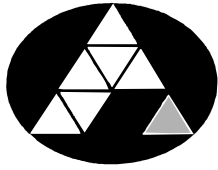


POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Henna Neuvonen

NATRIUM-SITRAATTIA SISÄLTÄVÄN HYYTYMISTUTKIMUSPUT-
KEN VAJAAKSIJÄÄMISEN VAIKUTUS TROMBOPLASTIINIAJAN
INR-ARVOON

Opinnäytetyö
Syyskuu 2012



POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

OPINNÄYTETYÖ
Syyskuu 2012
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tikkarinne 9
80200 JOENSUU
p. (013) 260 6600 p. (013) 260 6906

Tekijä
Henna Neuvonen

Nimeke
Natrium-sitraattia sisältävän hyytymistutkimusputken vajaaksijäämisen vaikutus trombooplastiiniajan INR-arvoon

Toimeksiantaja
Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden keskus

Tiivistelmä

Varfariini on tällä hetkellä maailman käytetyin lääke oraaliossa antikoagulanttihoitossa, ja käyttäjien määrä nousee vuosittain väestön ikääntymisestä johtuen. Varfariinin oikean annostelun määrittämiseen käytetään hyytymistekijöiden aktiivisuutta mittaavaa testiä eli trombooplastiiniaikaa. Varfariinia käyttävien asiakkaiden antikoagulaatiohoidon tasoa seurataan säännöllisesti.

Tässä opinnäytetyössä tutkittiin, onko 3,2 % natrium-sitraattia sisältävän hyytymistutkimusputken vajaaksijäämisellä vaikutusta trombooplastiiniajan INR-arvoon. Opinnäytetyössä verrattiin vajaasta putkesta mitattua INR-arvoa täydestä putkesta mitattuun INR-arvoon. Tutkimusmenetelmä oli kvantitatiivinen ja tutkimusasetelma kokeellinen.

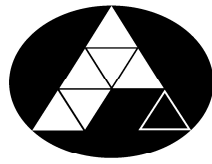
Tutkimusaineisto kerättiin 37 vapaaehtoiselta Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden keskuksen varfariinihoitoa saavalta asiakkaalta, jotka saapuivat laboratorion näytteenottoon tutkimuspäivinä. Jokaiselta tutkimukseen osallistuneelta henkilöltä otettiin kaksi näyteputkea; vajaa ja täysi hyytymistutkimusputki. Otetut näytteet jaettiin näytteenoton jälkeen kahteen ryhmään; vajaisiin ja täysiin näyteputkiin, ja ne analysoitiin Thrombolyzer Compact XR -analyysaattorilla.

Saatujen INR-arvojen käsittelyssä käytettiin apuna Excel-ohjelmaa. Sen avulla saatiin määritettyjä tilastollisia tunnuslukuja. Tutkimuksessa saatujen tulosten perusteella myös vajaat natrium-sitraattia sisältävät hyytymistutkimusputket soveltuvat trombooplastiiniajan mittaukseen, kun putken täyttöaste on vähintään 50 %. Vajaaksijääminen ei vaikuta tilastollisesti merkittävästi trombooplastiiniajan INR-tulokseen.

Kieli
suomi

Sivuja 38
Liitteet 5
Liitesivumäärä 5

Asiasanat
natrium-sitraatti, hyytymistutkimusputki, trombooplastiiniaika, INR-arvo



NORTH KARELIA
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

THESIS
September 2012
Degree Programme in
Biomedical Sciences
Tikkarinne 9
FIN 80200 JOENSUU
FINLAND
Tel. +358-13-260 6600

Author
Henna Neuvonen

Title
The Effect of a Partially Filled Sodium Citrate Coagulation Tube on the International Normalized Ratio (INR) Value of the Prothrombin Time

Commissioned by
South Karelia Social and Health Care District, Laboratory Centre

Abstract

Warfarin is the most used medicine for the oral anticoagulant therapy at the moment and the number of users is increasing because of the aging of population. Prothrombin time measures coagulation factors' activity and it is used for determinate the right dosage of Warfarin. The level of anticoagulant therapy is followed up regularly from the customers receiving Warfarin.

The purpose of this thesis was to investigate the effects of a partially filled coagulation tube containing sodium citrate on the International Normalized Ratio (INR) value of the prothrombin time. In this thesis, INR values measured from partially filled coagulation tubes were compared to those measured from full ones. The method in this study was quantitative and the research frame experimental.

The research material for this study was gathered from 37 voluntary clients receiving Warfarin therapy in the area of South Karelia Social and Health Care District. The subjects arrived for blood sampling on two research days. The samples were drawn from each of the 37 volunteers into two sodium citrate coagulation tubes so that one was partially filled and the other was full. The samples were divided into two groups, the full and partially filled coagulation tubes, and they were analyzed with the Thrombolyzer Compact XR analyzer.

The measured INR values were processed statistically by using the Excel program. On the basis of the results, it can be concluded that also the partially filled sodium citrate coagulation tubes are suitable for measuring the prothrombin time when the filling level is at least 50 %. The partially filled tube does not have a statistically significant influence on the INR value of the prothrombin time.

Language
Finnish

Pages 38
Appendices 5
Pages of Appendices 5

Keywords
sodium citrate, coagulation tube, thromboplastin time, INR value

Sisältö

Tiivistelmä

Abstract

1	Johdanto	5
2	Tromboplastiiniaika	7
2.1	Tromboplastiiniajan kliininen merkitys ja viitearvot	7
2.2	Preanalyttiset tekijät tromboplastiiniajan määrittämisessä	10
2.2.1	Asiakkaan ohjaus hyytymistutkimuksissa	11
2.2.2	Näytteenotto hyytymistutkimuksissa	12
2.2.3	Hyytymistutkimusnäytteiden säilytys	15
2.3	Tromboplastiiniajan mittausmenetelmä	16
2.4	Tromboplastiiniajan preanalyttiset virhelähteet	16
3	Laadunvarmistus hyytymistutkimuksissa	18
3.1	Sisäinen laadunohjaus	18
3.2	Ulkoisen laadunarviointi	19
4	Opinnäytetyön tarkoitus ja tehtävät	20
5	Opinnäytetyön menetelmälliset valinnat	20
5.1	Tutkimusmenetelmä	21
5.2	Tutkimuksen kohdejoukko ja aineiston keruu	21
5.3	Tutkimuksen toteutus	22
5.3.1	Näytteiden otto	22
5.3.2	Näytteiden käsittely	23
5.3.3	Näytteiden analysointi	24
5.4	Tutkimustulosten tilastollinen käsittely	25
5.4.1	Korrelaatio	26
5.4.2	Kahden otoksen keskiarvojen t-testi	26
6	Tutkimuksen tulokset	27
7	Pohdinta	29
7.1	Tutkimuksen luotettavuus	31
7.2	Tutkimuksen eettisyys	33
7.3	Jatkotutkimusaiheet	34
	Lähteet	36

Liitteet

Liite 1	Toimeksiantosopimus
Liite 2	Kontrollituoteseloste NKP
Liite 3	Kontrollituoteseloste OKP
Liite 4	Reagenssituoteseloste Owren's PT
Liite 5	Thrombolyzer-analysaattorin antamat tulokset

1 Johdanto

Varfariini on tällä hetkellä maailman käytetyin lääke oralisessa antikoagulantti-hoidossa (Horsti & Uppa 2006). Se tunnetaan paremmin lääkkeen kauppanimestä Marevan (Mustajoki & Kaukua 2008, 50–51). Vuonna 2003 Suomessa varfariinihoitoa sai 1,7 prosenttia koko väestöstä, ja potilaiden määrä nousee noin 10 prosenttia vuosittain väestön ikääntymisestä johtuen (Horsti & Uppa 2006). Lisäksi sairaalahoitoon joutuvista potilaista varfariinia käyttää yli 20 prosenttia (Armstrong & Lassila 2010).

Varfariini kuuluu kumariiniantikoagulaatioryhmän lääkkeisiin ja kaikki tämän ryhmän antikoagulantit ovat K-vitamiinin vastavaikuttajia. Niitä käytettäessä K-vitamiinista riippuvaisten hyytymistekijöiden, II:n (protrombiinin), VII:n, IX:n ja X:n, synteesi häiriintyy ja toiminta heikkenee. Samalla myös K-vitamiinista riippuvaisten luonnollisten antikoagulanttien, proteiini C:n ja proteiini S:n, synteesi estyy. (Mustonen & Lassila 2007.)

Varfariinin oikean annostelun määrittämiseen käytetään hyytymistekijöiden aktiivisuutta mittaavaa testiä eli tromboplastiiniaikaa. Testin on kehittänyt Armand Quick 1930-luvulla. (Horsti & Uppa 2006.) Tromboplastiiniajan tulos voidaan ilmoittaa prosentteina normaalista hyytymisaktiivisuudesta (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a). Oraalisen antikoagulanttihoiton yhteydessä käytetään kuitenkin tromboplastiiniajan INR-tulosmuotoa. Tämä yhtenäistää eri menetelmien tulos-tasot. (Mahlmäki 2004.)

INR tulee sanoista International Normalized Ratio (Mustajoki & Kaukua 2008, 50–51). INR:ssa potilaan plasmasta ja normaaliplasmasta mitattujen hyytymisaikojen suhde on korjattu kaupallisen reagenssin herkkyysindeksillä (ISI). ISI:llä (International Sensitivity Index) hyytymisaikojen suhde korjataan vastaamaan kansainvälistä tasoa. Oraalisen antikoagulanttihoiton seurantaan käytetään laboratorioissa yleensä hyytymisaikaa mittaavia laitteita, mutta nykyään on seurantaan saatavilla myös vieritestilaitteita (Mahlmäki 2004).

WHO eli Maailman terveysjärjestö antoi vuonna 1985 suosituksen INR-yksikön käyttöönotosta; hoitokäytännöt ja määrittymenetelmät olivat siihen asti hyvinkin vaihtelevia. Käyttöönotto on mahdollistanut sen, että potilaiden hoitosuositukset on voitu yhdenmukaistaa kaikkialla maailmassa. Suomessa INR-yksikkö otettiin laboratorioiden käyttöön vuonna 2001. (Horsti & Uppa 2006.)

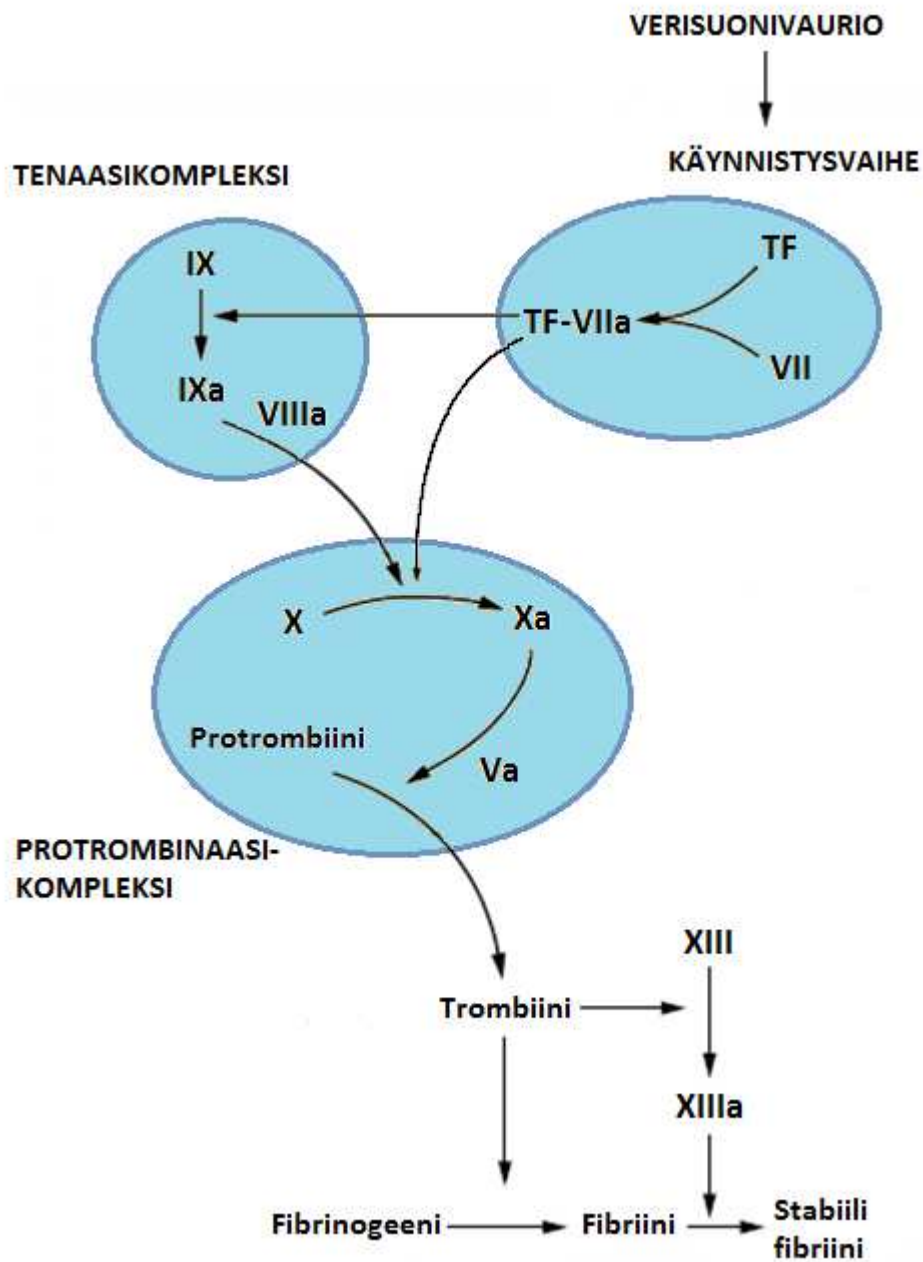
Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia, vaikuttaako näytteenotossa natrium-sitraattia sisältävän hyytymistutkimusputken vajaaksijääminen INR-arvoon tromboplastiiniaikaa mitattaessa. Hyytymistutkimusnäytteitä otettaessa on huolehdittava hyvästä preanalytiikasta (Mahlamäki 2004). Tromboplastiiniaika on näytteenotosta lähtien vaativa määrittäminen ja preanalyttisten tekijöiden vaikutus on korostunut (Horsti 2001). Hyvillä preanalyttisillä tekijöillä, kuten potilaan ohjauksella ja laadukkaalla näytteenotolla, varmistetaan hyvät edellytykset koko tutkimusprosessille (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 12–13). Tutkimuksen toimeksiantajana toimi Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveyspiirin laboratoriokeskus ja tutkimuksen toteuttamispaikkana oli Parikkalan terveysaseman laboratorio (liite 1).

2 Tromboplastiiniaika

Varfariinihoidon laboratorioseurannassa käytetään tromboplastiiniajan määrittämisen INR-tulosmuotoa. Siinä potilaan plasmasta ja normaaliplasmasta mitattu hyytymisaikojen suhde korjataan kaupallisen reagenssin herkkyysindeksillä ISI:llä. Näin tulos saadaan vastaamaan kansainvälisellä vakio-reagenssilla saatavaa tulosta ja tulostasoa yhdenmukaistettua, vaikka määritykset tehtäisiin eri valmistajien reagensseilla. (Mahlamäki 2004.)

2.1 Tromboplastiiniajan kliininen merkitys ja viitearvot

Tromboplastiini on eri kudosten pinnalla oleva pintaproteiini, josta hyytymisjärjestelmän aktivoituminen alkaa verisuonen seinämän vaurioituessa (Mahlamäki 2004). Veren hyytymisjärjestelmän tarkoituksena on pyrkiä pysäyttämään verisuonivauriosta syntynyt vuoto, rajoittamaan muodostuva hyytymä paikalliseksi ja näin ollen estämään tulpan syntyä verisuoneen. Tähän tarvitaan monia tekijöitä: trombosyyttejä, verisuonen seinämän tekijöitä, plasman hyytymisjärjestelmää ja fibrinolyttistä järjestelmää. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a.) Kuviossa 1 on esitetty veren hyytymisjärjestelmän eri vaiheet.



Kuvio 1. Veren hyytymisjärjestelmän aktivaatio (Ari Palomäen kuvan pohjalta).

Hyytymisjärjestelmän aktivoituminen alkaa kudostekijän, tromboplastiinin, ja veren hyytymistekijöiden päästessä kosketuksiin toistensa kanssa. Hyytymisjärjestelmässä tärkeä entsyymi on trombiini, joka muun muassa aktivoi hyytymistekijöitä XI, V ja VIII. (Mahlamäki 2004.)

Aluksi aktiivinen hyytymistekijä VII (VIIa) sitoutuu kudostekijään TF. TF/VIIa-kompleksi aktivoi tekijät IX ja X. Tämän seurauksena IXa yhdessä kofaktorinsa

VIII:n kanssa muodostaa tenaasikompleksin. Tenaasikompleksi aktivoi myös tekijää X. Tämän jälkeen Xa ja sen kofaktori Va muodostavat protrombiinia aktivoivan protrombinaasikompleksin. Lopputuloksena syntyy aktiivista trombiinia, joka muuttaa fibrinogeenin fibriiniksi. Vielä lopuksi fibriini muuttuu stabiiliksi XIII:n vaikutuksesta. Tätä kudostekijän ja VII:n kautta käynnistyvää hyytymisjärjestelmän aktivoitumista kutsutaan ulkoiseksi reitiksi. Se on elimistön kannalta tärkeämpi kuin sisäinen aktivaatioreitti. Sisäisen reitin kautta tapahtuvaa hyytymisen aktivoitumista kutsutaan kontaktiaktivaatioksi. (Mahlamäki 2004.) Siihen kuuluvat hyytymistekijät XII, XI, X, IX, VIII ja V (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a). Sisäinen reitti aktivoituu veren joutuessa kosketuksiin vaurioituneen suonen kollageenisyiden kanssa (Bjälje, Haug, Sand, Sjaastad & Toverud 2007, 279).

Tromboplastiiniaikaa käytetään mittaamaan ulkoisen hyytymisjärjestelmän tekijöitä. Suomessa on käytössä Owren-menetelmä, joka mittaa maksasyntyisten, K-vitamiiniriippuvaisten hyytymistekijöiden II (protrombiini), VII ja X yhteisvaikutusta. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a.) Antikoagulanttihoitona käytettävä varfariini estää näiden K-vitamiinista riippuvien hyytymistekijöiden lisäksi hyytymistekijän IX synteesiä (Fimea 2008). Varfariinia käyttävät potilaat, joilla esiintyy veritulppia alaraajojen laskimoissa tai sydämen sisällä, esimerkiksi sydämen eteisvärinän tai keinoläpän takia. Tarkoituksena on estää veritulppien muodostuminen, mutta samanaikaisesti pitää hyytymistaipumus kuitenkin niissä rajoissa ettei vuotoja esiinny. (Mustajoki & Kaukua 2008, 50–51; Nurminen 2011, 229–231.) Antikoagulaatiohoidon tasoa seurataan hyytymistutkimuksilla, joissa varfariinia käyttävät asiakkaat käyvät säännöllisesti (Mustajoki & Kaukua 2008, 50–51).

Tromboplastiiniaikaa käytetään hyytymishäiriöiden seulonnassa, korvaushoitosten seurannassa ja maksan toiminnan tutkimisessa. Tromboplastiiniajan tulos voidaan ilmoittaa prosentteina normaalista hyytymisaktiivisuudesta, jolloin viiteväli on 70–130 prosenttia. Oraalisen antikoagulanttihoitoon yhteydessä käytetään kuitenkin tromboplastiiniajan INR-tulosmuotoa. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a.) Terveen, antikoagulanttihoitoa saamattoman henkilön INR-arvo voi vaihdella välillä 0,7–1,2. Tavoitteena laskimotukosten ehkäisyssä ja eteisväri-

nässä on, että INR-arvo saadaan pysymään tasolla 2–3. Jos henkilölle on asennettu sydämeen keinoläppä, INR-arvo pyritään pitämään tasolla 2,5–3,5. (Mustajoki & Kaukua 2008, 50–51.)

2.2 Preanalyttiset tekijät tromboplastiiniajan määrittämisessä

Laboratoriotutkimusprosessissa erotetaan preanalyttinen, analyttinen ja postanalyttinen vaihe. Preanalyttinen vaihe alkaa aina tutkimuksen tarpeen toteuttamisella. Tämän jälkeen potilaalle määrätään tutkimukset, joista tieto välittyy laboratorioille. Potilasta ohjataan näytteenottoon liittyvissä esivalmisteluissa, jotka riippuvat otettavista näytteistä. Loput preanalyttisen vaiheen osa-alueet ovat näytteenotto, näytteen säilytys ja mahdollinen kuljetus sekä näytteiden esikäsittely kunkin näytteen vaatimalla tavalla. (Tuokko ym. 2008, 7–12; Tuokko 2010.)

Analyttisessä vaiheessa jokainen näyte analysoidaan eli tutkitaan testattua, hyväksyttyä menetelmää ja laitteistoa apuna käyttäen. Postanalyttisessä vaiheessa näytteen analysoinnin jälkeen arvioidaan, onko analyttinen vaihe onnistunut ja tulos luotettava. Kun nämä asiat on hyväksytty, laboratorio välittää vastauksen tilaajalle. Analysoitua näytettä säilytetään määrääjän mahdollisia uusinta- tai jatkotutkimuksia varten. (Tuokko ym. 2008, 12–13.)

Preanalyttisen vaiheen ongelmat muodostavat isoimman osan mittausepävarmuuteen vaikuttavista tekijöistä. Tämä johtuu niin yksilöiden välisistä eroista kuin edellä mainituista preanalyttisen vaiheen osa-alueiden puutteellisuuksista tai virheellisyyksistä. (Tuokko 2010.) Hyytymistutkimusnäytteitä otettaessa on huolehdittava hyvästä preanalytiikasta (Mahlamäki 2004). Tromboplastiiniaika on näytteenotosta lähtien vaativa määrittäminen, ja preanalyttisten tekijöiden vaikutus on korostunut (Horsti 2001). Kudostekijän joutumista näytteeseen, hyytymisjärjestelmän aktivoitumista ja plasman solukontaminaatiota pyritään välttämään (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a). Hyvillä preanalyttisillä tekijöillä, kuten potilaan ohjauksella ja laadukkaalla näytteenotolla, varmistetaan hyvät edellytykset koko tutkimusprosessille (Tuokko ym. 2008, 12–13).

2.2.1 Asiakkaan ohjaus hyytymistutkimuksissa

Asiakkaan on mahdollista saada kirjalliset ohjeet laboratorion Internet-sivuilta. Ohjeet saattavat löytyä myös laboratorion Internet-sivuilta. Ohjauksella pyritään varmistamaan se, että potilaan tilasta saadaan mahdollisimman luotettava kuva. Monet preanalyttiset tekijät ovat asiakkaasta johtuvia. (Tuokko ym. 2008, 8–9.) Esimerkiksi ateriointi, kahvi, alkoholi ja tupakointi voivat vaikuttaa laboratoriotutkimusten tuloksiin (Seppälä 2010). Nautitulla ravinnolla voi olla vaikutuksia mittavan aineen pitoisuuteen elimistössä ja siten myös tutkimuksen tulokseen. Mitattavan aineen pitoisuus voi nousta tai laskea, tai näytteessä voi ilmetä ravinnosta johtuvaa samentumista. Kahvin kofeiini aiheuttaa muun muassa plasman kortisolipitoisuuden nousua ja lisää adrenaliinin ja noradrenaliinin eritystä. Tupakointi muuttaa monien mitattavien aineiden pitoisuutta elimistössä. Esimerkiksi veren glukoosipitoisuus voi nousta, pääosin tupakan sisältämän nikotiinin vaikutuksesta. (Tuokko ym. 2008, 22–23.) Myös ruumiillista rasitusta on vältettävä ennen laboratorionkokeita (Seppälä 2010). Fyysinen rasitus muun muassa muuttaa plasmatilavuutta ja aineenvaihduntaa, jolla voi olla vaikutusta eri tutkimuksen tuloksiin (Tuokko ym. 2008, 24).

Näytteet tromboplastiiniaika-tutkimusta varten pyritään ottamaan aamulla kevyen aamupalan jälkeen, joten asiakkaan ei siis välttämättä tarvitse paastota. Kuitenkin näytteenottoa edeltävänä vuorokautena tulisi välttää tupakointia, alkoholia sekä ruumiillista rasitusta. (Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin kuntayhtymän laboratoriolikelaite 2011.) Alkoholin vaikutus laboratoriotutkimusten tuloksiin on yhteydessä kerralla nautitun alkoholin määrään ja käyttöiheyteen pidemmällä aikavälillä. (Tuokko ym. 2008, 23). Yksi tai kaksi annosta alkoholia ei tervemaksaisella henkilöllä vielä vaikuta varfariinin tehoon, mutta suuret alkoholimäärät, etenkin maksan toiminnan ollessa häiriintynyt, voivat lisätä varfariinin antikoagulanttivaikutusta sekä aiheuttaa verenvuotoa (Neuvonen 2003). Akuutit tilanteet, kuten vuodot ja infektiot, ja hemostaasiin vaikuttava lääkitys vaikuttavat tulokseen, joten tulosten tulkitsijalla tulisi olla näistä mahdollisimman tarkat tiedot (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a).

2.2.2 Näytteenotto hyytymistutkimuksissa

Hyytymistutkimusten näytteenotossa noudatetaan näytteenoton yleisiä esivalmisteluohjeita (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a). Näytteenottaja varmistaa potilaan henkilöllisyyden niin, että potilas antaa itse henkilötietonsa. Lisäksi näytteenottaja varmistaa, että potilas on noudattanut tutkimusten edellyttämiä esivalmisteluohjeita. Näiden lisäksi näytteenotossa tulee muistaa hyvä käsihygieniä ja suojakäsineiden käyttö. (Tuokko ym. 2008, 37–38.)

Staasin eli puristussiteen käyttö hyytymistutkimusten näytteenotossa tulisi olla mahdollisimman vähäistä, korkeintaan minuutti (Horsti 2001). Hyytymistutkimukset suositellaankin otettavaksi ilman staasia (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a). Jos staasia kuitenkin tarvitaan, sen käyttö tulee rajoittaa vain laskimon etsimiseen (Tuokko ym. 2008, 41–42). Hyytymisnäytteiden otossa on myös tärkeää, että näytteenotossa käytetään tarpeeksi isoa neulaa. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a). Ideaali neulan koko on 19G–21G, mutta pienempiä neuloja voidaan joutua käyttämään esimerkiksi lapsilla. Pienemmät kuin 25G:n kokoiset neulat voivat aiheuttaa näytteeseen hemolyyysiä tai aktivoida verihiutaleita eli trombosyyttejä, jolloin hyytymistutkimusten tulokset voivat olla virheellisiä. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.) Esimerkiksi 21G-kokoisen neulan halkaisija on 0,8 mm (Greiner Bio-One 2012).

Kunhan näyteputki täyttyy vaivatta, ei ole väliä, käytetäänkö vakuumi-, siipi- vai avoneulaa (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a). Siipineulan soveltuvuutta hyytymistutkimuksiin on tutkittu monesti. Korkea hinta ja epäilyt näytteen edustavuudesta ovat rajoittaneet siipineulan käyttöä näytteenotossa. Laboratoriotulosten preanalyttisten tekijöiden vaikutusten selvittäminen on hyvin tärkeää. (Saarela 2008.) Clinical and Laboratory Standards Instituten standardin mukaan siipineulaa voidaan käyttää hyytymistutkimusten näytteenotossa varsinkin lapsilla ja asiakkailta, joilla on ohuet suonet. Siipineulaa tulee kuitenkin käyttää varauksella, sillä pienikokoinen neula ja pitkä letku voivat aiheuttaa hyytymisen aktivoinumisen. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.) Vuonna 2005 tehdystä italialaisesta tutkimuksesta vertailtiin siipineulan käyttöä normaaliin vakuumineulan käyttöön rutiinihyytymistutkimuksissa. Tutkimukseen osallistui 30

vapaaehtoista. Siipineulan letkun pituutena oli 300 mm ja kummankin neulan kokona 21G. Tutkimuksissa saatujen tulosten välillä ei ollut merkittäviä eroja. (Lippi, Salvagno & Guidi 2005.)

Myös Metropolian ammattikorkeakoulun opinnäytetyönä on tutkittu siipineulan soveltuvuutta hyytymistutkimuksiin. Tutkimukseen osallistui 43 vapaaehtoista. Heiltä otettiin näytteet molemmista käsivarsista: toisesta 21G:n kokoisella vakuuineulalla ja toisesta 21G:n kokoisella siipineulalla. Siipineulanäytteenotossa käytettiin kahden eri valmistajan siipineuloja, joiden materiaalit olivat samat ja letkujen pituudet 300 mm. Mittausten perusteella siipineulatekniikalla otettujen näytteiden tulokset olivat yhdenmukaisia vakuuineulatekniikalla otettujen kanssa. Tutkimuksien tulokset siis tukivat Italiassa tehdyn tutkimuksen tuloksia. (Saarela 2008.)

Hyytymistutkimusnäytteet otetaan ja säilytetään putkissa, joissa ei ole hyytymisjärjestelmää aktivoivaa pintaa. Tämä on ratkaistu sillä, että lasiputket on käsitelty silikonilla ja muoviputket esimerkiksi polypropeenilla. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.) Fiehig, Etzell ja Ng (2005) vertailivat tekemässään tutkimuksessa tromboplastiiniaikoja ja INR-arvoja verinäytteistä, jotka oli otettu lasisiin ja muovisiin näyteputkiin. He keräsivät 60 laskimoverinäytettä 4,5 ml:n lasiputkiin ja kahteen tilavuudeltaan erilaiseen (2,7 ja 3,5 ml) muoviputkeen. Lisäksi he keräsivät 153 näytettä, joista 63 oli varfariinia saavilta potilailta. Nämä lisänäytteet otettiin samoihin lasiputkiin ja 2,7 ml:n muovinäyteputkiin. Tromboplastiiniajat ja INR:t analysoitiin laboratorion rutiinikäytäntöjä hyödyntäen. Tromboplastiiniajat ja INR:t olivat merkittävästi alhaisempia muovisissa näyteputkissa kuin lasinäyteputkissa. Muovinäyteputkien INR-arvoista puolet oli enemmän kuin 10 prosenttia alhaisempia kuin lasisten näyteputkien INR-arvot. Heidän löydöksensä osoittavat, että putken materiaali voi vaikuttaa tromboplastiinaikaan ja INR-arvoon muiden preanalyttisten tekijöiden, kuten sitraattipitoisuuden ja putken täyttöasteen, tavoin. (Fiehig, Etzell & Ng 2005.)

Hyytymistutkimusnäytteitä varten suositellaan käytettävän 109 mM (3,2 %) natrium-sitraattia sisältäviä hyytymistutkimusputkia. Myös 129 mM (3,8 %) natrium-sitraattia sisältäviä putkia voidaan käyttää, mutta laboratorion on valittava vain

toinen sitraattipitoisuus, sillä tulokset voivat vaihdella kahden pitoisuuden välillä. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.) Adcock, Kressin ja Marlar (1998) tutkivat näytemäärän vaikutuksia rutiinihyytymistutkimuksiin, tromboplastiiniaikaan (TT) ja aktivoituun partiaaliseen tromboplastiiniaikaan (APTT), sekä vertailivat kahta sitraattikonsentraatiota (3,8 % ja 3,2 %). Putken vajaaksijääminen saattaa vaikuttaa merkittävästi APTT:n ja TT:n tuloksiin pitkittämällä hyytymisaikoja.

Tutkimuksen näytteet otettiin terveiltä henkilöiltä ja antikoagulanttihoitoa saavilta potilailta. Tutkimuksessa käytettiin standardin mukaisia näyteputkia, joiden sitraattipitoisuudet olivat 3,2 % ja 3,8 %. Putket täytettiin vaihtelemalla näytemäärää 3,0 ml:sta 5,0 ml:aan ja hyytymistutkimusten tuloksia vertailtiin. Tromboplastiiniajan tuloksissa oli tilastollisesti merkittävä ero eri sitraattipitoisuuksilla. Käytettäessä 3,8 %:sta natrium-sitraattia tuloksissa oli merkittävä ero, kun arvot mitattiin putkista, joiden täyttöasteet olivat 80 % ja 100 %. Tämä vaikutus oli vähemmän korostunut, kun näytteet otettiin 3,2 %:sta natrium-sitraattia sisältäviin putkiin. Tromboplastiiniajan tuloksissa ei ollut merkittäviä eroja, kun 3,2 %:sten natrium-sitraattiputkien täyttöasteet olivat 60 % ja 100 %. Tutkimus siis tukee suositusta 3,2 % natrium-sitraatin käytöstä. (Adcock ym. 1998.)

Clinical and Laboratory Standards Instituten standardin mukaan hyytymistutkimusnäytteiden tuloksissa ei ole eroa, otetaanko näyteputki ensimmäisenä putkena vai hukkaputken jälkeen. Hukkaputki on kuitenkin otettava, jos käytössä on siipineula. Siipineulan letkun sisältämä ilma saa muutoin putken jäämään vajaaksi. Kun näyteputkissa on oikea määrä verta, antikoagulantin ja veren suhde on oikea. Jos putki jää liian vajaaksi, putkien sisältämä sitraatti laimentaa näytettä liikaa. Puolestaan liian täydessä putkessa hyytyminen saattaa käynnistyä. Jo vähäinen hyytymien muodostus kuluttaa hyytymistekijöitä ja aiheuttaa virheellisen tuloksen. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.)

Putkea on käännettävä välittömästi näytteenoton jälkeen putkivalmistajan ohjeiden mukaisesti, jotta estettäisiin hyytymien muodostuminen näytteessä. Hyytymisputkea ei saa kuitenkaan laittaa putkisekoittajalle, koska liiallinen käsittely saattaa aktivoida joitakin hyytymistekijöitä. Näytteenottajalla on vastuu huoleh-

tia, että näytteet ovat laadukkaasti otettuja. Hyytymistutkimusputki ei saa olla liian vajaa tai liian täysi, eikä näyte hyytynyt, sillä silloin näyte ei kelpaa analysoitavaksi. Kahta vajaata hyytymistutkimusputkea ei saa koskaan yhdistää, koska veren ja antikoagulantin suhde muuttuu vääräksi. Hyytymistutkimusnäyte otetaan aina suoraan hyytymistutkimusputkeen, eikä putkea koskaan täytetä toisesta putkesta. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.)

2.2.3 Hyytymistutkimusnäytteiden säilytys

Näytteet on toimitettava laboratorioon mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen, sillä jotkin näytteet vaativat nopeaa esikäsittelyä tai analysointia. Lisäksi näytteenottajan on otettava selvää, vaaditaanko näytteiden toimituksessa erikoisolosuhteita. Näytteen kuljetus on tehtävä niin, että näytteessä näytteenoton jälkeen tapahtuvat muutokset jäisivät mahdollisimman pieniksi. (Tuokko ym. 2008, 114.)

Näytteessä tapahtuvat muutokset johtuvat pääosin tietyistä fysikaalisista ja kemiallisista perusilmiöistä. Hyytymistutkimusnäytteiden kohdalla plasmassa olevat proteiineja hajottavat entsyymit, proteaasit, saattavat alentaa hyytymistekijöitä, jos näytettä säilytetään liian kauan analysoimatta. (Tuokko ym. 2008, 114–117.) Näytteitä voidaan säilyttää joko sentrifugoimattomina tai sentrifugoituina ja erottelemattomina avaamattomissa putkissa huoneenlämmössä jopa vuorokauden ajan näytteenotosta. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.) Hyytymistutkimusnäyte on kuitenkin hyvä analysoida mahdollisimman nopeasti. Hyvänä yleissääntönä voidaan pitää, että hyytymistutkimusnäyte säilyy huoneenlämmössä kaksi tuntia. (Wartivaara-Kautto 2003.) Tromboplastiiniaikatutkimusten näytteitä ei suositella säilytettävän kylmässä tekijän VII aktivoitumisen takia (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008).

Hyytymistutkimusmääritykset on hyvä kuitenkin tehdä mahdollisimman nopeasti näytteenoton jälkeen. Tarvittaessa näyte voidaan myös erotella ja pakastaa (-20 °C) säilyvyyden parantamiseksi. Jäätynyt plasmanäyte on sulatettava nopeasti 37 °C:ssa, minkä jälkeen sitä sekoitetaan hellävaroin ja analysoidaan välittö-

mästi. Tutkivan laboratorion ohjeita on syytä noudattaa näytteiden säilyttämisen suhteen. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008.)

2.3 Tromboplastiiniajan mittausmenetelmä

Hyytymistutkimuksia suoritetaan mittaamalla kokoveren tai plasman hyytymisaikaa vakioituissa olosuhteissa. Voidaan mitata joko hyytymisjärjestelmän eri vaiheiden tai yksittäisten hyytymistekijöiden aktiivisuutta. (Mahlamäki 2004.) Tromboplastiiniajalla mitataan ulkoisen hyytymisjärjestelmän tekijöitä (Joutsikorhonen & Koski 2010a).

Suomessa laboratorioden tromboplastiiniaika-määritys tehdään Owren-menetelmällä sitraatti-antikoaguloidusta verinäytteestä erotetusta plasmasta. Owren-menetelmässä hyytymisaika on riippuvainen näytteen hyytymistekijöiden II-, VII- ja X-aktiivisuuksista. (Joutsikorhonen & Koski 2010b.) Pohjoismaissa käytettävään Owren-menetelmään näytteen sitraattipitoisuus ei vaikuta, mutta muualla maailmassa käytettyyn Quick-menetelmään sitraattipitoisuus vaikuttaa merkittävästi (Horsti 2001).

Hyytymistutkimukset tehdään kliinisissä laboratorioissa yleisimmin automatisoiduilla hyytymisaikaa mittaavilla laitteilla. Jotkin laitteet toteavat hyytymän mekaanisesti. Tällöin metallikuulan liike muuttuu magneettikentässä hyytymän muodostuessa, ja muutos rekisteröidään sähköisessä muodossa. Toiset laitteet puolestaan mittaavat hyytymän syntymistä optisesti. Tässä tapauksessa hyytymisen kinetiikkaa voidaan tarkastella kuvaajasta, jonka laite on tallentanut. Laitteista osa on täysautomaatteja, jolloin eri menetelmille muodostetaan vakiokuvaajat ja tulokset voidaan tulostaa halutussa yksikössä. (Mahlamäki 2004.)

2.4 Tromboplastiiniajan preanalyttiset virhelähteet

Hyytymistutkimuksissa, kuten muissakin tutkimuksissa, on monia virhelähteitä. Kaikissa tutkimuksissa on tavoitteena, että tutkimustulos kuvastaisi potilaan

elimistön tilaa mahdollisimman hyvin näytteenottohetkellä. Näytteessä tapahtuvat muutokset alkavat heti näytteenoton jälkeen ja jatkuvat analysointiin asti. Tästä syystä olosuhteet on järjestettävä niin, että muutosten vaikutukset jäävät mahdollisimman pieniksi. (Tuokko ym. 2008, 114.) Hyytymisjärjestelmä aktivoituu helposti verinäytettä otettaessa. Jotta saataisiin luotettavia tuloksia hyytymistutkimusnäytteiden osalta, on kiinnitettävä erityistä huomiota preanalytiikkaan. (Mahlamäki 2004.)

Kuten kaikkien laboratoriotutkimusten osalta myös hyytymistutkimuksia otettaessa on potilaan istuttava 15 minuuttia ennen näytteenottoa elintoimintojen tasaamiseksi. Fyysinen rasitus muuttaa tutkimusten tuloksia. (Tuokko ym. 2008, 24.) Fyysisellä rasituksella on useita vaikutuksia sekä kliinisen kemian että hematologian tutkimuksiin. Se voi esimerkiksi aiheuttaa muutoksia ihmisen aineenvaihdunnassa sekä vaikuttaa merkittävästi hormonitasoihin. (Seppälä 2010.) Hyytymistutkimusten osalta rasitus esimerkiksi nostaa hyytymistekijä VIII:n pitoisuutta ja aktivoi fibrinolyysiä (Mahlamäki 2004).

Suosituksena on, ettei laskimoverinäytettä saisi ottaa mustelmaisesta suonesta. Mustelman kohdalla veren hyytymisjärjestelmä on käynnistynyt ja hyytymistekijät aktivoituneet. Tästä johtuen hyytymistutkimuksissa voidaan saada virheellisiä tuloksia. Myöskään tulehtuneesta suonesta, turvonneesta käsivarresta tai raajasta, jossa on infuusio meneillään, ei saa ottaa laskimoverinäytteitä. Näissä kohdissa on joko kudostekijä tai infuusiona olevaa ainetta, jotka laimentavat näytettä ja antavat liian alhaisia tuloksia. (Rautajoki 1998, 41.) Kun neula läpäisee verisuonen seinämän, tapahtuu heti erilaisia muutoksia: kudostekijää vapautuu ja trombosyytit sekä hyytymistekijät aktivoituvat. Näin ollen samasta suonesta ei voida ottaa uudestaan näytettä, jos ensimmäisellä kerralla on epäonnistuttu. (Wartiovaara-Kautto 2003.)

Hyytymistutkimusten näytteenotossa liiallinen staasin käyttö aktivoi eri tekijöitä, jonka takia tulos muuttuu virheelliseksi (Mahlamäki 2004). Pistämisen on onnistuttava ja näyteputken on täyttyävä vaivattomasti ja merkkiviivaan asti, jolloin antikoagulantin ja veren suhde on oikea. Hyytymien muodostuminen aiheuttaa

väärän tuloksen hyytymistekijöiden kuluessa, joten näytettä on sekoitettava huolellisesti heti putken ollessa täynnä. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010a.)

Jos näyte täytyy kuljettaa toiseen laboratorioon, on otettava selvää, minkälaiset kuljetusolosuhteet näyte vaatii. Kuljetuksessa ja näytteen säilyttämisessä on omat virhelähteensä. Näytteen säilyttäminen ja lähettäminen oikeassa lämpötilassa on oleellista oikeiden tulosten saamiseksi. Hyytymistutkimusnäytteitä suositellaan säilytettävän ja lähetettävän huoneenlämmössä hyytymistekijöiden aktivoitumisen takia. Lisäksi on otettava huomioon näyteputkien pakkaus niin, että ne eivät pääse kolhimaan toisiaan, sekä vältettävä näyteastioiden voimakasta tärinää, joka lisää hemolysoitumisriskiä. (Tuokko ym. 2008, 114–117.)

3 Laadunvarmistus hyytymistutkimuksissa

Kansainvälisesti ja kansallisesti hyväksytyt standardit ja suositukset ohjaavat laboratoriotoimintaa. SFS-EN ISO 15189 -standardissa on määritetty laatu- ja pätevyysvaatimukset kliiniselle laboratoriotoiminnalle. (Tuokko ym. 2008, 126–127.) Laatu laboratorioprosessissa on laaja kokonaisuus, ja se koostuu useista elementeistä. Tärkeimmät lopputulokseen vaikuttavat tekijät ovat osaavan henkilökunnan ja laadukkaan näytteen jälkeen myös analysoinnissa tarvittavat reagenssit ja laitteet. (Liimatainen 2010.) Laadunvarmistus jaetaan sisäiseen laadunohjaukseen ja ulkoiseen laadunarviointiin (Penttilä 2004).

3.1 Sisäinen laadunohjaus

Sisäinen laadunohjaus on laboratorion sisällä tapahtuvaa jatkuvaa menetelmien tulostason ja toistuvuuden kontrollointia (Törmä 2003). Se on osa jokaista laboratoriomenetelmän suorittamista. Laboratoriot tutkivat jatkuvasti omien menetelmiensä tasoa sekä omilla että kaupallisilla näytteillä. (Penttilä 2004.) Kontrollinäytteet ovat näytteitä, joiden pitoisuus on tunnettu (Jaarinen & Niiranen 2005, 25). Kontrolleja voidaan määrittää kuukausittain, viikoittain, päivittäin ja tarvitta-

essa useamminkin näytemääristä riippuen. Niitä voi olla joko yksi tai useampia. Lisäksi niiden käyttöä voidaan varioida laajastikin. (Törmä 2003.)

Päivittäinen laboratoriotutkimusten laadunvalvonta kuuluu jokaiselle laboratoriolle ja siihen on sovittu laboratoriokohtaiset menettelytavat. Sisäisellä laadunohjauksella valvotaan laitteiden, reagenssien ja jopa koko prosessin toimivuutta. Poikkeaviin tuloksiin reagoidaan välittömästi ja ryhdytään tarvittaviin toimenpiteisiin. (Liimatainen 2010.)

MediRoxin NKP- ja OKP-kontrolleilla seurataan hyytymisanalyysien laatua. Liitteissä 2 ja 3 on esitelty kontrollituoteselosteet. NKP-kontrolli on pakastekuivatua, sitraatti-antikoaguloitua humaaniplasmaa, ja sen tromboplastiiniajan tulokset vastaavat normaalin, antikoagulanttihoitoa saamattoman henkilön arvoja, eli INR on 0,90–1,20. OKP-kontrolli on pakastekuivattu valmiste, joka sisältää sitraatti-antikoaguloitua humaaniplasman lisäksi naudan plasman proteiini-komponentteja. OKP-kontrollin viitealue on NKP-kontrollin viiterajoja korkeampi, noin 2,3–2,9.

3.2 Ulkoinen laadunarviointi

Ulkoinen laadunvarmistus on sellaisten näytteiden ja valmisteiden tutkimista, joiden tuloksia määrittävä laboratorio ei tiedä (Penttilä 2004). Tätä laboratorion ulkopuolelta organisoitua toimintaa hoitaa Suomessa Labquality Oy. Labquality Oy:n toiminnan tarkoituksena on luoda kansallisesti sekä kansainvälisesti yhteinäiset tulostasot analyyseille, jos yhteisesti sovitut kalibrointitavat antavat siihen edellytykset. (Törmä 2003.)

Ulkoista laadunarviointia ovat esimerkiksi Labquality Oy:n järjestämät lyhytjaksot kierrokset (Penttilä 2004). Laboratoriot voivat halutessaan osallistua näille Labqualityn järjestämille laadunarviointikierroksille. Tromboplastiiniajan e-kierros järjestetään neljä kertaa vuodessa: helmi-, touko-, elo- ja marraskuussa. Näytteinä on kaksi antikoaguloitua plasmanäytettä (à 0,5–1 ml). Laboratoriot analysoivat näytteet kuten tavalliset potilasnäytteet ja vastaavat tulokset Labqu-

alityn Internet-sivuilla. Labquality raportoi kierroksen tulokset laboratoriolle. (Labquality 2011.) Laboratorio voi näin päätellä omien menetelmiensä tasoa vertailemalla tuloksiaan muiden saamiin tuloksiin sekä kotimaisella että kansainvälisellä tasolla (Penttilä 2004).

4 Opinnäytetyön tarkoitus ja tehtävät

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia, vaikuttaako näytteenotossa natriumsitraattia sisältävän hyytymistutkimusputken vajaaksijääminen INR-arvoon tromboplastiiniaikaa mitattaessa.

Opinnäytetyön tutkimusongelma:

- Eroaako vajaasta hyytymistutkimusputkesta mitattu tromboplastiiniajan INR-arvo täydestä hyytymistutkimusputkesta mitatusta tromboplastiiniajan INR-arvosta?

5 Opinnäytetyön menetelmälliset valinnat

Tutkimuksen tekeminen alkaa valintojen ja päätösten tekemisellä. Niitä on monenlaisia, ja tutkija toimii valintojen tekijänä. On pohdittava, mitä tulisi tutkia, minkälainen aineisto tulisi kerätä ja mitä lähestymistapaa käytetään. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2009, 123.) Tässä kappaleessa esitellään tutkimusmenetelmä, tutkimuksen kohdejoukko ja miten aineisto kerättiin sekä miten tutkimuksen toteutus tapahtui.

5.1 Tutkimusmenetelmä

Tutkimus oli kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus. Menetelmänä se antaa yleisen kuvan muuttujien eli mitattavien ominaisuuksien välisistä eroista ja suhteista. Kvantitatiivisen tutkimuksen avainsanoja ovat esimerkiksi objektiivisuus eli tutkijan puolueettomuus ja mittari, jonka avulla saadaan määrällinen tieto tutkittavasta asiasta. (Vilkkä 2007, 13–14.) Kvantitatiivinen tutkimus edellyttää riittävän suurta sekä edustavaa otosta. Tyypillistä on asioiden kuvaaminen numeerisesti suureiden avulla ja tuloksien havainnollistaminen taulukoin ja kuviin. (Heikkilä 2008, 16.) Määrällisessä tutkimuksessa olennaista on, että tulokset esitetään numeroina, esimerkiksi tunnuslukuina, mutta ne selitetään sanallisesti (Vilkkä 2007, 14).

Tutkimuksessa oli kyse kokeellisesta tutkimuksesta, jonka periaatteena oli tutkia jonkin tietyn oletuksen paikkansapitävyyttä erityisessä koetilanteessa (ks. Heikkilä 2008, 21.) Tutkimus oli kokeellinen tutkimus, koska tutkimuksessa verrattiin vajaasta natrium-sitraattiputkesta mitattua tromboplastiiniajan INR-arvoa täydestä natrium-sitraattiputkesta mitattuun arvoon. Tyypillistä kokeelliselle tutkimukselle onkin, että muuttujan vaikuttaman koeryhmän tuloksia verrataan vertailuryhmään (Heikkilä 2008, 21).

5.2 Tutkimuksen kohdejoukko ja aineiston keruu

Tutkimuksen perusjoukkona oli Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden Parikkalan kunnan alueella asuvat varfariinihoitoa saavat henkilöt, joille oli määrätty tarvittavat laboratoriotutkimukset, ja jotka käyvät säännöllisesti laboratoriossa INR-mittauksissa. Perusjoukko on siis tutkittava kohdejoukko, josta halutaan tietoa. Perusjoukko oli kuitenkin liian suuri tutkittavaksi kokonaisuudessaan, ja jotta kaikista henkilöistä olisi saatu tarvittavat näytteet, aikaa olisi kulunut liikaa. Lisäksi mittausten suorittaminen olisi ollut liian suuri yhden ihmisen tehtäväksi. Näin ollen päädyttiin otantatutkimukseen. (ks. Heikkilä 2008.)

Otoksen on oltava edustava pienoiskuva perusjoukosta, ja sen on vastattava perusjoukkoa tutkittavien ominaisuuksien osalta, jotta tutkimuksen tulokset olisivat luotettavia. Otanta tulee olla satunnaistettu ja otokseen tulevien yksiköiden tulee määräytyä sattumanvaraisesti. Näin ollen mahdollistetaan harhattomien tulosten saanti. (Heikkilä 2008.) Tämän tutkimuksen otantakooksi suunniteltiin 30 asiakasta, mutta lopulliseksi otoskooksi saatiin kuitenkin 37 asiakasta. Tutkimukseen otettiin mukaan ne, jotka tulivat tutkimusnäytteiden ottopäivänä laboratorioon INR-kokeeseen ja antoivat suullisen suostumuksensa näytteiden käytöstä tutkimuksessa.

5.3 Tutkimuksen toteutus

Tutkimuksen toteutuspaikkana toimi Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden kuuluihan Parikkalan terveysaseman laboratorio. Tutkimukseen tarvittavien näytteiden otto, käsittely ja analysointi suoritettiin 20.2.–21.2.2012.

5.3.1 Näytteiden otto

Tutkimuksessa käytettiin Greiner Bio-Onen valmistamia VACUETTE®-merkkisiä hyytymistutkimusputkia, joiden natrium-sitraattipitoisuus oli 3,2 %. Kyseisissä hyytymistutkimusputkissa on kaksi kerrosta: ulompi kerros on PET-muovia, joka pitää vakuumin putken sisällä ja sisempi putki on polypropeeni-muovia. Tämä PP-muovi estää sekä sitraatin haihtumisen että trombosyyttiaktivaation. (Mekalasi 2011.) Näihin hyytymistutkimusputkiin on merkitty oikea täyttöalue nuolella. Sen terävä keskiosa ilmaisee putken oikean täyttöasteen. Nuolen uloimmat päät ovat merkinä kansainvälisesti hyväksytyistä maksimaalisesta ja minimaalisesta täyttymisestä ($\pm 10\%$). (Mekalasi 2012a.)

Jokaiselta asiakkaalta otettiin kaksi näytettä näihin natrium-sitraattia sisältäviin hyytymistutkimusputkiin. Näytteenotossa noudatettiin yleisiä näytteenotto-ohjeita. Ennen näytteiden ottoa joukkoon putkia merkittiin viivat samalle kohtaa, jolloin putkien täyttöasteeksi tuli 50–60 % optimaalisesta täyttöasteesta. Nämä

olivat vajaita putkia. Merkitsemällä putket jokaiseen putkeen saatiin otettua sama määrä näytettä.

Näytteet otettiin 21G:n kokoisella siipineulalla. Ensin otettiin yksi viivalla merkitty vajaa putki, ja sitten merkitsemätön putki, joka tuli täyteen. Näin ollen ensimmäisenä otetusta, vajaasta hyytymistutkimusputkesta saatua arvoa verrattiin täydestä putkesta mitattuun arvoon. Vajaista näyteputkista avattiin korkit ylimääräisen vakuumin vapauttamiseksi. Tutkimuksessa käytettäviä hyytymisputkia sekoitettiin putkivalmistajan ohjeiden mukaisesti välittömästi näytteenoton jälkeen hellävaraisesti neljä kertaa ylösalaisin. Näin ollen varmistettiin, että veri sekoittui putken lisäaineeseen.

5.3.2 Näytteiden käsittely

Heti jokaisen näytteenoton jälkeen näyteputket merkittiin koodeilla. Tämä tapahtui niin, että ensimmäiseltä asiakkaalta otetut putket merkittiin koodeilla 1A ja 1B. Putki A oli ensimmäisenä otettu vajaa putki ja B täysi putki. Seuraavalta asiakkaalta otetut putket olivat 2A ja 2B, kolmannelta 3A ja 3B ja niin edelleen. Näin näyteryhmiksi saatiin seuraavat: A-näyteryhmä oli vajaista putkista mitatut INR-arvot, ja B-näyteryhmä oli täysistä putkista mitatut INR-arvot.

Näytteenoton jälkeen kaikki putket sentrifugoitiin. Putkivalmistaja antaa ohjeen, jonka mukaan VACUETTE®-putkia voidaan sentrifugoida joko 1 500–2 000 G:n voimalla 10 minuuttia, jolloin plasma sisältää vähän trombosyyttejä, tai 2 500–3 000 G:n voimalla 20 minuuttia, jolloin plasma on trombosyytitön (Mekalasi 2012b). Tutkimuksessa käytettiin laboratorion asettamia sentrifugointiasetuksia, joiden mukaan näyteputkia sentrifugoitiin 3 500 G:n voimalla 10 minuuttia. Sentrifugoinnin jälkeen A-putkissa oleva plasma eroteltiin pieniin Eppendorf-putkiin, koska Thrombolyzer-analysaattori ei näytteen vähyyden vuoksi saa pipetoitua plasmaa vajaasta natrium-sitraattiputkesta. B-putket voitiin analysoida normaalisti. Näytteet analysoitiin samassa laboratoriossa, jossa ne otettiin, joten näytteitä ei tässä tapauksessa tarvinnut lähettää minnekään. Kaikki näytteet pyrittiin

analysoimaan mahdollisimman nopeasti näytteenoton jälkeen hyytymisnäytteiden säilytysolosuhteet huomioonottaen.

5.3.3 Näytteiden analysointi

Kummastakin hyytymisputkesta mitattiin tromboplastiiniajan INR-arvot laboratorion Thrombolyzer Compact XR -analysointilaitteella. Behnk Elektronikin Thrombolyzer Compact XR -analysointilaitteisto hyytymismittaukseen. Laitteeseen kuuluu näytteen pipetointi-, kuljetus- ja mittausyksikkö, joiden ohjaus tapahtuu tietokoneen avulla. Laitteessa on roottori, johon mahtuu kerrallaan 31 näyteputkea. Näytteiden tunnistukset voidaan lukea joko laitteeseen integroidulla viivakoodinlukijalla tai ne voidaan syöttää käsin. Thrombolyzer Compact XR -analysointilaitteisto tekee automaattisesti uusintatestin sellaiselle näytteelle, jonka tulos jää asetettujen viitealueiden ulkopuolelle. (Behnk Elektronik 2004, 7.)

Analysointilaitteisto käyttää näytekasetteja, joissa jokaisessa on neljä kyvetiä. Kasetti siirtyy kyvetisäiliöstä pipetointiasemaan, jossa laite pipetoi näyteplasman ja reagenssit kyvetteihin. Tämän jälkeen kyveti siirtyy inkubointiasemaan, johon mahtuu kolme kasettia kerrallaan. Kasetti viipyy inkubointiasemassa tutkimuksen vaatiman ajan, ennen kuin se siirtyy mittausasemaan. Kyveti käännetään pystyasentoon, mutta kyvetin pohjan uriin pipetoidut plasma ja reagenssit eivät kuitenkaan sekoitu keskenään. Jokaisessa kyvetissä oleva metallikuula liikkuu vasta kyvetiä käännettäessä. Kuulan valuessa urien kautta se kerää plasma- ja reagenssit mukanaan kyvetin mittauspohjaan. Laite aloittaa mittauksen välittömästi, kun reagenssit ja plasma yhdistyvät. Kuula pyörii koko mittauksen ajan, ja näytteen hyytymisen alkaessa metallikuula kerää muodostuvat fibrinisaikeet yhteen. Lopulta hyytymä pysäyttää kuulan liikkeen, ja laite antaa tuloksen. (Behnk Elektronik 2004, 7–9.)

Tutkimuksen näytteet analysoitiin käyttäen putkien koodeja (1A ja 1B, 2A ja 2B jne.), jotka syötettiin analysointilaitteelle etukäteen. Näin analysointilaitteisto tiesi, millä

paikalla mikäkin näyte oli ja tulosti vastaukset koodeilla. Asiakkaiden nimiä ei esiintynyt missään analysoinnin vaiheessa.

Tutkimuksessa käytettävällä Thrombolyzer-analysaattorilla on käytössä Medi-Roxin Owren's PT -reagenssi. Reagenssituoteseloste on esitetty liitteessä 4. Se on pakastekuivattu reagenssi ja sisältää kanin thromboplastiinia ja naudan plasmafraktioita. Owren's PT on tarkoitettu protrombiini-kompleksin aktiivisuuden mittaamiseen, ja se antaa tietoa K-vitamiini -riippuvaisten hyytymistekijöiden aktiivisuudesta. Reagenssia voidaan käyttää analysoidessa antikoagulanttia käyttävien potilaiden plasmaa, sitraattivertaa tai kapillaarivertaa sekä etsittäessä vikoja hyytymisen ulkoisesta tiestä.

Reagenssia voidaan käyttää sekä 1-komponentti-reagenssi-menetelmässä että 2-komponentti-reagenssi-menetelmässä. 1-komponentti-menetelmässä pakastekuivattuun reagenssiin lisätään ensin viisi millilitraa (5 ml) tislattua vettä. Kymmenen minuutin kuluttua lisätään viisi millilitraa (5 ml) kalsiumkloridia (CaCl_2). 2-komponentti-menetelmän reagenssi valmistetaan samalla tavalla, mutta kalsiumkloridia ei reagenssiin lisätä. Tämän tutkimuksen Thrombolyzer Compact XR -analysaattorilla käytettiin 1-komponentti-reagenssi-menetelmää.

5.4 Tutkimustulosten tilastollinen käsittely

Tilastollisella käsittelyllä pyritään selvittämään tiettyjen ennakkokäsitysten paikkansa pitävyyttä perusjoukossa. Perusjoukkoa koskevat päätelmät tehdään otoksesta saatujen tietojen perusteella. Tällöin on kuitenkin tutkittava, ovatko otoksessa esiintyvät mahdolliset eroavaisuudet tilastollisesti merkitseviä vai voivat ne olla sattumasta johtuvia. Tutkimiseen voidaan käyttää erilaisia testausmenetelmiä. (Karjalainen 2010, 219.) Tutkimuksen tulokset käsiteltiin tilastollisesti Excel-ohjelmalla käyttäen apuna Pearsonin korrelaatiokerrointa ja kahden otoksen keskiarvojen t-testiä.

5.4.1 Korrelaatio

Muuttujien välistä riippuvuutta voidaan mitata korrelaatiokertoimella. Yleisimmin käytetty korrelaatiokerroin on Pearsonin korrelaatiokerroin. Se ilmoittaa riippuvuuden suuruuden ja suunnan. Riippuvuus eli korrelaatio on täydellinen, kun kerroin on välillä -1 ja +1. Kun arvo on -1, kaikki havaintopisteet sijaitsevat samalla laskevalla suoralla. Arvon ollessa +1 havaintopisteet sijaitsevat samalla nousevalla suoralla. Kertoimen ollessa 0 riippuvuutta ei esiinny, vaan arvot vaihtelevat täysin toisistaan riippumatta. (Karjalainen 2010, 124–125.)

Jotta Pearsonin korrelaatiokerrointa voitaisiin käyttää, molempien muuttujien on oltava joko suhdeasteikon tai välimatka-asteikon muuttujia. Pearsonin korrelaatiokerroin mittaa vain lineaarista riippuvuutta, ja mitä enemmän havaintoja on, sitä luotettavammin kertoimen arvo osoittaa riippuvuuden. (Karjalainen 2010, 125.)

5.4.2 Kahden otoksen keskiarvojen t-testi

Perusjoukkojen otosten keskiarvojen perusteella voidaan testata, poikkeavatko kahden ryhmän keskiarvot toisistaan. Kun ryhmät ovat toisistaan riippumattomia, käytetään riippumattomien otosten t-testiä. Jos puolestaan otokset ovat riippuvia, valitaan riippuvien otosten eli parittaisten otosten t-testi. Kun merkitään toisen perusjoukon keskiarvoa μ_1 ja toisen keskiarvoa vastaavasti μ_2 , saadaan asetettavat hypoteesit (H) seuraavasti:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

Kaksisuuntainen testaus

Edellytyksenä testille on, että otokset ovat toisistaan riippumattomia ja ne on poimittu satunnaisesti. Muuttujien on myös oltava välimatka- tai suhdeasteikon muuttujia. T-testin p-arvon perusteella voidaan tehdä johtopäätöksiä keskiarvoja koskevista hypoteeseista. (Karjalainen 2010, 230.) P-arvolla pyritään arvioi-

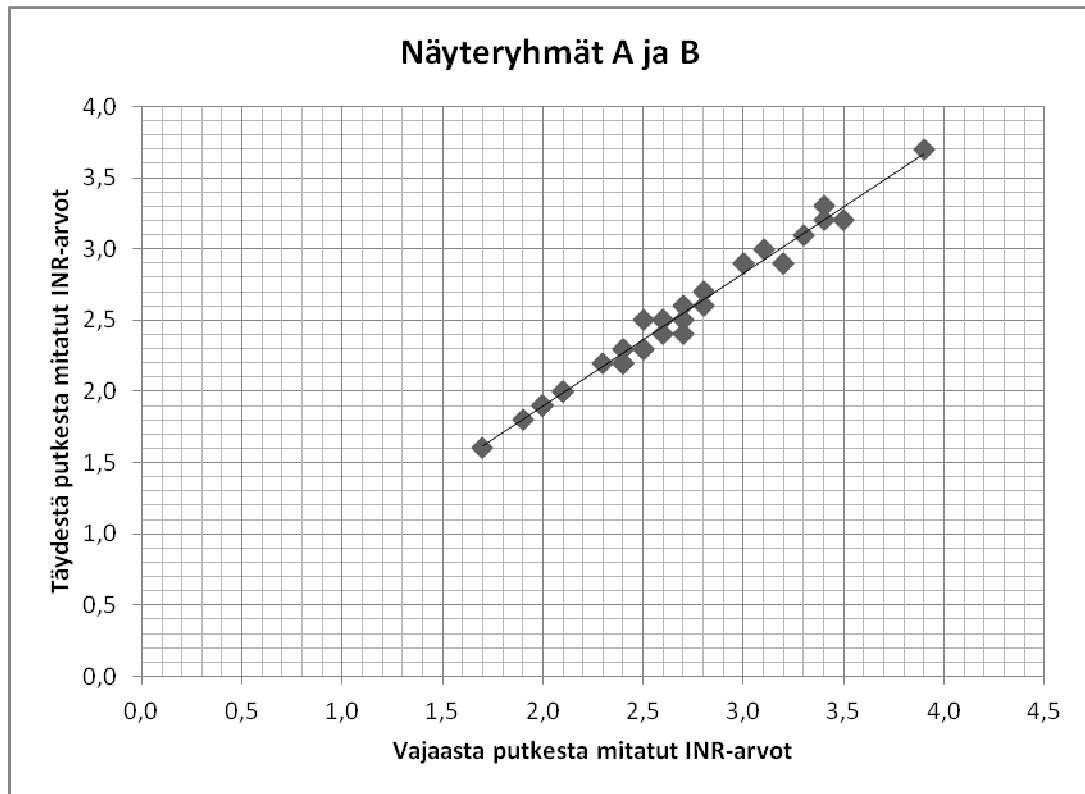
maan hypoteesien paikkansapitävyyttä. Se siis ilmoittaa, millä todennäköisyydellä vaihtoehtoinen hypoteesi on väärä. (Nummenmaa 2006, 137.)

Testisuureen ollessa taulukoitua kriittistä arvoa pienempi nollahypoteesi jää voimaan (Nummenmaa 2006, 253–254). Tässä tutkimuksessa se tarkoittaa sitä, että vertailtavien ryhmien tuloksilla ei ole eroa. Vaihtoehtoisesti taas jos T-testisuure on suurempi kuin t-kriittinen arvo, nollahypoteesi hylätään (Nummenmaa 2006, 253–254). Silloin se tarkoittaa tutkimuksen ryhmässä olevan eroa.

6 Tutkimuksen tulokset

Thrombolyzer-analysointilaitteella saadut tulokset (liite 5) käsiteltiin Excel-ohjelmalla. Näyteryhmiä A ja B testatessa selvitettiin, eroavatko tromboplastiiniaikojen INR-arvot, kun ne mitataan vajaasta näyteputkesta ja täydestä näyteputkesta. Näyteryhmät olivat seuraavat: näyteryhmään A kuuluivat vajaista näyteputkista mitatut INR-arvot ja näyteryhmään B täysistä näyteputkista mitatut INR-arvot.

Näyteryhmiä A ja B verrattiin niin, että ne vastaavat tutkimusongelmaa. Arvoista piirrettiin hajontakuviota (kuviokuva 2). Hajontakuviota piirrettiin regressiosuora, joka kuvaa kahden muuttujan välisen riippuvuuden lineaarisuutta (Karjalainen 2010, 136).



Kuvio 2. Korrelaatio ja hajontakuviio näyteryhmien A ja B tuloksista.

Kuviosta nähdään, että kahden muuttujan, näyteryhmien A ja B, välinen riippuvuus on lineaarista. Arvot sijoittuvat tasaisesti regressiosuoran molemmille puolille. Yllä esitetyn hajontakuviio perusteella voidaan arvioida likimääräisesti muuttujien välistä riippuvuutta, mutta tarkemmin riippuvuuden voimakkuutta voidaan mitata korrelaatiokertoimella.

Taulukossa 1 on esitetty tilastollisin menetelmin saadut tulokset. Taulukosta nähdään Pearsonin korrelaatiokertoimen arvo (0,991), joka on hyvin lähellä arvoa +1. Tällöin riippuvuus ei ole aivan täydellistä, mutta melko lähellä. Havainnot sijaitsevat nousevalla suoralla, joka voidaan nähdä myös kuviossa 2.

Taulukko 1. Tilastollisin menetelmin saadut tulokset.

	<i>Näyteryhmä A</i>	<i>Näyteryhmä B</i>
Keskiarvo	2,621621622	2,472972973
Varianssi	0,263963964	0,233693694
Havainnot	37	37
Pearsonin korrelaatio		0,991094085
Arvioitu keskiarvojen ero		0
va		36
t Tunnusluvut		-12,36727287
P(T<=t) yksisuuntainen		7,98389E-15
t-kriittinen yksisuuntainen		1,688297714
P(T<=t) kaksisuuntainen		1,59678E-14
t-kriittinen kaksisuuntainen		2,028094001

Parittaista t-testiä varten näyteryhmille A ja B asetettiin seuraavanlaiset hypoteesit:

H_0 : Vajaasta putkesta mitattu tromboplastiiniajan INR-arvo ei eroa täydestä putkesta mitatusta tromboplastiiniajan INR-arvosta.

H_1 : Vajaasta putkesta mitattu tromboplastiiniajan INR-arvo eroaa täydestä putkesta mitatusta tromboplastiiniajan INR-arvosta.

Näyteryhmiä testatessa T-testisuureen arvoksi saatiin -12,37. Näiden näyteryhmien kriittinen arvo 5 %:n merkitsevyystasolla on 2,03. Saatu T-testisuure on siis pienempi kuin kriittinen arvo, joten nollahypoteesi jää voimaan. P-arvo on $1,60^{-14}$ (taulukko 1).

7 Pohdinta

Näyteputken vajaaksijäämisen vaikutusta tromboplastiiniajan INR-arvoon tutkittaessa verrattiin näyteryhmiä A ja B keskenään. Ryhmän A näytteet otettiin normaaleihin hyytymisnäyteputkiin, mutta ne jätettiin tietoisesti vajaiksi. B-ryhmän näytteet otettiin samoihin näyteputkiin, mutta ne otettiin täyteen, putkien

merkkiviivaan asti. Tutkimuksen tarkoituksena oli siis tutkia, eroavatko vajaista näyteputkista mitatut tromboplastiiniaikojen INR-arvot täysistä näyteputkista mitatuista tromboplastiiniaikojen INR-arvoista.

Tuloksien perusteella piirretystä hajontakuviosta (kuvio 2) nähdään lineaarinen riippuvuus. Lineaarinen riippuvuus tarkoittaa tässä tapauksessa sitä, että toisen muuttujan arvojen kasvaessa myös toisen muuttujan arvot kasvavat. Lineaarisuus on siis positiivista. Myös korrelaatiokertoimen arvo (0,991) kertoo lineaarisuuden olevan voimakasta ja positiivista. Kun näyteryhmän A arvot kasvavat, kasvavat myös B-näyteryhmän arvot. Vastaavasti toisinpäin, kun A-ryhmän arvot pienenevät, myös näyteryhmän B arvot pienenevät. P-arvon ollessa hyvin pieni ($1,60^{-14}$), todennäköisyys virheellisen päätelmän tekemiseksi on todella pieni, ja näin ollen nollahypoteesi pitää varmasti paikkansa. Kahden otoksen keskiarvojen t-testillä saatujen tulosten perusteella nollahypoteesi jäi voimaan. Tämä tarkoittaa siis sitä, että natrium-sitraattia sisältävän hyytymistutkimusputken vajaaksijääminen ei vaikuta tromboplastiiniajan INR-arvoon.

Tutkimuksen perusteella, tulosten tarkastelu huomioon ottaen, myös vajaat, natrium-sitraattia sisältävät hyytymistutkimusputket soveltuvat tromboplastiiniajan mittaukseen, kunhan näyteputken täyttöaste on vähintään 50 %. Näyteputkien vajaaksijääminen ei siis vaikuta tromboplastiiniajan tulokseen tilastollisesti merkitsevästi. Erot vajaasta näyteputkesta ja täydestä näyteputkesta mitatusta tromboplastiiniajan INR-arvosta olivat keskimäärin 0,1. Tässä tutkimuksessa saadut tulokset siis tukevat Adcockin, Kressinin ja Marlarin (1998) tekemää tutkimusta, jossa tromboplastiiniajan tuloksissa ei ollut merkittäviä eroja, kun 3,2 %:n natrium-sitraattiputkien täyttöasteet olivat 60 % ja 100 %.

Varfariinia käytetään maailmalla paljon oraalisisä antikoagulanttihoidossa. Vuonna 2003 Suomessa sai varfariinihoitoa 1,7 prosenttia koko väestöstä, ja tämä määrä nousee joka vuosi väestön ikääntymisen takia. (Horsti & Uppa 2006.) Näin ollen myös hyytymiskokeita otetaan laboratorioissa enenevässä määrin. Isoissa laboratorioissa tulee vajaita näyteputkia analysoitavaksi usein, jolloin asiakkaasta on otettava uusi näyte. Hyytymisnäyte tulisi saada näyteputkeen ilman ongelmia. Niiden ottaminen onkin erityisen haastavaa asiakkailta,

joiden suonista on hyvin vaikea saada laskimoverinäytettä. Jos tällaisen asiakkaan näytteenotossa joudutaan käyttämään paljon staasia ja näytteen ottaminen kestää pitkään, ei hyytymistutkimuksen tulos ole luotettava.

Kuten jo aikaisemmin todettiin, putken täyttöasteella ei ole tilastollista merkitystä tromboplastiiniajan INR-arvoon. Näin ollen voidaan tutkimusta hyödyntää laboratorioissa vajaiden näyteputkien kohdalla. Vajaat näyteputket voidaan myös analysoida tietyllä varauksella, ja näin saadaan tulos asiakkaille. On kuitenkin muistettava, että jokainen asiakas on yksilö ja hänellä tulokset voivat vaihdella merkittävästi vajaan ja täyden näyteputken kohdalla. On muistettava sekkin, että putken jäädessä vajaaksi näytteen on tultava putkeen silloinkin ongelmitta.

Oppimisprosessina opinnäytetyö oli hyvin opettavainen. Prosessin myötä oppi monenlaisia asioita, kuten tutkimuksen suunnittelua, käytännön toteutusta sekä tilastollisten menetelmien käyttöä. Opinnäytetyötä tehdessä oppi paljon uutta tietoa hyytymistutkimuksista ja niiden analysointimenetelmistä. Prosessin aikana myös konkretisoitui se, että työn tekeminen vaatii paljon aikaa ja kärsivällisyyttä. Opinnäytetyön tekeminen lisäsi varmasti ammatillisuutta ja tämänkaltaisia tutkimuksia voisi kuvitella tehtävän myös työelämässä.

7.1 Tutkimuksen luotettavuus

Kaikissa tutkimuksissa pyritään arvioimaan luotettavuutta, mutta luotettavuus ja pätevyys voivat vaihdella, vaikka virheiden syntymistä pyrittäisiinkin välttämään. Kun arvioidaan tutkimuksen luotettavuutta, käytössä on monia erilaisia mittaus- ja tutkimustapoja. Määrällisen tutkimuksen arvioinnissa käytetään kahta käsitettä: reliabiliteetti ja validiteetti. (Hirsjärvi ym. 2009, 231.)

Reliabiliteetti tarkoittaa, että mittaustulokset ovat luotettavia eli mittaus antaa ei-sattumanvaraisia tuloksia (Hirsjärvi ym. 2009, 231). Reliabiliteettiin kuuluu myös se, että tutkimuksen voi toistaa kuka tahansa samanlaisin tuloksin (Heikkilä 2008, 30–31). Tässä tutkimuksessa tämä on varmistettu sillä, että jokainen työ-

vaihe on selitetty seikkaperäisesti tutkimuksen toteutuksessa. Näin ollen kenen tahansa on helppo toteuttaa tutkimus samankaltaisin tuloksin.

Tutkijan täytyy olla kriittinen ja tarkka koko tutkimuksen ajan. Hänen on käytettävä vain sellaisia analysointimenetelmiä, jotka hän hallitsee, sekä oltava tarkka tulosten tulkinnassa. (Heikkilä 2008, 30–31.) Tulosten luotettavuus pyrittiin varmistamaan laadukkaalla näytteenotolla. Näytteenotossa otettiin huomioon hyytymistutkimusnäytteiden kannalta tärkeät toimenpiteet, kuten vähäinen staasin käyttö. Jos henkilöllä oli hyvät suonet, staasia ei käytetty ollenkaan. Verinäytteitä ei otettu mustelmaisista tai turvonneista ja tulehtuneista kohdista. Lisäksi verinäytteenottotarvikkeet olivat standardin mukaisia. Näytteenotossa käytettiin tarpeeksi isoa neulaa, ja hyytymistutkimusputket olivat oikeanlaisia. Näyteputkia käsiteltiin putkivalmistajan ohjeiden mukaisesti.

Näytteiden analysointi aloitettiin heti, kun oli mahdollista. Analysointi pyrittiin toteuttamaan suositellun kahden tunnin sisällä. Kaikkien näytteiden kohdalla tämä ei ihan toteutunut. B-ryhmän näytteet, eli täydet putket, sentrifugoitiin ja analysoitiin kahden tunnin sisällä näytteenotosta. A-ryhmän näytteitä ei kuitenkaan pystytty analysoimaan kahden tunnin sisällä näytteenotosta, mutta ne sentrifugoitiin ja eroteltiin tässä määräjassa. Tämä lisäsi A-näytteiden säilyvyysaikaa, sillä plasma oli trombosyyttivapaata. Luotettavuutta lisäsi myös se, että hyytymisanalysointia analysoitiin ennen tutkimusnäytteiden analysointia päivittäiset kontrollit. Päivittäisen kontrolloinnin lisäksi laboratorio osallistuu myös ulkoisille laadunarviointikiertoille ja saa säännöllisesti laadunarviointinäytteitä analysoitavakseen.

Jos otoskoko on pieni, tulokset ovat sattumanvaraisia. Lisäksi on varmistettava luotettavien tulosten saamiseksi, että otos edustaa koko perusjoukkoa. (Heikkilä 2008, 30–31.) Tässä tutkimuksessa otoskokona oli 37 asiakasta, jotka saapuivat laboratorion näytteenottoon tutkimuspäivinä. Tutkija oli paikalla tarvittaessa niin monena päivänä, että vähintään 30 asiakkaalta saatiin näytteet. Otos edustaa hyvin perusjoukkoa, sillä tutkimuspäiviksi valittiin sattumanvaraisesti kaksi päivää. Näinä päivinä laboratorion näytteenottoon saapuneet asiak-

kaat valittiin tutkimukseen mukaan. Heitä ei siis valikoitu etukäteen millään tavalla.

Toinen käsite määrällisessä tutkimuksessa on validius eli pätevyys. Validius on mittarin kykyä mitata juuri sitä, mitä sen on tarkoituskin mitata. (Hirsjärvi ym. 2009, 231.) Validiutta on hankala tarkastella jälkeenpäin, joten se on varmistettava etukäteen (Heikkilä 2008, 29–30). Tämä tapahtui huolellisella suunnittelulla sekä tarkoin harkitulla tiedonkeruulla. Tässä tutkimuksessa on esitetty mittaus-ten toteutus vaihe vaiheelta ja tätä noudatettiin konkreettisesti työssä. Lisäksi tutkimuksen teoreettisen viitekehyksen lähteinä käytettiin vain tunnettuja ja luotettavia lähteitä.

Tutkijan täytyy myös asettaa tutkimukselleen täsmälliset tavoitteet, koska muutoin tutkija tutkii väriä asioita (Heikkilä 2008, 29). Tämä on otettu tutkimuksessa huomioon selkeässä tutkimusongelman määrittelyssä. Tutkimusongelma pidettiin mielessä koko tutkimuksen ajan.

7.2 Tutkimuksen eettisyys

Eettisesti hyväksyttävä, luotettava ja uskottava tutkimus suoritetaan hyvän tieteellisen käytännön edellyttämällä tavalla. Tutkimustyössä, tulosten tallentamisessa ja esittämisessä sekä tutkimuksen ja tulosten arvioinnissa on oltava rehellinen ja tarkka. Tutkimuksessa on käytettävä tutkimuksen kriteerien mukaisia ja eettisesti kestäviä tiedonhankinta-, tutkimus- ja arviointimenetelmiä. Lisäksi muiden tutkijoiden töitä ja saavutuksia on kunnioitettava. Hyvän tieteellisen käytännön mukaista on myös, että tutkimus suunnitellaan, toteutetaan ja raportoidaan vaatimusten edellyttämällä tavalla. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002.) Tutkimuksen toimeksiantajan mukaan tutkimuksessa ei tarvittu eettisen toimikunnan lupaa, koska näytteitä ei käsitelty henkilöiden nimillä.

Tutkimuksessa tulee kunnioittaa henkilöiden itsemääräämisoikeutta eli annetaan henkilön itse päättää, haluaako hän osallistua tutkimukseen (Hirsjärvi ym. 2009, 25). Tässä tutkimuksessa näytteenottoon saapuvilta asiakkailta kysyttiin

suullisesti, haluavatko he osallistua tutkimukseen. Vain niitä näytteitä käytettiin tutkimuksessa, joiden antajilta oli saatu lupa. Tutkimuksessa on muistettava myös osallistuvien anonymiteetti, jotta yksittäistä henkilöä ei voida tunnistaa aineistosta (Vilkkä 2007, 90). Tämä toteutui, kun näyteputket merkittiin koodeilla, eikä asiakkaiden nimiä käsitelty missään tutkimuksen vaiheessa.

Kaikenlaista epärehellisyttä on vältettävä tutkimuksen teossa. Esimerkiksi plagioimista eli luvaton lainaamista ei saa tehdä. Toisen tekstiä lainattaessa on merkittävä teksti asianmukaisin lähdemerkinnöin. (Hirsjärvi ym. 2008, 25–26.) Tämän tutkimuksen lähteet on merkitty asianmukaisesti, eikä kenenkään tekstiä ole suoraan lainattu. Tiedonhankintamenetelmien täytyy olla myös eettisesti kestäviä eli lähteiden tulee olla luotettavia (Vilkkä 2007, 90–92). Tässä tutkimuksessa ei ole käytetty epäilyttäviä lähteitä, vaan kaikki lähteenä käytetty materiaali on luotettavien asiantuntijoiden sekä muiden alan ammattilaisten kirjoittamaa.

Toinen keskeinen asia tutkimusetiikassa on, että tutkimuksen tuloksia ei kaunistella tai sepitetä (Hirsjärvi ym. 2008, 26). Tutkijan on muistettava myös puolueettomuus tutkimusta tehdessä. Saatavat tulokset eivät saa riippua tutkijasta. (Heikkilä 2008, 31.) Tässä tutkimuksessa tutkimustulokset esitetään juuri niin kuin ne ovat, eikä niitä ole muutettu millään tavoin. Mitään tutkimustuloksia ei ole jätetty pois sen takia, että ne eivät vastanneet muita tuloksia. Tutkimuksen teossa on hyvä olla kriittinen ja pätevä tutkija. On otettava huomioon omien valintojen vaihtoehtoiset ja vastakkaiset näkökulmat. Lisäksi tutkimusta on pyrittävä arvioimaan sen kaikissa vaiheissa. Tutkijan on myös tunnettava asian tai ongelman taustat, aiemmat ratkaisuyritykset sekä niiden tulokset. (Hirsjärvi ym. 2009, 22–23.) Tämä toteutuu tässä tutkimuksessa sillä, että tutkimuksessa on esitelty aiempia tutkimuksia sekä niistä saatuja tuloksia.

7.3 Jatkotutkimusaiheet

Jatkotutkimusaiheina voitaisiin tutkia, millainen vaikutus tromboplastiiniajan arvoihin on sillä, jos putki avonäytteenoton seurauksena täyttyy liikaa eli yli maksimitäytörajan (+10 %). Näitäkin tapauksia esiintyy välillä näytteenotossa. Avo-

näytteenotossa asennot ovat usein hankalia ja hyytymisputkia on vaikea saada täytettyä juuri optimaaliseen kohtaan. Lisäksi tutkimuksen voisi toteuttaa niin, että tarkasteltaisiin natrium-sitraattiputken erilaisia vajavuusasteita ja vertailtaisiin niistä saatuja INR-arvoja optimaalisesti täytetyistä putkista mitattuihin INR-arvoihin. Näin saataisiin kattavampi kuva siitä, kuinka erilaiset täyttöasteet vaikuttavat INR-arvoon. Myös tutkimuksen otoskokoa voisi suurentaa niin, että saataisiin suurempi otos ja luotettavimmat tulokset.

Lähteet

- Adcock, D. M., Kressin, D. C. & Marlar, R. A. 1998. Minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing: dependence on citrate concentration. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9576579>. 8.2.2012.
- Armstrong, E. & Lassila, R. 2010. Antikoagulaatiohoidon edistysaskelia ja huolenaiheita. *Finnanest* 43 (1), 41–45.
- Behnk Elektronik. 2004. Thrombolyzer, Instructions For Use, Clotting Analyzer. Behnk Elektronik GmbH & Co.
- Bjålie, J. G., Haug, E., Sand, O., Sjaastad, Ø. & Toverud, K. C. 2007. *Ihminen - Fysiologia ja anatomia*. Helsinki: WSOY.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays. Approved Guideline - Fifth Edition. CLSI document H21-A5.
- Fiebig, E. W., Ezzell, J. E. & Ng, V. L. 2005. Clinically relevant differences in prothrombin time and INR values related to blood sample collection in plastic vs glass tubes. <http://ajcp.ascpjournals.org/content/124/6/902.full.pdf+html?sid=7fc978-bfb8-4c33-b6d5-dbf95a64400>. 23.5.2012.
- Fimea. 2008. Valmisteyhteenveto. Marevan 3 mg tabletti. Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus. <http://www.fimea.fi/laaketieto/valmisteyhteenvedet/humspc>. 28.11.2011.
- Greiner Bio-One. 2012. VACUETTE® Multiple Use Drawing Needles. http://www.gbo.com/documents/980206_IFUBloodCollectionNeedles_Rev03_GB.pdf. 23.8.2012.
- Heikkilä, T. 2008. Tilastollinen tutkimus. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin kuntayhtymän laboratoriolikelaite. 2011. Näytteenotto hyytymistutkimuksia varten HUS-piirin ulkopuolisille laboratorioille. http://huslab.fi/preanalytiikan_kasikirja/verinaytteenotto/naytteenotto_hyytymistutkimuksia_varten_husulko.pdf. 8.9.2011.
- Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. *Tutki ja kirjoita*. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.
- Horsti, J. & Uppa, H. 2006. Inaktiivisten hyytymistekijöiden vaikutus oraaliseen antikoagulanttihoitoon (Marevan®). *Kliinlab* 23 (1), 10–13.
- Horsti, J. 2001. Hyytymistutkimusten preanalyttisistä tekijöistä. *Moodi* 25 (4–5), 145–146.
- Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. *Laboratorion analyysitekniikka*. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Joutsu-Korhonen, L. & Koski, T. 2010a. Hemostaasin tutkimukset. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia*. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 275–284.
- Joutsu-Korhonen, L. & Koski, T. 2010b. Laskimotukostaipumus ja antitrombotisen hoidon laboratorioseuranta. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia*. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 285–291.

- Karjalainen, L. 2010. Tilastotieteen perusteet. Ristiina: Pii-Kirjat.
- Labquality. 2011. Hematologia; hyytymistutkimukset 2010. Labquality.
http://www.labquality.fi/labqualityn_laadunarviointipalve/toimintaohjelma_2010-2011/hematologia_hyytymistutkimukset/. 1.12.2011.
- Liimatainen, O. 2010. Laboratorioprosessin laatu; mistä elementeistä laatu koostuu. *Moodi* 34 (1), 57–58.
- Lippi, G., Salvagno, G. L. & Guidi, G. C. 2005. No influence of a butterfly device on routine coagulation assays and D-dimer measurement.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1538-7836.2005.01163.x/pdf>. 6.6.2012.
- Mahlamäki, E. 2004. Hemostaasi. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 310–321.
- Mekalasi. 2011. Verinäytteenotto. Mekalasi Oy.
<http://www.mekalasi.fi/index.php?p=tuotteet&r=30#00000017>. 2.1.2012.
- Mekalasi. 2012a. Verinäytteenotto. Mekalasi Oy.
http://www.mekalasi.fi/Tuotekuvat/veriesite8_2010.pdf. 4.1.2012.
- Mekalasi. 2012b. VACUETTE®-putkien käsittelyohje. Mekalasi Oy.
http://www.mekalasi.fi/Tuotekuvat/Vacuetteputkien%20kasittelyohje_050112.pdf. 30.1.2012.
- Mustajoki, P. & Kaukua, J. 2008. Hyytymistutkimus (P-INR). Senkka ja sata muuta tutkimusta. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Mustonen, P. & Lassila, R. 2007. Antitromboottinen ja fibrinolyttinen hoito. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 596–611.
- Neuvonen, P. 2003. Lääkkeet ja alkoholi. Teoksessa Salaspuro, M., Kiiänmaa, K. & Seppä, K. (toim.) *Päihdelääketiede*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 413–417.
- Nummenmaa, L. 2006. Käyttäytymistieteiden tilastolliset menetelmät. Helsinki: Tammi.
- Nurminen, M-L. 2011. Lääkehoito. Helsinki: WSOYpro Oy.
- Palomäki, A. 2011. Statiinit ja tromboosit.
<http://www.terveysportti.fi/xmedia/duo/duo99829.pdf>. 31.5.2012.
- Penttilä, I. 2004. Tutkimustulosten laatu ja laadunvarmistus. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 35–39.
- Rautajoki, A. 1998. Kliinisten laboratoriotutkimusten näytteenotto-opas hoitohenkilöstölle. Helsinki: Kirjayhtymä Oy.
- Saarela, E. 2008. Siipineulanäytteenoton soveltuvuus hyytymis-, trombosyyttifunktio- ja verenkuvatutkimuksiin. *Bioanalyttikko* 2008 (4), 15–18.
- Seppälä, E. 2010. Preanalyttiset tekijät. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia*. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 22–23.
- Tuokko, S. 2010. Esivalmistelut. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia*. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 23–25.
- Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2002. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausten käsitleminen. Tieteellisten seurain valtuuskunta.
http://www.tenk.fi/hyva_tieteellinen_kaytanto/kaytanto.html. 16.9.2011.

- Törmä, A. 2003. Peruskäsitteitä: mitä laboratoriotutkimusten sisäinen laadunohjaus ja ulkoinen laadunarviointi tarkoittavat käytännössä. *Moodi* 27 (1), 24–25.
- Vilkkä, H. 2007. *Tutki ja mittaa*. Jyväskylä: Tammi.
- Wartiovaara-Kautto, U. 2003. Millainen näyte hemostaasitutkimuksiin? *Moodi* 27 (1), 32–33.

Toimeksiantosopimus



POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTO

SOPIJAOSAPUOLET:

TOIMEKSIANTAJA Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden laboratorio

Yhteystiedot: Valto Käkelänkatu 1, 53130 Lappeenranta

Sähköpostiosoite: eila.tolppanen@eksote.fi

OPISKELIJA Henna Neuvonen

Yhteystiedot: _____

TOIMEKSIANTOSOPIMUS:

henna.neuvonen@edu.pkamk.fi

Henna Neuvonen tekee tutkimuksen "Sipinhuulasta
lukkua ilman vaikutus INR - vastaukseen".
Ajanuska on miinat 8-10/12
Opiskelijalle ei tule kustannuksia.
Henna antaa työstönsä yhden keppaleen toimeksiantajalle.
Osapuolet ovat tänään sopineet toimeksiannosta seuraavaa: (esim. rahoitus, aikarajat,
tekijänoikeudet)

Toimeksiantaja

Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden
laboratoriokeskus
Käkelänkatu 1, Lappeenranta

Opiskelija(t)

Biokemian laboratorio - opiskelija Henna Neuvonen

Opinnäytetyön ohjaajana PKAMK:ssa toimii Minna Rokkila ja Elina Lyytikäinen

Päiväys ja allekirjoitukset

9.1. 2012

Eila Tolppanen
Toimeksiantajan edustaja
Eila Tolppanen

Henna Neuvonen
Opiskelija

Kontrollituoteseloste NKP



NKP

Normal Multikontroll
för koagulationsanalyser

Artikelnummer: GHI162
Förpackning: 10 x 1 mL

ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

NKP GHI162 är avsedd för kvalitetssäkring eller kontroll av koagulationsanalyserna PT Owren, PT Quick, aktiverad partiell tromboplastintid (APTT), fibrinogen (Fib), antitrombin (AT) och D-dimer. För In Vitro Diagnostisk användning.

PRODUKTBESKRIVNING

GHI162 är en frystorkad citratantikoagulerad human plasma med halter av koagulationsanalyser inom eller nära referensintervallet för normala individer, undantaget D-dimer där nivåerna är måttligt förhöjda.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Produkten innehåller material av humant ursprung och är att betrakta som potentiellt smittfarlig. Produkten skall hanteras som plasmaprov från patient. I syfte att minimera smittrisker är varje enhet plasma som använts vid framställningen, undersökt och befunden fri från antikroppar mot HIV, hepatit B virus och hepatit C virus.

ANALYTHALTER

För lotspecifika resultat se certifikat som finns på MediRox hemsida www.medirox.se "Nerladdning, Certifikates, Batch certificates" eller gå in på "Jämförelse kontrollvärden" där man också kan se jämförelse mot andra reagens/instrument kombinationer än de i certifikatet angivna. För att titta på jämförelse kontrollvärden krävs lösenord. För lösenord kontakta: info@medirox.se
Typiska resultat för GHI162 finns angivna nedan.

PK	INR 0,90-1,20	
APTT	23-34 s	Påtagligt reagensberoende.
Fibrinogen	2,2-3,5 g/L	
AT	0,80-1,20 IU/mL	
D-dimer	0,3-0,5 mg/L	

Det är upp till varje laboratorium att åsätta sina egna gränsvärden.

REKONSTITUTION

- 1) Innan flaska öppnas, knacka den mot underlag så att det pulverformade materialet ansamlas på botten.
- 2) Tillsätt 1,00 mL vatten av god laboratorie kvalitet. Vattnets temperatur bör vara 15 till 25°C.
- 3) Efter vattentillsats, återförslut flaskan och rotera den mellan handflatorna, i upprätt läge, fram och tillbaka ett tiotal gånger för att lösa pulverrester på flaskans ytor.
- 4) Efter cirka 15 minuter är kontrollplasman klar att använda. Kontrollera visuellt att allt material är upplöst. I annat fall skakas flaskan för hand eller använd mixer.

STABILITET OCH FÖRVARING

Öppnad kontroll ska förvaras vid 2-8°C och är då hållbar fram till utgångsdatum som står på etiketten.
Stabilitet efter upplösning:
24 timmar vid 15-25°C i försluten originalflaska.
24 timmar vid 2-8°C i försluten originalflaska (Ska då uppnå rumstemperatur innan användning).



NKP

Normal Multi Control
For use in coagulation analysis

Product: GHI162
Package: 10 x 1 mL

RANGE OF APPLICATION

For quality assurance or control of the coagulation analyses: PT Owren, PT Quick, Activated Partial Thromboplastin Time (APTT), fibrinogen (Fib), antithrombin (AT) and D-dimer.
For In Vitro Diagnostic Use.

PRODUCT DESCRIPTION

GHI162 is a freeze-dried, citrate-anticoagulated human plasma, with contents of coagulation analytes within or near the reference values for normal individuals. The exception is D-Dimer where the contents are slightly increased.

PRECAUTIONS

This product contains substance of human origin and is to be considered as potentially infectious. The product must be treated as plasmasample from a patient. For the purpose of minimizing the danger of infection, every single unit of plasma that has been used during the production has been checked and found free from antibodies against HIV, hepatitis B virus and hepatitis C virus.

ANALYTE CONTENT

For lot specific results see certificate at MediRox homepage www.medirox.se "Downloads, Certificates, Batch certificates" or "Control comparisons" there you can also compare results against other reagent/instrument combinations. Control comparisons login requires a password. For password contact: info@medirox.se
Typical results for GHI162 are listed below:

PT	INR 0,90-1,20	
APTT	23-34 s	Apparently reagent dependent
Fibrinogen	2,2-3,5g/L	
AT	0,80-1,20 IU/mL	
D-dimer	0,3-0,5mg/L	

It is up to each laboratory to set their own limit values.

REKONSTITUTION

- 1) Before the bottle is opened, carefully tap the bottle against an underlayer to let the powdered material cumulate in the bottom.
- 2) Add 1,00 mL water of good laboratory quality. The water temperature should be 15 to 25°C.
- 3) After addition of water, reseal the bottle and rotate it ten or more times between your palms in an upright position, backwards and forwards to dissolve powder residues on the interior surface of the bottle.
- 4) After approx. 15 minutes the control plasma is ready for use. Control visually that all material is completely dissolved, if not use a mixer.

STABILITY AND STORAGE

Unopened reagent is stable until the expiration date shown on the label when stored at 2-8°C.
Stability after reconstitution:
24 hours at 15-25°C in the closed original vial.
24 hours at 2-8°C in the closed original vial. (Make sure the reconstituted control reaches room temperature before use).



2010-05-03

Kontrollituoteseloste OKP



OKP

Onormal Multikontroll Level 1
för koagulationsanalyser.

Artikelnummer: GH1167B
Förpackning: 10 x 1 mL

ANVÄNDINGSOMRÅDE

OKP (GH1167B) är avsedd för kvalitetssäkring, eller kontroll av koagulationsanalyserna PT Owren, PT Quick, aktiverad partiell tromboplastintid (APTT), fibrinogen, antitrombin (AT) och D-dimer. För In Vitro Diagnostisk användning.

PRODUKTBESKRIVNING

GH1167B är en frystorkad preparation av behandlad citrat-antikoagulerad humanplasma med tillsats av proteinkomponenter från bovin plasma. GH1167B håller halter av koagulationsanalyser som ligger utanför referensintervallet för normala individer.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Produkten innehåller material av humant ursprung och är att betrakta som potentiellt smittfarligt. Produkten skall hanteras som plasmaprover från patient. I syfte att minimera smittrisker är varje enhet plasma, som använts vid framställningen, undersökt och befunnen fri från antikroppar mot HIV, hepatit B virus och hepatit C virus.

ANALYTHALTER

För lotspecifika resultat se certifikat som finns på MediRox hemsida www.medirox.se ("Nerladdning, Certificates, Batch certificates" eller gå in på "Jämförelse kontrollvärden" där man också kan se jämförelse mot andra reagens/instrument kombinationer än de i certifikatet angivna. För att titta på jämförelse kontrollvärden krävs lösenord. För lösenord kontakta: info@medirox.se

Typiska resultat för GH1167B finns angivna nedan:

PK	INR 2,3–2,9	
APTT	50-75s	Ca 2-2,4 gånger normal tid, påtagligt reagensberoende.
Fibrinogen	1,0-1,5 g/L	
AT	0,35-0,55 IU/mL	
D-dimer	0,7-1,6 mg/L	

Det är upp till varje laboratorium att åsätta sina egna gränsvärden.

REKONSTITUTION

- 1) Innan flaska öppnas, knacka den mot underlag så att det pulverformade materialet ansamlas på botten.
- 2) Tillsätt 1,00 mL vatten av god laboratoriekvalitet. Vattnets temperatur bör vara 15 till 25°C.
- 3) Återförslut flaskan efter vattentillsats och rotera den mellan handflatorna, i upprätt läge, fram och tillbaka för att lösa pulvret.
- 4) Efter cirka 15 minuter är kontrollplasma klar att använda. Kontrollera visuellt att allt material är upplöst. I annat fall skakas flaskan för hand eller använd mixer.

STABILITET OCH FÖRVARING

Öppnad kontroll ska förvaras vid 2-8°C och är då hållbar fram till utgångsdatum som står på etiketten.

Stabilitet efter upplösning:

24 timmar vid 15-25°C i försluten originalflaska.
24 timmar vid 2-8°C i försluten originalflaska (Ska då uppnå rumtemperatur innan användning).



OKP

Abnormal Multi Control Level 1
For use in coagulation analysis

Product: GH1167B
Package: 10 x 1 mL

RANGE OF APPLICATION

For quality assurance or control of the coagulation analyses PT Owren, PT Quick, Activated Partial Thromboplastin Time (APTT), Fibrinogen (Fib), Antithrombin (AT) and D-Dimer. For In Vitro Diagnostic use

PRODUCT DESCRIPTION

GH1167B is a freeze-dried preparation of processed citrate-anticoagulated human plasma with additives of protein components from bovine plasma. GH1167B contains contents of coagulation analytes that are outside the reference values for normal individuals.

PRECAUTIONS

This product contains substance of human origin and is to be considered as potentially infectious. The product must be treated as plasma test from a patient. For the purpose of minimizing the danger of infection, every single unit of plasma that has been used during the production has been checked and found free from antibodies against HIV, hepatitis B virus and hepatitis C virus.

ANALYTE CONTENT

For lot specific results see certificate at MediRox homepage www.medirox.se ("Downloads, Certificates, Batch certificates" or chose "Control comparisons" there you can also compare results against other reagent/instrument combinations. Control comparisons login requires password. For password contact: info@medirox.se

Typical results for GH1167B are listed below:

PT	INR 2,3–2,9	
APTT	50-75 s	Roughly 2-2,4 time normal time, apparently reagent dependent.
Fibrinogen	1,0-1,5g/L	
AT	0,35-0,55 IU/mL	
D-Dimer	0,7-1,6mg/L	

It is up to each laboratory to set their own limit values.

REKONSTITUTION

- 1) Before the bottle is opened, carefully tap the bottle against an underlayer to let the powdered material cumulate in the bottom.
- 2) Add 1,00 mL water of good laboratory quality. The water temperature should be 15 to 25°C.
- 3) After addition of water, reseal the bottle and rotate it between your palms in an upright position, backwards and forwards to dissolve powder residues on the interior surface of the bottle.
- 4) After approx. 15 minutes the control plasma is ready for use. Control visually that all material is completely dissolved, if not use a mixer.

STABILITY AND STORAGE

Unopened reagent is stable until the expiration date shown on the label when stored at 2-8°C.

Stability after reconstitution:

24 hours at 15-25°C in the closed original vial.
24 hours at 2-8°C in the closed original vial (Make sure the control reaches room temperature before use).




2010-05-03

Reagenssituteseloste Owren's PT



Owren's PT Prothrombin Complex reagent Item number: GHI131-10

For In Vitro Diagnostic Use

INTENDED USE

GHI 131-10, Prothrombin complex reagent is intended for the determination of Prothrombin Complex Activity (Owren's PT activity) and gives information about the activity of the vitamin K-dependent coagulation factors II, VII and X.

BACKGROUND AND PRINCIPLE OF METHOD

GHI 131-10, Prothrombin Complex Reagent is suitable for analysis of plasma, citrated blood and capillary blood from patients treated with Vitamin K antagonists as Warfarin and for screening to find defects in the extrinsic pathway.

When analyzing PT, sample and reagent are being mixed and clotting time is measured. The final volume of sample is 4,8% (1,21), Ion strength (0,15M), PH (7,3), Calcium ion activity (2 mM) and temperature (37°C) are close to the physiological.

Due to the sample dilution the method is relatively insensitive to variation in FV-activity and also to Heparin. This insensitiveness for Heparin can be enhanced by using sample dilution Buffer with Polybrene (GHI152).

Owren's PT activity is expressed in INR (International Normalisation Ratio) which is the quotient between the coagulation time for sample and normal plasma raised to the method's ISI-value (International Sensitivity Index) (ref.1).

PT activity was previously expressed in percentage of the normal plasma activity. (ref.2.)

$INR = (Patient\ PT / Normal\ PT)^{ISI}$

ISI = Lot specific International Sensitivity Index for reagent/instrument system.

The ISI value for the PT reagent is obtained by calibrating with reference calibrators.

The reagent is suitable both with Calcium ions in the reconstituted reagent (1-component reagent method, 1X) as well as with Calcium added separately when analyzing (2-component-reagent method, 2X).

The one-component-reagent method, 1X is more convenient and is suitable for most instruments but have higher demands for needle wash to avoid contamination. In some cases the two component reagent method, 2X is preferred with the reagent reconstituted only in Diluent and with CaCl₂ added to start the analysis. The contamination risk gets lower because the reagent is not activated without CaCl₂.

PRODUCT DESCRIPTION

GHI131-10 is a freeze-dried reagent consisting of Thromboplastin from rabbit and plasma fraction of bovine origin. Plasma fraction that is a source to Fibrinogen and coagulation factor V is to a high degree deficient in the coagulation factors II, VII and X.

Package: 10 X 10 mL reagent.

Material needed but not included in the kit:

GHI155, GHI155-5 CaCl₂
GHI150 Owrens Buffer
GHI152 Owrens Buffer with Polybrene
GHI154 Diluent

PRECAUTIONS

Avoid contact with skin and eyes. Wear suitable clothing for protection.

The reagent contains a low level of Sodium Azide as preservative and should be disposed of in accordance with national and local regulations. Do not empty into drains.

For more information see the Safety Data Sheet.

RECONSTITUTION

Let the Reagent, Diluent and CaCl₂ reach room temperature before reconstitution.

Reconstitution 1-reagent method, 1X

For one vial GHI 131-10, Protrombincomplex reagent.

Add 5mL diluent (GHI154)

Incubate during 10 minutes; mix in the beginning, in the middle and in the end of the period. The reagent will dissolve into a slightly opaque colorless liquid.

Add 5mL, 25mM CaCl₂ (GHI155-5)

Reconstitution 2-reagent method, 2X

For one vial GHI 131-10, Prothrombin complex reagent.

Add 5mL diluent (GHI154)

Incubate during 10 minutes; mix in the beginning, in the middle and in the end of the period. The reagent will dissolve into a slight opaque colorless liquid.

STORAGE CONDITIONS AND STABILITY

Unopened reagents are stable until the expiration date shown on the vial when stored at 2-8°C.

Reconstituted reagent is stable for 7 days at 15-25°C and at 2-8°C.

Reagent intended to be used the same day as reconstitution:

PT-reagent 1X: let stand for two hours after reconstitution before use

PT-reagent 2X: let stand for one hour after reconstitution before use

It is important to mix the reagent before use but it is not necessary with continuously stirring when reagent is kept on the instrument.

Important recommendation:

If the reconstituted reagent is supposed to be used over a period of several days it is strongly recommended to dilute the reagent the day prior to use to achieve 7 days stability.

The reason is that the sensitivity (ISI) slightly changes between the day for reconstitution (day 0) and day 1 but after that the ISI is stable for 7 days. (See stability data in the certificate)

It is recommended to reconstitute reagent for 7 days at the time.

SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

It is recommended that specimen collection and storage be carried out in accordance with CLSI instructions H21-A5 (ref.4) 9 parts of freshly drawn venous blood are collected into one(1) part 0,13 M tri-natriumcitrate that must be mixed immediately and thoroughly. The ratio is critical and insufficient filling and the presence of a clot in a specimen is cause for rejection. Plasma is obtained by centrifugation of anticoagulated blood during 15 minutes at 2500xg within 24 hours. Before centrifugation check that there are no coagel in the sample.

ANALYSIS METHOD

For detailed description regarding the test parameters as well as test-performance reference is made to instrument specific applications. Observe the different applications for plasma, citrate- and capillary blood.

Preconditions for plasma, citrate- and capillary blood

100 µl plasma + 600 µl Owrens buffer	1:7
50 µl capillary blood + 200 µl Owrens buffer	1:5
50 µl citrated blood (+9) + 170 µl Owrens buffer	1:4,4

Procedure plasma

Analysis with one-component reagent

100 µl plasma diluted 1:7, pre-heated to 37°C

200µl PT reagent 1X, pre-heated to 37°C

Analysis with two-component reagent

100 µl plasma diluted 1:7, pre-heated to 37°C

100µl PT reagent 2X, pre-heated to 37°C

100 µl 25 mM CaCl₂ pre-heated to 37°C

For both methods the following is applicable: mix immediately and let react at 37°C. Note the coagulation time that is the interval from the last addition until coagulation occurs. The PT-activity is determined by comparing the obtained coagulation time with corresponding calibrators with known contents of PT-activity.

Interpretation of analysis result

Normal range INR 0,92-1,20 (70-130%)

Optimal oral anticoagulation treatment with thrombosis prophylax: INR 2-3 (15-25%).

(ref.3)

CALIBRATION

Calibration according to local routines for Owrens PT.

QUALITY CONTROL (Not included in the kit!)

For reliable quality control of the performance it is recommended to use normal control plasma (GHI 162, GHI163 and GHI164) and abnormal control plasma OKP (GHI 167B, GHI169 and GHI170) and at a frequency in accordance with good laboratory practise.

SPECIFICITY AND INTERFERENCES (plasma)

The reagent is not affected by Bilirubin up to 0,5 g/L, Triglycerides up to 10 g/L, Hemoglobin up to 10 g/L and Heparin* up to 1IE/mL

* Means unfractionated Heparin and use of dilution buffer GHI150. When using buffer with Polybrene GHI152 the reagent is not affected by unfractionated Heparin up to 4 IE/mL.

It is recommended that each laboratory should establish its own heparin therapeutic range.

TYPICAL PERFORMANCE

Analysis performed on ACL9000 with plasma with two INR levels. (n=81)

	CV% within series	CV% between series	CV% Total
Level 1,00	0,7	0,5	0,9
Level 2,30	1,5	1,2	1,9

REFERENCES

Ref.1. Besselar A M H P va den. 1991. The significance of the international Normalized Ratio (INR) for oral anticoagulant therapy. JIFCC 3; 146-53

Ref.2. Besselar A M H P va den. Lewis SM, Mannucci P M Poller L. 1993. Status of present and candidate International Reference Preparations (IRP) of thromboplastin for prothrombin time. Thromb Haemostas 69:85.

Ref.3. Schulman S et al 1995. A comparison of six weeks with six months of oral anticoagulant therapy after a first episode of venous thromboembolism. New Eng J Med 332:1661.

Ref.4 CLSI Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-based Coagulation Assays 5th Ed. CLSI document H21-A5 Vol. 28 No.5

2009-12-04



Medirox AB Studsvik 611 82 Nyköping, Sweden

Tel.:+46(0)155 45 44 10, Fax: +46(0)155 26 30 11, E-mail: info@medirox.se www.medirox.se

Thrombolyzer-analysaattorin antamat tulokset

putken nro:	Näyteryhmä A	Näyteryhmä B
1	2,5	2,3
2	2,4	2,3
3	2,7	2,5
4	2,7	2,4
5	2,8	2,7
6	3,4	3,3
7	3,0	2,9
8	2,4	2,3
9	2,4	2,2
10	2,5	2,5
11	2,7	2,6
12	2,6	2,5
13	3,1	3,0
14	2,4	2,2
15	2,0	1,9
16	2,1	2,0
17	2,0	1,9
18	2,0	1,9
19	2,6	2,5
20	1,9	1,8
21	2,5	2,3
22	3,2	2,9
23	3,5	3,2
24	2,8	2,7
25	1,7	1,6
26	2,8	2,6
27	3,9	3,7
28	2,6	2,4
29	2,3	2,2
30	2,1	2,0
31	2,0	1,9
32	3,3	3,1
33	2,4	2,2
34	2,1	2,0
35	3,4	3,2
36	3,2	2,9
37	3,0	2,9

Näyteryhmät:**A** = Vajaasta näyteputkesta mitattu INR-arvo**B** = Täydestä näyteputkesta mitattu INR-arvo