

Inger Jean Cooper Kjønneøy og Susanna Vold

Interferens av hemolyse ved måling av kalium og jern i plasma/serum på Advia Chemistry XPT

Effects of hemolysis interference in analysis of potassium and iron in plasma/serum on Advia Chemistry XPT

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag

Veileder: Randi Nersund, Gunhild Garmo Hov og Kristin
Gabestad Nørsett

Inger Jean Cooper Kjønnøy og Susanna Vold

Interferens av hemolyse ved måling av kalium og jern i plasma/serum på Advia Chemistry XPT

Effects of hemolysis interference in analysis of potassium and iron in plasma/serum on Advia Chemistry XPT

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag

Veileder: Randi Nersund, Gunhild Garmo Hov og Kristin Gabestad

Nørsett

Mai 2019

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Fakultet for naturvitenskap

Institutt for bioingeniørfag



NTNU

Kunnskap for en bedre verden

Forord

Oppgaven ble gitt av Avdeling for medisinsk biokjemi ved St. Olavs hospital i Trondheim som en bacheloroppgave for bioingeniørutdanning ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU). Prosjektet ble gjennomført i perioden mars til mai i 2019.

Laboratoriarbeidet ble utført ved bioingeniørutdanningens egne laboratorier og ved Avdeling for medisinsk biokjemi på St. Olavs hospital.

Vi vil takke Gunhild Garmo Hov, Randi Nersund og Kristine Bodal Solem for god medisinsk og faglig veiledning. Vi vil også takke prosessveilederen vår Kristin Gabestad Nørsett for å ha gitt oss god og konstruktiv veiledning under skriveprosessen. Vi ønsker også å takke Siri Drogset for å ha vært hjelpsom med sine kunnskaper innen statistikk.

Inger Jean Cooper

Inger Jean Cooper Kjønnøy

Susanna Vold

Susanna Vold

Trondheim, mai 2019

Sammendrag

Hemolyse betyr at intracellulære komponenter slippes ut i ekstracellulær væske fra erythrocytter, leukocyter og trombocytter. Dette er en vanlig preanalytisk feilkilde som fører til at mange prøver må tas på nytt fordi intracellulære komponenter slippes ut og påvirker konsentrasjonen av enkelte analytter i serum eller plasma. Hensikten med oppgaven var å analysere jern og kalium, to analytter som kan påvirkes av hemolyse, på Advia Chemistry XPT. Dette for å undersøke om det kan aksepteres høyere grad av hemolyse enn det som blir akseptert i dag, slik at færre prøver må avvises i laboratoriet. Problemstillingen ble å undersøke hvilken grad av hemolyse som kan aksepteres for analyse av jern og kalium på Advia Chemistry XPT.

Å lage et hemolysat er ofte nødvendig for å teste hemolyse som interferens. Metoden som ble brukt til dette formålet var osmotisk sjokk. I tillegg ble hemolysatet ristet etter nedfrysning. Forsøket ble utført to ganger. For jern ble det i tillegg utført et forsøk som ikke innebar nedfrysning av hemolysatet, kun risting.

Dersom laboratoriet velger å bruke ønsket % bias som krav for å sette en grenseverdi, ble det funnet ut at det for middels nivå av kalium kun kan tillates hemoglobinkonsentrasjoner opp til 20,94 mg/dl. Kravet om ønsket % bias ble for strengt for å sette en grenseverdi for lavt og høyt nivå av kalium. Dersom maksimum % bias benyttes kan grenseverdien settes til 59,45 mg/dl for middels nivå og 40,99 mg/dl for høyt nivå. Kravet for maksimum % bias ble for strengt til å sette en grenseverdi for målingene i lavt nivå av kalium. Målingene av jern viser at dersom laboratoriet velger å bruke ønsket % bias som krav for å sette grenseverdi, kan det tillates hemoglobinkonsentrasjoner opp til 36,58 mg/dl for lavt nivå og 93,17 mg/dl for middels nivå. For høyt nivå var alle hemoglobinverdiene innenfor kravet for ønsket % bias.

Det er ikke alltid hensiktsmessig å sette strenge grenseverdier, da det kan være nyttig for rekvirenten å få et analysesvar selv om målingene er påvirket av hemolyse. Laboratoriet må derfor bestemme hvilke grenseverdier de skal benytte for kalium og jern, og eventuelt hvilken tilleggs kommentar til rekvirenten de skal legge ved.

Abstract

Hemolysis can be defined as the release of intracellular components to the extracellular fluid from erythrocytes, leukocytes and thrombocytes. This is a normal preanalytical error which causes intracellular components to be released, something that changes the concentration of the components in serum or plasma. This leads to the rejection of many samples that has to be reobtained. The purpose of this research was to analyze concentration of iron and potassium, two analytes that can be affected by hemolysis, on Advia Chemistry XPT. This was to find out if higher levels of hemolysis than those that are currently in use, can be accepted so that fewer samples has to be rejected in the laboratory. The problem to be addressed was to assess what levels of hemolysis that can be accepted for analysis of iron and potassium on Advia Chemistry XPT.

Making a hemolysate is often necessary to test hemolysis as an interference. The method used in this study was osmotic shock. The hemolysate was in addition shaken after freezing. The experiment was performed twice. In addition, an experiment with iron that involved shaking, but no freezing, of the hemolysate was included.

If the desired % bias is set as the cut-off-value by the laboratory, it was found that a hemoglobin concentration up to 20,94 mg/dl can be accepted at the medium concentration level for potassium. The requirement for desired % bias became too strict to set a cut-off-value for the low and high concentration level of potassium. If maximum % bias is used, the cut-off-value can be set to 59,45 mg/dl for the medium concentration level of potassium and 40,99 mg/dl for the high concentration level. The requirement for maximum % bias became too strict to set a cut-off-value for the low concentration level of potassium. If the desired % bias is set as the cut-off-value by the laboratory, it was found that a hemoglobin concentration up to 36,58 mg/dl can be accepted at the low concentration level for iron and up to 93,17 mg/dl for the medium concentration level of iron. At the high concentration level for iron, all the hemoglobin values were within the requirement for desired % bias.

It is not always appropriate to generate strict cut-off-values, as it might be important for the clinician to receive a result even though the measurements are affected by haemolysis. For this reason, the laboratory has to decide which cut-off-values to use for potassium and iron, and possibly which additional comments to be forwarded to the clinician.

Liste over forkortelser

LD	Laktat dehydrogenase
AST	Aspartat aminotransferase
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
NSL	Non Stop Lab
AMS	Analyzer Management System
ANP	Analytisk Platform
DMS	Data Management Software
ISE-buffer	Ioneselektiv elektrode-buffer

Innhold

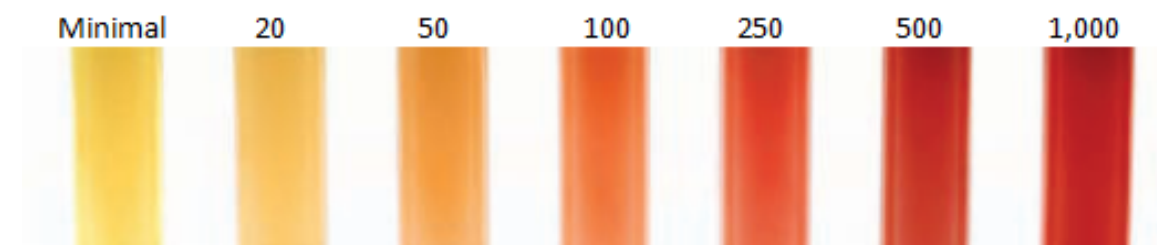
Forord	I
Sammendrag	II
Abstract	III
Liste over forkortelser	IV
1.0 Innledning.....	1
1.1 Hemolyse som interferens	1
1.2 Informasjon om hemolyse fra produsenter.....	2
1.3 Kalium	3
1.4 Jern	3
1.5 Metoder for å lage hemolyse	3
1.6 Advia Chemistry XPT	5
1.7 Serumindeks	5
1.9 Problemstilling	6
2.0 Materiale og metode.....	7
2.1 Prinsipper for måling av jern, kalium og hemolyse på Advia Chemistry XPT	7
2.2 Prinsipp for måling av hemoglobin på HemoCue Plasma/Low Hb Photometer.....	8
2.3 Prinsipp for måling av hemoglobin på Sysmex XN-1000	8
2.4 Prøvemateriale, kalibrator, kontroll, reagenser og utstyr	9
2.5 Fremgangsmåte for tillaging av hemolysat og måling av hemoglobin, kalium og jern i prøver	9
2.6 Statistiske beregninger	10
3.0 Resultater.....	12
3.1 Sammenheng mellom hemolysegrad og kaliumkonsentrasjon i prøver analysert på Advia Chemistry XPT	12
3.2 Sammenheng mellom hemolysegrad og jernkonsentrasjon i prøver analysert på Advia Chemistry XPT.....	14
3.3 Sammenheng mellom hemolysegrad og jernkonsentrasjon i prøver som var hemolysert med risting og analysert på Advia Chemistry XPT.....	16
3.4 Grenseverdier for hemoglobinkonsentrasjon ved analyse av kalium på Advia Chemistry XPT	18
3.5 Grenseverdier for hemoglobinkonsentrasjon ved analyse av jern på Advia Chemistry XPT	19
3.6 Grenseverdier for hemoglobinkonsentrasjon ved analyse av jern på Advia Chemistry XPT i prøver som var hemolysert ved risting	20
3.7 Metodesammenligning mellom HemoCue og Advia Chemistry XPT.....	21
4.0 Diskusjon.....	24
4.1 Metodevalg for tillaging av hemolysat.....	24

4.2 Interferens av hemolyse ved måling av kalium i serum- og plasmaprøver.....	25
4.3 Interferens av hemolyse ved måling av jern i serum- og plasmaprøver.....	27
4.4 Interferens av hemolyse ved måling av jern i serum- og plasmaprøver som ble hemolysert ved risting	29
4.5 Undersøkelse av Advia Chemistry XPT sin riktighet i forhold til HemoCue ved analyse av hemoglobin	30
4.6 Hvordan håndtere analysesvar fra en hemolysert prøve?.....	32
4.7 Konklusjon	33
5.0 Referanser.....	34
6.0 Vedlegg	36
Vedlegg 1: Prosedyre for oppstart, bruk og vedlikehold på Advia Chemistry XPT.....	36
Vedlegg 2: Prosedyre for serumindeks på Advia Chemistry XPT.....	37
Vedlegg 3: Pakningsvedlegg for HemoCue	40
Vedlegg 4: Verdier for tillaging av hemolysatfortynninger til forsøk 1	41
Vedlegg 5: Verdier for tillaging av hemolysatfortynninger til forsøk 2	42
Vedlegg 6: Grenseverdier for hemoglobinkonsentrasjon ved måling på kalium og jern.....	43
Vedlegg 7: Sammendrag fra regresjonsanalyse gjort i Excel	48
Vedlegg 8: T-test utført for metodesammenlikning av Advia Chemistry XPT og HemoCue	48
Vedlegg 9: Rådata fra forsøk 1	49
Vedlegg 10: Rådata fra forsøk 2	65
Vedlegg 11: Rådata fra der prøver ble hemolysert med risting	73

1.0 Innledning

1.1 Hemolyse som interferens

Hemolyse betyr at intracellulære komponenter slippes ut i ekstracellulær væske fra erythrocytter, leukocytter og trombocytter. Erythrocyttene slipper blant annet ut hemoglobin, som farger serum eller plasma rødt. Etter sentrifugering av en hemolysert prøve kan det observeres rødfarget plasma eller serum dersom hemoglobinkonsentrasjonen er på 10-30 mg/dl eller mer. Figur 1 illustrerer dette. Granulocytter og trombocytter inneholder ikke hemoglobin, og gir derfor ikke synlig hemolyse (Thomas, 2002) (Husøy, 2014).



Figur 1: Figuren illustrerer ulike grader av hemolyse i serum-/plasmaprøver. Verdiene over rørene er de omtrentlige konsentrasjonene av hemoglobin målt i mg/dl (Ally, 2015).

Hemolyse skyldes enten *in vivo*-hemolyse eller *in vitro*-hemolyse ut ifra om hemolysen har oppstått henholdsvis inni pasientens kropp eller utenfor. *In vivo*-hemolyse kan skyldes antistoffer, giftstoffer, medikamenter, enzymdefekter, arvelige tilstander og infeksjoner. *In vitro*-hemolyse kan forekomme under eller etter prøvetaking (Thomas, 2002). Under prøvetaking kan for eksempel bruk av tynne kanyler, bruk av store vakuummør og dårlig fylling av rør gi hemolyse (Husøy, 2014). Det kan også oppstå hemolyse dersom prøven kommer i kontakt med alkohol på huden til pasienten som følge av desinfeksjon (Turgeon, 2012). Etter prøvetaking kan kraftig risting, for eksempel under transport eller ved sending av prøve i rørpost, kraftig sentrifugering, resentrifugering, utsettelse for sterk varme eller kulde gi hemolyse (Husøy, 2014).

Hemolyse er en vanlig preanalytisk feilkilde, og fører til at mange prøver må tas på nytt. I en medisinsk studie utført ved Universitetssykehuset i Padova ble det funnet at 60 % av prøver som blir avvist har synlig hemolyse. Ifølge dette studiet er 3,3 % av alle prøver som sendes til laboratoriet hemolyserte, og kun 3,2 % av disse skyldes *in vivo*-hemolyse (Carraro, Servidio,

& Plebani, 2000). Hemolyse påvirker flere analytter enn noen annen interferens (Dimeski, 2008). Hemolyserte prøver er uegnet for flere kjemiske analyser, fordi komponenter som finnes inni cellene slippes ut og øker konsentrasjonen av de i serum eller plasma. Hemolyse kan også senke konsentrasjonen av analytter det finnes mye av ekstracellulært, men lite av intracellulært. Det kan forekomme økning av konsentrasjoner dersom den intracellulære konsentrasjonen er mer enn 10 ganger den ekstracellulære konsentrasjonen. Det gjelder særlig ved analyse av kalium, laktat dehydrogenase (LD) og aspartat aminotransferase (AST) (Thomas, 2002). Hemoglobin slippes også ut når erythrocytter lyses, og kan interferere direkte med kjemiske reaksjoner som benyttes for å analysere en bestemt analytt eller ved at hemoglobinet farge interfererer med fotometriske analyser. Hemoglobin absorberer lys ved 415, 540 og 570 nm, og fører til en falsk økning i absorbans, og dermed også konsentrasjon, når en analytt måles ved disse bølgelengdene (Thomas, 2002) (Heireman et al., 2017) (Turgeon, 2012). Interferens kan altså føre til måling av falske verdier, som igjen kan medføre tilleggsundersøkelser av pasienten, feil diagnose og feil behandling (Dimeski, 2008).

1.2 Informasjon om hemolyse fra produsenter

95 % av alle laboratorier har alarmgrenseverdier for hemolyse som er anbefalt av produsenten. Informasjonen fra produsentene er derfor avgjørende for om hemolyserte prøver blir behandlet riktig i laboratoriene (Farrell & Carter, 2016). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) er en frivillig organisasjon som utvikler standarder og retningslinjer for laboratorier (Clinical and Laboratory Standards Institute, n.d). Retningslinjene fastslår at prosedyrer bør dokumentere konsentrasjonen av hemoglobin og analytten det analyseres på, samt bias. De anbefaler også at testing av interferens bør utføres ved to ulike konsentrasjonsnivåer av analytten, samt at det bør måles på hemoglobinkonsentrasjoner opptil 1000 mg/dl. CLSI har oppgitt konsentrasjoner av ulike analytter det kan være aktuelt å utføre hemolyse-tester på.

I dag er det likevel en del produsenter som ikke oppgir hvilke konsentrasjoner av en analytt det er målt hemolyse på. Det er derfor vanskelig å vurdere om hemolyse-testene er utført på klinisk relevante verdier og om de gjelder for rutineprøver i laboratoriene. En del produsenter oppgir heller ikke at de har testet på to ulike nivåer, noe som kan føre til at betydningen av hemolyse ved andre konsentrasjoner overses. Det er viktig å teste flere nivåer da hemolyse som interferens kan være avhengig av analyttkonsentrasjonen. En del produsenter tester heller

ikke hemoglobinverdier opp mot 1000 mg/dl. Dette kan føre til misvisende informasjon i prosedyrene, da enkelte analytter kan bli påvirket av høye hemoglobinverdier, men ikke lave verdier (Farrell & Carter, 2016).

1.3 Kalium

Kalium er det kationet det er mest av intracellulært. I erythrocytter er konsentrasjonen rundt 105 mmol/l, mens ekstracellulært er det rundt 4 mmol/l kalium. (Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi, 2016). Kalium analyseres ved vann/elektrolytt- og syre/base-forstyrrelser, utredning av hypertensjon og nyresvikt, kontroll av behandling med diuretika og medikamenter som reduserer utskillelse av kalium via nyrene (Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi, 2016). Ved muskelarbeid under prøvetaking eller hemolyse vil kalium lekke ut av erythrocyttene, og gi falsk forhøyede kaliumkonsentrasjoner (Øye & Brørs, 2018). Referanseområde for kalium ligger på 3,5 – 4,6 mmol/l for plasma og serum (St. Olavs Hospital, u.d).

1.4 Jern

Det meste av jernet i kroppen finnes i hemoglobinet i erythrocyttene. Resten foreligger som ferritin (20-30 %), myoglobin (3-5 %) og enzymer (0,2 %). Serumjern er det jernet som er bundet til proteinet transferrin. Når hemoglobinet brytes ned til jern er det makrofagene som resirkulerer jernet og de er derfor den viktigste jernkilden (Thue, 2016). Jern måles for å beregne transferrinmetningen ved utredning av jernoverskudd, jernbelastningstest og ved kontroll av behandling med jernkelator. Jern måles også ved intoksikasjon som følge av for høyt inntak av jerntabletter (Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi, 2019). Hemolyse påvirker i liten grad analysering av jern i serum ved bruk av andre metoder enn atomabsorpsjonsspektrofotometri, siden jern ikke frigis fra hem i sur løsning. Tydelig hemolyserte prøver skal likevel avvises (Burtis & Bruns, 2015a). Referanseområde for personer over 18 år er 9 -34 µmol/l (St. Olavs Hospital, u.d).

1.5 Metoder for å lage hemolyse

Ved testing av hemolyse som interferens er det ofte nødvendig å lage et hemolysat. Det finnes tre grunnleggende metoder for å danne hemolyse: osmotisk sjokk med vaskede erythrocytter, frysing og tining av fullblod eller å lysere celler ved gjentatte nålaspirasjoner (Dimeski, 2008).

Metoden for osmotisk sjokk går ut på at pakkede erythrocytter vaskes med isoton saltvannsløsning (Meites, 1973). Ved vasking fjernes 95-99 % av supernatanten, som blant annet inneholder plasmaproteiner, noen leukocyter, trombocytter, elektrolytter og celledbris (Schmidt, Refaai, Kirkley, & Blumberg, 2016). Deretter fortynnes cellene i et bestemt volum vann og fryses ned (Meites, 1973). Når erythrocytter løses i en hypotonisk løsning vil vann diffundere inn i cellene, slik at de svulmer opp og sprekker (Kierulf, 2019). Løsningen sentrifugeres etter tining. Supernatanten fjernes og hemoglobinkonsentrasjonen i denne måles med en godkjent metode. Løsningen tilsettes deretter i ikke-hemolysert serum eller plasma. Det bør skje en minst mulig fortynning av serumet når hemoglobinet tilsettes, fordi det er viktig at løsningen likner prøver hvor utfordrende blodprøvetaking har gitt hemolyse (Meites, 1973). Metoden er uegnet til å vurdere interferensen fra celledbris og andre intracellulære komponenter enn hemoglobin.

Det kan også benyttes en metode som går ut på å fryse og tine fullblod. Metoden følger deretter fremgangsmåte for metoden for osmotisk sjokk. Det å fryse og så tine prøver er den letteste måten å lage hemolyse på (Lippi, 2012) (Dimeski, 2008). Fullblod er å foretrekke, da vaskede erythrocytter ikke reflekterer lysing av andre blodceller. Leukocyter og trombocytter ødelegges betydelig dersom de lagres i -20 °C i 1 time, mens antall erythrocytter synker med kun 21 % av opprinnelig verdi. Ved å fryse fullblod ned til -20 °C i 2 timer vil antall erythrocytter reduseres med 85 % og antall leukocyter reduseres med omkring 60 %. Antall erythrocytter synker med 90 % og antall leukocyter synker med 84 % ved lagring i -80 °C i 2 timer (Lippi, 2012).

En annen fremgangsmåte er å føre celler gjennom en nål slik at de lyserer. Cellene vil lysere progressivt og hemoglobinkonsentrasjonen blir dermed gradvis økende. Metoden kan brukes til å lage løsninger med ulik grad av hemolyse. Denne metoden likner mest på den patologiske prosessen som skjer ved hemolyse, men metoden krever mye trening dersom det skal lages løsninger med ulik grad av hemolyse (Dimeski, 2008).

1.6 Advia Chemistry XPT

Advia Chemistry XPT, illustrert i Figur 2, er et klinisk kjemiinstrument som kan kjøre 59 ulike analyser og har en throughput på 2400 tester per time. Prøvematerialet kan være plasma, serum, urin, fullblod og spinalvæske. I tillegg sjekker instrumentet kvalitativt for interferensene hemolyse, lipemi og ikterus. Det bruker fotometrisk, turbidimetrisk og potensiometrisk analyseteknologi (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., 2014).



Figur 2: Figuren viser instrumentet Advia Chemistry XPT (Siemens, 2019).

Det er toveiskommunikasjon mellom instrumentet og labdatasystemet, og informasjonen passerer gjennom en rekke programmer før den når instrumentet. Bestillingen kommer fra Non Stop Lab (NSL) og går herifra videre til Analyser Management System (AMS) via onlinekommunikasjonssystemet Analytisk Plattform (ANP). Fra AMS går bestillingen til Data Management Software (DMS), som er det programmet instrumentet henter bestillingen fra. Når instrumentet har analysert prøven og fått et resultat blir dette validert i AMS og deretter sendt tilbake til NSL. I AMS kan resultater stoppes dersom de ikke kan valideres (Vedlegg 1).

1.7 Serumindeks

Serumindeks er en indikasjon på prøvens egenfarge og kan beregnes av Advia Chemistry XPT. Ved hjelp av serumindeks kan graden av interferens som følge av hemoglobin, bilirubin og turbiditet bestemmes. Analysen bidrar til sikringen av at alle prøver som har unormal egenfarge behandles på lik måte. I beregningen benyttes ulike faktorer for å regne om de avleste absorbansverdiene til numeriske verdier.

Tabell 1: Faktorverdier brukt til beregning av hemolysegrad på Advia Chemistry XPT (Vedlegg 2).

Faktor A	Faktor B	Faktor C	Faktor D	Faktor E	Faktor F
10601	3942,75	49,809	1,156	0,182	2,174

Det blir brukt ulike kalibreringsfaktorer for å regne om absorbanverdiene, som leses av i instrumentet, til numeriske verdier som deretter kan gjøres om til en serumindeks-grad ved hjelp av sammenligning med grenseverdier. Det er oppgitt ulike faktorverdier fra A til F og disse brukes i beregningene (Tabell 1). Formelen for å korrigere hemolyse for eventuell lipemi er $ab_{\text{Hemolyse}} - \text{faktor D} * ab_{\text{lipemi}}$. Deretter kan absorbansen til hemolyse-målingen regnes om ved å ta $\text{faktor B} * (ab_{\text{Hemolyse}} - \text{faktor D} * ab_{\text{lipemi}})$. Når de numeriske verdiene er regnet ut sammenlignes de med grenseverdier for å gjøre de om til serumindeks-grad som går fra + til ++++ (Vedlegg 2). Serumindeksgrad med tilhørende grense for hemolyse er vist i Tabell 2. Grenseverdiene er programmert inn i Advia Chemistry XPT av Siemens. Laboratoriene kan selv definere grenseverdiene etter eget ønske.

Tabell 2: Grenseverdier som brukes til konvertering av numeriske verdier til serumindeks-grad (Vedlegg 2).

Serumindeks-grad	-	+	++	+++	++++
Hemolyse (mg/dl)	0	45	140	235	445

1.9 Problemstilling

I dag blir prøver med hemoglobinkonsentrasjon på over 45 mg/dl for kalium og jern stoppet på instrumentet Advia Chemistry XPT. Prøvene til analysing av jern må da tas på nytt, mens prøver til kalium tas på nytt når hemoglobinkonsentrasjonen overskrider 140 mg/dl. Disse grensene har usikker dokumentasjon og det kan hende at høyere grader av hemolyse kan tillates og dermed at færre prøver må avvises. I dette prosjektet skulle det derfor undersøkes hvilken grad av hemolyse som kan aksepteres for analyse av jern og kalium på Advia Chemistry XPT.

2.0 Materiale og metode

2.1 Prinsipper for måling av jern, kalium og hemolyse på Advia Chemistry XPT

Prinsippet for å måle hemolyse i serum-/plasmaprøver er at Advia Chemistry XPT (Siemens Healthineers, Japan) måler absorbansen av farge, forårsaket av hemolyse, i prøver som på forhånd er tilsatt saltvann. Absorbans for hemolyse avleses ved bølgelengdene 571 nm og 596 nm, og ved hjelp av faktorverdier blir absorbansen omgjort til numeriske verdier, som sier noe om hemoglobinkonsentrasjonen i en prøve. De numeriske verdiene konverteres deretter til en serum-indeksgrad, som ved sammenligning med bestemte grenseverdier sier noe om graden av hemolyse i prøven. Hemolyse-indeksen korrigeres for lipemi (Vedlegg 2).

For å undersøke om graden av hemolyse påvirker målingen av kalium og jern på Advia Chemistry XPT må det i tillegg analyseres på disse analyttene. Advia Chemistry XPT benytter ioneselektive elektroder for å måle kalium i serum, plasma og urin. Analysemetoden går ut på å måle indirekte potensiometri. Elektrodene som benyttes er selektive for kaliumioner og følger Nernst ligning (Jacobsen, 2016). Metoden brukes for kvantitativ bestemmelse av kalium *in vitro*. Prøven blir blandet med en ioneselektiv elektrode-buffer (ISE-buffer) for at løsningen skal få en konstant pH og ionestyrke. Det skjer en endring i det elektriske potensialet når en prøve passerer elektroden, og dette potensialet blir sammenliknet med en referanseelektrode for å beregne riktig verdi av analytten. Metoden er lineær for kalium-konsentrasjoner mellom 1,0-10,0 mmol/l i serum og plasma. Produsenten oppgir at hemolyse må unngås, uten å si noe om hemoglobinkonsentrasjoner som kan godtas (Siemens Healthcare Diagnostics, 2016).

For å måle jern på Advia Chemistry XPT frigjøres Fe^{3+} fra transferrin. Deretter blir Fe^{3+} redusert til Fe^{2+} ved hjelp av askorbinsyre, og danner et kompleks med ferrozin. Ferrozin er en sensitiv jernindikator og komplekset som dannes med Fe^{2+} er en kromofor som absorberer lys ved 571 nm og 658 nm. Analysen er lineær for jernkonsentrasjoner fra 2-1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ for serum og plasma. Det er viktig å unngå bruk av hemolyserte prøver da det kan skape interferens med analytten (Siemens Healthcare Diagnostics, 2017).

2.2 Prinsipp for måling av hemoglobin på HemoCue Plasma/Low Hb Photometer

HemoCue Plasma/Low Hb Photometer (HemoCue AB, Ängelholm, Sverige) er designet for å måle på lave verdier av hemoglobin i plasma- og serumprøver, vannløsninger eller i lagrede erythrocytter. Utseende til instrumentet er vist i Figur 3. Instrumentet har et måleområde på 30-3000 mg/dl. Metoden er kun beregnet for *in vitro*-diagnostikk, og benyttes hovedsakelig ved undersøkelse av intravaskulær hemolyse og ved kvalitetssikring av blodprodukter.



Figur 3: HemoCue Plasma/Low Hb Photometer (Hemocue, 2015).

20 μ l prøve suges opp i bestemte mikrokyvetter. I mikrokyvetten vil natriumdeoxykholat hemolysere erythrocyttene slik at hemoglobin frigjøres. Hemoglobinet omdannes til methemoglobin ved hjelp av natriumnitritt. Methemoglobin reagerer deretter med natriumazid og danner azidmethemoglobin. Fotometeret måler transmittans og beregner absorbanse og hemoglobinkonsentrasjon. Avlesningene utføres ved 570 og 880 nm.

Hemoglobinkonsentrasjonen er direkte proporsjonal med absorbanse (Vedlegg 3).

2.3 Prinsipp for måling av hemoglobin på Sysmex XN-1000

Sysmex XN-1000 (Sysmex, Japan) er et hematologiinstrument som bruker cyanmethemoglobinmetoden for å måle konsentrasjonen av hemoglobin i prøven. Reagenset som brukes heter cyanidfrinatriumdodecylsulfat (SLS-reagens) og dette lyserer erythrocytter og leukocyttene slik at hemoglobinet blir fritt. Hem-gruppen oksideres og SLS-reagenset kan binde seg til hem-gruppen og danne et stabilt, farget kompleks som kan måles fotometrisk. Absorbanse som måles er proporsjonal med hemoglobinkonsentrasjonen i prøven. SLS-reagenset bidrar også til å redusere interferens som følge av lipemiske prøver eller leukocytose (Sysmex, n.d).

2.4 Prøvemateriale, kalibrator, kontroll, reagenser og utstyr

For å sentrifugere blodprøver og erythrocytter som skulle vaskes ble Rotina 35-sentrifuge fra Hettich Zentrifugen benyttet. Sysmex XN-1000 ble benyttet til måling av hemoglobinkonsentrasjon i blodprøven og det ufortynnede hemolysatet. For å måle absorbanse av hemoglobin i serum-/plasma prøver tilsatt hemolysat, samt konsentrasjonen av kalium og jern, ble Advia Chemistry XPT fra Siemens brukt. I tillegg ble hemoglobinkonsentrasjonen i prøvene fra forsøk 1 målt på HemoCue Plasma/Low Hb Photometer (HemoCue AB, Ängelholm, Sverige).

NaCl (0,9 %) (Ragnhild Bach, Trondheim, Norge) ble brukt for å vaske erythrocyttene og fortynne hemolysatet. Kontrollene som ble benyttet på Advia Chemistry XPT var Autonorm Clin Chem Liq L2 med lotnummer 1711918 (SERO) og Autonorm Human Liquid L2 med lotnummer 1703836 (SERO).

Prøverør som ble benyttet til å fremskaffe blod for tillaging av hemolysat var Li-heparin-rør fra BD Vacutainer REF 368884. Lotnummer var 8128554.

2.5 Fremgangsmåte for tillaging av hemolysat og måling av hemoglobin, kalium og jern i prøver

Forsøket ble utført to ganger. Det ble tatt blodprøver av to frivillige og friske personer på hvert sitt hepariniserte rør uten gel (4 ml). En av blodprøvene ble brukt til forsøk 1 og den andre til forsøk 2. Blodprøvene og forsøkene ble tatt og utført på ulike dager. Blodet ble helt over i et spissbunnet sentrifugerør (12 ml) og sentrifugert på 2200 x g i ti minutter. Etter sentrifugering ble plasma pipettert bort og erstattet med NaCl (0,9 %, 4 ml). Prøven ble så sentrifugert igjen på 2200 x g i ti minutter. Deretter ble erythrocyttene i prøven vasket med saltvann fem ganger til. Etter siste sentrifugering ble saltvannet erstattet med ionebyttet vann (4 ml). Prøven ble så fryst ned i to timer i -80 °C. Deretter ble prøven tint, ristet kraftig i ett minutt og sentrifugert i 30 minutter på 2200 x g. Etter sentrifugering ble supernatanten overført til et eget rør og hemoglobinkonsentrasjonen ble målt på Sysmex XN-1000.

Ulike volum av hemolysatet ble fortynnet med saltvann (0,9 %) for å få løsninger på 1 ml med bestemte hemoglobinkonsentrasjoner. Vedlegg 4 viser hvilke volum hemolysat og saltvann som ble blandet sammen for å oppnå de ulike hemoglobinkonsentrasjonene i forsøk

1. Vedlegg 5 viser verdier brukt i forsøk 2. For kalium ble fortynninger med hemoglobinkonsentrasjon opp til 150 mg/dl brukt i forsøk 1 og opp til 120 mg/dl i forsøk 2, mens for jern ble det brukt konsentrasjoner opp mot 300 mg/dl i forsøk 1 og 120 mg/dl i forsøk 2. 100 µl av fortynningene ble pipettert over i sine respektive rør med 900 µl serum. Nullprøvene ble kun tilsatt 100 µl saltvann. Serum med ulike konsentrasjoner av jern og kalium ble på forhånd tillaget og fordelt i rør. Jernkonsentrasjonen i serum var på omtrent 5 µmol/l på lavt nivå og 27 µmol/l på høyt nivå. Kaliumkonsentrasjonen i serum var på omtrent 3 mmol/l på lavt nivå og 5 mmol/l på høyt nivå.

Rørene med serum og 100 µl fortynning ble korket og blandet forsiktig. De ble analysert på Advia Chemistry XPT, hvor konsentrasjonen av kalium og jern, samt hemolyse og lipemi, ble målt. Det ble målt duplikater på hver prøve i forsøk 1 og triplikater i forsøk 2. Nullprøvene ble målt i fire paralleller i forsøk 1 og seks paralleller i forsøk 2. Resultatene ble vist på instrumentet og manuelt ført inn i et Excel-dokument. Laboratoriet analyserer kalibratorer og kontroller jevnlig på Advia Chemistry XPT, så de ble ikke analysert sammen med prøvene. Hemoglobinkonsentrasjonen i prøver fra forsøk 1 ble også målt på HemoCue.

Det ble også utført et forsøk, hvor prøvene ikke ble fryst ned, men kun ristet i 1 minutt og sentrifugert. Ristingen og sentrifugeringen ble gjentatt en gang til. Resultatene fra forsøket der prøver ble hemolysert med risting og forsøk 1 og 2 ble vurdert hver for seg.

2.6 Statistiske beregninger

For å undersøke om middelverdier beregnet mellom replikater kunne godtas og brukes i videre beregninger, ble %-avvik beregnet for prøver analysert i duplikater og % CV for prøver analysert i flere enn to replikater.

Formel for %-avvik: $\frac{\text{parallell 1} - \text{parallell 2}}{\text{gjennomsnittet av parallellene}} * 100 \%$ (Berge, 2016a).

Formel for % CV: $\frac{SD * 100 \%}{\text{gjennomsnitt}}$ (Berge, 2016b).

For å bestemme %-endring mellom konsentrasjonen av jern og kalium i nullprøvene og prøvene ble % bias beregnet med utgangspunkt i verdier skrevet inn i Excel. Formelen som ble benyttet var % bias: $\frac{|\text{sann verdi} - \text{målt verdi}|}{\text{sann verdi}} * 100 \%$ (Anne Marie Helmenstine Ph.D, 2018).

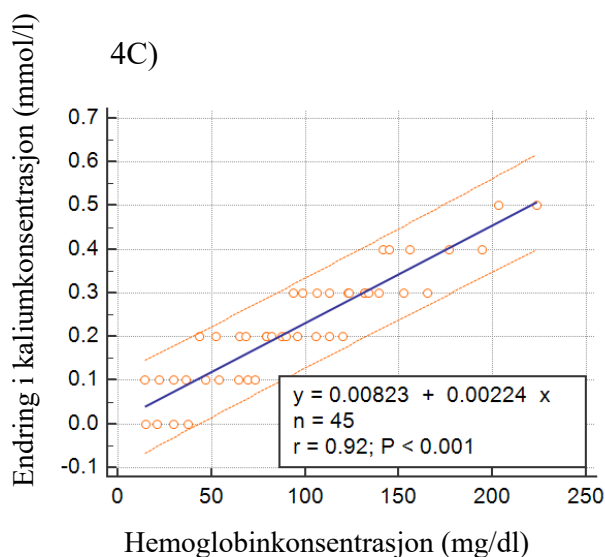
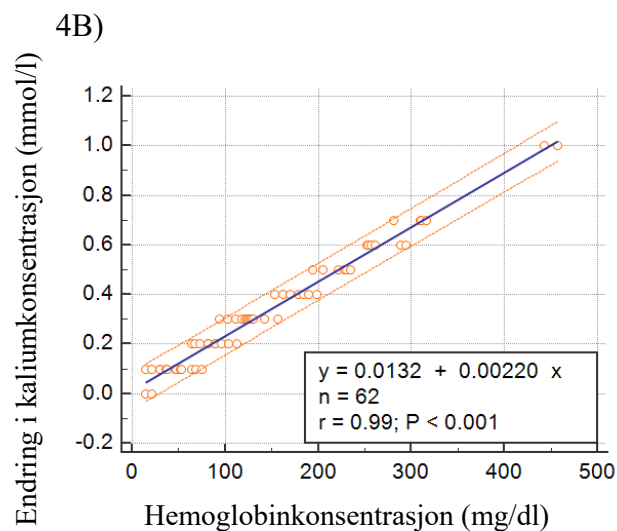
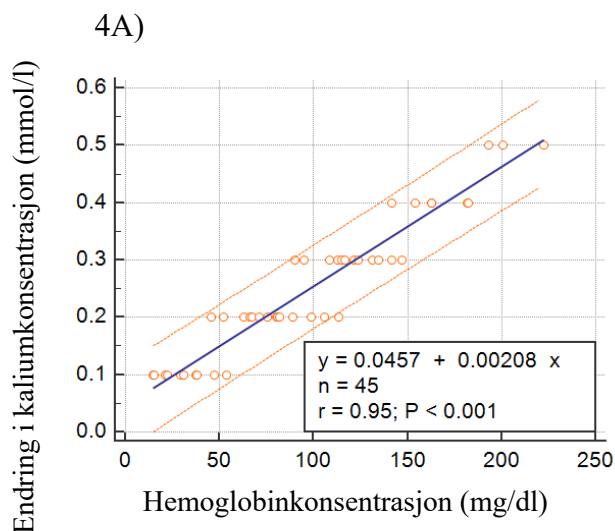
Det ble også laget grafer som viser sammenhengen i differansen mellom konsentrasjonen av kalium i nullprøve og prøve, og differansen mellom hemoglobinkonsentrasjonen i nullprøve og prøve. Hemoglobinkonsentrasjonene ble målt på Advia Chemistry XPT. Det samme ble gjort for jernanalysene. For de samme tallene ble det utført lineær regresjonsanalyse og laget et 95 % prediksjonsintervall rundt regresjonslinjen. Grafene og analysene ble laget og utført i MedCalc versjon 18.11.6. Regresjonsanalyse og framstilling av prediksjonsintervall var en innebygd funksjon i programmet. Sammen med de statistiske beregningene ble det oppgitt en p-verdi, og det er vanlig å sette et krav om at den skal være mindre enn 0,05 (Løvås, 2013).

Metodesammenligning ble utført for å sammenlikne hemoglobinmålinger fra Advia Chemistry XPT og HemoCue Plasma/Low Hb Photometer. Det ble gjort for å kunne si noe om systematiske og konstante forskjeller mellom metodene. Ved bruk av Excel ble det laget korrelasjonsdiagram, differanseplot, samt utført regresjonsanalyse og t-test for hemoglobinmålinger gjort på begge instrumentene.

3.0 Resultater

3.1 Sammenheng mellom hemolysegrad og kaliumkonsentrasjon i prøver analysert på Advia Chemistry XPT

For å undersøke i hvilken grad hemolyse hadde innvirkning på kaliumkonsentrasjonen i serum-/plasma prøver ble hemoglobin- og kaliumkonsentrasjonen målt i flere prøver med ulik grad av hemolyse. Målingene ble gjort på Advia Chemistry XPT. Sammenhengen mellom hemoglobin og kaliumkonsentrasjon ble undersøkt med regresjonsanalyse og det ble laget et prediksjonsintervall i MedCalc for 45 prøver i lavt og høyt konsentrasjonsnivå, og for 62 prøver i middels konsentrasjonsnivå. Verdiene som ble brukt for lavt og høyt nivå er fra både forsøk 1 og 2, mens for middels nivå er det bare brukt verdier fra forsøk 1. Hvert nivå inneholder verdier fra to analyseserier. Lavt nivå vil si at nullprøvene, altså prøvene uten hemoglobin-tilsetning, hadde gjennomsnittlige kaliumkonsentrasjoner på 2,9 mmol/l for begge analyseseriene. For middels nivå var kaliumkonsentrasjonen for nullprøvene i gjennomsnitt 3,9 mmol/l for begge analyseseriene. Gjennomsnittlige kaliumkonsentrasjoner i nullprøver målt i høyt nivå var 4,6 mmol/l for den ene analyseserien og 4,7 mmol/l for den andre analyseserien.



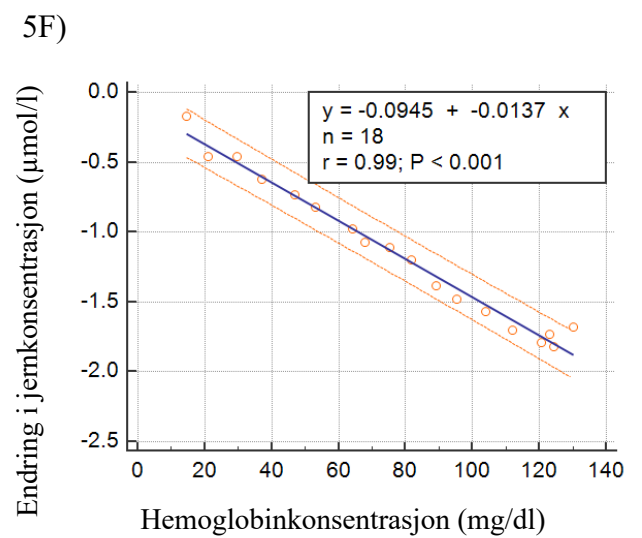
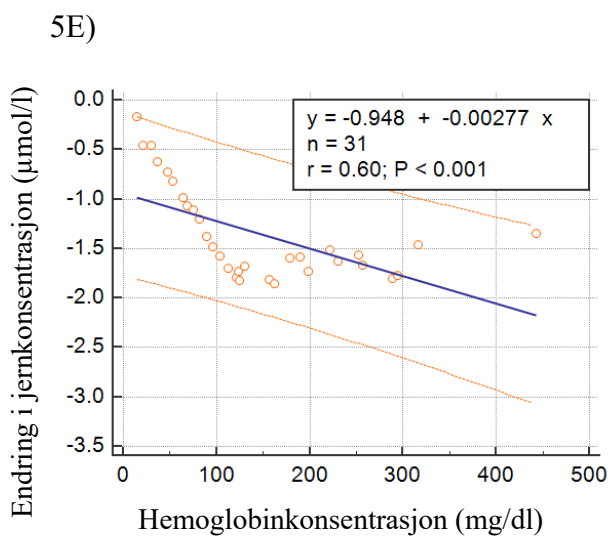
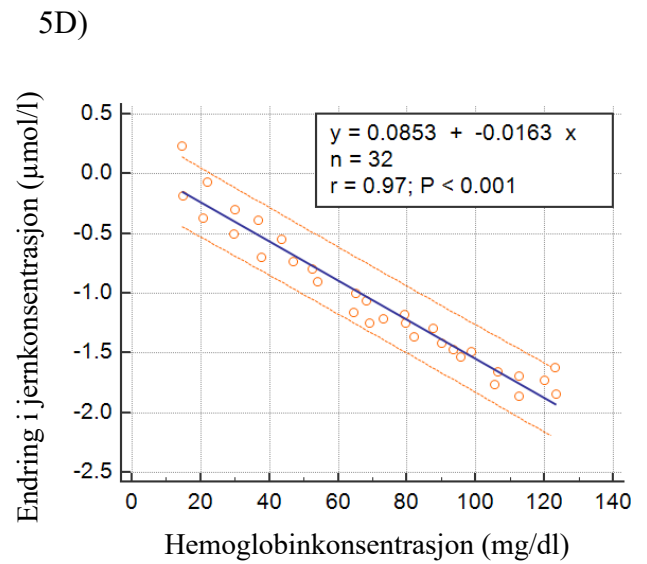
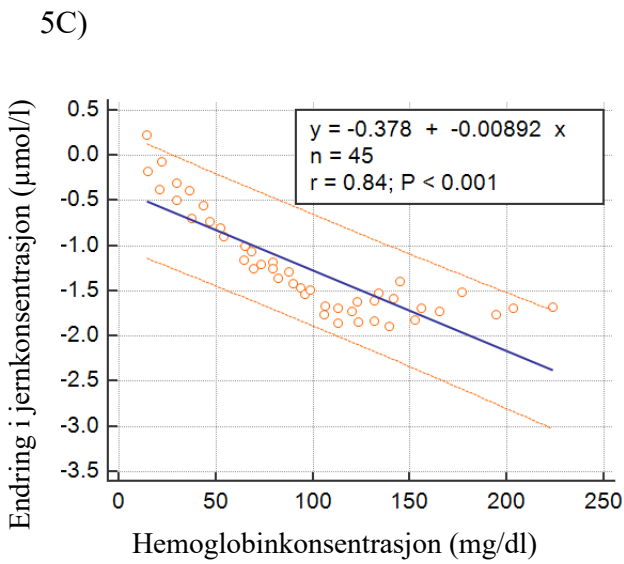
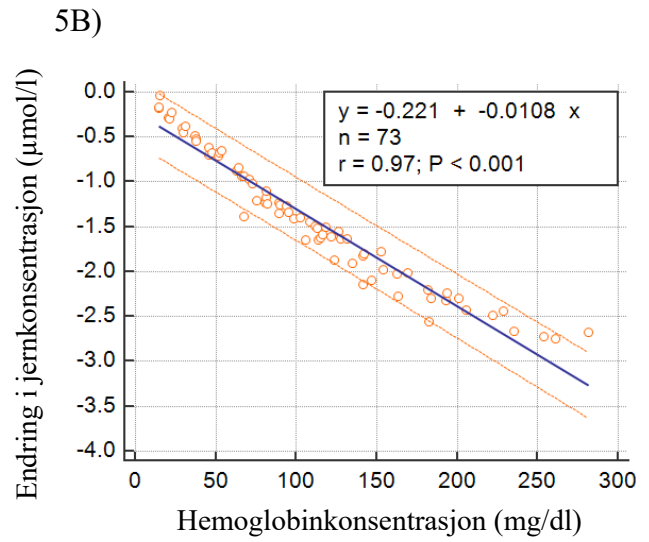
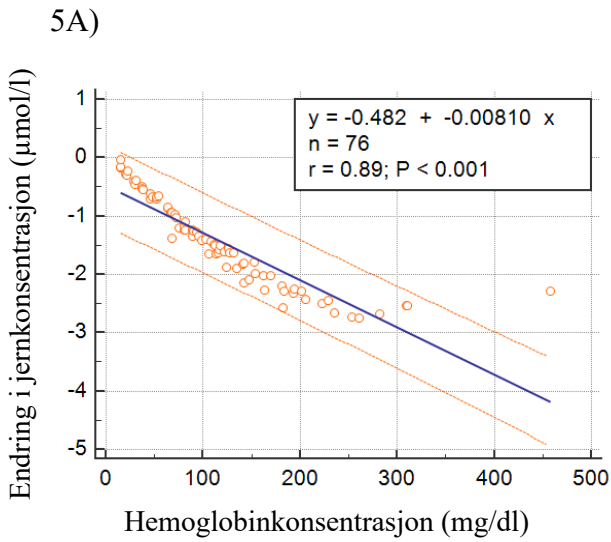
Figur 4A, 4B og 4C: Grafene viser sammenhengen mellom hemoglobinkonsentrasjon og kaliumkonsentrasjon i prøvene. X-aksen viser differansen mellom hemoglobinkonsentrasjon (mg/dl) i nullprøve og prøver. Y-aksen viser differansen mellom kaliumkonsentrasjonen (mmol/l) i nullprøve og prøver. Regresjonslinjen (blå) og 95 % prediksjonsintervall (oransje linjer) er vist. Det er vist grafer for både lavt nivå (4A), middels nivå (4B) og høyt nivå av kalium (4C). For hver av grafene er formelen for regresjonslinjen ($y = ax + b$) vist. n angir antall prøver som er med i beregningene, r angir korrelasjonskoeffisienten og P angir p -verdien. For å kunne forkaste nullhypotesen uten å risikere å gjøre feil, er det vanlig å sette et krav til at p -verdien skal være mindre enn 0,05 (Løvås, 2013).

Figur 4A viser at det er en lineær sammenheng mellom hemoglobinkonsentrasjon og endring i kaliumkonsentrasjon i prøvene med lavt nivå av kalium. Korrelasjonen er sterk da korrelasjonskoeffisienten (r) er 0,95. Siden p -verdien er under 0,001 tyder det på at korrelasjonen er statistisk signifikant. Ved perfekt korrelasjon er r -verdien lik 1 (Frøslie, 2018). Prediksjonsintervallet sier noe om hvor det kan forventes at de neste 95 % målingene

ligger. Dersom hemoglobinkonsentrasjonen i en prøve er kjent kan det forventes en kaliumkonsentrasjon innenfor prediksjonsintervallet med en 95 % sikkerhet. Rådata fra Figur 4A er vist i Tabell 7 og 8 i Vedlegg 9, og Tabell 23 og 24 i Vedlegg 10. Figur 4B viser at det er en sterk korrelasjon mellom endring i kaliumkonsentrasjon og hemoglobinkonsentrasjon for middels nivå av kalium, da r-verdien er 0,99 og p-verdien er mindre enn 0,001. Det er en mindre sterk korrelasjon for høyt nivå av kalium enn for de andre nivåene, men sammenhengen mellom endring i kalium og hemoglobin er fortsatt veldig god. Rådata fra Figur 4B er vist i Tabell 15, 16, 19 og 20 i Vedlegg 9. Sammenhengen kan ses i figur 4C, hvor r-verdien er 0,92 og p-verdien er mindre enn 0,001. Rådata fra Figur 4C er vist i Tabell 11 og 12 i Vedlegg 9, og Tabell 27 og 28 i Vedlegg 10.

3.2 Sammenheng mellom hemolysegrad og jernkonsentrasjon i prøver analysert på Advia Chemistry XPT

Det ble undersøkt i hvilken grad hemolyse innvirket på jernkonsentrasjonen i serum-/plasmaprøver. I likhet med kaliumprøvene ble det målt hemoglobin- og jernkonsentrasjon i prøver med ulik grad av hemolyse på Advia Chemistry XPT. Sammenhengen mellom hemoglobin og konsentrasjonen av jern ble undersøkt med lineær regresjonsanalyse og det ble laget et prediksjonsintervall i MedCalc for 76 prøver med jernkonsentrasjon i lavt nivå, for 45 prøver i middels nivå og for 31 prøver i høyt nivå. For lavt og middels nivå av jern ble det brukt målinger fra både forsøk 1 og 2. For høyt nivå av jern ble det kun brukt målinger fra forsøk 1. For lavt nivå av jern ble målingene hentet fra tre separate analyseserier, hvor nullprøvene hadde en gjennomsnittlig jernkonsentrasjon på 5,22 $\mu\text{mol/l}$, 6,32 $\mu\text{mol/l}$ og 6,38 $\mu\text{mol/l}$. For middels nivå av jern ble det brukt målinger fra to analyseserier, og nullprøvene hadde gjennomsnittlige jernkonsentrasjoner på 14,82 $\mu\text{mol/l}$ og 16,23 $\mu\text{mol/l}$. 24,84 $\mu\text{mol/l}$ var den gjennomsnittlige jernkonsentrasjonen for nullprøven i høyt nivå. For å undersøke sammenhengen nærmere i enkelte konsentrasjonsområder for hemoglobin og jern ble det i tillegg laget grafer hvor målinger over en bestemt hemoglobinkonsentrasjon ikke ble tatt med.



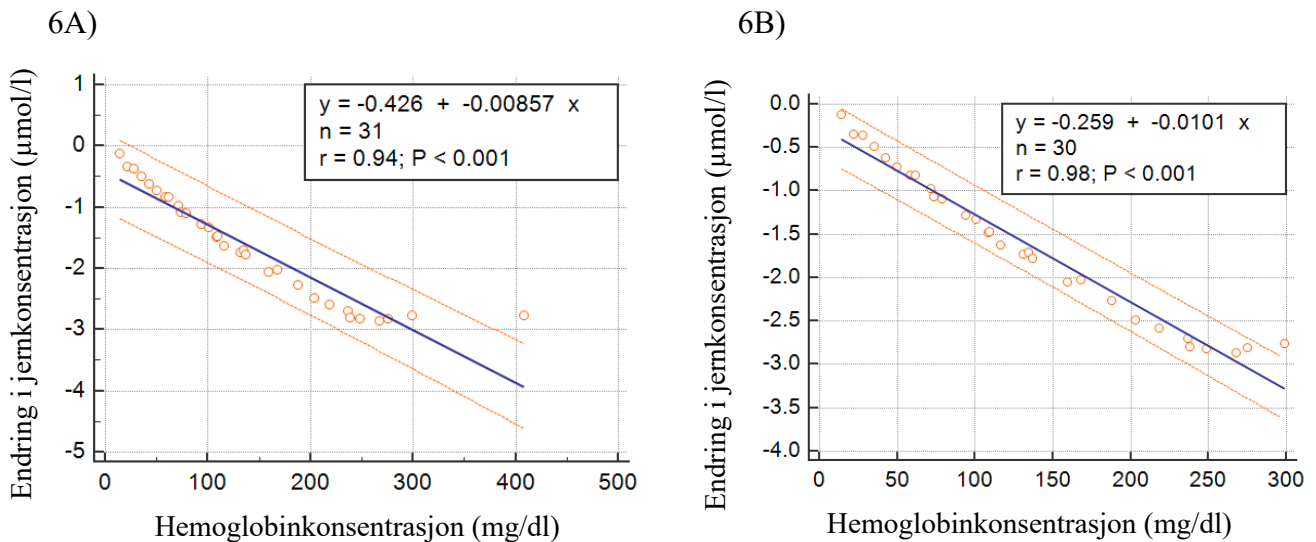
Figur 5A, 5B, 5C, 5D, 5E og 5F: Grafene viser sammenhengen mellom hemoglobinkonsentrasjon og jernkonsentrasjon i prøvene. X-aksen viser differansen mellom hemoglobinkonsentrasjon (mg/dl) i nullprøve og prøver. Y-aksen viser differansen mellom jernkonsentrasjonen ($\mu\text{mol/l}$) i nullprøve og prøver. Regresjonslinjen (blå) og 95 % prediksjonsintervall (oransje linjer) er vist. Det er vist grafer for lavt nivå (5A), middels nivå (5C) og høyt nivå (5E) jern. Figur 5B viser kun hemoglobinverdier opp til 300 mg/dl for de samme prøvene som i 5A, Figur 5D viser hemoglobinverdier opp til omtrent 125 mg/dl for de samme prøvene i 5C og 5F viser hemoglobin opp til omtrent 130 mg/dl for de samme prøvene i 5E. For hver av grafene er formelen for regresjonslinjen ($y = ax + b$) vist. n angir antall prøver som er med i beregningene, r angir korrelasjonskoeffisienten og P angir p-verdien.

Figur 5A viser at det er en krum sammenheng mellom verdiene. At det ikke er en perfekt lineær sammenheng kan blant annet ses ved at r-verdien er 0,89 og p-verdien er under 0,001. Korrelasjonen ble sterkere da regresjonsanalysen ble utført på målinger med hemoglobinverdier under 300 mg/dl (Figur 5B). I Figur 5B er r-verdien 0,97 og p-verdien under 0,001, som tyder på sterk korrelasjon mellom hemoglobinkonsentrasjon og endring i jernkonsentrasjon. Rådata fra Figur 5A og 5B er vist i Tabell 7, 9, 15 og 17 i Vedlegg 9, og i Tabell 23 og 25 i Vedlegg 10. For middels nivå av jern er korrelasjonen noe dårligere når alle de 45 målingene er med, siden r-verdien er 0,84 og p-verdien er under 0,001, men det er fortsatt en sterk korrelasjon (Figur 5C). Den lineære sammenhengen endres for målinger med hemoglobinverdier over rundt 100 mg/dl. Figur 5D viser at sammenhengen er bedre for målinger med hemoglobinkonsentrasjoner under 125 mg/dl, da r-verdien er 0,97. Siden p-verdien er under 0,001 er resultatet statistisk signifikant. Rådata fra Figur 5C og 5D er vist i Tabell 11 og 13 i Vedlegg 9, og Tabell i 27 og 29 i Vedlegg 10. For alle målingene av høyt nivå av jern er korrelasjonen mellom hemoglobinkonsentrasjon og endring i jernkonsentrasjon svak, da r-verdien er 0,60 med en p-verdi på under 0,001 (Figur 5E). Det er fortsatt en tydelig sammenheng, men den er ikke lineær i hele området av hemoglobinkonsentrasjoner. Fra figuren kan det ses en tydelig endring i lineariteten rundt en hemoglobinkonsentrasjon på 100 mg/dl. Figur 5F viser at sammenhengen er sterk for målinger i høyt nivå som har hemoglobinverdier opp til omtrent 130 mg/dl. Her er r-verdien 0,99. En p-verdi på under 0,001 tyder det på at korrelasjonen er statistisk signifikant. Rådata fra Figur 5E og 5F er vist i Tabell 19 og 21 i Vedlegg 9.

3.3 Sammenheng mellom hemolysegrad og jernkonsentrasjon i prøver som var hemolysert med risting og analysert på Advia Chemistry XPT

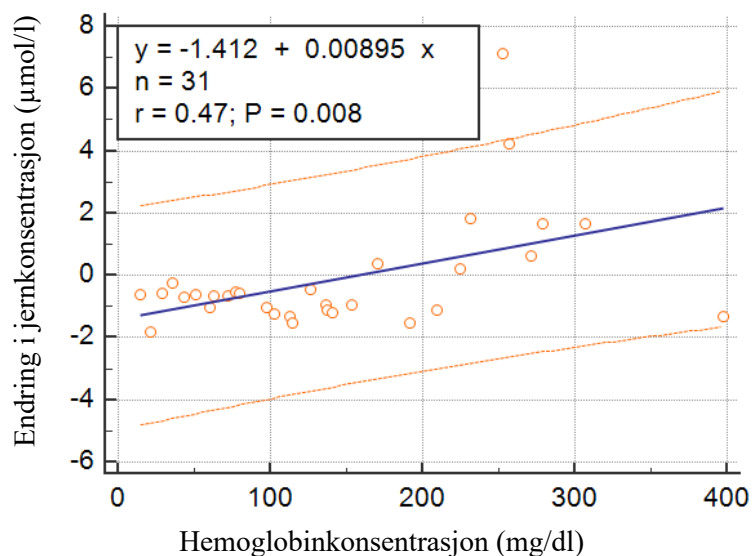
Det ble undersøkt om frysing av hemolysat kunne påvirke frigjøring av jern fra hemoglobin. For å få et sammenlikningsgrunnlag ble det laget et hemolysat som kun ble ristet og ikke fryst ned. Advia Chemistry XPT ble brukt til å måle konsentrasjonen av jern i prøver med økende

hemolysegrad. I MedCalc ble det laget 95% prediksjonsintervall, samt utført regresjonsanalyse for de 31 prøvene med jernkonsentrasjon i lavt og høyt nivå. Nullprøven i lavt nivå hadde en jernkonsentrasjon på 5,29 $\mu\text{mol/l}$ og i høyt nivå var den 24,53 $\mu\text{mol/l}$.



Figur 6A og 6B: Grafene viser sammenhengen mellom hemoglobinkonsentrasjon og jernkonsentrasjon i prøvene. X-aksen viser differansen mellom hemoglobinkonsentrasjon (mg/dl) i nullprøve og prøver. Y-aksen viser differansen mellom jernkonsentrasjonen ($\mu\text{mol/l}$) i nullprøve og prøver. I grafene er regresjonslinjen markert med blått og grensene for 95% prediksjonsintervall er markert med oransje linjer. Antall prøver er angitt med n, r står for korrelasjonskoeffisienten og P står for p-verdien. I tillegg er formelen for regresjonslinjen oppgitt. Begge grafene viser verdiene for analyse av lavt nivå av jern, men i Figur 6B er punktet som ligger på 400 mg/dl hemoglobin fjernet for å få bedre r-verdi.

Resultatene fra analyse av lavt nivå av jern i dette forsøket viser at det er en god lineær sammenheng mellom hemolysegrad og jernkonsentrasjonen i prøvene. I Figur 6A har regresjonslinjen som viser lave verdier av jern mot hemoglobinkonsentrasjon, en r-verdi på 0,94, noe som antyder god korrelasjon mellom verdiene. Det siste punktet på 400 mg/dl hemoglobin gjør den lineære sammenhengen svakere. Dette vises i Figur 6B der det nevnte punktet er fjernet, noe som gir en enda sterkere korrelasjon og lineær sammenheng. P-verdien i begge grafene er god da den er under 0,001. Rådata fra Figur 6A og 6B er vist i Tabell 31 og 32 i Vedlegg 11.



Figur 7: Grafene viser sammenhengen mellom hemoglobinkonsentrasjon og jernkonsentrasjon i prøvene. X-aksen viser differansen mellom hemoglobinkonsentrasjon (mg/dl) i nullprøve og prøver. Y-aksen viser differansen mellom jernkonsentrasjonen ($\mu\text{mol/l}$) i nullprøve og prøver. I grafen er regresjonslinjen markert med blått og grensene for 95% prediksjonsintervall er markert med oransje linjer. Antall prøver er angitt med n, korrelasjonskoeffisienten er angitt med r og P står for p-verdien. Formelen for regresjonslinjen er oppgitt for grafen.

Resultatene fra analyse av høyt nivå av jern i dette forsøket viser at den lineære sammenhengen mellom hemolysegrad og jernkonsentrasjon i prøvene er dårlig. Regresjonslinjens r-verdi er på 0,47, som tyder på liten grad av sammenheng mellom verdiene. P-verdien er lav, den ligger på 0,008. (Pripp, 2015). Rådata fra Figur 7 er vist i Tabell 34 og 35 i Vedlegg 11.

3.4 Grenseverdier for hemoglobinkonsentrasjon ved analyse av kalium på Advia Chemistry XPT

Når hemoglobinkonsentrasjonen i en serum-/plasmaprøve blir for høy, kan det påvirke kaliumkonsentrasjonen i prøver analysert på Advia Chemistry XPT. For å vite hvilke hemoglobinkonsentrasjoner som kan tillates i en hemolysert prøve som skal analyseres på kalium, ble grenseverdier for hemoglobinkonsentrasjoner bestemt. En grenseverdi indikerer akseptabel grense for hemolyse. Grenseverdier ble bestemt for både lavt, middels og høyt nivå av kalium ved å beregne % bias mellom kaliumkonsentrasjonen i nullprøve og prøve. Ønsket % bias for kalium er under 1,81 %, mens maksimum % bias er 2,72 % (Ricos C et al., 2014) (Fraser, 2001). Noen analytter møter ikke de generelle kvalitetskravene som er satt ved bruk av dagens teknologi og tilgjengelige metoder. Kalium er en slik analytt og derfor kan maksimum bias brukes (Fraser, 2001). Tabell 3 viser grenseverdier og tilhørende % bias for

de tre nivåene. Verdiene for alle prøvene kan ses i Vedlegg 6. Lavt nivå av kalium tilsvarer konsentrasjoner på 2,9 mmol/l i nullprøvene for begge analyseseriene. For middels nivå var kaliumkonsentrasjonen for nullprøvene i gjennomsnitt 3,9 mmol/l for begge analyseseriene. Gjennomsnittlige kaliumkonsentrasjoner i nullprøver målt i høyt nivå var 4,6 mmol/l for den ene analyseserien og 4,7 mmol/l for den andre analyseserien.

Tabell 3: Tabellen viser beregnet % bias for kaliumkonsentrasjon mellom nullprøve og prøve, og prøvens tilhørende hemoglobinkonsentrasjon (mg/dl). Grenseverdier er vist med gul og rød fargekode. Ved gul fargekode er ønsket % bias benyttet som grense, mens ved rød fargekode er maksimum % bias benyttet som grense. Symbolet – indikerer at % biasene ikke oppfylte kravene om ønsket eller maksimum % bias.

Kalium lavt nivå		Kalium middels nivå		Kalium høyt nivå	
Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias	Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias	Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias
-	-	20,94	0,00	-	-
-	-	59,45	2,56	40,99	1,06

Ingen av % biasene for lavt nivå av kalium oppfylte kravene om ønsket eller maksimum % bias. Tabell 3 viser at for middels nivå av kalium er grenseverdien for tillatt hemoglobinkonsentrasjon ved analysering på Advia Chemistry XPT 20,94 mg/dl, dersom ønsket % bias er brukt som grense. Dersom maksimum % bias benyttes som grense kan det godtas hemoglobinkonsentrasjon på 59,45 mg/dl (Tabell 3). Den laveste hemoglobinkonsentrasjonen målt på høyt nivå av kalium hadde en % bias som ikke oppfylte kravet om ønsket % bias. Dersom maksimum % bias benyttes som grense, vil grenseverdien bli en hemoglobinverdi på 40,99 mg/dl (Tabell 3).

3.5 Grenseverdier for hemoglobinkonsentrasjon ved analyse av jern på Advia Chemistry XPT

Hemolyse i serum-/plasmaprøver kan påvirke konsentrasjonen av jern ved analysering på Advia Chemistry XPT. For å vite hvilke hemoglobinkonsentrasjoner som kan tillates ved analyse av jern, ble grenseverdier for hemoglobin bestemt. Både lavt, middels og høyt nivå av jern ble bestemt ved å beregne % bias mellom jernkonsentrasjonen i nullprøve og prøve. Ønsket % bias for jern er under 8,8 % (Ricos C et al., 2014) og maksimum % bias er 13,21 % (Fraser, 2001). Grenseverdiene for lavt, middels og høyt nivå av jern er vist i Tabell 4.

Verdiene for alle prøvene som ble analysert kan ses i Vedlegg 6. Lavt nivå av jern betyr at gjennomsnittlig jernkonsentrasjon i nullprøvene var på 5,22 $\mu\text{mol/l}$, 6,32 $\mu\text{mol/l}$ og 6,38 $\mu\text{mol/l}$. Gjennomsnittlig jernkonsentrasjon i nullprøven for middels nivå var 14,82 $\mu\text{mol/l}$ for den ene analyseserien og 16,23 $\mu\text{mol/l}$ for den andre, mens høyt nivå tilsvarte en jernkonsentrasjon på 24,84 $\mu\text{mol/l}$ i nullprøven.

Tabell 4: Tabellen viser beregnet % bias mellom jernkonsentrasjonen i nullprøve og prøve, og prøvens tilhørende hemoglobinkonsentrasjon (mg/dl). Grenseverdier er vist med gul og rød fargekode. Ved gul fargekode er ønsket % bias benyttet som grense, mens ved rød fargekode er maksimum % bias benyttet som grense.

Jern lavt nivå		Jern middels nivå		Jern høyt nivå	
Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias	Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias	Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias
36,58	5,96	93,17	8,75	Alle innenfor	Alle innenfor
59,43	10,34	Alle innenfor	Alle innenfor	Alle innenfor	Alle innenfor

Tabell 4 viser at grenseverdien for hemoglobin, når det måles på lave nivåer av jern, er 36,58 mg/dl dersom det tas utgangspunkt i kravet om ønsket % bias. Ved bruk av maksimum % bias er grenseverdien for hemoglobin 59,43 mg/dl. Når det måles på middels nivå av jern er grenseverdien for hemoglobin 93,17 mg/dl ved bruk av ønsket % bias, mens alle beregnede bias er innenfor kravet om maksimum % bias. For høyt nivå av jern var alle de beregnede biasene under kravet om både ønsket og maksimum % bias (Tabell 4).

3.6 Grenseverdier for hemoglobinkonsentrasjon ved analyse av jern på Advia

Chemistry XPT i prøver som var hemolysert ved risting

Konsentrasjonen av jern i serum-/plasmaprøve kan påvirkes dersom hemoglobinkonsentrasjonen blir for høy. Grenseverdier for hemoglobin ble bestemt for å finne ut hvilke verdier av hemoglobin som kan tillates ved analyse av jern i prøver som var hemolysert ved risting, uten frysing. Det ble beregnet % bias mellom jernkonsentrasjon i prøve og nullprøve for lavt og høyt konsentrasjonsnivå av jern. Ønsket % bias for jern er under 8,8 % (Ricos C et al., 2014) og maksimum % bias er 13,21 % (Fraser, 2001).

Grenseverdiene er vist i Tabell 5 og verdiene for alle prøvene som ble analysert er vist i Vedlegg 6. Lavt nivå av jern tilsvarte en gjennomsnittlig jernkonsentrasjon i nullprøven på

5,29 $\mu\text{mol/l}$, mens høyt nivå tilsvarte en gjennomsnittlig jernkonsentrasjon i nullprøven på 24,53 $\mu\text{mol/l}$.

Tabell 5: Tabellen viser beregnet % bias mellom jernkonsentrasjonen i nullprøve og prøve, og prøvens tilhørende hemoglobinkonsentrasjon (mg/dl). Grenseverdier er vist med gul og rød fargekode. Ved gul fargekode er ønsket % bias benyttet som krav, mens maksimum % bias er benyttet som krav ved rød fargekode.

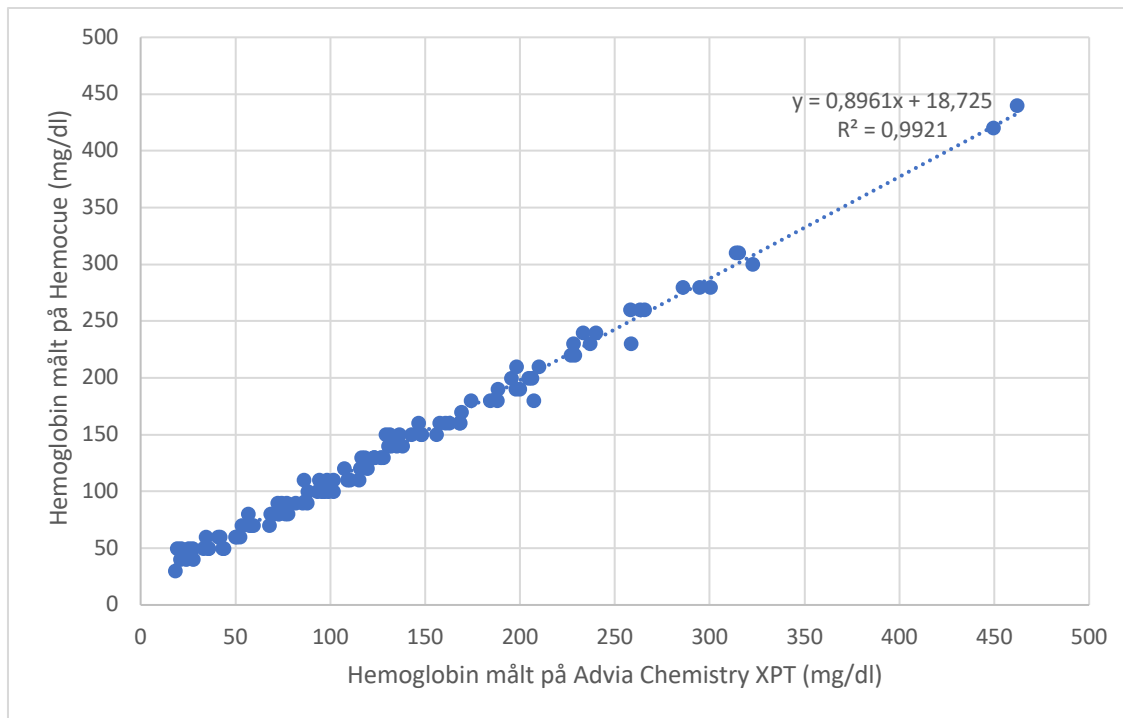
Jern lavt nivå		Jern høyt nivå	
Hemolyse pga. risting		Hemolyse pga. risting	
Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias	Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias
30,82	6,81	237,38	7,38
45,80	11,63	237,38	7,38

For lavt nivå av jern er grenseverdien for hemoglobin 30,82 mg/dl når kravet om ønsket % bias benyttes, mens den er 45,80 mg/dl dersom kravet om maksimum % bias benyttes (Tabell 5). Tabell 5 viser at grenseverdien for høyt nivå av jern er 237,38 mg/dl når ønsket % bias benyttes, og at den samme verdien gjelder dersom maksimum % bias settes som krav.

3.7 Metodesammenligning mellom HemoCue og Advia Chemistry XPT

Hemoglobinkonsentrasjonen i prøver fra forsøk 1 ble målt på to ulike instrumenter: Advia Chemistry XPT og HemoCue. For å sammenligne målingene som ble utført med de to metodene og se om det var en signifikant forskjell mellom de, ble det utført en metodesammenligning. Det ble analysert flere prøver på begge instrumentene over et konsentrasjonsområde. Statistiske metoder som differanseplott, korrelasjonsdiagram, regresjonsanalyse og t-test ble brukt for å vurdere resultatene.

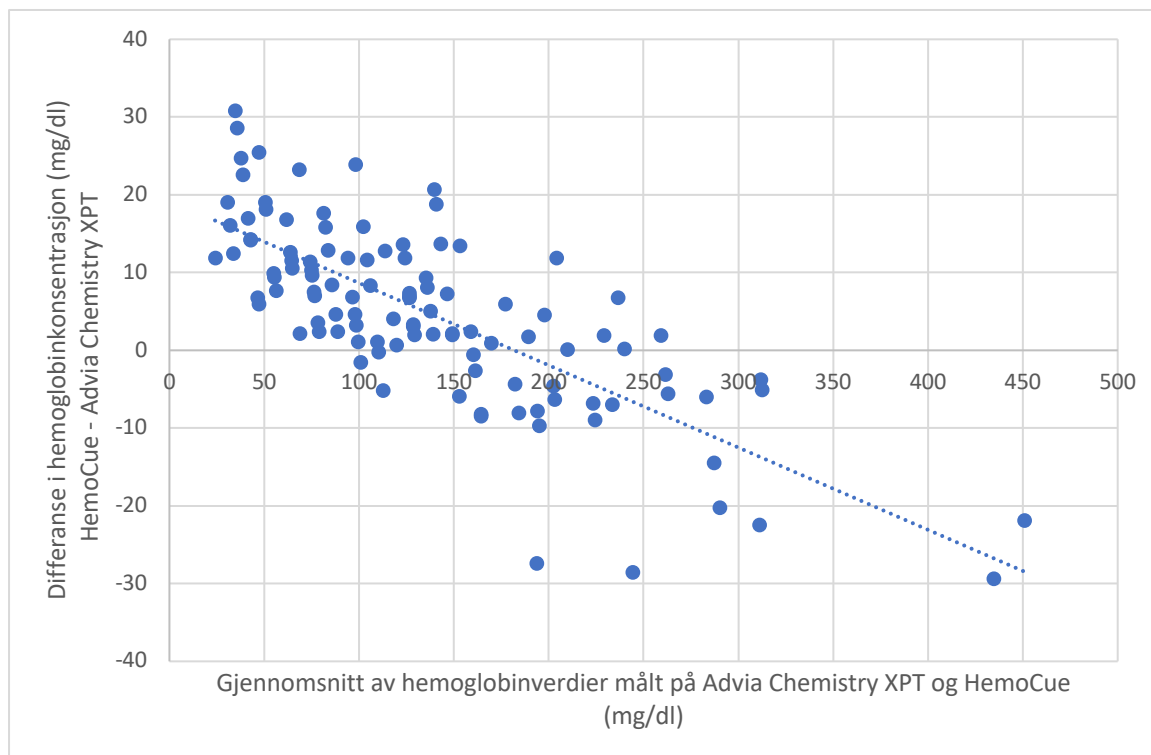
Differanseplott kan avdekke eventuelle proporsjonale eller systematiske feil ved å se på om differansene øker proporsjonalt eller systematisk med konsentrasjonen (Burtis & Bruns, 2015b). Korrelasjonsdiagram viser om variablene henger sammen og korrelasjonskoeffisienten angir hvor sterk denne sammenhengen er (Frøslie, 2018). Gjennom å bruke regresjonsanalyse, kan det utledes en funksjon som beskriver hvilken sammenheng det er mellom variablene (Braut & Dahlum, 2018). T-test blir gjort for å se om gjennomsnittsdifferansene mellom metodene er forskjellig fra null eller ikke.



Figur 6: Korrelasjonsdiagram som viser at det er en lineær sammenheng mellom hemoglobinkonsentrasjonene (mg/dl) målt av HemoCue og Advia Chemistry XPT. R^2 er 0,9921 og korrelasjonskoeffisienten (r) er dermed 0,9843, noe som tilsier god lineær sammenheng mellom variablene. Ligningen $y = ax + b$ er vist, hvor stigningstallet (a) er 0,8961, mens konstantleddet (b) er 18,725.

Ligningen $y = 0,8961x + 18,725$ kan brukes til å se at det er en proporsjonal forskjell mellom metodene på omtrent 10 % og en konstant forskjell på omtrent 19 mg/dl (Figur 6). Den proporsjonale forskjellen på 10 % utledes fra stigningstallet i ligningen og er 0,8961, altså rundt 0,90. Stigningstallet har en verdi på 1 dersom det ikke er noen proporsjonal forskjell, og et stigningstall på 0,90 gir en 10 % endring fra 1. Konstantleddet i ligningen tilsvarer den konstante forskjellen.

Regresjonsanalysen (Vedlegg 7) ga et 95 % konfidensintervall for skjæringspunktet (b) på 16,277-21,173. For stigningstallet (a) var konfidensintervallet 0,881-0,911. Det vil si at en med 95% sikkerhet kan si at a og b vil ligge innenfor disse intervallene. Intervallene er små og forholdsvis sikre siden området verdiene kan ligge i er mindre. P-verdiene er lave, de ligger på $1,933 * E^{-115}$ og $1,637 * E^{-28}$ for henholdsvis a og b , som tilsier at resultatene er statistisk signifikante (Pripp, 2015).



Figur 7: Figuren viser et differanseplott, hvor x-aksen viser gjennomsnittet av hemoglobinverdiene (mg/dl) mellom de to instrumentene og y-aksen viser differansen av hemoglobinverdiene (mg/dl) fra HemoCue og Advia Chemistry XPT.

Figur 7 viser at verdiene fra HemoCue ligger konstant over verdiene fra Advia Chemistry XPT frem til gjennomsnittet av målte hemoglobinverdier er omtrent 175 mg/dl. Etter dette endres det slik at hemoglobinverdiene fra Advia ligger over verdiene fra HemoCue.

Det ble utført en tosidig T-test der gjennomsnittet for to parvise utvalg ble brukt (Vedlegg 8). T_{stat} ble 4,301 og $T_{kritisk, tosidig}$ ble 1,982. T_{stat} er dermed større enn $T_{kritisk}$, noe som gjør at nullhypotesen (H_0) forkastes på signifikansnivå (alfa-verdi) 0,05 og metodene antas å være ulike. T_{stat} er den observerte T-verdien. Nullhypotesen som ble brukt var $\mu_1 = \mu_2$, det betyr at metodenes riktighet er like. Den andre hypotesen (H_1) var $\mu_1 \neq \mu_2$, det vil si at metodenes riktighet ikke er like (Løvås, 2013).

Ut fra metodesammenligningen kan det konkluderes med at metodene gir statistisk signifikant ulike svar og at det både er en proporsjonal og en konstant forskjell mellom hemoglobinverdiene målt på HemoCue og Advia Chemistry XPT.

4.0 Diskusjon

4.1 Metodevalg for tillaging av hemolysat

Metoden som ble valgt for å lage hemolysat var osmotisk sjokk fordi metoden skulle være lett å gjennomføre, og samtidig gi høy grad av hemolyse. Den var lett å gjennomføre da den ikke var tidkrevende og det var enkelt å holde kontroll på hemolysegraden i hver prøve da hemolysat ble tilsatt. Dessuten har en liknende metode blitt benyttet i mange interferensstudier tidligere (Lippi, 2012).

For nedfrysing av hemolysatet ble det valgt en temperatur på $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Denne temperaturen gjør at 90 % av erytrocyttene i fullblod hemolyserer og 84 % av leukocytene lyserer dersom de fryses i 2 timer (Lippi, 2012). Selv om dette gjaldt fullblod ble det antatt at vaskede erytrocytter hadde samme hemolysegrad. Det ble også bestemt at erytrocyttene skulles ristes etter tining for å få ytterligere hemolyse. Utrekninger for hvor mange av erytrocyttene som hemolyserte ble ikke gjort, men hemolysegraden var høy nok til at det kunne lages fortyninger. Ved bruk av vaskede erytrocytter vil noen leukocytter og trombocytter bli vasket bort. Lysering av trombocytter og leukocytter påvirker analysesvaret på samme måte som hemolyserte erytrocytter, og gir blant annet økning av kalium. Hemolysatet som ble laget i dette forsøket liknet derfor ikke blodprøver hvor det er oppstått hemolyse som følge av dårlig prøvetakning. Det gjør at metoden i utgangspunktet ikke er foretrukket. Det som er anbefalt er å hemolysere blodceller ved gjentatte nålaspirasjoner, altså en metode hvor trombocytter og leukocytter lyserer. Denne metoden er likevel mer krevende enn å fryse og tilsette hemolysat (Lippi, 2012).

Metoden som er benyttet i dette forsøket er altså ikke optimal for interferens-studie, men om erytrocytter skal hemolyseres ved gjentatte nålaspirasjoner kreves det tid og trening for å få ulike hemolysegrader. Uansett hvilken metode som benyttes er det viktig å standardisere en fremgangsmåte. Det er fordi standardisering gjør at resultater kan sammenliknes og utveksles på tvers av interferensstudier (Lippi, 2012).

4.2 Interferens av hemolyse ved måling av kalium i serum- og plasmaprøver

Måling av kalium i lavt, middels og høyt nivå, med konsentrasjoner på henholdsvis 2,9 mmol/l, 3,9 mmol/l og 4,6-4,7 mmol/l i nullprøvene, viste at det var en lineær sammenheng mellom økende hemoglobinkonsentrasjon og endring i kaliumkonsentrasjon i serum- og plasmaprøver. Dette var som forventet, da hemolyse fører til intracellulært utslipp av kalium og gir en økning i kaliumkonsentrasjonen. Det var trolig ikke hemoglobin som påvirket målingen, da kalium måles med ioneselektive elektroder som i prinsippet skal være følsomme for kun kalium (Siemens Healthcare Diagnostics, 2016). Dessuten styrkes teorien om at økningen i kalium forårsakes av kaliumlekkasje fra erytrocyttene, siden det er en lineær sammenheng for alle målingene. Regresjonsligningene for de lineære sammenhengene kan brukes til å si noe om hvilken endring i kaliumkonsentrasjon det kan forventes å få dersom en prøve inneholder en bestemt hemoglobinkonsentrasjon. Resultatene for lavt nivå gjelder for prøver med kaliumkonsentrasjon under referanseområdet. For middels gjelder resultatene for kaliumkonsentrasjoner innenfor referanseområdet. Resultatene for høyt nivå gjelder for kaliumkonsentrasjoner innenfor til rett over referanseområdet (St. Olavs Hospital, u.d).

CLSI anbefaler å utføre interferenstesting i to konsentrasjonsområder for en bestemt analytt (Farrell & Carter, 2016). Det var også planen i dette forsøket, men på grunn av variasjonen i konsentrasjonene i nullprøvene var det hensiktsmessig å dele resultatene inn i tre nivåer. De anbefalte konsentrasjonene var 3 mmol/l i lavt nivå og 5 mmol/l i høyt nivå (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005), som var omtrent de konsentrasjonene som ble brukt i dette forsøket. At det undersøkes et ekstra nivå er positivt, da det gjør det lettere å si noe om hvilke sammenhenger, mellom endring i kalium og grad av hemolyse, som gjelder for bestemte kaliumkonsentrasjoner.

Korrelasjonen mellom endring i kaliumkonsentrasjon og hemoglobinkonsentrasjon var sterkest for målinger i middels nivå av kalium. Årsaken til det kan være at det ble utført flere målinger i dette nivået. Flere målinger i lavt og høyt nivå kunne gjort resultatene sikrere, og ville kanskje ført til en sterkere korrelasjon. Sammenhengen ville blitt mer presis for alle nivåene dersom Advia Chemistry XPT ga ut kaliumverdier med mer enn én desimal. Når det kun gis ut én desimal blir ikke målingene like godt spredt som det de ville blitt med flere desimaler.

Selv om resultatene viste en sammenheng kan det være lurt å analysere flere prøver med høyere grad av hemolyse for å se om sammenhengen er den samme for høye hemoglobinkonsentrasjoner. CLSI anbefaler at interferenstesting bør utføres med bruk av hemoglobinkonsentrasjon opp mot 1000 mg/dl (Farrell & Carter, 2016). I dette forsøket gjaldt den lineære sammenhengen for middels nivå av kalium for hemoglobinkonsentrasjoner opp til omtrent 450 mg/dl, mens for de to andre nivåene gjaldt den opp til omtrent 225 mg/dl. I senere forsøk kan det derfor være interessant å undersøke høyere hemoglobinkonsentrasjoner. Ifølge en studie fra Universitetssykehuset i Padova hadde 64% av de hemolyserte prøvene en hemoglobinkonsentrasjon på under 5 mg/dl, mens det kun var 5% som hadde hemoglobinkonsentrasjoner over 30 mg/ (Carraro et al., 2000). Det er kanskje derfor viktigst å undersøke hvordan lavere grad av hemolyse påvirker kaliumverdier, og i fremtiden kan det også være interessant å se på lavere hemoglobinkonsentrasjoner enn det som ble brukt i dette forsøket. Til senere studier kan både lavere og høyere hemoglobinkonsentrasjoner, enn det som ble brukt her, undersøkes. I dette forsøket var det likevel av interesse å undersøke lavere grader av hemolyse for å eventuelt kunne endre grenseverdien for tillatt hemolyse ved måling av kalium.

Siemens har oppgitt at hemolyse må unngås ved analysering av kalium på Advia Chemistry XPT, men ikke hvilken grad av hemolyse som kan tillates (Siemens Healthcare Diagnostics, 2016). Grenseverdiene som ble funnet for middels nivå av kalium var hemoglobinkonsentrasjon på 20,94 mg/dl da ønsket % bias ble benyttet som krav. For lavt og høyt nivå av kalium ble kravet om ønsket % bias for strengt, slik at ingen av de målte hemoglobinkonsentrasjonene var innenfor. Lavt nivå av kalium møtte heller ikke kravet om maksimum % bias, mens for middels nivå var grenseverdien 59,45 mg/dl og for høyt nivå var den 40,99 mg/dl hemoglobin. Det er ikke sikkert disse grenseverdiene er de mest riktige. Grenseverdien ble satt der % bias oversteg kravet om ønsket eller maksimum % bias, men bias-verdiene økte ikke jevnt med økende hemoglobinkonsentrasjon. Analysering av flere prøver ville gitt sikrere biaser. Enkelte intervaller mellom hemoglobinkonsentrasjonene var over 10 mg/dl (Vedlegg 6). Dersom intervallene hadde vært mindre ville grenseverdien blitt bestemt mer presist.

I dag legges det ved en kommentar om at kalium kan være falsk forhøyet dersom en pasientprøve har en hemoglobinkonsentrasjon på over 45 mg/dl. Prøven blir likevel ikke avvist før den har en hemoglobinkonsentrasjon på 140 mg/dl (Vedlegg 2). Dersom

laboratoriet tillater å bruke maksimum % bias for middels nivå av kalium, kan grensen for å sende ut tilleggskommentar endres og bli mindre streng. Grenseverdiene som ble funnet for lavt og høyt nivå av kalium er strengere enn det som tillates i dag ved Avdeling for medisinsk biokjemi, St. Olavs hospital (Vedlegg 2). Det er ikke alltid det er klinisk nyttig eller nødvendig å sette grensen så lavt, og medisinsk ansvarlige må derfor vurdere hvilken grense det er hensiktsmessig å sette.

4.3 Interferens av hemolyse ved måling av jern i serum- og plasmaprøver

Målinger av jernkonsentrasjoner i lavt nivå viste at det kun var en lineær sammenheng mellom endring i jernkonsentrasjon og hemoglobin for hemoglobinverdier opp til omtrent 300 mg/dl. Lavt nivå vil si at nullprøvene hadde jernkonsentrasjoner på 5,22 $\mu\text{mol/l}$, 6,32 $\mu\text{mol/l}$ og 6,38 $\mu\text{mol/l}$. Resultatene viste at endringen i jernkonsentrasjonen mellom nullprøve og prøve ble mer negativ ved økende hemolysegrad. Etter en hemoglobinkonsentrasjon på 300 mg/dl ble endringene mindre negative. Derfor kan kun regresjonsligningen som gjelder for hemoglobinverdier opp til 300 mg/dl benyttes til å si noe om forventet endring i jernkonsentrasjon, når hemoglobinkonsentrasjonen i en prøve er kjent. Sammenhengen gjelder for personer med jernverdier under referanseområdet (St. Olavs Hospital, u.d.).

Nullprøvene for middels nivå av jern hadde jernkonsentrasjoner på 14,82 $\mu\text{mol/l}$ og 16,23 $\mu\text{mol/l}$, mens nullprøven i høyt nivå hadde en jernkonsentrasjon på 24,84 $\mu\text{mol/l}$. Resultatene gjelder derfor for jernverdier innenfor referanseområdet (St. Olavs Hospital, u.d.).

Sammenhengen mellom endring i jern og mengde hemoglobin i prøvene med middels nivå av jern var lineær for hemoglobinkonsentrasjoner opp til omtrent 125 mg/dl. For høyt nivå av jern var sammenhengen lineær opp til 130 mg/dl. Etter dette ble endringene i jern mindre negative. Siden det ikke var en lineær sammenheng for alle målingene tyder det på at svarene påvirkes av en analytisk interferens, og ikke at de endres på grunn av lekkasje av jern fra erythrocytter. For senere studier kan det være interessant å undersøke hvordan jernkonsentrasjonen endrer seg ved høyere grad av hemolyse.

Ifølge Thomas L. (2002) skal ikke hemolyse ha noen innvirkning på jernkonsentrasjonen, selv om hemoglobin er en kilde til jern (Thomas, 2002). Resultatene fra dette forsøket tyder på at jernkonsentrasjonen endres ved hemolyse. Både måling av jern og hemoglobin gjøres ved 571 nm på Advia Chemistry XPT. Det kunne derfor vært naturlig å tenke at hemoglobinet

egenfarge kunne forårsaket spektral interferens ved måling av jern, og at jern ville få falsk forhøyede verdier. Det var ikke tilfellet. Jernverdiene derimot var synkende opp til en bestemt hemoglobinkonsentrasjon. Likevel er det ikke sikkert at nedgangen i jernverdiene har en klinisk betydning. Referanseområdet er relativt stort slik at en liten endring i jernverdier, som følge av hemolyse, kanskje ikke vil ha en klinisk betydning. Dessuten har jern en stor biologisk variasjon. Årsaken til at jernkonsentrasjonen avtar med økende grad av hemolyse er det ikke funnet noen god forklaring på. Det kan derfor være interessant med videre studier som undersøker dette.

Grenseverdiene for jern var 36,58 mg/dl for lavt nivå, 95,17 mg/dl for middels nivå og alle de målte hemoglobinverdiene for høyt nivå var innenfor kravet for ønsket % bias. For lavt nivå lå verdien under den som benyttes i dag på Avdeling for medisinsk biokjemi ved St. Olavs hospital, mens for middels og høye verdier av jern var grenseverdien mye høyere.

Laboratoriet kan derfor vurdere om grensen for å avvise jern-prøver bør bli mindre streng, særlig der hvor jernkonsentrasjoner er innenfor referanseområdet. Bias-verdiene varierte og var ikke alltid økende ved økende hemoglobinkonsentrasjon (Vedlegg 6). Det kan derfor hende at grenseverdiene hadde blitt høyere, dersom det ikke var for at én høy % bias ble observert for lavere hemoglobinkonsentrasjoner. I Vedlegg 6 kan en se at grenseverdien for lavt nivå av jern ville blitt 44,04 mg/dl dersom hemoglobinkonsentrasjonen på 41,84 mg/dl hadde hatt en % bias under 8,8 %. Denne verdien er omtrent lik grenseverdien som benyttes på laboratoriet i dag. Dersom maksimum % bias ble benyttet som grense ville grenseverdien for lavt nivå av jern blitt 59,43 mg/dl, mens alle de målte hemoglobinkonsentrasjonene for middels og høyt nivå var innenfor kravet. I motsetning til kalium er ikke jern oppgitt som en krevende analytt, og laboratoriet må derfor vurdere med skjønn når de velger hvilke grenseverdier for avvisning som skal benyttes. Grenseverdiene ville blitt mer presise dersom intervallene mellom hemoglobinkonsentrasjon hadde vært mindre (Vedlegg 6).

Det ble laget hemolysat fra blodet til to friske personer, og resultatene fra forsøkene baseres derfor på to ulike hemolysat. Dette er en styrke for studien. Dersom det kun hadde blitt brukt ett hemolysat, ville det vært vanskelig å si noe om resultatene er spesifikke for akkurat den personen hemolysatet ble laget fra, eller om resultatene er mer generaliserbare.

4.4 Interferens av hemolyse ved måling av jern i serum- og plasmaprøver som ble hemolysert ved risting

For å undersøke om frigjøring av jern fra hemoglobin kunne påvirkes av frysing, ble det laget et hemolysat som kun ble ristet og ikke fryst. Målingene av jernkonsentrasjon i lavt nivå viste at det var en god lineær sammenheng frem til en hemoglobinkonsentrasjon på omtrent 250 mg/dl, og at sammenhengen ble svakere og målingene begynner å flate ut etter dette.

Resultatene viste at endringen i jernkonsentrasjonen mellom nullprøve og prøve ble mer negative ved økende hemolysegrad, mens ved hemoglobinkonsentrasjon på omtrent 250 mg/dl ble endringene mindre negative. Nullprøvene i lavt nivå hadde en gjennomsnittlig jernkonsentrasjon på 5,29 $\mu\text{mol/l}$, som er under referanseområde for jern (St. Olavs Hospital, u.d).

Målingene av jernkonsentrasjon i høyt nivå indikerte en dårlig lineær sammenheng mellom hemolysegrad og endring i jernkonsentrasjon i prøvene. Resultatene viste at endringen i jern gikk fra å være negative ved lavere grad av hemolyse, og deretter ble positive ved høyere grad av hemolyse. I tillegg var det ikke noen tydelig lineær sammenheng mellom målingene.

Nullprøvene i høyt nivå tilsvarte en gjennomsnittlig jernkonsentrasjon på 24,53 $\mu\text{mol/l}$.

Resultatene gjelder derfor for personer med jernverdier innenfor referanseområdet (St. Olavs Hospital, u.d). Årsaken til at endringene i jern gikk fra å være negative til å bli positive er ikke kjent. Likevel er det en feilkilde ved dette forsøket. Hemolysatet som i utgangspunktet skulle ristes og sentrifugeres én gang ble ristet og sentrifugert to ganger. Det førte til flak av celledbris i hemolysatet. Det kan muligens ha påvirket absorbansavlesningene på Advia Chemistry XPT, og ført til falsk forhøyede hemoglobin- og jernverdier i enkelte prøver.

Prøvene ble likevel undersøkt for synlige flak før analysering, og det ble ikke observert noen.

Dersom jernmålinger i lavt nivå fra forsøk 1 og 2 sammenliknes med jernmålinger i lavt nivå fra forsøket hvor hemolysatet kun ble ristet, kan det ses en lineær sammenheng opp til omtrent 250 mg/dl hemoglobin for begge forsøkene. Endringene i jernkonsentrasjonen er omtrent like for begge forsøkene, og funnene i forsøk 1 og 2 ble dermed reproduisert. Det virker derfor som at nedfrysning av hemolysat ikke påvirker frigjøring av jern i lavt nivå. For høyt nivå av jern var ikke sammenhengen lik. Både den lineære sammenhengen og retningen på den var ulike for de to forsøkene. Årsaken til dette er det foreløpig ingen god forklaring på, men det kan være interessant å gjøre videre undersøkelser for å sjekke om endringen i jern påvirkes av om hemolysatet har vært fryst eller ikke.

Grenseverdien for lavt nivå var 30,82 mg/dl og for høyt nivå var den 237,38 mg/dl da ønsket % bias ble brukt. Verdien for lavt nivå lå under det som brukes som grense i dag (45 mg/dl) for å avgjøre om en prøve må avvises eller ikke på Avdeling for medisinsk biokjemi ved St. Olavs hospital. For høyt nivå lå grenseverdien mye høyere enn grensen som brukes i dag. Disse verdiene er forskjellige fra de som ble funnet i forsøket hvor hemolysatet var fryst og ristet. Grenseverdien for lavt nivå var likevel ganske nærme den som ble funnet for lavt nivå i det andre forsøket, mens grenseverdien for høyt nivå var mye høyere enn den som ble funnet i det andre forsøket. Dersom grensene for maksimum % bias hadde blitt benyttet, ville grenseverdien for lavt nivå blitt 45,80 mg/dl, mens den for høyt nivå ville blitt den samme som da ønsket % bias ble brukt. Som nevnt i kapittel 4.3 er ikke jern en krevende analytt slik som kalium, så laboratoriet må selv vurdere hvilken grense for % bias som skal benyttes. Siden hemolysatet ble sentrifugert to ganger, ville det nok blitt mest riktig å sette grenseverdier ut ifra forøket hvor hemolysatet ble både fryst og ristet.

4.5 Undersøkelse av Advia Chemistry XPT sin riktighet i forhold til HemoCue ved analyse av hemoglobin

Instrumentene Advia Chemistry XPT og HemoCue kan brukes til å beregne hemoglobinkonsentrasjoner i pasientprøver. Når slike metoder sammenlignes, er ikke målet nødvendigvis å slå fast at den ene av metodene er den mest riktige, men heller å legge vekt på de observerte forskjellene mellom metodene (Burtis & Bruns, 2015b). Det var ønskelig å se om de to instrumentene ga direkte sammenlignbare hemoglobinverdier og i tillegg beskrive sammenhengen mellom de målte verdiene.

Advia Chemistry XPT og HemoCue bruker ikke samme metode for å måle hemoglobin. Metoden HemoCue bruker er en modifisert azidmethemoglobinreaksjon, mens Advia Chemistry XPT bruker serumindeksmetoden for å måle hemoglobin. HemoCue regner ut konsentrasjonen av hemoglobin automatisk og verdien kan dermed leses av direkte uten behov for mellomregninger (Vedlegg 3). Advia Chemistry XPT bruker serumindeksmetoden og måler kun absorbansen av farge som følge av hemolyse, slik at det er nødvendig å bruke kalibreringsfaktorer for å regne ut hemoglobinkonsentrasjon. Serumindeksverdiene på Advia er kvalitative verdier som sier noe om graden av hemolyse, lipemi og bilirubin i prøven, og ikke noe om konsentrasjonen i prøven. Derfor bør ikke kun indeksene brukes for å indirekte

måle lipider, hemoglobin og bilirubin (Siemens Healthcare Diagnostics Inc, 2008).

Forskjellene i de målte hemoglobinverdiene mellom Advia og HemoCue kan ha ulike årsaker. Blant annet vil Advia Chemistry XPT korrigere hemoglobinabsorbansen for andre bidrag til absorbansmåling enn bare lipemi, denne korrigeringen er det ikke alle instrumenter som gjør. HemoCue kompenserer kun til en viss grad for turbiditet (Vedlegg 3). Siden Advia Chemistry XPT og HemoCue bruker ulike metoder og ikke måler det samme kan det ikke forventes helt samsvarende resultater.

Et instruments måleområde angir det intervallet der målingene kan gjøres og bli nøyaktige nok til at de kan brukes videre (Bolann & Sandberg, 2003). Måleområdet til HemoCue ligger mellom 30 og 3000 mg/dl, mens måleområdet for hemolyseindeksen på Advia Chemistry XPT ligger på rundt 0 til 525 mg/dl. Enkelte resultater fra HemoCue ligger under måleområdet, det betyr at det er en viss usikkerhet rundt de svarene.

For T-testen ble det benyttet en alfa-verdi på 0,05, dette er et vanlig signifikansnivå å bruke for å kunne si om resultatene fra forskningen er statistisk signifikante eller ikke. Det betyr at dersom det konkluderes med at nullhypotesen er riktig, kan det aksepteres en 5% sjanse for å gjøre en feil ved forkastningen. Selv om nullhypotesen ble forkastet og dermed H_1 bevist, bør ikke det være grunnlaget for å vurdere om metodene måler uakseptabelt forskjellig, men heller for å kunne si at forskjellen er statistisk signifikant. Det er viktig å skille mellom klinisk signifikans og statistisk signifikans (Løvås, 2013). For å vurdere om metodeforskjellen er klinisk signifikant må forskjellen vurderes opp mot tillatt bias. Ut fra korrelasjonsdiagrammet kan det antas at det er en proporsjonal forskjell mellom metodene. En slik type forskjell kan for eksempel skyldes at metodene er ulikt kalibrert.

Ettersom det er resultatene fra Advia Chemistry XPT som skal benyttes til å sette grenseverdier for tillatt hemolyse er det i dette tilfellet trolig Advia Chemistry XPT som er den mest riktige analysemetoden. Advia Chemistry XPT brukes egentlig ikke som en metode for å måle hemoglobin siden saltvann brukes som reagens, og HemoCue ble derfor brukt i forsøket da dette er en godkjent metode for å måle hemoglobinkonsentrasjon og dermed den mest egnede metoden. Resultatene som har blitt oppnådd i denne oppgaven gjelder for Advia ettersom det har blitt funnet at metodene ikke har lik riktighet og dermed ikke gir like svar. Siden sammenhengen er lineær, kan informasjonen fra metodesammenligningen brukes til å

beskrive hva grenseverdiene på Advia Chemistry XPT ville vært på en godkjent hemoglobinmålemetode, som for eksempel HemoCue.

4.6 Hvordan håndtere analysesvar fra en hemolysert prøve?

Resultater fra hemolyserte prøver kan håndteres på flere måter. Dersom hemolysen forårsaker endring i en analytt, kan det enten bes om en ny prøve eller verdiene kan justeres med hensyn til hemolysegrad. Det beste er å ta en ny prøve, men i enkelte tilfeller kan rekvirenten stille en diagnose selv om prøven er hemolysert og en bestemt analyttkonsentrasjon er påvirket (Heireman et al., 2017). Da er det bra om laboratoriet kan gi ut svar, men for eksempel med en tilleggs kommentar om at prøvesvaret kan være påvirket av hemolyse, og kanskje i hvor stor grad det kan forventes at prøvesvaret er endret. Regresjonsligningene som er funnet for de lineære sammenhengene mellom endring i jern eller kalium og hemoglobinkonsentrasjon kan benyttes for å si noe om den sannsynlige endringen av kalium eller jern når hemolysegrad er kjent. Det kan være nyttig for rekvirenten å få et tidlig svar dersom det er ønskelig med tidlig diagnostisering av pasienten, dersom det er vanskelig å ta en ny prøve eller hvis pasientens tilstand er kritisk. På den andre siden kan svaret være feil og føre til feiltolkninger, som igjen kan gi feil oppfølging og behandling av pasienten. For eksempel kan det hende at klinikerer ikke leser tilleggs kommentarer til prøvesvaret fra laboratoriet, og dermed tolker verdiene feil (Heireman et al., 2017).

For laboratoriet kan en slik ordning, hvor prøver som kan ha blitt påvirket av hemolyse blir gitt ut med en tilleggs kommentar, føre til at færre prøver må tas og analyseres på nytt. Siden 3,3 % (Carraro et al., 2000) av alle pasientprøver blir avvist på grunn av hemolyse kan det på sikt være økonomisk lønnsomt for laboratoriet, fordi det kan bli en reduksjon i kostnader ved bruk av instrumentet og menneskelig arbeidskraft. Dessuten vil det kunne føre til at mindre smerte for pasienter, fordi det ikke trengs å ta nye prøver. Likevel har laboratoriet ansvaret for å gi ut korrekte svar, så dersom det gis ut tilleggs kommentarer er det viktig at de kan stoles på.

4.7 Konklusjon

Formålet med oppgaven var å finne ut hvilken grad av hemolyse som kan tillates for analyse av kalium og jern på Advia Chemistry XPT. Dersom laboratoriet velger å bruke ønsket % bias som krav for å sette en grenseverdi, ble det funnet ut at det for middels nivå av kalium kun kan tillates hemoglobinkonsentrasjoner opp til 20,94 mg/dl. Kravet om ønsket % bias ble for streng for å sette en grenseverdi for lavt og høyt nivå av kalium. Dersom maksimum % bias benyttes kan grenseverdien settes til 59,45 mg/dl for middels nivå og 40,99 mg/dl for høyt nivå. Kravet for maksimum % bias ble for strengt til å sette en grenseverdi for målingene i lavt nivå av kalium.

Målingene av jern viser at dersom laboratoriet velger å bruke ønsket % bias som krav for å sette grenseverdi, kan det tillates hemoglobinkonsentrasjoner opp til 36,58 mg/dl for lavt nivå og 93,17 mg/dl for middels nivå. For høyt nivå var alle hemoglobinverdiene innenfor kravet for ønsket % bias. For jernprøvene tilsatt hemolysat som ble ristet og ikke fryst, ble grenseverdien for hemoglobin 30,92 mg/dl for lavt nivå og 237,38 mg/dl for høyt nivå da ønsket % bias ble satt som grense.

Det er ikke alltid hensiktsmessig å sette strenge grenseverdier, da det kan være nyttig for rekvirenten å få et analysesvar selv om målingene er påvirket av hemolyse. Laboratoriet må derfor bestemme hvilke grenseverdier de skal benytte for kalium og jern, og eventuelt hvilken tilleggskommentar til rekvirenten de skal legge ved.

5.0 Referanser

- Ally, A. (2015). Avoiding Hemolysis in Blood Sample Collection and Processing. Retrieved from <http://blog.fisherbioservices.com/avoiding-hemolysis-in-blood-sample-collection-and-processing>
- Anne Marie Helmenstine Ph.D. (2018). How to Calculate Percent Error. Retrieved from <https://www.thoughtco.com/how-to-calculate-percent-error-609584>
- Berge, M. (2016a). Kompendium : Medisinsk laboratorieteknologi 1. In (pp. 54).
- Berge, M. (2016b). Kompendium: Medisinsk laboratorieteknologi 1. In (pp. 37).
- Bolann, B. J., & Sandberg, S. (2003). Evaluering av nye laboratorianalyser. 3. Retrieved from <https://tidsskriftet.no/2003/02/tema-fra-forskning-til-hverdagsmedisin/evaluering-av-nye-laboratorieanalyser>
- Braut, G. S., & Dahlum, S. (2018). Regresjonsanalyse. Retrieved from <https://snl.no/regresjonsanalyse>
- Burtis, C. A., & Bruns, D. E. (2015a). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. In (7 ed., pp. 512): Elsevier Saunders.
- Burtis, C. A., & Bruns, D. E. (2015b). Tietz Fundamentals Of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. In (7 ed., pp. 16,19): Elsevier Saunders.
- Carraro, P., Servidio, G., & Plebani, M. (2000). Hemolyzed Specimens: A Reason for Rejection or a Clinical Challenge?, *46*(2), 306-307.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2005). Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline - Second Edition. In (2 ed., pp. 47). Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (n.d). About CLSI. Retrieved from <https://clsi.org/about/about-clsi/>
- Dimeski, G. (2008). Interference testing. *Clin Biochem Rev*, *29 Suppl 1*, S43-48.
- Farrell, C. J., & Carter, A. C. (2016). Hemolysis Interference: Are Laboratories Getting the Information They Need? *Clin Chem*, *62*(9), 1274-1276.
doi:10.1373/clinchem.2016.258277
- Fraser, C. G. (2001). *Biological variation: from principles to practice*.
- Frøslie, K. F. (2018). Korrelasjon. Retrieved from <https://snl.no/korrelasjon>
- Heireman, L., Van Geel, P., Musger, L., Heylen, E., Uyttenbroeck, W., & Mahieu, B. (2017). Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory. *Clin Biochem*, *50*(18), 1317-1322. doi:10.1016/j.clinbiochem.2017.09.013
- Hemocue. (2015). Plasma/Low Hb Photometer g/L (120328). Retrieved from <https://hemocuepacific.com/products/plasma-low-hb-photometer-g-l>
- Husøy, A.-M. (2014). Blodprøvetaking i praksis. In (2 ed., pp. 142-143). Oslo: Cappelen Damm.
- Jacobsen, E. (2016). Nernsts ligning. Retrieved from https://snl.no/Nernsts_ligning
- Kierulf, P. (2019). Osmose. Retrieved from <https://sml.snl.no/osmose>
- Lippi, G. (2012). Interference studies: focus on blood cell lysates preparation and testing. *Clin Lab*, *58*(3-4), 351-355.
- Løvås, G. G. (2013). Statistikk for universiteter og høyskoler. In (3 ed., pp. 253-264): Universitetsforlaget.
- Meites, S. (1973). Letter: Reproducibly simulating hemolysis, for evaluating its interference with chemical methods. *Clin Chem*, *19*(11), 1319.

- Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi. (2016). Kalium, P. Retrieved from <https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=0d1754ea656512219f19&highlight=true>
- Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi. (2019). Jern, P. Retrieved from <https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=48d95bec4a3ceed0bb8e>
- Pripp, A. H. (2015). Hvorfor p-verdien er signifikant. Retrieved from <https://tidsskriftet.no/2015/09/kronikk/hvorfor-p-verdien-er-signifikant>
- Ricos C, A., Cava F, G.-L. J., A, H., CV, J., J, M., C, P., & M, S. (2014). Retrieved from <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
- Schmidt, A. E., Refaai, M. A., Kirkley, S. A., & Blumberg, N. (2016). Proven and potential clinical benefits of washing red blood cells before transfusion: current perspectives. *International Journal of Clinical Transfusion Medicine*, 4.
- Siemens. (2019). ADVIA Chemistry XPT System. Retrieved from <https://www.healthcare.siemens.no/clinical-chemistry/systems/advia-chemistry-xpt-system>
- Siemens Healthcare Diagnostics. (2016). Advia Chemistry XPT Potassium (K). In (pp. 2,7,9). UK.
- Siemens Healthcare Diagnostics. (2017). Advia Chemistry XPT Iron_2. In (pp. 1,6): UK.
- Siemens Healthcare Diagnostics Inc. (2008). New Serum Indices Normalized for ADVIA Chemistry Systems. In.
- Siemens Healthcare Diagnostics Inc. (2014). ADVIA® Chemistry XPT System Technical Specifications. Retrieved from https://static.healthcare.siemens.com/siemens_hwem-hwem_sxxa_websites-context-root/wcm/idc/groups/public/@global/@lab/documents/download/mda4/mdk5/~edisp/advia_chemistry_xpt_tech_specs-05179048.pdf
- St. Olavs Hospital, a. f. m. b. (u.d). Kalium. Retrieved from https://data.stolav.no/labhandboker/Medisinsk_biokjemi/ask/TestFinder.html
- St. Olavs Hospital, a. f. m. b. (u.d). Jern. Retrieved from https://data.stolav.no/labhandboker/Medisinsk_biokjemi/ask/TestFinder.html
- Sysmex. (n.d). SLS detection method. Retrieved from <https://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/measurement-technologies/sls-detection-method.html>
- Thomas, L. (2002). Haemolysis as Influence & Interference Factor. *Ejifcc*, 13(4), 95-98.
- Thue, G. (2016). Jern. Retrieved from <https://nevrologi.legehandboka.no/handboken/nel/prover-og-svar/klinisk-kjemi/blodprover/jern/#fagmedarbeidere>
- Turgeon, M. L. (2012). Linne & Ringsrud's clinical laboratory science : the basics and routine techniques In (6 ed., pp. 73): Elsevier Mosby.
- Øye, I., & Brørs, O. (2018). Kalium - fysiologi. Retrieved from https://sml.snl.no/kalium_-_fysiologi

6.0 Vedlegg

Vedlegg 1: Prosedyre for oppstart, bruk og vedlikehold på Advia Chemistry XPT

Dokument «Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB», ID 33639 - EQS Page 1 of 22

Advia Chemistry XPT- Oppstart, bruk og vedlikehold. AMB

Forfatter: Kristin Graven, Randi Nersund
Godkjent av: Kristine Bodal Solem

Gyldig fra: 16.11.2018
Revisjonsfrist: 15.11.2020

Revisjon: 1.24
ID: 33639

Hensikt og omfang

Prosedyren skal være en hjelp til daglig oppstart, bruk og vedlikehold av ADVIA Chemistry XPT. Prosedyren skal sikre at instrumentet blir brukt på riktig måte og at vedlikehold blir gjort etter fastsatte prosedyrer.

Prosedyren omfatter:

- Grunnlagsinformasjon, med kort beskrivelse av instrumentet og datakommunikasjon
- Arbeidsbeskrivelse
 - Slå av/på instrument
 - Kalibreringer
 - Kontroller
 - Daglig oppstart og vedlikehold
 - Kalibrering
 - Kontroller
 - Analyse av pasientprøver
 - Periodisk vedlikehold
 - Vedlikehold ved behov
- Reagenser
- Systemløsninger
- Prøverør og prøvekopper
- Feilmeldinger på Advia Chemistry XPT
- Feilsøking og problemløsning
- Litteratur

KOPI

Dato: 7/3-19
Sign: *Randi Nersund*
Kun til internt bruk

Grunnlagsinformasjon

Instrument:	ADVIA Chemistry XPT
Produsent:	Siemens
Leverandør:	Siemens
Eier:	Siemens
Brukermanual:	Ved instrumentet
Logg-bok:	Ved instrumentet
Servicerapporter	Hylle i kontorareale

Kort beskrivelse av instrumentet

ADVIA Chemistry XPT er et helautomatisk klinisk kjemi-instrument med et bredt analyserepertoar. Instrumentet betjenes via en PC ved hjelp av touchscreen, bruk av mus eller tastatur. Instrumentet har toveis kommunikasjon med labdatasystemet etter query-mode prinsippet.

Datakommunikasjon

```
graph LR; NSL -- 1 --> ANP; ANP -- 2 --> AMS; AMS -- 3 --> DMS; DMS -- 4 --> Instrument; Instrument -- 5 --> DMS; DMS -- 6 --> AMS; AMS -- 7 --> ANP; ANP -- 8 --> NSL;
```

Bestillinger i NSL lastes ned til AMS (mellomvare fra Abbott) via ANP. AMS sender bestillingen videre til DMS og instrumentet henter bestilling fra DMS. Resultater sendes fra instrumentet til DMS og videre til AMS der de blir autovalidert eller validert av operatør, deretter blir de autovalidert via ANP og overført til NSL.

Arbeidsbeskrivelse

<http://eqsstolav/cgi-bin/document.pl?pid=stolav&DocumentID=33639&UnitID=9>

07.03.2019

Vedlegg 2: Prosedyre for serumindeks på Advia Chemistry XPT

Dokument «Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB», ID 4635 - EQS

Page 1 of 8

Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB

Forfatter: Randi Nersund
Godkjent av: Kristine Bodal Solem

Gyldig fra: 01.03.2019
Revisjonsfrist: 28.02.2021



Hensikt og omfang

Advia Chemistry XPT kan beregne en serumindeks som er en indikasjon på prøvens egenfarge. Analyse av serumindeks er en kvalitativ analyse som kan brukes til å bestemme graden av interferens forårsaket av bilirubin, hemoglobin og turbiditet. Prosedyren skal sikre lik behandling av prøver med unormal egenfarge. Serumindeks-analysen utføres automatisk på aktuelle prøver (serum/plasma) som analyseres på Advia Chemistry XPT, Advia Centaur XPT og cobas 8000. Prosedyren beskriver hvordan serumindeks måles og beregnes, aksjonsformer og tabell med grenseverdier.

Grunnlagsinformasjon

Analyse av serumindeks utføres i serum og plasma. Grenseverdier er definert i AMS for de analysene hvor interferens er vurdert som aktuelt, basert på opplysninger i pakningsvedlegg. Siemens' definisjon på interferens: Avvik +/- 10 % fra opprinnelig verdi.

Hemolyse kan komme av prøvetaking/oppbevaring/prøvebehandling eller pga intravaskulær hemolyse. Dersom hemolyse kommer av problematisk prøvetaking vurderer rekvirert hvorvidt ny prøve må tas / rekvireres.

Ansvar

Bioingeniør

Oppstartdato

Analyseinstrument	Periode
Hitachi 917	Januar 1998 – oktober 2005
Modular P 800	Oktober 2005 – 22.09.16
cobas 6000-c 501	21/3-2013 – 24.06.16
Advia Chemistry XPT	23.05.16 – dd.

Analyseprinsipp

Prøven tilsettes saltvann som reagens, og absorpsjonen avleses deretter ved 6 forskjellige bølgelengder, fordelt på 3 par (hovedbølglengde/bibølglengde): Turbiditet (lipemi) ved 658/694 nm

Hemolyse ved 571/596 nm
Icterus ved 478/505 nm.

Ved hjelp av kalibreringsfaktorer(A-F) omregnes absorpsjonene til numeriske verdier. Hemolyse-indeks korrigeres for interferens av lipemi og icterus-indeks korrigeres for interferens av hemolyse og lipemi. Numeriske verdier konverteres så til aktuell serumindeks-grad (+, ++, +++ eller ++++), ved å sammenligne verdiene med definerte grenseverdier.

Analysemateriale

Serum eller plasma

Analyseinstrument

Advia Chemistry XPT.

<http://eqsstolav/cgi-bin/admin/document/document.pl?pid=stolav&RevisionID=112260>

07.03.2019

Dokument «Serumindeks på Advia Chemistry XPT. AMB», ID 4635 - EQS

Page 2 of 8

Reagenser

Produktnavn	0,9 % NaCL
Oppbevaring	5-25 °C.
Holdbarhet	Uåpnet til oppgitt dato
Holdbarhet på instrumentet	Ikke oppgitt
Plassering på instrumentet	Vi kaster rester og fyller nye flasker månedlig I reagenskarusell RTT1, posisjon 55 og 56

Kalibratører

Kalibreringsfaktorer er etablert ved å bruke serum spiket med aktuell interferent: Hemoglobin (0-525 mg/dL), bilirubin (0-513 µmol/L) eller intralipid (0-1000 mg/dL). For å etablere faktorene ble følgende materialer benyttet: Hemolyse: Deoxy-hemoglobin fra humant hemolysat. Icterus: Blanding av bilirubin-isomerer. Lipemi: 20 % intralipid (Inloein).

Kalibrering (reagensblank) er utført ved installasjon. Ytterligere kalibrering er ikke nødvendig.

Kontrollmateriale

Ingen

Utførelse

Testkode: Saline.
Analysetid 10 min.
Probe DPP lager en fortykning, 30 µL prøve + 120 µL NaCl i fortykningskuvetten.
RPP tilsetter 80 µL NaCl i reaksjonskuvetten
Probe SPP pipetterer 25 µL av fortykningen i reaksjonskuvetten.
Reaksjonen skjer ved 37 °C. Absorpsjonen måles ved aktuelle bølgelengder.

Beregning av serumindeks-verdier:

Ved hjelp av faktorer(A-F) omregnes absorpsjonene til numeriske verdier.

Faktorverdier:

Faktor A	Faktor B	Faktor C	Faktor D	Faktor E	Faktor F
10601	3942,75	49,809	1,156	0,182	2,174

Lipemi = A x abs lipemi.

Hemolyse må korrigeres for evt. lipemi som interfererer med hemolyse-målingen.

Korrigert hemolyse = abs hemolyse – D x abs lipemi

Hemolyse = B x (korrigert hemolyse) = B x (abs hemolyse – D x abs lipemi)

Icterus må korrigeres for både hemolyse og lipemi, som interfererer med icterus-målingen.

Korrigert icterus = abs icterus – E x (abs hemolyse – D x abs lipemi) – F(abs lipemi)

Icterus = C x (korrigert icterus) = C x (abs icterus – E x (abs hemolyse – D x abs lipemi) – F(abs lipemi)).

De numeriske verdiene konverteres så til aktuell serumindeks-grad (+, ++, +++ eller ++++), basert på følgende grenseverdier:

	-	+	++	+++	++++
Lipemi (mg/dL)	0	120	245	495	995

<http://eqsstolav/cgi-bin/admin/document/document.pl?pid=stolav&RevisionID=112260>

07.03.2019

Hemolyse (mg/dL)	0	45	140	235	445
Icterus (µmol/L)	0	27	111	257	479

Grenser for analyse for den enkelte analytt, er satt ved å sammenligne verdier oppgitt i pakningsvedlegg med grenseverdiene ovenfor. Man vil få varsel i AMS dersom indeksgrenser for den enkelte analytt er overskredet.

Måleområde

	Måleområde
Hemolyse-indeks	ca. 0-525 mg/dL
Icterus-indeks	ca. 0-513 µmol/L
Lipemi-indeks	ca. 0-1000 mg/dL

Aksjonsformer

Ved for høy H-indeks

Pga prøvetaking eller oppbevaring

Prøver som er rekvirert som ø-hjelp:

Sjekk om det finnes materiale med mindre hemolyse. Hvis ikke, ta kontakt med rekvirent og gi beskjed om at analysen ikke kan utføres pga. hemolysert prøve. Rekvirer «Feil ved prøve» og legg inn fastkommentar GENK 00017: «Pga. hemolyse i prøven er #analysenavn# slettet. Rekvirenten er varslet».

Slett analysen.

Prøver som ikke er rekvirert som ø-hjelp:

Sjekk om det finnes materiale med mindre hemolyse. Hvis ikke, rekvirer «Feil ved prøve», og legg inn fastkommentar GENK 00018: «Pga. hemolyse i prøven er #analysenavn# slettet».

Slett analysen.

UNNTAK:

Følgende analyser rapporteres med kommentar ved for høy hemolyse-indeks:

Analyse	Hemolysegrad	Kommentar
Kalium	+	GENK 00023: «Hemolyse påvist. Kalium kan være falskt for høy»
Ammoniakk	Alle grader	GENK 00094: «Hemolyse påvist. #Ammoniakk# kan være falskt for høy» For Ammoniakk-kons.> 73 µmol/L legges kommentaren inn ved H-indeks +++/+++/. NB: Resultater <10 µmol/L kommenteres ikke.
LD	Alle grader	GENK 00094: «Hemolyse påvist. #LD# kan være falskt for høy»
ASAT	+	GENK 00094: «Hemolyse påvist. #Analysenavn# kan være falskt for høy» Ved høyere indeks (++/+++/.) slettes analyseresultatet.
CK	++	GENK 00094: «Hemolyse påvist. #CK# kan være falskt for høy» Ved høyere indeks (+++/+++/.) slettes analyseresultatet.

Paracetamol	++/+++/.	GENK 00094: «Hemolyse påvist. #Paracetamol# kan være falskt for høy» For Paracetkons. > 200 µmol/L legges kommentaren inn ved H-indeks ++++ NB: Resultater <20 µmol/L kommenteres ikke.
Troponin T	++/+++/.	Se prosedyre Troponin T i serum og plasma, cobas 8000. AMB (Gyldig).

Jernbelastning: Ved hemolyse +/++ slettes begge analyser, og prøver sendes til Orkdal sykehus for analyse med alternativ metode. Se prosedyre Jern i serum og plasma. Advia Chemistry XPT. AMB (Gyldig).

Intravaskulær hemolyse:

Ved mistanke om intravaskulær hemolyse: Hvis det gjentatte ganger er hemolyse på prøve hos samme pasient, og det ikke hjelper å ta ny prøve: Sjekk aktuell prøve og evt. tidligere prøver visuelt, eventuelt ta kontakt med rekvirent.

Hvis serum/plasma er brunlig eller rekvirent oppgir at intravaskulær hemolyse er sannsynlig, rapporteres alle resultat uavhengig av H-indeks.

K, LD, Jern, ASAT, ALAT og CK rapporteres med følgende kommentar:

GENK 00096: «Intravaskulær hemolyse? #Analysenavn# kan være påvirket»

Alle andre resultater rapporteres med følgende kommentar:

GENK 00097: «Intravaskulær hemolyse? #Analysenavn# kan være falskt for #lav/høy#». Angi om resultatet er falskt for lavt eller høyt. Se tabell «Grenseverdier for serum-indeks».

Ved for høy L indeks

Prøven ultrasentrifugeres før reanalyse.

Prøven kan evt. behandles med 1.1.2 - Trichlor-trifluoroethan.

Bruk glass-rør: Prøven fortynnes 1+2 med 1.1.2 - Trichlorotrifluoroethan, blandes på Whirlmikser i ca. 2 min. og sentrifugeres i 10 min på 3000G.

1.1.2-Trichlorotrifluoroethan, Fluka 91440 eller Merck 108440, brukes til å behandle lipemiske prøver. 1.1.2-Trichlorotrifluoroethan er et klorfluorkarbon, KFK, og ozonreducerende stoff. Utslipp av KFK fører til nedbryting av ozonlaget i stratosfæren. Bruk avtrekk ved tilberedning av prøvene. Se sikkerhetsdatablad for mer informasjon

Merck 108440.1000:

St.Olav's Hospital art.nr.: 5501162

Leverandør: VWR International AVS

UNNTAK:

o Kalsium, Bikarbonat, Alkohol⁴⁾: sentrifugeres i ultrasentrifuge.

(Bruk ikke 1.1.2 - Trichlorotrifluoroethan)

o Ammoniakk, Laktat, Lp(a), HDL kolesterol, LDL kolesterol, kolesterol og triglyserider behandles aldri med 1.1.2 - Trichlorotrifluoroethan eller ultrasentrifuge.

Følgende analyser rapporteres med kommentar:

Analyse	Lipemigrad	Kommentar
Natrium	+++/.	GENK 00098: «Lipider er fjernet før analyse av Natrium».
Ammoniakk	Alle grader	GENK 00095: «Lipemi påvist. #Ammoniakk# kan være påvirket»

Laktat, Lp(a) HDL-kolesterol	++++	GENK 00095: «Lipemi påvist. #Analysenavn# kan være påvirket»
LDL-kolesterol	++++	GENK 00079: «Lipemi påvist LDL-Kolesterol kan være falskt for lav»

Ved L-indeks +++ eller ++++: Bestill B-kommentar i NSL (kode 0099) og legg inn kommentar «Lipemisk prøvemateriale».

Ved for høy Ikterus-indeks

Resultatene rapporteres med fastkommentar GENK 00067: Icterus påvist. #Analysenavn# kan være falskt for #lav/høy#. Se tabell «Grenseverdier for serum-indeks».

Paracetamol:

Ved I-indeks +/++/++++/++++: Resultatet rapporteres med fastkommentar GENK 00067: Icterus påvist. #Paracetamol# kan være falskt for #høy#. For Paracetkons. >200 µmol/L legges kommentaren inn ved I-indeks +/++/++++/++++. NB: Resultater <20 µmol/L kommenteres ikke.

Ammoniakk, GT og Triglycerider:

Rapporteres med fastkommentar GENK 00075: «Icterus påvist. #Analysenavn# kan være påvirket»

Analytisk kvalitet

Ikke etablert

Feilkilder

- L-indeks: Det er dårlig korrelasjon mellom turbiditet og triglyceridkonsentrasjon i en lipemisk prøve. Lysspredningen avgjøres av størrelsen og antall partikler i prøven. Det er oftest lipider som gir turbiditet i prøvene, men det er mange forskjellige lipider samtidig, ikke bare triglycerider.
- Paraproteiner/høy totalprotein, medikamenter og lipid-forstyrrelser kan interferere med analysen og gi falskt positive resultater.

Grenseverdier for serum-indeks

Parameter	Hemolyse H-indeks		Icterus I-indeks		Lipemi L-indeks	
	Laveste indeks som ikke gir godkjent analyse-svar	Økende/ Minkende verdi (>10%) ved hemolyse	Laveste indeks som ikke gir godkjent analyse-svar	Økende/ Minkende verdi (>10%) ved icterus	Laveste indeks som ikke gir godkjent analyse-svar	Økende/ Minkende verdi (>10%) ved lipemi
ACE						
Albumin	++++		++++	↑	+++	
Albumin i urin			Ikke oppgitt		Ikke oppgitt	
ALP	++++		-		+++	
ALAT	++++	↑	-		+++	
Ammonium	+/+	↑	++++	↑↓	+	↑↓
Amylase	-				+++	
ASAT	+	↑	-		+++	
B12						

http://eqsstolav/cgi-bin/admin/document/document.pl?pid=stolav&RevisionID=112260 07.03.2019

Bicarbonat	-				+++	
Bilirubin	-				+++	
Calcium	-				+++	
CK	++	↑			+++	
CKMB						
CRP	-				+++	
CRP-HS	++++				+++	
CTX-I	++++			↑	+++	
Dbil	-	↓			-	
Etanol	-				+++	↓
Ferritin	++++	↑			-	
Folat	+				-	
Fosfat	+++	↑			+++	↑
FT3						
FT4						
Gentamicin	-				+++	
Glukose	-				+++	
GT	-		++++	↑	+++	
Haptoglobin			++++	↑↓	+++	
HDL-kolesterol	-				++++	↑↓
IgA	-				+++	
IgG	-				+++	
IgM	-				+++	
Jern	+				+++	
Karbamid	-				+++	
Kalium	+	↑			+++	
Klorid	-				+++	
Kolesterol	-				-	
Kreatinin	-				+++	
Laktat	++++		++	↑	++++	
LD	+	↑	++++	↑	+++	
LDL-kolesterol	-				++++	↓
LH						
Lipase	++	↑			+++	
Lp(a)	-				++++	
Magnesium	-				+++	
Metotreksat	-				+++	
Natrium	-				+++	
NSE	+	↑			-	
Paracetamol	+/++/++++	↑	+/+	↑	++	↑↓
PINP	++				-	
Progesteron						
Prolaktin				+++	↓	+++
Salicylat	-				ikke oppgitt	ikke oppgitt
Spinal/Urprotein	HB interfererer				ikke oppgitt	ikke oppgitt
Tobramycin	-				+++	
Total protein	++++	↑			+++	

http://eqsstolav/cgi-bin/admin/document/document.pl?pid=stolav&RevisionID=112260 07.03.2019

Transferrin	-				+++	
Triglycerider	+++	↑	++	↓↑	-	
Troponin T	++	↓	-		-	
TSH						
Urat	++++		+++	↓	+++	
Vankomycin	-		-		+++	

-: Betyr ingen interferens, vurdert ut fra opplysninger i pakningsvedlegg.

Litteratur

- ADVIA Chemistry XPT System, Operator's Guide, Rev B, 2014-10
- Customer Bulletin 2008-06, New Serum Indices Normalized for ADVIA Chemistry Systems, ADVIA 1200, ADVIA 1650 and ADVIA 2400 Chemistry Systems.
- Siemens Healthcare Diagnostics 2009, Jian Dai, Ph.D., FACB, FCACB, NRCC: Serum Indices Functions on ADVIA Chemistry Systems.
- Prosjektoppgave, Høgskolen i Sør Trøndelag Avdeling for ingeniør- og næringsmiddelfag Bioingeniørutdanningen, Interferens av bilirubin og hemolyse på Hitachi 917 – bestemmelse av grenseverdier for serumindeks, 1997.
- Pakningsvedlegg for analysene på Advia Chemistry XPT, Advia Centaur XPT og cobas 8000.
- Elecsys Assay interferences, Mars 2016, V 5.0

Vedlegg 3: Pakningsvedlegg for HemoCue

NO

HemoCue® Plasma/Low Hb Microcuvettes
HemoCue Plasma/Low Hb Microcuvettes skal brukes sammen med HemoCue Plasma/Low Hb Photometer. Vennligst les bruksanvisningen for å sikre riktig bruk av systemet!

Bruksområder

HemoCue Plasma/Low Hb-systemet brukes til kvantitativ bestemmelse av hemoglobin i plasma og serumprøver, vannholdige løsninger, eller lagrede erythrocytter ved hjelp av et spesialdesignet fotometer, HemoCue Plasma/Low Hb Photometer og spesialdesignede mikrokyvetter, HemoCue Plasma/Low Hb Microcuvettes. HemoCue Plasma/Low Hb Microcuvettes er kun beregnet på in vitro-diagnostikk. HemoCue Plasma/Low Hb Photometer er kun beregnet for bruk sammen med HemoCue Plasma/Low Hb Microcuvettes.

IVD-direktivet for medisinsk utstyr

HemoCue Plasma/Low Hb Microcuvettes overholder IVD-direktivet for medisinsk utstyr (98/79/EF) og er CE-merket.

Prinsipper for metoden/prosedyren

Prinsipper for metoden

Reaksjonen i mikrokyvetten er en modifisert azidmethemoglobinreaksjon. Erythrocyttene hemolyseres for å frigjøre hemoglobinet. Hemoglobinet omdannes til methemoglobin og binder seg så til azid og danner azidmethemoglobin. Målingen foregår i fotometeret, der transmittansen måles og absorpsjons- og hemoglobinnivået beregnes. Absorpsjonen er direkte proporsjonal med hemoglobinkonsentrasjonen.

Prinsipper for prosedyren

Systemet består av et fotometer og mikrokyvetter. Mikrokyvetten fungerer både som pipette og som målekyvette, og er kun til engangsbruk. En prøve på ca. 20 µL suges inn i mikrokyvettes spalte ved hjelp av kapillærkraft. Fotometeret måler ved to bølgelengder for å kompensere for en viss grad av turbiditet, og hemoglobinnivået beregnes og presenteres (gjeldende begrensninger er beskrevet under "Begrensninger for metoden"). HemoCue Plasma/Low Hb-systemet er kalibrert mot den internasjonale referansemetoden for bestemmelse av hemoglobin, ICSH² og trenger ingen ytterligere kalibrering.

Oppbygging

Mikrokyvetten er laget av polystyrenplast. Reagenser: <3000 µg/g mikrokyvette natriumdeoksykolat, <1500 µg/g mikrokyvette natriumazid, <1650 µg/g mikrokyvette natriumnitritt, <700 µg/g mikrokyvette ikke-reaktive substanser.

Advarsler og forholdsregler

Mikrokyvettene er kun beregnet på in vitro-diagnostikk. Medarbeidere uten laboratorietilknytning må få tilstrekkelig opplæring før de bruker dette systemet første gang. Sørg for alltid å behandle blodprøver forsiktig, da de kan være smittebærende. Kontakt lokale miljømyndigheter for å sikre riktig avfallshåndtering.

Oppbevaring og håndtering av HemoCue Plasma/Low Hb Microcuvettes

Mikrokyvettene skal oppbevares ved 15–30 °C (59–86 °F). De skal ikke oppbevares kjølig. Bruk mikrokyvettene før utløpsdatoen som er trykt på pakningen. Når forseglingen er brutt, er mikrokyvettene holdbare i tre måneder. Hold boksen godt lukket. Alle ubrukte mikrokyvetter skal oppbevares i originalpakningen.

Prøvetaking og forberedelse

Plasma/serum-prøver og vannholdige oppløsninger som inneholder hemoglobin, for eksempel irrigasjonsvæske fra kirurgiske prosedyrer, kan brukes. Bland prøvematerialet grundig før bruk. Supernatant fra erythrocyttuspensjoner kan brukes. Vær nøye med å skille supernatanten fra erythrocyttene ved hjelp av allment akseptert laboratoriprosedyre.

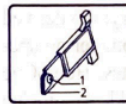
Utførelse

Nødvendig utstyr

- HemoCue Plasma/Low Hb Photometer
- HemoCue Plasma/Low Hb Microcuvettes
- Pipette eller annet overføringsutstyr
- Engangspipettespisser
- Tørkepapir som ikke loer (som ikke frynser)
- Hydrofob overflate

Prosedyre

Les bruksanvisningen for å sikre riktig bruk av systemet!



1. Optisk øye
2. Påfyllingsende



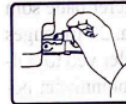
Pipetter en velblandet blodmengde på en hydrofob overflate.



Ta mikrokyvetten ut av pakningen. Lukk boksen. Hold mikrokyvetten i motsatt ende av påfyllingsenden, bring denne i kontakt med prøvematerialet og la spalten fylle seg helt opp. Unngå alltid å berøre det optiske øyet. Ikke etterfyll mikrokyvetten.



Tørk bort overflødig blod utenpå mikrokyvetten med tørkepapir som ikke loer, og pass på å ikke berøre den åpne enden. Hvis det er luftbobler i mikrokyvettes optiske øye, skal mikrokyvetten kastes og en ny prøve tas. Små luftbobler langs kanten har ingen innvirkning på resultatet.



Plassér mikrokyvetten i kyvetteholderen og start målingen så snart som mulig, men ikke senere enn 60 sekunder etter at mikrokyvetten er fylt, ved forsiktig å skyve kyvetteholderen inn til måleposisjon. Innen 60 sekunder vil resultatet bli vist på displayet. Dra ut kyvetteholderen til posisjonen for ilegging av prøve, og kast den brukte mikrokyvetten.

Kvalitetskontroll

Det anbefales å gjennomføre kontroller med to forskjellige nivåer på bruksdagen, eller det som kreves av akkrediterende instanser eller lokale retningslinjer. Kontakt HemoCue for gjeldende anbefalinger i forbindelse med kontroller.

Begrensninger for metoden

- a) Hvis "HHH" vises, overskrider resultatet systemets måleområde.
- b) Verdier over 30,0 g/L (3,00 g/dL, 3000 mg/dL, 1,90 mmol/L) må bekreftes ved hjelp av en egnet laboratoriemetode, for eksempel HemoCue Hb 201-systemet.
- c) Sulfhemoglobin måles ikke med denne metoden.
- d) Bilirubinnivåer på opptil 340 µmol/L (20 mg/dL) har ikke innvirkning på analysen.
- e) Tilstedeværelse av lipid kan interferere med bestemmelsen av hemoglobin. Derfor bør prøver som er synlig turbide, filtreres (porestørrelse 0,2 µm). Hvis brukeren er usikker på graden av turbiditet, anbefaler vi at prøven filtreres.
- f) Dette systemets ytelsesegenskaper er ikke klarlagt ved hjelp av prøver fra uremiske pasienter.

Måleområde

Systemet er lineært mellom 0,3–30,0 g/L (0,03–3,00 g/dL, 30–3000 mg/dL, 0,02–1,90 mmol/L)³. Det bør utvises forsiktighet ved evaluering av instrumentavlesningene mellom 0 og 0,3 g/L (0–0,03 g/dL, 0–30 mg/dL, 0–0,02 mmol/L).

Resultater

Den målte hemoglobinverdien leses direkte av fra HemoCue Plasma/Low Hb Photometer. Det er ikke nødvendig med beregninger. Applikasjonsark for bruk ved bestemmelse av blodtap og for å beregne fritt hemoglobin i innsamlet eller lagret blod, er tilgjengelige fra HemoCue AB.

Vedlegg 4: Verdier for tillaging av hemolysatfortynninger til forsøk 1

Verdier benyttet for å lage 1 ml hemolysat-fortynninger med ulike hemoglobinkonsentrasjoner. For teoretisk Hb-konsentrasjon på 300 mg/dl ble det laget kun 500 µl løsning.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Hemolysat med Hb-konsentrasjon på 6600 mg/dl (µl)	Saltvann (µl)
0	0,0	1000,0
10	15,2	984,8
15	22,7	977,3
20	30,3	969,7
25	37,9	962,1
30	45,5	954,5
35	53,0	947,0
40	60,6	939,4
45	68,2	931,8
50	75,8	924,2
55	83,3	916,7
60	90,9	909,1
65	98,5	901,5
70	106,1	893,9
75	113,6	886,4
80	121,2	878,8
85	128,8	871,2
90	136,4	863,6
95	143,9	856,1
100	151,5	848,5
110	166,7	833,3
120	181,8	818,2
130	197,0	803,0
140	212,1	787,9
150	227,3	772,7
160	242,4	757,6
170	257,6	742,4
180	272,7	727,3
190	287,9	712,1
200	303,0	697,0
210	318,2	681,8
300	227,3	272,7

Vedlegg 5: Verdier for tillaging av hemolysatfortynninger til forsøk 2

Verdier benyttet for å lage 1 ml hemolysat-fortynninger med ulike hemoglobinkonsentrasjoner.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Hemolysat med Hb-konsentrasjon på 6700 mg/dl (μ l)	Saltvann (μ l)
0	0,0	1000,0
10	14,9	985,1
15	22,4	977,6
20	29,9	970,1
25	37,3	962,7
30	44,8	955,2
35	52,2	947,8
40	59,7	940,3
45	67,2	932,8
50	74,6	925,4
55	82,1	917,9
60	89,6	910,4
65	97,0	903,0
70	104,5	895,5
75	111,9	888,1
80	119,4	880,6
85	126,9	873,1
90	134,3	865,7
95	141,8	858,2
100	149,3	850,7
110	164,2	835,8
120	179,1	820,9

Vedlegg 6: Grenseverdier for hemoglobinkonsentrasjon ved måling på kalium og jern

Kalium lavt nivå		Kalium middels nivå		Kalium høyt nivå	
Hb Advia (mg/dl)	%-bias	Hb Advia (mg/dl)	%-bias	Hb Advia (mg/dl)	%-bias
20,79	2,74	19,20	1,28	17,41	2,17
21,42	3,45	20,94	0,00	18,15	0,00
27,53	3,45	25,26	2,56	23,94	0,00
27,93	2,74	27,41	0,00	24,87	2,17
35,70	3,45	34,55	2,56	32,89	2,17
36,58	2,74	35,81	2,56	33,00	1,06
43,41	2,74	41,84	2,56	39,57	2,17
44,04	3,45	43,18	2,56	40,99	1,06
52,32	6,90	50,59	2,56	46,55	4,35
53,02	2,74	53,17	2,56	50,09	2,13
58,43	6,90	56,78	2,56	55,44	4,35
59,43	3,88	59,45	2,56	57,37	2,13
69,65	6,90	68,57	5,13	67,84	2,13
73,00	6,90	70,36	2,56	67,91	4,35
73,05	6,16	72,33	5,13	71,00	4,35
77,60	6,90	74,18	2,56	72,45	2,13
81,35	6,16	77,11	5,13	76,39	3,19
86,17	6,16	81,57	2,56	82,28	4,35
87,60	6,90	86,11	5,13	82,53	4,35
87,65	6,16	88,13	5,13	85,36	4,26
94,79	6,16	94,09	5,13	90,61	5,07
96,75	8,62	95,37	5,13	93,17	4,26
101,50	10,34	98,37	6,41	96,53	6,52
104,17	6,16	101,62	5,13	98,92	4,26
111,57	6,16	107,21	7,69	101,58	6,52
115,14	10,34	110,23	5,13	108,89	4,26
119,25	6,16	116,35	7,69	109,39	6,52
119,31	10,34	118,14	5,13	115,61	6,52
120,76	9,59	122,68	7,69	115,92	4,26
123,06	10,34	126,95	7,69	123,21	4,26
128,03	10,34	129,31	7,69	125,89	6,52
129,18	9,59	130,65	7,69	126,71	6,38
137,92	10,34	131,22	7,69	134,57	6,52
140,39	9,59	131,91	7,69	134,93	6,38
147,38	9,59	136,30	7,69	136,97	7,25
148,01	12,07	146,56	7,69	142,75	6,38
152,61	9,59	157,62	10,26	144,27	8,70

160,58	13,79	162,60	7,69	147,83	8,51
168,65	11,87	168,21	8,97	155,90	6,38
169,08	13,79	174,07	10,26	158,97	8,70
188,06	13,01	184,33	10,26	168,44	6,38
188,07	13,79	188,24	10,26	179,56	8,70
199,70	17,24	195,44	10,26	197,78	8,51
207,36	17,24	198,09	12,82	206,27	10,64
228,96	17,24	204,62	10,26	226,78	10,64
		209,86	12,82		
		228,09	12,82		
		233,18	12,82		
		236,96	12,82		
		239,81	12,82		
		258,10	15,38		
		258,56	14,10		
		263,09	15,38		
		265,54	15,38		
		285,95	16,67		
		294,49	15,38		
		300,22	15,38		
		313,77	17,95		
		315,11	17,95		
		322,46	17,95		
		449,37	25,64		
		461,85	25,64		

Jern lavt nivå		Jern middels nivå		Jern høyt nivå	
Hb Advia (mg/dl)	%-bias	Hb Advia (mg/dl)	%-bias	Hb Advia (mg/dl)	%-bias
19,20	3,35	17,41	1,53	20,94	0,54
20,79	0,47	18,15	1,11	27,41	1,71
21,42	2,43	23,94	2,28	35,81	1,73
25,26	5,36	24,87	0,45	43,18	2,38
27,53	4,55	32,89	2,00	53,17	2,82
27,93	3,59	33,00	3,08	59,45	3,20
34,55	8,62	39,57	2,65	70,36	3,82
35,70	6,27	40,99	4,28	74,18	4,17
36,58	5,96	46,55	3,69	81,57	4,33
41,84	9,39	50,09	4,53	88,13	4,69
43,41	8,70	55,44	5,40	95,37	5,43
44,04	8,07	57,37	5,51	101,62	5,84
50,59	11,97	67,84	7,15	110,23	6,20
52,32	10,97	67,91	6,77	118,14	6,70
53,02	10,60	71,00	7,15	126,95	7,09
56,78	12,74	72,45	7,70	129,31	6,84
58,43	11,13	76,39	7,46	130,65	7,21
59,43	10,34	82,28	7,96	136,30	6,62
68,57	16,09	82,53	8,43	162,60	7,17
69,65	13,56	85,36	8,35	168,21	7,31
72,33	18,10	90,61	8,70	184,33	6,28
73,00	14,66	93,17	8,75	195,44	6,22
73,05	21,89	96,53	9,94	204,62	6,84
77,11	19,54	98,92	9,43	228,09	5,96
77,60	15,13	101,58	10,03	236,96	6,44
81,35	19,15	108,89	10,84	258,56	6,16
86,11	20,98	109,39	11,18	263,09	6,60
86,17	19,51	115,61	11,38	294,49	7,11
87,60	18,26	115,92	11,46	300,22	6,98
87,65	19,62	123,21	10,63	322,46	5,76
94,09	23,56	125,89	10,93	449,37	5,29
94,79	21,31	126,71	11,34		
96,75	19,59	134,57	10,84		
98,37	24,33	134,93	11,28		
101,50	21,00	136,97	10,28		
104,17	22,36	142,75	11,61		
107,21	26,72	144,27	10,64		

111,57	26,00	147,83	8,53		
115,14	22,49	155,90	11,21		
116,35	28,45	158,97	11,38		
119,25	26,16	168,44	10,63		
119,31	23,59	179,56	10,21		
120,76	25,63	197,78	10,84		
122,68	28,64	206,27	10,41		
123,06	24,69	226,78	10,32		
128,03	25,16				
129,18	29,64				
131,22	29,60				
131,91	31,23				
137,92	25,55				
140,39	30,01				
146,56	34,39				
147,38	33,86				
148,01	28,45				
152,61	33,12				
157,62	34,10				
160,58	31,03				
168,65	35,97				
169,08	31,58				
174,07	38,51				
188,06	40,51				
188,07	34,40				
188,24	43,87				
198,09	42,91				
199,70	36,36				
207,36	35,82				
209,86	46,46				
228,96	38,95				
233,18	46,74				
239,81	50,86				
258,10	52,01				
265,54	52,68				
285,95	51,34				
313,77	48,66				
315,11	48,37				
461,85	43,68				

Jern lavt nivå Hemolyse pga. risting		Jern høyt nivå Hemolyse pga. risting	
Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias	Hemoglobin målt på Advia (mg/dl)	% bias
17,53	2,27	19,77	2,53
24,92	6,33	26,81	7,34
30,82	6,81	34,35	2,30
38,08	9,17	40,94	0,96
45,80	11,63	48,58	2,87
52,78	13,52	56,48	2,45
61,64	15,50	66,11	4,22
64,69	15,50	68,32	2,59
74,76	18,24	78,00	2,59
76,99	20,13	82,38	2,10
82,03	20,51	85,64	2,41
96,99	24,10	103,41	4,10
103,60	24,95	108,02	4,99
111,61	27,98	118,28	5,32
112,34	27,69	120,06	6,16
119,36	30,62	131,87	1,90
134,52	32,70	142,12	3,81
137,41	32,04	142,71	4,46
140,42	33,36	146,29	4,81
162,53	38,66	159,28	3,81
171,19	38,09	175,94	1,59
190,77	42,63	196,83	6,16
206,36	46,88	214,98	4,59
221,54	48,68	229,95	0,84
239,80	51,04	237,38	7,38
241,28	52,65	258,58	28,98
251,74	53,31	262,50	17,33
270,82	54,06	276,77	2,59
278,30	53,12	284,32	6,83
301,85	52,08	312,43	6,85
411,60	52,36	403,12	5,46

Vedlegg 7: Sammendrag fra regresjonsanalyse gjort i Excel

SAMMENDRAG (UTDATA)								
Regresjonsstatistikk								
Multipel R	0,99605425							
R-kvadrat	0,99212407							
Justert R-kvadrat	0,99205114							
Standardfeil	7,08810914							
Observasjoner	110							
Variansanalyse								
	<i>fg</i>	<i>SK</i>	<i>GK</i>	<i>F</i>	<i>Signifikans-F</i>			
Regresjon	1	683515,7587	683515,7587	13604,6615	1,9329E-115			
Residualer	108	5426,059454	50,24129124					
Totalt	109	688941,8182						
	<i>Koeffisienter</i>	<i>Standardfeil</i>	<i>t-Stat</i>	<i>P-verdi</i>	<i>Nederste 95%</i>	<i>Øverste 95%</i>	<i>Nedre 95,0%</i>	<i>Øverste 95,0%</i>
Skjæringspunkt	18,7248684	1,234862987	15,16351904	1,6371E-28	16,27715574	21,1725811	16,27715574	21,17258107
X-variabel 1	0,89614728	0,007683083	116,639022	1,933E-115	0,880918081	0,91137649	0,880918081	0,911376487

Vedlegg 8: T-test utført for metodesammenlikning av Advia Chemistry XPT og HemoCue

T-Test: Gjennomsnitt for to parvise utvalg		
	<i>Variabel 1</i>	<i>Variabel 2</i>
Gjennomsnitt	139,272727	134,5179091
Varians	6320,56714	7808,421494
Observasjoner	110	110
Pearson-korrelasjon	0,99605425	
Antatt avvik mellom g	0	
<i>fg</i>	109	
t-Stat	4,30806636	
P(T<=t) ensidig	1,8098E-05	
T-kritisk, ensidig	1,65895346	
P(T<=t) tosidig	3,6195E-05	
T-kritisk, tosidig	1,98196749	

Vedlegg 9: Rådata fra forsøk 1

Tabell 6: Rådata fra analyse av lavt nivå av kalium (del 1). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Grad indeks (hemolyse)				Hemolyse (absorbans)				Middelverdi	% avvik	SD-avvik	% CV
	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4				
0	-	-	-	-	0,00517	0,00521	0,00513	0,00511	0,00516	-	4,43E-05	8,60E-01
10	-	-			0,00892	0,00887			0,00890	0,6		
15	-	-			0,01047	0,01044			0,01046	0,3		
20	-	-			0,01255	0,01252			0,01254	0,2		
25	-	-			0,01467	0,01470			0,01469	-0,2		
30	+	+			0,01690	0,01669			0,01680	1,3		
35	+	+			0,01833	0,01829			0,01831	0,2		
40	+	+			0,02128	0,02115			0,02122	0,6		
45	+	+			0,02214	0,02199			0,02207	0,7		
50	+	+			0,02323	0,02329			0,02326	-0,3		
55	+	+			0,02575	0,02583			0,02579	-0,3		
60	+	+			0,02813	0,02814			0,02814	0,0		
65	+	+			0,02922	0,02940			0,02931	-0,6		
70	+	+			0,03294	0,03269			0,03282	0,8		
75	+	+			0,03392	0,03377			0,03385	0,4		
80	+	+			0,03486	0,03479			0,03483	0,2		
85	+	+			0,03611	0,03607			0,03609	0,1		
90	++	++			0,04124	0,04111			0,04118	0,3		
95	+	+			0,03855	0,03865			0,03860	-0,3		
100	++	++			0,04437	0,04438			0,04438	0,0		
110	++	++			0,04653	0,04660			0,04657	-0,2		
120	++	++			0,05162	0,05120			0,05141	0,8		
130	++	++			0,05451	0,05428			0,05440	0,4		
140	++	++			0,05650	0,05627			0,05639	0,4		
150	++	++			0,06193	0,06182			0,06188	0,2		

Tabell 7: Rådata fra analyse av lavt nivå på kalium (del 2). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Lipemi (absorbans)				Middel-verdi	SD-avvik	% CV	% avvik	Hb Advia (mg/dl)	Hb HemoCue (mg/dl)
	P1	P2	P3	P4						
0	0,00305	0,00301	0,0030	0,00298	0,00301	2,9439E-05	1,0	-	6,61	30
10	0,00299	0,00300			0,00300			-0,3	21,42	50
15	0,00302	0,00299			0,00301			1,0	27,53	40
20	0,00304	0,00298			0,00301			2,0	35,70	50
25	0,00305	0,00303			0,00304			0,7	44,04	50
30	0,00311	0,00299			0,00305			3,9	52,32	60
35	0,00301	0,00303			0,00302			-0,7	58,43	70
40	0,00309	0,00305			0,00307			1,3	69,65	80
45	0,00309	0,00305			0,00307			1,3	73,00	80
50	0,00313	0,00306			0,00310			2,3	77,60	80
55	0,00308	0,00310			0,00309			-0,6	87,60	90
60	0,00309	0,00313			0,00311			-1,3	96,75	100
65	0,00308	0,00309			0,00309			-0,3	101,50	100
70	0,00316	0,00309			0,00313			2,2	115,14	110
75	0,00312	0,00308			0,00310			1,3	119,31	120
80	0,00311	0,00314			0,00313			-1,0	123,06	130
85	0,00314	0,00312			0,00313			0,6	128,03	130
90	0,00315	0,00314			0,00315			0,3	148,01	150
95	0,00313	0,00313			0,00313			0,0	137,92	140
100	0,00316	0,00315			0,00316			0,3	160,58	160
110	0,00321	0,00316			0,00319			1,6	169,08	170
120	0,00325	0,00317			0,00321			2,5	188,07	180
130	0,00325	0,00323			0,00324			0,6	199,70	190
140	0,00328	0,00328			0,00328			0,0	207,36	180
150	0,00333	0,00325			0,00329			2,4	228,96	220

Tabell 8: Rådata fra analyse av lavt nivå på kalium (del 3). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Kalium (mmol/l)				Middelverdi	SD-avvik	% CV	% -avvik
	P1	P2	P3	P4				
0	3,0	2,9	2,9	2,9	2,9	0,050	1,7	-
10	3,0	3,0			3,0			0,0
15	3,0	3,0			3,0			0,0
20	3,0	3,0			3,0			0,0
25	3,0	3,0			3,0			0,0
30	3,1	3,1			3,1			0,0
35	3,1	3,1			3,1			0,0
40	3,1	3,1			3,1			0,0
45	3,1	3,1			3,1			0,0
50	3,1	3,1			3,1			0,0
55	3,1	3,1			3,1			0,0
60	3,2	3,1			3,2			3,2
65	3,2	3,2			3,2			0,0
70	3,2	3,2			3,2			0,0
75	3,2	3,2			3,2			0,0
80	3,2	3,2			3,2			0,0
85	3,2	3,2			3,2			0,0
90	3,2	3,3			3,3			-3,1
95	3,2	3,2			3,2			0,0
100	3,3	3,3			3,3			0,0
110	3,3	3,3			3,3			0,0
120	3,3	3,3			3,3			0,0
130	3,4	3,4			3,4			0,0
140	3,4	3,4			3,4			0,0
150	3,4	3,4			3,4			0,0

Tabell 9: Rådata fra analyse av lavt nivå på kalium (del 4). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Jern ($\mu\text{mol/l}$)				Middelverdi	SD- avvik	% CV	% -avvik
	P1	P2	P3	P4				
0	6,43	6,42	6,32	6,35	6,38	0,05	0,8	-
10	6,20	6,25			6,23			-0,8
15	6,12	6,06			6,09			1,0
20	5,95	6,01			5,98			-1,0
25	5,81	5,92			5,87			-1,9
30	5,67	5,69			5,68			-0,4
35	5,67	5,67			5,67			0,0
40	5,51	5,52			5,52			-0,2
45	5,44	5,45			5,45			-0,2
50	5,41	5,42			5,42			-0,2
55	5,25	5,18			5,22			1,3
60	5,12	5,14			5,13			-0,4
65	4,98	5,10			5,04			-2,4
70	5,00	4,89			4,95			2,2
75	4,89	4,86			4,88			0,6
80	4,83	4,78			4,81			1,0
85	4,77	4,78			4,78			-0,2
90	4,51	4,62			4,57			-2,4
95	4,73	4,77			4,75			-0,8
100	4,42	4,38			4,40			0,9
110	4,36	4,37			4,37			-0,2
120	4,15	4,22			4,19			-1,7
130	4,02	4,10			4,06			-2,0
140	4,03	4,16			4,10			-3,2
150	3,97	3,82			3,90			3,9

Tabell 10: Rådata fra analyse av høyt nivå på kalium (del 1). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Grad indeks (hemolyse)				Hemolyse (absorbans)				Middelverdi	% avvik	SD-avvik	% CV
	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4				
0	-	-	-	-	0,00254	0,00255	0,00251	0,00248	0,00252	-	3,16E-05	1,25E+00
10	-	-			0,00630	0,00634			0,00632	0,6		
15	-	-			0,00779	0,00782			0,00781	0,4		
20	-	-			0,01012	0,01009			0,01011	-0,3		
25	-	-			0,01213	0,01213			0,01213	0,0		
30	+	+			0,01443	0,01447			0,01445	0,3		
35	+	+			0,01632	0,01633			0,01633	0,1		
40	+	+			0,01902	0,01900			0,01901	-0,1		
45	+	+			0,02027	0,02010			0,02019	-0,8		
50	+	+			0,02125	0,02114			0,02120	-0,5		
55	+	+			0,02351	0,02350			0,02351	0,0		
60	+	+			0,02541	0,02553			0,02547	0,5		
65	+	+			0,02706	0,02690			0,02698	-0,6		
70	+	+			0,02981	0,02916			0,02949	-2,2		
75	+	+			0,03141	0,03115			0,03128	-0,8		
80	+	+			0,03325	0,03312			0,03319	-0,4		
85	+	+			0,03406	0,03403			0,03405	-0,1		
90	++	++			0,03814	0,03810			0,03812	-0,1		
95	+	+			0,03622	0,03606			0,03614	-0,4		
100	++	++			0,04152	0,04149			0,04151	-0,1		
110	++	++			0,04484	0,04457			0,04471	-0,6		
120	++	++			0,03941	0,03953			0,03947	0,3		
130	++	++			0,05248	0,05195			0,05222	-1,0		
140	++	++			0,05434	0,05443			0,05439	0,2		
150	++	++			0,05984	0,05944			0,05964	-0,7		

Tabell 11: Rådata fra analyse av høyt nivå på kalium (del 2). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Absorbans lipemi				Middel-verdi	% -avvik	SD-avvik	% CV	Hb Advia (mg/dl)	Hb HemoCue (mg/dl)
	P1	P2	P3	P4						
0	0,00146	0,00148	0,00145	0,00145	0,0015	-	1,4142E-05	1,0	3,28	20
10	0,00148	0,00149			0,00149	0,7			18,15	30
15	0,00149	0,00151			0,00150	1,3			23,94	40
20	0,00150	0,00150			0,00150	0,0			33,00	50
25	0,00151	0,00149			0,00150	-1,3			40,99	60
30	0,00151	0,00151			0,00151	0,0			50,09	60
35	0,00154	0,00153			0,00154	-0,7			57,37	70
40	0,00158	0,00154			0,00156	-2,6			67,84	70
45	0,00156	0,00157			0,00157	0,6			72,45	80
50	0,00159	0,00156			0,00158	-1,9			76,39	80
55	0,00161	0,00160			0,00161	-0,6			85,36	90
60	0,00161	0,00157			0,00159	-2,5			93,17	100
65	0,00163	0,00164			0,00164	0,6			98,92	100
70	0,00162	0,00161			0,00162	-0,6			108,89	110
75	0,00164	0,00161			0,00163	-1,8			115,92	120
80	0,00168	0,00167			0,00168	-0,6			123,21	130
85	0,00165	0,00165			0,00165	0,0			126,71	130
90	0,00167	0,00164			0,00166	-1,8			142,75	150
95	0,00165	0,00167			0,00166	1,2			134,93	140
100	0,00172	0,00168			0,00170	-2,4			155,90	150
110	0,00172	0,00171			0,00172	-0,6			168,44	160
120	0,00171	0,00171			0,00171	0,0			147,83	150
130	0,00179	0,00176			0,00178	-1,7			197,78	190
140	0,00180	0,00178			0,00179	-1,1			206,27	200
150	0,00183	0,00184			0,00184	0,5			226,78	220

Tabell 12: Rådata fra analyse av høyt nivå på kalium (del 3). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Kalium (mmol/l)				Middel-verdi	SD- avvik	% CV	% - avvik
	P1	P2	P3	P4				
0	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	0,000	0,0	-
10	4,7	4,7			4,7			0,0
15	4,7	4,7			4,7			0,0
20	4,7	4,8			4,8			-2,1
25	4,8	4,7			4,8			2,1
30	4,8	4,8			4,8			0,0
35	4,8	4,8			4,8			0,0
40	4,8	4,8			4,8			0,0
45	4,8	4,8			4,8			0,0
50	4,8	4,9			4,9			-2,1
55	4,9	4,9			4,9			0,0
60	4,9	4,9			4,9			0,0
65	4,9	4,9			4,9			0,0
70	4,9	4,9			4,9			0,0
75	4,9	4,9			4,9			0,0
80	4,9	4,9			4,9			0,0
85	5,0	5,0			5,0			0,0
90	5,0	5,0			5,0			0,0
95	5,0	5,0			5,0			0,0
100	5,0	5,0			5,0			0,0
110	5,0	5,0			5,0			0,0
120	5,1	5,1			5,1			0,0
130	5,1	5,1			5,1			0,0
140	5,2	5,2			5,2			0,0
150	5,2	5,2			5,2			0,0

Tabell 13: Rådata fra analyse av høyt nivå på kalium (del 4). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Jern ($\mu\text{mol/l}$)				Middelverdi	SD-avvik	% CV	% -avvik
	P1	P2	P3	P4				
0	16,22	16,27	16,18	16,25	16,23	0,04	0,2	-
10	16,05	16,05			16,05			0,0
15	15,89	15,83			15,86			0,4
20	15,79	15,67			15,73			0,8
25	15,52	15,55			15,54			-0,2
30	15,39	15,60			15,50			-1,4
35	15,21	15,46			15,34			-1,6
40	15,05	15,09			15,07			-0,3
45	14,95	15,01			14,98			-0,4
50	15,06	14,98			15,02			0,5
55	14,90	14,85			14,88			0,3
60	14,78	14,84			14,81			-0,4
65	14,66	14,74			14,70			-0,5
70	14,53	14,41			14,47			0,8
75	14,43	14,31			14,37			0,8
80	14,42	14,59			14,51			-1,2
85	14,40	14,38			14,39			0,1
90	14,27	14,42			14,35			-1,0
95	14,43	14,37			14,40			0,4
100	14,45	14,37			14,41			0,6
110	14,52	14,49			14,51			0,2
120	14,88	14,81			14,85			0,5
130	14,52	14,42			14,47			0,7
140	14,55	14,53			14,54			0,1
150	14,63	14,48			14,56			1,0

Tabell 14: Rådata fra analyse av lavt nivå på jern (del 1). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Grad indeks				Hemolyse (absorbans)				Middelverdi	SD-avvik	% CV	% -avvik
	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4				
0	-	-	-	-	0,00390	0,00387	0,00389	0,00390	0,00389	1,41E-05	3,64E-01	-
10	-	-			0,00767	0,00762			0,00765			0,7
15	-	-			0,00917	0,00924			0,00921			-0,8
20	-	-			0,01152	0,01159			0,01156			-0,6
25	-	-			0,01345	0,01338			0,01342			0,5
30	+	+			0,01575	0,01561			0,01568			0,9
35	+	+			0,01719	0,01724			0,01722			-0,3
40	+	+			0,02026	0,02022			0,02024			0,2
45	+	+			0,02115	0,02124			0,02120			-0,4
50	+	+			0,02248	0,02239			0,02244			0,4
55	+	+			0,02479	0,02467			0,02473			0,5
60	+	+			0,02666	0,02686			0,02676			-0,7
65	+	+			0,02777	0,02790			0,02784			-0,5
70	+	+			0,03003	0,03019			0,03011			-0,5
75	+	+			0,03237	0,03249			0,03243			-0,4
80	+	+			0,03406	0,03403			0,03405			0,1
85	+	+			0,03638	0,03636			0,03637			0,1
90	++	++			0,04012	0,04019			0,04016			-0,2
95	+	+			0,03620	0,03627			0,03624			-0,2
100	++	++			0,04304	0,04297			0,04301			0,2
110	++	++			0,04850	0,04580			0,04715			5,7
120	++	++			0,05090	0,05061			0,05076			0,6
130	++	++			0,05331	0,05330			0,05331			0,0
140	++	++			0,05617	0,05648			0,05633			-0,6
150	++	++			0,06261	0,06196			0,06229			1,0
160	+++	+++			0,06379	0,06420			0,06400			-0,6
170	+++	+++			0,06872	0,06862			0,06867			0,1
180	+++	+++			0,07042	0,07073			0,07058			-0,4
190	+++	+++			0,07569	0,07589			0,07579			-0,3
200	+++	+++			0,08294	0,08287			0,08291			0,1
210	+++	+++			0,08317	0,08332			0,08325			-0,2
300	+	+			0,12096	0,12082			0,12089			0,1

Tabell 15: Rådata fra analyse av lavt nivå på jern (del 2). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Lipemi (absorbans)				Middelverdi	SD- avvik	% CV	% -avvik	Hb Advia (mg/dl)	Hb HemoCue (mg/dl)
	P1	P2	P3	P4						
0	0,00233	0,00234	0,00231	0,00237	0,0023	2,5E-05	1,1	-	4,68	40
10	0,00241	0,00239			0,00240			0,8	19,20	50
15	0,00241	0,00243			0,00242			-0,8	25,26	50
20	0,00241	0,00242			0,00242			-0,4	34,55	60
25	0,00243	0,00242			0,00243			0,4	41,84	60
30	0,00248	0,00245			0,00247			1,2	50,59	60
35	0,00244	0,00243			0,00244			0,4	56,78	80
40	0,00248	0,00245			0,00247			1,2	68,57	80
45	0,00246	0,00247			0,00247			-0,4	72,33	90
50	0,00252	0,00246			0,00249			2,4	77,11	90
55	0,00251	0,00249			0,00250			0,8	86,11	110
60	0,00250	0,00251			0,00251			-0,4	94,09	110
65	0,00248	0,00251			0,00250			-1,2	98,37	110
70	0,00252	0,00253			0,00253			-0,4	107,21	120
75	0,00253	0,00252			0,00253			0,4	116,35	130
80	0,00252	0,00255			0,00254			-1,2	122,68	130
85	0,00254	0,00250			0,00252			1,6	131,91	140
90	0,00258	0,00258			0,00258			0,0	146,56	160
95	0,00255	0,00256			0,00256			-0,4	131,22	150
100	0,00260	0,00264			0,00262			-1,5	157,62	160
110	0,00259	0,00260			0,00260			-0,4	174,07	180
120	0,00262	0,00259			0,00261			1,2	188,24	190
130	0,00264	0,00266			0,00265			-0,8	198,09	210
140	0,00268	0,00268			0,00268			0,0	209,86	210
150	0,00272	0,00272			0,00272			0,0	233,18	240
160	0,00273	0,00276			0,00275			-1,1	239,81	240
170	0,00276	0,00279			0,00278			-1,1	258,10	260
180	0,00278	0,00280			0,00279			-0,7	265,54	260
190	0,00283	0,00282			0,00283			0,4	285,95	280
200	0,00288	0,00287			0,00288			0,3	313,77	310
210	0,00288	0,00287			0,00288			0,3	315,11	310
300	0,00329	0,00320			0,00325			2,8	461,85	440

Tabell 16: Rådata fra analyse av lavt nivå på jern (del 3). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Kalium (mmol/l)				Middelverdi	SD- avvik	% CV	% -avvik
	P1	P2	P3	P4				
0	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	0,000	0,0	-
10	4,0	3,9			4,0			2,5
15	4,0	4,0			4,0			0,0
20	4,0	4,0			4,0			0,0
25	4,0	4,0			4,0			0,0
30	4,0	4,0			4,0			0,0
35	4,0	4,0			4,0			0,0
40	4,1	4,1			4,1			0,0
45	4,1	4,1			4,1			0,0
50	4,1	4,1			4,1			0,0
55	4,1	4,1			4,1			0,0
60	4,1	4,1			4,1			0,0
65	4,1	4,2			4,2			-2,4
70	4,2	4,2			4,2			0,0
75	4,2	4,2			4,2			0,0
80	4,2	4,2			4,2			0,0
85	4,2	4,2			4,2			0,0
90	4,2	4,2			4,2			0,0
95	4,2	4,2			4,2			0,0
100	4,3	4,3			4,3			0,0
110	4,3	4,3			4,3			0,0
120	4,3	4,3			4,3			0,0
130	4,4	4,4			4,4			0,0
140	4,4	4,4			4,4			0,0
150	4,4	4,4			4,4			0,0
160	4,4	4,4			4,4			0,0
170	4,5	4,5			4,5			0,0
180	4,5	4,5			4,5			0,0
190	4,6	4,5			4,6			2,2
200	4,6	4,6			4,6			0,0
210	4,6	4,6			4,6			0,0
300	4,9	4,9			4,9			0,0

Tabell 17: Rådata fra analyse av lavt nivå på jern (del 4). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Jern ($\mu\text{mol/l}$)				Middelverdi	SD-avvik	% CV	% -avvik
	P1	P2	P3	P4				
0	5,21	5,23	5,20	5,24	5,22	0,02	0,3	-
10	5,11	4,98			5,05			2,6
15	4,94	4,94			4,94			0,0
20	4,74	4,80			4,77			-1,3
25	4,78	4,68			4,73			2,1
30	4,61	4,58			4,60			0,7
35	4,54	4,57			4,56			-0,7
40	4,42	4,34			4,38			1,8
45	4,24	4,31			4,28			-1,6
50	4,23	4,17			4,20			1,4
55	4,17	4,08			4,13			2,2
60	4,06	3,92			3,99			3,5
65	4,05	3,85			3,95			5,1
70	3,90	3,75			3,83			3,9
75	3,76	3,71			3,74			1,3
80	3,75	3,70			3,73			1,3
85	3,77	3,41			3,59			10,0
90	3,32	3,53			3,43			-6,1
95	3,68	3,67			3,68			0,3
100	3,54	3,34			3,44			5,8
110	3,22	3,20			3,21			0,6
120	2,90	2,96			2,93			-2,0
130	3,00	2,96			2,98			1,3
140	2,81	2,78			2,80			1,1
150	2,73	2,83			2,78			-3,6
160	2,53	2,60			2,57			-2,7
170	2,51	2,50			2,51			0,4
180	2,44	2,50			2,47			-2,4
190	2,54	2,54			2,54			0,0
200	2,80	2,56			2,68			9,0
210	2,64	2,75			2,70			-4,1
300	3,10	2,78			2,94			10,9

Tabell 18: Rådata fra analyse av høyt nivå på jern (del 1). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Grad indeks (hemolyse)				Hemolyse (absorbans)				Middel- verdi	SD- avvik	% CV	% -avvik
	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4				
0	-	-	-	-	0,00351	0,00351	0,00354	0,00354	0,00353	1,73E-05	4,91E-01	-
10	-	-			0,00725	0,00729			0,00727			0,6
15	-	-			0,00890	0,00889			0,00890			-0,1
20	-	-			0,01113	0,01107			0,01110			-0,5
25	-	-			0,01289	0,01298			0,01294			0,7
30	+	+			0,01540	0,01557			0,01549			1,1
35	+	+			0,01713	0,01705			0,01709			-0,5
40	+	+			0,01983	0,02000			0,01992			0,9
45	+	+			0,02076	0,02089			0,02083			0,6
50	+	+			0,02286	0,02260			0,02273			-1,1
55	+	+			0,02445	0,02438			0,02442			-0,3
60	+	+			0,02625	0,02623			0,02624			-0,1
65	+	+			0,02798	0,02774			0,02786			-0,9
70	+	+			0,03011	0,02998			0,03005			-0,4
75	+	+			0,03210	0,03207			0,03209			-0,1
80	+	+			0,03431	0,03434			0,03433			0,1
85	+	+			0,03522	0,03531			0,03527			0,3
90	++	++			0,03095	0,03898			0,03497			23,0
95	+	+			0,03684	0,03661			0,03673			-0,6
100	++	++			0,04327	0,04357			0,04342			0,7
110	++	++			0,04519	0,04454			0,04487			-1,4
120	++	++			0,04913	0,04887			0,04900			-0,5
130	++	++			0,05184	0,05182			0,05183			0,0
140	++	++			0,05456	0,05379			0,05418			-1,4
150	++	++			0,06029	0,06007			0,06018			-0,4
160	+++	+++			0,06215	0,06272			0,06244			0,9
170	+++	+++			0,06805	0,06796			0,06801			-0,1
180	+++	+++			0,06903	0,06929			0,06916			0,4
190	+++	+++			0,07669	0,07763			0,07716			1,2
200	+++	+++			0,07875	0,07859			0,07867			-0,2
210	+++	+++			0,08447	0,08422			0,08435			-0,3
300	+	+			0,11684	0,11699			0,11692			0,1

Tabell 19: Rådata fra analyse av høyt nivå på jern (del 2). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Lipemi (absorbans)				Middelverdi	SD-avvik	% CV	% -avvik	Hb Advia (mg/dl)	Hb HemoCue (mg/dl)
	P1	P2	P3	P4						
0	0,00167	0,00165	0,00166	0,00167	0,0017	9,5743E-06	0,6	-	6,32	30
10	0,00170	0,00169			0,00170			-0,6	20,94	40
15	0,00168	0,00168			0,00168			0,0	27,41	50
20	0,00175	0,00174			0,00175			-0,6	35,81	50
25	0,00171	0,00172			0,00172			0,6	43,18	50
30	0,00173	0,00173			0,00173			0,0	53,17	70
35	0,00175	0,00173			0,00174			-1,1	59,45	70
40	0,00180	0,00178			0,00179			-1,1	70,36	80
45	0,00173	0,00175			0,00174			1,1	74,18	90
50	0,00175	0,00178			0,00177			1,7	81,57	90
55	0,00177	0,00180			0,00179			1,7	88,13	100
60	0,00178	0,00177			0,00178			-0,6	95,37	100
65	0,00183	0,00178			0,00181			-2,8	101,62	110
70	0,00180	0,00181			0,00181			0,6	110,23	110
75	0,00185	0,00182			0,00184			-1,6	118,14	130
80	0,00184	0,00184			0,00184			0,0	126,95	130
85	0,00182	0,00186			0,00184			2,2	130,65	140
90	0,00188	0,00187			0,00188			-0,5	129,31	150
95	0,00187	0,00186			0,00187			-0,5	136,30	150
100	0,00188	0,00189			0,00189			0,5	162,60	160
110	0,00190	0,00191			0,00191			0,5	168,21	160
120	0,00194	0,00195			0,00195			0,5	184,33	180
130	0,00195	0,00196			0,00196			0,5	195,44	200
140	0,00198	0,00196			0,00197			-1,0	204,62	200
150	0,00201	0,00202			0,00202			0,5	228,09	230
160	0,00200	0,00204			0,00202			2,0	236,96	230
170	0,00211	0,00209			0,00210			-1,0	258,56	230
180	0,00208	0,00213			0,00211			2,4	263,09	260
190	0,00212	0,00215			0,00214			1,4	294,49	280
200	0,00218	0,00219			0,00219			0,5	300,22	280
210	0,00222	0,00221			0,00222			-0,5	322,46	300
300	0,00256	0,00253			0,00255			-1,2	449,37	420

Tabell 20: Rådata fra analyse av høyt nivå på jern (del 3). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Kalium (mmol/l)				Middelverdi	SD- avvik	% CV	% -avvik
	P1	P2	P3	P4				
0	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9	0,000	0,0	-
10	3,9	3,9			3,9			0,0
15	3,9	3,9			3,9			0,0
20	4,0	4,00			4,0			0,0
25	4,0	4,00			4,0			0,0
30	4,0	4,00			4,0			0,0
35	4,0	4,00			4,0			0,0
40	4,0	4,00			4,0			0,0
45	4,0	4,00			4,0			0,0
50	4,0	4,00			4,0			0,0
55	4,1	4,1			4,1			0,0
60	4,1	4,1			4,1			0,0
65	4,1	4,1			4,1			0,0
70	4,1	4,1			4,1			0,0
75	4,1	4,1			4,1			0,0
80	4,2	4,2			4,2			0,0
85	4,2	4,2			4,2			0,0
90	4,2	4,2			4,2			0,0
95	4,2	4,2			4,2			0,0
100	4,2	4,2			4,2			0,0
110	4,3	4,2			4,3			2,4
120	4,3	4,3			4,3			0,0
130	4,3	4,3			4,3			0,0
140	4,3	4,3			4,3			0,0
150	4,4	4,4			4,4			0,0
160	4,4	4,4			4,4			0,0
170	4,4	4,5			4,5			-2,2
180	4,5	4,5			4,5			0,0
190	4,5	4,5			4,5			0,0
200	4,5	4,5			4,5			0,0
210	4,6	4,6			4,6			0,0
300	4,9	4,9			4,9			0,0

Tabell 21: Rådata fra analyse av høyt nivå på jern (del 4). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Jern ($\mu\text{mol/l}$)				Middelverdi	SD- avvik	% CV	% -avvik
	P1	P2	P3	P4				
0	24,68	24,94	25,06	24,79	24,87	0,17	0,7	-
10	24,62	24,79			24,71			0,7
15	24,40	24,43			24,42			0,1
20	24,38	24,44			24,41			0,2
25	24,08	24,42			24,25			1,4
30	23,97	24,31			24,14			1,4
35	24,21	23,88			24,05			-1,4
40	23,83	23,95			23,89			0,5
45	23,77	23,84			23,81			0,3
50	23,66	23,87			23,77			0,9
55	23,64	23,71			23,68			0,3
60	23,37	23,61			23,49			1,0
65	23,42	23,36			23,39			-0,3
70	23,24	23,36			23,30			0,5
75	23,08	23,27			23,18			0,8
80	23,12	23,04			23,08			-0,3
85	22,99	23,11			23,05			0,5
90	23,18	23,10			23,14			-0,3
95	23,30	23,09			23,20			-0,9
100	22,96	23,16			23,06			0,9
110	23,10	22,95			23,03			-0,7
120	23,32	23,24			23,28			-0,3
130	23,31	23,28			23,30			-0,1
140	23,10	23,18			23,14			0,3
150	23,36	23,36			23,36			0,0
160	23,22	23,26			23,24			0,2
170	23,34	23,28			23,31			-0,3
180	23,17	23,23			23,20			0,3
190	23,07	23,08			23,08			0,0
200	23,12	23,09			23,11			-0,1
210	23,56	23,26			23,41			-1,3
300	23,26	23,79			23,53			2,3

Vedlegg 10: Rådata fra forsøk 2

Tabell 22: Rådata fra analyse av lavt nivå av kalium (del 1). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Indeks						Hemolyse (absorbans)						Middelverdi	SD- avvik	% CV
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6			
0	-	-	-	-	-	-	0,00473	0,00476	0,00478	0,00474	0,00483	0,00466	0,00475	5,657E-05	1,2
10	-	-	-				0,00859	0,00859	0,00866				0,00861	4,04E-05	0,5
15	-	-	-				0,0104	0,01059	0,01061				0,01053	1,16E-04	1,1
20	-	-	-				0,01264	0,01277	0,01262				0,01268	8,14E-05	0,6
25	-	-	-				0,01434	0,01444	0,01454				0,01444	1,00E-04	0,7
30	+	+	+				0,01698	0,01703	0,0167				0,01690	1,78E-04	1,1
35	+	+	+				0,01856	0,01853	0,01845				0,01851	5,69E-05	0,3
40	+	+	+				0,02418	0,02406	0,02397				0,02407	1,05E-04	0,4
45	+	+	+				0,02213	0,02204	0,02198				0,02205	7,55E-05	0,3
50	+	+	+				0,02543	0,02562	0,02505				0,02537	2,90E-04	1,1
55	+	+	+				0,02582	0,02572	0,02572				0,02575	5,77E-05	0,2
60	+	+	+				0,0274	0,02759	0,02768				0,02756	1,43E-04	0,5
65	+	+	+				0,02998	0,02998	0,02989				0,02995	5,20E-05	0,2
70	+	+	+				0,03256	0,03193	0,03107				0,03185	7,48E-04	2,3
75	+	+	+				0,03407	0,03416	0,0332				0,03381	5,30E-04	1,6
80	+	+	+				0,03421	0,03397	0,03439				0,03419	2,11E-04	0,6
85	+	+	+				0,03746	0,03737	0,03412				0,03632	1,90E-03	5,2
90	++	++	++				0,0392	0,03924	0,03914				0,03919	5,03E-05	0,1
95	++	++	++				0,04096	0,04109	0,0409				0,04098	9,71E-05	0,2
100	++	++	++				0,04226	0,04251	0,04224				0,04234	1,50E-04	0,4
110	++	++	++				0,0464	0,04611	0,04674				0,04642	3,15E-04	0,7
120	++	++	++				0,05185	0,05166	0,0507				0,05140	6,16E-04	1,2

Tabell 23: Rådata fra analyse av lavt nivå av kalium (del 2). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Lipemi (absorbans)						Middel-verdi	SD-avvik	% CV	Hb Advia (mg/dl)
	P1	P2	P3	P4	P5	P6				
0	0,00286	0,00288	0,0029	0,00284	0,00292	0,00274	0,00286	6,377E-05	2,2	5,71
10	0,00287	0,00285	0,00295				0,00289	5,292E-05	1,8	20,79
15	0,00296	0,00298	0,00301				0,00298	2,517E-05	0,8	27,93
20	0,00294	0,00296	0,00292				0,00294	2,000E-05	0,7	36,58
25	0,00290	0,00298	0,00302				0,00297	6,110E-05	2,1	43,41
30	0,00297	0,00302	0,00298				0,00299	2,646E-05	0,9	53,02
35	0,00299	0,00298	0,00296				0,00298	1,528E-05	0,5	59,43
40	0,00298	0,00298	0,00296				0,00297	1,155E-05	0,4	81,35
45	0,00305	0,00306	0,00303				0,00305	1,528E-05	0,5	73,05
50	0,00302	0,00305	0,00304				0,00304	1,528E-05	0,5	86,17
55	0,00305	0,00305	0,00304				0,00305	5,774E-06	0,2	87,65
60	0,00303	0,00306	0,00303				0,00304	1,732E-05	0,6	94,79
65	0,00307	0,00302	0,00307				0,00305	2,887E-05	0,9	104,17
70	0,00311	0,0031	0,00302				0,00308	4,933E-05	1,6	111,57
75	0,00309	0,00313	0,00303				0,00308	5,033E-05	1,6	119,25
80	0,00308	0,00307	0,00309				0,00308	1,000E-05	0,3	120,76
85	0,00302	0,00311	0,00309				0,00307	4,726E-05	1,5	129,18
90	0,00310	0,00313	0,00308				0,00310	2,517E-05	0,8	140,39
95	0,00312	0,00315	0,00308				0,00312	3,512E-05	1,1	147,38
100	0,00317	0,00311	0,00314				0,00314	3,000E-05	1,0	152,61
110	0,00315	0,00315	0,00315				0,00315	0,000E+00	0,0	168,65
120	0,00326	0,00320	0,00316				0,00321	5,033E-05	1,6	188,06

Tabell 24: Rådata fra analyse av lavt nivå av kalium (del 3). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Kalium (mmol/l)						% Bias	Middel- verdi	SD- avvik	% CV
	P1	P2	P3	P4	P5	P6				
0	2,9	3,0	2,9	2,9	2,9	2,9	-	2,9	0,0000	1,4
10	3,0	3,0	3,0				2,74	3,0	0,0000	0,0
15	3,0	3,0	3,0				2,74	3,0	0,0000	0,0
20	3,0	3,0	3,0				2,74	3,0	0,0000	0,0
25	3,0	3,0	3,0				2,74	3,0	0,0000	0,0
30	3,0	3,0	3,0				2,74	3,0	0,0000	0,0
35	3,1	3,0	3,0				3,88	3,0	0,0577	1,9
40	3,1	3,1	3,1				6,16	3,1	0,0000	0,0
45	3,1	3,1	3,1				6,16	3,1	0,0000	0,0
50	3,1	3,1	3,1				6,16	3,1	0,0000	0,0
55	3,1	3,1	3,1				6,16	3,1	0,0000	0,0
60	3,1	3,1	3,1				6,16	3,1	0,0000	0,0
65	3,1	3,1	3,1				6,16	3,1	0,0000	0,0
70	3,1	3,1	3,1				6,16	3,1	0,0000	0,0
75	3,1	3,1	3,1				6,16	3,1	0,0000	0,0
80	3,2	3,2	3,2				9,59	3,2	0,0000	0,0
85	3,2	3,2	3,2				9,59	3,2	0,0000	0,0
90	3,2	3,2	3,2				9,59	3,2	0,0000	0,0
95	3,2	3,2	3,2				9,59	3,2	0,0000	0,0
100	3,2	3,2	3,2				9,59	3,2	0,0000	0,0
110	3,3	3,3	3,2				11,87	3,3	0,0577	1,8
120	3,3	3,3	3,3				13,01	3,3	0,0000	0,0

Tabell 25: Rådata fra analyse av lavt nivå av kalium (del 4). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Jern ($\mu\text{mol/l}$)						Middel- verdi	SD- avvik	% CV	% Bias
	P1	P2	P3	P4	P5	P6				
0	6,35	6,36	6,36	6,29	6,26	6,30	6,32	0,04243	0,7	-
10	6,24	6,24	6,39				6,29	0,08660	1,4	0,47
15	6,08	6,02	6,18				6,09	0,08083	1,3	3,59
20	5,82	6,01	6,00				5,94	0,10693	1,8	5,96
25	5,61	5,88	5,82				5,77	0,14177	2,5	8,70
30	5,55	5,65	5,75				5,65	0,10000	1,8	10,60
35	5,66	5,65	5,69				5,67	0,02082	0,4	10,34
40	5,11	4,96	5,26				5,11	0,15000	2,9	19,15
45	5,11	4,31	5,39				4,94	0,56048	11,4	21,89
50	5,05	5,14	5,07				5,09	0,04726	0,9	19,51
55	5,03	5,02	5,19				5,08	0,09539	1,9	19,62
60	4,82	4,93	5,17				4,97	0,17898	3,6	21,31
65	4,73	5,01	4,98				4,91	0,15373	3,1	22,36
70	4,42	4,76	4,85				4,68	0,22679	4,8	26,00
75	4,55	4,71	4,74				4,67	0,10214	2,2	26,16
80	4,47	4,77	4,86				4,70	0,20421	4,3	25,63
85	4,48	4,45	4,41				4,45	0,03512	0,8	29,64
90	4,33	4,39	4,55				4,42	0,11372	2,6	30,01
95	4,07	4,24	4,23				4,18	0,09539	2,3	33,86
100	4,19	4,21	4,28				4,23	0,04726	1,1	33,12
110	3,98	4,03	4,13				4,05	0,07638	1,9	35,97
120	3,80	3,77	3,71				3,76	0,04583	1,2	40,51

Tabell 26: Rådata for analyse av høyt nivå av kalium (del 1). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Grad av indeks						Hemolyse (absorbans)						Middel-verdi	SD-avvik	% CV
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P1	P2	P3	P4	P5	P6			
0	-	-	-	-	-	-	0,00261	0,0026	0,0026	0,0026	0,00257	0,00255	0,00259	2,317E-05	0,9
10	-	-	-				0,00636	0,00636	0,00627				0,00633	5,20E-05	0,8
15	-	-	-				0,00823	0,00825	0,00821				0,00823	2,00E-05	0,2
20	-	-	-				0,01023	0,01026	0,01025				0,01025	1,53E-05	0,1
25	-	-	-				0,01192	0,01195	0,01198				0,01195	3,00E-05	0,3
30	+	+	+				0,01372	0,01378	0,01378				0,01376	3,46E-05	0,3
35	+	+	+				0,01595	0,01608	0,01599				0,01601	6,66E-05	0,4
40	+	+	+				0,02008	0,01998	0,01994				0,02000	7,21E-05	0,4
45	+	+	+				0,01917	0,01926	0,01916				0,01920	5,51E-05	0,3
50	+	+	+				0,02282	0,02284	0,02290				0,02285	4,16E-05	0,2
55	+	+	+				0,02294	0,0229	0,02300				0,02295	5,03E-05	0,2
60	+	+	+				0,02492	0,02518	0,02494				0,02501	1,45E-04	0,6
65	+	+	+				0,02659	0,02648	0,02632				0,02646	1,36E-04	0,5
70	+	+	+				0,02764	0,02781	0,02782				0,02776	1,01E-04	0,4
75	+	+	+				0,02970	0,02984	0,02987				0,02980	9,07E-05	0,3
80	+	+	+				0,03127	0,03137	0,03148				0,03137	1,05E-04	0,3
85	+	+	+				0,03359	0,03401	0,03442				0,03401	4,15E-04	1,2
90	+	+	+				0,03580	0,03719	0,03567				0,03622	8,43E-04	2,3
95	+	+	+				0,03692	0,03667	0,03692				0,03684	1,44E-04	0,4
100	++	++	++				0,03894	0,03847	0,03857				0,03866	2,48E-04	0,6
110	++	++	++				0,04240	0,04251	0,04249				0,04247	5,86E-05	0,1
120	++	++	++				0,04810	0,04777	0,04731				0,04773	3,97E-04	0,8

Tabell 27: Rådata for analyse av høyt nivå av kalium (del 2). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Lipemi (absorbans)						Middel-verdi	SD-avvik	% CV	Hb Advia (mg/dl)
	P1	P2	P3	P4	P5	P6				
0	0,0016	0,00158	0,00159	0,00158	0,00161	0,00154	0,00158	2,4221E-05	1,5	2,99
10	0,00167	0,00163	0,00167				0,001657	2,309E-05	1,4	17,41
15	0,00163	0,00167	0,00169				0,001663	3,055E-05	1,8	24,87
20	0,00163	0,00168	0,00163				0,001647	2,887E-05	1,8	32,89
25	0,00163	0,00171	0,00163				0,001657	4,619E-05	2,8	39,57
30	0,00166	0,00171	0,00170				0,001690	2,646E-05	1,6	46,55
35	0,00168	0,00170	0,00167				0,001683	1,528E-05	0,9	55,44
40	0,00173	0,00175	0,00169				0,001723	3,055E-05	1,8	71,00
45	0,00171	0,00171	0,00170				0,001707	5,774E-06	0,3	67,91
50	0,00169	0,00172	0,00174				0,001717	2,517E-05	1,5	82,28
55	0,00175	0,00173	0,00175				0,001743	1,155E-05	0,7	82,53
60	0,00176	0,00178	0,00173				0,001757	2,517E-05	1,4	90,61
65	0,00172	0,00173	0,00169				0,001713	2,082E-05	1,2	96,53
70	0,00173	0,00172	0,00172				0,001723	5,774E-06	0,3	101,58
75	0,00177	0,00178	0,00179				0,001780	1,000E-05	0,6	109,39
80	0,00177	0,00176	0,00179				0,001773	1,528E-05	0,9	115,61
85	0,00179	0,00180	0,00180				0,001797	5,774E-06	0,3	125,89
90	0,00178	0,00182	0,00182				0,001807	2,309E-05	1,3	134,57
95	0,00180	0,00182	0,00182				0,001813	1,155E-05	0,6	136,97
100	0,00181	0,00180	0,00176				0,001790	2,646E-05	1,5	144,27
110	0,00186	0,00185	0,00186				0,001857	5,774E-06	0,3	158,97
120	0,00190	0,00190	0,00187				0,001890	1,732E-05	0,9	179,56

Tabell 28: Rådata for analyse av høyt nivå av kalium (del 3). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Kalium (mmol/l)						Middelverdi	% Bias	SD- avvik	% CV
	P1	P2	P3	P4	P5	P6				
0	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6	-	9,7E-16	2,1E-14
10	4,7	4,7	4,7				4,7	2,17	0,000	0,0
15	4,7	4,7	4,7				4,7	2,17	0,000	0,0
20	4,7	4,7	4,7				4,7	2,17	0,000	0,0
25	4,7	4,7	4,7				4,7	2,17	0,000	0,0
30	4,8	4,8	4,8				4,8	4,35	0,000	0,0
35	4,8	4,8	4,8				4,8	4,35	0,000	0,0
40	4,8	4,8	4,8				4,8	4,35	0,000	0,0
45	4,8	4,8	4,8				4,8	4,35	0,000	0,0
50	4,8	4,8	4,8				4,8	4,35	0,000	0,0
55	4,8	4,8	4,8				4,8	4,35	0,000	0,0
60	4,8	4,9	4,8				4,8	5,07	0,058	1,2
65	4,9	4,9	4,9				4,9	6,52	0,000	0,0
70	4,9	4,9	4,9				4,9	6,52	0,000	0,0
75	4,9	4,9	4,9				4,9	6,52	0,000	0,0
80	4,9	4,9	4,9				4,9	6,52	0,000	0,0
85	4,9	4,9	4,9				4,9	6,52	0,000	0,0
90	4,9	4,9	4,9				4,9	6,52	0,000	0,0
95	4,9	5,0	4,9				4,9	7,25	0,058	1,2
100	5,0	5,0	5,0				5,0	8,70	0,000	0,0
110	5,0	5,0	5,0				5,0	8,70	0,000	0,0
120	5,0	5,0	5,0				5,0	8,70	0,000	0,0

Tabell 29: Rådata for analyse av høyt nivå av kalium (del 4). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Jern ($\mu\text{mol/l}$)						Middelverdi	SD-avvik	% Bias	% CV
	P1	P2	P3	P4	P5	P6				
0	14,78	14,81	14,78	14,77	14,85	14,92	14,82	0,0577639	-	0,4
10	15,07	14,98	15,09				15,05	0,0585947	1,53	0,4
15	14,82	14,62	14,82				14,75	0,1154701	0,45	0,8
20	14,57	14,43	14,57				14,52	0,0808290	2,00	0,6
25	14,49	14,33	14,46				14,43	0,0850490	2,65	0,6
30	14,16	14,29	14,37				14,27	0,1059874	3,69	0,7
35	13,98	14,09	13,99				14,02	0,0608276	5,40	0,4
40	13,63	13,82	13,83				13,76	0,1126943	7,15	0,8
45	13,89	13,90	13,66				13,82	0,1357694	6,77	1,0
50	13,60	13,52	13,80				13,64	0,1442221	7,96	1,1
55	13,56	13,54	13,61				13,57	0,0360555	8,43	0,3
60	13,51	13,61	13,47				13,53	0,0721110	8,70	0,5
65	13,35	13,32	13,37				13,35	0,0251661	9,94	0,2
70	13,40	13,31	13,29				13,33	0,0585947	10,03	0,4
75	13,22	13,04	13,23				13,16	0,1069268	11,18	0,8
80	13,06	13,16	13,18				13,13	0,0642910	11,38	0,5
85	13,20	13,19	13,21				13,20	0,0100000	10,93	0,1
90	13,18	13,24	13,22				13,21	0,0305505	10,84	0,2
95	13,40	13,15	13,34				13,30	0,1305118	10,28	1,0
100	13,16	13,27	13,30				13,24	0,0737111	10,64	0,6
110	13,08	13,14	13,18				13,13	0,0503322	11,38	0,4
120	13,22	13,35	13,35				13,31	0,0750555	10,21	0,6

Vedlegg 11: Rådata fra der prøver ble hemolysert med risting

Tabell 30: Rådata fra analyse av lavt nivå av jern der prøver ble hemolysert med risting (del 1). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Grad av indeks				Hemolyse (absorbans)				Middelverdi	SD-avvik	%CV	%avvik
	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4				
0	-	-	-	-	0,00567	0,00564	0,00568	0,00566	0,00566	1,708E-05	0,3	-
10	-	-			0,00942	0,00932			0,00937			1,1
15	-	-			0,01130	0,01125			0,01128			0,4
20	-	-			0,01279	0,01291			0,01285			-0,9
25	-	-			0,01477	0,01465			0,01471			0,8
30	+	+			0,01703	0,01679			0,01691			1,4
35	+	+			0,01850	0,01846			0,01848			0,2
40	+	+			0,02065	0,02094			0,02080			-1,4
45	+	+			0,02161	0,02147			0,02154			0,6
50	+	+			0,02423	0,02421			0,02422			0,1
55	+	+			0,02610	0,02609			0,02610			0,0
60	+	+			0,02485	0,02471			0,02478			0,6
65	+	+			0,02988	0,03016			0,03002			-0,9
70	+	+			0,03155	0,03189			0,03172			-1,1
75	+	+			0,03420	0,03393			0,03407			0,8
80	+	+			0,03367	0,0338			0,03374			-0,4
85	+	+			0,03452	0,03718			0,03585			-7,4
90	+	+			0,03962	0,03975			0,03969			-0,3
95	++	++			0,04129	0,04121			0,04125			0,2
100	+	+			0,04055	0,04040			0,04048			0,4
110	++	++			0,04691	0,04699			0,04695			-0,2
120	++	++			0,04886	0,04962			0,04924			-1,5
130	++	++			0,05388	0,05460			0,05424			-1,3
140	++	++			0,05836	0,05819			0,05828			0,3
150	++	++			0,06203	0,06259			0,06231			-0,9
160	+++	+++			0,06724	0,06745			0,06735			-0,3
170	+++	+++			0,06704	0,06705			0,06705			0,0
180	+++	+++			0,06974	0,07042			0,07008			-1,0
190	+++	+++			0,07670	0,07730			0,07700			-0,8
200	+++	+++			0,07483	0,07524			0,07504			-0,5
210	+++	+++			0,08252	0,08359			0,08306			-1,3
300	+++	+++			0,11130	0,11151			0,11141			-0,2

Tabell 31: Rådata fra analyse av lavt nivå av jern der prøver ble hemolysert med risting (del 2). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Lipemi (absorbans)				Middelverdi	%avvik	SD-avvik	%CV	Hb Advia (mg/dl)
	P1	P2	P3	P4					
0	0,00413	0,00416	0,00418	0,00417	0,00416	-	2,16E-05	0,5	3,37
10	0,00429	0,00423			0,0043	1,4			17,53
15	0,00433	0,00424			0,0043	2,1			24,92
20	0,00434	0,00437			0,0044	-0,7			30,82
25	0,00439	0,00435			0,0044	0,9			38,08
30	0,00441	0,00475			0,0046	-7,4			45,80
35	0,00437	0,00444			0,0044	-1,6			52,78
40	0,00441	0,00452			0,0045	-2,5			61,64
45	0,00446	0,00442			0,0044	0,9			64,69
50	0,00457	0,00453			0,0046	0,9			74,76
55	0,00456	0,00459			0,0046	-0,7			82,03
60	0,00455	0,00454			0,0045	0,2			76,99
65	0,00465	0,00473			0,0047	-1,7			96,99
70	0,00470	0,00472			0,0047	-0,4			103,60
75	0,00485	0,00479			0,0048	1,2			112,34
80	0,00464	0,00475			0,0047	-2,3			111,61
85	0,00486	0,00479			0,0048	1,5			119,36
90	0,00483	0,0048			0,0048	0,6			134,52
95	0,00487	0,00488			0,0049	-0,2			140,42
100	0,00485	0,00488			0,0049	-0,6			137,41
110	0,00492	0,00499			0,0050	-1,4			162,53
120	0,00498	0,00509			0,0050	-2,2			171,19
130	0,00502	0,00511			0,0051	-1,8			190,77
140	0,00515	0,00512			0,0051	0,6			206,36
150	0,00527	0,00532			0,0053	-0,9			221,54
160	0,00526	0,00538			0,0053	-2,3			241,28
170	0,00539	0,00538			0,0054	0,2			239,80
180	0,00535	0,00543			0,0054	-1,5			251,74
190	0,00553	0,00557			0,0056	-0,7			278,30
200	0,00542	0,00556			0,0055	-2,6			270,82
210	0,00560	0,00564			0,0056	-0,7			301,85
300	0,00606	0,00607			0,0061	-0,2			411,60

Tabell 32: Rådata fra analyse av lavt nivå av jern der prøver ble hemolysert med risting (del 3). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Jern ($\mu\text{mol/l}$)				Middelverdi	SD-avvik	%CV	%avvik	% bias
	P1	P2	P3	P4					
0	5,28	5,30	5,24	5,32	5,29	0,034157	0,6	-	-
10	5,12	5,22			5,17			-1,9	2,27
15	4,96	4,95			4,96			0,2	6,33
20	4,90	4,96			4,93			-1,2	6,81
25	4,79	4,82			4,81			-0,6	9,17
30	4,65	4,70			4,68			-1,1	11,63
35	4,57	4,58			4,58			-0,2	13,52
40	4,41	4,53			4,47			-2,7	15,50
45	4,43	4,51			4,47			-1,8	15,50
50	4,33	4,32			4,33			0,2	18,24
55	4,23	4,18			4,21			1,2	20,51
60	4,25	4,20			4,23			1,2	20,13
65	4,00	4,03			4,02			-0,7	24,10
70	3,95	3,99			3,97			-1,0	24,95
75	3,82	3,83			3,83			-0,3	27,69
80	3,8	3,82			3,81			-0,5	27,98
85	3,68	3,66			3,67			0,5	30,62
90	3,46	3,66			3,56			-5,6	32,70
95	3,50	3,55			3,53			-1,4	33,36
100	3,63	3,56			3,60			1,9	32,04
110	3,23	3,26			3,25			-0,9	38,66
120	3,29	3,26			3,28			0,9	38,09
130	3,11	2,96			3,04			4,9	42,63
140	2,86	2,76			2,81			3,6	46,88
150	2,71	2,72			2,72			-0,4	48,68
160	2,53	2,48			2,51			2,0	52,65
170	2,65	2,53			2,59			4,6	51,04
180	2,49	2,45			2,47			1,6	53,31
190	2,56	2,40			2,48			6,5	53,12
200	2,41	2,45			2,43			-1,6	54,06
210	2,54	2,53			2,54			0,4	52,08
300	2,61	2,43			2,52			7,1	52,36

Tabell 33: Rådata fra analyse av høyt nivå av jern der prøver ble hemolysert med risting (del 1). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Grad av indeks				Hemolyse (absorbans)				Middelverdi	SD-avvik	%CV	%avvik
	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4				
0	-	-	-	-	0,00500	0,00500	0,00493	0,00498	0,00498	3,304E-05	0,7	-
10	-	-			0,00861	0,00862			0,00862			-0,12
15	-	-			0,01024	0,01027			0,01026			-0,29
20	-	-			0,01247	0,01226			0,01237			1,70
25	-	-			0,01415	0,01420			0,01418			-0,35
30	+	+			0,01593	0,01626			0,01610			-2,05
35	+	+			0,01801	0,01828			0,01815			-1,49
40	+	+			0,02066	0,02055			0,02061			0,53
45	+	+			0,02117	0,02129			0,02123			-0,57
50	+	+			0,02365	0,02381			0,02373			-0,67
55	+	+			0,02583	0,02583			0,02583			0,00
60	+	+			0,02536	0,02458			0,02497			3,12
65	+	+			0,03053	0,03019			0,03036			1,12
70	+	+			0,03161	0,03144			0,03153			0,54
75	+	+			0,03456	0,03455			0,03456			0,03
80	+	+			0,03386	0,03446			0,03416			-1,76
85	+	+			0,03805	0,03756			0,03781			1,30
90	++	++			0,04068	0,04007			0,04038			1,51
95	++	++			0,04154	0,04137			0,04146			0,41
100	++	++			0,04059	0,04054			0,04057			0,12
110	++	++			0,04469	0,04517			0,04493			-1,07
120	++	++			0,04988	0,04901			0,04945			1,76
130	++	++			0,05447	0,05475			0,05461			-0,51
140	++	++			0,05924	0,05936			0,05930			-0,20
150	++	++			0,06338	0,06330			0,06334			0,13
160	+++	+++			0,06532	0,06581			0,06557			-0,75
170	+++	+++			0,07198	0,07209			0,07204			-0,15
180	+++	+++			0,07283	0,07237			0,07260			0,63
190	+++	+++			0,07778	0,07775			0,07777			0,04
200	+++	+++			0,07533	0,07600			0,07567			-0,89
210	+++	+++			0,08512	0,08497			0,08505			0,18
300	+++	+++			0,10838	0,10753			0,10796			0,79

Tabell 34: Rådata fra analyse av høyt nivå av jern der prøver ble hemolysert med risting (del 2). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Lipemi (absorbans)				Middelverdi	SD-avvik	%CV	%avvik	Hb Advia (mg/dl)
	P1	P2	P3	P4					
0	0,00306	0,00311	0,00304	0,00307	0,00307	2,94E-05	1,0	-	5,63
10	0,00311	0,00312			0,00312			-0,32	19,77
15	0,00299	0,00299			0,00299			0,00	26,81
20	0,00314	0,00318			0,00316			-1,27	34,35
25	0,00327	0,00329			0,00328			-0,61	40,94
30	0,00324	0,00329			0,00327			-1,53	48,58
35	0,00327	0,00334			0,00331			-2,12	56,48
40	0,00335	0,00329			0,00332			1,81	66,11
45	0,00339	0,00336			0,00338			0,89	68,32
50	0,00340	0,00343			0,00342			-0,88	78,00
55	0,00355	0,00356			0,00356			-0,28	85,64
60	0,00349	0,00356			0,00353			-1,99	82,38
65	0,00358	0,00357			0,00358			0,28	103,41
70	0,00359	0,00355			0,00357			1,12	108,02
75	0,00353	0,00357			0,00355			-1,13	120,06
80	0,00357	0,00363			0,00360			-1,67	118,28
85	0,00374	0,00380			0,00377			-1,59	131,87
90	0,00373	0,00376			0,00375			-0,80	142,12
95	0,00376	0,00377			0,00377			-0,27	146,29
100	0,00378	0,00378			0,00378			0,00	142,71
110	0,00390	0,00394			0,00392			-1,02	159,28
120	0,00417	0,00417			0,00417			0,00	175,94
130	0,00404	0,00407			0,00406			-0,74	196,83
140	0,00410	0,00416			0,00413			-1,45	214,98
150	0,00432	0,00436			0,00434			-0,92	229,95
160	0,00463	0,00464			0,00464			-0,22	237,38
170	0,00558	0,00558			0,00558			0,00	258,58
180	0,00519	0,00523			0,00521			-0,77	262,50
190	0,00486	0,00492			0,00489			-1,23	284,32
200	0,00470	0,00476			0,00473			-1,27	276,77
210	0,00499	0,00505			0,00502			-1,20	312,43
300	0,00499	0,00489			0,00494			2,02	403,12

Tabell 35: Rådata fra analyse av høyt nivå av jern der prøver ble hemolysert med risting (del 3). P står for parallell. Hb står for hemoglobin.

Teoretisk Hb (mg/dl)	Jern (µmol/l)				Middelverdi	SD-avvik	%CV	%avvik	%bias
	P1	P2	P3	P4					
0	24,53	24,67	24,46	24,47	24,53	0,096738	0,4	-	-
10	23,88	23,94			23,91			-0,25	2,53
15	22,69	22,77			22,73			-0,35	7,34
20	23,91	24,02			23,97			-0,46	2,30
25	24,43	24,16			24,30			1,11	0,96
30	23,78	23,87			23,83			-0,38	2,87
35	23,81	24,05			23,93			-1,00	2,45
40	23,72	23,27			23,50			1,92	4,22
45	23,97	23,82			23,90			0,63	2,59
50	23,90	23,89			23,90			0,04	2,59
55	23,89	23,99			23,94			-0,42	2,41
60	24,08	23,95			24,02			0,54	2,10
65	23,53	23,52			23,53			0,04	4,10
70	23,30	23,31			23,31			-0,04	4,99
75	22,88	23,16			23,02			-1,22	6,16
80	23,15	23,30			23,23			-0,65	5,32
85	24,00	24,13			24,07			-0,54	1,90
90	23,52	23,67			23,60			-0,64	3,81
95	23,35	23,35			23,35			0,00	4,81
100	23,45	23,42			23,44			0,13	4,46
110	23,46	23,73			23,60			-1,14	3,81
120	24,80	25,04			24,92			-0,96	1,59
130	23,10	22,94			23,02			0,70	6,16
140	23,45	23,36			23,41			0,38	4,59
150	24,66	24,81			24,74			-0,61	0,84
160	26,34	26,34			26,34			0,00	7,38
170	31,64	31,64			31,64			0,00	28,98
180	28,77	28,79			28,78			-0,07	17,33
190	26,26	26,15			26,21			0,42	6,83
200	25,28	25,05			25,17			0,91	2,59
210	26,32	26,10			26,21			0,84	6,85
300	23,26	23,12			23,19			0,60	5,46

