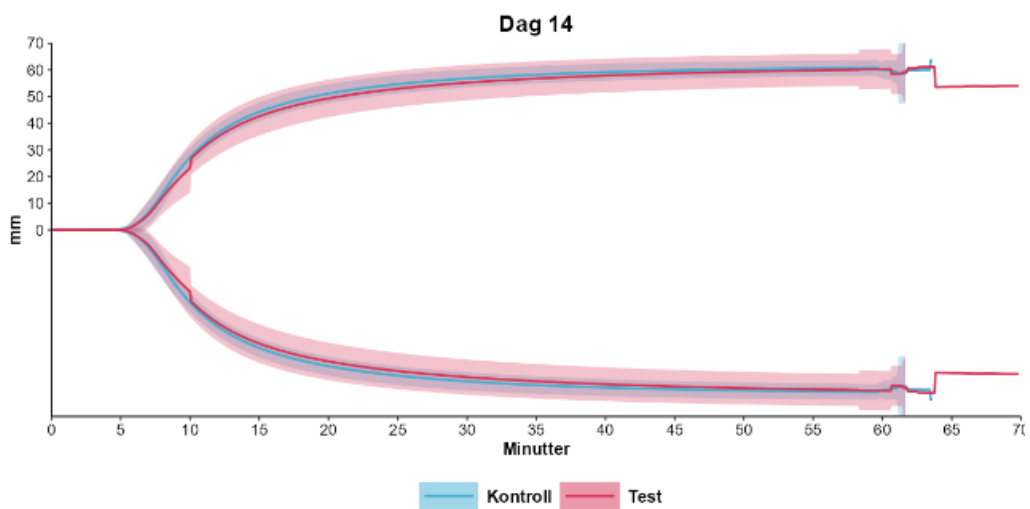




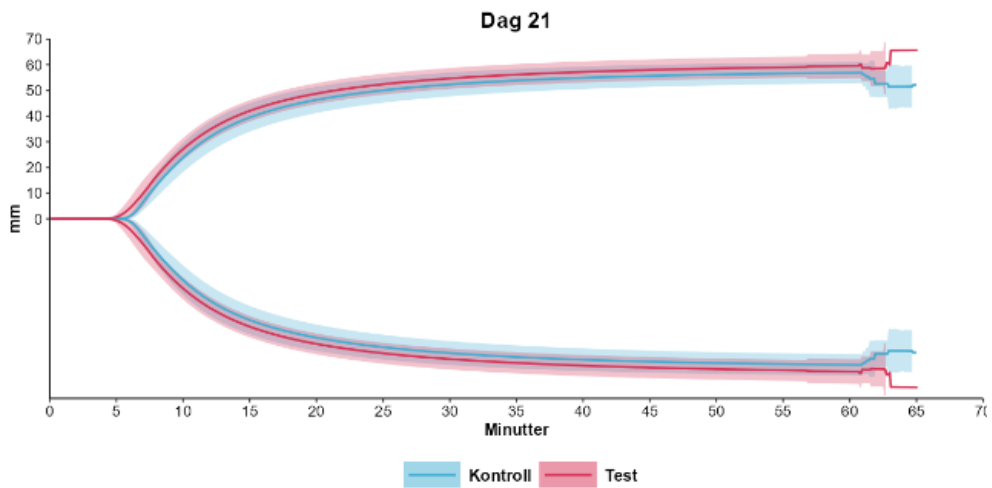
Figur 4.5. Gjennomsnittlig tromboelastografikurve for test- og kontrollgruppen etter temperatursvingning på dag 1. Linjer viser gjennomsnitt av alle blodposer på den spesifiserte dagen for de to studiegruppene. Skravert område viser 95 % konfidensintervall.



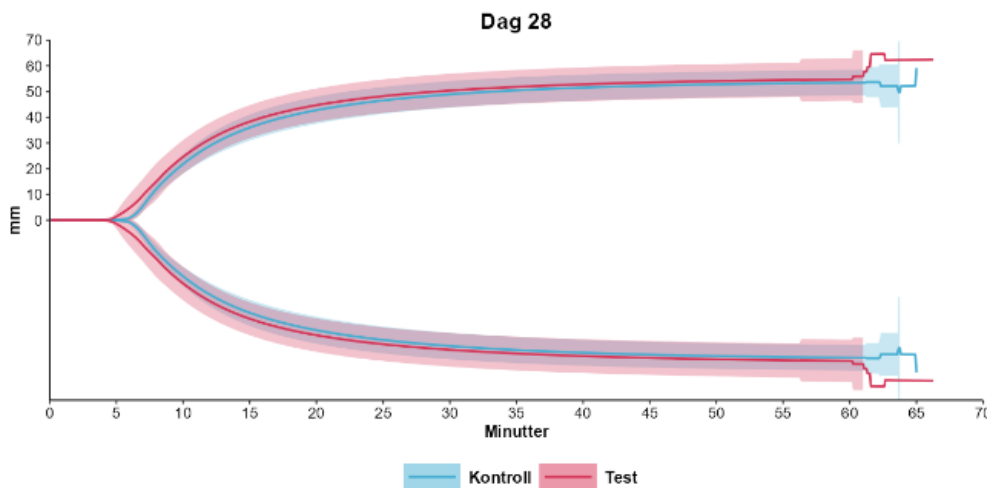
Figur 4.6. Gjennomsnittlig tromboelastografikurve for test- og kontrollgruppen ved grunnlinjemåling på dag 7. Linjer viser gjennomsnitt av alle blodposer på den spesifiserte dagen for de to studiegruppene. Skravert område viser 95 % konfidensintervall.



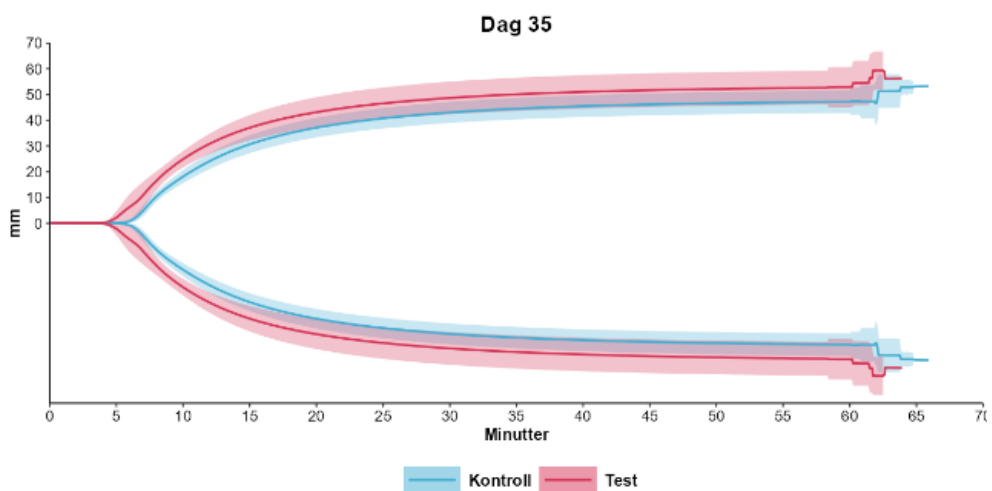
Figur 4.7. Gjennomsnittlig tromboelastografikurve for test- og kontrollgruppen ved grunnlinjemåling på dag 14. Linjer viser gjennomsnitt av alle blodposer på den spesifiserte dagen for de to studiegruppene. Skravert område viser 95 % konfidensintervall.



Figur 4.8. Gjennomsnittlig tromboelastografikurve for test- og kontrollgruppen ved grunnlinjemåling på dag 21. Linjer viser gjennomsnitt av alle blodposer på den spesifiserte dagen for de to studiegruppene. Skravert område viser 95 % konfidensintervall.



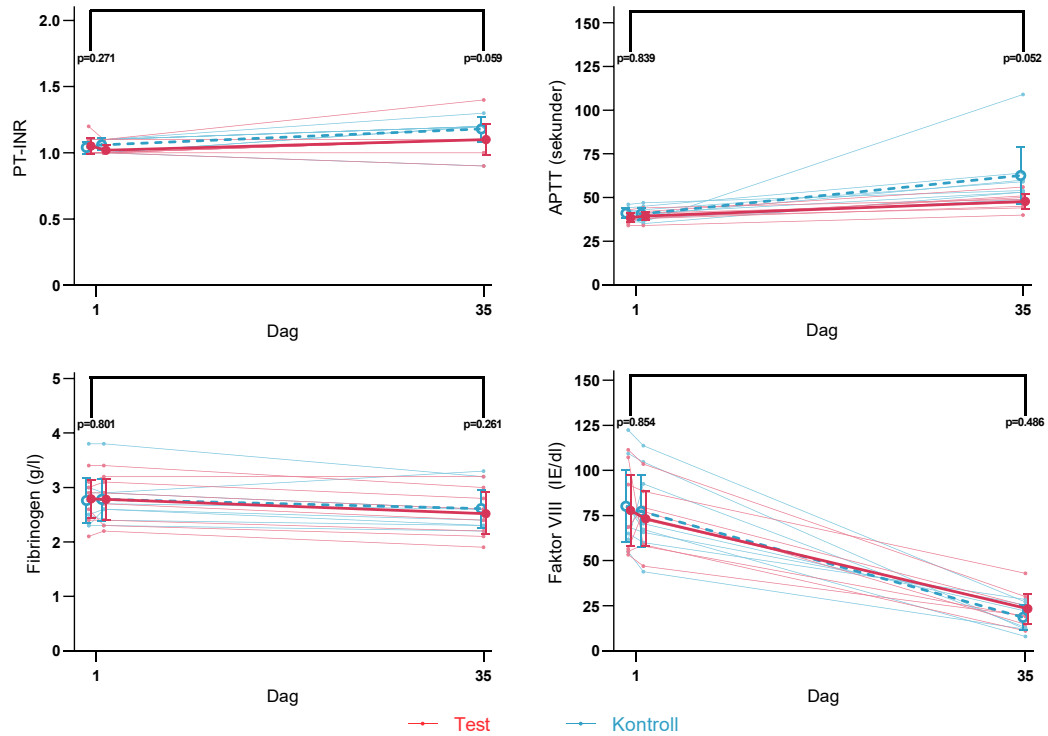
Figur 4.9. Gjennomsnittlig tromboelastografikurve for test- og kontrollgruppen ved grunnlinjemåling på dag 28. Linjer viser gjennomsnitt av alle blodposer på den spesifiserte dagen for de to studiegruppene. Skravert område viser 95 % konfidensintervall.



Figur 4.10. Gjennomsnittlig tromboelastografikurve for test- og kontrollgruppen ved grunnlinjemåling på dag 35. Linjer viser gjennomsnitt av alle blodposer på den spesifiserte dagen for de to studiegruppene. Skravert område viser 95 % konfidensintervall.

## 4.6. Koagulasjon

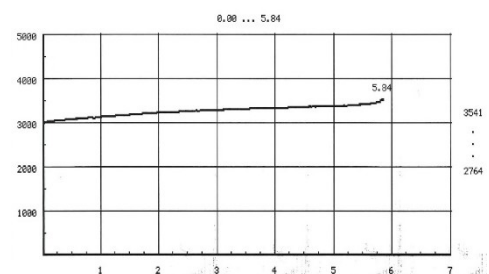
Figur 4.11 viser en grafisk fremstilling av resultatene beskrevet i artikkelen. Én pose i kontrollgruppen hadde en betydelig forlenget APTT sammenlignet med de andre. Svaret ble kontrollert riktig. Grunnlinjemåling av fibrinogen og faktor VIII viste stor intradonorvariasjon.



Figur 4.11. Gjennomsnittlig PT-INR, APTT, fibrinogen og faktor VIII med 95 % konfidensintervall. P-verdier viser signifikans for forskjell i endring fra dag 1 til hvert prøvetidspunkt sammenlignet med kontrollgruppen (lineær blandet modell, R versjon 4.1.1 med NLME versjon 3.1-152, The R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria). Tynne linjer viser individuelle blodposer for test- og kontrollgruppen

## 4.7. Bakterieoppvekst

Som beskrevet i artikkelen var det oppvekst av hudbakterien *cutibacterium acne* i én av blodkulturflaskene tatt på dag 35. Dette ble påvist gjennom en gradvis økning i reflectance units fra 2764 når prøven ble tatt på dag 35 til 3541 seks dager senere (Figur 4.12).



Figur 4.12. BacT/ALERT-vekstkurve for pose med positiv bakterieprøve

## 5. DISKUSJON

### 5.1. Resultater

Hemolyse er et viktig kvalitetsmål for å vurdere om erythrocyttholdige blodprodukter er trygge å transfundere. Retningslinjene stiller krav til at blodbanker skal ha et statistisk prosesskontrollsystem som sikrer at det produseres blod med under 0,8 % hemolyse i minst 90 % av produktene. Den kliniske relevansen av denne grensen er noe uklar, men fritt hemoglobin er nefrotoksisk og kan medføre hemolytisk transfusjonsreaksjon hos mottaker. Det er derfor viktig at mengden fritt hemoglobin ikke er for stor.

Det ble sett enheter utenfor dette i begge gruppene på dag 35, men to enheter var betydelig høyere i testgruppen. Dette kan skyldes en reell effekt av temperatursvingningene, lipemi i prøvematerialet, eller tilfeldig variasjon i hvor utsatt den enkelte donor er for hemolyse. Det er tidligere vist at faktorer som alder, kjønn, vekt og antall og hyppighet av blodgivning kan påvirke hvor utsatt blod fra giveren er for hemolyse.<sup>65-67</sup>

Det var ingen endring i hemoglobinkonsentrasjon. Som beskrevet i innledningen, fører oppbevaring av fullblod vanligvis ikke til endringer i denne. Dette vil heller ikke sees ved hemolyse, da målingene ikke skiller mellom intracellulært hemoglobin og hemoglobin i plasma. Hematokrit kan derimot påvirkes av hemolyse, men også denne var stabil og uten forskjell mellom gruppene.

Fordi fullblodet i denne studien ikke var leukocytffiltrert var det som forventet leukocytter til stede. Dette kan være føre til økt risiko for transfusjonsrelaterte komplikasjoner, spesielt hos immunosupprimerte pasienter. For ellers friske pasienter med pågående blødning er risikoen mindre. Vår forskningsgruppe har tidligere gjennomført en studie som fant at leukocytffiltrering av CPDA-1 fullblod ikke reduserte kvaliteten.<sup>15</sup> Dersom et kommersielt produkt for leukocytffiltrering av CPDA-1 fullblod skulle bli tilgjengelig, bør man vurdere å ta det bruk i sammenhenger der det er mulig og hensiktsmessig.

Etter veksling mellom kalde og varme temperaturer med totalt 20 timer ved 28 °C så jeg en reduksjon i blodplattetall på 12 %. I kontrollgruppen ble det sett en nedgang i plattetall på rundt 34 %. Tidligere litteratur viser at en slik reduksjon er vanlig, men det er stor variasjon i størrelsesordenen på denne. Dette kan skyldes at blodplater er vanskelig å telle

og at det er stor variasjon i målemetodikken som er i bruk. Studier som har oppbevart fullblod varmt viser at dette fører til at platetallet holder seg mer stabilt.<sup>26,28,33</sup> Pidcoke et al. (2013) fant kun en 3 % nedgang etter 21 dager ved 22 °C.<sup>26</sup>

Både erytrocyttene og blodplatene benytter glukose som energikilde. En tidligere studie viste en reduksjon på 30 % etter 35 dager ved 4 °C.<sup>15</sup> Det er derfor viktig at det er tilstrekkelige mengder tilgjengelig under hele lagringsperioden. Lagringsløsninger som CPD og CPDA-1 inneholder derfor dette i form av dekstrose. Testgruppen viste lavere nivå av glukose allerede etter første temperatursvingning. På dag 35 var konsentrasjonen redusert med 49 % sammenlignet med 39 % i kontrollgruppen. Til tross for dette var det fortsatt betydelige mengder igjen, slik at denne forskjellen er av lite relevans.

Det høyere forbruket har derimot ført til økt produksjon av laktat, noe som igjen fører til en nedgang i pH. Forskjellen var likevel ikke så stor at det kan antas å ha noen praktisk konsekvens. Det var ikke statistisk signifikant forskjell i kalium. Der tidligere studier av Baliarsingh et al. (2014)<sup>42</sup> og Sivertsen et al. (2020)<sup>42</sup> viste henholdsvis en økning på over 700 % på dag 28 og over 800 % på dag 35, fant jeg en økning på rundt 450 % i begge grupper. Noe av forskjellen kan skyldes den øvre målegrensen på instrumentet jeg har brukt. Hverken test- eller kontrollgruppen hadde endringer i pH, glukose, laktat eller kalium som indikerte større grad av lagringsskade enn vist i tidligere studier med direkte sammenlignbare metoder.<sup>15,30</sup>

Blodplatetall i seg selv er ikke nok til å demonstrere hemostatisk funksjon. Det er ikke etablert kvalitetskrav eller retningslinjer for hvordan dette skal måles. I forskningssammenheng benyttes det vanligvis en form for viskoelastisk hemostatisk test til å vurdere den helhetlige evnen blodet har til å klotte. Det kan også brukes en form for platefunksjonsanalyse som aggregometri for å se på blodplatenes evne til å aggregere etter stimulering med ulike agonister. De mest brukte viskoelastiske testene er tromboelastografi (TEG) og tromboelastometri (ROTEM). Disse baserer seg på samme prinsipp, men har noe ulik målemetode. De er likevel like nok til at man kan sammenligne konklusjoner fattet med de to metodene.

Blodplater har i utgangspunktet en begrenset levetid på rundt ti dager. Dette er dog ved sirkulasjon i kroppen ved kroppstemperatur. Dersom man reduserer lagringstemperaturen

øker holdbarheten, og det er vist gjenværende funksjon i blodplatekonsentrat lagret kaldt i 21 dager både ved tromboelastografi og aggregometri. I fullblod ser man derimot dårligere respons på aggregometri.<sup>30</sup>

Tidligere studier har vist at det er gjenværende hemostatisk funksjon med klottstyrke innenfor normalområdet for pasientprøver målt med disse metodene etter 21 (CPD) eller 35 (CPDA-1) dager lagring ved 4 °C så lenge produktet enten er ufiltrert eller leukocytfiltrert med et blodplatesparende filter.<sup>15,26,30,40,44</sup> Dersom man fjerner blodplatene gjenspeiles dette i resultatene.<sup>31,39</sup> En endring i koagulasjonsfaktorer vil også påvirke analysen, men ikke i så stor grad. Det er derfor trolig at blodplatene eller fragmenter av disse fortsatt har en funksjon i den totale hemostasen til tross for at det ikke kommer frem ved aggregometri. Mine funn av gjenværende hemostatisk funksjon på dag 35 støtter det som tidligere har vært funnet.

Den viskoelastiske hemostatiske funksjonen på dag 35 var bedre bevart i testgruppen. En nærmere karakterisering av blodplatene vil være nødvendig for å kunne finne en mulig mekanisme bak dette. Temperatursykling av blodplatekonsentrat har tidligere vært vist som fordelaktig.<sup>56-58</sup> Om dette også gjelder blodplater lagret i CPDA-1 fullblod er usikkert. Den kalde perioden i studien min er på totalt 20 timer, betydelig lengre enn intervallet beskrevet for blodplater.

Koagulasjonsanalysene viste at det i hovedsak er faktor VIII som påvirkes av lagring. Faktor VIII tilhører de labile koagulasjonsfaktorene og studier har vist at konsentrasjonene reduseres tidlig i lagringsperioden (Tabell 1.5). Temperatursvingninger påvirket ikke disse analysene.

Denne studien var ikke konstruert for å kunne kvantifisere forskjeller i vekst med og uten temperatursvingninger. For at dette skulle være mulig ville man måtte ha introdusert kjente konsentrasjoner av bakterier. Braathen et al. (2019) gjorde dette med *E. coli* i CPDA-1 fullblod som var lagret enten ved 4, 22 eller 35 °C, men ikke med vekslende temperaturer.<sup>68</sup> De fant at kaldlagring hemmet bakterievekst og at bakterier påvist den første uken av kaldlagring ikke kunne påvises de etterfølgende ukene. De fant også at fagocytosen i ikke-leukocytfiltrert fullblod var bedre ved varmlagring.

En av hovedgrunnene til de strenge reglene for oppbevaringstid over 4 °C er reduksjonen det fører til i ATP og 2,3-DPG, med den konsekvensen at de røde blodcellene ikke har tilstrekkelig kvalitet i hele resterende lagringsperiode. CPDA-1 skiller seg fra CPD ved at den inneholder adenin samt høyere konsentrasjon av dekstrose. Hensikten med å tilsette adenin er å bedre ATP-syntesen i de røde blodcellene.<sup>16</sup> Det er mulig at dersom man først skal utsette fullblod for temperatursvingninger, så vil den negative effekten være noe mindre i CPDA-1 enn CPD. Fordi det ikke ble målt ATP og 2,3-DPG i denne studien er det ikke mulig å med sikkerhet si om temperatursvingning fører har en annen effekt på disse enn vist i studier med kontinuerlig kald- eller varmlagring.

## **5.2. Metode**

Studien ble gjennomført ved en avdeling og forskningsgruppe med høy kompetanse og erfaring. Alle metoder og instrumenter som ble brukt var veletablerte og brukt både ved avdeling og i tidligere studier. Alle steg ble utført etter avdelingens og studiens skriftlige prosedyrer, og dokumentert på dedikerte arbeidsark. Alle avvik ble registrert på egne skjema. Studien har likevel begrensninger. Valg av antall poser, analyser og prøvetidspunkt i studien var påvirket av både arbeidsmengde og økonomiske avveininger.

Det ble kun definert én testgruppe, og denne ble utsatt for alle fem temperatursvingninger. Dette gjør at det ikke vil være mulig å enkelt sette grenser dersom man hadde funnet store forskjeller mellom gruppen. Man ville da måtte gå videre med ytterligere studier for å avdekke effekten av færre enn fem temperatursvingninger på målingene tatt dag 35. Det ble heller ikke undersøkt andre temperaturer. I norsk sammenheng er kanskje omgivelsestemperaturer på 22 °C og lavere mer sannsynlig.

Selv om det finnes mye tidligere forskning som inkluderer ATP og 2,3-DPG, ville å ta dette med gitt ekstra verdi til studien da dette er et viktig argument for kravene til oppbevaring av erythrocytter.

Den viskoelastiske hemostatiske analysen ble supplert med koagulasjonsanalyser for å kunne vurdere både plasmafaktorer og fullblodet som en helhet. Mange studier supplerer også med blodplatefunksjonstester som ser på blodplatenes funksjon. Dette ble ikke gjort. Videre ble koagulasjonsanalysene kun utført på dag 1 og 35. Konsentrasjonen av faller i

løpet av kort tid, og det kunne vært fordelaktig med flere målinger for å se om utviklingen på tidligere tidspunkt var ulik.

Til tross for disse svakhetene gir studien likevel nyttig informasjon om effekten av gjentakende temperatursvingninger på CPDA-1 fullblod.

### **5.3. Avvik**

Det ble registrert noen avvik i studien. Disse hadde ikke konsekvens for gjennomføringen av studien, men medførte færre målinger på visse tidspunkt.

Posen som skulle inngå som den fjerde i studien (04-FBTSYKL) ble ved en feil plassert i inkubator på dag 1. Av denne grunn ble posen ekskludert og en ny pose tok dens plass.

Prøve til pH etter første temperatursvingning på pose 15-FBTSYKL ble ved en feil kjørt på feil instrument. Fordi instrumentet ikke var samkjørt med det som ble brukt for de andre prøvene, ble denne målingen ekskludert.

Analyse av glukose og laktat etter første temperatursvingning på pose 11-FBTSYKL ble ikke utført grunnet for lite prøvevolum. Pose 12-FBTSYKL mangler tromboelastografi på dag 21 grunnet en teknisk feil med instrumentet.

Som tidligere nevnt ble posen med positiv bakterieprøve kassert på dag 35. For å hindre at dette gjentok seg ble prosedyren endret til å ta vare på alle poser til bakterieprøven var ferdig inkubert på dag 35+7 slik at det ville være mulig å ta nye prøver for videre undersøkelse.

### **5.4. Videre studier**

Det er behov for ytterligere undersøkelser av hemolyse etter temperatursvingninger. Dette kan gjøres med et enklere oppsett, slik at man får inkludert flere poser enn i min studie. Det er fortsatt uavklart hva som gir den observerte viskoelastiske responsen på dag 35, til tross for at flere studier har vist dårlig blodplatefunksjon når blodplatene analyseres for seg selv.<sup>43,69</sup> En detaljert undersøkelse av blodplatefragmenter, mikropartikler og andre faktorer i fullblodet ville derfor være verdifullt.



## **6. KONKLUSJON**

Oppgaven undersøkte in vitro effekt av kortvarig temperatursvingning til 28 °C i inntil fire timer, én gang i uken, i inntil fem uker.

Hemolysefunnene var usikre. I testgruppen var det én pose med hemolyse over 0,8 % på dag 21. På dag 35 var det to poser, med henholdsvis 1,1 og 1,2 %. Kontrollgruppen hadde to poser med hemolyse akkurat over grensen på <0,8 % på dag 35.

Det ble ikke sett noen negativ effekt av på de andre utførte analysene som tilsier at det skulle være farlig å transfundere blodet som var utsatt for temperatursvingninger til en pasient. Tromboelastografi viste gjenværende hemostatisk funksjon på dag 35.

Dersom en endring av dagens retningslinjer skal gjennomføres basert på funnene i denne studien, må det tas stilling til eventuelle kliniske konsekvenser av hemolysen som ble sett veid opp mot eventuell redusert eller manglende tilgang på blod.

## LITTERATURLISTE

1. Ministry of Health and Care Services. Regulations on the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components FOR-2005-02-04-80, 2019.
2. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 20 ed. Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2020.
3. Fung MK, Eder AF, Spitalnik SL, et al. AABB Technical Manual. 19 ed. Bethesda, MD, USA: AABB, 2017.
4. Tactical Combat Casualty Care (TCCC) Guidelines 05 November 2020. USA: Joint Trauma System, 2020.
5. Traumeplan NKT, Behandling av kritiske blødninger og bruk av massiv transfusjon. Nasjonal Kompetansetjeneste for traumatologi; 2020. Available from: <https://traumeplan.no/>
6. Sivertsen J, Braathen H, Lin A, et al. Blood Bank Implementation of Low Titer Group O Whole Blood for Prehospital Use. *Vox Sanguinis* 2017;112: 135.
7. Zielinski MD, Stubbs JR, Berns KS, et al. Prehospital blood transfusion programs: Capabilities and lessons learned. *J Trauma Acute Care Surg* 2017;82: S70-S8.
8. Jenkins D, Stubbs J, Williams S, et al. Implementation and execution of civilian remote damage control resuscitation programs. *Shock* 2014;41 Suppl 1: 84-9.
9. Bjerkvig CK, Strandenes G, Hervig T, et al. Prehospital Whole Blood Transfusion Programs in Norway. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* 2021: 1-7.
10. Kaada SH, Apelseth TO, Hagen KG, et al. How do I get an emergency civilian walking blood bank running? *Transfusion* 2019;59: 1446-52.
11. Holcomb JB, Spinella PC, Apelseth TO, et al. Civilian walking blood bank emergency preparedness plan. *Transfusion* 2021;61 Suppl 1: S313-S25.
12. Apelseth TO, Strandenes G, Kristoffersen EK, et al. How do I implement a whole blood-based blood preparedness program in a small rural hospital? *Transfusion* 2020;60: 2793-800.
13. Hervig TA, Doughty HA, Cardigan RA, et al. Re-introducing whole blood for transfusion: considerations for blood providers. *Vox Sang* 2021;116: 167-74.
14. Tactical Combat Casualty Care (TCCC) Guidelines 05 November 2020. USA: Joint Trauma System, 2020.

15. Sivertsen J, Braathen H, Lunde THF, et al. Cold-stored leukoreduced CPDA-1 whole blood: in vitro quality and hemostatic properties. *Transfusion* 2020;60: 1042-9.
16. Peck CC, Moore GL, Bolin RB. Adenine in blood preservation. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1981;13: 173-212.
17. Veileder for transfusjonstjenesten i Norge, Utgave 7.3 2017: Helsedirektoratet, Oslo, Norway, 2017.
18. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the UK. United Kingdom: Joint United Kingdom (UK) Blood Transfusion and Tissue Transplantation Services Professional Advisory Committee, 2013.
19. Pulliam KE, Joseph B, Veile RA, et al. Expired But Not Yet Dead: Examining the Red Blood Cell Storage Lesion in Extended-Storage Whole Blood. *Shock* 2021;55: 526-35.
20. Spinella PC, Acker J. Storage Duration and Other Measures of Quality of Red Blood Cells for Transfusion. *JAMA* 2015;314: 2509-10.
21. Hillyer CD, Josephson CD, Blajchman MA, et al. Bacterial contamination of blood components: risks, strategies, and regulation: joint ASH and AABB educational session in transfusion medicine. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003: 575-89.
22. Rohatgi A. WebPlotDigitizer version 4.5. 2021. Available from: <https://automeris.io/WebPlotDigitizer>
23. Moeyaert M, Maggin D, Verkuilen J. Reliability, Validity, and Usability of Data Extraction Programs for Single-Case Research Designs. *Behav Modif* 2016;40: 874-900.
24. Burda BU, O'Connor EA, Webber EM, et al. Estimating data from figures with a Web-based program: Considerations for a systematic review. *Res Synth Methods* 2017;8: 258-62.
25. Drevon D, Fursa SR, Malcolm AL. Intercoder Reliability and Validity of WebPlotDigitizer in Extracting Graphed Data. *Behav Modif* 2017;41: 323-39.
26. Pidcoke HF, McFaul SJ, Ramasubramanian AK, et al. Primary hemostatic capacity of whole blood: a comprehensive analysis of pathogen reduction and refrigeration effects over time. *Transfusion* 2013;53 Suppl 1: 137S-49S.

27. Tzounakas VL, Anastasiadi AT, Karadimas DG, et al. Temperature-dependent haemolytic propensity of CPDA-1 stored red blood cells vs whole blood - Red cell fragility as donor signature on blood units. *Blood Transfus* 2017;15: 447-55.
28. Sivertsen J, Braathen H, Lunde THF, et al. Preparation of leukoreduced whole blood for transfusion in austere environments; effects of forced filtration, storage agitation, and high temperatures on hemostatic function. *J Trauma Acute Care Surg* 2018;84: S93-S103.
29. Meledeo MA, Peltier GC, McIntosh CS, et al. Optimizing whole blood storage: hemostatic function of 35-day stored product in CPD, CP2D, and CPDA-1 anticoagulants. *Transfusion* 2019;59: 1549-59.
30. Bjerkvig C, Sivertsen J, Braathen H, et al. Cold-stored whole blood in a Norwegian emergency helicopter service: an observational study on storage conditions and product quality. *Transfusion* 2020;60: 1544-51.
31. Huish S, Green L, Curnow E, et al. Effect of storage of plasma in the presence of red blood cells and platelets: re-evaluating the shelf life of whole blood. *Transfusion* 2019;59: 3468-77.
32. Yazer MH, Glackin EM, Triulzi DJ, et al. The effect of stationary versus rocked storage of whole blood on red blood cell damage and platelet function. *Transfusion* 2016;56: 596-604.
33. Hughes JD, Macdonald VW, Hess JR. Warm storage of whole blood for 72 hours. *Transfusion* 2007;47: 2050-6.
34. Zielinski M, Stubbs J, Polites S, et al. In vitro analysis of the hemostatic properties of whole blood products prepared with a platelet-sparing leukoreduction filter. *J Thrombo Cir* 2018;4: 2.
35. McShine RL, Das PC, Sibinga CT, et al. Effect of EDTA on platelet count and other platelet parameters in blood and blood components collected with CPDA-1. *Vox Sang* 1991;61: 84-9.
36. Remy KE, Yazer MH, Saini A, et al. Effects of platelet-sparing leukocyte reduction and agitation methods on in vitro measures of hemostatic function in cold-stored whole blood. *J Trauma Acute Care Surg* 2018;84: S104-S14.
37. Morris MC, Veile R, Friend LA, et al. Effects of whole blood leukoreduction on platelet function and hemostatic parameters. *Transfus Med* 2019;29: 351-7.
38. Thomas KA, Shea SM, Yazer MH, et al. Effect of leukoreduction and pathogen reduction on the hemostatic function of whole blood. *Transfusion* 2019;59: 1539-48.

39. Haddaway K, Bloch EM, Tobian AAR, et al. Hemostatic properties of cold-stored whole blood leukoreduced using a platelet-sparing versus a non-platelet-sparing filter. *Transfusion* 2019;59: 1809-17.
40. Jobses D, Wolfe Y, O'Neill D, et al. Toward a definition of "fresh" whole blood: an in vitro characterization of coagulation properties in refrigerated whole blood for transfusion. *Transfusion* 2011;51: 43-51.
41. Ekaney ML, Gray GG, McKillop IH, et al. Enhanced platelet function in cold stored whole blood supplemented with resveratrol or cytochrome C. *J Trauma Acute Care Surg* 2018;85: S92-S7.
42. Baliarsingh S, Jaiswal M. Baseline extracellular potassium level as an indicator of the rate of increase of the same on further storage in CPDA-1 whole blood units: a potential approach to complement FIFO system for prioritisation of blood bags for release from blood-banks. *Transfus Med* 2014;24: 45-9.
43. Polites SF PM, Stubbs JR, et al. Whole blood platelet function degrades quickly after storage: in vitro comparison of fresh whole blood, stored whole blood, and reconstituted whole blood. 46th World Congress of Surgery Abstract Book 2015.
44. Strandenes G, Austlid I, Apelseth TO, et al. Coagulation function of stored whole blood is preserved for 14 days in austere conditions: A ROTEM feasibility study during a Norwegian antipiracy mission and comparison to equal ratio reconstituted blood. *J Trauma Acute Care Surg* 2015;78: S31-8.
45. Hogman CF, Meryman HT. Storage parameters affecting red blood cell survival and function after transfusion. *Transfus Med Rev* 1999;13: 275-96.
46. Thomas S, Hancock V, Cardigan R. Repeated short-term warming of red blood cell concentrates has minimal effect on their quality. *Vox Sang* 2012;103: 113-21.
47. Ecker T, Hitzler WE. Effect of 6-hour exposure to 20 degrees C on the ATP content and other biochemical measures of CPDA-1 packed red cells. *Clin Lab* 2000;46: 291-3.
48. Braathen H, Sivertsen J, Lunde THF, et al. In vitro quality and platelet function of cold and delayed cold storage of apheresis platelet concentrates in platelet additive solution for 21 days. *Transfusion* 2019;59: 2652-61.
49. Cohn CS, Shaz BH. Warming Up to Cold-stored Platelets. *Anesthesiology* 2020;133: 1161-3.

50. Nair PM, Meledeo MA, Wells AR, et al. Cold-stored platelets have better preserved contractile function in comparison with room temperature-stored platelets over 21 days. *Transfusion* 2021;61 Suppl 1: S68-S79.
51. Nair PM, Pandya SG, Dallo SF, et al. Platelets stored at 4 degrees C contribute to superior clot properties compared to current standard-of-care through fibrin-crosslinking. *Br J Haematol* 2017;178: 119-29.
52. Reddoch-Cardenas KM, Bynum JA, Meledeo MA, et al. Cold-stored platelets: A product with function optimized for hemorrhage control. *Transfus Apher Sci* 2019;58: 16-22.
53. Reddoch-Cardenas K, Sharma U, Salgado C, et al. Cold Storage of Platelets in T-PAS+ for 18 Days Is Safe and Functionally Comparable to Current Standards of Care 2018 Annual Meeting: AABB, 2018.
54. McGill M. Platelet storage by temperature cycling. *Prog Clin Biol Res* 1978;28: 119-39.
55. McGill M. Temperature cycling preserves platelet shape and enhances in vitro test scores during storage at 4 degrees. *J Lab Clin Med* 1978;92: 971-82.
56. Xu F, Gelderman MP, Farrell J, et al. Temperature cycling improves in vivo recovery of cold-stored human platelets in a mouse model of transfusion. *Transfusion* 2013;53: 1178-86.
57. Skripchenko A, Gelderman MP, Awatefe H, et al. Automated cold temperature cycling improves in vitro platelet properties and in vivo recovery in a mouse model compared to continuous cold storage. *Transfusion* 2016;56: 24-32.
58. Vostal JG, Gelderman MP, Skripchenko A, et al. Temperature cycling during platelet cold storage improves in vivo recovery and survival in healthy volunteers. *Transfusion* 2018;58: 25-33.
59. Backholer L, Green L, Huish S, et al. A paired comparison of thawed and liquid plasma. *Transfusion* 2017;57: 881-9.
60. Cardigan R, Green L. Thawed and liquid plasma--what do we know? *Vox Sang* 2015;109: 1-10.
61. HemoCue Plasma/Low Hb Operating manual. Ängelholm, Sweden HemoCue AB, 2003.
62. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al. BacT/Alert: an automated colorimetric microbial detection system. *J Clin Microbiol* 1990;28: 1608-12.
63. BacT/ALERT 3D 60 User Manual. North Carolina, USA: bioMérieux, Inc., 2010.

64. Hartert H. Blood clotting studies with Thrombus stressography; a new Investigation procedure. *Klin Wochenschr* 1948;26: 577-83.
65. Kanas T, Stone M, Page GP, et al. Frequent blood donations alter susceptibility of red blood cells to storage- and stress-induced hemolysis. *Transfusion* 2019;59: 67-78.
66. Kanas T, Lanteri MC, Page GP, et al. Ethnicity, sex, and age are determinants of red blood cell storage and stress hemolysis: results of the REDS-III RBC-Omics study. *Blood Adv* 2017;1: 1132-41.
67. Tzounakas VL, Georgatzakou HT, Kriebardis AG, et al. Donor variation effect on red blood cell storage lesion: a multivariable, yet consistent, story. *Transfusion* 2016;56: 1274-86.
68. Braathen H, Sivertsen J, Lunde THF, et al. Effect of leukoreduction and temperature on risk of bacterial growth in CPDA-1 whole blood: A study of *Escherichia coli*. *Transfusion* 2021;61 Suppl 1: S80-S9.
69. van der Meer PF, Klei TR, de Korte D. Quality of Platelets in Stored Whole Blood. *Transfus Med Rev* 2020;34: 234-41.

**TITLE**

In vitro quality and hemostatic function of cold-stored CPDA-1 whole blood after repeated transient exposure to 28°C storage temperature

**AUTHOR**

Joar Sivertsen<sup>1,2</sup>

**DEPARTMENTS**

<sup>1</sup>Department of Immunology and Transfusion Medicine, Haukeland University Hospital, Bergen, Norway

<sup>2</sup>Department of Global Public Health and Primary Care, University of Bergen, Bergen, Norway

**DISCLAIMERS:** The opinions or assertions contained herein are the private views of the author and are not to be construed as official or as reflecting the views of the Norwegian Armed Forces Joint Medical Services.

**CORRESPONDING AUTHOR:** Joar Sivertsen, Helse Bergen HF, Haukeland University Hospital, Department of Immunology and Transfusion Medicine, P.O. Box 1400, N-5021 Bergen, joar.sivertsen@helse-bergen.no

**REPRINTS:** Joar Sivertsen, Helse Bergen HF, Haukeland University Hospital, Department of Immunology and Transfusion Medicine, P.O. Box 1400, N-5021 Bergen, joar.sivertsen@helse-bergen.no

**SOURCE OF SUPPORT:** The study was supported by grants from the Norwegian Armed Forces Joint Medical Services and the Department of Immunology and Transfusion Medicine at Haukeland University Hospital, Bergen, Norway.

**CONFLICT OF INTEREST:** The authors declare no relevant conflicts of interest.

**WORD COUNT:** 2734

**RUNNING HEAD:** Transient 28°C exposure of CPDA-1 CSWB



## **ABSTRACT**

**BACKGROUND:** Blood products are frequently exposed to room temperature or higher for longer periods than permitted by policy. I aimed to investigate whether this resulted in a measurable effect on common quality parameters and viscoelastic hemostatic function.

**STUDY DESIGN AND METHODS:** 450 ml of whole blood from 16 O Rh(D) positive donors was collected in bags containing 63 ml of CPDA-1 and stored cold. Eight bags were exposed to five weekly four-hour long transient temperature changes to 28°C. Eight bags were stored continuously at 4°C as a control. Samples were collected at baseline on day 1, after the first cycle on day 1 and one week after each subsequent cycle (day 7, 14, 21, 28 and 35). Hemolysis, hematological parameters, pH, glucose, lactate, potassium, thromboelastography, INR, APTT, fibrinogen and factor VIII was measured.

**RESULTS:** The test group did not show reduced quality compared to the control group on day 35. Two units in the test group had hemolysis of 1.1 and 1.2%, and two units in the control group hemolysis of 0.8%. Remaining thromboelastography clot strength (MA) on day 35 was 51.7 mm (44.8, 58.6) in the test group and 46.1 (41.6, 50.6) in the control group ( $p=0.023$ ). Platelet count was better preserved in the test group (166.7 [137.8, 195.6] vs 117.8 [90.3, 145.2],  $p=0.018$ ). One bag in the test group was positive for *C. acne* on day 35+6.

**CONCLUSION:** Hemolysis findings warrant further investigation. Other factors were not negatively affected by transient temperature changes.

**KEY WORDS:** CPDA-1, whole blood, storage temperature, temperature violations, storage lesion

## INTRODUCTION

Whole blood has been widely adopted in recent years as an alternative to components in the treatment of massive hemorrhage, both prehospital and in-hospital for certain patient groups.<sup>1-3</sup> While the push to implement whole blood was largely initiated by the military, the challenges faced by civilian emergency services are not entirely dissimilar. Both in civilian and military settings, there is a need for a product that is simple to produce, simple to transport, simple to transfuse and that has acceptable physiological and hemostatic function.

There are currently two types of cold-stored whole blood products in use, differentiated by the type of additive solution used. Both contain citrate, phosphate and dextrose (CPD), but one also adds adenine (CPDA-1). This has been shown beneficial in reducing the red blood cell storage lesion, allowing the shelf life to be extended from 21 to 35 days.<sup>4-6</sup> There is little evidence of adenine affecting platelet function. For CPD, there are also commercially available solutions for leukoreduction<sup>7</sup> to reduce the potential of transfusion-related adverse events. This is currently not available for CPDA-1.<sup>8</sup>

The required storage temperature of blood is 2 to 6°C in Europe and 1 to 6°C in the US, with temperatures up to 10°C permitted during transport.<sup>4,5</sup> Based on this, current practice is that blood should not be returned to inventory if it has been in room temperature for more than 30 minutes. The whole blood must also be transfused within four hours of being taken from cold storage. The basis for the storage requirements appear to be studies on how long it takes the blood bag to reach a specific undesired temperature, commonly 10°C. A much cited study by Pick et al. found that the surface temperature rose to 10.5°C thirty minutes after moving the blood from cold storage to room temperature.<sup>9</sup> Similar results were found in a more sophisticated setup performed by Reiter et al.<sup>10</sup>

The reality is unfortunately that these limits are often exceeded, resulting in large amounts of blood being wasted. In our center, <sett inn kasseringer hos oss>. According to a report from the UK Blood Stocks Management Scheme, a fourth of red blood cell units (RBCs) discarded in the UK were caused by storage temperature violations outside of the blood bank. The Joint United Kingdom Blood Transfusion and Tissue Transplantation Services Professional Advisory Committee approved a new contingency annex to its guidelines in 2020. It allows three periods of up to 60 minutes out of cold storage for RBCs, provided

that they are placed in quarantine for at least six hours upon return to ensure that the temperature returns to 4°C.<sup>11</sup>

Previous studies on RBCs have shown that various combinations of transient exposure to 22-30°C for durations of less than 24 hours has limited effect on quality parameters like hemolysis, glucose, lactate, potassium and pH, and while there can be a reduction in ATP, it is still within acceptable levels.<sup>12-14</sup>

Multiple studies have investigated whole blood storage at cold or warm storage separately. Pidcoke et al. found that there was little difference in hemolysis, hemoglobin, hemostatic function measured by thromboelastography, INR, APTT, fibrinogen or factor VIII between CPD whole blood stored at 4°C and at 22°C for five days.<sup>15</sup> Glucose consumption was higher and the pH fell at a higher rate when stored warm. Sivertsen et al. found similar results in leukoreduced CPD whole blood after three days at 22°C or two hours at 32°C.<sup>16</sup>

Few studies have looked at exposing whole blood to transient temperature changes. One study by Tzounakas et al. investigated CPDA-1 whole blood that had been gradually warmed to 17°C over a period of up to eight hours and then cooled back down to 4°C. They found hemolysis of 0.2% on day 35 and no bacterial contamination.<sup>17</sup> They did not investigate other quality markers or consider hemostatic function.

In a military setting whole blood is frequently brought on missions. Despite the use of cold transport cases, there is a risk of it being exposed to temperatures above 6° C for longer than the 30 minutes currently permitted. If this happens, and the blood is not used, not being able to return it to cold storage for later use can deplete already limited stocks.

In this study, I aimed to investigate the effect of exposing cold-stored CPDA-1 whole blood to weekly four-hour periods of 28°C temperature over a 35-day storage period on hemolysis, hematological parameters, pH, glucose, lactate and potassium. I additionally wanted to examine the potential effect on hemostatic function measured by thromboelastography and coagulation analyses.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Study Design and Ethics**

This laboratory study compared in vitro measurements of blood exposed to periodic changes in storage temperature (*test*) to blood stored continuously at 4°C (*control*). The study was carried out at the Department of Immunology and Transfusion Medicine at Haukeland University Hospital, Bergen, Norway. A total of sixteen donations were included, randomized to eight in each group. All blood was collected from volunteer donors after written informed consent. The Regional Committees for Medical and Health Research Ethics evaluated and approved the study (approval no. 2017/157).

### **Blood Collection**

450 mL whole blood was collected from O Rh(D) positive donors of both genders in bags containing citrate-phosphate-dextrose-adenine additive solution (CPDA-1) (PB-1CD456M5S, Terumo BCT, Lakewood, CO, USA). Donors were screened and approved for donation according to the same guidelines as normal blood donation. After collection, bags were held at room temperature for two hours before transfer to cold storage until the day after collection (day 1).

### **Storage and Temperature Cycling**

Blood in the test group was stored at 4°C in a temperature-monitored blood bank refrigerator and once a week transferred to a temperature-monitored incubator set to 28°C for four hours before being returned to 4°C. Blood in the control group was stored for a total of 35 days at 4°C in the same refrigerator (Figure 1). Based on test measurements done on the core temperature of blood bags, this would allow the blood to reach temperatures in excess of 8°C after the 30 minute limit for accepting the blood back in inventory and 26°C after the four hour limit for transfusion according to our guidelines.

### **Sampling**

Baseline sampling was performed before the first transient temperature cycle on day 1. An additional sample was taken four hours after return to 4°C on day 1 to study the effect of a single cycle. Subsequent sampling was performed one week after each cycle to simulate a scenario where the blood is returned to the blood bank inventory and then used a week later (Figure 1).

Sampling was performed by sterile welding a sample bag (BB\*T015CM, Terumo BCT, Lakewood, CO, USA) to the storage bag and transferring 15 ml of blood. An additional 20 ml was collected on day 1 and 35 for bacterial testing. Blood was centrifuged at 1800 g for 10 minutes for analyses requiring plasma.

## **Laboratory Analyses**

### **Hemolysis**

Hemoglobin in plasma was measured using a photometer (HemoCue Plasma/Low Hb System, Hemocue, Radiometer Medical, Brønshøj, Denmark). The percentage of hemolysis in the bag was then calculated as  $10 \times \text{plasma\_hgb} \times (1 - \text{hct}) / \text{hgb}$ .

### **Hematology**

Hemoglobin, hematocrit, platelet count and white blood cell count was analyzed using an automated hematology analyzer (Cell-Dyn Sapphire, Abbott Diagnostics, Abbott Park, Illinois, USA). Platelet count was performed using the impedance channel of the analyzer according to established local procedures. Samples were analyzed in K<sub>2</sub>EDTA.<sup>18</sup>

### **Metabolic parameters**

pH was measured on a blood gas analyzer (ABL825 FLEX, Radiometer Medical, Brønshøj, Denmark). Potassium, glucose, and lactate were analyzed on a chemistry analyzer (Cobas 8000/c702, Roche Diagnostics). The highest potassium concentration that could be quantitated was 25 mmol/L. Concentrations above this were considered as 25 mmol/L for statistical purposes.

### **Hemostatic Function**

Hemostatic function was evaluated using a viscoelastic hemostatic assay with kaolin as activator (TEG 5000, Haemonetics, Boston, Massachusetts, USA). Time to first clot formation (R), clot kinetics (K), rate of clot formation (angle) and maximum clot strength (maximum amplitude, MA) was recorded.

### **Coagulation**

An automated hemostasis analyzer was used to quantify fibrinogen and factor VIII concentrations and measure prothrombin time-international normalized ratio (INR) and

activated partial thromboplastin time (APTT) (STA-R Evolution/STA-R Max, STA-Liquid Fib/STA-Fibrinogen 5, STA-Deficient VIII, STA-SPA+, STA-PTT Automate 5, STA-CaCl<sub>2</sub> and STA-Unicalibrator, Diagnostica Stago). Factor VIII samples were stored at -80°C prior to analysis.

### **Bacterial Growth**

Bacterial testing was performed on day 1 and on day 35 to monitor potential bacterial growth. 10 mL blood was aseptically transferred to aerobic and anaerobic culture bottles (FA Plus/FN Plus) and incubated at 36°C for seven days in the BacT/ALERT 3D 60 microbial detection system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Any positive samples were forwarded to a microbiological laboratory for verification and identification.

### **Statistical Analysis**

All statistical analysis was performed using R version 4.1.1 (The R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria). Results were reported as means with 95% confidence intervals. To investigate the effect of storage time and temperature cycling, NLME package version 3.1-152 was used to fit a linear mixed effects model with treatment contrasts. Sample day, study group and their interaction were used as predictor for each outcome measure. The p-values given represent either the change from baseline measurements taken prior to the first cycle on day 1 to subsequent measurements on day 1, 7, 14, 21, 28 and 35 ( $p_{\text{time}}$ ), or potential differences in this change between the test and control group ( $p_{\text{test}}$ ). Mean values at each sample point were also compared using an unequal variances t-test. A significance level of 5% was used for all analyses.

## **RESULTS**

### **Hemolysis**

As can be seen in Figure 2A, there was no difference in mean hemolysis in the test and control group. Irrespective of cycling, an increase in hemolysis was seen on day 14 and onwards. After three cycles and 21 days of storage, one cycled unit showed hemolysis above 0.8%. This increased to two units after five cycles and 35 days of storage (1.1 and 1.2%). The control group had two units with 0.8% hemolysis on day 35.

## **Hematology**

Cycling did not negatively affect platelet count with both groups showing a gradual decrease from day 7 to 28. At this point, blood in the test group had a higher platelet count than the control ( $p=0.048$ ). After day 28, the control group flattened out while cycling resulted in a small increase on day 35 (Figure 1B).

Hemoglobin remained stable through cycling and storage, with a hemoglobin on day 35 of 12.2 (11.4, 12.9) in the test group and 12.4 (11.5, 13.2) in the control group ( $p_{\text{time}}=0.853$ ). Hematocrit fell from 39% (36, 41) to 40% (38, 43) in the test group and 39% (36, 42) to 41% (38, 43) in the control group ( $p_{\text{time}}<0.001$ ).

White blood cell counts decreased with storage, falling from  $5.0 \times 10^9/\text{L}$  (4.1, 6.0) on day 1 to  $2.0 \times 10^9/\text{L}$  (1.4, 2.6) on day 35 in the test group and  $4.8 \times 10^9/\text{L}$  (4.3, 5.4) to  $2.3 \times 10^9/\text{L}$  (1.6, 3.0) in the control group ( $p_{\text{time}}<0.001$ ).

## **Clinical Chemistry**

Cycling resulted in a minor increase in glucose consumption and lactate production compared to the control group (Figure 3A-B). pH and potassium levels were slightly lower throughout storage with cycling (Figure 3C, 3D).

## **Hemostatic Function**

Initial cycling on day 1 did not result in a difference in hemostatic function measured by kaolin-activated thromboelastography. Cycling caused better preservation of angle on day 28 and 35, and better preserved K and MA on day 35 (MA 51.7 mm [44.8, 58.6] vs 46.1 mm [41.6, 50.6],  $p=0.023$ ). A greater increase in R time was seen in the test group on day 7, but by day 14 both groups were the same. Storage did not affect R or LY30. Mean MA remained within normal ranges for patient samples on day 35 in the test group, but not in the control group. Hemostatic function is shown in more detail in Figure 2.

## **Coagulation**

As shown in Table 1, cycling did not affect coagulation parameters. A large decrease in factor VIII was seen after 35 days of storage. The reduction in fibrinogen and INR was minor.

## **Bacterial Growth**

Bacterial testing was positive for *Cutibacterium acne* in one bag in the test group on day 35+6. The bag was negative on day 1+7. The bag had already been discarded and a new sample for confirmation was not possible. The bag did not differ in hemolysis, pH or other parameters from the rest.

## **DISCUSSION**

There was a clear increase in hemolysis with storage in both groups, with no difference in mean hemolysis between them. Two bags in the test group deviated from the rest, with a steep increase in hemolysis towards the end of the storage period. Additionally, two bags in the control showed a hemolysis of 0.8% on day 35, marginally exceeding the European standards of <0.8%.<sup>4</sup> As seen in figure 2A, there is variation in how prone the blood is to hemolysis from the start. This makes it difficult to say with confidence whether the bags in question were affected by the transient temperature changes, lipemia, or other factors such as donor-related variables like gender, age or donation frequency.<sup>19</sup>

The effect of storage on hematological parameters mirrored that found in other studies on CPDA-1 whole blood<sup>8,20-22</sup>, with stable hemoglobin and hematocrit, and a decrease in platelet count and white blood cell count. Aggregates prevented accurate counting of platelets in two of the test bags, one on day 7 and one on day 35. Platelet count was the only hematological parameter affected by cycling. The reduction in this group was less than in the blood that was stored continuously at 4°C.

Based on only minor differences in glucose, lactate, potassium and pH after multiple cycles, it did not seem that cycling resulted in greater storage lesion than continuous storage. I did not analyze ATP or 2,3-DPG in this study, so the effect on these is not known. However, a 2007 study by Hughes et al. found only a 10 % reduction in ATP after 72 hours of storage at 25°C in CPD.

Cycling resulted in better preservation of hemostatic function with thromboelastography showing faster clot formation (K, angle) and greater final clot strength (MA). I did not perform platelet function testing, but the general accepted rule of thumb is that the clot strength consists of approximately 20% fibrinogen and 80% platelets. Studies have also shown that leukoreducing with a filter that does not spare platelets results in a large reduction in MA.<sup>23,24</sup> It has also been shown that cold stored platelets retain hemostatic



function measured with thromboelastography and aggregometry on day 21.<sup>25</sup> With no effect of cycling on coagulation measurements or hematology other than platelet count, it seems likely that the thromboelastography response is related to remaining platelet or platelet fragment function.

The *C. acne* found in the sample from one of the test bags on day 35+6 could be due to a contamination during bacterial sampling on day 35, or it could have been introduced during blood collection. *C. acne* is a slow-growing bacteria that grows best at temperatures of 30 to 37°C and can be difficult to detect. When venipuncture is performed, there is always a risk of skin fragments entering the donation bag and contaminating it.<sup>26,27</sup> Studies have shown that a certain amount of bags will be contaminated<sup>28</sup>, and that this will be higher if no sample diversion pouch is used.<sup>29-31</sup> The CPDA-1 collection bags I used did have this. Because the blood bag in question had been discarded by the time the growth was detected, it was not possible to do any further investigation. This risk can to an extent be abated by the use of proper disinfection procedures, performing routine bacterial testing of the products and using a sample diversion pouch. Additionally, a recent study showed that the presence of leukocytes might be beneficial if the blood is stored at higher temperatures.<sup>20</sup>

In conclusion, exposing cold-stored CPDA-1 whole blood to 28°C for a four-hour period followed by a return to 4°C once a week over a 35-day period did not have any notable negative impact on the measured quality markers and hemostatic function. The effect on hemolysis was uncertain and warrants further investigation before a decision to change policy is made. In a military or contingency setting, the potential risk of increased hemolysis should be weighed against the potential benefit of not discarding the blood.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The author thanks the staff of the Department of Immunology and Transfusion Medicine and the Department of Medical Biochemistry and Pharmacology at Haukeland University Hospital for their help and support with the study.

## REFERENCES

1. Dishong D, Cap AP, Holcomb JB, et al. The rebirth of the cool: a narrative review of the clinical outcomes of cold stored low titer group O whole blood recipients compared to conventional component recipients in trauma. *Hematology* 2021;26: 601-11.
2. Yazer MH, Cap AP, Spinella PC. Raising the standards on whole blood. *J Trauma Acute Care Surg* 2018;84: S14-S7.
3. Tactical Combat Casualty Care (TCCC) Guidelines 05 November 2020. USA: Joint Trauma System, 2020.
4. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 20 ed. Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2020.
5. Fung MK, Eder AF, Spitalnik SL, et al. AABB Technical Manual. 19 ed. Bethesda, MD, USA: AABB, 2017.
6. Peck CC, Moore GL, Bolin RB. Adenine in blood preservation. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1981;13: 173-212.
7. Paunovic D, van der Meer P, Kjeldsen-Kragh J, et al. Multicenter evaluation of a whole-blood filter that saves platelets. *Transfusion* 2004;44: 1197-203.
8. Sivertsen J, Braathen H, Lunde THF, et al. Cold-stored leukoreduced CPDA-1 whole blood: in vitro quality and hemostatic properties. *Transfusion* 2020;60: 1042-9.
9. Pick P, Fabijanic J. Temperature changes in donor blood under different storage conditions. *Transfusion* 1971;11: 213-5.
10. Reiter U, Wagner T, Kozma N, et al. Core and surface temperatures in a red-blood-cell unit during storage and transport. *Vox Sang* 2011;101: 10-5.
11. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the UK, Annex 5 Blood Components for Contingency Use. 20 ed. United Kingdom: Joint United Kingdom (UK) Blood Transfusion and Tissue Transplantation Services Professional Advisory Committee, 2020.
12. Brunskill S, Thomas S, Whitmore E, et al. What is the maximum time that a unit of red blood cells can be safely left out of controlled temperature storage? *Transfus Med Rev* 2012;26: 209-23 e3.
13. Thomas S, Hancock V, Cardigan R. Repeated short-term warming of red blood cell concentrates has minimal effect on their quality. *Vox Sang* 2012;103: 113-21.

14. Ecker T, Hitzler WE. Effect of 6-hour exposure to 20 degrees C on the ATP content and other biochemical measures of CPDA-1 packed red cells. *Clin Lab* 2000;46: 291-3.
15. Pidcoke HF, McFaul SJ, Ramasubramanian AK, et al. Primary hemostatic capacity of whole blood: a comprehensive analysis of pathogen reduction and refrigeration effects over time. *Transfusion* 2013;53 Suppl 1: 137S-49S.
16. Sivertsen J, Braathen H, Lunde THF, et al. Preparation of leukoreduced whole blood for transfusion in austere environments; effects of forced filtration, storage agitation, and high temperatures on hemostatic function. *J Trauma Acute Care Surg* 2018;84: S93-S103.
17. Tzounakas VL, Anastasiadi AT, Karadimas DG, et al. Temperature-dependent haemolytic propensity of CPDA-1 stored red blood cells vs whole blood - Red cell fragility as donor signature on blood units. *Blood Transfus* 2017;15: 447-55.
18. McShine RL, Das PC, Sibinga CT, et al. Effect of EDTA on platelet count and other platelet parameters in blood and blood components collected with CPDA-1. *Vox Sang* 1991;61: 84-9.
19. Raval JS, Waters JH, Seltsam A, et al. The use of the mechanical fragility test in evaluating sublethal RBC injury during storage. *Vox Sang* 2010;99: 325-31.
20. Braathen H, Sivertsen J, Lunde THF, et al. Effect of leukoreduction and temperature on risk of bacterial growth in CPDA-1 whole blood: A study of *Escherichia coli*. *Transfusion* 2021;61 Suppl 1: S80-S9.
21. Meledeo MA, Peltier GC, McIntosh CS, et al. Optimizing whole blood storage: hemostatic function of 35-day stored product in CPD, CP2D, and CPDA-1 anticoagulants. *Transfusion* 2019;59: 1549-59.
22. Jobes D, Wolfe Y, O'Neill D, et al. Toward a definition of "fresh" whole blood: an in vitro characterization of coagulation properties in refrigerated whole blood for transfusion. *Transfusion* 2011;51: 43-51.
23. Huish S, Green L, Curnow E, et al. Effect of storage of plasma in the presence of red blood cells and platelets: re-evaluating the shelf life of whole blood. *Transfusion* 2019;59: 3468-77.
24. Haddaway K, Bloch EM, Tobian AAR, et al. Hemostatic properties of cold-stored whole blood leukoreduced using a platelet-sparing versus a non-platelet-sparing filter. *Transfusion* 2019;59: 1809-17.

25. Braathen H, Sivertsen J, Lunde THF, et al. In vitro quality and platelet function of cold and delayed cold storage of apheresis platelet concentrates in platelet additive solution for 21 days. *Transfusion* 2019;59: 2652-61.
26. Buchta C, Nedorost N, Regele H, et al. Skin plugs in phlebotomy puncture for blood donation. *Wien Klin Wochenschr* 2005;117: 141-4.
27. Gibson T, Norris W. Skin fragments removed by injection needles. *Lancet* 1958;2: 983-5.
28. Hillyer CD, Josephson CD, Blajchman MA, et al. Bacterial contamination of blood components: risks, strategies, and regulation: joint ASH and AABB educational session in transfusion medicine. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003: 575-89.
29. Jumaah N, Joshi SR, Sandai D. Prevalence of Bacterial Contamination when using a Diversion Pouch during Blood Collection: A Single Center Study in Malaysia. *Malays J Med Sci* 2014;21: 47-53.
30. de Korte D, Marcelis JH, Verhoeven AJ, et al. Diversion of first blood volume results in a reduction of bacterial contamination for whole-blood collections. *Vox Sang* 2002;83: 13-6.
31. Nakamura A, Abe K, Masuya M, et al. Efficiency of diversion of the first aliquot of blood and prestorage leukoreduction for preventing bacterial contamination in red blood cell concentrates assessed using a rapid polymerase chain reaction-based bacterial detection system. *Transfus Med* 2011;21: 365-70.

## TABLES

Table 1. Coagulation parameters in CPDA-1 whole blood stored continuously at 4°C (control) or exposed to weekly four-hour temperature increases to 28°C (cycling). Values are means with 95% confidence intervals.

		Before 1st cycle	After 1st cycle	Day 35
Fibrinogen	Control	2.8 (2.4, 3.2)	2.8 (2.4, 3.2)	2.6 (2.3, 3.0)*
	Cycling	2.8 (2.4, 3.1)	2.8 (2.4, 3.2)	2.5 (2.1, 2.9)
Factor VIII	Control	80 (60, 100)	77 (57, 97)	18 (12, 25)*
	Cycling	78 (58, 97)	73 (58, 88)	23 (15, 32)
INR	Control	1.0 (1.0, 1.1)	1.1 (1.0, 1.1)	1.2 (1.1, 1.3)*
	Cycling	1.1 (1.0, 1.1)	1.0 (1.0, 1.1)	1.1 (1.0, 1.2)
APTT	Control	41 (38, 44)	41 (37, 44)	63 (47, 79)*
	Cycling	39 (36, 41)	39 (37, 42)	48 (44, 52)

\*Statistically significant change from before first cycle ( $p < 0.05$ )

†Change statistically significant different from control group ( $p < 0.05$ )

(Linear mixed effects model, R version 4.1.1 with NLME version 3.1-152, The R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria)

## FIGURES

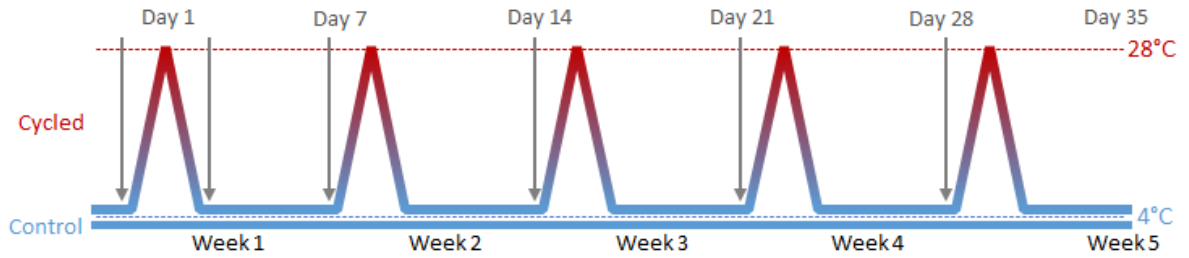


Figure 1. Cold-stored CPDA-1 whole blood was stored for 35 days and exposed to weekly four-hour temperature increases to 28°C followed by a return to 4°C. A control group was stored continuously at 4°C. Baseline samples were collected before cycling on day 1, followed by sampling one week after each cycle. An additional sample was taken four hours after return to cold storage on day 1. Samples were taken from the control group at the same time points.

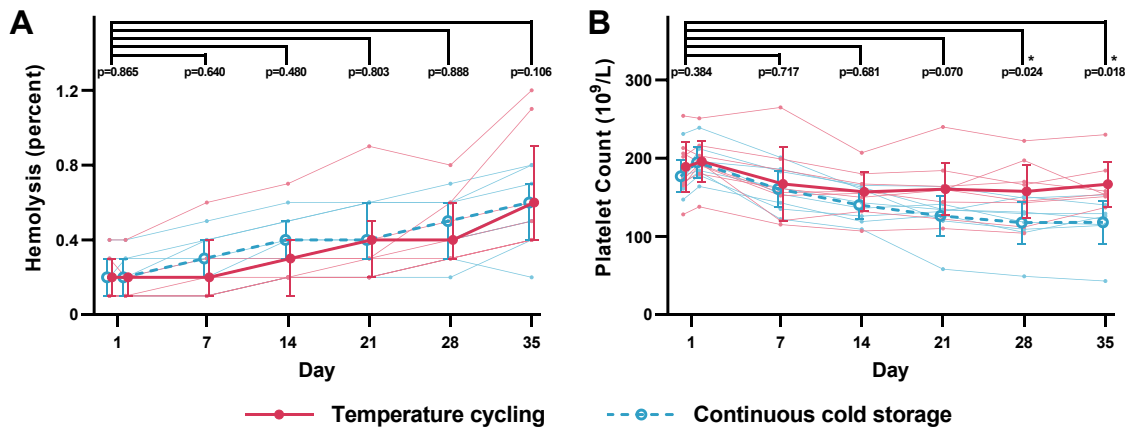


Figure 2. Hemolysis (A) and platelet count (B) in CPDA-1 whole blood stored continuously at 4°C (blue) or exposed to weekly four-hour temperature increases to 28°C (red). Points show mean values with 95% confidence intervals. P-values show significance for potential differences in change from day 1 to each time point in the test group compared to the control group (linear mixed effects model, R version 4.1.1 with NLME version 3.1-152, The R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria). Thin lines represent individual blood bags.

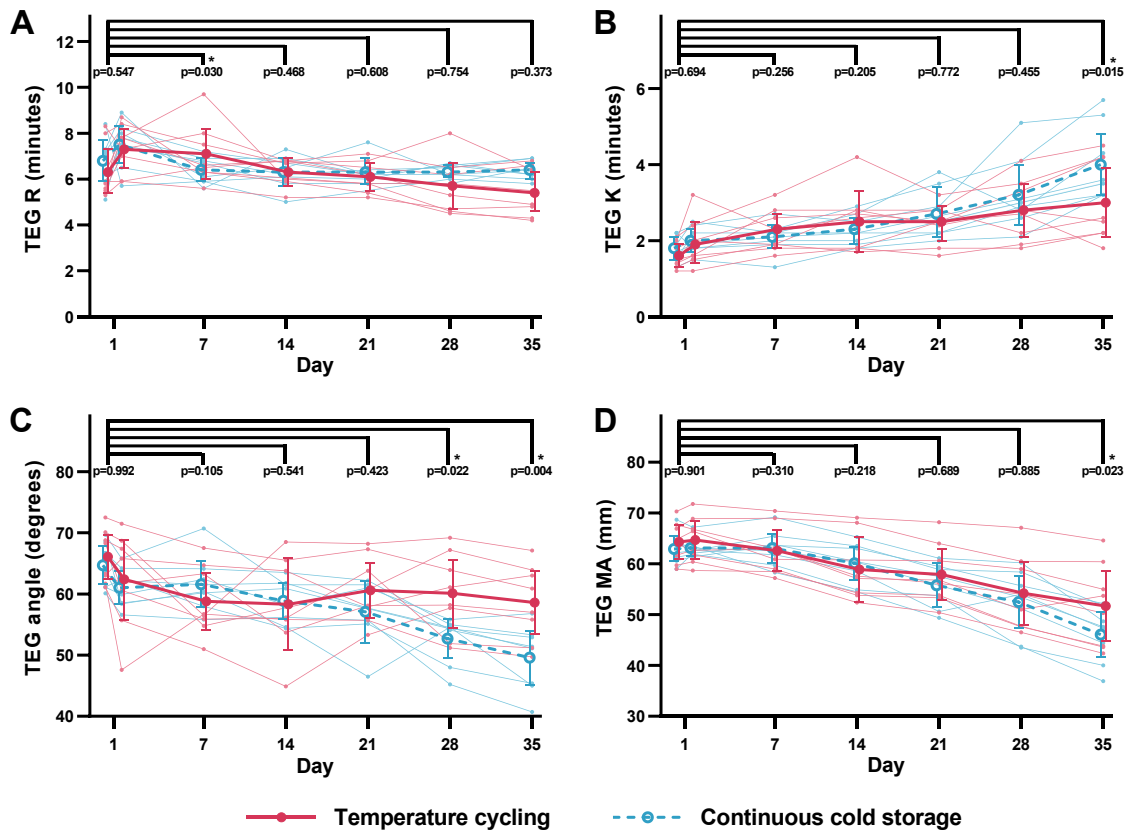


Figure 3. Thromboelastography parameters R (A), K (B), angle (C) and MA (D) in CPDA-1 whole blood stored continuously at 4°C (blue) or exposed to weekly four-hour temperature increases to 28°C (red). Points show mean values with 95% confidence intervals. P-values show significance for potential differences in change from day 1 to each time point in the test group compared to the control group (linear mixed effects model, R version 4.1.1 with NLME version 3.1-152, The R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria). Thin lines represent individual blood bags.

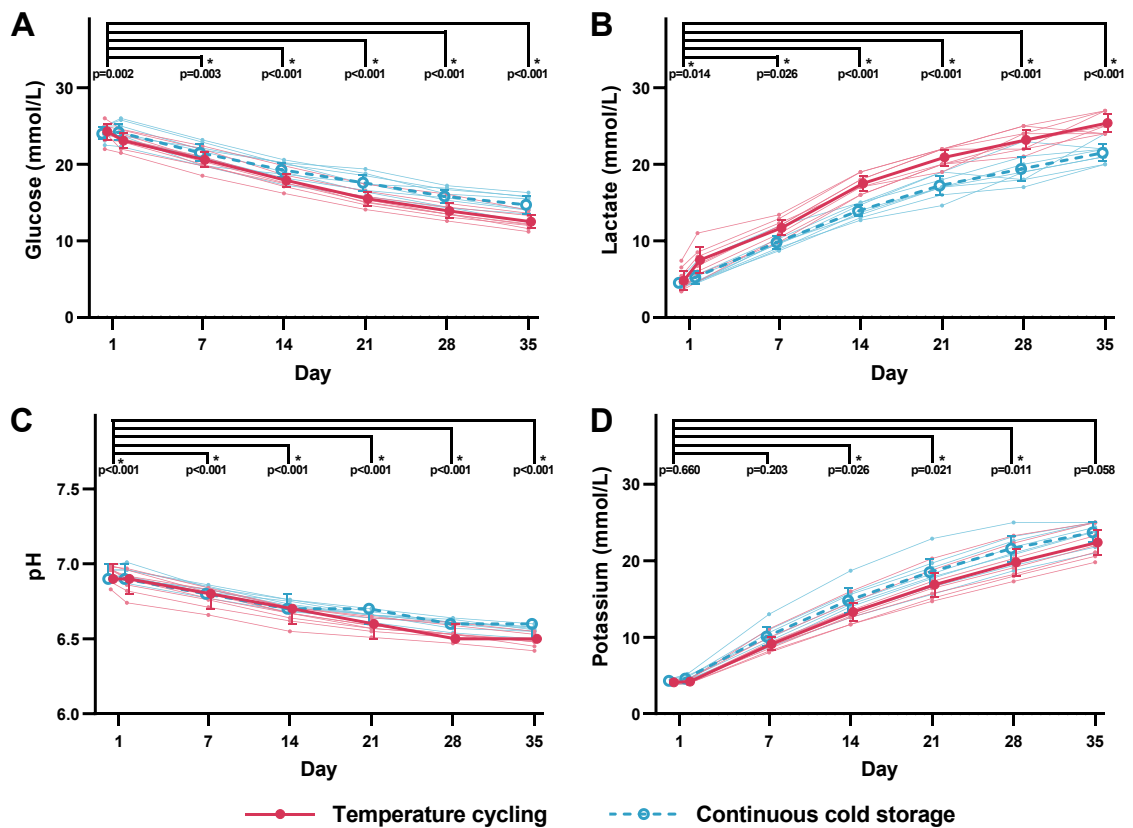


Figure 4. Glucose (A), lactate (B), pH (C), and potassium (D) in CPDA-1 whole blood stored continuously at 4°C (blue) or exposed to weekly four-hour temperature increases to 28°C (red). Points show mean values with 95% confidence intervals. P-values show significance for potential differences in change from day 1 to each time point in the test group compared to the control group (linear mixed effects model, R version 4.1.1 with NLME version 3.1-152, The R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria). Thin lines represent individual blood bags.



## SUPPLEMENTAL TABLE

Analysis	Day	Control			Test			P <sub>mean</sub>
		n	Mean (95% CI)	P <sub>time</sub>	n	Mean (95% CI)	P <sub>test</sub>	
Hemolysis (percent)	1A	8	0.2 (0.1, 0.3)	-	8	0.2 (0.1, 0.3)	0.711	0.509
	1B	8	0.2 (0.1, 0.3)	0.937	8	0.2 (0.1, 0.2)	0.865	0.365
	7	8	0.3 (0.2, 0.4)	0.075	8	0.2 (0.1, 0.4)	0.640	0.392
	14	8	0.4 (0.3, 0.5)	<0.001	8	0.3 (0.1, 0.4)	0.480	0.362
	21	8	0.4 (0.3, 0.6)	<0.001	8	0.4 (0.2, 0.5)	0.803	0.616
	28	8	0.5 (0.3, 0.6)	<0.001	8	0.4 (0.3, 0.6)	0.888	0.654
	35	8	0.6 (0.4, 0.7)	<0.001	8	0.6 (0.4, 0.9)	0.106	0.604
Platelet Count (*10 <sup>9</sup> /L)	1A	8	177.0 (156.6, 197.4)	-	8	188.9 (157.0, 220.7)	0.489	0.472
	1B	8	194.5 (175.1, 213.9)	0.045	8	195.8 (169.1, 222.4)	0.384	0.930
	7	8	160.8 (137.8, 183.7)	0.062	7	166.9 (119.2, 214.5)	0.717	0.785
	14	8	140.1 (122.3, 157.9)	<0.001	8	157.0 (131.9, 182.1)	0.681	0.218
	21	8	126.2 (100.8, 151.7)	<0.001	8	160.4 (126.9, 193.8)	0.070	0.077
	28	8	117.6 (90.5, 144.7)	<0.001	8	157.4 (123.9, 190.9)	0.024	0.048
	35	8	117.8 (90.3, 145.2)	<0.001	7	166.7 (137.8, 195.6)	0.018	0.011
Hemoglobin (g/dL)	1A	8	12.4 (11.5, 13.3)	-	8	12.2 (11.4, 13.0)	0.749	0.760
	1B	8	12.4 (11.5, 13.3)	0.710	8	12.2 (11.5, 13.0)	1.000	0.752
	7	8	12.4 (11.5, 13.4)	0.354	8	12.2 (11.4, 13.0)	0.359	0.639
	14	8	12.4 (11.5, 13.3)	1.000	8	12.3 (11.6, 12.9)	0.512	0.834
	21	8	12.4 (11.5, 13.4)	0.578	8	12.3 (11.7, 13.0)	0.359	0.882
	28	8	12.3 (11.5, 13.2)	0.354	8	12.2 (11.5, 13.0)	0.512	0.840
	35	8	12.4 (11.5, 13.2)	0.853	8	12.2 (11.4, 12.9)	0.694	0.685
Hematocrit	1A	8	0.4 (0.4, 0.4)	-	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.802	0.817
	1B	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.264	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.429	0.535
	7	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.003	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.552	0.616
	14	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.001	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.429	0.934
	21	8	0.4 (0.4, 0.4)	<0.001	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.843	0.726
	28	8	0.4 (0.4, 0.4)	<0.001	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.692	0.934
	35	8	0.4 (0.4, 0.4)	<0.001	8	0.4 (0.4, 0.4)	0.843	0.734
White Blood Cell Count (*10 <sup>9</sup> /L)	1A	8	4.8 (4.3, 5.4)	-	8	5.0 (4.1, 6.0)	0.693	0.678
	1B	8	4.8 (4.2, 5.5)	0.883	8	4.9 (3.9, 5.9)	0.652	0.941
	7	8	4.3 (3.9, 4.6)	0.037	8	4.3 (3.2, 5.4)	0.556	0.980
	14	8	3.7 (3.0, 4.4)	<0.001	8	3.6 (2.5, 4.8)	0.467	0.915
	21	8	3.1 (2.2, 3.9)	<0.001	8	2.9 (1.9, 4.0)	0.300	0.764
	28	8	2.6 (1.9, 3.4)	<0.001	8	2.4 (1.6, 3.2)	0.284	0.691
	35	8	2.3 (1.6, 3.0)	<0.001	8	2.0 (1.4, 2.6)	0.179	0.473
TEG R (minutes)	1A	8	6.8 (5.9, 7.7)	-	8	6.3 (5.4, 7.3)	0.317	0.411
	1B	8	7.5 (6.7, 8.3)	0.059	8	7.3 (6.5, 8.2)	0.547	0.774
	7	8	6.4 (5.9, 6.9)	0.262	8	7.1 (6.0, 8.2)	0.030	0.211
	14	8	6.3 (5.7, 6.9)	0.186	7	6.3 (5.7, 6.9)	0.468	0.996
	21	7	6.3 (5.8, 6.9)	0.184	8	6.1 (5.5, 6.7)	0.608	0.467
	28	8	6.3 (6.1, 6.6)	0.197	8	5.7 (4.7, 6.7)	0.754	0.191
	35	8	6.4 (6.0, 6.7)	0.235	8	5.4 (4.6, 6.3)	0.373	0.044
TEG K (minutes)	1A	8	1.8 (1.5, 2.1)	-	8	1.6 (1.3, 1.9)	0.591	0.269
	1B	8	2.0 (1.7, 2.3)	0.345	8	1.9 (1.4, 2.5)	0.694	0.809
	7	8	2.1 (1.8, 2.4)	0.184	8	2.3 (1.8, 2.7)	0.256	0.485
	14	8	2.3 (1.9, 2.6)	0.032	7	2.5 (1.7, 3.3)	0.205	0.525
	21	7	2.7 (2.1, 3.4)	<0.001	8	2.4 (2.0, 2.9)	0.772	0.407
	28	8	3.2 (2.4, 4.0)	<0.001	8	2.8 (2.1, 3.5)	0.455	0.352
	35	8	4.0 (3.2, 4.8)	<0.001	8	3.0 (2.1, 3.9)	0.015	0.083
TEG Angle (degrees)	1A	8	64.7 (61.6, 67.8)	-	8	66.1 (62.5, 69.7)	0.620	0.506
	1B	8	61.0 (58.4, 63.7)	0.045	8	62.4 (55.8, 68.9)	0.992	0.661
	7	8	61.6 (57.9, 65.4)	0.093	8	58.8 (54.1, 63.5)	0.105	0.286
	14	8	58.9 (55.9, 61.8)	0.002	7	58.3 (50.8, 65.9)	0.541	0.867
	21	7	57.1 (52.0, 62.2)	<0.001	8	60.6 (56.1, 65.1)	0.423	0.233
	28	8	52.7 (49.5, 55.9)	<0.001	8	60.1 (54.5, 65.6)	0.022	0.019
	35	8	49.6 (45.1, 54.0)	<0.001	8	58.6 (53.4, 63.8)	0.004	0.008

Analysis	Day	Control			Test			P <sub>mean</sub>
		n	Mean (95% CI)	P <sub>time</sub>	n	Mean (95% CI)	P <sub>test</sub>	
TEG MA (mm)	1A	8	62.9 (60.5, 65.4)	-	8	64.3 (61.0, 67.7)	0.602	0.438
	1B	8	63.1 (61.6, 64.6)	0.923	8	64.7 (60.9, 68.5)	0.901	0.368
	7	8	63.1 (60.2, 65.9)	0.923	8	62.6 (58.6, 66.7)	0.310	0.833
	14	8	60.1 (56.8, 63.3)	0.028	7	58.9 (52.6, 65.3)	0.218	0.705
	21	7	55.8 (51.6, 60.1)	<0.001	8	57.9 (52.9, 62.9)	0.689	0.456
	28	8	52.5 (47.3, 57.7)	<0.001	8	54.2 (48.0, 60.4)	0.885	0.634
pH	35	8	46.1 (41.6, 50.6)	<0.001	8	51.7 (44.8, 58.6)	0.023	0.133
	1A	8	6.9 (6.9, 7.0)	-	8	6.9 (6.9, 7.0)	0.956	0.957
	1B	8	6.9 (6.9, 7.0)	0.640	7	6.9 (6.8, 6.9)	<0.001	0.117
	7	8	6.8 (6.8, 6.8)	<0.001	8	6.8 (6.7, 6.8)	<0.001	0.060
	14	8	6.7 (6.7, 6.8)	<0.001	8	6.7 (6.6, 6.7)	<0.001	0.007
	21	8	6.7 (6.6, 6.7)	<0.001	8	6.6 (6.5, 6.6)	<0.001	0.002
Glucose (mmol/L)	28	8	6.6 (6.6, 6.6)	<0.001	8	6.5 (6.5, 6.6)	<0.001	0.006
	35	8	6.6 (6.5, 6.6)	<0.001	8	6.5 (6.5, 6.5)	<0.001	0.001
	1A	8	24.1 (23.3, 24.8)	-	8	24.3 (23.2, 25.3)	0.720	0.705
	1B	8	24.2 (23.2, 25.3)	0.449	7	23.1 (22.1, 24.1)	0.002	0.080
	7	8	21.5 (20.5, 22.6)	<0.001	8	20.6 (19.6, 21.6)	0.003	0.160
	14	8	19.3 (18.3, 20.2)	<0.001	8	17.9 (17.0, 18.7)	<0.001	0.023
Lactate (mmol/L)	21	8	17.6 (16.5, 18.6)	<0.001	8	15.5 (14.6, 16.4)	<0.001	0.004
	28	8	15.8 (14.9, 16.7)	<0.001	8	13.9 (13.0, 14.9)	<0.001	0.005
	35	8	14.7 (13.5, 15.8)	<0.001	8	12.5 (11.7, 13.3)	<0.001	0.003
	1A	8	4.5 (4.1, 4.9)	-	8	4.8 (3.6, 6.1)	0.595	0.533
	1B	8	5.2 (4.4, 6.0)	0.145	7	7.5 (5.8, 9.2)	0.014	0.016
	7	8	9.8 (8.9, 10.6)	<0.001	8	11.7 (10.7, 12.7)	0.026	0.004
Potassium (mmol/L)	14	8	13.9 (13.2, 14.7)	<0.001	8	17.5 (16.5, 18.5)	<0.001	<0.001
	21	8	17.2 (16.0, 18.4)	<0.001	8	20.9 (19.8, 21.9)	<0.001	<0.001
	28	8	19.4 (17.8, 21.0)	<0.001	8	23.2 (22.0, 24.5)	<0.001	<0.001
	35	8	21.5 (20.4, 22.6)	<0.001	8	25.4 (24.2, 26.6)	<0.001	<0.001
	1A	8	4.3 (4.0, 4.5)	-	8	4.1 (4.0, 4.3)	0.846	0.229
	1B	8	4.6 (4.3, 4.9)	0.463	8	4.2 (4.0, 4.3)	0.660	0.023
Fibrinogen (g/L)	7	8	10.1 (8.9, 11.3)	<0.001	8	9.1 (8.3, 10.0)	0.203	0.150
	14	8	14.8 (13.2, 16.4)	<0.001	8	13.3 (12.1, 14.5)	0.026	0.088
	21	8	18.5 (16.6, 20.3)	<0.001	8	16.9 (15.3, 18.4)	0.021	0.140
	28	8	21.6 (19.8, 23.3)	<0.001	8	19.8 (18.0, 21.6)	0.011	0.110
	35	8	23.7 (22.5, 25.0)	<0.001	8	22.4 (20.8, 24.0)	0.058	0.145
	1A	8	2.76 (2.35, 3.18)	-	8	2.79 (2.44, 3.13)	0.913	0.914
Factor VIII (IU/dL)	1B	8	2.77 (2.39, 3.16)	0.858	8	2.77 (2.40, 3.15)	0.801	1.000
	35	8	2.61 (2.26, 2.96)	0.039	8	2.52 (2.14, 2.91)	0.261	0.695
	1A	8	80.09 (60.15, 100.02)	-	8	77.83 (58.19, 97.46)	0.816	0.851
INR	1B	8	77.26 (57.24, 97.29)	0.692	8	73.15 (57.90, 88.40)	0.854	0.705
	35	8	18.49 (11.73, 25.24)	<0.001	8	23.27 (14.95, 31.60)	0.486	0.310
	1A	8	1.04 (0.99, 1.08)	-	8	1.05 (0.99, 1.11)	0.781	0.706
APTT (seconds)	1B	8	1.06 (1.02, 1.11)	0.433	8	1.02 (0.99, 1.06)	0.271	0.149
	35	8	1.18 (1.08, 1.27)	<0.001	8	1.10 (0.98, 1.22)	0.059	0.267
	1A	8	41.00 (38.21, 43.79)	-	8	38.50 (35.89, 41.11)	0.571	0.144
Plasma Hemoglobin (g/dL)	1B	8	40.62 (37.08, 44.17)	0.931	8	39.38 (36.85, 41.90)	0.839	0.509
	35	8	62.62 (46.46, 78.79)	<0.001	8	47.75 (43.66, 51.84)	0.052	0.068
	1A	8	0.4 (0.3, 0.6)	-	8	0.3 (0.2, 0.5)	0.626	0.338
	1B	8	0.4 (0.3, 0.6)	0.908	8	0.3 (0.2, 0.4)	0.870	0.214
	7	8	0.6 (0.4, 0.8)	0.086	8	0.4 (0.2, 0.6)	0.568	0.191
	14	8	0.8 (0.5, 1.1)	0.001	8	0.6 (0.3, 0.9)	0.514	0.260
Hemoglobin (g/dL)	21	8	0.9 (0.6, 1.2)	<0.001	8	0.8 (0.4, 1.1)	0.744	0.464
	28	8	1.0 (0.7, 1.3)	<0.001	8	0.9 (0.6, 1.2)	0.870	0.568
	35	8	1.2 (0.8, 1.5)	<0.001	8	1.3 (0.7, 1.9)	0.167	0.683

## VEDLEGG I. Utdrag fra lokal prosedyre for praktisk transfusjon med beskrivelse av tillatt oppbevaringstid for fullblod

### Praktisk transfusjon

Versjon:  
8.01

Det skal noteres tidspunkt for mottak av produktet/ når produktet er tatt ut av blodskap/transportkasse i felt for dette på transfusjonsjournalen som følger med produktet. Tidspunkt for oppstart av transfusjon noteres også på transfusjonsjournalen.

Tilkobling av transfusjonssett («spiking» av posen) utføres umiddelbart før transfusjonen startes.

Grunnet fare for kontaminering og oppvekst, skal transfusjonen (uansett type produkt) være avsluttet innen 4 timer etter anbrudd («spiking») av posen.

En transfusjon med **erytrocyttkonsentrat/fullblod** skal være avsluttet innen 4 timer etter at produktet er tatt ut av blodskap/transportkasse eller er mottatt på avdelingen.

Inntil pasienten er klar til transfusjon skal man derfor la erytrocytt-konsentrat/fullblod ligge i blodskap/ transportkasse eller avvente utlevering.

**Octaplasma®** kan oppbevares i inntil 8 timer i romtemperatur etter tining, men av hensyn til aktivitet av koagulasjonsfaktorer, bør transfusjon igangsettes så snart som mulig etter mottak.

Posen er merket med klistrelapp som angir dato og klokkeslett for tining. Plasma har holdbarhet i blodskap i inntil 5 døgn etter tining<sup>1</sup>, men pga. utfellinger etter lagring i blodskap anbefales ikke oppbevaring i blodskap over flere dager.

Utblanding av **Lyoplas** (frysetørket plasma) utføres nær pasienten og selve tilsetningen av medfølgende væskeløsning medfører at steriliteten til produktet brytes. Transfusjon med Lyoplas skal derfor settes i gang så snart som mulig etter utblanding.

**Trombocyttkonsentrat** oppbevares i romtemperatur ( $22 \pm 2^\circ$ ).

Produktet kan ligge i ro etter mottak, og skal ikke tildekkes i påvente av oppstart av transfusjon. Transfusjon startes så snart som mulig etter mottak, og må være påbegynt senest 6 timer etter utlevering (dette er mest aktuelt i forbindelse med forsendelse av produkter).

I noen tilfeller utleveres kalde trombocyttkonsentrat (lagret i blodskap) til pasienter med pågående blødning, slike produkter skal gis så raskt som mulig etter mottak.

#### Klargjøring av pasient og blodprodukt til transfusjon

Kontroller at posens innhold har normal farge, at det ikke er utfellinger eller koagel i posen og at det ikke er lekkasje eller skade på posen.

Innholdet i posen skal blandes godt, dette gjøres ved at den vendes fra side til side.

<sup>1</sup> Endret holdbarhet i blodskap i pakningsvedlegg og i tekst i Felleskatalogen frå 100418.

Mål BT, puls og temperatur før transfusjonsstart. Vurder respirasjon og evt. O2-metning. Pasienter med feber kan transfunderes, men det er viktig å observere og følge opp en eventuell temperaturstigning underveis i transfusjonen, se senere avsnitt om transfusjonsreaksjoner.

#### **Bruk av blodvarmer**

Blodvarmer anbefales brukt ved høy transfusjonshastighet, spesielt dersom transfusjon skal gis gjennom sentralvenøst kateter.

#### **Det skal brukes CE-merket og kvalitetssikret blodvarmer.**

Dersom pasienten har påvist kuldeantistoff, kan AIT gi råd om bruk av blodvarmer.

Blodvarmer er normalt ikke nødvendig ved transfusjon av trombocyttkonsentrat, men kan vurderes ved massiv transfusjon.

#### **Blodvarmere som er i bruk ved HUS:**

Belmont [02.1.6.5.1.17.2-01 Blod/væskevarmer Belmont RI-2](#),  
QinFlow [02.1.6.5.1.17.2-13 Blod/væskevarmer Qinflow Warrior](#),  
Biegler [02.1.6.5.1.17.2-01 Blod/væskevarmer Belmont RI-2](#),  
[02.1.6.5.1.17.2-04 Blod/væskevarmer Biegler BW 585 M](#),  
[02.1.6.5.1.17.2-06 Blod/væskevarmer Biegler BW 685 / BW 685 S](#)

14.03.19; *Innført begrenset bruk av blodvarmere av typen enFlow, se [02.1.2.1.2-03 Væskevarmer enFlow - bruk](#)*

Se [Bruksanvisning blod/væskevarmer enFlow](#), [Bruksanvisning blod/væskevarmer enFlow kort](#)

#### **Tilblanding av medikament / infusjonsvæsker**

Fullblod, erytrocyttkonsentrat, trombocyttkonsentrat og plasma må aldri tilsettes medikamenter eller infusjonsvæsker, eller gis i tilslutning til slike, eller i samme infusjonssett.

Eneste unntak er 9 mg/ml NaCl til infusjon. Se også avsnitt om transfusjonssett.

#### **Utsatt/ avlyst transfusjon**

Erytrocyttkonsentrat/fullblod skal ikke tilbake i ev. blodskap på avdelingen eller legges tilbake i transportkasse med kjøleelement dersom det har vært i romtemperatur >30 minutter. *Behold derfor produkter som utleveres i transportkasse i denne inntil transfusjonen skal startes.*

Dersom transfusjon må utsettes eller avlyses, skal poser/transportkasse returneres til AIT så raskt som mulig slik at produktene kan brukes til andre pasienter. Dette er spesielt viktig dersom fullblod utleveres uten transportkasse.

## **VEDLEGG II. Protokoll for 2017/157 Laboratorieanalyser av fullblod og blodkomponenter gitt til pasienter ved blødning**

### **IN VITRO EVALUATION OF QUALITY OF WHOLE BLOOD AND BLOOD COMPONENTS FOR TRANSFUSION IN PATIENTS WITH BLEEDING**

#### **BACKGROUND**

Blood transfusion is used to prevent or manage critical bleeding in patients undergoing medical treatment. It is a life-saving procedure in bleeding patients, and a prerequisite for preventing bleeding as a consequence of advanced medical treatment of hematological conditions and cancer. Blood transfusion is made possible through voluntary donations by healthy individuals who, by sharing their time and commitment, show solidarity and compassion with strangers. All this commits the Blood Bank to perform continuous evaluation and development of the quality of processing, storage and handling of blood intended for transfusion. This study will evaluate the quality of whole blood and blood components used for transfusion to patients undergoing medical treatment and gain new knowledge on the issue of measurements of blood quality.

#### **OBJECTIVES**

Primary aim:

The primary aim of this study is to evaluate quality of whole blood and blood components used for transfusion to patients undergoing medical treatment.

Secondary aims:

The secondary aims of this study are to:

- Evaluate changes in quality of whole blood and blood components during processing and storage.
  - Evaluate methods for measuring in vitro and in vivo quality of whole blood and blood components.
-

## METHODS

### Study design:

We aim to perform a comparative and descriptive study of quality of whole blood and blood components during processing and storage. The study will be performed for various blood components. Thus the study will consist of several sub studies with the overall aim of evaluating quality of performance and obtaining new knowledge on the issue of measurements of blood quality.

### Overview of sub studies:

#### 1. Sub study I: Whole blood

Whole blood transfusion is used in treatment of ongoing bleeding.

The aims of the whole blood sub study are to:

- i. Evaluate the impact of storage containers like the "Golden Hour box" on quality of cold stored whole blood.
- ii. Identify optimal length of storage and optimal storage conditions for whole blood according to in vitro measurements
- iii. Evaluate impact of production and/or processing methods (like leukocyte reduction versus non-leukocyte reduction, additive solutions, and similar) of whole blood on in vitro quality parameters.

#### 2. Sub study II: Platelet concentrates:

Transfusion of platelet concentrates is used for prevention of bleeding and treatment of bleeding. In this sub study we will evaluate and optimize methods for processing and storage of platelet concentrates used for treatment of bleeding. The aims of the platelet concentrate sub study are to:

- i. Evaluate the impact of cold storage compared to room temperature storage on in vitro measurements of quality.
- ii. Identify optimal length of storage and optimal storage conditions according to in vitro measurements.
- iii. Evaluate impact of production and/or processing methods (like additive solutions, and similar) on in vitro quality parameters.

#### 3. Sub study III: Evaluation of laboratory measurements of quality of whole blood and blood components (including platelet concentrates, plasma, and red blood cells)

- i. Evaluate technical quality of methods for measuring quality
  - ii. Evaluate methods for measurements of coagulation and platelet function in cold stored whole blood and platelet concentrates
-

- iii. Identify methods of simulating near to “in patient” conditions when doing laboratory testing.
- iv. Evaluate the adequacy of laboratory measurements of quality compared to in vivo testing of bleeding risk

**Study population:**

The study will be performed on whole blood or platelets obtained according to routine procedures for blood donation at the Department for Immunology and Transfusion Medicine at Haukeland University Hospital. Further processing of whole blood and platelet concentrates will then be performed according to study plan. For sub study III, the commercial available solvent detergent (SD) pooled plasma (produce by Octapharma) will be used as one of the test groups. SD pooled plasma is the plasma component at present used for routine transfusions in Helse Bergen HF and the rest of Norway.

The identity of blood donors will not be registered in the study database or on data collection forms. The donation will be given a blood collection identification number according to routine. Blood bags will be given individual study identifications numbers.

In cases where only a small portion of a donated whole blood bag is used for research (platelets), study personnel will check that the donor have given a general consent to allow samples of their blood be used in research before enrollment in the study.

**Consent to participate:**

Blood donors will be contacted by project personnel and asked to donate blood to research purposes. Informed written consent by use of general research biobank consent will be collected for participants who donate blood at Haukeland University Hospital for this study. To donate blood to this study is volunteer, and shall not be performed if medical condition suggest that blood donation should be avoided. Registered donors in quarantine due to traveling or other circumstances not affecting the health of donor or quality of blood may donate to this study. This includes may blood donors in quarantine due to traveling etc.

**Study site:**

The study will be performed at the Department of Immunology and Transfusion Medicine at Haukeland University Hospital, Bergen, Norway. This work will be undertaken in collaboration with the Blood Far Forward initiative (1), which includes Naval Special Operation Commando, The Norwegian Armed Forces Medical Services, Norwegian Special Operation Command, Norwegian Army Special Operation Commando, The Department of Immunology and Transfusion medicine Haukeland University Hospital, and US Army Institute of Surgical Research.

---

**Data collection:**

**Laboratory investigations:**

Samples will be taken from blood donors according to standard routine procedures for blood donations at Department for Immunology and Transfusion Medicine at Haukeland University Hospital. In addition extra sampling of donor may be performed if certain factors related to quality parameters and/or risks of adverse transfusion events indicate so.

Sampling of blood bags will be performed by use of sterile procedures. Samples will be taken from blood bags during preparation and storage and investigated in accordance with international and national requirements (including ABO typing, screening for erythrocyte antibodies, cell counts, hemoglobin, volume, hemolysis, bacterial contamination, investigations of certain viruses etc). In addition investigations of titers of anti-A and anti-B, HLA and HPA antibodies/antigens, cell content, and possible factors (like complement, cytokines, allergy analysis etc.) associated with adverse events of blood transfusion may be performed. The laboratory investigations performed will focus on measurements of metabolism, coagulation, and platelet function, which may include biochemical and hematological parameters, point-of-care tests of coagulation, measurements of platelet function, activation and aggregation, flow cytometry, bleeding time, and similar.

**Other information:**

Information on processing and storage will be recorded according to study plan.

Information on blood donors which may affect quality of blood components may be recorded. This may include cell counts before donation, age, gender, weight, number of donations, allergies and/or antibodies against platelets and/or leukocytes etc

**Recording of data:**

Data will be registered according to study identification numbers in a data base stored at the institutional research domain served by Helse Vest IKT.

**Statistical analysis:**

Statistical analysis will be performed by use of statistical software available at Haukeland University Hospital and under guidance by Statistical experienced personnel or Statistician at "Kompetansesenter for Klinisk Forskning", Helse Vest. Statistical analysis may also be performed in collaborating institutions after approval from the institutional "Personvernombud". Shared data will be anonymous and exchanges according to requirements from the "Personvernombud".

---



Sample size calculation will be performed for the sub studies if the documentation needed is available.

#### TIME PLAN AND PUBLICATION OF RESULTS

Sub studies will be performed and published consecutively during the study period 2017-2020. Results for the different sub studies will be published in international peer-review journals. Rules regarding authorship and publishing follow the requirements of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) and the Vancouver Rules. All co-authors should fully meet the criteria for authorship / contributor-ship defined in the Vancouver Rules, and editors can ask these individuals to complete journal-specific author and conflict-of-interest disclosure forms.

#### REFERANSER

- 1) <http://rdcr.org/research/blood-far-forward/>
-

# VEDLEGG III. Prosjektsamarbeid med laboratoriene i Laboratorieklinikken

Side 1 av 2

## Avtale om prosjektsamarbeid mellom Laboratorieklinikken og prosjekt Temperatursykling av fullblod(FBTSYKL)

### Involverte

Involverte avdelinger ved Laboratorieklinikken

Avdeling for medisinsk biokjemi og farmakologi(MBF)og avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin(AIT)

### Ansvar

Laboratorieklinikken sitt ansvar

MBF har ansvar for å opprette kode i Unilab. MBF har også ansvar for å registrere og analysere prøvene som mottas fra AIT. Analysering ved MBF: Hematologi(Hb,EVF,TPK,LPK),Blodgass(Kalium,Glukose, Laktat,pH) og Koagulasjon(INR,APTT,Fibrinogen, Faktor VIII).

Prosjektansvarlig sitt ansvar

Prosjektansvarlig må melde seg på nyhetsbrev på [Analyseoversikten.no](mailto:Analyseoversikten.no) for å holde seg oppdatert om eventuelle endringer i analysene som kan ha betydning for prosjektet.

Prosjektet må i god tid før analysering oppgi prøveid og analysedato på epost til Prosjektkoordinator. Prosjektet har også ansvar for at prøvematerialet til koagulasjonsanalyser blir fordelt i rør som kan settes direkte på instrumentet. Materiale til analysering av Faktor VIII fryses og analyseres når det er kapasitet på instrumentet. NB materiale må fryses i rør som kan settes direkte på instrumentet. Prøver til FVIII leveres samlet til analysering. Ved levering av blodgass til PNA må AIT angi at prøvene skal analyseres på ABL. Dersom prøvene skal temperaturkorrigeres har AIT ansvar for å angi dette ved levering av prøver. Prøvene som skal leveres til analysering utenfor ordinær arbeidstid må dette avtales i god tid på forhånd.

### Detaljert oversikt kostnader \*

	Beløp
Tilrettelegging/Administrasjon (engangskostnad)	2 500
Analyser v/MBF*	22 877
<b>Total pris eks mva</b>	<b>25 377</b>
<b>Total pris inkl mva</b>	<b>25 377</b>

\*Det tas forbehold om prisendringer og at prosjektet ikke medfører mer arbeid enn det som er avtalt.

### Fakturering

Tidspunkt for fakturering:

Kostnadssted: **K-10217** Prosjektnummer: **D-11775**

Faktureres årlig i desember.

### Svarrapportering

Analyseresultater rapporteres til:

Klikk her for å skrive inn tekst.

Hvordan rapportere analyseresultater

Elektronisk til pasientjournal  Elektronisk  Annet

Spesifiser for annet:

Forsker har plass på forsknings-server

Nei  Ja

### Diverse

Vil det bli etterspurt referanseverdier

Nei  Ja

Vil det bli etterspurt akkrediteringsbevis

Nei  Ja

Prøvemateriale leveres tilbake til prosjektansvarlig etter analysering

Nei  Ja

Evt. forskningssamarbeid med Laboratorieklinikken:

Klikk her for å skrive inn tekst.

Navn analysepakker i DIPS:

Helse Bergen  
Laboratorieklinikken

Ref. nr. 02.13.1.10.1.1-03  
Versjon 2.00 | 1347697

Gjelder fra:  
03.01.2019

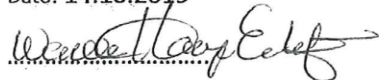
Godkjent av:  
Gunnar Mellgren

Klikk her for å skrive inn tekst.
Prosjektcode i Unilab700
Klikk her for å skrive inn tekst.

Godkjent dato 16.10.19
------------------------

**Underskrift**

Dato: 14.10.2019



For Laboratorieklinikken

16/10-19  
Dato: 16.10.19  
Einar K. Kristoffersen  
Avdelingssjef, professor  
Haukeland universitetssjukehus  
Avd. for Immunologi og transfusjonsmedisin  
5021 Bergen  
Prosjektansvarlig

## **VEDLEGG IV. Retningslinjer for forfattere i tidsskriftet Transfusion**

Welcome to TRANSFUSION, the world's foremost journal of transfusion medicine.

In addition to blood banking and transfusion medicine topics, TRANSFUSION presents submissions on cellular and gene therapies. Acceptance of papers for publication is based on merit; equal consideration is given to papers submitted by nonmembers and members of the Association for the Advancement of Blood and Biotherapies (AABB).

Manuscripts are considered for publication on the condition that they are submitted solely to TRANSFUSION. With the exception of abstracts of 500 words or fewer that are published in connection with scientific meetings, no substantial part of the paper may have been submitted for publication elsewhere.

### **SUBMISSION REQUIREMENTS**

To submit a manuscript, you will need to create an account in [Manuscript Central](#). For submission requirements for specific manuscript types, please see below. If your manuscript is accepted, your corresponding author will be notified by email with the request to log in to Author Services to complete a license agreement on behalf of all authors of the paper.

Submit all manuscripts [online](#). The entire article — 1) Title Page; 2) Abstract and Key Words; 3) Main Text; 4) Acknowledgments; 5) References; 6) Figure Legends; 7) Tables; and 8) Appendices — should be saved in a single file in Word format (.doc or .docx); only electronic figures should be supplied as separate files. Be sure to number your tables and figures (FIGURE 1, FIGURE 2, etc.) Do not use captions on your figures (Figure Legends suffice.) Please do not use footnotes.

### **TITLE PAGE**

All submissions must include a TITLE PAGE that contains all of the following: 1) the title of the article, which should be concise but informative and should not include abbreviations or brand names; 2) a short running headline of no more than 40 characters (including spaces) typed at the bottom of the title page and identified as such; 3) first and last names of each author but not his/her titles, degrees, positions, or academic rank.

Attribution for the work should be stated separately using superscript to indicate the name of department and institution — with location — to which the work should be attributed; 4) name, email address, telephone and fax number of the corresponding author; 5) the source(s) of support in the form of grants, equipment, or drugs; 6) DOUBLE-SPACE (2.0) your Word document and include word count; 7) include the number of figures and tables, as well as the number of references.

Please do not include brand names in the title and no registered trademark symbols throughout the manuscript.

CONFLICT OF INTEREST: Place a Conflict of Interest statement on your Title Page to include all conflicts of interest of any of the authors. If there are no conflicts, please state that fact.

**Please note that manuscripts with an incomplete Title Page will be returned for revision.**

### **REQUIRED FORMS**

The Conflict of Interest and Submission Fee forms are available on your sign-on page of Manuscript Central under “Instructions & Forms.”

### **PROCESS AND REVIEW OF MANUSCRIPTS**

All manuscripts are subject to editing for consistency of style by the editor, the publisher, or both. Authors will be sent page proofs and a query sheet by the publisher. Only important changes in data are allowed. The page proofs and answered query sheet should be returned directly to the publisher by email or fax within 24 hours of receipt to allow for accommodation of authors’ corrections and to avoid publication delay.

Manuscripts generally will be published in the order that they are accepted. The review process takes about six weeks, and most manuscripts require revision before final acceptance.

### **Address all inquiries to:**

Betsy Ring

Managing Editor

TRANSFUSION

[bring1@bwh.harvard.edu](mailto:bring1@bwh.harvard.edu)

(207) 671-8233

### **SUBMISSION BY MANUSCRIPT TYPE**

#### **ORIGINAL RESEARCH**

Research articles are not to exceed 3,500 words, excluding the Abstract, References and Figure Legends. Place the following sections on separate pages: Title Page, Abstract and Key Words, Main Text, Acknowledgments, References, Tables, Figures, and Figure Legends. Use the active voice when possible. All pages should be saved in a single file, with the exception of Figures.

<b>ABSTRACT</b>	<b>WORD LIMIT</b>	<b>FIGURES &amp; TABLES</b>	<b>REFERENCES</b>	<b>COLOR FEE</b>	<b>COI</b>	<b>SUBMISSION FEE</b>
250 words	3,500	8 (Total)	No limit	\$700/image	Each author must submit a COI form.	The \$50 fee is waived if at least one author is an AABB member.

The text of Original Research articles is divided into sections: ABSTRACT, INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, and DISCUSSION. Long articles may need subheads within some sections to clarify content, especially in the Materials and Methods, Results, and Discussion sections.

#### **ABSTRACT**

The ABSTRACT is divided into four sections:

**BACKGROUND:** Summarize the question that you attempted to answer.

**STUDY DESIGN AND METHODS:** Summarize how you attempted to answer the question.

**RESULTS:** Summarize your main findings.

**DISCUSSION:** Summarize the implications of your main findings.

## **INTRODUCTION**

Clearly state the purpose of the article. Summarize the rationale for the study. Give pertinent references only. Do not include data or conclusions from work being reported.

## **MATERIALS AND METHODS**

Clearly describe your selection of observational or experimental subjects (patients or animals, including controls, and the number in each study group). Identify the methods, equipment, reagents, and procedures used in sufficient detail to allow other colleagues to reproduce the results. Publication of an original research article implies that the authors are prepared to distribute freely to academic researchers for their own use any materials (e.g., cell lines, DNA clones, antibodies) used in the experiments. Give references to established methods; provide references and brief descriptions of methods that are not well-known; describe new or substantially modified methods, include reasons for using them, and describe their limitations. Identify precisely all drugs and chemicals used, including generic name(s), dose(s), and route(s) of administration.

### **Human & Animal Experiments**

When reporting experiments conducted on humans, indicate whether the procedures were in accordance with the standards of the committee(s) on human experimentation of the institution(s) where the experiments took place. Details that might identify patients should be avoided unless essential for scientific purposes. If identification of patients is unavoidable, their informed consent must be obtained. When reporting experiments conducted on animals, indicate whether the institution's or the National Research Council's guide for the care and use of laboratory animals was followed. All manuscripts dealing with recombinant DNA research must indicate the physical and biologic containment procedures practiced, in accordance with the Health Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules established by the National Institutes of Health.

### **Statistics**

Describe statistical methods in enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals). Avoid sole reliance on statistical hypothesis

testing, such as the use of p values, which fails to convey important quantitative information. Discuss the eligibility of experimental subjects. Give details about randomization. Describe the methods for and success of any blinding of observations. Report treatment complications. Specify the numbers of observations. Report losses to observation (such as dropouts from a clinical trial). References for study design and statistical methods should be to standard works (with pages stated) when possible, rather than to papers in which designs or methods were originally reported. Specify any general-use computer programs used.

## **RESULTS**

Present your results in logical sequence in the text, Tables, and Figures. Each Table or Figure must be cited in numerical order within the body of the main text. More information on Tables and Figures is presented below.

## **DISCUSSION**

Summarize your main findings. Emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions. Do not repeat in detail the data given in the Results section. Include in the Discussion section the implications of the findings and their limitations and relate the observations to other relevant studies. Link the conclusions with the stated purpose of the study, but avoid unqualified statements and conclusions not completely supported by the data presented. Avoid claiming priority and alluding to work that has not been completed. State new hypotheses when warranted, and clearly label them as such. Recommendations, when appropriate, may be included.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

Acknowledgments include one or more statements that specify: 1) contributions that should be acknowledged but do not justify authorship, such as general support by a departmental chair; 2) technical help received; 3) financial and material support, specifying the nature of the support.

People who have contributed intellectually to the paper, but whose contributions do not justify authorship, may be named and their function or contribution described as, for example, 'scientific adviser,' 'critical review of study proposal,' 'data collection,' or 'participation in clinical trial'. They must have given written permission to be named. Authors are responsible for obtaining this written permission.



## **REFERENCES**

Number the references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, Tables, and Figure Legends by Arabic numerals superscripted (after any necessary punctuation). Please include the first three listed authors, et al. in the Reference List. Try to avoid using abstracts as references; ‘unpublished observations’ and ‘personal communications’ may not be used as references, although references to written, not oral, communication may be inserted (in parentheses) in the text. Give the name of the person from whom the communication was received and the date (month and year) of the communication. References to manuscripts accepted but not yet published may be included; designate the journal name, followed by ‘in press’ (in parentheses). Information from manuscripts submitted but not yet accepted should be cited in the text as ‘unpublished observations’ or ‘submitted for publication’ (in parentheses).

References must be verified by the author(s) against the original documents. Page numbers of articles are required. Authors may be asked to provide a copy of the document if necessary for verification.

## **TABLES**

Please limit your figures and tables to a total of 8.

Type each Table clearly on a separate page. Number Tables consecutively and provide a brief title for each at the top. Give each column a short or abbreviated heading, and include units, e.g. Hemoglobin (g/dL). Place explanatory information in footnotes, not in the headings. Use superscript letters in alphabetical order for linked table footnotes (a, b, c, ...); asterisks are used for levels of probability.

If data from another published or unpublished source are used, the authors must obtain written permission to publish the data in the journal. Enclose a copy of the permission when submitting the manuscript and acknowledge the source fully. Some sources charge a fee to reprint information. It is the authors’ responsibility to pay any fees associated with publishing data from another source. TRANSFUSION does not pay for permission to reprint material.

Tables containing important backup data too extensive to be published may be made available online only as TRANSFUSION supplementary material. In that event, an appropriate statement will be added to the text.

## **FIGURES**

Please limit your figures and tables to a total of 8.

The best figures can be understood without having to refer to the Figure Legend or text.

There are three preferred formats for digital artwork submission: Encapsulated

PostScript (EPS), Portable Document Format (PDF) and Tagged Image Format (TIFF).

We suggest that line art be saved as EPS files. Alternately, these may be saved as PDF

files at 600 dots per inch (dpi) or better at final size. Tone art, or photographic images, should be saved as TIFF files with a resolution of 300 dpi at final size. For combination

figures, or artwork that contains both photographs and labeling, we recommend saving

them as EPS files, or as PDF files with a resolution of 600 dpi or better at final size.

More detailed information on the submission of electronic artwork can be found [here](#).

Photomicrographs must have internal scale markers, and the magnification must be stated. Symbols, arrows, or letters used in the photomicrographs should contrast with the background.

If any person is identifiable in a photograph, written permission from the subject(s) to use the photograph must accompany the manuscript. Cite each figure in the text in consecutive order. If a figure has been published, acknowledge the original source and submit with the manuscript written permission from the copyright holder (usually the publisher or journal) to reproduce the material. Permission is required, even for one's own publications, except for documents in the public domain.

## **FIGURE LEGENDS**

Titles for illustrations belong in your Figure Legends on a separate page, not on the illustrations themselves. Label each figure clearly using Arabic numerals (FIGURE 1, FIGURE 2, etc.). When symbols, arrows, numbers, or letters are used to identify parts of illustrations, identify and explain each one in the legends. Explain internal scales and identify methods of preparation and staining of material that are illustrated in photomicrographs.

Photographs in color are published at the authors' expense. Color reproduction in print is \$700 per figure and is confirmed by the corresponding author during the production process.

## **ABBREVIATIONS**

No abbreviations should be used in the title of the manuscript. The full term for which an abbreviation stands must precede its first use in the text for ALL abbreviations with the exception of units of measurement. Consult the following sources for additional standard abbreviations: 1) CSE Style Manual Committee. Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers. 7th ed. June 2006. 2) O'Conner M, Woodford FP. Writing scientific papers in English: an ELSE-Ciba foundation guide for authors. Amsterdam, Oxford, New York: elsevier-Excerpta Medica, 1975; and 3) Day RA, Gaster B (2006) How to Write and Publish a Scientific Paper (6th Edition). Cambridge University Press, Cambridge.

## **BLOOD GROUP TERMINOLOGY**

*Please contact Connie Westhoff, PhD ([CWesthoff@nybc.org](mailto:CWesthoff@nybc.org)) with questions.*

Red cell blood group antigen and allele terminology must follow the conventions and style according to the International Society of Blood Transfusion (ISBT) available on the ISBT Working Party on Red Cell Immunogenetics and Terminology website.

Nomenclature of platelet-specific antigens should follow the conventions outlined in Metcalfe P et. al Vox Sang. 2003;85:240-245.

### **Units of Measurement**

Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units (meter [m], kilogram [kg], liter [L]) or their decimal multiples. However, body weight may be reported in either kilograms (kg) or pounds (lb). Temperatures should be given in degrees Celsius. Blood pressure can be given in either torr or mmHg.

## **BLOOD GROUP GENOMICS**

*Please contact Connie Westhoff, PhD ([CWesthoff@nybc.org](mailto:CWesthoff@nybc.org)) with questions.*

This section accepts manuscripts covering the molecular biology of RBC's, WBC's, and platelets. These include full-length original articles, brief reports and single-page reports of new alleles and antigens describing the genetic basis of antigenic polymorphisms of clinical relevance and interest to the journal's readership. Topics also include new assays and the application of genomic science to the practice of transfusion medicine.

### **Guidelines**

- 1) Use three letter designation for amino acids. Use c. to indicate the position of the nucleotide change in the mRNA, and p. to modify the amino acid change in the protein. For example, c.574C>T, p.Arg192Trp.
- 2) cDNA sequencing or full gene sequencing is required to associate a specific polymorphism with an observed phenotypic change and to define a new allele.
- 3) Accession numbers of new or novel sequences must be provided by depositing in an appropriate database (GenBank/EMBL).
- 4) Web-based resources used (database, online computer program, etc.) should be given along with the URL in a separate section entitled “Web Resources”, following the Acknowledgments. URLs should not be included in the text as these can change. The date the URL was accessed should also be included.

### **UNITS OF MEASUREMENT**

Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units (meter [m], kilogram [kg], liter [L]) or their decimal multiples. However, body weight may be reported in either kilograms (kg) or pounds (lb).

Temperatures should be given in degrees Celsius. Blood pressure can be given in either torr or mmHg.

## VEDLEGG V. Laborieprotokoll

	<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»</b>		<b>Prosedyre</b>
	Kategori: Annet		Dok-ID: AIT-60733
Organisatorisk plassering: Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin/FoU		Forfatter: jots	Versjon: 2.01
Dok. eier: Kari Iversen Dyrdal	Dok. ansvarlig: ovto		Gyldig fra: 06.11.2020
			Gyldig til: 06.11.2021

### Hensikt

Tapping av CPDA-1 fullblod til studien «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod».

### Omfang

Innkalling, tapping, lagring, prøvetaking og analyse av fullblodposer til studiebruk.

### Målgruppe

Personer i Blood Far Forward-gruppen.

### Innhold

1	Innkalling	1
2	Tapping	1
3	Produksjon	1
4	Randomisering	2
5	Lagring	2
6	Temperatursykling	2
7	Prøvetaking	2
8	Dataregistrering	3
9	Taravekter	3
10	Ansvar	4
11	Endringslogg	4

### **1 Innkalling**

Blodgivere med blodtype O+ kalles inn etter avtalt kalender. Giver kan ha karantene grunnet reise, ny seksualpartner, ny tatovering, gjennomgått endo-/gastroskopi, piercing i slimhinner, o.l. Giver må ikke ha tatt medikamenter eller naturpreparater med platehemmende effekt siste 7 dager

### **2 Tapping**

Det innhentes informert samtykke fra giver før blodgivingen starter (V02). Giver skal signere på samtykkeskjema som ligger i studiemappen og få med seg informasjonsskriv samt kopi av signert samtykke.

Blod tappes etter prosedyre [AIT-49975 Tapping av fullblod med Terumo CPDA-1 enkeltpose](#). Posen skal ha lang slange. Posen merkes med rosa etikett som ligger i studiemappen:



### **3 Produksjon**

Produktet produseres etter [AIT-50211 Produksjon av fullblod med Terumo enkeltpose CPDA-1](#). Bruk taravekt 42 g. Det skal ikke utføres kvalitetskontroll. Behold lang slange. Ferdig produsert fullblod settes i egen bakke merket «2017/157 TEMPERATURSYKLING CPDA-1» nederst i kjøleskap 334401.100 (høyre skap på karantenerom). Kassér posen i P303 som «Til lab.bruk» med følgekode «Prosjekt» og forbruker «HSBLOD».

 HELSE BERGEN	(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»	Prosedyre
Gyldig til: 06.11.2021	Versjon: 2.01	Dok-ID: AIT-60733

#### 4 Randomisering

Posene tildeles studie-ID fortløpende etter tappetidspunkt og randomiseres som vist under.

Studie-ID	Randomisering
1	Kontroll
2	Sykling
3	Sykling
4	Kontroll
5	Sykling
6	Kontroll
7	Sykling
8	Sykling
9	Kontroll
10	Sykling
11	Sykling
12	Kontroll
13	Kontroll
14	Kontroll
15	Sykling
16	Kontroll

#### 5 Lagring

Blodposene oppbevares ved 4 °C i kjøleskap 304401.101.

#### 6 Temperatursykling

Blodposen overføres fra kjøleskap til inkubator stilt til 28 °C (334426.301). Posen blir så liggende der i 4 timer, og deretter flyttet tilbake til kjøleskap. Sykling utføres på dag 1, 7, 14, 21 og 28.

#### 7 Prøvetaking

Det utføres prøvetaking før sykling på dag 1, etter sykling på dag 1 (4 timer etter posen ble lagt i kjøleskap), før sykling på dag 7, 14, 21, 28 samt ved utløpsdato på dag 35.

- Merk prøveglass med etiketter fra Unilab og F:\AIT FoU\BarTender merkelapper\FBTSYKL\
- Sveis en 150 ml Teruflex transferpose på blodposen
- Overfør luft fra transferposen til blodposen og bland godt med roterende bevegelser.
- Overfør cirka 15 ml prøvevolum til transferpose (35 ml før sykling på dag 1 og på dag 35).
- Tøm blodposen for luft og tilbakefør blodet i slangen. Sveis av slangen 17 cm fra kanten på posen.

Følgende prøverør tas av transferposen:

Analyse	Dag	Rør	Volum (ml)
BacT/ALERT	1, 35	bioMerieux FA Plus (ref. 410851)	10
BacT/ALERT	1, 35	bioMerieux FN Plus (ref. 410852)	10
Blodgass	Alle	Terumo 1 ml (ref. SS+01T1) + Braun Combi-Stopper (ref. 4495101)	0,5
Hematologi	Alle	Vacurette K <sub>2</sub> EDTA (ref. 454246)	1,0
TEG	Alle	Vacurette Z (ref. 454241)	2,0
Plasma	Alle	Vacurette Z (ref. 454241)	5,0
Dobbelsentrifugert plasma	Alle	Axygen MaxyClear 1.5 ml (ref. MCT-150-C)	2 × 1,5

 HELSE BERGEN	<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»</b>	Prosedyre
Gyldig til: 06.11.2021	Versjon: 2.01	Dok-ID: AIT-60733

#### BacT/ALERT

Sveis en treveiskran (Braun Discifix C, ref. 16500C) på transferposen, koble på en BD Vacutainer luer adapter (ref. 367300), og fest den til en prøvetakingshylse. Overfør 10 ml blod til en FA Plus og FN Plus-flaske med steril prøvetaking og plasser i BacT/ALERT-inkubator etter prosedyre [AIT-06859 BacT/Alert - prøvetaking og innregistrering i Bact/Alert skapet](#). Ta aerob prøve først for å unngå luft i slange ved prøvetaking til anaerobt glass.

#### Blodgass

Leveres på is til PNA umiddelbart.

#### Hematologi

Leveres hematologisk seksjon.

#### TEG

Sett opp plain cup etter prosedyre [AIT-60573 TEG 6s hemostaseanalyse](#) med FBTSYKL.teg som database.

#### Plasma

Røret til plasma sentrifugeres på 1800-2200 g i 10 minutter. Plasma overføres til sekundærrør slik:

Analyse	Dag	Rør	Volum (ml)
Plasma-Hb	Alle	Sarstedt SafeSeal 2 ml PP (ref. 72.695.500)	0,1
INR, APTT, Fibrinogen	1, 35	Sarstedt ref. 72.664 + kork (ref. 65.716)	0,5
Faktor VIII	1, 35	Sarstedt 72.664 + kork (ref. 65.716)	0,5

#### Dobbelsentrifugert plasma

Rør til dobbelsentrifugert plasma sentrifugeres ved 4 °C på 2500 g i 15 minutter. Plasma overføres så til mikrorør og sentrifugeres ved 4 °C på 10 000 g i 10 minutter. Benytt kjølesentrifuge 34764.

Overfør minst 2 × 0,35 dobbelsentrifugert plasma til Thermo Scientific 1 ml Nunc-rør (ref. 366656) og frys umiddelbart ved -70 °C i fryseskap 304402.123 (1. etasje).

#### Plasma-Hb

Analyseres etter prosedyre [AIT-06800 HemoCue Low Hemoglobin Fotometer](#).

#### INR, APTT, Fibrinogen

Leveres seksjon for koagulasjon.

#### Faktor VIII

Fryses ved -70 °C i fryseskap 304402.123 (1. etasje) umiddelbart og leveres seksjon for koagulasjon etter avtale.

## 8 Dataregistrering

Data registreres i \\ihelse.net\Forskning\HBE\2017-157\FBTSYKL\

## 9 Taravekter

CPDA-1-pose med lang slange, med CPDA-1	105 g
CPDA-1-pose med lang slange, uten CPDA-1	42 g
Tillatt tappevolum CPDA-1	405 - 495 ml
Tillatt bruttovekt CPDA-1	492 - 585 g

 HELSE BERGEN	<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»</b>	Prosedyre
Gyldig til: 06.11.2021	Versjon: 2.01	Dok-ID: AIT-60733

## 10 Ansvar

Personer i Blood Far Forward-gruppen.

## 11 Endringslogg

Vesentlige endringer fra forrige versjon som bruker bør være oppmerksom på:

Versjon	Endringer i forhold til forrige versjon	Sign
1.00	Første versjon	jots
2.00	Lagt til anaerob BacT/ALERT og ref.nr. på prøverør	jots

### Vedlegg

[V01](#)

[\(2017/157\) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark \(02.13.3.17.1.2.1-04\)](#)

[V02](#)

[\(2017/157\) «Laboratorieanalyser av fullblod og blodkomponenter gitt til pasienter ved blødning»: Samtykke \(02.13.3.17.1.2.1-01\)](#)

### Interne referanser

[AIT-49975](#)

[Tapping av fullblod med Terumo CPDA-1 enkelpose](#)

[AIT-06859](#)

[BacT/Alert - prøvetaking og innregistrering i BacT/Alert skapet](#)

[AIT-50211](#)

[Produksjon av fullblod med Terumo enkeltpose CPDA-1](#)

[AIT-60573](#)

[TEG 6s hemostaseanalyse](#)

[AIT-06800](#)

[HemoCue Low Hemoglobin Fotometer](#)

### Eksterne referanser



## VEDLEGG VI. Vedtak fra regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk



Region:	Saksbehandler:	Telefon:	Vår dato:	Vår referanse:
REK nord			13.02.2017	2017/157/REK nord
			Deres dato:	Deres referanse:
			10.01.2017	

Vår referanse må oppgis ved alle henvendelser

Torunn Apelseth

Laboratorium for klinisk biokjemi. Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin.

### 2017/157 Laboratorianalyser av fullblod og blodkomponenter gitt til pasienter ved blødning

**Forskningsansvarlig:** Helse Bergen HF - Haukeland universitetssykehus

**Prosjektleder:** Torunn Apelseth

Vi viser til søknad om forhåndsgodkjenning av ovennevnte forskningsprosjekt. Søknaden ble behandlet av Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK nord) i møtet 02.02.2017. Vurderingen er gjort med hjemmel i helseforskningsloven (hfl.) § 10, jf. forskningsetikkloven § 4.

#### Prosjektleders prosjekttomtale

*Blodtransfusjon benyttes for å forebygge eller behandle blødning. Ulike former for laboratorieanalyser benyttes i dag for å vurdere kvaliteten av blod som skal gis ved transfusjon. Studien vil evaluere kvaliteten av fullblod og blodkomponenter under produksjon og lagring, og har som overordnet mål å ved hjelp av laboratorieanalyser velge ut metoder for behandling og oppbevaring av blod slik at det gir best effekt ved transfusjon til pasienter med blødninger. Studien er sammensatt av tre understudier som omhandler laboratorieanalyser for vurdering av effekt av prosessering og lagring av fullblod (I) og blodplatekonsentrater (II) samt en egen understudie for vurdering av kvaliteten av laboratorieanalyser brukt til måling av kvaliteten av blodposer (III). Studien vil bli utført på fullblod og blodkomponenter innhentet ved blodgivning. Prøver tas fra blodposer under behandling og oppbevaring av blodposene og undersøkes for celletall, funksjon, koagulasjon og markører på risiko for komplikasjon*

#### Vurdering

##### Prosjektbeskrivelse

I protokollen opplyses det at overordnet mål med studien er, ved hjelp av laboratorieanalyser, å velge ut metoder for behandling og oppbevaring av blod slik at det gir best effekt ved transfusjon til pasienter med blødninger. Studien har som mål å gjennomføre en sammenlignende og deskriptiv studie hvor en skal se på fullblod og blodkomponenter gjennom produksjon og lagring.

##### Data

Nytt humant biologisk materiale, blodprøver skal lagres i en spesifikk biobank.

Data avidentifiseres med koblingsnøkkel, og komiteen legger til grunn at det kun er prosjektleder som har tilgang til koblingsnøkkel. Blodposer skal merkes med studienummer under lagring, mens de under prosessering vil bli merket med tappenummer som kan spores tilbake til blodgiver. Blodgivers identitet vil ikke bli lagret i lister eller databaser. Det skal opprettes en koblingsliste mellom tappenummer og studienummer.

Besøksadresse:  
MH-bygget UIT Norges arktiske  
universitet 9037 Tromsø

Telefon: 77646140  
E-post: rek-nord@asp.uit.no  
Web: <http://helseforskning.etikk.com.no/>

All post og e-post som inngår i  
saksbehandlingen, bes adressert til REK  
nord og ikke til enkelte personer

Kindly address all mail and e-mails to  
the Regional Ethics Committee, REK  
nord, not to individual staff

Det er opplyst i prosjektsøknaden og samtykke-/informasjonsskriv at *anonymisert* materiale vurderes sendt til undersøkelse av genetiske markører som kan beskrive/forklare endringer i blodpose under lagring. REK påpeker at materialet er å anse som *avidentifisert, ikke anonymisert*.

Analysene vil gjøres på blodposer og genetiske funn vil angå blodkomponentens endringer og ikke direkte kunne relateres eller være relevant for blodgivers helsemessige tilstand. Det vil ikke søkes etter markører på sykdom hos blodgiver. Prøver tas fra blodposer under behandling og oppbevaring av blodposene, og undersøkes for celletall, funksjon, koagulasjon og markører på risiko for komplikasjon.

#### **Samarbeid med utlandet – USA**

Det opplyses at det skal sendes anonyme prøver fra blodposer til analyser på laboratoriemarkører. Komiteen legger til grunn at det er *avidentifiserte* prøver som sendes til analyser i USA. REK forutsetter at eventuelt overskuddsmateriale destrueres eller returneres etter at analysene er gjort.

#### **Biobank**

Det søkes om å opprette en spesifikk forskningsbiobank med navn «*In vitro kvalitet av fullblod og blodkomponenter*».

Ansvarshavende for forskningsbiobanken er Torunn Apelseth.

Forskningsbiobanken vil bestå av blodprøver.

Komiteen godkjenner opprettelse av forskningsbiobanken «*In vitro kvalitet av fullblod og blodkomponenter*» i tråd med det som er angitt i prosjektsøknaden.

Biobanken opphører ved prosjektslutt og komiteen setter en tidsavgrensning i tråd med oppbevaringstiden for øvrige data i prosjektet, ut 2020. Deretter skal materialet destrueres.

#### **Samtykkeskjema:**

Tekst i informasjon-/samtykkeskjema hvor det står at «... *anonymisert* materiale vurderes sendt til undersøkelse ...», må fjernes. Datamaterialet er å anse som *avidentifisert, ikke anonymisert* og dette må framgå av informasjon-/samtykkeskrivet.

#### **Studiedeltakere/rekruttering**

Blodgivere vil bli kontaktet av prosjektmedarbeider som vil spørre blodgiveren om de vil gi blod til forskning. Komiteen forutsetter at det legges opp til en rutine hvor den forespurte gis anledning til betenkningstid, og at et eventuelt samtykke til deltakelse også kan leveres/sendes inn på eget initiativ.

#### **Vedtak**

*Med hjemmel i helseforskningsloven §§ 2,10 godkjennes prosjektet.*

*Før prosjektet kan igangsettes må det sendes inn revidert informasjonsskriv i tråd med komiteens merknader. Skrivet sendes som vedlegg i e-post til [post@helseforskning.etikkom.no](mailto:post@helseforskning.etikkom.no)*

#### **Sluttmelding og søknad om prosjektendring**

Prosjektleder skal sende sluttmelding til REK nord på eget skjema senest 30.06.2021, jf. hfl. § 12. Prosjektleder skal sende søknad om prosjektendring til REK nord dersom det skal gjøres vesentlige endringer i forhold til de opplysninger som er gitt i søknaden, jf. hfl. § 11.

#### **Klageadgang**

Du kan klage på komiteens vedtak, jf. forvaltningsloven § 28 flg. Klagen sendes til REK nord. Klagefristen er tre uker fra du mottar dette brevet. Dersom vedtaket opprettholdes av REK nord, sendes klagen videre til Den nasjonale forskningsetiske komité for medisin og helsefag for endelig vurdering.

---

Med vennlig hilsen

May Britt Rossvoll  
Sekretariatsleder

**Kopi til:** [einar.kleboe.kristoffersen@helse-bergen.no](mailto:einar.kleboe.kristoffersen@helse-bergen.no)

---

Region: Saksbehandler: Telefon: Vår dato: Vår referanse:  
REK nord Monika Rydland 77620756 07.12.2020 28986  
Deres referanse:

Torunn Oveland Apelseth

## **28986 Laboratorianalyser av fullblod og blodkomponenter gitt til pasienter ved blødning**

**Forskningsansvarlig:** Helse Bergen HF - Haukeland universitetssykehus

**Søker:** Torunn Oveland Apelseth

### **REKs vurdering**

Vi viser til søknad om prosjektendring for ovennevnte forskningsprosjekt mottatt 24.11.2020. Søknaden er behandlet av sekretariatet i REK nord på delegert fullmakt fra komiteen, med hjemmel i forskningsetikkforskriften § 7, første ledd, tredje punktum. Søknaden er vurdert med hjemmel i helseforskningsloven § 11.

Av endrings søknaden fremgår det at prosjektperioden søkes forlenget i to år, til 31.12.2022.

REK har ingen innvendinger til omsøkte forlengelse.

Etter fullmakt er det fattet slikt

### **Vedtak**

Godkjent

Med hjemmel i helseforskningsloven § 11 godkjennes prosjektendringen.

Prosjektet er godkjent frem til ny omsøkt sluttdato 31.12.2022.

Av dokumentasjonshensyn skal opplysningene oppbevares i fem år etter prosjektslutt. Enhver tilgang til prosjektdataene skal da være knyttet til behovet for etterkontroll. Prosjektdata vil således ikke være tilgjengelig for prosjektet. Prosjektleder og forskningsansvarlig institusjon er ansvarlige for at opplysningene oppbevares indirekte personidentifiserbart i denne perioden, dvs. atskilt i en nøkkel- og en datafil.

Etter denne femårsperioden skal opplysningene slettes eller anonymiseres. Komiteen gjør

oppmerksom på at anonymisering er mer omfattende enn å kun slette koblingsnøkkelen, jf. Datatilsynets veileder om anonymiseringsteknikker.

Vi gjør samtidig oppmerksom på at etter personopplysningsloven må det også foreligge et behandlingsgrunnlag etter personvernforordningen. Dette må forankres i egen institusjon.

Med vennlig hilsen

May Britt Rossvoll  
sekretariatsleder

Monika Rydland  
rådgiver

Søknad om å foreta vesentlige endringer

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

Sluttmelding

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

#### **Klageadgang**

Du kan klage på komiteens vedtak, jf. forvaltningsloven § 28 flg. Klagen sendes til REK nord. Klagefristen er tre uker fra du mottar dette brevet. Dersom vedtaket opprettholdes av REK nord, sendes klagen videre til Den nasjonale forskningsetiske komité for medisin og helsefag (NEM) for endelig vurdering.

---

## VEDLEGG VII. Egenevalueringsskjema for personvernkonsekvensvurdering

<b>410 Rutine for gjennomføring av personvernkonsekvensvurdering (DPIA) i forskningsprosjekter</b>	Versjon: 2.00
--	------------------

### 1. Skjema

<b>Egenevalueringsskjema for DPIA</b>	
Skjema brukes for å gjennomføre egnevaluering av personvernrisiko i helseforskningsprosjekt <sup>1</sup> . Målsetning er å identifisere om det er sannsynlig at prosjektet medfører høy risiko for de registrertes rettigheter og friheter. Dersom samtlige kriterier er oppfylt, legges det til grunn at prosjektet sannsynligvis ikke medfører høy risiko for de registrertes rettigheter og friheter. Dokumentet vedlegges prosjektdokumentasjon.	
Prosjektnavn: Temperatursykling av CPDA-1 fullblod	
REK-nummer: 2017/157	
<b>DEL 1 av 2: Vurderingskriterier for prosjektleder/prosjektkoordinator</b>	
<b>Kriterium</b>	<b>Oppfylt</b>
Databehandling skjer i tråd med samtykke fra de registrerte (pasienter)	Ja
Data samles inn ved bruk av foretakets pasientjournalssystem	Ikke aktuelt
Data lagres pseudonymt (uten direkte identifiserende kjennetegn) etter innsamlingen er gjennomført	Ja
Data lagres i foretakets godkjente systemer for håndtering av forskningsdata	Ja
Databehandling skjer fullt og helt innen rammene av foretakets internkontrollsystem for forskning	Ja
Det skal ikke gjøres kobling mot data fra andre datakilder/registre	Ja
Prosjektet samler bare inn én type av særlige kategorier av personopplysninger (f.eks. helseopplysninger, opplysninger om straffbare forhold, mv.)	Ja
Prosjektet benytter ikke genetiske opplysninger i stort omfang	Ja
Prosjektet medfører ikke utlevering/tilgjengeliggjøring av opplysninger til mottakere utenfor EU/EØS	Ja
Prosjektet benytter bare teknologi som tidligere har vært benyttet aktivt i pasientbehandling ved sykehuset	Ikke aktuelt
Prosjektet gjør ikke bruk av skytjenester, kunstig intelligens, velferdsteknologi mv. som det ikke allerede foreligger risiko- og sårbarhetsvurdering og DPIA for	Ja
<b>Prosjektleders vurdering</b>	
Mål med prosjektet er å undersøke om variasjon av lagringstemperatur for fullblod foringer kvalitet av blodproduktet. Studiedeltakere er friske frivillige blodgivere som etter samtykke gir gir blod til studien. Det gjøres ingen ekstra intervensjon eller prøvetakning av blodgiver. Analyser som utføres i blodposen kan ikke brukes til å vurdere blodgivers helsesituasjon. Basert på de overnevnte kriterier kan jeg som prosjektleder ikke se at deltakelse i studien skulle medføre risiko for studiedeltakernes rettigheter eller friheter.	

<sup>1</sup> Med risiko menes produktet av sannsynlighet og konsekvens for at en persons rettigheter og friheter blir brutt

410 Rutine for gjennomføring av personvernkonsekvensvurdering (DPIA) i forskningsprosjekter	Versjon: 2.00
--	------------------

<b>DEL 2 av 2: Ansvarlig leders vurdering</b>	
Jeg er enig i prosjektleders vurderinger. Einar K. Kristoffersen, Avdelingssjef	
Risiko for de registrertes rettigheter og friheter er håndtert. Det skal ikke gjennomføres DPIA.	X
Risiko for de registrertes rettigheter og friheter er ikke håndtert, og må kartlegges nærmere. Det skal gjennomføres DPIA.	

## VEDLEGG VIII. Informasjons- og samtykkeskjema for 2017/157

### Laboratorieanalyser av fullblod og blodkomponenter gitt til pasienter ved blødning



#### FORESPØRSEL OM DELTAKELSE I FORSKNINGSPROSJEKTET

## LABORATORIANALYSER AV FULLBLOD OG BLODKOMPONENTER GITT TIL PASIENTER VED BLØDNING

Dette er et spørsmål til deg om å gi blod til et forskningsprosjekt. Studien utføres av Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin (Blodbanken) ved Haukeland universitetssjukehus. Målet med studien er å bestemme hvordan vi ved Blodbanken skal behandle og oppbevare blod slik at det gir best effekt ved transfusjon til pasienter med blødninger. Studien undersøker også hvilke laboratorieanalyser som egner seg best for å måle kvalitet av blod som skal gis til pasienter med blødning.

#### HVA INNEBÆRER PROSJEKTET?

Å delta i prosjektet innebærer at du gir blod på vanlig måte, men at vi bruker blodet til forskning. Det vil si at det ikke er sikkert at blodet du gir vil bli gitt til pasienter. I forbindelse med blodgivning vil vi ta 2-3 ekstra blodprøver fra deg, utover dette vil ikke deltagelse i studien medføre noe ekstra utover det som vanligvis hører med til å gi blod eller blodplater. Hensikten med studien er å undersøke endringer i blodposen som kan skje i etterkant av blodgivingen. Studien går ut på at vi tar ulike prøver fra blodposen under lagring for å undersøke laboratoriemål som kan knyttes til effekten av transfusjon til pasienter med blødning.

I prosjektet kan vi komme til å registrere følgende opplysninger om deg: alder, kjønn, vekt, antall blodgiver, allergi eller andre forhold som oppgis på blodgiverskjemaet som vi tror kan påvirke våre analyser av blodet du gir. Ingen informasjon vil bli registrert på ditt navn eller fødselsnummer. I databasen vil hver blodpose få et eget nummer og all informasjon registreres på dette. I blodprøver tatt fra deg vil vi undersøke markører som hjelper oss til bedre forstå svar på analyser vi gjør i blodposene. Vi kommer ikke til å registrere svarene fra undersøkelsene vi gjør i blodposene inn i din journal.

[Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin, Haukeland universitetssykehus](#)



#### MULIGE FORDELER OG ULEMPER

Vi forventer ikke at du skal ha noen andre ulemper ved deltagelse i denne studien enn det en vanlig blodgivning eller plategivning medfører. Blodgivning til studien vil bli registrert som «til forskning» i din blodgiverjournal, og er tellende som en tapping.

#### FRIVILLIG DELTAKELSE OG MULIGHET FOR Å TREKKE SITT SAMTYKKE

Det er frivillig å delta i prosjektet. Dersom du ønsker å delta, undertegner du samtykkeerklæringen på siste side. Dersom du har spørsmål til prosjektet, kan du kontakte Torunn Oveland Apelseth, overlege ved Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin (tlf. 55973092) eller våre prosjektmedarbeidere (tlf. 55972461).

#### HVA SKJER MED INFORMASJONEN OM DEG?

Informasjonen som registreres om deg skal kun brukes slik som beskrevet i hensikten med studien. Du har rett til innsyn i hvilke opplysninger som er registrert om deg og rett til å få korrigert eventuelle feil i de opplysningene som er registrert.

Alle opplysningene vil bli behandlet uten navn og fødselsnummer eller andre direkte gjenkjenning opplysninger. All informasjon og resultat av alle analyser blir registrert på et studienummer som er koblet mot tappenummeret på blodposen, dvs. aidentifisert. Listen med tappenummer og tilhørende studienummer skal lagres på egnet sted.

Prosjektleder har ansvar for den daglige driften av forskningsprosjektet og at opplysninger om deg blir behandlet på en sikker måte. Informasjon om deg vil bli anonymisert eller slettet senest fem år etter prosjektslutt.

#### HVA SKJER MED PRØVER SOM BLIR TATT AV DEG?

Prøvene som tas av blodposen du gir og av deg skal oppbevares i en forskningsbiobank. Biobanken opphører etter prosjektslutt og rester av blodprøver kastes da. Det kan være aktuelt å sende prøvemateriale til samarbeidende forskere i USA eller Europa.

#### GENETISKE UNDERSØKELSER

Det kan være aktuelt å gjøre genetiske undersøkelser av blodposen for å undersøke endringer i blodposen under produksjon og/eller oppbevaring. Vi vil ikke undersøke markører på sykdom hos deg som har gitt blodet.

#### FORSIKRING

Som deltaker i denne studien er du dekket av forsikring som ved vanlig blodgivning.

#### UTLEVERING AV OPPLYSNINGER TIL ANDRE

Ved å delta i prosjektet, samtykker du også til at aidentifiserte opplysninger eller prøver fra blodposen kan utleveres til våre samarbeidspartnere i Europa eller USA. Dette kan være land med lover som ikke tilfredsstiller europeisk personvernlovgivning. Aidentifiserte prøver kan bli sendt for genetiske undersøkelser som beskrevet over. De som mottar disse opplysningene eller prøvene har ikke tilgang til koblingslisten som knytter studienummer til tappenummer, og de har heller ikke tilgang til din identitet.

#### GODKJENNING

Prosjektet er godkjent av Regional komite for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk, REK (Saksnummer2017/157).

SAMTYKKE TIL DELTAKELSE I PROSJEKTET

JEG ER VILLIG TIL Å GI BLOD TIL FORSKNINGSPROSJEKTET  
«LABORATORIANALYSER AV FULLBLOD OG BLODKOMPONENTER GITT TIL PASIENTER VED  
BLØDNING»

Sted og dato

Deltakers signatur

Deltakers navn med trykte bokstaver

Samtykke er innhentet av:

Sted og dato

Signatur

Rolle i prosjektet

## VEDLEGG IX. Arbeidsark

<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark</b>				<b>Arbeidsark</b>
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin				Dok-ID: AIT-60734
Forfatter: jots	Dok. ansvarlig: Joar Sivertsen	Gyldig fra: 13.01.2021	Gyldig til: 13.01.2022	Versjon: 2.01

Generelt	
Studie-ID	
Tappedato	

Dag 0 (tappedag)	
Samtykke	
Samtykke innhentet av	
Riktig giver	
Tappenummer	
Lot tappesett	
Tappet av	
Vippe	
Tappetid (mm:ss)	
Tappevolum (ml)	
Bruttovekt (g)	
Kassert i ProSang	
Merknader	

<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark</b>				<b>Arbeidsark</b>
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin				Dok-ID: AIT-60734
Forfatter: jots	Dok. ansvarlig: Joar Sivertsen	Gyldig fra: 13.01.2021	Gyldig til: 13.01.2022	Versjon: 2.01

Generelt	
Studie-ID	
Tappedato	

Dag 1A (før syklus 1)	
Dato	
Unilab-ID	
Sykling	Ut av kjøleskap:                      Start 28 °C:
Prøvetaking	Lot transferpose:                      Tidspunkt:                      Vekt etter:
Plasma	Lot rør:                                      Sentrifugert (tidspunkt):
Faktor VIII	Lot rør:                                      Fryst (tidspunkt):
Dbl.s. plasma	Lot rør:                                      Sentrifugert (tidspunkt): Fryst (tidspunkt):
TEG	Lot rør:                                      Reg.nr.: Lot kaolin:                                  Lot plain cups:                      Lot CaCl <sub>2</sub> :
MBF	<input type="checkbox"/> Blodgass <input type="checkbox"/> Hematologi <input type="checkbox"/> Koagulasjon Lot sprøyte:                                  Lot rør:                                      Lot rør:
Plasma-Hb	Lot kyvette:                                  Reg.nr.:                                  Resultat:
BacT/ALERT	Lot treveiskran:                              Lot FA Plus: Lot luer adapter:                              Lot FN Plus:                              [etikett]
Merknader	

<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark</b>				<b>Arbeidsark</b>
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin				Dok-ID: AIT-60734
Forfatter: jots	Dok. ansvarlig: Joar Sivertsen	Gyldig fra: 13.01.2021	Gyldig til: 13.01.2022	Versjon: 2.01

Generelt	
Studie-ID	
Tappedato	

Dag 1B (etter syklus 1)	
Dato	
Unilab-ID	
Sykling	Stopp 28 °C:                      Start 4 °C:
Prøvetaking	Lot transferpose:                      Tidspunkt:                      Vekt etter:
Plasma	Lot rør:                      Sentrifugert (tidspunkt):
Faktor VIII	Lot rør:                      Fryst (tidspunkt):
Dbl.s. plasma	Lot rør:                      Sentrifugert (tidspunkt): Fryst (tidspunkt):
TEG	Lot rør:                      Reg.nr.: Lot kaolin:                      Lot plain cups:                      Lot CaCl <sub>2</sub> :
MBF	<input type="checkbox"/> Blodgass <input type="checkbox"/> Hematologi <input type="checkbox"/> Koagulasjon Lot sprøyte:                      Lot rør:                      Lot rør:
Plasma-Hb	Lot kyvette:                      Reg.nr.:                      Resultat:
Merknader	

<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark</b>				<b>Arbeidsark</b>
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin				Dok-ID: AIT-60734
Forfatter: jots	Dok. ansvarlig: Joar Sivertsen	Gyldig fra: 13.01.2021	Gyldig til: 13.01.2022	Versjon: 2.01

<b>Generelt</b>	
Studie-ID	
Tappedato	

<b>Dag 7 (før syklus 2)</b>	
Dato	
Unilab-ID	
Sykling	Ut av kjøleskap:                      Start 28 °C:                      Start 4 °C:
Prøvetaking	Lot transferpose:                      Tidspunkt:                      Vekt etter:
Plasma	Lot rør:                      Sentrifugert (tidspunkt):
Dbl.s. plasma	Lot rør:                      Sentrifugert (tidspunkt): Fryst (tidspunkt):
TEG	Lot rør:                      Reg.nr.: Lot kaolin:                      Lot plain cups:                      Lot CaCl <sub>2</sub> :
MBF	<input type="checkbox"/> Blodgass <input type="checkbox"/> Hematologi Lot sprøyte:                      Lot rør:
Plasma-Hb	Lot kyvette:                      Reg.nr.:                      Resultat:
Merknader	

<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark</b>				<b>Arbeidsark</b>
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin				Dok-ID: AIT-60734
Forfatter: jots	Dok. ansvarlig: Joar Sivertsen	Gyldig fra: 13.01.2021	Gyldig til: 13.01.2022	Versjon: 2.01

<b>Generelt</b>	
Studie-ID	
Tappedato	

<b>Dag 14 (før syklus 3)</b>			
Dato			
Unilab-ID			
Sykling	Ut av kjøleskap:	Start 28 °C:	Start 4 °C:
Prøvetaking	Lot transferpose:	Tidspunkt:	Vekt etter:
Plasma	Lot rør:	Sentrifugert (tidspunkt):	
Dbl.s. plasma	Lot rør: Fryst (tidspunkt):	Sentrifugert (tidspunkt):	
TEG	Lot rør: Lot kaolin:	Reg.nr.: Lot plain cups:	Lot CaCl <sub>2</sub> :
MBF	<input type="checkbox"/> Blodgass Lot sprøyte:	<input type="checkbox"/> Hematologi Lot rør:	
Plasma-Hb	Lot kyvette:	Reg.nr.:	Resultat:
Merknader			

<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark</b>				<b>Arbeidsark</b>
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin				Dok-ID: AIT-60734
Forfatter: jots	Dok. ansvarlig: Joar Sivertsen	Gyldig fra: 13.01.2021	Gyldig til: 13.01.2022	Versjon: 2.01

<b>Generelt</b>	
Studie-ID	
Tappedato	

<b>Dag 21 (før syklus 4)</b>	
Dato	
Unilab-ID	
Sykling	Ut av kjøleskap:                      Start 28 °C:                      Start 4 °C:
Prøvetaking	Lot transferpose:                      Tidspunkt:                      Vekt etter:
Plasma	Lot rør:                      Sentrifugert (tidspunkt):
Dbl.s. plasma	Lot rør:                      Sentrifugert (tidspunkt): Fryst (tidspunkt):
TEG	Lot rør:                      Reg.nr.: Lot kaolin:                      Lot plain cups:                      Lot CaCl <sub>2</sub> :
MBF	<input type="checkbox"/> Blodgass <input type="checkbox"/> Hematologi Lot sprøyte:                      Lot rør:
Plasma-Hb	Lot kyvette:                      Reg.nr.:                      Resultat:
Merknader	



<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark</b>				<b>Arbeidsark</b>
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin				Dok-ID: AIT-60734
Forfatter: jots	Dok. ansvarlig: Joar Sivertsen	Gyldig fra: 13.01.2021	Gyldig til: 13.01.2022	Versjon: 2.01

<b>Generelt</b>	
Studie-ID	
Tappedato	

<b>Dag 28 (før syklus 5)</b>			
Dato			
Unilab-ID			
Sykling	Ut av kjøleskap:	Start 28 °C:	Start 4 °C:
Prøvetaking	Lot transferpose:	Tidspunkt:	Vekt etter:
Plasma	Lot rør:	Sentrifugert (tidspunkt):	
Dbl.s. plasma	Lot rør:	Sentrifugert (tidspunkt):	
	Fryst (tidspunkt):		
TEG	Lot rør:	Reg.nr.:	
	Lot kaolin:	Lot plain cups:	Lot CaCl <sub>2</sub> :
MBF	<input type="checkbox"/> Blodgass	<input type="checkbox"/> Hematologi	
	Lot sprøyte:	Lot rør:	
Plasma-Hb	Lot kyvette:	Reg.nr.:	Resultat:
Merknader			

<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark</b>				<b>Arbeidsark</b>
Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin				Dok-ID: AIT-60734
Forfatter: jots	Dok. ansvarlig: Joar Sivertsen	Gyldig fra: 13.01.2021	Gyldig til: 13.01.2022	Versjon: 2.01

<b>Generelt</b>	
Studie-ID	
Tappedato	

<b>Dag 35</b>	
Dato	
Unilab-ID	
Sykling	Ut av kjøleskap:                      Start 28 °C:                      Start 4 °C:
Prøvetaking	Lot transferpose:                      Tidspunkt:                      Vekt etter:
Plasma	Lot rør:                      Sentrifugert (tidspunkt):
Faktor VIII	Lot rør:                      Fryst (tidspunkt):
Dbl.s. plasma	Lot rør:                      Sentrifugert (tidspunkt): Fryst (tidspunkt):
TEG	Lot rør:                      Reg.nr.: Lot kaolin:                      Lot plain cups:                      Lot CaCl <sub>2</sub> :
MBF	<input type="checkbox"/> Blodgass <input type="checkbox"/> Hematologi <input type="checkbox"/> Koagulasjon Lot sprøyte:                      Lot rør:                      Lot rør:
Plasma-Hb	Lot kyvette:                      Reg.nr.:                      Resultat:
BacT/ALERT	Lot treveiskran:                      Lot FA Plus: Lot luer adapter:                      Lot FN Plus:                      [etikett]
Merknader	

<b>(2017/157) «Temperatursykling av CPDA-1 fullblod»: Arbeidsark</b>				<b>Arbeidsark</b>
<b>Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin</b>				Dok-ID: AIT-60734
Forfatter: jots	Dok. ansvarlig: Joar Sivertsen	Gyldig fra: 13.01.2021	Gyldig til: 13.01.2022	Versjon: 2.01

<b>Generelt</b>	
Studie-ID	
Tappedato	

<b>Avvik</b>	
Dato	
Beskrivelse	
Sign.	

## Vedlegg X. Rådata for alle utførte analyser

Study ID	Study Group	Sample point	plasma-Hb	TEG R (min)	TEG K	TEG angle	TEG MA	TEG LY30	pH	Lactate	Hemoglobin	Hematocrit	WBC	Platelet count	INR	APTT	Fibrinogen	Factor VIII	Potassium	Glucose
01-FBTSYKL	Control	Day 1A	0,8	7,2	2,2	61,2	59	0	6,91	5,2	12,5	0,39	4,7	147	1,1	46	2,3	68,7	3,8	22,5
01-FBTSYKL	Control	Day 1B	0,8	7,4	1,8	62,2	62,1	0	6,87	7,4	12,5	0,41	4,6	164	1,1	47	2,3	65,7	3,9	22,3
01-FBTSYKL	Control	Day 7	1	6,8	2	61,5	63,8	0	6,77	11,9	12,5	0,4	4,4	143					9	19,8
01-FBTSYKL	Control	Day 14	1,2	6,2	2	61,8	60,4	0	6,68	15	12,4	0,41	4,5	119					14	17,3
01-FBTSYKL	Control	Day 21	1,3	6,4	2,5	57,7	57,5	0	6,64	18	12,5	0,41	4,3	127					17,7	15,8
01-FBTSYKL	Control	Day 28	1,3	6,5	3	54,5	53,4	0	6,6	21	12,3	0,4	3,6	105					21	14,3
01-FBTSYKL	Control	Day 35	1,6	6,9	3,5	51,1	47,6	0	6,55	22	12,3	0,4	3,3	126	1,3	54	2,2	25,4	23,9	13,5
02-FBTSYKL	Cycling	Day 1A	0,2	8,3	1,5	63	66,9	0	6,91	5,4	11,7	0,37	6,2	165	1	43	3,1	53,3	3,9	23,2
02-FBTSYKL	Cycling	Day 1B	0,2	7,3	1,6	65,8	68,9	0	6,86	7,9	11,9	0,39	6,2	191	1	44	3,2	47	3,9	23
02-FBTSYKL	Cycling	Day 7	0,2	8	1,8	64,7	69	0	6,76	12,3	11,8	0,38	6,1	152					8	20
02-FBTSYKL	Cycling	Day 14	0,3	6,8	1,8	63,8	68,1	0	6,64	17	11,8	0,41	5,9	155					11,7	17,1
02-FBTSYKL	Cycling	Day 21	0,5	7,1	2,5	57,9	64	0	6,57	20	12,3	0,42	5,1	160					14,7	14,7
02-FBTSYKL	Cycling	Day 28	0,5	6,5	2,7	61,1	60,5	0	6,53	23	11,7	0,39	4	145					17,3	13,1
02-FBTSYKL	Cycling	Day 35	0,8	6,8	1,8	63	60,4	0	6,49	25	11,6	0,39	3,2	154	1,1	49	3,2	19,5	19,8	12
03-FBTSYKL	Cycling	Day 1A	0,6	5,3	1,2	72,5	70,3	0	6,83	7,4	10,5	0,35	5,8	254	1,2	39	3	56,5	4,1	24,2
03-FBTSYKL	Cycling	Day 1B	0,6	5,9	1,2	71,5	71,8	0	6,74	11	10,7	0,35	5,8	251	1,1	38	3,1	77,3	4,3	22
03-FBTSYKL	Cycling	Day 7	0,9	6,5	1,6	67,5	70,4	0	6,66	13,4	10,3	0,35	5,8	265					8,5	19,8
03-FBTSYKL	Cycling	Day 14	1,3	6,8	1,8	65,5	69,1	0	6,55	19	11,3	0,38	5,2	207					12,8	17,5
03-FBTSYKL	Cycling	Day 21	1,6	6,5	1,6	67,3	68,2	0	6,51	22	11,2	0,39	4,5	240					16,4	15,8
03-FBTSYKL	Cycling	Day 28	1,5	6,2	1,9	63,9	67,1	0	6,47	22	10,8	0,39	3,6	222					19,1	14,4
03-FBTSYKL	Cycling	Day 35	2	6,6	2,2	60,9	64,6	0	6,42	27	10,6	0,38	2,9	230	1,4	51	2,8	14,7	22	13,3
04-FBTSYKL	Control	Day 1A	0,4	7,1	1,9	61,1	62,2	0	6,91	4,6	11,2	0,35	4,4	175	1	42	2,8	79,7	4,1	23,8
04-FBTSYKL	Control	Day 1B	0,5	7,8	1,9	59,9	62,6	0	6,9	4,7	11,2	0,36	4,4	200	1	43	2,7	67,2	4,4	23,7
04-FBTSYKL	Control	Day 7	0,7	6,9	2,1	62,4	65,5	0	6,83	9,1	11,3	0,37	4,5	154					9	22,1
04-FBTSYKL	Control	Day 14	0,9	6,9	2,2	58,2	63,5	0	6,71	12,7	11,3	0,36	4,1	136					13,1	20,2
04-FBTSYKL	Control	Day 21	1	6,2	2,2	61	58,9	0	6,66	14,6	11,1	0,37	3,4	141					16,6	17,4
04-FBTSYKL	Control	Day 28	1,1	6,6	2,6	55,8	58,4	0	6,61	19	11,2	0,37	2,9	118					19,4	16,9
04-FBTSYKL	Control	Day 35	1,3	6,2	3,2	56,8	51,8	0	6,57	21	11,3	0,38	2,6	115	1,2	59	2,6	8	21,8	15,7

Study ID	Study Group	Sample point	plasma-Hb	TEG R (min)	TEG K	TEG angle	TEG MA	TEG LY30	pH	Lactate	Hemoglobin	Hematocrit	WBC	Platelet count	INR	APTT	Fibrinogen	Factor VIII	Potassium	Glucose
05-FBTSYKL	Cycling	Day 1A	0.2	5,5	2	61,7	59	0	6,96	4,5	13	0,41	5	170	1	37	2,1	111,4	3,9	24,1
05-FBTSYKL	Cycling	Day 1B	0.2	8,7	3,2	47,6	58,7	0	6,9	6,9	12,9	0,39	5	180	1	38	2,2	103,5	3,9	23,2
05-FBTSYKL	Cycling	Day 7	0.2	6,3	2,3	56,7	58,5	0	6,8	11,9	12,9	0,41	4,8	161					8,2	20,4
05-FBTSYKL	Cycling	Day 14	0.4	5,9	2,6	55,8	54,3	0	6,67	18	12,8	0,41	3,6	150					11,7	17,6
05-FBTSYKL	Cycling	Day 21	0.5	5,4	2,8	55,7	53,8	0	6,57	22	12,8	0,41	2,6	159					15,1	15,1
05-FBTSYKL	Cycling	Day 28	0.6	4,5	4,1	51,2	47,7	0	6,53	25	12,9	0,41	2,3	197					18	13,5
05-FBTSYKL	Cycling	Day 35	0.9	4,3	4,5	49,7	43,6	0	6,48	27	12,8	0,42	1,9	153	1	45	1,9	30	20,6	12,1
06-FBTSYKL	Control	Day 1A	0.2	5,1	1,5	68,6	63,9	0	6,96	4,2	13,6	0,44	4,6	178	1,1	40	3	109,4	4,4	24,4
06-FBTSYKL	Control	Day 1B	0.2	8	2,2	58,4	62,7	0,1	6,96	4,8	13,5	0,42	4,7	184	1,1	40	2,9	104,7	4,8	24,1
06-FBTSYKL	Control	Day 7	0.3	6,1	2,2	60,4	61,8	0	6,85	9,7	13,5	0,43	3,8	162					11	21,7
06-FBTSYKL	Control	Day 14	0.4	6,5	2,7	54,6	58,6	0	6,73	14,7	13,4	0,44	3,3	143					15,8	19
06-FBTSYKL	Control	Day 21	0.4	7,6	3,8	46,5	50,6	0	6,66	19	13,5	0,44	2,8	134					19,7	16,4
06-FBTSYKL	Control	Day 28	0.7	6,2	2,8	54,6	54	0	6,57	23	13,4	0,44	2,3	129					23,2	14,4
06-FBTSYKL	Control	Day 35	0.6	6	4,3	45	47,3	0	6,55	22	13,4	0,45	1,9	129	1,2	60	3,3	12	25	12,4
07-FBTSYKL	Cycling	Day 1A	0.2	6,3	2,1	61,1	59,7	0	6,88	6,5	13,6	0,43	3,8	128	1	41	2,9	68,5	4,4	26
07-FBTSYKL	Cycling	Day 1B	0.2	7,8	2,4	55,7	60,4	0	6,82	8,5	13,5	0,43	3,4	138	1	41	2,9	79,5	4,5	24,6
07-FBTSYKL	Cycling	Day 7	0.4	6,6	3,2	51	57,2	0	6,71	12,9	13,6	0,44	2,8	115					10	22,4
07-FBTSYKL	Cycling	Day 14	0.6	6,8	4,2	44,9	52,4	0	6,62	19	13,6	0,45	2	107					14,5	19,8
07-FBTSYKL	Cycling	Day 21	0.8	6,2	3,2	53,3	50,4	0	6,55	22	13,7	0,45	1,4	110					18,8	17,4
07-FBTSYKL	Cycling	Day 28	1.4	5,3	3,5	57,7	46,5	0	6,51	25	13,6	0,45	1,2	104					22,3	16,1
07-FBTSYKL	Cycling	Day 35	2,8	4,9	4,2	55,8	42,4	0	6,49	24	13,4	0,45	1,1		1,1	47	2,6	25	25	14
08-FBTSYKL	Cycling	Day 1A	0.3	8	1,8	63,3	61,7	0	6,97	4,7	13	0,4	4,1	202	1	41	2,4	55,1	4	25
08-FBTSYKL	Cycling	Day 1B	0.3	8,4	2	61,7	62,7	0	6,9	6,7	13	0,4	4,1	216	1	42	2,4	58,9	4,2	23,4
08-FBTSYKL	Cycling	Day 7	0.3	7,5	1,9	63,3	62,9	0	6,77	11,9	12,9	0,42	3,5	199					9,3	21
08-FBTSYKL	Cycling	Day 14	0.4	6,7	2,8	53,7	57,1	0	6,67	18	13	0,42	2,5	180					13,5	18

08-FBTSYKL	Cycling	Day 21	0,5	6,8	2,4	58,1	56,8	0	6,59	22	13	0,42	2,1	184					17,3	15,4
08-FBTSYKL 08-FBTSYKL	Cycling Cycling	Day 28 Day 35	0,7 0,8	8 6,4	2,8 2,5	58,2 57	51 53,7	0 0	6,53 6,48	24 24	12,9 12,8	0,41 0,41	1,7 1,5	166 184	1,1	56	2,2	11	20,3 23,3	13,5 11,6
Study ID	Study Group	Sample point	plasma-Hb	TEG R (min)	TEG K	TEG angle	TEG MA	TEG LY30	pH	Lactate	Hemoglobin	Hematocrit	WBC	Platelet count	INR	APTT	Fibrinogen	Factor VIII	Potassium	Glucose
09-FBTSYKL	Control	Day 1A	0,4	7,2	2,2	60,1	61,3	0	6,92	5,1	13,4	0,43	4,2	161	1	44	2,5	54,9	4,6	25
09-FBTSYKL	Control	Day 1B	0,4	8,2	2,4	56,6	61,9	0	6,91	5,6	13,5	0,42	4,4	178	1,1	45	2,4	43,8	5,2	26
09-FBTSYKL	Control	Day 7	0,9	7,2	2,7	55,8	59,7	0	6,81	10,3	13,3	0,43	4,4	135				13	23,2	
09-FBTSYKL	Control	Day 14	1,2	6,7	2,5	56,2	54,9	0	6,75	15	13,5	0,44	4	126				18,7	20,6	
09-FBTSYKL	Control	Day 21	1,4	6,2	2,9	55,7	53,7	0	6,66	19	13,5	0,45	3,6	132				22,9	18,8	
09-FBTSYKL	Control	Day 28	1,7	6,6	5,1	45,2	43,5	0	6,63	18	13,3	0,45	3,1	151				25	16,1	
09-FBTSYKL	Control	Day 35	1,9	6,9	5,3	40,7	40	0	6,56	24	13,5	0,44	2,6	140	1,2	64	2,3	12	25	15,5
10-FBTSYKL	Cycling	Day 1A	0,3	5,9	1,3	70,1	67,7	0	6,96	3,4	11,6	0,36	3,3	213	1,1	38	2,8	92,2	4,1	22
10-FBTSYKL	Cycling	Day 1B	0,3	5,9	1,5	68,7	66,8	0	6,92	5,6	11,5	0,36	3,2	203	1,1	39	2,7	88,4	4,2	21,5
10-FBTSYKL	Cycling	Day 7	0,4	5,6	1,9	56,5	63	0	6,83	9,8	11,6	0,37	2,5					8,8	18,5	
10-FBTSYKL	Cycling	Day 14	0,5	5,2	1,7	68,5	57,6	0	6,71	16	11,5	0,37	2,3	167				12,6	16,2	
10-FBTSYKL	Cycling	Day 21	0,6	5,2	1,8	68,2	56,2	0	6,64	20	11,4	0,37	2	164				15,7	14,1	
10-FBTSYKL	Cycling	Day 28	0,6	4,7	1,8	69,2	54	0	6,61	22	11,5	0,37	1,9	170				18,2	12,6	
10-FBTSYKL	Cycling	Day 35	0,8	4,8	2,2	67,1	50,3	0	6,55	24	11,6	0,36	1,4	158	1,1	44	2,4	43	21,1	11,2
11-FBTSYKL	Cycling	Day 1A	0,4	5,8	1,5	68,3	64,6	0	6,98	3,5	12,1	0,38	6,3	206	1,1	35	2,6	107,3	4,2	25
11-FBTSYKL	Cycling	Day 1B	0,4	7,8	2	60,6	61,8	0	6,97		12,3	0,38	5,7	195	1	39	2,3	58	4,1	
11-FBTSYKL	Cycling	Day 7	0,6	9,7	2,6	55,9	59	0	6,84	10,4	12,2	0,39	4,5	120				9,2	22	
11-FBTSYKL	Cycling	Day 14	0,6	6	2,7	56	53,8	0	6,71	16	12,1	0,38	4,1	132				13,4	18,6	
11-FBTSYKL	Cycling	Day 21	0,7	5,8	2,5	63,8	53,3	0	6,65	20	12,3	0,39	2,7	122				16,6	16,5	
11-FBTSYKL	Cycling	Day 28	0,8	5,8	3,3	51,9	47,6	0	6,59	21	12,1	0,39	2,4	112				19,8	14,9	
11-FBTSYKL	Cycling	Day 35	1,1	5,5	4,2	51,2	43,8	0	6,53	25	12,3	0,4	2,2	137	1,1	50	2,1	19	22,3	13,6
12-FBTSYKL	Control	Day 1A	0,4	8,4	1,9	63,7	64,2	0	6,99	3,9	12,2	0,37	5,7	177	1	39	2,3	61,7	4,3	25
12-FBTSYKL	Control	Day 1B	0,4	5,7	2,5	58,5	63,1	0	7,01	4,7	12,3	0,39	6,3	212	1,1	35	2,6	92,6	4,5	25,8
12-FBTSYKL	Control	Day 7	0,5	5,9	2,2	60,2	62,6	0	6,84	8,7	12,2	0,4	5,1	183				10,6	22,9	
12-FBTSYKL	Control	Day 14	0,7	5	2,2	60,9	60,3	0	6,76	13	12,1	0,39	4,8	165				15,6	20	
12-FBTSYKL	Control	Day 21	0,8						6,7	16	12,3	0,42	4,2	164				19,1	18,5	
12-FBTSYKL	Control	Day 28	0,9	6	3,1	54,3	51,2	0	6,64	17	12,1	0,41	3,7	149				22,6	16,7	
12-FBTSYKL	Control	Day 35	1,1	5,8	3,6	52,9	44,4	0	6,6	20	12,3	0,42	3,3	153	1,2	53	2,3	13	25	15,8

Study ID	Study Group	Sample point	plasma-Hb	TEG R (min)	TEG K	TEG angle	TEG MA	TEG LY30	pH	Lactate	Hemoglobin	Hematocrit	WBC	Platelet count	INR	APTT	Fibrinogen	Factor VIII	Potassium	Glucose
13-FBTSYKL	Control	Day 1A	0.2	7.3	1.3	69.7	68.7	0	6.92	4	10.4	0.34	5.9	231	1	36	3.8	78.9	4.1	23.6
13-FBTSYKL	Control	Day 1B	0.2	8.9	1.5	65.8	67.2	0.1	6.92	4.5	10.4	0.34	5.8	239	1	36	3.8	70.4	4.4	23.8
13-FBTSYKL	Control	Day 7	0.2	5.6	1.3	70.7	69.2	0	6.8	8.9	10.5	0.35	4	201					8.7	19.8
13-FBTSYKL	Control	Day 14	0.3	7.3	1.8	61.5	65.3	0	6.69	13.7	10.5	0.36	2.3	160					12.6	18.7
13-FBTSYKL	Control	Day 21	0.4	6.2	2	61.5	61.1	0	6.61	17	10.4	0.37	1.6	120					15.6	17.5
13-FBTSYKL	Control	Day 28	0.4	6.2	2.1	54.1	60.2	0	6.54	19	10.5	0.35	1.3	109					18.7	15.3
13-FBTSYKL	Control	Day 35	0.7	6.4	3.2	51.4	48.7	0	6.5	21	10.5	0.36	1.2	114	0.9	109	3.2	22	21	14
14-FBTSYKL	Control	Day 1A	0.6	6.2	1.7	66.7	63.6	0	6.9	4.7	13.1	0.41	4.9	168	1.1	38	2.9	122.4	4.6	25
14-FBTSYKL	Control	Day 1B	0.6	6.5	1.9	62.6	63.5	0	6.9	5.4	13.1	0.42	4.6	183	1.1	38	2.9	113.7	5	25
14-FBTSYKL	Control	Day 7	0.7	5.9	2.3	58	58.3	0	6.83	9.6	13.4	0.43	3.7	122					9.9	21.9
14-FBTSYKL	Control	Day 14	0.8	6.1	2.9	54.4	54.5	0	6.72	14	13.2	0.43	3	109					14.6	20.2
14-FBTSYKL	Control	Day 21	0.9	6	3.5	55.1	49.4	0	6.66	17	13.3	0.44	1.8	58					18.3	19.4
14-FBTSYKL	Control	Day 28	1	6.7	4.1	48	43.7	0	6.61	18	13.1	0.42	1.4	49					21.8	17.2
14-FBTSYKL	Control	Day 35	1.1	6.2	5.7	45.4	36.9	0	6.58	20	13.1	0.42	1.2	43	1.2	49	2.6	27	24.4	16.3
15-FBTSYKL	Cycling	Day 1A	0.5	5.6	1.4	68.8	64.8	0	6.99	3.4	12.3	0.38	5.6	173	1	34	3.4	78.3	4.4	24.6
15-FBTSYKL	Cycling	Day 1B	0.4	7	1.6	67.4	66.4	0		6	12.2	0.38	5.7	192	1	34	3.4	72.6	4.3	24
15-FBTSYKL	Cycling	Day 7	0.5	6.3	2.8	54.8	60.9	0	6.81	10.9	12.3	0.4	4.1	156					11.1	20.7
15-FBTSYKL	Cycling	Day 14	0.7						6.67	17	12.2	0.42	3.6	158					16	18
15-FBTSYKL	Cycling	Day 21	0.8	5.8	2.8	60.7	60.6	0	6.59	19	12.1	0.41	2.9	144					20.3	15
15-FBTSYKL	Cycling	Day 28	1	4.6	2.2	67.2	59	0	6.53	24	12.3	0.43	2.3	143					23.3	13.5
15-FBTSYKL	Cycling	Day 35	1.3	4.2	2.6	63.9	55	0	6.45	27	12.3	0.42	2.1	151	0.9	40	3	24	25	12.2
16-FBTSYKL	Control	Day 1A	0.4	5.9	1.6	66.7	60.6	0	6.96	4.2	12.7	0.38	4.1	179	1	43	2.5	65	4.3	23.1
16-FBTSYKL	Control	Day 1B	0.4	7.5	1.8	64.2	61.4	0.1	6.96	4.6	12.8	0.39	4	196	1	41	2.6	60	4.6	23.3
16-FBTSYKL	Control	Day 7	0.6	6.7	1.9	64.1	63.6	0	6.86	9.8	12.9	0.41	4.3	186					9.5	20.9
16-FBTSYKL	Control	Day 14	0.8	5.8	1.9	63.5	63	0	6.76	13.4	12.7	0.4	3.7	163					14.3	18.2
16-FBTSYKL	Control	Day 21	0.9	5.8	2.2	62.2	59.5	0	6.68	17	12.8	0.4	3	134					17.9	16.6
16-FBTSYKL	Control	Day 28	0.9	5.8	2.9	55	55.7	0	6.61	20	12.7	0.41	2.6	131					20.8	15.6
16-FBTSYKL	Control	Day 35	1.2	6.5	3.2	53.3	52.2	0	6.58	22	12.6	0.4	2.5	122	1.2	53	2.4	28.5	23.8	14.1