

Kandidatnummer: 10006 og 10022

Preanalytiske faktorer som har innvirkning på prøvesvaret til ionisert kalsium i serum

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag

Veileder: Lutz Schwettmann

Mai 2019

Kandidatnummer: 10006 og 10022

Preamalytiske faktorer som har innvirkning på prøvesvaret til ionisert kalsium i serum

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag
Veileder: Lutz Schwettmann
Mai 2019

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

SAMMENDRAG

I denne bacheloroppgaven ble det tatt for seg i hvor stor grad preanalytiske faktorer som fyllingsgrad og lufttilførsel kan påvirke prøvesvaret til ionisert kalsium. Oppgaven ble utarbeidet for laboratoriet ved medisinsk biokjemi på Ålesund sykehus. Prøvematerialet ble samlet inn på sykehuset, og her ble også sentrifugeringen og selve analysen utført. Det ble tatt 22 pasientprøver til sammen, og maskinen som ble tatt i bruk til analyseringen var RapidPoint 500.

Oppgaven er todelt, der den ene delen omhandler fyllingsgrad og den andre delen omhandler lufttilførsel. Det ble analysert til sammen seks glass fra hver pasient, der tre av glassene var med ulik fyllingsgrad på $3/3$, $2/3$, og $1/3$. Glassene med ulik fyllingsgrad ble ikke utsatt for luft. Resultatet viste at glassene som ble fylt $3/3$ og $2/3$ ikke har klinisk relevans, men det har glassene som kun ble fylt $1/3$ fullt.

De resterende tre glassene hadde likt volum med prøvemateriale, men med ulike tidsintervall i luft på 15 minutter, 30 minutter og 60 minutter før de ble analysert. Resultatet viste at alle tidsintervallene har en klinisk relevans, men glass som har blitt eksponert for luft i 15 minutter ikke blir påvirket i like stor grad som glassene som er blitt eksponert for luft i 30- og 60 minutter.

FORORD

Denne oppgaven er et kvalitetssikringsprosjekt i regi av Ålesund sykehus, og er skrevet for bioingeniører og annet helsepersonell som ønsker å fordype seg i de preanalytiske faktorene som kan påvirke prøvesvaret til ionisert kalsium i serum.

Problemstillingen ble utarbeidet av Ålesund sykehus, hvor de ønsket å finne ut om fyllingsgrad og lufttilførsel kan påvirke prøvesvaret til ionisert kalsium, da det er lite litteratur som omhandler akkurat dette. Oppgaven ble utført av en gruppe bestående av to studenter. Det ble satt av 11 uker til oppgaven der én uke ble disponert til det praktiske arbeidet, og resten av tiden gikk til oppgaveskriving.

Vi vil spesielt takke veilederne ved Ålesund sykehus og NTNU i Ålesund for god hjelp og veiledning både i det praktiske og det teoretiske arbeidet.:

- Laboratoriespesialist ved Ålesund Sykehus, Lutz Schwettmann
- Bioingeniør ved Ålesund Sykehus, Maria Verlo Jacobsen
- Bioingeniør ved Ålesund Sykehus, Beate Eikrem Haugstvedt
- Førsteamanuensis ved NTNU i Ålesund, Frede Frisvold
- De frivillige pasientene ved Ålesund Sykehus

Innholdsfortegnelse

SAMMENDRAG	1
FORORD	2
1.1 Problemstilling	6
2 TEORI	7
2.1 Kalsium	7
2.2 Kalsium sin funksjon i kroppen	7
2.2.1 Koagulasjonssystemet	7
2.2.2 Ca²⁺ - avhengige aksjonspotensialer	8
2.2.3 Muskelkontraksjon	8
2.3 Organer som deltar i kalsiumreguleringen	9
2.4 Regulering av kalsium i kroppen	10
2.4.1 Paratyreoideahormon	10
2.4.2 Vitamin D	11
2.4.3 Kalsitonin	12
2.5 Klinisk signifikans	13
2.5.1 Hypokalsemi og hyperkalsemi	13
2.6 Faktorer som påvirker kalsiumkonsentrasjonen	14
2.6.1 pH	14
2.6.2 Luft og fyllingsgrad	15
2.6.3 Krysskontaminering	15
2.7 Måling av ionisert kalsium	15
2.7.1 Potensiometri	16
2.8 Total kalsium	17
2.9 Ionisert kalsium kontra total kalsium	18
3 MATERIALE OG METODE	19
3.1 Materiale	19
3.1.2 Liste over utstyr	20
3.2 Metode	20
3.2.1 Prøvetakning	20
3.2.2 Sentrifugering	22
3.2.3 Analysering på RapidPoint 500	22
3.2.4 Fremgangsmåte på RapidPoint 500	24

3.3 Statistisk metode	24
3.3.1 Differanseplott.....	25
3.3.2 Paret t-test.....	25
4 RESULTAT.....	27
5 DISKUSJON.....	30
5.1 Fyllingsgrad.....	30
5.2 Lufttilførsel.....	31
5.3 Svakheter og styrker.....	32
6 KONKLUSJON.....	34
6.1 Fyllingsgrad.....	34
6.2 Lufttilførsel.....	34
7 REFERANSER.....	35
8 VEDLEGG.....	38

1 INNLEDNING

Denne oppgaven er et kvalitetssikringsprosjekt som er blitt utarbeidet av laboratoriet ved Ålesund sykehus, og oppgaven vil gå ut på hvordan ulike preanalytiske faktorer kan påvirke prøvesvaret til ionisert kalsium i serum. Dette er en analyse som er svært følsom for ulike faktorer, og for at pasienten skal få riktig behandling er det viktig at prøven blir håndtert på rett måte. De faktorene som skal bli nærmere undersøkt er hvor mye fyllingsgraden og ulik mengde lufttilførsel har å si på prøvesvaret.

Grunnen til at det er akkurat disse faktorene er fordi det er relevante problemer som kan oppstå på et laboratorium. I følge prosedyren til Ålesund sykehus står det at anaerob prøvetaking er å foretrekke (Vedlegg 1). Glasset fylles helt opp og korken beholdes på under sentrifugering og ved lagring. Er prøvetakingen utfordrende kan det hende at glasset ikke blir fylt helt opp, noe som kan være avgjørende for måling av ionisert kalsium. Det kan også hende at ved visse tilfeller tas korken av flere ganger eller at prøven står uten kork i en viss periode. Dersom ett eller flere av disse tilfellene skulle oppstå, kan en da stole på resultatet?

“En bioingeniørs kjerneoppgaver er å samle inn blodprøver og andre typer biologisk prøvemateriale, preparere, analysere og kvalitetssikre analyseresultatene. Kvalitetssikrede analyseresultater danner et viktig grunnlag for å stille diagnoser og gi riktig behandling” [1]. Utdanning.no får frem hvor viktig en bioingeniørs arbeidsoppgaver er når det kommer til kvalitetssikring av analysesvar ved laboratoriet.

Blodprøvene som blir brukt i prosjektet er fra både friske og syke personer. Prøvesvarene bør ligge både utenfor og innenfor referanseområdet for å få variasjon i analysesvarene. Selv om utstyr og materiale som tas i bruk blir dekket av Ålesund sykehus, så vil det bli tatt med et budsjett som viser en oversikt over utgiftene. Dette er fordi utgiftene på et laboratorium har blitt mer og mer i fokus i løpet av årene.

1.1 Problemstilling

Problemstillingen i denne oppgaven er todelt, da vi tar for oss flere preanalytiske faktorer. Vil preanalytiske feil som ulik fyllingsgrad og ulik mengde lufttilførsel påvirke prøvesvaret til ionisert kalsium?

2 TEORI

2.1 Kalsium

Kalsium er et metallisk grunnstoff som finnes både i naturen og i kroppen vår. Det er et svært reaktivt grunnstoff og vil i naturen kun forekomme i oksidert form [2].

En voksen person vil ha omtrent 1 kg kalsium i kroppen, hvorav 99% av dette er bundet til skjelettet i form av kalsiumfosfat. Den resterende prosentandelen eksisterer som kalsium i ekstra- og intracellulærvæsken. I denne vevsvæsken vil all kalsium være ionisert, men det eksisterer i både bunden og fri form. De bundne kalsiumionene vil enten være bundet til proteiner som albumin, eller til anioner som for eksempel karbonat og citrat [4]. Det er den mengden kalsium i ekstra- og intracellulærvæsken som omtales som totalkalsium. Kalsiumionene (Ca^{2+}) som er bundet til enten proteiner eller anioner anses ikke som biologisk aktiv. Dette vil si at kalsiumkomplekset ikke kan diffundere fritt gjennom kapillærårene og ut i cellene, slik som ionisert kalsium kan [3].

2.2 Kalsium sin funksjon i kroppen

Kalsium spiller en sentral rolle i mange viktige fysiologiske prosesser i kroppen. Flere enzymer, blant annet i koagulasjonssystemet, bruker kalsium som kofaktor.

Kalsiumionene (Ca^{2+}) fungerer også som intracellulære signal for muskelkontraksjon og intracellulær budbringer i transmembrane signaloverføringssystemer [3].

2.2.1 Koagulasjonssystemet

Koagulasjon er når blodet klumper seg sammen. Denne prosessen er viktig for å stoppe blødninger, samt at blodet ikke koagulerer når det ikke er nødvendig. Når denne prosessen er aktivert er det blodkar, trombocytter og plasma som bidrar til stansingen av blødningene, også kalt hemostase [4].

Kalsium er viktig for at koagulasjon skal kunne oppstå. Kalsiumionene setter i gang en reaksjon som danner trombin, som igjen aktiverer fibrinogen. Fibrinogen omdannes så til fibrin som er

hovedkomponenten til at blodet koagulerer. [29] Selv om Ca^{2+} - konsentrasjonen kan bli lav, kan den aldri bli så lav at den bremser ned koagulasjonsprosessen. Dersom Ca^{2+} - bindende stoffer tilsettes en blodprøve vil ikke blodet koagulere [5].

2.2.2 Ca^{2+} - avhengige aksjonspotensialer

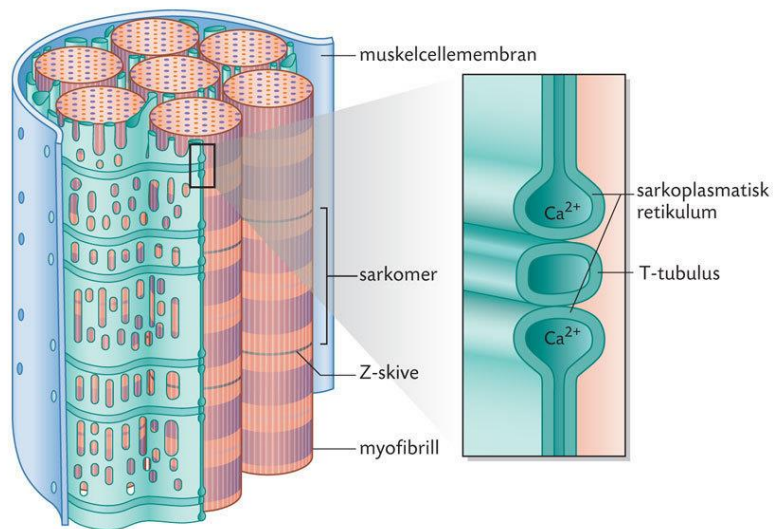
Spenningsstyrte Ca^{2+} - kanaler er vanlig i cellemembraner i nerveender, glatte muskelceller, hjertemuskelceller og flere typer endokrine celler.

Ca^{2+} - kanalene har en sentral rolle i koplingen mellom aksjonspotensialene, som er knyttet til cellemembranen, og intracellulære prosesser [6].

2.2.3 Muskelkontraksjon

Når en muskelfiber trekker seg sammen, blir ikke aktin- og myosinfilamentene kortere. Det vil derimot skje en overlapping som kalles glidefilamentmekanismen. Dette er fordi myosinfilamentene glir langs hverandre. Dersom konsentrasjonen av Ca^{2+} i muskelcellen er lav kan ikke myosinhodene bindes til aktin, da bindingssetene for myosinhodene på aktinfilamentene er tildekket. I en hvilende muskelfiber er ikke myosinhodene bundet til aktin, men de er derimot klare for dette til enhver tid.

Når et aksjonspotensial forplanter seg langs muskelcellemembranen, ledes det ned i noe som kalles t-tubuli. Tubulene er kanaler som leder aksjonspotensialet i muskelfibrene, og det er her møtes aktin- og myosinfilamentene [7]. Når cellemembranen i t-tubuli depolariseres, frisettes Ca^{2+} fra det sarkoplasmatiske retikkelet, og dermed vil Ca^{2+} konsentrasjonen rundt myosinfilamentene øke. Da kan myosinhodene binde seg til aktin [8]. Se figur 2.1 for illustrasjon av oppbygning av muskelfiber.



Figur 2.1. Illustrasjon av t-tubuli i muskelfiber (Kildeliste figur 1).

2.3 Organer som deltar i kalsiumreguleringen

I reguleringen av kalsium er det tre organer som spiller en viktig rolle: nyrene, beinvevet og tarmkanalen.

- *Nyrene:* I nyrene filtreres plasma. Her passerer løste ioner og små molekyler fra kapillærer og ut i et kanalsystem. Normalt reabsorberes mer en 98% av den filtrerte mengden Ca^{2+} . Ved å øke reabsorpsjonen minker tapet av Ca^{2+} fra ekstracellulærvæsken [3].
- *Beinvevet:* Som nevnt tidligere er omtrent 99% av kroppens kalsium lagret i beinvev, først og fremst som kalsiumfosfat. Det skjer en uavbrutt oppbygging og nedbryting av beinvev, som kan fjerne kalsium eller tilføre kalsium til ekstracellulærvæsken avhengig av om beinvevet dominerer. Normalt fornyes 5 - 10 % av beinvevet hvert år [3].
- *Tarmkanalen:* Normalt absorberes 40 - 50 % av matens kalsiuminnhold. Absorpsjonen av Ca^{2+} er en av de få absorpsjonsprosessene i tarmkanalen som er hormonelt regulert. Absorpsjonen reguleres i forhold til den ekstracellulære Ca^{2+} - konsentrasjonen, slik at den holdes mest mulig stabil. Det vil si at Ca^{2+} - absorpsjonen øker ved tap av Ca^{2+} fra

ekstracellulærvæsken, og reduseres ved unormalt høy tilførsel av Ca^{2+} til ekstracellulærvæsken [3].

2.4 Regulering av kalsium i kroppen

Noen hormoner som er med på å regulere kalsium er parathyreoideahormon, vitamin D_3 og kalsitonin. Disse hormonene virker på omsetningen av kalsium i beinvevet, tarmkanalen og nyrene. Det finnes og andre typer hormoner som har virkning på kalsiumomsetningen i kroppen som for eksempel østradiol og testosteron. Dersom produksjonen av østradiol (hos kvinner) eller testosteron (hos menn) reduseres, fører dette til nedsatt dannelse av beinvev og over tid kan dette føre til økt risiko for beinskjørhet [3].

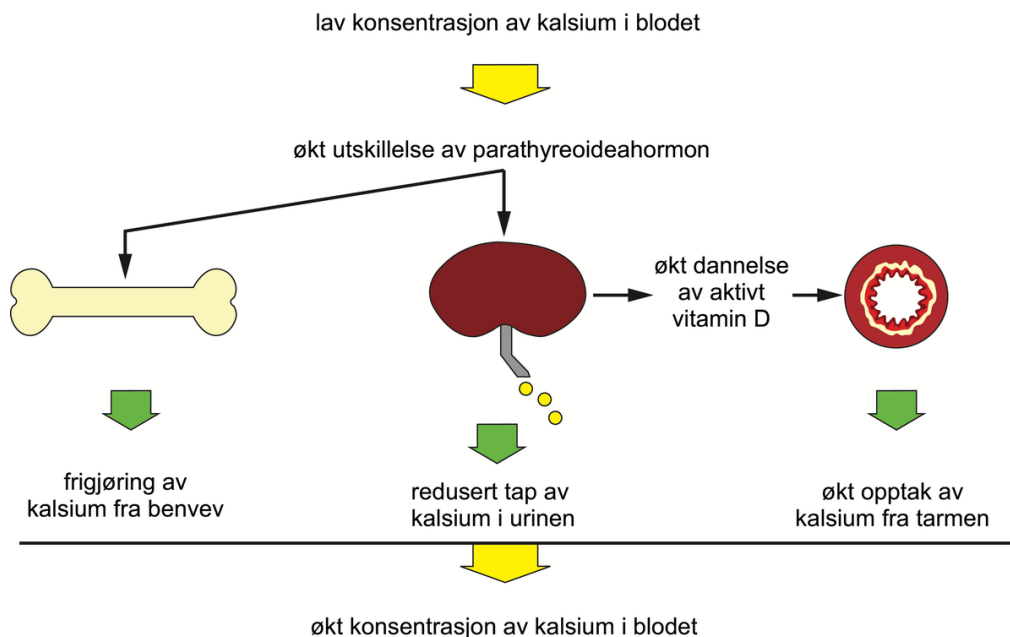
2.4.1 Paratyreoideahormon

Paratyreoideahormon, forkortes til PTH, er et proteinhormon som dannes i biskjoldkjertlene. Sekresjonen av PTH reguleres av den ekstracellulære konsentrasjonen av Ca^{2+} , og kun en liten endring av Ca^{2+} er nok til å endre PTH - sekresjonen. Dermed vil redusert Ca^{2+} - konsentrasjon føre til økt sekresjon av PTH, og økt Ca^{2+} - konsentrasjon vil føre til nedsatt PTH sekresjon [3].

Ca^{2+} - konsentrasjonen vil øke ved at PTH vil øke reabsorpsjonen i nyretubuli. Dette gjør at Ca^{2+} - utskillingen i urinen reduserer, og dermed minsker Ca^{2+} tapet fra ekstracellulærvæsken. PTH vil også gjøre at reabsorpsjonen av fosfat i nyretubuli reduseres og da vil økt fosfat utskilling senke fosfatkonsentrasjonen i ekstracellulærvæsken. Da vil kroppen skille ut det fosfatet som frigjøres fra beinvevet sammen med Ca^{2+} . Det er viktig, fordi høy fosfatkonsentrasjon i ekstracellulærvæsken vil hindre ytterligere nedbryting av beinvev og frigjøring av Ca^{2+} . PTH kan også øke Ca^{2+} - konsentrasjonen ved å frigjøre det fra beinvev og ved å øke nyrenes produksjon av kalsitriol, som vil føre til økt absorpsjon av Ca^{2+} i tyntarmen. PTH har ingen direkte virkning på Ca^{2+} absorpsjonen i tarmen.

Dersom Ca^{2+} konsentrasjonen skulle øke vil Ca^{2+} sensorene merke dette, som vil føre til at PTH - sekresjonen blir redusert. Mer Ca^{2+} bli tapt gjennom nyrene og frigjøringen av Ca^{2+} fra beinvevet

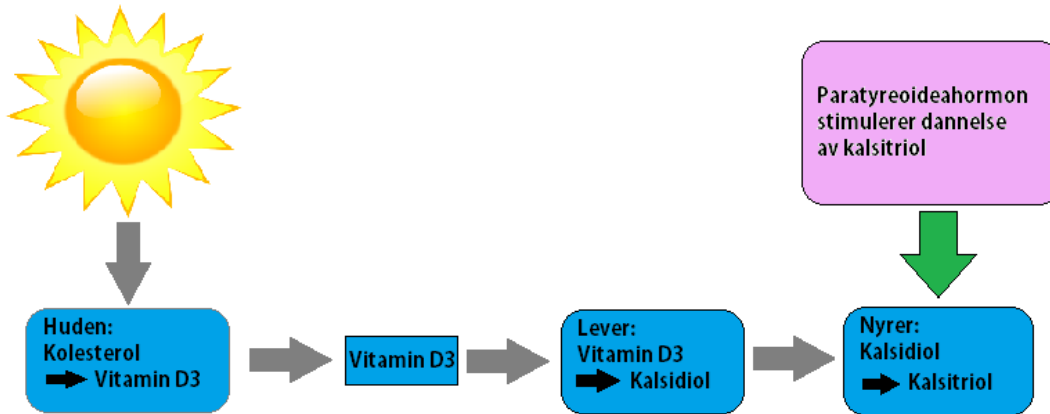
minker. Dette vil da føre til at tilførselen av Ca^{2+} blir redusert til ekstracellulærvæsken og dermed blir Ca^{2+} konsentrasjonen mindre. Dersom dette ikke er nok vil Ca^{2+} - absorpsjonen fra tarmen reduseres etterhvert som aktivering av vitamin D_3 avtar [3]. Se figur 2.2 for PTH regulering.



Figur 2.2: Hvordan PTH regulerer kalsiumnivået i blod (kildeliste figur 2).

2.4.2 Vitamin D

Vitamin D er fellesbetegnelsen for en gruppe beslektede steroider. Vitamin D_3 finnes i dyr, og vitamin D_2 finnes i planter. Vi får vitamin D_3 fra to kilder. Den første kilden er fra ultrafiolette stråler fra sollyset som påvirker kolesterolet som er i huden og den andre kilden er fra maten vi spiser. Vitamin D_3 transporteres med blodet til leveren. I leveren blir vitamin D_3 omdannet til kalsidiol, som så blir transportert til nyrene der det blir omdannet til kalsitriol. Denne omdanningen reguleres av PTH. Et fall i Ca^{2+} - konsentrasjonen i blodet fører til økt PTH - sekresjon, og dette fører til økt omdannelse av kalsidiol til kalsitriol. Dersom Ca^{2+} konsentrasjonen blir for høy vil det motsatte skje, ved at omdanningen reduseres. Når kalsidiol eller kalsitriol sirkulerer i blodet er det bundet til et transportprotein, kalt vitamin D - bindende globulin [3]. Figur 2.3 illustrerer Vitamin D_3 i kroppen.



Figur 2.3: Viser hvordan vitamin D_3 virker i kroppen.

Kalsitriol er det eneste av de to hormonene som er biologisk aktivt, hvor kalsidiol kun er et prohormon med begrenset biologisk effekt. Hovedoppgaven til kalsitriol er å øke Ca^{2+} - absorpsjonen i tynntarmen, men kan og øke Ca^{2+} - overføringen fra beinvevet til blodet [3].

2.4.3 Kalsitonin

Kalsitonin er et peptidhormon som dannes i skjoldkjerTELens c-celler. Kalsitonin - sekresjonen øker når Ca^{2+} - konsentrasjonen i den ekstracellulærvæsken øker. Kalsitonin hemmer nedbryting av beinvev og øker Ca^{2+} - tapet gjennom nyrene. Dette vil da føre til at Ca^{2+} - konsentrasjonen blir redusert i ekstracellulærvæsken. Kalsitonin vil dermed virke som det motsatte av PTH [3].

2.5 Klinisk signifikans

Som beskrevet over har Ca^{2+} en stor betydning for flere av kroppens funksjoner. Følgende indikasjoner hos pasienten tilsier at ionisert kalsium i blodet må måles [9]:

- Større kirurgiske inngrep med massive blodtransfusjoner og evt. albuminfusjoner
- Større brannskader
- Kritisk syke pasienter (multiorgansvikt)
- Syre/base – forstyrrelser
- Hypo - eller hyperalbuminemi
- Neonatal hypo - og hyperkalsemi
- Hemodialyse
- Nefrotisk syndrom
- Akutt pankreatitt

2.5.1 Hypokalsemi og hyperkalsemi

Dersom kalsiumnivået i kroppen forstyrres kan dette føre til to tilstander, hypokalsemi eller hyperkalsemi.

Hypokalsemi er en tilstand som oppstår når kalsiumkonsentrasjonen i blodet blir for lavt. Fallet av kalsium kan skyldes en reduksjon av albuminbundet eller ionisert kalsium. Det kan også skyldes begge. Ved hypokalsemi vil aksjonspotensialet lettere utløses, slik at man får høyere tendens til muskelkontraksjoner som varer over lenger tid. Den vanligste årsaken til redusert konsentrasjon av total kalsium i blodet og normal konsentrasjon av ionisert kalsium er hypoalbuminemi, eller vitamin D-mangel. Serumkonsentrasjonen av kalsium er lav når konsentrasjonen av albumin er lav, da 1 g/dl albumin binder omtrent 0.8 mg/dl kalsium [10]. Tilstander der det vil oppstå lave konsentrasjoner av albumin er kronisk leversykdom, nefrotisk syndrom, kongestiv hjertesvikt og underernæring [10].

Hyperkalsemi oppstår dersom det er for høy konsentrasjon av kalsiumioner utenfor cellene. Hyperparathyreoidisme eller svulster på parathyreoideakjertlene kan være hovedgrunnene til at hyperkalsemi oppstår. Ved hyperparathyreoidisme vil det oppstå en sterk produksjon av

hormonet PTH i biskjoldbruskkjertlene [11]. Som nevnt tidligere, har parathyreoideahormon (PTH) som hovedoppgave å regulere kalsiumnivået i kroppen, ved at kalsiumreseptorene hos parathyreoideacellene registrerer konsentrasjonen av Ca^{2+} i den ekstracellulære væsken.

2.6 Faktorer som påvirker kalsiumkonsentrasjonen

Det er mange faktorer som kan påvirke kalsiumkonsentrasjonen, som stramming av neven eller bruk av stase ved blodprøvetaking, pH forandring, fyllingsgrad av prøverøret, luft og krysskontaminering. Videre blir pH, fyllingsgrad, luft og krysskontaminering sett nærmere på.

2.6.1 pH

Binding av kalsium til protein og anioner påvirkes av pH [12]. Forandring i pH ved at den synker vil påvirke mengden ionisert kalsium i blodet da H^+ -ionene vil binde seg til plasmaproteinene som for eksempel albumin. Kalsiumionene får dermed ikke bundet seg til bindingssetene på plasmaproteinene, som resulterer i høyere nivå av ionisert kalsium [13]. Dersom pH øker i en prøve, vil ioniseringen og den negative ladningen på albumin og andre proteiner øke. Dette fører til en økning av proteinbundet kalsium og lavere verdi av ionisert kalsium [10]. Se tabell 2.1 for enkel oversikt over hvordan pH regulerer kalsium.

Tabell 2.1: Viser hvordan pH påvirker proteinbundet og ionisert kalsium

pH i prøve	Proteinbundet kalsium	Ionisert kalsium
↑	↑	↓
↓	↓	↑

2.6.2 Luft og fyllingsgrad

Prøven til ionisert kalsium skal bli behandlet anaerobt. Dette er for å hindre forandringer i pH og nivået av ionisert kalsium. Glassene som blir brukt skal bli fylt helt opp og forseglet. Dette er for å forhindre tap av CO₂, da det vil gjøre at pH øker. Dersom prøven ikke blir analysert med en gang, skal den bevares på is for å forhindre at metabolismen i blodet fortsetter. Dette kan resultere i falskt prøvesvar [10]. Når prøven er sentrifugert kan den holde seg stabil i flere timer ved 25 grader og opptil flere dager ved fire grader, men bare dersom korken holdes på hele tiden [10].

2.6.3 Krysskontaminering

Når en skal ta prøver til ionisert kalsium er det viktig å tenke på glass - rekkefølgen. Dersom en skal ta prøve i et EDTA glass må dette glasset fylles etter glasset som skal brukes til å analysere ionisert kalsium. Dette er fordi EDTA binder Ca²⁺ og vil dermed resultere i et lavere analysesvar. Dette gjelder også citrat og oksalat. Heparin er den eneste akseptable antikoagulant da det ikke påvirker kalsium i like stor grad. Det kan derimot medføre falskt lavt analysesvar av ionisert kalsium, dersom det blir krysskontaminering mellom heparin- og serumglass [10].

2.7 Måling av ionisert kalsium

ISE (ioneselektiv elektrode) er mest brukt for å måle ionisert kalsium. Kalsium ISE inneholder en kalsium-selektiv membran og en intern referanseelektrode. Membranen er i væskeform og inneholder ioneselektive kalsium sensorer løst i en organisk væske festet i en polymerisk matrix [10]. Det ISE gjør er at den brukes til å bestemme aktiviteten av ioner i væskefylte løsninger ved å måle det elektriske potensialet [14].

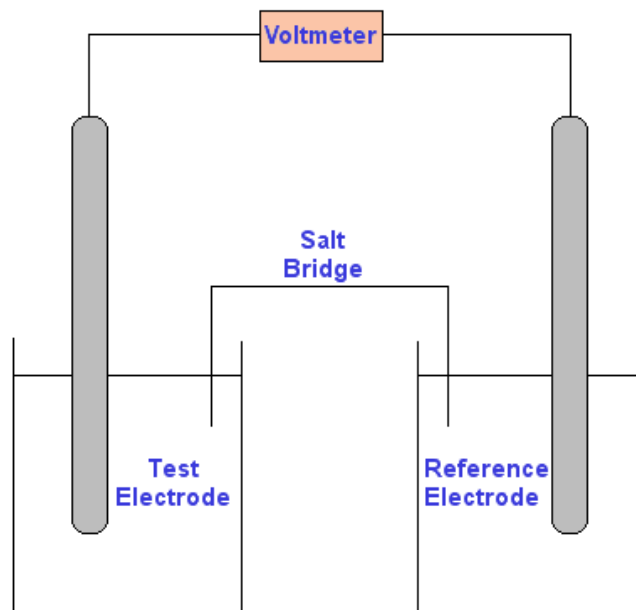
I dette prosjektet blir maskinen RapidPoint 500 brukt. Prinsippet til denne maskinen er som følger: Potensiometrisk metode ved bruk av standard ioneselektiv elektrodeteknologi (ISE) (vedlegg 2).

2.7.1 Potensiometri

Potensiometri er en elektrokjemisk teknikk som brukes til å måle den elektriske potensialforskjellen mellom to elektroder i en elektrokjemisk celle [15]. For å regne ut denne forskjellen brukes Nernst ligning som sees under i ligning nummer 1.

$$E = E^{\circ} - \frac{N}{n} \times \log \frac{a_{Red}}{a_{Ox}} = E^{\circ} - \frac{0.0592V}{n} \times \log \frac{a_{Red}}{a_{Ox}} \quad (1)$$

På det mest grunnleggende nivået består et potensiometer av to elektroder som står i to løsninger, knyttet sammen av en saltbro. Et voltmeter er festet til elektrodene for å måle den potensielle forskjellen mellom dem [16]. Se figur 2.4.



Figur 2.4: Viser hvordan potensiometri er på sitt mest grunnleggende (Kildeliste figur: 3).

2.8 Total kalsium

Metoder for å måle total konsentrasjon av kalsium er spektrofotometri, ion spesifikke elektroder (ISE) og atomabsorpsjon.

Spektrofotometri bruker metallokromiske indikatorer som skifter farge når de binder kalsium. Selv om denne metoden er mindre nøyaktig enn atomabsorpsjonsspektrometri, har spektrofotometri vært enklere å automatisere [10].

Ion spesifikke elektroder, ISE, vil surgjøre prøven for å omgjøre proteinbundet kalsium til ionisert før måling av total kalsium [10].

Prinsippet til atomabsorpsjon er at atomene i en prøve går i grunntilstand. Atomene har nå mulighet til å absorbere lys og den mengden lys blir målt og brukes til å bestemme konsentrasjonen av atomene i prøven [10].

For å måle total kalsium er det foretrukket å bruke serum eller heparinisert plasma. Citrat, oksalat og EDTA bør ikke brukes som antikoagulanter fordi de danner komplekser med kalsium [10].

Indikasjoner for å måle total kalsium er blant annet [17]:

- Sykdommer i skjelettet og i gl. parathyreoidea
- Nyrestein
- Resividerende duodenalsår
- Pankreatitt
- Depresjoner
- Myelomatose
- Sarkoidose
- Maligne neoplasmer
- Tyreotoksikose

2.9 Ionisert kalsium kontra total kalsium

Som nevnt tidligere så er kalsium fordelt i tre ulike deler i kroppen. Når en måler kalsium i serum måles den totale kalsiumkonsentrasjonen som innebærer både bundet og ionisert kalsium. Når albuminkonsentrasjonen endrer seg, vil den totale konsentrasjonen endre seg men ionisert kalsium vil ikke bli påvirket av dette. For å få den mest korrekte målingen, vil man korrigere totalkalsium for albuminkonsentrasjonen ved hjelp av en formel som kan settes opp på ulike måter. I oppgaven er det blitt valgt å bruke denne formelen som eksempel: $\text{Korrigert kalsium} = [\text{s-kalsium}] + 0,02 * (40 - \text{s-albumin (g/l)})$ [18]. Dersom en ved hjelp av denne formelen påviser en forstyrrelse i kalsiumomsetningen bør en måle ionisert kalsium. Ionisert kalsium er en mer presis målemetode [18]. Hos friske pasienter så er albuminkorrigert total kalsium en god måling for ionisert kalsium, og kan erstatte direkte måling av ionisert kalsium. Pasienter med tilfeller som avvikende albuminkonsentrasjon, økt konsentrasjon av kompleksbindere (massive blodtransfusjoner (citrat), uremi, hypoksi) og syre - base - forstyrrelser (nedsatt fri fraksjon ved acidose), kan totalkonsentrasjon gi et uriktig bilde av ionisert kalsium [17].

Ionisert kalsium er regnet som den beste indikatoren for å måle kalsium fordi den er biologisk aktiv og nøye regulert av PTH og kalsitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) [19]. Det er derfor viktigere å måle ionisert kalsium enn total kalsium ved alvorlige patogene tilfeller.

Selv om det er en dyrere analyse enn total kalsium, så har det vist seg å måle ionisert kalsium ut i fra total kalsium ikke er veldig nøyaktig, spesielt hos pasienter med komplisert sykdom [20].

3 MATERIALE OG METODE

I denne delen av prosjektet vil det i detaljer skildres hva slags materiale som ble tatt i bruk, og hvordan det praktiske arbeidet ble utført. Under metode vil det bli beskrevet hvordan prøvetaking, sentrifugering, og analysering ble gjennomført.

3.1 Materiale

Ettersom problemstillingen er todelt, ble hver del analysert uavhengig av hverandre. Til forsøket ble det brukt 4 og 5 ml gel glass med produktnavn Z Serum Sep Clot Activator, som blir produsert i Østerrike. Clot Aktivatoren består av silica partikler som gjør at blodet koagulerer fortere. Det ble samlet inn prøver fra 22 pasienter og fra hver pasient ble det tatt seks glass. Før det praktiske arbeidet begynte var det planlagt å samle prøver fra 30 pasienter, men kom frem til at det var stor nok variasjon i analysesvarene til at det holdt med 22 pasientprøver.

I samarbeid med sykehuset ble det kommet frem til at det var mest optimalt med prøver fra inneliggende pasienter og ved poliklinikken, fremfor at prøvetakingen foregikk på skolen. Prøvene ble tatt på morgenrunden hvor det var en bioingeniør som utførte blodprøvetakingen, da grunnen til dette var at pasienten hadde andre prøver som skulle bli tatt og det ble mer effektivt med hensyn til tiden. Pasientene følte seg også tryggere med tanke på at det var en autorisert bioingeniør som utførte prøvetakingen.

Før prøven ble tatt måtte pasienten skrive under på et samtykkeskjema (vedlegg 3). Det ble unngått å ta prøver av pasienter som lå på smitterom på grunn av egen sikkerhet da korken måtte tas av. Det ble unngått å ta prøver av pasienter som skulle ta mange prøveglass fra før.

3.1.2 Liste over utstyr

- Butterflykanyle
- Kanyleholder
- Gel glass, 4 ml og 5 ml
- Benkepapir
- Hansker
- Sprøyte
- RapidPoint 500
- Kubota 5922

Til prosjektet ble det tildelt et beløp på 3000,- kroner fra NTNU til disposisjon. På et laboratorium er det viktig å være bevisst på kostnader og utgifter, og det ble derfor satt opp et budsjett (vedlegg 4).

3.2 Metode

I denne delen av kvalitetssikringsprosjektet vil det bli detaljert forklart hvordan forsøket ble utført på sykehuset, og hvilke ulike statistiske metoder som ble tatt i bruk for å komme frem til resultatene.

3.2.1 Prøvetakning

Prøvene ble tatt på sykehusets avdelinger. Det gjorde at resultatene ble variert når en ser på gjennomsnittet og differansen. Blodprøvene ble tatt på morgenrunden slik at det var flere pasienter og avdelinger å velge fra, og analyseringen ble satt i gang så tidlig på dagen som mulig for at tiden skulle bli disponert på en effektiv måte. Prøvetakingene og analyseringene ble fordelt på over seks dager, hvor det i gjennomsnitt ble tatt prøver av fire pasienter per dag. Det ble tatt seks glass fra hver pasient, hvor det var tre 4 ml gel glass og tre 5 ml gel glass. Tilsammen ble det tatt cirka 27 ml blod fra hver pasient.

Blodprøvene til bacheloroppgaven ble tatt sammen med pasientens andre rekvirerte blodprøver, og det var viktig å ta glassene i riktig rekkefølge. Dette var for å unngå krysskontaminering av stoffer fra de andre glassene. Glassene som skulle brukes til del én av oppgaven, analysering av fyllingsgrad, ble tatt først. Her ble tre forskjellige glass fylt med ulikt volum i 5 ml gel glass. Glassene ble delt inn slik: Helt fullt, 2/3 fullt, og 1/3 fullt. Glasset som ble fylt helt opp ble også brukt som referanseglass hos pasienten. Til del to av oppgaven, analysering av lufttilførsel, ble glassene fylt helt opp i 4 ml gel glass.

Til selve prøvetakingen ble det brukt blå butterflykanyler. Grunnen til dette er at det ble lettere å stoppe ved de ulike fyllingsgradene, da nålestørrelsen er mellom 25-27 gauge og mindre enn standard grønne kanyler som er 21-23 gauge [21]. Butterflykanylene er mindre i nålestørrelse, som vil medføre et høyere trykk i slangen [21] [22]. Dette kan forårsake hemolyse av blodcellene, og vil bety en økning av fritt hemoglobin - som kan interferere med målingen av ionisert kalsium [23]. Hemolyse kan også oppstå ved for stram bruk av stase, eller ved muskelpumping under prøvetaking [24].

Ved bruk av butterfly er det viktig å ha med et kasteglass før en skal fylle gel glassene som skal bli brukt til analysering av ionisert kalsium. Dette er for å unngå oksygentilførsel i det første glasset. Slangen som er festet til nålen inneholder luft, som vil erstatte en andel av vakuemet i glasset. Dette kan resultere i falskt analysesvar.

Prosjektet var helt anonymisert, og pasientenes prøver ble markert med et tall- og nummereringssystem. For å ha oversikt over hvilke glass som hørte til hvem markerte vi glassene med ulik lufttilførsel med numrene 1, 2 og 3, og glassene i forsøket med fyllingsgrad med A, B, og C. Se tabell 3.1

Tabell 3.1: Det første nummeret under fyllingsgrad og lufttilførsel indikerer pasientnummeret. A, B, C indikerer ulik fyllingsgrad, og 1, 2, 3 er ulik lufttilførsel.

Pasient	Fyllingsgrad	Lufttilførsel
1	1-A	1-1
	1-B	1-2
	1-C	1-3
2	2-A	2-1
	2-B	2-2
	2-C	2-3
3	3-A	3-1
	3-B	3-2
	3-C	3-3

3.2.2 Sentrifugering

Før prøvene kunne sentrifugeres, måtte de koagulere i omtrent 30 minutter i opprett stilling i romtemperatur. Prøvene ble sentrifugert på sentrifugen Kubota 5922, og på programmet 2500 G, i 15 minutter. Ettersom prøvene ble sentrifugert sammen med sykehusets prøver, var dette programmet mest optimalt å bruke. Det er også mulig å bruke et program som er på 2200 G, i 8 minutter. Før prøvene ble sentrifugert, var det viktig å sjekke om prøvene hadde koagulert. Dette kan sees ved at det har kommet et lag med serum øverst i røret, og når en vender på røret og gir et lite rykk, så vil det koagulerede blodet slippe glasset og holdes sammen i en “klump”. Det er viktig å sentrifugere prøvene innen en time [9].

3.2.3 Analysering på RapidPoint 500

Til prosjektet ble prøvene analysert på RapidPoint 500 som Ålesund Sykehus disponerte til prosjektet. Maskinen ble plassert på laboratoriet slik at den kunne bli benyttet når det passet. Det var de ansatte på laboratoriet som sørget for at maskinen var klar til bruk hver morgen, da med oppstart og kjøring av kontroller. Kalibrering av maskinen var regelmessig, og bestod av 1-punkts-, 2-punktskalibrering, og full kalibrering. De ulike kalibreringene ble satt i gang jevnlig, men også når det var nødvendig for maskinen etter analysering av flere prøver. Kalibreringene

måtte til tider avbrytes dersom prøven skulle til å bli analysert, ettersom analysesvarene ikke ville vært korrekte ved å vente til kalibreringen var ferdig utført.

Til selve analyseringen av pasientprøvene ble det brukt sprøyter som var beregnet til RapidPoint 500. For at resultatene skulle bli mest optimale var det viktig at sprøyten inneholdt minimum 250 µl serum til analysering ifølge prosedyrene til Ålesund sykehus (vedlegg 1). Sprøytene ble fylt til cirka 300 µl serum hver gang for å være på den sikre siden.

Verdien til referanseglasset ble brukt som en «normalverdi» hos pasienten, og ble sammenliknet med de andre fyllingsgradene. For at tiden på laboratoriet skulle bli brukt mest effektivt, ble glassene med ulik fyllingsgrad analysert fortløpende i tur og orden når det passet seg.

Til analyseringen av glassene med tilførsel av oksygen ble brukt tre ulike glass. Grunnen til at det ble tatt i bruk tre glass for analyseringen var for at volumet ikke skulle endres for hver analysering, noe som hadde skjedd dersom det bare ble brukt et glass. Dette var for at alle faktorene som spilte inn skulle være optimale, hvor det kun var lufttilførsel som var av betydning. Analyseringen foregikk ved at korkene til glass nummer 1, 2 og 3 ble tatt av og stoppeklokken ble satt på 15 minutter. Deretter ble glass nummer 1 analysert etter det hadde gått 15 minutter, glass nummer 2 etter 30 minutter og glass nummer 3 etter det hadde gått 60 minutter.

Referanseområde til ionisert kalsium er 1.14-1.28 mmol/L. Det var viktig å få spredning i analyseresultatene, hvorav noen lå under nedre grense og noen over øvre grense.

3.2.4 Fremgangsmåte på RapidPoint 500

1. Logg på med ansattnummer
2. Før en kan bruke maskinen, må det stå **“READY”** oppe i venstre hjørne, og at alle parameterne er klare (dersom det er strek/kryss over dem, eller de er gule, kommer det ikke ut svar på dem)
3. Trekk opp serum i en sprøyte og fjern eventuell luft
4. Velg venøs prøve eller arteriell prøve
5. Velg ionisert Ca program
6. Sett sprøyten på prøveporten
7. Trykk start. *Det er veldig viktig å trykke start etter at sprøyten er satt på prøveporten. Dersom en trykker start før, vil RapidPoint 500 trekke inn luft.*
8. Prøven trekkes inn i instrumentet og serumet suges inn og analyseres
9. Når instrumentet piper og sprøyten skyves ut igjen, ta av sprøyten og trykk på pilen nede til høyre hjørne
10. Legg inn ID på prøven på **Patient ID**
11. Legg inn **Accession No** (Prøvenummer)
12. Når all prøve informasjon er lagt inn, trykk på pil nede til høyre hjørne
13. Når prøven er ferdig analysert, kommer svarene opp på skjermen og skrives ut på papir.

NB! Svarene vil ikke komme opp eller bli skrevet ut, før det er lagt inn info på begge feltene med pil, altså Patient ID og Accession No, og en har trykt videre fra prøve info bildet.

Fremgangsmåte er hentet fra vedlegg 1.

3.3 Statistisk metode

For å kunne fastslå om det var en signifikant forskjell mellom faktorene, ble det utført differanseplott og paret t – test. Utregningen av p -verdien ble gjort i Excel. En t-test går ut på å studere differansene mellom metode A og metode B.

3.3.1 Differanseplott

Differanseplottene ble utført i Excel. I differanseplottene kan det sees to linjer, som videre vil bli omtalt som grenser (figur 4.1 og 4.2). Disse grensene er tillatt totalfeil, på $\pm 2\%$ [25], og baseres på biologisk variasjon. Tillatt totalfeil brukes for å vurdere om det observerte avviket har klinisk relevans, og vil hjelpe med å tolke resultatet. Siden kalsiumkonsentrasjonen er strengt regulert og har liten biologisk variasjon, blir også akseptgrensene for tillatt totalfeil strenge. Så lenge differansen er innenfor akseptgrensene anses ikke avviket å ha klinisk relevans.

I differanseplottet ble det bestemt å legge inn alle resultater fra de ulike fyllingsgradene i samme plott og alle resultater fra de ulike lufttilførselene i samme plott. På denne måten er det lettere å sammenligne de ulike resultatene opp mot hverandre. I differanseplottene er differansen (%) gitt på y – akse og pasientprøvene (0 – 22) plottet på x – akse. Den øvre og nedre tillatte totalfeil er lagt inn som røde linjer i differanseplottene.

Differanseplottene for fyllingsgrad viser differansen mellom et fullt glass og et glass som er fylt 2/3, og hvordan differansen er mellom et fullt glass og et glass som er fylt 1/3.

Differanseplottene for lufttilførsel viser differansen mellom lufttilførsel i 0 minutter og 15 minutter, mellom 0 minutter og 30 minutter og mellom 0 minutter og 60 minutter.

3.3.2 Paret t-test

I dette prosjektet blir det brukt en tosidig t-test som går ut på å studere differansen mellom metode A og metode B. T-test tester om metode A og B gir signifikant forskjellige verdier, og hypotesen kan settes opp som gitt under i ligning nummer 2 [26]:

$$H_0 : \mu_d = 0, H_1 : \mu_d \neq 0 \quad (2)$$

I en parret t-test beregnes også t_{obs} som gitt i ligning nummer 3 under:

$$t_{obs} = \frac{\bar{d}(\mu_D)}{S_D} \times \sqrt{n} \quad (3)$$

Der

T_{obs} – Observert verdi

\bar{d} – Gjennomsnittsdifferansen

μ - Forventningsverdi

D – Differanse

S_D – Standardavvik

n – Antall prøver

For å kunne tolke resultatet fra en t – test brukes et signifikansnivå. Signifikansnivået som blir brukt i dette prosjektet er 0,05, og skal sammenlignes med p – verdien. Dette er for å finne ut om en kan forkaste H_0 og akseptere H_1 , eller beholde H_0 . Er p - verdien lavere enn 0,05, så vil H_0 bli forkastet og H_1 akseptert. Er p - verdiene høyere enn 0,05 så velger en å beholde H_0 [27].

Utreningen av p – verdien ble gjort i Excel.

Resultatet til t – testen vil bli presentert i gjennomsnitt. Dette er fordi t – testen baserer seg på gjennomsnittsverdier for å se om det har en signifikant betydning, i forskjell fra differanseplottet der hver differanse til hvert enkelt prøvesvar vil bli presentert og vurdert om det har en klinisk relevans eller ikke.

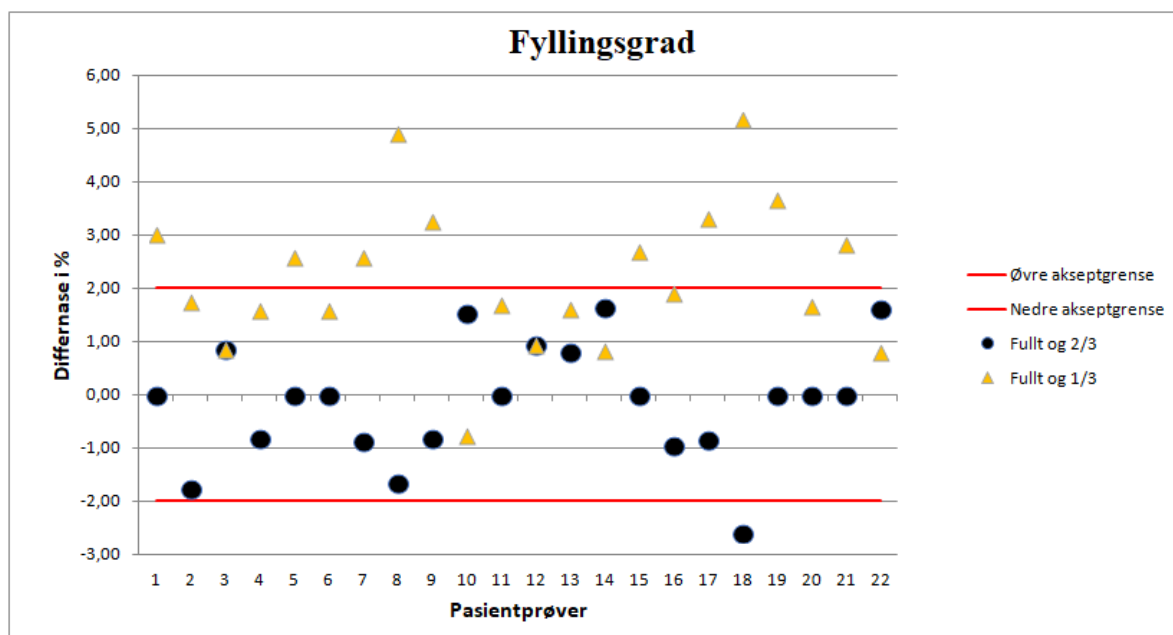
Resultatene fra t – testen (p – verdien) for fyllingsgrad og lufttilførsel settet opp sammen med differansen mellom referanseglassene og ulike preanalytiske faktorer og pH

4 RESULTAT

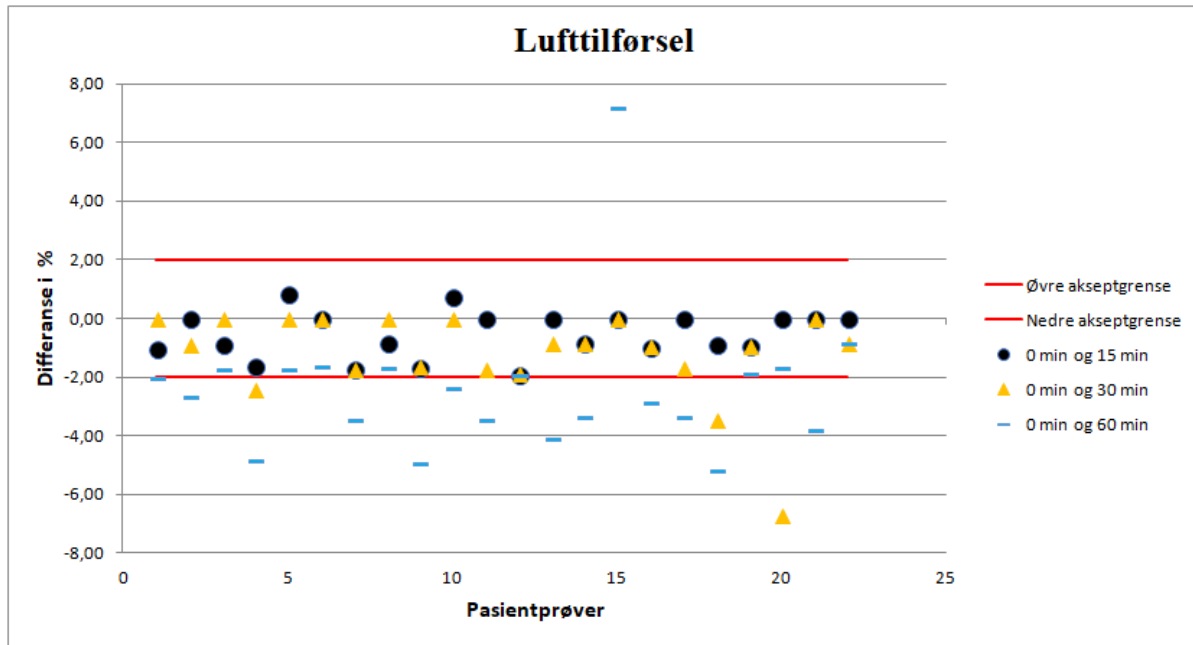
Nedenfor vises differanseplott og paret t – test for analyseresultatene. Komplette analyseresultat vises i vedlegg 5 – 10.

Differanseplott for de ulike fyllingsgradene og lufttilførsel er presentert henholdsvis i figur 4.1 og figur 4.2.

Differanseplottet for fullt og 1/3 viser en større forskjell i differansen enn plottet for fullt og 2/3 (figur 4.1). Differansen mellom referanseglasset og glassene som har stått ute i luft i 60 minutter er større enn hos glassene som har stått med tilgang til luft i 15 minutter og 30 minutter.



Figur 4.1: Differanseplott for ionisert kalsium med ulike fyllingsgrader oppgitt i prosent med øvre (+2 %) og nedre (-2 %) akseptgrenser. De svarte punktene er differanse mellom fullt og 2/3, de gule punktene er differansen mellom fullt og 1/3.



Figur 4.2: Differanseplott for de ulike lufttilførselene i ionisert kalsium gitt i prosent med nedre (-2 %) og øvre (2 %) akseptgrenser. De svarte punktene er differansen mellom 0 minutt og 15 minutt, de gule punktene er differansen mellom 0 minutter og 30 minutter og differansen mellom 0 minutter og 60 minutter er de blå punktene.

I tabell 4.1 er fyllingsgraden presentert. Fyllingsgraden til prøve B er $\frac{2}{3}$, og prøve C er $\frac{1}{3}$. Tabell 4.1 viser at konsentrasjonen til ionisert kalsium er blitt redusert med 0,025 mmol/L når glasset har en fyllingsgrad på $\frac{1}{3}$. P – verdien til prøve C er betydelig lavere enn hos prøve B. I følge tabell 4.1 øker pH med minkende fyllingsgrad

Tabell 4.1: Gjennomsnittlig konsentrasjon (mmol/L), differanse (mmol/L), P – verdi og pH av ionisert kalsium ved ulike fyllingsgrad. Prøve A har ikke verdier på differanse eller p – verdi, da prøvene ble vurdert i forhold til referanseglasset A.

Prøve	Fyllingsgrad	Gjennomsnitt [mmol/L]	Differanse [mmol/L]	P - verdi	pH
A	3/3	1,163			7,43
B	2/3	1,162	-0,001	0,633	7,46
C	1/3	1,138	-0,025	<0,01	7,52

I tabell 4.2 presenteres lufttilførselen, der prøve 1 har vært utsatt for luft i 15 minutter, prøve 2 i 30 minutter og prøve 3 i 60 minutter. Tabell 4.2 viser at konsentrasjonen av ionisert kalsium er signifikant redusert etter 60 minutter med 0,028 mmol/L. P – verdien blir betydelig lavere ved 60 minutter enn ved 15 minutter. Slik som ved tabell 4.1, viser tabell 4.2 at pH øker. pH øker proporsjonelt med økt lufttilførsel.

Tabell 4.2: Gjennomsnittlig konsentrasjon (mmol/L), differanse (mmol/L), P - verdi og pH av ionisert kalsium ved ulike lufttilførsel. Prøve A har ikke verdier på differanse eller p – verdi, da prøvene ble vurdert i forhold til referanseglasset A.

Prøve	Lufttilførsel	Gjennomsnitt [mmol/L]	Differanse [mmol/L]	P - verdi	pH
A	0 minutter	1,163			7,43
1	15 minutter	1,157	-0,006	0,006055	7,45
2	30 minutter	1,149	-0,014	0,001739	7,47
3	60 minutter	1,135	-0,028	0,000155	7,52

5 DISKUSJON

Hensikten med denne bacheloroppgaven var om ulike preanalytiske faktorer som fyllingsgrad og lufttilførsel kunne påvirke prøvesvaret til ionisert kalsium. I denne delen av oppgaven skal resultat og funn tolkes og settes opp mot et signifikansnivå og en tillatt totalfeil (akseptgrenser).

5.1 Fyllingsgrad

Problemstillingen vår er todelt, hvor det har i den første delen blitt tatt i bruk tre glass med ulik fyllingsgrad. I følge prosedyrene til Ålesund Sykehus (vedlegg 1) skal rørene fylles helt opp for å oppnå optimale prøvesvar.

Resultatene fra forsøket viser at lavere fyllingsgrad enn fullt glass resulterer i en gradvis høyere signifikant forskjell. Fra tabell 4.1 kan man se at differansen mellom glassene med fyllingsgrad 2/3 og 1/3 øker betraktelig. Glassene som kun var fylt opp til 1/3 hadde betydelige lavere verdier enn de andre prøvene. Glassene som var fylt 2/3 og 1/3 hadde høyere pH enn referanseglassene, som følge av eksponering for luft i korte perioder og tap av CO₂. Som nevnt tidligere er det blitt brukt gel glass hvor det er mikroskopiske silica partikler som gjør at blodet koagulerer fortere. Ved mindre volum av serum vil det være mer luft i røret som blandes med prøven ved prøvetaking, og dette fører til en økning av pH i prøvematerialet, som minker verdien til ionisert kalsium.

Det er bare ett punkt i differanseplottet hvor differansen mellom fullt glass og 2/3 er utenfor akseptgrensene. Dette tilsvarer et avvik på 4,5% av prøvene. Fra t - testen var funnene av glass som var fylt 2/3 fullt at det ikke var en statistisk signifikant forskjell, og man kan dermed si at det ikke har klinisk relevans. Som en følge av dette, beholdes H₀.

I differanseplottet ser man derimot at det er et mye høyere avvik, på 45,5%, i differansen mellom fullt glass og 1/3 fullt. Her faller i underkant av halvparten av alle pasientprøvene utenfor akseptgrensene. Resultatene fra t-testen som er blitt beregnet mellom fullt glass og 1/3 viser at

det er en statistisk signifikant forskjell, og det har klinisk betydning. Dette betyr at man forkaster H_0 , og aksepterer H_1 .

Fra en tidligere bacheloroppgave fra 2015 [28] er det blitt undersøkt forskjellen mellom et fullt referanseglass og halvfullt glass. Det ble kommet frem til at det var en signifikant forskjell mellom deres halvfulle glass og referanseglassene, og H_1 ble dermed akseptert. I vår oppgave er det ulikheter i fyllingsgradene som påvirker resultatene i større grad, og en ser at det kun er en statistisk signifikant forskjell i de 1/3 fylte glassene kontra de halvfulle glassene fra 2015-studien. Det tidligere forsøket kan dermed ikke støttes fullstendig i diskusjonen da det er ulikt volum man tar stilling til når en ser etter signifikant betydning.

Det var flere problemer som kunne oppstå i denne delen av oppgaven. Ved selve prøvetakingen var det nødvendig at det ble tatt i bruk butterflykanyle, slik at det skulle bli lettere å avslutte fyllingen av glassene. Det kunne til tider være vanskelig å se de markerte linjene på prøveglassene, da det var rask blodgjennomstrømning som dannet skum. Det hendte ved et par tilfeller at det ble til dels unøyaktig fylling, men som ikke var nok til å påvirke resultatet. Dersom fyllingen var for unøyaktig, måtte det bli tatt et nytt glass til analysering.

Etttersom de ulike fyllingsgradene medførte til mindre volum av serum i noen av glassene, var det en stor sjanse for at enten luft eller gel kunne bli aspirert opp i sprøyten. Det var dermed viktig å være nøyaktig med aspireringen, og holde sprøyten loddrett helt til den skulle analyseres. Ved å holde sprøyten loddrett unngikk man at det ble dannet luftbobler som kan påvirke pH i serumet.

5.2 Lufttilførsel

For den andre delen av prosjektet som omhandler lufttilførsel ble det som nevnt tidligere brukt tre ulike glass fra hver pasient. Disse glassene ble fylt helt opp og korken ble dermed tatt av når selve forsøket startet.

I tabell 4.2 ser en at den gjennomsnittlige differansen øker etter hvor lenge glasset har stått ute i luft, noe som tyder på at prøven blir påvirket av dette. For å kunne si om lufttilførsel har en klinisk relevans, har det blitt utført t - test mellom referanseglasset og mellom de tre glassene med ulik lufttilførsel. Ut i fra t - testen har det blitt regnet ut en p - verdi, disse verdiene står oppført i tabell 4.2. I tabell 4.2 kan en se at alle p - verdiene er mindre enn 0.05. Dette betyr at H_0 forkastes og H_1 blir akseptert, som tilsier at de ulike lufttilførselene har en statistisk signifikant betydning.

I figur 4.2 blir de ulike punktene vurdert etter hvor de ligger i diagrammet. Dersom punktene ligger innenfor akseptgrensene vil de ikke regnes som å ha klinisk relevans. Differanseplottet for 0 minutter og 15 minutter ligger ingen punkt utenfor akseptgrensene. 0 minutter og 30 minutter ligger det tre punkt utenfor som tilsvarer 13.6 %, for 0 minutter og 60 minutter faller det 14 punkt utenfor som tilsvarer 63.6 %, altså over halvparten.

pH i prøven øker jo mer luft glassene blir eksponert for, noe som kan sees i tabell 4.2. I følge teorien skal ionisert kalsium minke når pH øker, og dette stemmer overens med resultatene i oppgaven.

Lignende artikler har vært vanskelig å finne, og det er dermed ikke mulig å diskutere opp mot tidligere forsøk. Det har dermed blitt tatt i bruk teoretisk litteratur som støtter opp og bekrefter resultatene i oppgaven.

5.3 Svakheter og styrker

I løpet av prosjektet oppstod det ulike feilkilder som kunne gå ut over analysesvarene. Selve verdien på analysesvarene, og om de lå under eller over referansegrensene til RapidPoint 500 var ikke viktig. Det som var av betydning derimot var at tidsintervallene og når analyseringen ble gjort var nøyaktig, slik at analyseringen ble mest mulig standardisert. Dette ble det problemer med, med tanke på RapidPoint 500 sin kalibrering. Maskinen hadde som tidligere nevnt tre forskjellige kalibreringer som skulle utføres, som skapte utfordringer. De ulike kalibreringene kunne begynne idet en prøve skulle bli analysert, noe som gjorde at tiden ble forskjøvet og

prøven ble eksponert for luft i noen ekstra minutter. Selv om det bare var snakk om kort tid, kunne dette bety mye for analysesvarene.

Som nevnt tidligere kan maskinen trekke inn luft eller gel, ved at dette ble sugd opp i sprøyten som ble plassert på prøveporten og dermed aspirert inn i maskinen. Det ville da medføre at det kom luft i maskinen, og maskinen ville kreve at prøveporten skulle byttes og rengjøres. Det gikk derimot ikke utover de andre prøvene, men kun den ene prøven som skulle analyseres der og da. Andre feilkilder under prosjektet var at det ble tatt i bruk en annen sentrifuge ved et tilfelle, med et litt annet sentrifugeringsprogram. Dette var fordi laboratoriet måtte bruke hovedsentrifugen. Det gjorde at metoden ikke ble fullstendig standardisert.

I løpet av prosjektet oppstod det ulike problemer, som kan sees på som svakheter i forsøket. Spesielt vanskelig var det å finne pasienter som hadde verdier i øvre og nedre sjikt. Dette er fordi det ikke er mulig å vite hva slags verdier pasienten har før en analyserer prøvene. En kan bare vurdere pasientene etter hva slags avdeling de ligger på, men bortsett fra dette var det ingen andre indikatorer på hva slags verdi de hadde på ionisert kalsium.

Det var ikke bare vanskeligheter med prosjektet. RapidPoint 500 er en ganske stabil maskin og er lett å bruke. Det måtte bare reanalyseres en prøve, som skyldtes et svar som gikk fra høy til lav verdi hvor dette ikke var forventet. Denne prøven ble reanalysert med én gang etter at verdien ble utgitt. Verdien forble derimot den samme. Dersom det ble oppdaget noe feil med prøvene senere, så ble de oppbevart noen dager ved fire grader. Grunnen til få reanalyseringer skyldtes ikke bare RapidPoint 500, men også at det var god struktur under forsøket. Det var bra fordeling av arbeidsoppgaver og god dialog mellom personene som utførte forsøket, både under prøvetakingen og under selve analyseringen. Det var også en oversiktlig og god organisering når det kom til merking av prøvene, noe som er svært viktig innenfor kvalitetssikring på laboratoriet. Studentene hadde også god kontroll på hver enkelt prøve som skulle bli analysert. Resultatet av dette var at det oppstod få prøver som ble analysert til feil tid, og det ble unngått flere reanalyseringer.

Selv om det var en utfordring å finne pasienter med verdier i øvre og nedre referansegrense, så ble ikke dette noe problem for resultatene. Det ble bra mangfold og resultatene har vært vellykket. Dette grunnet god veiledning og hjelp fra de faglige veilederne.

6 KONKLUSJON

For å komme frem til følgende konklusjoner er det blitt tatt i bruk t-tester og differanseplott med akseptgrenser.

6.1 Fyllingsgrad

Resultatene viser at det er en forskjell mellom glass som er fylt helt opp og glass med ulik fyllingsgrad. Det konkluderes med at det ikke har en klinisk relevans for måling av ionisert kalsium dersom glasset kun er fylt 2/3 opp, og at det ikke har betydning om fyllingsgraden under prøvetakingen ikke er fullstendig.

Er glasset kun fylt 1/3 eller mindre vil dette ha stor signifikant betydning, og prøven bør ikke analyseres. Dette innebærer at en fyllingsgrad på kun 1/3 vil ha både statistisk og klinisk relevans.

6.2 Lufttilførsel

Det ble sett tidlig i forsøket at lufttilførsel hadde en betydning for resultatet. I følge t - testen vil 15 minutter, 30 minutter og 60 minutter i luft ha en statistisk betydning, men ifølge differanseplottet er det bare prøvene som har stått i 30 minutter og 60 minutter som vil ha klinisk relevans. Prøvene som har stått i 15 minutter er innenfor akseptgrensene, og har dermed ikke klinisk relevans. Det kan dermed konkluderes med at lufttilførsel har en stor betydning for prøvesvaret, men det er ikke nødvendig å ta like mye hensyn til prøver som har vært utsatt for luft mellom 0 og 15 minutter. Analysesvarene for prøvene som har stått ute i luft i 15 minutter kan bli forandret, men vil i svært liten grad ha klinisk relevans.

Videre arbeid som kan foreslåes er å undersøke hvordan ionisert kalsium blir påvirket ved bruk av stase og muskelpumping under prøvetaking.

7 REFERANSER

- [1] <https://utdanning.no/yrker/beskrivelse/bioingenior> [Hentet 25.03.2019]
- [2] Øye, Ivar. Kalsium - Fysiologi. [Hentet 18.03.2019] Tilgjengelig fra: [https://sml.snl.no/kalsium - fysiologi](https://sml.snl.no/kalsium_-_fysiologi) Utgitt 13.02.2009
- [3] Sand O, Sjaastad ØV, Haug E, Bjålie JG, Toverud KC. "Menneskekroppen - Fysiologi og Anatomi". Kapittel 6 - Det endokrine systemet - s.205-208. 2 utg. 7 opplag. Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS. Utgitt 2015.
- [4] Arnesen.H, Wisløff. F. Koagulasjon - blod. [Hentet 07.04.2019] [https://sml.snl.no/koagulasjon - blod](https://sml.snl.no/koagulasjon_-_blod) Utgitt 13.02.2009.
- [5] Sand. O, Sjaastad. ØV, Haug. Egil. "Menneskets fysiologi". Kapittel 10 - blodet - s. 461 - 467. 2.utg. 1. opplag 2014.Gyldendal Norsk Forlag AS. Utgitt 2014.
- [6] Sand. O, Sjaastad. ØV, Haug. Egil. "Menneskets fysiologi". Kapittel 2 - Celler - s. 74 - 75. 2.utg. 1. opplag 2014.Gyldendal Norsk Forlag AS. Utgitt 2014.
- [7] Holck, Per. «T-tubuli.» I Store medisinske leksikon. [Hentet 21.04.2019]. Utgitt 31.01.2019 fra <https://sml.snl.no/T-tubuli>
- [8] Sand. O, Sjaastad. ØV, Haug. Egil. "Menneskets fysiologi". Kapittel 8 - Musklene - s. 332 - 333. 2.utg. 1. opplag 2014.Gyldendal Norsk Forlag AS. Utgitt 2014.
- [9] Norsk Selskap for Medisinsk Biokjemi, "Kalsium, fritt, P" [Hentet 24.04.2019]. Tilgjengelig fra: <https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=ed9293ee1afc7f963d02> Utgitt 25.02.2019
- [10] Burtis C.A, Bruns D.E. "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics". Kapittel 39 - Disorders of Bone and Mineral Metabolism - s. 744 - 749. 7 utg. Missouri: Elsevier Saunders.
- [11] Hyperparathyroidisme. [Hentet 20.04.2019] <https://nhi.no/sykdommer/hormoner-og-naring/biskjoldkjertelsykdommer/hyperparatyroidisme/>
- [12] McDonnell, E. Wang, S., Sedor, F., Toffaletti J. «pH effect on Measurements of Ionized Calcium and Ionized Magnesium in Blood.» [Hentet 21.04.2019] Utgitt 08.2002. Tilgjengelig fra: <https://www.archivesofpathology.org/doi/pdf/10.1043/0003-9985%282002%29126%3C0947%3APEOMOI%3E2.0.CO%3B2>

- [13] McCudden, C. R. “pH adjusted Ionized Calcium” [Hentet 21.05.19]. Tilgjengelig fra: <https://acutecaretesting.org/en/articles/ph-adjusted-ionized-calcium>
- [14] Raja, P. M. V., Barron, A. R. “Ion Selective Electrode Analysis” [Hentet 13.05.2019] [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book%3A_Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_\(Barron\)/01%3A_Elemental_Analysis/01.7%3A_Ion_Selective_Electrode_Analysis](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Book%3A_Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_(Barron)/01%3A_Elemental_Analysis/01.7%3A_Ion_Selective_Electrode_Analysis).
- [15] Burtis C.A, Bruns D.E. “Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics”. Kapittel 10 - Electrochemistry and Chemical Sensors - s. 152 - 153. 7 utg. Missouri: Elsevier Saunders.
- [16] “Definition of Potentiometry” <https://www.chemicool.com/definition/potentiometry.html>. [Hentet 05.05.2019]
- [17] Sykehuset i Vestfold. Nettred.: Jacobsen, L. «Kalsium, total (s/p)» [Hentet 17.04.2019] Utgitt 21.03.2012. Tilgjengelig fra: [http://siv.prod.fpl.nhn.no/fag/diagnostikk/analyseliste/kalsium-total-\(s-p\)](http://siv.prod.fpl.nhn.no/fag/diagnostikk/analyseliste/kalsium-total-(s-p)).
- [18] Nedrebø, B., Vikse, B. E., Kovacevic, G. «En kvinne i 80-årene med redusert allmenntilstand og hyperkalsemi.» [Hentet 12.05.2019] Utgitt 01.2016. Tilgjengelig fra: https://www.researchgate.net/profile/Bjorn_Gunnar_Nedrebo/publication/290473640_En_kvinne_i_80-arene_med_reduisert_allmenntilstand_og_hyperkalsemi/links/57262f7808aef9c00b88f5bd/En-kvinne-i-80-arene-med-reduisert-allmenntilstand-og-hyperkalsemi.pdf
- [19] Burtis C.A, Bruns D.E. “Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics”. Kapittel 39 - Disorders of Bone and Mineral Metabolism - s. 746. 7 utg. Missouri: Elsevier Saunders.
- [20] Calvi, L. M., Buhinsky, D. A. “When Is It Appropriate to Order Ionized Calcium?” Hentet: [12.05.2019] Tilgjengelig fra: <https://jasn.asnjournals.org/content/19/7/1257.full>. Utgitt 07.2008
- [21] Nall, R. “The Butterfly Needle; What to expect.” [Hentet 22.05.19]. Tilgjengelig fra: <https://www.healthline.com/health/butterfly-needle#sizes>
- [22] “Types of medical needles.” [Hentet 22.05.19] Tilgjengelig fra: <https://medinstrum.com/types-of-medical-needles/>

- [23] Burtis C.A, Bruns D.E. "Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics". Kapittel 39 - Disorders of Bone and Mineral Metabolism - s. 747. 7 utg. Missouri: Elsevier Saunders.
- [24] Hagve, T. A. «Prøvetaking og håndtering» [Hentet 22.05.19]
<https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=9c375df49fef5dcc1cbf>
- [25] Ricos, C. Alvarez, V., Cava F., Garcia-Lario JV., Hernandez, A., Jimenez CV., Simon M., et al. "Desirable Biological Variation Database Specifications" [Hentet 24.04.2019]
Tilgjengelig fra: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>. Utgitt 2014
- [26] Helbæk, M. "Statistikk for kjemikere" Kapittel 3, Statistiske tester og konfidensintervall. Side 97-102. Utgitt 09.2007. Tapir akademisk forlag.
- [27] "Hvorfor p-verdien er signifikant" [Hentet 11.05.2019] Tilgjengelig fra:
<https://tidsskriftet.no/2015/09/kronikk/hvorfor-p-verdien-er-signifikant>
- [28] «Påvirker de følgende tre preanalytiske faktorene analysen av ionisert kalsium: Holdbarhet, fyllingsgrad av glasset og luft i prøven?» [Bacheloroppgave] Høgskolen I Ålesund, 2015. Antall sider: 83
- [29] Wisløff, Finn & Arnesen, Harald. «Koagulasjon - blod.» I Store medisinske leksikon. Utgitt (2018, 1. november). Tilgjengelig fra: https://sml.snl.no/koagulasjon_-_blod [Hentet 27.05.2019]

Figurer:

- [2.1] Holck, Per. «T-tubuli.» I Store medisinske leksikon. [Hentet 21.04.2019]. Utgitt 31.01.2019 tilgjengelig fra <https://sml.snl.no/T-tubuli>
- [2.2] Halse, J., Berg, J.P. Utgitt 01.11.2018. «Parathyreoideahormon.» I Store medisinske leksikon. fra <https://sml.snl.no/parathyreoideahormon> [Hentet 22.04.2019]
- [2.3] Selvillustrert
- [2.4] [Hentet 05.05.2019] Tilgjengelig fra;
<https://www.chemicool.com/definition/potentiometry.html>.

8 VEDLEGG

Vedlegg 1: blodgass instrument RAPIDPoint 500 - analysering av prøver ved Ålesund sjukehus

Vedlegg 2: Analytter på blodgass apparat - Siemens RapidPoint 500

Vedlegg 3: Samtykkeskjema

Vedlegg 4: Budsjett

Vedlegg 5: Samlet resultat – Fyllingsgrad

vedlegg 6: Samlet resultat – Lufttilførsel

Vedlegg 7: Differanseplott [mmol/L] fyllingsgrad

Vedlegg 8: Differanseplott [mmol/L] lufttilførsel

Vedlegg 9: T - test fyllingsgrad

Vedlegg 10: T - test lufttilførsel

Blodgass instrument RAPIDPoint 500 - analysering av prøver ved Ålesund Sjukehus

Forfatter: Beate Eikrem Haugstvedt, Maria Verlo Jacobsen
Godkjent av: Brit Valaas Viddal

Gyldig fra: 08.04.2018
Revisjonsfrist: 07.04.2021

Revisjon: 2.3
ID: 25205

Hensikt

Å sikre riktig bruk ved analysering av blodgasser på RAPIDPoint 500.

Omfang

Gjelder alle som analyserer blodgasser ved Ålesund Sjukehus. For å få tilgang til instrumentene, må en ha opplæring bestående av teori og praksis.

Bakgrunnsinformasjon

Manual for RAPIDPoint 500

Utfaset prosedyre: «Analytter på blodgassapparat ABL 700/800 serien. Ålesund sjukehus».

Ansvar

Ansatte som tar blodgasser har ansvar for:

- At blodgassen er rekvirert i RoS før prøven blir tatt
- Korrekt prøvetaking og prøvebehandling
- Analysering av blodgassen
- Innlegging av riktig pasient ID og Lab.nummer (Accession nr.) på blodgassinstrumentet ved analysering
- Bytte av innløpsport og papirrull kan, ved behov, utføres av den som analyserer blodgass

Superbrukere ved Intensiv seksjonen, seksjon føde/barsel, Neonatal intensiv seksjon og Akuttmottak har ansvar for:



- Opplæring av nye brukere på egen avdeling
- Vask på og rundt instrumentet ved behov
- Avdeling for medisinsk biokjemi, seksjon Ålesund (MBÅ) har ansvar for bytte av kassetter, men det kan utføres av superbrukere ved andre avdelinger etter avtale.

Avdeling for medisinsk biokjemi, seksjon Ålesund (MBÅ) har ansvar for:

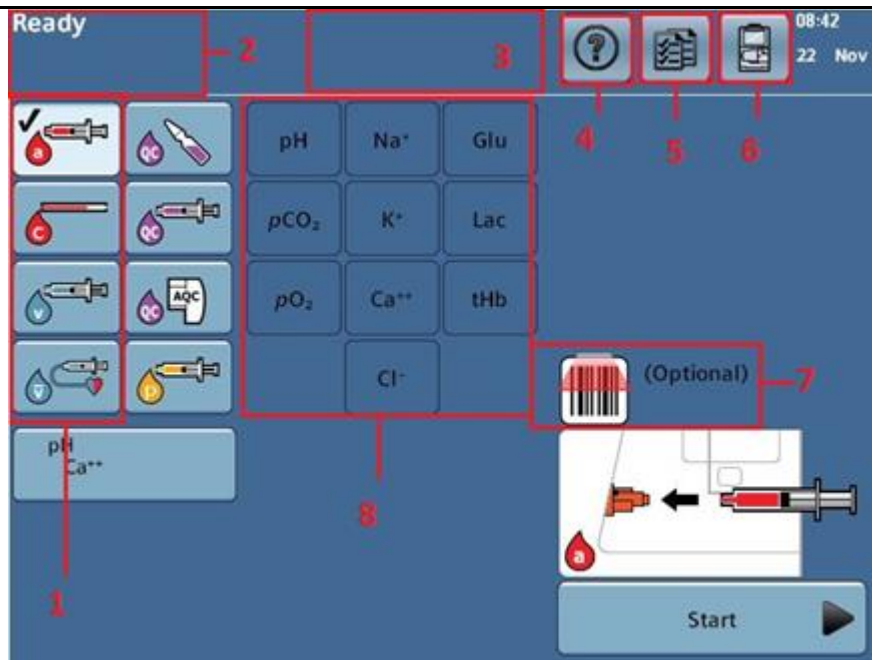
- Vedlikehold og service (hverdager)
- Bytte av reagenskassetter
- Overføring av prøvesvar til Doculive på prøver hvor det legges inn Lab.nummer (Accession nr).
- Opplæring av nye brukere ved avdelinger som ikke har egne superbrukere og opplæring av nye superbrukere (må avtales med fagbioingeniør på Service ved MBÅ)

Apparatbeskrivelse

De to viktigste navigasjonsknappene på instrumentet er:

	Viser neste skjermbilde. Hvis du foretar et valg eller legger inn data, lagres valget eller dataene.
	Viser forrige skjermbilde. Hvis du for eksempel er i en rullegardinliste og velger Tilbake -knappen, viser systemet skjermbildet som du åpnet rullegardinlisten i. Systemet lagrer ikke valgene dine eller dataene du har lagt inn når du velger Tilbake -knappen.

Startbilde etter innlogging:



1. **Visningsområde:** Viser knapper for forskjellige prøvematerialer.
2. **Banner:**
 - a. Tekst øverst i banneret beskriver navnet på skjermbildet og systemstatus.
 - b. Tekst nederst i banneret viser systemmeldinger.
3. Her vil det evt vises knapper med kassettstatus som angir hvor mange prøver og tiden som gjenstår før kassetten utløper.
4. **Hjelp**-knapp: Gir tilgang til informasjon om systemreferanse og feilsøking.
5. **Resultat**-knapper: Gir tilgang til resultater lagret i minnet.
6. **System**-knapp: Gir tilgang til systemets oppsettfunksjoner.
7. **Strekkeskanner**-symbol: Angir at du kan bruke strekkeskanner til å legge inn prøvedata.
8. **Elektrodefelt:** Angir om en parameter er OK eller om den er ute.

Prøvetakingsutstyr

125 µl glassrør til kapillær prøvetaking, ekvilibrert med Li-heparin, gummi topper og blandepinner.

3ml og 1ml blodgassprøyter til arteriekran og 3ml blodgassprøyter til arteriepunksjon ekvilibrert med Li-heparin.

Li-heparin vakuumsrør til venøse blodgasser.

Sprøytene inneholder balansert Li-heparin. De MÅ fylles til anbefalt volum (se punkt 1 under [prøvemateriale](#)) for at elektrolytter og ionisert Ca kan godkjennes. Tørr Lithium-heparin sikrer korrekte resultater ved måling av elektrolytter og hemoglobin.

Prøvemateriale

- 1) Materiale** Kapillærblod tatt i kapillærrør ekvilibrert med Li-heparin.
Arterieblod tatt i sprøyte ekvilibrert med Li-heparin.
Veneblod tatt enten i vakuurrør, kapillærrør eller sprøyte ekvilibrert med Li-heparin.
Anaerobe betingelser.
- NB! For å få korrekte resultat skal blodgass-sprøytene fylles med minimum 0,8 ml blod i 3 ml sprøyte og 0,25 ml blod i 1 ml sprøyte (6)**
- Skal kun elektrolytter eller ionisert Ca bestemmes, kan dette også gjøres i serum.
- pO₂ bør måles i arterielt blod da kapillær- og vene-blod ikke er representativt for den arterielle situasjonen.
- 2) Oppbevaring** Romtemperatur. Alle prøver må blandes godt før analysering
- 3) Holdbarhet** Prøven må analyseres innen 15min ved romtemperatur.
- 4) Prøvetaking** For å unngå lufttilblanding i prøven, må all luft fjernes så raskt som mulig etter prøvetaking. Bruk den medfølgende filtertoppen til fjerning av luft. Deretter må prøven blandes veldig godt for at blodet skal bli blandet med tørrstoffet i sprøyten. Dette gjøres ved å rulle sprøyten/røret mellom fingrene minst 20 ganger. Sprøyten/røret må også blandes godt rett før analysering. Se [feilkilder](#).

Framgangsmåte

Analysering av blodgass

For venøse blodgasser tatt i vakuurrør: Rett før analysering må blodet trekkes opp i 1ml sprøyte uten tilsetning og all luft må fjernes. Følg så fremgangsmåte som beskrevet under.

1. Logg på med **ansattnummer**
2. Sjekk at det står **«Ready»** oppe i venstre hjørne, og at alle parametere er klare (er det strek/kryss over noen, eller de er gule, kommer det ikke ut svar på dem).
3. Sett på sprøyten/kapillærrøret.
4. Velg riktig prøvemateriale, arteriell prøve er forvalgt hvis en ikke endrer prøvemateriale. Hvis du vil analysere i annet prøvemateriale må det velges FØR du trykker «start». Se oversikt [under](#) for alternativer. For analysering i kapillærrør, MÅ det velges kapillær analysering før en trykker start. For at prøvesvarene skal føres over til pasientjournal, er det viktig at valgt prøvemateriale stemmer overens med det som er bestilt.
5. Trykk **«start»**
6. Prøven trekkes inn i instrumentet og blod suges inn og analyseres.
7. Når instrumentet piper og prøven skyves ut igjen, ta av prøven og trykk på pil nede til høyre



8. Legg inn **Patient ID** (Fødselsnummer: kan scannes inn eller legges inn manuelt, kan evt scannes inn FØR en trykker «start» i punkt 5)



- a. Hvis det haster og en ikke har Pasient ID, kan en legge inn manuelt annen info som identifiserer pasienten. For å skrive inn f.eks navn, trykk på Patient ID tasten for å få opp bokstav-tastatur. **NB! Skal kun gjøres om en IKKE har tilgang til pasient ID!** Ellers SKAL en bruke pasientens personnummer.

9. Legg inn **Accession No.** Prøvenummer: Scann en av strekkodene på etikettene som slutter med 70. For at prøvesvarene skal sendes over til RoS, må dette nummeret være korrekt. (Dette feltet brukes ikke på instrumentet på Føden)

- a. For å sikre at svarene blir registrert i pasientjournalen, SKAL prøven bestilles i RoS før den tas. I de få tilfellene hvor det virkelig haster og en ikke kan gjøre det, kan en legge inn feks Pasient ID eller annen info som identifiserer pasienten. Men vær obs på at prøvesvarene da ikke vil bli sendt over til pasientjournalen.

10. Legg evt inn navn og annen info. For innlegging av mer prøvedata, som for eksempel flow, trykk på nedover-pil, ca midt på nede i bildet.



11. Når all pasient-info er lagt inn, trykk på pil nede til høyre.



12. Når prøven er ferdig analysert, kommer svarene opp på skjermen og skrives ut på papir.

NB! Svarene vil ikke komme opp eller bli skrevet ut, før det er lagt inn info i begge feltene med pil foran, «Patient ID» og «Accession No.» og en har trykt videre fra prøve info-bildet.

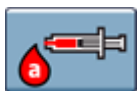

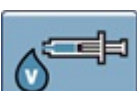





Hvis du vil ha en ekstra utskrift av prøvesvarene, trykk på utskriftsymbalet nederst på skjermen.



13. Når det igjen står «Ready» oppe i venstre hjørne, er instrumentet klar for neste prøve.

Prøvemateriale på instrumentet

Ikon	Prøvemateriale	Analyseparametre
	Arterielt blod	Alle
	Kapillært i kapillærrør Må også brukes ved analysering av venøst blod i kapillærrør	Alle
	Venøst blod	Alle



	Mikset venøst blod	KUN O ₂ og Hb
	Pleura væske	KUN pH
	Ionisert Ca Brukes kun av lab, sammen med kapillær- eller venøs-ikon	KUN pH og Ionisert Ca

Ionisert Ca – gjøres av personalet ved Avdeling for medisinsk biokjemi, Ålesund (MBA)



- Logg på med **ansattnummer**
- Sjekk at det står **«Ready»** oppe i venstre hjørne, og at pH og Ca⁺⁺ er OK (er det strek/kryss over noen, eller de er gule, kommer det ikke ut svar på dem)

Ionisert Ca kan analyseres på to måter: direkte fra prøverør ved hjelp av adapter, eller med sprøyte.

Analysering fra sprøyte:

1. Trekk opp serum i en sprøyte og fjern evt luft
2. Velg venøs prøve

3. Velg Ionisert Ca program

4. Sett sprøyten på prøveporten
5. Trykk **«start»**
6. Videre analysering og innlegging av info som fra punkt 6 for analysering av blodgass. Men labnummer kan scannes inn både på **Patient ID** og **Accession No.**

Analysering fra prøverør:

1. Finn frem et «adapter» (plastrør, kan evt deles i to)
2. Velg kapillær prøver

3. Velg Ionisert Ca program

4. Sett adapteren inn i prøveporten, og hold andre enden ned i serumet.
OBS! Pass på at du holder enden midt i serumet, og ikke ned i gelen, eller i luft.

5. Trykk «start»
6. Videre analysering og innlegging av info som fra punkt 6 for analysering av blodgass. Men labnummer kan scannes inn både på **Patient ID** og **Accession No.**

Analysering av blodbank - kontroll (med temperaturkorrigert pH)

- Logg på med **ansattnummer**
- Sjekk at det står «Ready» oppe i venstre hjørne, og at pH er OK (er det strek/kryss over den, eller den er gul, kommer det ikke ut svar)

Analysering fra sprøyte:

1. Trekk opp prøvemateriale i en sprøyte og fjern evt luft. Evt bruk et prøverør og adapter som beskrevet under Ionisert Ca.
2. Sjekk at det er valgt arteriell eller venøs prøve
3. Hvis en analyserer fra prøverør med adapter, må en velge kapillær
4. En kan med fordel velge Ionisert Ca program, da får en ut færre prøvesvar, og det er lettere å se det temperaturkorrigerede svaret på utskriften.
5. Sett sprøyten/adapteret på prøveporten
6. Trykk «start»
7. Prøven trekkes inn i instrumentet og prøvematerialet suges inn og analyseres.
8. Når instrumentet piper og prøven skyves ut igjen, ta av prøven og trykk på pil nede til høyre
9. Legg inn Tappenr i feltene **Patient ID** og **Accession No.** Dette kan evt scannes inn.
10. Trykk på ned-pil (ca midt på nede i bildet) for å få legge inn mer info
11. Legg inn temperatur
12. Når all info er lagt inn, trykk på pil nede til høyre
13. Når prøven er ferdig analysert, kommer svarene opp på skjermen og skrives ut på papir. Temperatur korrigert pH kommer bare på utskriften, det står under overskriften «Corrected» på utskriften.

NB! Svarene vil ikke komme opp eller bli skrevet ut, før det er lagt inn info i feltet «**Patient ID**» og «**Accession No.**»

Hvis du vil ha en ekstra utskrift av prøvesvarene, trykk på utskriftsymbalet nederst på skjermen.
14. Når det igjen står «Ready» oppe i venstre hjørne, er instrumentet klar for neste prøve.



Godkjenning av analyseresultat i ANP

Utføres av personale ved Avdeling for medisinsk biokjemi, seksjon Ålesund. Viser til prosedyren ANP-Teknisk

Validering

Prøvesvar som har kommet ut med spørsmålsteget vil ikke bli overført. De blir slettet og kommentar med begrunnelse må legges inn.

Prøvesvar hentes opp i ANP fra RAPIDComm (60) og verifiseres som normalt.

Hvis svarene blir overført med strek over, kan det være fordi prøven er bestilt som et annet prøvemateriale enn det den ble analysert som (arteriell, venøs, kapillær).

- Hvis prøven ble analysert i feil prøvemateriale, kan det endres i RAPIDComm av en superbruker ved lab, svarene kan eventuelt legges inn manuelt.
- Hvis prøven er bestilt i feil prøvemateriale, må hele blodgassen (alle blodgassanalysene, unntatt parameter) bestilles om igjen i NSL i riktig prøvemateriale før den gis ut i ANP.

Feilkilder (1, 2, 4)

Ved kapillær eller åpen venøs prøvetaking kan man risikere å få feil resultat ved for dårlig blødning. Finger, hånd eller hæl bør derfor være varm før blodprøvetaking. Husk det skal blø godt fra stikket. Pass på at det ikke kommer luft i kapillærrøret (anaerobe betingelser).

Ved arteriepunksjon skal man bruke sprøyter ekvilibrert med tørr Li-heparin. Dette sikrer korrekte elektrolyttresultater og man unngår fortykning (jfr. Hb). For lite volum blod i forhold til anbefalt volum, vil kunne gi feil resultat på elektrolytter og ionisert Ca.

Ved koagel: Dersom det er koagel i prøven, kan dette hindre at alt blodet når alle elektrodene. Dette kan medføre feilmålinger, for eksempel kan K⁺ stige. Kontroller at blodet suges jevnt inn. Det kreves ofte service for å gjøre rent hvis det har vært koagel i apparatet.

Holdbarhet: Prøver som ikke er analysert innen 15 minutter etter prøvetaking kan ikke brukes. Prøver med høyt O₂-innhold må analyseres innen 5 minutter. For lang henstand før analysering fører til at pH, pO₂, og glukose synker mens pCO₂, Ca og laktat stiger.

Lite blod kombinert med luft i sprøyten vil gi feil resultater på grunn av gassutveksling mellom blod og luft. Kan også gi feil resultat på elektrolyttene.

Lufttilblanding, selv bare en liten luftboble, vil føre til at pH, pO₂ og sO₂ stiger mens pCO₂ synker. Prøvesvarene vil endres så mye at det er klinisk signifikant.

På grunn av lufttilblanding, må ikke samme blodgassprøyte brukes på flere apparater etter hverandre. Dette kan føre til store avvik i resultatene.

Skal samme pasient følges opp over tid, bør man analysere prøvene på samme apparat.

Hyperlipemi kan forårsake forhøyet methemoglobin.

Ved høye bilirubinverdier kan oxyhemoglobinverdien stige.

Bruk av andre antikoagulantia anbefales ikke på grunn av pH-forandringer.

Hemolyserte prøver må ikke brukes.

Det skal være anaerobe betingelser for å unngå å måle feil på gasser og andre parametre.

Referanseområde

Blodgass m/elektrolytter og metabolitter:

pH arterielt blod	7,37-7,45
pH venøst blod	7,32-7,41
pCO ₂ arterielt blod	Menn: 4,7-6,1 kPa Kvinner: 4,3-5,7 kPa
pO ₂ arterielt blod	9,4-13,9 kPa
Bikarbonat	21-26 mmol/L
Base Excess (BE)	(-2) – (+3)
Ionisert kalsium (pH 7,40)	1,14-1,28 mmol/L
Aniongap (K ⁺)	10-20 mmol/L

Laktat	0,5-2,2 mmol/L
Glukose fastende	4,2-6,3 mmol/L
Natrium	137-145 mmol/L
Kalium	3,5-4,4 mmol/L
Klorider	97-107 mmol/L

Oximetri:

O ₂ Hb	Arterielt blod: 94-98 %
sO ₂	Arterielt blod: 95-98%
MetHb	Arterielt og venøst blod: ≤1,0 %
CO-Hb	Arterielt og venøst blod: <3,0%
HHb	Arterielt blod: 0 - 5,0%
P50	3,2-3,8 kPa.

Resultatvurdering (1, 2, 3)

Base excess (BE) i ekstracellulærvæsken (ECV) er et mål for den metabolske komponent i syre/base-forstyrrelser. pCO₂ er et mål for den respiratoriske komponent. Generelt kan man regne med at respiratorisk kompensasjon ved metabolsk acidose er maksimalt utviklet innen 12-24 timer, mens renal kompensasjon ved non-renal metabolsk og respiratorisk acidose ikke er maksimal før etter 5-6 døgn. Når BE omtales heretter, er det BE i ECV man mener.

Respiratorisk acidose

pH er lav, pCO₂ er høy. BE er normal ved akutte tilstander, og opp til 15 mmol/L når nyrene har fått tid til maksimal kompensasjon. pO₂ er lav, avhengig av to prinsipielt forskjellige årsaker; hypoventilasjon og ventilasjons/perfusjonsforstyrrelser.

Ved hypoventilasjon sees redusert pO₂ etter ligningen:

$PO_2 \text{ alveolært} = PO_2 \text{ inspirert} - PCO_2/R$, der R = mmol avgitt CO₂/mmol opptatt O₂.

Hvis gassutvekslingen er normal, som ved en ren hypoventilasjon, er pO₂ arterielt bare 1-3 kPa lavere enn pO₂ alveolært.

Ved ventilasjons/perfusjonsforstyrrelser er forskjellen mellom PO₂ alveolært og PO₂ arterielt større.

Årsaker til hypoventilasjoner er tallrike, alt fra svekket respirasjonssenter til fremmedlegemer i luftveiene. Årsaker til ventilasjons/perfusjonsforstyrrelser kan f.eks. være kronisk obstruktive lungesykdommer eller lungeemboli.

Respiratoriske alkaloser

pH er høy, pCO₂ er lav. BE er normal ved akutte tilstander og ned mot -10 til -15 mmol/L i kompenserte tilfeller. PO₂ er normal eller redusert.

Årsaker: Hyperventilasjon, høyre-til-venstre shunter eller lungesykdommer med diffusjonshinder. Noen tilfeller av ventilasjons/perfusjonsforstyrrelser vil primært gi redusert pO₂, økt ventilasjon og redusert pCO₂, men hvis årsaken er primært økt ventilasjon, vil pO₂ være normal.

Metabolske acidoser

pH er lav, pCO₂ er normal initialt, men lav (ned mot 1-2 kPa) i kompenserte tilfeller. BE er lav, pO₂ er normal.

Årsaker: Primært bikarbonat-tap med normal aniongap, som ved diaré og renal tubulær acidose av proximal type. Økt produksjon eller tilførsel av ikke-flyktig syre, ofte med økt aniongap, som ved ketoacidose og lactacidose. Redusert hydrogenionutskillelse, med økt aniongap ved redusert syreanionutskillelse, som ved nyresvikt, eller med normalt aniongap som ved renal tubulær acidose av distal type og ved hypoaldosteronisme.

Metabolske alkaloser

pH er høy, pCO₂ kan ofte være høy, opp mot 8 kPa. BE er høy, pO₂ er normal.

Årsaker: Tap av syre, som ved oppkast eller dreناسje fra ventrikkel, diuretikabruk, hyperaldosteronisme.

Uforsiktig tilførsel av bikarbonat, som ved feilbehandling av acidoser, selvmedikasjon og svær citrattilførsel (ved massive blodtransfusjoner; citrat blir omdannet til bikarbonat).

Oximetri

COHb og MetHb kan tolkes direkte ut fra indikasjonen. ctO₂, O₂Hb og sO₂ undersøkes vanligvis i arterieblod. O₂CAP undersøkes også i venøst blod.

O₂CAP forteller hvilken evne blodet har til å bære O₂ og vil være redusert ved anemi, kullosforgiftning og methemoglobinemi.

P50 er den pO₂ som oksyhemoglobinet har ute i vevene når oksygenmetningen er 50 %. Er P50 høy, så betyr dette blodets evne til å avgis O₂ til vevene øker. Er P50 lav, så avgis O₂ dårlig.

Forhold som øker P50 er lav pH, økt pCO₂ og økt temperatur.

Forhold som reduserer P50 er alkalose, kullosforgiftning og hypotermi.

Litteraturliste

1. Laurell, 1997: Klinisk kemi i praktisk medicin
2. J. Kofstad: Blodgasser, elektrolytter og hemoglobin - metode og klinikk.
3. T. A. Hagve & J. P. Berg (red): Klinisk Biokjemi og Fysiologi, 4. utgave 2011
4. Brukerveiledning for RAPIDPoint 500-systemet
5. Laboratorieavdelinga: Håndbok mars 2016 – Internett HMR:
http://data.helse-mr.no/ftp/Analyseliste_AlesundVolda/
6. Generell beskrivelse av Portex® blodgassprøyter fra Smiths Medical Inc.

Relatert

 Pasientnært analyseutstyr (PNA) - innkjøp og bruk

 ANP-Teknisk Validering

Vedlegg

[Analysering av blodgasser – Fremgangsmåte.](#)

[Analysering av blodbank kontroll – Fremgangsmåte.](#)

[Analysering av ionisert Ca – Fremgangsmåte.](#)

Relaterte dokumenter

 ANP-Teknisk Validering

 Pasientnært analyseutstyr (PNA) - innkjøp og bruk

Vedlegg

 [Analysering av blodbank kontroll – Fremgangsmåte](#)

 [Analysering av blodgasser – Fremgangsmåte.](#)

 [Analysering av Ionisert Ca- Fremgangsmåte](#)

Analytter på blodgassapparat Siemens Rapidpoint 500.

Forfatter: Bjørn Ødegaard
Godkjent av: Svanhild Tranvåg

Gyldig fra: 13.03.2018
Revisjonsfrist: 12.03.2021

Revisjon: 3.0
ID: 1226

Analysenavn

pH, pCO₂, pO₂, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺, Glukose, Laktat, CO-oksimetri

Bakgrunnsinformasjon (1)

Hvert døgn blir det dannet 20000-25000 mmol karbonsyre og 50–100 mmol ikke-flyktige syrer i kroppen hos friske voksne. Karbonsyren blir skilt ut i lungene som karbondioksid, CO₂. De ikke-flyktige syrene (mest svovelsyre fra nedbryting av svovelholdige aminosyrer) blir utskilt i urinen. Før de ikke-flyktige syrene blir utskilt, må de bufres i ekstracellulærvæsken. Til dette går det med en del bikarbonat, som gjendannes i nyrene når de ikke-flyktige syrene utskilles.

Syre-basestatus, også kalt blodgassanalyse, omfatter direkte måling av blodets pH og partialtrykk av oksygen og karbondioksid. Ut fra disse parameterne beregnes bikarbonat, Base Excess og oksygenmetning. Moderne blodgassanalyser har ofte mulighet til å måle også andre parametere.

Indikasjoner (1)

Er ofte del av innledende utredning ved innleggelsestrengende sykdom. Bevissthetsforstyrrelser. Lungesykdommer. Metabolske sykdommer. Overvåkning av pasienter med respirasjonsstøtte av ulike slag. Mistanke om forgiftning med f.eks. medikamenter eller rusmidler. Overvåkning etter gjenopplivning.

Ansvar

Fagbioingeniør/fagkoordinator er ansvarlig for å utarbeide prosedyrer. Alle ansatte har ansvar for å holde seg oppdatert og følge gjeldende prosedyrer. Avvik fra gjeldende prosedyre skal begrunnes ut fra den aktuelle situasjonen, og dette skal dokumenteres.

Historikk/oppstartdato

Analyse av blodgassparametre har vært utført ved Avdeling for medisinsk biokjemi i flere tiår.

Analyse av disse parameterne på Siemens Rapidpoint 500 ble tatt i bruk:

- Sykehusene i Volda, Ålesund og Kristiansund i løpet av 2016.
- Molde sykehus i løpet av 2018.

Utstyr (2)

Siemens Rapidpoint 500 er en analysator som i tillegg til de tradisjonelle blodgassparameterene (pH, pCO₂, pO₂), analyserer elektrolytter (Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺), metabolitter (Glukose, Laktat) og CO-oksimetriparametere (Hb, sO₂, FO₂Hb, COHb, MetHb). Analysatoren beregner også parametere (bikarbonat, base excess, p50% o.a) som benyttes til klassifisering av syre-base- og oksygeneringsforstyrrelser.

Reagens

Analysatoren benytter et kassetbasert system for analyse, kalibrering og vask av målesystemet samt oppsamling av avfallsvæsker.

Målekassetten inneholder sensorene, reagensene, de elektroniske komponentene og væskekomponentene som behøves for å analysere pasient- og kontrollprøver, og for å kalibrere systemet.

Målekassetter	Produktnummer	Kapasitet
Full blodgass og CO-ox, inkludert laktat	10491447	250 prøver inkl. kalibreringer
Full blodgass og CO-ox, inkludert laktat	10491448	400 prøver inkl. kalibreringer

Full blodgass og CO-ox, inkludert laktat	10491449	750 prøver inkl. kalibreringer
--	----------	--------------------------------

Reagenskassetten og vaske-/avfallskassetten inneholder reagensene som er beskrevet i tabellen nedenfor. Elektrolytter, pH, glukose og gasser er NIST-sporbare (National Institute of Standards and Technology)

Innhold i RAPIDPoint 500-reagenser

Reagens	Ingredienser	Volum	Kassett
LowSulfite Zero Cal (LSZC)	gasser (oksygen, karbondioksid, nitrogen), salter (alkalihalogenider), organiske buffere, katalysator og surfaktant	75 mL	Reagens
Reagent C	gasser (oksygen, karbondioksid, nitrogen), salter (alkalihalogenider), organiske buffere, laktat, fargestoff, surfaktant og konserveringsmiddel	60 mL	Reagens
200 Cal	gasser (oksygen, karbondioksid, nitrogen), salter (alkalihalogenider), organiske buffere, glukose, laktat, surfaktant og konserveringsmiddel	230 mL	Reagens
Reference	kaliumklorid, sølvklorid og surfaktant	16 mL	Reagens
Wash	gasser (oksygen, karbondioksid, nitrogen), salter(alkalihalogenoider), surfaktant og konserveringsmiddel	250 mL	Vaske/avfall

Analyseprinsipp

Måleprinsipp (3,4,5,6,7,8)

RAPIDPoint 500-systemet bruker måleteknologi som er basert på elektrokjemiske fenomener. Elektrokjemi involverer måling av strøm eller spenning i en elektrokjemisk celle. Cellen består av to eller flere elektroder som reagerer med en kjemisk løsning, og som er koblet til et elektrisk system. RAPIDPoint 500-systemet bruker potensiometri, amperometri og konduktans til å måle konsentrasjonen av analytt i prøven. En elektrokjemisk reaksjon mellom den bestemte analytten og sensoren genererer et elektrokjemisk signal som er proporsjonalt med mengden av analytt i prøven. Potensiometri er den teknologien som måler differansen i potensial mellom to elektroder i en løsning uten tilført strøm. Amperometri involverer å tilføre spenning til en elektrode og deretter måle strømmen som genereres. Konduktans er et ledende stoffs evne til å sende elektrisk strøm.

RAPIDPoint 500-systemets CO-ox-modul måler absorpsjon av lys i fullblod ved flere bølgelengder. Målemodulen oppdager og bestemmer mengden av totalt hemoglobin og andre hemoglobinderivater i prøven.

Sensor	Måleteknologi
pH, Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺⁺ , Cl ⁻	Potensiometrisk metode ved bruk av standard ioneselektiv elektrodeteknologi (ISE) (3)
Referanse	Sølv/søvelektrode i kaliumklorid og sølvklorid
pCO ₂	Modifisert potensiometrisk metode som er basert på prinsippene til Severinghauselektroden (4)
pO ₂	Amperometrisk måling som er basert på prinsippene til Clark-elektroden (5)
Glukose	Amperometrisk metode som bruker en enzyuelektrode som inneholder glukoseoksidase (5)
laktat	Amperometrisk metode som bruker en enzyuelektrode som inneholder laktatoksidase (5)
Hb og Hb-derivater	Absorpsjonsfotometri ved multiple bølgelengder (6,7,8)

Standardisering (13,14)

Tabellen nedenfor lister opp de primære og sekundære referansemeterer for hver parameter:

Parameter	Primær referansemeter	Sekundær referansemeter
pH	IFCCs referansemeter.(13)	RAPIDLab® 865
pCO ₂ og pO ₂	Tonometri med gasser som er sporbare etter NIST gravimetrisk standarder.	I/R
Na ⁺ , K ⁺	NIST SRM 956, anbefalt av Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).	RAPIDLab 865
Cl ⁻	NIST SRM 956 ved bruk av en kolorimetrisk referansemeter som er innstøpt i Siemens Model 925-analysator.	RAPIDLab 865
Ca ⁺⁺	Selektiv elektrodemetode for internt ion.	RAPIDLab 865
Glukose	NIST SRM 917 ved bruk av en manuell heksokinase/glukose-6-fosfat dehydrogenasemetode som er anbefalt av CLSI.	I/R
Laktat	Laktatoksidaseenzymatisk metode.	RAPIDLab 1265
tHb	Cyanmethemoglobinreferansemeter anbefalt av CLSI.	I/R
FO ₂ Hb	Tonometri med 95 % O ₂ / 5 % CO ₂ -gass.	I/R
FCO ₂ Hb	Redusert gasskromatografi med karbonmonoksidprøver klargjort med tonometri.	I/R
FMetHb	Modifisering av Evelyn-Malloymetoden. (14)	I/R
FHHb	Tonometri med 95 % N ₂ - og 5 % CO ₂ -gass.	I/R

Kalibrering

Målekassetten inneholder kalibreringsmateriale for to kalibreringsnivåer for alle målte parametere.

Systemet utfører kalibreringer automatisk ved fastsatte intervaller, og ved hver prøve om nødvendig.

Systemet kalibrerer sensorene automatisk på følgende måte:

- 1-punktskalibreringer er satt opp til å utføres jevnlig, med intervaller på 30 minutter mellom kalibreringene. En 1-punktskalibrering justerer enten avviks- eller hellingsdriften for en parameter ved å måle et reagens med kjent konsentrasjon.
- Hver fjerde planlagte kalibrering er en 2-punktskalibrering, og hver fjerde 2-punktskalibrering er en full kalibrering. En 2-punktskalibrering justerer både drift for offset og slope for en parameter ved å måle to reagens med kjent konsentrasjon.
- Hver 2-punktskalibrering måler også nullpunktet for tHb, og hver fulle kalibrering måler nullpunktet og stigningen for tHb. Hvis nullpunkts kalibreringen overskrider grensen for drift, måler 1-punktskalibreringene nullpunktet, til driftsfeilen er fjernet.

Kalibratører

Kalibratører er integrert i målekassetten.

Tabellen nedenfor gir en oversikt over kalibreringspunktene for hver analytt i reagensene:

Analytt	Høyt kalibreringspunkt	Løvt kalibreringspunkt
pH	7,400	6,820
pCO ₂	9,33 kPa	4,67 kPa
pO ₂	20,53 kPa	0,00 kPa
Na ⁺	159 mmol/L	116 mmol/L
K ⁺	8,0 mmol/L	4,0 mmol/L
Ca ⁺⁺	1,25 mmol/L	0,62 mmol/L
Cl ⁻	98 mmol/L	69 mmol/L
Glu	10,0 mmol/L	0 mmol/L
Lac	2 mmol/L	0 mmol/L
tHb	15,0 g/dL	0 g/dL

Tabellen nedenfor identifiserer sporingsmetoden for kalibratorer som gjelder for hver parameter:

Parameter	Sporingsmetode
pH	Sporbare til NIST SRM186 referansematerialer via IFCC-blodreferansemetoden.
pCO ₂	Sporbare til tonometrivanstandarder klargjort ved bruk av NIST-sporbare temperatur- og trykkstandarder og gravimetrisk klargjorte presisjonsgasstandarder.
pO ₂	Sporbare til tonometrivanstandarder klargjort ved bruk av NIST-sporbare temperatur- og trykkstandarder og gravimetrisk klargjorte presisjonsgasstandarder.
K ⁺	Sporbar til NIST SRM 918 referansematerialer ved bruk av flammefotometri.
Na ⁺	Sporbar til NIST SRM 919 referansematerialer ved bruk av flammefotometri.
Ca ⁺⁺	Sporbare til gravimetrisk klargjorte interne standarder ved bruk av NIST SRM 915 og ISE-metoder som er innstøpte i Siemens blodgassanalyserer.
Cl ⁻	Sporbare til NIST SRM 919 eller 918 referansematerialer ved bruk av en kolorimetrisk referansemetode.
Glukose	Sporbar til NIST SRM 917 referansematerialer ved bruk av heksokinasemetoden.
Laktat	Sporbare til høy renhets laktat ved hjelp av Laktatdehydrogenasespektrofotometrimetoden
tHb	Sporbare til interne standarder kalibrert mot CLSI cyanmethemoglobinmetoden.

Målekassetter, som inneholder kalibratorer, oppbevares i kjøleskap/kjølerom mellom 2°C og 8°C, inntil de monteres på analysator.

Kvalitetskontroll

Intern kvalitetskontroll utføres ved hjelp av automatisk kvalitetskontroll kassett (AQC-kassett). Kvalitetskontrollkassetten monteres på analysator, og programmeres til automatisk å utføre kvalitetskontroller med ønsket frekvens og ønskede nivåer. AQC-kassetten inneholder tre analysenivåer

Prøvemateriale/prøvetaking (1)

Blodgass arteriell: Blodet tas anaerobt i heparinisert sprøyte fra en arterie og bør analyseres så raskt som mulig. Arteria radialis, femoralis, eller brachialis anbefales brukt til prøvetaking. Utføres av lege/sykepleier med opplæring i dette. (1)

Blodgass kapillær: Tas i heparinisert kapillærrør. Prøven tas fra finger hos voksne og barn. Hos spebarn tas prøve ved stikk i hæl. Tilstreb god blødning og minst mulig klemming ved prøvetaking. Kapillærrøret holdes inne i bloddråpen for minst mulig ekvibrering mot atmosfæreluft. Det må ikke være luftbobler i kapillærrøret. Analyseres så raskt som mulig.

Blodgass venøs: Tas som vanlig venepunksjon med minst mulig bruk av stase. Benytt glass med Li-heparin. Analyseres innen 15 minutter. (Kristiansund: innen 30 minutter ved oppbevaring i isvann.)

Laktat: Venepunksjon uten/minst mulig stase. Benytt glass med Li-heparin, og analyser umiddelbart. (Kristiansund: Settes i isvann inntil analysering, som må skje innen 30 minutter)

Na⁺, K⁺, Cl⁻, Glukose, Laktat: Kan analyseres i arterielle, kapillære og venøse blodgassprøver (se over). Kan også analyseres i serum.

Ionisert-Ca⁺⁺: Anaerob prøvetaking er å foretrekke. (S-)Calcium, ionisert (pH 7.4): Veneblod tas i SST-rør (minimal stase, ingen bruk av muskelpumpe), fylles helt, proppen beholdes på under sentrifugering og lagring, inntil prøven analyseres. Holdbarhet: Inntil 48 timer ved 20°C, inntil 7 dager ved 4°C, inntil 45 dager ved -20°C. (kB-)Calcium, ionisert: Tas som kapillær blodgassprøve.

Oximetri inkl. Hb: Kan utføres i alle de nevnte hepariniserte prøvene. Bland prøven godt før analyse. Må analyseres innen 15 minutter.

Framgangsmåte

Se prosedyre  [Blodgass instrument RAPIDPoint 500 - analysering av prøver ved Ålesund Sjukehus \(Ålesund\)](#)

Se prosedyre  [RapidPoint 500: Analysering av prøver/bruk av instrument, Volda sjukehus \(Volda\)](#)

Se prosedyre  [Siemens Rapidpoint 500 Analysering av prøver \(Kristiansund\)](#)

Se prosedyre  [Siemens RAPIDpoint 500 Analysering av prøver - Molde \(Molde\)](#)

Måleområde (2)

Rapporterbare områder for parametere

Målinger som ligger under/over rapporterbart område indikeres med hhv. -----↓ og -----↑. Ingen tallverdi vises/rapporteres.

pH og blodgassparametre

pH	6,500–7,800
pCO ₂	0,66–26,66 kPa
pO ₂	1,33–93,32 kPa

Elektrolytt og metabolittparametere

Na ⁺	100,0–200,0 mmol/L
K ⁺	0,50–15,00 mmol/L
Ca ⁺⁺	0,20–5,00 mmol/L
Cl ⁻	65–140 mmol/L
Glukose	1,1–41,6 mmol/L
Laktat	0,18–30,00 mmol/L

CO-ox-parametere

tHb	2.0–25.0 g/dL
FO ₂ Hb	0,0–100,0 %.
FCOHb	0,0–100,0 %.

FMetHb	0,0–100,0 %.
FHHb	0,0–100,0 %.
sO ₂	15,0-100,0%

Fortynning evt. annen behandling av prøve med resultat utenfor måleområde er ikke aktuelt.

Analytisk presisjon

Oppnådde variasjonskoeffisienter for kvalitetskontroller analysert på Siemens Rapidpoint 500. Målenivåer lav (L), Middels (M) og høy (H): Basert på >100 målinger:

		Rapidpoint 500 CV%
pH	L	<0,1
	M	<0,1
	H	0,1
pCO ₂	L	2,9
	M	1,8
	H	2,4
pO ₂	L	0,9
	M	1,8
	H	2,6
Hb	L	0,6
	M	0,5
	H	0,8
FO ₂ Hb%	L	0,5
	M	0,6
	H	1,1
FCOHb%	L	8,4
	M	8,4
	H	3,3
FMetHb%	L	1,3
	M	20,8
	H	15,9
Na ⁺	L	0,6
	M	0,2
	H	0,4
K ⁺	L	0,7
	M	0,2
	H	0,2
Ca ⁺⁺	L	0,8
	M	0,7
	H	1,1
Cl ⁻	L	0,5
	M	0,5
	H	0,6
Glukose	L	0,9
	M	1,2
	H	2,3
Laktat	L	4,8
	M	5,9
	H	3,3

Feilkilder (9) og interferens (2)

Ved kapillær eller åpen venøs prøvetaking kan man risikere å få feil resultat ved for dårlig blødning. Finger, hånd

eller hæl bør derfor være varm før blodprøvetaking. Husk det skal blø godt fra stikket. Pass på at det ikke kommer luft i kapillærrøret (anaerobe betingelser).

Ved arteriepunksjon skal man bruke sprøyter ekvilibrert med tørr Li-heparin. Dette sikrer korrekte elektrolyttresultater og man unngår fortykning (jfr. Hb). For lite volum blod i forhold til anbefalt volum, vil kunne gi feil resultat på elektrolytter og ionisert Ca.

Ved koagel: Dersom det er koagel i prøven, kan dette hindre at alt blodet når alle elektrodene. Dette kan medføre feilmålinger, for eksempel kan K⁺ stige. Kontroller at blodet suges jevnt inn.

Holdbarhet: Prøver som ikke er analysert innen 15 minutter etter prøvetaking kan ikke brukes. Prøver med høyt O₂-innhold må analyseres innen 5 minutter. For lang henstand før analysering fører til at pH, pO₂, og glukose synker mens pCO₂, Ca og laktat stiger.

Lite blod kombinert med luft i sprøyten vil gi feil resultater på grunn av gassutveksling mellom blod og luft. Kan også gi feil resultat på elektrolyttene.

Lufttilblending, selv bare en liten luftboble, vil føre til at pH, pO₂ og sO₂ stiger mens pCO₂ synker. Prøvesvarene vil endres så mye at det er klinisk signifikant.

På grunn av lufttilblending, må ikke samme blodgassprøye brukes på flere apparater etter hverandre. Dette kan føre til store avvik i resultatene.

Skal samme pasient følges opp over tid, bør man analysere prøvene på samme apparat.

Hyperlipemi kan forårsake forhøyet methemoglobin.

Ved høye bilirubinverdier kan oxyhemoglobinverdien stige.

Bruk av andre antikoagulantia anbefales ikke på grunn av pH-forandringer.

Hemolyserte prøver må ikke brukes.

Det skal være anaerobe betingelser for å unngå å måle feil på gasser og andre parametere.

Data for interferens er oppgitt av produsent: (2)

Substanser som interfererer med kalsiummålingen:

Substans	Konsentrasjon testet	Interferensgrad
Salisylsyre	3,62 mmol/L	-0,098 mM (6 %)
Salisylsyre	1,15 mmol/L	-0,046 mM (3 %)

Substanser som interfererer med natriummålingen:

Substans	Konsentrasjon testet	Interferensgrad
Dobutamin	5 mg/dL	6 mmol/L
Benzalkoniumheparin	-	> 50 mM
Heparin Leo	800–850 U/mL	-12,6 mM

Substanser som interfererer med kloridmålingen:

Substans	Konsentrasjon testet	Interferensgrad
Salisylsyre	3,62 mmol/L	9,5 mmol/L
Salisylsyre	1,15 mmol/L	1,8 mmol/L

Substanser som interfererer med kaliummålingen:

Substans	Konsentrasjon testet	Interferensgrad
Benzalkoniumheparin	-	> 0,15 mM

Substanser som interfererer med CO-oxmålingen:

Substans	Parameter som substansen interfererer med	Interferensgrad
Metylenblått ved 25 mg/L	FO ₂ Hb	-1,2 %
	FCOHb	+1,3 %
Metylenblått ved 40 mg/L	FO ₂ Hb	-2,0 %
	FCOHb	+2,0 %
Sulfhemoglobin ved 10 %	tHb	-0,8 g/dL
	FO ₂ Hb	-6,1 %

	FCO _{Hb}	+3,6 %
	FMetHb	+1,4 %
	FHHb	+1,7 %

Referanseområde

Blodgass m/elektrolytter og metabolitter

pH arterielt blod	7,37-7,45 ¹⁴
pH venøst blod	7,32-7,41
pCO ₂ arterielt blod	Menn: 4,7-6,1 kPa ¹⁴ Kvinner: 4,3-5,7 kPa
pO ₂ arterielt blod	9,54-13,9 kPa ¹⁴
Bikarbonat	21-26 mmol/L ¹⁴
Base Excess (BE)	(-2) – (+3) ¹⁴
Ca, ion (akt)	1,14-1,28 mmol/L ²²
Ca, ion (pH7,4):	1,16-1,28 mmol/L ²²
Aniongap (K ⁺)	10-20 mmol/L ¹⁵
Laktat	0,5-2,2 mmol/L ¹⁶
Glukose fastende	4,2-6,3 mmol/L ¹⁷
Natrium	137-145 mmol/L ¹⁷
Kalium	3,5-4,4 mmol/L ¹⁷
Klorider	97-107 mmol/L ¹⁸

Oximetri

O ₂ Hb	Arterielt blod: 94-98 % ¹⁴
sO ₂	Arterielt blod: 95-98,5 % ¹⁴
MetHb	Arterielt og venøst blod: ≤1,0 % ¹⁴
CO-Hb	Arterielt og venøst blod: <3,0% ¹⁹
HHb	Arterielt blod: 0 - 5,0% ²⁰
P50	3,2-3,8 kPa ²¹

Resultatvurdering (1, 9, 10, 11)

Blodgassparametre:

Base excess (BE) i ekstracellulærvæsken (ECV) er et mål for den metabolske komponent i syre/base-forstyrrelser. pCO₂ er et mål for den respiratoriske komponent. Generelt kan man regne med at respiratorisk kompensasjon ved metabolsk acidose er maksimalt utviklet innen 12-24 timer, mens renal kompensasjon ved non-renal metabolsk og respiratorisk acidose ikke er maksimal før etter 5-6 døgn. Når BE omtales heretter, er det BE i ECV man mener.

Respiratorisk acidose

pH er lav, pCO₂ er høy. BE er normal ved akutte tilstander, og opp til 15 mmol/L når nyrene har fått tid til maksimal kompensasjon. pO₂ er lav, avhengig av to prinsipielt forskjellige årsaker; hypoventilasjon og ventilasjons/perfusjonsforstyrrelser.

Ved hypoventilasjon sees redusert pO₂, etter ligningen:

PO₂ alveolært = PO₂ inspirert - PCO₂/R, der R = mmol avgitt CO₂/mmol opptatt O₂.

Hvis gassutvekslingen er normal, som ved en ren hypoventilasjon, er pO_2 arterielt bare 1-3 kPa lavere enn pO_2 alveolært.

Ved ventilasjons/perfusjonsforstyrrelser er forskjellen mellom PO_2 alveolært og PO_2 arterielt større.

Årsaker til hypoventilasjoner er tallrike, alt fra svekket respirasjonssenter til fremmedlegemer i luftveiene. Årsaker til ventilasjons/perfusjonsforstyrrelser kan f.eks. være kronisk obstruktive lungesykdommer eller lungeemboli.

Respiratoriske alkaloser

pH er høy, pCO_2 er lav. BE er normal ved akutte tilstander og ned mot -10 til -15 mmol/L i kompenserte tilfeller. PO_2 er normal eller redusert.

Årsaker: Hyperventilasjon, høyre-til-venstre shunter eller lungesykdommer med diffusjonshinder. Noen tilfeller av ventilasjons/perfusjonsforstyrrelser vil primært gi redusert pO_2 , økt ventilasjon og redusert pCO_2 , men hvis årsaken er primært økt ventilasjon, vil pO_2 være normal.

Metabolske acidoser

pH er lav, pCO_2 er normal initialt, men lav (ned mot 1-2 kPa) i kompenserte tilfeller. BE er lav, pO_2 er normal.

Årsaker: Primært bikarbonat-tap med normal aniongap, som ved diaré og renal tubulær acidose av proximal type. Økt produksjon eller tilførsel av ikke-flyktig syre, ofte med økt aniongap, som ved ketoacidose og lactacidose. Redusert hydrogenionutskillelse, med økt aniongap ved redusert syreanionutskillelse, som ved nyresvikt, eller med normalt aniongap som ved renal tubulær acidose av distal type og ved hypoaldosteronisme.

Metabolske alkaloser

pH er høy, pCO_2 kan ofte være høy, opp mot 8 kPa. BE er høy, pO_2 er normal.

Årsaker: Tap av syre, som ved oppkast eller drenasje fra ventrikel, diuretikabruk, hyperaldosteronisme. Uforsiktig tilførsel av bikarbonat, som ved feilbehandling av acidoser, selvmedikasjon og svær citrattilførsel (ved massive blodtransfusjoner; citrat blir omdannet til bikarbonat).

Oximetri

COHb og MetHb kan tolkes direkte ut fra indikasjonen. ctO_2 , O_2Hb og sO_2 undersøkes vanligvis i arterieblod. O_2CAP undersøkes også i venøst blod. O_2CAP forteller hvilken evne blodet har til å bære O_2 og vil være redusert ved anemi, kullsforgiftning og methemoglobinemi. P50 er den pO_2 som oksyhemoglobinet har ute i vevene når oksygenmetningen er 50 %. Er P50 høy, så betyr dette blodets evne til å avgis O_2 til vevene øker. Er P50 lav, så avgis O_2 dårlig. Forhold som øker P50 er lav pH, økt pCO_2 og økt temperatur. Forhold som reduserer P50 er alkalose, kullsforgiftning og hypotermi.


Laktat (1)


Mærket høye verdier (> 5 mmol/L) ses ved laktacidose. Kun høye verdier har klinisk relevans.


Økt produksjon: Tilstander som stimulerer anaerob metabolisme: Hypoksi (absolutt eller relativ), tiaminmangel (pyruvat omdannes da til laktat i stedet for til acetyl-CoA), enzymdefekter (medfødte stoffskiftesykdommer, deriblant mitokondriesykdom), intoksikasjon med medikamenter (f.eks. salisylater) eller giftstoffer (f.eks. metanol, cyanid) som hemmer den oksidative fosforlyeringen, etanolinntak (medfører sjelden høy laktatproduksjon), metforminterapi (via hemming av pyruvatdehydrogenase). Svært sjelden kan man ved utbredt kreftsykdom se refraktær laktacidose, som muligens skyldes økt laktatproduksjon i tumorvev (Warburgeffekten) kombinert med redusert eliminasjon.

Redusert eliminasjon: Leversvikt, nyresvikt, hypoperfusjon av perifert vev med påfølgende reperfusjon, tiaminmangel. Etanolintoksikasjon hos personer med kronisk leverskade kan medføre meget høye laktatverdier, trolig som følge av redusert eliminasjon. Diabetisk ketoacidose er ofte assosiert med laktacidose. Mekanismen er dog ikke endelig avklart.

Na, K, Cl og glukose

Na⁺ se  [Natrium](#) (gjelder Avdeling for medisinsk biokjemi – Ålesund)

K⁺: se  [Kalium](#) (gjelder Avdeling for medisinsk biokjemi – Ålesund)

Cl⁻: se  [Klorid](#) (gjelder Avdeling for medisinsk biokjemi – Ålesund)

Glukose: se  [Glukose](#) (gjelder Avdeling for medisinsk biokjemi – Ålesund)






Kliniske aksjonsgrenser

Se EQS-prosedyre  [Ringning av prøveresultat](#)

Litteraturliste/referanser/kilder






1. <http://brukerhandboken.no>
2. Brukermanual for Siemens Rapidpoint 500, ref.-nr.: 10629539 Rev. A
3. Durst RA, Ed. Ion-selective electrodes. Washington, DC: National Bureau of Standards Special Publication 314, 1969.
4. Severinghaus JW, Bradley AF. Electrodes for blood pO₂ and pCO₂ determination. J Appl Physiol, 1958; 13: 515.
5. Clark LC Jr., Lyons C. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. Ann NY Academy of Sciences, 1962; 102: 29.
6. VanAssendelft OW. Spectrophotometry of hemoglobin derivatives. The Netherlands: Thomas, 1970: 47-65.
7. VanAssendelft OW, Zijlstra WG. Extinction coefficients for use in equations for the spectrophotometric analysis of hemoglobin mixtures. Anal Biochem 1975; 69: 43-48.
8. Benesch RE, Benesch R, Yung S. Equations for the spectrophotometric analysis of hemoglobin mixtures. Anal Biochem 1973; 55: 245-248.
9. Laurell, 1997: Klinisk kemi i praktisk medicin
10. J. Kofstad: Blodgasser, elektrolytter og hemoglobin - metode og klinikk
11. T. A. Hagve & J. P. Berg (red): Klinisk Biokjemi og Fysiologi, 4.utgave 2011
12. International Federation of Clinical Chemistry. Reference method (1986) for pH measurement in blood. IFCC1987/3.
13. Evelyn K.A., and Malloy H.T.: Microdetermination of Oxyhemoglobin, Methemoglobin and Sulphemoglobin in a Single Sample of Blood. J. Biol. Chem., 126:655-662, 1938.
14. Thomas L, Labor und Diagnose, Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik, 8. Auflage, TH-books, 2012.
15. Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th edition, Saunders Company, 2001.
16. Toffaletti J et al. Lactate measured in diluted and undiluted whole blood and plasma: Comparison of methods and effect of hematocrit. Clin Chem 1992;38(12):2430-2434.
17. Rustad P et al. The Nordic reference interval project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. SJCLI 2004;64:271-84.
18. Tidligere referanseintervall frå Vitros, videreført og bekreftet med metodesammenligning med Cobas (95-105 mmol/L).
19. Marshall MD et al. Are reference intervals for carboxyhemoglobin appropriate? A survey of Boston Area Laboratories. Clin Chem 1995;41(10):1434-1438.
20. Leverandør Bayer Rapid Point «Rapidanalyse-Blutgase und mehr» 2004.
21. Radiometer brosjyre «Das Blutgashandbuch», 2000.
22. Klæstrup E et al. Reference intervals and age and gender dependency for arterial blood gases and electrolytes in adults. CCLM 2011;49(9):1495-1500.

Relaterte dokumenter

-  [Blodgass instrument RAPIDPoint 500 - analysering av prøver ved Ålesund Sjukehus \(Ålesund\)](#)
-  [Siemens Rapidpoint 500 Analysering av prøver \(Kristiansund\)](#)
-  [RapidPoint 500: Analysering av prøver/bruk av instrument, Volda sjukehus \(Volda\)](#)
-  [Siemens RAPIDpoint 500 Analysering av prøver - Molde \(Molde\)](#)
-  [Siemens Rapidpoint 500 Vedlikehold](#)

Du har ikke tilgang til dokument med ID 34018

(Molde)

-  [Ringning av prøveresultat](#)
-  [Natrium \(gjelder Avdeling for medisinsk biokjemi – Ålesund\)](#)
-  [Kalium \(gjelder Avdeling for medisinsk biokjemi – Ålesund\)](#)
-  [Klorid \(gjelder Avdeling for medisinsk biokjemi – Ålesund\)](#)
-  [Glukose \(gjelder Avdeling for medisinsk biokjemi – Ålesund\)](#)

Relaterte dokumenter

-  [Blodgass instrument RAPIDPoint 500 - analysering av prøver ved Ålesund Sjukehus](#)

 Glukose

 Kalium

 Klorid

 Natrium

 RapidPoint 500: Analysering av prøver/bruk av instrument, Volda sjukehus

 Ringing av prøveresultat

 Siemens Rapidpoint 500 Analysering av prøver

 Siemens Rapidpoint 500 Vedlikehold



HELSE MØRE OG ROMSDAL

Klinikk for diagnostikk
Avdeling for medisinsk biokjemi

Samtykkeskjema

Laboratoriet trenger blod for å kunne undersøke pasientprøvene sine best mulig og for å sikre optimal kvalitet på ulike analyser.

Hvis du vil, kan blodet vi tar av deg brukes til dette formålet. Dette er helt frivillig.

Ditt blod brukes kun til kvalitetssikring av laboratorieundersøkelser og vil være helt anonymisert. Laboratoriet kan derfor ikke gi ut prøvesvar og avskriver seg ansvar for å informere om eventuelle patologiske funn.

Jeg sier ja til at blodprøven som tas av meg i dag, kan brukes til analyseutvikling og sikring av optimal kvalitet på analyser.

Dato:

Signatur:

VEDLEGG 4

Budsjett Bacheloroppgave

Totalt

kr 2 064,10

UTSTYR	KOSTNAD
Kanyle - Butterfly x 30	kr 137,40
Kanyleholder x 30	kr 5,70
Gelglass x 200	kr 188,00
Div. (Benkepapir, hansker osv.)	kr 50,00
Reagens/analyser	kr 1 620,00
Sprøyte x 180	kr 63,00

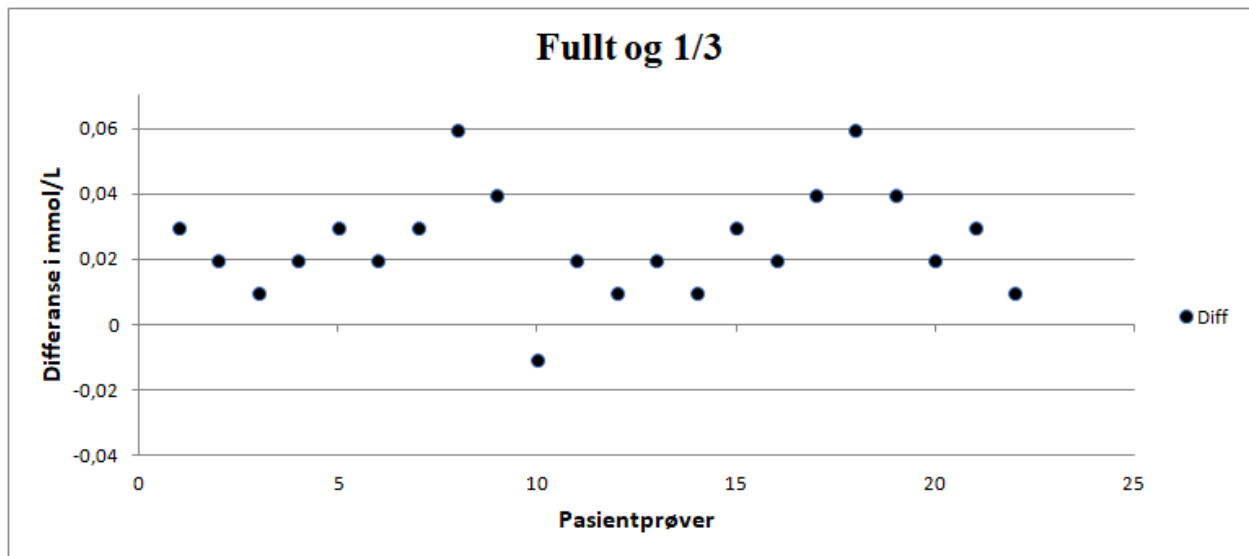
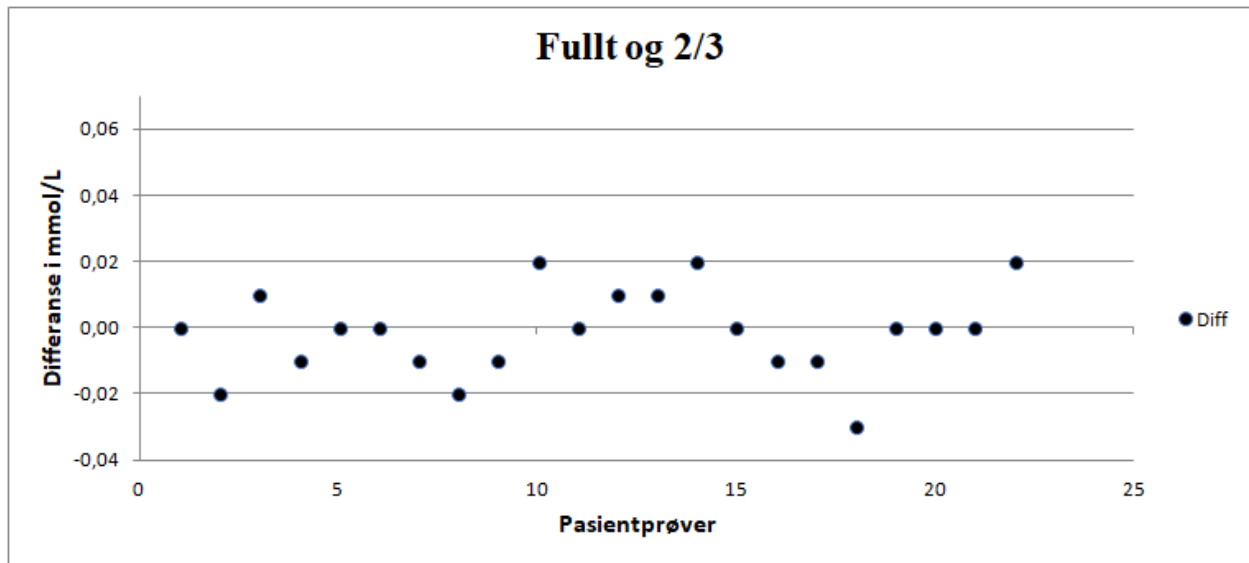
VEDLEGG 5

Fyllingsgrad						
	A*	pH	B*	pH	C*	pH
Pasient 1	0,99	7,48	0,99	7,50	0,96	7,56
Pasient 2	1,14	7,51	1,12	7,52	1,12	7,58
Pasient 3	1,16	7,36	1,17	7,37	1,15	7,42
Pasient 4	1,25	7,41	1,24	7,43	1,23	7,47
Pasient 5	1,16	7,47	1,16	7,47	1,13	7,55
Pasient 6	1,25	7,47	1,25	7,48	1,23	7,53
Pasient 7	1,16	7,46	1,15	7,50	1,13	7,57
Pasient 8	1,22	7,43	1,2	7,47	1,16	7,60
Pasient 9	1,22	7,40	1,21	7,41	1,18	7,45
Pasient 10	1,29	7,46	1,31	7,47	1,3	7,53
Pasient 11	1,17	7,52	1,17	7,54	1,15	7,58
Pasient 12	1,06	7,44	1,07	7,44	1,05	7,49
Pasient 13	1,23	7,41	1,24	7,44	1,21	7,51
Pasient 14	1,2	7,48	1,22	7,52	1,19	7,58
Pasient 15	1,11	7,39	1,11	7,44	1,08	7,52
Pasient 16	1,05	7,49	1,04	7,52	1,03	7,55
Pasient 17	1,2	7,37	1,19	7,40	1,16	7,44
Pasient 18	1,16	7,38	1,13	7,42	1,1	7,49
Pasient 19	1,09	7,40	1,09	7,41	1,05	7,51
Pasient 20	1,19	7,43	1,19	7,46	1,17	7,52
Pasient 21	1,06	7,38	1,06	7,44	1,03	7,56
Pasient 22	1,23	7,37	1,25	7,39	1,22	7,43
Gjennomsnitt	1,16	7,43	1,16	7,46	1,14	7,52
*(A = Referanseglass, B = 2/3 fylt glass, C = 1/3 fylt glass)						

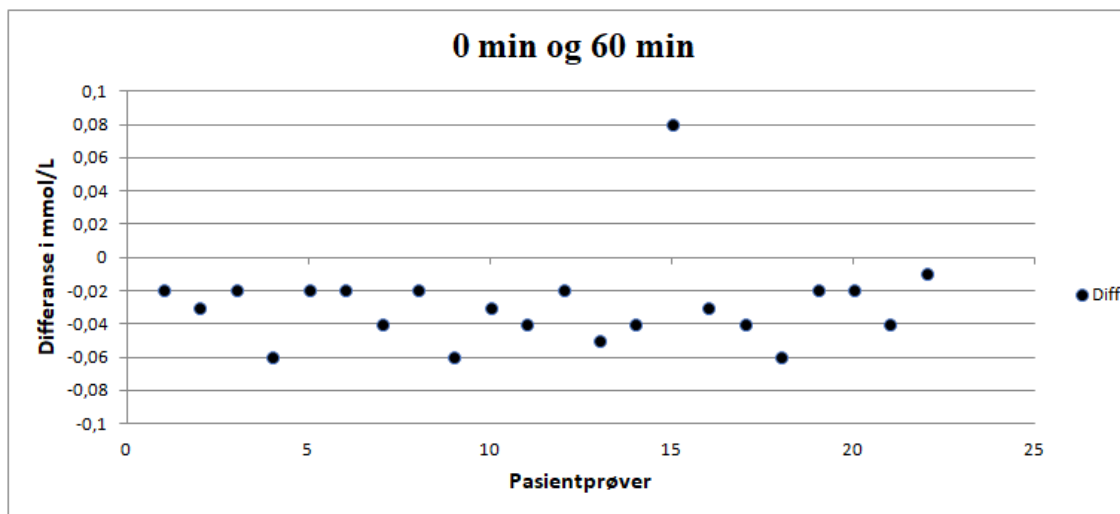
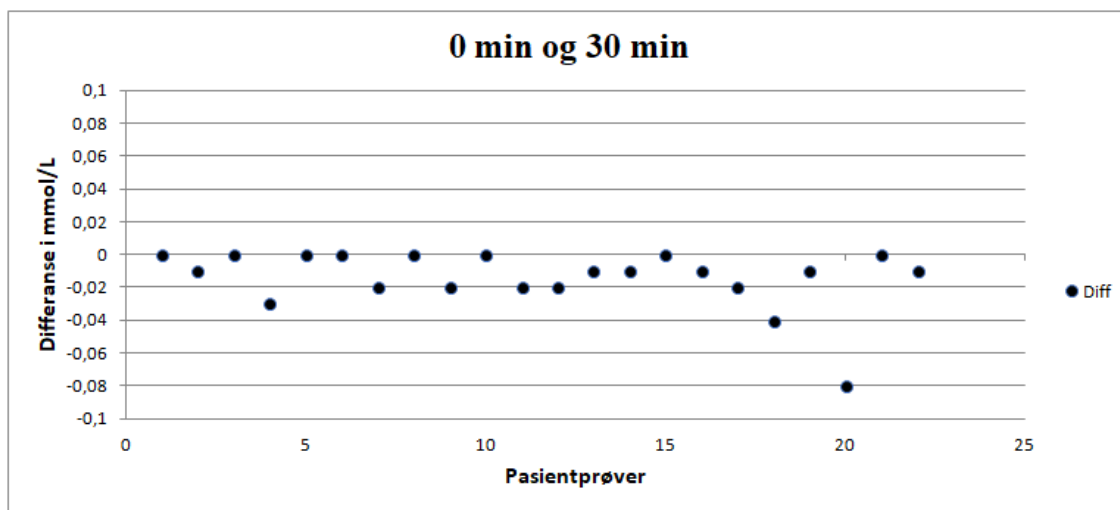
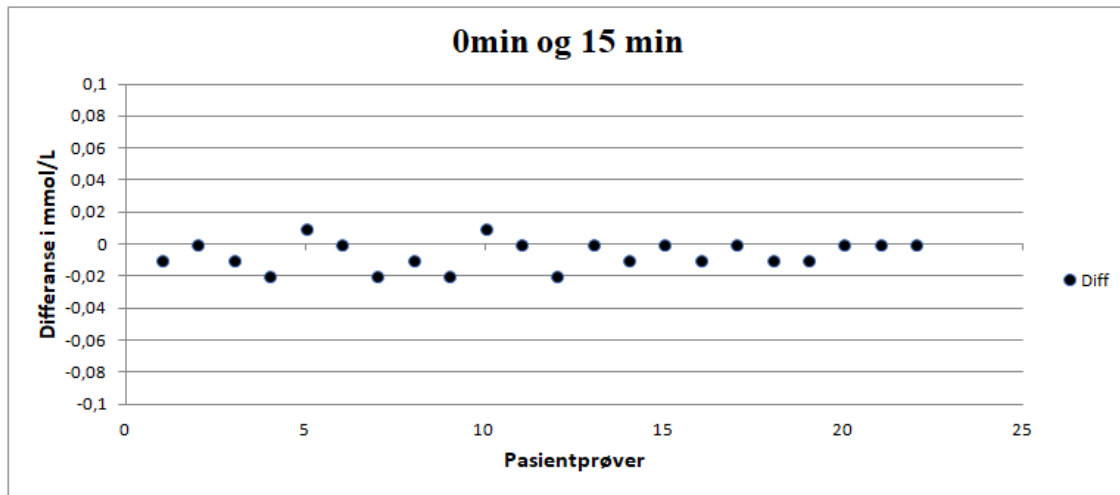
VEDLEGG 6

Lufttilførsel	Referanseglass		Pasientprøve (3 ulike glass)					
	<i>A*</i>	<i>pH</i>	<i>15 min</i>	<i>pH</i>	<i>30 min</i>	<i>pH</i>	<i>60 min</i>	<i>pH</i>
<i>Pasient 1</i>	0,99	7,48	0,98	7,49	0,99	7,49	0,97	7,54
<i>Pasient 2</i>	1,14	7,51	1,14	7,55	1,13	7,56	1,11	7,60
<i>Pasient 3</i>	1,16	7,36	1,15	7,38	1,16	7,37	1,14	7,42
<i>Pasient 4</i>	1,25	7,41	1,23	7,44	1,22	7,49	1,19	7,54
<i>Pasient 5</i>	1,16	7,47	1,17	7,46	1,16	7,49	1,14	7,55
<i>Pasient 6</i>	1,25	7,47	1,25	7,48	1,25	7,50	1,23	7,54
<i>Pasient 7</i>	1,16	7,46	1,14	7,48	1,14	7,48	1,12	7,53
<i>Pasient 8</i>	1,22	7,43	1,21	7,45	1,22	7,45	1,2	7,53
<i>Pasient 9</i>	1,22	7,40	1,2	7,42	1,2	7,43	1,16	7,50
<i>Pasient 10</i>	1,29	7,46	1,3	7,48	1,29	7,50	1,26	7,55
<i>Pasient 11</i>	1,17	7,52	1,17	7,53	1,15	7,59	1,13	7,65
<i>Pasient 12</i>	1,06	7,44	1,04	7,44	1,04	7,45	1,04	7,49
<i>Pasient 13</i>	1,23	7,41	1,23	7,44	1,22	7,46	1,18	7,52
<i>Pasient 14</i>	1,2	7,48	1,19	7,51	1,19	7,50	1,16	7,56
<i>Pasient 15</i>	1,11	7,39	1,11	7,41	1,11	7,41	1,19	7,48
<i>Pasient 16</i>	1,05	7,49	1,04	7,51	1,04	7,52	1,02	7,57
<i>Pasient 17</i>	1,2	7,37	1,2	7,38	1,18	7,41	1,16	7,45
<i>Pasient 18</i>	1,16	7,38	1,15	7,39	1,12	7,42	1,1	7,48
<i>Pasient 19</i>	1,09	7,40	1,08	7,41	1,08	7,42	1,07	7,46
<i>Pasient 20</i>	1,19	7,43	1,19	7,45	1,11	7,47	1,17	7,51
<i>Pasient 21</i>	1,06	7,38	1,06	7,44	1,06	7,45	1,02	7,49
<i>Pasient 22</i>	1,23	7,37	1,23	7,37	1,22	7,39	1,22	7,44
<i>Gjennomsnitt</i>	1,16	7,43	1,16	7,45	1,15	7,47	1,14	7,52

VEDLEGG 7



VEDLEGG 8



VEDLEGG 9

T-TEST FYLLINGSGRAD			$\alpha(\text{signifikansnivå})= 0.05$		
	3/3 fullt	2/3 fullt		3/3 fullt	1/3 fullt
Pasient 1	0,99	0,99	Pasient 1	0,99	0,96
Pasient 2	1,14	1,12	Pasient 2	1,14	1,12
Pasient 3	1,16	1,17	Pasient 3	1,16	1,15
Pasient 4	1,25	1,24	Pasient 4	1,25	1,23
Pasient 5	1,16	1,16	Pasient 5	1,16	1,13
Pasient 6	1,25	1,25	Pasient 6	1,25	1,23
Pasient 7	1,16	1,15	Pasient 7	1,16	1,13
Pasient 8	1,22	1,2	Pasient 8	1,22	1,16
Pasient 9	1,22	1,21	Pasient 9	1,22	1,18
Pasient 10	1,29	1,31	Pasient 10	1,29	1,3
Pasient 11	1,17	1,17	Pasient 11	1,17	1,15
Pasient 12	1,06	1,07	Pasient 12	1,06	1,05
Pasient 13	1,23	1,24	Pasient 13	1,23	1,21
Pasient 14	1,2	1,22	Pasient 14	1,2	1,19
Pasient 15	1,11	1,11	Pasient 15	1,11	1,08
Pasient 16	1,05	1,04	Pasient 16	1,05	1,03
Pasient 17	1,2	1,19	Pasient 17	1,2	1,16
Pasient 18	1,16	1,13	Pasient 18	1,16	1,1
Pasient 19	1,09	1,09	Pasient 19	1,09	1,05
Pasient 20	1,19	1,19	Pasient 20	1,19	1,17
Pasient 21	1,06	1,06	Pasient 21	1,06	1,03
Pasient 22	1,23	1,25	Pasient 22	1,23	1,22
T-TEST verdi:		0,6330	T-TEST verdi:		0,00000031

VEDLEGG 10

T-TEST LUFTTILFØRSEL						
	0 min	15 min	0 min	30min	0 min	60 min
Pasient 1	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99	0,97
Pasient 2	1,14	1,14	1,14	1,13	1,14	1,11
Pasient 3	1,16	1,15	1,16	1,16	1,16	1,14
Pasient 4	1,25	1,23	1,25	1,22	1,25	1,19
Pasient 5	1,16	1,17	1,16	1,16	1,16	1,14
Pasient 6	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,23
Pasient 7	1,16	1,14	1,16	1,14	1,16	1,12
Pasient 8	1,22	1,21	1,22	1,22	1,22	1,2
Pasient 9	1,22	1,2	1,22	1,2	1,22	1,16
Pasient 10	1,29	1,3	1,29	1,29	1,29	1,26
Pasient 11	1,17	1,17	1,17	1,15	1,17	1,13
Pasient 12	1,06	1,04	1,06	1,04	1,06	1,04
Pasient 13	1,23	1,23	1,23	1,22	1,23	1,18
Pasient 14	1,2	1,19	1,2	1,19	1,2	1,16
Pasient 15	1,11	1,11	1,11	1,11	1,11	1,19
Pasient 16	1,05	1,04	1,05	1,04	1,05	1,02
Pasient 17	1,2	1,2	1,2	1,18	1,2	1,16
Pasient 18	1,16	1,15	1,16	1,12	1,16	1,1
Pasient 19	1,09	1,08	1,09	1,08	1,09	1,07
Pasient 20	1,19	1,19	1,19	1,11	1,19	1,17
Pasient 21	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06	1,02
Pasient 22	1,23	1,23	1,23	1,22	1,23	1,22
T-test verdi:	0,006055303		0,001738595		0,000154922	

