

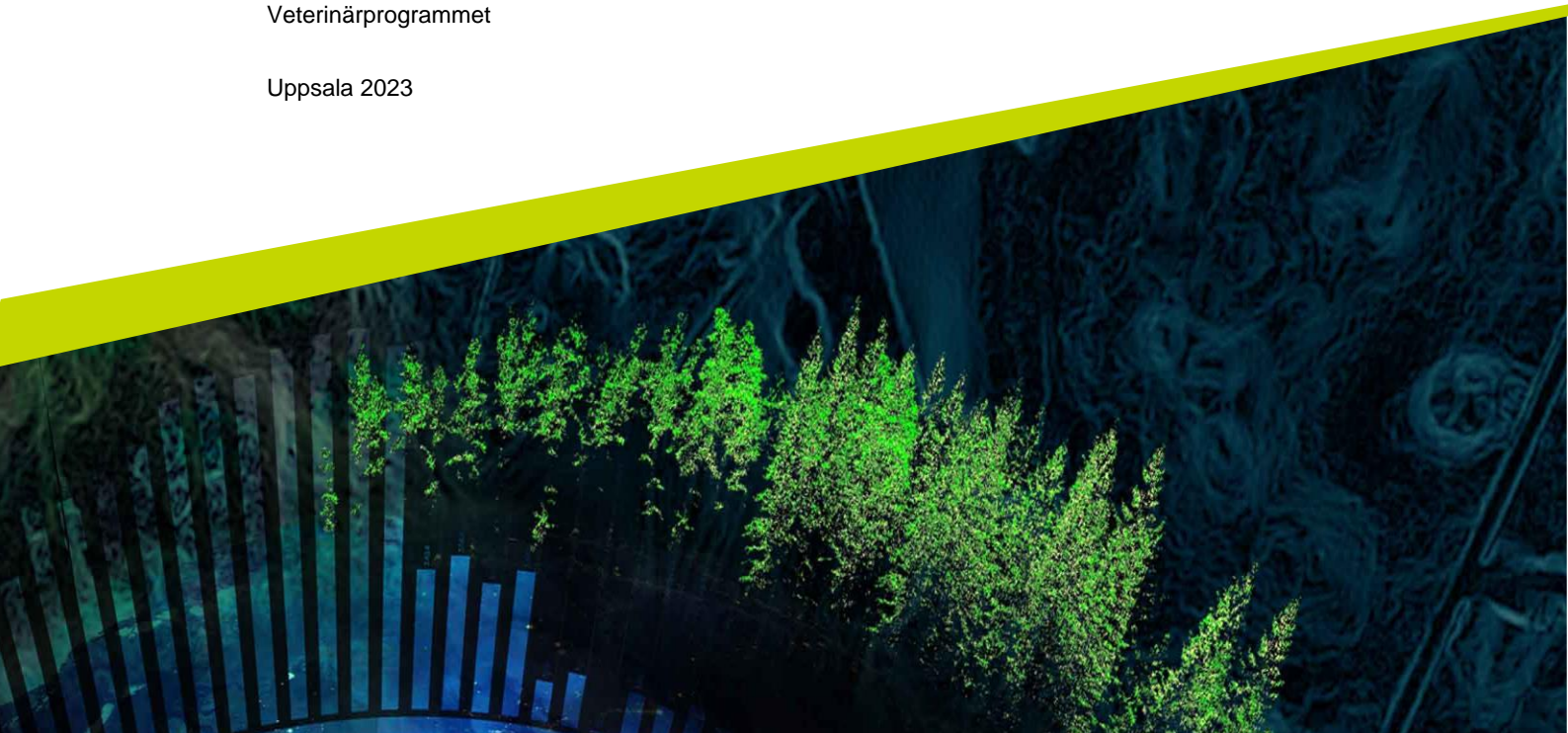


Utvärdering av bikarbonat i serum vid syrabasrubbingar hos hund

Andrea Weisskopf Holmqvist

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Uppsala 2023



Utvärdering av bikarbonat i serum vid syrabasrubbingar hos hund

Evaluation of serum bicarbonate in dogs with acid-base disorders

Andrea Weisskopf Holmqvist

Handledare: Emma Strage, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Examinator: Anna Hillström, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp
Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E
Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin
Kurskod: EX1003
Program/utbildning: Veterinärprogrammet
Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper
Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2023
Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.
Nyckelord: Bikarbonat, blodgaser, syrabasrubbingar, hund, metodvalidering

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Syrabasrubbingar är ett relativt vanligt förekommande problem inom smådjurspraktiken. Anledningen till detta är att rubbningar lätt kan uppstå vid sjukdomar som förekommer förhållandevis ofta hos smådjur. Det finns fyra enkla syrabasrubbingar, där metabolisk acidosis är en av de vanligaste rubbningarna som uppstår. Det är viktigt att identifiera vilken typ av syrabasrubbing en patient lider av eftersom det kan ge en ledtråd till vilken typ av underliggande sjukdom som ger upphov till rubbningen. Utöver det möjliggör det för behandling ifall sådan är aktuell. Blodgaser analyseras idag främst med ett blodgasinstrument som använder helblod för analys. Många mindre kliniker har inte tillgång till sådana instrument och även på kliniker där man har ett blodgasinstrument kan det vara en utmaning att få blodgassprutan analyserad inom rätt tidsram.

Syftet med det här arbetet var att jämföra analys av bikarbonat i serum analyserat med DxC 700 AU (Beckman Coulter) med bikarbonat som genererats av en fullständig blodgasanalys med instrumentet ABL90 flex (Radiometer), hos hund samt att verifiera aktuellt referensintervall på ABL90 flex för pH, pCO₂ och HCO₃⁻. Syftet var även att ta fram ett referensintervall för bikarbonat i serum mätt med DxC 700 AU. Frågeställning var ifall analys av bikarbonat i serum skulle kunna användas som en screening för att upptäcka syrabasrubbingar hos hund.

Studiepopulationen bestod av 65 hundar, varav 44 ingick i den sjuka populationen och 21 ingick i den friska populationen. Blod till en blodgasspruta och ett serumrör togs ur *vena cephalica*. En metodvalidering utfördes genom att undersöka precision, följdriktighet vid spädning och hållbarhet. I andra delen av arbetet gjordes en metodjämförelse genom att jämföra bikarbonat från ABL90 flex med bikarbonat mätt med DxC 700 AU, genom användningen av en Bland-Altman plot och totalt tillåtet fel.

Av de 44 sjuka djuren exkluderades sju stycken på grund av preanalytiska fel och en hund exkluderades då den var en outlier enligt Grubb's test. Av de 21 friska djuren exkluderades två på grund av ett kraftigt hemolyserat prov och att en blodgasspruta analyserades på annat instrument än övriga prover. Generellt underskattade DxC 700 AU bikarbonatkoncentrationen jämfört med bikarbonat från ABL90 flex. Anledningar till detta beror troligtvis på kalibrering och provhantering. Baserat på rekommenderade gränser för totalt tillåtet fel (20 %) var samtliga prover inom gränsen. Resultaten från de friska djuren indikerade att referensintervallet för ABL90 flex behövde uppdateras. Ett nytt referensintervall för ABL90 flex togs fram eftersom referensintervallen som används på UDS även är baserade på ett relativt litet antal djur. Parametrarna som uppdaterades var: pH, HCO₃⁻ och pCO₂. Ett preliminärt referensintervall för bikarbonat i serum togs fram med hjälp av en regressionsanalys.

Resultatet från den här studien visar på att bikarbonat mätt med DxC 700 AU skulle kunna användas som screening vid syrabasrubbingar hos hundar. För att dra mer tillförlitliga slutsatser behövs det fler studier som dels tittar på en större population, men som även undersöker en population med högre andel syrabasrubbingar. Utöver det behöver ett mer tillförlitligt referensintervall för bikarbonat i serum utarbetas.

Nyckelord: bikarbonat, blodgaser, syrabasrubbingar, hund, metodvalidering

Abstract

Acid-base disorders are a relatively common problem in small animal practice. There are four simple acid-base disorders, of which metabolic acidosis is the most common. It is important to identify the type of acid-base disorder a patient suffers from, as this may give a clue to the type of underlying disease causing the disorder. In addition, it allows for treatment if needed. Blood gases are currently analyzed mainly with a blood gas instrument using whole blood. Many smaller clinics do not have access to such instruments and even in clinics where such an instrument is available, it can be challenging to get the blood gas sample analyzed in the right time frame.

This study aimed to compare bicarbonate in canine serum analyzed by the DxC 700 AU (Beckman Coulter) with bicarbonate generated by ABL90 flex (Radiometer) and to evaluate whether serum bicarbonate could be used as a screening agent to detect acid-base disorders in dogs. Another aim of the study was to verify the current reference interval for the ABL90 flex regarding pH, pCO₂ and HCO₃⁻ and to create a reference interval for bicarbonate in serum measured with DxC 700 AU.

The study population consisted of 65 dogs, of which 44 were included in the diseased population and 21 were included in the healthy population. Blood from the cephalic vein was withdrawn for a blood gas syringe and a serum tube. A method evaluation was performed by examining precision, linearity upon dilution and stability. In the second part of the study, a method comparison was performed by comparing bicarbonate from ABL90 flex with bicarbonate measured with DxC 700 AU by using a Bland-Altman plot and allowable total error.

Out of the 44 diseased animals, seven were excluded due to preanalytical error and one dog was excluded because it was an outlier according to Grubb's test. Of the 21 healthy animals, two were excluded due to one heavily hemolyzed sample and one blood gas syringe analyzed on a different instrument than the rest. In general, the DxC 700 AU underestimated the bicarbonate concentration compared to the bicarbonate from the ABL90 flex. The reasons for this are most likely due to calibration and sample handling. Based on recommended limits for allowable total error (20 %), all samples were within the limit. The results from the healthy animals indicated that the reference range for ABL90 flex needed to be updated. A new reference range for ABL90 flex was developed as the reference range used at UDS also are based on a relatively small number of animals. The following parameters were updated: pH, HCO₃⁻ and pCO₂. A preliminary reference range for bicarbonate in serum was created using linear regression.

The results from this study indicate that bicarbonate measured with DxC 700 AU could be used as a screening tool for acid-base disorders in dogs. To draw further conclusions, more studies are needed that look at a bigger population and a population with more acid-base disorders. In addition, a more reliable reference range for serum bicarbonate needs to be developed.

Keywords: bicarbonate, blood gases, acid-base disorders, canine, method validation

Innehållsförteckning

Förkortningar	9
1. Inledning	11
2. Litteraturoversikt	12
2.1 Introduktion till blodgaser	12
2.2 Syrabasrubbningsar.....	13
2.2.1 Metabolisk acidosis	13
2.2.2 Metabolisk alkalos	16
2.2.3 Respiratorisk acidosis	17
2.2.4 Respiratorisk alkalos.....	18
2.2.5 Blandade syrabasrubbningsar.....	18
2.3 Diagnostik av syrabasrubbningsar.....	19
2.3.1 Blodgasinstrument	20
2.3.2 Bikarbonat eller T _{CO2} som screening	21
2.4 Metodvalidering av laboratoriska tester	22
3. Material och metoder	24
3.1 Djur i studien	24
3.2 Metodvalidering.....	24
3.2.1 ABL90 flex och DxC 700 AU	24
3.2.2 Precision och följdriktighet vid spädning.....	25
3.2.3 Hållbarhet	25
3.3 Metodjämförelse	26
3.4 Referensintervall	26
4. Resultat	27
4.1 Djur i studien	27
4.2 Metodvalidering.....	29
4.2.1 Precision och följdriktighet vid spädning.....	29
4.2.2 Hållbarhet	30
4.3 Metodjämförelse	33
4.4 Referensintervall	34
5. Diskussion	37
Referenser	40

Populärvetenskaplig sammanfattning	44
Tack	46

Förkortningar

ACVCP	American College of Veterinary Clinical Pathology
AG	Anion gap
Cl ⁻	Kloridjon
CO ₂	Koldioxid
CV	Coefficient of variation, Variationskoefficient
ECF	Extracellular fluid, Extracellulärvätska
H ⁺	Vätejon
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat
H ₂ CO ₃	Kolsyra
H ₃ PO ₄	Fosforsyra
K ⁺	Kaliumjon
LoA	Limits of Agreement, gränser för graden av överensstämmelse
Na ⁺	Natriumjon
NAD/NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide, Nikotinamid adenin dinukleotid
pO ₂	Partialtryck av syre
pCO ₂	Partialtryck av koldioxid
PEP	Phosphoenolpyruvate, Fosfoenolpyruvat
PEPC	Phosphoenolpyruvate carboxylas, Fosfoenolpyruvat karboxylas
SD	Standard deviation, Standardavvikelse
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet
T _{CO2}	Total koldioxid
TE _a	Allowable total error, Totalt tillåtet fel
UA	Unmeasured anions, ej uppmätta anjoner
UC	Unmeasured cations, ej uppmätta katjoner
UDS	Universitetsdjursjukhuset

1. Inledning

Syrabasrubbningsar är ett utbrett problem inom veterinärmedicinen eftersom de frekvent ses vid vanligt förekommande sjukdomar såsom diarré, kräkningar, njursvikt, lungsjukdomar med mera. Rubbningar i syrabashomeostasen kan orsaka flera oönskade effekter i kroppen, vilket gör det viktigt att korrekt identifiera vilken syrabasrubbnings en patient lider av. Detta är viktigt dels för att kunna sätta in korrekt behandling, men även då det kan ge en ledtråd till vilken underliggande sjukdom som ger upphov till syrabasrubbningsen.

Syrabasrubbningsar diagnostiseras idag främst genom att analysera blodgaser på helblod. Denna analysmetod kräver ett speciellt blodgasinstrument, som många mindre kliniker inte har tillgång till eftersom sådana instrument är förhållandevis dyra. Blodgaser som ska analyseras på helblod bör även analyseras inom en viss tidsram för att blodgaserna korrekt ska representera individens syrabashomeostas, vilket gör det till en utmaning för mindre kliniker att skicka prover för analys. Även på en klinik där man har blodgasinstrument kan det vara en utmaning att få blodgassprutan analyserad inom rätt tidsram. Utöver det är blodgasanalyser relativt dyra i jämförelse med andra analyser.

Bikarbonat i serum kan användas som en screening för att se om det föreligger en syrabasrubbnings. Diagnostisering av vilken typ av syrabasrubbnings som föreligger med enbart bikarbonat är inte möjligt, men är värdet avvikande tyder det på att patienten har en syrabasrubbnings och att man bör gå vidare med en fullständig blodgasanalys.

Syftet med det här arbetet var att jämföra analys av bikarbonat i serum analyserat med DxC 700 AU (Beckman Coulter) med bikarbonat som genererats av en fullständig blodgasanalys med instrumentet ABL90 flex (Radiometer), hos hund. Studien utvärderade analysmetoden av bikarbonat i serum genom att utvärdera precision, följdriktighet vid spädning och hållbarhet. Frågeställning var ifall bikarbonat i serum skulle kunna användas som en screening för att upptäcka syrabasrubbningsar hos hund. Ytterligare ett syfte med studien var att verifiera aktuellt referensintervall för pH, pCO₂ och HCO₃⁻ på ABL90 flex instrumentet och att ta fram ett referensintervall för bikarbonat i serum.

2. Litteraturöversikt

2.1 Introduktion till blodgaser

Syrabashomeostas och reglering av pH är kritiska för normal fysiologi, cell-metabolism och funktion. Många cellulära processer, metaboliska enzymer och transportprocesser över cellulära membran är mycket pH känsliga (Hamm *et al.* 2015). Vätejoner (H^+) påverkar den tredimensionella strukturen av proteiner, vilket gör att onormala H^+ koncentrationer har en negativ effekt på funktionen av alla organsystem, där nervsystemet och det cirkulatoriska systemet är känsligast (Sjaastad *et al.* 2016).

En syra är ett ämne som kan avge H^+ , medan en bas kan ta upp H^+ . Det är H^+ koncentrationen som styr pH-värdet i kroppen (Romero & Rossano 2019). Vätejoner i kroppen bildas framför allt från kolsyra (H_2CO_3) och från oorganiska syror som produceras genom metabolismen av särskilda näringsämnen (Sjaastad *et al.* 2016).

Stora mängder koldioxid (CO_2) bildas som en biprodukt av citronsyracykeln. Koldioxid diffunderar in till kapillärerna och sedan vidare till erytrocyterna, där det reagerar med vatten (H_2O) och bildar H_2CO_3 . Anledningen till att detta sker i erythrocyter är på grund av att det i de röda blodkropparna finns en hög koncentration av enzymet karbanhydras, som katalyserar reaktionen mellan CO_2 och H_2O enligt nedanstående ekvation. (Sjaastad *et al.* 2016)



Reaktionerna i ekvationen ovan är reversibla, vilket innebär att reaktionen kan ske åt båda håll. En ökad mängd CO_2 kommer göra att reaktionen går åt höger, vilket händer när stora mängder CO_2 produceras av citronsyracykeln. Detta innebär att koncentrationen H^+ ökar. I lungorna går reaktionen däremot åt vänster. Partialtrycket av koldioxid (pCO_2) i alveolerna är alltid lägre än i venöst blod och CO_2 kommer därför diffundera från erythrocyterna genom alveolarväggen till alveolarluften. Detta resulterar i avlägsnande av H^+ från blodet genom reaktionen mellan

H⁺ och bikarbonat (HCO₃⁻). Det innebär att arteriellt blod innehåller mindre CO₂ och har en lägre koncentration H⁺ än venöst blod som transporteras till lungorna från perifer vävnad (pH 7,4 respektive 7,35). (Sjaastad *et al.* 2016)

Koldioxid innehåller inga väteatomer och är därmed i sig själv inte en syra. Men eftersom CO₂ reagerar med H₂O och bildar H₂CO₃ som kan avge H⁺, anses CO₂ vara en indirekt syra. Eftersom CO₂ också är en gas som enkelt kan elimineras från kroppen genom ventilation, benämns den som en flyktig syra. Utöver den stora mängden CO₂ som produceras i kroppen finns det även andra syror som produceras som inte kan elimineras genom ventilation, så kallade icke flyktiga syror. Viktiga icke flyktiga syror inkluderar fosforsyra (H₃PO₄) som är en slutprodukt av protein-metabolism och laktat som produceras av muskelceller vid anaerob metabolism. (Sjaastad *et al.* 2016)

De huvudsakliga processerna involverade i reglering av syrabashomeostasen är buffertreaktioner, respiratorisk reglering av koldioxid och njurens reglering av bikarbonat. Buffertreaktioner är omedelbara kemiska reaktioner som sker som svar på förändringar i kroppsvätskans sammansättning. Buffertar absorberar syror eller baser vid överskott eller avger syror eller baser vid brist. Buffertsystem i kroppen inkluderar plasmaproteiner, hemoglobin, fosfat och kolsyra-buffert-systemet. Till skillnad från buffertar är respiratorisk reglering av koldioxid och njurens reglering av bikarbonat riktade svar på syrabasrubbingar och benämns därför som kompensatoriska mekanismer. (Hopper 2023)

2.2 Syrabasrubbingar

Syrabasrubbingar är ett vanligt tillstånd hos kritiskt sjuka djur. Rubbingar i syrabashomeostasen kan förväntas hos djur med t.ex. allvarliga gastrointestinala, renala, respiratoriska och neurologiska sjukdomar, såväl som vid chock (Monnig 2013). Även leversjukdomar kan ge upphov till syrabasrubbingar, då man har sett att levern har en viktig roll i regleringen av syrabashomeostasen (Scheiner *et al.* 2017). Syrabasrubbingar kan även vara kroniska, t.ex. kan en kronisk metabolisk acidosis uppstå vid kronisk njursvikt (Patschan *et al.* 2020).

2.2.1 Metabolisk acidosis

Metabolisk acidosis är en av de vanligaste syrabasrubbingar som ses inom smådjursjukvården (Monnig 2013). I en retrospektiv journalstudie av Hopper och Epstein (2012) undersöktes incidensen av metabolisk acidosis hos totalt 1850 hundar och katter som vårdats på University of California David, William R. Pritchard, Veterinary Medical Teaching Hospital under en period av 13 månader. Studien

visade att 887 (49 %) av patienterna (753 hundar och 134 katter) klassificerades att lida av primär metabolisk acidosis, vilket gjorde det till den vanligaste syrabasrubbnings hos hundarna.

Metabolisk acidosis innebär en sänkning av pH, antingen genom ackumulering av icke flyktiga syror eller förlust av HCO_3^- som överstiger buffersystemet i kroppen (Monnig 2013). Vid en metabolisk acidosis ökar H^+ koncentrationen, vilket stimulerar respiratoriska centrat genom perifera kemoreceptorer (Sjaastad *et al.* 2016). Andningen kommer då både bli djupare och snabbare, vilket leder till att koncentrationen CO_2 och H_2CO_3 sjunker till under normalvärden. Den minskade koncentrationen CO_2 i plasman driver reaktionen i ekvationen åt vänster, vilket leder till att koncentrationen H^+ minskar. Den metaboliska acidosen är nu delvis kompenserad genom en minskning av CO_2 koncentrationen. Vid metabolisk alkalos sker det motsatta. Tidalvolymen och andningsfrekvensen minskar vilket gör att CO_2 ackumuleras och pH går tillbaka till normalt.

Anion gap (AG)

Anion gap används som ett hjälpmedel att skilja på olika orsaker till metabolisk acidosis (DiBartola 2012b). Metabolisk acidosis karaktäriseras som ökat anion gap (normokloremisk) metabolisk acidosis eller normalt anion gap (hyperkloremisk) metabolisk acidosis (Monnig 2013).

I kroppsvätskan måste summan av alla positivt laddade joner vara lika med summan av alla negativt laddade joner för att lagen om elektroneutralitet ska vara uppfylld (Kraut & Madias 2007). De positivt laddade jonerna kallas för katjoner, medan de negativt laddade jonerna kallas för anjoner (Funes & de Moraes 2017). I den kliniska verksamheten mäts inte alla anjoner och katjoner i kroppen, utan de katjoner som vanligen mäts är natriumjoner (Na^+) och kaliumjoner (K^+) och de anjoner som vanligen mäts är kloridjoner (Cl^-) och HCO_3^- . Summan av koncentrationen av alla katjoner är större än summan av koncentrationen av alla anjoner och differensen mellan dem ligger vanligtvis på 12-24 mmol/L hos hund.

Serumkoncentrationen av kalium varierar mycket lite och laddningen i katjonen är liten i jämförelse med natrium (DiBartola 2012b). Därför brukar anion gap definieras enligt ekvationen:

$$\text{AG} = \text{Na}^+ - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$$

Eftersom katjonerna finns i samma koncentration som anjonerna så visar anion gap indirekt differensen mellan ej uppmätta anjoner (UA=unmeasured anions) och ej uppmätta katjoner (UC=unmeasured cations) och en förändring kan tyda på skillnad i koncentrationen av båda delarna. Men för att anion gap ska förändras på grund av

en förändring i koncentrationen i de ej uppmätta katjonerna såsom kalcium och magnesium, skulle förändringen i katjonerna behöva vara så pass stor att det inte skulle vara förenligt med liv. Som ett resultat av detta fokuserar man på de ej uppmätta anjonerna, vilka i majoritet består av plasmaproteiner, laktat, sulfater, fosfater. Ökningar i anion gap är mycket vanligare än minskningar.

Vid flera olika sjukdomstillstånd, ackumuleras laktat, organiska syror associerade med uremi (fosfater och sulfater) och ketonkroppar som bidrar till ett ökat anion gap. Även toxiska ämnen, som t.ex. etylenglykol och metanol kan bidra till ett ökat anion gap. Normalt anion gap (hyperkloremisk) metabolisk acidosis beror på en förlust av HCO_3^- genom gastrointestinala kanalen eller njurarna, ineffektiv H^+ utsöndring i njurarna och/eller en ökad koncentration av Cl^- i relation till Na^+ . Sjukdomar associerade med normalt anion gap vid metabolisk acidosis är t.ex. diarré, renal tubulär acidosis och hypoadrenokorticism. (Monnig 2013)

Vid samtliga typer av metabolisk acidosis minskar koncentrationen HCO_3^- i plasma eftersom HCO_3^- används för att buffra H^+ (DiBartola 2012b). Vid ökat anion gap (normokloremisk) metabolisk acidosis beror ökningen på en ökning av syror såsom t.ex. laktat, fosfater och sulfater. Normalt anion gap (hyperkloremisk) metabolisk acidosis resulterar från en förlust av HCO_3^- snarare än en produktion av syror (Sharma *et al.* 2022).

I en retrospektiv studie där man tittade på metabolisk acidosis hos hundar och katter visade det sig att 25 % av hundarna och 34 % av katterna varken hade ökat anion gap eller hyperkloremi, vilket kan tyda på att det finns vissa begränsningar i den här kategoriseringen av metabolisk acidosis. (Hopper & Epstein 2012)

Patofysiologi

Metabolisk acidosis kan leda till många negativa effekter i kroppen, där det kardiovaskulära systemet blir mest påverkat (Kraut & Madias 2010). Kraftig acidosis har flertalet allvarliga effekter på kardiovaskulära systemet, som t.ex. minskad hjärtminutvolym, minskat arteriellt blodtryck samt minskad hepatis och renal genomblödning (DiBartola 2012b). Myokardiell kontraktilitet minskar när pH i blodet sjunker under 7,2, vilket innebär att acidosis därmed kan predisponera för ventrikulära arytmier eller ventrikelflimmer (Krapf *et al.* 2013). Acidosis har en direkt arteriell vasodilaterande effekt som kompenseras med en ökad utsöndring av endogena katekolaminer. Vid kraftig acidosis minskar dock svaret på katekolaminer vilket kan leda till hjärtsvikt. Acidosis har även en direkt vasokonstraherande effekt på den venösa sidan av cirkulationen, vilket kan predisponera för lungödem. Kraftig acidosis leder även bland annat till att hjärnan tappar sin förmåga att reglera sin volym, vilket kan leda till koma (DiBartola 2012b).

Utöver de ovan nämnda effekterna som uppstår på grund av en akut metabolisk acidosis, uppstår det andra effekter vid en kronisk acidosis. En kronisk acidosis leder till utsöndringen av buffrande ämnen (främst kalciumkarbonat) från benvävnad, vilket kan leda till osteodystrofi och hyperkalciuri. (DiBartola 2012b)

Kompensatoriska mekanismer

Den initiala mekanismen för att återställa pH är användningen av kemiska buffrar som HCO_3^- , fosfat och proteiner för att minska förändringen i H^+ koncentrationen (Robertson 1989). De kemiska buffrarna som både finns extracellulärt och intracellulär kan dock inte återställa rubbningen fullt ut, vilket gör att en respiratorisk kompensation kommer att spela en större roll. Som tidigare beskrivet så leder en metabolisk acidosis till hyperventilation (Sjaastad *et al.* 2016). Respiratorisk kompensation är dock aldrig fullständig, eftersom förändringar i H^+ koncentrationen måste vara av en viss magnitud för att påverka de perifera kemiosensorerna. Förändringen i ventilationen är avsevärt kraftigare när pH sjunker jämfört med när pH ökar. Den mest effektiva kompensatoriska mekanismen för att korrigera acidosis involverar njurarna (Robertson 1989). Denna mekanism kräver minst en dag innan den aktiveras och det tar flera dagar innan mekanismen når sin fulla effekt. Njuren svarar på ett sänkt pH med att utsöndra H^+ och genom att producera och reabsorbära HCO_3^- .

2.2.2 Metabolisk alkalos

Metabolisk alkalos karaktäriseras av en primär ökning av HCO_3^- koncentration i plasma, minskad H^+ koncentration, ökat pH samt en kompensatorisk ökning i pCO_2 (Do *et al.* 2022). Patienter med metabolisk alkalos kan delas in i två grupper: kloridresponsiv och icke-kloridresponsiv metabolisk alkalos (Brinkman & Sharma 2022). Etiologier till kloridresponsiv metabolisk alkalos är t.ex. förlust av H^+ från gastrointestinalkanalen, behandling med diuretika och administration av alkaliska ämnen. Etiologier till icke-kloridresponsiv metabolisk alkalos är t.ex. transport av H^+ till intracellulära rummet och hyperaldosteronism. Kloridresponsiv metabolisk alkalos är mycket vanligare hos smådjur än icke-kloridresponsiv metabolisk alkalos (DiBartola 2012b). De flesta fallen av metabolisk alkalos i smådjurspraktiken orsakas av antingen kräkningar eller via administration av diuretika.

För att försöka korrigera en alkalos kommer H^+ från intracellulära rummet att transporteras till extracellulära rummet. När H^+ transporteras ut från cellen kommer K^+ att ersätta H^+ och därmed transporteras intracellulärt, vilket leder till en hypokalemi. Vätejontransport varar inte länge och kan inte fullt korrigera för alkalosen. Därför kommer respiratorisk kompensation även här spela en roll genom att minska alveolär ventilation. Den respiratoriska kompensationen är dock vanligtvis liten

eftersom för kraftig minskning av alveolär ventilation kommer leda till hypoxemi. En annan kompensatorisk mekanism är återigen njurens reglering av HCO_3^- . Generellt när det finns en ökad mängd HCO_3^- i kroppen, kommer det att utsöndras via njurarna till urinen, men det finns andra viktiga faktorer som påverkar njurens mekanism t.ex. kalium- och kloridnivåerna samt extracellulärvätskan (ECF). (Robertson 1989)

I många fall av metabolisk alkalos (vid t.ex. kräkning) så minskar volymen i ECF och det finns även en koexisterande hypokloremi och hypokalemi. Dessa förändringar hindrar njuren från att utsöndra överskottet av HCO_3^- . Mekanismen är paradoxal men sker eftersom en minskning av volym i ECF stimulerar reabsorptionen av HCO_3^- och Na^+ i njurens tubuli. Natrium reabsorberas som en respons för att återställa volymen i ECF. Natriumjoner tas vanligen upp med hjälp av Cl^- , men eftersom det vid kräkningar försvinner Cl^- kommer de istället ersättas av HCO_3^- , vilket leder till en ännu högre HCO_3^- koncentration i plasma. Kalium och H^+ utsöndras i utbyte mot Na^+ . Hypokalemi orsakar en minskad glomerulär filtration och orsakar även intracellulär acidosis, vilket stimulerar till HCO_3^- absorption. Hypokalemi tenderar därför att upprätthålla en metabolisk alkalos. Kalium har en mycket komplex roll i metabolisk alkalos, men hypokalemin är snarare ett resultat av alkalosen än en orsak. (Robertson 1989)

De kliniska symtomen hos hundar och katter med metabolisk alkalos är vanligtvis sådana som beror på den underliggande sjukdomen. Symtomen kan även bero på hypokalemin och kan innefatta muskelsvaghet, hjärtarytmier och motilitetsstörningar i gastrointestinalkanalen, t.ex. ileus. (DiBartola 2012b)

Metabolisk alkalos förblir okompenserad tills Cl^- är ersatt ifall kräkning av magsäcksvätska eller administration av loopdiuretika är orsaken till metaboliska alkalosen. Målet med behandlingen vid klorid-responsiv metabolisk alkalos är att ersätta kloridförlusten och samtidigt ersätta förlusten av K^+ och Na^+ . (DiBartola 2012b)

2.2.3 Respiratorisk acidosis

Respiratorisk acidosis uppstår när den pulmonära ventilationen inte klarar av att eliminera CO_2 i samma takt som det produceras i kroppen (Johnson 2017a). Detta leder till att pCO_2 ökar, vilket gör att pH sjunker och en acidosis uppstår. Respiratorisk acidosis kan orsakas av lungsjukdom (t.ex. lungödem eller pneumoni) eller minskad aktivitet i respiratoriska centrat (t.ex. skada på hjärnstammen, användningen av vissa läkemedel vid anestesi). Andra orsaker kan vara hjärtstopp, obstruktion av luftvägarna eller abnormaliteter i respirationsmusklerna (Sjaastad *et*

al. 2016). Eftersom produktionen av CO₂ i kroppen är omfattande så kan en livshotande acidosis utvecklas inom minuter om respirationen är kraftigt nedsatt.

Vid akut respiratorisk acidosis har hemoglobin i erytrocyterna en mycket viktig buffrande funktion, då de tar hand om 97 % av vätejonbelastningen (DiBartola 2012b). Vid en kronisk respiratorisk acidosis kommer njuren börja kompensera för den ökade koncentrationen av H⁺. Njurarna svarar med att öka utsöndringen av H⁺ och även med att producera och reabsorbera HCO₃⁻ (Robertson 1989).

2.2.4 Respiratorisk alkalos

Respiratorisk alkalos karaktäriseras av minskat pCO₂, ökat pH och en kompensatorisk minskning av HCO₃⁻ (Johnson 2017b). Respiratorisk alkalos och hypokapni uppstår på grund av alveolär hyperventilation och kan ha flera orsaker. Orsaker till respiratorisk alkalos inkluderar bland annat hypoxemi, primär lungsjukdom, direkt aktivering av hjärnstammens respirationscentra, överdriven mekanisk ventilation, och situationer som orsakar smärta eller rädsla. Utöver detta kan respiratorisk alkalos uppstå under kompensation av metabolisk acidosis eftersom hyperventilation pågår 24 till 48 timmar efter det att den metaboliska acidosen har korrigerats. Om pH överstiger 7,6 vid en respiratorisk alkalos kan neurologiska, kardiopulmonära och metaboliska konsekvenser uppstå (DiBartola 2012b). Ett sådant pH-värde kan endast uppnås vid akut respiratorisk alkalos innan njuren har börjat kompensera. Alkalos orsakar arteriell vasokonstriktion som kan minska cerebral och myokardiell perfusion, vilket kan leda till förvirring, kramper och hjärtarytmier (Johnson 2017b). Kontinuerlig hyperventilation kan temporärt öka pH till värden så höga som 7,8–8,0. Respiratorisk alkalos har dock en tendens att självkorrigera, eftersom minskningen i pCO₂ blockerar stimulus till ökad ventilation (Sjaastad *et al.* 2016). Därför fortsätter hyperventilationen sällan till den grad att det blir kritiskt.

2.2.5 Blandade syrabasrubbingar

Blandade syrabasrubbingar uppstår när två eller fler syrabasrubbingar sker simultant (Monnig 2013). En blandad syrabasrubbing kan t.ex. misstänkas ifall några av följande kriterier är närvarande:

- pCO₂ och HCO₃⁻ går i olika riktningar
- pH är normalt trots onormalt pCO₂ och/eller HCO₃⁻
- pH förändringen är mer uttalad än vad som förväntas vid en primär rubbing.

Innan man börjar misstänka att en patient lider av blandade syrabasrubbingar måste provtagningsmetoden undersökas. Anledningar till att felaktig diagnostisering av blandade syrabasrubbingar sker kan vara användningen av venöst blod

som har påverkats av lokal metabolism vilken i sin tur kan påverka pCO₂, att för mycket heparin finns i blodprovet vilket minskar koncentrationen bikarbonat och minskar pCO₂, att blodprovet har stått i mer än 20 minuter innan det analyserats vilket ökar pCO₂ och minskar pH eller att maskinen har gjort felaktiga beräkningar av bikarbonatkoncentrationen. (DiBartola 2012b)

2.3 Diagnostik av syrabasrubbing

Arteriell blodgasanalys är gold standard för att utvärdera syresättning och syrabasstatus (Awasthi *et al.* 2013). Arteriella blodprov är ofta att föredra eftersom syresättning kan utvärderas och de inte blir påverkade av stas av blodflödet eller lokal vävnadsmetabolism (DiBartola 2012b). Även om arteriella blodprov är att föredra framför venösa blodprov finns det dock vissa praktiska begränsningar som gör att de inte används i lika stor utsträckning som venösa blodprov (Kelly *et al.* 2001). Blod som tas från en artär orsakar ofta mer smärta och kan medföra risker såsom lokala hematom, infektion och tromber, vilket kan leda till ischemiska skador. Femoralartären och metatarsalartären är de vanligaste kärlen som används för blodtagning för analys av blodgaser hos smådjur (Rieser 2013). Den anatomiska lokalisationen av kärlen kan även försvåra provtagning då djuren rekommenderas ligga på sidan för att underlätta proceduren, vilket inte alla djur accepterar.

En studie från Ilkiw *et al.* (1991) undersökte hur blodgaser och syrabasstatus skiljer sig mellan blodprov tagna arteriellt ur *arteria carotis*, blandad venöst ur *arteria pulmonalis*, jugulärt venöst ur *vena jugularis* och perifert venöst ur *vena cephalica* hos friska hundar och hos hundar med inducerad metabolisk acidosis och metabolisk alkalos. Studien visade att venöst blod oavsett provtagningsställe hade goda korrelationskoefficienter (>0,92) med arteriellt blod gällande pH, pCO₂, HCO₃⁻, TCO₂, base excess och sHCO₃⁻, men inte när det gällde partialtryck av syre (pO₂) som visade på sämre korrelation (0,29-0,44). Vid jämförelse av venösa blodprov med arteriella blodprov sågs statistiskt signifikanta skillnader för pCO₂ som var signifikant högre och för pH som var signifikant lägre vid båda syrabasrubbingar och hos de friska djuren. Författarnas slutsats var att hos hundar med normal cirkulatorisk status reflekterade venösa blodprov oavsett blodprovtagningsställe, hundarnas syrabasstatus korrekt eftersom goda korrelationskoefficienter kunde beräknas för majoriteten av värdena. En annan studie undersökte användbarheten av venöst blod för att bedöma syrabasstatus hos sjuka hundar (Wingfield *et al.* 1994). Resultat från den studien indikerade att venöst blodprov kan användas för att bedöma syrabasstatus trots statistisk signifikant skillnad mellan arteriellt och venöst pH, pCO₂ och bikarbonat. Linjära regressionskvationer visade på god korrelation för alla parametrar, och därmed kan ekvationerna användas för att uppskatta arteriella värden från venösa blodprov. Författarna ansåg att det inte finns

någon ersättningsmetod för arteriella blodprov när det gäller att bedöma graden av hypoxemi.

Vid utvärdering av syrabasrubbningsar följs olika steg för att diagnosticera rätt syrabasrubbningsar.

Det första steget i diagnostiken av syrabasrubbningsar är att utvärdera pH för att se om det är normalt, minskat eller ökat. En acidemi kan antingen bero på låg koncentration HCO_3^- (metabolisk acidosis) eller högt pCO_2 (respiratorisk acidosis). En alkalemi kan antingen bero på lågt pCO_2 (respiratorisk alkalos) eller hög koncentration HCO_3^- (metabolisk alkalos). När den primära syrabasrubbningsar har fastställts, undersöks om det finns en kompensatorisk mekanism. Vid primära enkla syrabasrubbningsar finns det en abnormalitet i ett system (respiratoriska eller metaboliska) och förändringar i det motsatta systemet tyder på kompensation, vilka kan ses i tabell 1. (Hopper 2023)

Tabell 1. Förväntade förändringar vid primära syrabasrubbningsar

Diagnos	Primär rubbningsar	Kompensatorisk mekanism
Metabolisk acidosis	$\downarrow \text{HCO}_3^-$	$\downarrow \text{pCO}_2$
Metabolisk alkalos	$\uparrow \text{HCO}_3^-$	$\uparrow \text{pCO}_2$
Respiratorisk acidosis	$\uparrow \text{pCO}_2$	$\uparrow \text{HCO}_3^-$
Respiratorisk alkalos	$\downarrow \text{pCO}_2$	$\downarrow \text{HCO}_3^-$

2.3.1 Blodgasinstrument

För att diagnosticera syrabasrubbningsar används idag främst blodgasinstrument som direkt mäter pH, pO_2 och pCO_2 samt en mängd olika elektrolyter och metaboliter såsom glukos och laktat. Bikarbonat mäts inte direkt utan kan beräknas på två olika sätt från ett blodgasinstrument. Antingen kan blodgasinstrumentet räkna ut aktuellt bikarbonat eller standardbikarbonat.

Aktuellt bikarbonat räknas ut med hjälp av Henderson-Hasselbalch ekvationen som baseras på pH och pCO_2 (Gonzalez & Waddell 2016). Ekvationen kan ses nedan:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \frac{[\text{HCO}_3^-]}{\alpha P_{\text{CO}_2}}$$

Beräkningen baseras på antagandet att dissociationskonstanten pK och löslighetskoefficienten α alltid är samma (Nasir *et al.* 2010). Studier har visat att pK påverkas av förändringar i pH, jonstyrka och temperatur medan värdet på α varierar med

innehållet i en vätska såsom ökade halter av salter, proteiner eller lipider. Därför kan bikarbonatkoncentrationen som beräknas med ekvationen ovan ge signifikanta felaktiga värden under vissa förutsättningar. Utöver detta påverkas aktuellt bikarbonat av $p\text{CO}_2$, vilket gör det mest användbart hos patienter med normal respiratorisk funktion (Samuel 2018). För att lösa detta problem kan man använda sig av standardbikarbonat som är koncentrationen av HCO_3^- i blodet justerat till ett normalt $p\text{CO}_2$ på 40 mmHg, ett normalt $p\text{O}_2$ på 100 mmHg och vid en normal temperatur på 37 °C. Standardbikarbonat beräknas med en komplex formel som inte påverkas av den respiratoriska komponenten utan enbart visar den metaboliska komponenten.

Utöver att själva analysen kan ge felaktiga svar finns det även preanalytiska fel som kan uppstå vid blodgasanalyser. Ett av de vanligaste preanalytiska felen är att provet inte hanterats anaerobiskt. Partialtrycket av koldioxid i luften är nästan noll och dessutom är CO_2 en relativt flyktig gas. Utsätts ett blodprov för luft kommer CO_2 i provet diffundera till luften omkring och därmed ge ett falskt lågt värde på $p\text{CO}_2$. Partialtrycket av syre i luften är ca 150 mmHg. Exponeras blodprovet för luft kan därför $p\text{O}_2$ bli falskt högt. (Rieser 2013).

Ett annat relativt vanligt preanalytiskt fel är att blodprover inte analyseras inom rätt tidsram (Dent *et al.* 1999). Det har visat sig att fördröjning i blodgasanalys kan minska arteriellt $p\text{O}_2$ och öka arteriellt $p\text{CO}_2$. Detta beror på cellmetabolism, där celler använder glukos och syre för att producera CO_2 , vilket leder till en minskning i pH och en ökning i laktat på grund av fortsatt glykolys (Çuhadar *et al.* 2022). Blodgaser ska analyseras så fort som möjligt efter provtagning (Picandet *et al.* 2007). Är tidsfördröjningen längre än 10-15 minuter ska blodprovet helst tas i en glasspruta som förvaras i isvatten.

2.3.2 Bikarbonat eller T_{CO_2} som screening

Istället för att mäta pH och HCO_3^- från ett blodgasinstrument kan serum bikarbonat eller total koldioxid (T_{CO_2}) användas som screening för syrabasrubbingar (Kraut & Madias 2018). De två vanligaste metoderna att mäta T_{CO_2} eller bikarbonat är genom att antingen mäta allt koldioxid eller allt bikarbonat. Vid mätning av T_{CO_2} tillsätts en syra till provet som gör att alla former av koldioxid (HCO_3^- , lösligt CO_2 och H_2CO_3) blir till CO_2 . Mängden gas kan mätas genom att använda elektroder. Vid mätning av bikarbonat används en enzymatisk reaktion som oftast sker vid ett basiskt pH, vilket gör att alla former av koldioxid omvandlas till bikarbonat (Mohan & Kumar 2017).

T_{CO_2} inkluderar serum bikarbonat men även lösligt CO_2 och H_2CO_3 . Generellt består T_{CO_2} av 95 % bikarbonat, vilket innebär att man kan använda det måttet för

att uppskatta bikarbonatkoncentrationen i serum (Centor 1990). Låga nivåer av bikarbonat eller T_{CO_2} kan uppstå på grund av metabolisk acidosis eller som en kompensatorisk mekanism till respiratorisk alkalos. En ökad mängd bikarbonat kan i stället bero på en metabolisk alkalos eller som en kompensation på grund av respiratorisk acidosis. Man kan dock inte diagnosticera vilken typ av syrabasrubbingar en patient har från en isolerad bikarbonat eller T_{CO_2} mätning. För att man ska kunna diagnosticera typen av syrabasrubbing är mätningar av pH, pCO_2 och $[HCO_3^-]$ nödvändigt, men bikarbonat eller T_{CO_2} kan användas som en initial diagnostik för att se om det föreligger en syrabasrubbing (Kraut & Madias 2018).

2.4 Metodvalidering av laboratoriska tester

Alla laboratoriska tester måste valideras innan de kan användas för att analysera patientprover eftersom provsvaren måste ha en viss grad av tillförlitlighet (Lumsden 2000). Laboratoriska tester varierar vad gäller förmågan att tillhandahålla samma resultat när ett prov analyseras upprepade gånger, det vill säga analytisk precision (Tvedten & Thomas 2012). Variationskoefficienten (CV) används ofta för att uppskatta precisionen av en analysmetod. Analysmetoder med ett lågt CV har en hög grad av precision, vilket innebär att små förändringar av resultat kan hänvisas till förändringar hos patienten och inte slumpmässiga fel i analysen själv. Analysmetoder med högt CV har sämre precision och innebär att små förändringar i ett resultat inte behöver tyda på sjukdom hos en patient utan kan bero på variationer i själva analysmetoden.

CV beräknas genom att dividera standardavvikelsen med medelvärdet. Ofta multipliceras resultatet med 100, vilket ger ett värde i procent. (Reed *et al.* 2002)

När man ska jämföra överensstämmelsen mellan två kvantitativa metoder är det korrekta statistiska tillvägagångssättet inte alltid helt självklart. Korrelation och regressionsstudier föreslås ofta, men korrelation studerar enbart det linjära förhållandet mellan två variabler och inte deras jämförbarhet. Därför rekommenderas det inte som en metod för att bedöma jämförbarheten mellan metoder. Istället kan man använda en Bland-Altman (B&A) plot för att beskriva överensstämmelsen mellan två kvantitativa mätningar. Bland-Altman plot kvantifierar överensstämmelsen mellan två kvantitativa mätningar genom att studera skillnaden och genom att upprätta gränser för samstämmighet (Limits of Agreement, LoA). LoA innefattar 95 % av skillnaderna mellan de båda metoderna. Vid konstruktion av plotten ska man undvika att använda referensmetoden som x-axel eftersom det kan ge ett falskt intryck av korrelation mellan metodernas beräknade differens och deras magnitud. Istället rekommenderas att använda medelvärdet av de bägge metoderna på x-axeln. (Bland & Altman 1995)

Bland-Altman plotten definierar intervallen av samstämmighet, men den säger ingenting om dessa gränser är acceptabla eller inte (Giavarina 2015). För att undersöka om skillnaderna är acceptabla eller inte kan man använda sig av allowable total error/totalt tillåtet fel (TE_a) (Harr *et al.* 2013). Värdet för TE_a representerar det största tillåtna mätfel som anses godtagbart utan att påverka kliniskt beslutsfattande. Enligt American College of Veterinary Clinical Pathology (ACVCP) guidelines bör TE_a innebära en maximalt tillåten skillnad på 20 % för både låga och höga bikarbonatvärden, men önskvärt är ett värde på 15 %.

3. Material och metoder

3.1 Djur i studien

Djur som inkluderades i studien var hundar som befann sig på Universitetsdjursjukhuset och där blodgaser skulle analyseras på ABL90 flex instrumentet. Dessa djur räknades till den sjuka kategorin och studiepopulationen uppgick till 44 individer. Även friska individer av en studiepopulation på 21 djur ingick i studien för att verifiera referensintervallen för ABL90 flex gällande pH, pCO₂ och HCO₃⁻ och med hjälp av de uppdaterade referensintervallen, ta fram ett preliminärt referensintervall för bikarbonat i serum. Hundarna räknades som friska om de enligt djurägaren inte stod på någon behandling och inte visade något avvikande vid klinisk undersökning. Kliniska undersökningen inkluderade:

- Inspektion av munslemhinnan och utvärdering av kapillär återfyllnadstid
- Palpation av lymfknotor
- Auskultation av hjärta och lungor

Hundar av olika raser, åldrar och kön inkluderades i studien. Hundarna som ingick i den friska populationen var alla över ett år gamla. Djurägarna till de hundar som provtogs för studien gav sitt medgivande genom att skriva under en djurägarmedgivandeblankett. Var djuret mycket dehydrerat eller hade allvarliga aktiva förluster togs inga extra blodprov, med hänsyn till djurets hälsa. Försöket gick under Klinisk kemiska laboratoriets djuretiska tillstånd och provtagningen var därmed godkänd av Uppsala djurförsöksetiska nämnd (diarienummer 5.8.18-01610/2020).

3.2 Metodvalidering

3.2.1 ABL90 flex och DxC 700 AU

För att analysera blodgaser användes ABL90 flex instrumentet. ABL90 flex på UDS mäter pH och pCO₂, medan standardbikarbonat beräknas med en komplex formel. Analysen gjordes på helblod med safePICO Aspirator 1,5 ml sprutor som

innehåller 80 IU torrt elektrolytbalanserat heparin (Radiometer, Brønshøj, Danmark).

För att analysera bikarbonat i serum användes instrumentet Beckman DxC 700 AU (Beckman Coulter). Detta instrument är ett automatiserat kemiinstrument som använder sig av Roche-metoden för att beräkna bikarbonatkoncentrationen genom en enzym-baserad reaktion. Fosfoenolpyruvat (PEP) adderas till provet som innehåller bikarbonat. Med hjälp av enzymet fosfoenolpyruvat karboxylas (PEPC) så konverteras PEP och bikarbonat till oxaloacetat. Oxaloacetat kan vid närvaro av en nikotinamid adenin dinukleotid (NADH)-analog omvandlas till malat med hjälp av enzymet malat dehydrogenas. När oxaloacetat omvandlas till malat kommer NADH analogen konverteras till en NAD analog. Hastigheten som NADH analogen försvinner mäts vid 415 nm och är direkt proportionerligt till mängden bikarbonat i provet. Reaktionen sker vid pH 8,75, vilket gör att allt lösligt CO₂ och H₂CO₃ konverteras till bikarbonat.

Proverna som användes för att analysera bikarbonat togs i serumrör av märket Vacuette Z serum Sep Clot Activator 4 ml som innehåller både koagulations-aktivatorer och gel (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österrike).

3.2.2 Precision och följdriktighet vid spädning

Precision

Proverna som användes för utvärdering av hållbarhet användes även för att beräkna CV genom att provet analyserades i 5 replikat i 5 olika dagar. Både inom-, mellan- och totalt CV beräknades med variansanalys enligt EP-15 (CLSI 2014).

Följdriktighet vid spädning

För att bedöma testets följdriktighet gjordes en spädningsserie i 20 %-steg med destillerat vatten. Proverna analyserades i duplikat. Resultatet utvärderades genom att ta observerat värde (O) genom förväntat värde (E) och uttrycka detta i procent. Ett O/E på 100 % innebär exakt samstämmighet. Acceptabla gränser för O/E sattes till 80–120 %.

3.2.3 Hållbarhet

Hållbarheten utvärderades för bikarbonat i serum genom att förvara prover i rumstemperatur, kyl och frys. För att få ihop tillräckligt med serum poolades serum från olika hundar. Provet fördelades i fyra mindre provrör som sedan förvarades i rumstemperatur (ca 20 grader), kyl (4 grader) och frys (-18 grader). Provrören toppfylldes för att undvika luftbubblor i provet. Första dagen analyserades provet

med fem replikat, det vill säga serumet delades upp i fem mindre koppar och analyserades vid samma tillfälle för att kunna beräkna ett medelvärde. Därefter analyserades de sparade proverna en gång om dagen i fyra dagar, även då med fem replikat. Hållbarheten utvärderades med O/E där det färska provet angavs som E och medelvärdet av de fem replikaten vid de olika dagarna angavs som O.

3.3 Metodjämförelse

I studiens andra del jämfördes resultaten från blodgassprutan analyserad på ABL90 flex instrumentet med bikarbonat i serum. Blodprover togs från hundar där det skulle tas en blodgasspruta. Vid blodprovstagning noterades provtagningsteknik (stas/ej stas, öppet/vacutainer) och tid. Därefter analyserades blodgassprutan så fort som möjligt, medan serumröret stod i 30 min innan det kunde centrifugeras och analyseras, eftersom blodet först behövde koagulera. Provet centrifugerades i 2300 g i fem minuter och därefter undersöktes serumet okulärt för bedömning av hemolys eller lipemi. Prover med okulär synlig hemolys eller lipemi exkluderades ur studien.

De bägge metoderna jämfördes med regressionsanalys samt Bland-Altman plot för att bedöma jämförbarheten. Totalt tillåtet fel användes för att bedöma om skillnaderna var acceptabla eller inte. I Bland-Altman plotten användes referensmetoden som x-axel eftersom den ansågs vara gold standard.

3.4 Referensintervall

För att räkna ut ett preliminärt referensintervall för bikarbonat i serum användes ekvationen från regressionsanalysen där de bägge metoderna jämfördes. Med hjälp av formeln kunde referensintervallet från ABL90 flex användas för att räkna fram ett referensintervall för bikarbonat i serum.

Blodprov från 21 friska hundar användes för att verifiera referensintervallen. Preliminära data indikerade att nya referensintervall för pH, pCO₂ och HCO₃⁻ på ABL90 flex instrumentet behövde tas fram. Referensintervallen räknades ut med hjälp av Reference Value Advisor (Geffré *et al.* 2011) där data baserades på de 39 djuren som använts för de ursprungliga referensintervallen och den friska populationen i den här studien som uppgick till 19 djur. Den robusta metoden i programmet användes för att få fram intervallen, eftersom den metoden påverkas mindre av djur som avviker åt ettdera hållet i sina värden.

4. Resultat

4.1 Djur i studien

Totalt deltog 65 hundar i studien, varav 44 ingick i den sjuka populationen och 21 ingick i den friska populationen. Ur den sjuka populationen exkluderades sju hundar på grund av preanalytiska faktorer (tabell 2). Ett cutoff-värde på 20 minuter användes för hur länge ett prov fick stå med tillgång till luft.

Tabell 2. Anledningar till uteslutande ur studien hos de sjuka hundarna

Anledning	Antal djur
Hemolys	2
Otillräcklig provmängd	2
Lipemi	1
Prov taget ur befintlig PVK	1
Prov stått med tillgång till luft >20 min	1

En hund från den sjuka populationen provtogs två gånger med en dags mellanrum, vilket resulterade i en population på 37 hundar och 38 blodprov.

Ur den friska populationen exkluderades två hundar eftersom en hund hade ett kraftigt hemolytiskt prov och en av hundarnas ABL-spruta analyserades på ett annat ABL-instrument då ABL90 flex instrumentet var under kalibrering och inte kunde användas.

Av de 37 sjuka individerna som ingick i studien var medelvärdet (\pm SD) för ålder 6,43 (\pm 4,23 år). Av de sjuka individerna var könsfördelningen 46 % hanar och 54 % tikar. De olika tillstånden hos de sjuka djuren kan ses i tabell 3.

Tabell 3. Tillstånd hos de sjuka hundarna

Symtom	Antal djur (%)
Kräkning och diarré	8 (~22)
Kräkning	6 (~17)
Pyometra	5 (~14)
Diarré	3 (~8)
Misstänkt förgiftning	2 (~6)
Neurologiska symtom	2 (~6)
Koprostas	2 (~6)
Ormbett	1 (~3)
Hosta	1 (~3)
Neoplasi i lungor	1 (~3)
Njursvikt	1 (~3)
Leverabscess	1 (~3)
Bitskada	1 (~3)
Feber och blödning från mun	1 (~3)
Kräkning, ikterus & kraftigt sänkt AT	1 (~3)
Kraftigt blåsljud	1 (~3)
Totalt	37

4.2 Metodvalidering

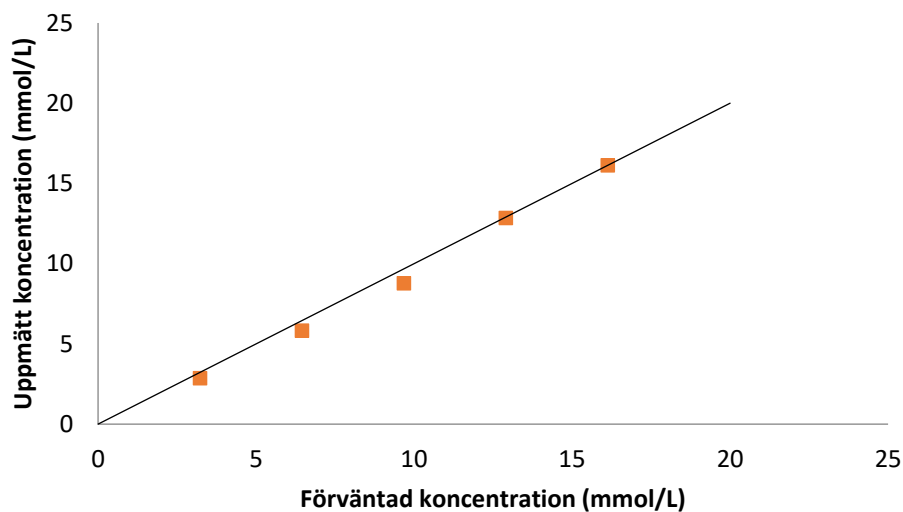
4.2.1 Precision och följdriktighet vid spädning

Precisionen beräknades med hjälp av variansanalys på ett prov med medelvärde 17,9 mmol/L vilket genererade ett resultat på inom-CV: 0,7 %, mellan-CV: 3,1 % och totalt-CV: 3,2 %.

Spädningsserien (tabell 4 och figur 1) visade ett O/E-värde på mellan 88,7 – 99,6 %, vilket visade på god följdriktighet.

Tabell 4. Spädningsserie med destillerat vatten

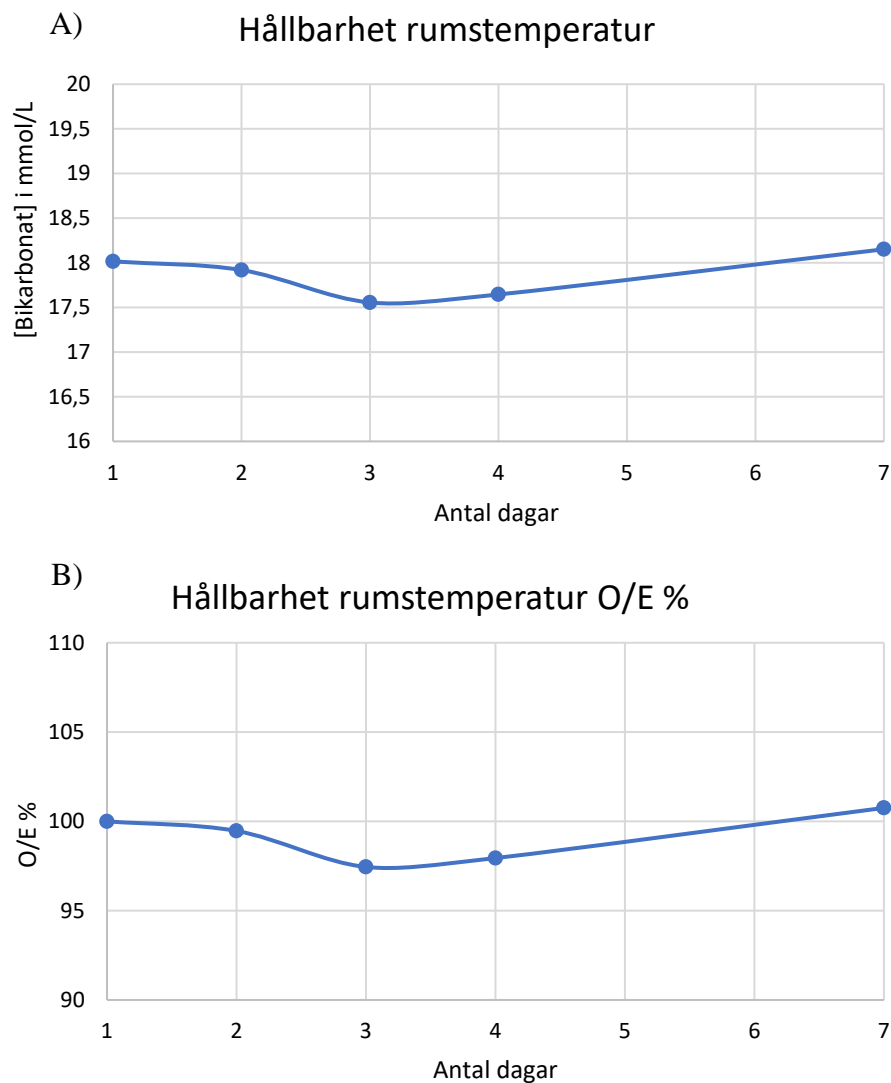
Mängd serum (%)	Förväntat (mmol/L)	Medelvärde av replikat 1 & 2 (mmol/L)	O/E (%)
100	16,1	16,1	100
80	12,9	12,8	99,6
60	9,7	8,8	90,7
40	6,5	5,8	90,2
20	3,2	2,9	88,7



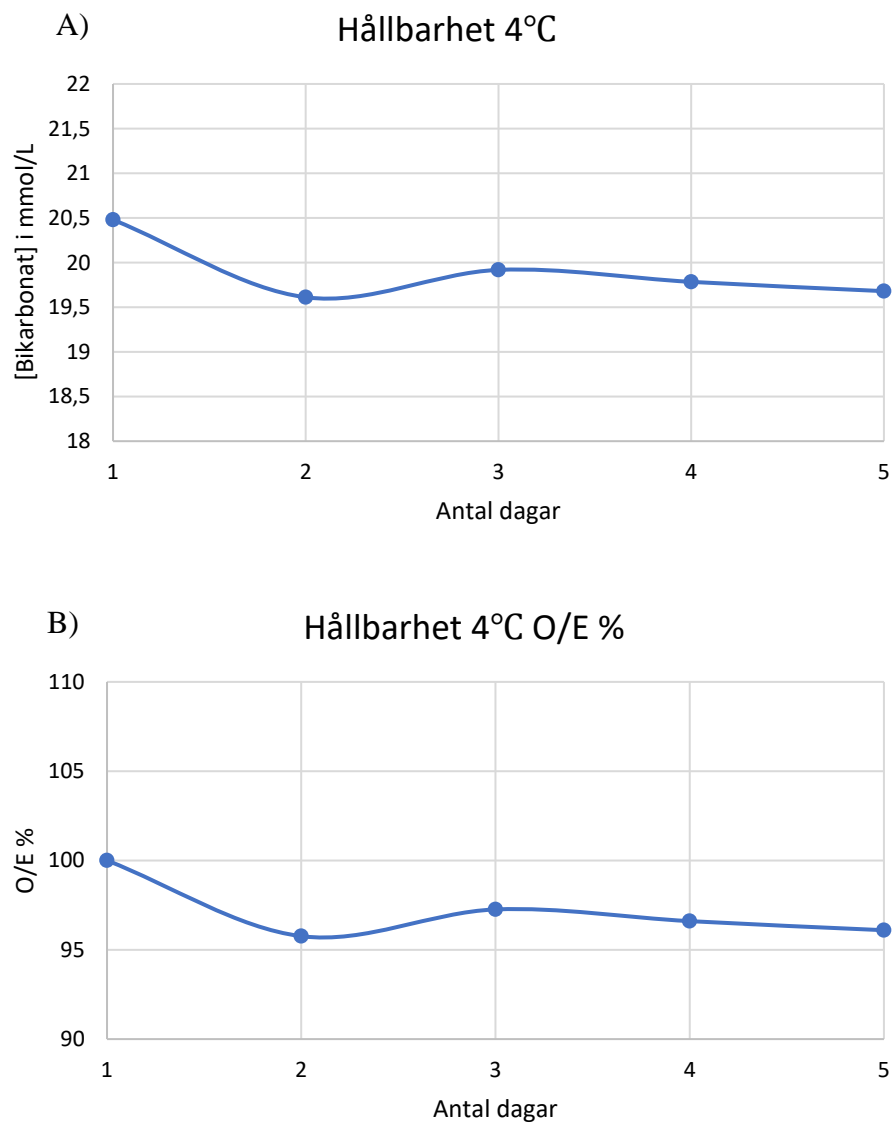
Figur 1. Graf över spädningsserie av bikarbonat analyserat med DxC 700 AU. Den svarta linjen visar den förväntade förändringen ($y=x$), medan de orangefärgade punkterna visar de uppmätta värdena.

4.2.2 Hållbarhet

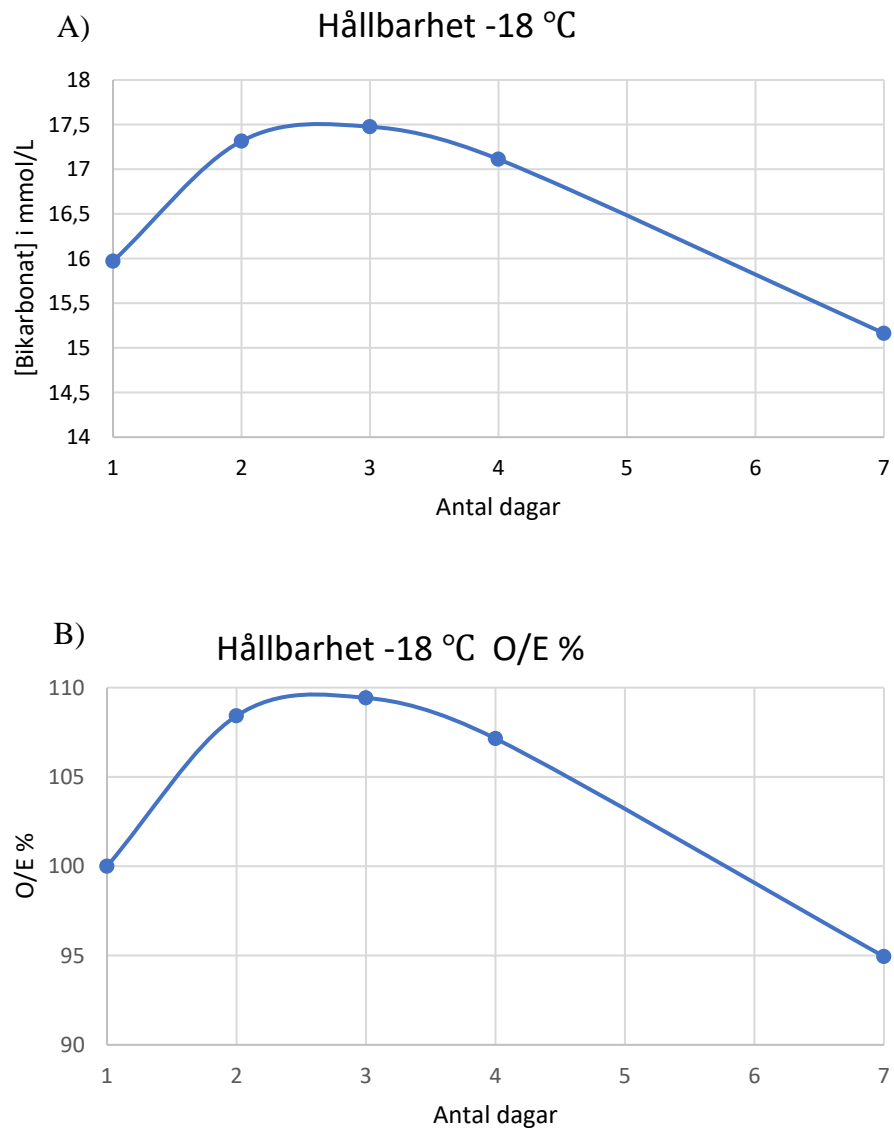
Hållbarheten för bikarbonat vid respektive temperatur visas i figurerna 2–4. Minst fluktuation sågs i rumstemperatur där O/E-värdet varierade mellan 97,4 och 100,1 %. Mest fluktuation sågs för proverna förvarade i frys, där O/E-värdet varierade mellan 94,9 och 109,4 %. O/E-värdet för proverna förvarade i kyl varierade mellan 95,8 och 100 %. Proverna i frysen hade en tendens att öka i bikarbonatkoncentration för att sedan sjunka igen.



Figur 2. Hållbarheten för prover förvarade i rumstemperatur. A) På Y-axeln ses medelvärdena vid de olika dagarna beräknat med 5 replikat. B) På Y-axeln ses värdet på O/E vid de olika dagarna.



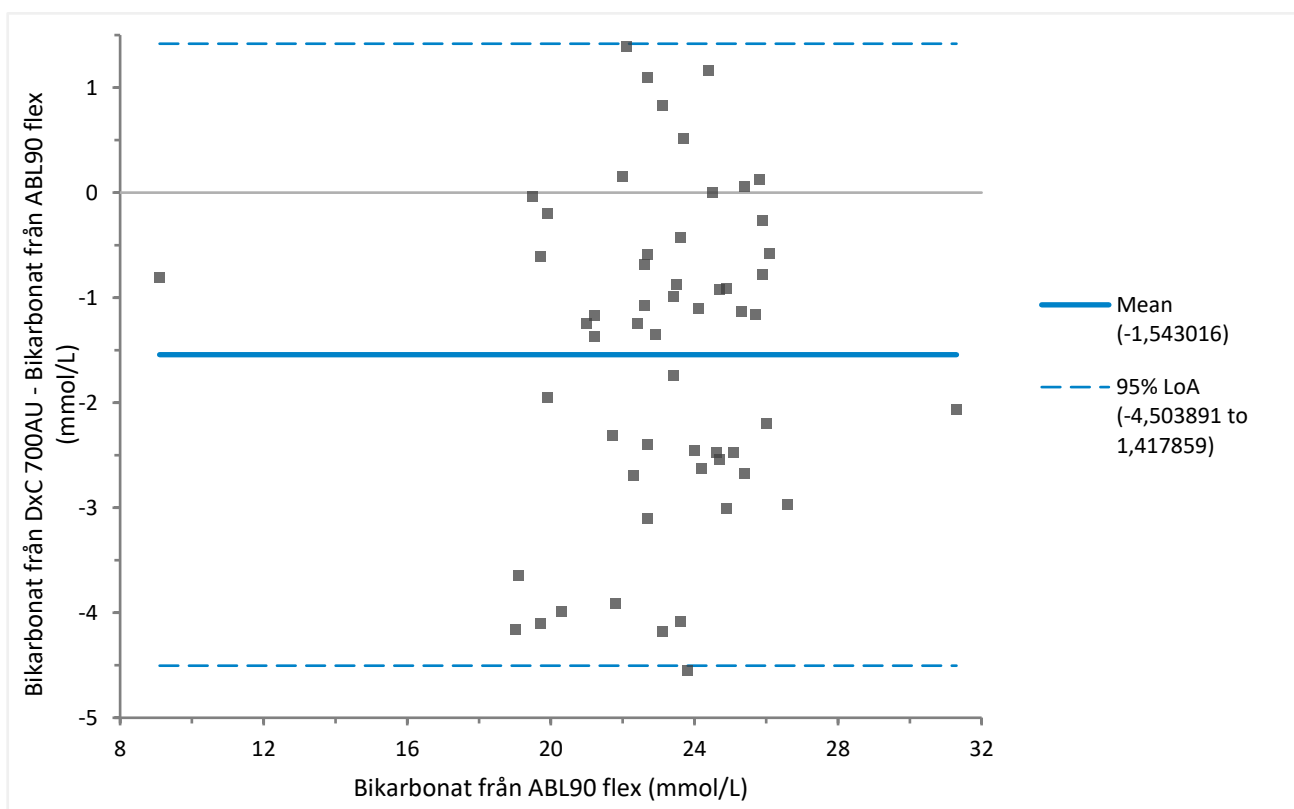
Figur 3. Hållbarheten för prover förvarade i kylskåp (4 °C). A) På Y-axeln ses medelvärdena vid de olika dagarna, beräknat med 5 replikat. B) På Y-axeln ses värdet på O/E vid de olika dagarna.



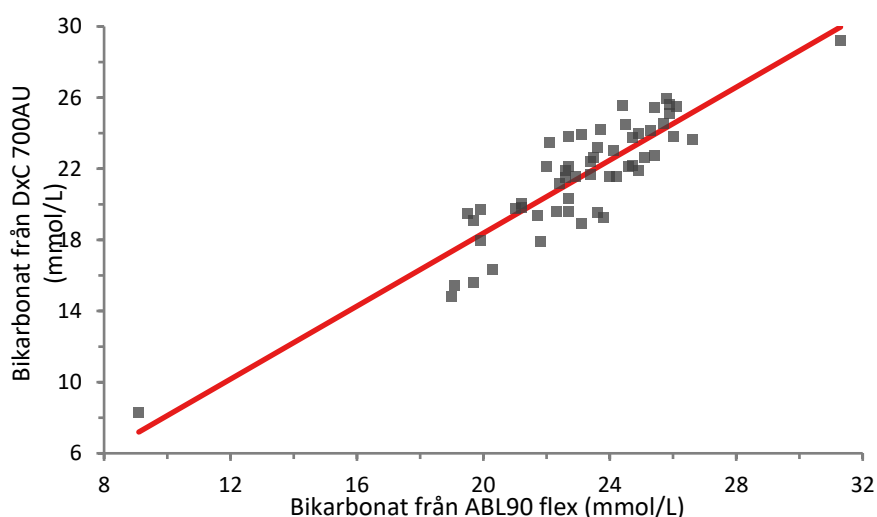
Figur 4. Hållbarheten för prover förvarade i frys (-18 °C). A) På Y-axeln ses medelvärdena vid de olika dagarna, beräknat med 5 replikat. B) På Y-axeln ses värdet på O/E vid de olika dagarna.

4.3 Metodjämförelse

För att undersöka överensstämmelsen mellan bikarbonat mätt med ABL90 flex och DxC 700 AU gjordes en Bland-Altman plot (figur 5). Ett Grubb's test utfördes, som identifierade en sjuk hund som outlier, därav exkluderades den. Totalt ingick 55 hundar och 56 blodprov i resultaten (36 sjuka hundar och 37 blodprov + 19 friska hundar). Bland Altman plotten visade en bias på -1,54 mmol/L. För att undersöka om skillnaderna mellan metoderna var acceptabla eller inte jämfördes LoA med TEa. LoA beräknades till -20,4 % och 6,6 %, vilket bedömdes som acceptabelt. En regressionsanalys gjordes för att se om det var stora skillnader mellan metoderna (figur 6).



Figur 5. Bland Altman plot med differensen av bikarbonat mellan DxC 700 AU och ABL90 flex instrumentet på Y-axeln och ABL90 flex värdena på X-axeln.



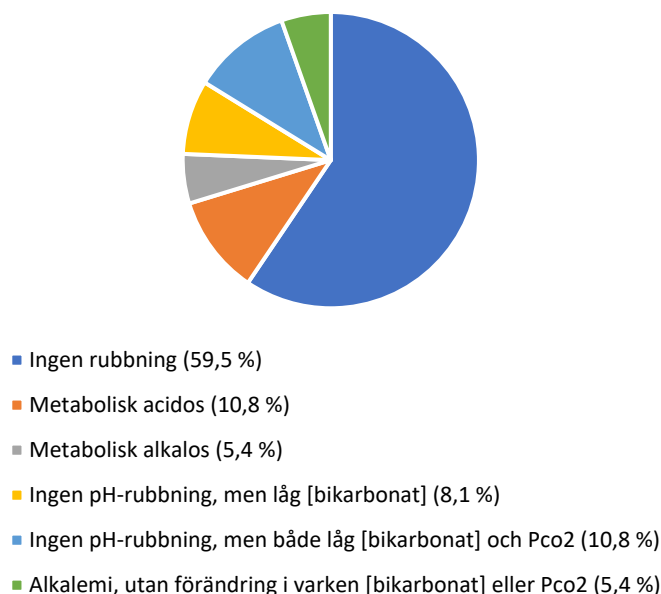
Figur 6. Förhållande mellan analys av bikarbonat med DxC 700 AU och ABL90 flex visat med linjär regressionslinje. Ekvationen på röda linjen var $DxC\ 700\ AU = -2,14 + 1,026\ ABL90$ med ett R^2 -värde på 0,802.

4.4 Referensintervall

Vid jämförelse av de friska djurens ABL90 flex resultat med referensintervallet som användes på UDS sågs generellt att pH-värdena låg nära den nedre referensintervallsgränsen. Referensintervallen som användes på UDS var pH: 7,33–7,46, HCO_3^- : 22,20–27,20 mmol/L och pCO_2 : 31,80–54,00 mmHg. Värdet mitt emellan referensintervallet för pH är 7,395, där 52,6 % låg under detta. Värdet mitt emellan referensintervallet för HCO_3^- är 24,7, där 57,9 % låg under detta. Ingen av de friska djuren hade några pH-rubbningar, men däremot hade två av de 19 djuren ett lågt bikarbonatvärde enligt ABL90 flex. Utöver att pH och HCO_3^- från ABL90 flex generellt låg åt det lägre hållet, var referensintervallen baserade på ett relativt litet antal djur ($n=39$). Detta tillsammans gjorde att ett nytt referensintervall för ABL90 flex pH, HCO_3^- och pCO_2 beräknades. Värdena var normalfördelade och utan några outliers. De nya framtagna referensintervallen beräknades till pH: 7,32–7,45, HCO_3^- : 21,5–26,6 mmol/L och pCO_2 : 32,1–54,1 mmHg.

För att undersöka vilka syrabasrubbningar som förelåg användes de nya framtagna referensintervallen för ABL90 flex. Illustrationer över detta kan ses i figur 7.

Fördelning av syrabasrubbing hos den sjuka populationen enligt ABL90 flex med nya referensintervall



Figur 7. Fördelning av syrabasrubbingar hos den sjuka populationen enligt ABL90 flex med nya referensintervallen.

Utifrån de nya framtagna referensintervallen och resultaten från ABL90 flex instrumentet var det 22 prov (59,5 %) som inte hade någon syrabasrubbing. Fyra prov (10,8 %) visade på metabolisk acidosis och två prov (5,4 %) visade på metabolisk alkalosis. Tre av proverna (8,1 %) visade inte på någon pH-förändring men hade låga bikarbonatkonzentrationer, vilket skulle kunna tyda på en blandad syrabasrubbing. Fyra av proverna (10,8 %) visade inte på någon pH-förändring men hade både låga bikarbonatkonzentrationer och pCO₂-värden, vilket också skulle kunna tyda på en blandad syrabasrubbing. Två av proverna (5,4 %) visade på en alkalemi (pH 7,462 respektive 7,465) men inga förändringar sågs i vare sig bikarbonatkonzentrationen eller pCO₂, vilket skulle kunna bero på kompensatoriska mekanismer.

Med hjälp av ekvationen från den linjära regressionslinjen beräknades ett referensintervall för bikarbonat uppmätt med DxC 700 AU instrumentet. Referensintervallet beräknades till 19,9–25,2 mmol/L och baserades på de nya referensintervallen framtagna för ABL90 flex instrumentet. Av de 22 proverna som inte visade någon rubbning enligt ABL90 flex instrumentet var det 14 prover som visade på normala bikarbonatkonzentrationer uppmätt med DxC 700 AU. Av de resterande var det sex prover som hade låga bikarbonatkonzentrationer och två av proverna som hade höga bikarbonatkonzentrationer.

Alla fyra prover som visade på metabolisk acidosis enligt ABL90 flex hade även låga bikarbonatvärden med DxC 700 AU. Av de två prover som visade på metabolisk alkalos, var det ett prov som hade en hög bikarbonatkoncentration enligt DxC 700AU. Det andra provet hade normal bikarbonatkoncentration enligt DxC 700 AU, men det provet hade även en relativt lindrig alkalos (pH: 7,466, [HCO₃⁻: 26,6 mmol/L]).

Alla prover (3/37) som enligt ABL90 flex klassades som ”ingen rubbning, men låg koncentration bikarbonat”, visade även på bikarbonatvärden under lägre referensintervall enligt DxC 700 AU. Av de fyra prover som klassades som ”ingen rubbning, men låg koncentration bikarbonat och lågt pCO₂”, var det tre prover som hade lågt bikarbonat enligt DxC 700 AU instrumentet. Ett prov låg inom referensintervall för DxC 700 AU, men låg nära det nedre referensintervallvärdet (20,03 mmol/L).

Av de två proverna som klassades som ”alkalemi utan förändring i varken bikarbonatkoncentrationen eller pCO₂”, var det ett prov som hade låg koncentration bikarbonat och ett som hade normal koncentration bikarbonat enligt DxC 700 AU.

Av de friska djuren låg 18/19 av djuren inom det framtagna referensvärdet för DxC 700 AU och ett prov låg under referensintervall. Det provet visade även låg bikarbonatkoncentration enligt ABL90 flex.

5. Diskussion

Generellt underskattade DxC 700 AU bikarbonatkoncentrationen med 1,54 mmol/l jämfört med ABL90 flex. Spridningen i Bland Altman plotten visar på slumpmässiga fel och inga systematiska fel. Limits of Agreement beräknades till -20,4 % till 6,6 %, vilket bedömdes som acceptabelt då TE_a enligt ACVCP ska ligga på maximalt ± 20 % (Harr *et al.* 2013).

Ett fåtal andra studier har tittat på överensstämmelsen mellan bikarbonat som erhålls genom blodgasanalys och uppmätt bikarbonat, vilka har visat varierande resultat.

Story och Poustie (2000) undersökte hur väl bikarbonatkoncentrationen i human plasma från arteriellt blod överensstämde mellan två olika metoder. Parade blodprov analyserades med en blodgasmaskin och med ett instrument som mäter bikarbonat med den enzymatiska metoden. Forskarna kom fram till att de två analysmetoderna hade en kliniskt betydande dålig överensstämmelse, men de kunde inte hitta någon direkt anledning till detta. Beräknat bikarbonat var generellt högre än uppmätt bikarbonat med den enzymatiska metoden. Forskarna hade förväntat sig det motsatta. Tänkbara anledningar var kalibreringsfel, dålig provhantering och att tiden proverna hade tillgång till luft inte var standardiserad. I den här studien sågs liknande resultat. Eftersom bikarbonat mätt med den enzymatiska metoden inkluderar både bikarbonat, lösligt koldioxid och kolsyra kan man förvänta sig att instrumentet i stället skulle överskattat bikarbonatkoncentrationen jämfört med ABL90 flex instrumentet. Orsak till att DxC AU instrumentet underskattade bikarbonatkoncentrationen kan inte exakt fastställas, men troliga orsaker är exempelvis kalibrering av instrumentet och provhantering. Enligt Kraut och Madias (2018) kan man förvänta sig att T_{CO_2} överstiger $[HCO_3^-]$ som fås ur ett blodgasinstrument med 1–1,5 mmol/L. De menar även på att bikarbonat analyserat med enzymatiska metoden är proportionellt till T_{CO_2} , varför samma typ av resultat förväntades i den här studien.

Det finns även studier som har visat god överensstämmelse mellan beräknat bikarbonat och uppmätt bikarbonat. I en studie av Kumar & Karon (2008) jämfördes beräknat bikarbonat som erhöles genom ett blodgasinstrument (Radiometer ABL 725) med uppmätt bikarbonat som analyserades med enzymatisk metod med fosfoenolpyruvat reaktionen. Studien visade på att skillnaden mellan beräknat och uppmätt bikarbonat i 98,5 % av fallen var inom ramen av 3 mmol/L. Författarna använde korrelation som statistisk metod som visade ett R^2 värde på 0,93, vilket de menar indikerade ett starkt samband mellan uppmätt och beräknat bikarbonat.

Underskattning av bikarbonatkonzentrationen med DxC 700 AU instrumentet i den här studien var inom acceptabla gränser eftersom LoA var mellan -20,35 % och 6,62 %. DxC 700 AU instrumentet lyckades identifiera alla hundarna med metabolisk acidosis, men hade sämre precision när det gällde att korrekt identifiera hundarna utan några syrabasrubbingar. Relativt många (28,5 %) som inte hade syrabasrubbingar enligt ABL90 flex instrumentet, hade låga bikarbonatvärden enligt DxC 700 AU. Om man använder serum bikarbonat som screening kan det finnas en risk att onödiga blodprov tas för att köra fullständiga blodgasanalyser. För att lösa detta problem bör man ta fram helt nya referensintervall för bikarbonat på DxC 700 AU. I den här studien var populationen av friska djur för liten för att göra detta.

Enligt Kraut och Madias (2018) ska man även vara försiktig med att tolka normala T_{CO_2} värden som att det inte föreligger en syrabasrubbing. Vid två eller fler syrabasrubbingar som existerar samtidigt, kan T_{CO_2} -värden ligga inom referensintervallet, vilket kan begränsa användandet av metoden som ett verktyg för screening. Blodprovresultat måste dock alltid tolkas med den kliniska bilden. Ett djur med allvarliga sjukdomar rekommenderas att direkt ta en fullständig blodgasanalys eftersom sådan analys går snabbt att analysera och man direkt får reda på vilken typ av syrabasrubbing som föreligger. Men T_{CO_2} eller bikarbonat skulle kunna användas som t.ex. en uppföljande kontroll av syrabasrubbingen eller som screening hos djur som inte är allvarligt sjuka.

Referensintervall för humant bikarbonat eller T_{CO_2} rekommenderas enligt Kraut och Madias (2018) ligga mellan 23-30 mmol/L i venöst blod, då man har sett att för stora spann kan leda till att man missar syrabasrubbingar, vilket kan ge negativa konsekvenser för patienter. Referensintervall för T_{CO_2} eller bikarbonat hos hund och katt är mellan 17 och 23 mmol/L (DiBartola 2012a). Referensintervallet i den här studien beräknades till 19,9–25,2 mmol/L. Eftersom denna studie innehöll relativt få hundar får referensintervallet anses vara preliminärt.

Analysen av bikarbonat med DxC 700 AU instrumentet visade acceptabla värden vad gäller CV och följdriktighet vid spädning. Hållbarheten visade sig även vara god vid de olika temperaturerna. Bäst hållbarhet sågs i rumstemperatur där varia-

tionen mellan de olika dagarna var lägst. De andra temperaturerna hade även en god hållbarhet, men med något större variation i koncentration mellan de olika dagarna. Enligt tillverkaren har bikarbonat i serum som förvarats i ett väl förslutet rör en hållbarhet på 40 timmar i 15–25 °C, 7 dagar i 4–8 °C och upp till 6 månader vid -20 °C eller -80 °C. Det framkommer inte om förvaringen har gjorts i flaskor med så lite luftbubblor i som möjligt eller inte, vilket skulle kunna förklara skillnaden i hållbarhet i den här studien. Provrören som användes för att utvärdera hållbarheten toppfylldes, vilket kan ha förhindrat bikarbonat och/eller koldioxid att diffundera till luften. Hållbarheten i rumstemperatur uppgick till 7 dagar, men hade analysen gjorts på ännu fler dagar kanske den hade visat längre hållbarhet.

Resultaten från den här studien visar att bikarbonat uppmätt med DxC 700 AU jämfört med bikarbonat beräknat från ABL90 flex, visade på acceptabla skillnader mellan metoderna. Dock fanns det en tendens för DxC 700 AU instrumentet att underskatta bikarbonatkoncentrationen när man egentligen hade förväntat sig det motsatta, vilket mest troligt beror på kalibreringen eller provhanteringen. Det behövs ytterligare studier som utvärderar analysmetoden på fler hundar, där även fler har syrabasrubbnings för att dra några säkra slutsatser. Andra aspekter som bör beaktas är kostnader för att köra prover och arbetsinsats. Utöver det behöver ett mer tillförlitligt referensintervall för bikarbonat i serum tas fram.

Referenser

- Awasthi, S., Rani, R. & Malviya, D. (2013). Peripheral venous blood gas analysis: An alternative to arterial blood gas analysis for initial assessment and resuscitation in emergency and intensive care unit patients. *Anesthesia, Essays and Researches*, 7 (3), 355–358. <https://doi.org/10.4103/0259-1162.123234>
- Bland, J.M. & Altman, D.G. (1995). Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet (London, England)*, 346 (8982), 1085–1087. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(95\)91748-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(95)91748-9)
- Brinkman, J.E. & Sharma, S. (2022). Physiology, Metabolic Alkalosis. I: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482291/> [2022-11-16]
- Centor, R.M. (1990). Serum Total Carbon Dioxide. I: Walker, H.K., Hall, W.D., & Hurst, J.W. (red.) *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3. ed. Boston: Butterworths. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK308/> [2022-10-27]
- CLSI (2014). *User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline*, 3. ed. CLSI document EP15-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. <https://clsi.org/standards/products/method-evaluation/documents/ep15/>
- Çuhadar, S., Özkanay-Yörük, H., Köseoğlu, M. & Katircioğlu, K. (2022). Detection of preanalytical errors in arterial blood gas analysis. *Biochemia Medica*, 32 (2), 020708. <https://doi.org/10.11613/BM.2022.020708>
- Dent, R.G., Boniface, D.R., Fyffe, J. & Yousef, Z. (1999). The effects of time delay and temperature on capillary blood gas measurements. *Respiratory Medicine*, 93 (11), 794–797. [https://doi.org/10.1016/s0954-6111\(99\)90264-0](https://doi.org/10.1016/s0954-6111(99)90264-0)
- DiBartola, S.P. (2012a). 6 - Electrolyte and Acid-Base Disorders. I: Willard, M.D. & Tvedten, H. (red.) *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 5. ed. Saint Louis: W.B. Saunders. 112–125. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0657-4.00006-5>
- DiBartola, S.P. (2012b). *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice*. 4. ed. W.B. Saunders. <https://www.elsevier.com/books/fluid-electrolyte-and-acid-base-disorders-in-small-animal-practice/dibartola/978-1-4377-0654-3>
- Do, C., Vasquez, P.C. & Soleimani, M. (2022). Metabolic alkalosis pathogenesis, diagnosis, and treatment: Core Curriculum 2022. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 80 (4), 536–551. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2021.12.016>

- Funes, S. & de Moraes, H.A. (2017). A quick reference on high anion gap metabolic acidosis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 47 (2), 205–207. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.11.002>
- Geffré, A., Concordet, D., Braun, J.-P. & Trumel, C. (2011). Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Veterinary Clinical Pathology*, 40 (1), 107–112. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2011.00287.x>
- Giavarina, D. (2015). Understanding Bland Altman analysis. *Biochemia Medica*, 25 (2), 141–151. <https://doi.org/10.11613/BM.2015.015>
- Gonzalez, A.L. & Waddell, L.S. (2016). Blood gas analyzers. *Topics in Companion Animal Medicine*, 31 (1), 27–34. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2016.05.001>
- Hamm, L.L., Nakhoul, N. & Hering-Smith, K.S. (2015). Acid-base homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 10 (12), 2232–2242. <https://doi.org/10.2215/CJN.07400715>
- Harr, K.E., Flatland, B., Nabity, M., Freeman, K.P., & ASVCP (2013). ASVCP guidelines: allowable total error guidelines for biochemistry. *Veterinary Clinical Pathology*, 42 (4), 424–436. <https://doi.org/10.1111/vcp.12101>
- Hopper, K. (2023). Acid–base. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 53 (1), 191–206. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2022.07.014>
- Hopper, K. & Epstein, S. e. (2012). Incidence, nature, and etiology of metabolic acidosis in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26 (5), 1107–1114. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00983.x>
- Ilkiw, J.E., Rose, R.J. & Martin, I.C.A. (1991). A comparison of simultaneously collected arterial, mixed venous, jugular venous and cephalic venous blood samples in the assessment of blood-gas and acid-base status in the dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 5 (5), 294–298. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1991.tb03136.x>
- Johnson, R.A. (2017a). A quick reference on respiratory acidosis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 47 (2), 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.10.012>
- Johnson, R.A. (2017b). A quick reference on respiratory alkalosis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 47 (2), 181–184. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.10.005>
- Kelly, A., McAlpine, R. & Kyle, E. (2001). Venous pH can safely replace arterial pH in the initial evaluation of patients in the emergency department. *Emergency Medicine Journal: EMJ*, 18 (5), 340–342. <https://doi.org/10.1136/emj.18.5.340>
- Krapf, R., Seldin, D.W. & Alpern, R.J. (2013). Chapter 59 - Clinical Syndromes of Metabolic Acidosis. I: Alpern, R.J., Moe, O.W., & Caplan, M. (red.) *Seldin and Giebisch's The Kidney*. 5. ed. Academic Press. 2049–2111. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381462-3.00059-8>

- Kraut, J. & Madias, N. (2010). Metabolic acidosis: Pathophysiology, diagnosis and management. *Nature Reviews. Nephrology*, 6, 274–85. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2010.33>
- Kraut, J.A. & Madias, N.E. (2007). Serum anion gap: its uses and limitations in clinical medicine. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 2 (1), 162–174. <https://doi.org/10.2215/CJN.03020906>
- Kraut, J.A. & Madias, N.E. (2018). Re-evaluation of the normal range of serum total CO₂ concentration. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 13 (2), 343. <https://doi.org/10.2215/CJN.11941017>
- Kumar, V. & Karon, B.S. (2008). Comparison of measured and calculated bicarbonate values. *Clinical Chemistry*, 54 (9), 1586–1587. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.107441>
- Lumsden, J.H. (2000). Laboratory test method validation. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 151 (7), 623–630.
- Mohan, T. & Kumar, B.V. (2017). Comparison of measured serum total carbon dioxide with calculated bicarbonate calculated from arterial blood gas analysis. *Indian Journal of Medical Biochemistry*, 21 (2), 76–80. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10054-0025>
- Monnig, A.A. (2013). Practical acid-base in veterinary patients. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 43 (6), 1273–1286. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.07.009>
- Nasir, N.M., Sthaneshwar, P., Yunus, P.J.M. & Yap, S.-F. (2010). Comparing measured total carbon dioxide and calculated bicarbonate. *The Malaysian Journal of Pathology*, 32 (1), 21–26.
- Patschan, D., Patschan, S. & Ritter, O. (2020). Chronic metabolic acidosis in chronic kidney disease. *Kidney and Blood Pressure Research*, 45 (6), 812–822. <https://doi.org/10.1159/000510829>
- Picandet, V., Jeanneret, S. & Lavoie, J.-P. (2007). Effects of syringe type and storage temperature on results of blood gas analysis in arterial blood of horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21 (3), 476–481. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb02993.x>
- Reed, G.F., Lynn, F. & Meade, B.D. (2002). Use of coefficient of variation in assessing variability of quantitative assays. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9 (6), 1235–1239. <https://doi.org/10.1128/CDLI.9.6.1235-1239.2002>
- Rieser, T.M. (2013). Arterial and venous blood gas analyses. *Topics in Companion Animal Medicine*, 28 (3), 86–90. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2013.04.002>
- Robertson, S.A. (1989). Simple acid-base disorders. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 19 (2), 289–306. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(89\)50031-7](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(89)50031-7)
- Romero, M.F. & Rossano, A.J. (2019). Acid-base basics. *Seminars in Nephrology*, 39 (4), 316–327. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2019.04.002>

- Samuel, R. (2018). A graphical tool for arterial blood gas interpretation using standard bicarbonate and base excess. *Indian Journal of Medical Biochemistry*, 22 (1), 85–89. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10054-0061>
- Scheiner, B., Lindner, G., Reiberger, T., Schneeweiss, B., Trauner, M., Zauner, C. & Funk, G.-C. (2017). Acid-base disorders in liver disease. *Journal of Hepatology*, 67 (5), 1062–1073. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.06.023>
- Sharma, S., Hashmi, M.F. & Aggarwal, S. (2022). Hyperchloremic Acidosis. I: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482340/> [2022-12-29]
- Story, D.A. & Poustie, S. (2000). Agreement between two plasma bicarbonate assays in critically ill patients. *Anaesthesia and Intensive Care*, 28 (4), 399–402. <https://doi.org/10.1177/0310057X0002800407>
- Tvedten, H. & Thomas, J.S. (2012). 1 - General Laboratory Concepts. I: Willard, M.D. & Tvedten, H. (red.) *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. 5. ed. Saint Louis: W.B. Saunders. 1–11. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0657-4.00001-6>
- Wingfield, W.E., Van Pelt, D.R., Hackett, T., Martin, L. & Salman, M.D. (1994). Usefulness of venous blood in estimating acid-base status of the seriously ill dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 4 (1), 23–27. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.1994.tb00112.x>
- Sjaastad, Ø.V., Hove, K. & Sand, O. (2016). *Physiology of Domestic Animals*. 3. ed. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.

Populärvetenskaplig sammanfattning

I blodet finns det många olika ämnen, bland annat vätejoner. Vätejonskoncentrationen måste hållas inom ett relativt snävt spann eftersom onormala koncentrationer kan leda till flera negativa effekter i kroppen. Vätejonskoncentrationen uttrycks i regel som pH, där en ökad mängd vätejoner ger ett lägre pH och en minskad mängd vätejoner ger ett högre pH. Normalt pH i arteriellt (syrerikt) blod brukar ligga på 7,4, medan det i venöst (syrefattigt) blod brukar ligga på 7,35. Ett för lågt eller ett för högt pH-värde i blodet kallas för syrabasrubbing, eftersom blodet då antingen är för surt eller för basiskt. För att reglera vätejonskoncentrationen kan kroppen göra sig av med syra i form av koldioxid eller baser i form av bikarbonat. Är blodet för surt kommer njurarna börja spara på bikarbonat och lungorna kommer utsöndra koldioxid för att försöka återställa balansen. Är blodet för basiskt kommer njurarna i stället utsöndra bikarbonat till urinen och lungorna kommer försöka spara på koldioxid genom att andas långsammare. Fungerar inte dessa kompensatoriska mekanismer optimalt som t.ex. vid sjukdomar kommer syrabasbalansen rubbas. Det finns fyra huvudtyper av syrabasrubbingar: metabolisk acidosis, metabolisk alkalos, respiratorisk acidosis eller respiratorisk alkalos. Acidosis syftar på processen som gör att pH blir för lågt, medan alkalos syftar på processen som gör att pH blir för högt. Vid en metabolisk acidosis har man för lite bikarbonat i blodet på grund av något tillstånd som t.ex. njursvikt eller diarré. Vid en metabolisk alkalos har man för mycket bikarbonat i kroppen. Vid respiratorisk acidosis eller alkalos har man antingen för mycket koldioxid respektive för lite koldioxid i kroppen, vilket oftast beror på lungsjukdomar.

För att undersöka syrabasbalansen i blodet kan man ta ett blodprov och analysera det med ett blodgasinstrument. Blodgasinstrument använder sig av helblod för analys och ger oss värden för pH, bikarbonat och koldioxid. Blodgasinstrument är relativt ovanliga på mindre kliniker. Blod som ska analyseras på ett blodgasinstrument måste även analyseras inom en viss tidsram eftersom tidsfördröjning kan påverka värdena i blodet, vilket ger oss ett resultat som inte är tillförlitligt om vad patienten faktiskt har för syrabasbalans. Det är viktigt att undersöka en patients syrabasbalans eftersom det kan ge ledtrådar kring vilken underliggande sjukdom som ger upphov till rubbing, men även eftersom den ger information om eventuell behandling som behöver sättas in.

Ett annat sätt att utvärdera syrabasrubbingar är att analysera total koldioxid eller bikarbonat i serum. Totalt koldioxid (T_{CO_2}) eller bikarbonat i serum mäter allt bikarbonat, allt koldioxid och kolsyra i blodet. Man kan inte diagnosticera vilken typ av syrabasrubbingar en patient har från en isolerad bikarbonat eller T_{CO_2} mätning, men det kan användas som ett första test för att se om en patient lider av en syrabasrubbing.

I detta arbete jämfördes bikarbonat som erhöles från blodgasinstrumentet ABL90 flex med bikarbonat som mätts i serum med instrumentet DxC 700 AU för att se om bikarbonat i serum kan användas som screening för syrabasrubbingar. Generellt underskattade DxC 700 AU bikarbonatkonzentrationen jämfört med ABL90 flex, där troliga fel är kalibrering av instrumentet och provhantering. Enligt experter bör instrumentets resultat avvika med högst 20 % från referensmetodens resultat. I den här studien avvek DxC 700 AU med maximalt 20,4 %, vilket får ses som godtagbart.

Resultat från den här studien indikerar på att man kan använda serum bikarbonat för att screena för syrabasrubbingar hos hund. Dock behövs det fler studier som tittar på populationer med fler syrabasrubbingar och som tar fram ett tillförlitligt referensintervall.

Tack

Stort tack till min handledare Emma Strage för mycket stort stöd och engagemang under hela arbetets gång! Även ett stort tack till Angelica på Klinisk kemiska laboratoriet på UDS för hjälp med instrumenthantering.

Sist men inte minst även ett stort tack till alla hundar och deras djurägare som bidrog till studien.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. **Som student äger du upphovsrätten** till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

- <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag ger härmed min tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag ger inte min tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.