

Karoline Fundtaunet Roesen

Validering av laktat i venøst blod tatt på BD-Vacutainer® litium-heparinrør

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag
Mars 2022

NTNU
Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for bioingeniørfag

Karoline Fundtaunet Roesen

Validering av laktat i venøst blod tatt på BD-Vacutainer® litium-heparinrør

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag
Mars 2022

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for bioingeniørfag



Kunnskap for en bedre verden

Karoline Fundtaunet Roesen

Validering av laktat i venøst blod tatt på BD-Vacutainer® litium-heparinrør

Bacheloroppgave i Bioingeniørfag
Trondheim, april 2022

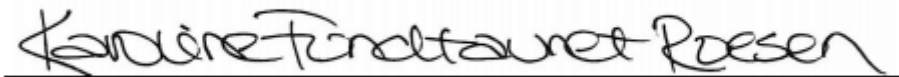
Forord

Denne bacheloroppgaven ble skrevet som en del av faget Bacheloroppgave i bioingeniørfag ved Institutt for bioingeniørfag, fakultet for naturvitenskap ved Norges teknisk-naturvitenskaplige universitet (NTNU) i Trondheim. Oppgaven ble utført i tidsperioden 1 november 2021 – 31 mars 2022.

Oppgaven ble gitt av seksjon for prøvetaking og pasientnær analyse, avdeling for medisinsk biokjemi ved St. Olavs Hospital i Trondheim. Det praktiske arbeidet ble utført i perioden 13 desember 2021 – 18 februar 2022.

Jeg ønsker å takke min veileder, fagansvarlig bioingeniør Fredrik Hansen for god hjelp underveis i både praktisk og teoretisk arbeid. Stor takk til ansvarlig overlege Ingrid Alsos Lian for god hjelp. En stor takk rettes også til mine medarbeidere for hjelp til innsamling av prøvemateriale. Til slutt vil jeg takke min prosessveileder Lise Falk-Larssen Lorentsen for god veiledning og oppfølging under hele prosessen.

Trondheim 31.03.2022



Karoline Fundtaunet Roesen

Sammendrag

Formålet med denne oppgaven var å undersøke om det var mulig å validere laktat som analytt i venøst blod tatt på BD-Vacutainer® litium-heparinrør, da det per i dag er en analytt som kun er validert på Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør ved St. Olavs Hospital.

Det ble utarbeidet en valideringsplan hvor det ble satt krav til tillatt systematisk feil. Deretter ble det samlet inn 45 pasientprøver hvor blodgass var rekvirert som analyse. Prøvene ble analysert på Bergman Diagnostika Radiometer ABL90 Flex blodgassinstrument. For de statistiske beregningene ble statistikkprogrammet MedCalc benyttet.

De statistiske utregningene ga forventet resultat, da Passing & Bablok regresjonsanalyse, sammen med Bland-Altman differanseplot viste god overensstemmelse mellom metodene. Derimot var det for lite innsamlet prøvemateriale med høye konsentrasjoner og det er på grunn av dette ikke mulig å si noe om hvorvidt de to metodene måler likt over hele referanseområdet.

BD-Vacutainer litium-heparinrør kan ikke valideres for analyse av laktat i blodgass da det ikke ble samlet inn ønsket antall prøver med høye konsentrasjoner som beskrevet i valideringsplanen.

Abstract

The purpose of this experiment was to examine the possibility to validate lactate as an analyte on BD-Vacutainer® lithium-heparin tubes, as it is currently an analyte that is only validated on Bergman Diagnostika Radiometer capillary tubes at St. Olavs Hospital.

A verification form was prepared where requirements were set for allowed systematic errors. Then 45 patient samples were collected, where blood gas was requisitioned for analysis. The samples were analyzed on Bergman Diagnostika Radiometer ABL90 Flex blood gas instrument. For the statistical calculations the statistical software MedCalc was used.

The statistical calculations gave results as expected, as Passing & Bablok regression analysis, together with Bland-Altman difference plot showed a good compliance between the methods. However, too little sample material was collected in the high area of reference and it was therefore not possible to say anything about whether the two methods measure equally over the entire reference area.

BD-Vacutainer lithium-heparin tubes could not be validated for lactate analysis in blood gas as the desired number of high concentration samples as described in the validation plan was not collected.

Innhold

Forord	i
Sammendrag	ii
Abstract	iii
Ordliste	1
1.0 Innledning.....	2
1.1 Problemstilling.....	2
2.0 Teori.....	3
2.1 Blodgass.....	3
2.2 Analyseprinsipp Bergman Diagnostika Radiometer ABL90 Flex blodgassinstrument.....	6
2.4 Energimetabolismen	8
2.5 Glykolysen	8
2.3 Laktat	9
2.6 Korrekt prøvetaking og prøvehåndtering.....	11
2.7 BD-Vacutainer litium-heparinrør.....	12
2.8 Tidligere forskning.....	12
2.9 Preanalytiske feilkilder	13
3.0 Materiale og metode.....	15
3.1 Utstyrsliste.....	15
3.2 Innsamling av prøvemateriale.....	15
3.3 Analysering	16
3.4 Statistiske beregninger	17
4.0 Resultater	18
4.1 Validering av laktat på BD-Vacutainer litium-heparinrør.....	18
4.1.1 Metodesammenligning	18
5.0 Diskusjon	24
5.1 Etisk refleksjon	24
5.2 Innsamling	24
5.3 Utførelse.....	25
5.4 Validering av laktat analysert på BD-Vacutainer litium-heparinrør	25
5.4.1 Riktighet	26
5.5 Videre forskning	27
6.0 Referanser	28
7.0 Vedleggsliste.....	31

Ordliste

Acidose: en tilstand hvor blodets pH er lavere enn normalt

Alkalose: en tilstand hvor blodets pH er høyere enn normalt

Aspirere: å suge væske eller luft ut fra et hulrom

Dikroisk speil: et fargeselektivt speil som slipper gjennom gitte farger (av lys) og reflekterer andre

Fosforescens: en type luminescens som produseres av ulike substanser etter at de har absorbert stråling eller annen type energi

In vitro: innen kjemi, en prosess som skjer utenfor levende organismer

Renal: betegner noe som har med nyrene å gjøre

1.0 Innledning

Det analyseres omtrent 140 000 blodgassanalyser årlig ved St. Olavs Hospital. Av disse er laktat én av analyttene som analyseres. Prøvene tas hovedsakelig arterielt og analyseres ute på sykehusets avdelinger, men det er også mulig å ta venøse og kapillære prøver for å analysere blodgass.

Laktat i venøst blod er ikke validert på BD-Vacutainer® litium-heparinrør ved St. Olavs Hospital og på grunn av dette har man kun mulighet til å analysere laktat fra venøst blod når det er tatt på Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør. For å få til dette må man overføre resterende blod fra kanylens slange etter endt prøvetaking, noe som øker sjansen for stikkuhell. Dette medfører en del ekstraarbeid for blodprøvetaker, samt økt HMS-risiko.

På bakgrunn av dette er det ønskelig å få analysert laktat direkte fra BD-Vacutainer litium-heparinrør, sammen med de andre analyttene. Dette ville ført til mindre arbeidsmengde for prøvetaker i tillegg til å minske HMS-risikoen.

1.1 Problemstilling

Følgende problemstilling ble valgt til denne oppgaven.

Er laktat i venøst blod tatt på BD-Vacutainer® litium-heparinrør tilstrekkelig likt laktat i venøst blod tatt på Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør til at førstnevnte kan benyttes som prøvetakingsrør?

2.0 Teori

2.1 Blodgass

Analysering av blodgass brukes i diagnostikk og kontroll av syre/base-forstyrrelser, samt vurdering av respirasjonsstatus [2]. Ved analyse av blodgass måles i hovedsak partielt trykk av oksygen (pO_2) og karbondioksid (pCO_2), pH og base excess (BE). Bikarbonat (HCO_3^-) er også en parameter som er med, men denne beregnes ut fra pH og pCO_2 i stedet for å måles direkte [1]. Andre analytter som måles i blodgass er elektrolyttene natrium (Na^+), kalium (K^+), klorid (Cl^-) og kalsium (Ca^{2+}), samt metabolittene laktat og glukose.

Under måling av blodgass er det som nevnt det partielle trykket som måles. Det vil si trykket av den ene gassen i en blanding av flere gasser. Daltons lov om partielt trykk sier at i en blanding av flere nonreaktive gasser vil hver enkelt gass ha samme mengde trykk som om den ene gassen skulle fylle hele rommet alene. Det vil si at i en blanding av flere gasser er det totale trykket summen av det partielle trykket av alle gassene til stede. [3]

pH og pCO_2 , sammen med bikarbonat og BE gis alltid ut i en blodgassanalyse og utgjør det som kalles grunnpakke. Dette er analyser som kan analyseres både på arterielt, venøst og kapillært blod. De øvrige analyttene, bortsett fra pO_2 er ekstra informasjon som også er med. Venøs pO_2 har ingen klinisk relevans og analyseres kun på arterielt blod. Det er fordi det partielle trykket av oksygen i venøst blod er under halvparten av det i arterieblod, samt at det ikke gir noe klinisk bilde av pasientens oksygeneringsstatus. [18]

En blodgass – grunnpakke gir et bilde på syre/base-balansen i kroppen til pasienten. Forstyrrelser i syre/base-balansen kan føre til én av de to tilstandene acidose eller alkalose. Begge tilstandene kan ha ulike årsaker, men i de fleste tilfeller har pasientene en underliggende sykdom som ofte er nyre- eller lungerelatert. Hovedforskjellen på acidose og alkalose er henholdsvis lav og høy pH. Disse to kan igjen deles inn i respiratorisk eller metabolsk og hvilken av de det er kommer an på BE- og bikarbonatkonsentrasjonene. Respiratoriske forstyrrelser skyldes endringer i lungefunksjon og defineres som en primær endring i pCO_2 , mens metabolske forstyrrelser er alle andre forstyrrelser som ikke skyldes pCO_2 -endring. Disse skyldes endring i BE.

Hovedforskjellen på de ulike tilstandene er gjengitt i tabell 1.

Tabell 1: Hovedforskjeller mellom acidose og alkalose. [14][22]

Acidose – lav pH		Alkalose – høy pH	
Manglende utpusting av CO ₂		Tilførsel av base	
Respirasjonssvikt		Tap av syre	
Respiratorisk	Metabolsk	Respiratorisk	Metabolsk
↑ pCO ₂ (primært)	↑ HCO ₃ ⁻ (primært)	↑ pCO ₂ (primært)	↑ HCO ₃ ⁻ (primært)
↑ HCO ₃ ⁻ (sekundært)	↓ pCO ₂ (sekundært)	↓ HCO ₃ ⁻ (sekundært)	↑ pCO ₂ (sekundært)
BE er normal	BE er lav	BE er normal	BE er høy

Som vist i tabell 1 spiller BE, bikarbonat og pCO₂ en stor rolle i hvordan syre/base-forstyrrelsene klassifiseres.

BE er et mål på mengden sterk syre eller base som trengs for å tilbake stille pH til normalverdi ved standard temperatur (37°C) og trykk (5,3 kPa) og brukes som et mål på ikke-respiratoriske forstyrrelser. Dersom man skulle gjort dette in vitro ville det vært mengden sterk syre eller base som trengs for å titrere en blodprøve til pH 7,4 ved standard temperatur og trykk. [22]

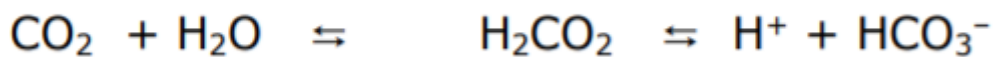
Bikarbonat er en del av kroppens bufferbase, som beskytter kroppen mot store endringer i kroppsvæskens pH [19]. Bikarbonat er et biprodukt av CO₂ som går til nyrene. Enten så har kroppen vanskelig for å kvitte seg med CO₂ eller så er det en elektrolyttubalanse i kroppen. Begge disse virker inn på bikarbonatkonsentrasjonen. [20]

En bikarbonatkonsentrasjon som er høyere eller lavere enn normalt er synonymt med at kroppen sliter med å opprettholde syre/base-balansen. Lave verdier kan være et tegn på flere tilstander som metabolsk acidose, diabetisk ketoacidose, nyresykdom eller kronisk diaré. Høye verdier kan være tegn på metabolsk alkalose, kraftig oppkast eller lungesykdom. [20]

Under den normale energimetabolismen dannes det kontinuerlig syrer. Til tross for dette klarer kroppen, ved hjelp av ulike mekanismer å holde pH innenfor rimelig snevre grenser. Normal pH ligger mellom 7,31 – 7,42 i venøst blod. Syrene som dannes må skilles ut og dette skjer via lunger og nyrer, med hensyn til pH i kroppen. Inntil utskillelse finner sted benytter kroppen seg av noen mekanismer for å holde pH i sjakk. [22]

Mekanismene er kjemisk bufning og fysiologiske kompensasjonsmekanismer. Sistnevnte er respiratorisk kompensasjon av metabolske forstyrrelser og omvendt, da kalt renal kompensasjon. Disse er midlertidige og av begrenset kapasitet. Dette betyr at en forstyrrelse i det ene systemet, altså lunger eller nyrer, til en viss grad kan normaliseres gjennom kompensatoriske endringer i det andre. [22]

Den kjemiske bufningen er et kjemisk buffersystem som kalles kullsyre/bikarbonatbufferen og ses i figur 1.



Figur 1: Kullsyre/bikarbonatbufferen. [22]

Denne ligningen kan brukes som et utgangspunkt for vurdering av syre/base-forstyrrelser, da den ved ulike tilstander vil forskyves enten mot høyre eller venstre. Et eksempel på dette er ved respiratorisk alkalose hvor det primært skjer en senkning av pCO₂. Likevekten vil forskyves mot venstre grunnet tap av H⁺-ioner. [22]

Ved metabolsk acidose vil den lave pH-en stimulere respirasjonssenteret og hyperventilasjon inntre. Det gir økt CO₂-utskillelse via lungene som senker pCO₂ som igjen fører til at pH øker noe. Det motsatte skjer ved metabolsk alkalose. Det vil si at hypoventilasjon inntre og pH synker noe. Disse er begge respiratoriske kompensasjonsmekanismer. Renal kompensasjon kan skje både ved respiratoriske og metabolske forstyrrelser og inntre mye langsommere enn den respiratoriske kompensasjonen. Nyrene endrer da sin syreutskillelse, men dette forutsetter rimelig god nyrefunksjon. Akutte respiratoriske forstyrrelser vil alltid være ukompenserte fordi respiratorisk kompensasjon ikke er mulig, i tillegg til at renal kompensasjon skjer så langsomt at den ikke kommer i gang. [22]

En parameter som kan gi informasjon om elektrolyttbalansen i kroppen er anion gap. Instrumentet beregner det selv og det er et mål på forskjellen mellom mengden negativt ladde ioner, som klorid og bikarbonat, og mengden positivt ladde ioner, som natrium, i blodet. Det er vanlig å bruke anion gap til å klassifisere metabolsk acidose. [23]

2.2 Analyseprinsipp Bergman Diagnostika Radiometer ABL90 Flex blodgassinstrument

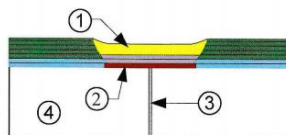
Instrumentet som benyttes til blodgassanalyser på St. Olavs Hospital er Bergman Diagnostika Radiometer ABL90 Flex. Det kan analysere 17 ulike parametere med kun 65µL blod [6].

Vedlegg 3 viser hvordan en utskrift fra instrumentet ser ut. Noen parametere måles direkte og andre beregnes, og de kan deles inn som vist i tabell 2.

Tabell 2: Oversikt over målte og beregnede parametere på ABL90 Flex blodgassinstrument.

Målte parametere	Beregnete parametere
pH, pCO ₂ , pO ₂ , ctHb, sO ₂ , FCOHb, FMetHb, kalium, natrium, klorid, kalsium, glukose, laktat og bilirubin	cHCO ₃ ⁻ , anion gap og cBase (Base Excess)

Instrumentet benytter seg av de tre måleprinsippene potensiometri, optisk måling og amperimetri. pH og elektrolytter blir målt potensiometrisk, det vil si at potensialforskjellen måles mellom en indikatorelektrode og en referanselektrode når det ikke går strøm i den elektrokjemiske cellen. Elektrolytter som måles er kalium, kalsium, klorid og natrium. pH og elektrolyttsensoren er bygd opp som vist i figur 2 og den består av en ioneselektiv PVC-membran. [7][8]

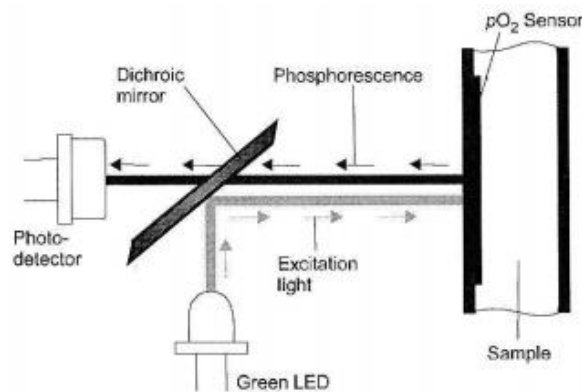


Item	Part	Description
1	Membrane	Ion-selective membrane that is in direct contact with the sample or calibration solution and that is sensitive to a specific ion, e.g. the H ⁺ ions.
2 Sol	d-state contact	The point of electrical and ionic contact with the membrane.
3	Electrical contact	The point of electrical contact between the sensor and the analyzer.
4	Electrode base	The structural platform on which the electrode is formed.

Figur 2: Konstruksjon av pH- og elektrolyttsensor. [8]

Her blir potensialet til elektrodekjeden lest av på et voltmeter og det har sammenheng med konsentrasjonen av stoffet. Dette gir en avlesning av aktiviteten til ionene i prøven og instrumentet konverterer automatisk aktiviteten til konsentrasjon. [7][8]

Optisk måling baserer seg på oksygenets evne til å redusere intensiteten og tidskonstanten til fosforescerende fargestoff som er i kontakt med prøven. Et grønt LED-lys sender ut lys som reflekteres av et dikroisk speil på pO₂-sensoren. Fosforescensen gjør at rødt lys går tilbake gjennom speilet og inn til en fotodetektor, som igjen sender de elektriske signalene til den elektriske omformerer. Det elektriske signalet er proporsjonalt med lysintensiteten. Konsentrasjonen av pO₂ beregnes ut fra målingen som er gjort. Figur 3 viser måleprinsippet til pO₂-sensoren. [8]

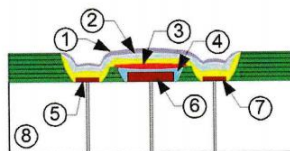


Figur 3: Måleprinsipp pO₂-sensor. [8]

Metabolittene, glukose og laktat måles ved et amperimetriisk måleprinsipp. Dette er en elektrokjemisk prosess hvor strøm måles ved en fast potensialforskjell mellom arbeids- og referanseelektrodene i en elektrokjemisk celle. Glukose- og laktatsensorene er tre-elektrodesensorer som består av en innvendig sølvkatode og en platinumanode. Disse er beskyttet av en elektrodekappe fylt med elektrolytt. På enden av elektroden finnes en flerlags membran, hvor det ytterste laget er permeabelt for laktat og det innerste for hydrogenperoksid, H₂O₂. [8] Etter at laktatmolekyler har passert den ytterste membranen, skjer følgende reaksjon:



Deretter kan H₂O₂ passere den indre membranen. Oksydering av H₂O₂ gir en strømstyrke som har sammenheng med konsentrasjonen til stoffet. Strømstyrken er her direkte proporsjonal med mengden laktat i blodet. [8][9] Oppbyggingen av metabolittsensoren er vist i figur 4.



Item	Part	Description
1	Biocompatible layer	Biocompatible layer
2	Outer membrane	Outer membrane permeable to glucose – diffusion control
3	Enzyme layer	Contains glucose/lactate oxidase.
4	Inner membrane	Cellulose acetate.
5	Reference	Ag/AgCl electrode.
6	Anode	Platinum electrode.
7	Cathode	Platinum electrode.
8	Electrode base	The structural platform on which the sensor is formed.

Figur 4: Konstruksjon av metabolittsensoren. [8]

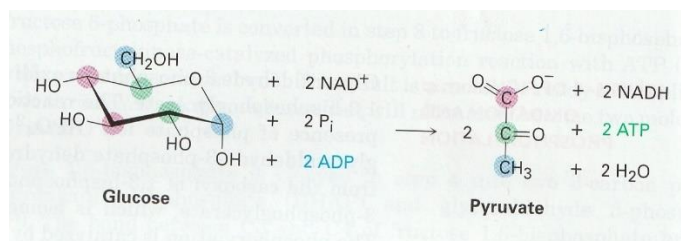
2.4 Energimetabolismen

Energimetabolismen er de prosessene som foregår inni kroppen som enten danner eller forbruker energi. Den deles opp i henholdsvis den katabolske og den anabolske energimetabolismen. Den katabolske energimetabolismen bryter ned større molekyler til flere små og danner deretter energi. Starten av katabolismen er nedbryting av mat, delt opp i tre deler. Fett, karbohydrater og proteiner hydrolyseres og gir fettsyrer, sukker og aminosyrer, som igjen blir absorbert av celler som bryter de ned til acetylgrupper. [11]

Enzymet Acetyl coenzym A, kalt Acetyl CoA, er et produkt av blant annet glykolysen og spiller en viktig rolle i energimetabolismen. Det går videre inn i sitronsyresyklusen hvor det blir oksidert og danner CO₂. Dette trinnet i katabolismen danner en stor mengde energi som blir brukt i neste trinn, elektrontransportkjeden, for å danne adenosintrifosfat, kalt ATP, som er en av de største energileverandørene i kroppen. [11]

2.5 Glykolysen

Glukose er kroppens viktigste energikilde og kan brytes ned på to måter: aerobt og anaerobt. Dette er prosesser henholdsvis med og uten oksygen til stede. Både aerob og anaerob nedbryting av glukose kalles glykolyse og endeproduktene er ulike, avhengig av om det er oksygen til stede eller ikke. Aerob glykolyse gir to pyruvatmolekyler, samt ATP og anaerob glykolyse gir laktat. [11] Glykolysen er en titrinns vei som styres av ulike enzymer. Det overordnede resultatet av glykolysen er vist i figur 5.

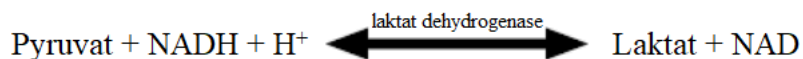


Figur 5: forenklet oppsett av glykolysen [11]

Pyruvat som dannes av aerob glykolyse kan etter dette gjennomgå ytterligere endring, avhengig av ulike forhold. Vanligvis omdannes det til Acetyl CoA i en kompleks enzymreaksjon og som nevnt spiller det en viktig rolle i energimetabolismen. [11]

2.3 Laktat

Laktat, også kjent som melkesyre, er et endeprodukt av glykolysen. Laktat er endeproduktet av den anaerobe glykolysen og kan kun dannes av pyruvat, som er endeproduktet til den aerobe glykolysen. Denne omdanningen skjer ved hjelp av enzymet laktat dehydrogenase, som vist i figur 6. [12][21]



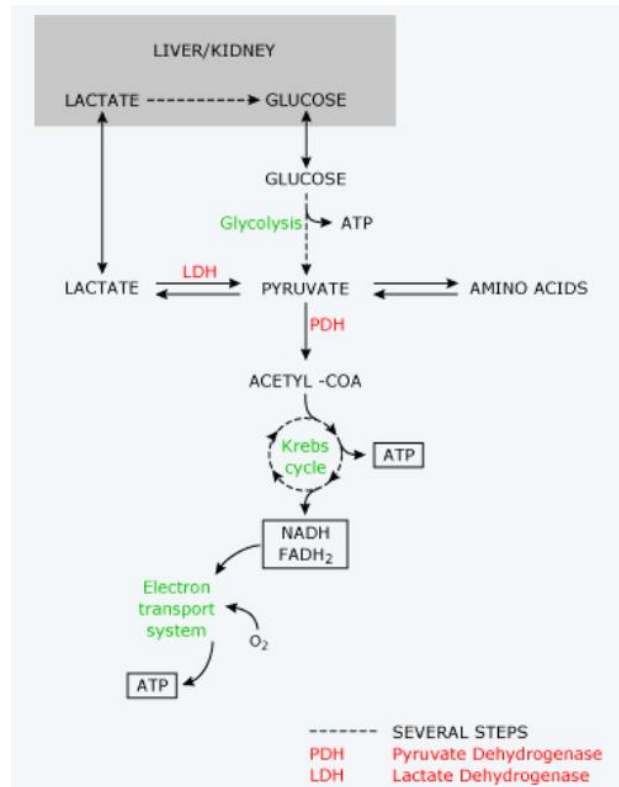
Figur 6: omdannelse av pyruvat til laktat. [21]

Pyruvat er saltet av pyrodruesyre og er en av de viktigste metabolittene i kroppen. En av dets største funksjoner er å være mellomledd mellom ulike biokjemiske reaksjoner. [24]

Under anaerobe forhold omdannes NADH til NAD^+ , hovedsakelig gjennom oksidativ fosforylering, en omdanning som er nødvendig for energiomsetningen. Pyruvat omdannes under anaerobe forhold til laktat og på denne måten tilføres NAD^+ til glykolysen. Dette muliggjør cellenes produksjon av energirike forbindelser som adenosintrifosfat, ATP, også i fravær av oksygen. [12]

Anaerob glykolyse gir kun to ATP-molekyler, i motsetning til den aerobe veien, hvor pyruvat omdannes til karbondioksid og vann og gir 34 ATP-molekyler. [21] ATP er kroppens energikilde til bruk i oppgaver som muskelarbeid og ionetransport. Desto mer ATP som dannes, jo mer energi kan kroppen forbruke. [29]

Nedbrytning av laktat skjer i all hovedsak i lever og nyre og kan kun brytes ned gjennom dannelse av pyruvat. På grunn av dette gjenspeiler konsentrasjonen av laktat i blodet pyruvatmetabolismen. [21]



Figur 7: Laktatmetabolismen. [21]

Som vist i figur 7 er omdannelsen av pyruvat til Acetyl CoA en irreversibel reaksjon. Acetyl CoA blir videre brukt i Krebs syklus, også kalt sitrønsyresyklusen, og resulterer i produksjon av ATP, CO₂ og vann. Sitrønsyresyklusen er et trinn i metabolismen hvor blant annet karbohydrater omdannes til CO₂ gjennom oksidasjon. Denne oksidasjonen gir energi til produksjon av ATP. [27]

Pyruvat kan også brukes til å regenerere glukose gjennom omdannelse til oxaloacetat. På denne måten kan laktat omdannes tilbake til glukose, som i sin tur kan omdannes til laktat. Denne prosessen kalles Cori-syklus, som er en del av glukoneogenesen (nedbrytning av glykogen til glukose), og er en viktig mekanisme for å gjenopprette glukosenivåer, samt fjerne laktat som en følge av langvarig vevshypoksi, hvor celler ikke får tilstrekkelig med oksygen og begynner å dø. [21]

Fra figur 7 kan man se at laktatkonsentrasjonen vil stige når dannelsen av pyruvat overskrider utnyttelsen eller omdannelse av pyruvat til Acetyl CoA er begrenset. Dette selv med en stabil redoksreaksjon og cellulær pH til stede. [21]

Omdannelsen av pyruvat til Acetyl CoA skjer ved hjelp av enzymet pyruvat dehydrogenase, PDH. Mangel på PDH kan føre til begrenset pyruvatutnyttelse, noe som ses ved medfødt metabolismefeil. Både glukoneogenesen og oksidasjon av pyruvat krever at oksygen er til stede. Dermed vil resultatet av en lavere oksygenkonsentrasjon føre til at glukose hovedsakelig blir omdannet til laktat. Mangel på oksygen er dermed en av de viktigste årsakene til begrenset pyruvatutnyttelse. [21]

Andre tilstander hvor dette ses er blant annet sepsis, hvor det resulterer i økt pyruvatkonsentrasjon og dermed også økt laktatkonsentrasjon [21]. Det er uklart hva som egentlig fører til økt laktat ved sepsis, da laktat ofte blir forbundet med dårlig oksygenopptak. Dette er ikke alltid tilfelle hos pasienter med sepsis og det har blitt forsket på hvilke andre mekanismer som kan stå bak den økte laktatkonsentrasjonen. [25]

Dersom det er mistenkt sepsis hos en pasient, kan laktat være en god informasjonskilde til alvorlighetsgraden av tilstanden. Videre er det også en bra markør for sykdomsprogresjon og behandlingseffektivitet. [26]

2.6 Korrekt prøvetaking og prøvehåndtering

Ved måling av blodgasser er det viktig å bruke prehepariniserte rør. Dette er rør som allerede er tilsatt heparin fra produsent. Heparin har en bindeeffekt på alle positive ioner. For å forhindre binding av de positive ionene i en blodgassprøve er heparinet i rørene som brukes elektrolyttbalansert. Dette for å kompensere for denne bindeeffekten. Heparin binder også antitrombin III, dermed inhiberes koagulasjon. [16]

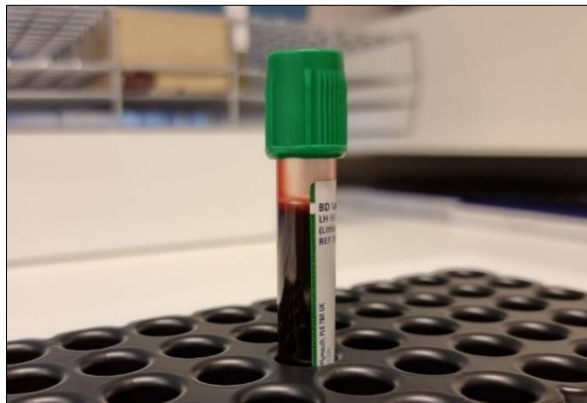
Det er utarbeidet en egen prosedyre for venøs blodprøvetaking ved St. Olavs Hospital og denne følges for å få så korrekte prøvesvar som mulig. De fleste av feil som blir gjort fra en prøve skal tas til analyseresultatet er klart er preanalytiske. [15]

Ved prøvetaking er det viktig at prøven blandes godt rett etterpå for at blodet kontinuerlig skal blandes med tilsetningsstoffene i glassene. Blodgass bør om mulig blandes kontinuerlig fram til analysering. På St. Olavs Hospital analyseres blodgass innen ti minutter, men kan om nødvendig oppbevares i opptil 30 minutter i romtemperatur. [2]

2.7 BD-Vacutainer litium-heparinrør

BD-Vacutainer® Litium-Heparinrør (Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK) er et vakuurrør i PET (Polyethylene Teraphthalate) som benyttes for plasma- eller fullblodsanalyser. Røret som brukes til blodgassanalyser på St. Olavs Hospital rommer 4mL og vises i figur 8.

Røret er tilsatt litium-heparin ved «spray-coating». Det vil si at stoffet er spredd på en måte slik at innsiden får en jevn påføring, noe som gir best mulig løselighet når det kommer i kontakt med blod. [17]



Figur 8: Li-Heparinrør fylt helt til markering.

2.8 Tidligere forskning

En studie publisert i Bioingeniøren av medisinsk ansvarlig overlege ved St. Olavs Hospital, Arne Åsberg og fagansvarlig bioingeniør Siri Amundsen i 2017 undersøker om det er en forskjell på blodgassresultater analysert på de to prøveholderne safePICO-aspirator og Vacuette vakuurrør. SafePICO-aspirator er en sprøyte som er tilsatt elektrolyttbalansert heparin tilsvarende Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør benyttet i denne oppgaven. Likeså tilsvarer Vacuette vakuurrør tilsvarer BD-Vacutainer litium-heparinrør benyttet i denne oppgaven. Resultatene viser at det ikke er av klinisk betydning hvilken prøvebeholder som benyttes til blodgassanalyser. [30]

En artikkel publisert på nettstedet National Center of Biotechnology Information omhandler hvorvidt ulike antikoagulasjonsmiddel i prøverør gir en endring i laktatkonsentrasjon. Forsøket gikk ut på å dele inn blodprøven i seks alikvoter, hvor to av alikvotene ble satt til side for videre testing. De resterende fire alikvotene ble testet med følgende antikoagulanter:

natriumheparin, EDTA, litiumheparin og natriumcitrat. Det var ingen signifikant forskjell på prøvene oppbevart i natriumheparin, EDTA og litiumheparin. Prøven oppbevart i citrat hadde derimot lavere laktatverdier. De to alikvotene som ble videreført i studien ble sentrifugert for å analysere laktat i serum og plasma. Dette førte til lavere laktatverdier. [28]

2.9 Preanalytiske feilkilder

Blodgass er en analyse som er veldig følsom for preanalytiske feilkilder. Preanalytiske feilkilder er feil som påvirker prøven før den blir analysert og kan enten være kontrollerbare eller ikke-kontrollerbare. Innsamling av prøvemateriale, oppbevaring og transport klassifiseres som kontrollerbare feilkilder. Pasientrelaterte aspekter som kjønn, alder og andre fysiologiske variabler er feilkilder som er ukontrollerbare. Mange av parameterne som analyseres er ustabile etter prøvetaking og god kontroll på den preanalytiske fasen er viktig for å sikre riktig diagnostikk og behandling av pasienten. [5][7]

To av de viktigste preanalytiske feilkildene for laktat er oppbevaringstid og oppbevaringstemperatur. Glykolysen vil fortsette selv etter at prøven er tatt, det vil si at cellene fortsetter å bryte ned glukose for å skape energi. Under anaerobe forhold vil pyruvat bli redusert til laktat i en prosess som ikke krever mye energi. Det betyr at glykolysen vil konsumere glukose og produsere laktat dersom prøven blir stående over tid. Dette kan forsinkes ved å oppbevare prøven ved 4°C eller under. Dermed er det viktig å analysere prøven raskest mulig. [13]

Tabell 3 gjengir noen av de viktigste og vanligste feilkildene ved blodgassanalyser og hvilke tiltak som kan gjøres for å forhindre de.

Tabell 3: oversikt over preanalytiske feilkilder ved blodgassanalyser [5][16]

Feilkilde	Konsekvens	Tiltak
Feil pasientidentifikasjon	Viktig for at riktig pasient skal få korrekt behandling. Pasienter som blir behandlet på bakgrunn av andres prøveresultater kan få fatale følger.	Pasienten må identifisere seg med fullt navn og personnummer FØR prøven blir tatt.
Utilstrekkelig blanding av prøven	Dårlig eller ingen blanding av prøven fører til koagulasjon.	Bland prøven kontinuerlig fra den er tatt til den skal analyseres.
Langvarig oppbevaring av prøven	Langvarig oppbevaring av prøven fører til dannelse/forbruk av gasser og in vitro glykolyse. Dette påvirker de aller fleste prøvesvarene.	Analyser prøven innen ti minutter. Dersom prøven ikke analyseres innen 30 minutter bør en ny prøve tas.
Luft i prøven	Luft i prøven gir en økning i pO ₂ som fører til økt pH og fall i pCO ₂ .	Påse at prøverør er helt fulle. Benytt kasteglass dersom nødvendig.
Hemolyse	Intracellulære komponenter lekker ut. Kalium og hemoglobin er spesielt følsomme for hemolyse.	Unngå langvarig stase og hard blanding eller risting av prøven.
Feil antikoagulant	Feil antikoagulant som flytende heparin, kan føre til fortykning av prøven, noe som vil gi falsk for lave svar.	Benytt hepariniserte prøveglass tiltenkt blodgassanalyser.

3.0 Materiale og metode

3.1 Utstysrliste

- BD-Vacutainer® Safety-Lok™ Blood Collection Set (Becton-Dickinson Corporation, Franklin Lakes, USA)
- BD-Vacutainer® Litium-Heparinrør (Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)
- Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør (Radiometer Medical ApS, Brønshøj, Danmark)
- Bergman Diagnostika Radiometer ABL90 Flex

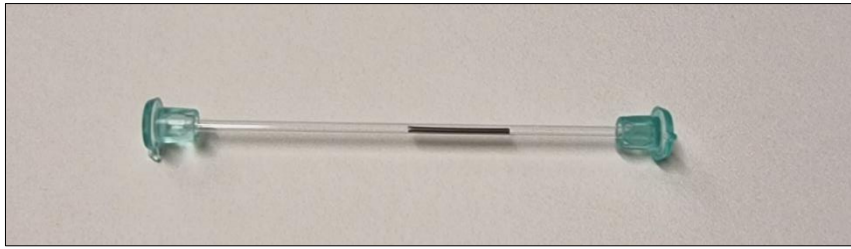
3.2 Innsamling av prøvemateriale

I denne oppgaven ble det samlet inn 46 pasientprøver. Pasientene som prøvene ble tatt fra ble ikke berørt på noen måte da de ikke ble utsatt for ekstra stikk eller ble tappet ekstra blodvolum. Majoriteten av prøvene ble tatt på prøvetakingspoliklinikken på kvinnebarnsenteret. Det ble ikke registrert verken kjønn eller alder på pasientene.

Inklusjonskriteriene var at det var rekvirert blodgass på pasientene og at prøven kunne tas venøst med BD-Vacutainer® Safety-Lok™ Blood Collection Set, også kalt butterflykanyle. De fleste prøvene skulle være innenfor referanseområdet som er 0,5 – 2,1 mmol/L. Av disse skulle ideelt sett 10 % av prøvene være høyt oppe i referanseområdet.

Prøvetakningen ble utført i henhold til «EQS-prosedyre for blodprøvetaking av voksne og barn», beskrevet i vedlegg 2. Det ble benyttet butterflykanyle ved prøvetaking fordi blodet som ble igjen i slangen ble benyttet til analysering. Den venøse prøven ble tatt på BD-Vacutainer® Litium-Heparinrør, også kalt blodgassrør. Ved endt prøvetaking ble resterende blod fra butterflyslangen overført til et Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør.

Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør (Radiometer Medical ApS, Brønshøj, Danmark) har en magnetstav på innsiden og en kapillærrørkork på hver side, som vist i figur 9. Før det skulle overføres blod til rørene måtte korkene tas av på begge sider. De ble da holdt vannrett slik at magnetstaven ikke falt ut.

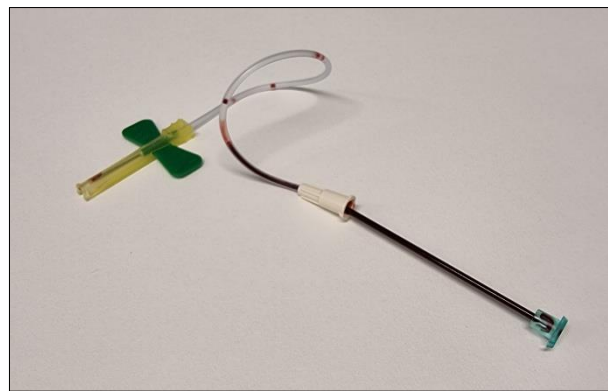


Figur 9: Radiometer kapillærrør med magnetstav og kapillærkorker.

For å overføre blod fra butterflyslangen ble slangen skrudd fra prøverørholderen og plassert inntil kapillærrøret, som vist i figur 10 og 11. Kapillærkrefter trekker blod inn i kapillærrøret som skal være helt fullt og uten luft.



Figur 10: Butterflykanyle med prøverørsholder.

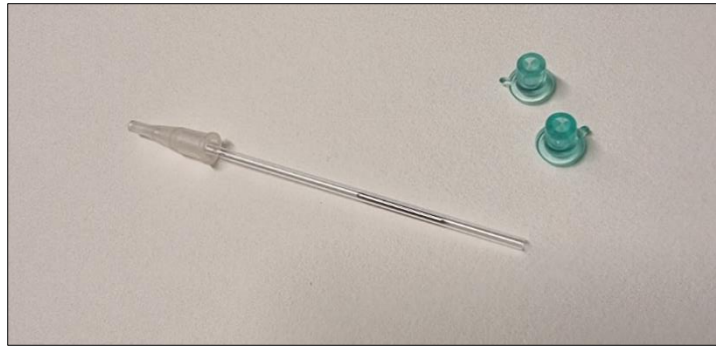


Figur 11: Blod overført fra butterflyslange til kapillærrør.

Når kapillærrøret var fullt ble korkene satt på og røret vendt forsiktig gjentatte ganger slik at magnetstaven inni røret ble forflyttet fra side til side. Prøven ble blandet kontinuerlig fram til analysering.

3.3 Analysering

Før analysering av kapillærprøven flyttes magnetstaven til motsatt side fra der blodet skal aspireres. Begge kapillærrørlokkene fjernes og det settes på et clot-filter på den enden hvor prøven skal aspireres fra, som vist i figur 12.



Figur 12: Et kapillærrør med clot-filter og kapillærrørlokk.

Hendelen på instrumentet løftes til kapillærposisjon, som vist i figur 13, og røret med filterenden føres inn mot innløpsspakningen.



Figur 13: ABL90 Flex blodgassinstrument. [6]

Når blod fra litium-heparinrøret skal analyseres løftes hendelen opp til første hakk og sprøytemodus velges på skjermen. Dette gjøres for å få med laktat som analytt. Vanligvis benyttes en modus som kalles «venøs» når blodgass analyseres fra litium-heparinrøret. Det er en modus hvor laktat ikke er med som analytt og det kan dermed ikke gis ut prøvesvar på laktat fra litium-heparinrør. Korken tas av rett før analysering fordi det ikke skal være luft i prøven.

3.4 Statistiske beregninger

De statistiske utregningene ble utført i statistikkprogrammet MedCalc. Det ble gjort en Passing & Bablok regresjonsanalyse, Bland-Altman differanseplot og en paret t-test.

4.0 Resultater

Formålet med oppgaven var å undersøke om det er mulig å validere analysing av laktat på BD-Vacutainer litium-heparinrør. Laktat kan i dag kun analyseres på Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør, metoden som er benyttet som referansemetode i denne sammenligningsstudien. Kravene til tillatt systematisk feil ble satt på forhånd for å kunne fastslå om kravene kan oppfylles. Det ble samlet inn totalt 46 blodprøver som alle ble analysert på Bergman Diagnostika ABL90 Flex blodgassinstrument. Prøvene ble analysert både fra Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør og BD-Vacutainer litium-heparinrør. Én prøve ble forkastet da det var en luftboble i kapillærrøret som førte til feilaktige svar. Valideringsresultatene følger nedenfor.

4.1 Validering av laktat på BD-Vacutainer litium-heparinrør

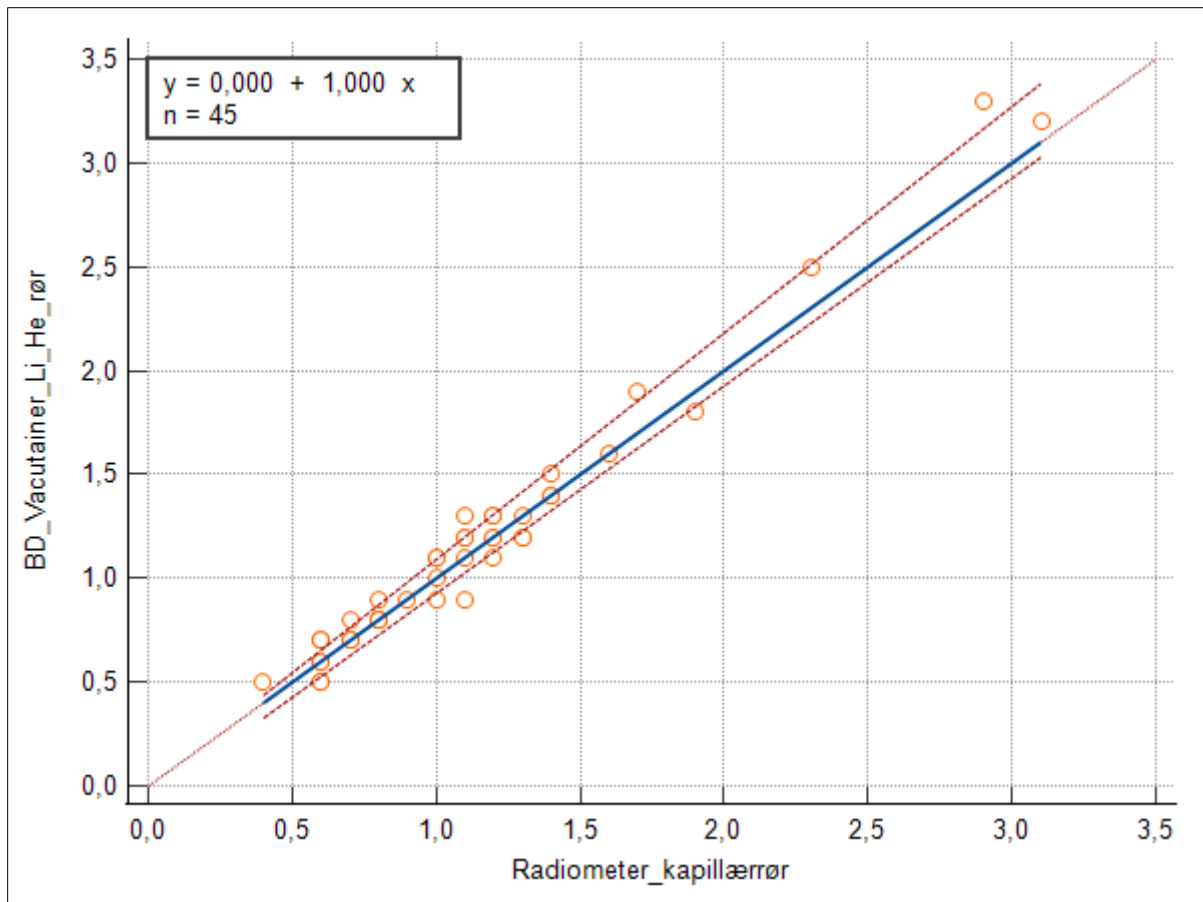
4.1.1 Metodesammenligning

Metodesammenligningen for laktat analysert på BD-Vacutainer litium-heparinrør og Radiometer kapillærrør baserer seg på 45 prøver analysert på ABL90 Flex. Radiometer kapillærrør er referansemetoden og BD-Vacutainer litium-heparinrør er metoden som testes. Tre følgende statistiske beregninger ble gjort; Passing & Bablok regresjonsanalyse, Bland-Altman differanseplott, samt en paret t-test. Sammenligningen presenteres først med Passing & Bablok regresjonsanalyse og tilhørende spredningsplott.

Variable X	Radiometer_kapillærrør	
Variable Y	BD_Vacutainer_Li_He_rør	
Sample size	45	
	Variable X	Variable Y
Lowest value	0,4000	0,5000
Highest value	3,1000	3,3000
Arithmetic mean	1,1156	1,1489
Median	1,0000	1,1000
Standard deviation	0,5612	0,6085
Standard error of the mean	0,08366	0,09071
Regression Equation		
y = 0,000000 + 1,000000 x		
Systematic differences		
Intercept A	0,0000	
95% CI	-0,07273 to 0,0000	
Proportional differences		
Slope B	1,0000	
95% CI	1,0000 to 1,0909	
Random differences		
Residual Standard Deviation (RSD)	0,07850	
± 1.96 RSD Interval	-0,1539 to 0,1539	
Linear model validity		
Cusum test for linearity	No significant deviation from linearity (P=0,98)	

Figur 14: Passing & Bablok regresjonsanalyse.

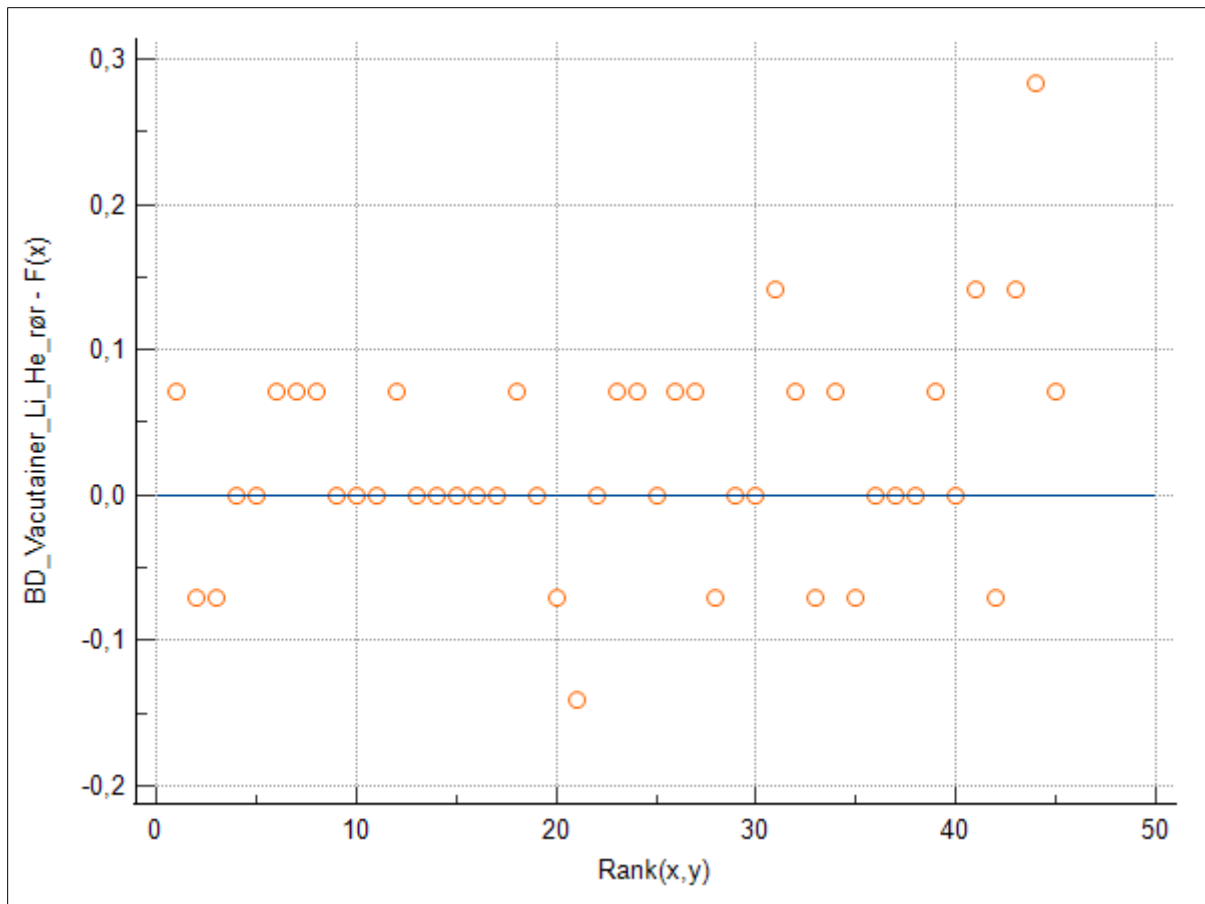
Av Passing og Bablok regresjonsanalyse vist i figur 14 ser man at 95% konfidensintervallet for Intercept A inneholder tallet 0 og 95% konfidensintervall for Slope B inneholder tallet 1. Det er dermed ikke tegn til systematisk eller proporsjonal feil. Det er god linearitet, bedømt fra regresjonsligningen og Cusum-testens p-verdi. Dermed er det god riktighet for metoden.



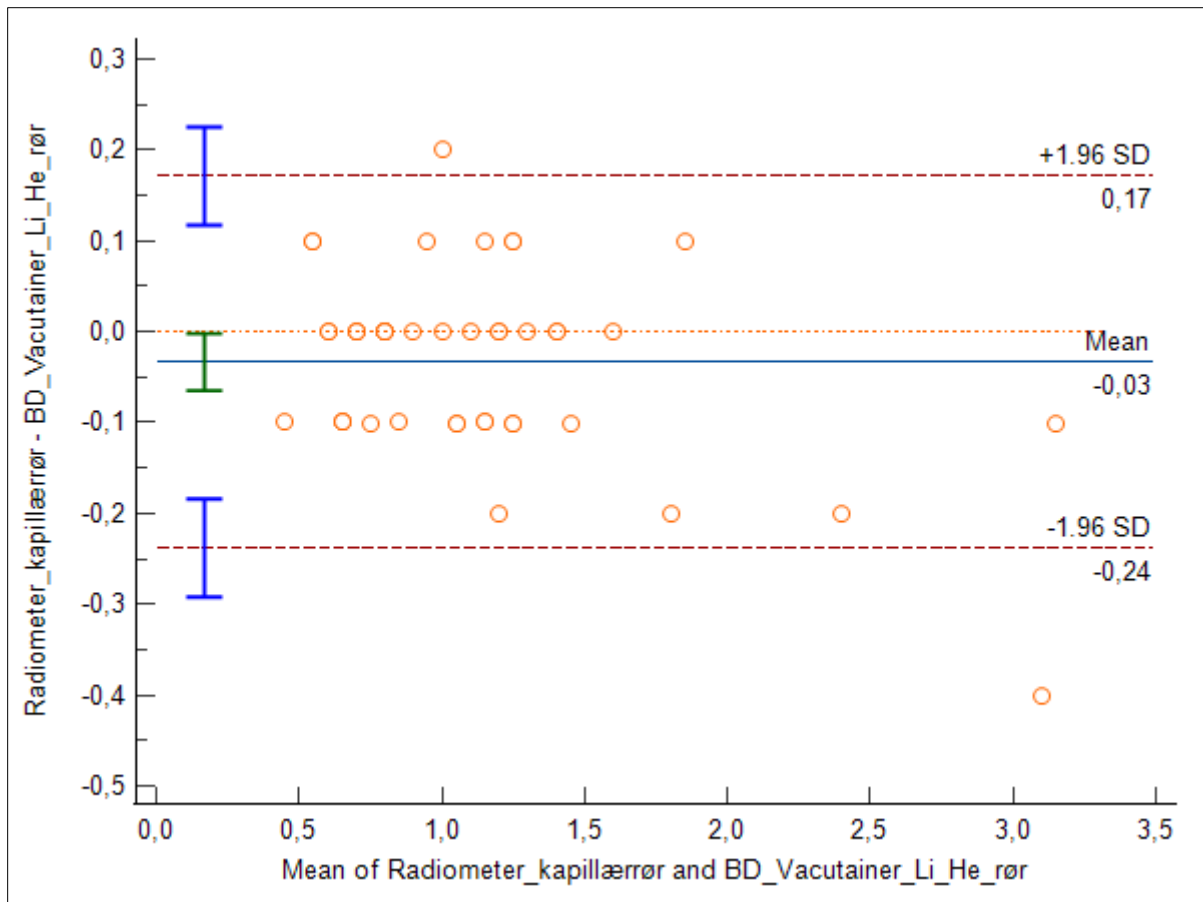
Figur 15: Passing & Bablok spredningsplott hvor blå linje er regresjonslinjen. Røde, stiplede linjer representerer konfidensintervallet for metoden. Radiometer kapillærrør er på x-aksen er referansemetode og BD-Vacutainer litium-heparinrør på y-aksen er metoden som testes.

Figur 15 viser Passing & Bablok spredningsplott. En visuell vurdering av plottet indikerer god riktighet for metoden, men det er lite tallmateriale for de høye konsentrasjonene.

Tilhørende residualplot, vist i figur 16 vurderes også visuelt til at det ikke er noe fast mønster som tyder på uoverensstemmelse mellom metodene, sett bort fra én tallverdi som viker noe fra resten. Riktigheten vurderes som god for metoden.

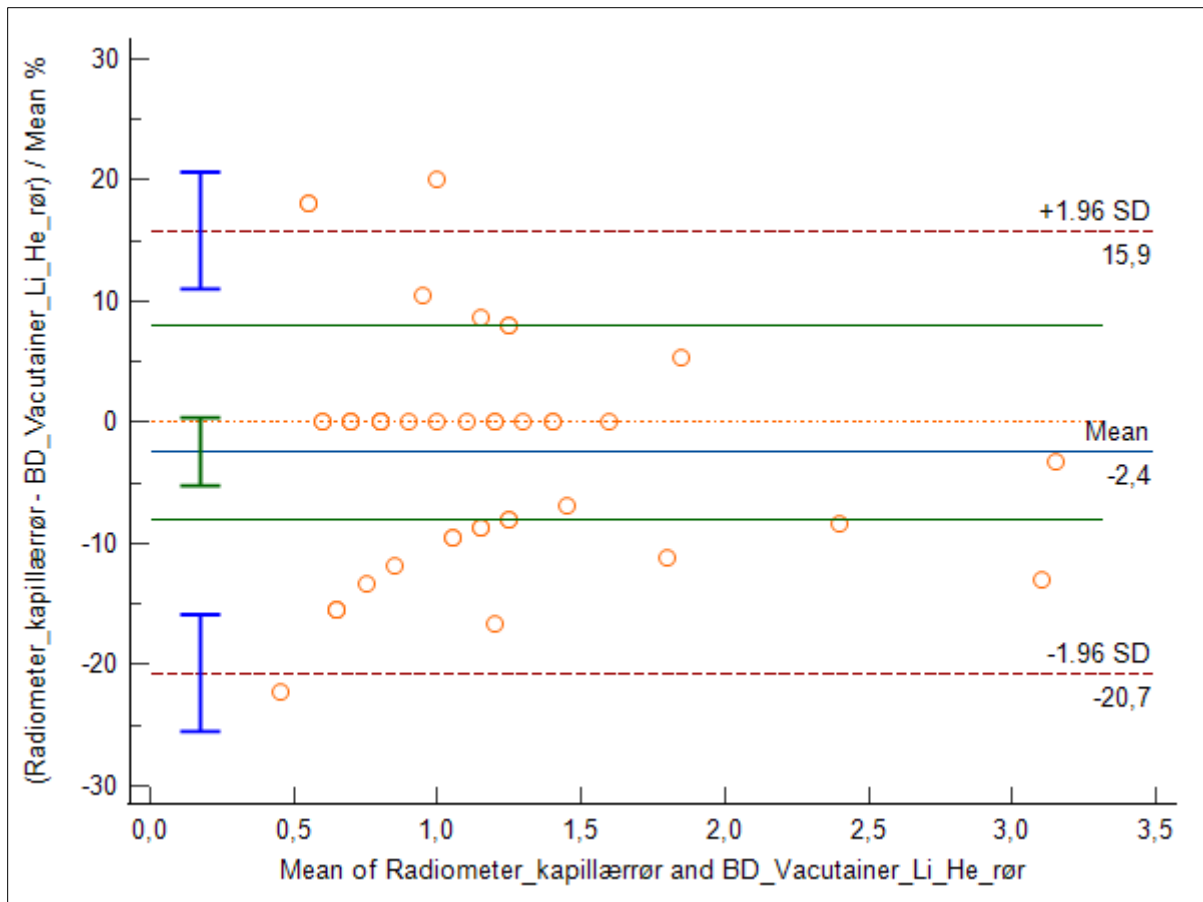


Figur 16: Passing & Bablok residualplot.



Figur 17: Bland-Altman-plot i mmol/L, hvor blå linje er gjennomsnittsdifferansen fra referansemetoden og de røde, stiplede linjene representerer «limit of agreement» som er gjennomsnittsdifferansen $\pm 1,96SD$. De blå søylene er konfidensintervallet for standardavviket og den grønne søylen er konfidensintervallet for gjennomsnittsdifferansen.

Bland-Altman differanseplot, vist i figur 17 viser at gjennomsnittsdifferansen fra referansemetoden er -0,03 mmol/L, hvilket betyr at laktat i gjennomsnitt blir målt 0,03 mmol/L høyere i BD-Vacutainer litium-heparinrør enn i Radiometer kapillærrør. Konfidensintervallet for gjennomsnittsdifferansen ligger også inntil linja for referansemetoden.



Figur 18: Bland-Altman-plot i %, hvor blå linje er gjennomsnittsdifferansen fra referansemetoden og de røde, stiplede linjene representerer «limit of agreement» som er gjennomsnittsdifferansen $\pm 1,96SD$. De grønne, horisontale linjene er tillatt Bias for metoden. De blå søylene er konfidensintervallet for standardavviket og den grønne søylen er konfidensintervallet for gjennomsnittsdifferansen.

Figur 18 viser Bland-Altman differanseplot i prosent. Gjennomsnittsdifferansen er -2,4 %, hvilket betyr at laktat i gjennomsnitt blir målt 2,4 % høyere i BD-Vacutainer litium-heparinrør enn i Radiometer kapillærrør. Referansemetoden ligger innenfor konfidensintervallet for gjennomsnittsdifferansen.

Paret t-test finnes i vedlegg 5 og følgende hypoteser ble formulert; H_0 : det er ingen signifikant forskjell mellom Radiometer kapillærrør og BD-Vacutainer litium-heparinrør for analyse av laktat. H_1 : det er en signifikant forskjell mellom Radiometer kapillærrør og BD-Vacutainer litium-heparinrør for analyse av laktat.

T-testen ga en p-verdi = 0,0379, som er mindre enn 0,05 og nullhypotesen forkastes. Dermed er det ifølge t-testen en signifikant forskjell mellom de to metodene.

5.0 Diskusjon

5.1 Etisk refleksjon

Innledningsvis i denne oppgaven ble det nevnt at pasientene som prøvematerialet ble samlet inn fra ikke ble informert om at prøvene deres skulle brukes til en oppgave. Grunnen til dette var at det var rekvirert analyse av blodgass og eventuelle ekstreme svar ble da rekvirerende leges ansvar. Dersom det hadde blitt tatt prøver av pasienter hvor det ikke var rekvirert analyse av blodgass ville den som analyserte prøven måtte stå ansvarlig for ekstreme svar og en forklaring måtte blitt gitt til pasienten om hvorfor en slik prøve var blitt tatt. I tillegg ble ikke pasientene utsatt for ekstra prøvetaking eller tapping av ekstra blodvolum.

Det kan likevel diskuteres hvorvidt det er etisk riktig å gjøre det på den måten som er blitt gjort her. Av ulike grunner kan det hende at flere av pasientene hadde sagt nei til å delta om de hadde blitt spurt om å delta i en undersøkelse.

Som nevnt vil eventuelle ekstreme svar være svar som uansett ville blitt gitt ut av rekvirerende lege, men pasientene skal føle seg trygge når de kommer til et sykehus for behandling. Dersom de i ettertid får vite at prøvemateriale deres har blitt brukt i en undersøkelse uten deres samtykke kan de stille spørsmål ved flere ting som blir gjort ved sykehuset.

5.2 Innsamling

I valideringsplanen ble det bestemt at innsamlingen i hovedsak skulle skje fra prøvetakingspoliklinikken på kvinne-barn-senteret. Det ble samlet inn ønsket antall pasientprøver i forhold til hva som er nødvendig i en metodesammenligning, men innsamlet materiale var ikke jevnt fordelt over hele referanseområdet for analysen. Grunnen til dette var at majoriteten av de innsamlede pasientprøvene ble tatt av pasienter uten kraftige respiratoriske forstyrrelser eller andre tilstander som gir økt laktat. Dette er en pasientgruppe man ikke forventer å finne i stor grad på kvinne-barn-senteret, noe som reflekteres i resultatene. Bakgrunnen for at det ble gjort på denne måten var at hos pasienter med respiratoriske forstyrrelser er det ofte av interesse å se på oksygeneringsstatus, noe som ikke blir riktig å gjøre i venøst blod. Dermed hadde det ikke vært grunnlag for å ta en venøs blodprøve i tillegg til at det hadde medført ekstra stikk for pasienten. Dette kunne med fordel vært diskutert på forhånd, slik at man kunne planlagt på en annen måte og fått samlet inn pasientprøver fra andre avdelinger på sykehuset.

5.3 Utførelse

Majoriteten av prøvene ble analysert på prøvetakingspoliklinikken på kvinne-barn-senteret, men fire andre instrumenter ble også benyttet. Alle blodgassinstrumenter blir ofte kontrollert og skal måle likt. Dermed har det ingen betydning hvilket instrument som ble benyttet til analysering.

Det kan diskuteres hvorvidt analyserekkefølge har innvirkning på resultatene. Optimalt sett skulle det ha vært jevnt fordelt hvilket prøverør som ble analysert først for å utelukke det som en feilkilde. Av resultatene å dømme blir laktat målt høyere på litium-heparinrør enn på kapillærrør, men kun 8 av 45 litium-heparinrør ble analysert først og det er dermed ingen jevn fordeling. Det er ikke godt nok grunnlag til å avgjøre om analyserekkefølgen påvirker resultatene.

5.4 Validering av laktat analysert på BD-Vacutainer litium-heparinrør

Grunnen til at St. Olavs Hospital ønsker å validere analyse av laktat på BD-Vacutainer litium-heparinrør er at det letter arbeidsmengden for blodprøvetaker, samt at det gir lavere HMS-risiko. I tillegg til dette kan man diskutere det økonomiske aspektet rundt det. Videre følger en tabell som sammenligner dagens metode og den nye.

Tabell 4: Sammenligning av dagens metode hvor blod overføres til kapillærrør og metoden er ønskelig å bruke, hvor laktat kan analyseres direkte fra BD-Vacutainer litium-heparinrør.

BD-Vacutainer® Litium-Heparinrør (ny metode)	Bergman Diagnostika Radiometer kapillærrør (nåværende metode)
Prøven kan analyseres direkte fra det venøse prøverøret.	Prøven kan analyseres først etter at blod er overført til et kapillærrør.
Faren for stikkskade er liten, da kanylen kastes rett etter bruk.	Faren for stikkskade er større da blod må overføres fra butterflyslangen.
Kort tidsforbruk.	Lengre tidsforbruk på grunn av overføring av blod til kapillærrør.
Uproblematisk etterarbeid.	Overføring av blod til kapillærrør kan mislykkes. Ny prøvetakning må gjennomføres.
Litium-heparinrør koster 4,17 NOK per stykk.	Kapillærrør (inkl. korker og magnetstav) koster 4,95 NOK per stykk.

En oppsummering av informasjonen i tabell 4 viser at analysering av laktat direkte fra litium-heparinrør vil lette arbeidsmengden for blodprøvetaker. Etter at prøven er tatt vet man at prøven kan analyseres med én gang, i motsetning til overføring av blod til kapillærrør som kan mislykkes og hvor en ny prøve eventuelt må tas. Dette vil være belastende for pasienten i tillegg til at det forsinker prøvesvaret.

Man kan også se på det økonomiske aspektet, der litium-heparinrør er billigere enn kapillærrørene som brukes i dag. I tillegg kommer prisen på kanylen som blir brukt under prøvetakingen. Med nåværende metode er man nødt til å benytte seg av butterflykanyle som koster 6,39 eller 6,49 NOK per stykk (avhengig av størrelsen på kanylen). Ved å validere analysering av laktat på litium-heparinrør kan prøven om mulig tas med BD Vacutainer® Eclipse™ Signal™ som koster 2,61 NOK per stykk. Dette vil til sammen kunne gå fra høyest mulig sum på 11,44 NOK per prøvetaking, til lavest mulig sum på 6,78 NOK per prøvetaking.

For at laktat skal kunne valideres på BD-Vacutainer litium-heparinrør må resultatene være innenfor kravene som er satt i valideringsplanen. I de tilfeller der kravene ikke blir oppfylt, vil ikke metoden bli validert.

5.4.1 Riktighet

Kravet som ble satt til tillatt Bias var 8 %. Etter å ha sett på rådataene fra vedlegg 4, ble det bestemt å benytte Passing & Bablok regresjonsanalyse fordi denne ikke-parametriske metoden ikke setter noen krav til fordeling. Det skal likevel være et rettlinjert forhold mellom X og Y. Ved bruk av denne metoden vil heller ikke verdier som viker mye fra resten ha stor innvirkning på resultatet.

For at man skal kunne si at de to metodene gir like svar bør regresjonslinjen skjære y-aksen i origo, samt at stigningstallet bør være lik 1. Dersom dette ikke er tilfelle tyder det på at metodene gir ulike svar. Stigningstall med avvik fra 1 vil gi en økende eller synkende kurve som viker fra det optimale området. Regresjonsligningen er perfekt og ligger innenfor konfidensintervallene. Det er dermed ingen indikasjon på at de to metode gir ulike svar.

Differanseplottene i figur 17 og 18 ble vurdert visuelt til at laktat blir målt noe høyere på BD-Vacutainer litium-heparinrør enn på Radiometer kapillærrør. Plottene viser henholdsvis en høyere verdi på 0,03 mmol/L og 2,4 % høyere verdier, noe som ikke er av betydelig størrelse.

I figur 18 observeres det at referansemetoden ligger innenfor konfidensintervallet for gjennomsnittsdifferansen, noe som betyr at gjennomsnittsdifferansen er liten.

Det ble også utført en t-test, som sier noe om hvorvidt det er signifikant forskjell på metodene eller ikke. Testen gir ingen informasjon om størrelsen på forskjellen og det er derfor ugunstig å kun bruke en t-test. Metoder hvor det er benyttet konfidensintervall gir mye mer informasjon og er derfor benyttet her. T-testen ga en p-verdi = 0,0379, som er lavere enn 0,05 og nullhypotesen som sier at det ikke er noen signifikant forskjell på metodene ble forkastet. Dette betyr ikke nødvendigvis at forskjellen på de to metodene er så stor at de ikke kan brukes om hverandre. Passing & Bablok regresjonsanalyse og tolkning av Bland-Altman-plot forteller oss noe annet.

Felles for alt som er visuelt vurdert er at det ikke er tilstrekkelig tallmateriale i de høye konsentrasjonene, noe som synes godt i figurene 15, 17 og 18. Regresjonslinjen og differanseplottene kan vurderes gode opp til en konsentrasjon på 1,7 mmol/L. Høyere konsentrasjoner enn dette er vanskelig å vurdere med så lite tallmateriale. Det er ønskelig med en jevn fordeling over hele referanseområdet, hvorav 10 % av pasientprøvene ligger i øvre del av referanseområdet som er 0,5 – 2,1 mmol/L. Verdier over 1,7 mmol/L og litt over referanseområdet er av klinisk betydning og dermed viktige å ha med i en validering. Av prøvematerialet som ble samlet inn i denne oppgaven var kun 5 av 45 verdier over 1,7 mmol/L, hvorav tre av disse over referanseområdet. På grunn av dette er det ikke mulig å si noe sikkert om hvorvidt BD-Vacutainer litium-heparinrør måler likt som Radiometer kapillærrør ved konsentrasjoner over 1,7 mmol/L.

Det konkluderes med at laktat analysert på blodgass ikke kan valideres på BD-Vacutainer litium-heparinrør da det ikke er samlet inn tilstrekkelig prøvemateriale med konsentrasjoner høyt oppe i referanseområdet.

5.5 Videre forskning

Det er bakgrunn for å tro at metoden som har blitt utprøvd i denne metodesammenligningen kan bli validert ved en senere anledning. Dersom det hadde vært mer tid til rådighet ville det vært samlet inn prøver fra pasienter med kjente respiratoriske forstyrrelser, noe som mest sannsynlig ville gitt prøvesvar med høyere laktatkonsentrasjon. Dette er pasienter man ofte finner inneliggende på Medisin- og lungeovervåkning. Om mulig kan man gjøre en avtale med dem, for å samle inn prøver fra deres pasienter.

6.0 Referanser

- [1] Chris Higgins (2011) *Central venous blood gas analysis*. Tilgjengelig fra: <https://acutecaretesting.org/en/articles/central-venous-blood-gas-analysis> (Hentet: 7 desember 2021)
- [2] St. Olavs Hospital (år) *Blod- Syre/basestatus*. Tilgjengelig fra: https://data.stolav.no/labhandboker/Medisinsk_biokjemi/ask/TestFinder.html (Hentet: 7 desember 2021)
- [3] Prencipe, L., Brenna, S. (1987). *The acid-base balance: theoretical and practical aspects*. Milan, Italia: Laboratory of Clinical Chemistry and Hematology
- [4] Salim Lim (2007) *Metabolic Acidosis*. Tilgjengelig fra: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17936961/> (Hentet: 13 desember 2021)
- [5] Lock, R., Francke, K. (2000) *The Whole-Blood Sampling Handbook*. Brønshøj: Radiometer Medical A/S
- [6] Radiometer (år) *ABL90 Flex blood gas analyzer*. Tilgjengelig fra: <https://www.radiometer.co.uk/en-gb/products/blood-gas-testing/abl90-flex-blood-gas-analyser> (Hentet: 14 desember 2021)
- [7] Burtis, A. C, Ashwood, R. E. & Bruns, E. D. (2008). *Tietz Fundamentals of clinical chemistry*. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier
- [8] ABL90 Flex reference manual
- [9] EQS-prosedyre ID 7085 «Laktat i blod. ABL90. AMB»
- [10] EQS-prosedyre ID 3017 «Medisinsk biokjemi – blodgass - ABL90 FLEX/PLUS Bruk og vedlikehold»
- [11] McMurry, J. (2011). *Fundamentals of Organic Chemistry, Internation Edition, 7E*. Belmont, California: Brooks/Cole
- [12] Chris Higgins (2007). *Lactate and lactic acidosis*. Tilgjengelig fra: <https://acutecaretesting.org/en/articles/lactate-and-lactic-acidosis/> (Hentet: 3 januar 2022)
- [13] Gitte Wennecke (2004). *Useful tips to avoid preanalytical errors in blood gas testing: metabolites*. Tilgjengelig fra: <https://acutecaretesting.org/en/articles/useful-tips-to-avoid-preanalytical-errors-in-blood-gas-testing-metabolites> (Hentet: 5 januar 2022)
- [14] Kofstad, J. (1995). *Blodgasser, elektrolytter og hemoglobin – Metode og klinikk*. Aurskog: TANO

- [15] Synnøve Austad Yksnøy (2018) *Preanalyse – oppbevaring og holdbarhet*. Tilgjengelig fra: <https://www.nito.no/contentassets/4976ff82a9564ea5935a617f70a3710b/pasientnar-analysering/13-provetaking-oppbevaring-og-holdbarhet-pa-blodgass-synnove-austad-yksnoy.pdf> (Hentet: 5 januar 2022)
- [16] Margunn Bye Tøsdal (2020) *Korleis få riktige analyseresultat på blodgassanalysene?* Tilgjengelig fra: <https://www.noklus.no/media/xwscx1mv/viktige-preanalytiske-feilkilder-ved-analysering-av-blodgass.pdf> (Hentet: 5 januar 2022)
- [17] BD-Vacutainer (2022) *BD-Vacutainer® Heparin*. Tilgjengelig fra: <https://www.bd.com/no-no/our-products/specimen-collection/blood-collection-tubes/bd-vacutainer-heparin> (Hentet: 17 januar 2022)
- [18] Abhishek K Verma, Paul Roach (2010). *The interpretation of arterial blood gases*. Tilgjengelig fra: <https://www.nps.org.au/australian-prescriber/articles/the-interpretation-of-arterial-blood-gases#venous-blood-gases> (Hentet: 18 januar 2022)
- [19] Sykehuset i Vestfold (år). *Bikarbonat, aktuell (b)*. Tilgjengelig fra: [http://siv.prod.fpl.nhn.no/fag/diagnostikk/analyseliste/bikarbonat-aktuell-\(b\)](http://siv.prod.fpl.nhn.no/fag/diagnostikk/analyseliste/bikarbonat-aktuell-(b)) (Hentet: 20 januar 2022)
- [20] Lab Tests Online UK (2017) *Bicarbonate*. Tilgjengelig fra: <https://labtestsonline.org.uk/tests/bicarbonate> (Hentet: 20 januar 2022)
- [21] Jan Bakker (2003) *Increased blood lactate levels: a marker of...?* Tilgjengelig fra: <https://acutecaretesting.org/en/articles/increased-blood-lactate-levels-a-marker-of> (Hentet: 21 januar 2022)
- [22] Laboratoriehåndbok Sykehuset i Vestfold (år) *Syrebase balansen*. Tilgjengelig fra: <https://siv.labfag.no/index.php?action=showtopic&topic=YSq6Lvn8> (Hentet: 23 januar 2022)
- [23] MedlinePlus (år) *Anion Gap Blood Test*. Tilgjengelig fra: <https://medlineplus.gov/lab-tests/anion-gap-blood-test/> (Hentet: 1 februar 2022)
- [24] Biology Online (år) *Pyruvate*. Tilgjengelig fra: <https://www.biologyonline.com/dictionary/pyruvate> (Hentet: 3 februar 2022)
- [25] M. Garcia-Alvarez, P. Mark, R. Bellomo. (2014) *Sepsis-associated hyperlactatemia*. Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4421917/> (Hentet: 7 februar 2022)
- [26] Radiometer (år) *Lactate as an aid in sepsis diagnosis and management*. Tilgjengelig fra: <https://www.radiometer.co.uk/en-gb/diagnostics/sepsisdetection/lactate> (Hentet: 7 februar 2022)

- [27] Harvey, R., Ferrier, D. (2011). *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry, 5th edition*. Baltimore, Maryland & Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins
- [28] J. Wiese, A. Didwania, R. Kerzner, B. Chernow (1997) *Use of different anticoagulants in test tubes for analysis of blood lactate concentrations: Part 2. Implications for the proper handling of blood specimens obtained from critically ill patients*. Tilgjengelig fra: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9366768/> (Hentet: 10 mars 2022)
- [29] Jacob Dunn, Michael H. Grider (2022) *Physiology, Adenosine Triphosphate*. Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553175/> (Hentet: 10 mars 2022)
- [30] Amundsen, S., Åsberg, A. (2017). Referansegrenser for blodgassanalyser og elektrolytter i venøst blod fra friske voksne. *Bioingeniøren*, 2017(9), 22 – 25.

7.0 Vedleggsliste

1. Valideringsplan og valideringsrapport
2. Utdrag av EQS-prosedyre: «Medisinsk biokjemi – Prøvetaking – Venøs blodprøvetaking av voksne og barn»
3. Utskrift fra Bergman Diagnostika Radiometer ABL90 Flex blodgassinstrument
4. Rådata av innsamlet prøvemateriale
5. Paret t-test

Vedlegg 1: Valideringsplan



Laboratoriemedisinsk klinikk

Validering

Tittel	Validering av laktat i venøst blod, tatt på BD-Vacutainer Li-heparinrør uten gel.
Valideringstidspunkt/periode	Desember 2021 – Januar 2022

Oppdragsgiver	
Hva skal valideres <i>(utstyr, prosesser, prosedyre, m.m)</i>	Laktat i blodgass fra venøst blod
Produsent/leverandør/firma	Bergman diagnostika
Evt. Kontaktperson	Jarl Lyder Hansen
Avdelingens kontaktperson	Fredrik Hansen
Valideringen er utført av	Karoline Fundtaunet Roesen

1. Valideringsplan utarbeidet av

Dato	Sign, tittel/funksjon
06.12.21	Karoline Fundtaunet Roesen, bioingeniørstudent

1. Valideringsplan godkjent

Dato	Sign, tittel/funksjon
06.12.21	Fredrik Hansen, fagansvarlig bioingeniør
	Ingrid Alsos Lian (fagansvarlig lege)

2. Valideringsrapport utarbeidet av

Dato	Sign, tittel/funksjon

2. Valideringsrapport godkjent

Dato	Sign, tittel/funksjon

Ant. vedlegg til valideringsdokumentasjonen <i>(inkl eventuelle delgodkjenninger)</i>	
---	--

1 Valideringsplan

1.1 Innledning

I dag måles venøs laktat kun i blod fra kapillærrør, men det er ønskelig å også måle det på venøs blodgass tatt på BD-vacutainer Li-heparin uten gel. Dette fordi dagens metode innebærer mye ekstraarbeid og økt HMS-risiko fordi vi må overføre blod fra butterflyslange til kapillærrør.

1.2 Omfang

Det skal undersøkes om måleverdi ved bruk av Li-heparinrør versus kapillærrør er innenfor tillatt systematisk forskjell.

Det skal tas minst 40 prøver av 40 forskjellige personer, Det tas ett 4mL Li-heparinrør i tillegg til å fylle et kapillærrør med resterende blod fra butterflyslangen etter endt prøvetaking. Dette medfører ingen ekstra stikk for pasienten eller ekstra blodvolum.

1.3 Praktisk gjennomføring

Det skal tas blodprøver fra pasienter hvor det er bestilt venøs blodgass og de skal tas med butterflykanyle. Prøvene tas som vanlig på 4mL BD-vacutainer Li-heparinrør uten gel, men i tillegg skal resterende blod fra butterflyslangen etter endt prøvetaking overføres til kapillærrør. Prøvene analyseres på ABL90 Flex på kvinne-barn laboratoriet, evt. det instrumentet som er nærmest.

Prøvene analyseres innen 10 minutter etter prøvetaking, rett etter hverandre. Bioingeniøren analyserer den prøven som svarene skal gis ut fra og studenten analyserer den andre. For å få mest mulig riktig prøvesvar skal det variere hvilket rør som analyseres først.

Prøvene er anonyme og pasient-ID merkes med tall fra 1 og oppover, samt «kap» eller «ven» bak, for å skille de fra hverandre på instrumentutskriftene. Når prøvene skal analyseres er det viktig å velge «sprøyte»-modus på instrumentet for at den skal lese av riktig parametere.

Det skal ikke benyttes prøver der prøvetaking har vært vanskelig eller prøverøret ikke er helt fullt. Røret skal være helt fullt fordi det ikke skal være noe luft i det. Luft i røret vil påvirke analyseresultatene, siden det er akkurat blodgass som måles. Dersom det er luft i røret, vil oksygenmengden i blodet bli målt feil og dermed også laktat. Med vanskelig prøvetaking menes for eksempel barn som griner og er urolige, noe som kan påvirke blodprøven ved at ulike komponenter lekker ut i blodet eller at erytrocyttene ødelegges.

Dersom innsuging av prøve ikke blir gjort riktig, at det for eksempel suges inn luft først, skal ikke resultatet tas med i beregningene. Alle resultater som instrumentet gir registreres i Excel-regneark.

1.4 Kriterier

Validering av laktat på venøs blodgass, tatt på BD Vactuainer Li-heparinrør uten gel.

Tillatt systematisk feil settes til 8%.

1.5 Eventuelle tilføyelser

Tilføyelse:

Dato:

Godkjent av:

Vedlegg 2: Utdrag av EQS-prosedyre: «Medisinsk biokjemi – Prøvetaking – Venøs blodprøvetaking av voksne og barn»

Dokument «Medisinsk biokjemi - Prøvetaking - Venøs blodprøvetaking av voksne og barn », ID 1756 - EQS

Intravenøse infusjoner

Om mulig bør man unngå å ta blodprøver mens pasienten får intravenøs infusjon. Det kan ta tid før substansene i infusjonsløsningen er fordelt i kroppen, og derfor vil analyse av disse substansene være upålitelige under og en tid etter infusjonen. I tillegg kan slike substanser påvirke andre analyser. Om man må ta blodprøve fra en pasient som får intravenøs infusjon, må man velge en annen ekstremitet enn der infusjonen pågår. Dersom dette er umulig, må infusjonen stenges i minst 10 minutter før prøvetakingen. Dette gjøres etter vurdering av behandelende personell for den aktuelle pasienten.

Hvis pasienten får blodtransfusjon og det er bestilt analyse av b-hemoglobin, vil prøvesvaret kunne avvike fra pasientens riktige verdi og b-Hb vil kun være et øyeblikksbilde. Rekvirenten må gjøres oppmerksom på dette. Dersom rekvirenten allikevel vil ha b-Hb, tas prøven, men rekvirenten må være oppmerksom på usikkerheten i prøvesvaret.

Infusjon av fettemulsjon, som for eksempel Kabiven, kan påvirke analyseresultatet via flere ulike mekanismer (inhomogenitet, fortrengning av vannfasen, interferens ved turbiditet eller fysiokjemiske mekanismer). Som regel må intravenøs terapi med fett-emulsjon være avsluttet 8 timer før prøvetaking. I de tilfeller blodprøven må tas ved pågående eller nylig avsluttet infusjon av intralipid, må rekvirenten være klar over de preanalytiske feilkildene rundt prøvesvaret.

Venepunksjon av voksne og store barn

Utstyr

Prøvetakingsrør, sikkerhetskanyler eller butterflykanyler med engangsholder, desinfeksjonsmiddel, ren bomull, tape, stasebånd, etiketter til merking av rør og eventuelt stativ eller kopp for å sette blodprøvene i etter endt prøvetaking.

Utførelse

1. Identifiser pasienten, se over i avsnittet om «Identitetssikring av pasienter som skal ta blodprøver». Dette skal alltid gjøres før blodprøven tas.
2. Utfør hånddesinfeksjon.
3. Lokaliser venen. Bruk staseslange dersom nødvendig. Unngå langvarig stase og muskelpumping, se over i avsnittet «Preanalytiske forhold». Løsne stasen så snart venen er lokalisert.
4. Desinfiser stikksted, se over i avsnittet «Huddesinfeksjon»
5. Klargjør utstyr som skal benyttes ved prøvetakingen.
6. Utfør ny hånddesinfeksjon rett før venepunksjonen.
7. Stram eventuelt stasen på nytt. Unngå langvarig stase og muskelpumping.
8. Venepunksjon. Kanylens skrålflate skal vende opp. Holderen skal holdes med to/tre fingre på undersiden og tommel på oversiden i umiddelbar nærhet til sikkerhetsanordningen.



9. Sett inn det første røret.
For å hindre kontaminering fra rør til rør fylles rørene i bestemt rekkefølge:
 - Rør til dyrkningsprøver, blodkultur, aerob flaske først, deretter anaerob flaske.
 - Citratrør til koagulasjonsanalyser (blå).
 - Serumrør/serumgelrør med koagulasjonsaktivator (rød).
 - Li-heparinrør (grønn).
 - EDTA-rør (lilla).
 - Andre rør med tilsetning.Rækkefølgen er også beskrevet i vedlegget «Rørrekkefølge ved blodprøvetaking».
10. Slipp opp stasen så snart det kommer blod i det første prøvetakingsrøret.
11. Fyll røret til det sorte merket. Ta det ut.
12. Vend røret 5-10 ganger opp og ned. Alle rør må vendes 5 - 10 ganger umiddelbart etter fylling for å få blandet tilsetningen i røret med blodet.
13. Gjenta punktene over dersom det skal fylles flere rør.
14. Ta ut siste rør og vend det 5-10 ganger.
15. Plasser ren bomull forsiktig over stikkstedet. Trekk ut kanylen. Bomullen kan så trykkes godt mot stikkstedet.
16. Kanylen sikres med sikkerhetsanordningen og ethåndsteknikk umiddelbart etter at den er tatt ut av venen.

RADIOMETER ABL90 SERIES

ABL90 KB-LAB I393-090R0854N0007 18:46 25.01.2022
 PASIENTRAPPORT Sprøyte - S 65uL PRØVE # 83086

Identifikasjoner

Pasient ID
 Lab. nummer
 Etternavn
 Fornavn
 Prøvemateriale Venøst
 T 37,0 °C

Blodgassverdier

pH	7,356		[7,310 - 7,420]
pCO ₂	5,55	kPa	[5,30 - 7,90]
pO ₂	7,22	kPa	[- -]

Syrebasestatus

↓ cHCO ₃ ⁻ (P) _C	23,3	mmol/L	[24,0 - 31,0]
↓ cBase(Ecf) _C	-2,2	mmol/L	[-1,0 - 5,4]
↑ Anion gap.K ⁺ _C	16,3	mmol/L	[6,0 - 16,0]

Oksimetriverdier

↓ ctHb	11,7 *	g/dL	[11,7 - 17,0]
sO ₂	86,7	%	[- -]
↑ FCOHb	1,8	%	[0,0 - 1,7]
FMetHb	0,9	%	[0,0 - 1,3]

Elektrolyttverdier

cK ⁺	3,5	mmol/L	[3,4 - 4,3]
cNa ⁺	141	mmol/L	[137 - 144]
↑ cCa ²⁺	1,32	mmol/L	[1,16 - 1,29]
cCl ⁻	105	mmol/L	[103 - 111]

Metabolittverdier

↑ cGlu	10,5	mmol/L	[4,0 - 6,3]
↑ cLac	3,3	mmol/L	[0,5 - 2,1]

Temperaturkorrigerede verdier

pH(T)	7,356		
pCO ₂ (T)	5,55	kPa	
pO ₂ (T)	7,22 *	kPa	

Merknader

↑ Verdi(er) ovenfor referanse grense
 ↓ Verdi(er) nedenfor referanse grense
 c Beregnede verdi(er)
 * Bruker korreksjon er lagt til verdi(er)

Vedlegg 4: Rådata av innsamlet prøvemateriale.

Prøvenummer	Radiometer_kapillærrør (mmol/L)	BD_Vacutainer_Li_He_rør (mmol/L)
1	1,3	1,2
2	0,6	0,6
3	1,1	1,2
4	1,4	1,4
5	2,9	3,3
6	1,4	1,5
7	0,8	0,8
8	1,1	1,1
9	0,8	0,8
10	0,7	0,7
11	1,0	1,1
12	1,6	1,6
13	1,9	1,8
14	0,4	0,5
15	1,1	0,9
16	1,4	1,4
17	1,0	1,1
18	1,0	1,0
19	1,2	1,3
20	0,7	0,7
21	1,2	1,2
22	1,2	1,1
23	1,1	1,3
24	1,1	1,2
25	0,8	0,8
26	0,9	0,9
27	0,6	0,7
28	0,8	0,8
29	0,6	0,7
30	1,2	1,2
31	1,7	1,9
32	0,6	0,5
33	0,7	0,8
34	0,8	0,9
35	2,3	2,5
36	0,7	0,7
37	1,3	1,2
38	1,0	0,9
39	0,8	0,8
40	1,2	1,3
41	1,3	1,3
42	0,6	0,5
43	0,6	0,7
44	0,6	0,6
45	3,1	3,2

Vedlegg 5: Paret t-test.

Sample 1	Radiometer_kapillærrør Radiometer_kapillærrør	
Sample 2	BD_Vacutainer_Li_He_rør	
	Sample 1	Sample 2
Sample size	45	45
Arithmetic mean	1,1156	1,1489
95% CI for the mean	0,9469 to 1,2842	0,9661 to 1,3317
Variance	0,3150	0,3703
Standard deviation	0,5612	0,6085
Standard error of the mean	0,08366	0,09071
Paired samples t-test		
Mean difference		0,03333
Standard deviation of differences		0,1044
Standard error of mean difference		0,01557
95% CI of difference		0,001954 to 0,06471
Test statistic t		2,141
Degrees of Freedom (DF)		44
Two-tailed probability		P = 0,0379
Differences		
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution of differences		reject Normality (P=0,0058)

