

Kandidatnummer 10002

Verifisering av holdbarhet for rutine koagulasjonsanalyser (PT-INR, APTT, fibrinogen, D-dimer)

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag BI301305

Veileder: Ole-Lars Brekke, Pernilla Sofia Fagervik, Ingrid Sofie Joakimsen & Anne Synnøve Røsvik

Mai 2021

Kandidatnummer 10002

Verifisering av holdbarhet for rutine koagulasjonsanalyser (PT-INR, APTT, fibrinogen, D-dimer)

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag BI301305
Veileder: Ole-Lars Brekke, Pernilla Sofia Fagervik, Ingrid Sofie Joakimsen & Anne Synnøve Røsvik
Mai 2021

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for biologiske fag Ålesund



Kunnskap for en bedre verden

Sammendrag

Denne oppgaven er en holdbarhetsstudie for rutine koagulasjonsanalyser (PT-INR, APTT, fibrinogen og D-dimer). Det ble undersøkt holdbarhet for plasma stående på blodlegemer og avpipetert plasma oppbevart i romtemperatur over tid. Dette ble gjennomført med bakgrunn i at de interne rekvirentene etterbestiller rutine koagulasjonsanalyser for ekstra-citratglass, og at primærhelsetjenesten benytter seg av prøvebag eller postvesenet for å sende avpipetert plasma i et sekundærglass.

Det ble samlet inn fem natriumcitrat-glass fra hver ansatt og pasient som deltok i oppgaven. To av fem prøveglass var for rutine koagulasjonsanalysene (denne oppgaven). Resten ble samlet inn for spesielle koagulasjonsanalyser (laboratoriepersonalet utfører dette senere). Det første citratglasset ble sentrifugert og analysert direkte på blodlegemer for PT-INR, APTT, fibrinogen og D-dimer. Det andre citratglasset ble sentrifugert og deretter avpipetert i et nytt sekundærglass før analysering. Prøvene ble analysert i seks tidsintervaller (0, 4, 8, 24, 48 og 72 timer) på Sysmex CS-5100. Batch-metoden og statistiske tester ble benyttet for å vurdere holdbarheten til de ulike analysene.

Resultatene viste at prøver som ble analysert i et sekundærglass (avpipetert plasma), hadde lengre holdbarheten enn prøver som ble analysert direkte på blodlegemer. Det viste seg at verdiene til analysene var mer stabilt i avpipetert plasma enn plasma stående på blodlegemer. PT-INR hadde en holdbarhet på 24 timer i avpipetert plasma og i plasma stående på blodlegemer. APTT hadde en holdbarhet på null til mindre enn fire timer. Fibrinogen i plasma stående på blodlegemer hadde en holdbarhet på åtte timer, men 24 timer i avpipetert plasma. D-dimer i avpipetert plasma hadde en holdbarhet på 24 timer. Holdbarheten for D-dimer i plasma stående på blodlegemer var 72 timer.

Forord

Denne bachelor-oppgaven ble utført i forbindelse med faget BI301305-Bacheloroppgave i bioingeniørfaget ved fakultet for naturvitenskap institutt for biologiske fag ved Norges teknisk-naturvitenskaplige universitetet (NTNU) i Ålesund. Oppgaven ble utført i perioden 22. mars - 24. mai 2021. Det praktiske arbeidet som besto av planlegging, prøvebehandling, og analysering, ble utført ved Sentrallaboratoriet ved Nordlandssykehuset HF (NLSH) i Bodø.

Jeg ønsker å rette en stor takk til fagansvarlig bioingeniør Pernilla Sofia Fagervik og bioingeniør Ingrid Sofie Joakimsen for alle veiledninger og god hjelp med holdbarhetsstudien. Tusen takk til overlege Ole-Lars Brekke for gode råd og faglige veiledninger. Tusen takk også til ansatte ved Sentrallaboratoriet og preanalytisk enhet ved Nordlandssykehuset for gode råd til oppgaven, god hjelp til blodprøvetaking, og for at jeg ble tatt så godt imot gjennom hele bachelorperioden. Til slutt ønsker jeg å si tusen takk til Anne Røsvik, institutt for biologiske fag ved NTNU, for god hjelp til det skriftlige arbeid med oppgaven.

Bodø 10. mai 2021

Innholdsfortegnelse

Sammendrag.....	i
Forord.....	ii
Innholdsfortegnelse.....	iii
Ordliste.....	iv
1 Innledning.....	1
1.1 Problemstillinger.....	1
1.2 Teori om koagulasjonssystemet.....	2
1.3 International Normalized Ratio (PT-INR).....	3
1.4 Aktivert partiell tromboplastintid (APTT).....	4
1.5 Fibrinogen.....	4
1.6 D-dimer.....	5
1.7 Preanalytisk behandling for citratplasma.....	5
2 Materialer og metode.....	8
2.1 Verifisering av sentrifugene for citratplasma.....	8
2.2 Verifisering av holdbarhet for rutine koagulasjonsanalyser.....	9
2.3 Analysering av prøver.....	11
2.3.1 CellDyne Sapphire.....	11
2.3.2 Sysmex CS-5100.....	12
2.4 Statistiske analyser og vurderinger.....	13
2.5 Etiske vurderinger.....	15
3 Resultater.....	16
3.1 Trombocytresultater.....	16
3.2 International Normalized Ratio (PT-INR).....	16
3.3 Aktivert partiell tromboplastintid (APTT).....	17
3.4 Fibrinogen.....	17
3.5 D-dimer.....	19
3.6 Statistiske resultater (parvis Wilcoxon-test).....	20
4 Diskusjon.....	21
4.1 Verifisering av sentrifugene for citratplasma.....	21
4.2 Verifisering av holdbarhet for rutine koagulasjonsanalyser.....	21
5 Konklusjon.....	26
6 Referanseliste.....	27
7 Vedlegg.....	29

Ordliste

Ord/forkortelse	Betydning
Antikoagulant	Stoffer som hindre blodkoagulering
CaCl ₂	Kalsiumdiklorid (kalsiumioner)
In vitro	I glass
In vivo	I kroppen
KI	Konfidensintervall
Klottdannelse	Dannelsen av koagel
Signifikantforskjell	Statistikk: forskjell som har betydning for om H ₀ -hypotesen forkastes eller ikke
TF	Tissue faktor
Trombocytter	Blodplater
Vitamin K-antagonister	Legemidler som hemmer vitamin K avhengige koagulasjonsfaktorer

1 Innledning

Rutine koagulasjonsanalyser (INR, APTT, fibrinogen og D-dimer) blir benyttet ved diagnostikk av koagulasjonsforstyrrelser og oppfølging av pasienter som bruker blodfortynnende medikamenter. Sentrallaboratoriet ved Nordlandssykehuset i Bodø får oftest etterbestillinger av disse analysene fra inneliggende pasienter på sykehuset. I tillegg til innsendte prøver som kommer fra primærhelsetjenesten. For at klinikken skal kunne utføre prøver som ikke er ferske, er det nødvendig å vite holdbarheten til de forskjellige analysene. Som oftest er analysens holdbarhet oppgitt ut ifra leverandørens pakningsvedlegg for reagensene, og ikke pasientens prøver. Prøver fra friske og syke personer som har blitt oppbevart på ulike tidspunkter, kan endre seg forskjellig. Dermed kan det være interesse for å utføre en egen holdbarhetsstudie slik at man kan studere hvordan prøver endrer seg in vitro.

1.1 Problemstillinger

A: Verifisering av holdbarhet for rutine koagulasjonsanalyser (PT-INR, APTT, fibrinogen, D-dimer)

«Prøvematerialets holdbarhet er den evne materialet har til å beholde opprinnelig måleverdi innenfor definerte grenser når det lagres under definerte forhold i et definert tidsrom» (1)

Hensikten med holdbarhetsstudien er å undersøke om prøver fortsatt kan analyseres etter definerte oppbevaringsforhold, slik at man kan sikre seg riktige analyseresultater og riktig preanalytisk behandling av prøver. Holdbarheten av analysene er oftest oppgitt fra leverandørens pakningsvedlegg til reagensene. Ved å gjennomføre en holdbarhetsstudie kan man se hvordan verdiene evt. endre seg når prøver oppbevares in vitro. Det er mange faktorer som kan påvirke prøver in vitro, bl.a. prøvetaking, sentrifugering, oppbevaring, temperatur, transport til laboratoriet osv. Man må tenke nøye gjennom hvilke av disse faktorer som er mest nyttig å undersøke. Det er mest nyttig å undersøke holdbarhet til både normale og unormale verdier, siden prøver fra friske og syke personer kan oppføre seg forskjellig.

Oppgaven er en holdbarhetsstudie for rutine koagulasjonsanalyser. Oppgaven beskriver hva rutine koagulasjonsanalyser er, hvordan analysene blir utført, og hvordan holdbarheten til disse analysene undersøkes. Oppgaven har både tekster og grafer som støttekilder slik at det blir lettere å forstå.

B: Verifisering av sentrifugene for citratplasma

Verifisering betyr å bekrefte eller å godgjøre at noe er riktig. Før prøver analyseres, må man være sikker på at kvaliteten på prøvematerialet tilfredsstiller laboratoriets sine krav.

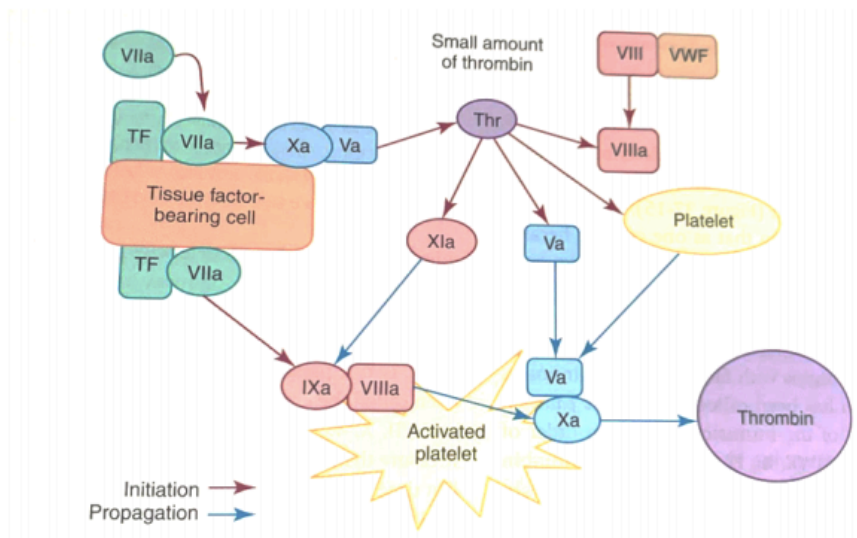
Citratplasma blir benyttet til å analysere koagulasjonsanalyser. Før citratplasma kan analyseres, må man være sikker på at det er et tilstrekkelig lavt antall blodplater i plasma, slik at blodplatene ikke påvirker analysene. Derfor trenger man å verifisere de nye sentrifugene før holdbarhetsstudien starter. Hensikten med verifisering av sentrifugene er å bestemme hastighet, tid og temperatur, slik at antallet blodplater i citratplasmaet er tilstrekkelig lavt og dermed kan man analysere prøver uten at det påvirker selve analysen.

1.2 Teori om koagulasjonssystemet

Koagulasjonssystemet er en spontan prosess der blodet koagulerer for å hindre blodtap.

Samtidig består koagulasjonssystemet også av naturlige hemmere for å hindre at det leverer seg og danner blodpropp/trombose. Prosessen foregår av seg selv og består av ytre- og indre koagulasjonsfaktorer. Disse faktorene vil aktivere hverandre fram til enzymet trombin blir dannet. Enzym trombin er et nøkkel-enzym som omdanner fibrinogen til fibrin slik at et langtrådet nettverk blir dannet på skadestedet, som deretter fører til blødningstans. Endotelet er et celledag som kler innsiden av blodkar og lymfekar. Figur 1 viser hvordan prosessen til koagulasjonssystemet foregår i kroppen. Når endotelene er skadet, vil vevsfaktor TF komme i kontakt med blodbanen og dermed aktiverer faktor VII til FVIIa. (påsettelse av a bak koagulasjonsfaktorer viser at faktoren er aktivert) TF og FVIIa binder seg sammen og aktiverer derfor faktor X til FXa og faktor IX til FIXa. En liten mengde av trombin blir aktivert ved kombinasjon av FXa og FVa. Den aktiverte trombin vil igjen aktivere fire elementer, faktor V til FVa, faktor VIII til FVIIIa, faktor XI til FXIa, og trombocytter (PLT) (2).

Trombocytter eller blodplater dannes ved avsnøring av megakaryocytens cytoplasma og har en levetid på 9-10 dager. De aktiverte trombocytene adhererer til karveggen ved karskade og danner dermed en blodplateplugg. FIXa/ FVIIIa-komplekset bindes til blodplateoverflaten og aktiverer faktor X til FXa. FXa sammen med FVa vil danne enzymet protrombinase som katalyserer omdannelsen av proenzym protrombin til enzym trombin. Enzym trombin omdanner fibrinogenmolekyler til lange tråder fibrin slik at blodplatepluggen forsterkes, og blødning stanser. Mangel på koagulasjonsfaktorer øker blødningstendensen (2).



Figur 1: Skisse over koagulasjonsprosess: Vevsfaktor TF kommer i kontakt med blodbanen ved karskade og aktiverer koagulasjonsfaktorene slik at enzym trombin blir dannet. Enzym trombin er ett nøkkel enzym som omdanner løselige fibrinogen til uløselige fibrin. Dannelsen av fibrin fører til blodkoagulering (2).

1.3 International Normalized Ratio (PT-INR)

PT-INR er en blodprøve som måler hvor raskt blodet koagulerer seg i forhold til vanlig blodkoagulerings tid. PT-INR er basert på protrombintid analysen, som er en analyse for å bestemme protrombinkompleksaktivitet (FII, FVII, og FX). Analysen utføres ved å tilsette vevstromboplastin som inneholder fosfolipider og vevsfaktor (Owen's PT), og CaCl_2 til plasmaprøver for å starte trombingenerering slik at et fibrinkoagel blir dannet. CaCl_2 fungerer som en katalysator som utløser koaguleringsprosessen. Tiden for dannelsen av et fibrinkoagel blir derfor målt. PT-INR beregnes ved:

$$PT-INR = \frac{\text{pasientens protrombintid (sek)}}{\text{protrombintid (sek) i normalplasma}}$$

ISI er forkortelse for internasjonal sensitivitets indeks. Protrombintid (sek) i normalplasma hentes fra ISI-verdien som uttrykker tromboplastinreagensets følsomhet. ISI-verdien kan brukes til å regne PT-INR hvis laboratoriet benytter et reagens med $ISI=1$. Norge og Skandinavia bruker Owens-metode (Owen's PT-reagens, $ISI=1$) som er følsom for de K-vitaminavhengige koagulasjonsfaktorene (FII, FVII, og FX). Disse koagulasjonsfaktorene er faktorer i det ytre koagulasjonssystemet (3).

Warfarin er vitamin K-antagonister som kan påvirke PT-INR. Evnen til warfarin er å redusere blodkoaguleringen hos pasienter med økt risiko for trombose. Warfarin hemmer de K-vitaminavhengige koagulasjonsfaktorene II, VII, IX og X som syntetiseres i levercellene. De samme koagulasjonsfaktorene aktiveres vha. kalsiumioner som binder seg til gammakarboksyglutaminsyre i koagulasjonsfaktorene til fosfolipidoverflaten. Ved mangel av K-vitaminer kan ikke glutaminsyre omdannes til gammakarboksyglutaminsyre og dermed blir ikke koagulasjonsfaktorene aktivert. Koagulasjonssystemet blir hemmet og PT-INR blir da forlenget (3).

PT-INR er en analyse som benyttes ved kontroll av antikoagulasjonsbehandling med vitamin K-antagonister (warfarin), kontroll av betydning nedsatt leverfunksjon, mistanke om forbrukskoagulopati (DIC), og utredning av blødningstilstander (kun FII, FVII, og FX). Referanseområdet for INR er 0,8-1,2. For Nordlandssykehuset er referanseområdet <1,2 (4).

1.4 Aktivert partiell tromboplastintid (APTT)

APTT er en screeningstest for funksjonen til det interne koagulasjonssystemet. Analysen er en måling av den samlede aktiviteten til FI, FII, FV, FVIII, FIX, FX, FXI, og FXII. I tillegg til prekallikrein og høymolekylært kininogen (HMWK). Plasmaprøver blandes med reagenset (Actin FS) som inneholder fosfolipidpartikler fra kanin og en overflateaktivator av FXII. Fosfolipidpartikler er viktig for interaksjon mellom koagulasjonsfaktorene. Aktivatoren for FXII er viktig for den videreaktivering. Reaksjonen utløses ved tilsetning av CaCl_2 og koaguleringstiden måles i sekunder (5).

APTT benyttes ved observasjon av behandling med ufraksjonert heparin, mistanke om forbrukskoagulopati (DIC) eller utredning av blødningstilstander. Referanseområdet for APTT varierer noe på grunn av metodeavhengige verdier. For Nordlandssykehuset er referanseområdet på 22-33 sekunder (4).

1.5 Fibrinogen

Fibrinogen er et globulinprotein som finnes oppløst i blodet. Fibrinogen omdannes til uoppløselig fibrin ved blodkoaguleringen. Fibrinogen syntetiseres i levercellene, og består av tre par polypeptidkjeder som er satt sammen til et langstrakt molekyl. Strukturen er fibrinogens evne til å aggregere partikler slik at uoppløselig fibrin danner et nettverk av lange

tråder. Fibrinogen er et akutt-fase protein. Ved inflammasjon øker konsentrasjonen innen 24 timer, og opp til 3-4 døgn. Fibrinogen normaliserer seg igjen etter 3-4 uker.

Fibrinogenkonsentrasjonen kan måles ved å tilsette reagenset (enzym trombin) slik at enzymet omdanner oppløselig fibrinogen i plasmaprøven til uoppløselig fibrin. Prøven blir fortynnet med Owrens buffer slik at koaguleringstiden blir målt, og senere sammenlignet med et standardisert fibrinogenpreparat. Koaguleringstiden er omvendt proporsjonal med plasmaets fibrinogen konsentrasjon (6).

Analysen benyttes ved tilstander med økt forbruk eller nedbryting av fibrinogen, mistanke om forbrukskoagulopati (DIC), blødningstilstander med ukjent årsak eller ved kontroll av fibrinolytisk behandling. Referanseområdet for fibrinogen er 2,0-4,0 g/L. For Nordlandssykehuset er referanseområdet på 1,5-4,0 g/L (4).

1.6 D-dimer

D-dimer er en analyse som brukes til å utelukke blodpropp tilstander som dyp venetrombose (DVT) og lungeembolisme, og kan måles i en blodprøve. En negativ D-dimer sammen med en lav eller midlere klinisk sannsynlighet for dyp venetrombose kan brukes til å utelukke DVT. D-dimer er nedbrytningsprodukt fra uoppløselig/kryssbundet fibrin i blodet. D-dimer molekylet består av to fibrinmonomerer som bundet sammen med kovalente bindinger i C-terminal endene. Økt D-dimer konsentrasjon i plasma forteller oss om pågående dannelsen av uoppløselig fibrin intravaskulært, og at dette fibrinet er blitt brutt ned.

D-dimer kan måles ved immunmetode, som er en prosess der antistoff-sensitive reagenser (innovance D-dimer) reagerer med antistoffer i plasmaprøven. Reagensene inneholder polystyrenpartikler (latexpartikler) med monoklonale antistoffer (8D3). Disse partiklene vil binde seg til D-dimer i plasmaprøven. Antistoff-antigen-kompleksene stimulerer aggregering, og detekteres turbidimetrisk ved økning i turbiditet. Referanseområdet for D-dimer varierer på grunn av metodeavhengige verdier (7). For Nordlandssykehuset er referanseområdet for D-dimer <0,5 mg/L (4).

1.7 Preanalytisk behandling for citratplasma

Korrekt preanalytisk behandling av prøvematerialene er viktig for alle analyseresultater. Desto mere prøvematerialene blir behandlet riktig, jo større er sjansen for riktige

analyseresultater. Ved rutine koagulasjonsanalyser (PT-INR, APTT, fibrinogen, og D-dimer) benyttes citratplasma som prøvematerialet. Citrat-rør (blå kork) inneholder en bufret på 0.109 mol/L (3.2%) natriumcitrat. Citrat-rør består av to rør som er smeltet sammen. Det ytre røret er laget av polyethylenterephthalate (PET) som forhindrer tap av vakuum over tid. Det indre røret består av polypropylene (PP) som forhindrer fordampning av natriumcitrat (8).

Det er viktig å bruke det riktige type prøverøret under blodprøvetaking. Bruk av feil rør kan føre til feil analyseresultater. Serum-røret skal ikke benyttes til koagulasjonsanalysene siden det gir dannelse av koagel in vitro og forbruk av alle koagulasjonsfaktorer. Analyseresultatet for PT-INR og APTT blir dermed unaturlig forhøyet i serum. I serum-røret forbrukes fibrinogenet og dermed kan prøven få et unaturlig lavt fibrinogen nivå. EDTA-røret skal heller ikke benyttes til koagulasjonsanalyser siden EDTA (Eethylene Diamine Tetraacetic Acid) binder seg irreversibelt til kalsiumioner som er en viktig faktor for klott dannelse. Kalsiumioner i EDTA-rør vil forlenge «klott-tiden» på PT-INR og APTT og dermed gi unaturlig forhøyde verdier (9).

Mengden av blod i citrat-rørene er også viktig for analysene. For koagulasjonsanalysene må forholdet mellom blod og natriumcitrat-løsningen være 9:1. Blodet må fylles til mellom 90-110% av røret. For stort blodvolum i citrat-røret vil fortynne ut natriumcitrat-løsningen slik at antikoagulant-effekten blir dårligere. Dette gir økt risiko for dannelsen av et mikrokoagel i prøven, noe som gjør at klott-tiden kan bli forlenget. Konsekvensen blir unaturlig lave verdier av PT-INR og APTT, og unaturlig høye fibrinogen verdier. Prøven bør med minst mulig stasen, evt. kan stasen benyttes maksimalt i ett minutt iht. CLSI guide H21-A5 (10). Dette fordi forlenget bruk av stasen kan øke aktiviteten til koagulasjonssystemet. Tallverdiene for EVF (Erytrocytt volum fraksjon), FVII, FVIII, og FXII øker, noe som forlenger klott-tiden til PT-INR, fibrinogen, og D-dimer. Tynne kanyler kan også aktivere blodplater under prøvetakingen slik at frigjøringen av platefaktor fire oppstår. Denne frigjøringen hemmer ufraksjonert heparin, som vil gi falskt resultat på APTT-analysen hos pasienter som får heparinbehandling. Riktig rekkefølgen av prøverørene som benyttes under blodprøvetaking er også viktig. Dette er for å unngå faren for krysskontaminering. Om man bruker butterfly-kanylen under blodprøvetaking må man ha ett ekstra kasterør slik at luften fra slangen ikke har mulighet til å komme inn i røret. Om luften kommer inne i røret, vil dette hindre korrekt fylling av citrat-røret. Etter blodprøvetaking skal røret blandes ved rolig rotasjon 3-6 ganger. Man skal unngå å riste røret siden risting av prøven kan gi hemolyse og aktivere

koagulasjonsfaktor, noe som påvirker klott-tiden. Citrat-rør skal oppbevares i romtemperatur slik at FVII forblir inaktivert, og von Willebrand faktoren forholder seg normal i prøven (9).

Hemolyse gir en høy bakgrunnsabsorbans og kan dermed påvirker avlesningen av klottedannelsen. Konsekvensene vil være unaturlig forhøyet PT-INR og D-dimer, og unaturlig lave APTT og fibrinogen verdier. Lipemiske prøver kan gi unaturlig lave APTT, PT-INR, og D-dimer verdier og fibrinogen gir unaturlig høye verdier. Dersom prøven er lipemisk kan den fortynnes evt. alternativt bruke en ultrasentrifugering for å fjerne fettstoffene. Metoden er ikke anbefalt siden det er økt risiko for at store molekyler av koagulasjonsfaktorene blir fjernet fra plasma. Ikteriske prøver påvirker ikke mekaniske metoder, men det kan senere påvirke detektorens optiske målinger (9).

Citrat-røret skal sentrifugeres, behandles og analyseres innen en time etter blodprøvetaking. Koagulasjonsanalysene bruker citratplasma som prøvematerialet. For å skaffe citratplasma, må prøven sentrifugeres slik at blodplater, erytrocytter og leukocyttter faller ned på bunnen av røret. Det er viktig å se etter evt. koagel i prøven før sentrifugering. Man kan sjekke dette ved å snu røret forsiktig opp ned, evt. bruke en pinne. CLSI anbefaler sentrifugering med hastighet på 1500 x G i minst 15 minutter. Sentrifugeringen skal være i romtemperatur. Dette er for å unngå plateaktivering ved nedkjøling av prøven. Mange laboratorier bruker «STAT-fuger» som har høyere hastighet og kortere varighet. STAT-sentrifuger er akseptabelt så lenge prøvene analyseres raskt etter sentrifugeringen. Koagulasjonsanalysene skal ikke ha høy tilstedeværelsen av blodplater i citratplasmaet. Ved riktig sentrifugehastighet og lengre varighet kan blodplatene bli fjernet. For å analysere rutine koagulasjonsanalysene skal antallet blodplater i citratplasma være mindre enn 10×10^9 blodplater/L plasma (10).

2 Materialer og metode

Denne oppgaven baserte seg på kvantitativ dataforskningsmetode. Data ble samlet inn og analysert ved hjelp av statistiske metoder. Dataene som ble samlet inn var trombocytresultater fra analyse i plasma etter verifisering av sentrifuger og analyseresultater for rutine koagulasjonsanalyser fra forskjellige tidspunkter (holdbarhetsstudien). Dataene ble aidentifisert og lagret i Excel og i en perm merket med «holdbarhetsstudien koagulasjon» ved sentrallaboratoriet ved Nordlandssykehuset i Bodø.

2.1 Verifisering av sentrifugene for citratplasma

Før holdbarhetsstudien startet, måtte laboratoriet verifisere at sentrifugene var i orden og riktig innstilt. Figur 2 viser de to sentrifugene som var verifisert for citratplasma, Hettich Zentrifugen nr. 25955 og 21507. Citrat-glass ble benyttet til verifiseringen av sentrifugene. Informasjonen rundt denne verifiseringen ble gitt til de ansatte på laboratoriet slik at de som ønsket å gi blod kunne melde seg. Det var ca. sju ansatte som ville være med i forsøket. Til blodprøvetaking ble det tatt to citrat-glass fra hver person. For å sørge for at verifiseringen fungerer optimalt for alle prøver, ble pasientens prøver også brukt. Disse prøvene ble plukket ut tilfeldig fra "ekstra citrat-glass" som ikke ble brukt til andre analyser. Ekstra citrat-glass er et ekstra glass som rekvirent pleier å bestille for å kunne etterbestille koagulasjonsanalyser. Det ble samlet inn totalt 24 citrat-glass fra både ansatte og pasienter. Glassene ble fordelt på to sentrifuger, 12 glass i hver sentrifuge. Glassene ble behandlet som pasient-prøver etter Nordlandssykehuset sine prosedyrer.

For å kunne behandle prøver anonymt ble datastanslapper benyttet. Datastanslapper inneholder kun labnummer som senere skal holde orden på trombocytresultatene. Labnummer fra datastanslapper ble klistret på glassene, et labnummer for hver deltaker. Ekstra citrat-glass var fra pasientens prøver. Prøvene måtte arkiveres og kastes etter vanlige prosedyrer. Pasientens eget labnummer ble notert ned slik at man kunne gå tilbake og dermed ikke mistet prøvematerialer etter at forsøket var gjennomført.

Begge sentrifugene ble stilt inn på 21°C, 2000 x G i 15 minutter. Program 9 for sentrifugen nr.25955, og program 3 for sentrifugen nr. 21507. Prøvene ble sentrifugert to ganger. Etter den første sentrifugeringen ble plasma avpipettert fra primærglass til sekundærglass merket med labnummer-1. (det skal være ca. 0.5 cm plasma igjen over blodlegemene ved avpipettering). Trombocytter i plasma i sekundærglass merket med labnummer-1 ble

analysert på CellDyne Sapphire instrumentet ved hematologi-seksjonen. Etter analyseringen ble sekundærglasset sentrifugert for andre gang på samme program, plasma ble avpipettert i et nytt sekundærglass merket med labnummer-2 på samme måte, og trombocytter i plasma ble analysert på nytt på samme måten. CellDyne Sapphire analyserer oftest EDTA-fullblod. Ved analysering av citratplasma, måtte man ta hensyn til fortynningsfaktor. Fortynningsfaktoren for plasma er 1.21. Trombocytterresultater ble notert ned i Excel, og senere beregnet det reelle antallet trombocytter i plasma ved å multiplisere antall trombocytter i prøven med 1.21.

Ved vurderingen skulle antallet trombocytter i plasma etter første sentrifugeringen være mindre enn 10×10^9 blodplater/L (platefattig). Antall trombocytter i plasma etter den andre sentrifugeringen skulle være null (platefritt, eller $< 1 \times 10^9$ blodplater/L).



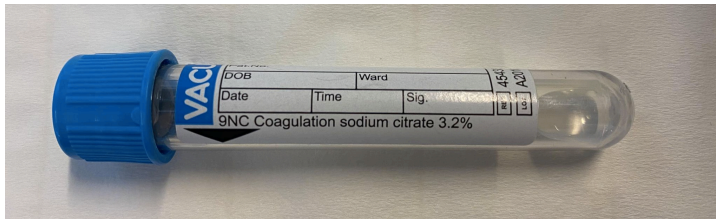
Figur 2: Hettich Zentrifugen nr.25955 og 21507

2.2 Verifisering av holdbarhet for rutine koagulasjonsanalyser

Sentrallaboratoriet i Bodø ønsker å gjennomføre holdbarhetsstudien både for rutine og spesial koagulasjonsanalyser. Denne oppgaven har kun undersøkt holdbarheten av rutine koagulasjonsanalysene PT-INR, APTT, fibrinogen, og D-dimer. Holdbarheten av spesial koagulasjonsanalyser (anti-FXa, protein C, protein S, antitrombin, og APC) blir senere gjennomført av laboratoriets personal. Holdbarhetsstudien er basert på studien av gjennomsnittsendringer i et visst antall prøver og endring i den enkelte blodprøven. Enkelte prøver fra pasienten kan ha avvikende holdbarhet på grunn av spesielle sykdommer. Holdbarhetsstudien brukte batch-metoden til å analysere prøver. Batch-metoden er basert på innsamling av prøvematerialet fra et ønsket antall testpersoner. Prøvematerialer fordeles likt slik at de kan testes under ulike betingelser. Når prøvematerialet har oppnådd sin betingelse, skal det oppbevares etter ønsket tidsintervall, for senere analysering.

Holdbarhetsstudien ble gjennomført ved å samle prøver fra ansatte og pasienter.

Samtykkeskjema ble opprettet for å rekruttere deltakerne til studien. Samtykkeskjemaet finnes i vedlegg 2. Skjema inneholder informasjon om holdbarhetsstudien bl.a. ansvarligperson for studien og hvordan prøvene ble behandlet etter studien. Deltakerne som var med i studien var ansatte fra laboratoriet, pasienter fra sengepost, og polikliniske pasienter. Det ble brukt citratglass (figur3) under blodprøvetaking. Det ble samlet inn totalt fem citratglass fra hver deltaker, to rør til rutine koagulasjonsanalyser, og tre rør til spesial koagulasjonsanalyser.



Figur 3: 3,5 ml citrat-glass fra vacuette (Blå kork)

For å ha et godt system ble det gjort forberedelsesarbeid dagen før blodprøvetaking.

Sentrallaboratoriet i Bodø bruker Dips-datasystem for å besvare nesten alle analyseresultater.

Dips-datasystem er et system som kommuniserer med Sysmex CS-5100 og alle andre instrumenter. Det ble dannet to «fiktive» testpersoner i Dips-datasystem for å ha orden på analyseresultatene, og deltakerne ble samtidig aidentifisert. Testpersonen for ansatte-deltaker var «Koagulasjon, Referanse Kvinner født: 011097 33852». Testpersonen for pasient-deltaker var «Koagulasjon, Referanse Mann født: 160300 73730». Alle deltakere fikk en dato, og seks tidspunkter hver, siden det var seks analyseringer på seks tidsintervaller. PT-INR, APTT, fibrinogen og D-dimer ble bestilt i Dips-datasystem på disse testpersonene. Det ble også valgt ut pasienter med unormale analyseresultater, men det var relativt få slike som kunne være med i studien.

Informasjon av oppgaven ble gitt til deltakerne både muntlig og skriftlig. Blodprøvetakingen

ble gjennomført på morgenen. Utstyr til blodprøvetaking var citrat-glass, kanyler,

kanyلهolder, tape, bomull, alkohol swap, og stase. Laboratoriepersonalet hjalp til med

blodprøvetakingen. Det ble samlet inn 26 citratglass der plasma ble oppbevart stående på

blodlegemer i primærglass, og 28 citratglass der plasma ble avpipettert i sekundærglass.

Innsamling av prøver, behandling og analysing av prøver ble gjennomført i to runder, en

med blodprøvetaking av ansatte- og en med pasienter. Grunnen til dette var for å redusere

arbeidet slik at det ble lettere å håndtere alle prøvene riktig. Etter innsamling av prøver og

blodprøvetaking var gjennomført, ble prøvene fraktet til laboratoriet og sentrifugert i Hettich Zentrifugen nr. 21507.

Det ble undersøkt holdbarheten av rutine koagulasjonsanalyser i citratplasma stående på blodlegemer (ikke-avpipettert) og i citratplasma i sekundærglass (avpipettert plasma). Citratplasma ble analysert i seks tidsintervaller (0, 4, 8, 24, 48 og 72 timer) og prøvene oppbevarte kun i romtemperatur (21-22 °C) under alle tidsintervallene.

Glassene ble merket med tusj slik at det ble mer oversiktlig. Glassene merket med rosa var plasmaprøver stående på blodlegemer. Prøver ble analysert direkte på Sysmex CS-5100. Glassene merket med gul var plasmaprøver som skulle avpipetteres. Prøvene ble avpipettert (ca. 0.5 cm plasma igjen over blodlegemene) til en mikrokopp, og analysert på samme instrumentet. Prøvene ble analysert seks ganger i hver runde. For å unngå tap av prøvematerialer til HIL-sjekk, ble prøvene analysert i mikro-modus. Første analyseringen (null-prøve) er referanseprøven, og alle andre prøver ble sammenlignet med denne prøven.

2.3 Analysering av prøver

I denne oppgaven ble det brukt to instrumenter til å analysere plasmaprøvene. For verifisering av sentrifugene ble CellDyne Sapphire benyttet til å analysere antall trombocytter i citratplasma. For holdbarhetsstudien ble Sysmex CS-5100 benyttet til å utføre koagulasjonsanalysene.

2.3.1 CellDyne Sapphire

Figur 4 viser CellDyne Sapphire som ble benyttet til å analysere trombocytterne i plasmaprøvene. CellDyne Sapphire er et automatisert instrumentet for hematologi analyser. Oppgaven til instrumentet er å telle blodceller i fullblods og evt. plasma. Prinsippet for trombocyttemåling er optisk måling, impedansmåling og immunologisk telling. Ved optisk måling blir trombocytter karakterisert ut fra to-dimensjonale målinger og dermed blir laserlys reflektert i to ulike vinkler, 7°-størrelse og 90°-kompleksitet (11).

I impedansmålingen blir det beregne spenningspuls til cellene slik at man kan beregne størrelsen til cellen. Impedansmålingen er basert på Ohm`s lov.

$$(\text{spenning } (u) = \text{strøm } (i) * \text{motstand } (Z)).$$

To elektroder blir plassert på hver sin side av en målesone med konstant strøm (i) mellom seg. Når trombocytter plasserer målsonen vil motstanden (Z) øke, noe som resulterer i en spenningspuls (u). Størrelsen på spenningspulsene er direkte proporsjonal med størrelsen på cellen (11).

CellDyne Sapphire benytter fluorescensmerkede antistoffer mot CD61 på blodplateoverflaten til å måle trombocytter med referansemethode. Antistoffer danner et kompleks med CD61 og fluorescerende lys med en bestemt bølgelengde blir fanget opp av dedikerte lysfølsomme optiske detektorer. Intensiteten på det fluorescerende lyset forteller positive antall antigen-antistoff-komplekser dvs. antall trombocytter (11).



Figur 4: CellDyne Sapphire, hematologi instrument

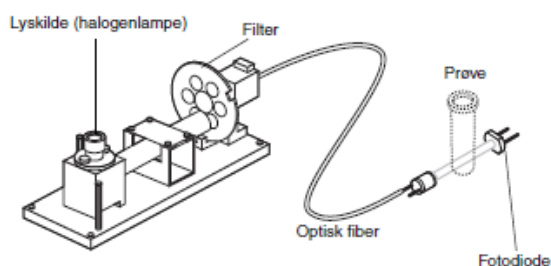
2.3.2 Sysmex CS-5100

Figur 5 viser Sysmex CS-5100 fra Siemens (Siemens Healthcare Diagnostics, Erlangen, Germany), som sentrallaboratoriet i Bodø nettopp har tatt i bruk. I dag er Sysmex CS-5100 brukt til å analysere rutine koagulasjonsanalysene PT-INR, APTT, fibrinogen, og D-dimer. Sysmex CS-5100 er et automatisert instrument som analyserer prøver in vitro. Instrumentet har fire analysemetoder, koaguleringsmetode, kromogenmetode, immunmetode, og aggregeringsmetode.



Figur 5: Sysmex CS-5100, koagulasjonsinstrument

Sysmex CS-5100 bruker en optisk metode til å registrere koagulasjonsreaksjonen i prøvene. Figur 6 viser hvordan detektoren til Sysmex CS-5100 er bygget opp. Detektoren bruker en halogenlampe som lyskilde. Lyskilden er delt inn i 340, 405, 575, 660, og 800 nm-komponenter med fem filtre. Lyset sendes separat til detektorbrønnene gjennom optiske fibre. Lyset skinner fra hver detektorbrønn gjennom kyvetten som inneholder prøven og reagenser. Transmittert lys gjennom kyvetten blir registrert av en fotodiode før det blir konvertert til et elektrisk signal. Ved hjelp av en mikrodatamaskin blir det elektriske signalet bearbejdet, og senere kan man finne koagulerings tiden og endring i lysabsorbans (dOD/min). (12)



Figur 6: Detektor til Sysmex CS-5100

2.4 Statistiske analyser og vurderinger

Etter at alle prøver var ferdig analysert på Sysmex CS-5100, ble disse arkivert etter vanlige rutine på laboratoriet. Analyseresultater ble videresendt til Dips-datasystem, og ble plottet inn i tabeller i Excel, hvor det ble utført batch-metode. Excel-mal for holdbarhetsstudie fra Noklus/NKK (Norsk klinisk kjemisk kvalitetssikring) sine nettsider ble benyttet til denne

studien (13). Data er framstilt i tabeller og grafer fra Noklus/NKK sin mal som viser måltverdi over tid, og prosentendring fra utgangsverdi over tid. Analyseresultatene til rutine koagulasjonsanalysene finnes i vedlegg 3. Prosent endring fra utgangsverdi til rutine koagulasjonsanalysene finnes i vedlegg 4.

Alle analyseresultatene ble beregnet avvik i prosent fra utgangsverdi (null-prøven) som ble vurdert mot tillatt bias og tillatt totalfeil. Tillatt bias er den største gjennomsnittskonsentrasjons endringen en prøve kan ha, dvs. systematiske avvik. Tillatt totalfeil er den største konsentrasjonsendring en enkelt prøver kan ha. For å vurdere om analysen er holdbar, må hele 90% konfidensintervallet av gjennomsnittsendringen i prosent for hvert tidspunkt være innenfor akseptområdet, 100% tillatt bias. I tillegg til at 95% av enkeltverdiene ligger innenfor tillatt totalfeil. Verdiene for tillatt bias og tillatt totalfeil som vises i tabell 1, ble innhentet fra www.westgard.com/biodatabase1.htm, som er en database for krav til analysekvalitet basert på biologiske variasjoner (14).

Tabell 1: Tillatt bias og tillatt totalfeil for koagulasjonsanalyser (14)

Analyse	Tillatt bias	Tillatt totalfeil (TE)
INR	2,0%	5,3%
APTT	2,3%	4,5%
Fibrinogen	4,8%	13,6%
D-dimer	8,8%	28,4%

I tillegg til batch-metode ble det også utført statistiske analyser av analyseresultatene. Siden de fleste analyseresultatene hadde normale verdier, kunne dette gi mistanke om at analyseresultatene/datasettet ikke var normalfordelt. Tester på normalfordeling (gauss-kurv og Q-Q-plott) ble laget i Excel. Parvis Wilcoxon-test ble beregnet i Analyse-It. Parvis Wilcoxon test ble benyttet til å beregne statistiske forskjeller pga. datasettet ikke var normalfordelt. Parvis Wilcoxon-test er en ikke-parametriske test, og brukes for å sammenligne resultater fra to ulike tidspunkter på et individ. Referanseprøven (null-prøven) ble sammenlignet med andre tidspunkter. Hensikten med parvis Wilcoxon-test var å undersøke om verdiene fra referanseprøven og andre tidspunkter er signifikant forskjellige på 5% signifikantnivået.

2.5 Etiske vurderinger

Alle personlige opplysninger om deltakerne som var med i denne holdbarhetsstudien forble anonyme. Navn og fødselsdato ble aidentifisert slik at det ikke er mulig å spore tilbake til deltakerne. Av den grunn ble det ikke søkt om godkjenning fra NSD og REK siden denne oppgaven ikke omhandler helseforskning og informasjon om pasientens helse, men kvalitetssikringsarbeid i laboratorier. De aktuelle deltakerne fikk et samtykkeskjema der det ble informert om oppgaven. Deltakernes prøver ble behandlet av det aktuelle personalet slik som andre blodprøver. Fiktive testpersoner i Dips-datasystem ble benyttet for å lagre dataen. Metoden for analyseringen var den samme metoden som Nordlandssykehuset bruker til å analysere pasientprøver. Biologiske prøvematerialer som ble brukt til oppgaven ble behandlet etter sykehuset sine prosedyrer. (15)

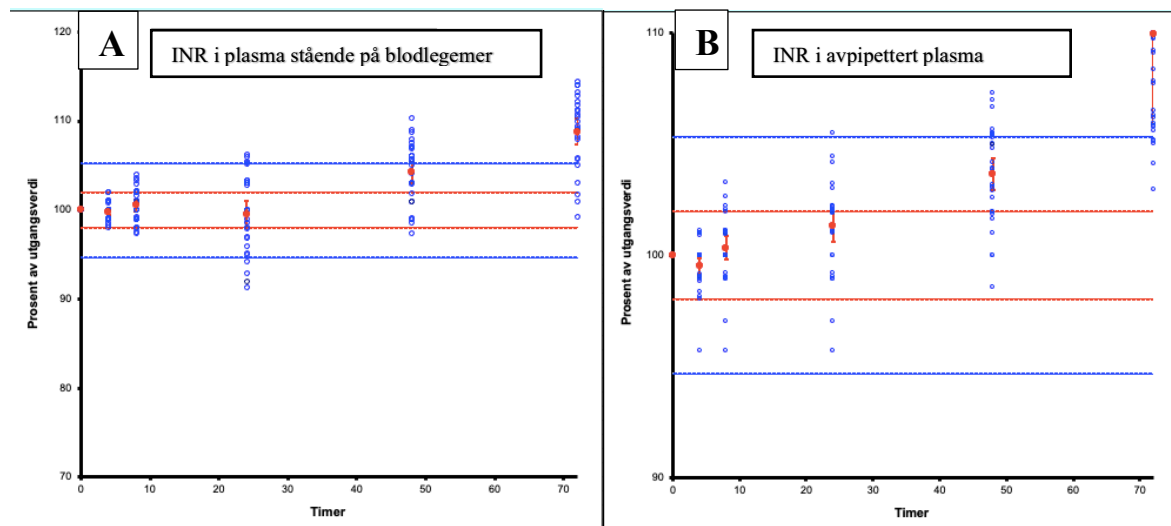
3 Resultater

3.1 Trombocytresultater

Vedlegg 1 viste at antall trombocytter i nesten alle plasmaprøvene etter den første sentrifugeringen var mindre enn 10×10^9 blodplater/L. Det var kun en plasmaprøver som hadde 12×10^9 blodplater/L, noe som var litt høyere enn kravet for rutine koagulasjonsanalyser. Etter andre sentrifugeringen var antall trombocytter lik null, dvs. at trombocytterne i plasmaprøvene ikke var målbar og $< 1 \times 10^9$ blodplater/L som var kravet for spesial koagulasjonsanalyser.

3.2 International Normalized Ratio (PT-INR)

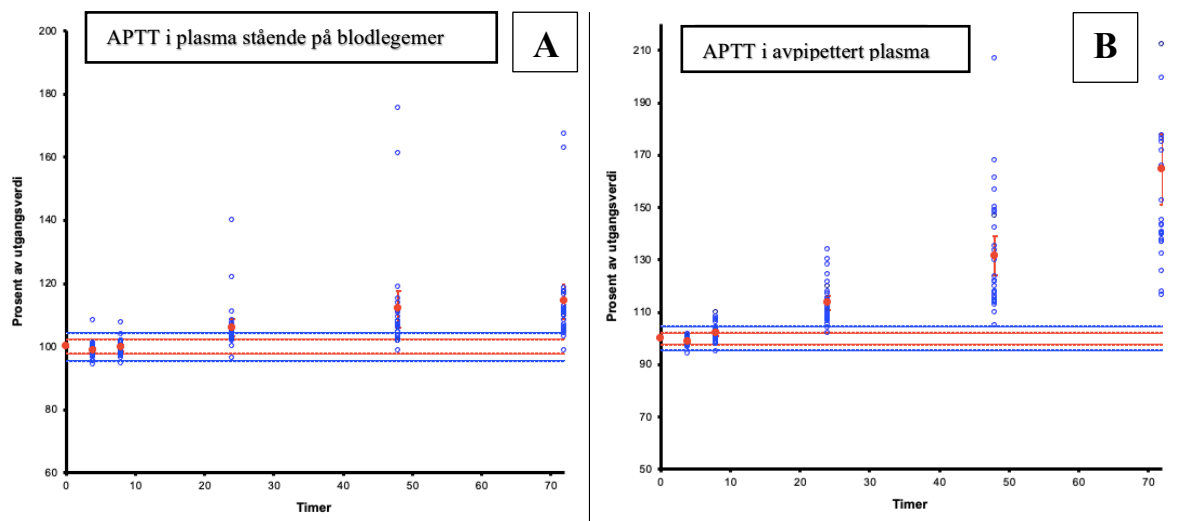
Tillatt maksimal %bias for PT-INR er 2,0% og tillatt totalfeil er 5,3%. Figur 7A viste prosent endring fra utgangsverdi for PT-INR i plasma stående på blodlegemer. 90% KI av gjennomsnittsendringen for INR lå utenfor tillatt %bias etter 24 timer. En kunne se i figur 7B at 90% KI av gjennomsnittsendringen for PT-INR i avpipettert plasma lå akkurat under tillatt %bias øvre grense. Etter 24 timer var det noen få enkeltverdier som lå utenfor grensene for tillatt totalfeil. Fra figur 7A og 7B kunne man se at PT-INR i avpipettert plasma hadde færre enkeltverdier som lå utenfor tillatt totalfeil enn PT-INR i plasma stående på blodlegemer.



Figur 7: A: prosent endring fra utgangsverdi for INR i plasma stående på blodlegemer. B: prosent endring fra utgangsverdi for INR i avpipettert plasma. I grafene er det horisontale linjer; de røde linjene representerer området for maksimalt tillatt bias, og de blå linjene representerer området for tillatt totalfeil. Gjennomsnittlige endring i prosent framstilles som røde punkter med lodrette intervaller som viser 90% konfidensintervall for gjennomsnittet. Enkeltverdiene endring i prosent fra utgangsverdi vises som blå punkter.

3.3 Aktivert partiell tromboplastintid (APTT)

Tillatt maksimal %bias for APTT er 2,3% og tillatt totalfeil er 4,5%. Figur 8A og 8B viste at 90% KI av gjennomsnittsendringen for APTT i begge prøvematerialene (plasma stående på blodlegemer og avpipetert plasma) lå utenfor tillatt %bias etter 4 timer. Enkeltverdiene overskred også grensene for tillatt totalfeil etter 4 timer.

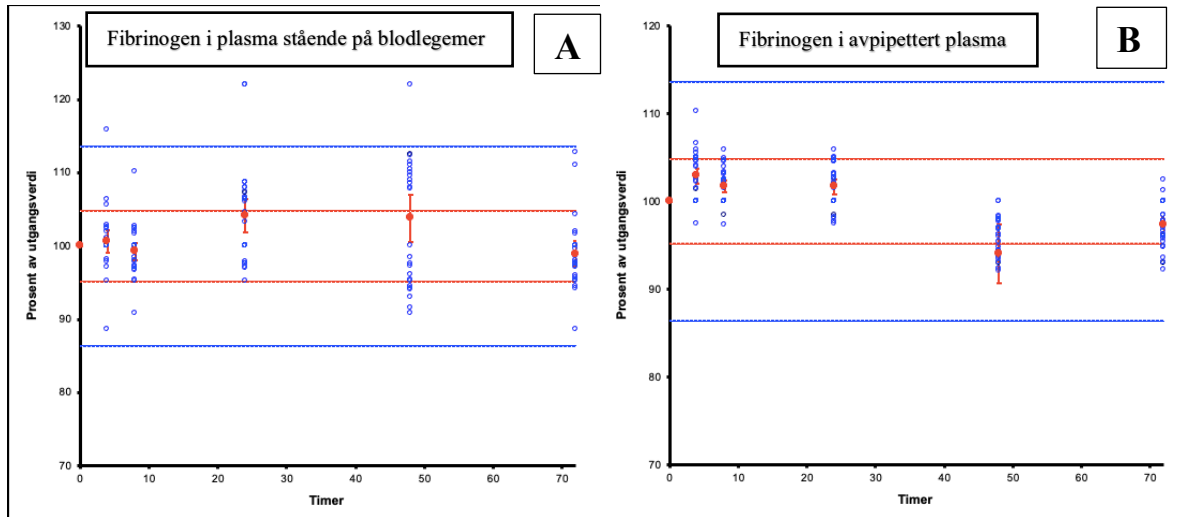


Figur 8: A: prosent endring fra utgangsverdi for APTT i plasma stående på blodlegemer. B: prosent endring fra utgangsverdi for APTT i avpipetert plasma. I grafene er det horisontale linjer; de røde linjene representerer området for maksimalt tillatt bias, og de blå linjene representerer området for tillatt totalfeil. Gjennomsnittlige endring i prosent framstilles som røde punkter med lodrette intervaller som viser 90% konfidensintervall for gjennomsnittet. Enkeltverdiens endring i prosent fra utgangsverdi vises som blå punkter.

3.4 Fibrinogen

Tillatt maksimal %bias for fibrinogen er 4,8% og tillatt totalfeil er 13,6%. Fra figur 9A kunne en se at 90% KI av gjennomsnittsendringen for fibrinogen i plasma stående på blodlegemer lå utenfor tillatt %bias etter 8 timer. Etter 24-og 48 timer overskredet 90% KI av gjennomsnittsendringen grensene for tillatt maksimal %bias på den øvre grensen, før det begynte å synke tilbake til akseptområdet (innenfor tillatt %bias) etter 72 timer. Det var kun en enkeltverdi som overskred tillatt totalfeil på 4, 24 og 48 timer.

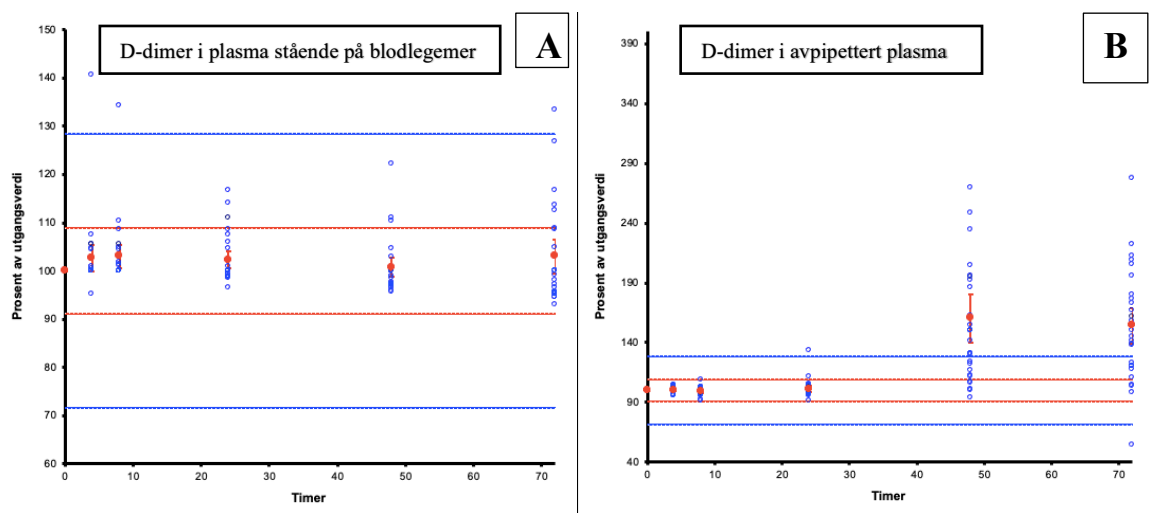
90% KI av gjennomsnittsendringen for fibrinogen i avpipetert plasma lå innenfor tillatt %bias til alle tidspunkter, unntatt etter 48 timer (figur 9B). 90% KI av gjennomsnittsendringen etter 48 timer hadde sunket til tillatt %bias nedre grense, og steg innenfor akseptområdet etter 72 timer. Det var ingen enkeltverdier som overskred grensen for tillatt totalfeil.



Figur 9: A: prosent endring fra utgangsverdi for fibrinogen i plasma stående på blodlegemer. B: prosent endring fra utgangsverdi for fibrinogen i avpipetert plasma. I grafene er det horisontale linjer; de røde linjene representerer området for maksimalt tillatt bias, og de blå linjene representerer området for tillatt totalfeil. Gjennomsnittlige endring i prosent framstilles som røde punkter med lodrette intervaller som viser 90% konfidensintervall for gjennomsnittet. Enkeltverdiene endring i prosent fra utgangsverdi vises som blå punkter.

3.5 D-dimer

Tillatt %bias for D-dimer er 8,8% og tillatt totalfeil er 28,4%. Fra figur 10A kunne en se at 90% KI av gjennomsnittsendringen for D-dimer i plasma stående på blodlegemer lå innenfor tillatt %bias for alle tidspunkter. Det var kun en enkeltverdi som overskred den øvre grensen for tillatt totalfeil. Resultatene var annerledes for D-dimer i avpipettert plasma. Figur 10B viste at 90% KI av gjennomsnittsendringen for D-dimer i avpipettert plasma lå innenfor tillatt %bias frem til 24 timer. Etter 24 timer overskred 90% KI av gjennomsnittsendringen over tillatt %bias ved den øvre grensen. Det var kun en enkeltverdi som lå utenfor tillatt totalfeil etter 24 timer.



Figur 10: A: prosent endring fra utgangsverdi for D-dimer i plasma stående på blodlegemer. B: prosent endring fra utgangsverdi for D-dimer i avpipettert plasma. I grafene er det horisontale linjer; de røde linjene representerer området for maksimalt tillatt bias, og de blå linjene representerer området for tillatt totalfeil. Gjennomsnittlige endring i prosent framstilles som røde punkter med lodrette intervaller som viser 90% konfidensintervall for gjennomsnittet. Enkeltverdienes endring i prosent fra utgangsverdi vises som blå punkter.

3.6 Statistiske resultater (parvis Wilcoxon-test)

Siden analyseresultatene til alle tidspunkter ikke var normalfordelt (vedlegg 5), ble parvis Wilcoxon-test benyttet til sammenligning av resultatene i null prøven med resultatene på de ulike tidspunktene. Fra tabell 3 kunne en se at analyseresultatene var både signifikant forskjellige og ikke-signifikant forskjellige på 5% signifikantnivået. Analyseresultatene til de aktuelle tidspunktene var ikke-signifikant forskjellige sammenlignet med referanseprøven (null prøven) hvis p-verdi var større enn 0,05. Om p-verdi var mindre enn 0,05, tydet dette på at analyseresultatene var signifikant forskjellige sammenlignet med referanseprøven.

Resultatene bekreftet for eksempel at APTT verdiene var statistisk signifikant forskjellige sammenlignet med referanseprøven allerede etter 4 timer lagring, både i plasma stående på blodlegemer og i avpipettert plasma. Til sammenligning var D-dimer også statistisk signifikant forskjellige allerede etter 4 timers lagring selv om resultatene var innenfor holdbarhets kravene som var satt ihht. tillatt maksimal %bias og tillatt totalfeil. Uansett er resultatene vurdert opp mot maksimal % tillatt bias og totalfeil som vurderes når konklusjon ang. holdbarheten for de enkelte analyttene ble tatt.

Tabell 2: p-verdi til forskjellige analysetidspunkter sammenlignet med referanseprøven (nullprøven)

Analyse	Tid(t)	p-verdi	Analyse	Tid(t)	p-verdi
INR i plasma stående på blodlegemer	4	0,2837	Fibrinogen i plasma stående på blodlegemer	4	0,4548
	8	0,3001		8	0,2069
	24	0,6434		24	0,0064
	48	0,0001		48	0,2304
	72	0,0001		72	0,0384
INR i avpipettert plasma	4	0,0342	Fibrinogen i avpipettert plasma	4	0,0001
	8	0,2428		8	0,0017
	24	0,0040		24	0,0019
	48	0,0001		48	0,0001
	72	0,0001		72	0,0001
APTT i plasma stående på blodlegemer	4	0,0032	D-dimer i plasma stående på blodlegemer	4	0,0049
	8	0,1780		8	0,0010
	24	0,0001		24	0,3894
	48	0,0001		48	0,3755
	72	0,0001		72	0,7562
APTT i avpipettert plasma	4	0,0002	D-dimer i avpipettert plasma	4	0,2078
	8	0,0060		8	0,6397
	24	0,0001		24	0,9240
	48	0,0001		48	0,0001
	72	0,0001		72	0,0001

4 Diskusjon

4.1 Verifisering av sentrifugene for citratplasma

Sentrifugeringen innebar at alle blodceller bl.a. blodplater sank ned i cellepelleten slik at det var kun plasma igjen i supernatanten. Man kunne dermed benytte plasma med et lavt antall blodplater til å analysere koagulasjonsanalysene. Etter første sentrifugeringen var blodplatene i alle prøvene mindre enn 10×10^9 /L plasma, noe som tydet på at ønsket krav til kvalitet på citratplasma var oppfylt (rutine koagulasjonsanalyser). Det var kun en av prøvene som fikk litt høyere antall blodplater og dermed ble denne prøven forkastet. Verifiseringen av sentrifugene for rutine koagulasjonsanalysene ble derfor godkjent.

Spesial koagulasjonsanalyser er mer krevende enn rutine koagulasjonsanalyser og krever platefritt citratplasma. På sentrallaboratoriet i Bodø blir spesial koagulasjonsanalyser analysert kun en gang i uken. For å beholde holdbarheten til analysene, må plasmaprøver fryses og deretter tines før analysering. Plasmaprøver må derfor være blodplatefritt slik at blodplatene ikke har mulighet til å frigi koagulasjonsfaktorer under/etter at frysning og tinings-prosessen er ferdig. Tilstedeværelsen av blodplater i plasmaprøver kan føres til avvikende analyseresultater. Det viste seg i vedlegg 1 at verifiseringen av sentrifugene for spesial koagulasjonsanalyser også ble godkjent, siden antallet blodplater i plasmaprøvene etter dobbel-sentrifugeringen var null dvs. platefritt.

En mulig feilkilde for prøven med høyere antall blodplater var mest sannsynlig på grunn av avpipettering av plasmaprøver og for høyt antall blodplater i citratplasmaet. Unøyaktig avpipettering kunne ha ført til overføring av blodplater over i plasmaprøvene. Det var derfor viktig å avholde ca. 0,5 cm plasma igjen over cellelaget slik at engangspipettene ikke kom bort i blodlegemer der det var oppsamling av blodceller og blodplater. Etter at verifiseringen av sentrifugene var godkjent, kunne man derfor starte på selve holdbarhetsstudien.

4.2 Verifisering av holdbarhet for rutine koagulasjonsanalyser

Pakningsvedlegget for Owens'PT har oppgitt 24 timer holdbarhet for PT-INR i romtemperatur (16). Fra figur 7A og 7B kunne man se at kravet for tillatt %bias var dekket frem til 24 timer. Gjennomsnittsendringene for PT-INR sank litt etter fire timer før det begynte å stige igjen. Man kunne se fra de nevnte figurene at enkeltverdiene for PT-INR i plasma stående på blodlegemer hadde større spredning enn PT-INR i avpipetert plasma.

Dette tydet på at PT-INR i avpipetert plasma hadde en lengre holdbarheten enn PT-INR i plasma stående på blodlegemer (ikke-avpipetert, i citratglass). Blodplatene som var igjen i plasma kunne dermed trolig gi en kontaktaktivering med citratglass-veggen slik at blodplatene ble aktivert in vitro. Man kunne derfor si at holdbarheten for PT-INR i avpipetert plasma var mer stabilt enn PT-INR i plasma stående på blodlegemer.

En tidligere studie publisert på bioingeniøren.no har undersøkt holdbarheten for PT-INR oppbevart i romtemperatur og kjøleskap (2-8 °C). Det viste seg da at PT-INR i den nevnte studien hadde lengre holdbarhet enn PT-INR i denne studien. Dette kan godt skyldes analysemetoden og reagensene for PT-INR, evt. at det ble brukt andre typer citratrør. Det viste seg også at holdbarheten for PT-INR oppbevart i kjøleskapet var mer stabilt enn holdbarheten for PT-INR oppbevart i romtemperatur. Spredningen av enkeltverdiene i den tidligere studien var omtrent lik denne studien. Denne studien inneholdt bare normale verdier, dermed kunne man ikke se hvordan unormale PT-INR verdier ble påvirket in vitro over tid. Studien fra bioingeniøren.no viste at høyere PT-INR verdier (unormal) lot seg påvirke mer av tid/temperatur enn lave PT-INR verdier (17).

Ut ifra resultatene kunne man si at primærhelsetjenesten kan sende avpipetert citratplasma i et sekundærglass dersom prøven er ankommet til laboratoriet i løpet av 24 timer. Etterbestillingen av PT-INR i ekstra citratglass kan foregå innenfor 24 timer.

Pakningsvedlegget for Dade Actin FS har oppgitt to og fire timer holdbarhet for APTT i romtemperatur. To timer for heparinisert plasma og fire timer for ikke-heparinisert plasma (18). Heparin er antikoagulant, dvs. et medikament som påvirker og hemmer koagulasjonen både in vivo og in vitro. Heparin virker som en koagulasjonshemmer, som hemmer både trombin og FXa. I tillegg til frigjøringen av "Tissue factor parthway inhibitor" fra karveggen (19). Prøvene måtte derfor analyseres så fort som mulig etter blodprøvetakingen. I denne studien var det bare noen få deltakere som var under heparinbehandling. Studien var basert på ca. 30 prøver. Det var derfor umulig å behandle og analysere prøvene innenfor en time etter blodprøvetakingen. Noen prøver ble dermed analysert etter en time, noe som kunne ha påvirket APTT-analyseresultatene.

For APTT-analysen hadde plasma stående på blodlegemer og avpipetert plasma oppfylt krav for tillatt %bias og tillatt totalfeil etter kun null timer. Fra figur 8A og 8B kunne man se at

holdbarheten for APTT var opp til fire timer. Siden prøvene ikke ble analysert før etter to timer, ble det vanskelig å konkludere sikkert om holdbarheten til analysen. Fra figur 8A og 8B kunne man se at verdiene for APTT steg over tid. Mulige feilkilder til denne analysen kunne være fordamping av prøvematerialet ved åpning av kork/lokk under analyseringene. Mest sannsynlig skyldes stigningen i APTT over tid kontaktaktivering av celler og rørveggen i prøverøret og dermed en spontan aktivering av koagulasjon. Ut ifra resultatene kunne man si at primærhelsetjenesten ikke kan sende avpipetert citratplasma i et sekundærglass for analyseringen av APTT. Etterbestillingen av APTT i ekstra citratglass må vurderes ut fra heparin-behandling. Laboratoriet må dermed bruke oppgitt holdbarhet fra leverandøren som er to timer.

Pakningsvedlegget for Dade Thrombin Reagent har kun oppgitt holdbarhet for fibrinogen oppbevart i kjøleskap (20). Denne studien har kun testet holdbarheten til fibrinogen i romtemperatur. Laboratoriehåndboken for Nordlandssykehuset har oppgitt åtte timer holdbarhet for fibrinogen i plasma stående på blodlegemer i romtemperatur og 24 timer holdbarhet for fibrinogen i avpipetert plasma i romtemperatur (21). Noe som samsvarer med resultatene av denne studien (figur 9A og 9B). Kontaktaktivering mellom rørveggen og blodlegemer under plasma gjorde trolig at fibrinogen i plasma stående på blodlegemer var mindre holdbart enn fibrinogen i avpipetert plasma. Man kunne også se at gjennomsnittsendringene for fibrinogen i begge prøvematerialer var varierte. Gjennomsnittsendringene steg etter fire timer, før det begynte å synke, og steg igjen etter 72 timer. Ut ifra resultatene kunne man si at primærhelsetjenesten kan sende avpipetert citratplasma i et sekundærglass dersom prøven er ankommet laboratoriet i løpet av 24 timer. Etterbestillingen av fibrinogen i ekstra citratglass med plasma lagret på blodlegemer kan foregå opp til åtte timer.

Pakningsvedlegget for Innovance D-dimer har oppgitt fire timer holdbarhet for D-dimer i romtemperatur (22). Fra figur 10A og 10B kunne man se at holdbarheten for D-dimer i plasma stående på blodlegemer var lengre enn for D-dimer i avpipetert plasma. Det var kun en enkeltverdi som lå utenfor tillatt totalfeil ved den øvre grensen, og dermed ble denne verdien forkastet. Det viste seg at den preanalytisk behandling av prøver og oppbevaring av plasma i forskjellige glasstyper spilte en stor rolle for holdbarheten til D-dimer. For avpipetert plasma, ble plasma avpipetert fra citratglass (primærglass) til en mikrokopp (sekundærglass). Plasma som var i kontakt med engangspipetter og sekundærglass kunne

dermed trolig få aktivert fibrinolysen og koagulasjonsfaktorene, noe som trolig medførte endret D-dimer nivå. Ut ifra resultatene kunne man si at primærhelsetjenesten kan sende avpipettert citratplasma i et sekundærglass dersom prøven er ankommet laboratoriet i løpet av 24 timer. Etterbestillingen av D-dimer fra ekstra citratglass med plasma lagret på blodlegemer kan foregå opp til 72 timer.

Ut ifra den statistiske sammenligningen med referanseprøven på tid null (tabell 3) kunne man se at p-verdien for de forskjellige tidspunktene, for de ulike analysene, var både ikke-signifikant forskjellig og signifikant forskjellig på 5% signifikants nivået. P-verdier som var mindre enn 0,05 tydet på at verdiene for de aktuelle tidspunktene var signifikant forskjellige sammenlignet med referanseprøven. Dette vil si at differansen i verdiene mellom de to tidspunktene var stor, slik at H_0 -hypotesen (prøvene lagret i tid X er ikke forskjellig fra nullprøven) måtte forkastes. Man kunne med andre ord tenke at prøven på det aktuelle tidspunkt ikke var holdbar hvis p-verdien var mindre enn 0,05, men det var ikke tilfellet siden holdbarheten var definert ut fra krav til analytisk kvalitet (maksimal % bias og tillatt total feil) i henhold til Noklus sine retningslinjer. Statistiske signifikante forskjeller innenfor tidsperioden da holdbarhetskravene ble oppfylt viser at analyseverdiene har endret seg statistisk signifikant, men var innenfor kravene for analysekvalitet.

Hvis p-verdi var større enn 0,05, ville dette tydet på at differansen i verdiene mellom de to tidspunktene var ikke-signifikant forskjellig. Dette vil si at forskjellene var så små at de ikke var statistisk signifikant. Man beholdte dermed H_0 hypotesen, og kunne si at prøven var uendret sammenlignet med nullprøven på det aktuelle tidspunktet.

Statistikk-test (Wilcoxon-test) og holdbarhetsanalysen vurdert med batch-metode hadde ikke noe direkte sammenheng med hverandre. Wilcoxon-test ble benyttet kun for å se om det var statistisk signifikante forskjeller i analyseresultatene på ulike tidspunkter sammenlignet med null prøven. Mens batch-metoden og vurderingsgrensene fastsatt av Noklus for holdbarhetsstudier ble benyttet for å bestemme holdbarheten til de forskjellige analysene. Man kunne derfor ikke sammenligne disse testene med hverandre. Holdbarheten til rutine koagulasjonsanalyser ble dermed bestemt ut ifra batch-metoden i henhold til Noklus sine anbefalinger.

Holdbarhetsstudien baserer seg på et ønsket antall blodprøver. Siden det var mange blodprøver, var det vanskelig å behandle alle prøvene samtidig. For rutine koagulasjonsanalyser skulle prøvene sentrifugeres, avpipetteres og analyseres innenfor en time etter blodprøvetaking. Det store antallet, førte til at noen prøver ble behandlet saktere enn andre prøver. Prøvene til deltakerne med heparin-behandling hadde lav holdbarhet, siden heparin kunne påvirke citratplasmaet in vivo og in vitro. Hvis disse prøvene hadde blitt behandlet innen en time, var det stor sannsynlighet for at gjennomsnittsendringer og enkeltverdiene til APTT hadde ligget innenfor maksimal tillatt %bias og tillatt totalfeil. Dette gjaldt også for PT-INR, fibrinogen og D-dimer.

Til en evt. neste holdbarhetsstudie for rutine koagulasjonsanalyser anbefales det å teste færre prøver i hver runde. Dette fordi det da blir lettere å behandle prøvene, og at nullprøvene blir analysert innenfor den bestemt tiden. Det er også viktig å ta hensyn til medikament behandling hos deltakerne, siden prøver som inneholder antikoagulante medikamenter kan oppføre seg forskjellig over tid. Denne studien hadde ikke tatt hensyn til dette på grunn av kapasitetsmangel. Det er også viktig å tenke på hvor mye volum citratplasma instrumentene trenger til hver analysering. Denne studien har vist at det ble for lite prøvemateriale når det kom til den siste analyseringen (72 timer). Dette kunne ha påvirke de statistiske testene. Holdbarheten til APTT er veldig kort. Man kan dermed utvide analyserings tidsintervallene slik at det blir lettere å komme fram til en konklusjon på holdbarheten til APTT. For eksempel kan man utvide til flere tidspunkt, 0, 2, 4 timer osv.

5 Konklusjon

PT-INR hadde en holdbarhet på 24 timer, og det var mulig at PT-INR i avpipettert citratplasma hadde en litt bedre holdbarhet enn PT-INR i plasma stående på blodlegemer. APTT hadde en holdbarhet mellom null til mindre enn fire timer. Holdbarheten kunne ikke fastslåes med sikkerhet på grunn av manglende analysering mellom null og fire timer. Fibrinogen i plasma stående på blodlegemer hadde en holdbarhet på åtte timer, og 24 timer for fibrinogen i avpipettert citratplasma. D-dimer i plasma stående på blodlegemer hadde en holdbarhet på 72 timer, og 24 timer for D-dimer i avpipettert citratplasma.

6 Referanseliste

1. Åsberg A, Solem KB, Mikkelsen G. Prøvematerialets holdbarhet-kriterier og vurderinger. *Klinisk Biokjemi i Norden*. 2011;23(4):34.
2. Keohane EM, Smith L, Walenga JM. *Rodak's hematology: clinical principles and applications*. 5th ed. Elsevier/Saunders: St. Louis; 2016.
3. NSMB. PT-INR, B/P [Internett]. [updated 01.02.19; cited 2021 30.04.21]. Available from:
<https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=0d780faf262e05234bd6&highlight=true>.
4. Joakimsen IS, Dybdahl IM. Verifisering av referanseområder for koagulasjonsanalyser [Bachelor oppgaven]. Nordlandssykehuset i Bodø: Norge Artiske Universitet; 2019.
5. NSMB. APTT (aktivert partiell tromboplastintid), P [Internett]. 2019 [updated 01.02.2019; cited 2021 30.04.21]. Available from:
<https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=bf1988ffffb37d232477&highlight=true>.
6. NSMB. Fibrinogen, P [Internett]. 2019 [updated 01.02.2019; cited 2021 30.04.21]. Available from:
<https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=ac5052e14c76b603a91f&highlight=true>.
7. NSMB. D-dimer, P [Internett]. 2019 [updated 17.01.19; cited 2021 30.04.21]. Available from:
<https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=63df2005b1cfd5098a2e&highlight=true>.
8. Med-kjemi. Koagulasjonsrør [Internett]. 2021 [cited 2021 24.05.21]. Available from:
<https://med-kjemi.no/produkter/provetaking/venos-provetaking/koagulasjonsror/>.
9. Andersen T. Preanalyse for de mest vanlige hemostaseparameterne 2011 [cited 2021 30.04.21]; 12:[20-3 pp.]. Available from:
<https://www.bioingenioren.no/contentassets/488962f2ce714d19be4e35ccf007d5b4/preanalyse-for-de-mest-vanlige-hemostaseparametrene.pdf>.
10. Dorothy M. Adcock M, Daniel M. Hoefner M, PhD, Kandice Kottke-Marchant M, PhD, Richard A. Marlal P, Diane I. Szamosi M, MT(ASCP), SH(ASCP), David J. Warunek P, MBA. *Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-*

Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assay; Approved Guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2008. Contract No.: 5.

11. Abbott. Brugermanual Revision B Softwareversion R-2-3. Tyskland; 2005. Report No.: B8H106.
12. Siemens. CS-5100 Bruksanvisning. Kobe, Japan; 2017. Report No.: BV621442 no.
13. Noklus. Nasjonalt prosjekt for standardisering av holdbarhetsforsøk [Internett]. 2015 [cited 2021 06.05.21]. Available from: https://www.noklus.no/media/3wsftsfsz/22_holdbarhet-protokoll_hvordan-utf%C3%B8re-holdbarhetsfors%C3%B8k.pdf.
14. Westgard J. Desirabel specifications for total error, imprecision, and bias, derived from intra-and inter-individual biologic variation [Internett]. Madison, Wisconsin 53717; 2014 [updated 2014; cited 2021 06.05.21]. Available from: www.westgard.com/biodatabase1.htm.
15. forskningdata NNsf. Fulle ut meldeskjema for personopplysninger. Bergen: Norsk senter for forskningsdata AS; 2021.
16. MediRox. MRX Owens'PT. Sverige: Linköping University Hospital; 2020.
17. Hunjet S, Podsada L, Bratberg K, Thommesen L. Holdbarhet og oppbevaring av blodprøver til PT-INR. Bioingeniøren. 2011;12:15-7.
18. Siemens. Dade Actin FS Activated PTT Reagent. Tyskland: Siemens Healthcare Headquarters; 2010. Report No.: B4218G20E4302.
19. Legemiddelhandbok N. Ufraksjonert heparin [Internett]. 2017 [updated 29.03.17; cited 2021 10.05.21]. Available from: https://www.legemiddelhandboka.no/L4.5.1.1/Legemidler_ved_blodsykdommer.
20. Siemens. Dade Thrombin Reagent. Tyskland: Siemens Healthcare Headquarters; 2016. Report No.: B4233G25E43.
21. Laboratoriethåndbok. Fibrinogen [Internett]. Nordlandssykehuset; 2021 [updated 09.03.21; cited 2021 10.05.21]. Available from: <https://lab.nordlandssykehuset.no/medisinsk-biokjemi/fibrinogen-article989-816.html>.
22. Siemens. Innovance D-dimer. Tyskland: Siemens Healthcare Headquarters; 2016. Report No.: OPBPGO3C43.

7 Vedlegg

Vedlegg 1: Trombocytresultat etter første- og andre sentrifugeringen

Vedlegg 2: Samtykkeskjema

Vedlegg 3: Analyseresultater for rutine koagulasjonsanalyser

Vedlegg 4: Gjennomsnittsendring fra utgangsverdi for rutine koagulasjonsanalyser

Vedlegg 5: Gauss-kurv og Q-Q-plott for referanseprøven (nullprøven) til analysene

Vedlegg 1: Trombocytresultater etter første- og andre sentrifugeringen

Tabell 1: Trombocytter resultater fra begge sentrifugeringer for sentrifugen nr. 25955

Sentrifugering: 21°C 2000 G i 15 min: sentrifuge nr. 25955				
ID	TPK citratplasma (x) 1.sentrifugeringen	Utregnet TPK (x/1.21)	TPK citratplasma (x) 2.sentrifugeringen	Utregnet TPK (x/1.21)
84487210	2,98	2,46	0,136	0,11
84487211	1,13	0,93	0,164	0,14
84487232	1,27	1,05	0,033	0,03
84487233	1,43	1,18	0,284	0,23
84487234	1,55	1,28	0,05	0,04
84487235	1,45	1,20	0,293	0,24
84487236	1,42	1,17	0,028	0,02
84487237	5,96	4,93	0,588	0,49
84487238	2,64	2,18	0,424	0,35
84487239	0,242	0,20	0,13	0,11
84487240	0,769	0,64	0,162	0,13
84487241	0,308	0,25	0,037	0,03

Tabell 2: Trombocytter resultater fra begge sentrifugeringer for sentrifuge nr. 21507

Sentrifugering: 21°C 2000 G i 15 min: sentrifuge nr. 21507				
ID	TPK citratplasma (x) 1.sentrifugeringen	Utreget TPK (x/1.21)	TPK citratplasma (x) 2.sentrifugeringen	Utreget TPK (x/1.21)
84487198	3,80	3,14	0,07	0,06
84487199	6,85	5,66	0,04	0,03
84487200	3,35	2,77	0,05	0,04
84487201	5,16	4,26	0,22	0,18
84487202	5,78	4,78	0,04	0,03
84487203	2,72	2,25	0,28	0,23
84487204	4,39	3,63	0,13	0,11
84487205	4,98	4,12	0,48	0,39
84487206	4,93	4,07	0,47	0,39
84487207	12,40	10,25	0,22	0,18
84487208	4,41	3,64	0,21	0,18
84487209	2,97	2,45	0,25	0,21
rerun 84487207	12,50	10,33	-	-



VIL DU DELTA I KVALITETSSIKRINGS PROSJEKTET ANG. UNDERSØKELSE AV HOLDBARHETEN PÅ KOAGULASJONSANALYSER I SENTRALLABORATORIET AVD. LABORATORIEMEDISIN NORLANDSSYKEHUSET HF

FORMÅLET MED PROSJEKTET OG HVORFOR DU BLIR SPURT

Dette er et spørsmål til deg om å delta i et kvalitetssikringsprosjekt for å undersøke og fastlegge holdbarheten for koagulasjonsanalysene i Sentrallab. Avd. laboratoriemedisin. Formålet med studien er å finne (bekrefte) hvor lenge blodprøvene kan oppbevares før de må analyseres i laboratoriet. Du spørres om deltakelse fordi vi trenger litt blod (15 mL) for å undersøke holdbarheten av analysene. Du spørres fordi du er blodgiver, eller uansett skal ta en annen blodprøve i sykehuset.

HVA INNEBÆRER PROSJEKTET FOR DEG?

Til det trenger vi blod fra frivillige personer som kan avgi fem ekstra citratglass blodprøver (totalt 15 mL blod) til analysing av P-INR, APTT, fibrinogen, D-dimer og protein S, protein C, aktivert protein C (APC)-resistens og antitrombin. Du kan delta i prosjektet enten du er syk eller frisk fordi vi bare skal undersøke holdbarheten av analysene i prøvematerialet – som er citratplasma. Prosjektet vil ikke påvirke de vanlige blodprøve analysene du ev. tar. Dataene fra prosjektet lagres aidentifisert (anonymt) i sykehusets datasystemer og slettes innen 31.12.2021. Vi trenger ditt samtykke til å delta i dette prosjektet. Du kan når som helst trekke deg fra prosjektet. Det blir tatt en blodprøve i prosjektet som analyseres på et vanlig koagulasjons-instrument i laboratoriet. Ev. deltakelse vil ikke innebære avvik fra ordinær behandling i sykehuset. Beregnet tidsbruk ved blodprøvetakingen er under 5 minutter. I prosjektet vil vi innhente og registrere følgende opplysninger om deg: prøvetakingstidspunkt og analyseresultater som lagres aidentifisert på et hjelpenummer.

MULIGE FORDELER OG ULEMPER

Det er ingen fordeler ved å delta i prosjektet utenom at du bidrar positivt til at laboratoriet kan kvalitetssikre holdbarheten av koagulasjonsanalysene. Det er ingen risiko, bivirkninger og ubehag utover det å ta en vanlig blodprøve. Blodprøven vil ikke påvirke den behandlingen du vil få.

FRIVILLIG DELTAKELSE OG MULIGHET FOR Å TREKKE DITT SAMTYKKE

Det er frivillig å delta i prosjektet. Dersom du ønsker å delta, undertegner du samtykkeerklæringen på siste side. Du kan når som helst og uten å oppgi noen grunn trekke ditt samtykke. Det vil ikke ha noen negative konsekvenser for deg eller din behandling hvis du ikke vil delta eller senere velger å trekke deg. Dersom du trekker tilbake samtykket, vil det ikke arbeides videre på dine blodprøveresultater. Du kan kreve innsyn i opplysningene som er lagret om deg, og opplysningene vil da utleveres innen 30 dager. Du kan også kreve at dine helseopplysninger i prosjektet slettes og at det biologiske materialet destrueres. Adgangen til å kreve destruksjon, sletting eller utlevering gjelder ikke dersom materialet eller opplysningene er anonymisert eller publisert.

Dersom du senere ønsker å trekke deg eller har spørsmål til prosjektet, kan du kontakte prosjektleder (se kontaktinformasjon på siste side).

HVA SKJER MED OPPLYSNINGENE OM DEG?

Opplysningene som registreres om deg på et hjelpenummer skal kun brukes slik som beskrevet under formålet med prosjektet, og planlegges brukt til 31.12.2021. 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. Du har også rett til å få innsyn i sikkerhetstiltakene ved behandling av opplysningene. Du kan klage på behandlingen av dine opplysninger til Datatilsynet og institusjonen sitt personvernombud.

Alle opplysningene vil bli behandlet uten navn og fødselsnummer eller andre direkte gjenkjenkende opplysninger (=avidentifiserte kodete opplysninger). Prøvene lagres i Excel ark i sykehusets datasystemer med avidentifiserte koder som K001, K002 osv. Publisering av resultatene er ikke aktuelt i dette tilfellet. Opplysningene om deg vil bli oppbevart i fem år etter prosjektslutt av kontrollhensyn.

HVA SKJER MED PRØVER SOM BLIR TATT AV DEG?

Citratplasma prøvene som tas av deg skal ikke oppbevares i en egen biobank, men blir kastet når de er ferdig analysert.

FORSIKRING

Du er forsikret mtp. ev. skader som følge av blodprøvetakingen ihht. pasientskadeloven.

ØKONOMI

Deltakerne mottar ikke honorar. Prosjektet er finansiert av Sentrallaboratoriet, Diagnostisk klinikk Nordlandssykehuset HF. Prosjektleder er fagansvarlig bioingeniør Pernilla Sofia Fagervik. Email: Pernilla.Sofia.Fagervik@nordlandssykehuset.no. Tlf. 75534000 (sentralbord).

GODKJENNINGER

Prosjektet er godkjent av enhetsleder og klinikk sjefen i Diagnostisk klinikk.

Diagnostisk klinikk og prosjektleder Pernilla Sofia Fagervik er ansvarlig for personvernet i prosjektet.

Vi behandler opplysningene basert på Helseforskningsloven.

KONTAKTOPPLYSNINGER

Dersom du har spørsmål til prosjektet eller ønsker å trekke deg fra deltakelse, kan du kontakte Pernilla Sofia Fagervik, tlf. 75534000 (Sentralbord) eller email: Pernilla.Sofia.Fagervik@nordlandssykehuset.no.

Dersom du har spørsmål om personvernet i prosjektet, kan du kontakte personvernombudet ved Nordlandssykehuset: Jørgen Knudsen Sandø. Tlf. 75571927.

Email: personvernombudet@nordlandssykehuset.no

JEG SAMTYKKER TIL Å DELTA I PROSJEKTET OG TIL AT MINE PERSONOPPLYSNINGER OG MITT BIOLOGISKE MATERIALE BRUKES SLIK DET ER BESKREVET OVENFOR

Sted og dato

Deltakers signatur

Deltakers navn med trykte bokstaver

Jeg bekrefter å ha gitt informasjon om prosjektet.

Sted og dato

Signatur

Rolle i prosjektet

Vedlegg 3: Analyseresultater for rutine koagulasjonsanalyser

Analyseresultater for PT-INR i citratplasma stående på blodlegemer og i avpipettert citratplasma

Timer	Tid 0						Tid 1						Tid 2						Tid 3						Tid 4						Tid 5					
	0		4		8		24		48		72		0		4		8		24		48		72		0		4		8		24		48		72	
Prove nr	Målte verdier												Prove nr	Målte verdier																						
1	0,99	0,99	0,97	0,97	1,05	1,10	1	1,04	1,03	1,05	1,06	1,07	1,10																							
2	1,00	1,01	1,02	1,00	1,08	1,14	2	1,40	1,34	1,34	1,34	1,38	1,47																							
3	0,98	0,98	0,98	0,96	1,02	1,06	3	1,02	1,00	0,99	0,99	1,02	1,05																							
4	1,03	1,02	1,01	0,98	1,05	1,09	4	1,13	1,14	1,16	1,18	1,19	1,24																							
5	1,02	1,04	1,05	1,02	1,09	1,14	5	0,92	0,92	0,93	0,94	0,97	1,01																							
6	0,99	0,98	0,99	0,96	0,98	1,00	6	1,01	1,00	1,00	1,02	1,03	1,07																							
7	1,20	1,18	1,17	1,13	1,19	1,26	7	1,04	1,03	1,05	1,06	1,09	1,12																							
8	1,12	1,11	1,09	1,04	1,09	1,14	8	0,98	0,98	0,99	1,00	1,01	1,07																							
9	1,00	0,99	0,99	0,95	0,99	1,03	9	1,23	1,21	1,22	1,22	1,25	1,31																							
10	0,98	0,97	0,96	0,94	1,01	1,07	10	1,00	0,99	1,00	1,02	1,05	1,11																							
11	0,96	0,96	0,97	0,93	0,99	1,05	11	0,91	0,91	0,94	0,96	0,96	1,57																							
12	1,04	1,03	1,03	0,95	1,05	1,10	12	0,91	0,91	0,93	0,93	0,96	1,00																							
13	0,98	0,99	0,97	0,97	1,04	1,09	13	0,96	0,96	0,98	1,00	1,03	1,06																							
14	1,00	1,00	1,01	0,92	1,01		14	1,01	1,00	1,02	1,03	1,06	1,12																							
15	1,37	1,35	1,36	1,35	1,35	1,36	15	1,03	1,03	1,05	1,05	1,07	1,09																							
16	1,02	1,00	1,01	1,02	1,05	1,11	16	0,90	0,91	0,91	0,92	0,96	0,99																							
17	1,12	1,12	1,16	1,19	1,20	1,24	17	0,96	0,96	0,96	0,98	1,00	1,04																							
18	0,93	0,93	0,95	0,98	1,00	1,05	18	0,93	0,93	0,94	0,96	0,98	1,03																							
19	1,00	1,00	1,02	1,03	1,05	1,08	19	0,88	0,87	0,89	0,89	0,93	0,96																							
20	1,05	1,04	1,05	1,08	1,11	1,16	20	1,07	1,05	1,06	1,06	1,09	1,13																							
21	0,99	0,98	1,00	1,02	1,06	1,11	21	1,00	1,00	1,00	1,03	1,07	1,10																							
22	1,22	1,23	1,24	1,26	1,29	1,33	22	1,01	1,00	1,01	1,01	1,03	1,07																							
23	0,91	0,92	0,94	0,96	0,99	1,03	23	1,02	1,02	1,02	1,04	1,06	1,10																							
24	0,91	0,91	0,93	0,94	0,96	1,00	24	0,95	0,94	0,95	0,96	0,98	1,01																							
25	0,97	0,96	0,99	1,02	1,07	1,11	25	0,97	0,98	0,98	0,99	1,00	1,03																							
26	1,00	1,02	1,04	1,06	1,09	1,14	26	0,97	0,98	0,96	0,96	0,97	1,01																							
27							27	0,97	0,98	0,96	0,96	0,98	1,02																							
28							28	1,16	1,15	1,16	1,16	1,19	1,22																							

Analyseresultater for APTT i citratplasma stående på blodlegemer og i avpipettert citratplasma

Timer	Tid 0						Tid 1						Tid 2						Tid 3						Tid 4						Tid 5					
	0		4		8		24		48		72		0		4		8		24		48		72		0		4		8		24		48		72	
Prove nr	Målte verdier												Prove nr	Målte verdier																						
1	25,40	25,50	25,80	26,50	26,20	28,30	1	29,40	28,90	29,60	36,60	47,40	66,30																							
2	25,10	25,10	25,00	26,10	26,20	26,80	2	39,90	40,50	42,80	53,50	62,50	70,30																							
3	26,20	26,20	26,20	27,70	26,70	27,30	3	22,90	22,50	23,80	29,80	47,40																								
4	24,60	26,60	26,50	26,40	28,30	28,90	4	25,40	25,20	25,80	27,70	28,60	29,90																							
5	26,10	24,60	24,70	25,10	25,80	25,80	5	24,20	24,30	25,20	27,60	29,40	35,10																							
6	23,20	23,20	23,50	32,50	40,70	38,80	6	22,50	21,80	22,40	24,10	25,60	31,00																							
7	27,80	28,10	28,30	28,60	30,00	30,80	7	23,00	23,00	23,80	26,30	28,40	31,50																							
8	24,30	24,50	24,70	24,80	26,90	27,40	8	23,00	23,30	24,60	26,90	29,80	35,10																							
9	25,00	24,80	25,10	25,90	26,50	27,10	9	23,60	23,60	24,30	26,20	27,20	29,60																							
10	20,90	21,00	21,10	21,80	22,20	22,20	10	26,50	26,10	26,70	28,50	30,80	37,10																							
11	22,30	22,30	22,70	23,20	23,10	23,40	11	21,90	21,70	22,60	23,80	32,60																								
12	27,10	26,70	26,50	27,60	28,30	28,70	12	26,40	25,80	25,90	28,30	31,10	36,90																							
13	25,80	25,70	25,30	26,40	26,40	27,10	13	22,60	21,80	22,20	23,80	25,80	31,60																							
14	24,00	23,80	24,00	24,60	24,40		14	22,60	22,70	24,80	27,10	33,20	48,00																							
15	40,10	39,80	41,70	48,90	64,70	65,30	15	28,80	29,00	30,60	35,00	43,20	57,40																							
16	24,00	22,90	23,40	25,20	26,80	28,10	16	25,60	24,10	24,30	26,10	26,80	35,00																							
17	26,20	25,30	25,50	26,20	26,70	27,00	17	26,40	25,90	27,00	29,00	32,20	45,30																							
18	26,00	25,20	25,50	26,60	27,80	28,90	18	23,20	22,80	23,30	24,90	27,20	32,60																							
19	23,40	22,30	22,70	24,40	25,60	26,10	19	26,30	25,50	26,00	28,30	30,10	43,60																							
20	24,30	23,50	23,80	25,00	26,20	26,70	20	23,70	23,70	24,40	26,50	27,90	31,30																							
21	24,10	23,90	24,00	25,60	26,80	27,50	21	24,10	23,50	23,60	25,10	26,50	28,10																							
22	25,10	24,50	24,60	26,00	27,10	28,10	22	24,60	24,00	25,00	28,40	35,00	55,30																							
23	22,80	22,30	22,50	24,30	25,30	25,30	23	24,20	23,60	24,30	27,70	32,70	42,90																							
24	28,00	27,10	27,00	31,10	33,30	32,60	24	21,00	20,60	21,10	23,80	28,00	36,70																							
25	24,00	23,40	23,30	24,90	25,60	26,30	25	25,20	24,40	24,70	26,80	29,70	36,00																							
26	23,30	22,90	23,40	25,20	26,50	27,60	26	23,00	22,90	24,90	27,10	34,00	53,40																							
27							27	25,30	24,80	26,30	32,40	42,50	68,20																							
28							28	25,90	25,50	26,20	28,70	31,00	37,10																							

Analyseresultater for fibrinogen i citratplasma stående på blodlegemer og i avpipettert citratplasma

Timer	Tid 0 Tid 1 Tid 2 Tid 3 Tid 4 Tid 5						Målte verdier	Timer	Tid 0 Tid 1 Tid 2 Tid 3 Tid 4 Tid 5					
	0	4	8	24	48	72			0	4	8	24	48	72
1	2,58	2,58	2,50	2,75	2,80	2,55	1	2,54	2,66	2,66	2,66	2,46	2,54	
2	1,84	1,86	1,84	2,00	2,05	1,92	2	6,04	6,66	6,34	6,34	5,76	5,76	
3	2,71	2,66	2,62	2,91	2,97	2,67	3	7,39	7,80	7,39	7,39	7,01	7,01	
4	3,67	4,25	4,04	4,48	4,48	4,14	4	3,67	3,85	3,76	3,85	3,59	3,59	
5	4,14	3,67	3,76	3,94	4,04	3,67	5	2,58	2,75	2,66	2,66	2,50	2,54	
6	2,50	2,50	2,46	2,66	2,75	2,55	6	2,97	3,09	2,97	2,97	2,85	2,85	
7	2,43	2,36	2,36	2,54	2,62	2,42	7	3,28	3,43	3,36	3,43	3,22	3,28	
8	3,22	3,22	3,15	3,43	3,51	3,09	8	4,74	5,02	5,02	5,02	4,60	4,60	
9	4,51	4,64	4,39	5,50	5,76	5,01	9	3,94	4,14	4,04	3,85	3,85	3,94	
10	4,04	4,04	4,04	4,36	4,36	3,94	10	4,36	4,48	4,36	4,48	1,84		
11	2,97	2,97	2,91	3,15	3,28	2,91	11	4,36	4,48	4,36	4,48	1,84		
12	3,09	3,15	3,09	3,36	3,43	3,09	12	3,43	3,51	3,51	3,43	3,36	3,43	
13	2,75	2,75	2,75	2,97	3,09	2,67	13	3,94	4,14	4,04	4,04	3,76	3,85	
14	3,59	3,59	3,59	3,85	4,04		14	5,10	5,17	5,02	5,02	4,74	4,74	
15	6,34	6,04	6,04	6,34	6,04	6,04	15	2,66	2,66	2,75	2,66	2,58	2,62	
16	7,39	7,80	7,39	7,39	7,39	7,39	16	3,03	3,15	3,15	3,09	2,97	3,03	
17	3,85	3,85	3,94	3,85	3,67	3,76	17	3,94	4,14	4,04	4,14	3,94	4,04	
18	2,50	2,66	2,54	2,58	2,46	2,54	18	4,04	3,94	4,04	3,94	3,76	3,76	
19	3,03	3,03	3,09	3,03	2,85	3,03	19	3,51	3,59	3,59	3,51	3,28	3,36	
20	3,28	3,36	3,36	3,28	3,15	3,28	20	2,91	2,91	2,91	2,97	2,80	2,80	
21	5,02	5,02	5,02	4,87	4,74	4,74	21	2,43	2,50	2,54	2,54	2,39	2,46	
22	4,04	4,14	4,04	3,94	3,76	3,85	22	3,09	3,09	3,09	3,09	2,91	2,97	
23	4,48	4,48	4,60	4,48	4,36	4,36	23	2,71	2,75	2,75	2,75	2,54	2,62	
24	3,67	3,59	3,67	3,59	3,36	3,51	24	3,09	3,09	3,15	3,03	2,91	2,85	
25	4,04	4,04	3,85	3,94	3,67	3,94	25	4,87	4,87	4,87	5,02	4,60	4,74	
26	5,17	5,17	5,02	5,02	4,87	4,87	26	5,33	5,33	5,50	5,50	5,17	5,33	
27							27	4,48	4,60	4,36	4,48	4,14	4,25	
28							28	2,80	2,80	2,80	2,75	2,58	2,62	

Analyseresultater for D-dimer i citratplasma stående på blodlegemer og i avpipettert citratplasma

Timer	Tid 0 Tid 1 Tid 2 Tid 3 Tid 4 Tid 5						Målte verdier	Timer	Tid 0 Tid 1 Tid 2 Tid 3 Tid 4 Tid 5					
	0	4	8	24	48	72			0	4	8	24	48	72
1	0,67	0,72	0,74	0,72	0,74	0,85	1	0,25	0,25	0,25	0,26	0,62	0,45	
2	0,22	0,23	0,22	0,23	0,23	0,25	2	1,18	1,18	1,21	1,17	1,31	1,22	
3	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,21	3	13,60	14,03	13,95	13,76	14,48	14,19	
4	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	4	0,28	0,29	0,28	0,27	0,30	0,33	
5	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	5	0,36	0,37	0,36	0,35	0,47	0,57	
6	0,18	0,19	0,18	0,21	0,22	0,24	6	0,85	0,84	0,84	0,83	1,05	1,02	
7	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	7	0,22	0,23	0,24	0,23	0,31	0,34	
8	0,21	0,20	0,21	0,21	0,21	0,22	8	2,54	2,60	2,56	2,44	2,57	2,50	
9	0,23	0,24	0,25	0,25	0,23	0,25	9	0,29	0,29	0,29	0,29	0,38	0,42	
10	0,64	0,90	0,86	0,73	0,71	0,72	10	0,39	0,39	0,40	0,41	0,75	0,65	
11	0,34	0,35	0,35	0,36	0,35	0,37	11	0,63	0,66	0,64	0,64	0,59	0,34	
12	1,01	1,02	1,01	1,00	0,98	0,99	12	0,18	0,18	0,18	0,18	0,27	0,28	
13	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	13	0,73	0,74	0,75	0,72	0,82	0,88	
14	0,18	0,19	0,19	0,20	0,18		14	0,36	0,36	0,35	0,37	0,70	0,58	
15	1,16	1,16	1,18	1,17	1,16	1,15	15	0,26	0,25	0,25	0,27	0,61	0,51	
16	13,32	13,39	13,92	13,23	13,18	12,67	16	0,18	0,18	0,18	0,18	0,27	0,50	
17	0,29	0,29	0,29	0,28	0,28	0,27	17	0,23	0,23	0,22	0,24	0,47	0,51	
18	0,35	0,35	0,35	0,35	0,34	0,34	18	0,22	0,21	0,21	0,20	0,41	0,46	
19	0,84	0,84	0,85	0,83	0,82	0,80	19	0,61	0,62	0,62	0,61	0,79	0,86	
20	0,23	0,23	0,23	0,23	0,22	0,22	20	0,30	0,30	0,29	0,29	0,35	0,45	
21	2,52	2,58	2,64	2,49	2,45	2,41	21	0,29	0,29	0,29	0,28	0,29	0,32	
22	0,29	0,29	0,29	0,29	0,28	0,28	22	0,80	0,79	0,79	0,80	1,30	1,11	
23	0,64	0,64	0,66	0,63	0,63	0,61	23	0,52	0,53	0,52	0,51	0,78	0,64	
24	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	24	0,66	0,66	0,66	0,64	1,02	0,91	
25	0,72	0,72	0,73	0,71	0,69	0,68	25	0,24	0,23	0,22	0,23	0,47	0,51	
26	0,37	0,37	0,37	0,37	0,36	0,35	26	0,26	0,26	0,24	0,29	0,70	0,45	
27							27	0,21	0,20	0,20	0,28	0,78	0,37	
28							28	0,18	0,18	0,18	0,18	0,22	0,37	

Vedlegg 4: Gjennomsnittsendring fra utgangsverdi for rutine koagulasjonsanalyser

Gjennomsnittsendring for PT-INR i citratplasma stående på blodlegemer og i avpipettert citratplasma

Prosent (blå tall er større enn tillatt totalfeil)						
Preve nr	Tid 0	Tid 1	Tid 2	Tid 3	Tid 4	Tid 5
1	100,00	100,00	97,98	97,98	106,06	111,11
2	100,00	101,00	102,00	100,00	108,00	114,00
3	100,00	100,00	100,00	97,96	104,08	108,16
4	100,00	99,03	98,06	95,15	101,94	105,83
5	100,00	101,96	102,94	100,00	106,86	111,76
6	100,00	98,99	100,00	96,97	98,99	101,01
7	100,00	98,33	97,50	94,17	99,17	105,00
8	100,00	99,11	97,32	92,86	97,32	101,79
9	100,00	99,00	99,00	95,00	99,00	103,00
10	100,00	98,98	97,96	95,92	103,06	109,18
11	100,00	100,00	101,04	96,88	103,13	109,38
12	100,00	99,04	99,04	91,35	100,96	105,77
13	100,00	101,02	98,98	98,98	106,12	111,22
14	100,00	100,00	101,00	92,00	101,00	
15	100,00	98,54	99,27	98,54	98,54	99,27
16	100,00	98,04	99,02	100,00	102,94	108,82
17	100,00	100,00	103,57	106,25	107,14	110,71
18	100,00	100,00	102,15	105,38	107,53	112,90
19	100,00	100,00	102,00	103,00	105,00	108,00
20	100,00	99,05	100,00	102,86	105,71	110,48
21	100,00	98,99	101,01	103,03	107,07	112,12
22	100,00	100,82	101,64	103,28	105,74	109,02
23	100,00	101,10	103,30	105,49	108,79	113,19
24	100,00	100,00	102,20	103,30	105,49	109,89
25	100,00	98,97	102,06	105,15	110,31	114,43
26	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
27	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
28	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
29	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
30	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
31	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
32	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
33	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
34	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
35	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
36	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
37	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
38	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
39	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
40	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
41	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
42	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
43	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
44	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
45	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
46	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
47	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
48	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
49	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
50	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
51	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
52	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
53	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
54	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
55	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
56	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
57	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
58	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
59	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
60	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
61	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
62	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
63	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
64	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
65	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
66	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
67	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
68	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
69	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
70	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
71	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
72	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
73	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
74	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
75	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
76	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
77	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
78	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
79	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
80	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
81	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
82	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
83	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
84	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
85	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
86	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
87	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
88	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
89	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
90	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
91	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
92	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
93	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
94	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
95	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
96	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
97	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
98	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
99	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
100	100,00	102,00	104,00	106,00	109,00	114,00
Mean	100,00	99,77	100,50	99,52	104,19	108,80
n	26,00	26,00	26,00	26,00	26,00	25,00
SD	0,00	1,06	1,99	4,57	3,65	4,23
SEM	0,00	0,21	0,39	0,90	0,72	0,85
t	1,71	1,71	1,71	1,71	1,71	1,71
t x SEM	0,00	0,35	0,67	1,53	1,22	1,45
Minimum	100,00	98,04	97,32	91,35	97,32	99,27
Maksimum	100,00	102,00	104,00	106,25	110,31	114,43
Bias nedre gr	98,00	98,00	98,00	98,00	98,00	98,00
Bias øvre gr	102,00	102,00	102,00	102,00	102,00	102,00
TEA nedre gr	94,70	94,70	94,70	94,70	94,70	94,70
TEA øvre gr	105,30	105,30	105,30	105,30	105,30	105,30

Gjennomsnittsendring for APTT i citratplasma stående på blodlegemer og i avpipettert citratplasma

Prosent (blå tall er større enn tillatt totalfeil)						
Preve nr	Tid 0	Tid 1	Tid 2	Tid 3	Tid 4	Tid 5
1	100,00	100,39	101,57	104,33	103,15	111,42
2	100,00	100,00	99,60	103,98	104,38	106,77
3	100,00	100,00	100,00	105,73	101,91	104,20
4	100,00	108,13	107,72	107,32	115,04	117,48
5	100,00	94,25	94,64	96,17	98,85	98,85
6	100,00	100,00	101,29	140,09	175,43	167,24
7	100,00	101,08	101,80	102,88	107,91	110,79
8	100,00	100,82	101,65	102,06	110,70	112,76
9	100,00	99,20	100,40	103,60	106,00	108,40
10	100,00	100,48	100,96	104,31	106,22	106,22
11	100,00	100,00	101,79	104,04	103,59	104,33
12	100,00	98,52	97,79	101,85	104,43	105,90
13	100,00	99,61	98,06	102,33	102,33	105,04
14	100,00	99,17	100,00	102,50	101,67	
15	100,00	99,25	103,99	121,95	161,35	162,84
16	100,00	95,42	97,50	105,00	111,67	117,08
17	100,00	96,56	97,33	100,00	101,91	103,05
18	100,00	96,92	98,08	102,31	106,92	111,15
19	100,00	95,30	97,01	104,27	109,40	111,54
20	100,00	96,71	97,94	102,88	107,82	109,88
21	100,00	99,17	99,59	106,22	111,20	114,11
22	100,00	97,61	98,01	103,59	107,97	111,95
23	100,00	97,81	98,68	106,58	110,96	110,96
24	100,00	96,79	96,43	111,07	118,33	116,43
25	100,00	97,50	97,08	103,75	106,67	109,58
26	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
27	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
28	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
29	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
30	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
31	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
32	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
33	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
34	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
35	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
36	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
37	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
38	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
39	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
40	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
41	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
42	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	118,45
43	100,00	98,28	100,43	108,15	113,73	

Gjennomsnittsendring for fibrinogen i citratplasma stående på blodlegemer og i avpipettert citratplasma

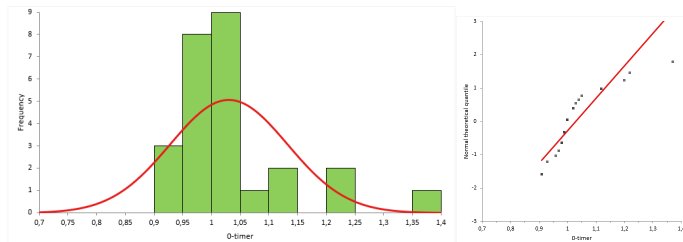
Prosent (blå tall er større enn tillatt totalfeil)							Prosent (blå tall er større enn tillatt totalfeil)						
Prøve nr	Tid 0	Tid 1	Tid 2	Tid 3	Tid 4	Tid 5	Prøve nr	Tid 0	Tid 1	Tid 2	Tid 3	Tid 4	Tid 5
1	100,00	100,00	96,90	106,59	108,53	98,84	1	100,00	104,72	104,72	104,72	96,85	100,00
2	100,00	101,09	100,00	108,70	111,41	104,35	2	100,00	110,26	104,97	104,97	95,36	95,36
3	100,00	98,15	96,68	107,38	109,59	98,52	3	100,00	105,55	100,00	100,00	94,86	94,86
4	100,00	115,80	110,08	122,07	122,07	112,81	4	100,00	104,90	102,45	104,90	97,82	97,82
5	100,00	88,65	90,82	95,17	97,58	88,65	5	100,00	106,59	103,10	103,10	96,90	98,45
6	100,00	100,00	98,40	106,40	110,00	102,00	6	100,00	104,04	100,00	100,00	95,96	95,96
7	100,00	97,12	97,12	104,53	107,82	99,59	7	100,00	104,57	102,44	104,57	98,17	100,00
8	100,00	100,00	97,83	106,52	109,01	95,96	8	100,00	105,91	105,91	105,91	97,05	97,05
9	100,00	102,88	97,34	121,95	127,72	111,09	9	100,00	105,08	102,54	97,72	97,72	100,00
10	100,00	100,00	100,00	107,92	107,92	97,52	10	100,00	102,75	100,00	102,75	100,00	100,00
11	100,00	100,00	97,98	106,06	110,44	97,98	11	100,00	102,75	100,00	102,75	42,29	42,29
12	100,00	101,94	100,00	108,74	111,00	100,00	12	100,00	102,33	102,33	100,00	97,96	100,00
13	100,00	100,00	100,00	108,00	112,36	97,09	13	100,00	105,08	102,54	102,54	95,43	97,72
14	100,00	100,00	100,00	107,24	112,53	95,27	14	100,00	101,37	98,43	98,43	92,94	92,94
15	100,00	95,27	95,27	100,00	95,27	95,27	15	100,00	100,00	103,38	100,00	96,99	98,50
16	100,00	105,55	100,00	100,00	100,00	100,00	16	100,00	103,96	103,96	101,98	98,02	100,00
17	100,00	100,00	102,34	100,00	95,32	97,66	17	100,00	105,08	102,54	105,08	100,00	102,54
18	100,00	106,40	101,60	103,20	98,40	101,60	18	100,00	97,52	100,00	97,52	93,07	93,07
19	100,00	100,00	101,98	100,00	94,06	100,00	19	100,00	102,28	102,28	100,00	93,45	95,73
20	100,00	102,44	102,44	100,00	96,04	100,00	20	100,00	100,00	100,00	102,06	96,22	96,22
21	100,00	100,00	100,00	97,01	94,42	94,42	21	100,00	102,88	104,53	104,53	98,35	101,23
22	100,00	102,48	100,00	97,52	93,07	95,30	22	100,00	100,00	100,00	100,00	94,17	96,12
23	100,00	100,00	102,68	100,00	97,32	97,32	23	100,00	101,48	101,48	101,48	93,73	96,68
24	100,00	97,82	100,00	97,82	91,55	95,64	24	100,00	100,00	101,94	98,06	94,17	92,23
25	100,00	100,00	95,30	97,52	90,84	97,52	25	100,00	100,00	100,00	103,08	94,46	97,33
26	100,00	100,00	97,10	97,10	94,20	94,20	26	100,00	100,00	103,19	103,19	97,00	100,00
27	100,00	100,00	97,10	97,10	94,20	94,20	27	100,00	102,68	97,32	100,00	92,41	94,87
28	100,00	100,00	97,10	97,10	94,20	94,20	28	100,00	100,00	100,00	98,21	92,14	93,57
29	100,00	100,00	97,10	97,10	94,20	94,20	29	100,00	100,00	100,00	98,21	92,14	93,57
30	100,00	100,00	97,10	97,10	94,20	94,20	30	100,00	100,00	100,00	98,21	92,14	93,57
Mean	100,00	100,00	99,30	104,13	103,79	98,93	Mean	100,00	102,92	101,79	101,70	94,05	97,34
n	26,00	26,00	26,00	26,00	26,00	25,00	n	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00	27,00
SD	0,00	4,50	3,46	6,82	9,80	4,99	SD	0,00	2,75	2,08	2,54	10,39	2,75
SEM	0,00	0,88	0,68	1,34	1,92	1,00	SEM	0,00	0,52	0,39	0,48	1,96	0,53
t	1,71	1,71	1,71	1,71	1,71	1,71	t	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,71
t x SEM	0,00	1,51	1,16	2,28	3,28	1,71	t x SEM	0,00	0,88	0,67	0,82	3,35	0,90
Minimum	100,00	88,65	90,82	95,17	90,84	88,65	Minimum	100,00	97,52	97,32	97,52	42,20	92,23
Maksimum	100,00	115,80	110,08	122,07	127,72	112,81	Maksimum	100,00	110,26	105,91	105,91	100,00	102,54
Bias nedre gr	95,20	95,20	95,20	95,20	95,20	95,20	Bias nedre gr	95,20	95,20	95,20	95,20	95,20	95,20
Bias øvre gr	104,80	104,80	104,80	104,80	104,80	104,80	Bias øvre gr	104,80	104,80	104,80	104,80	104,80	104,80
TEA nedre gr	86,40	86,40	86,40	86,40	86,40	86,40	TEA nedre gr	86,40	86,40	86,40	86,40	86,40	86,40
TEA øvre gr	113,60	113,60	113,60	113,60	113,60	113,60	TEA øvre gr	113,60	113,60	113,60	113,60	113,60	113,60

Gjennomsnittsendring for D-dimer i citratplasma stående på blodlegemer og i avpipettert citratplasma

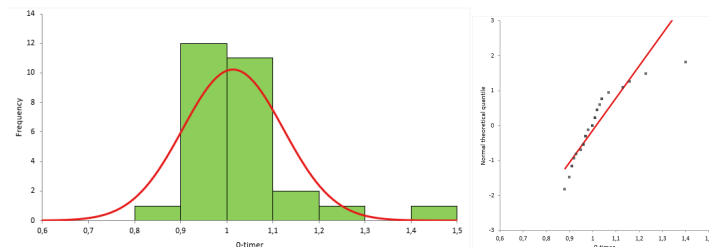
Prosent (blå tall er større enn tillatt totalfeil)							Prosent (blå tall er større enn tillatt totalfeil)						
Prøve nr	Tid 0	Tid 1	Tid 2	Tid 3	Tid 4	Tid 5	Prøve nr	Tid 0	Tid 1	Tid 2	Tid 3	Tid 4	Tid 5
1	100,00	107,46	110,45	107,46	110,45	126,87	1	100,00	100,00	100,00	104,00	248,00	180,00
2	100,00	104,55	100,00	104,55	104,55	113,64	2	100,00	100,00	102,54	99,15	111,02	103,39
3	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	116,67	3	100,00	103,16	102,57	101,18	106,47	104,34
4	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	4	100,00	103,57	100,00	96,43	107,14	117,86
5	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	5	100,00	102,78	100,00	97,22	130,56	158,33
6	100,00	105,56	100,00	116,67	122,22	133,33	6	100,00	98,82	98,82	97,65	123,53	120,00
7	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	7	100,00	104,55	109,09	104,55	140,91	154,55
8	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	8	100,00	102,36	100,79	96,06	101,18	98,43
9	100,00	95,24	100,00	100,00	100,00	104,76	9	100,00	100,00	100,00	100,00	131,03	144,83
10	100,00	104,35	108,70	108,70	100,00	108,70	10	100,00	100,00	102,56	105,13	192,31	166,67
11	100,00	140,63	134,38	114,06	110,94	112,50	11	100,00	104,76	101,59	101,59	93,65	53,97
12	100,00	102,94	102,94	105,88	102,94	108,82	12	100,00	100,00	100,00	100,00	150,00	155,56
13	100,00	100,99	100,00	99,01	97,03	98,02	13	100,00	101,37	102,74	98,63	112,33	120,55
14	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	14	100,00	100,00	97,22	102,78	194,44	161,11
15	100,00	105,56	105,56	111,11	100,00	100,00	15	100,00	96,15	96,15	103,85	234,62	196,15
16	100,00	100,00	101,72	100,86	100,00	99,14	16	100,00	100,00	100,00	100,00	150,00	277,78
17	100,00	100,53	104,50	99,32	98,95	95,12	17	100,00	100,00	96,65	104,35	204,35	221,74
18	100,00	100,00	100,00	96,55	96,55	93,10	18	100,00	95,45	95,45	90,91	186,36	209,09
19	100,00	100,00	100,00	100,00	97,14	97,14	19	100,00	101,54	101,54	100,00	129,51	148,99
20	100,00	100,00	101,19	98,81	97,62	95,24	20	100,00	100,00	96,67	96,67	116,67	150,00
21	100,00	100,00	100,00	95,65	95,65	95,65	21	100,00	100,00	100,00	96,65	100,00	110,34
22	100,00	102,38	104,76	98,81	97,22	95,63	22	100,00	98,75	98,75	100,00	162,50	138,75
23	100,00	100,00	100,00	100,00	96,55	96,55	23	100,00	101,92	100,00	98,08	150,00	123,08
24	100,00	100,00	103,13	98,44	98,44	95,31	24	100,00	100,00	100,00	96,97	154,55	137,88
25	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	25	100,00	95,63	91,67	95,63	195,63	212,50
26	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	26	100,00	100,00	92,31	111,54	269,23	173,08
27	100,00	100,00	101,39	98,61	95,83	94,44	27	100,00	95,24	95,24	133,33	371,43	176,19
28	100,00	100,00	100,00	100,00	97,30	94,59	28	100,00	100,00	100,00	100,00	122,22	205,56
29	100,00	100,00	100,00	100,00	97,30	94,59	29	100,00	100,00	100,00	100,00	122,22	205,56
30	100,00	100,00	100,00	100,00	97,30	94,59	30	100,00	100,00	100,00	100,00	122,22	205,56
Mean	100,00	102,70	103,03	102,26	100,75	103,01	Mean	100,00	100,23	99,34	101,16	160,35	154,02
n	26,00	26,00	26,00	26,00	26,00	25,00	n	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00
SD	0,00	8,14	7,00	5,19	5,79	10,49	SD	0,00	2,47	3,50	7,44	62,62	46,31
SEM	0,00	1,60	1,37	1,02	1,14	2,10	SEM	0,00	0,47	0,66	1,41	11,83	8,75
t	1,71	1,71	1,71	1,71	1,71	1,71	t	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
t x SEM	0,00	2,73	2,35	1,74	1,94	3,59	t x SEM	0,00	0,79	1,13	2,40	20,16	14,91
Minimum	100,00	95,24	100,00	96,55	95,65	93,10	Minimum	100,00	95,24	91,67	90,91	93,65	53,97
Maksimum	100,00	140,63	134,38	116,67	122,22	133,33	Maksimum	100,00	104,76	109,09	133,33	371,43	277,78
Bias nedre gr	91,18	91,18	91,18	91,18	91,18	91,18	Bias nedre gr	91,20	91,20	91,20	91,20	91,20	91,20
Bias øvre gr	108,82	108,82	108										

Vedlegg 5: Gauss-kurv og Q-Q-plott for referanseprøven (nullprøven) til analysene

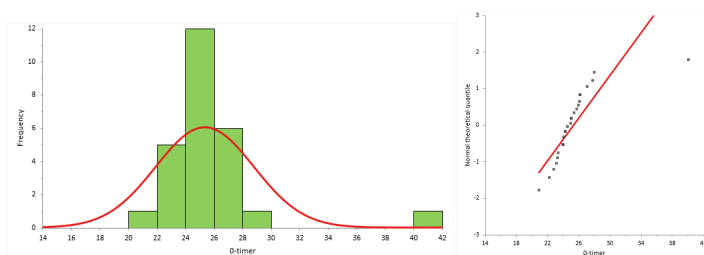
Referanseprøven (nullprøven) for INR i citratplasma stående på blodlegemer



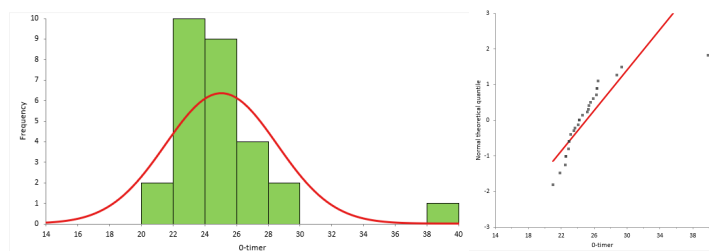
Referanseprøven (nullprøven) for INR i avpipettert citratplasma



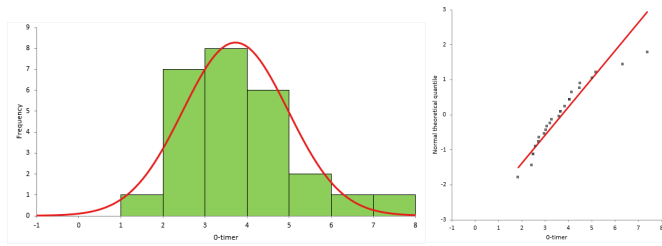
Referanseprøven (nullprøven) for APTT i citratplasma stående på blodlegemer



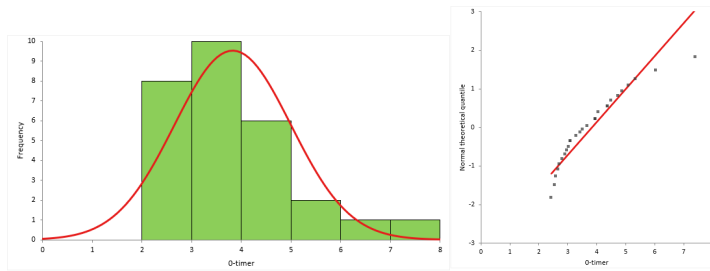
Referanseprøven (nullprøven) for APTT i avpipettert citratplasma



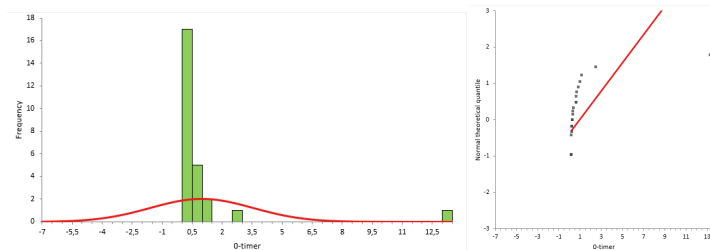
Referanseprøven (nullprøven) for fibrinogen i citratplasma stående på blodlegemer



Referanseprøven (nullprøven) for fibrinogen i avpipettert citratplasma



Referanseprøven (nullprøven) for D-dimer i citratplasma stående på blodlegemer



Referanseprøven (nullprøven) for D-dimer i avpipettert citratplasma

