

Teemu Leppänen, Elisa Rintala

Näytekuljetusten lämpötilapoikkeamien vaikutus kokoverenä saapuvien näytteiden analysointikelpoisuuteen

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalyttikko (AMK)

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Opinnäytetyösuunnitelma

11.12.2013

Tekijät Otsikko Sivumäärä Aika	Leppänen Teemu, Rintala Elisa Näytekuljetusten lämpötilapoikkeamien vaikutus kokoverenä saapuvien näytteiden analysointikelpoisuuteen 36 sivua + 3 liitettä 11.12.2013
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Ohjaajat	Lehtori Hannele Pihlaja Kliininen asiantuntija Ellen Saarela
<p>Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää yleisimpien kokoverinäytteiden säilyvyyttä poikkeavissa näytekuljetuslämpötiloissa. Tavoitteena oli, että tutkimuksen avulla Meilahden sairaalan automaatiopäivystyslaboratorio saisi alustavan toimintamallin siitä, miten näytekuljetuksissa poikkeaville lämpötiloille altistuneiden näytteiden kanssa tulisi toimia. Tutkimuksen pohjalta luotiin laboratorion käyttöön luonnos ohjeesta näytteiden lämpötilatestausta varten, sillä vastaavaa ohjetta ei tällä hetkellä ole.</p> <p>Analyyttien säilyvyyttä tutkittiin kirjallisuuskatsauksen avulla perehtymällä aikaisempiin tieteellisiin tutkimuksiin aiheesta. Tutkimukset rajattiin koskemaan kuuden tunnin säilyvyyttä kokoverenä, sillä suurin osa näytteistä kuljetetaan HUSLABin toimipisteissä erottelematta, ja kuljetukset kestävät pisimmillään kahdesta tunnista kuuteen tuntiin.</p> <p>Kirjallisuuskatsauksen perusteella kalium, glukoosi, laktaattidehydrogenaasi ja epäorgaaninen fosfaatti olivat kaikkein herkimpiä lämpötilamuutoksille. Muut opinnäytetyöhön sisällytetyt analyytit säilyivät verraten hyvin sekä matalissa että korkeissa lämpötiloissa.</p> <p>Suoria johtopäätöksiä näytteiden säilyvyydestä ei voitu tehdä, sillä käytetyt tutkimusmenetelmät, lämpötilat ja ajat sekä tilastolliset menetelmät erosivat toisistaan aikaisemmissa tutkimuksissa. Useimmiten tulokset olivat kuitenkin samansuuntaisia, joten tuloksia voi pitää suuntaa-antavina. Tuloksiin tulee suhtautua kriittisesti, sillä joiltain osin eri tutkimusten välillä oli eriäviä tuloksia. CLSI:n (Clinical and Laboratory Standards Institute) suosituksen mukaisesti tulee varmistua aikaisemman tutkimustiedon soveltuvuudesta yksittäisen laboratorion käyttöön.</p>	
Avainsanat	lämpötila, näytekuljetus, kokoveri, analysointikelpoisuus

Authors Title	Leppänen Teemu, Rintala Elisa The effect of sample temperature deviations on whole blood sample analytes during regional transportation
Number of Pages Date	36 pages + 3 appendices 22 November 2013
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Hannele Pihlaja, Principal Lecturer Ellen Saarela, Clinical Nurse Specialist
<p>The purpose of our study was to report the validity of the results of some of the most common whole blood sample analytes exposed to variant temperature conditions. The information we gathered will be utilised by the HUSLAB Automation Laboratory of Meilahti Hospital, Helsinki, Finland, to develop an operational model for the cases of sample temperature deviations during regional transportation. We did a literature review of the studies of the effects of temperature on the results of several common laboratory analyses. The temperatures varied from 3 to 38 degrees Celsius. Our main focus was on the studies that involved sustaining these temperatures from at least two to six hours which were the minimum and maximum durations of the regional transports in the HUS service area. We found out that potassium, glucose, lactate dehydrogenase and inorganic phosphorus were the least stable analytes in prolonged variant temperatures. The other analytes included in our study were relatively stable in all the studied temperatures. The results were merely indicative, though, since as the Clinical and Laboratory Standards Institute recommended the applicability of previous research findings should be verified before deployment. Moreover, the methods used in the studies were not altogether similar and we found some sporadic contradictory results.</p>	
Keywords	temperature, storage, transportation, whole blood, stability

Sisällys

1	Johdanto	6
2	Työn tarkoitus	6
3	Näytekuljetukset	7
3.1	Kokoverinäytteiden säilyvyyteen vaikuttavat tekijät	7
3.2	Näytekuljetuksia ohjaavat lait ja suositukset	9
3.2.1	Kategoriaan B kuuluvan tartuntavaarallisen materiaalin pakkaaminen ja kuljetus	10
3.3	Näytekuljetuksia ohjaavat standardit ja muut ohjeistukset	11
3.3.1	CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)	12
3.3.2	Suomen standardoimisliiton standardi FSF-EN ISO 15189	12
3.4	Näytteiden aluekuljetukset HUSLABissa	12
4	CLSI-Standardit	13
4.1	Yhteenveto CLSI-standardien sisällöstä	15
5	Tutkimuksia lämpötilojen vaikutuksesta kokoverinäytteisiin	16
5.1	Ellis ym: Hormonien säilyvyys EDTA-plasmassa	16
5.2	Rehak ym:Lämpötilan vaikutus seeruminäytteisiin	16
5.3	Tanner ym: Tavallisimpien näytteiden säilyvyys seerumi-geeliputkessa	17
5.4	Stahl & Brandslund: Kokoverinäytteiden säilyvyys li-hepariiniputkessa	19
5.5	Zhang ym: Seerumin ja hyytymän välisen kontaktin vaikutus säilyvyyteen	20
5.6	Ono ym: 25 analyytin säilyvyys seerumiputkessa	20
5.7	Van Geest-Daalderop ym: INR-näytteiden säilyvyys kokoverenä	22
5.8	Oddoze ym: 81 analyytin säilyvyys erilaisissa näyteputkissa	23
5.9	Zhao & Lv: Tromboplastiiniaikanäytteiden säilyvyys kokoverenä	25
5.10	Leino & Koivula: Yleisimpien näytteiden säilyvyys li-hepariiniputkessa	26
5.11	Key ym: Vitamiinien, lipidien ja testosteronin säilyvyys kokoverenä	27
6	Yhteenveto tutkimustuloksista	28
7	Toimintaohje säilyvyyden testaukseen lämpötilapoikkeamia varten	30
8	Pohdinta	31
8.1	Lähdekritiikki	31

8.2	Työn luotettavuus ja tulosten käyttökelpoisuus	32
8.3	Työn hyödynnettävyys ja ammatillinen kehittyminen	34
	Lähteet	37

Liitteet

Liite 1. Taulukko käyttämiemme tutkimusten keskeisistä sisällöistä

Liite 2. Taulukko keskeisimpien analyyttien tutkimustuloksista

Liite 3. Ohje kokoverinäytteiden säilyvyyden testaukseen lämpötilapoikkeamia varten

1 Johdanto

Suurin osa HUSLABin Meilahden sairaalan näytteiden vastaanottoon kuljetetuista verinäytteistä saapuu kokoverenä, kun kyse on aluekuljetuksista. Näiden kuljetusten kesto on tavallisesti alle kuusi tuntia. Tunnetaan hyvin, että kokoverinäytteet säilyvät huomattavasti huonommin kuin eroteltu plasma tai seerumi. Näytteiden kuljetus kokoverenä vaatii tästä syystä tarkkaa lämpötila- ja aikaseurantaa, ja näytteet ovat herkkiä kuljetuspoikkeamien vaikutuksille. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) on laatinut standardeja verinäytteiden säilytyksestä ja kuljetuksesta. Standardien mukaan on suositeltavaa, että plasma ja seerumi eroteltaisiin mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen. On kuitenkin perusteltua lähettää verinäytteitä kokoverenä. Tällä menettelyllä nopeutetaan näytteiden kulkua analysointilaboratorioon ja vähennetään näytteenottotyöpaikoissa tapahtuvaa näytteiden esikäsittelyä. (Jensen – Stahl – Brandslund – Grinsted 2008: 225.)

2 Työn tarkoitus

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tutkia yleisimpien kokoverenä kuljetettavien näytteiden säilyvyyttä poikkeavissa kuljetuslämpötiloissa. Työ on tehty kirjallisuuskatsauksena perehtymällä aikaisempiin tutkimuksiin. Tutkimusten avulla laaditaan HUSLABin Meilahden sairaalan automaatiopäivystyslaboratorion käyttöön luonnos ohjeesta, miten näytteiden säilyvyyttä eri lämpötiloissa voi tutkia. Opinnäytetyön avulla pyritään keräämään laboratoriolle tietoa siitä, mitkä analyytit säilyvät tutkimuskelpoisina missäkin lämpötiloissa.

Yleisohjeena kuljetuslämpötilojen tulee HUSLABin mukaan olla kemian ja hematologian kokoverinäytteillä 12–30 °C ja mikrobiologian kokoverinäytteillä 2–30 °C. Lämpötilan alittaessa tai ylittäessä nämä lämpötilat, on tapahtunut lämpötilapoikkeama. Suomen standardoimisliitto SFS:n standardin ISO-EN 15189 mukaisesti laboratoriolle tulee olla dokumentoituna näytteiden hyväksymisen ja hylkäämisen kriteerit (SFS 15189. 2004). Joidenkin analyyttien osalta lämpötilapoikkeamien vaikutus on jo tiedossa ja näiden analyyttien kuljetuslämpötilavaatimukset on huomioitu HUSLABin automaatio-

päivystyslaboratorion toimintakäsikirjassa. Tarkastelimme kuitenkin myös näitä analyyttejä vahvistaaksemme toimintakäsikirjan tutkimustuloksia.

Opinnäytetyöllä haetaan vastausta kahteen tutkimuskysymykseen:

- Miten tietyt yleisimmät analyytit säilyvät kokoverinäytteessä eri lämpötiloissa korkeintaan kuuden tunnin säilytyksen ajan aikaisempien tutkimusten perusteella?
- Millaisia standardeja tai suosituksia on olemassa lämpötilapoikkeaman tutkimiseen?

Rajaus kuuden tunnin säilyvyyteen on tehty siksi, että Meilahden aluekuljetukset kestävät tavallisesti enimmillään tämän ajan. Tarkasteltavat analyytit valikoitiin niiden yleisyyden ja löydetyn tiedon määrän perusteella. Työhön sisällytettiin myös yleisimpiä hormoneja ja vitamiineja opinnäytetyön organisaation toiveesta. Työssämme viittaamme myös paikoin harvinaisempien analyyttien säilyvyyteen, mutta pääpaino on yleisimmissä analyyteissä. Tulosten käsittelyosiossa keskitymme C-reaktiivisen proteiinin, natriumin, kreatiniinin, tyreotropiinin, tromboplastiiniajan, tyroksiinin, kolesterolien, triglyseridien, bilirubiinin, B-12-vitamiinin, magnesiumin, ferritiinin, kloridin, transferiinireseptorin, kaliumin, alaniini- ja aspartaattiaminotransferaasin, raudan, alkalisen fosfataasin, testosteronin, estradiolin, parathormonin, kortisolin, albumiinin, C-peptidin, D-vitamiinin, progesteronin, laktaattidehydrogenaasin, glukoosin, folliikkelia stimuloivan hormonin, uraatin, urean, fosfaatin, gammaglutamyylitransferaasin ja kreatiinikinaasin säilyvyyteen eri lämpötiloissa. Standardien hakemisella tavoiteltiin pätevien suositusten löytämistä eri analyyttien analysointikelpoisuuden tutkimiselle eri lämpötiloissa sekä ohjeita näytekuljetuksiin.

3 Näytekuljetukset

3.1 Kokoverinäytteiden säilyvyyteen vaikuttavat tekijät

Solujen normaali, näytteenoton jälkeen jatkuva, metabolia vaikuttaa eri analyyttien pitoisuuksiin. Esimerkkinä voidaan käyttää glukoosia, joka on tärkeä komponentti solujen aineenvaihdunnassa. Aika ja lämpötila vaikuttavat glukoosin kulumisnopeuteen näyte-

putkessa. Korkeissa lämpötiloissa aineenvaihdunta kiihtyy ja näin ollen glukoosi kuluu nopeammin kuin matalissa lämpötiloissa. Tämä vaikuttaa laskevasti näytteen glukoosipitoisuuteen eli aiheuttaa glykolyysiä. Näytteen viilentäminen rajoittaa verisolujen metaboliaa ja vakauttaa näytteen termolabiileja aineita. Näytteen viilennystä käytetään esimerkiksi ionisoitu kalsium (P-Ca-Ion ja S-Ca-Ion) –tutkimusten näytteissä. Kaliumnäytteissä (S-K) viilennystä ei käytetä, koska glykolyysi estyy viileässä lämpötilassa. Glykolyysi tuottaa energiaa, jolla kaliumia pumpataan soluihin. Glykolyysin estyessä kalium vuotaa ulos soluista, minkä seurauksena analysoitaessa saadaan virheellisen korkeita tuloksia. Korkeissa lämpötiloissa aineenvaihdunta kiihtyy ja solujen kaliumpitoisuus nousee, jolloin plasman kaliumpitoisuus vastaavasti laskee. Kun glukoosivaras-
tot ehtyvät, kalium vapautuu soluista, mikä nostaa pitoisuutta. (Tanner ym. 2008.)

Näyteputket on pidettävä huolellisesti suljettuina, jotta näyte ei haihdu. Myös auringonvalo voi vaikuttaa joidenkin analyttien, kuten B12-vitamiin ja folaatin, tuloksiin, jollei näyteputkea suojata. (Mastropaolo – Wilson 1993.)

Punasolut ovat erityisen herkkiä hajoamaan lämpötilamuutosten seurauksena. Lämpötilan lisäksi myös esimerkiksi potilaan metaboliset häiriöt, kuten maksasairaudet, näyteputken täyttöaste, sentrifugoinnin voimakkuus sekä näytteen varastointi- ja kuljetusolosuhteet, kuten värinä, vaikuttavat mahdolliseen hemolyysiin (Lippi ym. 2008).

Hemolyysissä punasoluista vapautuu hemoglobiinia, proteiineja, lipidejä, entsyymejä ja hiilihydraatteja, jotka vääristävät joidenkin tutkimusten tuloksia. Vääristymät voivat johtua näytteen analyttien pitoisuuden kasvusta, laimenemiseffektistä tai vapautuvien komponenttien kemiallisista reaktioista analyysivaiheessa. Hemolyysissä vapautuva hemoglobiini vaikuttaa näytteen absorbanssiin, mikä häiritsee fotometrisia tutkimuksia. Hemolyysin aiheuttama vääristymä on lähes lineaarisesti riippuvainen näytteen vapaan hemoglobiinin määrästä. Aspartaattiaminotransferaasin (ASAT), alaniiniaminotransferaasin (ALAT), kreatiniinin (Krea), kreatiinikinaasin (CK), raudan (Fe), laktaattidehydrogenaasin (LD), lipaasin (Lipaas), magnesiumin (Mg), fosfaatin (Pi), kaliumin (K) ja urean (Urea) pitoisuusmittauksissa saadaan johdonmukaisesti liian korkeita tuloksia, kun taas albumiinin (Alb), alkalisen fosfaatin (AFOS), bilirubiinin (Bil), kloridin (Cl), glutamyltransferaasin (GT), glukoosin (Gluk) ja natriumin (Na) tulokset ovat alhaisia näytteen laimennuttua hemolyysin vuoksi. LD:n, magnesiumin, fosfaatin ja kaliumin pitoisuuden nousu hemolyytisessä näytteessä johtuu niiden eri pitoisuuksista solun sisä- ja ulkopuolella. Soluista vapautuva adenyylaattikinaasi puolestaan aiheuttaa mittausvirhei-

tä kreatiniinikinaasianalyseissä ja johtaa liian korkeisiin tuloksiin. Häiriöt bilirubiinin, raudan, lipaasin ja GT:n mittauksissa johtuvat todennäköisesti spektrien päällekkäisyyksistä ja hemolysaatin ja reaktiokomponenttien välisistä kemiallisista reaktioista, kun taas AFOS-määrityksessä virheelliset tulokset ovat pääosin seurausta hemoglobiinin denaturoitumisesta alkalisessa väliaineessa. (Lippi ym. 2008.) Taulukossa 1 on esitetty näytteiden säilyvyyteen vaikuttavia tekijöitä preanalyttisessä laboratoriotyön vaiheessa.

Taulukko 1. Taulukko 1. Yleisimpiä hemolyysiin vaikuttavia tekijöitä.

Potilas	Näytteenotto	Näytteen kuljetus	Prosessointi	Varastointi
Metaboliset häiriöt	Näytteenottovälineet	Lämpötila Kosteus	Sentrifugoinnin ajankohta ja voimakkuus	Aika Lämpötila
Lääkkeet ja nautintoaineet	Näytteenotto-tekniikka	Kuljetusaika	Sentrifugointiaika ja -lämpötila	Suhteellinen kosteus
Infektiot	Putken sekoitus- ja täyttömäärä Käytetty antisepti	Tärinä		

3.2 Näytekuljetuksia ohjaavat lait ja suositukset

Biologisten näytteiden kuljetusta säädellään Suomessa lailla. Laki vaarallisten aineiden kuljetuksesta (VAK) ja tähän kuuluva valtioneuvoston asetus vaarallisten aineiden kuljetuksista tiellä määräävät sen, millaisia reunaehtoja kuuluu kuljetusprosessiin. Kuljetuslainsäädännön valmistelusta vastaa Liikenne- ja viestintäministeriö. Lainsäädännön tarkoituksena on ehkäistä vahinkoa ja vaaraa, joita vaarallisten aineiden kuljetukset saattavat aiheuttaa ihmisille, ympäristölle ja omaisuudelle. Keskeisimpinä tavoitteina ovat vaarallisten aineiden turvallinen käsittely ja kuljetus, turvallinen kuljetuskalusto ja aineiden pakkaaminen sekä toimintaan osallistuvan henkilöstön koulutus ja tietotaidon ylläpito. Laki vaarallisten aineiden kuljetuksista määrittelee muun muassa sen, miten vaaralliset aineet tulee pakata ja merkitä. (Laki vaarallisten aineiden kuljetuksesta 719/1994 § 1.) Tässä opinnäytetyössä tarkastellaan tartuntavaarallisten näytteiden pakkaamista ja merkitsemistä maantiekuljetuksissa, jotka rajoittuvat Suomen alueelle.

Suomen lainsäädännössä sovelletaan kansainvälisiä kuljetussäädöksiä. Vaarallisten aineiden kuljetuksia maanteitse säätelee ADR (European Agreement Concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road). ADR on Yhdistyneiden kansakuntien Euroopan talouskomission alainen eurooppalainen sopimus, joka koskee kaikkia sopimuksen allekirjoittaneita jäsenmaita. Sopimuksen keskeisimpinä sisältöinä ovat tartuntavaarallisten aineiden luokittelu, pakkausten ja kuljetusajoneuvojen laatuvaatimukset, ohjeet näytteiden pakkaamiseen ja pakkausten testaukseen sekä dokumentointiin. (ADR 2013.)

Laki vaarallisten aineiden kuljetuksista jakaa vaaralliset aineet yhdeksään luokkaan vaarallisuuden perusteella. Laboratorioiden biologinen materiaali kuuluu luokkaan tartuntavaaralliset aineet eli luokkaan 6.2. (Tukes 2013.) WHO (World Health Organisation) on laatinut suositukset tartuntavaarallisten aineiden kuljetuksille. IATA (International Air Transport Association) määrittelee tartuntavaarallisen materiaalin materiaaliksi, jonka tiedetään tai voidaan epäillä sisältävän patogeeneja, jotka voivat aiheuttaa taudin ihmiselle tai eläimelle. Näistä tartuntavaaralliset kuljetukset jaetaan kategorioihin A ja B. (Gotz 2012.)

Kategoria A sisältää materiaalin, joka sisältää taudinaiheuttajia, jotka voivat aiheuttaa vakavan pitkäaikaisen tai jopa kuolemaan johtavan sairauden tai sairauden, joka on huonosti tai ei lainkaan hoidettavissa. Lisäksi patogeeni luo vakavan uhan yksilölle ja yhteisölle. Esimerkkinä A-luokkaan kuuluvasta patogeenisestä materiaalista on ebola- tai rabiesvirusta sisältävä materiaali. Tällaiset näytekuljetukset merkitään UN-koodilla 2814 tai 2900. (Gotz 2012.)

Kategoriaan B kuuluu tartuntavaarallinen materiaali, joka ei kuulu kategoriaan A. Tällainen materiaali on merkittävä kuljetuspakkaukseen UN-koodilla 3733. (Gotz 2012.) Kategoriaan B kuuluvat tavallisimmat kliiniset laboratorionäytteet.

3.2.1 Kategoriaan B kuuluvan tartuntavaarallisen materiaalin pakkaaminen ja kuljetus

YK:n UN 3733-numeron alle luokiteltavat aineet määritellään pakattavaksi ohjeen P650 mukaisesti. Pakkausten tulee kestää tavanomaiset kuljetusolosuhteet eivätkä ne saa vuotaa. Pakkauksen on koostuttava kolmesta osasta; primaari-, sekundaari- ja tertiää-

ripakkauksesta. Ulkopakkaus merkitään UN 3733 -merkillä. (World Health Organisation 2007: 6-7, 13.)

Primaaripakkaus sisältää tutkittavan näytteen. Pakkauksen on oltava vesitiivis ja vuotamaton. Sekundaaripakkauksen tehtävänä on suojata primaaripakkausta. Myös sen on oltava vesitiivis, vuotamaton ja kestävä. Nestettä sisältävän primaaripakkauksen ja sekundaaripakkauksen väliin on tarvittaessa laitettava imeytysainetta, sillä primaaripakkauksen rikkoutuessa neste ei saa vuotaa sekundaaripakkauksen ulkopuolelle. Tertiäripakkaus suojaa näytteitä ulkoisilta voimilta, esimerkiksi kuljetuksen aikaiselta liikkeeltä. Tertiäripakkaukseen on tarpeen mukaan laitettava pehmusteita. Esimerkkinä primaaripakkauksesta ovat verinäyteputket, sekundaaripakkauksesta näyteputkien kuljetukseen tarkoitetut styroxlaatikot ja tertiäripakkauksesta näytekuljetuslaukut. (Laboratorionäytteiden lähettäminen postitse. 2011.)

Jos näytteitä on lähetettävä kylmälähetyksinä, on jää tai hiilihappojää pakattava sekundaaripakkauksen ulkopuolelle. Jää on pakattava vuotamattomaan pakkaukseen ja ulkopakkauksen tulee olla vesitiivis. Hiilihappojäätä ei saa pakata primaari- tai sekundaaripakkauksen sisälle räjähdysvaaran vuoksi. Hiilihappojään käyttäminen edellyttää erityistä kuljetuspakkausta, joka päästää haihtuneen hiilidioksidin lävitseen. Nestemäisen tyyppien käyttö asettaa kuljetukselle erityisiä vaatimuksia ja pakkaamis- ja dokumentointiohjeisiin on perehdyttävä huolellisesti. Erityisesti tulee kiinnittää huomiota pakkauksen kestävyteen. Nestemäistä tyyppiä sisältävät kuljetukset tulee merkitä asianmukaisesti merkillä, joka kertoo kuljetuksen sisältävän nestemäistä tyyppiä. (World Health Organisation 2007: 15.) Nykyään on käytössä myös erilaisia kylmäelementtejä, joilla jää tai hiilihappojää voidaan korvata (Cool ID Oy. 2013).

3.3 Näytekuljetuksia ohjaavat standardit ja muut ohjeistukset

Standardi on kirjallinen julkaisu, joka sisältää suosituksia siitä, miten jokin asia tulisi tehdä. Standardin tavoitteena on auttaa oikeanlaisen menettelytavan käyttöönotossa ja eri organisaatioiden toimintamallien yhtenäistämässä. Standardit ovat tavallisimmin suosituksia, mutta viranomaiset saattavat edellyttää niiden käyttöä. Standardit ovat tunnustetun organisaation, yhdistyksen, viranomaisen tai muun tahon luomia. (SFS 2013.)

3.3.1 CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) on vapaaehtoisvoimin toimiva riippumaton organisaatio, joka luo ja kehittää standardeja laajasti eri klinisiin laboratorio-prosesseihin. Organisaation tavoitteena on yhtenäistää eri laboratorioiden menetelmiä ja käytäntöjä maailmanlaajuisesti. Standardit perustuvat vahvaan näyttöön ja ovat eri ammattilaisten yhteistyössä suunniteltuja. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2013.)

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) on laatinut suositukset näytteiden pakkaamiseen ja kuljetukseen. Organisaatio korostaa, että suosituksien soveltamisessa tulee noudattaa valtakunnallisia ja paikallisia ohjeita. (Kieschle ym. 2010: 2.) Käytännössä tämä tarkoittaa Suomessa eritoten lakia vaarallisten aineiden kuljetuksesta ja Suomen standardoimisliiton laatimia standardeja. Testien ja välineiden käytössä suositellaan valmistajien ohjeiden noudattamista (Kieschle ym. 2010: 2).

3.3.2 Suomen standardoimisliiton standardi FSF-EN ISO 15189

Suomen standardoimisliiton standardi FSF-EN ISO 15189 (2007: 46) velvoittaa kliniset laboratoriot kuljettamaan näytteet sopivassa ajassa ja lämpötilassa, jotka soveltuvat pyydettyä tutkimuksen luonteeseen niin, että näyte säilyttää ominaisuutensa muuttumattomina kuljetuksen ajan. Laboratorioilla tulee olla kirjattuna menettelytavat kiireellisten näytteiden vastaanottoa, kuljetusta, tutkimusta ja vastaanamista varten. Laboratorion käsikirjassa tulee olla määriteltynä näytteiden hyväksymis- ja hylkäämiskriteerit. Jos poikkeavia näytteitä hyväksytään tutkittavaksi, tulee poikkeamat kirjata ja perustella.

3.4 Näytteiden aluekuljetukset HUSLABissa

Näytteiden kuljettamiseen liittyy useita riskitekijöitä, jotka on syytä tunnistaa. Suomen vaihtelevat keliolosuhteet tuovat omat haasteensa kuljettamiseen, minkä vuoksi pakkaamistavat vaihtelevat ulkolämpötilan mukaan. Lähettävän tahon ja vastaanottajan lisäksi myös näytteiden kuljettajalla tulee olla perehdytys näytteiden oikeanlaiseen käsittelyyn. (Saarela, Ellen 2013.)

HUSLABin näytteenottotoimipisteistä aluekuljetuksen mukana lähetettävät verinäytteet pakataan styrox-laatikoissa näytekuljetuslaukkuihin, joiden sisään laitetaan lämpögeeli, mikäli ulkolämpötila on alle +10 °C ja kylmägeeli, mikäli ulkolämpötila on yli +20 °C. Geelin tarkoitus on pitää näytteet analyysikelpoisessa lämpötilassa, joka on pääosassa kokoverinäytteitä +12 °C–+30 °C. Laukuissa on UN 3733 –merkillä varustetut kyltit, joissa lukee sekä lähetävän että vastaanottavan paikan nimi. Lisäksi näyte kuitataan sekä lähetävässä että vastaanottavassa paikassa. Näytteillä on yksilölliset tunnisteet, joten ne ovat aina jäljitettävissä. (Saarela, Ellen 2013.) Suomen standardoimisliiton vaatimusten mukaan näytekuljetuksen on tapahduttava tietyissä lämpötilarajoissa (SFS 15189 2004).

HUSLAB käyttää näytekuljetusten lämpötilaseurannassa Fourtec Microlite® -mittaria. Kuljetuslaukkuun on laitettava mittari, jos kuljetus meilahden sairaalan tai mikrobiologian näytteiden vastaanottoon kestää yli kaksi tuntia. (Saarela, Ellen 2013.) Mittari rekisteröi lämpötilaa 10 minuutin välein ja hälyttää, mikäli lämpötila poikkeaa asetetuista rajoista. Mittarissa on LCD-näyttö, johon hälytys tulee näkyviin. Tietokonesovelluksen avulla voi tarkastella kaikkia kuljetuksen aikana rekisteröityjä lämpötilamittauksia. Myös mahdollisen lämpötilapoikkeaman kesto selviää sovelluksen avulla. Lämpötilan mittaustarkkuus on $\pm 0,3$ °C. (Microlite brochure. 2013.) Microlite® -mittarit ovat lian- ja vedenpitäviä ja ne on valmistettu ISO 9001 –standardin mukaisesti (Fourtec Declaration of Accuracy. 2012).

4 CLSI-Standardit

Standardien hakemisen tavoitteenamme oli löytää valmis, sovellettavissa oleva, malli lämpötilapoikkeamien tutkimiselle ja suosituksia näytteiden säilyttämiselle. Opinnäytetyössä käytettiin standardeja H18-A4 (Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests) ja H21-A5 (Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays). Standardit sisältävät suosituksia yleisimpien laboratorionäytteiden ja hyytymistutkimusnäytteiden näytteenotolle, käsittelylle, säilytykselle, tutkimiselle ja kuljetukselle.

Näytteet tulee kuljettaa mahdollisimman lyhyessä ajassa ja huoneenlämpöisinä, jollei muunlaisia kuljetuslämpötiloja erityisesti vaadita. Näytteet tulee suojata lämpötilan

muutoksilta ja kosteudelta. Näytteet kuljetetaan pääasiassa kokoverenä määritellyssä ajassa. Jollei tämän ajan noudattaminen ole mahdollista, tulee näytteet erotella ennen lähetystä. (Kieschle ym. 2010: 3-5.)

Näytteenoton jälkeen putkia tulee sekoittaa ainakin 5-10 kertaa sitraattiputkia lukuunottamatta. Hyytymisnäyteputkia sekoitetaan 3-4 kertaa. Ennen kuljetusta seeruminäytteiden tulee antaa hyytyä vähintään 30 minuuttia. Plasmanäytteet voi lähettää heti. (Adcock ym. 2008: 5; Kieschle ym. 2010: 20.)

Bermesin ym. mukaan optimaalinen aika kokoverinäytteiden säilyttämiselle erottelematta on enimmillään kaksi tuntia (General Laboratory Techniques, Procedures, and Safety. 2001: 41). Yli 48 tuntia säilytettyä kokoverinäytettä ei tule tutkia, jollei ole olemassa luotettavia ja dokumentoituja tutkimuksia, jotka osoittavat näytteen säilyvän tätä pidempään. Näytteet, jotka eivät kestä valoa, tulee suojata valolta esimerkiksi alumiinifoliolla. Näytteet, jotka vaativat viilentämistä, viilennetään laittamalla ne veden ja jään seokseen. Hyvä kontakti viilentävän materiaalin ja näytteen välillä on ehdoton. Suoraa kosketusta jään kanssa tulee välttää hemolyysiriskin vuoksi. Viilennetyt näytteet pidetään viilennettyinä koko kuljetuksen ajan sentrifugointiin asti. Hyytymistutkimusnäytteet kuljetetaan kokoverenä aina huoneenlämpöisinä. Kylmä saattaa aktivoida hyytymistekijöitä näytteessä ja siksi viilentämistä ei suositella. (Adcock ym. 2008: 13-14; Kieschle ym. 2010: 6-8.) Erityisesti viilennys vaikuttaa hyytymistekijöihin VII, XI ja XII (Lehto – Rautajoki – Tuokko 2008: 116-117). Verinäyteputket suositellaan kuljetettavan pystyasennossa, sillä asento edistää seeruminäytteen kunnollista hyytymistä, ehkäisee fibrinin tarttumista korkkiin ja vähentää näytteisiin kohdistuvaa tärinää, joka saattaa aiheuttaa hemolyysiä (Kieschle ym. 2010: 9).

Standardin H21-A5 mukaan tromboplastiiniaikanäytteet säilyvät 24 tuntiin asti huoneenlämmössä ja muut hyytymistutkimusnäytteet tutkittavasta hyytymistekijästä riippuen tunnista neljään tuntiin. Jääkaappisäilytystä ei suositella hyytymistutkimusnäytteille. (Kieschle ym. 2010: 5).

Näytettä ei tule tutkia, jos se on otettu vääränlaiseseen näytteenottoastiaan, näytteenottoastian tunnistet, kuten potilastiedot, ovat puutteelliset, näytemäärä on riittämätön, näyte on kuljetettu vääränlaisessa kuljetuspakkauksessa, on hemolyyttinen tai altistunut kuljetuksissa tai säilytyksessä poikkeaville olosuhteille, kuten ääriämpötiloille. Kokoverenä tutkittavissa näytteissä eikä hyytymistutkimusnäytteissä saa olla hyytymiä.

Hemolyysi näytteissä voi vaikuttaa tutkittavan analyytin pitoisuuteen tai häiritä fotometrisiä mittaussuunnitelmia. Hylkäämiskriteereitä tulee soveltaa ja käyttökelpoisuutta arvioida yksittäisten laboratorioiden käyttöön paikallistasolla. (Adcock ym. 2008: 16-17; Kiechle ym. 2010: 13-14.)

4.1 Yhteenveto CLSI-standardien sisällöstä

Standardien mukaan näytteet tulee säilyttää pääasiassa huoneenlämmössä ja tutkia mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen. Poikkeavien lämpötilojen vaikutusta ja näytteiden tutkimuskelpoisuutta standardeissa käsiteltiin niukasti. Standardissa H18-A4 viitattiin aikaisempiin tutkimuksiin kokoverinäytteiden säilyvyydestä, mutta varsinaisia suosituksia eri analyyttien säilytysajoille eri lämpötilaolosuhteissa ei löytynyt. Suurin osa standardissa viitatuista tutkimuksista käsitteli kokoverinäytteiden säilyvyyttä huoneenlämpötilassa tai pitkäaikaista, vähintään vuorokauden kestävästä säilytyksestä. Kummassakin standardissa todetaan, että on paljon analyyttejä, joiden säilyvyyttä ei tunneta (Kiechle ym. 2010: 5).

Opinnäytetyön mielenkiinnon kohteena olivat poikkeavat lämpötilat ja lyhytkestoinen säilytys, joten suurin osa standardeissa mainituista tutkimuksista ei sopinut työhön. Muutamia sivuavia tutkimuksia standardissa kuitenkin oli, esimerkiksi Tannerin ym:n tutkimus vuodelta 2008 ja Rehakin ja Chiangin tutkimus vuodelta 1988, joita käytettiin kirjallisuuskatsauksessa.

Mallia lämpötilavaikutusten tutkimiseen ei ollut kummassakaan standardissa. Standardit sisälsivät kuitenkin yleisiä ohjeita muun muassa siitä, kuinka näytteet tulee pakata kuljetusta varten, sentrifugoida ja käsitellä ennen analysointia. Näitä tietoja käytimme muun lähdetiedon lisänä kuvaamaan, miten näytteet tulisi optimaalisesti esikäsitellä ja kuljettaa luotettavien tulosten saamiseksi.

5 Tutkimuksia lämpötilojen vaikutuksesta kokoverinäytteisiin

5.1 Ellis ym: Hormonien säilyvyys EDTA-plasmassa

Uusi-Seelantilaisessa Ellisin, Liveseyn ja Evansin tutkimuksessa ”Hormone stability in human whole blood” vuodelta 2003 on tutkittu 17 hormonin säilyvyyttä EDTA-plasmassa neljässä ja + 24 celsiusasteessa puolen tunnin, kuuden tunnin ja 24 tunnin odotusajalla ennen erottelua. Tutkittavat hormonit olivat kortikotropiini (P-ACTH), aldosteroni (P-Aldos), gonadotropiinin α -alaysikkö (P-h-CG-A), arginiini-vasopressiini (P-AVP), C-peptidi (P-C-Pep), follikkelia stimuloiva hormoni (P-FSH), kasvuhormoni (P-GH), glukagoni (P-Glkn), insuliinin kaltainen kasvutekijä 1 (P-IGF-1), insuliinin kaltaista kasvutekijää sitova proteiini 3 (P-IGFBP3), insuliini (P-Insu), leptiini (P-Leptin), luteinisoiva hormoni (P-LH), estradioli (P-Estdio), prolaktiini (P-PRL), parathormoni (P-PTH) ja vasoaktiivinen intestinaalinen peptidi (P-VIP). Näytteitä kerättiin terveiltä aikuisilta 8-11 jokaista analyyttiä kohti. Hormonien lähtötason mittaamista varten otetut kaksi näytettä jokaiselta osallistujalta sentrifugoitiin välittömästi neljässä celsiusasteessa. Loput näytteet säilytettiin + 4 tai + 24 celsiusasteessa kunnes ne sentrifugoitiin puolen tunnin, kuuden tunnin tai 24 tunnin kuluttua. Jokaisen analyytin tutkimusnäytteiden pitoisuudet mitattiin keskenään samassa sarjassa. Pitoisuusmuutosten keskinopeuden mittaamisessa käytettiin epälineaarista regressiota. Hormonien pitoisuudet kunakin mittaamisajankohtana ilmaistiin prosentiosuutena lähtötasonäytteiden pitoisuuden keskiarvosta. Pitoisuudet, jotka olivat vähemmän kuin kaksi kertaa käytetyn menetelmän mittaustarkkuusrajan, jätettiin pois tutkimuksesta. Pitoisuuden muutoksen keskinopeus (k) laskettiin kaavalla $y=e^{kt}$, jossa y on hormonipitoisuuden jäljelle jäänyt osuus ajan (t) jälkeen. Kortikotropiinin, insuliinin ja vasoaktiivisen intestinaalisen peptidin keskipitoisuudessa havaittiin merkittävä lasku 17-19 tuntia näytteenoton jälkeen. Tämä ei kuitenkaan ole työmme kannalta oleellista, sillä merkittävää laskua ei ilmennyt vielä kuuden tunnin jälkeen näytteenotosta. Arginiini-vasopressiinin pitoisuus sen sijaan laski lämpimässä peräti 10 prosenttia jo 2,6 tunnissa, millä voi olla kliinistä merkitystä. Muiden hormonien osalta merkittäviä muutoksia ei ilmennyt

5.2 Rehak ym:Lämpötilan vaikutus seeruminäytteisiin

Seeruminäytteisiin keskittyvässä Rehakin ja Chingin tutkimuksessa ”Storage of Whole Blood: Effect on Temperature on the Measured Concentration of Analytes in Serum” vuodelta 1988 tutkittiin yleisimpien analyyttien pitoisuutta tuoreessa seerumissa verrattuna seerumiin, jota on säilytetty eri lämpötiloissa 24 tunnin ajan. Tutkimuksen keskeisiä analyyttejä olivat kolesteroli (S-Kol), kreatiniini (S-Krea), glukoosi (S-Gluk), kalium (S-K), natrium (S-Na), bilirubiini (S-Bil), alaniiniaminotransferaasi (S-ALAT), aspartaattiaminotransferaasi (S-ASAT), proteiini (S-Prot), laktaattidehydrogenaasi (S-LD), kreatiinikinaasi (S-CK), alkalinen fosfataasi (S-AFOS), kloridi (S-Cl), kalsium (S-Ca) uraatti (S-Uraat) ja urea (S-Urea). Säilytyslämpötilat olivat + 3, + 10, + 15, + 22, + 25, + 30 ja + 38 celsiusastetta. 20 vapaaehtoiselta otettiin jokaiselta useita näytteitä. Tarkka yhdeltä henkilöltä otettujen näytteiden määrä ei käy tutkimuksesta ilmi. Yksi näyte kultakin osallistujalta toimi lähtötason näytteenä ja se analysoitiin välittömästi hyytymisen ja sentrifugoinnin jälkeen. Sentrifugointiolosuhteet olivat 2000 g, 10 minuuttia + 20 °C:ssa. Muut näytteet altistettiin 30 minuutin hyytymisajan jälkeen kokoverenä eri säilytyslämpötiloille, minkä jälkeen ne sentrifugoitiin ja analysoitiin. Glukoosipitoisuus laski ja proteiinipitoisuus nousi yli + 22 asteen lämpötilassa suoraan verrannollisesti lämpötilaan nähden. Aminotransferaasipitoisuudet nousivat yli + 22 asteen lämpötilassa. Kaliumpitoisuus pysyi vakaimpana + 22-25 celsiusasteessa. Pitoisuus laski eniten kolmen asteen lämpötilassa. Proteiinipitoisuus nousi yli + 22 asteen lämpötilassa miltei lineaarisesti lämpötilaan nähden. + 38 asteessa pitoisuus oli jo lähes nelinkertainen lähtötasoon nähden. + 25-asteisessä näytteessä pitoisuus nousi noin 50% + 22-asteiseen näytteeseen verrattuna. Laktaattidehydrogenaasin ja kreatiinikinaasin pitoisuudet nousivat noin 30% kolmen asteen lämpötilassa. Suurin osa analyyteistä ei reagoanut merkittävästi lämpötilamuutoksiin.

5.3 Tanner ym: Tavallisimpien näytteiden säilyvyys seerumi-geeliputkessa

Tannerin, Kentin, Smithin, Fletcherin ja Lewerin tutkimuksessa ”Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation” vuodelta 2008 tutkittiin joidenkin yleisimpien analyyttien pitoisuutta seerumigeeliputkissa + 15, + 25 ja + 35 celsiusasteen lämpötiloissa 4, 8 ja 24 tunnin säilytysajan jälkeen. Näitä tuloksia verrattiin lähtötasonäytteisiin. Näytteet kerättiin 15 mieheltä ja 15 naiselta, jotka olivat iältään 15-57-vuotiaita. Kultakin osallistujalta otettiin 11 näytettä. Jokaisessa tutkimuksessa analysoitiin kaikkien 30 vapaaehtoisien näytteet lukuunottamatta sukupuolihormoneja, joista esimerkiksi estradiolin ja follikkelia stimuloivan hormonin taso tutkittiin vain naispuolisten koehenkilöiden näytteillä. Kaikis-

ta näytteistä mitattiin LIH-indeksi (lipemia, ikteria ja hemolyysi). Kaikkien näytteiden lipeemisyys ja ikteerisyys olivat hyväksyttävien rajoissa. Hemolyysi-indeksi oli näytteissä välillä 20-52. Käytetyn LDH-reagenssin tuoteselosteen mukaan yli 20 hemolyysitaso vaikuttaa LDH-kolesterolin tasoon, joten kaikki tämän tason ylittävät LDH-näytteet hylättiin. Muilla näytteillä ei havaittu merkitsevää hemolyysitasoa.

Rajat kliinisesti merkittävälle pitoisuuksien muutoksille määritteli ryhmä kliiniseen kemiin erikoistuneita patologeja ja biokemistejä. Kullekin analyytille määriteltiin eri rajat perustuen aikaisempaan laboratorion keräämään dataan, biologisiin vaihteluihin ja kliinisesti merkittävänä pidetyille raja-arvoille. Näin määriteltiin eri analyyteille CAL-arvo (Clinically acceptable limit), jonka ylittäminen määriteltiin merkittäväksi muutokseksi. Lisäksi huomioitiin tilastollinen merkitsevyys ($p < 0,05$).

Jokaiselta vapaaehtoiselta kaksi näytettä toimivat nollanäytteinä. Näiden kahden näytteen keskiarvo määriteltiin vertailutasoksi. Kaikkien näytteiden annettiin hyytyä 30 minuuttia näytteenoton jälkeen ja heti tämän jälkeen nollanäytteet sentrifugoitiin 1500 g 10 minuuttia + 18 °C - + 25 °C:ssa ja analysoitiin. Muut näytteet sentrifugoitiin samalla tavalla ja altistettiin sen jälkeen tutkimusolosuhteille.

Tutkittavia analyyttejä olivat muun muassa natrium (S-Na), proteiini (S-Prot), albumiini (S-Alb), bilirubiini (S-Bil), alaniiniaminotransferaasi (S-ALAT), aspartaattiaminotransferaasi (S-ASAT), glutamyylitransferaasi (S-GT), lipaasi (S-Lipaas), kolesteroli (S-Kol), triglyseridit (S-Trigly), transferrini (S-Transf), uraatti (S-Uraat), C-reaktiivinen proteiini (S-CRP), B-12-vitamiini (S-B12-Vit), tyreotropiini (S-TSH), tyroksiini (S-T4-V), trijodityroniini (S-T3), follikkeliä stimuloiva hormoni (S-FSH), estradioli (S-Estdio), kortisoli (S-Korsol), D-vitamiini (S-D-25-32), kalium (S-K), glukoosi (S-Gluk), fosfaatti (S-Pi), kreatiini (S-Krea), urea (S-Urea), ferritiini (S-Ferrit), rauta (S-Fe), magnesium (S-Mg) ja laktaattidehydrogenaasi (S-LD). Tutkimukset suoritettiin Roche Modular PPE®, Abbott Architect i4000® ja DPC Immulite 2000® –analysointilaitteilla analyytin vaatimasta tutkimusmenetelmästä riippuen. D-vitamiini analysoitiin A Diasorin equilibrium radioimmunoassay –menetelmällä.

Kaliumpitoisuus säilyi stabiileimpana + 25 °C:ssa. + 15 °C:ssa tulos laski kaikissa ajankäytöksissä. + 35 °C:ssa kaliumin pitoisuus nousi. + 25 °C:ssa säilyvyys oli neljä tuntia, + 15 °C:ssa ja + 35 °C:ssa näytteet eivät säilyneet edes neljää tuntia, joka oli ensimmäinen mittauspiste. Glukoosi säilyi sitä paremmin, mitä matalammassa lämpötilassa näyt-

teitä säilytettiin. Kuitenkin + 15°C:ssa tapahtui merkittävä pitoisuuden lasku 4-8 tunnin välillä, joten tässä lämpötilassa neljän tunnin säilytystä voidaan pitää hyväksyttävänä. + 25 °C:ssa ja + 35 °C:ssa glukoosipitoisuus laski merkittävästi jo ennen neljää tuntia. Rauta säilyi yli kuusi tuntia + 15 °C – + 25 °C:ssa ja neljä tuntia + 35 °C:ssa. Samoin kuin glukoosi, myös fosfaatti säilyi viileämmässä paremmin kuin lämpimässä. + 15 °C:ssa ja + 25 °C:ssa fosfaatti säilyi yli kuusi tuntia ja alle neljä tuntia + 35 °C:ssa. Täten fosfaattinäytteitä ei tulisi säilyttää + 35 °C:ssa. Muut tutkitut analyytit säilyivät vähintään kuusi tuntia kaikissa tutkituissa lämpötiloissa.

5.4 Stahl & Brandslund: Kokoverinäytteiden säilyvyys li-hepariiniputkessa

Tanskalaistutkimuksessa tutkittiin yleisten biokemiallisten analyyttien säilyvyyttä litium-hepariiniputkissa. Näytteitä kerättiin 30 – kuusi putkea viideltä vapaaehtoiselta. Referenssinä toimi yksi näyte kultakin osallistujalta. Nämä nollanäytteet sentrifugoitiin g-voimalla 3000 10 minuutin ajan ja eroteltiin sen jälkeen välittömästi. Loput näytteet sentrifugoitiin samalla tavalla ja altistettiin sitten eri lämpötiloille, minkä jälkeen ne säilytettiin neljässä celsiusasteessa ennen analysointia. Analysointina käytettiin Roche Diagnosticsin Modular P + E -laitetta. Näytteet analysoitiin samalla tutkimusajolla. Tutkitut analyytit olivat alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT), alkalinen fosfataasi (P-AFOS), haimaperäinen amylaasi (P-AmyIP), bilirubiini (P-Bil), kalsium (P-K), kolesteroli (P-Kol), HDL (P-Kol-HDL), LDL (P-Kol-LDL), kreatiinikinaasi (P-CK), kreatiniini (P-Krea), estradioli (P-Estdio), ferritiini (P-Ferrit), follikkeliä stimuloiva hormoni (P-FSH), glutamyyli transferaasi (P-GT), rauta (P-Fe), laktaattidehydrogenaasi (P-LD), luteinisoiva hormoni (P-LH), magnesium (P-Mg), fosfaatti (P-Pi), kalium (P-K), progesteroni (P-PROG), natrium (P-Na), vapaa trijodityroniini (P-T3-V), vapaa tyroksiini (P-T4-V), tyreotropiini (P-TSH) ja urea (P-Urea). Tutkimuksessa havaittiin keskeisimpänä tuloksena, että kaliumpitoisuus nousi + 17 asteen lämpötilassa aina kahdeksaan tuntiin saakka. + + 25 asteen lämpötilassa pitoisuus laski kahdeksaan tuntiin saakka. + 23 celsiusasteessa pitoisuus laski lievästi kahteen tuntiin saakka ja alkoi sen jälkeen kohota, kunnes oli lähtötasolla noin neljän tunnin kohdalla. Tämän jälkeen pitoisuus laski kahdeksaan tuntiin saakka. Pitoisuus säilyi vakaana + 20 asteessa koko kahdeksan tunnin ajan. Muut eri lämpötiloissa tutkittujen analyyttien tulokset eivät muuttuneet merkittävästi alle 8 tunnin säilytysaikana. (Stahl – Brandslund 2005.)

5.5 Zhang ym: Seerumin ja hyytymän välisen kontaktin vaikutus säilyvyyteen

Laajassa amerikkalaisessa vuoden 1998 tutkimuksessa "Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results" Zhang, Elswick, Miller ja Baileu tutkivat 63 sentrifugoidun, mutta erottelemattoman analyytin säilyvyyttä seerumiputkissa + 32 celsiusasteen lämpötilassa 3, 6 ja 24 tunnin inkubointiajalla. 53 tutkimukseen valikoidulta osallistujalta kerättiin jokaiselta neljä näytettä, joista yksi toimi nollanäytteenä. Kutakin analyyttiä kohti tutkittiin 4-11 eri henkilöltä otettua näytettä. Nollanäyte sentrifugoitiin, eroteltiin ja analysoitiin 30 minuutin kuluttua näytteenotosta. Osaa näytteistä käytettiin useiden eri analyyttien tutkimiseen. Sentrifugointi suoritettiin g-voimalla 1500 10 minuutin ajan. Tutkimusnäytteet säilytettiin + 4°C:ssa ennen analysointia.

Keskeisiä tutkittavia analyyttejä olivat albumiini (S-Alb), alkalinen fosfataasi (S-AFOS), alaniiniaminotransferaasi (S-ALAT), amylaasi (S-Amyl), aspartaattiaminotransferaasi (S-ASAT), apolipoproteeini B (S-LipoB), apolipoproteiini A (S-LipoA), kalsium (S-Ca), kloridi (S-Cl), kolesteroli (S-Kol), kortisoli (S-Korsol), kreatiinikinaasi (S-CK), kreatiniini (S-Krea), ferritiini (S-Ferrit), folaatti (S-Folaat), glutamyylitransferaasi (S-GT), glukoosi (S-Gluk), HDL (S-Kol-HDL), rauta (P-Fe), laktaattidehydrogenaasi (P-LD), LDL (P-Kol-LDL), fosfaatti (S-Pi), bikarbonaatti (S-HCO₃), C-peptidi (S-C-Pept), lipaasi (S-Lipaas), magnesium (S-Mg), kalium (S-K), natrium (S-Na), vapaa tyroksiini (S-T4-V), proteiini (S-Prot), transferaasi (S-Transf), triglyseridit (S-Trigly), tyreotropiini (S-TSH), urea (S-Urea) ja B-12-vitamiini (S-B12-Vit). Kaikki tutkimusnäytteet nollanäytteet mukaanlukien analysoitiin samalla kerralla eri analysointikertojen aiheuttaman mittausepävarmuuden välttämiseksi.

Glukoosi, laktaattidehydrogenaasi, fosfaatti ja kalium säilyivät erittäin huonosti + 32°C:ssa. Tulosten perusteella kalium-, laktaattidehydrogenaasi-, fosfaatti- ja glukoosinäytteet tulisi erotella 3 tunnin kuluessa näytteenotosta. Albumiini-, bikarbonaatti-, kloridi-, C-peptidi-, HDL-, LDL- ja rautanäytteet puolestaan tulisi erotella 6 tunnin kuluessa näytteenotosta. Muiden analyyttien pitoisuudet pysyivät stabiileina 24 tuntiin asti erottelematta.

5.6 Ono ym: 25 analyytin säilyvyys seerumiputkessa

Onon, Kitaguchin, Takeharan, Shiiban ja Hayamin tutkimuksessa "Serum Constituents Analyses: Effect of Duration and Temperature of Storage of Clotted Blood" vuodelta

1981 tutkittiin 25 eri analyytin säilyvyyttä kokoverenä 2, 4, 6, 8, 24 ja 48 tunnin jälkeen näytteenotosta kolmessa eri lämpötilassa: + 4 °C:ssa, + 23 °C:ssa ja + 30 °C:ssa. Opinnäytetyön kannalta tärkeimmät analyytit olivat alaniiniaminotransferaasi (ALAT), albumiini (Alb), alkalinen fosfataasi (AFOS), aspartaattiaminotransferaasi (ASAT), epäorgaaninen fosfaatti (Pi), bilirubiini (Bil), gammaglutamyyli transferaasi (GT), glukoosi (Gluk), kokonaiskolesteroli (Kol), kreatiniini (Krea), laktaattidehydrogenaasi (LD), natrium (Na), triglyseridit (Trigly), uraatti (Uraat) ja urea (Urea).

Tutkimusnäytteiksi kerättiin yhteensä 380 putkea seerumia kymmeneltä terveeltä yli 18-vuotiaalta naispuoleiselta henkilöltä, jokaiselta 38 putkea. Jokaista osallistujaa ohjeistettiin paastoamaan yön yli ja välttämään raskasta liikuntaa ennen näytteenottoa. Kaksi näytettä jokaiselta tutkimukseen osallistuneelta eroteltiin 20 minuutin kuluttua näytteenotosta ja pakastettiin - 20 °C:seen analyysiin asti. Nämä näytteet toimivat nol-lanäytteinä. Jokaisen tutkittavan 36 jäljelle jäänyttä näytettä jaettiin tasan kolmeen ryhmään lämpötilojen mukaan. Jääkaapissa säilytettiin + 4 °C:n näytteitä, + 23 °C:n näytteitä huoneenlämmössä ja + 30 °C:n inkubaattorissa. 2, 4, 6, 24 ja 48 tunnin odo-tusaikojen jälkeen kaksi jokaisen osallistujan näytteistä sentrifugoitiin ja pakastettiin - 20 °C:seen.

Kaikki pakastetut näytteet sulatettiin samaan aikaan ja analysoitiin Autochemist Mul-tichannel Analyser -laitteella. Kaikista näytteistä määritettiin myös sameus ja hemolyy-si. Kaikkien näytteiden sameus vastasi tuoreita näytteitä. Merkittävänä hemolyyysinä tutkimuksessa pidettiin hemoglobiinitasoa 340 mg/ l. Tämä taso ei ylittynyt yhdessä-kään tutkimukseen hyväksytyssä näytteessä.

Tulosten toistettavuutta arvioitiin rinnakkaisten näytteiden tuloksilla, jotka eivät saaneet erota yli 2,5% toisistaan. Kaikki rinnakkaisnäytteiden tulokset erosivat toisistaan tätä vähemmän. Näytteiden tulokset käsiteltiin Studentin t-testillä, jossa merkitsevyystasoa $p < 0,05$ pidettiin tilastollisesti merkitsevänä.

Analyyteistä albumiinilla, alkalisella fosfataasilla, epäorgaanisella fosfaatilla, bilirubiinil-la, gammaglutamyyli transferaasilla, kokonaiskolesterolilla, kreatiniinilla, triglyserideillä, uraatilla ja urealla ei havaittu tilastollisesti merkitsevää tulostason nousua tai laskua missään tutkituista olosuhteista kuuteen tuntiin asti. Alaniiniaminotransferaasilla ja aspartaattiaminotransferaasilla havaittiin merkittävä pitoisuuden nousu neljän tunnin jäl-keen + 30 °C:ssa. Muissa olosuhteissa molemmat analyytit säilyivät vähintään kuusi

tuntia. Glukoosilla lämpötilalla oli käänteinen verrannollisuus pitoisuuteen. Mitä korkeampi oli lämpötila, sitä nopeampaa oli glukoosipitoisuuden lasku. + 4 °C:ssa glukoosi säilyi yli kuusi tuntia, + 23 °C:ssa kaksi tuntia ja + 30 °C:ssa alle kaksi tuntia. Seerumi-putkeen otettuja glukoosinäytteitä ei siis pitäisi säilyttää + 30 °C:ssa lainkaan. Myös laktaattidehydrogenaasi säilyi viileässä paremmin kuin lämpimässä. + 23 °C:ssa entsyymiaktiivisuuden nousu oli havaittavissa jo kahden tunnin jälkeen, kuuden tunnin kohdalla merkittävästi. + 30 °C:ssa merkittävä pitoisuuden nousu tapahtui 2-4 tunnin välillä. Paras säilyvyys oli + 4 °C:ssa, jossa pitoisuus pysyi hyväksyttävissä rajoissa yli kuusi tuntia. Kaliumpitoisuus nousi lievästi ennen kuuden tunnin säilytystä, mutta nousu ei ollut kliinisesti merkittävää. Kalium säilyi siis tutkimuskelpoisena yli kuusi tuntia kaikissa olosuhteissa. Parhaiten kaliumpitoisuus säilyi + 23 °C:ssa.

5.7 Van Geest-Daalderop ym: INR-näytteiden säilyvyys kokoverenä

Geest-Daalderopin, Mulderin, Boonman-de Winterin, Hoekstran ja Besselaarin vuoden 2005 tutkimus "Preanalytical Variables and Off-Site Blood Collection: Influences on the Results of the Prothrombin Time/International Normalized Ratio Test and Implications for Monitoring of Oral Anticoagulant Therapy" tutki hyytymistutkimusnäytteiden säilyvyyttä. Opinnäytetyömme aiheen rajauksen vuoksi mielenkiintomme kohdistui vain INR-näytteisiin. Tutkimuksessa selvitettiin INR-näytteiden säilyvyyttä ajan ja lämpötilan suhteen neljän eri hollantilaisen laboratorion erilaisilla menetelmillä ja välineillä. Eri laboratorioilla oli käytössään erilaisia sitraattiputkia, joissa oli eri pitoisuus antikoagulanttia. Myös käytetyt analysaattorit ja reagenssit vaihtelivat laboratorioden välillä. Lämpötila-aikariippuvuuden lisäksi tutkittiin mekaanisen liikkeen ja sentrifugointiajan vaikutusta. Tutkittavat aika- ja lämpötilaolosuhteet olivat 3, 6 ja 24 tuntia + 4-6 °C:ssa, huoneenlämmössä ja + 37 °C:ssa.

Tutkimukseen osallistui 20 vapaaehtoista, jotka eivät saaneet antikoagulanttihoitoa. Jokaiselta osallistujalta kerättiin 4-5 natriumsitraattiputkea verta. Nollanäytteinä käytettiin 0,5-1 tuntia huoneenlämmössä olleita putkia, jotka analysoitiin rinnakkaisnäytteinä. INR-arvo analysoitiin rinnakkaisina mittauksina määritellyille aika- ja lämpötilaolosuhteille altistamisen jälkeen.

Yli 10 % muutosta nollassa pidettiin kliinisesti merkittävänä. Analyysin pitoisuuden muutosta pidettiin kohtalaisena, jos ≤ 25 % näytteistä ylitti 10 % muutoksen. Muutosta pidettiin suurena, jos yli 25 % näytteistä ylitti 10 % muutoksen. Huoneenlämpötilassa ei

tapahtunut merkittäviä muutoksia kuuteen tuntiin asti, tämän jälkeen trendi oli laskeuntainen. Lämpötilan + 4-6 °C vaikutusta tutkittiin kahdessa eri laboratoriossa. INR-pitoisuudet muuttuivat kummankin laboratorion tutkimuksissa keskimäärin alle 10 %. Muutokset eivät olleet merkittäviä kuuden tunnin kohdalla. + 37 °C:ssa keskimääräinen muutos pitoisuuksissa oli alle 10%, mutta sekä kolmen että kuuden tunnin mitauksissa yli 25%:ssa näytteistä oli yli 10% muutos. Tämä muutos kuvattiin kohtalaiseksi. Tutkijat korostavat, että vaikka keskimääräinen muutos oli lyhyillä aikajaksoilla jokaisessa tutkitussa lämpötilassa alle 10 %, tulee huomioida myös yksittäisten näytteiden suuret pitoisuuksien muutokset. Hyväksyttävät säilytysolosuhteet erosivat joiltakin osin eri laboratorioden välillä. Yksi laboratorio hyväksyi 24 h säilytysajan huoneenlämmössä ja jääkaapissa, kun taas toinen laboratorio piti kuuden tunnin säilytystä enimmäisaikana vastaavissa lämpötiloissa. Molemmat laboratoriot olivat yhtä mieltä siitä, että + 37 °C:ssa INR-näytteitä ei tulisi säilyttää yli kuutta tuntia, sillä suurimmat muutokset tapahtuivat tässä lämpötilassa.

Mekaanisen liikkeen vaikutusta tutkittiin pitämällä osaa näytteistä sekoittajassa tutkimuksen ajan. Liikkeen huomattiin korostavan lämpötilan ja säilytysajan vaikutusta. Vaikutus oli kuitenkin lievä. Sekoittajan aiheuttamaa liikettä ei voitu kuitenkaan suoraan rinnastaa autokuljetuksissa näytteille aiheutuvaan tärinään. Sentrifugointiajalla ei ollut eroavaisuuksia tuloksiin, kun vertailtiin eroa viiden ja kymmenen minuutin sentrifugoinnin välillä.

5.8 Oddoze ym: 81 analyysin säilyvyys erilaisissa näyteputkissa

Yksi tuoreimmista ja laajimmista tutkimuksista on Oddozen, Lombardin ja Portugalin vuoden 2012 tutkimus ”Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää 81 analyysin säilyvyyttä kokoverenä eri lämpötiloissa erilaisiin putkityyppeihin otettuina. Keskeisimmät analyytit olivat alaniiniaminotransferaasi (ALAT), albumiini (Alb), alkalinen fosfataasi (AFOS), aspartaattiaminotransferaasi (ASAT), bilirubiini (Bil), C-peptidi (C-Pep-A), C-reaktiivinen proteiini (CRP), natrium (Na), epäorgaaninen fosfaatti (Pi), kreatiniini (Krea), tromboplastiiniaika (TT), tyreotropiini (TSH), vapaa tyroksiini (T4-V), kolesteroli (Kol), HDL-kolesteroli (Kol-HDL), LDL-kolesteroli (Kol-LDL), triglyseridit (Trigly), B12-vitamiini (B12-Vit), magnesium (Mg), ferritiini (Ferrit), kloridi (Cl), transferriniireseptori (TfR), kalium (K), rauta (Fe), testosteroni (Testo), estradioli (Estdio), parathormoni (PTH), korti-

soli (Korsol), D-vitamiini (D-25), progesteroni (Prog), laktaattidehydrogenaasi (LD), glukooosi (Gluk), uraatti (Uraat) ja urea (Urea).

Näytteiden säilyvyyttä tutkittiin $+ 4\pm 2$ °C:ssa ja huoneenlämmössä ($+ 25\pm 2$ °C) 2, 4, 6 ja 24 tunnin jälkeen näytteenotosta. Hormoneja tutkittiin 72 tuntiin asti. Analyytistä riippuen näyteputkina olivat joko lasi-, seerumigeeli-, litiumhepariini, K3EDTA-, fluoridisitraatti- tai natriumsitraattiputket. Esimerkiksi glukooosin säilyvyyttä tutkittiin litiumhepariini- lasi- ja fluoridisitraattiputkissa. Näytteet kerättiin 50 terveeltä vapaaehtoiselta, 10 putkea jokaiselta eettisen toimikunnan suosituksen mukaisesti. Jokaista putkea voitiin käyttää useampaan tutkimukseen, kuitenkin niin, että jokaiseen tutkimukseen käytettiin 10 eri potilaan näytettä.

Näytteenotto sai kestää korkeintaan viisi minuuttia ja putkia sekoitettiin valmistajien ohjeiden mukaisesti. Nollanäytteinä käytettiin kymmenen osallistujan näytteitä. Plasmanäytteet sentrifugoitiin välittömästi näytteenoton jälkeen ja seeruminäytteet 30 minuutin jälkeen näytteenotosta. Keskeisimpiä näytteitä sentrifugoitiin 2000 g, 10 minuuttia $+ 20$ °C:ssa BD:n (Benton Dickinson) suosituksen mukaisesti. Kymmenen nollanäytteen laskettu keskiarvo määriteltiin vertailutasoksi kullekin analyytille. Tutkimusnäytteitä säilyttiin määrättyissä aika- ja lämpötilaoloissa, jonka jälkeen näytteet käsiteltiin nollanäytteitä vastaavalla tavalla ja analysoitiin välittömästi.

Alaniiniaminotransferaasi, albumiini, alkalinen fosfataasi, aspartaattiaminotransferaasi, bilirubiini, C-reaktiivinen proteiini, natrium, kreatiniini, trombotoplastiiniaika, tyreotropiini, vapaa tyroksiini, kolesteroli, HDL-kolesteroli, LDL-kolesteroli, triglyseridit, B12-vitamiini, ferritiini, kloridi, transferriniireseptori, rauta, testosteroni, estradioli, parathormoni, kortisoli, D-vitamiini, progesteroni, laktaattidehydrogenaasi, uraatti ja urea säilyvät tutkimuskelpoisina vähintään kuusi tuntia tutkituissa olosuhteissa. Magnesiumin säilyvyyttä tutkittiin lasi-, seerumigeeli- ja litiumhepariiniiniputkissa. Lasi- ja seerumigeeliputkissa magnesium säilyi vähintään kuusi tuntia kaikissa tutkituissa olosuhteissa. Litiumhepariiniiniputkessa säilyvyys sekä $+ 4$ °C:ssa että $+ 25$ °C:ssa oli vähintään neljä tuntia. Säilyvyyttä litiumhepariiniiniputkessa ei tutkittu kauemmin kuin neljä tuntia, joten mahdollisesti magnesium säilyy paljon tätä pidempään. Samaten kalium säilyi yli kuusi tuntia $+ 4$ °C:ssa ja $+ 25$ °C:ssa lasi- ja seerumigeeliputkessa ja litium-hepariiniiniputkessa neljä tuntia, sillä pidempää säilyvyysaikaa ei tutkittu.

C-peptidin ja glukoosin pitoisuus muuttui merkittävästi kuudessa tunnissa joissakin tutkituissa olosuhteissa. C-peptidin säilyvyyttä tutkittiin EDTA- ja lasiputkessa, joista lasiputkessa analyytin pitoisuuden todettiin laskevan enemmän. Analyytti säilyi paremmin viileässä kuin huoneenlämmössä. EDTA-putkessa säilyvyys oli yli kuusi tuntia sekä + 4 °C:ssa että + 25 °C:ssa. Lasiputkessa säilyvyys + 4 °C:ssa oli myös yli kuusi tuntia, mutta merkittävä pitoisuuden lasku tapahtui 4-6 tunnin välisenä aikana + 25 °C:ssa.

Glukoosi säilyi + 4 °C:ssa paremmin kuin huoneenlämmössä. Seerumigeeliputkessa säilyvyys oli yli kuusi tuntia kummassakin lämpötilassa, lasiputkessa säilyvyys oli yli kuusia tuntia 4 °C:ssa ja neljä tuntia 25 °C:ssa. Litiumhepariiniputkessa säilyvyyttä tutkittiin vain neljä tuntia, johon asti näytteet säilyivät tutkimuskelpoisina molemmissa lämpötiloissa. Paras putkityyppi glukoosinäytteille on fluoridisitraatti, sillä fluoridi inhiboi glykolyysin niin tehokkaasti, että näytteiden laatu vastasi täysin nollanäytteiden laatua 24 tuntiin asti molemmissa lämpötiloissa. Fosfaatti säilyi + 4 °C:ssa paremmin kuin + 25 °C:ssa. Lasiputkessa säilyvyys oli yli kuusi tuntia molemmissa lämpötiloissa. Litiumhepariiniputkessa säilyvyyttä tutkittiin vain neljään tuntiin asti, ja näytteet säilyivät tutkimuskelpoisina + 4 °C:ssa neljä tuntia ja + 25 °C:ssa kaksi tuntia.

5.9 Zhao & Lv: Tromboplastiiniaikanäytteiden säilyvyys kokoverenä

Zhaon ja Lv:n tutkimus "Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens" vuodelta 2013 oli toinen käyttämämme hyytymistutkimus. Tutkimuksessa selvitettiin eri hyytymistutkimusnäytteiden säilyvyyttä kokoverenä huoneenlämmössä ja + 4 °C:ssa 4, 8 ja 24 tunnin säilytysajoilla. Työmme kannalta tärkein analyytti oli tromboplastiiniaika (TT).

Näytteet kerättiin natriumsitraattiputkiin 160 potilaalta, iältään 18-91-vuotta. Osallistujilla ei saanut olla käytössään veren hyytymiseen vaikuttavia lääkkeitä eikä vakavia sairauksia. Kaikki näytteet sentrifugoitiin näytteenoton jälkeen 3000 g 10 minuuttia ja analysoitiin nollatason määrittämiseksi. Tämän jälkeen sentrifugoidut primaariputket korkitettiin ja säilytettiin valituissa olosuhteissa. Tämän jälkeen näytteet analysoitiin uudelleen.

Tromboplastiiniaikaa analysoitiin Sysmex® CA700 -analysaattorilla. Laitteen mittaus-epävarmuutta mitattiin korkean ja matalan tason kontrolleilla 20 kertaisella toistolla ja

vertailemalla näiden tulosten vaihteluja. Eri analyysikertojen mittausepävarmuutta kontrolloitiin kaupallisilla kontrolleilla. Kaikkien näytteiden tuloksia verrattiin nollanäytteiden tuloksiin, ja yli 10 % keskimääräistä muutosta pidettiin kliinisesti merkittävänä. P-arvoa < 0,05 pidettiin tilastollisesti merkitsevänä. Näytteistä selvästi lipeemiset, ikteeriset tai hemolyyttiset näytteet hylättiin.

Sekä + 4 °C:ssa että huoneenlämmössä tapahtui alle 10 % keskimääräinen muutos tromboplastiininäytteissä 24 tunnin säilytyksessä. Täten tutkijat ehdottavat, että näytteet säilyvät vuorokauden sekä + 4 °C:ssa että huoneenlämmössä.

5.10 Leino & Koivula: Yleisimpien näytteiden säilyvyys li-hepariiniputkessa

Ainoassa löytämässämme suomalaistutkimuksessa ”Stability of chemical and immunochemical analytes in uncentrifuged plasma samples” vuodelta 2008 Leino ja Koivula tutkivat 41 analyytin säilyvyyttä kokoverenä litium-hepariiniputkissa. Tutkimus on tehty Tykslabin toimesta Turussa kliinisen kemian yksikössä. Näytteitä tutkittiin + 8 °C:ssa ja + 22 °C:ssa kuusi tuntia. Opinnäytetyömme kannalta keskeisimmät analyytit olivat C-reaktiivinen proteiini (CRP), natrium (Na), kreatiniini (Krea), tyreotropiini (TSH), tyrokksiini (T4-V), kolesteroli (Kol), HDL-kolesteroli (Kol-HLD), LDL-kolesteroli (Kol-LDL), triglyseridit (Trigly), bilirubiini (Bil), B12-vitamiini (B12-Vit), magnesium (Mg), kloridi (Cl), epäorgaaninen fosfaatti (Pi), kalium (K), alaniiniaminotransferaasi (ALAT), rauta (Fe), alkalinen fosfataasi (AFOS), parathormoni (PTH), kortisoli (Korsol), albumiini (Alb), C-peptidi (C-Pep-A), laktaattidehydrogenaasi (LD), uraatti (Uraat) ja urea (Urea).

Näytteet kerättiin 50 vapaaehtoiselta, jotka olivat paastonneet ennen näytteenottoa. Jokaiselta osallistujalta otettiin kolme litium-hepariiniputkea, joista tutkittiin kaikki 41 analyyttia. Nollanäytteinä käytettiin yhtä jokaisen potilaan putkea. Putket sentrifugoitiin valmistajan ohjeiden mukaisesti 2500 g, 10 minuuttia + 18 °C:ssa. Nämä näytteet käsiteltiin ja analysoitiin korkeintaan puolen tunnin kuluessa näytteenotosta. Tutkimusnäytteet säilytettiin tutkittava aika + 8 °C:ssa tai + 22 °C ja käsiteltiin nollanäytteitä vastaavalla tavalla. Näytteet analysoitiin Roche Modular PPEE analyser -laitteella.

Kaikista 50 nollanäytteen ja tutkimusnäytteen tuloksista laskettiin keskiarvo ja näitä arvoja verrattiin keskenään. Tilastollista merkitsevyyttä mitattiin ANOVA- ja Kruskal-Wallis testillä. Kliinisesti merkittävät muutosrajat määriteltiin SCL-kaavalla (Clinically Significant Changes), jossa SCL = vertailutaso ± 2.8 standardipoikkeamaa.

Kaikki analyytit kaliumia lukuunottamatta säilyivät tutkimuskelpoisina kuusi tuntia. Kalium säilyi kuusi tuntia + 22°C:ssa, mutta pitoisuuden nousu oli merkittävä + 8°C:ssa. Tutkijat esittävät, että kaliumia ei tulisi säilyttää lainkaan jääkaappilämpötilassa.

5.11 Key ym: Vitamiinien, lipidien ja testosteronin säilyvyys kokoverenä

Key, Oakes, Davey, Moore, Edmond, McLoone ja Thurnham tutkivat vitamiinien, lipidien ja testosteronin säilyvyyttä kokoverenä + 4 °C:ssa 6 ja 24 tuntia tutkimuksessa ”Stability of vitamins A, C and E, Carotenoids, Lipids, and testosterone in whole blood stored at 4 °C for 6 and 24 hours before separation of serum and plasma” vuodelta 1996. Opinnäytetyössämme keskityimme vain lipidien ja testosteronin säilyvyyden tarkasteluun. Tutkimuksessa lipidejä tutkittiin seerumista ja testosteroni sekä seerumista että natriumsitraattiputkiin otetusta plasmasta. Lipideihin tutkimuksessa kuuluivat kokonaiskolesteroli, HLD- ja LDL-kolesterolit ja triglyseridit.

Näytteet kerättiin 13 mieheltä ja 15 naiselta, kultakin kolme 10 ml seerumi- ja 3 10ml natriumsitraattiputkea. Lipiditutkimuksiin käytettiin kaikkien 28 osallistujan näytteitä. Testosteroninäytteet jaettiin ryhmiin osallistujan sukupuolen ja putkityypin mukaan; miesten seerumi- ja plasmanäytteet sekä naisten seerumi- ja plasmanäytteet. Kussakin ryhmässä näytteitä oli 13-15. Jokaisen osallistujan yhtä seerumi- ja natriumsitraattiputkea käytettiin nollanäytteinä. Seerumiputkien annettiin olla kaksi tuntia huoneenlämmössä, jonka jälkeen nollanäytteet sentrifugoitiin 3500 g 15 minuuttia ja loput näytteet laitettiin + 4 °C lämpötilaan 6 tai 24 tunniksi. Sitraattiputkia säilytettiin 20 minuuttia huoneenlämmössä näytteenoton jälkeen, jonka jälkeen putket siirrettiin + 4 °C:seen 6 tai 24 tunniksi. Nollanäytteitä säilytettiin viileässä kaksi tuntia, jonka jälkeen plasma eroteltiin kuten seerumi 3500 g 15 minuuttia. Muut näytteet käsiteltiin vastaavalla tavalla, kun tutkittava aika oli kulunut. Kaikki näytteet pakastettiin erottelun jälkeen – 70 °C:seen analysointiin asti. Kaikki näytteet sulatettiin samaan aikaan ja analysoitiin samalla kerralla eri mittauskertojen aiheuttamien satunnaisvirheiden välttämiseksi.

Sekä kaikki lipidit että testosteroni säilyvät tutkimuskelpoisina vähintään kuusi tuntia + 4 °C:ssa sekä seerumina että plasmana. Naisten testosteroninäytteissä oli tilastollisesti suurempia pitoisuuksien muutoksia kuin miesten näytteissä, mutta muutokset eivät olleet kliinisesti merkittäviä.

6 Yhteenveto tutkimustuloksista

Suurin osa analyyteistä säilyi tutkimuskelpoisina vähintään kuusi tuntia sekä matalissa että korkeissa lämpötiloissa. Matalat lämpötilat olivat tutkimuksissa välillä + 4-8 °C, yleisimmin + 4 °C, ja korkeat lämpötilat välillä + 30-37 °C. Analyyttejä, joiden pitoisuus ei muuttunut merkittävästi kuudessa tunnissa korkeissa ja matalissa lämpötiloissa yhdessäkään tutkimuksessa olivat C-reaktiivinen proteiini (CRP), natrium (Na), kreatiniini (Krea), tyreotropiini (TSH), tyroksiini (T4-V), kolesterolit (Kol, Kol-HDL, Kol-LDL), triglyseridit (Trigly), bilirubiini (Bil), B12-vitamiini (B12-Vit), magnesium (Mg), ferritiini (Ferrit), kloridi (Cl), albumiini (Alb), alkalinen fosfataasi (AFOS), testosteroni (Testo), estradioli (Estdio), kortisoli (Korsol), D-vitamiini (D-25), follikkelia stimuloiva hormoni (FSH), urea (Urea), uraatti (Uraat), glutamyyli transferaasi (GT), ja kreatiinikinaasi (CK). Huomioitavaa on, että missään käytetyssä tutkimuksessa ei ole tutkittu parathormonin (PTH), C-peptidin (C-Pep-A) tai progesteronin (Prog) säilyvyyttä yli + 30 °C:ssa. Nämä analyytit säilyivät kuitenkin matalissa lämpötiloissa ja huoneenlämmössä yli kuusi tuntia.

Herkimpiä lämpötilamuutoksille olivat kalium, glukoosi, epäorgaaninen fosfaatti ja laktatidehydrogenaasi. Kaliumin ja glukoosin metaboliset reaktiot kokoverinäytteissä ovat hyvin tunnettuja ilmiöitä, joten tulokset tukevat oletustamme huonosta säilyvyydestä.

Glukoosin säilyvyyttä käsiteltiin viidessä eri tutkimuksessa. Kaikkien tutkimusten tulokset tukevat oletusta, että glukoosin säilyvyys on vahvasti riippuvainen ympäristön lämpötilasta. Mitä korkeampi on lämpötila, sitä nopeammin laskee näytteen glukoosipitoisuus. Käyttämässämme tutkimuksissa säilyvyyttä tutkittiin lähinnä seerumi- tai litiumhepariiniputkissa. Viileässä, noin + 4 °C lämpötilassa, glukoosinäytteet olivat tutkimuskelpoisia kuuden tunnin säilytyksen jälkeen. Lämpötilan kohotessa säilyvyys huononi. Huoneenlämpötilassa glukoosi säilyi yleisesti muutamia tunteja. Yli + 30 °C:ssa glukoosipitoisuuden lasku oli niin voimakasta, että useimmissa tutkimuksissa säilyvyys ei ollut kahtakaan tuntia. + 30 °C korkeammassa lämpötiloissa glukoosinäytteitä ei tulisi säilyttää lainkaan ja tätä matalammassakin lämpötiloissa varoen. Paras putkityyppi glukoosinäytteille on fluoridisitraatti, jonka todettiin kahdessa tutkimuksessa inhihoivan glykolyysin erittäin tehokkaasti lämpötilasta riippumatta, säilyvyyden ollessa yli vuorokauden.

Kaliumin säilyvyyttä tutkittiin seitsemässä eri tutkimuksessa. Tutkimusten mukaan analytti säilyy parhaiten huoneenlämmössä. Matalammissa lämpötiloissa kaliumpitoisuus seerumissa kasvoi ja korkeissa lämpötiloissa vastaavasti laski. Tulokset kaliumin säilyvyydestä huoneenlämmössä vaihtelivat neljästä tunnista yli kuuteen tuntiin tutkimusten välillä. Säilyvyydessä matalissa lämpötiloissa on tutkimusten välillä merkittäviä eroja. Esimerkiksi Oddozen ym. tutkimuksen mukaan kaliumin säilyvyys seerumigeeliputkessa + 4 °C:ssa on yli kuusi tuntia, kun taas Tannerin ym. mukaan kalium säilyy alle neljä tuntia + 15 °C:ssa seerumiputkessa. Säilyvyys yli + 30 °C lämpötilassa on kaikkien tutkimusten mukaan huono, eikä kaliumnäytteitä tulisi säilyttää yli + 30 °C:ssa lainkaan.

Kuuden tutkimuksen mukaan epäorgaaninen fosfaatti säilyy hyvin matalissa lämpötiloissa ja huoneenlämmössä, mutta huonosti korkeissa lämpötiloissa. Kuitenkin tutkimusten välillä on eroja säilyvyydessä. Yleisenä suuntaviivana voidaan todeta, että matalissa, karkeasti alle + 15 °C lämpötiloissa, säilyvyys on yli kuusi tuntia ja huoneenlämmössä ja tätä korkeimmissa lämpötiloissa käytetystä lähteestä riippuen alle kuusi tuntia. Korkeissa, yli + 30°C lämpötiloissa, säilyvyys on huono, eikä tämän lämpötilan ylittäneitä näytteitä tulisi tutkia.

Laktaattidehydrogenaasi on glukoosin tavoin suoraan lämpötilariippuvainen. Mitä matalammassa lämpötilassa näytettä säilytetään, sitä paremmin se säilyy. Kaikissa matalan lämpötilan ja huoneenlämmön vaikutusta tutkineissa tutkimuksissa yhtä tutkimusta lukuunottamatta laktaattidehydrogenaasin todettiin säilyvän yli kuusi tuntia molemmissa olosuhteissa. Yli + 30 °C lämpötiloissa näytteiden entsyymiaktiivisuus nousi nopeasti, eikä tästä jostuen näytteitä tule säilyttää korkeissa lämpötiloissa. Rehakin ym. tutkimuksessa saatiin muihin tutkimuksiin nähden päinvastaisia tuloksia. Tutkimuksessa laktaattidehydrogenaasi säilyi hyvin huoneenlämmössä ja lämpimässä, mutta huonosti viileässä. Tutkimuksessa selvitettiin säilyvyyttä vain 24 tunnin määrittelyllä. Täten tuloksia ei voi suoraan rinnastaa lyhyempiin säilytysaikoihin.

Raudan säilyvyyttä tutkittiin neljässä tutkimuksessa. Kaikkien näiden tutkimusten mukaan rauta säilyy yli kuusi tuntia sekä viileässä että huoneenlämmössä. Säilyvyyttä yli + 30 °C:ssa selvitettiin vain yhdessä tutkimuksessa, jonka mukaan rauta säilyi neljä tuntia + 35°C:ssa. Meilahden laboratorion tekemän tutkimuksen perusteella yli + 30 °C lämpötiloille altistuneita rautanäytteitä ei tule tutkia. Tämä tukee väitettä raudan heikommasta säilyvyydestä korkeissa lämpötiloissa verrattuna huoneenlämpöön.

Hyytymistutkimusten tromboplastiiniaikanäytteet säilyivät kolmen eri tutkimuksen mukaan yli kuusi tuntia sekä viileässä, noin + 4 °C lämpötilassa, että huoneenlämmössä. Korkean lämpötilan vaikutusta tutkittiin vain yhdessä tutkimuksessa ja sen mukaan analyytti säilyy + 37 °C:ssa yli kolme, mutta alle kuusi tuntia. CLSI:n suosituksen mukaan hyytymistutkimusnäytteitä ei tule säilyttää viileässä mahdollisen hyytymistekijöiden aktivoitumisen vuoksi. Aikaisempien tutkimusten perusteella suurin osa hyytymistutkimusnäytteitä säilyykin huonosti viileässä, tromboplastiiniajan muodostaessa poikkeuksen.

Alaniiniaminotransferaasin ja aspartaattiaminotransferaasin säilyvyyttä tutkittiin seitsemässä tutkimuksessa. Tutkimusten mukaan molemmat analyytit säilyvät yli kuusi tuntia sekä viileässä että huoneenlämmössä. Onon ym. tutkimuksen mukaan analyytit säilyvät yli + 30 °C:ssa neljä tuntia, kun taas kahden muun korkeita lämpötiloja (+ 32 °C ja + 35 °C) tutkineiden tutkimusten mukaan säilyvyys korkeissa lämpötiloissa on yli kuusi tuntia. Huomioitavaa on, että Onon ym. tutkimus on monen muunkin analyytin kohdalla antanut eriäviä tuloksia verrattuna muihin tutkimuksiin. Esimerkiksi kyseisen tutkimuksen mukaan fosfaatti säilyy hyvin + 30 °C:ssa, muiden tutkimusten mukaan ei.

7 Toimintaohje säilyvyyden testaukseen lämpötilapoikkeamia varten

Yhtenä työn tavoitteena oli luoda aikaisempia tutkimuksia ja olemassa olevia standardeja hyödyntäen luonnos ohjeesta siihen, miten kokoverinäytteiden säilyvyyttä lämpötilan suhteen voi tutkia. Vastaavaa ohjetta ei ole, vaan tutkimuskäytännöt vaihtelevat. Ohjeen tarkoitus on yhtenäistää käytäntöjä. Tuottamaamme luonnosta voi käyttää mallina eri analyyttien tutkimiselle.

Ohjeessa on kuvattuna prosessi näytteiden käsittelystä näytteenottovaiheesta tulosten analysointiin. Siinä on määritetty, miten näytteenotto tulisi suorittaa, kuinka paljon ja kuinka monesta potilaasta näytteitä tarvitaan, miten näytteet käsitellään ennen tutkimusta, miten tutkimus suoritetaan ja miten tulokset analysoidaan. Ohjetta tulee täydentää siltä osin, että useissa vaiheissa ohjeistamme toimimaan HUSLABin käsikirjan ohjeiden mukaisesti. Esimerkiksi näytteenottovaihetta emme ole kuvanneet yksityiskohteisesti, vaan ohjeena on, että näytteenotto suoritetaan HUSLABin laatukäsikirjan ohjeiden mukaisesti. Emme kokeneet tarkkaa kuvausta tarpeelliseksi näiltä osin, sillä valmis ohje on jo olemassa muun muassa näytteenottoon.

Ohjeen laadinnassa hyödynsimme opinnäytetyössä käytettyjä aikaisempia tutkimuksia ja CLSI:n standardeja. Pyrimme jäljittelemään mallia, joka toistuu useissa tutkimuksissa. Sekä käyttämässämme standardeissa että suurimmassa osassa tutkimuksia seeruminäytteiden tuli antaa hyytyä 30 minuuttia ennen käsittelyä. Eri tutkimuksissa sentrifugoinnin voimakkuus vaihteli välillä 1500-3500 g. Päädyimme valitsemaan sentrifugoinnin 2000g, 10 minuuttia, sillä suurimmassa osassa tutkimuksia oli tämä sentrifugointiaika. CLSI:n ohjeen H18-A4 (2010: 12-15) mukaan näytteet tulee sentrifugoida huoneenlämpötilassa.

Suosittelimme, että nollanäytteet ja tutkimusnäytteet tutkitaan rinnakkaisina. Näin tehtiin useimmissa käyttämässämme tutkimuksissa. Näin voidaan parantaa tulosten luotettavuutta. Osassa tutkimuksia määriteltiin näytteistä hemolyysi, lipemia ja ikteria. Kuten aiemmin työssämme olemme todenneet, nämä tekijät saattavat vääristää tutkimustuloksia ja häiritä analyysimenetelmiä. Siksi liian hemolyyttiset, lipeemiset tai ikteeriset näytteet tulee hylätä tutkimuksesta. Emme määritelleet ohjeessa, miten tulokset tulisi tilastollisesti käsitellä ja mitkä ovat tilastollisesti tai kliinisesti merkittäviä muutoksia, vaan jätämme tämän kohdan ammattilaisen, esimerkiksi kemistin päätettäväksi luotettavuussyistä. Laitimamme luonnos löytyy opinnäytetyön lopusta erillisenä liitteenä.

8 Pohdinta

8.1 Lähdekritiikki

Kirjallisuuskatsauksessa tarkasteltiin kokoverinäytteiden säilyvyyttä yhdessätoissa eri tutkimuksessa. Kaikki tutkimukset haettiin arvostetuista tieteellisistä julkaisuista, suurin osa Clinical Chemistry - ja Clinical Biochemistry -lehdistä. Clinical Biochemistry on kliinisen laboratoriolääketieteen johtava kansainvälinen julkaisu ja Clinical Biochemistry kanadalainen kliinisen biokemian alan virallinen julkaisu (Clinical Chemistry 2013). Muita käytettyjä lähteitä olivat muun muassa Annals of Clinical Biochemistry, Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention ja The Official Journal of the International Society for Laboratory Hematology, jotka ovat suurien tutkimusorganisaatioiden julkaisuja ja arvostettuja omalla alallaan. Esimerkiksi Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention on maailman vanhimman ja suurimman syöpätutkimukseen keskittyneen organisaation julkaisu (American Association of Cancer Research. 2013).

Helsingin julistuksessa on yksityiskohtaisia vaatimuksia, miten ihmisillä tehtävä tai ihmisiin kohdistuva tutkimus tulee suorittaa. Tärkeisiin periaatteisiin kuuluu muuan muassa tietosuojan tarkka noudattaminen. (World Medical Association. 2013.) Käytetyt julkaisut noudattavat näitä periaatteita. Tutkimusten julkaisijoiden sivuilla on tarkat kriteerit julkaistaville artikkeleille. Hyvän tieteellisen käytännön periaatteiden mukaisesti tieteellisessä tutkimuksessa tulee käyttää kriteerien mukaisia ja eettisesti hyväksyttäviä tiedonhankinta, tutkimus- ja arviointimenetelmiä (Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2012). Esimerkiksi *Clinical Biochemistry*-lehdessä on tarkoin korostettu näitä vaatimuksia julkaistaville tutkimuksille. Julkaisija edellyttää, että tutkimuksen tekijöiden käytämät lähteet ovat alkuperäisiä ja luotettavia ja tutkimuksen kulku ja tulokset on kuvattu niin, että ne ovat toistettavissa. (Elsevier. 2013.) Näihin asioihin vedoten voidaan arvioida käytettyä lähdemateriaalia erittäin luotettavaksi.

Aiemmin mainittujen seikkojen lisäksi tulee kiinnittää huomiota käytettyjen lähteiden ajankohtaisuuteen (Tampereen yliopisto 2012). Opinnäytetyössä käytetyt tutkimukset on julkaistu vuosina 1981-2013. Julkaistujen tutkimusten vähäisyyden vuoksi valittiin myös vanhempia tutkimuksia tarkastelun kohteeksi. Tutkimuksia kokoverinäytteiden säilyvyydestä on tehty verrattain paljon jo 60- ja 70-luvulla. Emme pitäneet näitä tutkimuksia enää luotettavina laboratoriomenetelmien kehittymisen vuoksi, ja karsimme ne pois työstämme yhteisymmärryksessä työmme ohjaajien kanssa. Tuloksia tarkastellessa huomattiin, että vanhimman, vuoden 1981 tutkimuksen, tulokset eroavat monilta osin paljon muiden tutkimusten tuloksista. Muiden tutkimusten tulokset ovat samansuuntaisia keskenään. Työstä jätettiin kokonaan pois tutkimukset, jotka eivät vastanneet työmme tarkoitusta tai joiden käyttökelpoisuus herätti epäilyksiä.

8.2 Työn luotettavuus ja tulosten käyttökelpoisuus

Aiemmin julkaistuja tutkimuksia ei voi suoraan käyttää verinäytteiden kuljetuslämpötila-poikkeamien vaikutusten arvioinnissa Meilahden laboratoriossa, sillä mikään tutkimus ei käytä täsmälleen samoja tutkimusmenetelmiä kuin Meilahti. Yleisimmin tutkimusten verinäyteputkityypit, käytetyt analysaattorit, näytteiden käsittely, reagenssit ja tilastolliset tulostenkäsittelymenetelmät eroavat toisistaan. Samaten eri tutkimusten tuloksia ei voi suoraan rinnastaa keskenään näistä tekijöistä johtuen. Oddozen ym. tutkimus, jossa tutkittiin lämpötilan vaikutusta eri putkityyppeihin, kuin myös Meilahdessa tehdyt säilyvyystutkimukset osoittavat, että ei ole yhdentekevää säilyvyyden kannalta, millai-

seen näyteputkeen näytteet otetaan. Tutkimukset osoittavat, että jotkin analyytit säilyvät paremmin seerumi- ja jotkin litium-hepariiniputkessa. Eri tutkimuksissa myös käytetyn säilöntäaineen määrä putkissa vaihteli, millä saattaa olla vaikutusta säilyvyyteen.

Tavoitteenamme oli löytää vastaus kysymykseen, miten näytteet säilyvät eri lämpötiloissa autokuljetuksissa kuuden tunnin aikana. Näytteiden säilyvyyteen kuljetuksissa vaikuttavat lämpötilojen vaihtelun lisäksi mekaaninen liike, jota ei huomioitu käytetyissä tutkimuksissa yhtä tutkimusta lukuun ottamatta. Tämän tutkimuksen mukaan kuljetuksissa tyypillisellä mekaanisella liikkeellä ei ole juurikaan vaikutusta esimerkiksi hemolysoitumiseen. Täten voimme olettaa, että lämpötilatestausta vakioiduissa olosuhteissa vastaa riittävän hyvin todellisten näytekuljetusten vaikutuksia.

Suurin haaste säilyvyysaikojen ja -lämpötilojen määrittämiselle käyttämiemme tutkimusten perusteella on tutkimuslämpötilojen ja -aikojen suuri vaihtelevuus tutkimusten välillä. Esimerkiksi Tannerin ym. tutkimuksessa käytetyt lämpötilat ja -ajat olivat +15, +25 ja +35 °C ja 4, 8 ja 24 tuntia ja Leinon ym:n +8 ja +22 °C ja kuusi tuntia. Jos näytteiden säilyvyyttä ei ollut tutkittu joissakin tutkimuksissa alle kuutta tuntia, vedimme johtopäätöksen, että jos analyytti säilyy yli kuusi tuntia, säilyy se myös lyhyemmän ajan. Käytimme myös muutamaa tutkimusta, joissa on selvitetty yli 24 tuntia säilytettyjen näytteiden säilyvyyttä. Tuloksia tarkasteltaessa huomasimme, että, jos näytteen pitoisuus on muuttunut vain vähän nollatasosta 24 tunnin jälkeen, se ei välttämättä tarkoita, että näyte on tutkimuskelpoinen kuuden tunnin säilytyksen jälkeen, toisin kuin olimme olettaneet. Kaikkien analyyttien pitoisuudet eivät välttämättä joko lineaarisesti laske tai nouse näytteenoton jälkeen suhteessa aikaan, vaan mekanismi on monimutkaisempi. Esimerkkinä tästä on kalium, jonka pitoisuus seerumissa aluksi kasvaa Na-K-ATPaasin vaikutuksesta kaliumin sisäänoton vuoksi. Myöhemmin, kun glukoosi on kulutettu loppuun, pumpun toiminta vähenee ja kaliumia vuotaa solusta ulos. (Zhang ym. 1998: 1332) Tästä mekanismista johtuen kaliumin pitoisuus saattaa vaihdella huomattavastikin näytteenoton jälkeen, ja saattaa vaikuttaa esimerkiksi 12 tunnin mitauksessa, ettei kaliumin pitoisuus ole muuttunut paljon, vaikka todellisuudessa pitoisuus on saattanut olla kuuden tunnin jälkeen huomattavan matala ja olla noussut tämän jälkeen. Täten tutkimuksia, joissa lyhyitä säilytysaikoja ei ole tutkittu, tulee tarkastella hyvin kriittisesti arvioitaessa niiden soveltuvuutta kokoverinäytteiden lyhytaikaiseen säilytykseen.

Vaikeuden kirjallisuuskatsauksen tekemiseen tekivät ongelmat tulosten tulkinnassa. Eri tutkimuksissa on käytetty erilaisia tilastollisia käsittelymenetelmiä ja näin tuloksia oli vaikea rinnastaa. Esimerkiksi muutamassa tutkimuksessa kliinisesti merkittävän pitoisuuden muutoksena pidettiin 10 % molempiin suuntiin nollassa. Toisissa tutkimuksissa raja oli tiukempi ja toisissa väljempi. Tuloksia oli vaikea muuttaa niin, että kaikissa tuloksissa olisi samat hyväksymisrajat. Osaamistaso ei riittänyt tilastollisen käsittelyn tarkkaan ymmärtämiseen. Näin päädyimme vain kirjaamaan tutkittavan lämpötilan ja ajan, jolloin tutkimuksen kriteereiden mukaan näytteet eivät olleet enää tutkimuskelpoisia. Työelämän edustajan kanssa rajasimme työn niin, että tehtävämme oli vain tulosten kirjaaminen ja Meilahdessa arvioidaan tarkemmin tutkimustulosten käyttökelpoisuus työelämän käyttöön.

Kirjallisuuskatsaukseen sisällytettiin myös analyyttejä, joiden säilyvyyttä oli tutkittu Meilahdessa. Tällä pyrittiin vahvistamaan Meilahden laboratorion tekemien säilyvyystutkimusten tuloksia. Laboratorion mukaan kalium, fosfaatti ja rauta säilyvät huonosti joko viileässä tai lämpimässä. Saamamme tulokset ovat muidenkin analyyttien osalta suurimmaksi osaksi samansuuntaisia. Samoin eri tutkimusten väliset tulokset ovat eri menetelmistä huolimatta yleisimmin samansuuntaisia. Tästä voimme päätellä, että olemme onnistuneet valikoimaan hyvin artikkelit, jotka vastaavat työmme tutkimusasetelmaan, ja näin validiteetti on hyvä. Onnistuimme näin ollen myös käsittelemään tuloksia loogisesti ja luotettavasti.

8.3 Työn hyödynnettävyys ja ammatillinen kehittyminen

Opinnäytetyömme tarkoituksena oli tutkia yleisimpien kokoverinäytteiden säilyvyyttä poikkeavissa kuljetuslämpötiloissa perehtymällä aikaisempiin tutkimuksiin sekä selvittää, miten standardit suosittelvat tutkimaan kokoverinäytteiden säilyvyyttä. Kuten tulosten yhteenvedossa todetaan, on eri tutkimusten tulosten rinnastaminen ja suora käytettävyys yksittäisen laboratorion tarpeeseen monimutkaista. CLSI:n standardin 18-A4 mukaan on suositeltavaa, että aikaisempia tutkimuksia käytettäisiin vertailututkimuksina yksittäisten laboratoriodien tulosten luotettavuuden arviointiin. Täten suosittelemme, että eri laboratoriot tutkisivat omassa organisaatiossaan säilyvyyden eri analyteille. Näin varmistutaan, että tutkimustulokset vastaavat täysin laboratorion käytössä olevia menetelmiä ja välineitä. Laboratorio voi myös arvioida, vastaavatko jonkin käyttämämme tutkimuksen tutkimusmenetelmät riittävän hyvin heidän laboratorionsa menetelmiä ja kriteerejä. Näin tutkimustuloksia voi mahdollisesti suoraan hyödyntää pää-

töksenteossa. Eri tutkimusten eri tilastollisilla tiedonkäsittelymenetelmillä saadut tulokset olisivat erittäin hyödyllistä muuttaa vastaamaan HUSLABin tiedonkäsittelymenetelmiä. Näin tuloksista saataisiin yhtenevämpiä ja käyttökelpoisuuden arviointi helpottuisi huomattavasti.

Suosituksia kokoverinäytteiden säilyvyyden tutkimiselle emme löytäneet standardeista. Sen sijaan hyödynsimme käyttämiämme tutkimusten tutkimusmalleja lämpötilatestaustuonnoksen laatimisessa. Standardeissa oli yleisesti kuvattuna, miten näytteitä tulee säilyttää ja käsitellä. Näitä tietoja käytimme myös hyödyksi luonnoksessa.

Meilahden sairaalan automaatio-päivystyslaboratorio voi hyödyntää jatkotutkimuksissa luonnostelemamme toimintaohjetta. Opinnäytetyömme pohjalta voimme olettaa, että suurin osa työmme analyyteistä säilyy hyvin sekä viileässä, huoneenlämmössä että lämpimässä näytekuljetusten ajan. Kaikkein herkimpiä lämpötilamuutoksille ovat kalium, glukoosi, fosfaatti ja laktaattidehydrogenaasi.

Työstä teki erityisen haastavan aikaisemmin julkaistujen tutkimusten vähyyys. Tämä seikka todetaan myös useassa käyttämässämme tutkimuksessa. Käytimme lähdemateriaalin etsimiseen toistakymmentä tuntia. Parhaiten tutkimustietoa löytyi systemaattisella tiedonhaulla Helsingin yliopiston tietokannoista. Aikaisempaa tutkimustietoa on tarjolla huomattavasti enemmän, kun kokoverinäytteiden säilyvyys laajennetaan koskemaan myös pidempiaikaista säilyvyyttä.

Opinnäytetyö kehitti ammatillista osaamistamme monipuolisesti. Opimme arvioimaan tulosten vertailukelpoisuutta ja luotettavuutta sekä erilaisten tutkimusmenetelmien käyttömahdollisuuksia samansisältöisten kokonaisuuksien tutkimisessa. Englanninkielinen ammatillinen sanastomme kasvoi prosessin aikana. Saimme myös monipuolisesti tietoa näytekuljetuskäytännöistä ja niitä ohjaavista laeista ja ohjeistuksista. Opinnäytetyö vaati perehtymistä koko preanalyttiseen vaiheeseen. Työ lisäsi ymmärrystä näytteissä tapahtuvista reaktioista näytteenoton jälkeen ja näin saimme arvokasta lisätietoa näytteiden laatuun vaikuttavista tekijöistä ja oikeaoppisesta näytteiden käsittelystä. Näitä tietoja voimme hyödyntää erityisesti näytteenottotyössä sekä lajittelussa, mutta myös analytiikassa tulosten luotettavuutta arvioidessamme.

Haluamme kiittää Meilahden automaatiopäivystyslaboratorion kliinistä asiantuntijaa Ellen Saarelaa ja Metropolia ammattikorkeakoulun lehtoria Hannele Pihlajaa opinnäytetyömme ohjauksesta ja tuesta prosessimme eri vaiheissa.

Lähteet

Adcock, Dorothy – Hoefner, Daniel – Kottke-Marchant, Kandice – Marlar, Richard – Szamosi, Diane – Warunek, David 2008. H21-A5 – Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute

ADR 2013. About us. American Association for Cancer Research. Verkkodokumentti. Päivitetty 27.11.2013. <<http://www.aacr.org/home/about-us.aspx>>. Luettu 25.11.2013
ADR 2013. European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road. Verkkodokumentti. Päivitetty 1.1.2013. <http://www.unece.org/trans/danger/publi/adr/adr_e.html>. Luettu 20.10.2013

General Laboratory Techniques, Procedures, and Safety 2001. Bermes, Edward - Young, Donald (toim.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. W.B.Saunders Company

Clinical Chemistry 2013. About Clinical Chemistry. Verkkodokumentti. <<http://www.clinchem.org/site/misc/about.xhtml>>. Luettu 23.11.2013

Cool ID Oy 2013. Tuotteet. Verkkodokumentti. <<http://www.coolid.fi/tuotteet/kylmavaraajat.php>> . Luettu 2.12.2013

Ellis, Jane M. – Livesey, John H. – Evans, Margaret J 2003. Hormone stability in human whole blood. Clinical Biochemistry 36 (3). 109-112.
Elsevier 2013. Guide for authors. Verkkodokumentti. Päivitetty 5.12.2013. <<http://www.elsevier.com/journals/clinical-biochemistry/0009-9120/guide-for-authors#5000>>. Luettu 5.12.2013

Fourtec Declaration of Accuracy. 2012. Tiedoksianto. Fourier Technologies. Verkkodokumentti. <http://www.fouriersystems.com/files/download_center/accuracy_docs/microlite5008_5016_accuracy_cert.pdf>. Luettu 23.4.2013.

Gotz, Michael 2012. Infectious Biologicals Category A and B - Classification Guidelines. Verkkodokumentti. <<http://quick.aero/quickstat/blog/infectious-biologicals-category-a-and-b-classification-guidelines/>>. Luettu 29.10.2013

Jensen, Esther – Stahl, Marta – Brandslund, Ivan – Grinsted, Per 2008. Stability of heparin blood samples during transport based on defined pre-analytical quality goals. Clin Chem Lab Med 46(2). 225-234

Key, Timothy – Oakes, Suzy – Davey, Gwyneth – Moore, John – Edmond, Laurie – McLoone, Una – Thurnham, David 1996. Stability of Vitamins A, C and E, Carotenoids, Lipids, and Testosterone in Whole Blood Stored at 4°C for 6 and 24 Hours before Separation of Serum and Plasma. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention 1996(5). 811-814

Kieschle, Frederick – Betsou, Fay – Blakeney, Jackie – Calam, Roger – Catalasan, Imelda – Raj, Pushker – Sadek, Wadid – Smith, Shrita – Tang, Yi-Wei – Tomazic-Allen, Susan 2010. H18-A4 - Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens

mens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute

Laboratorionäytteiden lähettäminen postitse. 2011. Esite. Itella. Saatavissa myös sähköisesti <http://www.itella.fi/liitteet/palvelutjatuotteet/diagnostiset_naytteet_ohje.pdf>.

Laki vaarallisten aineiden kuljetuksesta 719/1994. Annettu Helsingissä 2.8.1994

Leino, Aino – Koivula, M 2009. Stability of chemical and immunochemical analytes in uncentrifuged plasma samples. *Ann Clin Biochem* 2009(46). 159-161

Lippi, Giuseppe – Blanckaert, Norbert – Bonini, Pierangelo – Green, Sol – Kitchen, Steve – Palicka, Vladimir – J. Vassault, Anne – Plebani, Mario 2008. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clin chem lab med* 46 (6). 764-772. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa <http://huaxi.labsky.com/forum/uploads/2010-9/2010-09-09_173848.pdf>.

Mastropaolo, W. – Wilson, MA. 1993. Effect of Light on Serum B12 and Folate Stability. *Clinical Chemistry* 39(5). 913. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa <<http://www.clinchem.org/cgi/reprint/39/5/913/a>>

Microlite brochure. 2013. Tuotekuvaus. Fourier technologies. Verkkodokumentti. <http://www.fourtec.com/wp-content/uploads/2013/02/MicroLite_Brochure_Feb13.pdf>. Luettu 7.5.2013.

Oddoze, Christiane – Lombard, Elise – Portugal, Henri 2012. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clinical biochemistry* 2012(45). 464-469

Ono, Takeshi – Kitaguchi, Katsumi – Takehara, Masafumi – Shiiba, Mitsuru – Hayami, Kiyoshi 1988. Serum Constituents Analyses: Effect of Duration and Temperature of Storage of Clotted Blood. *Clin Chem* 27(1). 35-38

Rehak, Nadja N. – Chiang, Betty T. 1988. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin. Chem.* 34 (10). 2111-2114.

Saarela, Ellen 2013. Kliininen asiantuntija. HUSLAB, Meilahden automaatio-päivystyslaboratorio. Helsinki. Haastattelu 27.3.

SFS 2007. SFS-EN ISO 15189. Lääketieteelliset laboratoriot. Erityisvaatimukset laadulle ja pätevyydelle. Suomen standardoimisliitto. Helsinki

SFS 2013. Usein kysyttyä. Verkkodokumentti. <http://www.sfs.fi/julkaisut_ja_palvelut/usein_kysyttya#Mikonstandard>. Luettu 15.11.2013

Stahl, Marta – Brandslund, Ivan. 2005. Controlled storage conditions prolong stability of biochemical components in whole blood. *Clin chem lab med* 43 (2). 210-215.

Tampereen yliopisto 2012. Lähdekritiikki. Verkkodokumentti. Päivitetty 16.9.2012. <<http://www.uta.fi/kirjasto/oppaat/tiedonhankinnanperusteet/sis/arviointi/lahdekritiikki/index.html>>. Luettu 14.11.2013

Tanner, Melissa – Kent, Neil – Smith, Brian - Fletcher, Stephen - Lewer Michelle 2008. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. *Ann Clin Biochem* 2008(45). 375- 379

Tukes 2013. VAK – Vaarallisten aineiden kuljetus. Verkkodokumentti. Päivitetty 5.11.2013. <<http://www.tukes.fi/fi/Toimialat/Kemikaalit-ja-kaasu/Vaarallisten-aineiden-kuljetus/>>. Luettu 14.11.2013

Tuokko, Seija – Rautajoki, Anja – Lehto, Liisa 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – Opas näytteiden ottoa varten. 1.-2. painos. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö. Verkkodokumentti. <<http://www.tenk.fi/fi/htk-ohje/hyva-tieteellinen-kaytanta>>. Luettu 14.11.2013

Van Geest-Daalderop, Johanna – Mulder, Andre – Boonman-de Winter, Leandra – Hoekstra, Martha – van den Besselaar, Anton 2005. Preanalytical Variables and Off-Site Blood Collection: Influences on the Results of the Prothrombin Time/International Normalized Ratio Test and Implications for Monitoring of Oral Anticoagulant Therapy. *Clin Chem* 51(3). 561-568

World Health Organisation 2007. Guidance on regulations for the transport of infectious substances. WHO/CDS/EPR/2007.2. Saatavissa myös sähköisesti <http://whqlibdoc.who.int/hq/2007/WHO_CDS_EPR_2007.2_eng.pdf>.

World Medical association 2013. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. Verkkodokumentti. <<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=1760318>>. Luettu 15.11.2013

Zhang, DJ – Elswick, RK – Miller, WG – Baileu, JL. 1998. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clinical chemistry* 44 (6). 1325-1333.

Zhao, Y – Lv, G 2013. Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens. *Int Jnl Lab. Hem* 2013(35).

Taulukko käyttämiemme tutkimusten keskeisistä sisällöistä

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
------------------	---	----------------------	----------------------	------------------------------	--------------------	--------------	----------------------	--------------------

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Ono ym: Serum constituents analyses: Effect of duration and temperature of storage of clotted blood (1981)	AFOS ALAT Alb ASAT Bil Gluk GT K Kol Krea LD Na Pi Trigly Uraat Urea	12	38	Seerumi	4°C 23°C 30°C	2 h 4 h 6 h 8 h 24 h 48 h	Nollanäytteet eroteltiin 20 min kuluttua näytteenotosta ja pakastettiin -20°C:seen. Tutkimusnäytteet altistettiin tutkittaville olosuhteille ja pakastettiin tämän jälkeen. Kaikki näytteet sulatettiin ja analysoitiin samalla kertaa.	ALAT ja ASAT säilyvät > 6 h 4°C - 23°C:ssa ja 4 h 30°C:ssa LD säilyy > 6 h 4°C:ssa, <6 h 23°C:ssa ja < 2 h 30°C:ssa. Glukoosi säilyy > 6 h 4°C:ssa, 2 h 23°C:ssa ja < 2 h 30°C:ssa. Muut analyytit säilyvät tutkimuskelpoisina kaikissa tutkituissa olosuhteissa vähintään kuusi tuntia.

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Oddoze ym: Stability study of 81 analytes in human whole blood in serum and in plasma (2012)	AFOS Alb ALAT ASAT B12-Vit Bil CK Cl C-Pep-A CRP D-Vit Estdio Fe Ferrit Gluk GT K Kol Kol-HDL Kol-LDL Korsol Krea LD Mg Na Pi PTH Prog T4-V Testo TfR TSH TT Trigly Uraat Urea	10	Korkeintaan 23	Li-hepariini, seerumigeeli, natriumfluoridi, EDTA, Na-sitraatti, säilöntäaineeton lasiputki	4±2°C 25±2°C	2 h 4 h 6 h 24 h 48 h (vain hormonit) 72 h (vain hormonit)	Nollanäytteistä seerumin annettiin hyytyä 30 min ennen sentrifugointia 2000 g, 10 min, 20°C ja analyysoitua. Plasmanäytteet eroteltiin heti näytteenoton jälkeen. Tutkimusnäytteet analyysoitiin tutkimusolosuhteiden jälkeen nollanäytteitä vastaavalla tavalla.	<p>Magnesium säilyy litium-hepariiniputkessa > 4 h 4-25°C:ssa, 6 h säilyvyyttä ei tutkittu. Seerumi- ja lasiputkessa magnesium säilyy > 6 h 4°C-25°C:ssa.</p> <p>Kalium säilyy > 6 h lasi- ja seerumigeeliputkessa 4°C - 25°C:ssa, litiumhepariiniputkessa > 4 h 4°C – 25°C:ssa. (ei tutkittu pidempään)</p> <p>C-peptidi säilyy > 6 h 4°C - 25°C:ssa EDTA-putkessa, lasiputkessa > 6 h 4°C:ssa ja < 6 h 25°C:ssa .</p> <p>Glukoosi säilyy lasiputkessa 4°C:ssa 6 h ja 25°C:ssa 4 h, seerumigeeliputkessa > 6 h 4°C:ssa ja 25°C:ssa, li-hepariiniputkessa > 4 h 4°C:ssa ja 25°C:ssa (ei tutkittu pidempään) ja natriumfluoridiputkessa > 24 h kaikissa tutkituissa olosuhteissa.</p> <p>Fosfaatti säilyy lasiputkessa > 6 h 4°C:ssa ja 25°C:ssa, li-hepariiniputkessa 4 h 4°C:ssa ja 2 h 25°C:ssa. (ei tutkittu pidempään)</p> <p>Muut analyytit säilyvät tutkimuskelpoisina kaikissa tutkituissa olosuhteissa vähintään</p>

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Tanner ym: Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation (2008)	AFOS ALAT Alb ASAT B12-Vit Bil CK CRP D-Vit Estdio Fe Ferrit FSH Gluk GT K Kol Korsol Krea Mg Na Pi T4-V Trigly TSH Uraat Urea	30, Sukupuoli hormonit tutkimuksissa 15	11	Seerumi	+15°C +25°C +35°C	4 h 8 h 24 h	Näytteiden annettiin hyytyä 30 min näytteenoton jälkeen. Tämän jälkeen nollanäytteet sentrifugoitiin 1500 g, 10 min, + 18°C – + 25°C:ssa ja analysoitiin. Tutkimusnäytteet altistettiin tutkittaville olosuhteille ja käsiteltiin tämän jälkeen nollanäytteitä vastaavalla tavalla.	Kalium säilyy > 4 h, mutta < 6 h + 25°C:ssa, < 4 h + 15°C:ssa ja + 35°C:ssa. Rauta säilyy > 6 h + 15°C – 25°C:ssa, 4h + 35°C:ssa. Glukoosi säilyy 15°C:ssa 4 h, + 25°C- + 35°C:ssa < 4 h. Fosfaatti säilyy > 6 h + 15°C- + 25°C:ssa ja < 4 h + 35°C:ssa. Muut analyytit säilyvät tutkimuskelpoisina kaikissa tutkituissa olosuhteissa vähintään kuusi tuntia.

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Zhang ym: Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results (1998)	AFOS ALAT Alb ASAT B12-Vit Bil CK Cl Ferrit Gluk GT K Kol Kol-HDL Kol-LDL Korsol Krea LD Mg Na Pi T4-V Testo Trigly TSH Uraat Urea	4-11	4	Seerumi	+ 32°C	3 h 6 h 24 h	Nollanäytteiden annettiin hyytyä 30 minuuttia huoneenlämmössä ennen seerumin erottelua 1500 g 10 min. Tämän jälkeen eroteltu seerumi säilytettiin + 4°C:ssa analysointiin asti. Tutkimusnäytteitä pidettiin näytteenoton jälkeen + 32°C:ssa valittu aika, ja näytteet käsiteltiin tämän jälkeen nollanäytteiden tavoin, ja seerumia säilytettiin + 4°C:ssa. Kaikki näytteet analysoitiin samalla kertaa.	Kalium säilyy < 3 h + 32°C:ssa. Albumiini säilyy > 3 h , mutta < 6 h + 32°C:ssa. Glukoosi säilyy < 3 h + 32°C:ssa. Fosfaatti säilyy > 3, mutta < 6 h + 32°C:ssa. LD säilyy < 3 h + 32°C:ssa. Muut analyytit säilyvät tutkimuskelpoisina kaikissa tutkituissa olosuhteissa vähintään kuusi tuntia.

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Leino & Koivula: Stability of chemical and immunochemical analytes in uncentrifuged plasma samples (2008)	AFOS ALAT Alb ASAT B12-Vit Bil Cl CK C-Pep-A CRP Fe GT K Kol Kol-HDL Kol-LDL Krea Korsol LD Mg Na Pi PTH T4-V Trigly TSH Uraat Urea	50	3	Li-hepariini	+ 8°C + 22°C	6 h	Nollanäytteet eroteltiin viimeistään puolen tunnin kuluttua näytteenotosta 2500 g, 10 min, + 18°C:ssa ja analysoitiin. Tutkimusnäytteet altistettiin tutkittaville olosuhteille ja käsiteltiin nollanäytteitä vastaavalla tavalla.	Kalium säilyy > 6 h + 22°C:ssa ja < 6 h + 8°C:ssa. Muut analyytit säilyvät tutkimuskelpoisina kaikissa tutkituissa olosuhteissa vähintään kuusi tuntia.

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Key ym: Stability of vitamins A, C and E, Carotenoids, Lipids, and testosterone in whole blood stored at 4°C for 6 and 24 hours before separation of serum and plasma (1996)	Kol Kol-HDL, Kol-LDL Testo Trigly	28, testosteronissa 13-15	3 natriumsitraattiputkea ja 3 seerumiputkea	Natriumsitraatti ja seerumi	+ 4°C	6 h 24 h	Seerumiputkien annettiin olla kaksi tuntia huoneenlämmössä, jonka jälkeen nollanäytteet sentrifugoitiin 3500 g 15 min ja loput näytteet laitettiin + 4°C lämpötilaan tutkimusajaksi. Sitraatti-putkia säilytettiin 20 min huoneenlämmössä näytteenoton jälkeen, jonka jälkeen putket siirrettiin + 4°C jääkaappiin tutkimusajaksi. Nollanäytteitä säilytettiin viileässä 2 h, jonka jälkeen plasma eroteltiin kuten seerumi 3500 g 15 min. Muut näytteet käsiteltiin vastaavalla tavalla, kun tutkittava aika oli kulunut. Kaikki näytteet pakastettiin erottelun jälkeen - 70°C:seen analysointiin asti.	Kaikki analyytit säilyvät tutkimuskelpoisina kaikissa tutkituissa olosuhteissa vähintään kuusi tuntia.

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Rehak ym: Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum (1988)	AFOS ALAT ASAT Bil Ca CK Cl Gluk K, Kol, Krea LD Na Prot Uraat Urea	20	Tarkka määrä ei käy ilmi tutkimuksesta.	Seerumi	+ 3°C + 10°C + 15°C + 22°C + 25°C + 30°C + 38°C	24 h	Näytteiden annettiin hyytyä 30 minuuttia, minkä jälkeen ne altistettiin tutkimuslämpötiloille kokoverenä.	<p>S-Gluk-pitoisuus laski yli + 22°C lämpötilassa suoraan verrannollisesti lämpötilaan nähden.</p> <p>S-Prot-pitoisuus nousi yli + 22°C lämpötilassa suoraan verrannollisesti lämpötilaan nähden.</p> <p>S-ALAT ja S-ASAT – pitoisuudet nousivat yli + 22 °C lämpötilassa.</p> <p>S-LD- ja S-CK -pitoisuudet nousivat n. 30% + 3°C lämpötilassa.</p> <p>S-Prot- pitoisuus nousi yli + 22°C miltei lineaarisesti lämpötilaan nähden. 38°C pitoisuus oli lähes nelinkertainen lähtötasoon verrattuna. + 25°C pitoisuus nousi ~50% +22°C verrattuna.</p> <p>S-K -pitoisuus pysyi vakaimpana + 22- + 25 °C:ssa. Pitoisuus laski eniten + 3°C lämpötilassa.</p> <p>Suurin osa analyyteistä ei reagoinut merkittävästi lämpötilamuutoksiin.</p>

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Ellis ym: Hormone stability in human whole blood (2003)	ACTH AVP C-Pep-A Estdio FSH GH Gikg hCG-A IGF-1 IGFBP3 Insu Leptin LH PRL PTH VIP	8-11	80 millilitraa	EDTA	0,5 h 6 h	+ 4°C + 24°C	Näytteet sentrifugoitiin odotusajan jälkeen ja säilytettiin alle -15°C ennen analysointia.	AVP:n pitoisuus laski 10 % jo 2,6 tunnissa + 24°C:ssa. Muiden hormonien pitoisuudet eivät muuttuneet merkittävästi kuuden tunnin aikana kummassakaan lämpötilassa.

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Zhao & Lv: Influence of temperature and storage on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time in citrate-anticoagulated whole blood specimens (2013)	P-TT	80	Ei mainittu tutkimuksessa	Natriumsitraatti	+ 4°C huoneenlämpö	4 h 8 h 24 h	Kaikki näytteet sentrifugoitiin näytteenoton jälkeen 3000 g 10 minuuttia ja analysoitiin nollatason määrittämiseksi. Tämän jälkeen sentrifugoidut primaariputket korkitettiin ja säilytettiin valituissa olosuhteissa. Tämän jälkeen näytteet analysoitiin uudelleen.	Tromboplastiiniaikanäytteet säilyvät > 6 h sekä + 4°C:ssa että huoneenlämmössä.

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Stahl & Brandslund: Controlled storage conditions prolong stability of biochemical components in whole blood (2005)	ALAT AFOS AmylP Bil Ca P-Kol Kol-HDL Kol-LDL CK Krea Estdio Ferrit FSH GT Fe LD LH Mg Pi K PROG Na T3-V T4-V TSH Urea	5	6	Litium-hepariini	+ 17°C + 20°C + 23°C + 25°C	2 h 4 h 6 h 8 h	0-näytteet sentrifugoitiin ja eroteltiin välittömästi. Loput näytteet sentrifugoitiin ja altistettiin eri lämpötiloille, minkä jälkeen ne säilytettiin 4°C ennen analysointia.	Kaliumpitoisuus nousi + 17°C:ssa 8 tuntiin saakka. + 25°C:ssa pitoisuus laski 8 tuntiin saakka. + 23°C:ssa pitoisuus laski lievästi 2 tuntiin saakka ja alkoi sen jälkeen kohota, kunnes oli lähtötasolla noin 4 tunnin kohdalla. Tämän jälkeen pitoisuus laski 8 tuntiin saakka. Pitoisuus säilyi vakaana + 20°C:ssa 8 tunnin ajan. Muut analyytit pysyivät vakaina kaikissa olosuhteissa.

Tutkimuksen nimi	Keskeisimmät analyytit, tutkimuslyhenne	Näytteitä / tutkimus	Näytemäärä / henkilö	Näytemuoto / käytetyt putket	Tutkimuslämpötilat	Tutkimusajat	Näytteiden käsittely	Keskeiset tulokset
Van Geest-Daelderop ym: Preanalytical Variables and Off-Site Blood Collection: Influences on the Results of the Prothrombin Time/International Normalized Ratio Test and Implications for Monitoring of Oral Anticoagulant Therapy (2005)	TT	0	4 - 5	Na-sitraatti	+ 4- 6°C huoneenlämpö + 37°C	3 h 6 h 24 h	Nollanäytteinä käytettiin 0,5 – 1, 0 h huoneenlämmössä olleita putkia. Tutkimusnäytteet altistettiin tutkittaville olosuhteille ja analysoitiin.	TT-näytteet säilyvät > 6 h + 4°C:ssa – huoneenlämmössä ja < 6 h + 37°C:ssa.

Taulukko keskeisimpien analytyttien tutkimustuloksista

Tutkimus	n	CRP	n	Natrium	n	Kreatiniini	n	TSH	n	INR/ TT
1)			12	Säilyy > 6 h 4°C-30°C:ssa (seerumiputki)	12	Säilyy > 6 h 4°C-30°C:ssa (seerumiputki)				
2)									20	Säilyy > 6 h 4°C:ssa – huoneenlämmössä, < 6 h 37°C:ssa (natriumsitraattiputki)
3)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C - 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C - 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-, seerumigeeli- ja EDTA-putki)	10	Säilyy > 6 h 4°C - 25°C:ssa (atriumsitraattiputki)
4)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)		
5)										Säilyy > 6 h 4°C:ssa - huoneenlämmössä
6)			4	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	4	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	5	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)		
7)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)		
8)										
9)										
10)			20	Säilyy > 6 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)	20	Säilyy > 6 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)				
11)			30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)		

Tutkimus	n	T4-V	n	GT	n	Kolesteroli	n	Kol-LDL	n	Kol-HDL
1)			12	Säilyy > 6 h 4°C - 30°C:ssa (seerumiputki)	12	Säilyy > 6 h 4°C-30°C:ssa (seerumiputki)				
2)										
3)	10	Säilyy > 6 h 4°C - 25°C:ssa (lasi-, seerumigeeli- ja EDTA-putki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)
4)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)				
5)										
6)	5	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	5	Säilyy > 6h 32°C:ssa (seerumiputki)	11	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	7	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	7	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)
7)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)
8)					28	Säilyy > 6 h 4°C:ssa (seerumiputki)	28	Säilyy > 6 h 4°C:ssa (seerumiputki)	28	Säilyy > 6 h 4°C:ssa (seerumiputki)
9)										
10)					20	Säilyy > 6 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)				
11)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)

Tutkimus	n	Triglyseridit	n	Bilirubiini	n	B12-vitamiini	n	Magnesium		Ferritiini
1)	12	Säilyy > 6 h 4°C-30°C:ssa (seerumiputki)	12	Säilyy > 6 h 4°C-30°C:ssa (seerumiputki)						
2)										
3)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy litium-hepariiniputkessa >4 h 4-25°C:ssa, 6 h säilyvyyttä ei tutkittu Säilyy > 6 h seerumi- ja lasiputkessa 4-25°C:ssa	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)
4)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)
5)										
6)	8	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	4	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	10	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	6	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	4	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)
7)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)		
8)	28	Säilyy > 6 h 4°C:ssa (seerumiputki)								
9)										
10)			20	Säilyy > 6 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)						
11)			30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)			30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)

Tutkimus	n	CK	n	Kloridi	n	Transferriniireseptori	n	Kalium	n	ALAT
1)							12	Säilyy > 6 h 4°C – 30°C:ssa (seerumiputki)	12	Säilyy > 6 h 4-23°C:ssa, selvää tulostason nousua 4 h jälkeen 30°C:ssa (seerumiputki)
2)										
3)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h lasi- ja seerumigeeliputkessa 4°C - 25°C:ssa , litiumhepariiniputkessa > 4 h 4°C – 25°C:ssa (ei tutkittu pidempään)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)
4)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)					30	Säilyy < 4 h 15°C:ssa ja 35°C:ssa ja 4 h 25°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)
5)										
6)	4	Säilyy > 6h 32°C:ssa (seerumiputki)		Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)			8	Säilyy < 3 h 32°C:ssa (seerumiputki)	6	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)
7)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)			50	Säilyy > 6 h 22°C:ssa ja < 6 h 8°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)
8)										
9)										
10)	20	Säilyy < 24 h 3°C:ssa ja 24 h 10-38°C (seerumiputki)	20	Säilyy > 6 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)			20	Säilyy < 24 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)	20	Säilyy > 6 h 3°C – 22°C:ssa (seerumiputki)
11)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)					30	Säilyy > 6 h 20°C:ssa ja < 6 h 17, 23 ja 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)

Tutkimus	n	Rauta	n	AFOS	n	Testosteroni	n	Estradioli	n	Parathormoni
1)			12	Säilyy > 6 h 4°C-30°C:ssa (seerumiputki)						
2)										
3)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)
4)	30	Säilyy > 6 h 15°C – 25°C:ssa, 4h 35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)			15	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)		
5)										
6)			4	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	8	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)				
7)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)					50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)
8)					27	Säilyy > 6 h 4°C:ssa (Na-sitraatti- ja seerumiputki)				
9)							11	Säilyy > 6 h 4°C-24°C (EDTA-putki)	10	Säilyy > 6 h 4°C-24°C (EDTA-putki)
10)			20	Säilyy > 6 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)						
11)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)			30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)		

Tutkimus	n	Kortisoli	n	Albumiini	n	D-vitamiini	n	Progesteroni	n	C-peptidi
1)			12	Säilyy > 6 h 4°C - 30°C:ssa (seerumiputki)						
2)										
3)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C - 25°C:ssa EDTA-putkessa, > 6 h 4°C:ssa ja < 6 h 25°C:ssa lasiputkessa
4)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C - 35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)				
5)										
6)	4	Säilyy > 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	4	Säilyy > 3 h 32°C:ssa (seerumiputki)						
7)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)					50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)
8)										
9)									11	Säilyy > 6 h 4°C-24°C (EDTA-putki)
10)										
11)							30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)		

Tutkimus	n	LD	n	Glukoosi	n	FSH	n	Uraatti	n	Urea
1)	12	Säilyy > 6 h 4°C- 23°C:ssa ja < 2 h 30°C:ssa (seerumiputki)	12	Säilyy > 6 h 4°C:ssa, 2 h 23°C:ssa ja < 2 h 30°C:ssa (seerumiputki)			12	Säilyy > 6 h 4°C - 30°C:ssa (seerumiputki)	12	Säilyy > 6 h 4°C - 30°C:ssa (seerumiputki)
2)										
3)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi- seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy 4°C > 6 h ja 25°C:ssa 4 h lasiputkessa Säilyy > 6 h 4°C:ssa ja 25°C:ssa seerumigeeliputkessa Säilyy 4 h 4°C:ssa ja 25°C:ssa li- hepariiniputkessa (tutkittu vain 4 h asti) Säilyy > 24 h 4°C- 25°C:ssa natriumfluoridiputkessa			10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi- seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi- seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)
4)			30	Säilyy 15°C:ssa 4 h, 25°C- 35°C:ssa < 4 h (seerumiputki)	15	Säilyy > 6 h 15°C- 35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C- 35°C:ssa (seerumiputki)	30	Säilyy > 6 h 15°C- 35°C:ssa (seerumiputki)
5)										
6)	7	Säilyy < 3 h 32°C:ssa (seerumiputki)	4	Säilyy < 3 h 32°C:ssa (seerumiputki)			4	Säilyy > 6h 32°C:ssa (seerumiputki)	8	Säilyy > 6h 32°C:ssa (seerumiputki)
7)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li- hepariiniputki)					50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li- hepariiniputki)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li- hepariiniputki)
8)										
9)					10	Säilyy > 6 h 4°C- 24°C (EDTA-				

10)	20	Säilyy > 6 h 10°C – 38°C:ssa (seerumiputki)	20	Säilyy < 24 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)	putki)	20	Säilyy > 6 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)	20	Säilyy > 6 h 3°C – 38°C:ssa (seerumiputki)
11)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)			30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)		30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)

Tutkimus	n	Fosfaatti	n	ASAT
1)	12	Säilyy > 6 h 4°C - 30°C:ssa (seerumiputki)	12	Säilyy > 6 h 4-23°C:ssa, selvää tulostason nousua 4 h jälkeen 30°C:ssa (seerumiputki)
2)				
3)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa lasiputkessa Säilyy li-hepariiniputkessa 4 h 4°C:ssa ja 2 h 25°C:ssa (tutkittu vain 4 h asti)	10	Säilyy > 6 h 4°C – 25°C:ssa (lasi-seerumigeeli- ja litiumhepariiniputki)
4)	30	Säilyy > 6 h 15°C-25°C:ssa ja < 4 h 35°C:ssa.	30	Säilyy > 6 h 15°C-35°C:ssa (seerumiputki)
5)				

6)	4	Säilyy > 3 h, mutta < 6 h 32°C:ssa (seerumiputki)	6	Säilyy > 6h 32°C:ssa (seerumiputki)
7)	50	Säilyy > 6 h 8°C – 22°C:ssa (Li-hepariiniputki)		
8)				
9)				
10)			20	Säilyy < 24 h 22-38°C:ssa ja 24 h 3-15°C:ssa (seerumiputki)
11)	30	Säilyy > 6 h 17°C – 25°C:ssa (Li-hepariiniputki)		

n= näytteiden määrä/tutkimus

- 1)= Ono, Takeshi – Kitaguchi, Katsumi – Takehara, Masafumi – Shiiba, Mitsuru – Hayami, Kiyoshi 1988. Serum Constituents Analyses: Effect of Duration and Temperature of Storage of Clotted Blood. *Clin Chem* 27(1). 35-38
- 2)= van Geest-Daalderop, Johanna – Mulder, Andre – Boonman-de Winter, Leandra – Hoekstra, Martha – van den Besselaar, Anton 2005. Preanalytical Variables and Off-Site Blood Collection: Influences on the Results of the Prothrombin Time/International Normalized Ratio Test and Implications for Monitoring of Oral Anticoagulant Therapy. *Clin Chem* 51(3). 561-568
- 3)= Oddoze, Christiane – Lombard, Elise – Portugal, Henri 2012. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clinical biochemistry* 2012(45). 464-469
- 4)= Tanner, Melissa – Kent, Neil – Smith, Brian - Fletcher, Stephen - Lewer Michelle 2008. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. *Ann Clin Biochem* 2008(45). 375- 379
- 5)= Zhao, Y – Lv, G 2013. Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens. *Int Jnl Lab. Hem* 2013(35). 566-5
- 6)= Zhang, DJ – Elswick, RK – Miller, WG – Baileu, JL. 1998. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clinical chemistry* 44 (6). 1325-1333.
- 7)= Leino, Aino – Koivula, M 2009. Stability of chemical and immunochemical analytes in uncentrifuged plasma samples. *Ann Clin Biochem* 2009(46). 159-161
- 8)= Key, Timothy – Oakes, Suzy – Davey, Gwyneth – Moore, John – Edmond, Laurie – McLoone, Una – Thurnham, David 1996. Stability of Vitamins A, C and E, Carotenoids, Lipids, and Testosterone in Whole Blood Stored at 4°C for 6 and 24 Hours before Separation of Serum and Plasma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 1996(5). 811-814
- 9)= Ellis, Jane M. – Livesey, John H. – Evans, Margaret J 2003. Hormone stability in human whole blood. *Clinical Biochemistry* 36 (3). 109-112.
- 10)= Rehak, Nadja N. – Chiang, Betty T. 1988. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin. Chem.* 34 (10). 2111-2114.
- 11)= Stahl, Marta – Brandslund, Ivan. 2005. Controlled storage conditions prolong stability of biochemical components in whole blood. *Clin chem lab med* 43 (2). 210-215.

LABORATORIO	TOIMINTAOHJE, LUONNOS
PREANALYTIikka	Sivu 1(64)
Näytekuljetukset	Versio: 9.12.2013
KOKOVERINÄYTTEIDEN SÄILYVYYDEN TESTAUS	Laatijat: T.Leppänen, E.Rintala
KULJETUSLÄMPÖTILAPOIKKEAMIA	Tarkastaja:
VARTEN	Hyväksyjä:

KOKOVERINÄYTTEIDEN SÄILYVYYDEN TESTAUS KULJETUSLÄMPÖTILAPOIKKEAMIA VARTEN

Viittaukset	
SFS-EN ISO 15189:2007	5.4 Tutkimusta edeltävät toimenpiteet
CLSI	CLSI H18-A4
HUSLAB	Preanalytiikan käsikirja http://huslab.fi/preanalytiikan_kasikirja/verinaytteenotto/index.html
HUSLAB	Toimintaohje: HIL-indeksien käyttö Modular-analysaattorilla
Tutkimukset	

Näytteiden keräys

Säilyvyydestä varten kerätään näytteet vähintään 20 luovuttajalta. Testausnäytteiden antaminen perustuu vapaaehtoisuuteen. Osallistuvilta henkilöiltä tulee saada tietoinen suostumus ennen näytteenottoa. Suostumus pyydetään kirjallisena.

Testausnäytteet kerätään terveiltä, täysi-ikäisiltä luovuttajilta, jotka eivät käytä säännöllisesti lääkkeitä. Jokaiselta luovuttajalta otetaan näytteenotossa kaksi (2) näytettä nollanäytteiksi ja kaksi (2) näytettä jokaista tutkittavaa aika- ja lämpötilaolosuhdetta kohden.

Näytteenotto

Näytteenotossa noudatetaan HUSLABin preanalytiikan käsikirjan verinäytteenoton ohjetta. Näytteet, jotka on otettu tästä ohjeesta poiketen esimerkiksi pitkittynyt näytteenotto tai riittämätön näytemäärä, ei hyväksytä testaukseen.

Näytteiden esikäsittely

Nollanäytteet :

Seeruminäytteet

Seeruminäytteiden annetaan hyytyä huoneenlämmössä 30 minuuttia, jonka jälkeen nollanäytteet (2 kpl/luovuttaja) sentrifugoidaan 2000 g, 10 min, +20 °C.

Plasmanäytteet

Plasmanäytteiden nollanäytteet (2 kpl/luovuttaja) sentrifugoidaan välittömästi näytteenoton jälkeen 2000 g, 10 min, +20 °C.

Kokoverinäytteet

Kokoverenä tutkittavat nollanäytteet (2 kpl/luovuttaja) toimitetaan analysointipisteeseen välittömästi näytteenoton jälkeen.

Tutkimusnäytteet

Seeruminäytteet

Seeruminäytteiden annetaan hyytyä huoneenlämmössä 30 minuuttia ennen altistamista tutkimusolosuhteelle. Kun testattava altistusaika on kulunut, näytteet sentrifugoidaan 2000 g, 10 min, +20 °C.

Plasma- ja kokoverinäytteet

Plasma- ja kokoverinäytteet altistetaan heti kokoverenä näytteenoton jälkeen tutkittavalle olosuhteelle. Kun testattava altistusaika on kulunut, näytteet sentrifugoidaan 2000 g, 10 min, +20 °C.

Tutkimusnäytteiden altistaminen kylmälle tai kuumalle

Kylmien lämpötilojen vaikutusta tutkitaan laittamalla tutkimusnäytteet lämpötilakalibroituun jääkaappiin. Jääkaapissa tulee olla lämpötilaseuranta, josta tarvittaessa saadaan tuloste. Korkeiden lämpötilojen vaikutusta tutkitaan laittamalla tutkimusnäytteet lämpötilakalibroituun lämpökaappiin. Lämpökaapissa tulee olla altistuksen ajan lämpötilaseuranta, joka on mahdollisesti tulostettavissa.

Näytteiden analysointi

Kaikki näytteet, nolla- ja tutkimusnäytteet, tutkitaan rinnakkaisnäytteinä. Plasma- ja seerumi-näytteiden hemolyysi-, ikteerisyys- ja lipemaiindeksi (HIL-indeksi) määritetään, mikäli se on käytössä automaatiolinjastolla tai yksittäisellä analysaattorilla. Jos HIL-indeksimääritys ei ole mahdollista, voidaan plasmaa tai seerumia verrata manuaalisesti hemolyyttis- tai ikteerisyyskarttaan.

Näytteiden hylkäämisperusteet

Plasma- ja seeruminäytteiden hylkäämisperusteena käytetään HUSLABin toimintaohjeessa määritellyjä näytekohtaisia HIL-indeksien raja-arvoja.

Tulosten analysointi

Tulosten analysoinnissa käytetään HUSLABin määrittelemiä tilastollisia tiedonkäsittelymenetelmiä. Tulkinta näytteiden säilyvyydestä eri aikoina eri lämpötiloissa tehdään niiden perusteella.

Näytteiden säilyvyydestä tehtyjä tutkimuksia

Ellis, Jane M. – Livesey, John H. – Evans, Margaret J 2003. Hormone stability in human whole blood. *Clinical Biochemistry* 36 (3). 109-112.

Key, Timothy – Oakes, Suzy – Davey, Gwyneth – Moore, John – Edmond, Laurie – McLoone, Una – Thurnham, David 1996. Stability of Vitamins A, C and E, Carotenoids, Lipids, and Testosterone in Whole Blood Stored at 4°C for 6 and 24 Hours before Separation of Serum and Plasma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 1996(5). 811-814

Leino, Aino – Koivula, M 2009. Stability of chemical and immunochemical analytes in uncentrifuged plasma samples. *Ann Clin Biochem* 2009(46). 159-161

Oddeze, Christiane – Lombard, Elise – Portugal, Henri 2012. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clinical biochemistry* 2012(45). 464-469

Ono, Takeshi – Kitaguchi, Katsumi – Takehara, Masafumi – Shiiba, Mitsuru – Hayami, Kiyoshi 1988. Serum Constituents Analyses: Effect of Duration and Temperature of Storage of Clotted Blood. *Clin Chem* 27(1). 35-38

Rehak, Nadja N. – Chiang, Betty T. 1988. Storage of whole blood: Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin. Chem.* 34 (10). 2111-2114.

Stahl, Marta – Brandslund, Ivan. 2005. Controlled storage conditions prolong stability of biochemical components in whole blood. *Clin chem lab med* 43 (2). 210-215.

Tanner, Melissa – Kent, Neil – Smith, Brian - Fletcher, Stephen - Lewer Michelle 2008. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. *Ann Clin Biochem* 2008(45). 375- 379

van Geest-Daalderop, Johanna – Mulder, Andre – Boonman-de Winter, Leandra – Hoekstra, Martha – van den Besselaar, Anton 2005. Preanalytical Variables and Off-Site Blood Collection: Influences on the Results of the Prothrombin Time/International Normalized Ratio Test and Implications for Monitoring of Oral Anticoagulant Therapy. *Clin Chem* 51(3). 561-568

Zhang, DJ – Elswick, RK – Miller, WG – Baileu, JL. 1998. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clinical chemistry* 44 (6). 1325-1333.

Zhao, Y – Lv, G 2013. Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens. *Int Jnl Lab. Hem* 2013(35). 566-5