



# NTNU

Kunnskap for en bedre verden

# Bacheloroppgave

**BI301305: Bacheloroppgave Bioingeniør**

**Sammenlignings- og holdbarhetsstudie av citrat-plasma mot EDTA-plasma med hensyn til PT-INR analyse.**

Kandidatnummer eller kandidatnumre: (606,609,604)

Totalt antall sider inkludert forsiden: 102

Innlevert Ålesund, 02/06/2016

## Obligatorisk egenerklæring/gruppeerklæring

Den enkelte student er selv ansvarlig for å sette seg inn i hva som er lovlige hjelpemidler, retningslinjer for bruk av disse og regler om kildebruk. Erklæringen skal bevisstgjøre studentene på deres ansvar og hvilke konsekvenser fusk kan medføre. **Manglende erklæring fritar ikke studentene fra sitt ansvar.**

Du/dere fyller ut erklæringen ved å klikke i ruten til høyre for den enkelte del 1-6:		
1.	Jeg/vi erklærer herved at min/vår besvarelse er mitt/vårt eget arbeid, og at jeg/vi ikke har brukt andre kilder eller har mottatt annen hjelp enn det som er nevnt i besvarelsen.	<input checked="" type="checkbox"/>
2.	Jeg/vi erklærer videre at denne besvarelsen: <ul style="list-style-type: none"><li>• ikke har vært brukt til annen eksamen ved annen avdeling/universitet/høgskole innenlands eller utenlands.</li><li>• ikke refererer til andres arbeid uten at det er oppgitt.</li><li>• ikke refererer til eget tidligere arbeid uten at det er oppgitt.</li><li>• har alle referansene oppgitt i litteraturlisten.</li><li>• ikke er en kopi, duplikat eller avskrift av andres arbeid eller besvarelse.</li></ul>	<input checked="" type="checkbox"/>
3.	Jeg/vi er kjent med at brudd på ovennevnte er å <u>betrakte som fusk</u> og kan medføre annullering av eksamen og utestengelse fra universiteter og høgskoler i Norge, jf. <a href="#">Universitets- og høgskoleloven</a> §§4-7 og 4-8 og Forskrift om eksamen.	<input checked="" type="checkbox"/>
4.	Jeg/vi er kjent med at alle innleverte oppgaver kan bli plagiatkontrollert i Ephorus, se Retningslinjer for elektronisk innlevering og publisering av studiepoenggivende studentoppgaver	<input checked="" type="checkbox"/>
5.	Jeg/vi er kjent med at høgskolen vil behandle alle saker hvor det forligger mistanke om fusk etter NTNUs studieforskrift.	<input checked="" type="checkbox"/>
6.	Jeg/vi har satt oss inn i regler og retningslinjer i bruk av kilder og referanser på biblioteket sine nettsider	<input checked="" type="checkbox"/>



# Publiseringsavtale

Studiepoeng:

Veileder:

## Fullmakt til elektronisk publisering av oppgaven

Forfatter(ne) har opphavsrett til oppgaven. Det betyr blant annet enerett til å gjøre verket tilgjengelig for allmennheten ([Åndsverkloven §2](#)).

Alle oppgaver som fyller kriteriene vil bli registrert og publisert i Brage med forfatter(ne)s godkjenning.

Oppgaver som er unntatt offentlighet eller båndlagt vil ikke bli publisert.

Jeg/vi gir herved NTNU i Ålesund en vederlagsfri rett til å gjøre oppgaven tilgjengelig for elektronisk publisering:

ja  nei

Er oppgaven båndlagt (konfidensiell)?

ja  nei

(Båndleggingsavtale må fylles ut)

- Hvis ja:

Kan oppgaven publiseres når båndleggingsperioden er over?

ja  nei

Er oppgaven unntatt offentlighet?

ja  nei

(inneholder taushetsbelagt informasjon. [Jfr. Offl. §13/Fvl. §13](#))

Dato:

## Forord

*Denne bacheloroppgaven er skrevet av tredjeårs bioingeniørstudenter fra NTNU i Ålesund, våren 2016. Oppgavens tema er laget av fagbioingeniør Bjørn Ødegård ved medisinsk biokjemi avdeling, seksjon Kristiansund. Utførelsen av studien ble gjort ved sykehuslaboratoriets medisinsk biokjemi avdeling, seksjon for Hematologi og koagulasjonsanalyser. Tema til oppgaven er sammenligning av PT-INR verdier i EDTA plasma mot PT-INR verdier i citrat plasma.*

*Denne oppgaven har vært utfordrende og spennende for oss. I forbindelse med denne oppgaven, vil vi takke Medisinsk biokjemi laboratoriet, seksjon Kristiansund for å ha vært til stor hjelp til gjennomføring av denne studien.*

*Vi vil også takke vår prosessveileder Willy Sæther ved NTNU i Ålesund, som har hjulpet oss mye gjennom skriveprosessen, ved å ha gitt oss gode tilbakemeldinger underveis i prosessen. Videre takker vi våre fagveiledere Fagbioingeniør Bjørn Ødegård og Bjørnar Thorsen ved Medisinsk biokjemi laboratoriet, seksjon Kristiansund.*

## 1.0 Sammendrag

Oppgaven ble foreslått av Medisinsk biokjemi avdeling, seksjon Kristiansund. De ønsket å finne ut om EDTA-plasma kan brukes alternativt til citrat-plasma til PT-INR analysen.

EDTA-plasma er som oftest lett tilgjengelig prøvemateriale fra pasienter.

Hvis studien viser at EDTA-plasma kan brukes til PT-INR analyse, er dette positivt for pasienter, fordi på denne måten unngår å bli stukket enda en gang, når leger bestiller PT-INR analyse i ettertid av prøvetaking. I tillegg ble det utført en holdbarhetsstudie, som består av to deler:

- Sammenligne PT-INR verdier for citrat-plasma og EDTA-plasma i et tidsintervall på femti timer. Citrat- og EDTA-plasma fra samme pasient oppbevares i både romtemperatur og kjøleskap. EDTA-plasma fra romtemperatur sammenlignes med citrat-plasma fra romtemperatur. Fem pasienter velges ut til dette formålet. Prøvene analyseres for PT-INR hver femte time i over to døgn, og resultater sammenlignes for å finne ut om PT-INR verdier holder seg stabilt over tid.
- Sammenligne oppbevaring av EDTA-plasma og citrat-plasma i romtemperatur og kjøleskap med hensyn til PT-INR analyse.

Den praktiske delen av studien ble utført ved sykehuslaboratoriet i Kristiansund, der oppgaven ble foreslått. Blodprøver av 64 pasienter ble samlet inn, hvor 43 av dem gikk på Marevanbehandling. Prøvene ble behandlet etter gjeldende prosedyrer ved laboratoriet og analysert for PT-INR, ved bruk av STA-R Evolution instrument.

Lignende studier har blitt gjort før, og disse har vist at PT-INR fra EDTA-plasma alltid er litt lavere enn PT-INR fra citrat-plasma. Dermed foreslo fagveilederen vår å lage en kalibreringskurve som er rettet mot EDTA-plasma, på STA-R instrumentet, når man analyserer PT-INR. Denne kalibreringskurven er kalt for EDTA-INR. PT-INR verdier i EDTA-plasma, kjørt med denne metoden blir sammenlignet med PT-INR i citrat-plasma fra den vanlige kalibreringskurven.

Til å tolke resultater fra studiene blir det benyttet lineær regresjon, Bland Altman plott (Differanse plott) og Passing Bablok metode.

## Innholdsliste:

Forside .....	1
Forord .....	4
1.0 Sammendrag .....	5
2.0 Innledning.....	7
2.1 Bakgrunn for oppgaven.....	7
2.2 Problemstilling.....	7
2.3 Grunnen til valg av temaet.....	8
2.4 Tidligere studier.....	8
3.0 Teori.....	10
3.1 Endotelcellelaget.....	10
3.2 Primær hemostase.....	11
3.3 Sekundær hemostase.....	13
3.4 Fibrinolyse.....	17
3.5 Vitamin K.....	18
3.6 PT - INR.....	19
3.7 STA-R Evolution.....	20
3.9 Prøverør.....	23
4.0 Material og metode.....	25
4.1 Design.....	25
4.2 Utstyr.....	25
4.3 Materialinnsamling.....	25
4.4 Analyseinstrumenter.....	26
4.5 Reagenser og kontroll.....	27
4.6 Utførelse av studier.....	27
4.7 Statistisk metode.....	29
5.0 Resultat.....	34
5.1 Sammenligningstudie.....	34
5.2 Holdbarhetsstudie.....	42
5.3 Kalibreringskurven for EDTA plasma.....	49
6.0 Diskusjon.....	54
6.1 Sammenligningsstudie.....	54
6.2 Holbarhetsstudien.....	58
6.3 Ny kalibreringsmetode.....	62
7.0 Konklusjon.....	66
8.0 Referanser.....	68
9.0 Vedlegg.....	77

## 2.0 Innledning

### 2.1 Bakgrunn for oppgaven

Hensikten med denne oppgaven var å sammenligne PT-INR utført i citrat-plasma mot EDTA-plasma. PT-INR (Protrombin International Normalized Ratio) er en analyse som er mye i bruk til vurdering og oppfølging av pasienter med blant annet blødningstendens, eks. pasienter som bruker oral antikoagulasjonsmidler.

PT-INR er en koagulasjonsanalyse som måler hvor effektiv koagulasjonsfaktorene i kroppen fungerer til å levre blodet. Hvis det er mangler eller defekter på én eller flere koagulasjonsfaktorer, vil det påvirke PT-INR, siden koagulasjonsprosessen er et kaskadesystem.

### 2.2 Problemstilling

Sammen med fagveileder og prosessveileder ble vi enige om følgende problemstillinger:

#### **1. Kan EDTA-plasma brukes alternativt til citrat-plasma ved PT-INR-analyse?**

EDTA-blod brukes først og fremst til hematologianalyser, men vi ville finne ut om EDTA-plasmaet kan også brukes til koagulasjonsanalysen PT-INR.

Dette kan være nyttig i tilfeller hvor PT- INR etter-rekvireres, og citrat-plasma ikke er tilgjengelig av vedkommende pasient.

#### **2. Hvordan er holdbarheten til EDTA-plasma, sammenlignet med citrat-plasma i romtemperatur med hensyn til PT-INR?**

Holdbarheten til citrat-plasma er 48 timer ved romtemperatur, ifølge St. Olavs Hospital sin lab-håndbok (1). Vi ville derfor sammenligne holdbarheten for citrat-plasma og EDTA-plasma med 50 timers tidsintervall.

Her sammenligner vi PT-INR verdier fra EDTA-plasma og citrat-plasma som står i romtemperatur.

### **3. Blir holdbarheten bedre når citrat-og EDTA-plasma oppbevares i romtemperatur enn i kjøleskap?**

Flere av holdbarhetsstudiene som har blitt utført tidligere foregår ved romtemperatur. Vi ville finne ut om det utgjør en forskjell hvis plasma oppbevares i romtemperatur eller kjøleskap.

PT-INR verdier i EDTA-plasma i romtemperatur sammenlignes med PT-INR-verdier i EDTA-plasma i kjøleskap. Det samme gjøres for citrat-plasma.

### **4. Kan en ny kalibreringskurve rettet mot EDTA-plasma være en god metode til måling av PT-INR?**

STA-R maskinen bruker en kalibreringskurve som er laget av kalibrator for citrat-plasma. Kalibreringskurven er av den grunn mer tilpasset citrat-plasma.

Når vi innfører en ny kalibreringsmetode rettet mot EDTA-plasma i instrumentet, får vi en ny kalibreringskurve som er bedre tilpasset PT-INR resultater fra EDTA-plasma. PT-INR fra EDTA-plasma kjøres i den nye metoden og sammenlignes med PT-INR fra citrat-plasma i den vanlige (tradisjonelle) metoden.

#### *2.3 Grunnen til valg av temaet*

Vi valgte dette temaet fordi det er relevant i vårt felt, samt syntes vi det virket spennende og utfordrende for oss.

Vi har tidligere utført PT-INR analyse ved bruk av manuell metode på skolelaboratoriet, og både teorien og metoden virket fascinerende, derfor ønsket vi å gjøre en større oppgave med PT/INR analysen som hovedtema.

#### *2.4 Tidligere studier*

Det er gjort to lignende studier tidligere. En ved høgskolen i Bergen i 2011 og en ved høgskolen i Ålesund i 2012. Begge studiene konkluderte at det er avvik på PT- INR - verdiene i EDTA-plasma sammenlignet med citrat-plasma.

Studien fra Ålesund foreslår å innføre en faktor på 1,1 for å korrigere PT- INR verdien i EDTA-plasma. De anbefaler at metoden brukes kun som nødløsning, og citrat-plasma bør tas av pasient når det er mulig(2).

Ved Høyskolen i Bergen kom de frem til lignende konklusjon. Resultat til PT-INR fra EDTA-plasma blir systematisk lavere sammenlignet med PT-INR verdier i citrat-plasma, og økte verdier av PT-INR førte til større differanse mellom citrat-plasma og EDTA-plasma(3).

### 3.0 Teori

Når koagulasjonsfaktorer og trombocytter kommer i kontakt med en skadet karvegg initieres hemostase. Hemostase kan oppstå pga. karskade, shear stress (eks. sterk blodstrøm) eller biokjemisk aktivering (4). Hemostase er et samspill mellom trombocytter, koagulasjonsfaktorer og subendoteliale strukturer. Hemostase omfatter 4 hoved hendelser:

- Skadet blodkar trekker seg sammen ved hjelp av glattmuskulatur i karveggen.
- Trombocytter aktiveres når de kommer i kontakt med subendothelia kollagen. Videre adhererer til skadeområdet og danner plateplugg ved å aggregere.
- Koagulasjonsfaktorer i plasma aktiveres når de kommer i kontakt med skadet vev. Det finnes faktorer i vev og blod som setter i gang koagulasjonsprosessen. Sluttproduktet er uløselig fibrin som dannes fra den løselige formen fibrinogen via en polymeriseringsprosess.
- Blodkar repareres og fornyes (5).

#### 3.1 Endotelcellelaget

Det innerste laget av karveggen består av endotelceller. Endotelcellene spiller en viktig rolle som barriere mellom subendotelial-strukturer og komponentene i blodet(6).

Endotelceller gjør at transport av blodceller skjer jevnt og uten turbulens. Dette er for å unngå aktivering av koagulasjonsfaktor og trombocytter. Det intakte endotelcellelaget sekreterer antikoagulanter som hindrer aktivering av trombocytter og koagulasjonsfaktorer. Det er viktig at endotelceller inhiberer koagulasjonsprosessen i blodkar, slik at en trombe ikke dannes. I endotelceller foregår syntese og sekresjon av disse stoffene som inhiberer hemostase.

I endotelceller dannes det prostasyklin og nitric oxide. Prostasyklin frigjøres fra endotelceller for å hindre aktivering av trombocytt, når endotelcellelag er intakt. Nitric oxide dannes i endotelceller, og frigjøres for å opprettholde et utvidet blodkar (7).

I endotelceller dannes det TFPI (tissue factor pathway inhibitor). Dette er en antikoagulant som hemmer TF (tissue factor). TF er en av koagulasjonsfaktorene i den ytre koagulasjonsveien. Endotelceller sekreterer også thrombomodulin og heparan sulfat. Begge stoffer hindrer dannelse av trombin (7).



### *3.2 Primær hemostase*

Primær hemostase omfatter aktivering av trombocytter. Dette er en respons når et blodkar skades. Trombocytter er inaktiv i blodbanen, og aktiveres via en rekke forskjellige prosesser. Det foregår cellulære reaksjoner i primær hemostase. Disse reaksjonene skjer parallelt og forsterker hverandre slik at en plateplugg dannes (4,5).

Det første som skjer ved skade av blodåre er at glatt muskulatur i karveggen trekker seg sammen. Glattmuskulatur trekker seg sammen dels pga. stimulering fra nervesystem og dels fra sekresjon av serotonin fra blodplater. Serotonin virker karkontraherende i blodårene, og blodårene trekker seg sammen for å redusere blodtap.

Trombocyttenes oppgaver i hemostasen er å adherere, aggregere, sekreere og translokere (5).

#### *- 3.2.1 Adhesjon*

Glattmuskulatur, sammen med kollagen og fibroblaster, finnes i subendoteliale strukturer. Kollagen produseres av fibroblaster som befinner seg i bindevev. Når blodåren skades blir subendotelialt kollagen eksponert slik at plateadhesjon opptrer(4,5).

Plateadhesjon kan foregå ved direkte og indirekte binding av blodplater;

- Direkte adhesjon er når blodplater binder seg direkte til kollagen. Blodplaten har spesifikke kollagen reseptorer som kan binde seg direkte til subendotelial kollagen. Disse reseptorene kalles for glykoprotein Ia/IIa og VI (GP Ia/IIa og GPVI). De er transmembran glykoprotein.
- Indirekte adhesjon er når trombocytbinding med subendotelialt kollagen er mediert av Von Willebrand faktor (VWF). Von Willebrand faktor fungerer da som et lim mellom kollagenet og trombocytene. Den har ligander som kan binde seg med kollagen og trombocytreseptorer(4,7,8).

Von Willebrand faktor (VWF) er et stort multimert glykoprotein (600 000 - 20 000 000D), og spiller en viktig rolle i primær hemostase.

Von Willebrand faktor finnes blant annet i endotelceller, blodplatenes alfa-granula og plasma. I endotelcellelaget frigjøres VWF når endotelceller skades, og i plasma

transporterer VWF koagulasjonsfaktor VIII. Denne faktoren blir dannet i hepatocytter og andre vev. FVIII trenger VWF for at den skal bli stabil, slik at det fraktes ut i blodbanen (4,5).

Trombocytter binder seg med VWF ved hjelp av reseptor glykoprotein Ib/IX/V (GP Ib/IX/V). En slik adhesjon blir sterk slik at dannelse av plateplugg kan fortsette selv under betingelser med sterk blodstrøm. I arterier og arterioler foregår slik adhesjon, mens i vener og kapillærer vil trombocytter binde seg direkte med kollagen til den skadede blodåren (4,7).

Når trombocytter adherer aktiveres de, slik at formen endrer seg fra rund og får isteden pseudopodier. Dette gir økning av cytoplasmas overflate(5).

Det er flere biokjemiske prosesser som kan aktivere trombocytter. Trombocytter kan også aktiveres av ADP, ephinefrin og trombin. ADP og ephinefrin er svake blodplateaktivatorer, mens trombin og kollagen er sterke aktivatorer som gir irreversibel aktivering. Trombin er en serine protease, som har en sentral rolle i sekundær hemostase(4,9).

### - 3.2.2 *Sekretjon*

Aktivering av trombocytter fører til at granula i trombocytter frigjøres. Det er to typer granula i trombocytter, **alfa** granula og **dense** granula. I alfa granula finnes det blant annet Von Willebrands faktor, fibrinogen, FVa, FXa osv. Når disse molekylene frigjøres kan de delta i dannelse av plateplugg eller dannelse av fibrin.

I alfa granuler er det flere elementer som har funksjon til å adherere og aggregere blodplater. VWF deltar aktivt i adherering av blodplater, mens fibrinogen fremmer blodplateaggregering. FVa og FXa deltar i sekundær hemostase.

Dense granula inneholder ATP, ADP, Ca<sup>++</sup> og serotonin. ADP og serotonin er blodplate agonister, og ved frigjøring av disse elementer skjer det mer aktivering og rekruttering av blodplater. Kalsium brukes til aktivering av blodplater og sekundær hemostase(7,8).

ADP og  $\text{Ca}^{++}$  som frigjøres vil også aktivere fosfolipase A2. Fosfolipase A2 frisetter arakidonsyre fra membran fosfolipidlaget. Sykloxygenase omgjør arakidonsyre til prostaglandiner, som videre konverteres til tromboxane A2 ( $\text{TxA}_2$ ) i trombocytter og prostacyclin i endotelceller. Enzymet tromboxane syntetase som finnes i trombocytter katalyserer denne reaksjon.

Tromboxane A2 fører til at  $\text{Ca}^{++}$  frigjøres, og forfremmer aggregering og sammentrekning av glattmuskulatur (4,5,7).

#### - **3.2.4 Aggregering**

Når trombocytter aktiveres eksponeres et nytt sett med reseptor på overflaten til plasmamembranen. Disse kalles for glykoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa). GP IIb/IIIa reseptor tillater at fibrinogen, VWF og fibronectin binder seg.

Når kalsium er tilstede kan fibrinogen binde seg til reseptor GP IIb/IIIa og lenke sammen trombocytter, slik at aggregering oppstår (5,7).

#### - **3.2.3 Translokering**

Cellemembranen til trombocytene spiller en viktig rolle i aktiveringen av koagulasjonsfaktorer. Cellemembran til trombocytter består av nøytral fosfolipid i den ytre vegg og negativ fosfolipid i den indre vegg. Ved aggregering blir negative fosfolipider, som fosfatidylserin translokeret til den ytre vegg. Koagulasjonsfaktorer har sterk affinitet til aktiverte cellemembran, slik at trombocyttmembran blir en katalytisk overflate, der koagulasjonsfaktorer kan aktivere hverandre og danne trombin (5).

### **3.3 Sekundær hemostase**

Platepluggen som dannes ved primær hemostase er bare en midlertidig stansing av blødning og er svak, derfor må den forsterkes for å redusere risiko for videre blødning. Forsterkingen av platepluggen skjer ved en lang prosess som involverer en rekke koagulasjonsfaktorer. Det er minst 16 koagulasjonsfaktorer. Disse er glykoproteiner, hvor de fleste produseres i lever, og noen få produseres i endotelceller, monocytter og

megakaryocytter. 8 av koagulasjonsfaktorene (enzymer) transporteres i plasma i inaktiv form, og kalles for zymogener.

Koagulasjonsfaktorer kan være serine protease eller kofaktorer. Serine protease er proteolytiske enzymer fra trypsinfamilien, og omfatter trombin (faktor IIa), FVIIa, FIXa, FXa, FXIa, FXIIa og prekallikrein. Koagulasjonsfaktorer som er kofaktorer binder og stabiliserer sine spesifikke enzymer.

Koagulasjonsfaktorer nummereres med romertall, og i aktiv form får koagulasjonsfaktoren bokstaven a etter sitt romertall, eks. VII -> VIIa (7).

Hensikten med koagulasjonsprosessen er å få generert uløselig fibrin. For at dette skal skje må faktor X aktiveres. Aktivert faktor X aktiverer protrombin til trombin. Trombin i sin tur spalter løselig fibrinogen til uløselig fibrin.

Aktiveringen av faktor X skjer via to ulike veier:

- Den ytre koagulasjonsvei (Extrinsic pathway)
- Den indre koagulasjonsvei (Intrinsic pathway)

Den ytre og indre koagulasjon har til felles koagulasjonsfaktor X, V, protrombin og fibrinogen (7).

### - **3.3.1 Ytre koagulasjonsvei (extrinsic pathway)**

Den ytre koagulasjonsveien starter når blodkar skades og Tissue factor (TF= faktor III), også kjent som thromboplastin, kommer i kontakt med komponenter i blodet. Denne aktiveringsveien blir ofte kalt Tissue Factor Pathway, da det er TF som setter i gang koagulasjonskaskaden (13).

Tissue factor har en transmembran glykoproteinreseptor som finnes i en rekke forskjellige celler, som subendoteliale cellemembraner, fibroblaster og leukocytter ved inflammasjon. Normalt er TF ikke eksponert i blodbanen, men eksponeres når endotelceller skades (7). Koagulasjonskaskaden starter med at TF binder seg til faktor VIIa. Denne bindingen skjer ved tilstedeværelsen av kalsium og fosfolipid. Kalsium er med på å bygge en bro mellom TF og faktor VII. Aktivert TF/FVIIa kan aktivere faktor X direkte og indirekte (4,7).

Direkte aktivering foregår når TF/VIIa omdanner faktor X til Xa. Mens ved indirekte aktivering aktiverer TF/FVIIa først faktor IX til IXa. Faktor IXa binder deretter kofaktor

VIIIa (IXa:VIIIa kompleks) på trombocyttoverflaten. Dette komplekset går over til å aktivere faktor X.

Faktor Xa danner kompleks med faktor Va. Dette komplekset dannes når faktor Va bindes til faktor Xa på trombocyttoverflaten. Komplekset FXa:FVa går videre til å aktivere protrombin (faktor II) til trombin (4,7).

### - 3.3.2 Den indre koagulasjonsveien

Alle nødvendige faktorer for starten av den indre koagulasjonsveien er tilgjengelige i blodet. Faktorene er VIII, IX, X, XI og XII, og i tillegg til disse er det nødvendig med proteinene prekallikrein (PK) og high-molecular-weight kininogen (HMWK), samt kalsium og fosfolipider.

Starten av denne aktiveringsveien skjer når blodkar skades og faktor XII aktiveres. Faktor XII aktiveres når den kommer i kontakt med negativt ladde overflater som f.eks. kollagen. Denne aktiveringen kalles kontaktaktivering. På samme måte aktiveres High-Molekular-weight kinogen (HMWK) og prekallikrein, også kjent som Fletsher factor.

Små mengder XIIa konverterer prekallikrein til kallikrein. Så vil kallikrein sammen med HMWK aktivere mer faktor XII. Dette resulterer i økning av mengde aktivert faktor XII (XIIa). Faktor XIIa aktiverer i sin tur faktor XI.

Videre aktivering av faktor X skjer på følgende måte:

- Faktor XIa aktiverer faktor IX-->IXa, dette skjer ved tilstedeværelsen av Ca<sup>++</sup>.
- Faktor IXa danner kompleks med faktor VIIIa og fører til dannelse av faktor Xa.
- Faktor VIII aktiveres av både faktor Xa og trombin. Dermed økes aktivering av faktor VIII, når det dannes mer faktor Xa og trombin. Trombin øker også aktivering av faktor X (10,11).

### - 3.3.3 Felles koagulasjonsvei

Gjennom den indre og ytre koagulasjonsvei aktiveres faktor X. Etter aktivering av faktor X, går begge veier inn i en felles koagulasjonsvei.

I den felles koagulasjonsveien aktiverer FXa trombin. Aktivering av trombin skjer i flere hydrolytiske prosesser som fører til at peptidfragmenter, også kalt protrombin 1+2, spaltes fra protrombin.

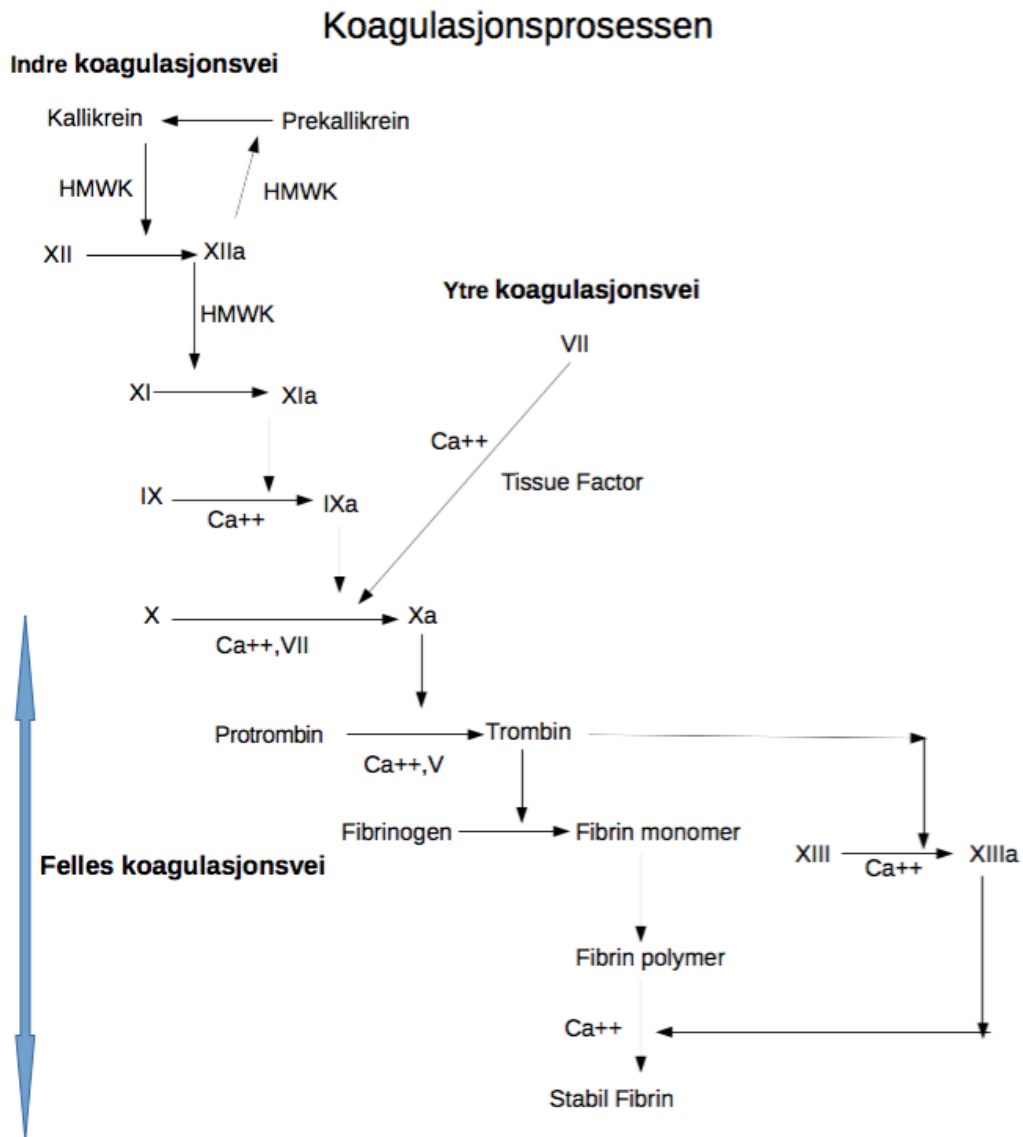
Trombin har flere funksjoner i koagulasjonssystemet. Trombin omdanner fibrinogen til løselig fibrin ved å spalte peptidene A og B fra fibrinogen. Peptidene A og B er

fibrinmonomer som blir polymerisert, slik at fibrinkoagelet dannes når kovalent binding oppstår mellom dem.

I tillegg aktiverer trombin faktor XIII til faktor XIIIa, som stabiliserer og forsterker koagelet (4,7).

Trombin forsterker også koagulasjonsprosessen ved å aktivere kofaktorene V, VIII og faktor XI. Aktivering av disse faktorene vil generere mer trombin og dermed kan mer fibrin dannes fra fibrinogen(7).

Figur 3.3.4: viser koagulasjonsprosessen, der faktor X aktiveres via den indre og ytre koagulasjonsveien. Tilslutt møtes de i et felles koagulasjonsvei, hvor generert trombin spalter fibrinogen til fibrin (Figur er hentet fra referanse nr.12).



### 3.4 Fibrinolyse

Det siste trinnet i koagulasjonsprosessen er fibrinolysen. Fibrinolysen er prosessen hvor fibrinkoagelet blir brutt ned, etterhvert som tilheling skjer. Denne prosessen er langsom, men startpunktet for den er like etter dannelsen av koagelet.

I koagelet er fibrin bundet til plasminogen. Plasminogen er inaktiv og må aktiveres til plasmin, som er hovedenzymet i fibrinolysen. Det er Tissue Plasminogen Aktivator (TPA) og urokinase som spalter plasminogen på et spesielt sted, slik at plasmin dannes. Enzymet TPA sekreseres fra endotelceller og sirkulerer i plasma bundet til PAI-1 inhibitor. Når plasmin aktiveres vil den bryte ned fibrinpolymer, slik at det dannes fibrindegradasjonsprodukter (X, Y, D, E) og D-dimer (4,7).

### *3.5 Vitamin K*

Vitamin K er et molekyl som er fettløselig. Absorpsjonen av vitamin K skjer i tarmen. Fra tarmen blir K-vitaminet fraktet til leveren ved at de binder seg til chylomikroner. I leveren må K-vitaminet være tilstede for at koagulasjonsfaktorene II, VI, IX, X, protein S og protein C skal syntetiseres (14, 15).

Alle disse 6 proteinene inneholder glutaminsyre. Vitamin K vil omdanne glutaminsyre til gammakarboksyglutaminsyre (gamma karboksylering), og proteiner får negativ nettoladning. Når de har negativ nettoladning kan de binde seg med  $Ca^{++}$ , og deretter binde seg til fosfolipidmembraner. Når vitamin K mangler, eller ved bruk av vitamin K antagonister (marevan), blir glutaminsyre ikke omdannet, og når dette skjer vil ikke proteinene klare å binde seg med kalsium og fosfolipider. De får dermed ingen biologisk aktivitet og vil ikke delta i koagulasjonsprosessen.

Vitamin K er dermed svært viktig for koagulasjonen (7, 16).

Økt mengde av vitamin K er heller ikke gunstig, siden det kan gi forgiftninger. Dette kan da være på grunn av for stort inntak av vitaminet (15).

#### *- 3.5.1 Marevan*

Pasienter med atrieflimmer og kunstige hjerteklaffer er utsatt for å danne blodpropp og emboli. Pasienter med stor risiko for blodproppdannelse får derfor ofte antikoagulasjonsmiddelet Marevan.

Marevan senker aktiviteten av enzymet vitamin K epoxide reduktase, som gjør at gamma karboksylering av glutaminsyre undertrykkes. Dette fører til at dannelsen av koagulasjonsfaktorene blir nedsatt.

PVIKA (Protein Induced in Vitamin K Absence) faktorer syntetiseres. Disse har da verken inhibisjonseffekt eller koagulasjonseffekt. (7)



For pasienter med venetrombose, lungeemboli, atrieflimmer, dilatert kardiomyopati og hjerteaneurisme holdes PT-INR verdien helst mellom 2,0-3,0. PT- INR verdien for pasienter med mekanisk klaffeprotease, mitralstenose, venstre ventrikkeltrombe og profylakse etter hjerteinfarkt holdes mellom 2,5 -3,5. (18)

Siden Marevan hemmer vitamin K, vil koaguleringsprosessen i kroppen bli lengre enn normalt, og mindre effektiv. Dette minsker risikoen for dannelse av blodpropp, men risikoen for blødning øker selv ved små skader. Marevanbrukere blir nøye fulgt opp ved å måle PT- INR verdien. Effekten av medikamentet er forskjellig fra pasient til pasient, og det er derfor viktig at slike pasienter får nøye oppfølging i begynnelsen. PT- INR verdien vil da måles jevnlig. Det vil gjøres hyppigere målinger i starten, siden dette avgjør hva slags tablettmengde pasienten skal få. Når PT-INR verdien holdes stabil, vil ikke pasientens PT-INR bli målt like ofte. Det kan gå flere dager eller uker før PT- INR måles igjen (19).

### **3.6 PT - INR**

PT- INR (protrombintid - internasjonal normalisert ratio) er en koagulasjonstest som brukes for å finne trombintiden. Denne testen utføres på pasienter som har stor risiko for blødning eller dannelse av blodpropp.

Testen er følsom for reduksjon av de vitamin K-avhengige koagulasjonsfaktorene II, VII og X. Reagenset som brukes til testen inneholder vevstromboplastin og alle andre koagulasjonsfaktorer, unntatt faktor II, VII og X. Når reagenset tilsettes i pasientens blod, vil mengden av faktor II, VII og X som pasienten har, være hva som avgjør koagulasjonstiden. Redusert dannelse av faktorene kan komme av leverskade. En lang koagulasjonstid indikerer at pasienten har lavt faktornivå, og kort koagulasjonstid hos pasienten indikerer høyt faktornivå (17,20,21).

INR er måleenheten som brukes for koagulasjonstiden. Grunnen til at INR brukes som måleenhet, er fordi det er forskjell mellom ulike laboratorier som gjør at prøvesvarene kan bli ulike. Dermed ville WHO (World Health Organization) innføre et standardisert system for PT i 1985, hvilket ble måleenheten INR. INR-verdien blir da beregnet utfra pasientens koagulasjonstid i citrat-plasma. Beregningen gjøres ved at koagulasjonstiden målt i sekunder divideres med en koagulasjonstidsbestemt verdi tilsvarende i normal citrat-plasma. Dette gjøres med hensyn til at citrat-plasma tilsettes TF og  $Ca^{++}$ - ioner .

Ligningen som brukes til INR beregningen er:

$$INR = \left( \frac{\text{PasientplasmaPT} - \text{sekunder}}{\text{NormalplasmaPT} - \text{sekunder}} \right)^{ISI}$$

ISI, som er eksponenten, står for International Sensitivity Index. Dette er PT reagensets følsomhetsindeks. WHO's tromboplastinstandard er definert som ISI = 1. De kommersielle produsentene av PT må da sammenligne dette med sine PT- reagenser og finne en ISI-verdi for deres reagens. Videre må de utgi en tabell, slik at man kan finne INR-verdien ved å sammenligne resultatet med tabellen (22).

Det finnes to metoder som blir benyttet for måling av protrombintid (PT), Owren metoden og Quick metoden. Ved Quick metoden brukes det full blod som tas kapillært ved et stikk i fingeren. Mens ved bruk av Owren metoden kan det brukes fullblod og plasma. Owren metoden er sensitiv for faktor II, VII og X, som er vitamin K- avhengige koagulasjonsfaktorer, mens Quick metoden er sensitiv for faktor II, VII, X, V og I. I Skandinavia er det Owren metoden som er i bruk til måling av PT-INR ( 23, 24, 25,26).

### 3.7 STA-R Evolution

STA-R Evolution er et automatisert instrument som brukes til koagulasjonsanalyser. Følgende analyser kjøres i instrumentet; fibrinogen, anti Xa, antitrombin III, PT-INR, APTT, D-dimer, APC-resistens, protein C og protein S.

STA-R Evolution bruker ulike metoder til koagulasjonsanalyser:

- Klot-test
- Kromogene substrat analyse
- Immunturbidimetriske test (27)

Instrumentet består av 8 måleposisjoner og 32 inkuberingsposisjoner, som ligger i en varmeblokk hvor temperaturen er på  $37 \pm 0,5$  grader. Ved analysering blir plasma fra prøveglasset overført til en kyvette, som videre flyttes til inkuberingsposisjon og/eller måleposisjonen vha. "the suction head". I fronten av maskinen er det en skuff for brukte kyvetter. Kyvetter kastes i denne skuffen når analysen er ferdig (28).

STA-R Evolution kan analysere over 180 tester per time, lasting av prøver er rack-basert med plass til 215 prøver i instrumentet. I tillegg har det 70 posisjoner til kontroller, reagenser og kalibratorer (27).

#### - **3.7.1 Måling av PT-INR med klot test**

Prinsippet som STA-R Evolution bruker til å analysere PT-INR er klot-test.

Klot-testen brukes til måling av PT-INR. Endeproduktet til analyse er dannelse av fibrin. I citrat-glass binder citrat kalsium i blodet. Ved å binde kalsium i blodet vil koagulasjon ikke oppstå, og som nevnt tidligere spiller kalsium en viktig rolle i hemostasen.

Testen starter ved at tromboplastin reagens tilsettes sammen med fortyntet plasma i en kyvette. Tromboplastin inneholder Tissue Factor og kalsium. Når disse tilsettes i plasma vil koagulasjonen starte, og maskinen måler da tiden det tar til det dannes fibrin.

Viskositeten vil forandre seg når en klot(fibrin) dannes. Det er en stålkule i kyvetten, og den beveger seg i konstant hastighet i et elektromagnetisk felt. Når viskositeten øker vil kula få mindre bevegelse i kyvetten. Når kula stopper helt opp så har koagulasjonen inntruffet. Det som måles er tida det tar fra tromboplastinreagens tilsettes til kula stopper, og dette er koagulasjonstiden. Utfra koagulasjonstiden, som er målt i sekunder, beregner instrumentet PT-INR-verdien.

Koagulasjonstiden bestemmes av mengde faktor II, VII og X i plasma (20,29,30).

#### - **3.7.2 Reagenser**

STA-R Evolution instrumentet har en skuff som inneholder tre reagenssoner (R0,R1 og R2). R0 er sonen for kalibratorer/kontroller, R1 er en mellomreagenssone og R2 er Start reagenssonen. Temperaturen i reagenssonene skal være 15-19 grader (28).

Det brukes ulike reagenser til ulike analyser. Til måling av PT-INR brukes det STA-SPA+ reagens. Dette reagenset brukes til analysering av faktor II, VII og X.

STA-SPA+ settet til PT-INR analysen inneholder to reagenser. Reagens 1 (frysetørket) består av tromboplastin fra kaninhjerne og adsorbent bovint plasma med koagulasjonsfaktoren V og fibrinogen. Reagens 2 er rekonstitueringsvæske med kalsium. Når reagens 2 overføres til reagens 1, blir reagenset rekonstituert.

Reagensene skal ha romtemperatur ved tillaging(20).

### - **3.7.3 Kvalitetskontroll**

For å sikre at metoden gir god nøyaktighet og repeterbarhet er det viktig at det kjøres kontrollmålinger med jevne mellomrom.

Det finnes interne og eksterne kvalitetskontroller som brukes til dette formålet. Interne kvalitetskontroller som brukes er scandinav og scandipath fra STAGO. Scandinav er frysetørket citrat-plasma med PT-INR i normalområde, og scandipath er frysetørket citrat-plasma med PT-INR i terapeutisk område. Interne kvalitetskontroller analyseres hverdag, og resultater som er blitt samlet over tid fra de to kontrollene kan gi en oversikt over metodens reproduserbarhet(30,31).

Kontroller kjøres:

- hver morgen
- ved nylaget reagens
- etter kalibrering
- ved behov

Interne kvalitetskontroller må godkjennes før pasientsvaret gis ut. I STA-R instrumentets skjermbildet for kontroll er det blitt beregnet middelveier til kontroll 1 (scandinav) og kontroll 2 (scandipath), og grenseverdier er justert etter det. Kvalitetskontrollen må være innenfor grenseverdiene for at den skal godkjennes.

Eksterne kvalitetskontroller kjøres 4 ganger i året og kommer fra NOKLUS (20).

### - **3.7.4 Kalibrering av STA-R Evolution**

Kalibreringen av STA-R instrumentet er en viktig del av vedlikeholdet. Kalibrering med hensyn til PT-INR gjøres med EQUALIS, som er en svensk kalibrator for protrombinkompleks aktivitet. Kalibratorsettet fra EQUALIS består av to PT-INR kalibratore og en kontroll, og de er humant antikoagulant citrat-plasma(20). Kalibratore fra EQUALIS har verdiene 0,95 og 4,03(32).

Kalibratoren er rettet mot citrat-plasma, men man har mulighet til å innføre en ny kalibreringsmetode i maskinen, slik at kalibreringskurven modifiseres.

Kalibreringen kan gjøres ved å teste en eller flere prøver med kjente verdier (kalibratorer) i instrumentet, slik at man ender opp med en kalibreringskurve som viser forholdet mellom signal fra instrumentet på y-aksen og konsentrasjonen av analytt på x-aksen. Funksjonen på en lineær kalibreringskurve er gitt ved:  $y = bx + a$  (33).

STA-R Evolution bruker punktkalibrering til å lage kalibreringskurver for ulike analyser. Til PT-INR analyse brukes det topunktskalibrering, hvor den ene kalibratoren har høy PT-INR verdi, og den andre har lav PT-INR verdi. Kalibreringskurven til PT-INR er lineær og følger overnevnte funksjon.

### **3.9 Prøverør**

Ulike prøverør har ulike tilsetninger, som avgjør hvilken analyse prøverøret kan brukes til. For eksempel tilsetningen i citrat-rør, gjør at det kan brukes for koagulasjonsanalyser.

#### **- 3.9.1 Citratrør**

Citratrør inneholder buffret natriumcitrat. Ved blodprøvetaking med citratrøret vil citrat binde seg med kalsiumioner i plasmaet slik at koagulasjonen ikke oppstår. Som sagt tidligere er kalsium en viktig faktor i koagulasjonssystemet, og kalsium må være tilstede for at koagulasjonsprosessen skal foregå. Derfor er det reagenset (STA-SPA+) som brukes til PT-INR inneholder kalsium.

Fortynningsforholdet til citratrøret er 1:9, som betyr 9 deler blod og 1 del citratløsning. På grunn av fortynningsforholdet er det viktig at røret blir fylt opp helt (90%), slik at det gir et så nøyaktig fortynningsforhold som mulig.

Rørene finnes med to forskjellige citratkonsentrasjoner. Det ene har 3,2% (0,105-0,109 M) natriumcitrat, mens det andre har 3,8% (0,129 M). Det er anbefalt å bruke citratrøret med 3,2% citratkonsentrasjon for PT- INR analyser og for APTT. Dette er anbefalt av Clinical Laboratory Standard Institute, fordi verdiene vil være 10% lavere for INR og APTT ved bruk av røret med citratkonsentrasjon på 3,2% enn med 3,8%.

Det er viktig at citratrøret ikke blandes kraftig, siden det kan påvirke koagulasjonen ved aktivering av blodplater (34 og 35).

### - 3.9.2 EDTA (*Etylen-diamin-tetra-acetat*) rør

EDTA-rørene inneholder antikoagulanter, som hindrer koagulasjonskaskaden.

Koagulasjonen hindres ved at EDTA binder seg til kalsiumioner i plasmaet og danner kalsiumkomplekser. Fordi morfologien til blodcellene oppbevares, vil dette røret bli brukt til hematologianalyser.

Det finnes to typer EDTA-rør. Det ene røret er tilsatt tørrstoffet K<sub>2</sub>-EDTA, mens det andre er tilsatt flytende K<sub>3</sub>-EDTA (36).

Det anbefales av Clinical Laboratory Standard Institute å bruke K<sub>2</sub>-EDTA til hematologianalyser, fordi K<sub>3</sub>-EDTA er flytende, og dette vil gi et fortynningsforhold som vil påvirke blodcellenes volum. K<sub>3</sub>-EDTA-røret må fylles helt opp, siden for lite blod i røret vil føre til økt konsentrasjon av EDTA. Dette vil da føre til endringer i blodcellenes morfologi, ved at de krymper.

Dersom man bruker EDTA-plasma til elektrolyttanalyser, vil det gi falskt lave konsentrasjoner for elektrolyttene. Årsaken til dette er at EDTA vil også binde seg til magnesium og jernioner i plasmaet.

EDTA-blodet brukes vanligvis til analyse av HbA<sub>1c</sub>, og plasmaet brukes til homocystein-, ACTH- og renin-analyser. For å unngå danning av mikrokoagler er det viktig at røret blandes forsiktig og så raskt som mulig etter prøvetaking (34, 37 og 38).

## 4.0 Material og metode

### 4.1 Design

Det praktiske delen av oppgaven ble utført ved medisinsk biokjemi avdeling, seksjon Kristiansund. Vi brukte 12 dager til prøveinnsamlingen. Deltakerne av prosjektet var i 50-årsalderen og oppover.

Det ble tatt blodprøver av 64 pasienter i både EDTA-rør og citratrør. Antall (n) pasienter som brukte antikoagulasjonsmedisin i form av Marevan var 43. De resterende pasientene brukte ingen form for antikoagulasjonsmedisin. Dette ble kontrollert ved at pasienter fikk spørsmål ved prøvetaking om vedkommende brukte Marevan.

Pasienter som var med i studien ble muntlig informert om prosjektet, før de ga muntlig samtykke for deltakelsen. Fagveileder gikk god for at det holdt med muntlig informert samtykke, så lenge pasienten forstod hva studien går ut på og gav muntlig samtykke for deltakelsen.

### 4.2 Utstyr

- Venøs blodprøvetakingsutstyr
- 4ml EDTA-rør (K2EDTA)
- 3,5ml citratrør (9NC Cogulation sodium citrate 3,2%)
- Plastpipetter (5 ml)
- Plastrør (4ml)
- Mikrorør
- Korker til mikrorør

### 4.3 Materialinnsamling:

Samling av prøvemateriale til studien foregikk på poliklinikken. Vi tok ansvaret for blodprøvetaking av polikliniske pasienter. Før prøvetaking spurte vi pasienter om samtykke og forklarte til dem hensikten bak studien. Når pasienten har gitt samtykke til å delta, fikk de også spørsmål om de bruker Marevan eller ikke. Dette var for å kontrollere antall pasientprøver med Marevanbrukere.

Det ble tatt et ekstra 4 ml EDTA-rør og et ekstra 3,5 ml citratrør på pasientene som deltok i studien. Blodprøvetaking var utført venøst og prosedyren som gjelder for prøvetaking ved laboratoriet var fulgt nøyaktig.

Alle pasientprøver til studien fikk et tall som ID-nummer, og dette ID-nummeret ble skrevet på prøveglasset, sammen med klokkeslett.

For å unngå pre-analytiske feilkilder ble vi enige at disse kravene følges:

- Alle prøverør fylles opp til streken. Dette er viktig med tanke på fortynningsforholdet. Spesielt i citrat-rør er det et krav at forholdet mellom blod og citratløsning er 9:1.
- Rekkefølgen for prøveglassene følges, for å unngå fare for krysskontaminering. Det anbefales fra produsenten (Vacuette) at citratrøret tappes før EDTA-røret(39).
- Pasientprøver må blandes godt for å unngå koagulering.
- Bruk av vanlig nål og ikke butterfly-nål til prøvetaking. Luft i butterfly-slangen vil føre til at citratrøret ikke fylles helt opp, slik at fortynningsforholdet blir feil.

Det var utfordrende å få tak i Marevanbrukere som kunne delta i studien. Polikliniske pasienter brukte ofte andre typer blodfortynnende medisiner som ikke påvirket PT-INR verdien. Vi fikk rundt 2 polikliniske pasienter per dag som brukte Marevan. Dermed måtte vi spørre bioingeniører på avdelingen om hjelp. Vi spurte om de hadde mulighet til å ta et ekstra citratrør og EDTA-rør på inneliggende pasienter, dersom det er blitt bestilt PT-INR analyse, når de er ute på runder. Bioingeniørene måtte også be om samtykke fra pasientene.

#### 4.4 Analyseinstrumenter

Instrumenter som ble brukt til studien var Hettich Rotina 35 R Sentrifuge og STA-R Evolution maskin. Alle blodprøver til studiene ble sentrifugert med Hettich Rotina 35 R sentrifuge i 13 min ved 3700rpm med 2403g.

Analysering av PT-INR foregikk i STA-R Evolution maskin. Analysering av kontroller på instrumentet gjøres hver dag. Ved sykehuslaboratoriet i Kristiansund, har nattvakten ansvaret for å analysere kontroller og kontrollere at alle reagenser er løst opp og klare til bruk.



Innsetting og kjøring av prøvene i STA-R Evolution maskin ble gjort på følgende måter (40):

- Pasientprøvene sjekkes for luftbobler.
- Sentrifugerte pasientprøver settes i rack, i dette racket er det 5 prøveposisjoner.
- Racket settes på brettet før det plasseres i maskinen. STA-R- Evolution vil automatisk laste racket inn i maskinen.
- Pasientprøver med barkode blir automatisk identifisert, og det trengs ikke å legge inn pasientens ID eller å bestille analysen. Analyser som er blitt bestilt kjøres automatisk av maskinen.
- Pasientprøver som var brukt til studien har ikke barkode, slik at når prøvene gikk inn i maskinen ble de automatisk sendt ut igjen for å bli identifisert. Et skjermbilde dukker opp når pasientprøvene var blitt sendt ut. På dette skjermbildet kunne man skrive inn pasientens ID-nummer. Vi valgte, som nevnt tidligere, å gi deltakerne i studien et tall som ID nr. Vi skrev dette inn, sammen med hva slags type plasma det brukes (EDTA eller citrat).
- Pasientprøver lastes inn i maskinen igjen og vises i testpanelbildet. Siden det er ingen analyser som er bestilt, ble analysen bestilt direkte i testpanelbildet ved å dobbeltklikke på ønsket analyse (PT-INR). Analysering av pasientprøver vil starte.
- Pasientprøver tas ut av maskinen ved å velge “unload” på displayet, og tag racket som man vil ta ut.
- Pasientprøver til studien oppbevares i en kort periode før de kastes. Og pasientprøver som brukes til holdbarhetsstudie oppbevares i romtemperatur eller kjøleskap til slutten av studien.

#### 4.5 Reagenser og kontroll

Reagenser, kontroller og løsninger som STA-R Evolution brukte til PT-INR analysen er listet og oppgitt i eget vedlegg (Vedlegg 1)(41,42).

#### 4.6 Utførelse av studier

- ***Sammenligningsstudie for PT-INR utført i citrat-plasma mot EDTA-plasma***

Til sammenligningsstudie brukte vi 49 prøver totalt, 27 av pasientene var under Marevanbehandling. Pasientprøvene ble sentrifugert og 2 ml plasma fra EDTA-rør og

citrat-rør ble avpipettert over i hvert sitt plastrør. Plastrørene ble deretter merket med permanent tusj, for både nummer og type plasma (EDTA eller citrat).

EDTA-plasma og citrat-plasma ble analysert for PT-INR i STA-R Evolution maskin.

#### - ***Holdbarhetsstudier***

Vi valgte ut 5 pasientprøver som hadde PT-INR i terapeutisk område (Marevanbrukere) til holdbarhetsstudiene, hvorav samtlige også ble brukt i sammenligningsstudien.

Parallelprøvene til hver pasient ble sentrifugert og fordelt. Vi overførte citrat-plasma i to merkede mikrorør og EDTA-plasma i to merkede mikrorør. Det ene mikrorøret med EDTA-plasma var oppbevart i romtemperatur, mens det andre mikrorøret var oppbevart i kjøleskap, med temperatur på ca. 2-8 grader. Det samme ble gjort med citrat-plasma.

Mikroprøvene ble analysert med STA-R maskinen hver femte time, i et tidsintervall på femti timer. Nattevakten og kveldsvakten kjørte analysen på den tiden vi ikke var på laboratoriet. Vi lagde et tidsskjema for å kjøre prøvene til riktig tid, som nattevakten og kveldsvakten også fulgte (vedlegg 2).

#### - ***Kalibreringskurve for EDTA-plasma***

Sammen med fagveilederne valgte vi å lage en ny kalibreringskurve i STA-R maskinen, som målte PT-INR bedre i EDTA-plasma. Vi fikk ikke utført dette selv, men observerte hva fagveileder gjorde for å lage en ny kalibreringskurve.

Ved å velge kalibreringspanel på maskinen, vil man komme inn på et skjermbilde, hvor man kan forandre og sette inn ny kalibrator. For å lage kalibreringskurve for EDTA-plasma, trengte vi nye kalibratører. Kalibratører for EDTA-plasma finnes ikke, så vi måtte simulere en kalibrator som er rettet mot EDTA-plasma. Fagveilederne mente at pasientprøver kunne brukes til dette formålet.

Vi valgte ut 3 pasienter med EDTA-plasma, og brukte dem som simulator. Vi visste PT-INR verdiene i citrat plasma til pasientene fra før, og i kalibreringspanelet skrev vi inn riktig verdiene til kalibratører.

Dette var en trepunktskalibrering, og EDTA-plasma som ble brukt hadde forskjellige verdier:

- Lav (EDTA 1: 0,98)
- Middels (EDTA 2: 2,58)
- Høy (EDTA 3: 2,94)

EDTA kalibratører ble satt i kalibratorposisjonen (R0) inn i STA-R maskinen.

Kalibratører ble kjørt og resultat plottet inn, slik at vi fikk en kalibreringskurve.

Vi analyserte 30 paralleller, der EDTA-plasma ble analysert for PT-INR med den nye kalibreringskurven og den vanlige kalibreringskurven, og citrat-plasma fra samme pasient ble analysert for PT-INR med den vanlige kalibreringskurven.

Samme kontroller kunne brukes til den nye kalibreringsmetoden, men fordi kontrollene er for citrat-plasma ble det nødvendig å forandre akseptområdet (den nye kalibreringskurven gav litt høyere PT-INR verdier). Akseptområdet til scandipath ble forandret til 2,85 - 3,90, og scandinorm var også forandret til 0,95 - 1,15. Tidligere akseptområde til scandipath var 2,80-3,50, og for scandinorm var det 0,85-1,15.

Kontroll til EDTA-INR (Den nye kalibreringsmetoden) metode ble kjørt hver dag, og kontrollert av oss.

#### 4.7 Statistisk metode

Følgende statistiske metoder brukes til å presentere og tolke resultat fra denne oppgaven.

- Lineær regresjon
- Differanseplott (Bland Altman plot)
- Passing-Bablok metode

##### **- 4.7.1 Lineær regresjon**

Lineær regresjon er en statistisk metode som kan brukes til å finne ut om det er lineær sammenheng mellom to ulike metoder. Metoden sier noe om hvor godt en rett linje beskriver sammenhengen mellom to datasett av x og y verdier (43).

Ved regresjonsanalyser kan man forklare observerte verdier fra en testmetode (y) ved hjelp av en referansemetode (x). Det er regnet med at x-verdier er kjente standardverdier uten usikkerhet, mens måleusikkerhet finnes bare på y-verdier. Måleusikkerheten på y-verdier antas å være konstant og uavhengige av hvilke x-verdier det måles på.

Referansemetoden (x) er dermed en uavhengig variabel, mens testmetoden (y) er en avhengig variabel (43).

For å kunne si noe om sammenhengen mellom metodene, lages det en graf hvor man plotter inn observerte verdier fra testmetoden på y-aksen, og observerte verdier fra referansemetoden på x-aksen. Da lages det en lineær linje som går gjennom punktene på grafen, slik at avviket mellom punktene og linjen blir minst mulig. Formelen til en slik rett linje er gitt ved

$$y = bx + a.$$

Der b er stigningstallet for den rette linjen og a er skjæringspunktet med y-aksen (43).

I tillegg beregnes korrelasjonskoeffisienten R, for å finne ut hvor stor andel av punktene er tilpasset den rette linjen. Korrelasjonskoeffisienten er alltid et tall mellom -1 og 1.

Korrelasjonskoeffisienten forteller oss to ting:

1. Korrelasjonskoeffisientens positive eller negative tegn, sier noe om hvordan testmetoden (y) oppfører seg i forhold til referansemetoden (x). Når R er positiv, øker y-verdiene med de økende x-verdiene. Mens negativ korrelasjonskoeffisient R, forteller at metodene beveger seg i motsatt retning, altså y-verdiene minker med økende x-verdier og omvendt (44).
2. Det er lineær sammenheng mellom metodene man sammenligner (x og y), når alle punktene ligger på regresjonslinjen, og korrelasjonskoeffisienten er lik 1 eller -1. Når korrelasjonskoeffisienten R er lik 0, er det absolutt ingen lineær sammenheng mellom metodene (44).

#### - **4.7.2 Differanseplott**

Differanseplott, også kjent som Bland Altman plott benyttes til sammenligning av to kvantitative metoder. Differanseplott er scatterplott, der man kvantifiserer metodene, ved å

sette inn bias og konfidensintervall(45). Bias er den gjennomsnittlige differansen mellom to metoder. Bias hjelper å bedømme hvor høye (positiv bias) eller lave (negativ bias) verdiene fra testmetoden er i forhold til referansemetoden(46).

Det brukes 95% (2 SD) konfidensintervall. For å beregne dette må man finne bias og standard error of mean(SEM). SEM beregnes også fra differansen mellom to metoder.

Øvre og nedre konfidensintervall beregnes fra bias og SEM.

Øvre konfidensintervall:  $\text{Bias} + 2\text{SD} * \text{SEM}$

Nedre konfidensintervall:  $\text{Bias} - 2\text{SD} * \text{SEM}$

I differanseplott blir differansen(x-y) plottet mot gjennomsnittet av resultater  $((x+y)/2)$ . X er referansemetoden og y er testmetoden. Man får en graf som visuelt illustrerer om det er sammenheng mellom to metoder.

I denne grafen kan man se om det er:

- Områder med kvantitativ differanse mellom metodene.
- Systematiske feil (hvis punktene ikke er jevnt fordelt, både under og over null linjen). Systematiske feil oppstår når observerte størrelse blir systematisk for høye eller for lave.
- Endring av differanse med middelvei
- Uteligger (punkter som avviker fra konfidensintervall (47,48))

#### - **4.7.3 Passing Bablok metode**

Passing Bablok er en regresjonsmetode til å sammenligne to analytiske metoder. Passing Bablok er en ikke-parametrisk metode, som er mindre sensitiv for uteligger. Metoden tar hensyn til usikkerhet i både testmetode og referansemetode. For å bruke Passing Bablok forventes det at metodene som sammenlignes har en lineær sammenheng med god korrelasjon(49).

Det finnes flere dataanalyse programmer, som kan brukes til beregning av Passing Bablok. Vi bruker XLSTAT til beregning av Passing Bablok regresjon(50). Analyse av PT-INR i

EDTA-plasma kaller vi for testmetode, og analyse av PT-INR i citrat-plasma kaller vi for referansemetode.

XLSTAT er et tilleggsprogram som brukes sammen med Excel. Resultater som vi får fra den praktiske delen plottes inn i Excel, og deretter velger vi Passing Bablok funksjon i XLSTAT til beregning av regresjonsplott. I denne funksjonen plotter man verdier fra referansemetoden på x-aksen, og verdier fra testmetoden på y-aksen. Regresjonsplott som beregnes er med 95% konfidensintervall. Man får dermed en øvre og nedre grense for både stigningstall og skjæringspunkt.

Konfidensintervall til stigningstall må inkludere 1, og konfidensintervall til skjæringspunkt må inkludere 0. Hvis 1 er inkludert i konfidensintervall for stigningstall, kan man ikke avvise hypotesen om at stigningstall er lik 1.

Det samme gjelder for skjæringspunktet. Hvis 0 er inkludert i konfidensintervall til skjæringspunktet kan man ikke avvise hypotesen om at skjæringspunkt er lik 0(51).

Skjæringspunkt måler systematisk differanse mellom to metoder, hvorimot stigningstall måler proporsjonal differanse mellom to metoder(52).

Stigningstall i Passing Bablok beregnes fra alle mulige linjekombinasjoner mellom to og to punkter. Stigningstall (b) til regresjonslinje for alle observasjoner er medianen av alle de mulige linjekombinasjonene. Skjæringspunktet beregnes deretter fra medianen eller middelverdien av alle observasjonene(53).

#### - **4.7.5 Relativ økning**

Til holdbarhetsstudien bruker vi relativ økning til å regne ut konsentrasjonsendring for PT-INR verdi i EDTA- og citrat plasma.

Relativ økning:  $\frac{\text{sluttverdi} - \text{begynnelserverdi}}{\text{begynnelserverdi}} * 100\% \rightarrow Y = \frac{Y1 - Y0}{Y0} * 100\%$  (54)

Y0 er konsentrasjonen i nullprøven, og Y1 er konsentrasjonen i prøven oppbevart i timer ved romtemperatur eller kaldt temperatur.

På holdbarhetsstudien blir gjennomsnittlige endring av konsentrasjonen til pasientprøver og standard error of mean(SEM) beregnet. Det også blir beregnet 90% konfidensintervall for den gjennomsnittlige endringen(55). Gjennomsnittlige endring for PT-INR analysen

kan ikke være >10%. Avvik som er >10% gir klinisk signifikant forskjell utfra retningslinjer fra CLSI.

- **4.7.6 Konfidensintervall**

Konfidensintervallet blir brukt som statistisk mål, for å vurderer ukjente størrelser som er hentet ved datainnsamling av materialet. Med den nedre og øvre grensen er det mulig å bestemme hvor god estimatet er. Usikkerheten vil være større når man får et intervall som er større, mens når intervallet er mindre vil usikkerheten være mindre. Den nedre og øvre grensen kan bli beregnet med for.eks. 90% eller 95% konfidensintervall, som forteller oss med 90% eller 95% sikkerhet om metodene. ( 56, 57)

Vi brukte 90% konfidensintervall til beregning av resultater fra holdbarhetsstudie, og 95% konfidensintervall til beregning av resultater fra sammenligningsstudie.

Formel for beregning av konfidensintervall med tosidig t-test er oppgitt under(43):

$$\bar{X} \pm t_{\alpha,m} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

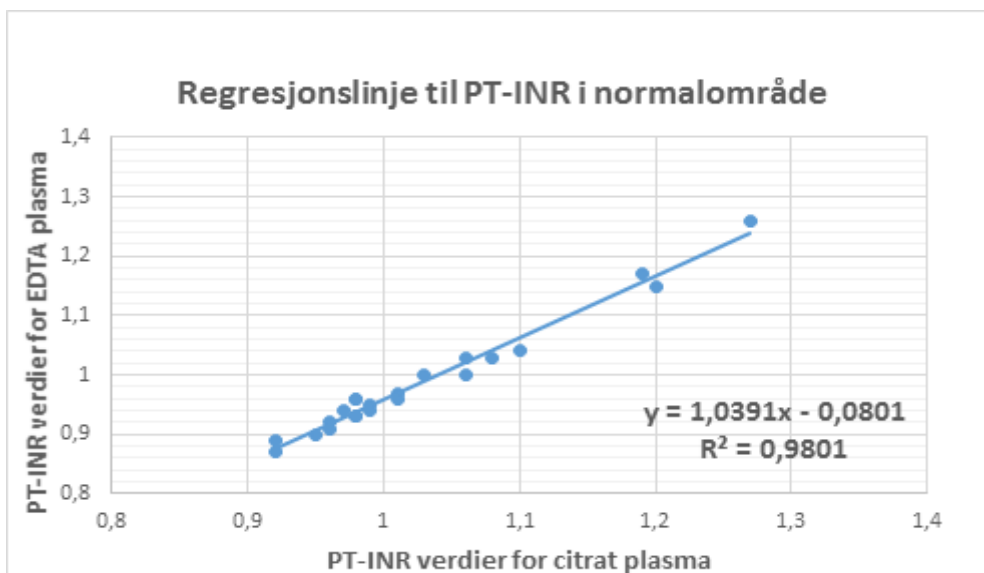
## 5.0 Resultat

Rådata som ble samlet til de 4 ulike delstudiene, ble brukt til presentering av resultatet. Videre brukes oppnådd resultat til å svare på de fire del-problemstillingene som ble presentert i innledningskapittelet (kapittel 1.0).

### 5.1 Sammenligningsstudie

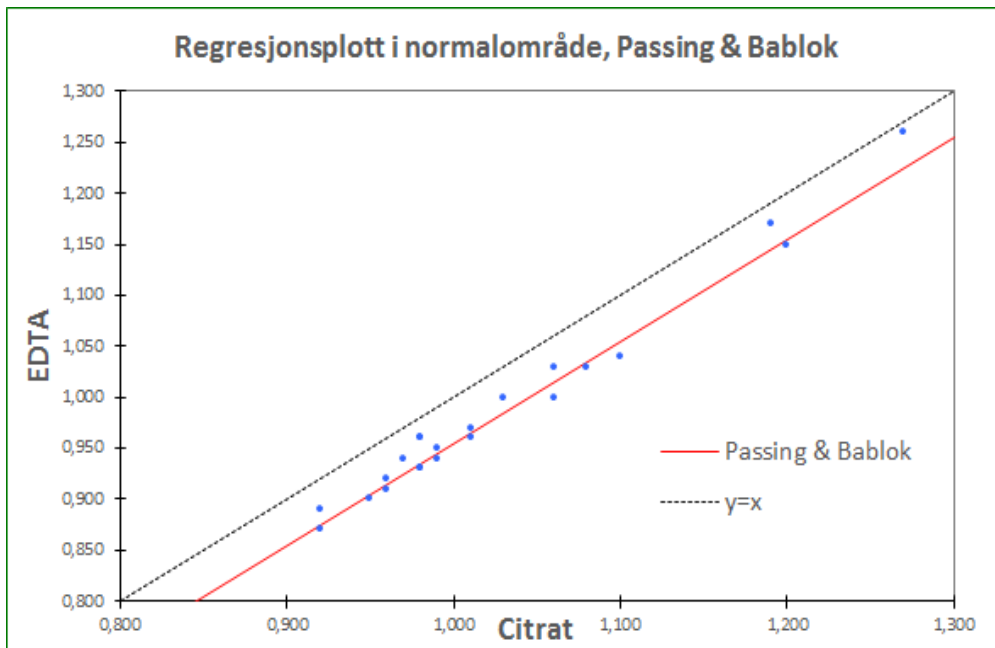
Målet med sammenligningsstudien var å finne ut om EDTA-plasma kan brukes alternativt til citrat-plasma ved PT-INR analysen.

#### - Pasientprøver i normalområde (0,92 - 1,19)

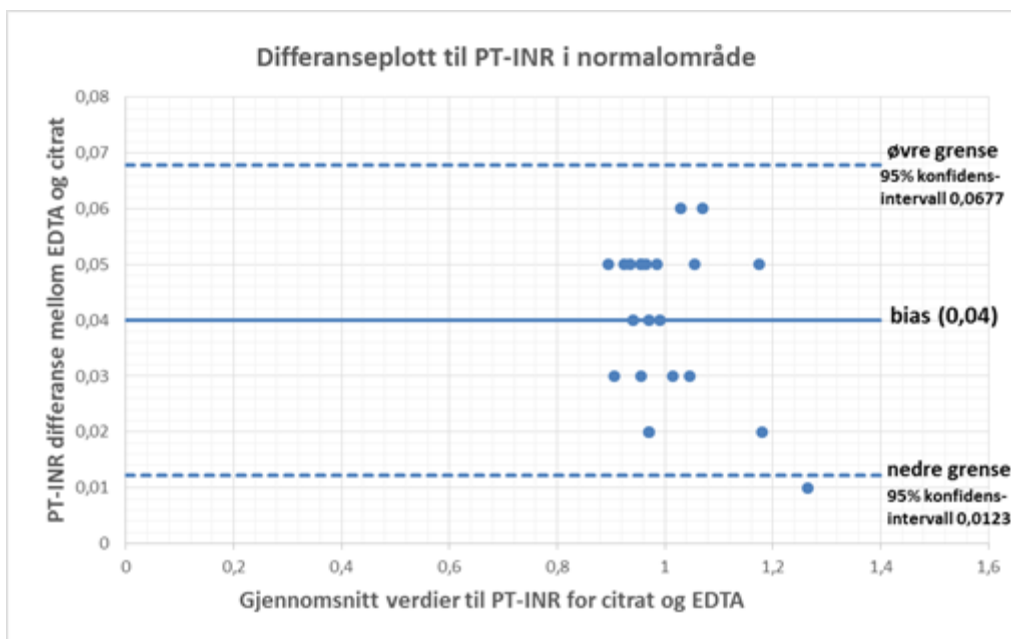


Figur 5.1.1a: PT-INR verdier i EDTA-plasma plottet på y-aksen mot PT-INR verdier i citrat-plasma på x-aksen.





Figur 5.1.1b: PT-INR verdier i EDTA-plasma plottet på y-aksen mot PT-INR verdier i citrat-plasma på x-aksen



Figur 5.1.1c: På x-aksen er det plottet gjennomsnitt verdier til PT-INR for citrat- og EDTA plasma mot PT-INR differansen mellom EDTA-og citrat plasma på y-aksen.

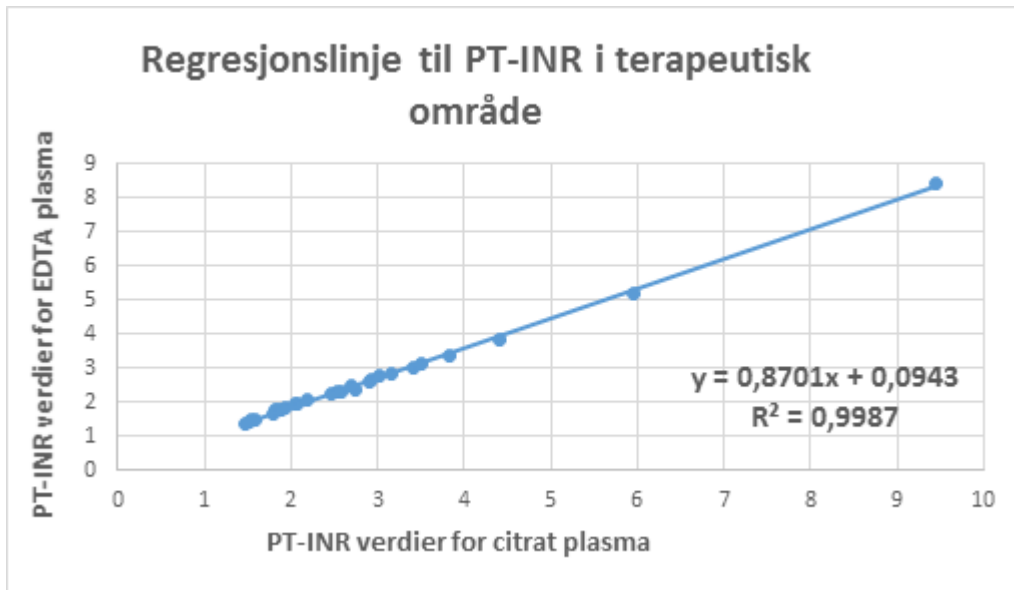
Figur 5.1.1a viser regresjonslinjen for PT-INR i normalområde. Ligningen til regresjonslinjen er;  $y = 1,039x + 0,0801$ .

Korrelasjonskoeffisienten  $R^2$  er 0,9801. Dette viser at det er god lineær sammenheng mellom de to metodene, siden 98,01% av datasett støtter den lineære sammenhengen.

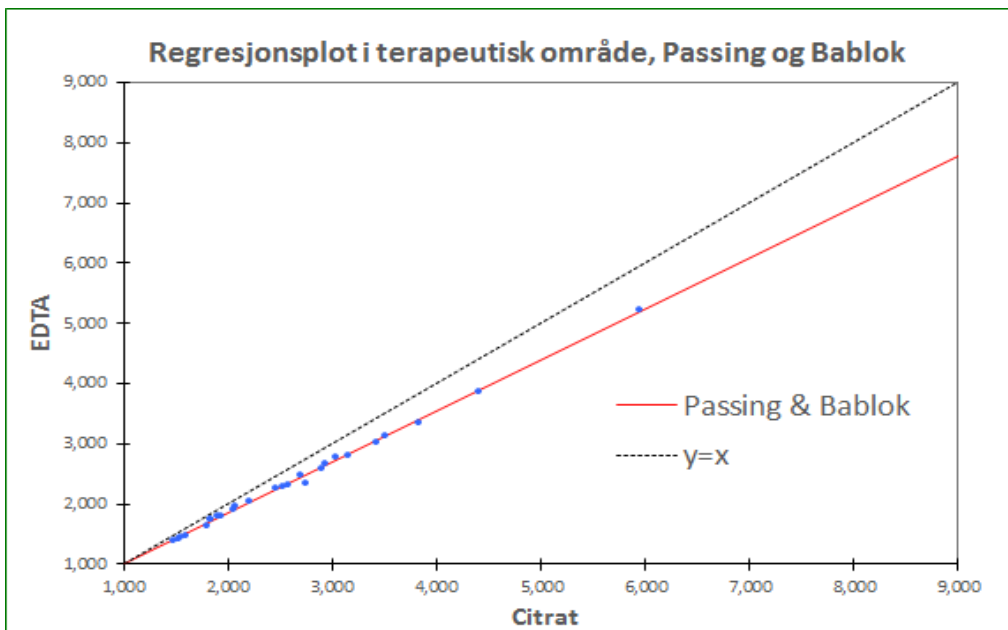
Figur 5.1.1b viser Passing Bablok regresjonsplott for PT-INR i normalområde. Regresjonslinjen har stigningstallet 1 og skjæringspunktet -0,045. På denne grafen er det blitt beregnet øvre og nedre grenseverdier med 95% konfidensintervall. Grenseverdier for stigningstallet er 0,958 - 1,125, og grenseverdier for skjæringspunktet er -0,169 - 0 (vedlegg 3). 1 ligger innenfor grenseverdiene for stigningstallet, slik at vi ikke kan avvise hypotesen om at stigningstallet er lik 1. Det samme gjelder for skjæringspunktet. 0 ligger innenfor grenseverdiene for skjæringspunktet, slik at vi heller ikke kan avvise hypotesen om at skjæringspunktet er lik 0. Metodene har dermed ikke noe systematisk eller proporsjonalt avvik. På grafen er det også tegnet en linje  $y=x$ . Denne viser om resultater fra referansemetoden er lik resultater fra testmetoden. Denne regresjonslinjen er litt forskjøvet oppover, men den ligger parallelt med Passing Bablok regresjonslinjen som indikerer at linjene har veldig likt stigningstall. Men siden EDTA plasma gir litt lavere PT-INR resultater enn citrat plasma, får Passing Bablok regresjonslinjen litt lavere verdier i forhold til  $y=x$ .

Figur 5.1.1c viser differanseplott for PT-INR i normalområde. Differansen til metodene varierer fra 0,01 - 0,06. De fleste verdiene ligger innenfor grenseverdien 2SD, unntatt en. Verdien som ligger utenfor grenseverdien har differansen på 0,1. Bias er på 0,04 og standard error of mean(SEM) er 0,014. Bias på 0,04 indikerer at systematisk avvik er lavt.

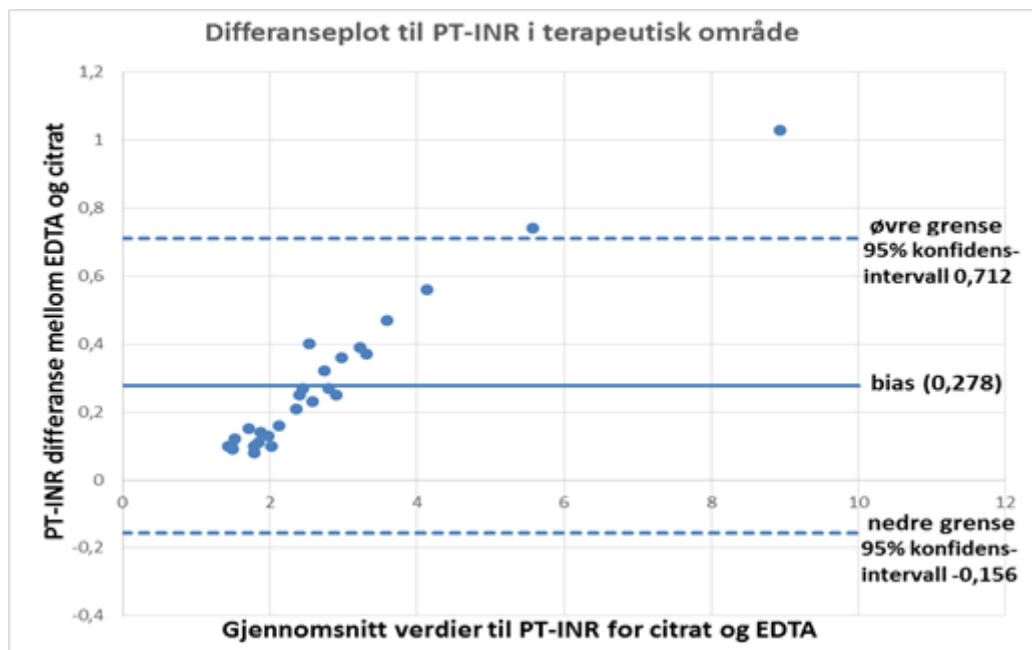
**- Pasientprøver i terapeutisk område (1,48 - 9,45)**



Figur 5.1.2a: PT-INR verdier i EDTA- plasma plottet på y-asken mot PT-INR verdier i citrat-plasma på x-aksen.



Figur 5.1.2b: PT-INR verdier i EDTA-plasma plottet på y-asken mot PT-INR verdier i citrat-plasma på x-aksen.



Figur 5.1.2c: På x-aksen er det plottet gjennomsnitt verdier til PT-INR for citrat- og EDTA plasma mot PT-INR differansen mellom EDTA- og citrat plasma på y-aksen.

Figur 5.1.2a viser lineær regresjonslinjen for PT-INR i terapeutisk område. Ligningen til regresjonslinjen er  $y = 0,8701x + 0,0943$ . Korrelasjonskoeffisienten  $R^2$  er 0,9987, som viser at det er god lineær sammenheng mellom metodene.

Figur 5.1.2b viser Passing Bablok regresjonsplott for PT-INR i terapeutisk område. Regresjonslinjen har et stigningstall på 0,846 og et skjæringspunkt på 0,158. På 95% konfidensintervallet er grenseverdier for stigningstallet 0,833 - 0,871, og grenseverdier for skjæringspunktet er 0,097 - 0,183 (vedlegg3). 1 ligger ikke innenfor grenseverdiene for stigningstallet, og 0 ligger ikke innenfor grenseverdiene for skjæringspunktet. Vi kan avvise hypotesen om at stigningstallet er lik 1, og skjæringspunktet er lik 0. Det er systematisk og proporsjonalt avvik mellom metodene.

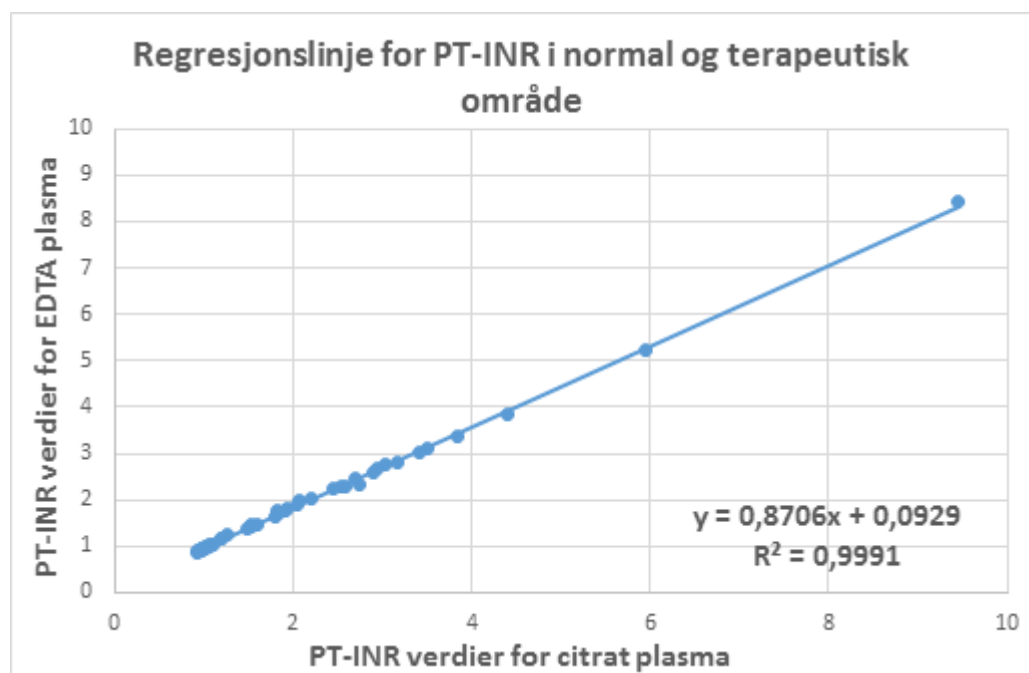
Hvis metodene ikke hadde systematisk og proporsjonalt avvik ville regresjonslinjen til Passing Bablok være  $y=x$ . Når man sammenligner disse to linjene kan man observere at de avviker mer og mer fra hverandre når PT-INR verdien øker.

Figur 5.1.2c viser differanseplott for PT-INR i terapeutisk område. De fleste verdiene (unntatt 2 verdier) er innenfor øvre og nedre grenseverdi. Verdiene som er utenfor grenseverdier har en differanse på 0,74 og 1,03. Utfra disse resultatene bestemte vi oss å dele konsentrasjonsområder for PT-INR analysen, siden differansen blir høy når PT-

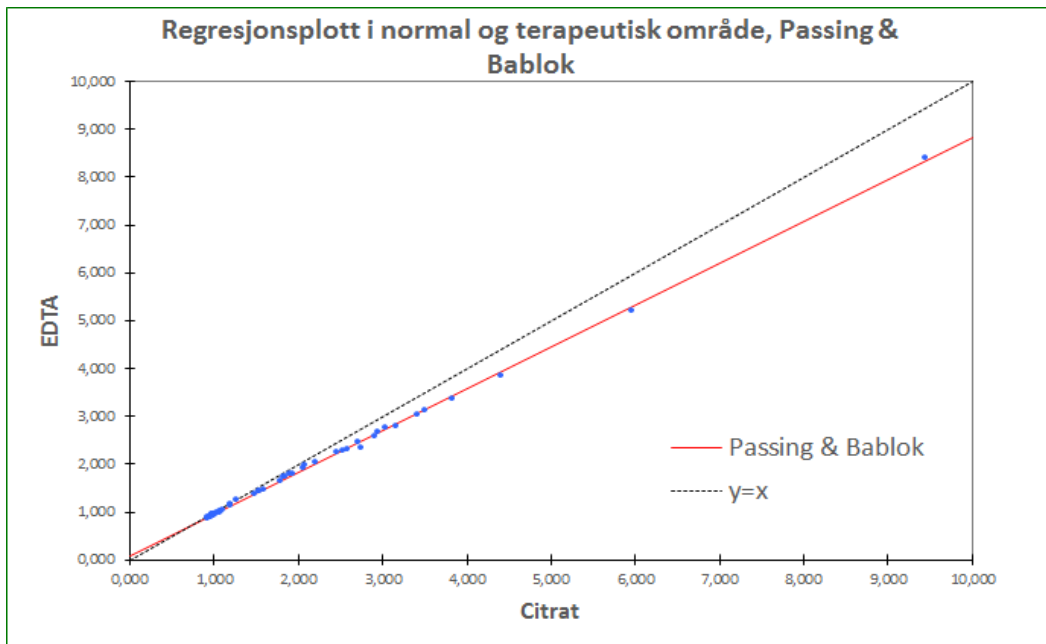
INR øker. Når PT-INR verdier fra citrat plasma er fra 1,48 til 4,41 er differansen mellom metodene fra 0,09 -0,56. Og når PT-INR verdier fra citrat plasma er fra 5,95 - 9,45 er differansen mellom metodene fra 0,74 - 1,03(vedlegg 4). Som sagt så øker differansen når PT-INR øker. Bias her er 0,278 og SEM er 0,221. Metodene har definitivt systematisk avvik.

#### **- Pasientprøver i normal og terapeutisk område (0,92 - 9,45)**

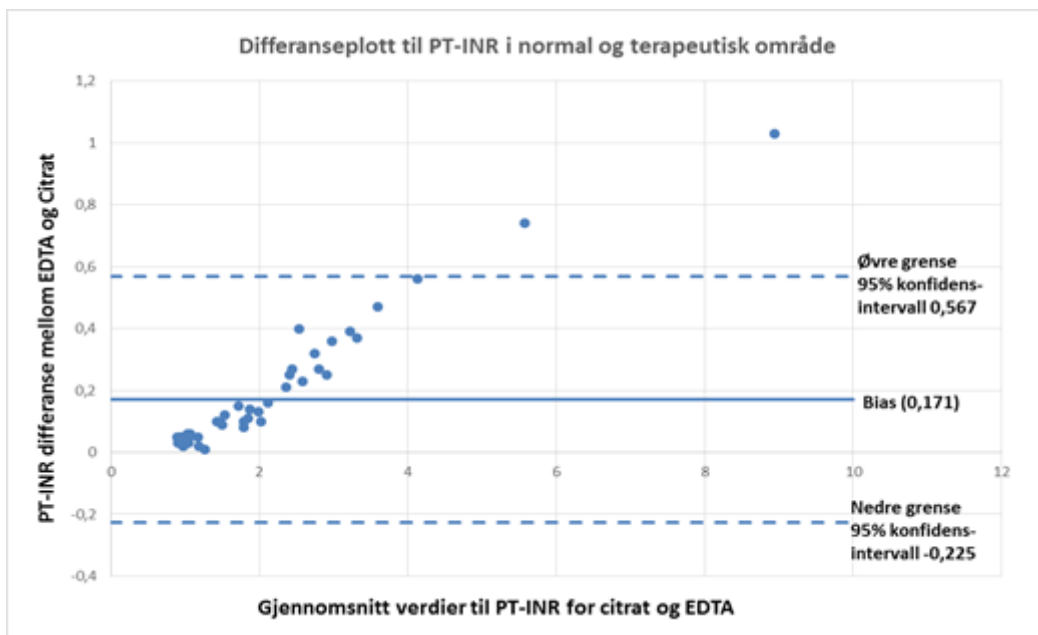
Vi ville også undersøke hvordan verdiene vil fordele seg når hele datasettet (n=49) ble presentert sammen (PT-INR i normal og terapeutisk område).



Figur 5.1.3a: PT-INR verdier i EDTA-plasma plottet på y-aksen mot PT-INR verdier i citrat-plasma på x-aksen.



Figur 5.1.3b: PT-INR verdier i EDTA-plasma plottet på y-aksen mot PT-INR verdier i citrat-plasma på x-aksen.



Figur 5.1.3c: På x-aksen er det plottet gjennomsnitt verdier til PT-INR for citrat- og EDTA plasma mot PT-INR differansen mellom EDTA- og citrat plasma på y-aksen.

Figur 5.1.3a viser lineær regresjonslinjen for PT-INR i normal og terapeutisk område. Ligningen for regresjonslinjen er  $y=0,8706x+0,0929$ . Korrelasjonskoeffisienten,  $R^2$  er 0,9991. Dette betyr at 99% av datamaterialet støtter den lineære sammenhengen mellom metodene.

Figur 5.1.3b viser Passing Bablok regresjonsplott for PT-INR i normal og terapeutisk område. Regresjonslinjen har et stigningstall på 0,875 og et skjæringspunkt på 0,085. På 95% konfidensintervallet er grenseverdier for stigningstallet 0,861 - 0,889, og grenseverdier til skjæringspunktet er 0,064 - 0,103 (vedlegg3). Hypotesen om at stigningstallet er lik 1 forkastes, siden 1 ikke ligger innenfor grenseverdiene for stigningstallet. Det samme gjelder for skjæringspunktet. Vi forkaster hypotesen om at skjæringspunktet er lik 0, siden 0 ikke ligger innenfor grenseverdiene for skjæringspunktet. Metodene har systematisk og proporsjonalt avvik. Regresjonslinjen avviker fra  $y=x$  på samme måte som på figur 5.1.2b for PT-INR i terapeutisk område.

Figur 5.1.3c viser differanseplott for PT-INR i normal og terapeutisk område for citrat- og EDTA plasma. Differansen øker med gjennomsnittet. Differansen til metodene varierer fra 0,01 -1,03.

Differanseplottet viser at PT-INR verdiene for de fleste prøvene ligger innenfor 2SD, unntatt 2 prøver. Disse verdiene er også uteligger på differanseplottet for PT-INR i terapeutisk område (figur 5.1.2c). Beregnet bias er 0,171, og SEM er 0,2. Metodene har systematisk avvik.

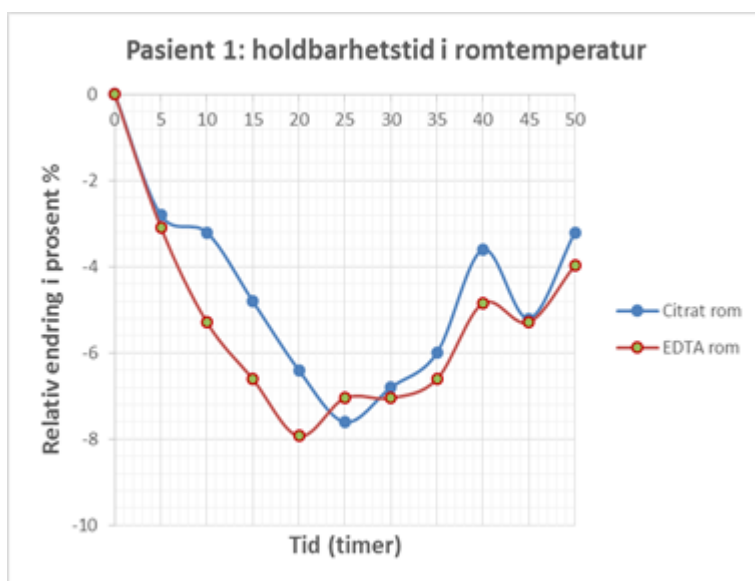
## 5.2 Holdbarhetsstudien

Holdbarhetsstudien består av to del-problemstillinger:

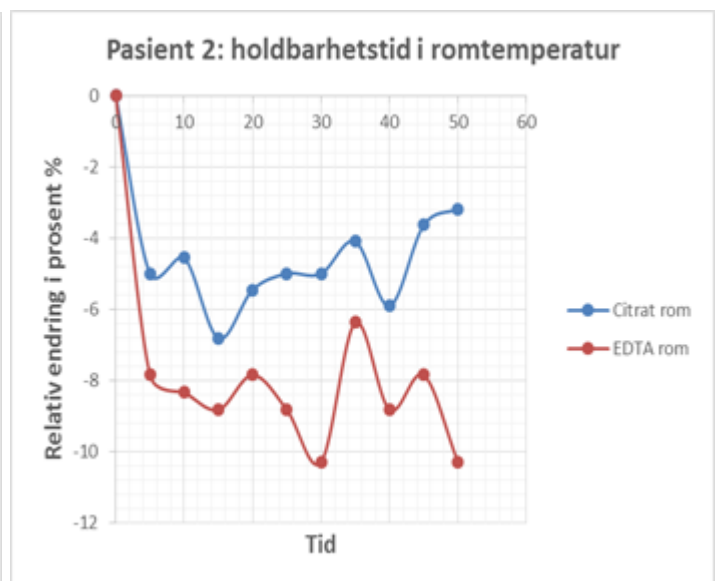
### - 5.2.1 Sammenligning av holdbarheten til EDTA plasma mot citrat plasma i romtemperatur

I grafene under er det blitt sammenlignet holdbarheten til EDTA plasma mot citrat plasma i romtemperatur med hensyn til PT- INR analysen.

Resultater fra hvert enkelt pasient ble beregnet for relativ endring, slik at denne endringen ble plottet mot tid (0 til 50 timer). Tabeller med beregningene er lagt inn som vedlegg (vedlegg 5).



Figur 5.2.1a



Figur 5.2.1b

Figur 5.2.1a og 5.2.1b viser PT-INR analysen i citrat og EDTA plasma analysert i romtemperatur for pasientprøve nr. 1 og 2. X-aksen viser antall timer, og y-aksen viser relativ endring i prosent %.

Grafen for pasientprøven nr. 1 (figur 5.2.1a) viser at verdiene for både citrat- og EDTA plasma holder seg nesten likt under de 5 første timene. Relativ endring for citrat plasma er rundt -2,8% og relativ endring for EDTA plasma er rundt -3,0%. Etter 5 timer blir holdbarheten i citrat plasma forskjellig fra EDTA plasma. I citrat plasma synker verdiene frem til 25 timer (-7,6%) og EDTA plasma får også synkende verdier frem til 20 timer (-7,9%). Deretter øker kurvene gradvis oppover fram til 50 timer. Relativ endring for EDTA plasma er fra -3,1% til -7,9%, og relativ endring for citrat plasma er



fra -2,8% til -7,6%. Vi observerte at alle verdiene ligger innenfor 10% avvik, dette er viktig fordi et avvik på 10% regnes å være av klinisk interesse.

For pasientprøven nr. 2 (figur 5.2.1b) viser grafen at verdiene for EDTA plasma avviker mye mer enn for citrat plasma. Relativ endring etter 5 timer er -5% i citrat plasma og -7,8% i EDTA plasma. Man kan se en tydelig differans mellom citrat- og EDTA plasma over tidsintervallene.

Relative endring (-10,3%) er høyest i EDTA plasma ved analysing av PT-INR etter 30 timer og 50 timer. Dette viser at EDTA plasma oppfyller ikke krav om å ha et avvik <10%. Citrat plasma har derimot høyest relativ endring (-6,8% og -5,9%) etter 15 timer og 40 timer. Relativ endring for citrat plasma er ikke større enn 10%.

Resultater for pasientprøver nr. 3, 4 og 5 er lagt inn som vedlegg (vedlegg 6). Figur 5.2.1c viser resultatet for pasientprøve nr. 3. I de 5 første timene er relativ endring -4,7% i citrat plasma og -6,8% i EDTA plasma. Gjennom tidsintervallene kan vi se at PT- INR verdiene holder seg mer stabil i citrat plasma, og relativ endring varierer fra -4,7% til -2,9%. PT- INR i EDTA plasma derimot hadde store svingninger mellom tidsintervallene. Relativ endring i EDTA plasma synker fram til 25 timer (-9,8%), og etter 30 timer er relativ endring i EDTA plasma økt til -3,4%. Relativ endring for både EDTA plasma og citrat plasma overstiger ikke 10% avvik.

Tendensen til at citrat plasma verdiene holder seg mer stabil i forhold til EDTA plasma verdiene kan vi også se i figur 5.2.1d og 5.2.1e (pasientprøver nr. 4 og 5).

Figuren til pasientprøve nr. 4 (figur 5.2.1d) viser at PT-INR verdier i citrat plasma har relativ endring som er mindre i forhold til relativ endring for PT-INR verdier i EDTA plasma. Relativ endring til citrat plasma varierer fra -1% til -4,1%, mens i EDTA plasma er det relativ endring fra -4,4% til -8,3%. PT-INR verdier i EDTA plasma avviker en god del fra verdiene i citrat plasma. Kurven til EDTA plasma ligger lavere i forhold til kurven for citrat plasma.

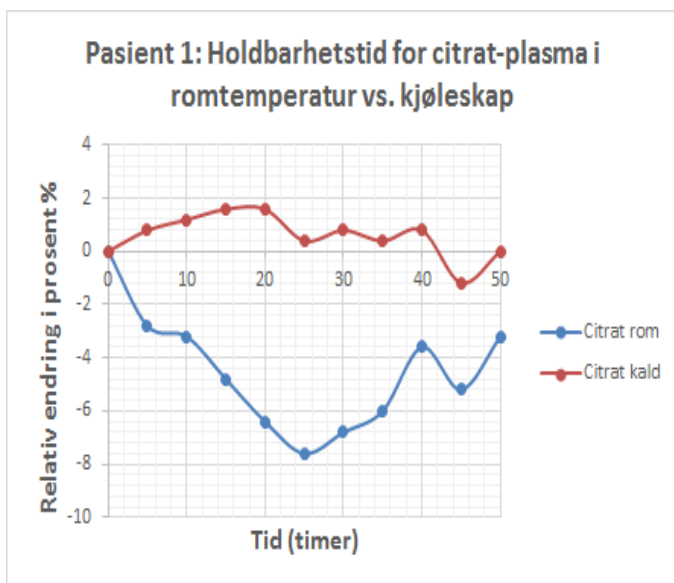
Fra figuren til pasientprøve nr. 5 (figur 5.2.1e) ser vi også at PT-INR verdier i citrat plasma holder seg litt mer stabil enn i EDTA plasma. Verdier i citrat plasma har relativ endring fra -1,3% til -9,2%, og verdier i EDTA plasma har relativ endring fra -1,15% til -13,6%. Relativ endring til EDTA plasma overstiger tillatt avvik på >10% etter 20 timer.

Begge kurvene synker fram til 10-15 timer. Kurven for citrat plasma øker etter 15 timer, og mellom 25 og 45 timer er kurven stabil. Kurven for EDTA-plasma derimot synker mellom 0-10 timer, 20-25 timer og 30-40 timer.

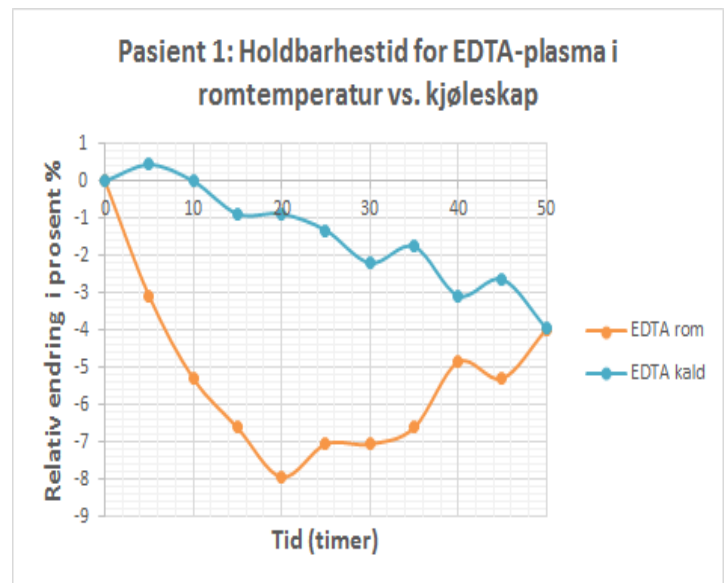
- **5.2.2 Sammenligning av holdbarheten til EDTA og citrat plasma oppbevart i romtemperatur mot kjøleskap**

I denne delen sammenlignes citrat plasma oppbevart i romtemperatur mot citrat plasma oppbevart i kjøleskap, og EDTA plasma oppbevart i romtemperatur mot EDTA plasma oppbevart i kjøleskap. Resultatet til pasientprøve nr.1 (figur 5.2.2) og pasientprøve nr.5 (figur 5.2.6) er presentert under, mens resultatene til pasientprøver nr. 2, 3 og 4 er lagt inn som vedlegg (vedlegg 7).

X-aksen viser antall timer fra 0-50, og y-aksen viser relativ endring i prosent %.



Figur 5.2.2a

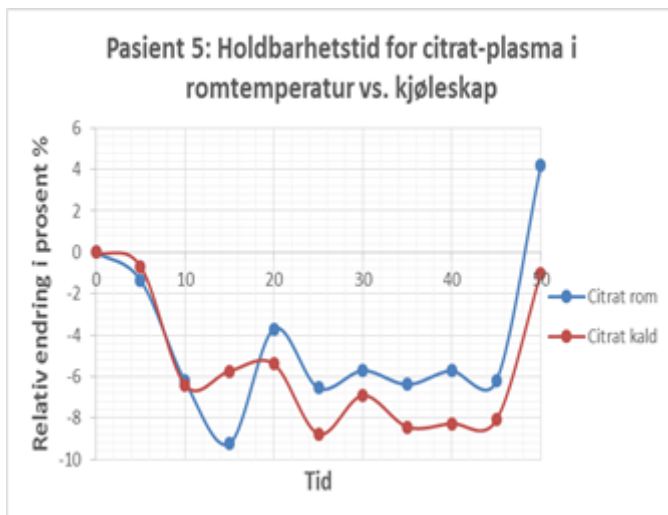


Figur 5.2.2b

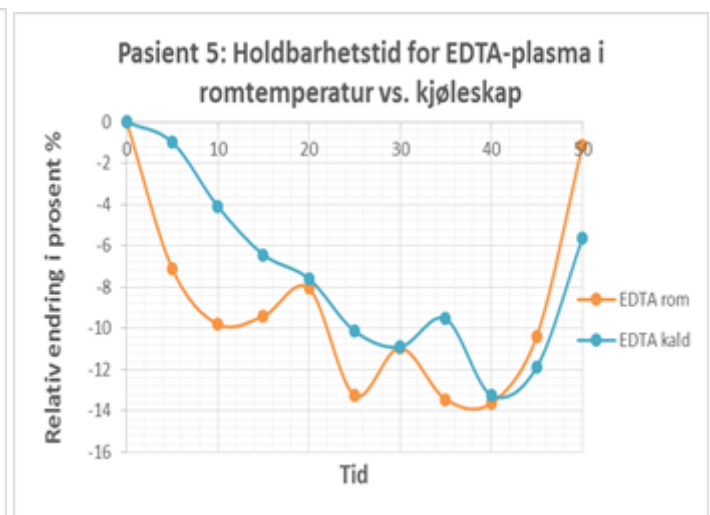
Figur 5.2.2a viser at endringer i PT-INR verdier fra citrat plasma er mindre når prøven oppbevares i kjøleskap enn i romtemperatur. Citrat plasma som er oppbevart i romtemperatur har relativ endring fra -2,8% til -7,6%, mens citrat plasma som er oppbevart i kjøleskap har relativ endring fra -1,2% til 1,6%. Relativ endring for citrat plasma i kjøleskap er mindre enn for citrat plasma i romtemperatur. Citrat plasma i romtemperatur har en kurve som synker fram til 25 timer (-7,6%), mens kurven for

citrat plasma i kjøleskap er mer stabil over tidsintervallene. Relativ endring for citrat plasma i kjøleskap og romtemperatur overstiger ikke 10% avvik.

På samme måte viser figuren 5.2.2b at holdbarheten for EDTA plasma er bedre i kjøleskap enn i romtemperatur til PT-INR analysen. Relativ endring for EDTA plasma oppbevart i romtemperatur er fra -3,1% til -7,9%, mens relativ endring for EDTA plasma oppbevart i kjøleskap er fra 0,4% til -3,9%. Kurven til EDTA plasmaet oppbevart i kjøleskap synker gradvis nedover, mens kurven til EDTA plasma oppbevart i romtemperatur synker brattere fram til 25 timer. Her er relativ endring heller ikke større enn 10%.



Figur 5.2.6a



Figur 5.2.6b

Figur 5.2.6a til pasientprøve nr. 5 viser at citrat plasma i kjøleskap og i romtemperatur har verdier som avviker en god del fra nullprøven. Mellom 5 og 10 timer ser det ut til at begge kurvene synker, og mellom 25 til 45 timer ser begge kurvene delvis stabil ut. Kurvene for citrat plasma i kjøleskap og romtemperatur følger nesten samme mønsteret. Relativ endring for citrat plasma i romtemperatur er fra -9,2% til 4,2%, og relativ endring for citrat plasma i kjøleskap er fra -8,8% til -0,7%. Verdier for citrat plasma i romtemperatur og kjøleskap har ikke avvik som er større enn 10%.

Figur 5.2.6b viser relativ endring for EDTA plasma oppbevart i romtemperatur og kjøleskap til pasientprøve nr.5. Relativ endring for EDTA plasma i romtemperatur er fra -1,2% til -13,6%, og relativ endring for EDTA plasma i kjøleskap er fra -0,9% til -13,2%. I denne grafen er det store avvik i både EDTA plasma oppbevart i kjøleskap

og romtemperatur. Mellom 25 og 45 timer får EDTA plasma i romtemperatur og kjøleskap et avvik som er større enn 10%.

Resultater for pasientprøver nr. 2, 3 og 4 er presentert i vedlegg 7. Resultatet for pasientprøve nr. 2 (figur 5.2.3a) viser at citrat plasma oppbevart i kjøleskap har relativ endring fra 0% til -5%. Mens for citrat plasma oppbevart i romtemperatur er det en relativ endring fra 0% til -6,8%. Analysering som er gjort etter 5 timer viser 0% relativ endring for citrat plasma oppbevart i kjøleskap, mens citrat plasma oppbevart i romtemperatur har relativ endring på -5%.

EDTA plasma oppbevart i kjøleskap (figur 5.2.3b til høyre) ser ut til å være mer holdbart enn EDTA plasma oppbevart i romtemperatur. På figuren kan vi se at kurven for EDTA plasma i kjøleskap synker gradvis. Mens kurven for EDTA plasma i romtemperatur synker brattere fram til 5-10 timer, og deretter synker gradvis fram til 30 timer. Relativ endring for EDTA plasma oppbevart i romtemperatur er fra -6,4% til -10%, og relativ endring for EDTA plasma oppbevart i kjøleskap er fra -0,99% til -8%. Relativ endring for EDTA plasma i kjøleskap overstiger 10% avvik etter 20 timer.

Figuren (5.2.4a) til pasientprøve nr. 3 viser at citrat plasma oppbevart i romtemperatur er mer stabilt enn citrat plasma oppbevart i kjøleskap, dette har ikke blitt observert på de andre grafene. Relativ endring for citrat plasma i romtemperatur er fra -2,9% til -4,7%, og relativ endring for citrat plasma i kjøleskap er fra -3,7% til 4,4%. I de første 5 timer ser det ut som citrat plasma oppbevart i romtemperatur (-4,74%) får større relativ endring enn citrat plasma i kjøleskap (-2,19%). Kurven for citrat plasma i romtemperatur blir etter det mye mer stabil fra 20 til 50 timer. I citrat plasma som er oppbevart i kjøleskap er høyest relativ endring mellom 30 og 45 timer, hvor relative endring går fra 4,39% til -3,66%.

Figuren 5.2.4b viser at EDTA plasma i både kjøleskap og romtemperatur er lite stabil over tid med tanke på PT-INR analysen. Kurven for både EDTA plasma oppbevart i romtemperatur og kjøleskap har store relativ endring. Relativ endring for EDTA plasma oppbevart i romtemperatur er fra -3,4% til -9,8%, og relativ endring for EDTA plasma oppbevart i kjøleskap er fra -1,3% til -9,96%. Det første som man merker er at kurven for EDTA plasma i romtemperatur synker fram til 25 timer (-9,8%), mens kurven for EDTA plasma i kjøleskap synker brattere fra 30 til 45 timer. Her er relativ

endring for EDTA plasma i kjøleskap og romtemperatur et avvik som er tilnærmet 10%.

Figur 5.2.5a til pasientprøve nr.4 viser at citrat plasma i kjøleskap har lavere relativ endring enn citrat plasma i romtemperatur. Relativ endring for citrat plasma i kjøleskap er fra -1,0% til 2,5%, mens relativ endring for citrat plasma i romtemperatur er fra -1,0% til -4,1%. Kurven for citrat plasma i romtemperatur synker gradvis fram til 15 timer, mens kurven for citrat plasma i kjøleskap øker gradvis fram til 25 timer. Etter 25 timer synker kurven for citrat plasma i kjøleskap mens kurven for citrat plasma i romtemperatur stiger. Etter 45 timer synker begge kurvene i samme retningen.

For EDTA plasma (figur 5.2.5b til høyre) er relativ endring i romtemperatur fra -4,4% til -8,3%, og i kjøleskap er relativ endring fra -3,9% til -0,6%. Kurven for EDTA plasma i romtemperatur synker fram til 25 timer, og stiger igjen etter det. Mens kurven for EDTA plasma i kjøleskap synker gradvis fram til 50 timer.

Det er blitt beregnet 90% konfidensintervall utfra biologiske variasjon til prøvene. Dersom konfidensintervallet ligger utenfor tillatt avvik er holdbarheten til analytten ikke godkjent(55). Tillatt avvik skal ikke overstige 10%. 10% avvik betraktes som klinisk relevant. Utfra tabell 1 kan vi se at konfidensintervall for EDTA plasma i romtemperatur for pasientprøve nr. 5 ligger utenfor tillatt avvik, slik at holdbarheten til prøven er definitivt ikke godkjent.

Konfidensintervall til citrat plasma har mindre spredning enn konfidensintervall for EDTA plasma, dette er på grunn av at standardavviket i citrat plasma er alltid lavere enn standardavviket i EDTA plasma (tabell 1).

Konfidensintervall for plasma oppbevart i kjøleskap har også mindre spredning enn konfidensintervall for plasma i romtemperatur. Dette indikerer at avviket er mindre i plasma oppbevart i kjøleskap enn i romtemperatur.

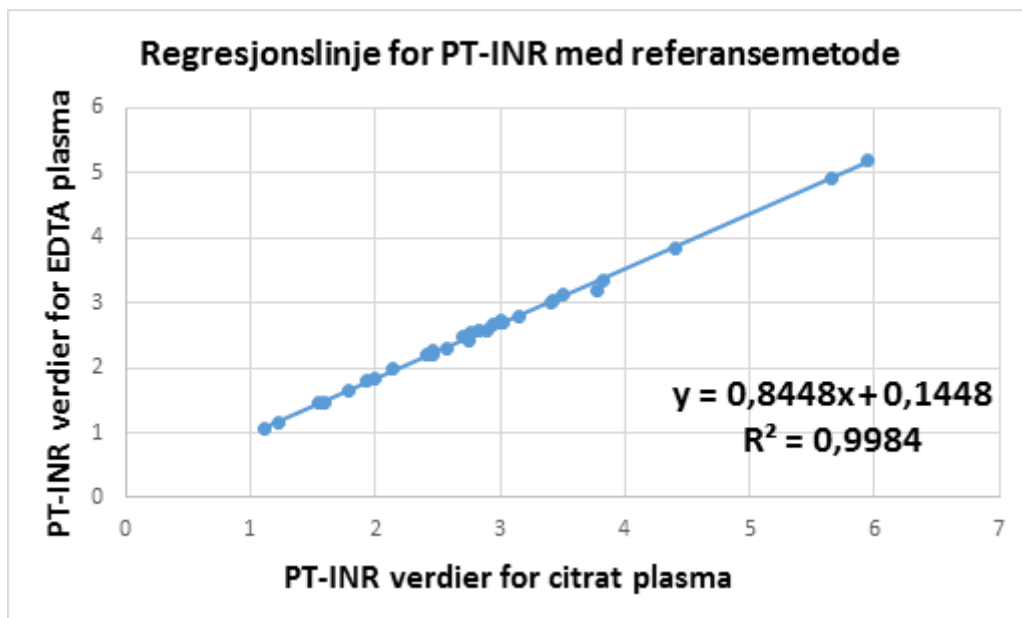
Tabell 1: viser holdbarheten med 90% konfidensintervall for pasientprøver fra EDTA og citrat plasma.

	90% konfidensinterval l	Citrat plasma oppbevart i romtemperatur	Citrat plasma oppbevart i kjøleskap	EDTA plasma oppbevart i romtemperatur	EDTA plasma oppbevart i kjøleskap
Pasientprøve nr.1	Nedre grense	-5,71%	0,14%	-6,49%	-2,24%
	Øvre grense	-3,30%	1,01%	-4,01%	-0,72%
Pasientprøve nr.2	Nedre grense	-5,40%	-2,87%	-9,29%	-4,19%
	Øvre grense	-3,45%	-0,98%	-6,22%	-1,78%
Pasientprøve nr.3	Nedre grense	-4,40%	-1,48%	-8,42%	-6,73%
	Øvre grense	-2,97%	0,88%	-5,25%	-3,35%
Pasientprøve nr.4	Nedre grense	-2,92%	0,04%	-6,67%	-2,39%
	Øvre grense	-1,67%	1,07%	-4,34%	-0,84%
Pasientprøve nr. 5	Nedre grense	-6,34%	-7,24%	-11,34%	-9,68%
	Øvre grense	-2,18%	-3,61%	-6,31%	-4,93%

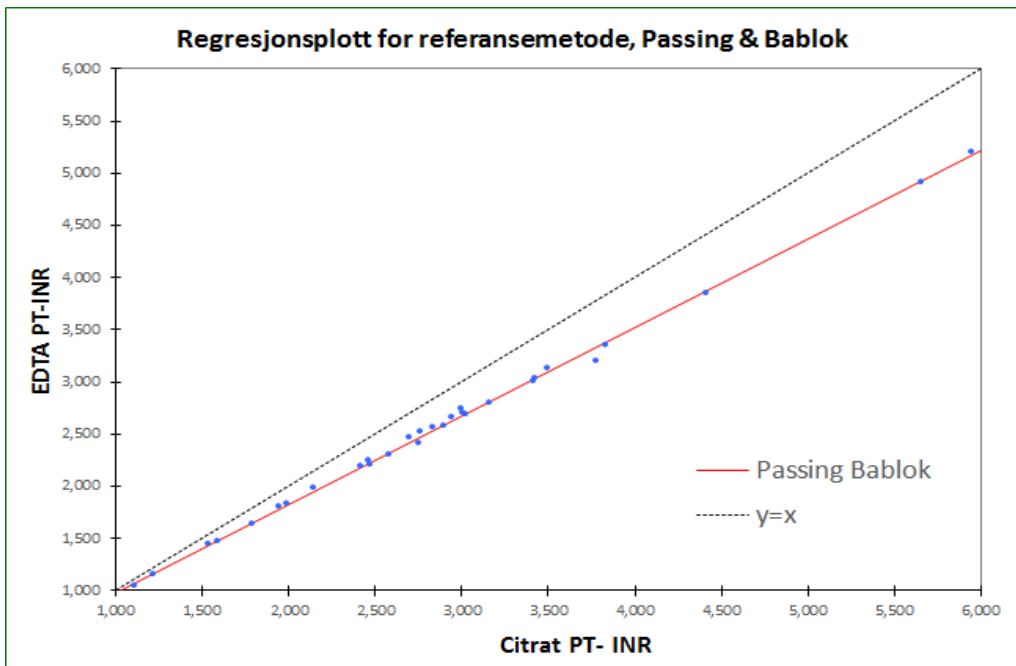
### 5.3 Kalibreringskurven for EDTA plasma

I denne delstudien er det laget en ny kalibreringskurve rettet mot EDTA plasma til analysing av PT-INR. Vi bestemte oss å henvise til den nye kalibreringskurven som *testmetode* og den tradisjonelle kalibreringskurven som er rettet mot citrat plasma som *referansem metode*. For testmetoden er EDTA plasma analysert med den nye kalibreringskurven, mens citrat plasma er analysert med den tradisjonelle kalibreringskurven. For referansemetoden er både citrat- og EDTA plasma analysert med den tradisjonelle kalibreringskurven. Vi ville finne ut om PT-INR analysen i EDTA plasma ved bruk av testmetoden er bedre enn ved bruk av referansemetoden.

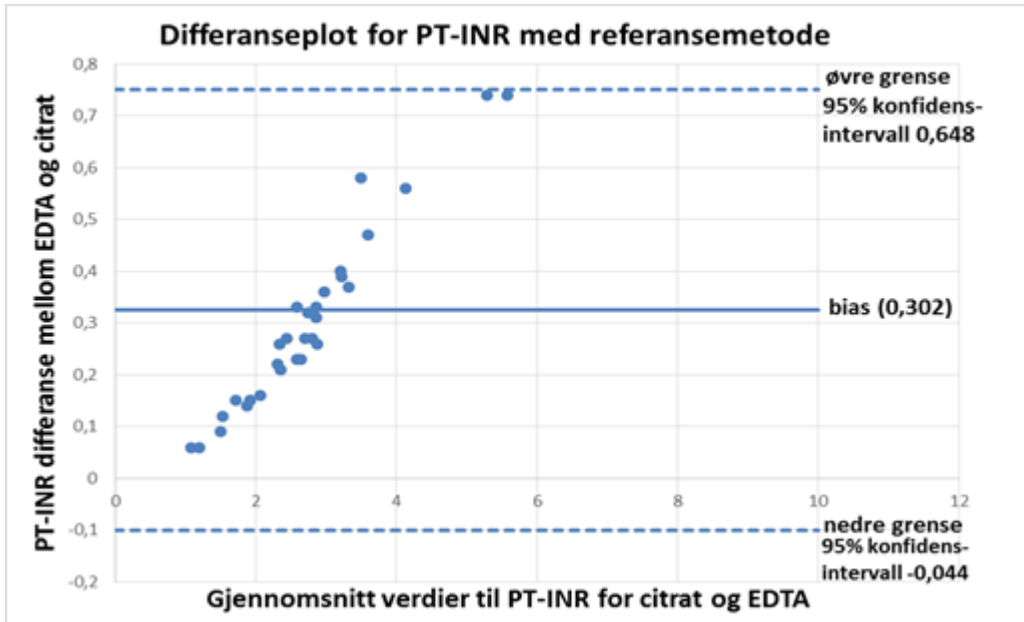
#### - 5.3.1 Referansem metode



Figur 5.3.1a: PT-INR verdier i EDTA plasma plottet på y-aksen mot PT-INR verdier i citrat-plasma på x-aksen.



Figur 5.3.1b: PT-INR verdier i EDTA plasma plottet på y-aksen mot PT-INR verdier i citrat-plasma på x-aksen.



Figur 5.3.1c: På x-aksen er det plottet gjennomsnitt verdier til PT-INR for citrat- og EDTA plasma mot PT-INR differansen mellom EDTA- og citrat plasma på y-aksen.

Figur 5.3.1a viser lineær regresjonslinjen til PT- INR analysen for referansemetoden. Ligningen til regresjonslinjen er  $y = 0,8448x + 0,1448$ , hvor stigningstallet er 0,8448



og skjæringspunktet er 0,1448. Korrelasjonskoeffisienten,  $R^2$  er 0,9984, som betyr at metodene støtter den lineære sammenhengen.

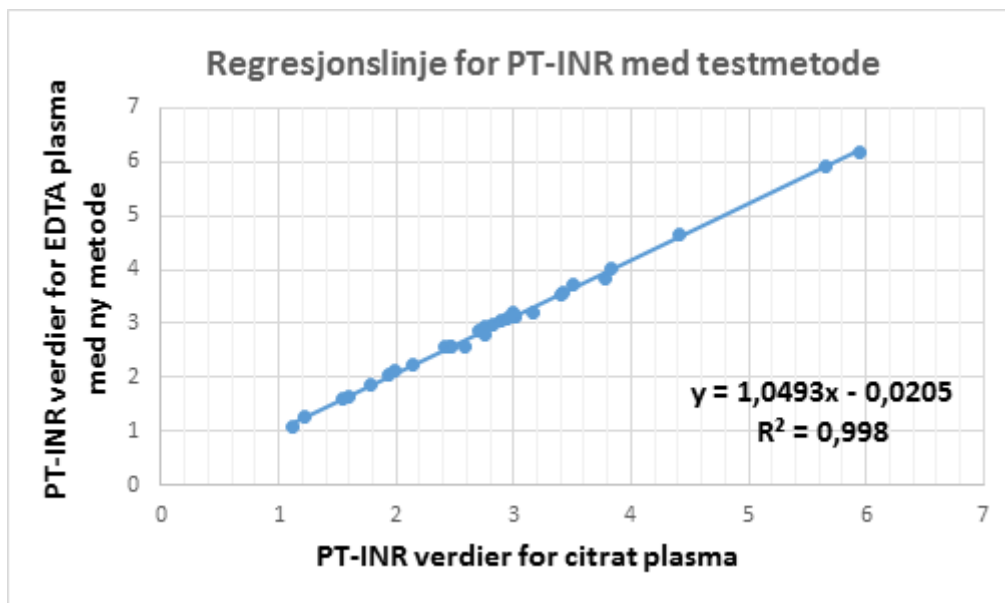
Figur 5.3.1b viser Passing Bablok regresjonsplott for referansemetoden.

Regresjonslinjen har et stigningstall på 0,847 og et skjæringspunkt på 0,133. På 95% konfidensintervall har stigningstallet grenseverdier 0,836 - 0,858, og skjæringspunktet har grenseverdier 0,105 - 0,167 (vedlegg 8). Hypotesen om at stigningstallet er lik 1 og skjæringspunktet er lik 0 forkastes. Dette er fordi 1 ikke ligger innenfor grenseverdiene for stigningstallet, og 0 ikke ligger innenfor grenseverdiene for skjæringspunktet. Metodene har systematisk og proporsjonalt avvik. Regresjonslinjen til Passing Bablok avviker fra regresjonslinjen  $y=x$  med økende PT-INR verdi.

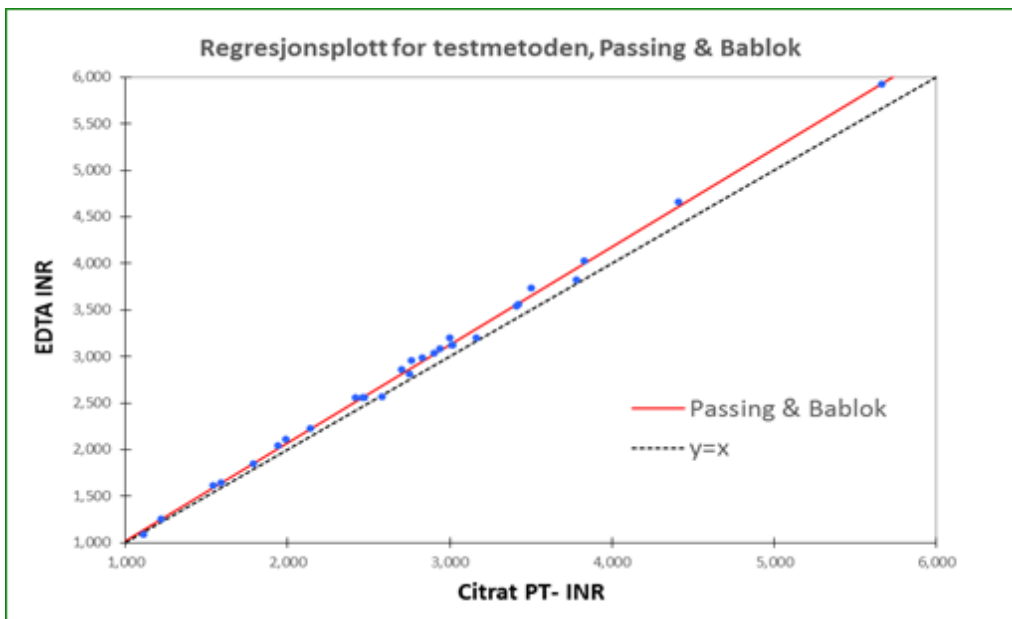
Figur 5.3.1c viser differanseplott til PT- INR analysen for referansemetoden. To verdier ligger utenfor øvre og nedre grenseverdi. De to verdiene har høy PT-INR verdi, slik at differansen også blir høy. På grafen kan det observeres at differansen forandrer seg med økende gjennomsnitt.

Bias for differanseplott er 0,302 og SEM er 0,176.

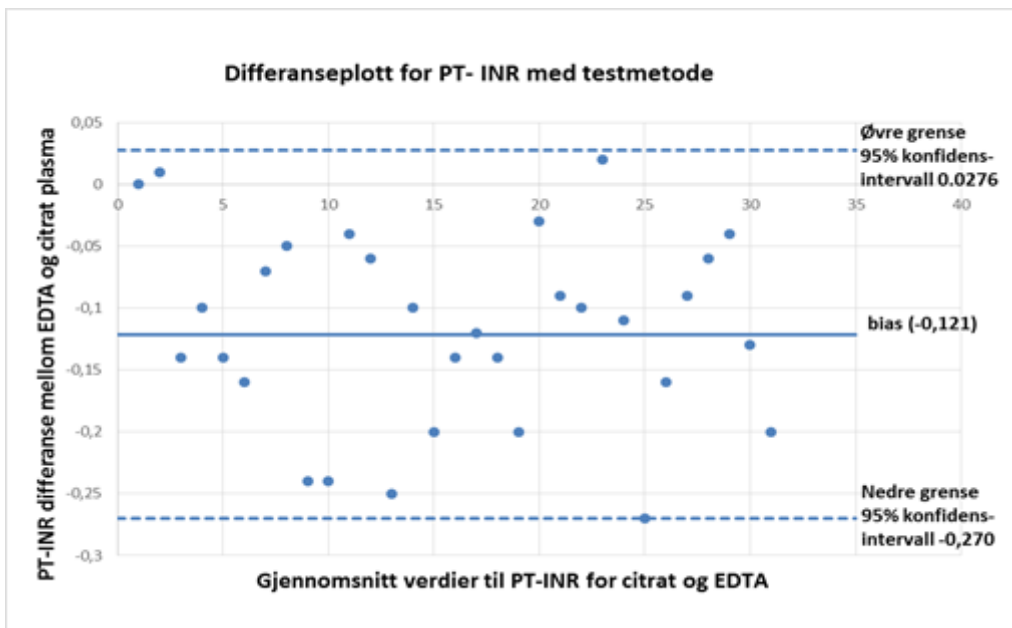
### - 5.3.2 Testmetode



Figur 5.3.2a: PT-INR verdier i EDTA plasma plottet på y-aksen mot PT-INR verdier i citrat plasma på x-aksen



Figur 5.3.2b: PT-INR verdier i EDTA plasma plottet på y-aksen mot PT-INR verdier i citrat plasma på x-aksen



Figur 5.3.2c: På x-aksen er det plottet gjennomsnitt verdier til PT-INR for citrat- og EDTA plasma mot PT-INR differansen mellom EDTA- og citrat plasma på y-aksen

Figur 5.3.2a viser regresjonsplott til PT- INR analysen for testmetoden. Ligningen til regresjonslinjen er  $y = 1,0493x + 0,0205$ . Korrelasjonskoeffisienten er 0,998, som viser at metodene har god lineær sammenheng.

Figur 5.3.2b viser regresjonsplott for Passing Bablok. Regresjonslinjen har stigningstallet 1,053 og skjæringspunktet -0,029. På 95% konfidensintervall har stigningstallet grenseverdier 1,035-1,073, og skjæringspunktet har grenseverdier - 0,072 - 0,017 (vedlegg 8). Hypotesen om at stigningstallet er lik 1 forkastes, siden 1 ikke ligger innenfor grenseverdiene for stigningstallet. Mens hypotesen om at skjæringspunktet er lik 0 beholdes, fordi 0 ligger innenfor grenseverdiene for skjæringspunktet. Utfra Passing Bablok har metodene ikke systematisk avvik, men proporsjonalt avvik. Regresjonslinjen til Passing Bablok avviker litt fra regresjonslinjen  $y=x$  når PT-INR verdier øker. Figuren viser at EDTA PT-INR gir litt høyere PT-INR verdi enn citrat PT-INR.

Figur 5.3.2c viser differanseplott for testmetoden. Verdiene er jevnt fordelt både under og over bias, og differansen forandrer seg ikke med gjennomsnittet. Verdiene fra testmetoden er derimot ikke fordelt både under og over null linjen, flere av verdiene ligger under null linjen siden den nye kalibreringskurven gir litt høyere PT-INR verdier enn den tradisjonelle kalibreringskurven. Differansen til testmetoden er negativ, slik at bias også blir negativ. Bias er -0,121 og SEM er 0,076.

## 6.0 Diskusjon

Denne oppgaven besto av 4 del-problemstillinger. Det ble utført en studie for hver problemstilling. Antall prøver som ble brukt varierte fra studie til studie. For å kunne si noe om metodene som sammenlignes, måtte vi samle et stort antall med prøver. Vi samlet 64 prøver tilsammen. Prøvene var fra pasienter som brukte marevan (n=42) og pasienter som ikke brukte marevan (n=22). Før analysering av PT-INR ble kvalitetskontroller analysert. Kvalitetskontroller som ble analysert var innenfor akseptområde, slik at prøvesvarene kunne godkjennes og brukes.

Under ble resultatet fra hvert enkelt delstudie diskutert ved hjelp av de statistiske metodene som ble presentert i resultatet (kapittel 5.0).

### 6.1 Sammenligningsstudien

Målet med sammenligningsstudien var å finne ut om EDTA plasma kunne brukes som alternativt til citrat plasma til PT-INR analysen. Det ville vært en fordel å kunne bruke EDTA-plasma til analysering av PT-INR, spesielt i situasjoner hvor det var vanskelig med prøvetaking.

For at man skal kunne presentere et resultat som gav en god oversikt over avviket mellom de to metodene, var det viktig at det ble brukt et stort datasett. Til denne delen ble det brukt 49 pasientprøver totalt. Underveis i studien ble vi oppmerksom på at differansen ble større når PT-INR verdien økte. Dermed bestemte vi oss å dele opp i områder for PT-INR analysen, siden høyere PT-INR verdier gav større avvik. Vi ville finne ut om PT-INR i normalområde og terapeutisk område gav forskjell i differansen, og om differansen førte til klinisk relevant avvik for pasienter. Det var derfor veldig viktig at prøver som ble brukt hadde ulike PT-INR verdier, slik at vi kunne få resultater med gode konsentrasjonsområder. PT-INR verdiene fra citrat- og EDTA plasma til de 49 pasientene ble presentert med lineær regresjon, differanseplott og Passing Bablok.

Pasientprøver med PT-INR i normalområde og i terapeutisk område hadde god lineær sammenheng (figur 5.1.1a, 5.1.2a og 5.1.3a) utfra korrelasjonskoeffisienten  $R^2$ . Korrelasjonskoeffisienten til pasientprøver i terapeutisk område (0,9987) var litt høyere i forhold til korrelasjonskoeffisienten til pasientprøver i normalområde (0,9801), men pasientprøver i terapeutisk område hadde fortsatt større avvik enn

pasientprøver i normalområde. Dette ble ikke vist godt nok i regresjonslinjen. Regresjonslinjen i terapeutisk område hadde bedre linearitet enn regresjonslinjen i normalområde. Denne måten å kvantifisere metodene på var derfor svært begrenset, siden regresjonslinjen bare oppgir retningen og lineær sammenhengen med metodene. Siden  $R^2$  til pasientprøver i normalområde og terapeutisk område (figur 5.1.3a) hadde positiv verdi, indikerte dette på at y-verdier økte med økende x-verdier.

Stigningstallet (1,039) og skjæringspunktet (0,0801) til PT-INR i normalområde (figur 5.1.1a) var litt nærmere 1 og 0 enn stigningstallet(0,8701) og skjæringspunktet(0,0943) i terapeutisk område (Figur 5.1.2a). Når pasientprøver fra normal og terapeutisk område (Figur 5.1.3a) ble presentert i lag, var regresjonslinjen nesten den samme som regresjonslinjen i terapeutisk område. Korrelasjonskoeffisienten viste at det var god linearitet mellom metodene, og stigningstallet (0,8706) og skjæringspunktet(0,0929) var ikke så forskjellige fra pasientprøver i terapeutisk område.

Ved lineær regresjon kunne vi ikke bedømme avviket mellom PT-INR i EDTA plasma og citrat plasma. Vi brukte derfor Passing Bablok regresjonsplott med 95% konfidensintervall for å finne ut om det var noe avvik mellom metodene. Passing Bablok tok hensyn til usikkerhet i både testmetoden(y-verdier) og referansemotoden(x-verdier). Dette førte til at stigningstallet og skjæringspunktet fra Passing Bablok ble litt lavere i forhold til stigningstallet og skjæringspunktet fra lineær regresjon. I dette regresjonsplottet kunne vi også se hvordan regresjonslinjen lå i forhold til den ideelle linjen,  $y=x$ . Stigningstallet og skjæringspunktet ble presentert i tabell 2 (se under), med sammendrag på hvilket type avvik som hadde oppstått med pasientprøver i normalområde og terapeutisk område.

Tabell 2: Viser sammendrag av resultater fra Passing Bablok regresjonsplott.

Sammenligning av resultater med Passing Bablok			Konfidensintervall		Systematisk avvik	Proporsjonal avvik
			Nedre grense (95%)	Øvre grense (95%)		
PT-INR i normalområde	Skjæringspunkt	-0,045	-0,169	0,000	NEI	NEI
	Stigningstall	1,000	0,958	1,125		
PT-INR i terapeutisk område	Skjæringspunkt	0,158	0,097	0,183	JA	JA
	Stigningstall	0,846	0,833	0,871		
PT-INR i normal og terapeutisk område	Skjæringspunkt	0,085	0,064	0,103	JA	JA
	Stigningstall	0,875	0,861	0,889		

Utfra tabell 2 kunne vi se at når PT-INR verdi lå i normalområde var det ikke systematisk eller proporsjonalt avvik mellom metodene, men når PT-INR verdi lå i terapeutisk område var det både systematisk og proporsjonalt avvik. På 95% konfidensintervall kunne stigningstallets og skjæringspunktets nedre og øvre grense hjelpe oss å vurdere om det var systematisk og/eller proporsjonalt avvik mellom metodene(kap.4.7.3). Stigningstallet og skjæringspunktet til PT-INR i normalområde var mye nærmere 1 og 0 enn stigningstallet og skjæringspunktet til PT-INR i terapeutisk område.

Når resultater fra pasientprøver i normalområde og terapeutisk område ble lagt sammen i Passing Bablok viste det seg at metodene også hadde systematisk og proporsjonalt avvik. Når man vil sammenligne to metoder for analysing av PT-INR, vil det derfor vært lurt å gruppere PT-INR verdier etter resultater (normal og terapeutisk). Pasientprøver i normalområde gav ikke stort avvik, men når de ble presentert i lag med pasientprøver i terapeutisk område, fikk pasientprøver i normalområde avvik i likhet med pasientprøver i terapeutisk område.

For å kvantifisere metodene brukte vi også differanseplott. Ved hjelp av differanseplott kunne vi visuelt bedømme sammenhengen mellom metodene. På figur 5.1.1c(PT-INR i normalområde) var verdiene jevnt fordelt, og bias var 4%. Differansen mellom metodene (1%-6%) var lav og gav ikke klinisk relevant avvik.

På figur 5.1.2c (PT-INR i terapeutisk område) observerte vi at differansen økte med middelveier, slik at verdiene trakk seg oppover når middelveier økte. Verdiene som ble plottet var ujevnt fordelt, siden sammenhengen mellom metodene var avhengig av differansen. Pasientprøver med PT-INR fra 1,48 til 4,41 hadde differanse fra 9% - 56%. Differansen var stor slik at avvek vi fikk var av betydning for behandling av pasienter. Bias ble også høy og ble beregnet til å være 27,8%. Bias til PT-INR i normalområde (4%) var lavere i forhold til bias i terapeutisk område (27,8%). Dette betyr at systematisk avvik mellom metodene i normalområde var mye lavere enn i terapeutisk område. Det samme avviket ble observert på figur 5.1.3c (PT-INR i normal- og terapeutisk område). Her ble bias 17,1%.

I differanseplottene ble det også beregnet øvre og nedre grense på 95% konfidensintervall (2 SD). I differanseplott for PT-INR i normalområde (figur 5.1.1c) var det en verdi som lå utenfor nedre og øvre grense. Denne verdien tilhørte prøve nr.11 (vedlegg 4), som hadde en lav differanse på 1%.

I differanseplott for PT-INR i terapeutisk område (figur 5.1.2c) var det to verdier som havnet utenfor grenseverdiene. Dette ble også observert i figur 5.1.3c. Det var de samme verdier i begge figurene som lå utenfor nedre og øvre grense. Disse verdiene hadde differansen på 0,74 og 1,03 (prøve nr. 38 og 40 fra vedlegg 4). Differansen til pasientprøvene var høy, fordi PT-INR verdier til pasientene var høyere enn normalt.

Resultatene som vi fikk i denne studien viste at PT-INR i EDTA plasma alltid var lavere enn PT-INR i citrat plasma. Differansen mellom metodene økte med økende PT-INR verdier. Vi fant ut at når PT-INR var i normalområde (0,92-1,19) kunne EDTA plasma brukes til analysing av PT-INR, siden avvik ikke var av klinisk betydning for pasienter. Men PT-INR analysen brukes på pasienter som har stor risiko for blødning, og disse pasienter har høy PT-INR verdi. I terapeutisk område var avvik stort når PT-INR ble analysert i EDTA plasma. Det er ikke forsvarlig å bruke EDTA plasma ved behandling av pasienter.

Tidligere studier har bekreftet dette funnet. Sammenligningsstudier gjort av studenter ved høgskolene i Bergen og Ålesund, fikk samme funn som oss (2,3). PT- INR verdi i EDTA plasma avviker fra PT-INR verdi i citrat plasma. Avvik ble større med økende PT-INR verdi.

## 6.2 Holdbarhetsstudien

Holdbarhetsstudien besto av to del-problemstillinger:

- Sammenligne holdbarheten til PT-INR analysen i EDTA plasma mot citrat plasma oppbevart i romtemperatur.
- Finne ut om EDTA- og citrat plasma fikk bedre holdbarhet når de ble oppbevart i romtemperatur eller i kjøleskap.

Målet med holdbarhetsstudien var å finne ut hvor lang tid etter prøvetaking EDTA- og citrat plasma kunne brukes til analysing av PT-INR, og om forskjellige temperaturforhold påvirket holdbarhetstid. Holdbarheten til en analyse blir sett på som en preanalytisk feilkilde som kan påvirke resultater. Medisinsk laboratorier mottar vanligvis blodprøver fra eksterne rekvirenter (f.eks. legekontorer). Blodprøver ankommer laboratoriet flere timer etter prøvetaking og oppbevares i romtemperatur før analysing. Blodprøver (citrat plasma) til PT-INR analysen betraktes som holdbare fram til 48 timer i romtemperatur.

Siden hovedproblemstilling i studien vår gikk ut på å vurdere om EDTA plasma kunne brukes til PT-INR analysen, var det aktuelt for oss å vurdere om EDTA plasma har oppfylt kriterier på holdbarhet i likhet med citrat plasma. Ved å sammenligne PT-INR i EDTA- og citrat plasma i romtemperatur kunne vi bedømme om EDTA plasma hadde like god holdbarhet som citrat plasma. På sykehusene blir ofte PT-INR etterrekvirert, slik at prøverør som brukes må være egnet til å gi prøvematerialet lengre holdbarhet.

Lignende studie har blitt utført tidligere (3), og resultatet bekrefter at holdbarhet i citrat plasma er lengre enn i EDTA plasma.

Det har også blitt undersøkt om holdbarheten til citrat plasma kunne blitt påvirket av temperaturen. Resultater fra tidligere studier antydte at oppbevaring av prøver i kjøleskap (2-til 8 grader) gav god holdbarhet(58). Derfor undersøkte vi om EDTA- og citrat plasma fikk god holdbarhet i kjøleskap enn i romtemperatur.

Under er resultatet fra hver holdbarhetsstudie diskutert.



- **6.2.1 Hvordan er holdbarheten til PT-INR analysen i EDTA plasma sammenlignet med citrat plasma oppbevart i romtemperatur?**

Til fremstilling av resultatet i denne delstudien ble det brukt grafer, der vi plottet inn relativ endring for citrat plasma og EDTA plasma mot tid (antall timer). Ved å bruke relativ endring kunne vi estimere størrelsen på avviket. Tillat avvik har i tidligere studier vært bestemt å ikke kunne overstige 10%(59,60,61). Avvik som var større enn 10% ble sett som avgjørende for pasientbehandlingen.

Resultatene fra studien viste at PT- INR analysen i citrat plasma holdt seg mer stabilt enn PT-INR i EDTA-plasma. Relativ endring i EDTA plasma var alltid høyere enn relativ endring for citrat plasma. Dette kan observeres på grafene til pasientprøvene. Man kan se at kurvene for citrat plasma har mindre variasjon enn kurvene for EDTA plasma. Relativ endring i EDTA plasma hadde som følge av det større avvik og større spredning enn relativ endring i citrat plasma. Holdbarheten til citrat plasma har blitt undersøkt før, og funnet er i samsvar med vårt funn. Tidligere studier har vurdert citrat plasma til å være holdbart fram til 48 timer(58,59). I vår studie fant vi ut at citrat plasma kan være holdbart frem til 50 timer ved romtemperatur. For at resultater skulle være klinisk relevant, måtte de ikke overstige 10% avvik utfra retningslinjer som er satt av CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Relativ endring for citrat plasma til pasientprøver i holdbarhetsstudien hadde <10% avvik.

Mens i EDTA plasma hadde pasientprøver nr.2 og 5 en relativ endring som var større enn 10% avvik. Dette indikerte at citrat plasma i romtemperatur var mer holdbart enn EDTA plasma.

Holdbarheten til EDTA plasma varierte i pasientprøver, slik at verdier fra EDTA plasma ikke alltid kunne brukes etter 45- 50 timer. Vi observerte at de fleste PT-INR verdiene fra EDTA plasma begynte å nærme et avvik på 10% etter 25 timer. EDTA plasma fra pasientprøver i holdbarhetsstudien hadde høy relativ endring etter 25 timer, og for pasientprøver 4 og 5 oversteg relativ endring 10% avvik etter 25-30 timer. Siden de fleste verdier indikerte at avvik i EDTA plasma nærmet seg tillatt avvik etter 25 timer, vurderte vi at EDTA plasma kunne kanskje være holdbart fram til 24 timer før avviket muligens ble større enn 10%. Pasientprøver som ble brukt i holdbarhetsstudien var veldig få, slik at resultatene ble ikke omfattende nok til å kunne tolkes som helt sikre.

Det må tas i betraktning at prøver som ble brukt i studien, hadde PT-INR i terapeutisk område og ikke i normalområde. Vi vet ikke om PT-INR i normalområde ville gitt samme endring som PT-INR i terapeutisk område. For å kunne angi med god sikkerhet holdbarhetstiden til en analyse må studien inkludere plasma med PT-INR verdi i både normal og terapeutisk område.

### ***6.2.2 Er det bedre holdbarhet på citrat og EDTA plasma oppbevart i romtemperatur enn i kjøleskap?***

Pasientprøver fra forrige holdbarhetsstudie (kapitel 6.2.1) ble også brukt i denne delen. Etter sentrifugering ble plasma fra pasienter delt i to, slik at plasma kunne oppbevares på to forskjellige måter (romtemperatur og kjøleskap). Ved oppbevaring av plasma i både romtemperatur og kjøleskap, observerte vi at prøvene som var oppbevart i kjøleskap (2-8°C), hadde mye lavere relativ endring enn prøver som ble oppbevart i romtemperatur. Dette var et overraskende resultat for citrat plasma, siden det var forventet at prøvene skulle holdt seg bedre ved romtemperatur enn i kjøleskap. Det er holdbarhet i romtemperatur som oppgis av de fleste laboratorier(1).

Citrat plasma oppbevart i kjøleskap og i romtemperatur hadde avvik som var <10%. Relativ endring i citrat plasma fra pasientprøver 1,2,3, og 4 var lavere når prøvene var oppbevart i kjøleskap enn i romtemperatur. Pasientprøven nr. 5 hadde lavere relativ endring i romtemperatur enn i kjøleskap. Så vi kunne på en måte si at verdier fra citrat plasma oppbevart i kjøleskap hadde litt lavere endring i forhold til citrat plasma oppbevart i romtemperatur. Kurvene for både citrat plasma i kjøleskap og romtemperatur hadde mye variasjoner, slik at det var vanskelig å bestemme hvis stabiliteten til PT-INR var bedre i romtemperatur enn i kjøleskap. Men vi kunne vurdere at holdbarheten til PT-INR analysen kunne hatt mindre avvik når citrat plasma oppbevares i kjøleskap.

For EDTA plasma kom vi til samme resultat, altså EDTA plasma oppbevart i kjøleskap hadde mindre endring enn EDTA plasma oppbevart i romtemperatur. Vi kunne observere at kurvene til EDTA plasma for pasientprøver 1,2 og 4 var litt mer stabil når prøvene var oppbevart i kjøleskap enn i romtemperatur. Kurvene til EDTA

plasma for pasientprøver 3 og 5 hadde drastisk forandring i både romtemperatur og kjøleskap. Vi kunne derfor ikke si med sikkerhet at EDTA plasma oppbevart i kjøleskap hadde bedre stabilitet enn EDTA plasma oppbevart i romtemperatur. Dette må undersøkes nærmere, og med flere pasientprøver før man konkludere.

Pasientprøve nr. 3 og 5 hadde de høyeste PT-INR verdi i studien, slik at det kunne være en av årsaken for at holdbarheten til disse prøvene varierte mye.

Pasientprøvene fra EDTA plasma i romtemperatur hadde et avvik som var større enn 10% over tid. EDTA plasma til pasientprøver nr. 2 og 5 hadde et avvik som var større enn 10% i romtemperatur, men når disse samme prøvene var oppbevart i kjøleskap var avvik stort på bare pasientprøve nr. 5. Pasientprøve nr. 2 oppbevart i kjøleskap hadde ikke avvik som var større enn 10%. En mulig forklaring for denne forskjell kan være at pasientprøve nr. 5 hadde høyere PT-INR verdi enn pasientprøve nr. 2 (vedlegg 5).

Det foretrekkes at prøver til PT-INR analysen oppbevares i romtemperatur, fordi en ved romtemperatur forventer at verdiene blir mer stabile enn i kjøleskap. Dette har blitt undersøkt før (62,63), og det viste seg at PT-INR verdiene i kjøleskap hadde en tendens til å bli ustabile over tid. Dette er fordi faktor VII aktiveres, og medfører til falsk for lave PT-INR svar. I tillegg ville krav om lagring i kjøleskap vanskeliggjøre forsendelse av prøver i posten til laboratoriet.

Det er mange faktorer som kunne ha virket inn på prøvesvarene som vi fikk. Totalt analytisk og biologisk variasjon er nesten på 10% ifølge St.Olavs Hospital sin labhåndbok, og ved lagring over tid blir total analytisk og biologisk variasjon større enn dette (1), siden biologisk variasjon forandrer seg etter hvert.

#### Feilkilder:

Mulige feil som kan ha oppstått mellom analysene, kan være at prøvene ikke ble kjørt til riktig tidspunkt. Dette var da prøver som ble kjørt av kvelds- og nattvakter som muligens ikke analyserte prøvene til riktig tidspunkt pga.tidspress på laboratoriet.

Dette betyr at pasientprøvene kunne ha stått lengre før analysering, og medførte at PT-INR verdien også endret seg mer over tid. Det var flere pasientprøver til holdbarhetsstudien som vi måtte forkaste, siden tidspunkter avvek mye fra

tidsskjemaet. Hovedgrunnen til dette var at det hadde oppstått problemer med STA-R Evolution maskinen, slik at pasientprøvene ikke kunne bli kjørt etter tidsskjemaet.

I studien ble prøvene sentrifugert, og plasma avpipettert til et mikrorør. Dette ble gjort for å ha nok prøvemateriale til å analysere PT-INR hver femte time i et tidsintervall på 50 timer.

Siden vi brukte avpipettert plasma til studien, kunne vi ikke si noe om resultatene ville ha blitt annerledes hvis plasma ble værende i prøvetakingsrøret. Blodprøver til PT-INR fra eksterne rekvirenter sendes som fullblod, derfor har tidligere studier fokusert på holdbarhet i fullblod. Det er flere artikler som har foreslått at holdbarheten til PT-INR var bedre når plasma ble lagret i prøvetakingsrøret, og ikke avpipettert til et sekundært rør. Resultater som de presenterte viste at forandringen til prøvene oppbevart i romtemperatur i originalglasset var mindre enn ved andre oppbevaringsmåter(62). Forskjellige oppbevaringsmåter kunne gi mindre konsistent funn. PT-INR verdiene i vår studie gikk opp og ned over tid og hadde ikke et fast endringsmønster.

### *6.3 Ny kalibreringsmetode*

Formålet med å lage en ny kalibreringskurve som var beregnet for EDTA plasma, var for å få PT-INR verdier som var mer samsvarende med PT-INR verdier fra citrat plasma. Før utføring av studien visste vi at PT-INR verdier i EDTA plasma som oftest var lavere enn PT-INR verdier i citrat plasma. Dette har blitt beskrevet i mange forskjellige artikler fra tidligere studier. Flere studier har oppgitt forskjellige måter å løse dette problemet på, men å lage en ny kalibreringskurve for EDTA plasma har aldri blitt gjort før. Det var derimot blitt foreslått i noen få artikler som et alternativt for å minimalisere avviket på(64).

Kalibrering av PT-INR analyse utføres ved hjelp av kalibratorer er beregnet for citrat plasma. Kalibreringskurven som lages gir ikke nødvendigvis samme resultater når EDTA plasma brukes, siden kalibreringskurven egner seg bedre til analysing av PT-INR i citrat plasma. Grunnen til dette kan være at kalibrator som brukes har samme fortynningsforhold som citrat plasma, slik at ved bruk av EDTA plasma blir det avvik i resultatene.

For å kunne bruke EDTA plasma til analysering av PT-INR vil det være nødvendig å bruke en kalibrator som har samme fortynningsforhold som EDTA plasma(64).

Dermed ble det foreslått av fagveilederen vår at vi brukte EDTA plasma fra pasientprøver med kjente PT-INR verdier som kalibrator, for å lage en kalibreringskurve som var egnet til analysering av PT-INR i EDTA plasma.

Resultatene fra den nye kalibreringskurven og referanse kalibreringskurven ble presentert med regresjonslinje, differanseplott og Passing Bablok. Vi analyserte totalt 30 pasientprøver. Prøvene ble analysert på følgende måte:

1. Testmetode - EDTA plasma ble analysert med den ny kalibreringskurven og sammenlignet med citrat plasma analysert i referanse kalibreringskurven.
2. Referansemetode - EDTA- og citrat plasma fra de samme pasientprøvene ble analysert med referanse kalibreringskurven.

Vi brukte resultatene vi fikk til å vurdere om avvik i EDTA plasma ble mindre når den nye kalibreringskurven var brukt. Ved å bruke lineær regresjon kunne vi finne ut om verdiene fra testmetoden og referansemetoden hadde en god lineær sammenheng. Ligningen til regresjonslinjen for referansemetoden (figur 5.3.1a) var  $y=0,8448x + 0,1448$ , og korrelasjonskoeffisienten ble 0,9984.

På samme måte ble det laget regresjonslinje for testmetoden (figur 5.3.2a). Ligningen for regresjonslinjen ble beregnet til å være  $y= 1,0493x - 0,0205$ , og korrelasjonskoeffisienten for testmetoden var 0,998. Korrelasjonskoeffesienten for både testmetoden og referansemetoden så ut til å være nesten like og tilnærmet 1. Dette tydet på at punktene var godt tilpasset den rette linje i begge metodene. Stigningstallet og skjæringspunktet til testmetoden var mye nærmere 1 og 0 enn stigningstallet og skjæringspunktet til referansemetoden. Det samme ble også observert i Passing Bablok regresjonsplott.

For å se hvis det var avvik mellom metodene brukte vi Passing Bablok med 95% konfidensintervall.

Tabell 3: Viser sammendrag av resultater fra Passing Bablok regresjonsplott.

Sammenligning av resultater med Passing Bablok			Konfidensintervall		Systematisk Avvik	Proporsjonal avvik
			Nedre grense	Øvre grense		
PT- INR analysen med referansemetoden	Skjæringspunkt	0,133	0,105	0,167	Ja	Ja
	Stigningstall	0,847	0,836	0,858		
PT-INR analysen med testmetoden	Skjæringspunkt	-0,029	-0,072	0,017	Nei	Ja
	Stigningstall	1,053	1,035	1,073		

Passing Bablok regresjonsplott for referansemetoden (figur 5.3.1b) hadde både systematisk og proporsjonalt avvik. Siden 1 ikke var innenfor grenseverdiene for stigningstallet, og 0 var heller ikke innenfor grenseverdiene for skjæringspunktet. Systematisk avvik indikerte at avvik var tilstedet i alle prøvene. Testmetoden (figur 5.3.2b) hadde derimot proporsjonalt avvik, men ikke systematisk avvik. 0 var innenfor grenseverdiene for skjæringspunktet, mens 1 var ikke innenfor grenseverdiene for stigningstallet. Proporsjonalt avvik indikerte at avvik som forekom var avhengig av mengden av endring i en bestemt variabel(65). I vårt tilfellet var det endring/økning av x verdier førte til endring i y-verdier. Når PT-INR verdiene økte var det også større endring mellom metodene. Dette kunne observeres i grafen, ved at ideell linjen  $y=x$  avvek mer fra regresjonslinjen når PT-INR verdier økte. Proporsjonalt avvik som var tilstede i begge metodene bekrefter at avvik mellom metodene økte med økende PT-INR.

Referansemetoden hadde systematisk avvik, mens testmetoden hadde ikke systematisk avvik. Systematisk avvik kunne ha oppstått i referansemetoden pga. feil fortynningsforholdet i EDTA plasma, slik at resultatene som vi fikk avviker fra citrat plasma. Men siden vi brukte en ny kalibreringskurve som har samme fortynningsforholdet som EDTA plasma var det ikke systematisk avvik i testmetoden.

Differanseplott for referansemetoden (figur 5.3.1c) viste at de fleste prøvene (unntatt to prøver) var innenfor 2SD. De to prøvene som var uteliggere var over den øvre grensen pga. høy PT-INR verdi. Pasientprøvene nr. 58 og 38 (vedlegg 9) hadde PT-INR verdi som var  $>5,5$  i citrat plasma, slik at differansen mellom metodene ble også stor. Siden differansen mellom metodene økte med økende PT-INR verdier, kunne

man dermed observere at punktene lå tett i forhold til hverandre og var ujevnt fordelt over null linjen. Bias for referansemetoden var 30,2%, som var indikasjon på et veldig høyt systematisk avvik.

Differanseplott for testmetoden (figur 5.3.2c) viste at alle verdiene lå spredt og jevnt fordelt over og under bias. Det ble ikke observert at differansen økte med gjennomsnittet til PT-INR verdier, slik at alle verdiene lå innenfor 2SD. Verdiene fra testmetoden var litt høyere i forhold til verdiene fra referansemetoden, dette førte til differansen mellom metodene alltid ble negativ. Beregnet bias til PT-INR i differanseplott for testmetoden var -12,1%. Bias til testmetoden var mye lavere enn beregnet bias for referansemetoden (30,2%). Systematisk avvik fra testmetoden var dermed mye lavere i motsetning til systematisk avvik fra referansemetoden.

På vedlegg 9 var pasientprøven nr. 40 streket over. Dette var en pasientprøve med PT-INR på 9,45 i citrat plasma. Årsaken til at denne prøven ikke ble tatt med i resultatet (kap. 5.3), var at den lå som uteligger på grunn av den høye PT-INR verdien. Vi hadde bestemt at områder for PT-INR analysen i den nye kalibreringskurven skulle være mellom 1,1 - 6. Denne verdien var utenfor grensen (PT-INR <6,0), og ble ikke tatt med i resultatet.

Mesteparten av pasientprøver som vi fikk testet med den nye kalibreringskurven hadde PT-INR i det terapeutisk område. For å sjekke om kalibreringskurven fungerte for pasientprøver i normalområde testet vi også to prøver med PT-INR i normalområde. Differansen mellom metodene var lavere for pasientprøver i normalområde enn i terapeutisk område. Differansen fra pasientprøver i normalområde utgjorde ikke klinisk forskjell, mens differansen fra pasientprøver i terapeutisk område kunne utgjøre stor klinisk forskjell.

Ved å sammenligne verdiene fra testmetoden og referansemetoden var avvik mindre når den nye kalibreringskurven ble brukt til analysing av PT-INR i EDTA plasma. Systematisk avvik i testmetoden var betydelig mindre, enn systematisk avvik i referansemetoden. Dette bekreftet at testmetoden kunne være mer riktig enn referansemetoden. Noen ulemper som ble observert med testmetoden var at økende PT-INR verdi førte til større differanse, slik at det var proporsjonalt avvik med metoden.

## 7.0 Konklusjon

Resultatet fra sammenligningsstudien viste at PT-INR verdier i EDTA plasma lå alltid noe lavere enn i citrat plasma. Differansen mellom EDTA- og citrat plasma var lav når PT-INR verdien var i normalområde, mens differansen var høy når PT-INR verdien lå i terapeutisk område. Differansen for PT-INR i normalområde var ikke stor nok til å gi relevant klinisk forskjell. Av den grunn konkluderte vi med at EDTA plasma kunne brukes til PT-INR analysen, så lenge PT-INR verdien man fikk var i normalområde(<1,2).

PT-INR verdier fra terapeutisk område hadde differanse som hadde stor medisinsk betydning for pasienter, derfor anbefales det ikke å bruke EDTA plasma til analysering av PT-INR i terapeutisk område. PT-INR fra EDTA plasma kunne brukes i nødstilfeller for å angi hvilket område pasienten har PT-INR verdi. Dersom EDTA plasma brukes må rekvirenten varsles om dette på forhånd. Pasientprøven bør tas på nytt i citrat rør så snart det er mulig, slik at rekvirenten får et mer nøyaktig resultat. Dette er viktig med tanke på dosering av blodfortynnende medisiner.

I holdbarhetsstudiene kom vi fram til at PT-INR i citrat plasma var holdbart frem til 50 timer i romtemperatur og kjøleskap. Holdbarheten til citrat plasma kan være bedre når det ble oppbevart i kjøleskap enn i romtemperatur. Dette er noe som må undersøkes mer og med flere prøver, før man konkluderer med sikkerhet. Men selv om citrat plasma holdt seg bedre over tid, er det selvfølgelig best om PT-INR analyseres så fort som mulig etter prøvetaking.

EDTA plasma var holdbart frem til 24 timer i romtemperatur og kjøleskap utfra resultatet. Etter 24 timer var avvik klinisk signifikant. EDTA plasma som var oppbevart i kjøleskap var litt mer stabil og hadde mindre avvik enn EDTA plasma oppbevart i romtemperatur. Det tydet på at holdbarhet til EDTA plasma ble bedre når det var oppbevart i kjøleskap. Siden verdiene fra EDTA plasma avviker fra citrat plasma fra før, vil utsettelse av PT-INR analysering i EDTA plasma føre til enda større avvik. Derfor bør PT-INR i EDTA plasma analyseres så raskt som mulig.



Ved bruk av den nye kalibreringskurven til analysering av PT-INR, var verdiene i EDTA plasma alltid noe høyere enn i citrat plasma. Men differansen mellom EDTA- og citrat plasma var lavere i testmetoden enn i referansemetoden. Vi kom frem til at EDTA spesifikk kalibreringskurven var bedre å bruke, når EDTA plasma brukes til analysering av PT-INR. Siden det gav en verdi som var mye nærmere PT-INR verdien i citrat plasma.

Vi måtte bruke EDTA plasma til pasientprøver til kalibrering, siden det ikke finnes kommersielle kalibratorer for PT-INR i EDTA plasma. Men resultatene fra den nye kalibreringskurven likevel var god korrelert mot den tradisjonelle kalibreringskurven.

## 8.0 Referanser

1. St.Olavs Hospital Labhåndbok. *PT-INR i plasma*. [Hentet 22.04.2015] .  
Tilgjengelig fra:  
<[http://data.stolav.no/ftp/stolav/labhandboker/Medisinsk\\_biokjemi/ask/TestFinder.html](http://data.stolav.no/ftp/stolav/labhandboker/Medisinsk_biokjemi/ask/TestFinder.html)>.
2. Bachelor oppgave utført av bioingeniørstudener ved Høgskolen i Ålesund 25,05.2012. *Sammenligning av PT-INR i citrat-plasma mot EDTA-plasma, og holdbarhetsstudie av PT-INR i EDTA-plasma*. [Hentet 25.04.2015].
3. Ida Christine Botnevik, Cesilie Dahll, Malene Viken Karstad og Erik Thorsheim, Bachelor oppgave *Metodeverifisering av PT-INR* vår 2011 ved Høgskolen i Bergen.[Hentet 26.04.2016]
4. Finn Wisløff, Tobias Gedde-Dahl, Geir E.Tjønnfjord og Harald Holte. Blodsykdommer: Kapittel 18 - *Hemostase* (side 304-312) skrevet av Pål Andre Holme. 7. utgave. Oslo: Gyldendal akademisk; 2012.
5. Oddvar Stokke (RED.). Klinisk biokjemi og fysiologi: Kapittel 3 - *Hemostasemekanisme* (side 23-27) skrevet av Frank Brosstad,[elektronisk bok] 2. utgave. Oslo: Glyndendal akademisk; 2000. . [Hentet 2016-04-01].Tilgjengelig fra:  
<<http://www.nb.no/nbsok/nb/d2c4153584536e865ce94e247d3708a4?lang=no#25>>.
6. Stein A. Evensen, Lorentz Brinch Geir E.Tjønnfjord og Harald Holte (red). Blodsykdommer: Kapittel 18 - *Hemostase* (side 293-294) skrevet av Pål Andre Holme . 6. utgave.Oslo: Gyldendal akademisk; 2008.
7. Bernadette F. Rodak, George A. Fritsma og Elaine M. Keohane. Hematology: Clinical principles and applications. Chapter 40- *Normal Hemostasis and coagulation* (side 626 - 643) skrevet av Margaret G. Fritsma and George A. Fritsma. Chapter 46- *Monitoring Antithrombotic Therapies* (side766-767) skrevet av George A. Fritsma.Fourth Edition. USA St.Louis M. . Elsevier Saunders;2012.

8. Cornell University College of Veterinary Medicine ECLINPATH (2013). *Primary hemostasis*. [Hentet 2016-04-02]. Tilgjengelig fra: <<http://www.eclinpath.com/hemostasis/physiology/primary-hemostasis/>>.
  
9. Lawrence LK Leung (2015). *Overview of hemostasis*. [Hentet 2016-04-06]. Tilgjengelig fra: <<http://www.uptodate.com/contents/overview-of-hemostasis>>.
  
10. Barbarea A. Brown. *Hematology Principles and Procedures: Chapter 5- COAGULATION* (side 203-205) . Philadelphia: Lea & Febiger; 1993.
  
11. Bernadette F. Rodak, George A. Fritsma og Kathryn Doig. *Hematology: Clinical principles and applications*. Kapittel 40 - *Normal Hemostasis and coagulation*. (side 571-584), skrevet av Margaret G. Fritsma and George A. Fritsma. Third Edition. USA St. Louis M.: Elsevier Saunders; 2007.
  
12. Barbarea A. Brown. *Hematology Principles and Procedures*, Chapter 5 *COAGULATION*, (side 205). Sixth Edition. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993.
  
13. Michael W. King, Ph.D. (1996-2016). *Introduction to blood coagulation, The extrinsic clotting cascade*. [Hentet 2016-03-29]. Tilgjengelig fra: <<http://themedicalbiochemistrypage.org/blood-coagulation.php>>.
  
14. Carl A. Burtis David E. Bruns og Edward R. Ashwood. *Fundamental of clinical chemistry: Chapter 27- Vitamines and Trace Elemenets*. (side 482) skrevet av Alan Shenkin and Malcolm Baines. SIXTH EDITION. St. Louis, Missouri: Saunderselsevier; 2008
  
15. Vitusapoteket , *Vitamin K*. [Hentet 2016-04-27]. Tilgjengelig fra: <<https://www.vitusapotek.no/vitamin-k/a/A5159>>.
  
16. Utarbeidet ved enheten: Ahus/Divisjon for diagnostikk og teknologi/Tverrfaglig laboratoriemedisin og medisinsk biokjemi (2016). *INR*. [Hentet 2016-04-05]. Tilgjengelig fra: <[http://old.ahus.no/eqs/labhbok/docs/doc\\_1479/index.html](http://old.ahus.no/eqs/labhbok/docs/doc_1479/index.html)>.

17. Willy Sæter. *PT INR Manuell bestemmelse* labhefte (2007) NTNU i Ålesund.
18. NEL Nevrologi (2015). *PT- INR*. [Hentet 2016-04-29]. Tilgjengelig fra: <http://nevro.legehandboka.no/prover-og-svar/klinisk-kjemi/blodprover/pt-inr-3014.html>.
19. NEL Nevrologi(2011). *Marevan behandling pasientinformasjon*. [Hentet 2016-04-29]. Tilgjengelig fra: <http://nevro.legehandboka.no/medikamenter/marevan-pasientinformasjon-38081.html>.
20. May Lise Ervik, Bjørnar Bolsø Thorsen, Ragna Aaram Ulset, Bjørn Ødegaard. Dokument 13780, "*PT-INR på STA-R Evolution*". Versjon. 2.3 - EQS. [Hentet 2016-04-11]. Nedlastet (vedlegg 1) fra <http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=17780&UnitID=1324>.
21. AACC (2015). *Protrombin Time and International Normalized Ratio*. [Hentet 2016-03-29]. Tilgjengelig fra: <https://labtestsonline.org/understanding/analytes/pt/tab/test>.
22. Tor Arne Hagve og Jens Petter Berg. *Klinisk biokjemi og fysiologi. Kapittel 12- Trombosemekanismene Antikoagulasjon med warfarin («Marevan»)*(side 119-127) skrevet av Frank Brosstad. 4. utgave. Oslo: Gyldendal akademisk; 2011.
23. Av Laboratoriekonsulentene Karina Hill Bjerkestrand og Guri Andersen Gulstad. *Hva er PT-INR, og hva er forskjellen på metodene som finnes?*. [Hentet 2016-05-26]. Tilgjengelig fra: [http://www.noklus.no/Portals/2/Nyheter/Helsesekreteren%20nr%205-2015\\_lab.pdf/](http://www.noklus.no/Portals/2/Nyheter/Helsesekreteren%20nr%205-2015_lab.pdf/).
24. MediRox AB. *PT Owren*. [Hentet 2016-05-26]. Tilgjengelig fra : [http://ilsdk.dk/assets/medirox\\_pt\\_owrens\\_en.pdf](http://ilsdk.dk/assets/medirox_pt_owrens_en.pdf).
25. Unilabs laboratotiemedisin (2016). *PT- INR, B/P*. [Hentet 2016-05-28]. Tilgjengelig fra: <http://labhandbok.no/labhaandbok/pt-inr/>.

26. Tc technoclone( 2015).*Tromboplastin time*. [Hentet 2016-05-30].Tilgjengelig fra :  
<<http://www.technoclone.com/products/coagulation/global-tests/thromboplastin-time>>.
27. Bergman Diagnostika.*STA-R Evolution, helautomatisert selektivt koagulasjonsinstrument*. [Hentet 2016-05-03]. Tilgjengelig fra: < <http://www.bergmandiag.no/produktomrade/kjem-lab/koagulasjon/sta-evolution>>.
28. Helse Møre og Romsdal. Forbredelse til praksis ved fagområdet koagulasjon,Labroatorium for medisinsk biokjemi. *Kort innføring i STA-R Evolution*. [Hentet 2016-05-03].Nedlastet fra fronter; lagt ut av faglærer i emnet Medisinsk laboratorie teknologi ekstern praksis (fagkode BI301205) ved NTNU i Ålesund.
29. Shanonh M. Bates og Jeffrey I. Weitz (2005). *Coagulation Assays*. [Hentet 2016-04-11]. Tilgjengelig fra:<<http://circ.ahajournals.org/content/112/4/e53.full>>.
30. Bjørnar Bolsø Thorsen, Ragna Aaram Ulset, Bjørn Ødegaard. Dokument 37735. *STA-R Evolution. Opstart og kvalitetskontroller* . Versjon. 1.3 - EQS. [Hentet 2016-04-11]. Nedlastet (vedlegg12) fra:<<http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=17735&UnitID=1324>>.
31. Heidi Steenslad. Automasjon innen klinisk kjemi. kapitell *Kvalitetskontroll* (side 109-111). Oslo: TANO; 1992.
32. SKUP Scandinavian evaluation of laboratory equipment for primary health care. *A system for measurement of prothrombin time [P-PT(INR)] manufactured by Roche Diagnostics*. [Hentet 2016-04-22]. Tilgjengelig fra:<[http://www.skup.dk/files/8/skup\\_2007\\_55\\_rapport\\_coaguchek\\_xs\\_pt.pdf](http://www.skup.dk/files/8/skup_2007_55_rapport_coaguchek_xs_pt.pdf)>.
33. Carl A.Burtis & David E. Bruns. (2013).Tietz Fundamentals of Clinical CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS,.Chapter 2-*Selection and Analytical Evaluation of Methods- With Statistical Techniques, Calibration* (side 11-12). Seventh Edition. USA St.Louis M.: Elsevier Saunders;2015.

34. Astrid Mette Husøy. Blodprøvetaking i praksis. kapittel 7 - 7.4 *Rør med tilsetning av antikoagulasjonsmiddel*(side 64-66) skrevet av Astrid Mette Husøy.2.utgave. Oslo: Cappelen damm AS;2012.
35. Greiner Bio- One International. *9NC Coagulation Sodium Citrate 3,2%*. [Hentet 2016-04-29]. Tilgjengelig fra:<  
[https://shop.gbo.com/en/row/articles/catalogue/articles/0010\\_0010\\_0010\\_0010/](https://shop.gbo.com/en/row/articles/catalogue/articles/0010_0010_0010_0010/)>.
36. Bioingjørutdanning. Blodprøvetaking UTSTYR OG TEKNIKKER.Kapittel 6- *Utstyr til prøvetaking*.(side 40). Tilgjengelig ved NTNU i Ålesund
37. W.G.Guder, S.Narayanan, H.Wisser, B.Zawta. Samples: from the patient to the laboratory. *Blood cells are sensitive* (side54). 2.utgave. Tyskland: GIT VERLAG GMBH;2001.
38. Greiner Bio- One International. *EDTA*. [Hentet 2016-04-29]. [Tilgjengelig fra: <https://shop.gbo.com/en/row/articles/catalogue/articles/0010\\_0010\\_0040/>](https://shop.gbo.com/en/row/articles/catalogue/articles/0010_0010_0040/).
39. Greiner bio-one. *Vacurette Specimen Collection System*. [Hentet 2016-04-21]. Tilgjengelig fra:  
<[https://www.gbo.com/fileadmin/user\\_upload/Downloads/Brochures/Brochures\\_Preanalyti cs/English/980044\\_VACUETTESystembroschuere\\_rev02\\_0614\\_e\\_lowres.pdf](https://www.gbo.com/fileadmin/user_upload/Downloads/Brochures/Brochures_Preanalyti cs/English/980044_VACUETTESystembroschuere_rev02_0614_e_lowres.pdf)>.
40. Bjørnar Bolsø Thorsen, Ragna Aaram Ulset. Dokument 17734. *STA-R Evolution. Analysering*. Versjon. 1.2 - EQS. [Hentet 2016-04-11]. Nedlastet (vedlegg13) fra:<<http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=17734&UnitID=1324>>.
41. Labmanuell og prosedyrer til koagulasjonsanalyser. Manuell er tilgjengelig ved Medisinsk biokjemi avdeling, seksjon Kristiansund.(Vedlegg 10)
42. Diagnostica Stago.(2007).*Sta-R evolution, Reference Manual* (side 2-10).Manuell er tilgjengelig ved Medisinsk biokjemi avdeling, seksjon Kristiansund.

43. Morten Helbæk. Statistikk for kjemikere. Kapittel 5-*Lineær regresjon og korrelasjon*. (side 145-159). 2.utgave. Trondheim:Tapir Akademisk forlag;2011.
44. Steven Nickolas (2015). *What does it mean if the correlation coefficient is positive,negative or zero?*. [Hentet.2016-05-01]. Tilgjengelig fra:<<http://www.investopedia.com/ask/answers/032515/what-does-it-mean-if-correlation-coefficient-positive-negative-or-zero.asp>>.
45. Davide Giavarina (2015). Understanding Bland Altman analysis.[Hentet 2016-05-02]. Tilgjengelig fra: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4470095/>>.
46. Sandra K.Hanneman(2008). *Design, Analysis and Interpretation of Method-Comparison Studies*. [Hentet 2016-05-03]. Tilgjengelig fra:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2944826/>>.
47. GraphPad Software. *Interpreting results: Bland Altman*. [Hentet 2016-05-03]. Tilgjengelig fra:<[http://www.graphpad.com/guides/prism/6/statistics/index.htm?bland-altman\\_results.htm](http://www.graphpad.com/guides/prism/6/statistics/index.htm?bland-altman_results.htm)>.
48. Richard Jones og Brian Payne.Clinical Investigations and Statistics in Laboratory Medicine Chapter 2 - *Analytical methods: control and comparison* (side 57 - 59). London: A C B Venture publ;1997.
49. Ukjent forfatter. *Passing-Bablok metode (regresjon)*. [Hentet 2016-05-07].Tilgjengelig fra:<[https://medtekipedia.wikispaces.com/Passing-Bablok+metode+\(regresjon\)](https://medtekipedia.wikispaces.com/Passing-Bablok+metode+(regresjon))>.
50. XLSTAT. 30 Day free trial.[Hentet 2016-04-27].Tilgjengelig fra: <<https://www.xlstat.com/en/download>>.
51. XLSTAT.*Run Passing Bablok regression to compare methods*. [Hentet 2016-05-03 ]. Tilgjengelig fra:<<https://help.xlstat.com/customer/en/portal/articles/2062362>>.

52. MedCalc. *Passing-Bablok regression*. [Hentet 2016-05-10 ]. Tilgjengelig fra:<[https://www.medcalc.org/manual/passing-bablok\\_regression.php](https://www.medcalc.org/manual/passing-bablok_regression.php)>.
53. Anders Kallner. Laboratory Statistics: Handbook of Formulas and Terms. *Passing-Bablok Regression* (side 82-83). [Elektronisk bok] first edition. USA:Elsevier Inc;2014. [Hentet 2016-05-03]. Tilgjengelig fra:<[https://books.google.no/books?id=TUETAAAQBAJ&pg=PA82&lpg=PA82&dq=passing+bablok+laboratory+statistics&source=bl&ots=c5DgGyxGZG&sig=I54FjrHGJEJWIpvowK-IRFONI0w&hl=no&sa=X&ved=0ahUKEwiHueLUnr7MAhVGQCYKHW3\\_AJgQ6AEIKzAF#v=onepage&q=passing%20bablok%20laboratory%20statistics&f=false](https://books.google.no/books?id=TUETAAAQBAJ&pg=PA82&lpg=PA82&dq=passing+bablok+laboratory+statistics&source=bl&ots=c5DgGyxGZG&sig=I54FjrHGJEJWIpvowK-IRFONI0w&hl=no&sa=X&ved=0ahUKEwiHueLUnr7MAhVGQCYKHW3_AJgQ6AEIKzAF#v=onepage&q=passing%20bablok%20laboratory%20statistics&f=false)>.
54. Skolediskusjon. *Prosentvis økning*. [Hentet 2016-05-11]. Tilgjengelig fra: <<http://skolediskusjon.no/kompendier/matematikk/regelbok-matte/prosentregning/prosentvis-oekning>>.
55. Mari Myren Skårvold, Thea Berg, Mari Meslo Lien og Eli kjøbli (2013). *Serumproteiners holdbarhet ved romtemperatur*. [Hentet 2016-05-13]. Tilgjengelig fra: <<http://www.bioingenioren.no/contentassets/318dad237ac437fad0680bb0cfbbf17/serumproteiner-holdbarhet-ved-romtemperatur.pdf>>.
56. NIST/SEMATECH (2013). Kapittel -7.1.4 *What are confidence intervals?*. [Elektronisk bok]. [Hentet 2016-05-18]. Tilgjengelig fra: <<http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/prc/section1/prc14.htm>>.
57. Store norske leksikon; Jan Bjørnstad(2009).*Konfidensintervall*. [Hentet 2016-05-18]. Tilgjengelig fra: <<https://snl.no/konfidensintervall>>.
58. L.V. Rao, A.O. Okorodudu, J.R. Petersen og M.T. Elghetany. *Stability og prothrombin time and activated partial thromboplastin time tests under different storage conditions*. [ Hentet 2016-04-29]. Tilgjengelig fra:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898100002886>>.



59. Manuel Zürcher, Irmela Sulzer, Gabriela Barizzi, Bernhard Lämmle, Lorenzo Alberion (2008). *Stability of coagulation assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature*. [Hentet 2016-04-29]. Tilgjengelig fra: <[http://williams.medicine.wisc.edu/coag\\_sample\\_stability.pdf](http://williams.medicine.wisc.edu/coag_sample_stability.pdf)>.
60. Malcolm L. Brigden, Christine Graydon, Barbara McLeod og Mary Lesperance (1997). *Prothrombin Time Determination: The Lack of Need for a Discard Tube and 24-Hour Stability*. [Hentet 2016-04-29]. Tilgjengelig fra: <<http://ajcp.oxfordjournals.org/content/ajcpath/108/4/422.full.pdf>>.
61. Johanna H.H. van Geest-Daalderop, André B. Mulder, Leandra J.M. Boonman-de Winter, Martha M.C.L. Hoekstra, Anton M.H.P. van den Besselaar. *Preanalytical variables and off-site blood collection: influences on the results of the prothrombin time/ International Normalized Ratio test and implications for monitoring of oral anticoagulant therapy*. [Hentet 2016-04-29]. Tilgjengelig fra: <<http://dare.uva.nl/document/2/53033>>.
62. Paul Froom, Dora Abramova, Martha Bal-El, Mira Barak. *Reliability of delayed prothrombin time INR determinations in a central laboratory using off-site blood sampling*. [Hentet 2016-04-29]. Tilgjengelig fra: <[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2257.2001.00380.x/epdf?r3\\_referer=wol&tracking\\_action=preview\\_click&show\\_checkout=1&purchase\\_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase\\_site\\_license=LICENSE\\_DENIED](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2257.2001.00380.x/epdf?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase_site_license=LICENSE_DENIED)>.
63. Wolfgang Hell, Regina Grunewald, Martin Amend og Michael Heins. *Influence of Time and Temperature on Coagulation Analytes in Stored Plasma*. [Hentet 2016-04-29] Tilgjengelig fra: <[http://www.degruyter.com/dg/viewarticle.fullcontentlink:pdfeventlink/\\$002fj\\$002fcclm.1998.36.issue-7\\$002fcclm.1998.077\\$002fcclm.1998.077.pdf/cclm.1998.077.pdf?t:ac=j\\$002fcclm.1998.36.issue-7\\$002fcclm.1998.077\\$002fcclm.1998.077.xml](http://www.degruyter.com/dg/viewarticle.fullcontentlink:pdfeventlink/$002fj$002fcclm.1998.36.issue-7$002fcclm.1998.077$002fcclm.1998.077.pdf/cclm.1998.077.pdf?t:ac=j$002fcclm.1998.36.issue-7$002fcclm.1998.077$002fcclm.1998.077.xml)>.
64. Juha Horsti. *Measurement of Prothrombin Time in EDTA Plasma with Combined Thromboplastin Reagent*. [Hentet 2016-04-29]. Tilgjengelig fra: <<http://www.clinchem.org/content/47/9/1731.full.pdf>>.

65. Ukjent forfatter. *Forskjellen mellom Constant & Proporsjonal feil*. [Hentet 2016-05-20]. Tilgjengelig fra:<<http://no.bestgames.win/Science---Nature/vitenskap/1004024177.html>>

## 9.0 Vedlegg

### Vedlegg 1

#### Oversikt over reagenser og kontroll til analysering av PT-INR i STA-R Evolution:

Position i STA-R	Navn	Analyser	Oppløses	Holdbarhet
R0	Scandipath	Kontroll til INR og APTT	Løses ved å tilsette 1,0 ml dest. vann. Må sto i rom temperatur i minst 30 min. Blandes godt før den settes i maskinen	48 t (eller egentlig 8)
R0	Scandinorm	Kontroll til INR, fibrinogen og APTT	Løses ved å tilsette 1,0 ml dest. vann. Må sto i rom temperatur i minst 30 min. Blandes godt før den settes i maskinen	48 t (eller egentlig 8)
R0	OWREN-KOLLER	Fortynningsbuffer fibrinogen og PT-INR	Ferdig oppløst	72 timer
R0,R1, R2	STA-DESORB U	Skylløsning	Ferdig oppløst	120 timer
R2	STA-SPA +	Reagens til analyse av INR	Består av rekonstitueringsvæsker og frysetørket SPA+. Rekonstitueringsvæske helles over i det frysetørket glass med SPA+. Reagens står i rom temp i 30 min, og blandes godt før den settes inn i maskinen. Legg en blandemagnet i flaske, og sett inn en maxireducer.	72 timer i instrument

## Vedlegg 2

Eks. på tidsskjema som viser når en prøve må analyseres for PT-INR i citrat-og EDTA-plasma ved romtemperatur og kjøleskap

Dato og klokkeslett	Romtemperatur		Kjøleskap	
	PT-INR i citrat-plasma	PT-INR i EDTA-plasma	PT-INR i citrat-plasma	PT-INR i EDTA-plasma
kl.14.00 Onsdag				
kl. 19.00 Onsdag				
kl. 00.00 Tordag				
kl.05.00 Torsdag				
kl.10.00 Torsdag				
kl. 15.00 Torsdag				
kl. 20.00 Torsdag				
kl 01.00 Fredag				
kl 06.00 Fredag				
kl. 11.00 Fredag				

### Vedlegg 3

#### Sammenligningsstudie

Tabell viser sammendrag av grenseverdier for stigningstall og skjæringspunkt fra Passing Bablok regresjonsplott.

Sammenligning av resultater med Passing Bablok			Konfidensintervall	
			Nedre grense (95%)	Øvre grense (95%)
PT- INR i normalområde	Skjæringspunkt	-0,045	-0,169	0,000
	Stigningstall	1,000	0,958	1,125
PT- INR i terapeutisk område	Skjæringspunkt	0,158	0,097	0,183
	Stigningstall	0,846	0,833	0,871
PT-INR i normal og terapeutisk område	Skjæringspunkt	0,085	0,064	0,103
	Stigningstall	0,875	0,861	0,889

## Vedlegg 4

### Sammenligningsstudie

Tabellen viser målte PT-INR verdier i normal og terapeutisk område.

Pasient nr.	Citrat	EDTA	differanse	middelverdi
1	0,98	0,96	0,02	0,97
2	1,01	0,97	0,04	0,99
3	1,2	1,15	0,05	1,175
4	0,98	0,96	0,02	0,97
5	1,06	1	0,06	1,03
6	1,06	1,03	0,03	1,045
7	1,01	0,96	0,05	0,985
8	0,98	0,93	0,05	0,955
9	0,96	0,92	0,04	0,94
10	0,92	0,87	0,05	0,895
11	1,27	1,26	0,01	1,265
12	0,95	0,9	0,05	0,925
13	0,99	0,95	0,04	0,97
14	0,96	0,91	0,05	0,935
15	1,1	1,04	0,06	1,07
16	1,03	1	0,03	1,015
17	0,97	0,94	0,03	0,955
18	0,99	0,94	0,05	0,965
19	0,98	0,93	0,05	0,955
20	0,92	0,89	0,03	0,905
21	1,19	1,17	0,02	1,18
22	1,08	1,03	0,05	1,055
23	3,03	2,78	0,25	2,905
24	1,83	1,75	0,08	1,79
25	1,53	1,43	0,1	1,48
26	2,05	1,92	0,13	1,985
27	1,9	1,79	0,11	1,845
28	1,84	1,74	0,1	1,79
29	2,53	2,28	0,25	2,405
30	2,07	1,97	0,1	2,02
31	2,58	2,31	0,27	2,445
32	2,94	2,67	0,27	2,805
33	2,2	2,04	0,16	2,12
34	2,74	2,34	0,4	2,54
35	1,94	1,8	0,14	1,87
36	3,42	3,03	0,39	3,225
37	2,7	2,47	0,23	2,585
38	5,95	5,21	0,74	5,58
39	3,5	3,13	0,37	3,315
40	9,45	8,42	1,03	8,935
41	3,16	2,8	0,36	2,98
42	1,79	1,64	0,15	1,715
43	4,41	3,85	0,56	4,13
44	2,46	2,25	0,21	2,355
45	3,83	3,36	0,47	3,595
46	2,9	2,58	0,32	2,74
47	1,54	1,45	0,09	1,495
48	1,59	1,47	0,12	1,53
49	1,48	1,38	0,1	1,43

■ Prøver i normalområder

■ Prøver i terapeutisk område

## Vedlegg 5

### Holdbarhetsstudie:

#### Pasient nr. 29 ( oppgitt som pasient 1 under holdbarhetsstudie)

timer	Citrat rom	Relativ økning	Citrat kald	Relativ økning	EDTA rom	Relativ økning	EDTA kald	Relativ økning
0	2,5	0	2,53	0	2,27	0	2,28	0
5	2,43	-2,8	2,55	0,790513834	2,2	-3,083700441	2,29	0,438596491
10	2,42	-3,2	2,56	1,185770751	2,15	-5,286343612	2,28	0
15	2,38	-4,8	2,57	1,581027668	2,12	-6,607929515	2,26	-0,877192982
20	2,34	-6,4	2,57	1,581027668	2,09	-7,929515419	2,26	-0,877192982
25	2,31	-7,6	2,54	0,395256917	2,11	-7,04845815	2,25	-1,315789474
30	2,33	-6,8	2,55	0,790513834	2,11	-7,04845815	2,23	-2,192982456
35	2,35	-6	2,54	0,395256917	2,12	-6,607929515	2,24	-1,754385965
40	2,41	-3,6	2,55	0,790513834	2,16	-4,845814978	2,21	-3,070175439
45	2,37	-5,2	2,5	-1,185770751	2,15	-5,286343612	2,22	-2,631578947
50	2,42	-3,2	2,53	0	2,18	-3,964757709	2,19	-3,947368421

#### Pasient nr. 33 ( oppgitt som pasient 2 under holdbarhetsstudie)

timer	Citrat rom	Relativ økning	Citrat kald	Relativ økning	EDTA rom	Relativ økning	EDTA kald	Relativ økning
0	2,2	0	2,22	0	2,04	0	2,01	0
5	2,09	-5	2,22	0	1,88	-7,843137255	1,97	-1,990049751
10	2,1	-4,545454545	2,17	-2,252252252	1,87	-8,333333333	1,98	-1,492537313
15	2,05	-6,818181818	2,19	-1,351351351	1,86	-8,823529412	1,99	-0,995024876
20	2,08	-5,454545455	2,22	0	1,88	-7,843137255	1,97	-1,990049751
25	2,09	-5	2,16	-2,702702703	1,86	-8,823529412	1,97	-1,990049751
30	2,09	-5	2,16	-2,702702703	1,83	-10,29411765	1,94	-3,482587065
35	2,11	-4,090909091	2,18	-1,801801802	1,91	-6,37254902	1,93	-3,980099502
40	2,07	-5,909090909	2,2	-0,900900901	1,86	-8,823529412	1,92	-4,47761194
45	2,12	-3,636363636	2,12	-4,504504505	1,88	-7,843137255	1,92	-4,47761194
50	2,13	-3,181818182	2,11	-4,954954955	1,83	-10,29411765	1,85	-7,960199005

**Pasient nr. 34 (oppgitt som pasient 3 under holdbarhetsstudie)**

timer	Citrat rom	Relativ økning	Citrat kald	Relativ økning	EDTA rom	Relativ økning	EDTA kald	Relativ økning
0	2,74	0	2,73	0	2,34	0	2,31	0
5	2,61	-4,744525547	2,67	-2,197802198	2,18	-6,837606838	2,19	-5,194805195
10	2,63	-4,01459854	2,69	-1,465201465	2,16	-7,692307692	2,21	-4,329004329
15	2,66	-2,919708029	2,76	1,098901099	2,16	-7,692307692	2,24	-3,03030303
20	2,62	-4,379562044	2,74	0,366300366	2,12	-9,401709402	2,23	-3,463203463
25	2,64	-3,649635036	2,75	0,732600733	2,11	-9,829059829	2,18	-5,627705628
30	2,63	-4,01459854	2,85	4,395604396	2,26	-3,418803419	2,28	-1,298701299
35	2,63	-4,01459854	2,75	0,732600733	2,15	-8,11965812	2,17	-6,060606061
40	2,62	-4,379562044	2,69	-1,465201465	2,18	-6,837606838	2,15	-6,926406926
45	2,62	-4,379562044	2,63	-3,663003663	2,12	-9,401709402	2,08	-9,956709957
50	2,63	-4,01459854	2,68	-1,831501832	2,2	-5,982905983	2,09	-9,523809524

**Pasient nr. 35 (oppgitt som pasient 4 under holdbarhetsstudie)**

Timer	Citrat rom	Relativ økning	Citrat kald	Relativ økning	EDTA rom	Relativ økning	EDTA kald	Relativ økning
0	1,94	0	1,97	0	1,8	0	1,8	0
5	1,9	-2,06185567	1,96	-0,507614213	1,72	-4,444444444	1,77	-1,666666667
10	1,87	-3,608247423	1,99	1,015228426	1,71	-5	1,8	0
15	1,86	-4,12371134	1,98	0,507614213	1,68	-6,666666667	1,8	0
20	1,89	-2,577319588	1,99	1,015228426	1,69	-6,111111111	1,78	-1,111111111
25	1,88	-3,092783505	2,02	2,538071066	1,65	-8,333333333	1,79	-0,555555556
30	1,89	-2,577319588	1,99	1,015228426	1,67	-7,222222222	1,77	-1,666666667
35	1,9	-2,06185567	1,98	0,507614213	1,69	-6,111111111	1,75	-2,777777778
40	1,9	-2,06185567	1,97	0	1,69	-6,111111111	1,74	-3,333333333
45	1,92	-1,030927835	1,99	1,015228426	1,71	-5	1,75	-2,777777778
50	1,9	-2,06185567	1,95	-1,015228426	1,7	-5,555555556	1,73	-3,888888889

**Pasient nr. 38 (oppgitt som pasient 5 under holdbarhetsstudie)**

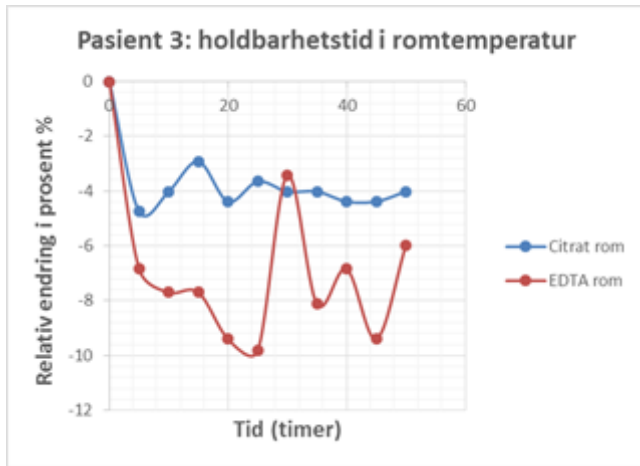
Timer	Citrat rom	Relativ økning	Citrat kald	Relativ økning	EDTA rom	Relativ økning	EDTA kald	Relativ økning
0	5,95	0	5,93	0	5,21	0	5,14	0
5	5,87	-1,344537815	5,89	-0,674536256	4,84	-7,101727447	5,09	-0,972762646
10	5,58	-6,218487395	5,55	-6,408094435	4,7	-9,788867562	4,93	-4,085603113
15	5,4	-9,243697479	5,59	-5,733558179	4,72	-9,404990403	4,81	-6,420233463
20	5,73	-3,697478992	5,61	-5,396290051	4,79	-8,061420345	4,75	-7,587548638
25	5,56	-6,554621849	5,41	-8,768971332	4,52	-13,243762	4,62	-10,11673152
30	5,61	-5,714285714	5,52	-6,913996627	4,64	-10,94049904	4,58	-10,89494163
35	5,57	-6,386554622	5,43	-8,431703204	4,51	-13,43570058	4,65	-9,53307393
40	5,61	-5,714285714	5,44	-8,26306914	4,5	-13,62763916	4,46	-13,22957198
45	5,58	-6,218487395	5,45	-8,094435076	4,67	-10,3646833	4,53	-11,86770428
50	6,2	4,201680672	5,87	-1,011804384	5,15	-1,151631478	4,85	-5,642023346



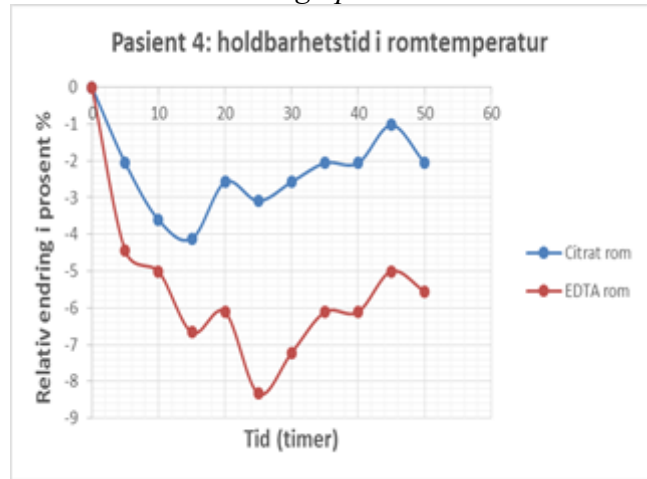
## Vedlegg 6

### Resultat fra holdbarhetsstudie nr.1 (kapittel 5.2.1)

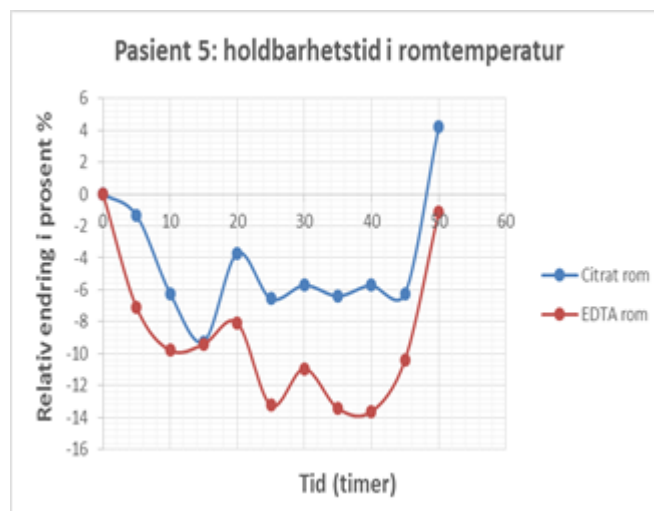
X-aksen viser antall timer (0-50t), og y-aksen viser relativ endring i prosent %.



Figur 5.2.1c



Figur 5.2.1d



Figur 5.2.1e

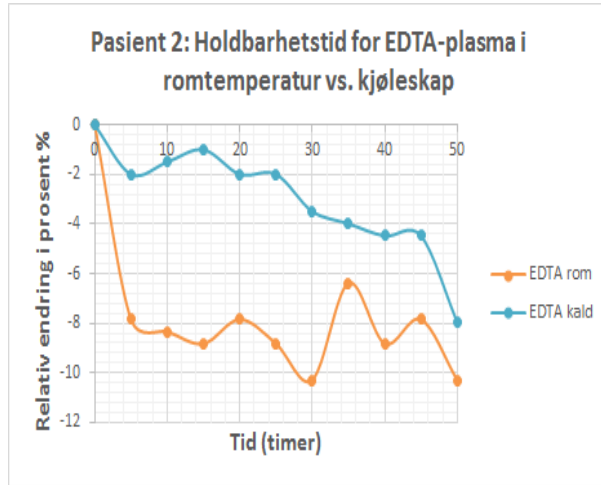
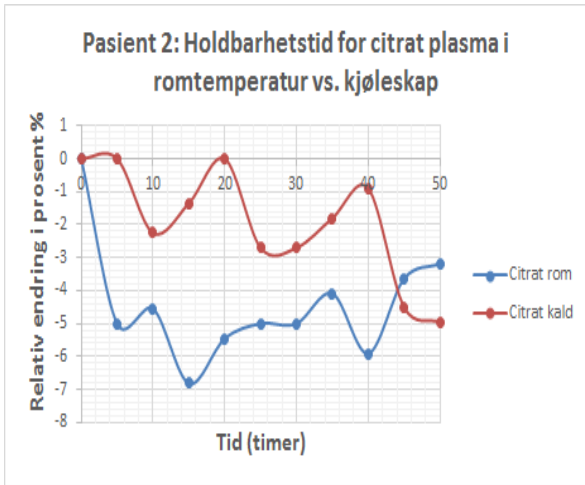
Figur 5.2.1c Viser PT-INR i citrat og EDTA plasma analysert i romtemperatur for pasientprøven nr. 3

Figur 5.2.1 d viser PT-INR i citrat og EDTA plasma analysert i romtemperatur for pasientprøven nr. 4.

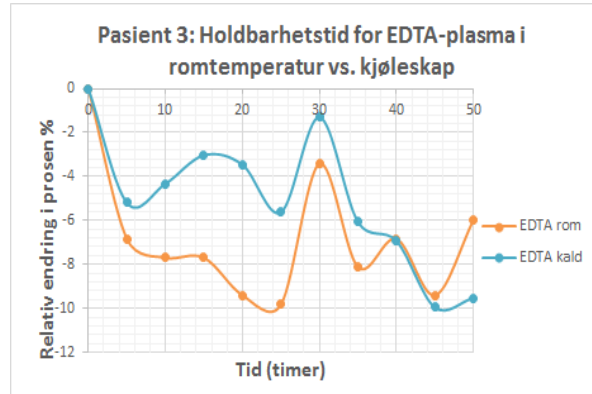
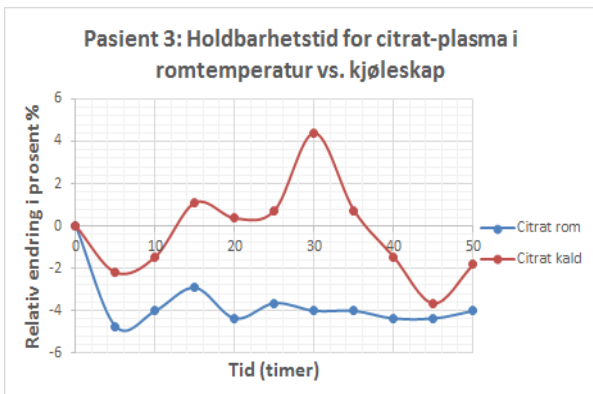
Figur 5.2.1e viser PT-INR i citrat og EDTA plasma analysert i romtemperatur for pasientprøven nr. 5.

## Vedlegg 7

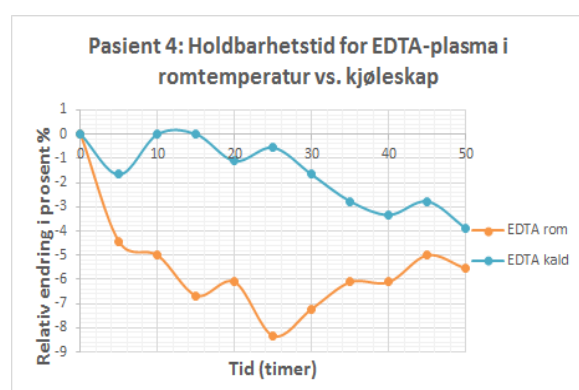
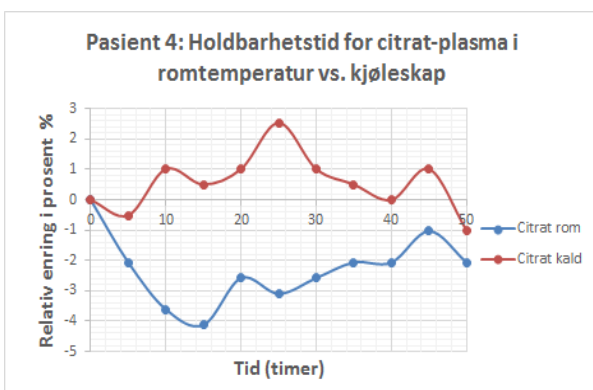
### Resultat fra holdbarhetsstudie nr.2 (kapittel 5.2.2)



Figur 5.2.3 Til venstre: holdbarhetstid for citrat-plasma i romtemperatur mot kjøleskap for pasientprøven nr.2. Til høyre: viser figuren holdbarhetstid for EDTA-plasma i romtemperatur mot kjøleskap for pasientprøven nr.2.



Figur 5.2.4 Til venstre: holdbarhetstid for citrat-plasma i romtemperatur mot kjøleskap for pasient nr.3. Til høyre: viser figuren holdbarhetstid for EDTA-plasma i romtemperatur mot kjøleskap for pasientprøven nr.3.



Figur 5.2.5 Til venstre: holdbarhetstid for citrat-plasma i romtemperatur mot kjøleskap for pasient nr.4. Til høyre: viser figuren holdbarhetstid for EDTA-plasma i romtemperatur mot kjøleskap for pasient nr.4.

## Vedlegg 8

Tabell viser sammendrag av grenseverdier for stigningstall og skjæringspunkt fra Passing Bablok regresjonsplott .

Sammenligning av resultater med Passing Bablok			Konfidensintervall	
			Nedre grense	Øvre grense
PT- INR analysen med referansemetoden	Skjæringspunkt	0,133	0,105	0,167
	Stigningstall	0,847	0,836	0,858
PT-INR analysen med testmetoden	Skjæringspunkt	-0,029	-0,072	0,017
	Stigningstall	1,053	1,035	1,073

## Vedlegg 9

Tabell viser målte PT-INR i referansemetoden og testmetoden.

### Referanse metode:

### Test metode:

prøve nr.	Citrat PT-INR	EDTA PT-INR	Differanse	Middelverdi
31	2,58	2,31	0,27	2,445
32	2,94	2,67	0,27	2,805
35	1,94	1,8	0,14	1,87
36	3,42	3,03	0,39	3,225
37	2,7	2,47	0,23	2,585
47	1,54	1,45	0,09	1,495
48	1,59	1,47	0,12	1,53
38	5,95	5,21	0,74	5,58
39	3,5	3,13	0,37	3,315
<del>40</del>	<del>9,45</del>	<del>8,42</del>	<del>1,03</del>	<del>8,935</del>
41	3,16	2,8	0,36	2,98
42	1,79	1,64	0,15	1,715
43	4,41	3,85	0,56	4,13
44	2,46	2,25	0,21	2,355
45	3,83	3,36	0,47	3,595
46	2,9	2,58	0,32	2,74
50	1,99	1,84	0,15	1,915
51	2,42	2,2	0,22	2,31
52	2,76	2,53	0,23	2,645
53	1,22	1,16	0,06	1,19
54	2,47	2,21	0,26	2,34
55	3,02	2,69	0,33	2,855
56	1,11	1,05	0,06	1,08
57	3,01	2,7	0,31	2,855
58	5,66	4,92	0,74	5,29
59	2,83	2,56	0,27	2,695
60	2,14	1,98	0,16	2,06
61	2,75	2,42	0,33	2,585
62	3,78	3,2	0,58	3,49
63	3,41	3,01	0,4	3,21
64	3	2,74	0,26	2,87

prøve nr.	Citrat PT-INR	EDTA PT-INR	Differanse	Middelverdi
31	2,58	2,57	0,01	2,575
32	2,94	3,08	-0,14	3,01
35	1,94	2,04	-0,1	1,99
36	3,42	3,56	-0,14	3,49
37	2,7	2,86	-0,16	2,78
47	1,54	1,61	-0,07	1,575
48	1,59	1,64	-0,05	1,615
38	5,95	6,19	-0,24	6,07
39	3,5	3,74	-0,24	3,62
<del>40</del>	<del>9,45</del>	<del>10</del>	<del>0,55</del>	<del>9,725</del>
41	3,16	3,2	-0,04	3,18
42	1,79	1,85	-0,06	1,82
43	4,41	4,66	-0,25	4,535
44	2,46	2,56	-0,1	2,51
45	3,83	4,03	-0,2	3,93
46	2,9	3,04	-0,14	2,97
50	1,99	2,11	-0,12	2,05
51	2,42	2,56	-0,14	2,49
52	2,76	2,96	-0,2	2,86
53	1,22	1,25	-0,03	1,235
54	2,47	2,56	-0,09	2,515
55	3,02	3,12	-0,1	3,07
56	1,11	1,09	0,02	1,1
57	3,01	3,12	-0,11	3,065
58	5,66	5,93	-0,27	5,795
59	2,83	2,99	-0,16	2,91
60	2,14	2,23	-0,09	2,185
61	2,75	2,81	-0,06	2,78
62	3,78	3,82	-0,04	3,8
63	3,41	3,54	-0,13	3,475
64	3	3,2	-0,2	3,1

## Vedlegg 10

### Oversikt over kontroller og reagenser for koagulasjonsanalyser.



#### Oversikt over kontroller og reagenser Kristiansund

Prod. ID	Pos.	Navn	Analyser	Oppløses i etc.	Holdbarhet
11036	R0	SCANDIPATH	Kontroll til INR og APTT	Tilsett 1,0ml aq.dest. La stå 30min. i romtemp. Blandes, settes i instrumentet i originalflasken. <b>Har barkode</b>	(8 timer) for vår bruk 48t
11037	R0	SCANDINORM	Kontroll til INR, Fib og APTT		
12047	R0	STA-LIA CONT. .P	Kontr. D-dimer		
12046	R0	STA-LIA CONT. N	Kontr. D-dimer		
11361	R0	OWREN-KOLLER	Fortynningsbuffer til fibrinogen, INR	Sett hele flasken i apparatet Ferdig oppløst med barkode	72 timer
12227	R0 R1 R2	STA-DESORB U	Skylleløn. mellom prøvene	<b>Ha alltid 2 flasker i hver sone!</b> Ferdig oppløst med barkode	120 timer
11021	R2	STA-SPA +.	Reagens til INR 10 ml pr. flaske.	Rekonstitueringsvæsken må ha romtemp. Denne helles over i et glass frysetørret SPA +. La stå 30 min. i romtemp. Bland deretter forsiktig. Legg en blandemagnet i flasken. Sett i en <b>maxireducer</b> . Pass på at magneten ikke fanges i reduseren. Les av barkoden, og sett reagentet i apparatet i <b>blandeposisjon</b> .  <b>Husk at magneten ikke skal kastes!</b> <b>Bruk magnetfangeren!</b>	72 timer i instrumentet.
12203	R1	STA-PTT A	Reagens til APPT	5,0 ml aq.dest. La stå i romtemp i 30 min. Blandes. Mål opp 1 ml med plastpipette Settes i mikrokopp (F8). <b>Har barkode.</b> Sett inn nytt hver natt	24 timer i instrumentet. 7 dager i lukket flaske.
11851	R2	CaCl <sub>2</sub> 0,025M	Til APPT	Ferdig oppløst. Mål opp 1 ml med plastpipette Settes i mikrokopp (F8). <b>Har barkode.</b> Sett inn nytt hver natt	72 timer
12321	R2	STA-FIBRINOGEN	Reagens til fibr.	Romtemperatur før bruk. Bruk minireducer. <b>Har barkode.</b>	5 dager. Leses inn på nytt til kontrollene ikke går inn.
12049	R2	LATEX D-DI	D-dimer	Romtemp.før bruk. Bruk minireducer. <b>Har barkode.</b>	360 timer
12048	R1	TAMP./BUF. D-DI*	D-dimer	Romtemp før bruk. Bruk minireducer. <b>Har barkode.</b>	360 timer

\* Sett alltid inn en ny flaske med buffer og kast den gamle når en setter inn Latex reagens.



# Vedlegg 11

Dokument 13780 "PT - INR på STA-R Evolution" Ver. 2.4 - EQS

Side 1 av 6

## PT - INR på STA-R Evolution

Forfatter: May Lise Ervik, Bjørnar Bolsø Thoresen, Ragna Aaram Ulset, Bjørn Ødegaard	Gyldig fra: 16.02.2016	ID: 13780
Godkjent av: Cecilie Eikrem Myklebust, Marit Sivertsen, Ragna Aaram Ulset, Brit Valaas Viddal, Bjørn Ødegaard	Revisjonsfrist: 15.02.2019	Versjon: 2.4

## Analysenavn

PT-INR i plasma.

## Bakgrunnsinformasjon

STA-SPA+ kitet inneholder reagenser til analyse av faktor II-VII-X, også kalt protrombinkomplekset. Syntese av disse faktorene er avhengig av vitamin K. Marevan (warfarin) hemmer effekten av vitamin K. Resultatet blir dannelse av PIVKA (Protein Induced in Vitamin K Absence). PIVKA er uten koagulasjons og inhibisjons-effekt. Konsentrasjonen av faktorene faller ved Marevan-behandling, K-vitaminmangel og leversyntesesvikt.

## Ansvar

Fagbioingeniør ved seksjonen er ansvarlig for å utarbeide prosedyrer, og sørge for at prosedyrer som berører sitt fagområde blir fulgt.

Alle ansatte skal følge gjeldende prosedyrer. Avvik fra gjeldende prosedyre skal begrunnes ut fra den aktuelle situasjonen, og dette skal dokumenteres.

## Oppstartdato

Januar 2012 (1998 på STA-Compact).

## Utstyr

STA-R Evolution.

## Reagens

**Leverandør: Bergman Diagnostika AS**

**SPA+ REF 00330**

*Reagens 1:*

Sammensatt tromboplastinpreparat. Reagenset er frysetørret og inneholder både tromboplastin fra kaninhjerne og adsorbert bovint plasma som er kilde for koagulasjonsfaktor V og fibrinogen, men mangler faktor II, VII og X.

*Reagens 2:*

Rekonstitueringsvæske med kalsium.

*Rekonstituering:*

Reagensene 1 og 2 bør ha romtemperatur. Overfør hele innholdet i reagensflaske 2 til reagensflaske 1 fra samme kit. La det rekonstituerte reagenset stå i romtemperatur 18-25°C i 30 minutter.

Bland deretter glasset forsiktig for å få en homogen løsning. Legg så i en magnetrører (ref 27425) og sett i en STA<sup>®</sup>-maxi Reducer (ref 00801) og den perforerte plastkorken. Se til at magnetrøreren ikke blir fanget i reducere. Magneten skal ligge fritt utenom.

*Holdbarhet:*

Uåpnede reagensglass ved 2-8°C: Til holdbarhetsdato på glasset.

Konstituert reagens i STA-R Evolution ved 15-19°C: 72 timer.

**STA Owren koller REF 00360**

Brukes til automatisk fortykning av plasma og kontroller.

Reagenset er klart til bruk.

*Holdbarhet:*

Uåpnet i kjøleskap: Til utløpsdato

<http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=13780&UnitID=1324>

06.04.2016



I apparatet: 72 timer.

### Innsetting av reagens

Bruk barcoden på glassene. SPA+ må settes i en blandeosisjon (markert med røde piler) i reagensskuffen.

Owren koller settes i R0.

### Analyseprinsipp

Testen måler aktiviteten av koagulasjonsfaktorene II, VII og X. Testen er ikke følsom for heparin i terapeutiske doser.

Koagulasjonstiden måles. Reagenset inneholder vevstromboplastin og overskudd av alle koagulasjonsfaktorene unntatt faktor II, VII og X.

Koagulasjonstiden er avhengig av prøvens innhold av disse faktorene.

Dette er en klot-test.

Prinsippet for klot-tester baserer seg på en økt viskositet i plasma som testes. Denne økningen i viskositet måles v.h.j.a. bevegelsen til en stålkule som beveger seg med en konstant hastighet i et elektromagnetisk felt. Når viskositeten økes vil kulas bevegelse endres.

Fortynnet plasma tilsettes tromboplastinreagens (SPA+) i en kyvette med bevegelig stålkule. Når koagulasjon inntreffer stopper kula. Koagulasjonstiden er tiden fra reagenset tilsettes til kula stopper.

### Standardisering

INR – International Normalized Ratio – er en måte å rapportere resultater fra protrombintesting for å gjøre resultatene uavhengig av tromboplastinet.

$$INR = \left[ \frac{\text{Pasient koagulasjonstid i sekunder}}{\text{Normalplasmaets koagulasjonstid i sekunder}} \right]^{ISI}$$

ISI påvirkes av reagensets egenskaper samt det analyseinstrumentet som benyttes på hvert enkelt laboratorium.

### Kalibrering

Gjøres av superbrukere evt. spesielt opplært personale.

Analysen er kalibrert med EQUALIS, en svensk nasjonal kalibrator for protrombinkompleksaktivitet.

Kittet inneholder 2 kalibratorer og 1 kontroll. Frysetørret. Oppbevares i kjøleskap.

### Rekonstituering av EQUALIS

Kalibratorene skal ha romtemperatur. Kakk de mot benken slik at pulveret samles på bunnen. Tilsett 1.0 ml romtemperert sterilt vann med kalibrert pipette. Sett på proppen og roter flasken i opprett posisjon mellom håndflatene ca. 10 ganger. Vend og roter flasken forsiktig slik at veggene fuktes og alt pulver løses opp.

*Vent minst 15 min. før kalibrering utføres.*

Holdbarhet etter rekonstituering: 2 t i romtemperatur.

### Innsetting av reagens for kalibrering

- Ta ut det gamle reagenset.
- Sett inn ny Owren koller.
- Sett i SPA+ reagens med nytt lot nr.
- Ved nytt lot nr. ber instrumentet om at tilhørende barkodeark registreres via barkodeleseren
- Dra barkodearket. Trykk Validate
- Sett kalibratorene i R0i mikrokopp. Husk F 8.

#### Molde

ID	Navn	Volum	Stabilitet
EQU LAV	EQU LAV	1,0ml	2t
EQU HOY	EQU HOY	1,0ml	2t
EQU KTR	EQU KTR	1,0ml	2t

#### Kristiansund

ID	Navn	Volum	Stabilitet
----	------	-------	------------

<http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmr&DocumentID=13780&UnitID=1324>

06.04.2016




[https://shop.gbo.com/en/row/articles/catalogue/articles/0010\\_0010\\_0040/](https://shop.gbo.com/en/row/articles/catalogue/articles/0010_0010_0040/)



EQU LAV	INR1	1,0ml	2t
EQU HOY	INR3	1,0ml	2t
EQU KTR	INR2	1,0ml	2t

STA-R Evolution gir mulighet for 2 aktive kalibreringer per analyse (2 forskjellige lotnummer) samt mulighet til å reanalysere, modifisere eller slette et eller flere punkt på kurven.

MERK: Om to ulike lotnummer allerede er kalibrert og man setter inn et tredje vil den eldste kurven automatisk bli slettet.

1. Gå så til kalibreringspanelet og klikk på 
2. Klikk på  eller , kommer ann på hvilken kurve du vil slette.
3. Kalibrer ved å dobbeltklikke på ønsket analyse.
4. Velg riktig lotnummer og klikk Calibrate
5. Legg inn riktig konsentrasjon for hver av kalibratorene.
6. Skriv ut ferdig kalibreringskurve

Ny test

-INR - iEDIA - play

Hver test har enten ett eller to fargede triangler:  
 - Ett grønt triangel = 1 aktiv kalibreringskurve  
 - To grønne triangler = 2 aktive kalibreringskurver

Det er mulig å endre på punktene i kurven:

1. Klikk på Calibration Pts
2. Dobbeltklikk på ønsket punkt for justering. Får da opp en liste med flere valg, Rerun point, Modify point eller Delete point.
3. Velg ønsket mulighet.
4. Kjør kontroll på nytt og skriv ut kurven dersom den nå blir godkjent.

### Kalibreringskontroll

*Molde:* SCANDIPATH og SYSTEM CONTROL P analyseres for å verifisere kalibreringen. Samt at en analyserer Equalis kontrollen.

*Kristiansund:* SCANDIPATH og SCANDINORM analyseres for å verifisere kalibreringen. Samt at en analyserer Equalis kontrollen.

### Backup av data

Vi lagrer på CD-RW (Read and Write) for å kunne lese inn igjen data ved behov.

Det som vi lagrer er:



Test Konfigurasjoner (Analyseoppsett)  
 System parametere (Kalibreringer, Kvalitetskontroller)



Klikk på  ikonet

- Klikk på Saving
- Velg CD/ DVD, klikk på cd ikonet
- Åpne nedre venstre dør og la den stå åpen under lagringen.
- Sett inn en CD-RW
- Velg fra listen hva som skal lagres, vi bruker to CD-er, en til System parametere og en til Test Konfigurasjoner
- Velg Arkiv skuffe-ikonet
- Bilde for brenning av CD kommer opp, velg burn



- Vent til beskjeden " **BURN Succeeded**" kommer på skjermen  
Klikk 
- Bildet stenges og CD/DVD kommer ut
- Cd-en må merkes godt med dato og analysemaskin, pga det er uheldig å lese inn feil Cd til feil maskin.
- Legg CD-RW tilbake i skuffen
  
- Klikk på  for å gå tilbake til hovedmenyen.  
Maskinen foretar nå en initialisering for å gå tilbake hovedmenyen

## Kvalitetskontroll

### Intern kvalitetskontroll:

#### Molde:

STA SYST KONTR P REF 00678.

SCANDIPATH REF 00107.

Kontrollene analyseres hver morgen, ved nylaget reagens og ellers ved behov.

#### Kristiansund:

SCANDINORM REF 00106.

SCANDIPATH REF 00107.

Kontrollene analyseres hver morgen, ved nylaget reagens og ellers ved behov.

### Rekonstituering av kontroller

#### Molde:

STA SYST KONTR P/SCANDIPATH skal ha romtemperatur. Tilsett 1,0ml sterilt vann og la stå i 30 minutt.

Bland deretter forsiktig. Bruk barcoden ved innsetting av reagenset.

STA SYST KONTR P/ SCANDIPATH : 8 t. i apparatet etter barkoden .

Til vårt bruk :48t. ,dvs.løses opp annenhver morgen.

#### Kristiansund:

SCANDINORM/SCANDIPATH skal ha romtemperatur. Tilsett 1,0ml sterilt vann og la stå i 30 minutt. Bland deretter forsiktig. Bruk barcoden ved isetting av reagenset.

Holdbarhet: 8 timer i STA-R Evolution (15-19°C) Til vår bruk 48 timer. På dag to leses kontrollene bare inn på nytt før analyse.

Hvis kontrollene ikke kommer innenfor angitte grenser, analyseres disse på nytt. Hvis kontrollene fremdeles ligger utenfor området, kontrolleres reagenser eller andre forhold som kan være endret siden sist.

Ny LOT kvalitetskontroll: Se  [STA-R Evolution. Oppstart og kvalitetskontroller](#) .

### Ekstern kvalitetskontroll

Fire ganger i året får laboratoriene tilsendt eksterne kvalitetskontroller fra NOKLUS. Resultatene lagres lokalt på laboratoriene.

## Prøvemateriale

Citratplasma (9 deler blod + 1 del 0,109 M trinatriumcitrat).

Prøven sentrifugeres ved 2000-2.500 g i 15 min.

Prøveglasset må være  $\geq 90\%$  oppfylt (90 % fra markeringen på glasset, etter CLSI's retningslinjer).

### Holdbarhet:


Blod fra pasienter på peroral antikoagulasjonsbehandling er holdbart i 48 t i romtemp.

Blod fra personer uten antikoagulasjonsbehandling er holdbart i 24 t.

Bør ikke oppbevares i kjøleskap pga .kuldeaktivering av faktor VII.



## Framgangsmåte

Se prosedyre  [STA-R Evolution. Oppstart og kvalitetskontroller](#)

## Metodedata

Måleområde: 0,8-7,0 INR  
Lavere resultat gis ut som < 0,80  
Høyere resultat gis ut som > 7,00.

## Analytisk presisjon

Oppgitt fra Bergman Diagnostika	Innen-serie n=21			Mellom-serie n=10		
	Middel	SD	CV	Middel	SD	CV
	%	%	%	%	%	%
Prøve 1	94,1	1,4	1,5			
Prøve 2	14,1	0,4	2,5			
Prøve 3				104,7	5,2	4,9
Prøve 4				17,1	0,7	4,3

## Feilkilder

Reagensene hadde ikke romtemperatur ved tillagingen.  
Kuldeaktivering av prøven. Bør ikke oppbevares i kjøleskap.  
Hemolyse i plasma/Vanskelig prøvetaking  
Uttalt lipemi.  
For lite blod i prøveglasset (mindre enn 90 % fullt).  
Koagel i prøven.

## Referanseområde

Personer som ikke er behandlet med warfarin: INR: 0,9 – 1,1.

### Terapeutisk område:

- INR: 2,5-3,5: Profylakse etter hjerteinfarkt og perifer atrie trombose. Mekanisk hjerteventil.  
- INR: 2,0-3,0: Dyp venetrombose. Lungeemboli. Profylakse mot perifere embolier og atrieflimmer.

## Resultatvurdering

Ved avvikende eller uventede resultat, vurder omkjøring ut fra evt. deltasjekk/tidligere prøveresultat og resultat på kvalitetskontroll. (Deltasjekk er basert på analytisk og biologisk variasjon).

Det gies ut tallverdi på INR i området: 0,8-7,0.


Time > Time max: INR >7,0.

Time < Time min: INR <0,8.

Gå alltid inn i Raw data bildet ved slike verdier for å bekrefte at analysesvaret er korrekt, og at det ikke skyldes tekniske feil.

Forlenget koagulasjonstid ses ved følgende kliniske tilstander:  
Medfødt eller ervervet mangel på faktor II, VII, X.

## Kliniske aksjonsgrenser

Se prosedyre  [Utringing av prøveresultat](#) . INR >5.0: Legg inn analysekommentar i NSL at resultatet er ringt ut. Legg inn tidspunkt og navnet på den som har mottatt prøveresultatet.






## Litteraturliste

Pakningsvedlegg til STA-SPA+

Arteriell og venøs Tromboembolisme. Profylakse og Behandling. Frank Brosstad. Med avd. Rikshospitalet april 2005.

## Relatert/Vedlegg

-  [STA-R Evolution. Oppstart og kvalitetskontroller](#)
-  [STA-R Evolution. Analysering.](#)
-  [STA-R Evolution vedlikehold](#)

## Relaterte dokumenter

---

[STA-R Evolution. Analysering.](#)

---

[STA-R Evolution. Oppstart og kvalitetskontroller](#)

---

[STA-R Evolution vedlikehold](#)

---



## Vedlegg 12

### STA-R Evolution. Oppstart og kvalitetskontroller

Forfatter:	Bjørn Ødegaard (Fagbioingeniør) Ragna Aaram Ulset (Fagbioingeniør) Bjørnar Bolsø Thoresen (Fagbioingeniør)
Dokument-administratør:	Hajanathan Shanmuganathan (Bioingeniør)
Godkjent av:	Arne Eide, Marit Sivertsen, Ragna Aaram Ulset, Brit Valaas Viddal, Bjørn Ødegaard
Gyldig fra:	03.12.2014
Revisjonsfrist:	19.11.2017
Versjon:	1.3
ID:	17735
Revisjonskommentar:	Endring i kap. Kontroller, og skjema "Oversikt kontroller og reagenser".
Dokumentet angår:	Annet med. faglig personell, Annet personell, Legepersonell, Pleie- og miljøpersonell.
Dokumenttype:	Prosedyre
Gjelder for enheter:	Helse Møre og Romsdal HF/Klinikk for diagnostikk/Avdeling for medisinsk biokjemi/Medisinsk biokjemi Kristiansund (med underliggende enheter) Helse Møre og Romsdal HF/Klinikk for diagnostikk/Avdeling for medisinsk biokjemi/Medisinsk biokjemi Molde (med underliggende enheter)
Dokumentkategori:	Pasientretta tenester/Laboratoriemedisin/Medisinsk biokjemi / Transfusjonsmedisin/Koagulasjon/Analyser Pasientretta tenester/Laboratoriemedisin/Medisinsk biokjemi / Transfusjonsmedisin/Koagulasjon/MTU bruk/vedlikehold

### Hensikt

Å sikre korrekt daglig oppstart og klargjøring for analysering av prøver på STA-R Evolution<sup>®</sup> analysemaskin.

### Omfang

Daglig oppstart av STA-R Evolution<sup>®</sup> analysemaskin.  
Skifte av reagenser.  
Analysering av kvalitetskontroller.  
Prosedyren omfatter alle bioingeniører eller andre ved avdeling for medisinsk biokjemi, seksjon Kristiansund og Molde som har gjennomgått opplæring og bruk av STA-R Evolution<sup>®</sup>.

### Ansvar

Fagbioingeniør er ansvarlig for å utarbeide prosedyrer innen sitt fagområde, og sørge for at disse prosedyrene blir fulgt.  
Alle ansatte skal følge gjeldende prosedyrer. Avvik fra gjeldende prosedyre skal begrunnes ut fra den aktuelle situasjonen, og dette skal dokumenteres.

### Grunnlagsinformasjon

Instruksjonsmanual for STA-R Evolution<sup>®</sup>, mars 2011.  
Prosedyrer for enkeltanalysene på STA-R Evolution.

### Utstyr

STA-R Evolution<sup>®</sup> analysemaskin, tatt i bruk januar 2012.

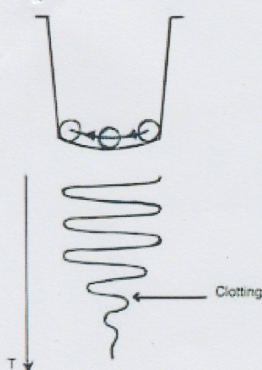
### Analyseprinsipp

STA-R Evolution utfører klot-tester, kromogene substratanalyser og immunturbidimetriske tester.(1)

### Klot-tester

Koagulasjonsaktiviteten bestemmes ved å måle koagulasjonstiden, d.v.s. den tiden det tar fra





koagulasjonsprosessen starter til et fibrinklot er dannet. I det koagulasjonsprosessen starter, begynner viskositeten i plasma å øke. I STA-R måles denne økningen i viskositet v.hj. av en stålkule som svinger med en konstant hastighet i et elektromagnetisk felt. Når viskositeten øker, vil oscillasjonsamplituden (svingeutslaget) til kula avta. Dette brukes til å bestemme koagulasjonstiden.

## Kromogene substratanalyser og immunturbidimetriske tester

Fotometriske metoder som baserer seg på måling av absorbansen (OD) av monokromatisk lys (405 nm eller 540 nm) som passerer gjennom reaksjonsblandingen i kuvetta.

## Pipettering

3 stk á 250 µl Hamilton-sprøyter som kan pipettere volum på 5-200 µl.  
3 pipetteringsnåler med tilhørende vaskebrønn:

- Nål nr. 1 (til venstre): For prøver og evt. fortynningsbuffer
- Nål nr. 2 (i midten): Mellom reagens
- Nål nr. 3 (til høyre): Start-reagens

Hver nål er utstyrt med nivåføler.

## Kuvetter

Hver kuvetterull inneholder ca. 1000 kuvetter. Rullen er merket med en etikett med barkoder som blant annet inneholder opplysning om lot. nr.

I hver kuvette er det en stålkule. Kuvettene mates automatisk inn en etter en.

Maks volum: 400 µl


Min volum: 150 µl (clot-analyser) eller 250 µl (fotometriske analyser).

## Målestasjon

STA-R Evolution har 32 inkuberingsposisjoner og 8 måleposisjoner. Disse ligger i en varmeblokk som holder 37°C ± 0,5°C. Kuvettene blir flytta over til inkuberingsposisjon og/eller måleposisjon ved hjelp av "the suction head". Når analysen er ferdig, kastes kuvetta i skuffa for brukte kuvetter.

## Oppstart

### Sjekk reagensstatus på STAR-Evolution

- Klikk på , klikk open for å åpne skuffa og klikk close for å lukke den igjen. Innholdet i reagensskuffa er nå oppdatert.

- Skriv gjerne ut ved å klikke 
- Alle kontroller og reagenser som står merket med rød trekant eller står med lysegrå skrift tas ut.
- Produkt merket gul trekant betyr at 80 % av tid eller volum er forbrukt.
- Sjekk om det er nok Desorb U i produkt skuffa. Ha 2 i hver sone.
- Reagenser/ kontroller som skal løses, tas ut av kjøleskapet slik at de får romtemperatur først.



**Molde:****Kontroller som løses opp annenhver morgen:**

SCANDIPATH  
 STA-SYST CONT N  
 STA-SYST CONT P  
 STA-LIA CONT N  
 STA-LIA CONT P

Kontrollene løses opp annenhver morgen, oppbevares i kjøleskap mellom hver analysering og er da holdbare i 2 døgn (i følge pakningsvedlegget holdbare 8 timer på apparatet).

Det er derfor viktig å notere dato, på kontrollglasset.

Kryss av på liste: «Daglig vedlikehold» slik at det er lett synlig for den som starter opp neste morgen.

**Kristiansund:****Kontroller som løses opp annen hver natt:**

SCANDINORM  
 SCANDIPATH  
 STA-LIA CONT N  
 STA-LIA CONT P

Disse kontrollene har barkode, og i denne er det lagt inn en holdbarhet på 8 timer.

For de analysene vi bruker kontrollene til, er holdbarheten 2 døgn.

Når vi skal analysere kontroll etter 8 timer, må vi ta ut kontrollen, og lese av barkoden på nytt.

Noter dato du løser opp nye kontroller på skjema.

**Innsetting av reagens og kontroller**

STA-R Evolution har 1 skuffe med 3 reagenssoner, R0, R1 og R2.

Sone R0= Kontroll/kalibrator sone, R1= Mellom reagens sone og R2= Start reagens sone.

Reagenssonene skal ha temperatur på 15-19°C. Posisjonene er nummererte. Posisjonsnummer med ring rundt er til glass med magnetrører i. De fleste reagenser/kontroller skal stå i originalglasset.

Ved lite volum kan reagenset/kontrollen pipetteres over i **mikrokopp = spesielt glassrør fra Stago**.

Mikrokopper brukes sammen med spesielle adaptere. Hak av for mikrokopp.

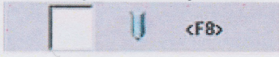
**Plastrør må ikke settes inn i produktskuffa i sone R1 og R2**

**Minimum reagensvolum**

Dette varierer fra analyse til analyse:

- I store originalglass: 0,9 ml
- I små originalglass: 0,5-0,7 ml
- I mikrokopp = 0,4 ml

Er volumet mindre enn minimumsvolumet, vil det stå med rød skrift på skjermen. Sjekk om du har glemt å

hake av på mikrokopp. Hvis ja, ta reagenset/kontrollen ut, hak av  og sett den inn på ny.

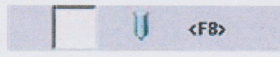
Owren-koller buffer skal settes inn i skuffe sone R0 sammen med kontroller og kalibratører. Alle andre reagens skal settes i R1 eller R2.

**Barkodemerka reagens eller kontroller**

Reagens og kontroller fra STAGO med barkode leses ved hjelp av barkodeleseren. Produktskuffen kan åpnes slik (fra "Hovedbilde"):


- Klikk , deretter "open"

- Les inn reagenset v.hj.a barkodeleser, navn og lotnr og utgangspunkt volum kommer opp.

- Vurder om det er i mikrokopp, hvis ja, hak av i feltet 



- Sjekk at volum stemmer. Hvis volumet ikke stemmer, skriv inn riktig volum i boksen  og trykk enter.

- Sjekk hvilken reagenssone som produkter skal plasseres i, sjekkes ved å trykke på 

- Man får da frem for eksempel R01, R02. dvs. at prøven skal i sone R0 men valgfri posisjon.

- Klikk Close, skuffa lukker seg.



### Innsetting av SPA + - reagenset

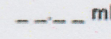
Ta av gummikorken og putt en magnet oppi originalglasset. Hold glasset litt på skrå, sett i en maxi-reduser og skru på den hvite perforerte korken. Les inn med ved hjelp av barkode. Glasset må settes i posisjon for magnetrører (posisjonsnummer med ring rundt).


### Reagens og kontroller uten barkode

- Fra hovedbildet, klikk , deretter "open".

- Tast inn produktets ID, navn kommer av seg selv, volum, holdbarhet og lot. nr.

- Vurder om det er i mikrokopp, hvis ja, hak av i feltet   <FB>

- Sjekk at volum stemmer. Hvis volumet ikke stemmer, skriv inn riktig volum i boksen  og trykk enter.

- Sjekk hvilken reagenssone som produkter skal plasseres i, sjekkes ved å trykke på , man får da frem for eksempel R01, R02; dvs. at prøven skal i sone R0 men valgfri posisjon.

Klikk Close og skuffen lukker seg.

### Slette et reagens som er tatt ut, men ikke forsvinner fra produktlista (lyset slukker ikke):

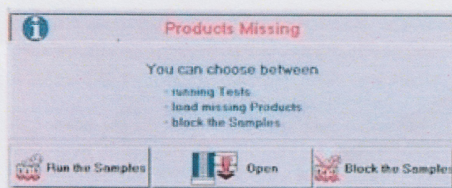
Reagenset slettes manuelt slik: Åpne skuffa, sett markøren på riktig reagens og trykk CTRL + Delete samtidig. Du får spørsmålet "Remove Produkt?" Klikk OK.

### Reagensmengde

Når alle produkter er på plass, trykk CLOSE. Alle reagenser og kontroller som er i skuffen vil nå vises på skjermen.

Volum = restvolum etter at bestilte analyser er utført. Rød trekant indikerer at totalvolumet er for lite i forhold til bestilte analyser.

**Dersom det er for lite reagens når du har bestilt prøver, kan følgende beskjed komme opp:**




3 valg kommer opp:


- Fortsett og kjøp prøver, som den har reagens til
- Åpne skuffa for å sette inn reagens
- Stoppe kjøring av prøver

Dette må vurderes i hvert enkelt tilfelle hva som ønskes.



- Eller du får beskjed ved hjelp av et "Blinkende"  ikon som betyr for lite reagens.

- Dobbelklikk på  for å vise Forecast. Du kommer da over i produkt seksjonen og kan se hva som mangler. Dette bildet viser kun reagens til bestilte prøver. Produkt som mangler er skrevet med rød skrift og har rød trekant. Maskinen kan da stoppe dersom den



ikke har nok reagens til prøven som er bestilt og dette tegnet kommer opp . Eller den kan kjøre fra seg andre prøver som det er nok reagens til og stopper så.

- Dersom maskinen stopper fordi den har for lite reagens, men du vil den skal fortsette med andre prøver.

Klikk 


**Ved nytt lot nr. ber instrumentet om at tilhørende barkode ark registreres. Om barkodearket ikke kan leses inn, kan det tastes inn manuelt. Se egen prosedyre for analysering.**

## Analysering av kvalitetskontroller

1. Klikk 
2. Velg ønsket analyse. Eller velg alle ved å klikke på den øverste analysen med venstre museknapp og markere alle.
3. Klikk , nå starter ønsket kontroll.

Maskinen er innstilt slik at den starter å kjøre kontroll selv når en analyse er bestilt dersom det er mer enn 24 timer siden sist kontrollen er kjørt.

### Dagens kontroller:


Om en kontroll går utenfor område vil det komme en alarm og symbolet  vil blinke nederst på skjermen. Ved å klikke på symbolet kommer en inn på den aktuelle kontrollen, og en kan velge å slette, reanalysere eller akseptere kontrollen.


Hver morgen analyseres kontroller på:

INR  
APTT  
FIBR  
D-DI

Antitrombin III, Protein C og S, og Anti-Xa kontroller analyseres ved behov. Gjøres ikke i Kristiansund.


## Hvordan gå inn for å se på kontrollresultater

Fra hovedmeny velges 


Trykk deretter på symbolet . Her vil alle kjørte kontroller komme opp med **OK** hvis de er godkjente, eller **"to be validated"** hvis en må aksjonere.

En kan også velge å gå inn på hver enkelt kontroll for å få en grafisk og mer detaljrik framvisning av kvalitetskontrollene. En velger da bare analysenavnet og klikker seg mellom nivå 1 og 2.

## Sletting av dagens kontroller

Det er kun ønskelig at det slettes kontroller som ikke går inn. For å gjøre dette går en inn på  symbolet velger analyse og blar seg bortover ved hjelp av piltastene til ønsket kontrollverdi.



Trykk på  symbolet og du får spørsmål om du vil slette dette QC punktet.

### Overgang til ny lot på kontrollene

Gjøres av superbrukere og evt. spesielt opplært personale.

Les inn barkoden på glasset med nytt lotnr.

Følgende beskjed kommer opp: "Please load the code sheet in front of the reader".

Les inn det barkodemerka arket som ligger i esken med kontrollen.


OBS! Forskjellig barkode for de to kontrollene.

Når følgende beskjed kommer opp: "Bar code reading. Data processing End.", er alle data lagt inn. Trykk Validate for å komme videre. Målverdi og "range" fra leverandør er nå lagt inn i kontrollfilene.


For parametre som ikke står på arket må ny range alltid legges inn manuelt før kontrollen kan kjøres, dette gjelder bla. PT-INR.

### Manuell innlegging av kontrollgrenser

Gjøres av superbrukere og evt. spesielt opplært personale.

Klikk på 

Velg ønsket analyse

Klikk på 

Legg inn nye grenseverdier når bildet med "Change Range" kommer opp.

Den nye loten må være innkjørt på forhånd, og "mean" og kontrollgrenser beregnet.

Dersom dette ikke er mulig brukes oppgitt mean for kontrollen  $\pm$  samme % som forrige lot. Vi beregner ny "mean" og justerer grensene når vi har kjørt noen dager.

Brukes samme kontroll til flere analyser, må ny "Range" legges inn for alle analysene.

### Litteraturliste

1.-Instruksjonsmanual for STA-R Evolution<sup>®</sup>, mars 2011.

### Relatert/Vedlegg

[Oversikt over kontroller og reagenser seksjon Kristiansund](#)

[Oversikt over kontroller og reagenser seksjon Molde](#)

#### Vedlegg

[Skjema Oversikt kontroller og reagenser Kristiansund](#)

[Skjema Oversikt kontroller og reagenser Molde](#)



## Vedlegg 13

### STA-R Evolution. Analysering.

Forfatter: Bjørnar Bolsø Thoresen, Ragna Aaram Ulset	Gyldig fra: 19.05.2015	ID: 17734
Godkjent av: Arne Eide, Marit Sivertsen, Ragna Aaram Ulset, Brit Valaas	Revisjonsfrist: 11.05.2018	Versjon: 1.2
Viddal, Bjørn Ødegaard		

### Hensikt

Å sikre at STA-R Evolution brukes etter forskriftene og at apparatet fungerer i henhold til spesifikasjonene.

### Omfang

Prosedyren omfatter STA-R Evolution og alle bioingeniører eller andre ved klinisk kjemisk laboratorium som har gjennomgått opplæring og bruk av STA-R Evolution.

### Ansvar

Fagbioingeniør er ansvarlig for å utarbeide prosedyrer innen sitt fagområde, og sørge for at disse prosedyrene blir fulgt.

Alle ansatte skal følge gjeldende prosedyrer. Avvik fra gjeldende prosedyre skal begrunnes ut fra den aktuelle situasjonen, og dette skal dokumenteres.

### Utstyr

STA-R Evolution, tatt i bruk januar 2012.

### Arbeidsbeskrivelse (1)

#### Analysering av prøver

Pasientprøver plasseres i rack som har 5 prøveposisjoner. Pasientprøver analyseres normalt fra originalglasset.

#### Prøver med barkode


Sjekk at prøven er sentrifugert og at det ikke er luftbobler i prøven. Sjekk også at det er nok prøvemateriale i glasset.

Sett sentrifugerte prøver i rack, plass til 5 prøver. Barkoden må være godt klistra, for å kunne leses. Ikke sprikende etiketter. Prøven snurres når barkoden leses.

Sett racket på brettet/tray og plasser i maskinen.


STA-R Evolution vil automatisk laste rackene inn i maskinen.




Klikk på  dersom du vil se prøveresultatene.

#### Prøver uten barkode



Klikk på  på pasientmenyen



Sjekk status/ loading mode på Test panelet.  betyr automatisk identifisering av prøven og "unloading" av uleste prøver til identifisering. Prøven går da først inn i maskinen for så å komme ut igjen for identifisering.

Prøven går nå inn i maskinen og kommer automatisk ut igjen for identifisering.

Velg prøveposisjon som stemmer med plassering av prøven. Gul ring markerer prøveposisjon.

Les inn IDnr med håndholdt barkodeleser, eller tast det inn. (husk suffix nr) Skal flere prøver settes inn, trykk på rundingen under til venstre som tilsvarer posisjon for neste prøve. Posisjonen får gul ring rundt seg og blir tilgjengelig for identitet.



Hak av for  $\mu$ Tainer, dersom prøven står i mikrokopp.



Klikk og racket går inn i maskinen.

Maskinen starter og kjører de analysene som er bestilt dersom du taster inn riktig lab.nummer.

Dersom ingen analyser er bestilt i Non-Stop Lab, vent til prøven vises i test panel bildet. Analysene bestilles så direkte ved å dobbelklikke på ønsket analyse. Et timeglass kommer opp og analyseringen starter.

### Generelt

Delvolumrør kan settes direkte i maskinen,

Plasma som er avpipettert må has i microcup, lang metallhylse + spissbunnet liten kopp. Se for øvrig framgangsmåte under "prøver uten barkode".

### Test panel - informasjon om prøver



Viser prøver til analyse. Viser 10 pasient prøver. Scroll ned for å se flere. For hver prøve vises følgende:

- ID
- Rack nummer
- Posisjon i rack
- Testresultat

I testpanelbildet kan det utføres følgende:

- Reanalysering, dobbelklikk på resultatet og du får flere valg (rerun, delete eller upload). Velg rerun.
- Etterbestilling, dobbelklikk på ruta under ønsket analyse.
- Slette en bestilling, dobbelklikk på resultatet og du får flere valg (rerun, delete eller host). Velg delete.
- Overføre resultat på nytt, dobbelklikk på resultatet og du får flere valg (rerun, delete eller upload). Velg upload.

### Framhenting av prøvesvar

Hvordan finne fram prøvesvar når prøven er tatt ut av apparatet, men ikke sletta:

- Stå i testpanelet
  - Trykk deretter ikonet og så på Search by.
  - Her kan du søke på identitet/lab nr. og velge datointervall.
  - Trykk når du skal tilbake til hovedmenyen.

### Ta ut prøver fra maskinen

- klikk på i pasientmenyen
- Velg (UN)LOADING
- Dobbelt klikk på T, og velg "tag" for ønsket rack eller "tag all" for å få ut alle rackene.


- Klikk på :


Følgende beskjed vises:

- Unload the tagged rackes?

- Valider med å klikke



- Racken sendes ut og plasseres på brettet og følgende Ikon vises på aktuell rack 

- Frigi brettet ved å trykke på .

### Oversikt over alarmer som kan komme bak prøveresultatet

<b>Q</b> eller <b>QC UTE</b>	Kontrollene er ute eller ikke kjørt.
<b>D</b> eller <b>QC Overriden</b>	Kvalitetskontroll overriden, dvs er utenfor grensene og er godkjent av operatør.
<b>I</b>	Resultat etter re-fortynning.
<b>J</b> eller <b>Rerun</b>	Betyr at prøven er kjørt om igjen
<b>1</b> eller <b>2BVAL</b> (To Be Validated)	<b>"To be validated"</b> bak resultatet betyr at resultatet er sendt over fra STA-R Evolution med status " To Be Validated. Dersom resultatet står med blå skrift på STAR-skjermen er det reanalysert (evt. med ny fortynning) fordi det er utenfor tekniske grenser.
<b>2</b> eller <b>"Tech error"</b>	Teknisk problem, kjør om igjen prøven
<b>3</b> eller <b>V&gt; Vmaks</b>	Koagulasjonstiden større enn maksimum koagulasjonstid
<b>4</b> eller <b>V&lt; Vmin</b>	Koagulasjonstiden mindre enn minimum koagulasjonstid
<b>5</b> eller <b>Diff&gt;tol</b>	Differansen mellom dobbelprøve er for stor til at den kan godkjennes
<b>6</b> eller <b>QNS</b>	<b>QNS</b> (quantity of plasma not sufficient): For lite prøvemateriale
<b>8</b> eller <b>Linearity</b>	Resultat er utenfor linearitetsområdet
<b>ForskjRes</b>	Forskjøvet resultat: Kommer når resultatet er utenfor grensene som er lagt inn i set-up f.eks D-dimer <0,2 eller fibrinogen < 0,6

Dersom det er flere meldinger på en gang, kommer det gjerne en kode som består av ett tall og en bokstav, f.eks **1J** som betyr at du har både meldingen 2BVAL og RERUN på en gang.

Alle resultater som går over i ANP med en feilmelding bak, skal sjekkes i raw-data-bildet før de blir frigitt.

Gå inn på:

- Testpanel
- Dobbeltklikk på prøven
- Marker analysen
- Klikk på bjella, og sjekk alarm/raw-data.

### Referanser

1. Instruksjonsmanual for STA-R Evolution, mars 2011.