



NORGE

[NO]

**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

[B] (11) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 151217

**[C] (45) PATENT MEDDELT
27. FEB. 1985**

(51) Int. Cl.³ G 01 N 33/96

(21) Patentsøknad nr. 832062

(22) Inngitt 07.06.83

(24) Løpedag 23.07.76

(62) Avdelt fra søknad nr. 762578

(41) Alment tilgjengelig fra 26.01.77
(44) Søknaden utlagt, utlegningskrift utgitt 19.11.84
(30) Prioritet begjært 25.07.75, USA, nr. 599291

(54) Oppfinnelsens benevnelse Blodgasskontrollenhet og fremgangsmåte for fremstilling derav.

(71)(73) Søker/Patenthaver **WARNER-LAMBERT COMPANY,**
201 Tabor Road,
Morris Plains, NJ 07950,
USA.

(72) Oppfinner **JAMES E. TURNER,**
Madison, NJ,
USA.

(74) Fullmektig **Cand.mag. Johan H. Gørbitz,**
Bryn & Aarflot A/S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner Ingen.

Forbedringer i instrumentering har gjort bestemmelsen av blod-pH, $-pO_2$ og $-pCO_2$ økende tilgjengelig for den medisinske teknologien. Siden kraftig terapeutisk behandling ofte dikteres av testresultater, er det avgjørende med nøyaktighet. Bruk av kontrollmaterialer for å verifisere påliteligheten av instrumenteringen og skaffe en rask indikasjon på uventede analytiske avvikelser er derfor viktig.

Tidligere måtte kontrollmaterialer for verifisering av påliteligheten av blod-pH, $-pO_2$ og $-pCO_2$ -instrumenter lages av medisinske teknologer like før utførelse av testen. Vanligvis innbefatter dette tilsetning av kjente mengder av oksygen- og karbondioksydgass til et "Tonometer" som inneholder en kontrollprøvevæske ved et fast pH. Gassene og væsken bringes i likevekt inne i "Tonometer"et, og en alikvot prøve fjernes forsiktig av teknikeren for å kontrollere blodgassinstrumenteringen. Som resultat av det omhyggelige arbeid som er involvert og av nødvendigheten av spesielle gassblandinger, er dette tidligere bare utført i laboratorier som utfører forskning på blodgassområdet.

Andre metoder for å fastslå instrumentfunksjonen tester ikke alle blodgassparametre. "Versatol Acid-Base" er eksempelvis

oppnådd fra menneskeblod og spesielt beregnet på å simulere en serumprøve og anvendes for å kontrollere blodgassmålinger av pH og pCO_2 . Dette er imidlertid et lyofilisert produkt og det krever ikke bare rekonstitusjon av materialet, men er heller ikke i stand til å teste pO_2 -funksjonen av instrumentet.

Stabilitet har også manglet hos tidligere kontrollmaterialer. Eksponering for luft begynner straks å påvirke pO_2 - og pCO_2 -verdiene. Kliniske kontrollmaterialer inneholdende protein undergår bakterieforurensning som straks forårsaker senkning av pO_2 -verdier og økning av pCO_2 -verdier.

151217

Søkeren har utviklet en blodgasskontrollenhet for anvendelse ved styring av laboratoriemåling av pH, pO_2 og pCO_2 med blodgassanalyseinstrumenter. De tre kontrollene, i væskeform og ferdig til bruk er sammensatt slik at de simulerer fysiologiske nivåer over det klinisk signifikante område for syre-base åndedrettsbalanse og -funksjon. Når de brukes sammen utgjør de et enkelt, pålitelig, fullt dekkende kvalitetskontrollutstyr og bekrefter kalibrerings- og arbeidsegenskapene for blodgassinstrumentering.

Formålet med foreliggende oppfinnelse er derfor å tilveiebringe en blodgasskontrollenhet som inneholder en ny, stabil, vandig løsning som har kjemisk signifikante verdier for pH, partialtrykk for oksygen (pO_2), partialtrykk for karbondioksyd (pCO_2) og bikarbonatkonsentrasjon (HCO_3^-) som kan anvendes som kontroll for styring av instrumenter som måler disse parametre.

Uttrykt på enkleste måte er det som beskrives, en tilfredsstillende, farvekodet flytende kontroll av pH, pO_2 og pCO_2 ved de tre nivåer (alkalose, acidose, normal) fri for alle proteiner. Det endelige varmesteriliserte flytende preparat inneholder vann, et passende farvestoff, trietanolamineddisyre, og natriumbikarbonat og en forhåndsbestemt konsentrasjon av oksygen, karbondioksyd og nitrogen.

En nærmere omtale av teknikkens stand av preparatet som inneholdes i blodgasskontrollenheten ifølge oppfinnelsen finnes i stamansøkningen, alm. tilgj. søkn. 76.2578.

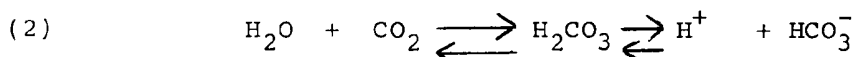
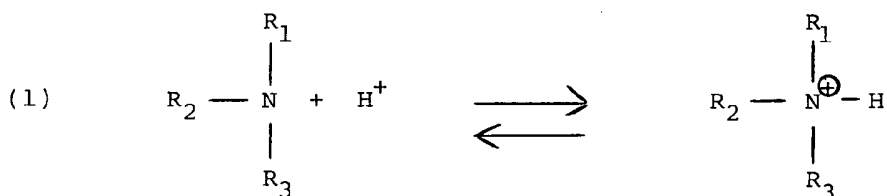
I innledende forsøk ble flytende blodgasskontroller også fremstilt fra blodserum slik som også den lyofiliserte "Versatol Acid-Base" var. Disse kontroller oppviste mange problemer, særlig når det gjaldt holdbarhet over lengre perioder, siden det var vanskelig å oppnå sterilt materiale. Siden mange av de mikroorganismer som forurenset seraene var aerobe, begynte de straks å om-danne gassformig oksygen til karbondioksyd, hvilket gjorde kontrollen ubrukbar, så snart betingelsene i kontrollen ble optimale for bakterievekst. Det ble derfor nødvendig å sterilisere sluttproduktet, og på grunn av nærvær av serumproteiner var anvendelse av varmesterilisering utelukket. Det var derfor nødvendig å anvende kjemiske konserveringsmidler for å holde kontrollen steril. Det flytende preparat i blodgasskontrollenheten ifølge oppfinnelsen inneholder ikke serumproteiner og kan derfor steriliseres i en autoklav uten å innvirke på sammensetningen av materialet. Dette eliminerer derved alle problemer som kan oppstå ved tilsetning av

kjemiske konserveringsmidler til kontrollmaterialet.

pH, $p\text{CO}_2$ og bikarbonatkonsentrasjon i en løsning forholder seg til hverandre ifølge en vel definert kjemisk likevekt som uttrykkes matematisk ved Henderson-Hasselbalch-ligningen. De ønskede kontrollverdier for pH og $p\text{CO}_2$ ble oppnådd derfor, ved med hjelp av Henderson-Hasselbalch-ligningen å beregne det nødvendige start-pH og den start-bikarbonatkonsentrasjonen som ville gi de korrekte sluttverdier etter at fullstendig likevekt er oppnådd med atmosfæren i kontakt med løsningen.

De ønskede $p\text{O}_2$ -verdier ble oppnådd enklere enn $p\text{CO}_2$ -verdiene, siden oksygen til forskjell fra karbondioksyd ikke deltar i en kjemisk reaksjon i den flytende basen. Den eneste faktor som styrer $p\text{O}_2$ i kontrolløsningen er mengden fysikalsk oppløst oksygen i den flytende fasen som primært avhenger av partialtrykket av oksygen i gassfasen. Partialtrykket er i sin tur direkte proporsjonalt med mengden oksygen i gassblandingen. Derfor reguleres $p\text{O}_2$ -verdiene ved å variere prosentdelen oksygen i likevekts-gassblandingen.

pH- og $p\text{CO}_2$ -parametrene oppfører seg hovedsakelig på samme måte i kontrollen som i blodet. De oppviser disse likheter fordi de i både fullblod og i den væskeformige kontrollen reguleres av de samme reaksjoner slik det vises nedenfor:

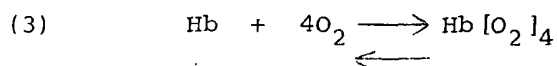


I fullblod er de basiske aminogruppene (ligning 1) sammensatt av ende- og sidekjede-aminogrupper av serumproteiner og hemoglobin, mens de i blodgasskontrollen tilveiebringes av trietanolamin. pH-buffervirkningen er imidlertid i hovedsak den samme i begge tilfeller. I tillegg til pH bufres $p\text{CO}_2$, som er direkte forbundet med CO_2 -konsentrasjonen, både i kontrollen og i helt blod ved hjelp av reaksjonen i ligning 2. Derfor oppfører pH og $p\text{CO}_2$ seg likt i begge på grunn av buffereffekten av disse to reaksjoner.

Trietanolbuffersystemet etterligner faktisk pH-kurven for

fullblod med hensyn til temperaturforandringer. Når temperaturen i fullblod øker over et område på 25-40°C, øker eksempelvis også pH i blodet langs en gitt kurve. Trietanol-buffersystemet ifølge oppfinnelsen får også pH i den flytende kontrollen til å øke langs en lignende kurve. Når således temperaturen varierer, vil pH i fullblod og i den flytende kontrollen variere på samme måte.

På den annen side bibeholdes ikke pO_2 i den vandige kontrollen på akkurat samme måte som det bibeholdes i fullblod. Molekylært oksygen i fullblod foreligger i to former - fritt og bundet. Den frie formen, som er oppløst i den vandige fasen, er i likevekt med det oksygen som er bundet til hemoglobin som vist i ligning 3.



Likevekten for denne reaksjon er slik at forholdet mellom fritt og bundet oksygen er omtrent 1 til 35. Med andre ord er mengden fritt oksygen liten sammenlignet med reservoaret av bundet oksygen. Siden pO_2 styres av konsentrasjonen av fritt oksygen, skaffer reservoaret av bundet oksygen i likevekt med det frie oksygen en høy grad av oksygen-bufferkapasitet i fullblod. Når det gjelder blodgasskontrollen er det bare fritt, oppløst oksygen tilstede. Det er ikke noe bundet oksygen. Siden konsentrasjonen av oppløst oksygen er meget liten, er oksygen-bufferkapasiteten for kontrollen liten sammenlignet med kapasiteten for fullblod. Det er imidlertid et annet slags oksygenreservoar i blodgass-kontrollampullen. Rommet over væsken opptas av en regulert atmosfære av oksygen, karbondioksyd og nitrogen, og totalmengden av oksygen i dette rom er omtrent 40 ganger den mengde som er oppløst i løsningen. Dette reservoar av oksygen-gass tjener to formål. Det etablerer og vedlikeholder det ønskede pO_2 i løsningen så lenge som ampullen er lukket og det skaffer en viss grad av buffervirkning mot atmosfæriske gasser etter at ampullen er åpnet. Det gir imidlertid ikke tilstrekkelig oksygen-bufferkapasitet i løsningen til at kontrollen kan etterligne den nøyaktige pO_2 -opptreden i fullblod, spesielt virkningen av temperaturvariasjoner på pO_2 . Av denne grunn bør kontrollen lagres ved romtemperatur eller bringes til fullstendig likevekt ved romtemperatur før bruk. Det skal imidlertid understrekes at mangel på oksygen-bufferkapasitet ikke minsker anvendbarheten av blodgasskontrollen ved oppdagelse av feilaktig instrumentering eller dårlig laboratorieteknikk. Tvert imot

kan den faktisk øke dens anvendbarhet. Den er mer følsom enn fullblod overfor ytre faktorer som påvirker pO_2 , som f.eks. lekkasjer i kammeret, feilaktig badtemperatur og eksponering av prøven for atmosfæren.

Det flytende preparat i blodgasskontrollenheten ifølge oppfinnelsen er således laget slik at den skal reagere på samme måte som blod. Alle parametre som kan påvirke avlesninger av fullblod i blodgassinstrumentet, vil også bevirke lignende forandringer i kontrollen. Dersom det foreligger en menneskelig eller mekaniske feil som påvirker pH, pO_2 eller pCO_2 i blodet, vil denne feilen også påvirke blodgasskontrollen siden begge systemer er like.

Et annet problem som fremkom ved utviklingen av den flytende blodgasskontrollen ifølge oppfinnelsen var at visse farver var instabile ved eksponering for sollys. Dette var spesielt tilfelle for mange blå og røde farver som ble testet for anvendelse ved alkalose- og acidosekontroller. Farvens instabilitet var også fulgt av en minskning i pO_2 -verdi. Tilsynelatende opptrådte en svakt katalysert oksydasjon som ikke fant sted i merkbar grad i mørket. Dette problem ble løst ved omsorgsfullt valg av egnede farvestoffer for alle tre kontrollnivåer.

En av grunnene til at farvestoffene ble tilsatt til kontrollen var å gi en visuell adskillelse av de forskjellige kontrollampullene. For å passe sammen med konvensjonell syre-base lakmus-standard, ville en foretrukket farve på den normale kontrollen være gul, for acidosen ville farven på kontrollen være rød, og for alkalosen ville farven på kontrollen være blå. Videre ville farven også tillate klinikerer å bestemme visuelt, som ved fullblod, om luftbobler var til stede i elektrokammeret hos blodgassanalysatoren eller ikke. Mange av de testede konvensjonelle farvematerialer ble imidlertid funnet å være enten varme- eller lysustabile og noen syntes å katalysere en oksydasjonsreaksjon slik at pO_2 -verdiene ble ustabile.

De farvestoffer som til slutt ble valgt, idet de viste størst stabilitet innen dette flytende gasskontrollsystem, var F.D. og C. gult, amarant farvestoff og alphazurine FG farvestoff. Det gule farvestoffet ble funnet å være stabilt i alle nivåer av standarden. Amarant-farvestoffet ble anvendt for å gi rød farve til acidosekontrollen.

Alphazurine -farvestoffet ble brukt for å gi blå farve i alkalosekontrollen.

Amarant farvestoff er kjent som F.D. & C. rød nr. 2 og kjemisk som 3-hydroksy-4-[(4-sulfo-1-naftalenyl)azo]-2,7-naftalendisulfonsyre; alphazurine er også kjent som C.I.F. blå nr. 2 eller F. D. & C. blå nr. 1 og er kjemisk N-etyl-N-[4-[[4-[etyl[(3-sulfofenyl)-metyl]amino]fenyl)-(2-sulfofenyl)-metylen]-2,5-cykloheksadien-1-yliden]-3-sulfobenzen-metanammonium-hydroksyd, indre salt, diammoniumsalt; F.D. & C. gult er også kjent som F. D. & C. gult nr. 5 og kjemisk som 4,5-dihydro-5-okso-1-(4-sulfofenyl)-4-[(4-sulfofenyl)azo]-1H-pyrazol-3-karboksytsyre, trinatriumsalt.

Følgende eksempler viser foretrukne utførelsesformer for fremstilling av de tre flytende kontroller ifølge oppfinnelsen:

Eksempel 1

Fremstilling av flytende blodgasskontroll inneholdende normale verdier (pH = 7,40, pO₂ = 100, pCO₂ = 40)

<u>Ingredienser</u>	<u>For hver 30 ml</u>
1. Vann, avionisert	q.s. til 30 ml
2. F. D. & C. gult farvestoff	2 mg
3. Trietanolamin	447,6 mg
4. Iseddik	q.s.
5. Natriumbikarbonat	60,48 mg
6. Gassblanding: 13% O ₂ , 6,4% CO ₂ , resten N ₂	

Fremstilling

- Filtrer 27 ml av 1 ovenfor gjennom en 0,22 µm "Millipore"-membran.
- Oppløs 2 og 3 i filtratet fra trinn A.
- Bring løsning B til 37°C og juster til pH 7,40 med 4. (Se bemerkning 1)
- Avkjøl løsning C til romtemperatur.
- Oppløs 5 i løsning D og fyll opp til 30 ml med 1.
- Fyll ampull med 1,7 ml av løsningen fra trinn E. (Se bemerkning 2)
- Blås en strøm av 6 inn i den fylte ampullen.
- Forsegl ampullen.
- Steriliser ampullen straks i en autoklav.
- La løsningen komme i likevekt med gassen i den forseglede ampullen i minst 72 timer før bruk.

Bemerkninger

1. En alternativ fremgangsmåte for fremstilling i stor skala kan anvendes for å oppnå ønsket pH ved 37°C. I denne fremgangsmåte elimineres trinnene C og D, og 5. tilsettes i trinn B.
Så justeres pH med 4 ved romtemperatur til en verdi som vil gi den ønskede verdi ved 37°C. Den korrekte romtemperatur-pH-verdi må bestemmes empirisk.
2. Fylle-løsningen fremstilt i trinn E må være ved romtemperatur (20-23°C) før den overføres til ampullen. Løsningen må brukes innen 30 minutter etter fremstillingen om den ikke beskyttes mot atmosfæren. Dette er for å hindre tap av karbondioksyd til atmosfæren.

Eksempel 2

Fremstilling av blodgasskontroll inneholdende acidoseverdier (pH = 7,10, pO₂ = 150, pCO₂ = 20)

<u>Ingredienser</u>	<u>For hver 30 ml</u>
1. Vann, avionisert	q.s. til 30 ml
2. Amarant-farvestoff	2 mg
3. Trietanolamin	447,6 mg
4. Iseddik	q.s.
5. Natriumbikarbonat	10,0 mg
6. Gassblanding: 21,9% O ₂ , 6,09% CO ₂ og resten N ₂	

Fremstilling

Fremgangsmåten er beskrevet i eksempel 1. I trinn C skal det justeres til pH 7,10.

Eksempel 3

Fremstilling av en blodgasskontroll inneholdende alkaloseverdier (pH = 7,60, pO₂ = 50, pCO₂ = 60)

<u>Ingredienser</u>	<u>For hver 30 ml</u>
1. Vann, avionisert	q.s. til 30 ml
2. Alphazurine FG farvestoff	2 mg
3. Trietanolamin	447,6 mg
4. Iseddik	q.s.
5. Natriumbikarbonat	163,82 mg
6. Gassblanding: 6,6% O ₂ , 6,75% CO ₂ og resten N ₂	

Fremstilling

Fremgangsmåten er beskrevet i eksempel 1. I trinn C skal pH justeres til 7,60.

Eksempel 1 representerer kjemisk normal pH, pCO_2 og åndedrettsfunksjon. I eksempel 2 er pH- og pCO_2 -verdiene representative for metabolisk acidose og pO_2 er overensstemmende med øket oksygentrykk. Eksempel 3-kontrollen gir pH-verdier som er typiske for hypoventilasjon eller svekket diffusjon.

Kontrollene lages for å anvendes direkte i blodgassinstrumenter ved ganske enkelt å knekke halsen på ampullene og straks aspirere eller pumpe løsningen direkte i elektrokammeret i konvensjonelle blodgassinstrumenter som anvendes rutinemessig i medisinske laboratorier.

P A T E N T K R A V

1. Blodgasskontrollenhet, k a r a k t e r i s e r t
v e d at den omfatter:

en tett glassampulle hvor tetningen er ugjennomtrengelig for luft, og inneholdt deri

et flytende preparat inneholdende vann, et farvestoff, trietanolamin, eddiksyre, natriumbikarbonat og en forhåndsbestemt konsentrasjon av oksygen, karbondioksyd og nitrogen, idet det flytende preparat er sterilt.

2. Fremgangsmåte for fremstilling av blodgasskontrollenhet ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d følgende trinn:

filtrering av en bestemt mengde avionisert vann gjennom en $0,22\mu m$ filter-membran;

opløsning av en bestemt mengde farvestoff og trietanolamin i det filtrerte vannet;

justering av den således oppnådde løsning til et pH-område på 7,1 til 7,6;

opløsning av en mengde av natriumbikarbonat i den pH-justerte løsning;

plassering av den således oppnådde løsning i en glassampulle;

gjennomblåsning av ampullen med en gassblanding omfattende oksygen, karbondioksyd og nitrogen;

forsegling av ampullen slik at det oppnås lufttetthet og sterilisering av ampullen i en autoklav like etter forseglingen.