

Kandidatnummer: 10005, 10014 og 10025

## **BI301305 Bacheloroppgave Undersøkelse av hemolyse interferens på folat, kalium og ASAT**

Totalt antall sider inkludert forsiden: 81

Innlevert 27.05.2019

Bacheloroppgave i Bioingeniør

Veileder: Lutz Schwettmann

Mai 2019



Kandidatnummer: 10005, 10014 og 10025

**BI301305 Bacheloroppgave**  
**Undersøkelse av hemolyse interferens**  
**på folat, kalium og ASAT**

Totalt antall sider inkludert forsiden: 81

Innlevert 27.05.2019

Bacheloroppgave i Bioingeniør  
Veileder: Lutz Schwettmann  
Mai 2019

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



# Forord

Denne bacheloroppgaven er utført av bioingeniørstudenter ved Norges teknisk naturvitenskapelige universitet (NTNU) i Ålesund.

Oppgaven er skrevet våren 2019 over en tidsperiode på 10 uker. Vi fikk tildelt en oppgave om å undersøke hemolyse interferens på analyser som inngår folat, kalium og aspartataminotransferase (ASAT). Dette er for å sjekke om de fastsatte og nåværende grenser for hemolyse-indeks på sykehus kan endres, og for å gi grunnlag for å eventuelt fastsette nye grenser for hemolyse-indeks.

Den praktiske delen av oppgaven er utført på avdeling for medisinsk biokjemi ved Ålesund sykehus. Alle pasienter er anonymisert for å forhindre misbruk av pasientinformasjon.

NTNU og Ålesund Sjukehus har dekket alle de økonomiske utgiftene til laboratoriearbeidet.

Det har vært en spennende og lærerik prosess å skrive denne oppgaven og jobbe på laboratoriet.

Vi ønsker å rette en stor takk til:

Doktor Lutz Schwettmann, for faglig og prosess/skrive-veiledning

Fagbioingeniør Sissel Røli, for hjelp både faglig og praktisk veiledning

Fagbioingeniør Siw Berbu for bidrag i budsjett-planlegging

Vi ønsker også å takke alle andre ansatte ved medisinsk biokjemi Ålesund, som ofret sin tid for å hjelpe oss.

# Sammendrag

## Innledning:

*Problemstilling: Hvor hemolysert kan en blodprøve være for å kunne gi nøyaktige svar ved serumprøver i folat, kalium og ASAT ved Ålesunds Cobas moduler?*

Hensikten med dette forsøket er å måle hemolyse-indeks (HI) for kalium, folat og ASAT ved Ålesund sykehus sine Cobas 8000 moduler. Dette for å finne ut om det er mulig å endre grenseverdiene for HI som blir brukt per dags dato (28.05.19). Ålesund sykehus ønsker å utvide hemolyse grensen for folat og ASAT. For kalium så ønsker de å snevre inn grensen.

## Metode:

For hver analytt ble det valgt fem pasientprøver. De ble valgt på grunnlag av deres konsentrasjon av analytt og lav hemolyse. En bruksløsning ble laget av pasientenes individuelle hemolysat og fem fortynninger ble laget basert på pasientens eget serum og bruksløsning. Fortynningsrekka ble laget slik at man fikk fem ulike fortynninger for folat, ASAT og kalium. Et hemolysat ble laget av de vaskede erytrocyttene til hver individuelle pasient ved å sette etyldiamintetraacetat(EDTA)-rørene i en fryser. De fortynnete og ufortynnete prøvene ble analysert på Cobas med tre replikater. For å undersøke Hb i hemolysatet ble det fortynnet med 0.9% NaCl og analysert på Sysmex XN-2000.

## Resultat:

Dette er et kvantitativt studie hvor alle pasientprøver fra de med lave konsentrasjoner til de med høye konsentrasjoner av hver analytt er presentert i tabell og graf form.

## Konklusjon:

Basert på dette forsøket kan det dermed konkluderes med at sykehuset sine grenseverdier for kalium og folat kan endres, mens ASAT kan forbli det samme. Dette er basert på utregninger og anbefalinger i forsøket og sykehusets ønske om å enten utvide eller snevre inn grenseverdiene for hemolyse-indeks.

# Innholdsfortegnelse

<b>Forord</b>	<b>1</b>
<b>Sammendrag</b>	<b>2</b>
<b>Innholdsfortegnelse</b>	<b>3</b>
<b>1. Innledning</b>	<b>5</b>
1.1 Problemstilling	6
1.2 Teori	6
1.2.1 Røde blodceller	6
1.2.2 Hemolyse	7
1.2.3 Preanalytiske feil	7
1.2.4 Hemolyse-indeks	8
1.2.5 Hemolyse og kalium	10
1.2.6 Hemolyse og folat	11
1.2.7 Hemolyse og ASAT	12
1.2.8 Kvalitetskontroll	12
Variasjon	12
Nøyaktighet	13
Presisjon	13
Systematiske feil	14
Tilfeldige feil	14
1.2.9 Instrumenter	14
Cobas 8000 modular analyser series	14
Sysmex XN-2000	15
1.3 Tidligere studier	16
<b>2. Materialer og metoder</b>	<b>17</b>
2.1 Instrumenter	17
2.2 Utstyr	17
2.3 Prosedyre	18
2.3.1 Innsamling av prøvemateriale	18
2.3.2 Forbehandling av EDTA rør og tillagning av hemolysat	18
2.3.3 Forbehandling og analysering på Cobas	19
Tillagning av bruksløsning til Cobas	19
Tillaging av prøvefortynninger til Cobas	19
Programmering og analysering på Cobas 8000	19
2.3.4 Forbehandling og analysering til Sysmex XN-2000	20
Tillagning av bruksløsning til Sysmex XN-2000	20

Programmering og analysering på Sysmex XN-2000	20
2.3.5 Statistiske metoder	20
Geogebra	20
Bland Altman's plot	21
Korrelasjonskoeffisient, "r"	21
Westgard	21
Beregning av aksept kriterier for interferens	21
Bias	22
<b>3. Resultat</b>	<b>23</b>
3.1 Resultat fra SYSMEX XN-2000	23
3.2 Resultat fra COBAS 8000	24
3.2.1 Kalium:	24
3.2.2 Folat:	32
3.2.3 ASAT:	39
<b>4. Diskusjon</b>	<b>46</b>
4.1 Generell diskusjon av Metode:	46
4.2 Diskusjon av resultater på COBAS 8000:	49
4.2.1 Generelt om alle analyser:	49
4.2.2 Kalium:	49
4.2.3 Folat:	50
4.2.4 ASAT:	51
4.3 Feilkilder	53
<b>5. Konklusjon</b>	<b>54</b>
<b>6. Vedlegg</b>	<b>55</b>
<b>7. Kilder</b>	<b>72</b>



# 1. Innledning

I dette forsøket skal hemolyse-interferens på analysene Eleksys folate (S-Folat), Kalium (S-Kalium) og ASAT (S-ASAT) undersøkes. Resultatene skal brukes til å vurdere om nåværende grenser for hemolyse-indeks kan endres. Dette kan gi grunnlaget for å eventuelt fastsette nye grenseverdier for hemolyse-indeks.

Det har vært stilt spørsmål ved de nåværende grenseverdiene (fra. 28.05.19) for hemolyse-indeks på analysene S-Folat, S-ASAT og S-Kalium ved Ålesunds Cobas 8000 system. Grenseverdiene for hemolyse-indeks er det Roche (leverandør til Ålesund sykehuset) som har bestemt. HI for folat, ASAT og kalium er 15, 20 og 90 respektivt. Bioingeniører ved sykehuset i Ålesund har derimot valgt å bruke en HI grense på 20 for lave folat konsentrasjoner og 25 for høye folat konsentrasjoner. Ved ASAT bruker sykehuset en HI grense på 29. (refererer til vedlegg 19) (1).

Hensikten med dette forsøket er altså å måle HI for de tre analytter. Dette er for å undersøke og om mulig endre Roche's interne grenseverdier for hemolyse-indeks. Instrumentet som blir brukt for å kjøre inn alle prøvematerialer er en Cobas 8000 modular analyser series. En får da HI og konsentrasjonen til analytt som blir analysert.

Dette forsøket er av stor interesse for oss som bioingeniører å vite hvordan og hvorfor hemolyse-indeks grenseverdier blir bestemt. Dette kan ha stor innvirkning på hvordan pasienten skal få behandling, så alt må være nøye regulert og kontrollert. Det kjøres kvalitetskontroller for å sikre at verdiene man får er nøyaktige, men det er ikke alltid det går som planlagt. Bioingeniører må da ha kunnskapen om hvordan man skal vurdere og validere medisinske laboratorieanalyser.

Vi begynner med å presentere teorien i kapittel 1.2 som er relevant til denne oppgaven. I materialer og metoder i kapittel 2 går vi gjennom hvilke instrumenter og utstyr/reagenser som

har blitt brukt i dette forsøket. Samtidig forklarer vi våre analysemetoder. Resultatene og diskusjonen blir presentert i kapittel 3 og 4 respektivt.

## 1.1 Problemstilling

*“Hvor hemolysert kan en blodprøve være for å kunne gi nøyaktige svar ved serumprøver i folat, kalium og ASAT ved Ålesunds Cobas moduler?”*

Denne problemstillingen ble valgt fordi hemolyse er en stor feilkilde som må utredes for å finne nøyaktig svar på pasientprøver. Hvis prøven er hemolysert kan en få feil prøvesvar, og dette kan ha stor innvirkning på pasienter, som kan få feil behandling.

Folat-, ASAT- og kaliumprøvene er spesielt følsomme for interferens på grunn av deres konsentrasjon i erytrocyttene. Alle vil gi høyere konsentrasjoner ved hemolyse.

## 1.2 Teori

### 1.2.1 Røde blodceller

Røde blodceller (RBC), også kjent som erytrocytter, frakter oksygen til vevene i kroppen og CO<sub>2</sub> ut av kroppen via lungene. Mennesker har omtrent fem millioner RBC per mikroliter med blod. De har en levetid på omtrent hundre-og-tjue dager i kroppen. RBC sin form er bikonkave og de har ingen cellekjerner (2).

Erytrocytter blir dannet i benmargen og går gjennom flere modningsstadier. Ett av disse mellomstadiene blir kalt retikulocytt. Retikulocytt er umodne erytrocytter og har kjernerester. Etter hvert som retikulocyttene modnes til erytrocytter, forsvinner kjernerestene. Ved tap av mye blod (som ved hemolyse) kan en se flere retikulocytt enn vanlig (2,3).

Hemoglobin er et protein som binder oksygenet til RBC og gir cellen dens evne til å frakte oksygen. Det er også hemoglobin som gir blodet sin røde farge. Hemoglobinet består av fire

globuliner med kjerner av heme. Oksygenmolekyler binder seg til jernet i heme i globulinene (2,3).

### 1.2.2 Hemolyse

Hemolyse er nedbrytning/ødeleggelse av RBC. Ved hemolyse vil cellemembranen til RBC bli ødelagt, slik at hemoglobin og andre intracellulære komponenter fra RBC blir frigjort. Økt hemolyse vil føre til fall i haptoglobin fordi haptoglobin vil bindes til det frie hemoglobin. Bilirubin vil økes på grunn av økt nedbrytning av hem, og tapet av røde blodceller vil føre til økt antall retikulocytter som kompensasjon (4).

Tilstander som kan føre til hemolyse in situ er immunreaksjoner, infeksjoner, medisiner, toksiner, giftstoffer og behandlingsformer som bruk av dialyse-maskin og av "hjerne-lunge bypass" maskin (5).

### 1.2.3 Preanalytiske feil

Før en prøve blir tatt og analysert, må man ta hensyn til en rekke ulike faktorer som kan påvirke prøveresultatet. Avhengig av hvilke faktorer det gjelder, kan de gi store utslag som gjør at man blir forhindret i å gi ut prøveresultatet. Hemolyse er et eksempel på en type preanalytisk feil.

Det finnes mange preanalytiske faktorer som en må ta hensyn til når det gjelder påvirkning av prøveresultatet.

Disse kan være (men er ikke begrenset til):

- Identifikasjon og merking av prøver
- Prosedyrer (f.eks: rekkefølge av glass, bruk av stase, blanding av glass)
- Feil transport og forsendelse av prøver
- Oppbevaring og holdbarhet

- Interferens (eks: hemolyse og lipemi) (6).

Når det gjelder hemolyse interferens er det flere preanalytiske faktorer en må ta hensyn til:

- En vanlig preanalytisk feil er tynne nåler. En høyere gauge (tynnere nål) vil føre til at vakuumptrykket i nålen økes, og at blodet blir tilført til prøverøret raskere og kraftigere. Begge disse faktorene bidrar til hemolyse. Bruk av tynne nåler kan også føre til plateaktivering og frigjøring av platefaktor fire (7).
- En annen preanalytisk feil er for hard tilblending av prøven. Blandes prøven for hardt, får man også hemolyse på grunn av mekanisk skade (7).
- Andre faktorer som kan føre til hemolyse er langvarig bruk av stase og muskelpumping. Stasen skal brukes minst mulig og helst ikke brukes mer en et minutt. Dette er siden stase- og muskelpumpe bruk fører til utsiving av plasma fra blodbanen, noe som kan gi endret omfordeling av intracellulære og ekstracellulære elektrolytter (8–10).
- Ved kapillærprøver kan faktorer som fører til hemolyse være innstikk før desinfeksjon har tørket, og for hard klemming av stikkpunkt (9).
- Settes prøven på is før sentrifugering kan dette også gi hemolyse (7).

#### 1.2.4 Hemolyse-indeks

Hemolyse-indeks er graden av hemolyse i serum.

Serum-indeks (SI) er en indikasjon på prøvens egenfarge. Analyse av serum-indeks kan brukes til å bestemme graden av interferens forårsaket av hemoglobin (hemolytisk indeks), bilirubin (ikteriske indeks) og forhøyet triglyserid-konsentrasjon (lipemisk indeks). Altså er serum-indeks beregninger av absorbansmålinger som gir et semikvantitativt representasjon av nivåer av ikterus, hemolyse og lipemi tilstede i pasientprøven (11).

Serum-indeks består av tre parametere:

- Hemolytisk indeks: Graden av hemolyse, altså omfanget av ødelagte erythrocytter.
- Ikterisk indeks: Graden av tilstedeværelse av bilirubin (fargestoffet i urin)

- Lipemisk indeks: Graden av turbiditet, uklarhet i en løsning forårsaket av suspenderte partikler, oftest i form av lipider (11).

Måling av serum-indeks for vurdering av interferens tilknyttet analyseresultater for analyse innen klinisk kjemi og immunkjemi, kan være svært nyttig. Det er anbefalt å måle serum-indeks for fordi visuell inspeksjon av prøver er subjektiv og mangelfull. Den mest anerkjente og mest brukte metoden for måling av serum-indeks er via fotometri (1).

Serum-indeks måles i de fleste klinisk kjemiske analysemetoder. I dette forsøket er det Roche sine analysemetoder det henvises til. Dette utføres ved hjelp av en pipettering med prøve og saltvann, der absorbanser ved seks ulike bølgelengder blir målt. Målingene vil sammen kunne indikere graden av hemolyse, ikterus og lipemi utgitt som faktorer (H, I og L) (1).

Måling av SI er et viktig verktøy når man skal avgjøre om kvaliteten på prøvematerialet er innenfor kravene for hvert enkelt analytt.

Analyseringen baserer seg på absorpsjonsmålinger av fortynnete prøver ved ulike bikromatiske bølgelengdepar for å få et semikvantitativt nivå av lipemi, hemolyse og ikterus i prøven. Dette på bakgrunn av at de tre komponentene har absorpsjonstopp ved ulike bølgelengder. Selv om disse komponentene har absorpsjonstopp ved ulike bølgelengder betyr ikke det nødvendigvis at disse komponentene ikke kan forstyrre hverandre. Bilirubin og spesielt lipemi kan interferere med absorbansmålingen av HI (Se vedlegg 4.).

For å oppnå serum-indeksene L, H og I fra prøvens absorbanser, vil systemet bruke følgende formler:

$$\text{Likning 1 : } L = 1 \div C \times (\text{Abs 1})$$

$$\text{Likning 2 : } H = 1 \div A \times (\text{Abs 2} - B \times \text{Abs 1})$$

$$\text{Likning 3 : } I = 1 \div D \times (\text{Abs 3} - E \times \text{Abs 2} - F \times \text{Abs 1})$$

Hvor:

L, H, I = Serum-indeks for Lipemi, Hemolyse og Ikterus

C, A, D = Faktorene for konvertering av absorbansverdier ( $10^4$ ) til serum-indeks.

Abs 1 = Bi-kromatiske absorbansavlesninger ved 700 og 660 nm for lipemi

Abs 2 = Bi-kromatiske absorbansavlesninger ved 600 og 570 nm for hemolyse

Abs 3 = Bi-kroamtiske absorbansavlesninger ved 505 og 480 nm for Ikterus

B = Korrigerer hemoglobinmåling for lipemi

E, F = Korrekt bilirubinmåling for hemoglobin og for lipemi (12).

Når andre stoffer enn det en ønsker å måle påvirker analysen, så oppstår det noe en kaller interferens. Dette kan skyldes stoffer som ligner det en ønsker å måle, og som derfor gir falskt forhøyede verdier. Hvis metoden er lite spesifikk kan dette være et stort problem.

Stoffer som “forstyrrer” målingen, kan for eksempel være lipider, som er en kjent kilde for interferens (8).

Roche definerer interferens slik: *“Når recovery/målingene har falt utenfor  $\pm 10\%$  av opprinnelig verdi, i Roche’s interne definerte interferens-studier, har man interferens”* (refererer til vedlegg 5).

Hemolyse kan interferere på forskjellige måter, dette kan være blant annet:

#### 1. Konsentrasjonsendring ved Hemolyse

Volumet av hemoglobin i serum er vanligvis så lite at hemolyse ikke kan tynne ut konsentrasjonen av komponenter i serum. Derimot kan konsentrasjoner for noen komponenter øke ved hemolyse. For at konsentrasjonen av et stoff skal øke i serum ved hemolyse, må konsentrasjonen av stoffet være over ti ganger høyere i erytrocytter enn i serum. Det er tilfellet for blant annet ASAT, ALAT (alaninaminotransferase) og kalium (K) (1).

#### 2. Fotometrisk (spektral) interferens

Dette er den hyppigst forekommende interferensen. Forstyrning fra blant annet hemolyse i absorbans, samt bi-reaksjoner, kan ved blank-avlesning og avlesning ved hoved-bølgelengde medføre til både for høye og for lave resultat, avhengig av analyseprinsipp (1).

### 1.2.5 Hemolyse og kalium

Kalium finnes i kroppen i form av kaliumioner,  $K^+$ . Konsentrasjonen av kalium er mye høyere intracellulært i forhold til ekstracellulærvæsken. Faktisk er 98% av all kalium i kroppen

intracellulært. Dermed vil man ved hemolyse få en overestimering av kaliumkonsentrasjon. Dette vil som regel bli oppdaget ved analyse på laboratorienes instrumenter, da disse detekterer økt hemolyse-indeks (13,14).

Bruk av muskelpumpen og langvarig stase gir også økt S/P-kalium (15).

Den fastsatte grensen for hemolyse-indeks av kalium ved Ålesund sykehus (fra 28.05.19) er 90 (Refererer til vedlegg 18).

Referanseområde for kalium ved Helse Møre og Romsdal er:

I plasma: 3,5 - 4,4 mmol/L og i serum: 3,5 - 5,1 mmol/L (16).

### 1.2.6 Hemolyse og folat

Folat er et vannløselig B-vitamin som forekommer i en rekke forskjellige former og som har en viktig biokjemisk funksjon i cellene. Den primære funksjonen for folat er overføring av ett-karbon-enhet i en rekke fundamentale reaksjoner. Dette inkluderer aminosyrestoffskiftet og syntese av puriner/pyrimidiner som er byggestein i DNA og RNA (17).

Mangel på folat fører til redusert celledeling og forandringer i proteinsyntesen. Dette kan derfor føre til at dannelsen av de RBC blir forstyrret (megaloblastisk anemi). Tilstanden skyldes nedsatt opptak i tarmen som følge av underernæring, eller økt behov ved svangerskap og enkelte sykdommer (18).

Folat konsentrasjon er langt høyere i erythrocytter enn i plasma, og en vil derfor ved hemolyse få en forhøyet folat konsentrasjon (19).

Den fastsatte grensen for hemolyse-indeks av folat ved Ålesund sykehus (fra 28.05.19) er 20 for lave folat konsentrasjoner og 25 for høyere folat konsentrasjoner (Refererer til vedlegg 18). Denne verdien er oppjustert fra Roches grenseverdi på 15 (1).

Referanseområdet for folat ved Helse Møre og Romsdal er:

5,4 - 32 nmol/L (20).

### 1.2.7 Hemolyse og ASAT

ASAT er et enzym som finnes blant annet i myokard og i leverceller. I blodet er det normalt bare små, målbare konsentrasjoner. Siden aktiviteten i erythrocytter er ca. 40 ganger høyere enn i plasma, er måling av ASAT ømfintlig for hemolyse, som vil gi betraktelig høyere konsentrasjoner (21,22).

Den fastsatte grensen for hemolyse-indeks av ASAT ved Ålesund sykehus (fra 28.05.19) er 29 (Refererer til vedlegg 18), oppjustert fra Roches verdi på 20 (refererer til vedlegg 16) (1).

Referanseområdet for ASAT ved Helse Møre og Romsdal er:

Menn: 15-45 U/L og kvinner: 15-35 U/L (23).

### 1.2.8 Kvalitetskontroll

Kvalitetskontroll er prøvemateriale med en bestemt konsentrasjon av en analytt (24).

Dette fører til at en kan sammenligne konsentrasjonen av en analysert kontroll og sammenligne de med fasit. Om resultatet av kontrollen faller innenfor kontrollgrensene kan en godta verdiene en får på følgende pasientprøver. Disse kontrollene kjøres vanligvis i faste intervaller, som er fastsatt individuelt på hvert laboratorium. Dette sørger for at resultatene instrumentet gir ut er pålitelige(8).

#### Variasjon

Ved alle analyser har man variasjon. Dette kan være i form av biologisk variasjon eller analytisk variasjon (8).

**Biologisk variasjon** er naturlige og fysiologiske variasjoner i biokjemiske komponenter i kroppen rundt en homeostatisk referansepunkt, blant annet knyttet til:



*Ikke-påvirkelige faktorer* som alder, kjønn, graviditet, biologiske rytmer og menstruasjonssyklus. En har også *påvirkelige faktorer* som kosthold, kroppsmasse, fysisk aktivitet, medikamenter, pasientens stilling ved prøvetaking og stase (25).

**Analytisk variasjon** er usikkerhet som oppstår under analysering av en prøve. Denne variasjonen kommer av både systematiske og tilfeldige feil, og måles som henholdsvis % CV (variasjonskoeffisient) (26).

Analytisk variasjon vil sammen med biologisk variasjon utgjøre den totale variasjon til en analysemetode (26).

### Nøyaktighet

Nøyaktigheten er evnen instrumentet har til å treffe nær den sanne verdien. Middelerdien til en analyse kan si noe om nøyaktigheten til analysen. Dersom en analyserer en prøve gjentatte ganger med en nøyaktig metode vil middelerdien ligge i nærheten av prøvens sanne verdi. Nøyaktigheten til en analyse sier noe om systematiske feil. Om en for eksempel glemmer å bytte pipettespiss mellom hver pipettering kan nøyaktigheten til analysen bli dårlig (8,27).

### Presisjon

Et instrument sin presisjon er dets evne til å få samme svar ved gjentatte analyser av samme prøve. Standardavviket og variasjonskoeffisient kan si noe om presisjonen til en analyse. Jo lavere standardavvik, desto bedre presisjon. Presisjonen til en analyse sier også noe om tilfeldige feil. Hvis kontrollene til Cobas ikke hadde blitt godkjent kunne det være på grunn av at instrumentet hadde dårlig presisjon (8,27).

### Systematiske feil

En systematisk feil er en feil som alltid slår ut samme vei. Feilen er tilstede i alle prøvene i en serie/alle seriene i en periode. Systematiske feil kan i noen tilfeller være konstant, dvs. at den er like stor i alle prøver. Dette ser man i tilfeller der en har god presisjon og dårlig nøyaktighet (8,27).

## Tilfeldige feil

En tilfeldig feil er en feil som kan slå ut begge veier. Dette er “småfeil” som kan være tilstede i alle serier, men som slår ulikt ut. Tilfeldige feil vil gi en analysemetode en dårlig presisjon. “Random bias”, eller “tilfeldig tendens” er tilfeldig feil som slår ut samme vei, men som ikke er tilstede i alle prøver (8,27).

## 1.2.9 Instrumenter

### Cobas 8000 modular analyser series



*Figur 1: Her er en illustrasjon av Cobas 8000 modular analyser series (28).*

### *Kjerne-enhet*

På venstre siden av instrumentet kan en se kjerne-enheten. Her pågår det både lasting og lossing av prøver.

Den har en dedikert STAT-port for enkel prioritering av hastep prøver og muliggjør en toveis tilkobling av preanalyser (29).

### *ISE-modul*

En Ioneselektiv elektrode som brukes til analyser av elektrolytter som bl.a.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  og  $\text{Cl}^-$ . ISE benytter de unike egenskapene til den ioneselektive membranen som har kontakt med både test-løsningen og en intern fyllingsløsning. Den interne fyllingsløsning inneholder

test-ionen ved en fast konsentrasjon. Det utvikler da et elektrisk potensial for måling av de selektive ionene i løsningen (30).

Her kjøres kalium-analysene.

#### *Cobas c 702-modul (Klinisk kjemi modul)*

Denne modulen er en klinisk kjemisk modul som utfører fotometriske analyser for et bredt spekter av analytter (31).

Hemolyse-indeks blir sammen med de andre serum-indeksene (ikterus og lipemi) målt automatisk på c702 på all serum/plasma-prøver som analyseres på Cobas 8000 (31).

Her kjøres analysene for ASAT og serum-indeks.

#### *Cobas e 801-modul (Immunkjemi modul)*

Denne er en immunkjemi modul med høy gjennomstrømning som utfører et bredt spekter av heterogene immunoassay-tester ved hjelp av elektrokjemiluminescens (29).

Her kjøres analysene til folat.

#### Sysmex XN-2000



*Figur 2: Illustrasjonen til venstre viser SYSMEX XN-2000 (32).*

Sysmex XN-2000 ble brukt til måling av Hb (hemoglobin) i prøvene. Hb verdiene i hemolysatet var for høyt til å detekteres på Sysmex XN-2000 så de måtte fortynnes med saltvann med blandingsforhold 1:9.

### 1.3 Tidligere studier

Det har blitt utført lignende utredninger av hemolyse-indeks. Som oftest er disse analysene utført av større laboratorier. Blant annet er hemolyseringsmetoden av RBC inspirert av *“Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing”* (33).

Vi har ikke funnet noen vitenskapelige publikasjoner som har brukt nøyaktig vår metode.

## 2. Materialer og metoder

I dette kapittelet skal vi ta for oss prinsippene for valgte metodene, hvilke utstyr som ble brukt og hvordan det er behandlet. Til slutt blir det forklart hvordan statistiske metoder ble brukt til å behandle datamaterialet.

Dette er en kvantitativ studie hvor samlede data beskrives med tabeller og grafiske figurer.

### 2.1 Instrumenter

I dette forsøket ble det brukt følgende instrumenter:

- Sentrifuge
- Cobas 8000 ISE (Ioneselektiv elektrode) modul, c702 modul og e801 modul til måling av kalium, folat og ASAT i tillegg til hemolyse-indeks på linje 2.
- Sysmex XN-2000 ble brukt til måling Hb (hemoglobin).
- -80 °C fryser

### 2.2 Utstyr

- Engangspipetter
- Automatpipetter (5-20  $\mu\text{L}$ , 50-200  $\mu\text{L}$  og 200-1000  $\mu\text{L}$ )
- 1L flaske 0,9% NaCl
- Et EDTA-rør per pasient
- En til tre serumrør per pasient, avhengig av tilgjengelighet
- "False bottom" rør til hver analyse
- Racks til Cobas 8000
- Geogebra for Windows, versjon 4.4.42.0

## 2.3 Prosedyre

### 2.3.1 Innsamling av prøvemateriale

Med hjelp fra fagbioingeniører ble tidligere analyserte pasientprøver i cITm (Cobas IT mellomvare) funnet.

Det var ønskelig å finne fem pasienter med kalium i intervallet 2,4 - 6,5 mmol/L, fem pasienter med ASAT i intervallet 30 - 300 U/L og fem pasienter med folat i intervallet 5 - 40 nmol/L.

I cITm ble et egnet EDTA-rør, og én til tre egnede serumrør identifisert. Serumrørene var allerede ferdig sentrifugert. EDTA-rørene måtte vaskes to ganger for at kaliumet i EDTA ikke skulle påvirke analysen, og for å isolere de RBC.

### 2.3.2 Forbehandling av EDTA rør og tillagning av hemolysat

EDTA rørene ble sentrifugert ved 2200 omdreininger per minutt (RPM) i ti minutter. Deretter ble supernatanten avpipettert og røret med de røde blodcellene fylt opp med 0,9% NaCl og blandet. EDTA rørene ble så sentrifugert på nytt ved 2200 RPM i ti minutter. Supernatanten ble igjen avpipettert, og 0,9% NaCl ble tilsatt i de RBC, blandet og sentrifugert.

Etter sentrifugeringen ble supernatanten avpipettert og en har da fått RBC uten EDTA og hvite blodceller (WBC). Dette ble brukt til å lage hemolysat (produktet av lyseringen av RBC) (34).

For å lage hemolysatet ble det brukt en -80°C fryser. De vaskede erythrocyttene ble satt i fryseren i en og en halv time for å hemolysere de RBC. Rørene ble så tint på benk.

Det er mange forskjellige måter å lage hemolysat på for interferens-studier, men de tre vanligste metodene er: Osmotisk sjokk (lysing av erythrocytter med destillert vann etter fjerning av buffy coat), utsetting av fullblod til mekaniske skader (kan oppnås ved å føre prøve flere ganger gjennom en fin nål) og ved frysing (35).

### 2.3.3 Forbehandling og analysering på Cobas

#### Tillagning av bruksløsning til Cobas

Siden hemolyse-indeksen var for høy i hemolysatet til å kunne måles på Cobas 8000 eller Sysmex XN-2000, ble hemolysatet fortynnet med pasientens eget serum i blandingsforhold 1:100. 5 µL hemolysat ble tilsatt i 500 µL serum i “false bottom” rør for å lage en bruksløsning. Rørene med bruksløsning ble så satt i rack og programmert i Cobas 8000 til å analysere serum-indeks og ISE. Etter et par minutter får en et resultat med hemolyse-indeks på rundt 400-500. Hemolyse-indeksen varierer mellom hver pasient på grunn av variasjon av Hb i blod.

#### Tillaging av prøvfortynninger til Cobas

Etter anbefaling fra veileder, ble det laget fem ulike hemolyse fortynninger for hver av analysene. En fortynningsrekke i intervallet 0-200 H-indeks for kalium, og i intervallet 0-100 H-indeks for folat og ASAT.

Bruksløsningen ble derfor fortynnet med pasientserum slik at man ideelt sett fikk H-indekser på rundt 40, 80, 120, 160 og 200 på kalium-prøvene. På folat og ASAT-prøvene, ble det forsøkt å oppnå H-indekser på rundt 20, 40, 60, 80 og 100.

#### Programmering og analysering på Cobas 8000

Prøvefortynningene ble satt i brune rack (rack tilpasset “false bottom” rør) og programmert i Cobas 8000 til å analysere serum-indeks. ASAT prøvene ble analysert på c702 modulen.

Kalium prøvene ble analysert på ISE-modulen og folat prøvene ble analysert på e801 modulen. Alt dette ble analysert på linje 2.

Prøvefortynningene ble analysert parallelt med blank (pasientserum uten tilsetning) og svarene skrevet ut. Alle analysene ble gjentatt slik at prøvene totalt ble analysert tre ganger hver. Dette ble gjort for å minimalisere feil grunnet analytisk variasjon.

### 2.3.4 Forbehandling og analysering til Sysmex XN-2000

Tillagning av bruksløsning til Sysmex XN-2000

Bruksløsningen til Sysmex XN-2000 ble laget ved å fortynne hemolysatet til hver pasient med 0.9% NaCl i plastrør i blandingsforholdet: 100 µL hemolysat i 900 µL 0.9% NaCl.

Programmering og analysering på Sysmex XN-2000

Hemolysatene ble analysert manuelt ved å programmere hver analyse sånn at de kunne bli analysert uten toppene. Deretter ble de analysert i Sysmex XN-2000 med to replikater for å undersøke Hb konsentrasjonen.

### 2.3.5 Statistiske metoder

Geogebra

Geogebra er programmet som ble brukt til å lage grafene, utføre lineær regresjon, regne ut korrelasjonskoeffisienten, og for å finne ut grenseverdiene og til å lage differanseplottet.

Formelsamling er lagt ved i vedlegg 1.



## Bland Altman's plot

Bland Altman's plot, er et differanseplott som ble valgt til å vise en grafisk representasjon av utregningene. En kan også bruke differanseplottet til å undersøke nøyaktigheten til analysemetoden, men for å gjøre dette må flere statistiske metoder brukes. Som blant annet korrelasjonsdiagram og %bias (36).

## Korrelasjonskoeffisient, "r"

Korrelasjonskoeffisient, "r", sammenligner to variabler som er stokastiske (tilfeldige) og kan si noe om i hvilken grad det er en lineær sammenheng. Altså er det tallet mellom -1 og 1 som oppsummerer graden av samsvar (37,38).

## Westgard

Opplysninger om biologisk variasjon publisert på Westgard sine nettsider ble brukt til å hente ønskelige spesifikasjoner for "total feil", impresisjon og %bias, avledet fra biologisk variasjon. Altså naturlig variasjon av konsentrasjon hos den enkelte person (intraindividuell) og variasjon mellom personer (interindividuell). Westgards oversikt baserer seg på en omfattende database med fagfelleverderte artikler. De maksimalt tillatte bias verdiene er basert på denne databasen (39,40).

## Beregning av aksept kriterier for interferens

Metoden for å finne maksimalt tillatt interferens er basert på formelen:

$$I < C \times \sqrt{(CV_i^2 + CV_g^2)} \quad (41).$$

Der hvor:

I = Ønsket spesifikasjon for impresisjon

C = Konstant for bias. Jo lavere konstanten er, desto mer presis ønsker en at prøven skal være.

$CV_i$  = Intraindividuell biologisk variasjon

$CV_g$  = Interindividuell biologisk variasjon

Ved C vil en verdi på 0.75 være en minimal ønsket presisjon, 0.5 en ønskelig presisjon, og 0.25 en optimal ønsket presisjon (41).

0.375 tilsvarer minimumskravet for maksimalt tillatt bias verdier basert på biologisk variasjon (42).

### Bias

I statistikk blir bias brukt som estimator definert som  $\pm$  % skyvning mellom en parameters forventet verdi og parameterens sanne verdi.

Brukes for å vurdere hvor riktig en analyse er, og kan brukes til å si noe om analysen har systematiske, proporsjonale eller tilfeldig feil som forekommer under målinger (43).

Bias kan ved hjelp av regresjonslikningen beregnes slik:

$$\text{Bias} = \% \text{avvik fra sann verdi} = \frac{|\bar{x} - x_{\text{sann}}|}{x_{\text{sann}}} \cdot 100\%$$

Figur 1: Formel for bias (43).

### 3. Resultat

I dette kapittelet presenteres de samlede resultatene for både Sysmex XN-2000 og Cobas 8000 måleinstrumentene.

#### 3.1 Resultat fra SYSMEX XN-2000

Konsentrasjon av hemoglobin på hemolysat av de tre analytter analysert på XN-2000 er vist i tabell 1. Det er fem prøver på hver analytt og alle er analysert med to replikater. Resultatet viser samme tendens. 100  $\mu$ L hemolysat ble fortynnet i 900  $\mu$ L 0,9% NaCl.

Måling av Hb på hemolysat på SYSMEX XN-2000	Fortynnet 100 $\mu$ L hemolysat i 900 $\mu$ L 0.9% NaCl	Fortynnet 100 $\mu$ L hemolysat i 900 $\mu$ L 0.9% NaCl	Fortynnet 100 $\mu$ L hemolysat i 900 $\mu$ L 0.9% NaCl	
Analyse	Runde en (g/dl)	Runde to (g/dl)	Middelverdi (g/dl)	Faktiske Hb i hemolysat(g/dl)
Folat 1	2.7	2.7	2.7	270
Folat 2	2.6	2.6	2.6	260
Folat 3	2.5	2.6	2.55	255
Folat 4	2.5	2.4	2.45	245
Folat 5	2.5	2.5	2.5	250
ASAT 1	3	2.9	2.95	295
ASAT 2	2.8	2.7	2.75	275
ASAT 3	2.8	2.8	2.8	280
ASAT 4	2.2	2.2	2.2	220
ASAT 5	2.9	2.8	2.85	285
Kalium 1	2.2	2.2	2.2	220
Kalium 2	2.3	2.3	2.3	230
Kalium 3	2.1	2	2.05	205
Kalium 4	2.6	2.6	2.6	260
Kalium 5	2.7	2.6	2.65	265

*Tabell 1: Måling av Hb på hemolysat for fem prøver hver av folat, ASAT og kalium. Prøvene ble analysert med to replikater på SYSMEX XN-2000. Middelverdi av resultatene er beregnet, noe som tilsvarer det faktiske Hb konsentrasjon i hemolysatet.*

## 3.2 Resultat fra COBAS 8000

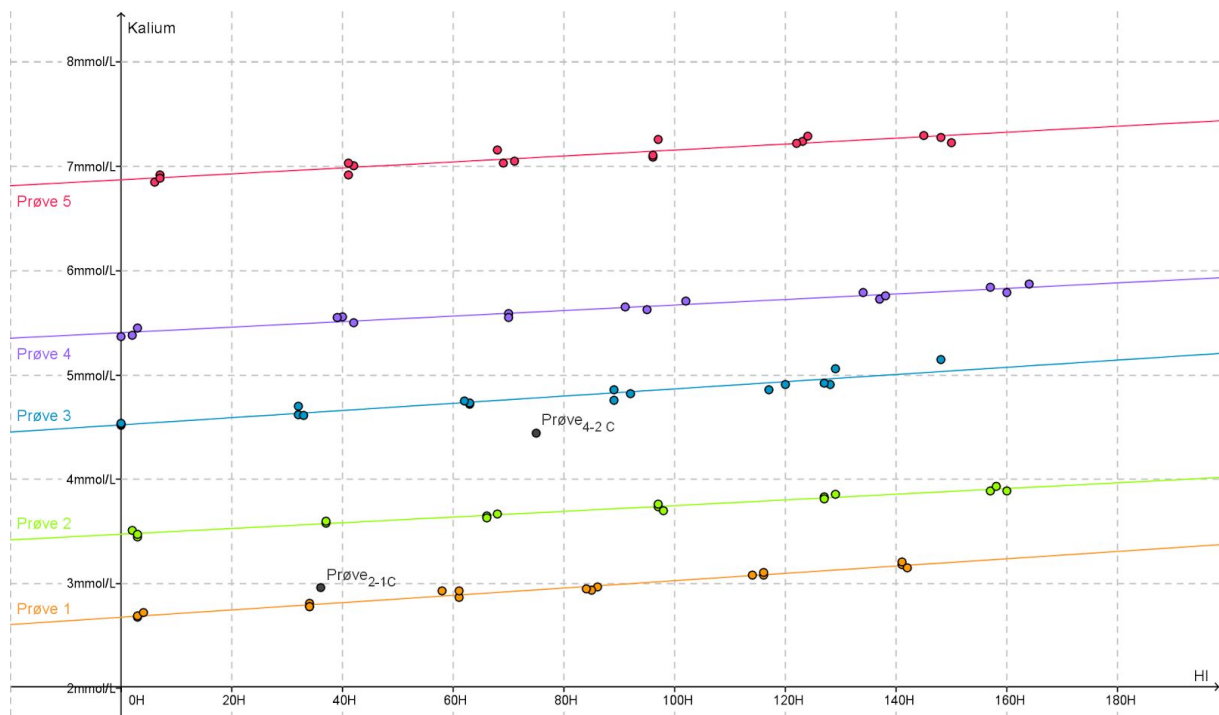
I disse underkapitlene blir det presentert resultater for de til sammen 270 analysene som ble analysert på Cobas. Resultatene for kalium, folat og ASAT blir delt opp i sine egne underkapitler.

For å representere de utregnede maksimalt tillate bias verdiene for kalium, folat og ASAT ble det brukt et Bland Altmans differanseplott. Bland Altmans plottet for kalium er vist i graf 2, for folat blir vist i graf 9 og for ASAT blir vist i graf 16.

### 3.2.1 Kalium:

Korrelasjonsdiagram for å identifisere uteliggere er vist i graf 1. Det viser korrelasjonen mellom regresjonslinjen og konsentrasjonene av alle kalium prøvene. Her ble den tredje runden for både prøve 2-1 og prøve 4-2 sett som uteliggere siden de falt utenfor de tilpassede rette linjer. De beregnede korrelasjonskoeffisientene for kalium er vist i tabell 2.

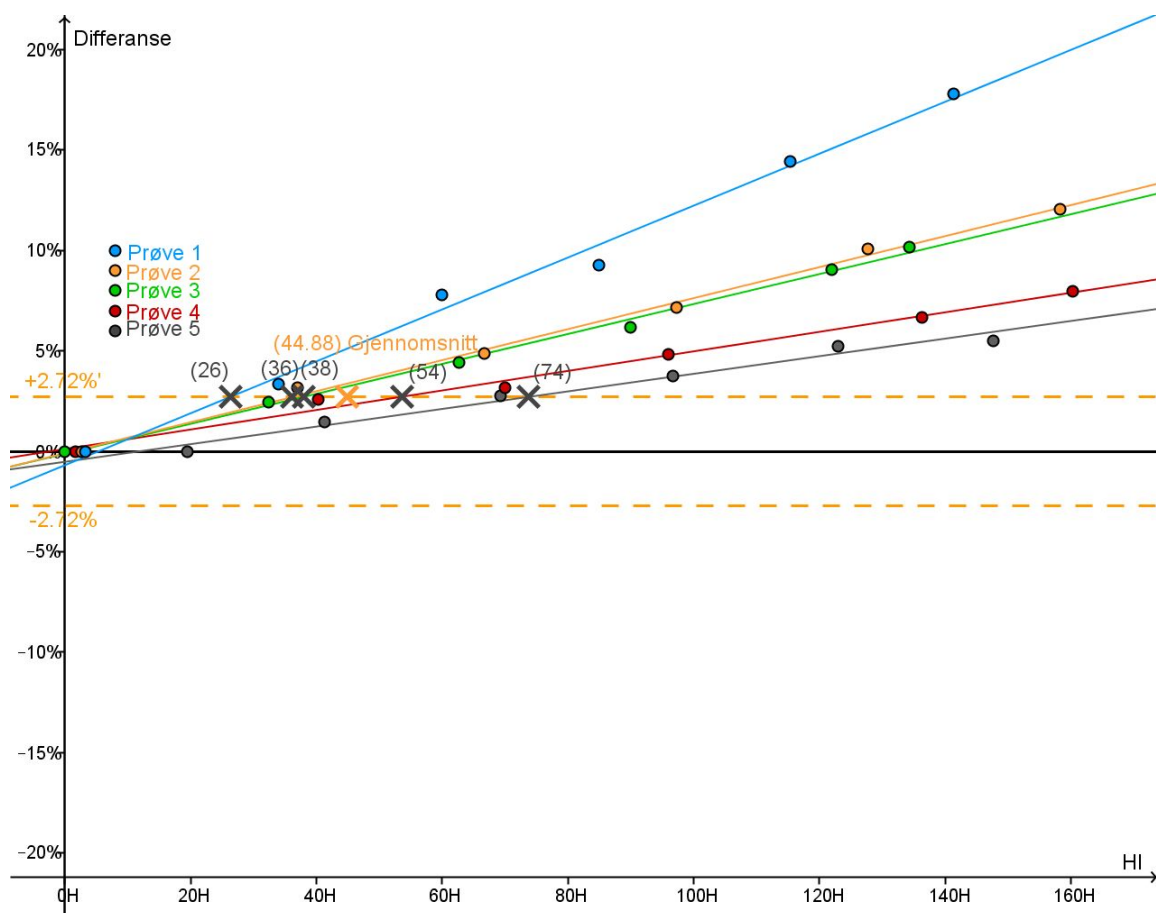
Korrelasjonskoeffisientene er nær 1, noe som bekrefter god lineær samvariasjon mellom prøvene.



Graf 1: Korrelasjonsdiagram med tilpasset rett linje for de fem kalium prøvene. Resultat for hemolyse-indeks analysert på Cobas vises på x-aksen og kaliumkonsentrasjonen på y-aksen.

Korrelasjon Kalium	Prøve 1	Prøve 2	Prøve 3	Prøve 4	Prøve 5
Korrelasjonskoeffisient	0.989	0.989	0.958	0.978	0.937
t					

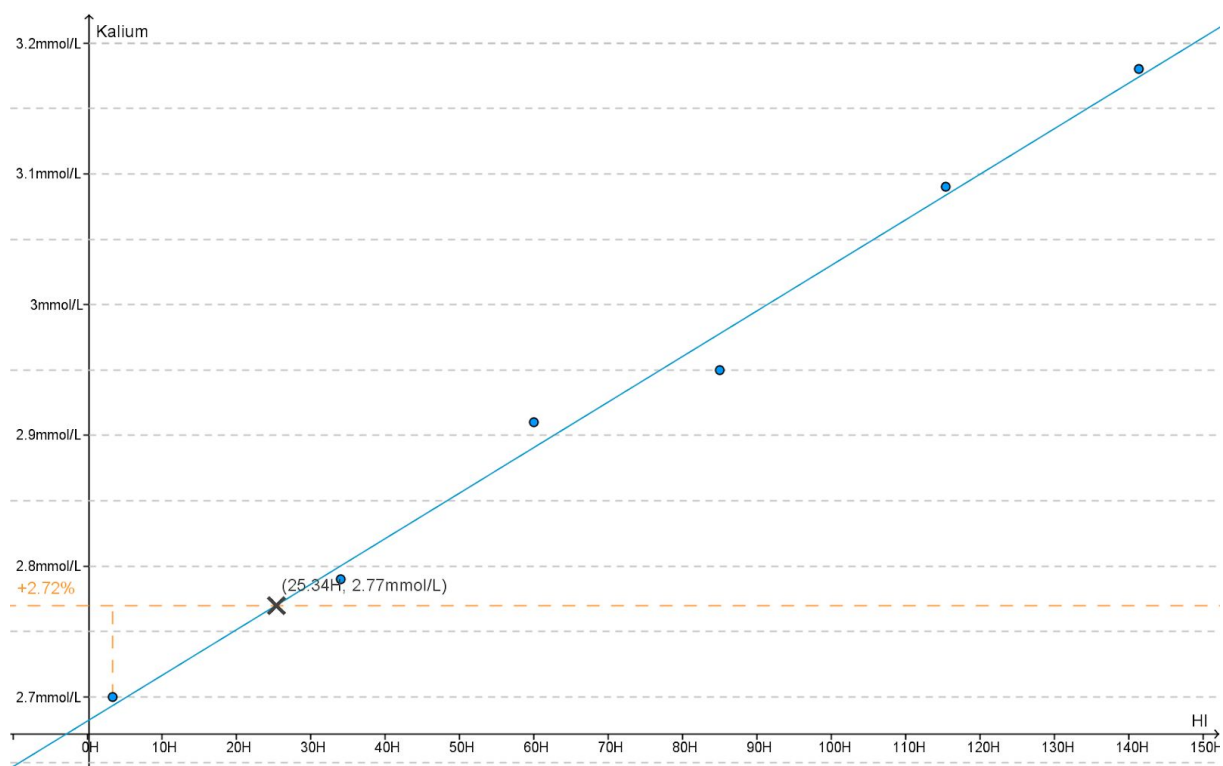
Tabell 2: Tabell til beregnede korrelasjonskoeffisient for kalium. Det er en lineær samvariasjon mellom prøvene.



Graf 2: Differanseplott for kalium ( $\pm 2,72\%$  grensen). Linjene er lineære regresjoner som er funksjoner av verdiene til hver prøves fortynningsrekke. Gjennomsnittet av de fem prøvene er 44,88. Altså HI grensen for kalium er 45.

Det ble laget regresjonslinjer for hver prøve. Krysningspunkt mellom regresjonslinjene og grenseverdien er antydnet med "x". Krysningspunktets tekst antyder beregnet HI, avrundet til nærmeste hele tall. Gjennomsnittet av alle krysningspunkt er beregnet med de reelle tallene, og er avrundet til to desimaler. Gjennomsnitt av fortynningene for hver analytt er presentert i egne grafer. Ved kalium er de presentert i graf 3-7, ved folat er de presentert i graf 10-14 og ved ASAT er de presentert i graf 17-21.

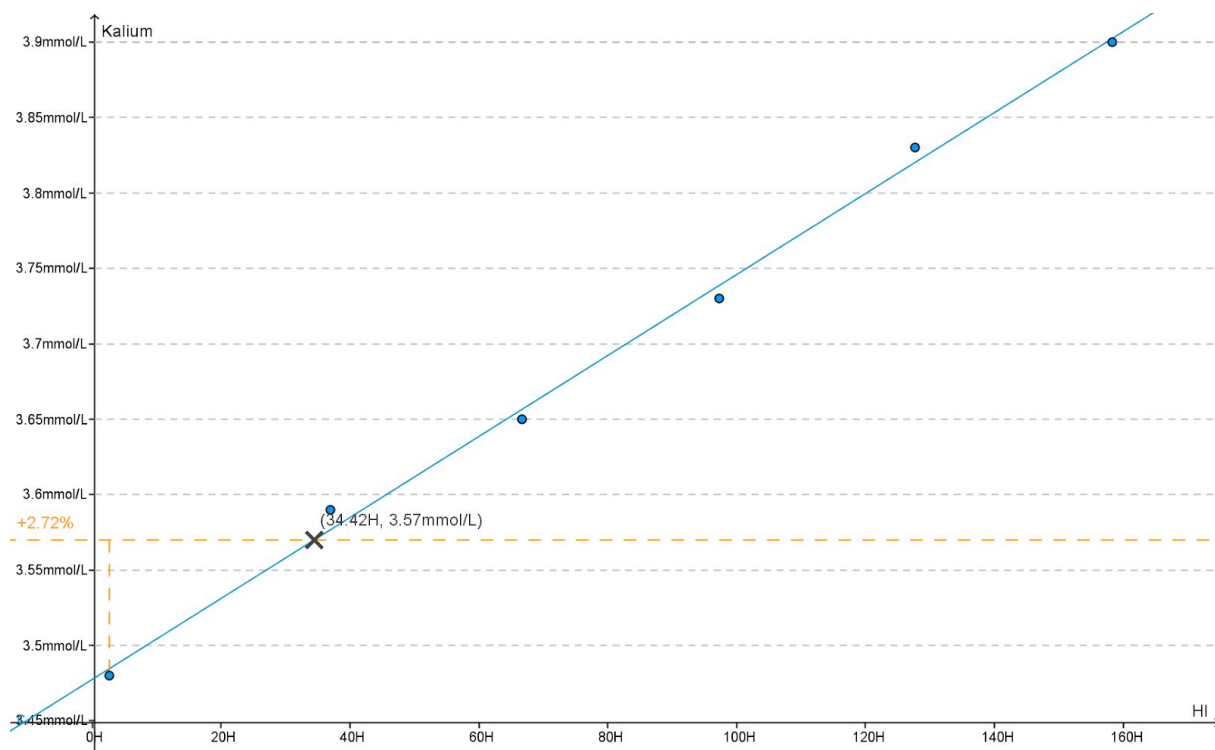
Det ble funnet noen uteliggere og de er ikke tatt med i beregningen. Måling av hemolyse-indeks på 5 fortynninger for kalium er presentert i tabell 3-7. For å forhindre unøyaktighet forårsaket av tilfeldig interferens, ble de analysert med tre replikater.



Graf 3: Kalium prøve 1 ( $\pm 2,72\%$  grensen). Lavest kalium konsentrasjon. Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig kaliumkonsentrasjonen på y-aksen.

Kalium Prøve 1	Blank	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/14	2/13	3/12	4/11	5/10
<b>HI Runde 1</b>	3	34	61	86	114	141
<b>HI Runde 2</b>	3	34	61	85	116	142
<b>HI Runde 3</b>	4	34	58	84	116	141
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	3.3	34	60	85	115.34	141.34
<b>Kalium Runde 1</b>	2.68	2.81	2.87	2.97	3.08	3.18
<b>Kalium Runde 2</b>	2.69	2.78	2.93	2.94	3.08	3.15
<b>Kalium Runde 3</b>	2.72	2.78	2.93	2.95	3.11	3.21
<b>Gjennomsnittlig Kalium</b>	2.70	2.79	2.91	2.95	3.09	3.18
<b>%Differanse</b>	0	3.34	7.78	9.26	14.45	17.78

Tabell 3: Kalium prøve 1. HI og kaliumkonsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlig kalium og % differanse er opplyst også.



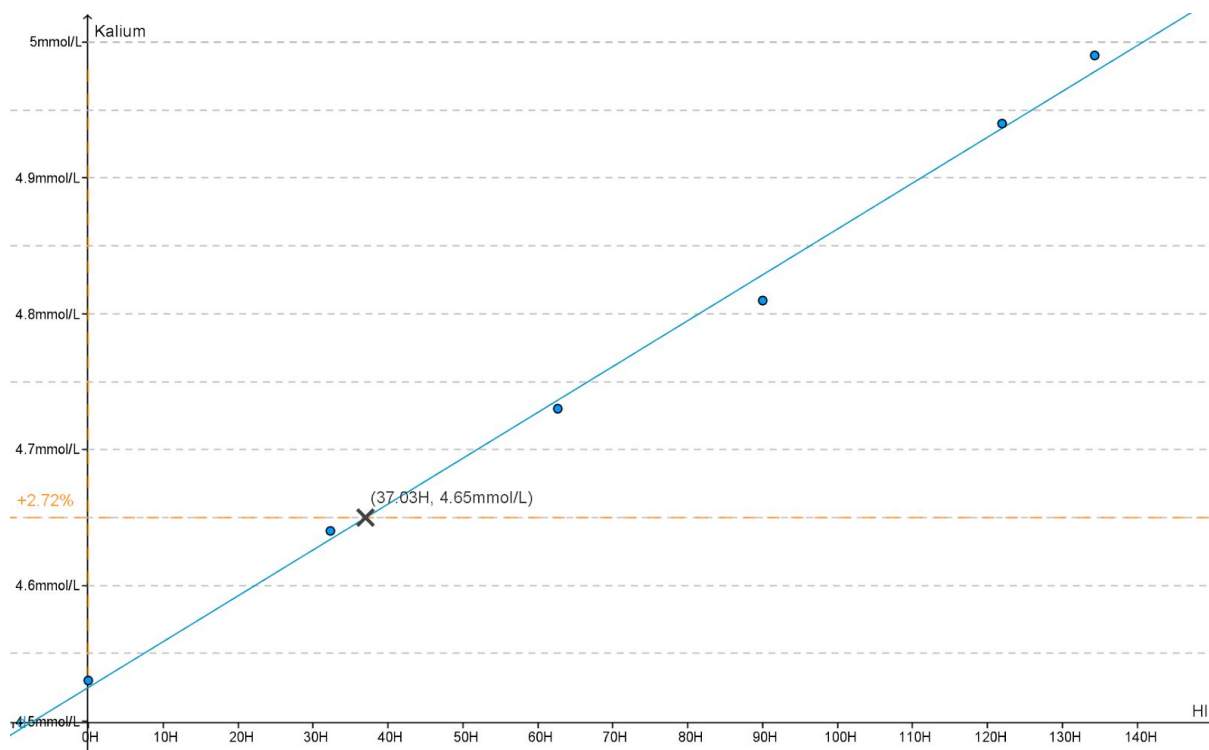
Graf 4: Kalium prøve 2 ( $\pm 2,72\%$  grensen). Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig kaliumkonsentrasjonen på y-aksen.

Kalium Prøve 2	Blank	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/14	2/13	3/12	4/11	5/10
<b>HI Runde 1</b>	3	37	66	97	127	157
<b>HI Runde 2</b>	2	37	66	97	127	158
<b>HI Runde 3</b>	3	36 (N/A)*	68	98	129	160
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	2.67	37	66.67	97.34	127.67	158.34
<b>Kalium Runde 1</b>	3.45	3.58	3.65	3.74	3.83	3.89
<b>Kalium Runde 2</b>	3.51	3.6	3.63	3.76	3.81	3.93
<b>Kalium Runde 3</b>	3.47	2.96 (N/A)*	3.67	3.70	3.86	3.89
<b>Gjennomsnittlig Kalium</b>	3.48	3.59	3.65	3.73	3.83	3.90
<b>%Differanse</b>	0	3.16	4.89	7.18	10.06	12.07

Tabell 4: Kalium prøve 2. HI og kaliumkonsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlig kalium og % differanse er opplyst også.

\*Utelligere som er fjernet fra beregning av gjennomsnitt

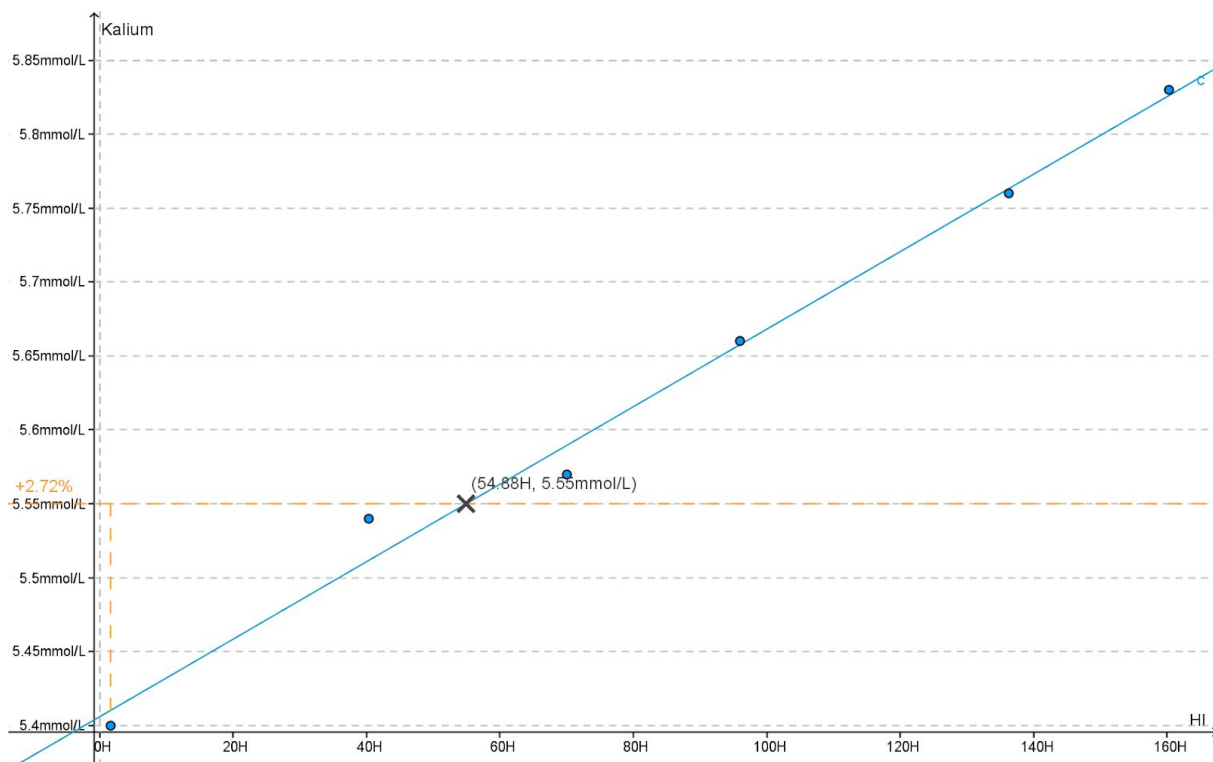




Graf 5: Kalium prøve 3 ( $\pm 2,72\%$  grensen). Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig kaliumkonsentrasjonen på y-aksen.

Kalium Prøve 3	Blank	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/14	2/13	3/12	4/11	5/10
<b>HI Runde 1</b>	0	32	63	89	117	128
<b>HI Runde 2</b>	0	33	63	92	120	127
<b>HI Runde 3</b>	0	32	62	89	129	148
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	0	32.34	62.67	90	122	134.34
<b>Kalium Runde 1</b>	4.52	4.62	4.72	4.76	4.86	4.91
<b>Kalium Runde 2</b>	4.53	4.61	4.73	4.82	4.91	4.92
<b>Kalium Runde 3</b>	4.54	4.70	4.75	4.86	5.06	5.15
<b>Gjennomsnittlig Kalium</b>	4.53	4.64	4.73	4.81	4.94	4.99
<b>%Differanse</b>	0	2.43	4.42	6.18	9.05	10.15

Tabell 5: Kalium prøve 3. HI og kaliumkonsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlig kalium og % differanse er opplyst også.

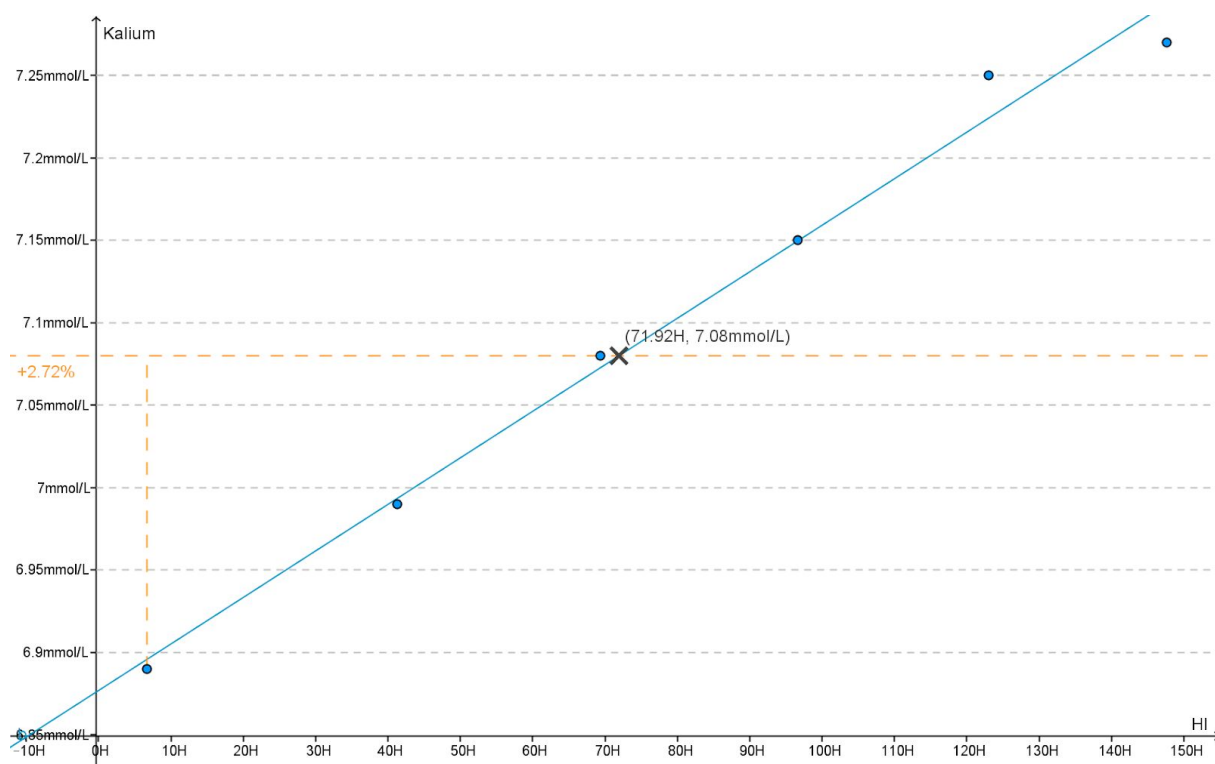


Graf 6: Kalium prøve 4 ( $\pm 2,72\%$  grensen). Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig kaliumkonsentrasjonen på y-aksen.

Kalium Prøve 4	Blank	4-1	4-2	4-3	4-4	4-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/14	2/13	3/12	4/11	5/10
<b>HI Runde 1</b>	0	40	70	91	134	160
<b>HI Runde 2</b>	3	42	70	95	137	157
<b>HI Runde 3</b>	2	39	75 (N/A)*	102	138	164
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	1.67	40.34	70	96	136.34	160.34
<b>Kalium Runde 1</b>	5.37	5.56	5.59	5.65	5.79	5.79
<b>Kalium Runde 2</b>	5.45	5.50	5.55	5.63	5.73	5.84
<b>Kalium Runde 3</b>	5.38	5.55	4.44 (N/A)*	5.71	5.76	5.87
<b>Gjennomsnittlig Kalium</b>	5.4	5.54	5.57	5.66	5.76	5.83
<b>%Differanse</b>	0	2.59	3.15	4.81	6.67	7.96

Tabell 6: Kalium prøve 4. HI og kaliumkonsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlig kalium og % differanse er opplyst også.

\*Uteliggere som er fjernet fra beregningen av gjennomsnitt



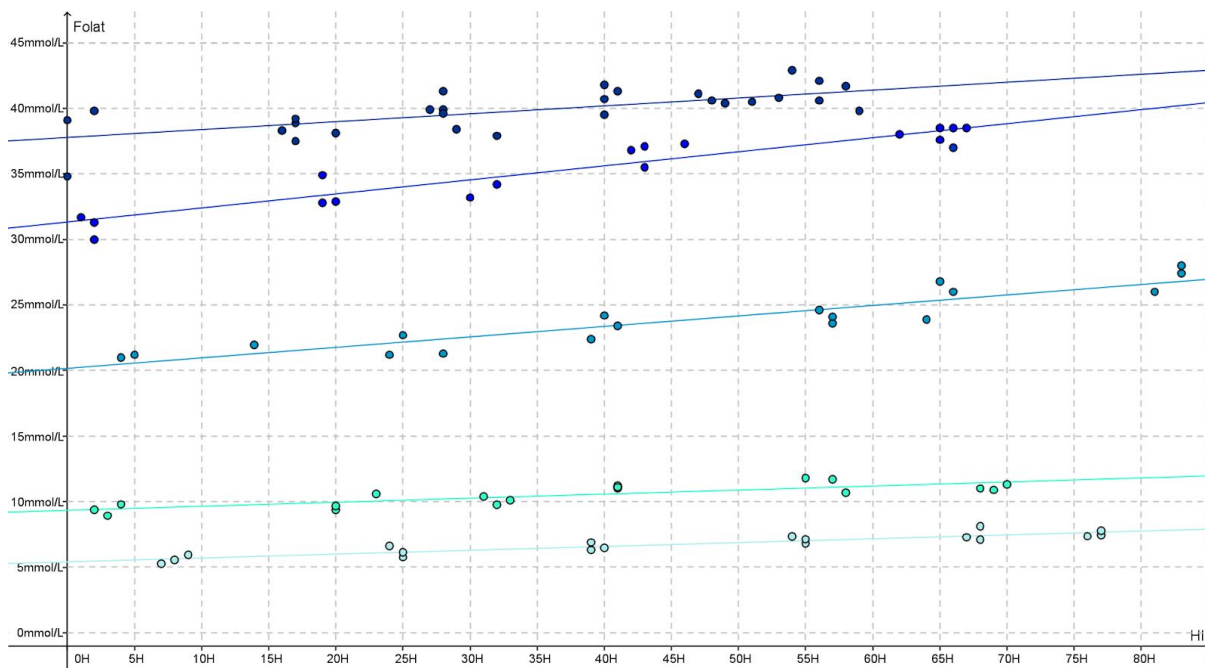
Graf 7: Kalium prøve 5 ( $\pm 2,72\%$  grensen). Høyest kalium konsentrasjon. Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig kaliumkonsentrasjonen på y-aksen.

Kalium Prøve 5	Blank	5-1	5-2	5-3	5-4	5-5
Blandingsforhold Bruksløsning/Serum	0/1	1/14	2/13	3/12	4/11	5/10
HI Runde 1	6	42	69	96	123	150
HI Runde 2	7	41	71	96	122	148
HI Runde 3	7	41	68	97	124	145
Gjennomsnittlig HI	6.67	41.34	69.34	96.67	123	147.67
Kalium Runde 1	6.85	7.01	7.03	7.09	7.24	7.23
Kalium Runde 2	6.92	6.92	7.05	7.11	7.22	7.28
Kalium Runde 3	6.89	7.03	7.16	7.26	7.29	7.30
Gjennomsnittlig kalium	6.89	6.99	7.08	7.15	7.25	7.27
%Differanse	0	1.45	2.76	3.77	5.22	5.52

Tabell 7: Kalium prøve 5. HI og kaliumkonsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlig kalium og % differanse er opplyst også.

### 3.2.2 Folat:

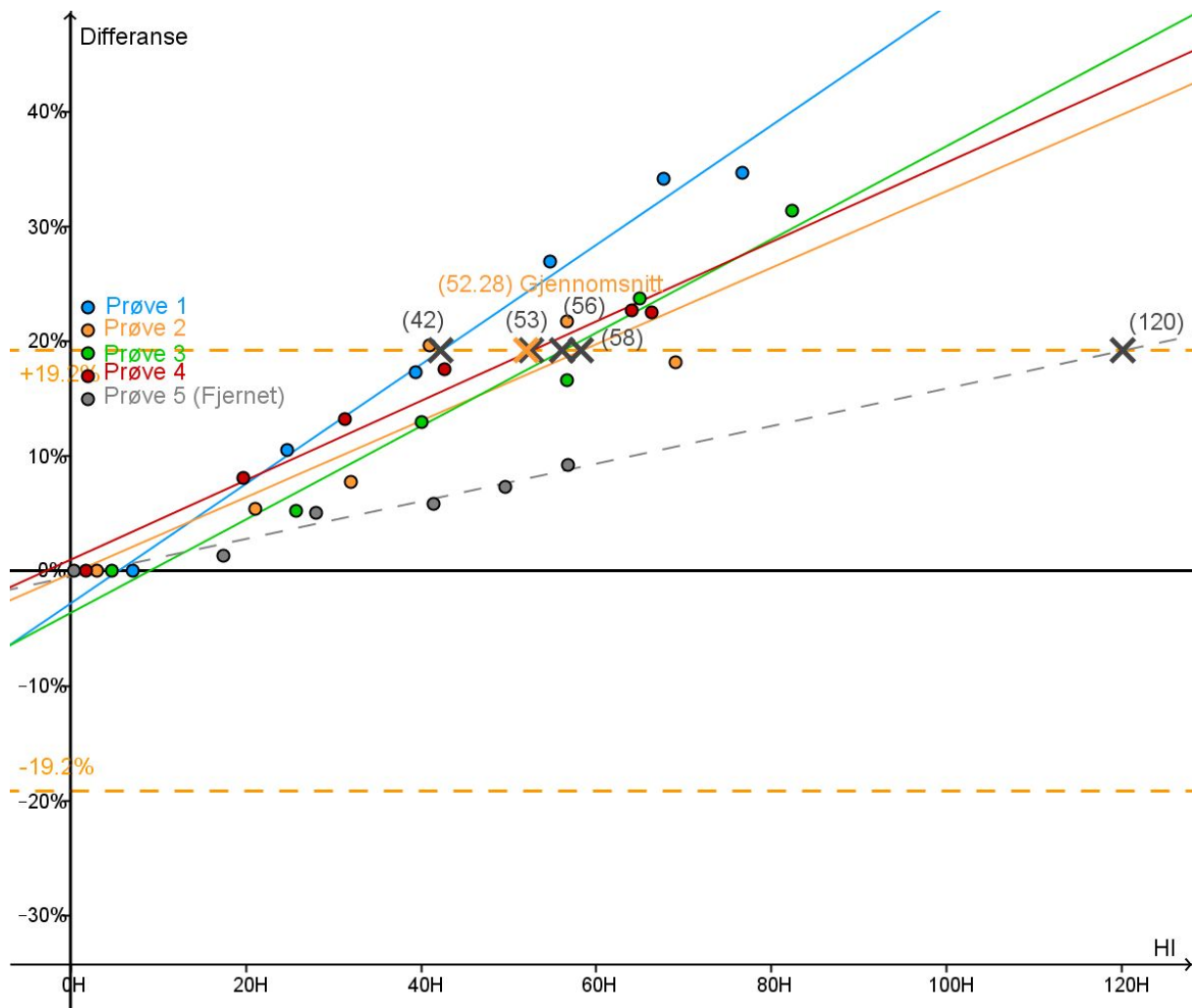
Korrelasjonsdiagram i graf 8 viser at korrelasjonen mellom metodens resultat varierer med konsentrasjonen. Korrelasjonen blir noe dårligere med konsentrasjonen. Prøve 5 derimot ble resultatet ulikt de andre. Beregnede korrelasjonskoeffisienten er vist i tabell 8 og er nær 1 på de fleste prøvene, noe som tyder på god lineær samvariasjon.



Graf 8: Korrelasjonsdiagram med tilpasset rett linje for fem folat-prøvene. Resultat for hemolyse-indeks analysert på Cobas vises på x-aksen og folat konsentrasjon på y-aksen.

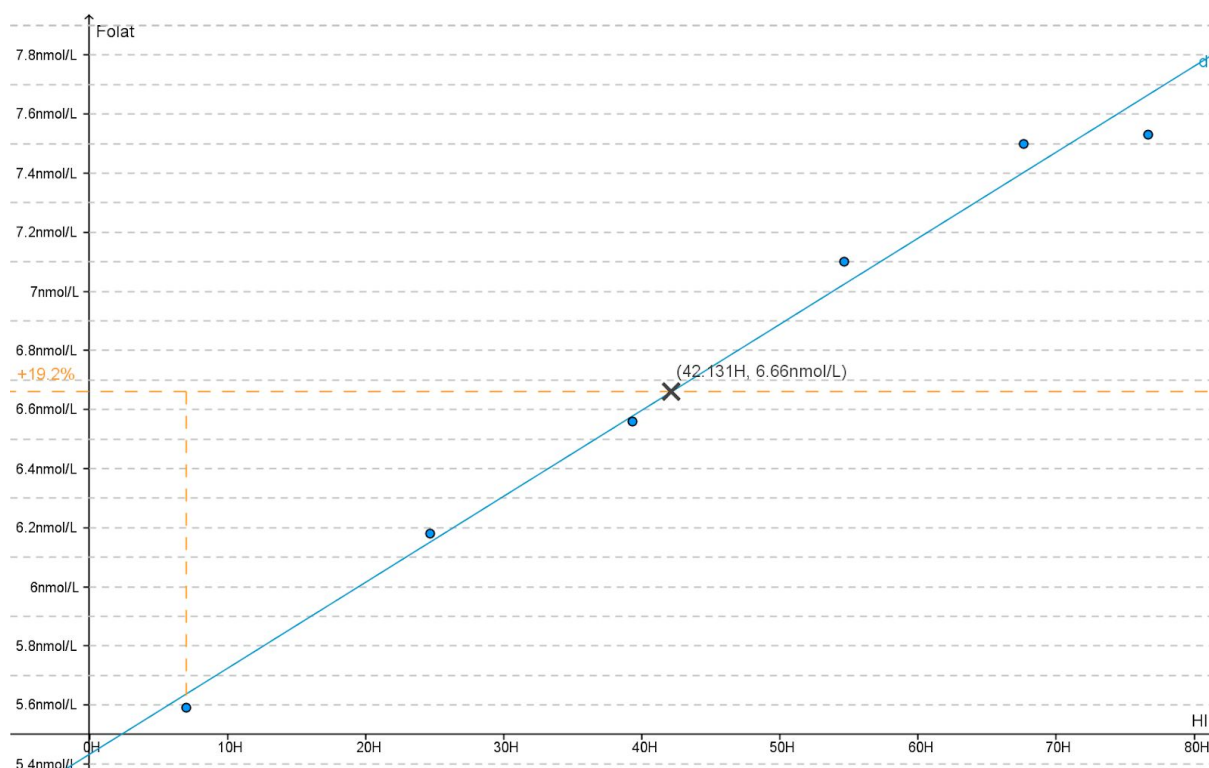
Korrelasjon	Folat 1	Folat 2	Folat 3	Folat 4	Folat 5
Korrelasjonskoeffisient	0.917	0.824	0.92	0.912	0.652
t					

Tabell 8: Tabell til korrelasjonskoeffisient for folat. Prøvene 1 til 4 har en lineær samvariasjon.



Graf 9: Differanseplott for folat ( $\pm 19.2\%$  grensen). Linjene er en lineær regresjon som er en funksjon av verdiene til hver prøves fortynningsrekke. Gjennomsnittet av de fire prøvene er 52.28. Altså HI grensen for folat er 52. Prøve nummer 5 er en uteligger som ikke er tatt med i beregningen av gjennomsnittet.

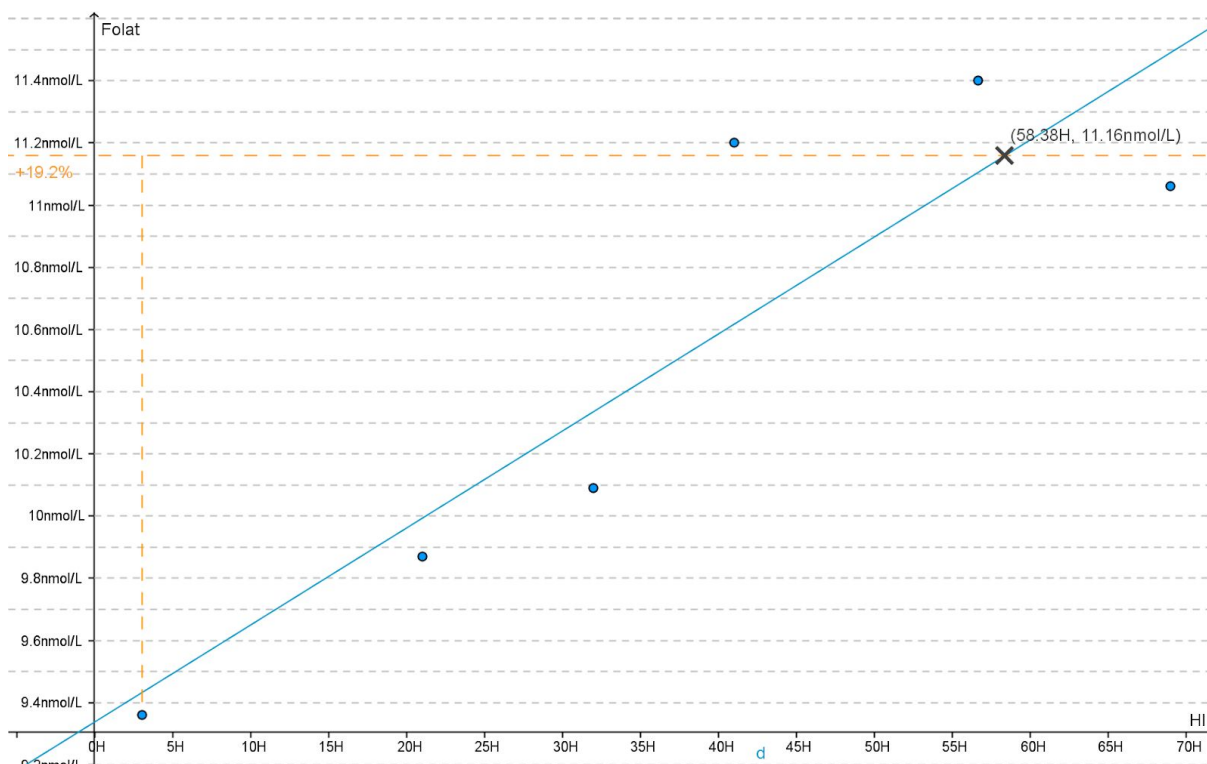
Måling av hemolyse-indeks på de 5 fortynningene av folat er presentert i tabell 9-13. For å forhindre unøyaktighet forårsaket av tilfeldig interferens, ble de analysert med tre replikater. Resultatene viser at HI blir avlest med liten varians, mens avlest folat konsentrasjon varierer en del.



Graf 10: Folat prøve 1 ( $\pm 19.2\%$  grensen). Lavest folat konsentrasjon. Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig folat konsentrasjonen på y-aksen.

Folat Prøve 1	Blank	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	7	25	39	54	67	77
<b>HI Runde 2</b>	8	24	39	55	68	76
<b>HI Runde 3</b>	9	25	40	55	68	77
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	7	24.67	39.34	54.67	67.67	76.67
<b>Folat Runde 1</b>	5.27	5.77	6.31	7.34	7.28	7.43
<b>Folat Runde 2</b>	5.56	6.63	6.89	6.83	7.10	7.37
<b>Folat Runde 3</b>	5.93	6.13	6.49	7.13	8.11	7.78
<b>Gjennomsnittlig folat</b>	5.59	6.18	6.56	7.1	7.5	7.53
<b>%Differanse</b>	0	10.55	17.35	27.01	34.17	34.7

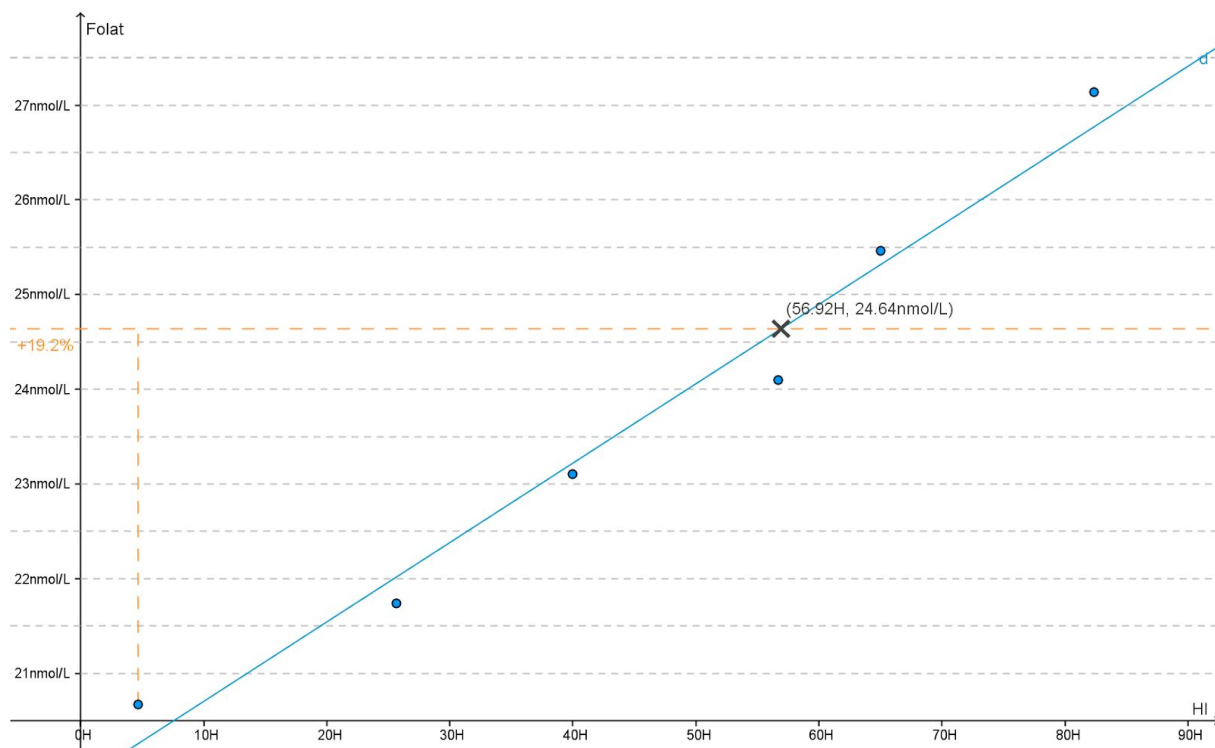
Tabell 9: Folat prøve 1. HI og folat konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige folat og % differanse er opplyst også.



Graf 11: Folat prøve 2 ( $\pm 19.2\%$  grensen). Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig folat konsentrasjonen på y-aksen.

Folat Prøve 2	Blank	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	3	23	31	41	58	69
<b>HI Runde 2</b>	4	20	33	41	57	68
<b>HI Runde 3</b>	2	20	32	41	55	70
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	3	21	32	41	56.67	69
<b>Folat Runde 1</b>	8.92	10.6	10.4	11.2	10.7	10.9
<b>Folat Runde 2</b>	9.79	9.36	10.1	11.0	11.7	11.0
<b>Folat Runde 3</b>	9.38	9.66	9.78	11.1	11.8	11.3
<b>Gjennomsnittlig folat</b>	9.36	9.87	10.09	11.1	11.4	11.06
<b>%Differanse</b>	0	5.45	7.8	19.66	21.79	18.16

Tabell 10: Folat prøve 2. HI og folat konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige folat og % differanse er opplyst også.

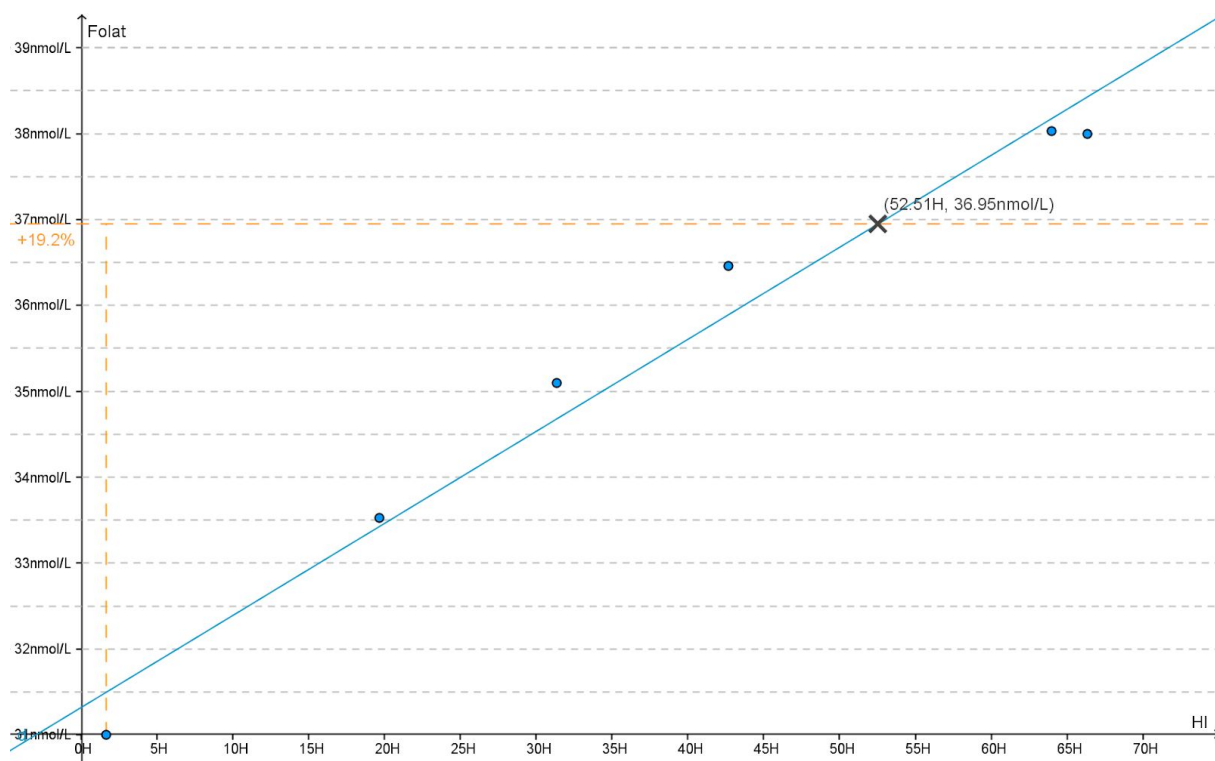


Graf 12: Folat prøve 3 ( $\pm 19.2\%$  grensen). Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig folat konsentrasjonen på y-aksen.

Folat Prøve 3	Blank	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	4	28	39	57	64	81
<b>HI Runde 2</b>	5	24	40	56	65	83
<b>HI Runde 3</b>	5	25	41	57	66	83
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	4.67	25.67	40	56.67	65	82.34
<b>Folat Runde 1</b>	21	21.3	22.4	23.6	23.9	26.0
<b>Folat Runde 2</b>	21.2	21.2	24.2	24.6	26.8	27.4
<b>Folat Runde 3</b>	19.8	22.7	23.4	24.1	26.0	28.0
<b>Gjennomsnittlig folat</b>	20.67	21.74	23.1	24.1	25.46	27.14
<b>%Differanse</b>	0	5.23	12.97	16.65	23.72	31.36

Tabell 11: Folat prøve 3. HI og folat konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige folat og % differanse er opplyst også.

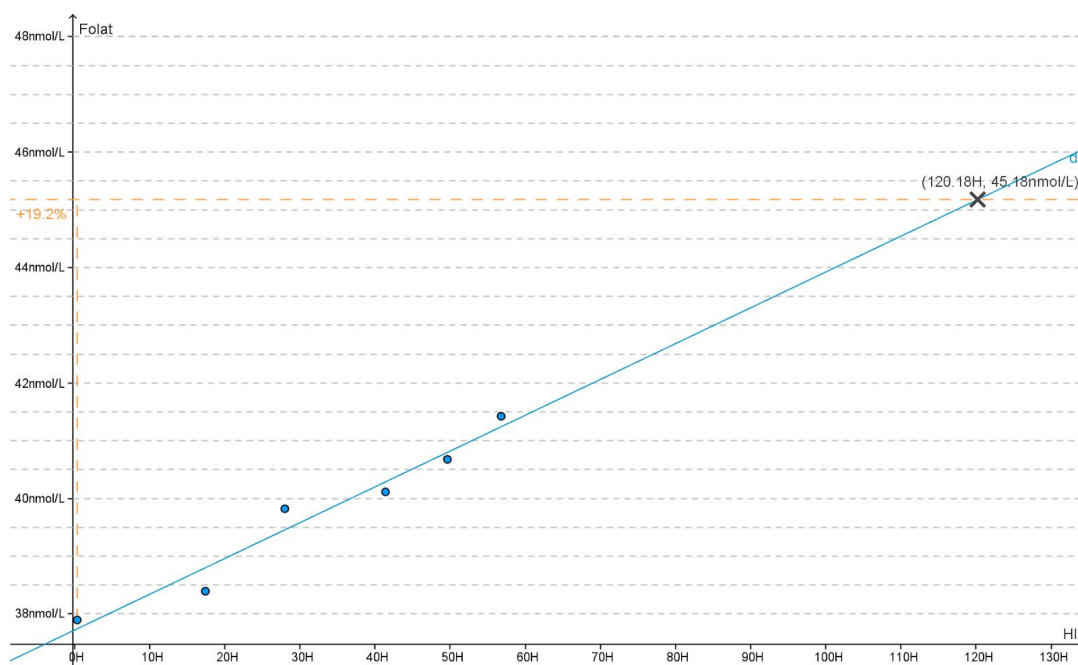




Graf 13: Folat prøve 4 ( $\pm 19.2\%$  grensen). Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig folat konsentrasjonen på y-aksen.

<b>Folat Prøve 4</b>	<b>Blank</b>	<b>4-1</b>	<b>4-2</b>	<b>4-3</b>	<b>4-4</b>	<b>4-5</b>
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	1	19	30	43	65	66
<b>HI Runde 2</b>	2	20	32	43	65	67
<b>HI Runde 3</b>	2	19	32	42	62	66
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	1.67	19.67	31.34	42.67	64	66.34
<b>Folat Runde 1</b>	31.7	32.8	33.2	37.1	38.5	37.0
<b>Folat Runde 2</b>	30.0	32.9	34.2	35.5	37.6	38.5
<b>Folat Runde 3</b>	31.3	34.9	37.9	36.8	38.0	38.5
<b>Gjennomsnittlig folat</b>	31	33.53	35.1	36.46	38.03	38
<b>%Differanse</b>	0	8.16	13.23	17.61	22.68	22.58

Tabell 12: Folat prøve 4. HI og folat konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige folat og % differanse er opplyst også.



Graf 14: Folat prøve 5 ( $\pm 19.2\%$  grensen). Høyest folat konsentrasjon. Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig folat konsentrasjonen på y-aksen.

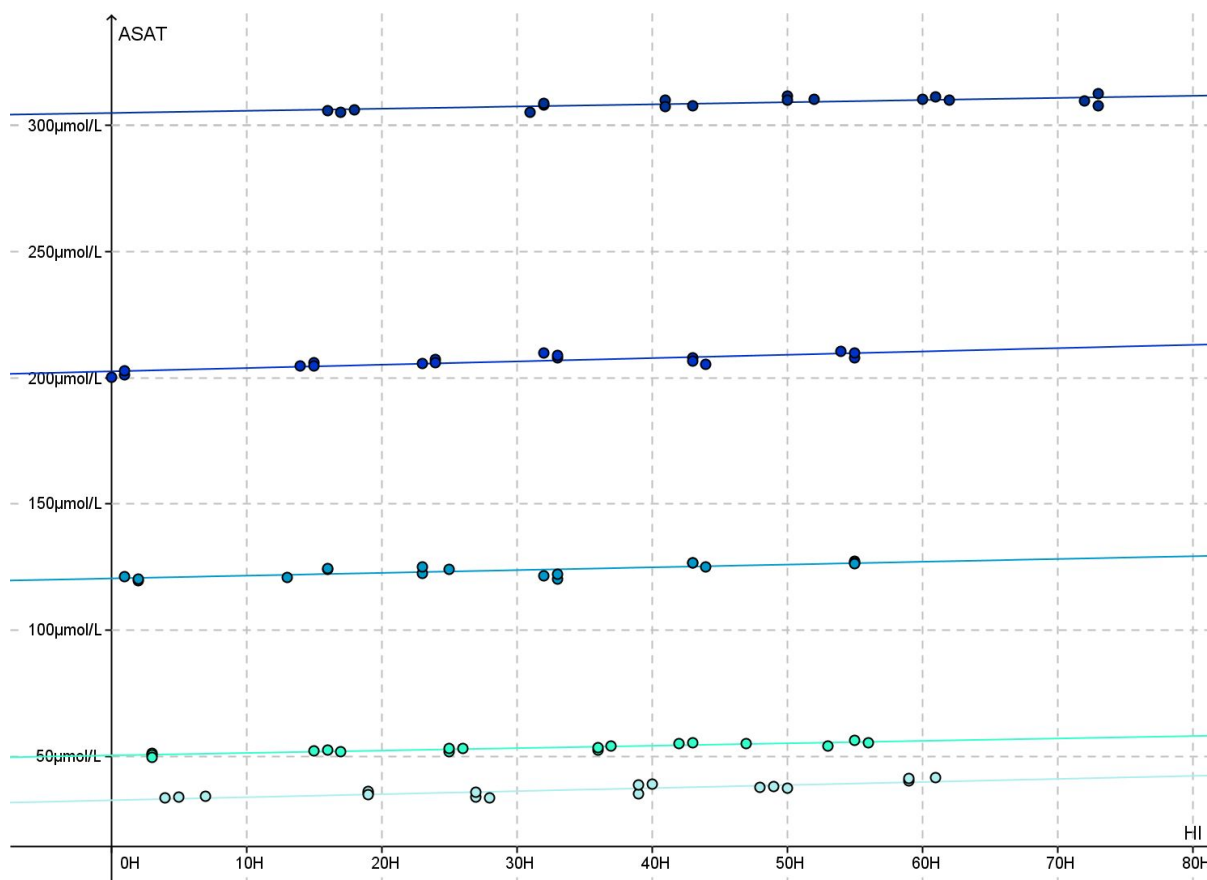
Folat Prøve 5	Blank	5-1	5-2	5-3	5-4	5-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	0	17	27	40	47	57
<b>HI Runde 2</b>	0	16	28	41	48	56
<b>HI Runde 3</b>	2	17	28	40	49	54
<b>HI Runde 4</b>	(N/A)*	17	28	46	51	58
<b>HI Runde 5</b>	(N/A)*	20	29	40	53	59
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	0.34	17.4	28	41.4	49.6	56.8
<b>Folat Runde 1</b>	39.1	38.9	39.9	40.7	41.1	40.6
<b>Folat Runde 2</b>	34.8	38.3	39.9	41.3	40.6	42.1
<b>Folat Runde 3</b>	39.8	39.2	41.3	41.8	40.4	42.9
<b>Folat Runde 4</b>	(N/A)*	37.5	39.6	37.3	40.5	41.7
<b>Folat Runde 5</b>	(N/A)*	38.1	38.4	39.5	40.8	39.8
<b>Gjennomsnittlig folat*</b>	37.9	38.4	39.82	40.12	40.68	41.42
<b>%Differanse</b>	0	1.32	5.82	5.86	7.34	9.29

Tabell 13: Folat prøve 5. HI og folat konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige folat og % differanse er opplyst også.

### 3.2.3 ASAT:

Av korrelasjonsdiagram i graf 15 ser en at lineær samsvaret mellom prøveresultater varierer litt med konsentrasjon. De fleste prøvene ligger nært den tilpassede rette linjen. Dette betyr at det er liten forskjell på prøveresultater. Men for prøve 5 ble resultatet ulikt de andre.

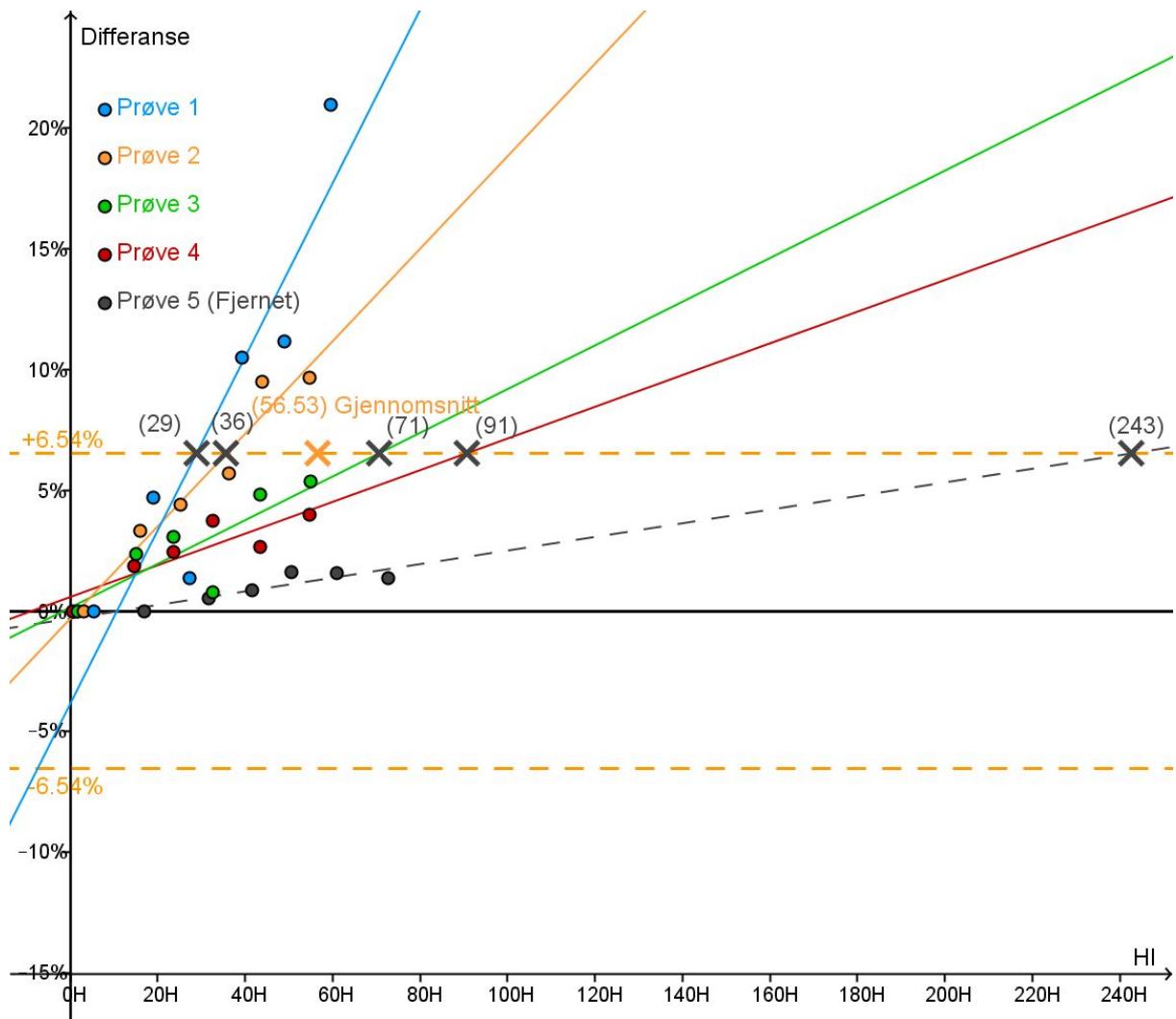
Beregnete korrelasjonskoeffisienten er vist i tabell 14 og viser en relativt dårligere lineær samvariasjon mellom prøveresultatene.



Graf 15: Korrelasjonsdiagram med tilpasset rett linje for fem ASAT prøvene. Resultat for hemolyse-indeks analysert på Cobas vises på x-aksen og ASAT-prøvene på y-aksen.

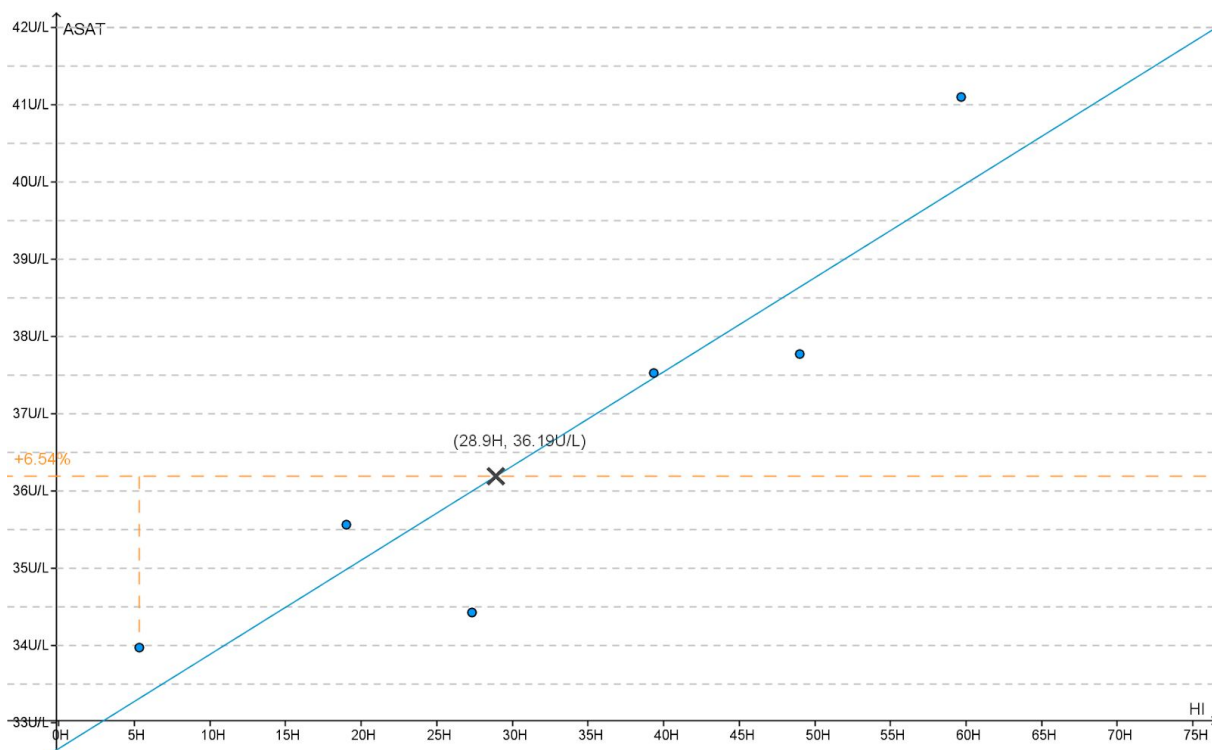
Korrelasjon	ASAT 1	ASAT 2	ASAT 3	ASAT 4	ASAT 5
Korrelasjonskoeffisienten $t$	0.868	0.922	0.764	0.838	0.739

Tabell 14: Tabell til korrelasjonskoeffisient for folat. Her er det dårligere lineær samvariasjon.



Graf 16: Differanseplott for ASAT ( $\pm 6,54\%$  grensen). Linjene er en lineær regresjon som er en funksjon av verdiene til hver prøves fortynningsrekke. Gjennomsnittet av de fire prøvene er 56,53. Altså HI grensen for ASAT er 57.

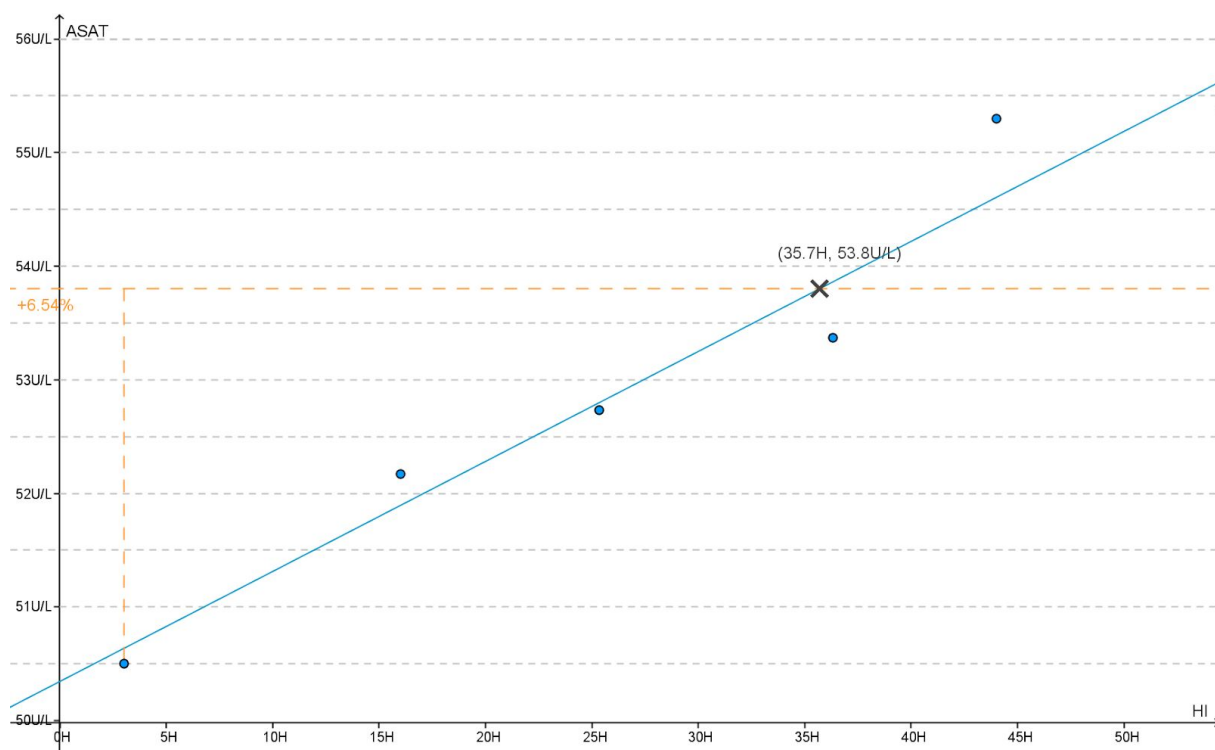
Måling av hemolyse-indeks av 5 fortynninger fra ASAT-prøvene er presentert i tabell 15-19. For å forhindre unøyaktighet forårsaket av tilfeldig interferens, ble de analysert med tre replikater. Resultatene viser samme tendens. Beregnede gjennomsnittlig hemolyse-indeks og ASAT konsentrasjon for hver runde er beskrevet i tabellen. Prosentvis differansen på hver ASAT analyse er beregnet også.



Graf 17: ASAT prøve 1 ( $\pm 6,54\%$  grensen). Lavest ASAT konsentrasjonen. Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig ASAT konsentrasjonen på y-aksen.

ASAT Prøve 1	Blank	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	4	19	27	39	49	59
<b>HI Runde 2</b>	5	19	27	39	50	59
<b>HI Runde 3</b>	7	19	28	40	48	61
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	5.34	19	27.34	39.34	49	59.67
<b>ASAT Runde 1</b>	33.7	35.5	34.0	35.1	38.2	40.4
<b>ASAT Runde 2</b>	33.9	36.3	35.7	38.6	37.4	41.2
<b>ASAT Runde 3</b>	34.3	34.9	33.6	38.9	37.7	41.7
<b>Gjennomsnittlig ASAT</b>	33.97	35.56	34.43	37.53	37.77	41.10
<b>%Differanse</b>	0	4.68	1.35	10.48	11.19	20.99

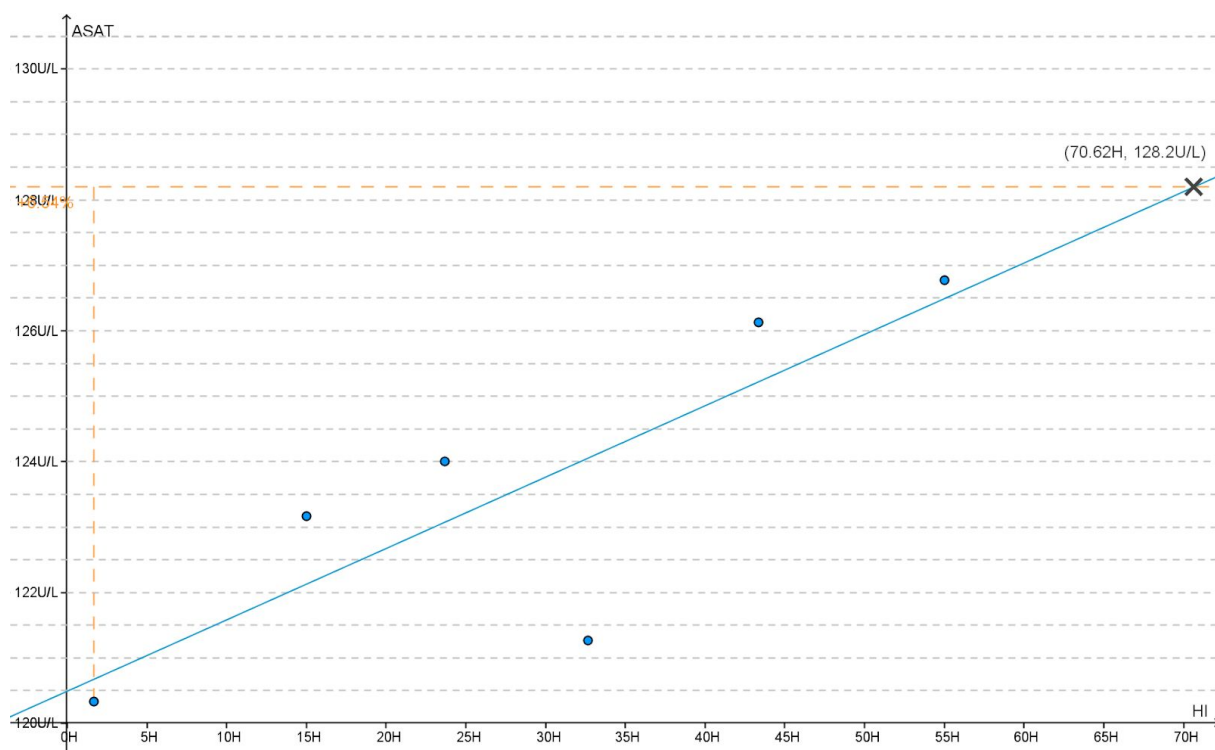
Tabell 15: ASAT prøve 1. HI og ASAT konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige ASAT konsentrasjon og % differanse er opplyst også.



Graf 18: ASAT prøve 2 ( $\pm 6,54\%$  grensen). Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig ASAT konsentrasjonen på y-aksen.

ASAT Prøve 2	Blank	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	3	16	25	36	42	53
<b>HI Runde 2</b>	3	15	26	36	47	56
<b>HI Runde 3</b>	3	17	25	37	43	55
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	3	16	25.34	36.34	44	54.67
<b>ASAT Runde 1</b>	51.3	52.4	51.9	52.5	55.2	54.2
<b>ASAT Runde 2</b>	50.7	52.1	53.2	53.4	55.2	55.5
<b>ASAT Runde 3</b>	49.5	52.0	53.1	54.2	55.5	56.4
<b>Gjennomsnittlig ASAT</b>	50.50	52.17	52.73	53.37	55.30	55.37
<b>%Differanse</b>	0	3.31	4.42	5.68	9.5	9.64

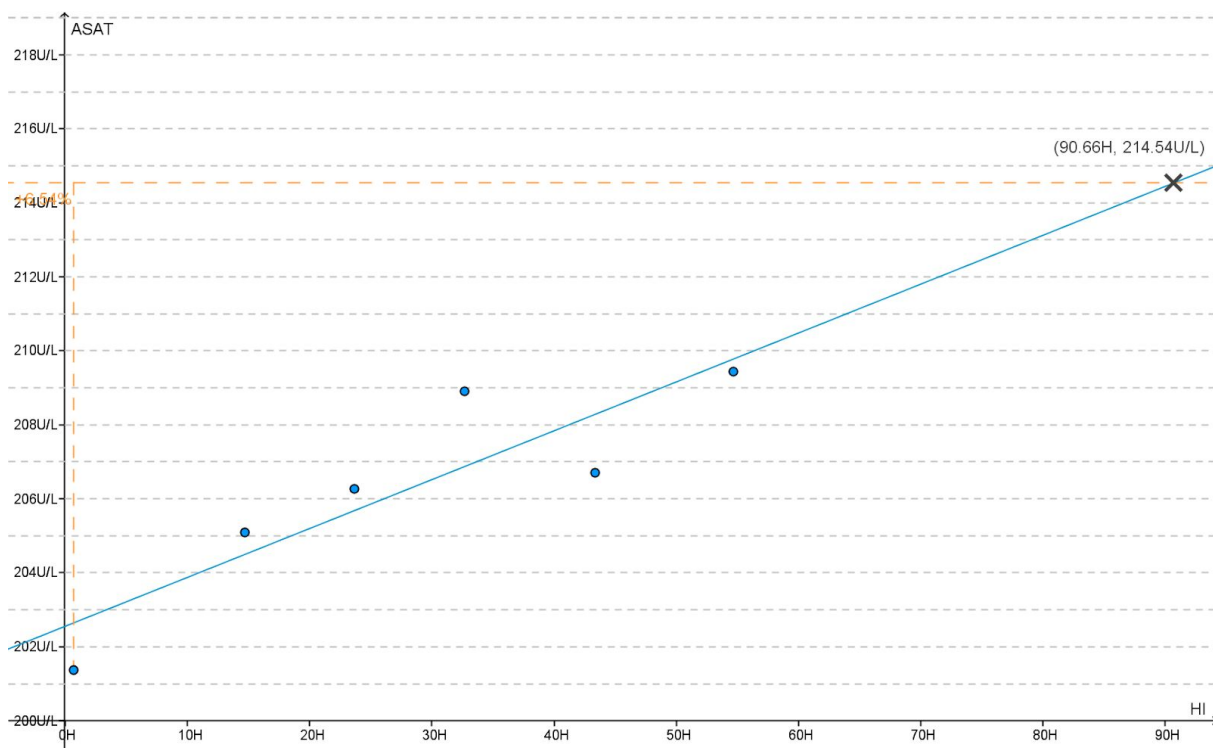
Tabell 16: ASAT prøve 2. HI og ASAT konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige ASAT konsentrasjon og % differanse er opplyst også.



Graf 19: ASAT prøve 3 ( $\pm 6,54\%$  grensen). Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig ASAT konsentrasjonen på y-aksen.

ASAT Prøve 3	Blank	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	2	16	23	33	43	55
<b>HI Runde 2</b>	2	16	25	33	44	55
<b>HI Runde 3</b>	1	13	23	32	43	55
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	1.67	15	23.67	32.67	43.33	55
<b>ASAT Runde 1</b>	119.6	124.2	122.6	120.2	126.8	127.2
<b>ASAT Runde 2</b>	120.2	124.4	124.2	122.1	125.0	126.8
<b>ASAT Runde 3</b>	121.2	120.9	125.2	121.5	126.6	126.3
<b>Gjennomsnittlig ASAT</b>	120.33	123.17	124	121.27	126.13	126.77
<b>%Differanse</b>	0	2.36	3.05	0.78	4.82	5.35

Tabell 17: ASAT prøve 3. HI og ASAT konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige ASAT konsentrasjon og % differanse er opplyst også.

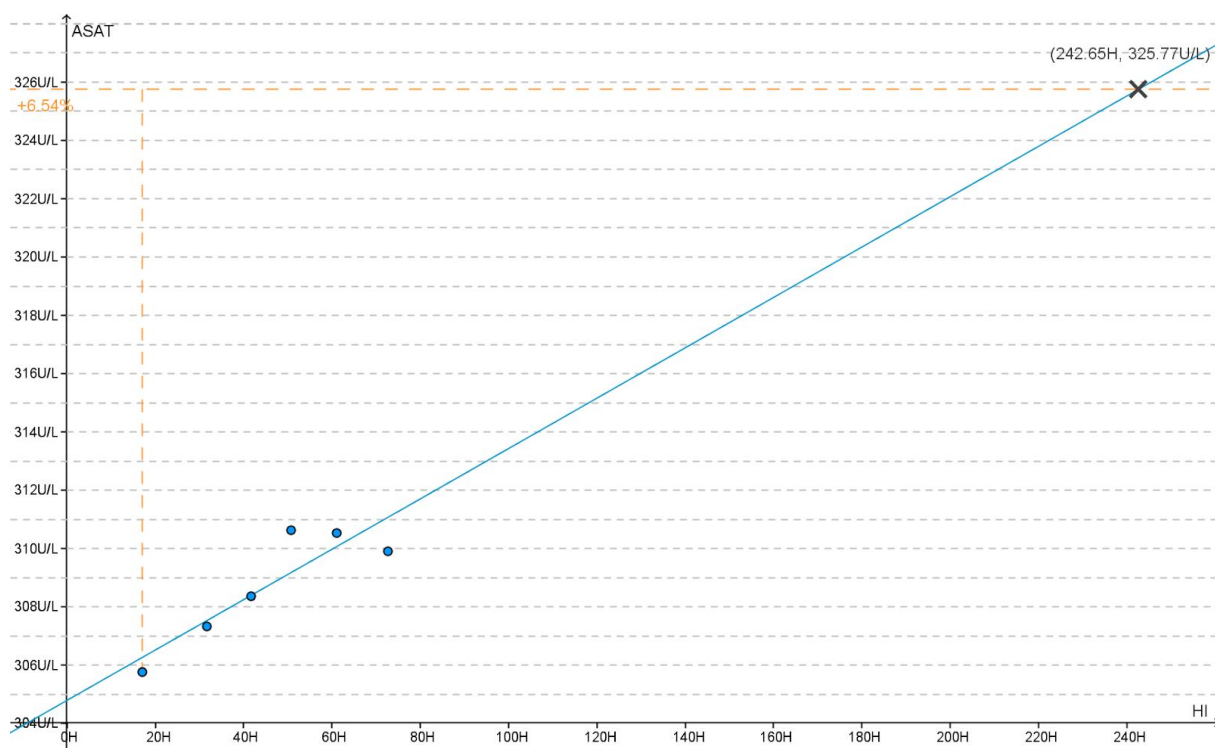


Graf 20: ASAT prøve 4 ( $\pm 6,54\%$  grensen). Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig ASAT konsentrasjonen på y-aksen.

ASAT Prøve 4	Blank	4-1	4-2	4-3	4-4	4-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	0	15	24	33	44	55
<b>HI Runde 2</b>	1	15	23	33	43	54
<b>HI Runde 3</b>	1	14	24	32	43	55
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	0.67	14.67	23.67	32.67	43.34	54.67
<b>ASAT Runde 1</b>	200.1	205.9	207.2	208.0	205.4	207.9
<b>ASAT Runde 2</b>	201.3	204.8	205.5	209.0	208.0	210.5
<b>ASAT Runde 3</b>	202.7	204.6	206.1	209.8	206.7	209.9
<b>Gjennomsnittlig ASAT</b>	201.37	205.1	206.27	208.9	206.70	209.43
<b>%Differanse</b>	0	1.85	2.43	3.74	2.65	4

Tabell 18: ASAT prøve 4. HI og ASAT konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige ASAT konsentrasjon og % differanse er opplyst også.





Graf 21: ASAT prøve 5 ( $\pm 6,54\%$  grensen). Høyest ASAT konsentrasjon. Gjennomsnittlig HI er vist på x-aksen og gjennomsnittlig ASAT konsentrasjonen på y-aksen.

ASAT Prøve 5	Blank	5-1	5-2	5-3	5-4	5-5
<b>Blandingsforhold Bruksløsning/Serum</b>	0/1	1/39	2/38	3/37	4/36	5/35
<b>HI Runde 1</b>	17	32	41	52	60	73
<b>HI Runde 2</b>	18	32	41	50	62	72
<b>HI Runde 3</b>	16	31	43	50	61	73
<b>Gjennomsnittlig HI</b>	17	31.67	41.67	50.67	61	72.67
<b>ASAT Runde 1</b>	305.3	308.1	310.1	310.4	310.3	312.4
<b>ASAT Runde 2</b>	306.2	308.7	307.4	311.5	309.9	309.6
<b>ASAT Runde 3</b>	305.8	305.2	307.6	310.0	311.4	307.7
<b>Gjennomsnittlig ASAT</b>	305.77	307.33	308.37	310.64	310.54	309.9
<b>%Differanse</b>	0	0.51	0.85	1.59	1.56	1.35

Tabell 19: ASAT prøve 5. HI og ASAT konsentrasjonen for hver runde er registrert. Beregnede gjennomsnittlige ASAT konsentrasjon og % differanse er opplyst også.

## 4. Diskusjon

### 4.1 Generell diskusjon av Metode:

Ved bruk av Westgards database og formelen for beregning av maksimalt tillatt bias basert på biologisk variasjon, kan en si at problemstillingen i forsøket er delvis løst.

Presisjonen på resultatene i dette forsøket har i stor grad vært representative for de ulike analysene. I visse tilfeller har det blitt oppdaget uteliggere, disse ble visuelt plukket opp og fjernet. Dette gjelder både individuelle analysesvar, og hele prøve fortynningsrekker. (hele rekken ved prøve 5 på både ASAT og folat ble valgt bort).

Når hele prøve fortynningsrekker ble valgt bort, det ble også tatt til hensyn at prøvesvarene som ble valgt bort var representativ for høye analytt konsentrasjoner. Disse konsentrasjonene er så høye at hemolyse ikke spiller like stor rolle som ved lavere analytt konsentrasjoner.

For å hemolysere prøvene ble det valgt å utføre et osmotisk sjokk ved nedfrysning. Denne metoden ble valgt siden det er i følge CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) den anbefalte måten å hemolysere prøvene på. Denne metoden er lettvinnt og det er liten fare for søl. Metoden har også ved andre forsøk vist seg å være en pålitelig og lettvinnt måte å utføre en optimal hemolysering (44,45).

Før prøvene kan bli analysert må kontrollene være godkjente. Ved Ålesund sykehus blir kontrollene utført daglig. Kalibreringer blir utført hvis kontrollene ikke blir godkjent. Ved ikke godkjent kontroll vil ikke noen analyser bli analysert. Alle kontrollene ved Cobas 8000 og SYSMEX XN-2000 var godkjente de dagene analysene ble utført.

Til å starte med ble det brukt et akseptkriterie på  $\pm 10\%$  ved interferens for alle prøvene. Ett akseptkriterie på  $\pm 10\%$  i relasjon til interferens er ofte en generisk grense satt av

produsentene av instrumentene. Roche bruker også denne løsningen. Denne metoden er ikke optimal for alle analytter, og det er valgt å bruke en mer rasjonell metode basert på analyttens spesifikke kriterier. Ved bruk av en  $\pm 10\%$  maksimum bias verdi for kalium blir den gjennomsnittlige hemolyse-indeks grensen 160. Dette er klinisk sett for høyt.

Etter dette ble det bestemt å bruke Westgards B(%) (Ønsket spesifisering for bias). Denne metoden ble prøvd først ut med kalium. Her ble minimumskrav for maksimum tillatt bias tilsvarende 1.81%. Dette førte til at hemolyse-indeks grensen for kalium ble for lavt, og ville ført til at mange pasientprøver måtte blitt forkastet. Til slutt på ble det valgt å bruke en metode basert på Westgards regler, og det brakte fram gode resultater.

Denne metoden har blitt brukt ved andre forsøk og er anbefalt av Westgard. En kan derfor stole på at denne metoden vil gi gode resultat.

For folat og ASAT ble det valgt å snevre inn kravene for maksimal tillatt bias for å gjenspeile våre krav, og for å få ønskelige maksimalt tillatt bias verdier. En C-verdi på 0.25 for folat og ASAT ble brukt til utregning, som tilsvarer den ønskelige krav for maksimalt tillatt bias. For kalium ble det brukt en C-verdi på 0.375 som er som nevnt minimumskravet for maksimalt tillatt bias verdier basert på biologisk variasjon.

Det ble målt hemoglobin på SYSMEX XN-2000 for å se hvor effektiv hemolysert prøvene ble. Hemoglobinnivået oppnådd for hemolysatene var mellom 205-295g/dL. Hb i EDTA-rørene som ble brukt hadde i utgangspunkt 10,3-16,9 g/dL (hentet fra cITm ved Ålesund sykehus) før de ble hemolysert.

Dermed kan det konkluderes med at hemolyse metoden som ble brukt var effektiv.

For å holde orden på pasientprøvene ble de anonymisert og navnsatt folat [1, 5] - [0, 5], kalium [1, 5] - [0, 5] og ASAT [1, 5] - [0, 5]. Nomenklatur, basert på rekkefølge avhenger av:

1. Analysenavn
2. Prøvenummer, basert på en numerisk sortering av folat, kalium og ASAT prøvenes opprinnelige konsentrasjon av deres gitte analytt, rangert fra lavest til høyest.
3. Fortynningsnummer, basert på en numerisk sortering der hvor hemolysat nivå blir rangert fra lavest til høyest (der 0 er "blank").

For eksempel blir Kalium 1-5 en pasientprøve som det ble analysert kalium på. Pasientprøven blir også rangert som den lavest naturlige kalium konsentrasjon av prøvene rekken, og blir til slutt rangert som den fortynningen med høyeste hemolyse-indeks.

Det ble valgt å evaluere effekten av hemolyse ved å bruke tallene fra Westgards database. Databasen ble brukt til å hente krav til ønskelige spesifikasjoner for %bias. I andre forsøk har en valgt å bruke interferens kriterier der hvor det ikke overstiger maksimalt tillatt for bias for analytt spesifisert av andre databaser, som fra for eksempel CLIA. Dette tilsvarer Westgards B(%). Disse databasene har like verdier, for eksempel er B(%) for kalium 1.81 ved Westgard, og 1.8 ved CLIA. Av praktiske årsaker har det ikke blitt valgt å sammenligne databaser i dette forsøket, men det har blitt gjort i andre forsøk (46).

I artikkelen "Hemolysis interference studies: the particular case of sodium ion" har de benyttet to ulike metoder for å komme fram til sine resultat. De har også brukt litium-heparinrør, istedenfor EDTA- og serumrørene som ble brukt i dette forsøket (46).

Dette forsøket tar også for seg to forskjellige hemolyse-metoder. Den første hemolysemetoden ligner mest på metoden som er brukt i dette forsøket. Der har de tatt to heparinrør per pasient. Det ene røret ble sentrifugert, og kun plasma ble beholdt. Det andre røret ble sentrifugert, supernatanten fjernet, og erytrocyttene fryst og tint for å lage hemolysat. Til slutt ble ulike volum med hemolysat fortynnet med plasma (46).

I den andre hemolysemetoden ble det tatt to heparinrør der det ene røret kun ble sentrifugert. Det andre røret gikk gjennom tre fryse og tine sykluser før sentrifugeringer. Supernatantene fra begge rørene ble så blandet sammen i ulike proporsjoner for å få ulik HI (46).

Et alternativ andre forskere har brukt til kvantifisering av hemolyse er måling av fritt hemoglobin i plasma. Denne metoden blir vanligvis brukt til å evaluere intravaskulært hemolytisk sykdom og er derfor en korrekt metode for å måle hemolyse på. En fordel med denne analytten er at den ikke blir påvirket av interfererende stoffer som lipider i like stor grad som HI. Dette er beskrevet i kapittel 1.2.4 (47).

## 4.2 Diskusjon av resultater på COBAS 8000:

### 4.2.1 Generelt om alle analyser:

Det er viktig at grensen som er beregnet i dette forsøket er den gjennomsnittlige grensen for akseptabel interferens. Dette er å gjenspeile at det er en stor forskjell på hvor stort område av absolutte verdier det er snakk om. For eksempel vil en  $\pm 10\%$  bias ved en ASAT konsentrasjon på 40 tilsvare [36, 44], som er brukbart. På den andre siden vil den samme bias ved en ASAT konsentrasjon på 300 tilsvare [270, 330]. Dette er en proporsjonal forskjell.

### 4.2.2 Kalium:

Med unntak av to uteliggere, prøve 4-2 runde 3 og prøve 2-1 runde 3, ble prøveresultatene for kalium bra. Korrelasjonen holdt seg innen 0.93, og det ble valgt å beholde prøve 5 siden regresjonslinjen for denne prøven ikke hadde et signifikant avvik fra de andre regresjonslinjene. Ved å bruke en C-verdi på 0.375, resulterte det til at gjennomsnittlig grenseverdi for de 5 kalium prøvene ble 44.88, noe som er en ønskelig verdi i dette forsøket. Det førte også til at det ønskelige kravet blir  $\pm 2.72\%$ .

Selv om dette minimumskravet kan bli sett på som lavt, er det viktig å huske at referanseområdet for kalium er relativt lite når en ser på absolutte verdier [3,5 - 5,1 mmol/L].

Dette betyr at ved våre beregninger kan vi anbefale at grenseverdien for HI ved kalium for sykehuset i Ålesund kan senkes fra 90 til 45. Dette samsvarer med sykehusets ønske om å snevre inn grensen.

#### 4.2.3 Folat:

Det ønskelige kravet for maksimum tillatte bias for folat ble utregnet til å bli  $\pm 19.2\%$ . En kan tenke seg at dette blir høyt, siden Roche anbefaler minimumskravet på  $\pm 10\%$ . Men bruk av minimumskravet fører til for snevre grenser. For å unngå at prøver blir kastet, ble kravet snevret litt inn til ønskelig krav. Det ønskelige kravet ble utregnet ved å velge å bruke en C-verdi på 0.25, som tilsvarer en optimal ønsket bias. Teoretisk sett vil derfor denne verdien for bias stemme.

Den nye grenseverdien ved HI for folat ble beregnet til 52.28. Dette er en ganske stor økning fra Roches verdi på 15 og sykehusets verdier på 20 og 25 (fra lave til høye konsentrasjoner).

Det største problemet en har i relasjon til folat er at referanseområdet til folat er stor i relasjon til absolutte verdier. [5,4 - 32 nmol/L]. Dette fører til en proporsjonal ubalanse når en skal regne ut maksimalt tillatt bias ved bruk av gjennomsnitt som har blitt gjort i dette forsøket. En lav folat-konsentrasjon vil være proporsjonalt mer sensitiv enn en høy folat-konsentrasjon.

Det vil derfor oppstå problemer når en skal utrede en pasient ved mistanke for folatmangel. Ikke bare er dette den mest populære utredningen, men folatmangel er også den situasjonen som er mest sensitiv for hemolyse. Basert på resultater i forsøket ser en at en grenseverdi på 52 i HI ved folat er for høy ved lave konsentrasjoner.

Det anbefales derfor at hvis en ønsker å bruke resultatene i forsøket for å utvide grenseverdiene at en først tar i betraktning problemet en har ved proporsjonalitet mellom

lavere og høyere folat konsentrasjoner.  $\pm 19.2$  grensen for den laveste folat verdien blir satt ved en HI på 42. Fra dette kan en anbefale tre alternativ:

1. Forandre på de nåværende HI grensene fra 20/25 (henholdsvis lav og høy folat konsentrasjon) til 42. Hvis en velger å godta prøvesvar med over 42 i HI bør man legge til en advarsel om at en bør forvente en stigning i folat konsentrasjonen på minst 1 nmol/L.
2. En kan også utvide de nåværende øvre HI grensene slik at en går fra 20/25 til 20/52 ved å erstatte grenseverdien for høye folat konsentrasjoner med den nye gjennomsnittlige grenseverdien.
3. Beholde de gamle verdiene.

Det er kjent at ved visse laboratorium foretrekker de å gi ut resultatene med en klar beskjed at en må forvente forhøyede/lavere verdier, over å forkaste prøvemateriale.

#### 4.2.4 ASAT:

Ved å bruke samme formelen og samme C verdi som ved folat blir det ønskelige kravet for bias for ASAT  $\pm 6,54\%$ . Den beregnede grenseverdien for HI blir da 57. Dette er omtrent dobbelt så mye som sykehuset bruker, som er en HI på 29, som igjen er trippelt så mye Roche anbefaler, en HI på 20. Her ble det også valgt å fjerne prøve 5, siden regresjonslinjen hadde et signifikant avvik fra resten av prøvene. Korrelasjon for ASAT var mellom 0.739 og 0.922, som er relativt dårlig. Ved visuell inspeksjon av korrelasjonsdiagrammet ble det fastslått at denne korrelasjonen ikke forårsaker problemer. Det ble først anbefalt å bruke C verdien som tilsvarer minimumskravet for maks tillatt bias. Dette ville tilsvare en grense på  $\pm 9.81\%$ , som resulterte i signifikant stor varians ved lavere ASAT konsentrasjoner. Det ble derfor valgt å bruke  $\pm 6,54\%$ .

Ved å se på Bland Altmans plottet, kan en se at ASAT er veldig sensitiv til hemolyse ved lave konsentrasjoner. En kan også se at ASAT er lite påvirket av hemolyse ved høye konsentrasjoner.

Syke personer kan ha ASAT konsentrasjoner opp mot 400 U/L. På den ene siden kan en forvente at en frisk person har konsentrasjoner mellom 15-45 U/L.

I grensesjiktet mellom normale verdier og svakt forhøyede verdier vil en HI på 57 tilsvare en tilnærmet lik bias på +20%, som er langt over maksimalt tillatt bias. Ved å bruke prøve 1 som referanse, kan en observere at HI ved  $\pm 6,54\%$  grensen lander på 28.88. Dette er meget likt den nåværende grenseverdien ved ÅSE, som er en HI på 29.

Det er derfor ikke anbefalt å forandre på nåværende verdier. En kan si at i motsetning til de andre analysene som er omtalt i dette forsøket, er det ikke forsvarlig å finne grenseverdiene ved å bruke et gjennomsnitt basert på regresjonene, siden hemolyse-sensitiviteten fra lave til høye ASAT konsentrasjoner er så forskjellige.

I tilfeller hvor en ny prøvetakning er umulig, som for eksempel tilfeller der hvor pasienten må fraktes med helikopter, kan en bare forholde seg til de hemolyserte prøvene.

I tillegg til dette, kan en også forvente en høyere forekomst av hemolyserte prøver i hastesituasjoner. En krevende prøvetakning på et travelt mottak er ikke et ideelt miljø for prøvetakning. Selv ved bruk av RST-rør (rør designet for øyeblikkelig hjelp, som vil koagulere raskere i forhold til vanlige serum-rør), kan en fremskyndet prøvetakning prosess og sentrifugering forårsake hemolyse.

Basert på disse faktorene anbefales det at høye ASAT konsentrasjoner blir godtatt som en indikasjon på sykdom, selv ved høy hemolyse. I dette forsøket har det ikke blitt målt ved ekstrem hemolyse indeks, og en kan derfor ikke i dette tilfellet trekke noen konklusjoner basert på dette. Basert på dette forsøket kan en si at prøver med relativt høy hemolyse indeks kan fortsatt bli sett på som pålitelige, hvis de gir høye ASAT konsentrasjoner. Ved prøver der hvor HI er høy, og ASAT konsentrasjoner ligger i grensesjiktet mellom normalverdier og svakt forhøyede verdier, kan en ikke anbefale å trekke noen konklusjoner basert på dette forsøket.



Det anbefales derfor å ikke forandre på nåværende grenseverdier. Alternativt kan det anbefales å gi ut prøvesvar som har HI over nåværende grenseverdi (29) med en advarsel om forventet interferens, og at legen bør vurdere å forkaste prøven om verdien ligger i grensesjiktet mellom normalverdier og svakt forhøyede konsentrasjoner.

### 4.3 Feilkilder

Feil bruk av pipette. Dette kan blant annet være å glemme å bytte pipettespiss, slik at en kan få “carryover”, noe som ville gjort at nøyaktigheten til analysen ble dårligere.

Forveksling av pasient serum. Manuell innføring av pasientprøver kan forårsake feil informasjon blir tilført i tabellen og en får da feil utregning i grafene.

Manglende erfaring med Cobas 8000 maskinen/ Sysmex XN-2000.

Bruk av to forskjellige ISE moduler. Cobas 8000 systemet i Ålesund bruker to forskjellige ISE moduler. Det ble valgt å bruke begge av praktiske årsaker. Dette kan forårsake feil om prøve konsentrasjonene modulene gir ut er for forskjellige fra hverandre (svarene som ble gitt ut fra begge ISE-modulene var relativt identiske og kontrollene var godkjente).

Feil håndtering av prøver. Et rack med serumprøver falt med et uhell fra toppen av et bord. Mekanisk skade på serum kan ha hemolysert prøvene ytterligere.

Manuell innføring av prøveresultat i tabell, både i resultat og i geogebra. Dette ble gjort for hånd, og alt manuelt arbeid er en potensiell feilkilde, og kan bli utsatt for menneskelige feil.

## 5. Konklusjon

Basert på dette forsøket kan det dermed konkluderes med at Roche sine grenseverdier for kalium og folat kan endres. Dette er basert på utregninger og anbefalinger i forsøket og sykehusets ønske om å enten utvide eller øke hemolyse-indeks på analytter.

Istedenfor å bruke grensen som Roche anbefaler så kan en bruke  $\pm 2,72\%$  for kalium analysen. Dette betyr at HI grensen ved Ålesund sykehus kan da endres fra nåværende 90 til 45.

Folat analysen blir det anbefalt hvis en ønsker å bruke resultatene oppnådd i dette forsøket for å utvide grenseverdiene, at en først tar i betraktning problemet en har ved proporsjonalitet mellom lavere og høyere folat konsentrasjoner.  $\pm 19.2\%$  grensen for den laveste folat verdien blir satt ved en HI på 42.

Ved å bruke minimumskravet for maks tillatt bias som Roche anbefaler ( $\pm 10\%$ ) istedenfor det ønskelige kravet for bias for ASAT ( $\pm 6,54\%$ ), blir det dermed anbefalt å ikke forandre på nåværende grenseverdier.

## 6. Vedlegg

### Vedlegg 1: Formelark i statistikk

Parameter	Forutsetning	Konfidensintervall	Hypotesetesting	Frihetsgrader
$\mu$	$\sigma$ kjent	$\bar{x} \pm z_{\alpha} \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$	$z_{obs} = \frac{ \bar{x} - \mu_0 }{\sigma} \sqrt{n}$	
$\mu$	$\sigma$ ukjent	$\bar{x} \pm t_{\alpha, m} \frac{s}{\sqrt{n}}$	$t_{obs} = \frac{ \bar{x} - \mu_0 }{s} \sqrt{n}$	$m = n - 1$
$\mu_A - \mu_B$	$\sigma_A$ og $\sigma_B$ kjent		$z_{obs} = \frac{(\bar{x}_A - \bar{x}_B) - (\mu_A - \mu_B)_0}{\sqrt{\sigma_A^2/n_A + \sigma_B^2/n_B}}$	
$\mu_A - \mu_B$	$\sigma_A = \sigma_B$		$s = \sqrt{\frac{(n_A - 1)s_A^2 + (n_B - 1)s_B^2}{n_A + n_B - 2}}$	
			$t_{obs} = \frac{ \bar{x}_A - \bar{x}_B }{s \sqrt{1/n_A + 1/n_B}}$	$m = n_A + n_B - 2$
$\mu_A - \mu_B$			$t_{obs} = \frac{ \bar{x}_A - \bar{x}_B }{\sqrt{s_A^2/n_A + s_B^2/n_B}}$	$m = \frac{(s_A^2/n_A + s_B^2/n_B)^2}{\frac{(s_A^2/n_A)^2}{n_A - 1} + \frac{(s_B^2/n_B)^2}{n_B - 1}}$
$\mu_D$	parvis		$t_{obs} = \frac{ d - (\mu_D)_0 }{s_D} \sqrt{n}$	$m = n - 1$
$\sigma^2$		$\frac{s^2}{\chi_{\alpha, m}^2} \cdot m, \frac{s^2}{\chi_{1-\alpha, m}^2} \cdot m$	$\chi_{obs}^2 = \frac{s^2}{\sigma_0^2} \cdot m$	$m = n - 1$
$\sigma$		$\sqrt{\frac{s^2}{\chi_{\alpha, m}^2} \cdot m}, \sqrt{\frac{s^2}{\chi_{1-\alpha, m}^2} \cdot m}$		$m = n - 1$
$\frac{\sigma_A^2}{\sigma_B^2}$			$f_{obs} = \frac{s_A^2}{s_B^2} \frac{n}{n}$	$m_A = n_A - 1, m_B = n_B - 1$
$b$		$\hat{b} \pm t_{\alpha, m} \frac{s}{\sqrt{S_{xx}}}$	$t_{obs} = \frac{ \hat{b} - b_0 }{s} \sqrt{S_{xx}}$	$m = n - 2$
$a$		$\hat{a} \pm t_{\alpha, m} \frac{s \sqrt{\Sigma x^2}}{\sqrt{n S_{xx}}}$	$t_{obs} = \frac{ \hat{a} - a_0 }{s \sqrt{\Sigma x^2}} \sqrt{n S_{xx}}$	$m = n - 2$
$\mu_{Y x}$		$\hat{a} + \hat{b}x_0 \pm t_{\alpha, m} s \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{S_{xx}}}$		$m = n - 2$
$\rho$			$t_{obs} = \frac{ r  \sqrt{n - 2}}{\sqrt{1 - r^2}}$	$m = n - 2$

Noen formler innen lineær regresjon:

$\hat{b} = \frac{n \Sigma xy - (\Sigma x)(\Sigma y)}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$	$\hat{a} = \bar{y} - \hat{b}\bar{x}$	$S_{xx} = \Sigma x^2 - n(\bar{x})^2$	$S_{yy} = \Sigma y^2 - n(\bar{y})^2$	$S_{xy} = \Sigma xy - n\bar{x}\bar{y}$	$s = \sqrt{\frac{S_{yy} - \hat{b}S_{xy}}{n - 2}}$	$r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_{xx} \cdot S_{yy}}}$
--	--------------------------------------	--------------------------------------	--------------------------------------	--	---	---

Formlene som geogebra brukte for å regne ut korrelasjonskoeffisienten (r), og lineær regresjon. (formelarket er et vedlegg til eksamen i faget BR100209 Matematikk og statistikk for kjemi og biologi).

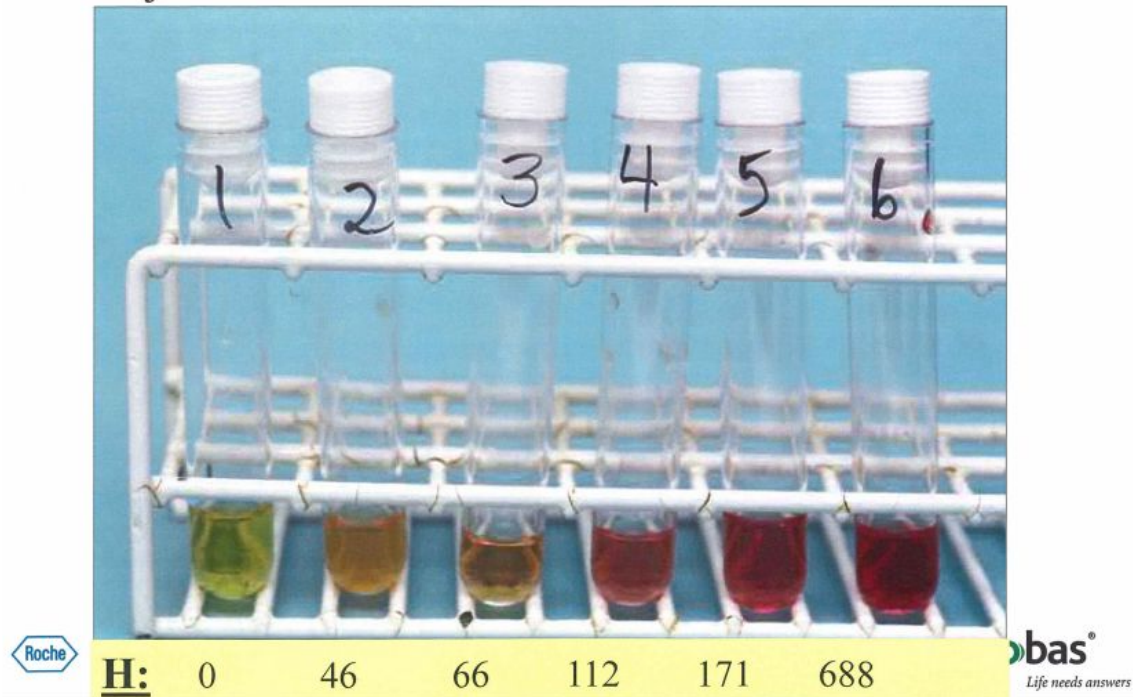
$\mu$ =forventningsverdi

$\sigma$ =standardavvik

$\sigma^2$ =varians

## Vedlegg 2: Graden av hemolyse.

### Eksempel 1: *Hemolyse*



## Vedlegg 3: Serum-indeks

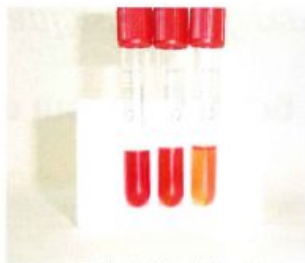
### Generelt

Med **Serum Indekser** mener vi tallverdier som kan angi prøvematerialets;

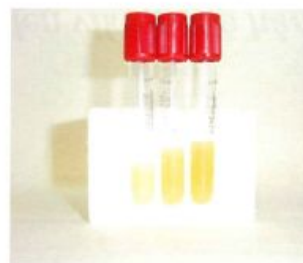
- **Hemolyttisk index** (grad av hemolyse)
- **Icterisk index** (grad av tilstedeværelse av bilirubin)
- **Lipemisk index** (grad av turbiditet, oftest fra lipider)



Følgelig er også verdiene uten benevning!



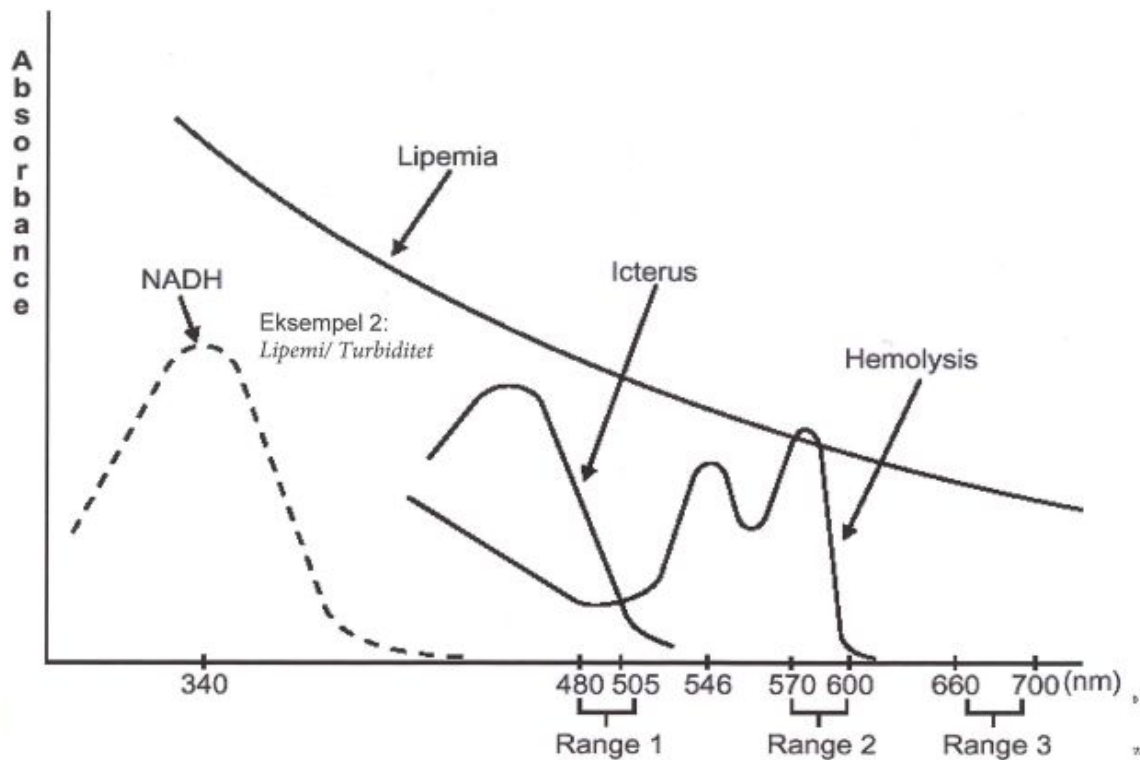
Serum Indexer



cobas<sup>®</sup>  
Life needs answers

Vedlegg 4: Forskjellige interferens absorbanser for hemolyse, ikterus og lipemi.

## Interferens Diagram



Serum Indexer

Vedlegg 5: Roches definisjon på interferens.

## Praktisk bruk og nytte

Alle fotometriske tester fra Roche er testet med hensyn til:

- Hemolyttisk Interferens
- Icterisk Interferens
- Lipemisk Interferens

De ulike INDEX-verdiene, for når interferens oppstår, er oppgitt i pakningsvedleggene:

**Roche definerer interferens slik:**

**Når Recovery har falt utenfor +/- 10 % av opprinnelig verdi, i Roche's interne definerte interferens-studier, har vi interferens!**



18. November, 2008, Example headline, Page 15, © Roche

Serum Indexer

**cobas**  
Life needs answers

## Vedleggene 6-10 : Cobas 8000 pakningsvedlegg for ISE.

### Vedlegg 6

0107180983001c701v3.0

# ISE indirect Na-K-Cl for Gen.2

cobas®

ISE indirect Na, K, Cl for Gen.2

#### Ordreinformasjon

REF	CONTENT	Analyseinstrument(er) hvor cobas c kassetten kan brukes
10820652 216	ISE Reference Electrolyte (1 x 500 mL)	Roche/Hitachi cobas 8000 ISE
04880455 190	ISE Internal Standard Gen.2 (2 x 2000 mL)	
04880480 190	ISE Diluent Gen.2 (2 x 2000 mL)	
11298500 316	ISE Cleaning Solution (5 x 100 mL)	
10825468 001	Sodium electrode (1 natriumelektrode)	
10825441 001	Potassium electrode (1 kaliumelektrode)	
03246353 001	Chloride electrode (1 klorelektrode)	
03149501 001	Reference electrode (1 referenseelektrode)	
04663632 190	Activator (9 x 12 mL)	
11183974 216	ISE Standard Low (10 x 3 mL)	Kode 502
11183982 216	ISE Standard High (10 x 3 mL)	Kode 503, 763
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	Kode 300
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	Kode 300
12149435 122	Precinorm U Plus (10 x 3 mL)	Kode 300
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	Kode 301
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	Kode 301
12149443 122	Precipath U Plus (10 x 3 mL)	Kode 301

#### Norsk

##### Tilsiktet bruk

ISE-modulen på Roche/Hitachi cobas c systemene er beregnet til kvantitativ bestemmelse av natrium, kalium og klorid i serum, plasma eller urin ved hjelp av ioneselektive elektroder.

##### Sammendrag

Fysiologisk signifikans:<sup>1</sup>

Elektrolytter er involvert i de fleste større metabolske funksjonene i kroppen. Natrium, kalium og klorid er blant de viktigste fysiologiske ionene og er de hyppigst analyserte elektrolytter. De tilføres primært gjennom maten, absorberes i magetarmkanalen og utskilles via nyrene.

Natrium er det største ekstracellulære kation og opprettholder væskefordelingen og det osmotiske trykk. Reduserte natriumkonsentrasjoner kan være forårsaket av langvarig oppkast eller diaré, nedsatt reabsorpsjon i nyrene og omfattende væskeretensjon. Forhøyede natriumkonsentrasjoner kan være forårsaket av omfattende væsketap, høyt salinntak og øket reabsorpsjon i nyrene.

Kalium er det største intracellulære kation og er av avgjørende betydning for nerve- og muskelcelleaktivitet. Reduserte kaliumkonsentrasjoner kan være forårsaket av redusert kaliumholdig diett eller omfattende kaliumtap ved langvarig oppkast, diaré eller øket utskillelse gjennom nyrene. Forhøyede kaliumkonsentrasjoner kan være forårsaket av dehydrering eller sjokk, alvorlige forbrenninger, diabetes ketoacidose og kaliumretensjon i nyrene.

Klorid er det største ekstracellulære anion og regulerer den ekstracellulære væskefordelingsbalanse. Som ved de andre ionene kan redusert klorid være forårsaket av redusert diett, langvarig oppkast, redusert reabsorpsjon i nyrene samt visse former for acidose og alkalose. Forhøyede kloridverdier sees ved dehydrering, nyresvikt, visse former for acidose, høy kloridholdig diett eller parenteral og salisylatforgiftning.

##### Analyseprinsipp

En ioneselektiv elektrode (ISE) utnytter de unike egenskapene ved visse membranmaterialer til å utvikle et elektrisk potensiale (electromotive force, EMF (elektromotorisk kraft)) til måling av ioner i løsning. Elektroden har en selektiv membran som er i kontakt med både analyseløsningen og en indre elektrodevæske. Den indre elektrodevæsken inneholder analyttioner i en fastsatt konsentrasjon. På grunn av den spesielle egenskapen til membranen vil analyttioner bindes til membranen på hver side. Membranens EMF bestemmes ved forskjellen i konsentrasjon av analyttioner i analyseløsningen og den indre elektrodevæsken. EMF'en utvikles i henhold til Nernst ligning for et spesifikt ion i løsning:

$$(1) \quad E = E_0 + RT/nF \cdot \ln(f \cdot C_i) / (f \cdot C_j)$$

Hvor:

- E = elektrodens EMF
- $E_0$  = standardens EMF
- R = konstant
- T = temperatur
- n = ionladning
- F = Faradays konstant
- ln = naturlig logaritme (base e)
- f = aktivitetskoeffisient
- $C_i$  = ionkonsentrasjon i analyseløsningen
- $C_j$  = ionkonsentrasjon i indre elektrodevæske

For natrium, kalium og klorid som alle har en enkel ladning, er R, T, n og F kombinert i en enkelt verdi som representerer slope (S). Ved bestemmelse på en cobas 8000 ISE-modul hvor prøven er fortynnet 1:31 for serum/plasma og 1:46 for urin, er ionstyrken og dermed aktivitetskoeffisientene stort sett konstante.

Konsentrasjonen av analyttionene i den indre elektrodevæsken er også konstant. Disse konstantene kan kombineres i termen  $E_0$ . Verdien av  $E_0$  er også spesifikk for den brukte referanseelektrode typen. Ligningen (1) kan derfor omskrives slik at den gjenspeiler disse forhold:

$$(2) \quad E = E_0 + S \cdot \ln(C_i)$$

Det totale målesystem for et bestemt ion omfatter ISE, en referanseelektrode og elektroniske kretsløp til måling og bearbeidning av EMF for å få konsentrasjonen av analyttionen.

Natrium<sup>2,3</sup> og kalium<sup>4</sup> elektrodene er basert på nøytrale bærere og klorid<sup>5</sup>-elektroden er basert på en ionbytter.

##### Forholdsregler og advarsler

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Ta de vanlige forholdsregler som er nødvendig ved håndtering av alle laboratoriereagenser.

Fjerning av alle avfallsmaterialer skal følge lokale retningslinjer.

HMS-Datablad er tilgjengelig på forespørsel.

Pasientprøver og kontroller basert på materialer av human opprinnelse skal behandles som potensielle infeksiose prøver.

Som ved alle diagnostiske analyser skal resultatene sammenlignes med alle andre analyseresultater og pasientens kliniske status.

0107180693001c701v9.0

# ISE indirect Na-K-Cl for Gen.2



ISE indirect Na, K, Cl for Gen.2

Man skal dessuten være oppmerksom på alle forholdsregler og advarsler oppført i brukermanualen til analyseinstrumentet.

## ISE kalibratorer, øvrige reagenser og elektroder

### Kalibratorer S1, S2 og S3

#### S1: ISE Standard Low

120 mmol/L Na<sup>+</sup>, 3 mmol/L K<sup>+</sup>, 80 mmol/L Cl<sup>-</sup>

#### S2: ISE Standard High

160 mmol/L Na<sup>+</sup>, 7 mmol/L K<sup>+</sup>, 120 mmol/L Cl<sup>-</sup>

#### S3: ISE Standard High

160 mmol/L Na<sup>+</sup>, 7 mmol/L K<sup>+</sup>, 120 mmol/L Cl<sup>-</sup>

### Oppbevaring og holdbarhet

Oppbevar S1, S2 og S3 ved 15-25 °C.

Se utløpsdatoen på etiketten.

### Holdbarhet på instrumentet

Kalibratorer S1, S2 og S3: **Kan kun brukes en gang.**

### Øvrige reagenser

#### ISE Reference Electrolyte

1 mol/L; kaliumklorid

#### ISE Diluent (klar til bruk)

HEPES buffer: 10 mmol/L

Trietanolamin: 7 mmol/L

Konserveringsmiddel

#### ISE Internal Standard (klar til bruk)

HEPES buffer: 10 mmol/L

Trietanolamin: 7 mmol/L

Natriumklorid: 3.06 mmol/L

Natriumacetat: 1.45 mmol/L

Kaliumklorid: 0.16 mmol/L

Konserveringsmiddel

#### ISE Cleaning Solution

Natriumhydroksidoppløsning:

12 % med natriumhypokloridoppløsning &lt; 2 % aktiv Cl

### Oppbevaring og holdbarhet

Oppbevar Reference Electrolyte, Internal Standard og Diluent ved 15-25 °C.

Oppbevar ISE Cleaning Solution ved 2-8 °C.

Se utløpsdatoen på etiketten.

### Holdbarhet på instrumentet

ISE Reference Electrolyte	inntil utløpsdatoen
ISE Diluent	6 uker
ISE Internal Standard	6 uker

Hvis ISE Cleaning Solution alltid lukkes umiddelbart etter bruk og oppbevares ved 2-8 °C, kan den brukes inntil utløpsdato.

Til det daglige vedlikehold må det kun brukes fersk Cleaning Solution.

**VIKTIG:** Hvis en av reagensflaskene er nesten tom skal flasken ikke fylles opp med nytt reagens. Kast den gamle reagensflasken inkludert evt. resterende reagens.

**VIKTIG:** Løste gasser kan medføre problemer hvis de finnes i store mengder i Diluent, Internal Standard eller Reference Electrolyte. Hvis dette er tilfellet skal innholdet i flasken blandes forsiktig før bruk.

### Elektroder

Natrium, kalium, klorid, referanse

### Oppbevaring og holdbarhet

Oppbevar elektrodene ved 7-40 °C.

Se utløpsdatoen på etiketten.

### Holdbarhet på instrumentet

Natrium 2 måneder eller 9000 analyser

Kalium 2 måneder eller 9000 analyser

Klorid 2 måneder eller 9000 analyser

Referanse inntil 6 måneder

Elektrodene skal skiftes etter denne perioden.

Ved utskiftning henvises til veiledningen i brukermanualen.

### Slope-områder

Natrium	50 til 68	mV/dec
Kalium	50 til 68	mV/dec
Klorid	-40 til -68	mV/dec

Slope for nyinstallerte elektroder bør ligge i den øvre halvdel av det anbefalte slope-området (unntatt klorid).

### ISE-løsning sammendrag

Løsning	Bruk
S1	2-punktskalibrering
S2	2-punktskalibrering
S3	Kompensasjon
Reference Electrolyte	Flasken er forbundet direkte til ISE Reference elektroden med slanger. Denne løsningen gir et meget stabilt ionreferansepotensiale i referanseelektroden som er nødvendig ved hver ISE-måling.
Diluent	Til prøvetfortynning
Internal Standard	Startkalibrering som utføres en gang i hver ISE-syklus.
Cleaning Solution	Beregnet til rengjøring av ione-selektive elektroder, rør og slanger.

**FORSIKTIG:** De ovenfor nevnte ISE-kalibratorer, øvrige reagenser og elektroder er nødvendige til kalibrering og beregning av resultater for ISE-modulen. Bruk av andre produkter kan gi usøyaktige målinger og/eller skader på elektrodene.

### Prøvetaking og -forberedelse<sup>6</sup>

#### Prøvetaking

Kun de nedenfor oppførte prøvematerialer er analysert og funnet akseptable.

**Serum:** Bruk serum uten hemolyse og kraftig lipemi som er tatt med standard venepunksjonsteknikk.

**Plasma:** Bruk kun litiumheparin.

**Urin:** Døgnurin oppsamles uten tilsetningsstoffer. Oppbevares kjølig under oppsamling.

**Holdbarhet** i serum-, plasma- og urinprøver oppbevart i godt lukkede rør er oppført i tabellen under.<sup>8</sup>

	15-25 °C	2-8 °C	-20 °C
Natrium	14 dager	14 dager	holdbar
Kalium	14 dager	14 dager	holdbar
Klorid	7 dager	7 dager	holdbar

### Forberedelse

Serum må skilles fra cellene etter sentrifugering. Ifølge litteraturen er kaliumverdier i serum høyere enn i plasma. Kalium frigis til serum fra trombocytene under koagulasjonsprosessen. Jo større antall trombocytter, jo større feil.<sup>9</sup> Interne målinger har vist avvik opp til 25 %. Plasma foretrekkes som prøvemateriale til bestemmelse av kalium, da serum er følsomt for preanalytisk behandling (hemolyse) og lekkasje fra erytrocyttene.

Innholdet av klorid i serum eller plasma er stabil i flere dager hvis prøven separeres fra erytrocyttene og oppbevares i godt lukket rør.<sup>7</sup>

Kraftig lipemi forårsaker falsk hyponatremi.<sup>10</sup> Meget lipemiske prøver skal "klæres" ved ultrasentrifugering. Uklare urinprøver skal "klæres" ved sentrifugering.

### FORSIKTIG:

0107190680011:701V9.0

# ISE indirect Na-K-Cl for Gen.2

**cobas**<sup>®</sup>

ISE indirect Na, K, Cl for Gen.2

Serumseparasjonsrør inneholdende akryl-, ester-, styren-, uretan- eller olefinbaserte geler kan brukes til prøvetaking, så lenge de brukes i henhold til produsentens anvisninger. Det er spesielt viktig å følge produsentens anvisninger med hensyn til blanding av prøven, koagulasjonstid, sentrifugering og oppbevaringstemperatur. Sørg dessuten for at prøvetakingsrøret er fylt korrekt, dvs minst 1 cm prøvemateriale over gellaget. Hvis disse forholdsregler ikke følges, kan det ved et uhell komme gelbelegg i prøvepipetten (dette interferer korrekt overflatedeteksjon av prøven) eller gel trekkes inn i ISE-systemet (resulterende i et blokkert system). Utilstrekkelig blanding av plasmarør kan forårsake interferens med mikrofibrinkoagler. Det anbefales å unngå geler med silikon på grunn av risikoen for kontaminering med silikoneolie. Globale leverandører av rør bruker ikke lengre silikonbaserte geler, men silikongeler brukes kanskje av mindre lokale leverandører. Rør som inneholder et lag av klar væske som etter sentrifugering stiger opp til serumoverflaten skal ikke brukes til direkte prøveavpipettering på instrumentet. Dette for å unngå forurensning av prøvepipetten og ISE-systemet.

## Pipetteringsparametere:

**cobas 8000** ISE-modulene avpipetterer en prøvemengde på 15.0 µL for serum og plasma (også til automatisk reanalysering) og 10.0 µL for urinprøver.

**VIKTIG:** Hvert laboratorium bør innføre egne retningslinjer for fastleggelse av aksept av prøver og de korrigerende tiltak som skal iverksettes hvis en prøve betraktes som uakseptabel. Utarbeid laboratorierespesifikke retningslinjer.

## Prosedyre ved ISE-målinger

### Analyse

Se brukermanualen til analyseinstrumentet.

### Kalibrering

Full kalibrering for Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> og Cl<sup>-</sup> krever følgende 3 kalibratoroppløsninger: ISE Standard Low, ISE Standard High og ISE Standard High (kompensert). Slopen på kalibreringskurven beregnes ut fra Standard 1 og 2. ISE-kompensasjon påvirker intercept, ikke slope. Det måles dessuten en intern standard under kalibrering og mellom prøver for å kompensere for eventuelle systemavvik. Se brukermanualen til analyseinstrumentet for detaljerte opplysninger om kalibrering. Sporbarhet: Denne metoden er standardisert opp mot primære kalibratører som er produsert gravimetrisk av rensede salter.

### Kalibreringsintervall

Utfør en full kalibrering

- en gang i døgnet
- etter ISE-rengjøring og vedlikehold
- etter skift av reagensflasker
- etter utskiftning av en elektrode

### Kvalitetskontroll

For serum/plasma kvalitetskontroll, bruk det kontrollmaterialet som er oppført i avsnittet "Ordreinformasjon".

I tillegg kan andre egnede kontrollmaterialer brukes.

For urin kvalitetskontroll, bruk kommersielt tilgjengelige urinkontroller.

Kvalitetskontroll skal utføres daglig og etter hver ekstra kalibrering.

Kontrollintervallene og -grensene bør tilpasses hvert enkelt laboratoriums individuelle krav. Oppnådde kontrollverdier skal ligge innenfor definerte grenser. Hvert laboratorium bør innføre korrigerende tiltak dersom verdier faller utenfor de definerte grensene.

Følg gjeldende offentlige forskrifter og lokale retningslinjer for kvalitetskontroll.

Se de aktuelle verdiskjemaene/pakningsvedlegg for ytterligere informasjon.

### Referanseintervaller<sup>1</sup>

Serum (Voksne)	Natrium	136-145 mmol/L
	Kalium	3.5-5.1 mmol/L
	Klorid	98-107 mmol/L
Plasma (Voksne)	Natrium	136-145 mmol/L
	Kalium	3.4-4.5 mmol/L
	Klorid	98-107 mmol/L

Konsentrasjonen av kalium i plasma er lavere enn konsentrasjonen i serum.

Urin (døgn) (Voksne)	Natrium	40-220 mmol/døgn
	Kalium	25-125 mmol/døgn
	Klorid	110-250 mmol/døgn

Utskillelsen av natrium, kalium og klorid i urin varierer signifikant avhengig av diett. De oppførte verdiene er typiske for personer med en gjennomsnittlig diett.

**VIKTIG:** Det anbefales at hvert laboratorium innfører og vedlikeholder sine egne referanseområder. Verdiene nevnt her skal kun betraktes som veiledende.

### Vedlikehold

Vedlikeholdsprosedyrer og -intervaller for systemet som er oppført i brukermanualen skal utføres hver dag som avslutning på den daglige prøvekjøring eller etter en øket prøvemengde.

Vedlikehold for **cobas 8000** ISE-modul:

Bruk det spesielt merkede vaske-rack (grønt).

Posisjon 1: Cell Cleaning Solution (ikke nødvendig hvis ISE kun rengjøres)

Posisjon 2: ISE Cleaning Solution

Posisjon 3: Activator.

ISE-systemet krever kondisjonering etter rensing og før kalibrering.

Systemet gjenkjenner vaske-racket og skifter automatisk til rengjøringsmetode.

**VIKTIG:** Det skal alltid brukes ferske løsninger til rengjøring.

### Begrensninger - interferens

Kriterium: Ingen signifikant interferens hvis gjenfinningen ligger innen ± 10 % av opprinnelig verdi.

### Hemolyse - serum og urin

#### Natrium og klorid

Hemoglobin interfererer ikke i det analyserte konsentrasjonsområdet opp til 1000 mg/dL (621 µmol/L) hemoglobin (H-indeks på ca. 1000).

#### Kalium

Hemoglobinkonsentrasjoner større enn 90 mg/dL (54 µmol/L) øker de tilsvarende kaliumkonsentrasjonene signifikant (H-indeks på ca. 90). Konsentrasjonen av kalium i erythrocytter er 25 ganger høyere enn i normal plasma. Interferensnivået kan variere avhengig av det nøyaktige innhold av erythrocytter.

Unngå hemolyserte prøver.

### Ikterus - serum

Bilirubin (konjugert/ukonjugert) interfererer ikke i det analyserte konsentrasjonsområdet opp til 60 mg/dL (1026 µmol/L) bilirubin (I-indeks på ca. 60).

### Ikterus - urin

Bilirubin (konjugert) interfererer ikke i det analyserte konsentrasjonsområdet opp til 60 mg/dL (1026 µmol/L) bilirubin (I-indeks på ca. 60).

### Lipemi - serum

Intralipid interfererer ikke i det analyserte konsentrasjonsområdet opp til 2000 mg/dL Intralipid (svarende til en L-indeks på ca. 2000). Det er dårlig korrelasjon mellom L-indeksen (svarende til turbiditet) og triglyseridkonsentrasjonen. Pseudohyponatremi kan forekomme ved lipemiske prøver som et resultat av væskeforykning.<sup>10</sup>

### Medikamenter

Følgende stoffer ble analysert og ga ingen signifikant interferens ved tilsetning til mindre porsjoner av en normal human serumpool opp til den oppførte konsentrasjon. Det er rapportert om falske høye kloridverdier hos pasienter i behandling med perklorat. Dette på grunn av at perklorat-ioner interfererer med klorid-ISE-bestemmelsene.

### Serumpanel:

Acetaminofen (paracetamol)	200 mg/L
Acetylcystein	150 mg/L
Acetylsalisylsyre	1000 mg/L



**ISE indirect Na-K-Cl for Gen.2****cobas®**

ISE indirect Na, K, Cl for Gen.2

Ampicillin-Na	1000 mg/L
Askorbinsyre	300 mg/L
Cefoksitin	2500 mg/L
Cyklosporin	5 mg/L
Doksosyklin	50 mg/L
Heparin	5000 U
Ibuprofen	500 mg/L
Intralipid	10000 mg/L
L-dopa	20 mg/L
Metyldopa	20 mg/L
Metronidazol	200 mg/L
Fenylbutazon	400 mg/L
Rifampicin	60 mg/L
Teofyllin	100 mg/L

**Urinpanel:**

Acetaminofen (paracetamol)	3000 mg/L
Acetylcystein	10 mg/L
Askorbinsyre	4000 mg/L
Doksosyklin	300 mg/L
Gentamycinsulfat	400 mg/L
Ibuprofen	4000 mg/L
L-dopa	1000 mg/L
Metyldopa	2000 mg/L
Na-cefoksitin	12000 mg/L
Ofloksacin	900 mg/L
Fenazopyridin	300 mg/L
Salisylsyre	6000 mg/L

**NØDVENDIG HANDLING**

**Spesiell vaskeprogrammering:** Bruk av spesielle vaskesyklus anbefales når visse analysekombinasjoner utføres på Roche/Hitachi **cobas c** systemene. Alle spesielle vaskeprogrammeringer som er nødvendig for å unngå carry-over, er tilgjengelig via **cobas link**. De er det ikke nødvendig å taste inn manuelt. Den seneste versjonen med oversikt over analyser med risiko for carry-over ligger også i pakningsvedlegget til NaOH/SMS/SmpCln1+2/SCCS. For ytterligere veiledning vises til brukermanualen.

**Ved behov skal spesielle vaske/carry-over program implementeres før det rapporteres resultater på denne analysen.**

**Grenser og akseptert grense for avvik****Måleområde**

Målemetode ISE indirekte:

Applikasjon til serum og plasma:

Na <sup>+</sup>	80-180 mmol/L
K <sup>+</sup>	1.5-10.0 mmol/L
Cl <sup>-</sup>	60-140 mmol/L

Analyse av natrium på et Roche/Hitachi **cobas c** system med serum- og plasmaprøver bør gi et lineært forhold fra 80-180 mmol/L med et avvik fra den lineære linje på mindre enn 5 %.

Analyse av kalium på et Roche/Hitachi **cobas c** system med serum- og plasmaprøver bør gi et lineært forhold fra 1.5-10.0 mmol/L med et avvik fra den lineære linje på mindre enn 5 %.

Analyse av klorid på et Roche/Hitachi **cobas c** system med serum- og plasmaprøver bør gi et lineært forhold fra 60-140 mmol/L med et avvik fra den lineære linje på mindre enn 5 %.

Applikasjon til urin:

Na <sup>+</sup>	60-350 mmol/L
K <sup>+</sup>	3-100 mmol/L
Cl <sup>-</sup>	60-350 mmol/L

Reanalyser prøver med lave konsentrasjoner (gjelder kun for natrium og klorid) ved hjelp av reanalyseringsfunksjonen. Fortynning av prøver via reanalyseringsfunksjonen er en 1:31 fortynning. Resultater fra prøver som er fortynnet ved å bruke reanalyseringsfunksjonen multipliseres automatisk med fortynningsfaktoren.

Reanalyser urinprøver med øket prøvemengde:

Na <sup>+</sup>	20-59.9 mmol/L
Cl <sup>-</sup>	20-59.9 mmol/L

**Til urinapplikasjon:**

Analyse av natrium på et Roche/Hitachi **cobas c** system med urinprøver bør gi et lineært forhold fra 60-350 mmol/L med et avvik fra den lineære linje på mindre enn 10 %.

Analyse av kalium på et Roche/Hitachi **cobas c** system med urinprøver bør gi et lineært forhold fra 3-100 mmol/L med et avvik fra den lineære linje på mindre enn 10 %.

Analyse av klorid på et Roche/Hitachi **cobas c** system med urinprøver bør gi et lineært forhold fra 60-350 mmol/L med et avvik fra den lineære linje på mindre enn 10 %.

**Til urinreanalyseringsapplikasjon:**

Analyse av natrium på et Roche/Hitachi **cobas c** system med urinprøver bør gi et lineært forhold fra 20-59.9 mmol/L med et avvik fra den lineære linje på mindre enn 10 %.

Analyse av klorid på et Roche/Hitachi **cobas c** system med urinprøver bør gi et lineært forhold fra 20-59.9 mmol/L med et avvik fra den lineære linje på mindre enn 10 %.

**Spesifikk ytelsesevne**

Representativ ytelsesevne på instrumentene er oppført under. Resultatene kan variere fra laboratorium til laboratorium.

**Presisjon**

Repetisjons- og intermedial presisjon ble fastsatt ved hjelp av humane prøver og kontroller i overensstemmelse med EP5-kravene fra CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2 pipetteringer pr. kjøring, 2 kjøring pr. dag, 21 dager). Følgende resultater ble oppnådd:

**Natrium**

Prøve (på en Roche/Hitachi cobas 8000)	Repetisjonspresisjon			Intermedial presisjon		
	Middel mmol/L	SD mmol/L	CV %	Middel mmol/L	SD mmol/L	CV %
Plasma lav	88.7	0.3	0.4	88.7	0.9	1.1
Plasma medium	120.6	0.4	0.3	120.6	0.9	0.7
Plasma høy	175.8	0.6	0.3	175.8	1.0	0.6
Precinorm U	112.0	0.4	0.4	112.0	0.9	0.8
Precipath U	144.0	0.4	0.3	144.0	0.8	0.5
Urin lav <sup>1</sup>	24.7	0.2	0.9	24.7	0.9	3.7
Urin medium <sup>2</sup>	174.5	0.5	0.3	174.5	1.1	0.7
Urin høy <sup>2</sup>	347.2	0.9	0.3	347.2	2.8	0.8
Liquichek 1 <sup>2</sup>	83.4	0.3	0.3	83.4	1.3	1.6
Liquichek 2 <sup>2</sup>	175.6	1.3	0.8	175.6	1.7	1.0

1) Data funnet med urinreanalyseringsfunksjonen.

2) Data funnet med standard urin-mode.

**Kalium**

Prøve (på en Roche/Hitachi cobas 8000)	Repetisjonspresisjon			Intermedial presisjon		
	Middel mmol/L	SD mmol/L	CV %	Middel mmol/L	SD mmol/L	CV %

0107180983001c701V9.0

# ISE indirect Na-K-Cl for Gen.2

ISE indirect Na, K, Cl for Gen.2

Plasma lav	2.03	0.01	0.5	2.03	0.03	1.6
Plasma medium	5.01	0.02	0.3	5.01	0.03	0.7
Plasma høy	9.56	0.03	0.3	9.56	0.06	0.6
Precinorm U	3.60	0.02	0.4	3.60	0.03	0.9
Precipath U	6.61	0.02	0.3	6.61	0.04	0.5
Urin lav	3.47	0.01	0.3	3.47	0.04	1.1
Urin medium	50.70	0.26	0.5	50.70	0.63	1.2
Urin høy	93.48	0.58	0.6	93.48	1.82	1.9
Liquichek 1	30.64	0.20	0.6	30.64	0.32	1.0
Liquichek 2	66.22	0.61	0.9	66.22	1.14	1.7

## Klorid

Prøve (på en Roche/Hitachi cobas 8000)	Repeterbarhet			Intermediær presisjon		
	Middel mmol/L	SD mmol/L	CV %	Middel mmol/L	SD mmol/L	CV %
Plasma lav	67.1	0.3	0.4	67.1	0.6	1.0
Plasma medium	128.4	0.4	0.3	128.4	0.7	0.6
Plasma høy	138.0	0.6	0.4	138.0	0.9	0.7
Precinorm U	77.1	0.3	0.4	77.1	0.6	0.8
Precipath U	111.8	0.3	0.3	111.8	0.6	0.6
Urin lav <sup>1</sup>	21.6	0.2	1.0	21.6	0.8	3.7
Urin medium <sup>2</sup>	167.6	0.5	0.3	167.6	1.1	0.7
Urin høy <sup>2</sup>	333.5	1.6	0.5	333.5	3.5	1.0
Liquichek 1 <sup>2</sup>	97.5	0.5	0.5	97.5	0.9	0.9
Liquichek 2 <sup>2</sup>	193.2	1.5	0.8	193.2	2.0	1.0

1) Data funnet med urinreanalyzeringsfunksjonen.

2) Data funnet med standard urin-mode.

## Metodesammenligning

ISE-verdier i humane plasma- og urinprøver analysert på Roche/Hitachi cobas 8000 analyseinstrument (y) ved bruk av ISE Standard High som S3 kalibrator ble sammenlignet med verdier analysert med den tilsvarende referansemetoden (x) og på et Roche/Hitachi cobas c 501 (x) ved bruk av ISE Standard High som S3 kalibrator.

## Natrium

Instrumenter	Prøve type/ N	Min x	Maks x	P/B regresjon <sup>1)</sup>	Koeff. (r)
x: flammefotometri y: cobas 8000 (S3 = ISE Standard High)	Plasma/100	85.6	180.6	$y = 1.015x - 3.553$	0.9943
Bias ved 135 mmol/L = -1.528 (-1.1 %) Bias ved 150 mmol/L = -1.303 (-0.9 %)					
x: cobas c 501 (S3 = ISE Standard High) y: cobas 8000 (S3 = ISE Standard High)	Plasma/100	81.5	181.9	$y = 0.969x + 3.381$	0.9984
Bias ved 135 mmol/L = -0.804 (-0.6 %) Bias ved 150 mmol/L = -1.269 (-0.8 %)					

x: flammefotometri y: cobas 8000 (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>2</sup> /105	69.2	337.4	$y = 0.996x + 1.248$	0.9995
Bias ved 60 mmol/L = 1.008 (1.7 %) Bias ved 220 mmol/L = 0.368 (0.2 %)					
x: cobas c 501 (S3 = ISE Standard High) y: cobas 8000 (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>2</sup> /105	68.3	349.5	$y = 0.969x + 8.259$	0.9998
Bias ved 60 mmol/L = 6.339 (10.7 %) Bias ved 220 mmol/L = 1.439 (0.7 %)					
x: flammefotometri y: cobas 8000 (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>1</sup> /92	22.2	58.7	$y = 0.943x + 3.149$	0.9991
Bias ved 30 mmol/L = 1.439 (4.8 %)					
x: cobas c 501 (S3 = ISE Standard High) y: cobas 8000 (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>1</sup> /92	24.2	59.8	$y = 0.962x + 1.110$	0.9995
Bias ved 30 mmol/L = -0.03 (-0.1 %)					

1) Data funnet med urinreanalyzeringsfunksjonen.

2) Data funnet med standard urin-mode.

## Kalium

Instrumenter	Prøve type/ N	Min x	Maks x	P/B regresjon <sup>1)</sup>	Koeff. (r)
x: flammefotometri y: cobas 8000 (S3 = ISE Standard High)	Plasma/100	1.54	10.57	$y = 1x + 0.05$	0.9994
Bias ved 3.0 mmol/L = 0.050 (1.7 %) Bias ved 5.8 mmol/L = 0.050 (0.9 %)					
x: cobas c 501 (S3 = ISE Standard High) y: cobas 8000 (S3 = ISE Standard High)	Plasma/100	1.59	10.59	$y = 0.99x + 0.032$	0.9999
Bias ved 3.0 mmol/L = 0.002 (0.1 %) Bias ved 5.8 mmol/L = -0.026 (-0.4 %)					

0107180983001c701V9.0

# ISE indirect Na-K-Cl for Gen.2

ISE indirect Na, K, Cl for Gen.2

x: flammefotometri y: <b>cobas 8000</b> (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>1</sup> /101	3.1	99.5	$y = 1.014x + 0.506$	0.9997
Bias ved 20 mmol/L = 0.786 (3.9 %) Bias ved 80 mmol/L = 1.626 (2.0 %)					
x: <b>cobas c 501</b> (S3 = ISE Standard High) y: <b>cobas 8000</b> (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>1</sup> /101	2.97	102.04	$y = 1.001x + 0.266$	0.9998
Bias ved 20 mmol/L = 0.286 (1.4 %) Bias ved 80 mmol/L = 0.346 (0.4 %)					

## Klorid

Instrumenter	Prøve type/ N	Min x	Maks x	P/B regresjon <sup>1)</sup>	Koeff. (r)
x: kolorimetri y: <b>cobas 8000</b> (S3 = ISE Standard High)	Plasma/100	65.0	123.0	$y = 1.075x - 6.025$	0.9902
Bias ved 90 mmol/L = 0.725 (0.8 %) Bias ved 112 mmol/L = 2.375 (2.1 %)					
x: <b>cobas c 501</b> (S3 = ISE Standard High) y: <b>cobas 8000</b> (S3 = ISE Standard High)	Plasma/100	61.9	127.9	$y = 0.987x + 1.858$	0.9984
Bias ved 90 mmol/L = 0.688 (0.8 %) Bias ved 112 mmol/L = 0.402 (0.4 %)					
x: kolorimetri y: <b>cobas 8000</b> (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>2</sup> /108	66.0	313.0	$y = 1.036x - 4.891$	0.9995
Bias ved 60 mmol/L = -2.731 (-4.6 %) Bias ved 170 mmol/L = 1.229 (0.7 %)					
x: <b>cobas c 501</b> (S3 = ISE Standard High) y: <b>cobas 8000</b> (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>2</sup> /108	62.0	349.8	$y = 0.908x + 9.018$	0.9999
Bias ved 60 mmol/L = 3.497 (5.8 %) Bias ved 170 mmol/L = -6.623 (-3.9 %)					

x: kolorimetri y: <b>cobas 8000</b> (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>1</sup> /92	22.0	59.0	$y = 0.973x - 0.927$	0.9987
Bias ved 30 mmol/L = -1.737 (-5.8 %)					
x: <b>cobas c 501</b> (S3 = ISE Standard High) y: <b>cobas 8000</b> (S3 = ISE Standard High)	Urin <sup>1</sup> /92	20.2	57.3	$y = 0.981x + 0.728$	0.9992
Bias ved 30 mmol/L = 0.158 (0.5 %)					

1) Data funnet med uttrekfunksjonen.

2) Data funnet med standard urin-mode.

Bias ved den konsentrasjon hvor en medisinsk avgjørelse skal tas (MDL), ble beregnet som beskrevet:

Bias [mmol/L] = intercept + (slope x MDL) - MDL

Bias [%] = (Bias [mmol/L] x 100) / MDL

## Referanser

- Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. WB Saunders Co 2001:970,1004,1009.
- Shono T, Okahara M, Ikeda I, et al. Sodium-selective PVC Membrane Electrodes Based on Bis(12-crown-4)s. J Electroanal Chem 1982;132:99-105.
- Shibata Y, Maruzume T, Miyage H. Journal of the Chemical Society of Japan. Chemistry and Industrial Chemistry 1992;9:961-967.
- Pioda LAR, Stankova V, Simon W. Highly selective potassium ion responsive liquid-membrane electrode. Analytical Letters 1969;2(12):665-674.
- Hartman K, Luterotti S, Osswald HF, et al. Chloride-selective liquid-membrane electrodes based on lipophilic methyl-tri-N-alkyl-ammonium compounds and their applicability to blood serum measurements. Microchimica Acta 1978;70(3-4):235-246.
- Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. Philadelphia: WB Saunders Co 1983;110:398, 446.
- Kaplan LA, Pesce AJ. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation. Ladig D, Kasper R (ed), St Louis, CV Mosby Co 1984;1061-1077.
- Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, AACC Press 1997;2(4):493-503.
- Lum G, Gambino SR. A Comparison of serum versus heparinized plasma for routine chemistry tests. Am J Clin Pathol 1974 Jan;61(1):108-113.
- Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. WB Saunders Co 2001:726-728.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Et punktum (punktum/stopp) brukes alltid i dette metodearket som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Skilletegn for tusengrupper brukes ikke.

## Symboler

Roche Diagnostics bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er listet opp i ISO standarden 15223-1.

Pakningsinnhold



Volum etter rekonstitusjon eller blanding

Vesentlige tilføyelser eller endringer er merket med en strek i margin.

© 2014, Roche Diagnostics

## Vedleggene 12-14: Cobas 8000 pakningsvedlegg for folat.

### Vedlegg 12

07027290500V5.0

# Elecsys Folate III

Folat serum/plasma-applikasjon

cobas®

REF

REF

Σ

SYSTEM

07027290190

07027290500

300

cobas e 801

#### Norsk

#### Systeminformasjon

Kort navn	ACN (applikasjonskodennummer)	Applikasjon
FOL	10009	Folat serum/plasma

#### Tilsiktet bruk

Bindings-analyse til in vitro kvantitativ bestemmelse av folat i humant serum og plasma.

Elektrokjemiluminenscens bindings-analysen er beregnet til bruk på det immunologiske analyseinstrumentet **cobas e 801**.

#### Sammendrag

Folat tilhører familien av B-gruppe vitaminer dannet av en aromatisk pteridinring sammenkoblet via en metylengruppe til p-aminobensosyre og en glutamatrest. Folat (folinsyre) er viktig for normale funksjoner i cellene og spiller en vesentlig rolle i syntesen av nukleinsyrer, regenerering av metionin, skyttel- og redoksreaksjoner av ett-karbonenheter som er nødvendig for normal metabolisme og regulering.<sup>1,2</sup>

Folat-metabolismen kan forklares som en syklus, hvor folat tilrettelegger overføringen av ett-karbonenheter fra et molekyl til et annet som er påkrevet i forskjellige biokjemiske reaksjoner: for eksempel, tetrahydrofolat (THF) tar i mot en enkel karbonenhet fra serin, som reduseres i flere trinn til 5-metyltetrahydrofolat (5-MTHF). 5-MTHF avgir sin metylgruppe til homocystein, som blir - med involvering av metioninsyntase og vitamin B12 - enzymatisk omdannet til metionin. THF som er resultatproduktet starter igjen syklusen av syntetisering av metylgrupper. Metylgruppene blir overført fra metionin til S-adenosylmetionin (SAM).<sup>3</sup> SAM fungerer som en metylgruppedonor i flere metyleringsreaksjoner, som DNA, RNA og proteinmetylering.<sup>1</sup>

Metioninsyklusen er meget sensitiv med hensyn til folatmangel: med en lav folatstatus blir cellenes evne til å re-metylere homocystein svekket og dette resulterer i økte homocystein-konsentrasjoner i plasma.<sup>2</sup>

Folat spiller også en vesentlig rolle i syntetisering av purin og pyrimidin som er forstadier til nukleinsyrer. Endret fordeling av metylgrupper og svekket DNA-syntese spiller en vesentlig rolle i utvikling av kreft. Unormal folatstatus har også blitt knyttet til utviklingen av sykdommer som kardiovaskulære sykdommer, nevraltørdefekt, hareskår og åpen gane, komplikasjoner sent i svangerskapet samt, nevrodegenerative og psykiatriske lidelser.<sup>1,2</sup>

Folat tilhører gruppen av essensielle vitaminer, det kan for eksempel ikke dannes av den humane organismen og må derfor opptas fra dietten. Primærkilder av folat er grønne og bladrike grønnsaker, spirer, frukt, ølgjær og lever.<sup>1,2</sup>

Folatmangel kan skyldes nedsatt næringsinntak, dårlig opptak av inntatt folat i tarmen eller øket behov for folat, for eksempel under fysisk aktivitet eller graviditet. Folatmangel kan også være et resultat av leversykdommer eller utilstrekkelig folatmetabolisme grunnet genetiske feil eller medikamentpåvirkninger.<sup>2</sup>

En klinisk manifestasjon av både folat- og vitamin B12-mangel er den såkalte megaloblastanemi (makrocytær): Det totale antall erytrocytter er signifikant redusert på grunn av den påvirkede DNA-syntesen og cellemodningen, som spesielt involverer cellene i erytropoesen. Kapasiteten til hemoglobinsyntesen er allikevel normal, noe som fører til unormalt store forløpere til erytrocytter ("makrocytter" eller "megaloblaste"), som har forøket hemoglobininnhold ("hyperkrom anemi").<sup>3,4</sup>

Fordt vitamin B12 og folat henger nøye sammen i den cellulære ett-karbonenhets-metabolismen, og også likheten i de hematologiske og kliniske konsekvenser av mangel på de to vitaminene er det tilrådelig å bestemme begge parametere samtidig hos pasienter med de relevante symptomer på vitaminmangel.<sup>3,4</sup>

#### Analyseprinsipp

Kompetitivt prinsipp. Analysens totale varighet: 27 minutter.

- 1. inkubasjon: Ved å inkubere 15 µL av prøven med folatforbehandlingsreagensene 1 og 2, blir bundet folat frigitt fra endogene folatbindende proteiner.

- 2. inkubasjon: Ved å inkubere den forbehandlede prøve med det ruteniummerkede folatbindende protein dannes det et folatkompleks, og mengden avhenger av analyttkonsentrasjonen i prøven.
- 3. inkubasjon: Etter tilsetning av streptavidin-coatede mikropartikler og folat merket med biotin blir de ubundne bindingsplassene på det ruteniummerkede folatbindende protein opptatt, dermed dannes et ruteniummerket folatbindende protein-folat-biotinkompleks. Hele komplekset bindes til fast fase via interaksjon mellom biotin og streptavidin.
- Reaksjonsblandingen suges opp i målecellen hvor mikropartiklene fanges magnetisk på elektrodens overflate. Ubundne stoffer fjernes deretter med ProCell II M. Ved å sette spenning til elektroden induseres deretter kjemiluminescensemisjon som måles med en fotomultiplikator.
- Resultatet bestemmes via en kalibreringskurve som lages instrumentspesifikt med 2-punkt-kalibrering og en masterkurve, som er lest inn via **cobas** link.

#### Reagenser - arbeidsløsninger

**cobas e** pack (M, R1, R2) og forbehandlingsreagensene (PT1, PT2) er merket som FOL.

PT1 Forbehandlingsreagens 1, 1 flaske, 7.3 mL:

Natrium 2-mercaptoetansulfonat (MESNA) 40 g/L, pH 5.5.

PT2 Forbehandlingsreagens 2, 1 flaske, 7.3 mL:

Natriumhydroksid 25 g/L.

M Streptavidin-coatede mikropartikler, 1 flaske, 12.4 mL:

Streptavidin-coatede mikropartikler 0.72 mg/mL; konserveringsmiddel.

R1 Folatebindende protein-Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>, 1 flaske, 16.7 mL:

Ruteniummerket folatbindende protein 75 µg/L; humant serumalbumin (stabilisator); borat/fosfat/citratbuffer 70 mmol/L, pH 5.5; konserveringsmiddel.

R2 Folat-biotin, 1 flaske, 13.9 mL:

Biotinylert folat 17 µg/L; biotin 120 µg/L; humant serumalbumin (stabilisator); boratbuffer 100 mmol/L, pH 9.0; konserveringsmiddel.

#### Forholdsregler og advarsler

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Ta de vanlige forholdsregler som er nødvendig ved håndtering av alle laboratoriereagenser.

Fjerning av alle avfallsmaterialer skal følge lokale retningslinjer.

HMS-Datablad er tilgjengelig på forespørsel.

Dette kittet inneholder komponenter, som i overensstemmelse med forordning (EF) nr. 1272/2008 EF, er klassifisert som beskrevet:



Fare

H290

Kan etse metaller.

H314

Sterkt etsende på hud og forårsaker øyeskade.

H360FD

Kan gi fertilitetsskade. Kan gi fosterskade.

#### Forebygging:

P201

Innhent spesielle opplysninger før bruk.

P280

Bruk vernehansker/ verneklær/ vernebriller/ ansiktsskjerm.

#### Respons:

P303 + P361

VED HUDKONTAKT (eller hår): Ta av alle kontaminerte

+ P353

klær med en gang. Skyll huden med vann.

07027290607V5.0

# Elecsys Folate III

Folat serum/plasma-applikasjon



P304 + P340 VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet.  
Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/ lege.

P305 + P351 VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, dersom dette er enkelt å gjøre. Fortsett å skylle. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/ lege.

P308 + P313 VED eksponering eller mistanke om eksponering: Kontakt lege.

Produktsikkerhetsmerkingen følger retningslinjene til EU GHS.

Kontakttelefon: Giftinformasjonen 22 59 13 00. Kontakttelefon alle land: +49-621-7590

Allt humant materiale skal betraktes som potensielt smittefarlig. Alle produkter fra humant blod er utelukkende fremstilt fra donorblod som er analysert individuelt og som er uten HBSAg og antistoffer mot HCV og HIV. De brukte analysemetodene er FDA-godkjent eller overholder Europaparlamentets Rådsdirektiv 98/79/EF, bilag II, liste A.

Da ingen analysemetode med absolutt sikkerhet kan utelukke en potensiell smitterisiko, skal materialet håndteres med samme forsiktighet som en pasientprøve. Dersom en person har vært utsatt for smitte, skal direktivene fra helsemyndighetene følges.<sup>5,6</sup>

Unngå skumdannelse i alle reagenser og prøvematerialer (prøver, kalibratorer og kontrollrør).

## Reagenshåndtering

Elecsys Folate III-analysen kan brukes for både folat serum/plasma-applikasjonen og folat RBC-applikasjonen.

Begge applikasjonene bruker de samme reagensene.

Reagensene i kittet er samlet i en klar til bruk enhet som ikke kan deles.

All påkrevet informasjon for korrekt bruk er tilgjengelig via **cobas** link.

## Oppbevaring og holdbarhet

Oppbevares ved 2-8 °C.

Må ikke fryses.

Oppbevar **cobas e** pack stående for å sikre fullstendig tilgjengelighet til mikropartiklene under den automatiske blandingen før bruk.

Holdbarhet:	
uåpnet ved 2-8 °C	inntil den oppførte utløpsdato
På <b>cobas e</b> 801 analyseinstrumentet	16 uker

## Prøvetaking og -forberedelse

Kun de nedenfor oppførte prøvematerialer er analysert og funnet akseptable.

Serum fra standard prøvetakingsrør eller rør som inneholder separasjonsgel.

Li-heparin plasma.

Li-heparinplasma som inneholder separasjonsgel kan brukes.

Kriterium: Slope 0.9-1.1 + intercept innen  $\pm 2x$  blankverdigrense + korrelasjonskoeffisient  $\geq 0.95$ .

Holdbar i 2 timer ved 20-25 °C, 48 timer ved 2-8 °C, 28 dager ved -20 °C ( $\pm 5$  °C). Kan kun fryses en gang. Beskyttes mot lys. Oppbevar prøvene ved 2-8 °C hvis de ikke kan måles umiddelbart.

De oppførte prøvetypene ble analysert med et utvalg prøvetakingsrør som var kommersielt tilgjengelige på analysetidspunktet, dvs. ikke alle tilgjengelige rør fra alle produsenter ble analysert. Prøvetakingssystemer fra forskjellige produsenter kan inneholde ulike materialer som i visse tilfeller kan påvirke analyseresultatene. Dersom prøver analyseres i primær- (prøvetakingssystemer), skal instruksjonene fra produsenten av disse rørene følges.

Prøvene må ikke i etterkant endres med tilsetningsstoffer (biocider, antioksidanter eller stoffer som kan endre pH i prøven), dette for å unngå feilaktige gjenfinning av folat.

Sentrifuger prøver som inneholder utfellinger før utførelse av analysen. Bruk ikke varme-inaktiverede prøver.

Prøvene og kalibratorene må ha en temperatur på, 20-25 °C før analysering.

På grunn av mulig fordampningseffekt bør prøver og kalibratorer på instrumentet analyseres/måles innen to timer.

Viktig: Hemolyse kan øke folatverdiene signifikant på grunn av de høye konsentrasjoner av folat i de røde blodlegemene. Hemolyserte prøver er derfor ikke egnet til bruk for denne analysen. Prøver til folatbestemmelser skal tas fra fastende personer.

## Medfølgende materialer

Vennligst se avsnittet "Reagenser - arbeidsløsninger" med hensyn til reagenser.

## Nødvendige (men ikke medfølgende) materialer

- [REF](#) 07396473190, CalSet Folate, til 4 x 1.0 mL
  - [REF](#) 05618860190, PreciControl Varia, til 4 x 3.0 mL
  - [REF](#) 07299001190, Diluent Universal, 45.2 mL prøvediluent
  - Alminnelig laboratoriestyr
  - **cobas e** 801 analyseinstrumenter
- Tilbehør til **cobas e** 801 analyseinstrument:
- [REF](#) 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L systemløsning
  - [REF](#) 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L vaskelesning for måleceller
  - [REF](#) 07485409001, Reservoir Cups, 8 kopper til ProCell II M og CleanCell M
  - [REF](#) 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L vaskelesning
  - [REF](#) 05694302001, Assay Tip/Assay Cup-brett, 6 magasiner x 6 magasiner holder x 105 pipettespisser og 105 reaksjonskopper, 3 wasteliners (avfallsesker)
  - [REF](#) 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 adaptorkopper til ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean for Liquid Flow Cleaning Detection Unit
  - [REF](#) 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 adaptorkopp til ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean for Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
  - [REF](#) 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL system-vaskelesning

## Analyse

For en optimal ytelse av analysen skal anvisningene for det aktuelle analyseinstrumentet følges. Vennligst se den aktuelle brukermanualen for instrumentspesifikke analyseinstruksjoner.

Rekonstitusjon av mikropartiklene skjer automatisk før bruk.

Plasser den avkjølte (lagret ved 2-8 °C) **cobas e** pack på reagent manager. Unngå skumdannelse. Systemet regulerer automatisk reagenstemperaturen på og åpning/lukking av **cobas e** pack.

## Kalibrering

Sporbarhet: Denne metoden er standardisert opp mot WHO International Standard NIBSC kode 03/178.

Den predefinerte masterkurve tilpasses instrumentet ved hjelp av gjeldende CalSet.

Kalibreringsintervall: Kalibrering skal utføres en gang pr. reagenslot med nytt reagens (høyst 24 timer etter at **cobas e** pack ble registrert på analyseinstrumentet).

Kalibreringsintervall kan utvides basert på akseptabel verifisering av kalibrering i laboratoriet.

Fornytt kalibrering anbefales som beskrevet:

- etter 12 uker ved bruk av samme reagenslot
- etter 28 dager ved bruk av den samme **cobas e** pack på analyseinstrumentet
- ved behov: f.eks. kvalitetskontrollresultater utenfor de definerte grensene

## Kvalitetskontroll

Bruk PreciControl Varia til kvalitetskontroll.

07027290500V5.0

# Elecsys Folate III

Folat serum/plasma-applikasjon

cobas®

I tillegg kan andre egnede kontrollmaterialer brukes.

Kontroller for de forskjellige konsentrasjonsnivåer bør analyseres individuelt minst en gang i døgnet når analysen er i bruk, en gang pr. cobas e pack og etter hver kalibrering.

Kontrollintervallene og -grensene bør tilpasses hvert enkelt laboratoriums individuelle krav. Oppnådde kontrollverdier skal ligge innenfor definerte grenser. Hvert laboratorium bør innføre korrigerende tiltak dersom verdier faller utenfor de definerte grensene.

Gjenta målingen av de aktuelle prøvene om nødvendig.

Følg gjeldende offentlige forskrifter og lokale retningslinjer for kvalitetskontroll.

## Beregning

Analyseinstrumentet beregner automatisk analyttkonsentrasjonen i hver prøve (enten i nmol/L eller ng/mL).

Omregningsfaktorer:  $\text{nmol/L} \times 0.44 = \text{ng/mL}$   
 $\text{ng/mL} \times 2.27 = \text{nmol/L}$

## Begrensninger - interferens

Effekten av følgende endogene stoffer og farmasøytiske preparater med tanke på ytelse av analysen ble testet. Interferens ble målt opp til de nevnte konsentrasjonene og det ble ikke observert noen innvirkning på resultatene.

### Endogene substanser

Forbindelse	Analysert konsentrasjon
Bilirubin	$\leq 496 \mu\text{mol/L}$ eller $\leq 29 \text{ mg/dL}$
Intralipid	$\leq 1500 \text{ mg/dL}$
Biotin	$\leq 86.1 \text{ nmol/L}$ eller $\leq 21 \text{ ng/mL}$
Revmatoide faktorer	$\leq 1000 \text{ IU/mL}$
IgG	$\leq 1.6 \text{ g/dL}$
IgA	$\leq 0.4 \text{ g/dL}$
IgM	$\leq 1 \text{ g/dL}$

Kriterium: For konsentrasjoner 0.6-4 ng/mL er avviket  $\leq 0.4 \text{ ng/mL}$ . For konsentrasjoner  $> 4 \text{ ng/mL}$  er avviket  $\leq 10 \%$ .

Hemolyse kan gi en betydelig økning av folatverdiene grunnet høye konsentrasjoner av folat i røde blodceller. Hemolyserte prøver er derfor ikke egnet for bruk i denne analysen.

Det bør ikke tas prøver fra pasienter som behandles med høye biotindoser ( $> 5 \text{ mg/dag}$ ), før minst 8 timer etter siste biotininntak.

Prøver med ekstremt høye total protein-konsentrasjoner (hyperproteinemi) er ikke egnet for bruk i denne analysen. Hyperproteinemi kan blant annet være forårsaket av følgende tilstander:

Lymfomer<sup>7,8</sup>, beinmargsykdommer som multipel myelom, monoklonal gammopati av usikker signifikans (MGUS), Waldenstrøms makroglobulinemi, plasmocytom<sup>7,8,9,10,11,12,13</sup>, Amyloidose<sup>13,14</sup>. Respektive prøver kan føre til at det dannes proteingel i analysekoppen, noe som kan føre til at analyseserien avbrytes. Den kritiske total protein-konsentrasjonen avhenger av sammensetningen av den enkelte prøven.

### Farmasøytiske substanser

Det er utført in vitro-analyser på 16 alminnelig brukte medikamenter, i tillegg til humant erythropoietin. Det ble ikke funnet interferens med analysen.

Det er kontraindisert å måle prøver fra pasienter som behandles med bestemte medikamenter, f.eks. metotreksat eller leukovorin, fordi folatbindende protein kryssreagerer med disse forbindelsene.

I sjeldne tilfeller kan det oppstå interferens grunnet ekstremt høye titere av antistoffer mot streptavidin og rutenium. Slike effekter kan minimeres ved å bruke en egnet analyseutføring.

For diagnostiske formål skal resultatene alltid vurderes i sammenheng med RBC-folat, pasientens anamnese, klinisk undersøkelse og andre funn.

## Grenser og akseptert grense for avvik

### Måleområde

0.6-20.0 ng/mL eller 1.36-45.4 nmol/L (definert ved blankverdigransen samt masterkurvens maksimum). Verdier under blankverdigransen utgis som  $< 0.6 \text{ ng/mL}$  eller  $< 1.36 \text{ nmol/L}$ . Verdier over måleområdet utgis som

$> 20.0 \text{ ng/mL}$  eller  $> 45.4 \text{ nmol/L}$  (eller opp til 40.0 ng/mL eller 90.8 nmol/L for prøver som er fortynt 2 ganger).

### Nedre grense for måleområdet

Blankverdigransen, deteksjonsgrensen og kvantiteringsgrensen

Blankverdigransen = 0.6 ng/mL (1.36 nmol/L)

Deteksjonsgrensen = 1.2 ng/mL (2.72 nmol/L)

Kvantiteringsgrensen = 2.0 ng/mL (4.54 nmol/L)

Blankverdigransen, deteksjonsgrensen og kvantiteringsgrensen ble bestemt i overensstemmelse med kravene til CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP17-A2.

Blankverdigransen er 95 persentil-verdien av  $n \geq 60$  målinger av analyttfrie prøver i flere uavhengige serier. Blankverdigransen tilsvarer den konsentrasjon hvor analyttfrie prøver finnes med en sannsynlighet på 95 %.

Deteksjonsgrensen bestemmes på grunnlag av blankverdigransen og standardavvik for prøver med lav konsentrasjon. Deteksjonsgrensen svarer til den laveste analyttkonsentrasjon som kan påvises (verdi over blankverdigransen med en sannsynlighet på 95 %).

Kvantiteringsgrensen er definert som den laveste analyttkonsentrasjon i en prøve, som kan kvantitetsbestemmes nøyaktig med en total tillatt relativ feil på  $\leq 20 \%$ .

Den er bestemt med folatprøver med lav konsentrasjon.

### Fortynning

Prøver med folatkonsentrasjoner over måleområdet kan fortyntes med Diluent Universal. Den anbefalte fortyntingen er 1:2 (enten automatisk av analyseinstrumentet eller manuelt). Konsentrasjonen i fortyntet prøve skal være  $\geq 8.5 \text{ ng/mL}$  eller  $\geq 19.3 \text{ nmol/L}$ .

Etter manuell fortynting skal resultatet multipliseres med fortyntingsfaktoren.

Ved fortynting av analyseinstrumentet tar programvaren automatisk høyde for fortyntingen ved beregning av prøvekonsentrasjonen.

### Referanseintervaller

Med henvisning til "The American Journal of Clinical Nutrition"<sup>15</sup> finnes følgende folat- (folinsyre) verdier i serum:

Kjønn	Alder år	N	Median		2.5-97.5 persentilene	
			ng/mL	nmol/L	ng/mL	nmol/L
Begge	alle	23345	13.0	29.5	4.6-34.8	10.4-78.9
Menn	alle	11387	12.3	27.9	4.5-32.2	10.2-73.0
Kvinner	alle	11958	13.3	30.1	4.8-37.3	10.9-84.5
Begge	4-11	3595	17.2	39.0	8.6-37.7	19.5-85.4
Begge	12-19	6390	12.1	27.4	5.0-27.2	11.3-61.6
Begge	20-59	8689	11.6	26.3	4.4-31.0	10.0-70.2
Begge	$\geq 60$	4671	16.6	37.6	5.6-45.8	12.7-103.8

Disse verdiene ble funnet i USA under the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 1999-2004.

Verdiene under er funnet på prøver fra en antatt frisk populasjon ved bruk av Elecsys Folate III-analysen, [REF] 07559992190.

Beregningen er basert på 404 sera (177 menn, 227 kvinner). Alderen lå mellom 20 og 65 år. Gravide eller ammende kvinner ble utelukket fra undersøkelsen. Referansepopulasjonen ble valgt etter normale homocysteinverdier.

N	Median		2.5-97.5 persentilene	
	ng/mL	nmol/L	ng/mL	nmol/L
404	8.94	20.3	3.89-26.8	8.83-60.8

Viktig: Disse verdiene skal kun betraktes som veiledende.

Det kan være forskjeller i referanseintervallene avhengig av populasjonen og den ernæringsmessige status.

Hvert enkelt laboratorium bør undersøke om referanseintervallene kan overføres til egne pasientgrupper og om nødvendig fasisette egne referanseintervaller.

Prøver med reduserte folatverdier

07027290190V5.0

# Elecsys Folate III

Folat serum/plasma-applikasjon



25 prøver som ble ansett for å ha redusert konsentrasjon<sup>(4)</sup> av serumfolat ble vurdert ved hjelp av Elecsys Folate III-analysen. Alle prøver lå under 2.5 persentilen som oppført i tabellen over.

a) Folatmangel ble vurdert ved måling av serumfolat med to kommersielt tilgjengelige folatanalyser.

### Spesifikk ytelsesevne

Representativ ytelsesevne på instrumentet er oppført under. Resultatene kan variere fra laboratorium til laboratorium.

### Presisjon

Presisjonen ble fastsatt ved hjelp av Elecsys reagenser, prøver og kontroller ifølge en protokoll (EP05-A3) fra CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute): 2 kjøringer pr. dag som dobbeltbestemmelse i 21 dager (n = 84). Følgende resultater ble oppnådd:

cobas e 801 analyseinstrument					
Prøve	Middel nmol/L	Repeterbarhet		Intermediær presisjon	
		SD nmol/L	CV %	SD nmol/L	CV %
Humant serum 1	5.81	0.431	7.4	0.443	7.6
Humant serum 2	7.85	0.529	6.8	0.538	6.9
Humant serum 3	9.78	0.513	5.3	0.536	5.5
Humant serum 4	25.4	0.740	2.9	0.808	3.2
Humant serum 5	42.9	1.30	3.0	1.36	3.2
PreciControl Varia1	7.35	0.427	5.8	0.452	6.1
PreciControl Varia2	28.1	0.606	2.2	0.731	2.6

cobas e 801 analyseinstrument					
Prøve	Middel ng/mL	Repeterbarhet		Intermediær presisjon	
		SD ng/mL	CV %	SD ng/mL	CV %
Humant serum 1	2.56	0.190	7.4	0.195	7.6
Humant serum 2	3.46	0.233	6.8	0.237	6.9
Humant serum 3	4.31	0.226	5.3	0.236	5.5
Humant serum 4	11.2	0.326	2.9	0.356	3.2
Humant serum 5	18.9	0.571	3.0	0.600	3.2
PreciControl Varia1	3.24	0.188	5.8	0.199	6.1
PreciControl Varia2	12.4	0.267	2.2	0.322	2.6

### Metodesammenligning

a) En sammenligning av Elecsys Folate III-analysen [REF] 07559992190 (y) med en kommersielt tilgjengelig metode (x) ved bruk av kliniske prøver gav følgende korrelasjoner (ng/mL):

Antall målte prøver: 106

Passing/Bablok <sup>(6)</sup>	Lineær regresjon
$y = 0.980x - 0.095$	$y = 1.09x - 0.659$
$r = 0.924$	$r = 0.984$

Prøvekonsentrasjonene lå på mellom 1.9 og 17 ng/mL (4.3 og 39 nmol/L).

b) En sammenligning av Elecsys Folate III serum/plasma-applikasjonen [REF] 07027290190 (cobas e 801-analyseinstrument; y) med Elecsys Folate III-analysen [REF] 07559992190 (cobas e 601-analyseinstrument; x) gav følgende korrelasjoner (ng/mL):

Antall målte serumprøver: 145

Passing/Bablok <sup>(6)</sup>	Lineær regresjon
$y = 1.03x - 0.114$	$y = 1.04x - 0.174$
$r = 0.949$	$r = 0.996$

Prøvekonsentrasjonene lå på mellom 0.984 og 18.4 ng/mL (2.23 og 41.8 nmol/L).

### Analytisk spesifisitet

Det ble funnet følgende kryssreaktiviteter ved analysing med folat-konsentrasjoner på 4.1 ng/mL.

Kryssreagerende stoff	Analysert konsentrasjon ng/mL	Kryssreaktivitet %
Ametopterin	750	0.5
Aminopterin	750	1.5
Folinsyre	750	0.7

### Referanser

- Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. *Gene* 2014;533(1):11-20.
- Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. *Xenobiotica* 2014;44(5):480-488.
- Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. *Handb Clin Neurol* 2014;120:927-43.
- Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Clinical Aspects and Laboratory. Iron metabolism, Anemias. Springer Verlag, Wien, New York, 6th edition 2011:41-42.
- Occupational Safety and Health Standards: Bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- Wu AHB. Tietz clinical guide to laboratory tests, 4th ed. St. Louis, Saunders/Elsevier 2006:608-609, 916-917.
- Paricaud K, Moulis G, Combis MS, et al. Causes of prothrombin above 100 g/L. *Eur J Intern Med* 2014;25:e123.
- Filippatos TD, Liamis G, Christopoulou F, et al. Ten common pitfalls in the evaluation of patients with hyponatremia. *Eur J Intern Med* 2016;29:22-25.
- Mallankody S, Landgren O. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and Waldenström's macroglobulinemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2016;29:187-193.
- Morel P, Duhamel A, Gobbi P, et al. International prognostic scoring system for Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2009;113:4163-4170.
- Rajkumar SV. Multiple Myeloma. *Curr Probl Cancer* 2009;33:7-64.
- Gertz MA. Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2016 update on diagnosis, prognosis, and treatment. *Am J Hematol* 2016;91:947-956.
- Wu AHB. Tietz clinical guide to laboratory tests, 4th ed. St. Louis, Saunders/Elsevier 2006: 916-917, 925.
- Pfeiffer CM, Johnson CL, Jain RB, et al. Trends in blood folate and vitamin B-12 concentrations in the United States, 1988-2004. *Am J Clin Nutr* 2007;86:718-727.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

For ytterligere opplysninger bruk manualen til det aktuelle analyseinstrumentet, de relevante applikasjonsskjemaene, produktinformasjonen og metodearkene til alle nødvendige komponenter (hvis tilgjengelig i ditt land).

Et punktum (punktum/stopp) brukes alltid i dette metodearket som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Skilletegn for tusengrupper brukes ikke.

### Symboler

Roche Diagnostics bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er listet opp i ISO standarden 15223-1 (for USA: se <https://usdiagnostics.roche.com> for definisjon av brukte symboler):

## Vedleggene 16-17: Cobas 8000 pakningsvedlegg for ASAT.

### Vedlegg 16

0005531446190:701V10.0

# ASTPM

Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC with pyridoxal phosphate activation

#### Ordreinformasjon

REF	CONTENT	System-ID	Analyseinstrument(er) hvor <b>cobas c</b> pack kan brukes
05531446 190	Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC (740 analyser)	System-ID 05 7461 8	Roche/Hitachi <b>cobas c</b> 701/702
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Kode 401	
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, for USA)	Kode 401	
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Kode 300	
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, for USA)	Kode 300	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	Kode 301	
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, for USA)	Kode 301	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Kode 391	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Kode 391	
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, for USA)	Kode 391	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Kode 392	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Kode 392	
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, for USA)	Kode 392	
05172152 190	Diluent NaCl 9 % (119 mL)	System-ID 08 6869 3	

#### Norsk

##### Systeminformasjon

ASTPM: ACN 8680

##### Tilsiktet bruk

In vitro-analyse til kvantitativ bestemmelse av aspartat aminotransferase (ASAT) med pyridoksalfosfataktivering i humant serum og plasma på Roche/Hitachi **cobas c** systemer.

##### Sammendrag<sup>1,2</sup>

Enzymet aspartat aminotransferase (ASAT) finnes i et stort omfang i vev, primært i lever-, hjerte-, muskel- og nyrevev. Økte serumkonsentrasjoner sees ved sykdommer som involverer dette vev. Lever- og gallesykdommer slik som cirrhose, metastatiske karsinomer og viral hepatitt forårsaker også stigning i ASAT-konsentrasjonen i serum. ASAT i serum er forhøyet ved myokardinfarkt og når sitt maksimum 2 dager etter infarktets start.

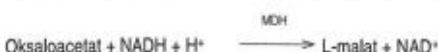
Det er påvist 2 isoenzymer av ASAT, cytoplasma-isoenzym og mitokondrie-isoenzym. Det er kun cytoplasma-isoenzymet som normalt finnes i serum, mens mitokondrie-isoenzymet, sammen med cytoplasma-enzymet, er påvist i serum fra pasienter med koronarlidelser samt lever- og gallelidelser.

Tilsetningen av pyridoksalfosfat til analysen medfører en stigning i aminotransferaseaktiviteten. Aktiveringen er høyere for ASAT enn for ALAT. Pyridoksalfosfataktivering forhindrer en falsk lav aminotransferaseaktivitet i pasientprøver med utilstrekkelig endogent pyridoksalfosfat (vitamin B<sub>6</sub> mangel).

##### Analyseprinsipp

Denne analysen følger IFCC's anbefalinger, men er optimert med henblikk på ytelse og holdbarhet.<sup>3,4</sup>

ASAT i prøven katalyserer overføringen av en aminogruppe mellom L-aspartat og 2-oksoglutarat og danner oksaloacetat og L-glutamat. Oksaloacetat reagerer heretter med NADH, ved tilstedeværelse av malatdehydrogenase (MDH), og danner NAD<sup>+</sup>. Pyridoksalfosfat fungerer som coenzym i aminooverførselsreaksjonen. Dette sikrer full enzymaktivisering.



Hastigheten av NADH-oksideringen er direkte proporsjonal med den katalytiske ASAT-aktivitet. Den bestemmes ved å måle absorpsjonsreduksjonen.

#### Reagenser - arbeidsløsninger

**R1** TRIS buffer: 264 mmol/L, pH 7.8 (37 °C);  
L-aspartat: 792 mmol/L; MDH (mikroorganisme):  
≥ 24 µkat/L; LDH (mikroorganismer): ≥ 48 µkat/L;  
albumin (bovint): 0.25 %; konserveringsmiddel

**Flaske** Pyridoksalfosfat: 730 µmol/L

**R3 = cobas c pack posisjon C** NADH: ≥ 1.7 mmol/L; 2-oksoglutarat: 94 mmol/L;  
konserveringsmiddel

#### Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Ta de vanlige forholdsregler som er nødvendig ved håndtering av alle laboratoriereagenser.

Fjerning av alle avfallsmaterialer skal følge lokale retningslinjer.

HMS-Datablad er tilgjengelig på forespørsel.

For USA: Forsiktig: Amerikansk lov påbyr at salg av dette produktet kun kan rekvireres av en lege.

#### Reagenshåndtering

Sett sammen flasken som inneholder pyridoksalfosfat med flaske R1 ved å bruke den vedlagte adapteren, og bland forsiktig. Overfør innholdet til flaske R1. Fyll blandingen i kassetten posisjon B.

R3 er klar til bruk.

#### Oppbevaring og holdbarhet

##### ASTPM

Holdbarhet ved 2-8 °C: Se utløpsdatoen på etiketten på **cobas c** pack.

I bruk og avkjølt på instrumentet: 2 uker

I bruk på Reagent Manager: 0 timer

##### Diluent NaCl 9 %

Holdbarhet ved 2-8 °C: Se utløpsdatoen på etiketten på **cobas c** pack.

I bruk og avkjølt på instrumentet: 4 uker

I bruk på Reagent Manager: 24 timer

#### Prøvetaking og -forberedelse

Benytt kun egnede prøvetakingsrør til prøvetaking og -forberedelse.

Kun prøvematerialene som er oppført nedenfor, er analysert og funnet akseptable.



0005531446190c701V10.0

**ASTPM**

Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC with pyridoxal phosphate activation

**cobas**<sup>®</sup>**Serum.**Plasma: Li-heparin og K<sub>2</sub>-EDTA-plasma

De oppførte prøvetypene ble analysert med et utvalg prøvetakingsrør som var kommersielt tilgjengelige på analysetidspunktet, dvs. ikke alle tilgjengelige rør fra alle produsenter ble analysert. Prøvetakingsrør fra forskjellige produsenter kan inneholde ulike materialer som i visse tilfeller kan påvirke analyseresultatene. Dersom prøver analyseres i primærør (prøvetakingsrør), skal instruksjonene fra produsenten av disse rør følges.

Sentrifuger prøver som inneholder utfellinger før utførelse av analysen.

Se avsnittet begrensninger og interferenser for detaljer om mulige prøveinterferenser.

Oppgitt holdbarhet i prøver er etablert med eksperimentelle data av produsenten, eller basert på referanselitteratur, og kun for de temperaturer/tidsintervaller som er oppgitt i metodearket. Det er det respektive laboratoriums ansvar å bruke alle tilgjengelige referanser og/eller deres egne studier for å bestemme spesifikke holdbarhetskriterier for eget laboratorium.

Holdbarhet:<sup>5</sup> 4 dager ved 20-25 °C  
7 dager ved 4-8 °C  
3 måneder ved -20 °C

**Medfølgende materialer**

Vennligst se avsnittet "Reagenser - arbeidsløsninger" med hensyn til reagenser.

**Nødvendige (men ikke medfølgende) materialer**

- Se avsnittet "Ordreinformasjon"
- Alminnelig laboratoriestyr

**Analyse**

For en optimal ytelse av analysen skal anvisningene for det aktuelle analyseinstrument følges. Vennligst se den aktuelle brukermanualen for instrumentspesifikke analyseinstruksjoner.

Ytelse av applikasjoner som ikke er validert av Roche kan ikke garanteres og må defineres av brukeren.

**Applikasjon til serum og plasma****cobas c 701/702 analysedefinisjon**

Analysetype	Rate A	Diluent (H <sub>2</sub> O)	
Reaksjonstid/målepunkter	10 / 29-38		
Bølgelengde (sekundær/ primær)	700/340 nm		
Reaksjonsretning	Fallende		
Enheter	U/L (µkat/L)		
Avpipettering av reagens			
R1	60 µL	51 µL	
R3	20 µL	20 µL	
Prøvemengder	Prøve	Prøvefortynning	
		Prøve	Diluent (NaCl)
Normal	9 µL	-	-
Redusert	9 µL	15 µL	135 µL
Forøket	18 µL	-	-
<b>Kalibrering</b>			
Kalibratører	S1: H <sub>2</sub> O S2: C.f.a.s.		
-kalibreringsmetode	Lineær		

**Kalibreringsintervall**

2-punkts kalibrering

– etter skifte av reagenslot

– som påkrevet ifølge

kvalitetskontrollprosedyrene

Kalibreringsintervall kan utvides basert på akseptabel verifisering av kalibrering i laboratoriet.

Sporbarhet: Denne metoden er standardisert opp mot den originale IFCC-formuleringen, med kalibrerte pipetter sammen med et manuelt fotometer, for å få absolutte verdier og den substratspesifikke absorptiviteten, c.<sup>6</sup>

**Kvalitetskontroll**

Bruk det kontrollmaterialet som er oppført i avsnittet "Ordreinformasjon", til kvalitetskontroll.

I tillegg kan andre egnede kontrollmaterialer brukes.

Kontrollintervallene og -grensene bør tilpasses hvert enkelt laboratoriums individuelle krav. Oppnådde kontrollverdier skal ligge innenfor definerte grenser. Hvert laboratorium bør innføre korrigerende tiltak dersom verdier faller utenfor de definerte grensene.

Følg gjeldende offentlige forskrifter og lokale retningslinjer for kvalitetskontroll.

**Beregning**

Roche/Hitachi **cobas c** systemer beregner automatisk analyttaktiviteten i hver prøve.

Omregningsfaktor:

U/L x 0.0167 = µkat/L

**Begrensninger – interferens**

Kriterium: Gjenfinning innenfor ± 10 % av opprinnelig verdi ved en ASAT-aktivitet på 35 U/L (0.58 µkat/L).

Iktus:<sup>7</sup> Ingen signifikant interferens opptil en I-indeks på 60 for konjugert og ukonjugert bilirubin (konjugert og ukonjugert bilirubin-konsentrasjon på ca.: 60 mg/dL eller 1026 µmol/L).

Hemolyse:<sup>7</sup> Ingen signifikant interferens opptil en H-indeks på 20 (hemoglobinkonsentrasjon på ca.: 12.8 µmol/L eller 20 mg/dL).

Kontaminering med erythrocytter vil gi forhøyede resultater, da analyttkonsentrasjonen er høyere i erythrocytter enn i normale sera. Graden av interferens kan variere avhengig av analyttinnholdet i de lyserte erythrocyttene.

Lipemi (Intralipid):<sup>7</sup> Ingen signifikant interferens opptil en L-indeks på 150. Det er dårlig korrelasjon mellom L-indeksen (svarende til turbiditet) og triglyseridkonsentrasjonen.

Lipemiske prøver kan forårsake > Abs-flagging. Velg fortynnet prøvebehandling til automatisk reanalysering.

Medikamenter: Det ble ikke funnet noen interferens ved terapeutiske konsentrasjoner ved bruk av vanlige medikamentpaneler.<sup>8,9</sup>

Fysiologiske plasmakonsentrasjoner av sulfasalazin eller sulfapyridin kan føre til falske resultater.

Cyanokit (hydroksokobalamin) kan interferere med resultatene.

I meget sjeldne tilfeller kan gammopati, særlig type IgM (Waldenströms makroglobulinemi), forårsake upålitelige resultater.<sup>10</sup>

Til diagnostiske formål skal resultatene alltid sees i sammenheng med pasientens anamnese, kliniske undersøkelser og andre resultater.

**NØDVENDIG HANDLING**

**Spesielle vaskeprogrammer:** Bruk av spesielle vasketrinn er obligatorisk når visse analysekombinasjoner utføres samtidig på Roche/Hitachi **cobas c** systemene. Alle programmeringer av spesialvask som er nødvendig for å unngå carry-over, er tilgjengelig via **cobas link**. Manuelle innleggelse er påkrevet i enkelte tilfeller. Den seneste versjonen med oversikt over analyser med risiko for carry-over ligger også i metodearkene til NaOH/SMS/SmpCln1+2/SCCS, og for videre instruksjoner henvises det til brukermanualen.

Ved behov skal spesielle vaske/carry-over-program implementeres for det rapporteres resultater med denne analysen.

**Grenser og akseptert grense for avvik****Måleområde**

5-700 U/L (0.08-11.7 µkat/L)

00055214481900701V10.0

**ASTPM**

Aspartate Aminotransferase acc. to IFCC with pyridoxal phosphate activation

**cobas**<sup>®</sup>

Reanalyser prøver med høyere aktivitet ved hjelp av reanalyseringsfunksjonen. Fortynning av prøver via reanalyseringsfunksjonen er en 1:10 fortynning. Resultater fra prøver som er fortynnet ved å bruke reanalyseringsfunksjonen multipliseres automatisk med en faktor på 10.

**Nedre grense for måleområdet**

Nedre deteksjonsgrense for analysen

5 U/L (0.08 µkat/L)

Den nedre deteksjonsgrensen representerer den lavest målbare konsentrasjonen som kan skilles fra 0. Den beregnes som den verdien som ligger 3 standardavvik over den laveste standard (standard 1 + 3 SD, repeterbarhet, n = 21).

Verdier under den nedre deteksjonsgrensen (< 5 U/L) flagges ikke av instrumentet.

**Referanseintervaller**Ifølge IFCC/Standard Method 94 med pyridoksalfosfataktivering målt ved 37 °C.<sup>11</sup>

Menn: 10-50 U/L (0.17-0.85 µkat/L)  
Kvinner: 10-35 U/L (0.17-0.60 µkat/L)

Konsensus-verdier med pyridoksalfosfataktivering:<sup>12</sup>

Menn: opp til 50 U/L (opp til 0.85 µkat/L)  
Kvinner: opp til 35 U/L (opp til 0.60 µkat/L)

Hvert enkelt laboratorium bør undersøke om referanseintervallene kan overføres til egne pasientgrupper og om nødvendig fastsette egne referanseintervaller.

**Spesifikk ytelsesevne**

Representativ ytelsesevne på instrumentene er oppført under. Resultatene kan variere fra laboratorium til laboratorium.

**Presisjon**

Presisjon ble fastsatt ved hjelp av humane prøver og kontroller i følge en intern protokoll med repeterbarhet (n = 21) og intermedieær presisjon (3 pipetteringer pr. kjøring, 1 kjøring pr. dag, 20 dager). Følgende resultater ble oppnådd:

Repeterbarhet	Middel	SD	CV
	U/L (µkat/L)	U/L (µkat/L)	%
Precinorm U	46.2 (0.772)	1.1 (0.018)	2.4
Precipath U	159 (2.66)	1 (0.02)	0.6
Humant serum A	18.0 (0.301)	1.2 (0.020)	6.8
Humant serum B	142 (2.37)	1 (0.02)	1.0
Humant serum C	607 (10.1)	2 (0.0)	0.4
Intermedieær presisjon	Middel	SD	CV
	U/L (µkat/L)	U/L (µkat/L)	%
Precinorm U	49.0 (0.818)	0.8 (0.013)	1.6
Precipath U	149 (2.49)	1 (0.02)	0.8
Humant serum 3	40.7 (0.680)	1.3 (0.022)	3.1
Humant serum 4	190 (3.17)	3 (0.05)	1.3

Resultater for intermedieær presisjon ble funnet på mastersystemet **cobas c 501** analyseinstrument.

**Metodesammenligning**

ASAT-verdier for humane serum- og plasmaprøver oppnådd på et Roche/Hitachi **cobas c 701** analyseinstrument (y), ble sammenlignet med verdier funnet med tilsvarende reagens på et Roche/Hitachi **cobas c 501** analyseinstrument (x).

Antall prøver (n) = 308

Passing/Bablok<sup>13</sup> Lineær regresjon  
y = 1.003x - 0.086 U/L y = 0.993x + 0.468 U/L

r = 0.888

r = 1.000

Aktiviteten i prøvene lå mellom 6.40 og 663 U/L (0.11 og 11.1 µkat/L).

**Referanser**

- Nagy B. Muscle disease. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation. St. Louis: Mosby 1984;514.
- Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders 1987;346-421.
- Bergmeyer HU, Harder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC Method for aspartate aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:497-510.
- ECCLS. Determination of the catalytic activity concentration in serum of L-aspartate aminotransferase (EC 2.6.1.1, ASAT). Klin Chem Mitt 1989;20:198-204.
- WHO Publication: Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations, WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2:Jan 2002.
- Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, et al. IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37 °C – Part 5. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Aspartate Aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40(7):725-733.
- Gilck MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- Klauke R, Schmidt E, Lorentz K. Recommendations for carrying out standard ECCLS procedures (1988) for the catalytic concentrations of creatine kinase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and γ-glutamyltransferase at 37 °C. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993;31:907-909.
- Thomas L, Müller M, Schumann G, et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005; 29(5):301-308.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Et punktum (punktum/stopp) brukes alltid i dette metodemarket som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Skilletegn for tusengrupper brukes ikke.

**Symboler**

Roche Diagnostics bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er listet opp i ISO standarden 15223-1 (for USA: se <https://usdiagnostics.roche.com> for definisjon av brukte symboler):

	Pakningsinnhold
	Volum etter rekonstitusjon eller blanding
	Artikkelnummer for global handel

Tilføyer, slettinger eller endringer er merket med en strek i margin.

© 2016, Roche Diagnostics

Vedlegg 19: Vedlegg til dokumentet "Cobas 8000 - Måling av SI2 (serum-indeks)"

**Grenseverdier for lipemi, hemolyse og Icterus på Cobas 8000.**

Analyse	L	H	I
ACET	1200 ↑	150 ↑	25 ↑
ACTH	1500	400 ↓	25
AFP	1500	2200	65
ALAT	150	170	60
Albumin	550 ↓	1000	60
ALP	2000	200 ↓	60
Amylase	1500	500 ↓	60
Anti-CCP	1500	500	25
Anti-TPO	1500	800	66
ASAT	150	29 ↑	60
BIID	750 ↑	25* ↓	
Bilirubin	1000	800	
CA 15-3	1500	1000	66
CA 19-9	1500	1000	66
CA 125	2000	3200	66
CEA	2000	1000	66
CK	1000	100 ↑	60
Cl	400 ↓	1000	60
Cortisol	1500	500	25
C-peptid	2000	300	50
CRP	1000	1000 ↓	60
Digoxin	1500	1000	66
Etanol	500	200	30
Fenemal	600	1000	60
Fenytoin	800 ↓	1000	50
Ferritin	1000	500 ↑	60
Folat	1500	≤5:20 ↑ >5: 25	29
Fosfat	800 ↑	300 ↑	40
Fritt T3	2000	1000	66
Fritt T4	2000	1000	41
FSH	1900	1000	66
Genta	150	1000	50
Glukose	1000	1000	60
GT	700	200 ↓	20
HCG	2000	1000	66
HDL	1800	1200	30
Homocystein	250	100	20
IgA	2000	1000	60
IgG	2000	1000 ↑	60
IgM	2000	1000	60
Jern	1500	200 ↑	60

Analyse	L	H	I
K	400 ↓	90 ↑	60
Kalsium	1000	1000	60
Karbamaz	2000	1000	50
Kolesterol	2000	700 ↑	14
Kreatinin	2000	800	15 ↓
Laktat	1500	1000	60
LD	900 ↓	15 ↑	60
LDL	1000	1000	60
LH	1900	1000	66
Lipase	2000	1000	37
Litium	2000	1000	37
Mg	2000	300 ↑	60
Na	400 ↓	1000	60
NH3	50 ↓	200 ↓	10
PCT	1500	900	40
pro-BNP	1500	1000	25
Progesteron	200	1000	54 ↑
Prolaktin	1500	1500	30
PSA	1500	2200	65
PTH	1500	150 ↓	66
Sali	1000 ↓	1000	23
SHBG	2700	1000	66
Testosteron	800	600	30
Transferrin	500	1000	60
Triglyserid		700 ↑	10
Theo	300 ↓	1000	50
Tobra	750	800	30
TP	2000	500	20 ↓
Troponin	1500	100 ↓	25
TSH	1500	1000 ↓	41
UA	1500	1000	40 ↓
Urea	1000	1000	60
Valp	500 ↓	500	30
Vanco	500	650	30
Vitamin B12	1500	1000	65
Vitamin D	300	600 ↑	66
Østradiol	1000	1000	66

↑: Resultatet blir falskt for høgt

↓: Resultatet blir falskt for lavt

\* For barn < 3 mnd. Blir resultat med

H ≤ 100 kompensert for hemolyse i cITm

## 7. Kilder

### Bibliography

1. Lied A. Cobas 8000 - Måling av SI2 (serum-indeks) [Internett]. Helse Møre og Romsdal; 2018 apr [sitert 8. april 2019]. Tilgjengelig på:  
<http://eqshmr/cgi-bin/document.pl?pid=hmrogDocumentID=6015ogUnitID=29>
2. Waage A. røde blodceller – Store medisinske leksikon [Internett]. Store norske leksikon. Store norske leksikon; 2019, 26. april [sitert 29. mars 2019]. Tilgjengelig på:  
[https://sml.sn.no/r%C3%B8de\\_bloodceller](https://sml.sn.no/r%C3%B8de_bloodceller)
3. Keohane EM, Smith LJ, Walenga JM. Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications. Elsevier Health Sciences; 2015. 898 s.
4. Evensen SA. hemolyse – Store medisinske leksikon [Internett]. Store norske leksikon. Store norske leksikon; 2018, 20. mai [sitert 29. mars 2019]. Tilgjengelig på:  
<https://sml.sn.no/hemolyse>
5. LoCicero R. Hemolysis: MedlinePlus Medical Encyclopedia [Internett]. medlineplus.gov. 2018 [sitert 8. april 2019]. Tilgjengelig på:  
<https://medlineplus.gov/ency/article/002372.htm>
6. Edblad P. Preanalytiske feil [Internett]. MedTekipedia. 2018 [sitert 24. april 2019]. Tilgjengelig på: <https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/Preanalytiske+feil>
7. Andreassen T. Preanalyse for de mest vanlige hemostaseparameterne [Internett]. Bioingeniøren. 2017 [sitert 24. april 2019]. Tilgjengelig på:  
<http://www.bioingenioren.no/fag/fag-i-praksis/eldre-artikler/fag-preanalyse-for-de-mest-vanlige-hemostaseparameterne/>
8. Burtis CA. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. Saunders Elsevier; 2008. 952 s.
9. Lausand SMS. Hemolyse - MedTekipedia - NTNU Wiki [Internett]. MedTekipedia. 2018 [sitert 24. april 2019]. Tilgjengelig på:  
<https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/Hemolyse>
10. Laboratoriemedisin U. Generelt om prøvetaking og prøvehåndtering | Unilabs Labhåndbok [Internett]. Unilabs Labhåndbok. 2019 [sitert 24. april 2019]. Tilgjengelig på: <https://labhandbok.no/labhaandbok/generelt-om-provetaking-og-provehandtering-2/>
11. Edblad P. Serum-index - MedTekipedia - NTNU Wiki [Internett]. MedTekipedia. 2018 [sitert 12. april 2019]. Tilgjengelig på:  
<https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/Serum-index>
12. Roche. D/P Module - Serum Index Principles [Internett]. Roche Diagnostics; [sitert 10. mai 2019]. Tilgjengelig på:

<https://yeec.com/uploadimages1/forum/2008-7/20087281722771.pdf>

13. Øye I, Brørs O. kalium – Store norske leksikon [Internett]. Store norske leksikon. 2018, 22. november [sitert 12. april 2019]. Tilgjengelig på: <https://snl.no/kalium>
14. Thue G, Sandberg S. Kalium [Internett]. NEL - Nevrologiske prosedyrer. NEL - Nevrologiske prosedyrer; 2001 [sitert 12. april 2019]. Tilgjengelig på: <https://nevrologi.legehandboka.no/handboken/nel/prover-og-svar/klinisk-kjemi/blodprover/kalium/>
15. Kvannes J. Feilkilder ved analyse og vurdering av kalium [Internett]. Helse Møre og Romsdal. 2017 [sitert 29. mars 2019]. Tilgjengelig på: <https://helse-mr.no/avdelinger/klinikk-for-diagnostikk/feilkilder-ved-analyse-og-vurdering-av-kalium>
16. Kalium [Internett]. Helse Møre og Romsdal. 2019 [sitert 14. mai 2019]. Tilgjengelig på: <https://helse-mr.no/fag-og-forsking/tenester/medisinsk-biokjemi/analyser-og-undersokelser-molde-og-kristiansund/kalium>
17. Lande B. folat – Store medisinske leksikon [Internett]. Store norske leksikon. Store norske leksikon; 2015, 27. november [sitert 29. mars 2019]. Tilgjengelig på: <https://sml.snl.no/folat>
18. Jost PD. Folatmangel - NHI.no [Internett]. NHI.no. NHI.no; 2018 [sitert 29. mars 2019]. Tilgjengelig på: <https://nhi.no/sykdommer/blod/anemier/folatmangel/>
19. Åsberg A, Stakkestad JA. Brukerhåndbok i klinisk kjemi: Jacob A. Stakkestad og Arne Åsberg (red.). Akademisk Fagforlag AS; 2004. 605 s.
20. Folat (folinsyre, vitamin B9) [Internett]. Helse Møre og Romsdal. 2019 [sitert 14. mai 2019]. Tilgjengelig på: <https://helse-mr.no/fag-og-forsking/tenester/medisinsk-biokjemi/analyser-og-undersokelser-molde-og-kristiansund/folat-folinsyre-vitamin-b9>
21. Vestfold S i. Aspartat aminotransferase (s/p) [Internett]. Sykehuset i Vestfold. 2012 [sitert 8. april 2019]. Tilgjengelig på: [http://siv.prod.fpl.nhn.no/fag/diagnostikk/analyseliste/aspartat-aminotransferase-\(s-p\)](http://siv.prod.fpl.nhn.no/fag/diagnostikk/analyseliste/aspartat-aminotransferase-(s-p))
22. Kierulf P. ASAT – Store medisinske leksikon [Internett]. Store norske leksikon. Store norske leksikon; 2018, 20. februar [sitert 29. mars 2019]. Tilgjengelig på: <https://sml.snl.no/ASAT>
23. ASAT (Aspartat aminotransferase) [Internett]. Helse Møre og Romsdal. 2019 [sitert 14. mai 2019]. Tilgjengelig på: <https://helse-mr.no/fag-og-forsking/tenester/medisinsk-biokjemi/analyser-og-undersokelser-molde-og-kristiansund/asat-aspartat-aminotransferase>
24. Lausand SMS. Kvalitetskontroll - MedTekipedia - NTNU Wiki [Internett]. MedTekipedia. 2018 [sitert 24. april 2019]. Tilgjengelig på: <https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/Kvalitetskontroll>

25. Tømmerdal AH. Biologisk variasjon - MedTekipedia - NTNU Wiki [Internett]. MedTekipedia. 2018 [sitert 24. april 2019]. Tilgjengelig på:  
<https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/Biologisk+variasjon>
26. Tømmerdal AH. Analytisk variasjon - MedTekipedia - NTNU Wiki [Internett]. MedTekipedia. 2018 [sitert 24. april 2019]. Tilgjengelig på:  
<https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/Analytisk+variasjon>
27. Bolann BJ. Riktig svar på biokjemiske analyser: en innføring i analytisk kvalitetsovervåking. Fagbokforlaget; 2009.
28. Roche Diagnostics GmbH. thumbnail-cobas-8000-modular-analyzer-series [Internett]. Roche Diagnostics GmbH; [sitert 12. april 2019]. Tilgjengelig på:  
<https://roche63-h.assetsadobe2.com/is/image/content/dam/diagnostics/Blueprint/en/products/cps/cps-thumbnail-cobas-8000-modular-analyzer-series.png?hei=152&fmt=png-alpha>
29. Roche Diagnostics GmbH. cobas® 8000 modular analyzer series [Internett]. Roche Diagnostics. 2019 [sitert 25. april 2019]. Tilgjengelig på:  
[https://diagnostics.roche.com/us/en/products/systems/cobas\\_-8000-modular-analyzer-series.html](https://diagnostics.roche.com/us/en/products/systems/cobas_-8000-modular-analyzer-series.html)
30. Roche Diagnostics Customer Self-Service Technical Documentation Portal [Internett]. Roche Diagnostics. [sitert 25. april 2019]. Tilgjengelig på:  
[https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/pi/en/PublicDocuments/GetDocument?documentId=dd87af8e-6bef-e811-df87-00215a9b3428](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/pi/en/PublicDocuments/GetDocument?documentId=dd87af8e-6bef-e811-df87-00215a9b3428)
31. Roche. cobas c 702 module [Internett]. Roche Diagnostics GmbH; 2019 mai [sitert 25. april 2019]. Tilgjengelig på:  
<https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/cobas-c-702.html>
32. Sysmex Europe GmbH. SYSMEX XN-2000 jpg [Internett]. SYSMEX; [sitert 12. april 2019]. Tilgjengelig på:  
[https://www.sysmex-europe.com/typo3temp/pics/XN-2000\\_StageIllu-940x385\\_920ce9bd91.jpg](https://www.sysmex-europe.com/typo3temp/pics/XN-2000_StageIllu-940x385_920ce9bd91.jpg)
33. Giuseppe Lippi, Gian Luca Salvagno, Martina Montagnana, Giorgio Brocco and Gian Cesare Guidi. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) - De Gruyter [Internett]. 5. desember 2005 [sitert 29. april 2019]; Tilgjengelig på:  
<https://pdfs.semanticscholar.org/9a9b/386705c143873508d78ec4330f700bc4b4ef.pdf>
34. Stedman TL. The American Heritage Stedman's Medical Dictionary [Internett]. Houghton Mifflin; 2004. 909 s. Tilgjengelig på:  
[https://books.google.com/books/about/The\\_American\\_Heritage\\_Stedman\\_s\\_Medical.html?hl=&id=fnRqAAAAMAAJ](https://books.google.com/books/about/The_American_Heritage_Stedman_s_Medical.html?hl=&id=fnRqAAAAMAAJ)
35. Farrell C-JL, Carter AC. Serum indices: managing assay interference. Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine [Internett]. september

- 2016;53(Pt 5):527–38. Tilgjengelig på: <http://dx.doi.org/10.1177/0004563216643557>
36. Tømmerdal AH. Differanseplott - MedTekipedia - NTNU Wiki [Internett]. MedTekipedia - NTNU Wiki. 2018 [sitert 3. mai 2019]. Tilgjengelig på: <https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/Differanseplott>
  37. Lausund S, Kjøbli E. Korrelasjonskoeffisient - MedTekipedia - NTNU Wiki [Internett]. MedTekipedia. 2018 [sitert 10. mai 2019]. Tilgjengelig på: <https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/Korrelasjonskoeffisient>
  38. Frøslie KF. Korrelasjon, Store norske leksikon [Internett]. SNL. 2018 [sitert 10. mai 2019]. Tilgjengelig på: <https://snl.no/korrelasjon>
  39. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, mfl. Desirable Biological Variation Database specifications - Westgard [Internett]. Westgard QC. 2014 [sitert 8. mai 2019]. Tilgjengelig på: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
  40. Bolann BJ, Sandberg S. Evaluering av nye laboratorieanalyser [Internett]. Tidsskrift for Den norske legeforening. 2003 [sitert 8. mai 2019]. Tilgjengelig på: <https://tidsskriftet.no/2003/02/tema-fra-forskning-til-hverdagsmedisin/evaluering-av-nye-laboratorieanalyser>
  41. Gras JM. Laboratory quality control and patient safety [Internett]. De Gruyter; 2017. Tilgjengelig på: <https://www.degruyter.com/view/product/248050>
  42. Fraser CG. Biological Variation Data for setting Quality Specifications - Westgard [Internett]. Westgard QC. [sitert 10. mai 2019]. Tilgjengelig på: <https://www.westgard.com/guest12.htm>
  43. Tømmerdal AH. BIAS for vurdering av riktighet - MedTekipedia - NTNU Wiki [Internett]. MedTekipedia. 2018 [sitert 8. mai 2019]. Tilgjengelig på: [https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/BIAS+for+vurdering+av+riktighet?fbclid=IwAR1LdDJ8jSWfNleFLwvOro4RYYFTOuj5mK\\_s-6zeeXZ5cnbr-yErV0XOz6M](https://www.ntnu.no/wiki/display/medtekipedia/BIAS+for+vurdering+av+riktighet?fbclid=IwAR1LdDJ8jSWfNleFLwvOro4RYYFTOuj5mK_s-6zeeXZ5cnbr-yErV0XOz6M)
  44. Gidske G, Sølvik UØ, Sandberg S, Kristensen GBB. Hemolysis interference studies: freeze method should be used in the preparation of hemolyzed samples. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) - De Gruyter* [Internett]. 28. august 2018;56(9):e220–2. Tilgjengelig på: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29630512>
  45. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM. Interference Testing in Clinical Chemistry: Approved Guideline. *Clinical and Laboratory Standards Institute, redaktør. Bd. 2. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. 107 s.*
  46. Delgado JA, Morell-Garcia D, Bauça JM. Hemolysis Interference Studies: The Particular Case of Sodium Ion. *EJIFCC* [Internett]. mars 2019;30(1). Tilgjengelig på: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30881272>
  47. Koseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S. Effects of hemolysis on routine biochemistry parameters. *Biochem Med* [Internett]. 15. februar 2011 [sitert 23. mai 2019];21(1). Tilgjengelig på:

[https://www.researchgate.net/publication/51852877\\_Effects\\_of\\_hemolysis\\_on\\_routine\\_biochemistry\\_parameters](https://www.researchgate.net/publication/51852877_Effects_of_hemolysis_on_routine_biochemistry_parameters)



