

Rörordningsföljden vid venös blodprovstagning

Ahtola Alma

Examensarbete för (YH)-examen inom social- och hälsovård

Utbildning: Bioanalytiker (YH)

Vasa 2019



EXAMENSARBETE

Författare: Ahtola Alma

Utbildning och ort: Bioanalytiker, Vasa

Handledare: Antus Margareta

Titel: Rörordningsföljden vid venös blodprovstagning

Datum: 4.11.2019

Sidantal: 25

Abstrakt

När blodprover ordineras är det oftast flera olika undersökningar som tas på samma gång, och därmed även olika provrör som innehåller varierande tillsatser. Tillsatserna är till för att bevara halterna och blodkomponenterna oförändrade, för att de skall kunna avspegla kroppens funktioner och hälsotillstånd. När flera provrör tas samtidigt kan tillsatserna föras över till och förorena andra provrör. Föroreningar kan påverka andra analyser, vilket i värsta fall leder till fel diagnos och behandling. Av denna anledning finns föreskrifter om i vilken ordning som de olika provrören skall fyllas när de tas under samma venpunkt.

Arbetet är en litteraturöversikt, där grunderna bakom de rekommenderade riktlinjerna undersöks och förklaras för att förstå varför rörordningsföljden är ett viktigt steg i preanalytiken.

Variationer förekommer bland produkterna och därmed också i riktlinjerna för rörordningsföljden, men de förekommande tillsatserna samt undersökningstyperna är faktorerna som främst bestämmer grunden för dessa. Fastän kontaminationsrisken anses vara liten när moderna uppsamlingsystem används, är standardiserade riktlinjer viktiga för att provkvaliteten och tolkningen av resultaten skall vara pålitliga.

Språk: Svenska

Nyckelord: provrör, preanalytik, blodprovstagning

OPINNÄYTETYÖ

Tekijä: Ahtola Alma

Koulutus ja paikkakunta: Bioanalyttikko, Vaasa

Ohjaaja(t): Antus Margareta

Nimike: Rörordningsföljden vid venös blodprovstagning

Päivämäärä: 4.11.2019

Sivumäärä: 25

Tiivistelmä

Eri verinäytetutkimuksia määrätään ja otetaan yleensä yhdellä näytteenotokerralla, jolloin myös eri lisäaineita sisältäviä näyteputkia täytetään vuoron perään. Lisäaineiden tehtävänä ja tarkoituksena on säilyttää veren eri komponentit ja ainepitoisuudet muuttumattomina analysointiin saakka, jotta nämä heijastavat kehon eri toimintoja ja terveydentilaa. Kun verinäytteitä kerätään useampaan putkeen samanaikaisesti, on olemassa riski että lisäaineita siirtyy muihin putkiin saastuttaen kyseiset näytteet. Tämä voi vaikuttaa koetuloksiin, jonka seurauksena voi olla väärän hoidon valinta tai diagnoosin määrittäminen. Tästä syystä on olemassa tiettyjä suosituksia siitä, missä järjestyksessä eri koeputket tulisi täyttää saman laskimoverinäytteenoton aikana.

Tämä opinnäytetyö on kirjallisuuskatsastus, jonka määrä on selvittää ja selittää suositusten taustalla olevat perustelut jotta syy, miksi suositettu näyteputkijärjestys on preanalytiikan kannalta tärkeä vaihe.

Näytteenottovälineiden ja siten myös putkijärjestyksen suosituksissa ja ohjeissa esiintyy erilaisuuksia, mutta päättävät tekijät ovat putkissa käytettävien lisäaineiden vaikutukset sekä erilaiset tutkimukset. Vaikka saastumisriskiä pidetään pienenä kun moderneja näytteenottojärjestelmiä käytetään, ovat standardisoidut määräykset näytteen laadun ja koetulosten luotettavan tulkinnan kannalta tärkeitä.

Kieli: Ruotsi Avainsanat: koeputki, preanalytiikka, verinäytteenotto

BACHELOR'S THESIS

Author: Ahtola Alma

Degree Programme: Biomedical Laboratory Scientist

Supervisor(s): Antus Margareta

Title: Rörordningsföljden vid venös blodprovstagning

Date: 4.11.2019

Number of pages: 25

Abstract

When blood tests are collected, there are usually several tests being drawn at the same time in different additive-containing tubes. The varying additives are used to maintain the bloods bimolecular levels and components unchanged so that they reflect the bodily functions and health level accurately. When several tubes are being collected simultaneously, additives from one tube may contaminate another, affecting the results in ways that may lead to wrong diagnosis and treatment. For this reason, recommended guidelines for the order in which different tubes should be drawn should be followed when collecting multiple samples during venipuncture.

This thesis is a literature overview, which purpose is to examine and explain the foundations of the recommended guidelines available and why they are important regarding the preanalytical phase.

Variations occur among products for sample collecting and thus also in the guidelines for the order of blood draw. Key factors for in which order blood samples should be collected are the additives used in the tubes as well as the different types of tests. Although the risk for cross-contamination is considered small when modern collection systems are being used, standardized guidelines remain important to ensure sample quality and reliable interpretation of test results.

Language: Swedish Key words: sample tube, preanalytical phase, phlebotomy

Innehållsförteckning

1	Inledning.....	1
2	Syfte och frågeställning.....	2
3	Teoretisk bakgrund.....	3
3.1	Laboratorieundersökningsprocessen.....	3
3.2	Provtagning.....	4
3.2.1	Venös blodprovstagning.....	5
3.3	Provrör.....	7
3.3.1	Material.....	9
4	Behovet för riktlinjer	12
5	Tillsatser	13
5.1	Antikoagulanter.....	13
5.1.1	Natriumcitrat.....	13
5.1.2	Heparin.....	14
5.1.3	EDTA	15
5.1.4	Fluorid	16
5.2	Koagulationsaktiverande ämnen.....	16
6	Ordningsföljden.....	17
6.1	Avvikelser i ordningsföljden.....	19
6.2	Variationer i riktlinjerna.....	19
7	Tidigare forskning.....	21
8	Resultat	23
9	Diskussion och kritisk granskning.....	24
	Litteraturförteckning	26

1 Inledning

Idag finns det över 3600 olika kliniska laboratorieanalyser (Kuntaliitto), varav en stor del är blodanalyser. Provundersökningarna är en viktig del av helhetsvården vars uppgift är att ge en bild av patientens fysiologiska-, biologiska- och psykiska tillstånd. Undersökningsresultaten speglar funktionen hos organ, vävnader och celler och har därför en viktig roll vid diagnostiseringen, behandlingen, uppföljningen och förebyggandet av olika sjukdomar och hälsotillstånd. (Antus, 2018).

Beroende på indikationen till provtagning ordinerar ofta flera olika analyser som tas samtidigt. (Hotus 2015). När flera olika blodprov ska tas under en venpunktion rekommenderas en standardiserad ordningsföljd i vilken ordning som provrören fylls i under uppsamlingen. Ordningsföljden grundar sig dels på risken för korskontaminering mellan de olika additiverna i vakuumsrör som används för olika typer av blodanalyser. Kontaminationsrisken som kan orsakas av en slumpmässig ordning på rören vid uppsamlingen kan påverka resultaten och leda till fel eller bristfällig diagnos och behandling. (WHO 2010).

Arbetet är en litteraturoversikt, där grunderna bakom de rekommenderade riktlinjerna undersöks och förklaras för att få en förståelse varför rörordningsföljden är ett viktigt steg i preanalytiken.

I datainsamlingen har produkttillverkarnas, och nationella samt internationella organisationers rekommenderade riktlinjer använts. Publicerade forskningsartiklar, litteratur och studiematerial har även använts för jämförelse och informationsinsamling. Den samlade informationen och litteraturgranskningen är begränsad till venös blodprovstagning med vakuumsystem och provrör som används vid rutinanalyser av blod inom klinisk kemi.

2 Syfte och frågeställning

Detta examensarbete är en litteraturöversikt med syftet att förklara orsaken till den rekommenderade ordningsföljden för hur vakuumprovvrören fylls vid venös provtagning, och varför den borde följas. För att lättare förstå orsaken till de rekommendationer som finns och hur korskontamination mellan provrörstillsatser kan påverka resultaten för olika blodanalyser, undersöks och förklaras de olika tillsatserna samt deras funktion inom klinisk laboratoriekemi.

De beskrivna riktlinjerna är baserade på globalt överenskomna rekommendationer för i vilken ordning vakuumprovvrör skall fyllas vid venös provtagning. I examensarbetet används skriftliga källor såsom produkttillverkarnas anvisningar, utbildningsmaterial samt vetenskapliga artiklar. I arbetet granskas även publicerade undersökningar och studier kring rörordningsföljden och orsakerna för kontamination samt hur de påverkar undersökningarna.

Frågeställningarna till examensarbetet är:

- Vilka är riktlinjerna för rörordningsföljden vid blodprovstagning och varför bör de följas?
- Vilka skillnader finns det emellan olika rekommendationer?

3 Teoretisk bakgrund

Informationen från laboratorieundersökningar har en viktig roll inom vårdprocessen. Deras syfte är att främja kvaliteten för vården genom att tillförlitlig information om kroppens funktioner kan tillämpas till diagnostiken, förebyggande och uppföljning av sjukdomar och hälsotillstånd. Undersökningar görs även vid kontroll av allmänna hälsan och t.ex. i samband med utvärderingar av patientens arbetsförmåga eller lämplighet för operation. Informationen från kliniska laboratorieundersökningar utnyttjas i ungefär 70 % av alla vårdbeslut. (Hotus 2015).

3.1 Laboratorieundersökningsprocessen

Processen för kliniska laboratorieundersökningar delas in i preanalytiska, analytiska och postanalytiska fasen.

Preanalytiska fasen börjar med valet av lämpliga undersökningar på basen av vilka analyser som främjar vården, stöder eller utesluter en möjlig diagnos. (Hotus, 2015). På basen av vald undersökning görs sedan möjliga förberedelser för att provresultatet skall avspegla ex. möjlig sjukdom, hälsotillstånd eller visa effekten av behandling (Antus, 2018). Till preanalytiken hör därefter patientidentifikation, lämplig provtagningsmetod och material. Provet förses med informationsetikett och transporteras till laboratoriet där den förbehandlas innan analys genom att t.ex. centrifugeras och avskiljas.

I analysfasen sker själva undersökningen eller mätningen av provet samt förlitlighetsgranskning, eftersom t.ex. hemolys kan resultera i felaktiga värden. Resultaten jämförs med tillämplade referens-, terapi- eller målvärden (Antus, 2018).

Det postanalytiska skedet omfattar godkännandet av resultat med möjlig tilläggsinformation (t.ex. en avvikelseanmärkning på grund av bristfälliga patientförberedelser), arkivering och förmedling av resultaten till beställaren, efter vilket provet kasseras. (Hotus, 2015).

Av den totala laboratorieundersökningsprocessen är den preanalytiska fasen den mest utsatta för felkällor som påverkar provresultaten och vården negativt. Det har rapporterats att ungefär 46-68% av de totala felkällorna sker i den preanalytiska fasen, men dessa är

även förebyggbara. Sannolika orsaker för detta är att många av stegen som föreligger själva analysen av prover sker utanför laboratoriepersonalens övervakning. Inom vården samverkar många yrkesgrupper av annan eller lägre utbildning, vilket betyder att även provtagning och hanteringen av prover inte alltid utförs av utbildade laboratorieskötare. På grund av bristfällig eller otillräcklig kunskap kan provkvaliteten då påverkas negativt och leda till fel diagnos och vårdbeslut. Fastän rekommendationer och riktlinjer för utförandet av provtagning och provhantering förekommer, är dessa inte universellt standardiserade eller tillräckligt bevisbaserade. Rekommendationerna är inte heller alltid tillräckligt noggrant efterföljda. Dessa orsaker leder till variationer i provtagnings-praxis som äventyrar det kliniska värdet av analyser, eftersom referensvärden samt värdeberäkningar som används är baserade på resultaten av prover som samlats in under kontrollerade förhållanden och med standardiserade och godkända metoder. (Cornes et al. s.27-28, 2017).

3.2 Provtagning

Blodprovstagningen börjar alltid med identifikationen av patienten. Patientförberedelser såsom fasta eller läkemedel som inte får tas före provtagningen bestäms av vilka analyserna är. Patienten skall informeras om dessa på förhand av ansvarig skötare eller läkare. Förberedelserna finns till för att analysresultaten skall avspegla förändringarna som undersöks samt för att resultaten skall kunna jämföras tillförlitligt med referensvärden eller tidigare resultat (Antus, 2018).

Före provtagningen skall patienten sitta i ca.15 minuter för att blodcirkulationen skall stabiliseras, eftersom fysisk ansträngning och kroppsställning (stående, sittande, liggande) påverkar blodets koncentration och därmed vissa ämneshalter såsom hemoglobin och protein. (VCS).

Blodprover tas främst venöst och med vakuumenteknik. I provtagningen bör aseptiska föreskrifter och användningen av stas samt provtagningsställe tas i beaktande. Olika faktorer som kan påverka provet negativt (t.ex. hemolys) är att stasen suttit åtspänd för länge, muskelansträngning genom att pumpa handen, eller att intravenösa läkemedel nyligen administrerats i samma arm där blodprovet tas från. (VCS). Efter själva

provtagningen förses varje taget provrör med tillhörande etikett där nödvändiga patient- och undersökningsuppgifter förekommer (Antus, 2018).

Information om de olika laboratorieundersökningarna som behövs gällande patientförberedelser, provtagningen, hanteringen och förvaringen av proverna finns för det mesta tillgängligt i laboratoriets handbok på sjukhusets websida eller intranät. Olika laboratorier kan ha skillnader i föreskrifterna beroende på analysmetoderna som används för undersökningarna.

3.2.1 Venös blodprovstagning

Venprover tas i första hand från armbågsvecket, men även venerna på underarmen och handryggen kan användas. Vener på vristen eller fotryggen kan användas om provtagning från tidigare nämnda inte är möjligt, men bör ändå undvikas på grund av inflammationsrisk. Venpunktion får inte utföras på områden med ödem, hematom, inflammation eller åderbrock. (VCS).

Före venpunktion skall all utrustning som behövs vara framme och inom räckhåll för provtagaren för att ingreppet skall vara snabbt och smidigt. Normal venös provtagning sker som följande:

1. Patienten identifierar sig själv genom att berätta sitt namn och sin personbeteckning, även ID-kort kan avläsas med streckkod.
2. Provtagaren informerar om undersökningar och frågar om nödvändiga förberedelser har följts. Eventuella brister i förberedelserna antecknas.
3. Stasen ska fästas 5-8cm ovanför punktionsstället och får inte sitta åtspänd längre än någon minut, patienten skall heller inte knyta handen. Venen lokaliseras genom att palpera med pek- eller långfingret.
4. Efter att en ven lokaliserats skall området för venpunktionen desinficeras och låta lufttorka före punktion.







5. Provtagningsnålen förs med öppningen uppåt in i venen i dess riktning med ca.20 graders vinkel, medan huden hålls stadigt spänt med andra handens finger. Nålen förs in ca.0.5-1.0 cm, men detta kan variera om venen ligger djupt eller ytligt.
6. Nålen hålls stadigt på plats och rören förs in i hållaren, stasen öppnas och rören fylls vartefter. Rören skall fyllas helt upp till markeringen!
7. Rören blandas genast genom att de inverteras försiktigt 5-10 gånger för att tillsatserna skall blandas väl med blodet. Provrören skall inte skakas eller blandas för kraftigt eftersom hemolys, koagel eller skada på blodcellerna kan förekomma.
8. När önskat antal och typer av provrör är fyllda avlägsnas nålen i samband med att en ren kompress försiktigt läggs på när nålen dras ut ur venen. Säkerhetsskyddet läggs på med tummen på samma hand som nålen ligger i och nålen läggs direkt i ändamålsenligt avfallskärl.
9. Provtagaren ber patienten själv att hålla tryck på punktionsstället (om möjligt) i ca.5min. Patienten skall inte böja armen eftersom hematom kan bildas.
10. De fyllda provrören förses med etikett där patient- och undersökningsinformation förekommer. Detta bör ske genast i samband med provtagningen när patienten ännu är närvarande för att undvika att t.ex. olika patienters prover blandas ihop.

Beroende på vad som skall analyseras väljs provmaterialet eller provformen, dvs. helblod, plasma eller serum. För t.ex. hematologiska undersökningar används helblod och undersökningsförkortningen har prefixet B, ex. B-PVK (blodbild/ perusverenkuva). De flesta kliniska laboratorieundersökningar görs från plasma och ibland serum. Blodcellerna separeras då från plasma eller serum beroende på om provröret innehåller antikoagulant ämne eller inte. Serum erhålls från prov som fått koagulera och plasma när ett antikoagulerande ämne är tillsatt i provröret. Prefixet P står då för plasmaprover och S för serumprover, t.ex. P-Krea (kreatinin) och S-Fenyt (Fenytain, läkemedelsanalys). (Antus, 2018).

3.3 Provrör

Idag används vakuumenteknik som den främsta typen av bloduppsamlingssystem. Vakuumrör av plast eller glas med tillhörande två-ändade nålar tillämpades under det sena 1940-talet vilket förde med sig en ökad säkerhet, enkelhet, hastighet samt noggrannhet i mängden tillsats i förhållande till blodmängden. De två-ändade provtagningsnålarna är försedda med en hållare vars uppgift är att både hålla uppsamlingsröret på plats vid fyllning och skydda provtagaren från direkt kontakt med blod (WHO, 2010).

Samplingsrören är försedda med färgkodade korkar och etiketter för att åtskilja och tala om vilka tillsatser de innehåller, hur röret är kemiskt rengjort, eller om det är ett tillsatsfritt provrör (McPherson & Pincus, s.27, 2011). Färgkoderna är i stort sett lika bland olika tillverkare, men skillnader förekommer.

PROVRÖR och ORDNINGSFÖLJD	TILLSATS	ANVÄNDNING	VIKTIGT ATT VETA
<p>1 LJUSBLÅ (PLASMA)</p> 	Natriumcitrat /CTAD	Koagulations- undersökningar, t.ex. INR, APTT och FIDD.	Röret skall fyllas helt upp till markeringen.
<p>2 RÖD / GULD (SERUM)</p> 	Koagulationsaktivator med eller utan separationsgel	infektions- och läkemedels- undersökningar.	Specifika undersökningar bör tas i gelfria rör. Provet skall låtas koagulera 30-60min innan centrifugering.
<p>3 GRÖN (PLASMA)</p> 	Litiumheparin med eller utan separationsgel	kemianalyser, t.ex. levervärden, CRP och kalium.	Specifika undersökningar bör tas i gelfria rör.
<p>4 VIOLETT / ROSA (HELBLÖD/ PLASMA)</p> 	(K ₂) EDTA	Violett: hematologiska undersökningar. t.ex. PVK, HbA _{1c} . Rosa: ABO/Rh	Se upp för koagulation.
<p>5 GRÅ (PLASMA)</p> 	Natriumfluorid och kaliumoxalat	Glukos- undersökningar	Blanda noggrant.
<p>6 SVART (HELBLÖD)</p> 	Natriumcitrat	Sedimentations- undersökning (ESR)	Kan tas sist eftersom analysen inte påverkas av andra additiver.

3.3.1 Material

I följande stycken beskrivs de olika materialkomponenterna som förekommer i vakuümörren. Rören är specialtillverkade för in vitro diagnostik med tillämpningar för att främja både användningssäkerheten och provkvaliteten för kliniska laboratorieundersökningar (GBO).

I en granskning av hur materialkontaminationen från bloduppsamlingsrör kan störa kliniska kemianalyser, anser Bowen och Remaley att uppsamlingsystemen fungerar i de flesta fall utan problem. På grund av detta anses produkternas funktion istället tas för givet, vilket kan resultera i att laboratorier som använder produkterna inte känner till eller tar tillräcklig hänsyn till de potentiella problemen som kan uppstå. Felkällor relaterade till felaktig användning, förvaring eller även problem i tillverkningen kan påverka testresultaten på ett sätt som skadar patientvården eller laboratoriernas effektivitet, samt ökar kostnader (Hotus).

Provrören är tillverkade av plast eller glas, med en fyllnadsvolym mellan 2 till 10mL. Vakuümet i rören möjliggör att en exakt mängd blod fyller röret (GBO). Andra ämnen som används i tillverkningen förekommer både inuti röret och på förslutningen, för att främja både provkvalitet och säkerheten vid användning. Dessa ämnen kan dock påverka provkvaliteten och precisionen i laboratorieanalyserna när de löses upp och kontaminerar provet, vilket kan ske p.g.a. till exempel felaktig förvaring. (Bowen & Remaley, s.32-34, 2014).

Provrören tillverkas till att vara luft- och vattentäta samt hållbara vid hantering såsom vid transport och centrifugering. Plaströren är vanligen tillverkade av polyetylentereftalat (PET) eftersom det likt glas är klart och behåller vakuümet en längre tid. Både glas och PET är starkt nog för att klara av centrifugering, men på grund av säkerhetslagstiftningar samt oron för spridningen av blodburna patogener i samband med söndrigt glas används plaströren betydligt mera. Plaströren är förutom hållbarare även lättare och billigare vid både tillverkning och kassering. Glasrören tillverkas fortfarande eftersom avdunstningen av luft och vätska är betydligt mindre jämfört med PET. (Bush & Cohen, s.304-308, 2003). Speciellt PET-rören som används för koagulationstester är försedda med dubbelvägg för att minimera avdunstning, där det inre PP-skiktet (polypropylen) förhindrar förångning av citratlösningen.

Plaströrens yta är vanligen hydrofob vilket kan bl.a. försvåra separeringen av serum eller resultera i vidhäftning av t.ex. fibrin på rörväggarna. I och med detta kan den inre rörväggen beläggas med ytaktiva medel eller tensider (eng. surfactants/SF) eller vattenlösliga polymerer. Dessa ämnen kan lösas upp i provet och störa testresultat. (Bowen & Remaley, s.32-33, 2014).

Förslutningen har en gummipropp som för det mesta är tillverkad av butylgummi. (Figur 1). Gummiproppen gör det möjligt att punktera förslutningen så att röret kan fyllas utan att vakuumet försvinner. När nålen avlägsnas försluts punktionshålet av sig själv och förhindrar läckage. Den färgade plastdelen på förslutningen agerar som ett stänkskydd när gummiproppen avlägsnas. Förstoppare som tillverkas med gummiproppar innehållande mjukgöraren tri(2-butoxyetyl) fosfat eller TBEP, har rapporterats störa vissa läkemedelsanalyser, efter vilket tillverkare har minskat eller eliminerat produktionen av gummiproppar innehållande TBEP. Andra ämnen som används i tillverkningen av förslutningarna som t.ex. vissa metaller har också visats påverka resultat vid exempelvis spårämnesanalyser. För att underlätta fästet och avlägsnandet av förslutningarna på provrören används smörjmedel på gummit. Även röda blodkroppars förmåga att fästa på korken och kontaminera plasmat eller serumet efter centrifugering förhindras. Silikoner är mest använda eftersom risken för förorening och negativ påverkan på analysresultaten är mindre än för andra smörjmedel.



Figur 1. Illustration av förslutning med gummipropp (BD).

Förutom tillverkarnas modifieringar och val av materialen som används i tillverkningen, förminskas risken för kontaminationer även genom att provrören förvaras lämpligt och att utgångsdatumet inte överskrids. Genom att också fullständigt fylla rören minskar man risken för den möjliga kontamination av ämnen som används i tillverkningen när deras volym i förhållandet till provet förblir så liten att analyser inte påverkas mycket. (Bowen & Remaley, s.33-34, 2014).

De olika tillsatserna i provrören sträcker sig från koagulerande medel till antikoagulanter samt additiver som stabiliserar specifika analyter eller celler. Beroende på materialet på provrören samt lösningarnas stabilitet kan additiverna förekomma i torr pulverform eller som flytande lösning. Även om vissa tillsatser hålls lika stabila i plaströr som i glas så kan vätskeavdunstning påverka koncentrationerna och därmed testresultaten om tillverkarens hållbarhetstid eller "shelf life" överskrids. Likt vätskeavdunstningen avgår även vakuuemet efter en viss tid. Vakuuemet möjliggör att blodvolymen i röret blir exakt i förhållandet till mängden tillsats vilket resulterar i konsekventa och noggranna testresultat. (Bush & Cohen, s.304-308, 2003).

Separationsgeler används för att separera serum från koagulerat helblod och plasma från celler genom centrifugering. Användningen av serumavskiljningsrör (SST) möjliggör kortare behandlingstider, minimerar smittorisken och producerar prover med högre serumnivåer. Under centrifugeringen lägger sig gelen mellan packade celler och serum. Den hydrofoba beläggningen på rörets yta ger separationsgelen fäste och skapar en hållbar barriär som förhindrar röda blodkroppar (RBC) och serumet/ plasmat från att beblandas. Även om separationsgelerna förbättrats från de tidigare använda för att minimera kontaminering från gelen eller dess påverkan på analyser, har felaktig lagring och extrema temperaturer fortfarande en tydlig påverkan. Gelen kan släppa igenom RBC som höjer kaliumnivåerna i serum/plasma. Även material från gelen kan lösgöras och kontaminera provet med gelbitar eller silikonolja och på så sätt störa analysen genom att t.ex. täppa till provnålen i analysatorn. (Bowen & Remaley, s.36, 2014).

Ytaktiva medel (tensider, eng. surfactants/SF) minskar icke-specifik absorption av ämnen, förbättrar blodflödet, förhindrar komponenter såsom röda blodkroppar och proteiner från att fästa till rörväggarna, eller frisätter koagelaktiverer. SF-er kan påverka analyser av t.ex. antikroppar eller jon-koncentrationer, men en minskad användning och förbättrade lösningar har anpassats. (Bowen & Remaley, s.38, 2014).

4 Behovet för riktlinjer

På grund av dess inverkan på den totala testprocessen och patientsäkerheten, anses den preanalytiska fasen vara den mest sårbara och utmanande för laboratoriet. I preanalytiken förekommer upp till 50-75% av analysprocessens totala felkällor, och hela 26% av dem anses medföra skada eller extra belastning för patienten. (Hotus, s.4, 2015). Provernas kvalitet har direkt inverkan på analysernas resultat, och bristen på standardiserade riktlinjer, rekommendationer och relaterade kvalitetsåtgärder gör att stora skillnader förekommer.

Fastän officiella internationellt rekommenderade standarder för provtagning och hanteringen av blodprover finns (CLSI, WHO), följs dessa inte i tillräckligt hög grad. (Simundic & Lippi, s.145-146, 2012).

Några officiellt standardiserade riktlinjer utöver rekommendationer för rörordningsföljden finns ännu inte, och tillgängliga riktlinjer kan variera något mellan materialtillverkare, vilket utsätter risken för misstag vid t.ex. byte mellan olika tillverkares produkter. (Simundic, et.al. 2014). Till följd av detta kan resultaten vara felaktiga eller vilseledande för vårdpersonal och patienten kan behöva uppleva olägenheter som t.ex. upprepade provtagning. (WHO).

Det finns flertal motstridiga rapporter, stora skillnader i studieutformning samt bristen på evidensbaserade studier av hög kvalitet för att bevisa effekten av något preanalytiskt fel i testresultat som skiljer åt riktlinjer och standarder. Skillnaderna mellan studierna beror på att olika provtagningssystem, rörtyper, tillsatser och analysplattformar använts. I studierna skiljer sig metoderna för ex. studerandet av HIL-koncentrationer eller avgränsningsvärden för serumindex, och studieresultaten är därför vanligtvis svåra att reproducera. (Simundic & Lippi, s.145-146, 2012).

5 Tillsatser

Olika test kräver användningen av antingen serum, plasma eller helblod. För att separera t.ex. plasma eller bevara helblod utan att provmaterialet koagulerar eller förlorar komponenter på grund av t.ex. glukolys, behövs det därför olika additiver för bevaringen av det uppsamlade blodet. De flesta bloduppsamlingsrör som används för kliniska laboratorieundersökningar innehåller ämnen som endera förhindrar koaguleringsprocessen, (antikoagulant) eller påskyndar bildandet av ett koagel (koagulationsaktivator). (WHO, s.16, 2010).

Efter en påskyndad koagulering som följs av centrifugeringen av provet produceras ett serumprov. Serum har jämfört med plasma en högre koncentration av tromboglobuliner, kalium, aktiveringspeptider för koagulationsfaktorer, PF₄, samt komponenter som frisätts vid trombocytaktivering. Prover innehållande antikoagulant medel producerar plasmaprover. Plasmat innehåller koagulationsfaktorer såsom fibrinogen, och är mera visköst med högre proteininnehåll än serum. (Bowen & Remaley, s.34, 2014).

5.1 Antikoagulanter

För de flesta laboratorieundersökningarna såsom blodbild, kemianalyser och koagulationsundersökningar används antikoagulanter som tillsats i provrören. Antikoagulanterna förhindrar koaguleringsprocessen i helblod genom att antingen binda kalciumjoner eller inhibera trombinaktivitet. I och med detta bevaras helblod i sitt vätsketillstånd inför hematologiska undersökningar och blodplasma kan förvaras lämpligt för kemianalyser och koaguleringsundersökningar efter centrifugering. Blodets eller plasmats cellulära och extracellulära komponenter stabiliseras och koncentrationerna hålls så gott som oförändrade fram till själva analysprocessen. (WHO, s.5, 2002).

5.1.1 Natriumcitrat

I provrör avsedda för undersökning av koagulationsprocesser såsom INR och APTT eller erythrocyternas sedimentationsgrad (ESR) fungerar natriumcitrat som det antikoagulativa ämnet (BD). Citratet binder till kalcium och förhindrar koagulationen och buffrat tri-natriumcitrat förhindrar blodcellerna från att blandas med plasmat efter

centrifugering. Till skillnad från EDTA som har likadan funktion är reaktionen mellan blod och citrat delvis reversibel; för att kunna studera koaguleringen och koagulationsrelaterade faktorer under kontrollerade förhållanden, kan kalcium åter tilläggas för att starta koaguleringsreaktionen. (Reddel, 2015).

Natriumcitrat är natriumsaltet av citrat med alkaliserande egenskap. Citratet bildar komplex med blodets fria kalcium. Detta förhindrar kalcium från att bilda komplex med koagulationsfaktor VII, vilket normalt aktiverar faktor X och därmed startar koagulationskaskaden (PubChem).

Koagulationsrören har ljusblå förslutning och innehåller enligt rekommendation 0.105mol eller 0.109mol buffrat natriumcitratlösning med halten 3.2%. Förhållandet lösning till blod är 1:9, vilket är en avgörande faktor för korrekt analys. Därför ska koagulationsrören alltid fyllas upp till markeringen på röret, utan över eller underfyllnad. (BD). Provrör för koagulationstest dras före övriga rör med tillsatser, inkluderat rör som innehåller andra antikoagulanter såsom EDTA. Tillsatsfria rör får dras före koagulationsröret. Vid användningen av fjärilsnål bör ett extra rör fyllas något och kasseras, så att luften i slangen mellan nålen och adaptorn inte fyller ut vakuumet i koagulationsröret, och på så sätt orsakar underfyllnad. (MLabs 2019).

CATD rör innehåller förutom buffrat natriumcitratlösning, även teofyllin, adenosin och dipyridamol. Tillsatserna förhindrar trombocyternas aktivering ex vivo, vilket gör den här varianten av koagulationsrör idealisk för känsligare analyser åt patienter med pågående antikoagulationsbehandling. (BD).

5.1.2 Heparin

För kliniska kemi- och biokemianalyser såsom levervärden, elektrolyter och hormoner används litiumheparin som antikoagulant tillsatsämne. Heparinet aktiverar antitrombin och blockerar koagulationen (Bioiberica). För att undvika blodets cellkomponenter från att kontaminera det separerade plasmat används ofta litiumheparinrör som innehåller en separationsgel. I analyser av exempelvis kalium, fosfor, vitaminer och glukos är en snabb separering viktig för att halterna av de nämnda analyserna inte skall påverkas, t.ex. glukoshalten i.o.m. glukolys. Tiden för analysprocessen förkortas även tydligt tack vare möjligheten till kort centrifugerings- och provhanteringstid. Rören innehåller 17IU

litiumheparin per mL blod och har en grön förstoppare, ljusgrön på dem innehållande separationsgel. Litiumheparinet är spraytorkat på rörväggens insida för en jämn fördelning av tillsatsen, och bör blandas väl efter fyllning för att försäkra en homogen blandning. (BD).

För blodgasanalyser (ex. elektrolyter och syresättning) används en specifik heparinspruta; Radiometer safePICO-sprutan innehåller 80IU elektrolyt-balanserat heparin för att uppnå noggranna elektrolytresultat. Sprutan har en förslutning som släpper igenom luft för att minimera förekomsten av luftbubblor som stör analysen. Sprutan innehåller även en metallkula som automatiskt blandar provet när sprutan läggs i analysatorn, ABL800 FLEX. Efter att blodet aspirerats i sprutan rekommenderas noggrann omblandning genom att försiktigt rulla sprutan mellan handflatorna två minuter före analys, för att försäkra en homogen blandning utan hemolys. Denna manuella omblandning kan dock vara otillräcklig eller inte väl utförd, och därför är sprutorna utrustade med metallkulan som tillsammans med analysatorn försäkrar en noggrannare omblandning. (Radiometer).

5.1.3 EDTA

För helblodsanalyser används provrör försedda med lavendellila eller ljusrosa förslutning. Dessa innehåller EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid) som förhindrar koaguleringen genom att binda till metalljoner såsom kalcium (BD). Blodcellerna bevarar sina morfologiska egenskaper och koncentrationerna hålls så gott som oförändrade fram till själva analysfasen (Banfi et. al., 2007, s.565). EDTA används som antikoagulant i samband med helblod- eller plasmaanalyser så som blodstatus, transfusionsanalyser, DNA och genundersökningar samt nukleinsyreanalyser.

I plaströren är dikaliumsalter av EDTA (K_2EDTA) i pulverform och spraytorkat på insidan av röret, medan det i glaströr förekommer trikaliumsalter av EDTA (K_3EDTA) i vätskeform. Även K_2EDTA -rör med separationsgel förekommer. Dessa är försedda med pärlvit förslutning och används ex. inom molekylärdiagnostiska analyser av plasma (Turgeon, s.82, 2015). Den rekommenderade koncentrationen enligt ICSH är ca.1.8mg EDTA per ml blod. Rören bör fyllas helt och blandas väl för en homogen fördelning och pålitliga analysresultat. (BD).

I en jämförelsestudie utförd av Österrikiska produkttillverkaren Greiner Bio-One, framkom det inga kliniskt betydande skillnader mellan användningen av K_2EDTA eller K_3EDTA vid

blodstatusanalys. Värt att notera är dock att kaliumsalterna är hyperosmolara, vilket kan förändra blodcellernas morfologi om koncentrationen EDTA är för stor i jämförelse med blodvolymen. Relaterat till detta hade det i flera tidigare studier bevisats att om röret med K_3EDTA blivit underfyllt med 60 % (d.v.s. 2ml blod i ett rör tillämpat för 5ml blodvolym) förekom märkbara skillnader i vissa av parametrarna. Vid 30 % underfyllnad förekom fortfarande ogynnsamma hematologiska förändringar, fastän analysresultaten där K_2EDTA -rör användes förblev oförändrade med t.om.75 % underfyllnad (d.v.s. 1ml blod i provrör av 4ml kapacitet). Trots detta borde CLSI:s föreskrifter följas oberoende och provrör fyllda till mindre än 90 % av totalvolymen kasseras. (Gupta, et.al. 2014, s.103-104).

5.1.4 Fluorid

För mätningen av blodets glukoshalt används provrör med gråfärgad förslutning som innehåller en blandning av natriumfluorid som förhindrar glukolysen, och kaliumoxalat med antikoagulant egenskaper (GBO). På grund av glukolysen sjunker blodglukoshalten snabbt i uppsamlingsrör utan natriumfluorid. Andra provrör såsom t.ex. Li-Hep-rör och blodgassprutor med heparin kan användas för mätningen av glukoshalt, men dessa rör ska i sådana fall genast placeras i kallt (isvatten eller kyllåda) samt avskiljas inom 30 minuter. Tillsatserna i fluoridröret hämmar glukolysen snabbt genom att sänka blodets pH och stoppa enzymaktiviteten i glukolysen. (Gupta & Kaur, s. 262, 2013). Fluoridröret bör tas som sist eftersom morfologiska analyser av blodceller och kaliumvärden kan påverkas av tillsatserna (Calam & Cooper, 1982).

5.2 Koagulationsaktiverande ämnen

Provrör med röd eller guldfärgad förslutning är avsedda för serumprover vid bestämningen av t.ex. läkemedelshalter. Tillsatserna i serumrör aktiverar och påskyndar koagulationen. Som koagulationsaktivator i CAT-rör (clot activator tube) används silicapartiklar och provet rekommenderas låta koagulera minst 60min innan själva centrifugeringen. För bättre provkvalitet och kortare tid för förbehandling när det gäller koaguleringen och centrifugering, används rör som även innehåller en separationsgel, SST-rör (serum separation tube). Jämfört med koaguleringstiden i rören utan separationsgel, halveras denna till 30min före centrifugering. Provrören utan separationsgel, CAT-röret, har en röd förslutning, ibland även med en svart ring på toppen. SST-röret som innehåller

separationsgel har en orange/gulfärgad förslutning, men även röda med en gul ring på toppen förekommer. (Serumrör tillverkade av glas innehåller inga tillsatser och glasytan aktiverar koaguleringen (BD)).

Bland produkttillverkarna har Becton Dickinson (BD) nyligen tagit fram en tredje variant av rör med koagulationsaktivator på marknaden. I det så kallade RST-röret (rapid serum tube) används en trombinbaserad tillsats för koagelaktiveringen. Tillsammans med en separationsgel kan tiden för koaguleringen innan centrifugeringen av provet förkortas ytterligare till endast 5minuter från själva provtagningen. I en belgisk observationsstudie publicerad år 2013 undersöktes möjliga skillnader mellan BD Vacutainer® SST- och RST-rör. Studien koncentrerade sig på generella skillnader mellan rören med varierande hanteringstid och förvaring. Förutom den betydliga skillnaden mellan den rekommenderade koagulationstiden före centrifugering ville man med undersökningen även få reda på om det nya röret kunde minimera risken för hemolys. I och med detta studerades skillnaderna mellan serumnivåerna av kalium, LDH och hemolys index. Av varje deltagande patient drogs fyra rör i slumpmässig ordning, två stycken SST och två RST. Det ena röret av vardera blandades enligt tillverkarens rekommendationer genom inversion, medan det andra av var rör lämnades oblandat med syftet att undersöka hemolys. Resultaten av undersökningen påvisade inga kliniskt betydande fördelar med det nya RST-röret jämfört med SST-rören. Den korrekta blandningen av rören visade sig heller inte förhindra hyperkalemi eller förhöjda LDH-värden. Däremot hade en del av de underfyllda provrör som godkänts för undersökningen förhöjda kalium och LDH-värden. (Huyghe et al. 2013).

6 Ordningsföljden

För att förebygga uppkomsten av felkällor relaterade till korskontamination mellan olika additiver i blodprovsrör, har internationella organisationen Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) utvecklat standardiserade rekommendationer för uppsamling och diagnostik av venösa blodprov. CLSI:s rekommendationer (Standard GP41, 2017) omfattar provtagningsprocessen i sin helhet, inkluderat ett rekommenderat system för i vilken ordning blodprovsrör med olika tillsatser skall samlas. Ordningsföljden är baserad på

de förekommande provrörstillsatserna men påverkas även av typen av analys, ex. koagulationsanalyser. Samma ordningsföljd förekommer i de flesta tillverkarens datablad. (Cornes et al. s.27-28, 2017).

Enligt WHO och CLSI är de nationellt och internationellt rekommenderade riktlinjerna för provrörsordningen som följande;

1. Sterila rör, blododling
2. Koagulationsrör
3. Serumrör
4. Heparinrör
5. EDTA-rör
6. Glukosrör
7. Övriga rör (t.ex. spårämnen)

Risken för att tillsatser från ett rör kontaminerar ett annat under provtagningen är en av faktorerna som bestämmer uppsamlingsordningen när flera vakuumsrör fylls under samma venpunktion. När vakuumsrörets gummistoppare punkteras med provtagningsnålens motsatta nål som är täckt av en gummihylsa kan additiver såsom koagulationsaktiverande medel kontaminera punktionsnålen och överföras till nästa uppsamlingsrör och förvränga testresultaten. Annan typ av kontamination av provet kan vara vävnadsvätska som vanligtvis förekommer i det först dragna röret. (Fukugawa et. al. s.900, 2012).

Förutom för att undvika korskontamination finns rekommendationerna till för att försäkra noggranna och pålitliga testresultat. Genom att alla patientprover uppsamlas på samma sätt utan större skillnader i praktiskt utförande är resultaten både pålitligare och lättare att tolka. CLSI har baserat sina riktlinjer för rekommenderad uppsamlingsordning på Calam och Coopers ärenderapport, där kontaminationen mellan tillsatsinnehållande provrör studerades. Även om kontaminationen enligt Calam & Cooper upplevdes ha varit på grund av besvärlig venpunktion där vävnadsskada orsakade opålitliga testresultat, kvarstår den rekommenderade ordningen eftersom korskontamination fortfarande anses möjlig.

Till följd av att tillsatser från ett rör kontaminerar ett annat kan ämneshalterna i proverna förhöjas eller sänkas vilket leder till falska resultat. Även koagulations eller antikoagulationsfunktionen kan påverkas och resultaten blir opålitliga. Exempelvis värden för kalium, kalcium, AFOS, järn och magnesium kan påverkas om ett EDTA-rör dras före heparinröret. Koagulationsundersökningar kan påverkas vid kontamination av antikoagulanter eller koagelaktivatorer. (Cornes et al. s.27-28, 2017).

I Europa är riktlinjerna utarbetade av Europeiska federationen för klinisk kemi och laboratoriemedicin (EFLM). Tillsammans med Latin-Amerikanska konfederationen för klinisk biokemi (COLABIOCLI) publicerade EFLM den nyaste versionen av rekommenderade riktlinjerna i juni 2018. Förutom en rekommenderad ordning på rören vid venös provtagning innehåller rekommendationen även beskrivningar för metoderna i hela undersökningsprocessen, dvs. preanalytiken, analysfasen och postanalytiken.

6.1 Avvikelser i ordningsföljden

Emellanåt kan undersökningsmängden vara större och många provrör av samma typ behöver dras. Vid sådant tillfälle, och om provtagningen visar sig vara svår, kan det vara tillrådligt att fylla en av varje rörtyp som krävs före de övriga likadana för att inte behöva utföra upprepad venpunktion (UW Health, 2019). Om ett provrör används för flera undersökningar bör kraven för provmängden, kriterierna för provtagningssätt och hantering samt kontaminationsrisk kontrolleras i laboratoriehandboken.

6.2 Variationer i riktlinjerna

För tillfället förekommer fortfarande skillnader i tillverkarnas färgkodning på rören, även om de inte är stora. Oftast är färgerna på förslutningarna för rutinanalyser lika, men dessa kan skilja i nyans eller färgkombination. Variationerna förekommer också bland en och samma tillverkares produkter för att tala om volym eller om röret innehåller en separationsgel.

Som exempel finns det variation i färgkodningen mellan GBO VACUETTE® och BD Vacutainer® som båda används vid Vasa Centralsjukhus.

Rörtyp	BD Vacutainer®	GBO VACUETTE®
Serum	Röd	Röd med svart/vit ring
Serumgel	Guld/orange	Guld eller Röd med gul ring
Heparin	Mörkgrön	Mörkgrön med svart/vit ring
Heparin gel	Ljusgrön	Mörk/ljusgrön med gul ring
(K ₂)EDTA	Violett, ljuslila eller rosa	Rosa eller violett med svart/vit ring
EDTA-gel	Violett	Violett eller vit med gul ring
Koagulationsrör	Ljus eller klarblå	Klarblå med svart/vit ring Klarblå med gul ring (CTAD)

Olikheterna bland tillverkarnas färgkodning kan leda till att provet tas i fel typ av rör. Samtidigt kan större laboratorier använda rör med samma tillsats men olika färg för t.ex. att lättare veta till vilken sektion på laboratoriet röret skall gå för analys. Exempel på detta är EDTA-rören som används på Vasa Centralsjukhus; de med rosa förslutning används i förenlighetstester på blodbanken, medan rören med lila/violett förslutning används vid hematologiska analyser. Rören innehåller samma tillsats med varierande fyllnadsvolym.

Emellertid tillverkas produkterna enligt beställarens egna krav vilket leder till variationer av produkterna. Största skillnaden till bristen på samstämmighet är troligen kostnaderna som bytet eller uppdateringen av produkter medför. Andra troliga orsaker som förhindrar föreslagna standarder på produkterna (färgkodning) kan vara att patientsäkerheten nödvändigtvis inte riskeras i den nuvarande situationen. I laboratorier som tar emot prover från flera provtagningsplatser som använder olika tillverkare, kan detta orsaka förvirring. (Simundic et. al., 2015, s.373-374).

I Finland och exempelvis på Vasa centralsjukhus, förses etiketterna utöver patient- och undersökningsinformation, även med informationen om vilken typ av tillsatsrör som skall användas. Andra laboratorier kan även ha färgen på röret utskriven på etiketten som

klistras på röret i samband med provtagningen. Utbytet av produkter som används inom laboratoriet kan däremot leda till misstag där prover tas i fel rörtyp (Simundic et. al., 2015).

Riktlinjerna för den rekommenderade rörordningsföljden är lika bland större produkttillverkare (ex. BD och GBO) och organisationer såsom EFLM, vilka som följer nationella (CLSI) och internationella (WHO) standarder.

Skillnaderna i ordningsföljden mellan tillverkare, organisationer och laboratorier verkar endast förekomma i ordningsföljden av tillsatsinnehållande rör. ESR-röret som innehåller natriumcitrat kan tas före heparin, EDTA och fluoridröret, men även sist eftersom undersökningen inte påverkas av de andra tillsatsernas möjliga kontamination. Rör för undersökningen av spårämneshalter innehåller antingen koagulationsaktivator, natriumheparin eller EDTA (Nordlab). I de flesta rekommendationer är spårämnesröret sistnämnt, men beroende på tillsats kan den vara före serum eller efter heparinröret i ordningsföljden (Nordlab, UW Health). Utöver detta är vissa spårämnen såsom koppar eller krom känsliga för kontamination, och då rekommenderas det oberoende av ordningsföljd att ett tillsatsfritt rör fylls före spårämnesröret (VCS).

7 Tidigare forskning

Det finns motstridiga åsikter om huruvida ordningen på i vilken provrören fylls fortfarande spelar så stor roll med moderna uppsamlingssystem. I en artikel publicerad av Europeiska federationen för klinisk kemi och laboriemedicin (EFLM) granskade en grupp forskare tidigare studier för att undersöka de möjliga riskerna för korskontamination om den rekommenderade ordningsföljden inte följs. I flera studier visade sig ordningen inte verka ha någon kliniskt betydlig påverkan på provresultaten. Dessvärre förekommer tydliga bevis på att kontaminering fortfarande sker i verkliga situationer där förhållandena inte alltid är idealiska, och att detta inte alltid märks av i rutinmässig laboratoriepraktik. Forskarna Cornes et al. säger att kontaminationen oftare sker på grund av dålig praxis i blodprovstagningen och inte på grund av fel uppsamlingsordning. Om provtagningen är svår kan proven kontamineras av vävnadsvätska eller tillsatsöverföring på grund av

bakflöde. I underfyllda provrör blir koncentrationerna av möjliga kontaminerande ämnen större vilket kan påverka resultaten betydligt.

Fukugawa et al. undersökte hur koagulationsundersökningar påverkades av korskontamination med koagulationsaktiverande ämnen. I och med CLSI:s tidigare rekommendation om att serumröret borde fyllas före koagulationsröret för att denna inte skulle kontamineras av vävnadsvätska, undersöktes det även om ifall "koagulering före serum" eller "koagulering efter serum" var att föredra i samband med rutintester för koagulation. I undersökningen utfördes både normal venpunktion enligt CLSI:s föreskrifter samt direkt kontamination genom tillförsel av koagulationsaktiverande tillsatser. "Koagulering efter serum"-policyn ansågs vara acceptabel vid lyckad venpunktion, men risken för kontaminering av ett tidigare draget serumrör på grund av bakflöde vid misslyckad eller svår venpunktion poängterades. Tillika kan vävnadsvätska fortfarande kontaminera koagulationsprovet vid en misslyckad venpunktion.

Ett par studier där kontaminationen av EDTA undersöktes visade att vissa analyser såsom kalcium, magnesium och kalium kunde påverkas. Cadamuro et al. undersökte överföringen av K_3EDTA genom att mimikera en bloduppsamling, direkt kontamination av EDTA, samt uppsamling med spruta och överföring till provrör. Vid direkt kontaminering med så lite som en droppe EDTA påverkades värden för magnesium betydligt, följt av kalcium och kalium. Även järnvärden påverkades av en större koncentration EDTA. Andra analyser påverkades inte, och kontaminationen ansågs mycket osannolik vid användningen av ett slutet vakuumsystem och tillämpningen av de rekommenderade riktlinjerna.

I en liknande studie av Lima-Oliveira et al. förekom ett patientfall där en spruta (Radiometer PICO™) för analys av blodgaser samlades efter K_3EDTA -röret. Analysresultaten för kalium och kalcium avvek från referenserna och en ny blodsamling utfördes senare samma dag men utan nytt EDTA-rör. I jämförelserna observerades då kliniskt betydande skillnader, och K_3EDTA -kontaminationen till sprutan ansågs vara orsaken till de falska resultaten vid den första provtagningen. Till följd av studien rekommenderas sprutor för blodgas- och kalciumtester att tas före EDTA-rör.

Korskontamination med EDTA kan också påverka koagulationsanalyser eftersom det binder metalljoner såsom europium (immunanalysreagens), zink och magnesium. I och

med detta bör alltså provrör för koagulationsanalyser och kemiska analyser tas före EDTA-röret för att undvika möjlig korskontamination. (Bowen och Remaley, s.34, 2013).

EFLM arbetsgruppen för preanalytiska fasen 2013 gjorde en undersökningsstudie där 28 Europeiska länders provtagningspraxis och utbildningsnivå jämfördes, Finland inkluderat. På samma gång undersöktes även huruvida de nationella riktlinjerna var följda, inkluderat rekommenderade riktlinjer för rörordningsföljden. Endast en fjärdedel av länderna följde nationella riktlinjer, men uppskattningsvist inte tillräckligt noggrant. Orsakerna till varför föreskrifterna inte följs visade sig vara förutom otillräcklig kunskap och utbildning, även dåliga attityder till riktlinjerna, överbelastning av arbete eller brist på tid och personal. (Simundic et al. 2013).

8 Resultat

Trots att de moderna vakuumsystemen för blodprovstagning är välutvecklade med både säkerheten och provkvaliteten i åtanke, kan brister fortfarande förekomma. Även om problem såsom tillsatskontaminering sällan uppstår vid lyckad blodprovstagning, är det viktigt att känna till faktorer som kan påverka provresultat eftersom dessa kan lätt gå obemärkta. Studierna visar att korskontaminering mellan provrörstillsatser fortfarande förekommer, även om andra faktorer såsom misslyckad venpunktion eller underfyllnaden av rören sker oftare och anses som den oftare förekommande orsaken till felaktiga analysresultat.

Ordningföljden är viktig förutom på grund av kontaminationsrisken, också för laboratoriets förmåga att kunna tolka resultaten tillförlitligt genom jämförelse med referens- och idealvärden för olika analyser. Stora skillnader i praxis kan betyda att skillnaderna mellan en patients prover också blir större än vad de egentligen är. Felkällor som går obemärkta, i både misstag eller med avsikt, borde alltid kännas till och dokumenteras för att analysresultaten skall vara pålitliga.

I granskningen framkom få egentliga skillnader i den rekommenderade ordningen, och attityderna eller följsamheten av dessa verkar påverka mera än variationerna bland föreskrifter. I slutändan verkar de flesta rekommendationer ändå vara överens om

ordningen för blodprovstagning som bör följas p.g.a. att risken för korskontamination fortfarande förekommer. Koagulationsröret tas alltid först, om inte sterila prover såsom blododlingar skall tas. Ett tillsatsfritt rör kan tas före, och kan behövas i vissa fall såsom i provtagning med fjärilsnål eller från kanyl där slangen bör tömmas på luft före rören fylls. Serumrör tas före andra additiver med antikoagulerande egenskaper eftersom dessa kan försämra koagulationen och således påverka analyserna. Plasmaprover samlas före EDTA eftersom flera kemiska analyser kan påverkas av förekomsten av EDTA. De två sista rören som används i rutinanalyser, fluorid och ESR, kan tas i valfri ordning. ESR röret innehåller samma tillsats som koagulationsröret, men undersökningen påverkas inte av andra tillsatser och kan därför fyllas sist. Det är värt att minnas att många analyser som inte tas rutinmässigt kräver speciella metoder för provtagningen, och dessa borde alltid studeras i t.ex. handboken för det undersökande laboratoriet.

Underfyllnaden av provrören kan påverka resultaten på följande sätt;

1. Förhållandet blod till tillsats kan avvika från tillverkarens rekommendationer och ha en inverkan på resultaten. Detta gör att resultatet blir opålitligt.
2. Möjlig kontamination betonas när blodmängden är liten, och då kan även små koncentrationer av det kontaminerande ämnet påverka resultaten betydligt.

Bland undersökningarna påvisades kontaminationen av EDTA på blodgasanalyser. Blodgassprutan innehåller litiumheparin och används för undersökningen av elektrolyter såsom kalium. Eftersom EDTA, och även fluorid, har bevisats att kunna påverka analyser såsom kalium, bör blodgassprutan fyllas före dessa om blodprovet aspireras direkt i den avsedda sprutan.

9 Diskussion och kritisk granskning

I Finland följs de standardiserade riktlinjerna och utbildningen är omfattande. Vad jag själv tror att påverkar mest och som även beskrivs i hänvisade studier, är bristen på kunskap och dåliga attityder till riktlinjerna. Arbetsmängden och bristen på personal påverkar även betydligt. Önskvärt är att den mest kritiska informationen om möjliga felkällor skulle nå

fram till alla inblandade i provtagningsprocessen, eftersom detta skulle både underlätta och förbättra vården och arbetet. Frågeställningarna som gav grunden till examensarbetet besvarades som följande:

Riktlinjerna för ordningsföljden som rekommenderas av produkttillverkare och nationella samt internationella organisationer är i stort sett lika. Provrör som används för rutinanalyser har följande ordning: (1) koagulationsrör, (2) serumrör, (3) heparin, (4) EDTA, (5) fluorid. När andra prover utöver dessa skall tas, såsom för blododlingar, blodgas- eller spårämnesanalyser, bör speciella preanalytiska föreskrifter kännas till. Föreskrifterna finns tillgängliga i laboratoriets handbok.

Skillnaderna i ordningsföljden som förekommer är på grund av att inga standardiserade färgkodningar för provrören finns. Trots olika färgkodning är det tillsatserna som bestämmer ordningsföljden, vilket betyder att när nya produkter används bör sådana skillnader läggas märke till och bekanta sig vid, för att utesluta risken för korskontamination eller att fel provrör används.

Syftet med litteraturundersökningen och granskningen av publicerad kunskap samt forskningsresultat är ett utvecklingsarbete med preanalytiken i fokus. Även om riktlinjerna som finns publicerade ännu bara är rekommendationer, så baserar sig dessa på studerade faktorer som bör kännas till för att laboratorieproverna skall vara pålitliga och av god kvalitet. I praktiken gynnar detta inte bara patienterna, men även laboratoriet och övrig vårdpersonal.

Informationssökningen var lättare inom vissa områden än andra, vilket dels är på grund av att en del ämnen studerats mera och i större omfattning. Jag hade hoppats på att hitta fler jämförelsestudier angående ämnet, men bristen på dessa är dels på grund av varierande och otillräcklig forskning. Litteraturgranskningen var tekniskt sett enkelt utförd, men bristen på information jag önskade hitta ändrade något på helheten.

Det hade varit intressant att med t.ex. en enkätundersökning få reda på skillnaderna i kunskap, attityder och provtagningspraxis mellan inte bara bioanalytiker och laboratorieskötare runtom landet, men även i jämförelse med andra yrkesgrupper som deltar i provtagningen.

Litteraturförteckning

- Antus M., 2018. *Bioanalytikens grunder*. Vasa: Yrkehögskolan Novia, Opublicerat föreläsningmaterial för utbildningsprogrammet bioanalytik (YH).
- Banfi G., Salvagno G.L. och Lippi G., 2007. The role of ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic purposes. *CCLM*, 45, s.565-576.
- Becton Dickinson (BD), 2019. *Preanalytical systems product catalogue*. Erembodegem, NJ Vianen: BD Life Sciences.
- Bowen R.A.R. och Remaley A.T., 2014. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochemia Medica*, 24(1), s.31-44.
- Bioiberica. (u.å.). *Heparin lithium*. <https://www.bioiberica.com/en/products/human-health/heparin-science/heparin-lithium> [hämtad 18.4.2019].
- Bush V. och Cohen R., 2003. The evolution of evacuated blood collection tubes. *Laboratory Medicine*, 34(4), s.304-310.
- Cadamuro J., Felder T., Oberkofler H., Mrazek C., Weidemann H. och Haschke-Becher E., 2015. Relevance of EDTA carryover during blood collection. *CCLM*, 53(8), s.1271-1278.
- Calam R.R. och Cooper M.H., 1982. Recommended "Order of Draw" for Collecting Blood Specimens into Additive-Containing Tubes. *Clinical Chemistry*, 28(6), s. 1399.
- Cornes M., van Dongen-Lases E., Grankvist K., Ibarz M., Kristensen G., Lippi G., Nybo M. och Simundic A.M., 2017. Order of blood draw: opinion paper by the European federation for clinical chemistry and laboratory medicine (EFLM) working group for the preanalytical phase (WG-PRE). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 55(1), s.27-31.
- Fukugawa Y., Ohnishi H., Ishii T., Tanouchi A., Sano J., Miyawaki H., Kishino T., Ohtsuka K., Yoshino H. och Watanabe T., 2012. Effect of carryover of clot activators on coagulation tests during phlebotomy, *American Journal of Clinical Pathology*, 137(6), s.900-903.
- Greiner Bio-One (GBO), (u.å.). *Evacuated Blood Collection System - for In Vitro Diagnostic Use*. Kremsmünster: Greiner Bio-One.

Gupta V., Shrivastav V., Negi G., Chandra H., Mittal S. och Biswas D., 2014. Under filled di potassium-ethylene di amine tetra acetic acid vacutainers and its effect on automated blood cell indices in healthy blood donors: Is there a need to re-investigate it as a rejection criterion. *Journal of Applied Hematology*, 5(3), s.101-106.

Gupta S. och Kaur H., 2014. Inhibition of glucolysis for qlucose estimation in plasma: recent guidelines and their implications. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 29(2), s.262-264.

Hotus, 2015. *Hoitosuositus - Potilaan ohjaus laboratorionäytteenottoon*. Hoitotyön tutkimussäätiö.

Huyghe T., Buntinx F., Bruyninckx R., Besard V., Vunchx J., Church S., Byron K., Rosa R. och Blanckaert N., 2013. Studies on the use of BD Vacutainer® SST II™ and RST™ in general practice: investigation of artefactual hyperkalaemia. *Annals of Clinical Biochemistry*, 51(1), s.30-37.

Kuntaliitto (2019) Laboratoriotutkimusnimikkeistö.

Lima-Oliveira G., Lippi G., Salvagno G., Montagnana M., Picheth G. och Guidi G., 2013. Incorrect order of draw could be mitigate the patient safety: a phlebotomy management case report. *Biochemia Medica*, 23(2), s.218-223.

MLabs. 2019. *Coagulation specimen collection and transport guidelines*. Plymouth: Michigan Medicine Laboratories.

McPherson R.A. och Pincus M.R., 2011. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. (22. uppl.) Philadelphia: Saunders.

NordLab, 2016. *Verinäyteputkikartta laboratorion henkilökunnalle*. Uleåborg: NordLab.

PubChem. (u.å.). *Sodium citrate CID-6224*.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-citrate> [hämtad 02/2019].

Radiometer. (u.å.). *SafePICO aspirator arterial sampler*. Brønshøj: Radiometer Medical.

Raffick A.R. Bowen och Alan T. Remaley, 2014. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochemia Medica*, 24, s.31-44.

Reddel C., 2015. *Choosing the right collection tubes*. <https://bitesizebio.com/23701/choosing-the-right-blood-collection-tubes/> [hämtat: 04/2019]

Simundic A.M. et. al., 2018. Joint EFLM-COLABIOCLI recommendation for venous blood sampling. *CCLM*.

Simundic A.M. och Lippi G., 2012. Preanalytical phase - a continuous challenge for laboratory professionals. *Biochemia Medica*, 22(2), s.145-149.

Simundic A.M., Cornes M., Grankvist K., Lippi G., Nybo M., Kovalevskaya S., Sprongl L., Sumarac Z. och Church S., 2013. European survey on phlebotomy. *CCLM*, 51(8), s.1585-1593.

Simundic A.M., Cornes M.P., Grankvist K., Lippi G., Nybo M., Ceriotti F., Theodorsson E. och Panteghini M., 2015. Colour coding for blood collection tube closures - a call for harmonisation. *CCLM*, 53(3), s.371-376.

Turgeon M.L., 2015. *Linne & Ringsrud's Clinical Laboratory Science: Concepts, Procedures and Clinical Applications*. (7. uppl.) St. Louis: Mosby.

UW Health, 2019. *Order of draw of blood collection tubes*. University of Wisconsin-Madison.

VCS. 2013. *Handbok 2013 - Blodprovtagning*. Vasa: Vasa Centralsjukhus Kliniska laboratoriet.

VCS. (u.å.). *Laboratorio-ohjekirja - hivenainetutkimukset*, Vasa: Vasa Centralsjukhus Kliniska laboratoriet.

World Health Organisation, 2010. *WHO Guidelines on Drawing Blood*. Geneva: WHO.

World Health Organisation, 2002. *Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations*. Geneva: WHO.