



Janette Kupiainen

Näytteenotossa ihon puhdistukseen käytetyn alkoholin vaikutus B -PEth tuloksiin

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

17.4.2025

Tiivistelmä

Tekijä:	Janette Kupiainen
Otsikko:	Näytteenotossa ihon puhdistukseen käytetyn alkoholin vaikutus B-PEth tuloksiin
Sivumäärä:	30 sivua + 3 liitettä
Aika:	17.4.2025
Tutkinto:	Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto
Tutkinto-ohjelma:	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat:	Yliopettaja, Riitta Lumme Sairaalakemisti, Niina Niskanen

Tässä opinnäytetyössä tutkittiin, miten näytteenotossa ihon puhdistukseen käytetty alkoholi vaikuttaa B-PEth verikokeen tulokseen. B-PEth tutkimus on tällä hetkellä tarkin ja luotettavin laboratoriotutkimus osoittamaan pitkäaikaista alkoholinkäyttöä.

Opinnäytetyöhön rekrytoitiin 18 vapaaehtoista, eikä rekrytoinnissa ollut mitään valintatai poissulkukriteeriä. Vapaaehtoisilta kerättiin kolme verinäytettä kolmella eri näytteenottotavalla. Ensimmäisessä näytteenotossa ihon puhdistukseen ei käytetty lainkaan alkoholia, vain vettä. Toisessa näytteenotossa iho pyyhittiin vain kerran alkoholilla kostutetulla ihonpuhdistuslapulla ja ihon annettiin kuivua ennen pistoa. Kolmannessa näytteenotossa iho pyyhittiin runsaalla alkoholimäärällä ja pisto suoritettiin märkään ihoon.

Näytteitä analysoitiin neljänä eri päivänä ja selvitettiin, muodostuuko näytteisiin PEth-molekyylejä *in vitro* jääkaappisäilytyksen aikana. Ensimmäinen analyysipäivä oli näytteenottopäivä, jolloin näytteitä ei vielä säilytetty jääkaappilämpötilassa. Seuraava analyysi tehtiin, kun näytteet olivat olleet vuorokauden jääkaapissa. Kolmas analyysi tehtiin, kun näytteenotosta oli kulunut kolme päivää. Viimeinen analyysi tehtiin, kun näytteenotosta oli kulunut viisi päivää.

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi HUS Diagnostiikkakeskuksen erikoiskemian laboratorio. Opinnäytetyön tarpeeseen vaikutti se, ettei vielä ollut saatavilla tutkimustietoa, miten näytteenotossa ihon pyyhkimiseen käytetty alkoholi vaikuttaa B-PEth tutkimuksen tuloksiin.

Tulosten perusteella voitiin todeta, että ihon pyyhkiminen alkoholilla näytteenoton yhteydessä ei vaikuttanut B-PEth tuloksiin eikä näytteisiin muodostunut PEth:iä *in vitro* jääkaappisäilytyksen aikana. Näytteiden PEth tulokset pysyivät vakaina myös etanolikontaminoituneissa näytteissä. Aiheesta olisi kuitenkin hyvä tehdä jatkotutkimuksia, sillä opinnäytetyöstä saadut B-PEth tulokset olivat hyvin matalia. Jatkotutkimuksiin kannattaa tämän vuoksi rekrytoida henkilöitä, joilla olisi korkeita B-PEth tuloksia.

Avainsanat: Fosfatidyylietanoli, PEth, näytteenotto, etanolikontaminaatio, *in vitro*

Tämän opinnäytetyön alkuperä on tarkastettu Turnitin Originality Check -ohjelmalla.

Abstract

Author: Janette Kupiainen
Title: The effect of wiping the skin with alcohol during phlebotomy on B-PEth results
Number of Pages: 30 pages + 3 appendices
Date: 17 April 2025

Degree: Bachelor of Health Care
Degree Programme: Biomedical Laboratory Science
Instructor(s): Riitta Lumme, Principal Lecturer
Niina Niskanen, Clinical chemist

The purpose of this thesis was to examine the effect of wiping the skin with alcohol during phlebotomy on B-PEth results. B-PEth test is currently the most accurate and reliable laboratory test for indicating long-term alcohol consumption.

A total of 18 volunteers were recruited for the study, with no inclusion or exclusion criteria applied. Three blood samples were collected from volunteers using three different sampling methods. In the first blood sample, no alcohol was used to clean the skin. In the second blood sample, the skin was wiped once with alcohol damped pad and the skin was allowed to dry before the prick. In the third sample, the skin was wiped with alcohol-soaked pad and the prick was done on wet skin.

The blood samples were analysed on four different days to determine whether PEth-molecules formed *in vitro* during refrigeration. The first analysis was conducted on the day of sampling, before refrigeration. The next analysis was performed after the samples had been refrigerated for a day. The third analysis was performed three days after the samples were taken. The last analysis was performed five days after the samples were taken.

The thesis was commissioned by the Special Chemistry Laboratory of the HUS Diagnostic Center. The need for this study arose from the lack of existing research on how wiping the skin with alcohol during phlebotomy affects the results of the B-PEth values.

Based on the results gathered from this thesis, it could be stated that wiping the skin with alcohol during phlebotomy did not affect the B-PEth results and no PEth was formed *in vitro* during refrigerator storage. The results remained stable even in ethanol-contaminated samples. However, further research is recommended due to the PEth values being very low. Future studies should recruit individuals with high B-PEth results.

Keywords: Phosphatidylethanol, PEth, phlebotomy, ethanol contamination, *in vitro*

The originality of this thesis has been checked using Turnitin Originality Check service.

Sisällysluettelo

1	Johdanto	1
2	Veren fosfatidyylietanoli eli B-PEth tutkimus	2
2.1	Mikä on fosfatidyylietanoli eli PEth	2
2.2	B-PEth tutkimuksen käyttökohteet	4
2.3	B-PEth tutkimuksen preanalytiikka	6
2.3.1	B-PEth tutkimuksen näytteenotto	7
2.3.2	B-PEth näytteen säilytys ja käsittely	7
2.4	Nestekromatografia-tandemmassaspektrometria menetelmä	8
2.4.1	Nestekromatografia	8
2.4.2	Tandemmassaspektrometria	9
3	Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoite	10
4	Opinnäytetyön toteuttaminen	11
4.1	Toimeksiantaja	11
4.2	Vapaaehtoisten rekrytointi	12
4.3	Verinäytteiden kerääminen vapaaehtoisilta	12
4.4	Verinäytteiden analysointiprosessi	14
4.5	Aineistonkäsittely	15
5	Tulokset	17
5.1	Etanolikontaminaation vaikutus B-PEth tuloksiin	18
5.2	B-PEth tulosten muutos jääkaappisäilytyksen jälkeen	19
6	Pohdinta	21
6.1	Tulosten tarkastelu	21
6.2	Eettisyys	22
6.3	Luotettavuus	23
6.4	Jatkotutkimukset	25
6.5	Johtopäätökset	25
6.6	Ammatillinen kasvu	26
	Lähteet	27
	Liitteet	
	Liite 1. Tiedote tutkittavalle	
	Liite 2. Tutkittavan suostumuslomake	

Liite 3. Tutkimustulokset

1 Johdanto

Alkoholin suurkulutuksen aiheuttamat terveyshaitat ja sairaudet ovat merkittäviä yhteiskunnallisia ongelmia. Alkoholin suurkulutuksella on vaikutusta muun muassa sairauksien, työkyvyttömyyden ja kuolemien lisääntymiseen maailmanlaajuisesti. Alkoholi-juomien tuomat terveysongelmat vaikuttavat lähes koko elimistön toimintaan alkoholi-juomien sisältämän etanolin takia, mikä voi vaurioittaa lähes kaikkia elimiä. Alkoholin käytöllä on yhteys yli 200 eri sairauteen ja sille on myös ominaisia sairauksia. Esimerkiksi alkoholimaksasairaus on ensisijainen syy kroonisille maksasairauksille. (LaHood & Kok 2023; World Health Organization 2024a.) Suomessa alkoholiperäisiin syihin kuolee vuositason tasolla noin 1700 suomalaista ja maailmanlaajuisesti kuolemia tapahtuu noin 2,6 miljoonaa (Suomen virallinen tilasto 2020; World Health Organization 2024b).

Alkoholin ongelmakäytön diagnosoinnissa hyödynnetään niin kyselylomakkeita kuin laboratoriotutkimuksia potilaan kanssa käydyn keskustelun lisäksi. Laboratoriotutkimukset tukevat alkoholin ongelmakäytön diagnoosia sekä niitä hyödynnetään myös alkoholin liikkakäytön seurannassa ja hoidossa. Alkoholin suurkulutuksen osoitukseen soveltuvia laboratoriotutkimuksia ovat muun muassa maksaentsyymeitä mittaavat laboratoriotutkimukset kuten gammaglutamyyli transferaasi (GT), aspartaattiaminotransferaasi (ASAT) ja alaniiniaminotransferaasi (ALAT) sekä perusverenkuvaan kuuluva punasolujen keskitilavuus (MCV) (Niemi 2015). Tarkimmaksi alkoholinkäytön laboratoriotutkimukseksi on kuitenkin osoittautunut veren fosfatidyylietanoli eli PEth. Fosfatidyylietanolia syntyy ainoastaan etanolin läsnä ollessa, joten se on erittäin spesifinen merkkiaine alkoholin kulutukselle. B-PEth verikoe antaa tarkan kuvan käytetystä alkoholimäärästä viimeisen 2-4 viikon aikana, mikä tekee siitä hyvän biomarkkerin mittaamaan alkoholin pitkäaikaista kulutusta. PEth tutkimusta hyödynnetään alkoholin ongelmallisen käytön diagnosoinnin lisäksi muun muassa erilaisten maksasairauksien hoidon seurannassa ja raittiuden osoittamiseksi ennen maksansiirtoa. (Savolainen & Hotakainen 2021.)

HUS Diagnostiikkakeskuksen tutkimusohjekirjan näytteenotto-ohjeistuksen mukaan B-PEth verikoetta otettaessa ihoa ei saa pyyhkiä alkoholilla etanolikontaminaatiovaaran vuoksi. Fosfatidyylietanolia syntyy ainoastaan etanolin läsnä ollessa, joten näytteenoton yhteydessä tapahtunut etanolikontaminaatio voi johtaa väärin korkeisiin tuloksiin. Kontaminaatio on harvinaista, mutta kuitenkin mahdollista. B-PEth tutkimuksen tuloksista voi koitua hoidon estymistä, juridisia tai taloudellisia seuraamuksia potilaalle. Jos

on epäily etanolikontaminaatiosta, se on kontrolloitava uudella näytteellä. Tämä tarkoittaa uutta näytteenottoa ja analyysiä, mikä kuormittaa terveydenhuoltoa ja potilasta. (Fosfatidyylietanoli, verestä 2025.)

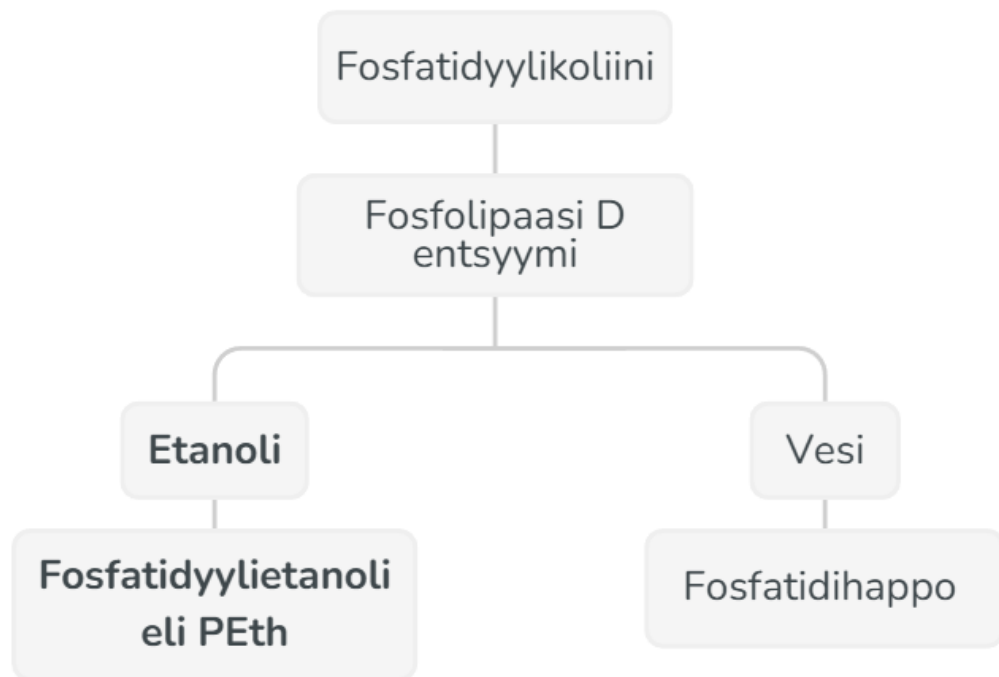
Näytteenoton aikana ihon pinnalla oleva etanoli voi joutua neulan mukana näyteputkeen, jossa se voi muodostaa *in vitro* punasolujen pinnalle fosfatidyylietanolia. Fosfolipaasi D katalysoi fosfatidyylietanolin muodostumista niin kauan kun etanolia on läsnä. Tämän seurauksena jääkaappisäilytetyn näytteen mitattu fosfatidyylietanoli voi olla korkeampi kuin tuorenäytteen mitattu tulos. Kirjallisuudessa ei tällä hetkellä ole tietoa näytteenoton yhteydessä tapahtuneen etanolikontaminaation vaikutuksesta tutkimuksen tuloksiin. Aikaisempaa tutkimusta etanolikontaminaation vaikutuksesta fosfatidyylietanolin muodostumiseen on tutkittu, mutta ne eivät ole sovellettavissa näytteenoton yhteydessä tapahtuneeseen etanolikontaminaatioon (Herzog & Skopp & Musshoff 2022; Reisfield & Teitelbaum & Jones & Lewis 2024).

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, nouseeko näytteiden PEth arvo, kun näytteenotossa tapahtuu etanolikontaminaatio. Näytteitä analysoitiin neljänä eri päivänä ja tutkittiin, muodostuuko fosfatidyylietanolia myös jääkaappiolosuhteissa säilytetuille näytteille *in vitro*. Tavoitteena on saada tietoa etanolikontaminoitujen näytteiden tulosten luotettavuudesta, jota voidaan hyödyntää esimerkiksi B-PEth tutkimuksen näytteenotto-ohjeiden laatimisessa.

2 Veren fosfatidyylietanoli eli B-PEth tutkimus

2.1 Mikä on fosfatidyylietanoli eli PEth

Fosfatidyylietanoli eli PEth on elimistölle epänormaali fosfolipidimolekyylä, joka syntyy ainoastaan etanolin läsnä ollessa. Fosfatidyylietanolia muodostuu transfosfatidyyliireaktiossa, jossa fosfolipaasi D entsyymi muodostaa fosfatidyylikoliinista etanolin vaikutuksesta fosfatidyylietanolia eli PEth:iä. Normaalissa tilanteessa fosfolipaasi D katalysoi fosfatidyylikoliinien hydrolyysia, mutta etanolin läsnäollessa fosfolipaasi D suosii etanolia veden sijasta. PEth:iä ei muodostu normaalisti elimistössä, vaan sen esiintyminen on suora merkki alkoholi-altistuksesta. Tämän vuoksi se on erinomainen biomarkkeri alkoholin käytöstä. (Jones 2024, 576–577; Varga & Alling 2002, 79–80). Kuvassa 1 on esitetty yksinkertaistettu versio transfosfatidyyliireaktiosta.



Kuva 1. Yksinkertaistettu versio transfosfatidyylireaktiosta

Fosfatidyylietanolista on tunnistettu rakenteeltaan samanlaisia versioita eli homologeja yli 40 kappaletta. Homologien numerointi perustuu PEth-molekyylin rasvahappopäiden rakenteeseen. PEth homologit ovat esitetty muodossa "PEth 1:2/3:4". 1:2 osa kertoo ensimmäisen rasvahappopään rakenteesta ja 3:4 kertoo toisen rasvahappopään rakenteesta. 1 ja 3 kertovat hiilien määrästä karboksyyilisivuketjussa, 2 ja 4 kertovat kaksoissidosten määrän (Staub & Spörri 2014). Homologeista PEth 16:01/18:1 on merkittävin ja käytetyin verikokeissa tunnistettava PEth homologi. Muita tunnettuja PEth homologeja on 16:0/18:2, 16:0/20:4, 18:0/18:1, 18:0/18:2, ja 18:1/18:1. (Jones 2024, 577.)

Fosfolipidit ovat punasolun solukalvon normaaleja rakenneosia ja myös PEth kiinnittyy veren punasolujen solukalvolle. PEth:iä voi muodostua punasolujen solukalvon lisäksi myös muihin kudoksiin, erityisesti munuaisista, keuhkoista ja pernasta löytyy eniten PEth-molekyylejä (Aradóttir & Seidl & Wurst & Jönsson & Alling 2004, 1721–1723).

PEth-molekyylin pitoisuus punasolujen solukalvossa kasvaa aina alkoholin käytön seurauksena. Runsas alkoholin käyttö johtaa PEth-molekyylin kertymiseen siinä määrin, että se voidaan havaita mittaamalla muun muassa LC-MS/MS menetelmällä.

PEth:in puoliintumisaika on keskimäärin noin kuusi vuorokautta, mutta runsaan alkoholinkäytön seurauksena puoliintumisaika voi pidentyä (Helander & Böttcher & Dahmen & Beck 2019, 255). Alkoholin ongelmakäyttäjälle PEth:in puoliintumisaika voi olla jopa 14–28 vuorokautta (Hansson & Caron & Johnson & Gustavsson & Alling 1997, 109; Wurst ym. 2010, 93.) ja heillä PEth-molekyylejä kertyy noin kaksi kertaa nopeammin kuin kohtuukäyttäjillä. (Verga & Alling 2002, 82.).

2.2 B-PEth tutkimuksen käyttökohteet

B-PEth tutkimus on tarkin ja luotettavin verikoe osoittamaan pitkäaikaista alkoholinkäyttöä, minkä takia sen käyttö on yleistynyt. B-PEth tutkimuksella on monta käyttökohdetta esimerkiksi terveydenhuollossa ja oikeustieteessä. Varhainen puuttuminen alkoholiongelmaikäyttöön ennaltaehkäisee alkoholien aiheuttamien terveyshaittojen syntymistä, parantaa hoidon ennustetta ja ehkäisee alkoholiin liittyviä onnettomuuksia. Muut alkoholinkäytön suurkulutuksen selvittämiseen käytetyt laboratorioskokeet eivät osoita yhtä luotettavasti pitkäaikaista alkoholinkäyttöä, sillä niiden arvot voivat nousta muistakin syistä kuin alkoholinkäytöstä. (Hotakainen & Niemelä 2023, 414–415.)

Perinteiset alkoholinkäytön suurkulutuksen osoitukseen käytetyt laboratorioskokeet ovat maksaentsyymeitä mittaavat verikokeet (GT, ALAT, ASAT), desialotransferriini (CDT) ja punasolujen keskitilavuus (MCV). Näiden laboratorioskokeiden ongelmana pitkäaikaisen alkoholinkäytön diagnosoimisessa on niiden epäspesifisyys. Esimerkiksi maksaentsyymit GT, ALAT ja ASAT sekä CDT voivat nousta muistakin syistä kuin alkoholinkäytöstä. Esimerkiksi lääkitys, maksasairaudet ja tulehdukset voivat nostaa maksaentsyymi- ja CDT-arvoja (Jokelainen 2016). Epäspesifisyyden vuoksi ne eivät ole yhtä luotettavia verikokeita osoittamaan pitkäaikaista alkoholinkäyttöä kuin B-PEth, joka nousee ainoastaan etanolin läsnä ollessa. Tämä tekee siitä hyvin spesifisen biomarkerin osoittamaan pitkäaikaista alkoholinkäyttöä. (Hotakainen & Niemelä 2023, 415)

Tällä hetkellä muut spesifiset alkoholinkäytön laboratorioskokeet osoittavat vain hetkellisen alkoholinkäytön tai niiden tulokset voivat nousta muistakin syistä kuin alkoholinkäytöstä. Spesifisiä alkoholinkäytön laboratorioskokeita, joita käytetään lyhytaikaisen alkoholinkäytön osoittamiseen ovat esimerkiksi P-EtOH, U-EtG ja U-EtGCT. Näiden laboratorioskokeiden avulla ei voida osoittaa pitkäaikaista alkoholinkäyttöä, minkä vuoksi niitä ei voida soveltaa samalla tavalla kuin B-PEth tutkimusta (Etanoli, plasma 2025; Etyyliglukuronidi, varmistus virtsasta 2023). Toinen B-PEth verikokeen kaltainen spesifinen alkoholinkäytön suurkulutuksen käytetty laboratorioskoe on S-CDT. Alkoholinkäyttö häiritsee transferriinin muodostumista, mikä johtaa vähä sialihappotähteisen

transferrisiin muodostumiseen. Näitä niukkahiilihydraattisten transferrinien osuutta kokonaistransferrinistä mitataan S-CDT tutkimuksessa. S-CDT tulos kasvaa muistakin syistä kuin alkoholin käytöstä, esimerkiksi raskaus, lääkkeet ja maksasairaudet nostavat CDT-arvoja. (Eerola 2021.) Taulukossa 1 on kuvattu yleisimpien pitkäaikaisen alkoholin käytön osoitukseen käytettyjen laboratoriotutkimusten eroa B-PEth tutkimukseen.

Taulukko 1. Pitkäaikaisen alkoholin käytön osoitukseen käytettyjen laboratoriotutkimusten vertailu B-PEth verikokeeseen

Laboratoriotutkimus	Laboratoriokokeen käyttö alkoholin pitkäaikaiskäytön osoituksessa	Ero luotettavuudessa verrattuna B-PEth tutkimukseen
Maksaentsyymejä mitaavat laboratoriotutkimukset (P-ALAT, P-ASAT & P-GT)	Maksaentsyymien arvot nousevat, kun alkoholia käytetään runsaasti ja pitkään. Alkoholi vaurioittaa maksaa, jonka vuoksi entsyymien määrä nousee verenkierrossa.	Maksaentsyymiarvot nousevat muistakin syistä kuin alkoholin käytöstä (lääkitys, sairaudet, tulehdus) → PEth nousee ainoastaan alkoholin käytön seurauksena.
B-MCV	Pitkäaikainen alkoholin käyttö nostaa punasolujen kokoa. Alkoholi häiritsee punasolujen muodostumista, joka johtaa suurentuneisiin punasoluihin. (Harris & Leggio & Farokhina 2021)	Erittäin epäspesifinen ja epätarkka tutkimus osoittamaan alkoholin suurkulutusta → PEth on tarkka ja spesifinen tutkimus.
S-CDT	Alkoholi häiritsee transferrinin muodostumista, joka johtaa vähä siaalihappotähteisen transferrinin muodostumiseen (CDT). Niiden määrä kasvaa kokonaistransferrinistä mitä enemmän alkoholia on käytetty.	CDT arvot nousevat muistakin syistä kuin alkoholin suurkulutuksesta (lääkkeet, maksasairaudet, raskaus) → PEth nousee ainoastaan alkoholin käytön seurauksena.

B-PEth verikokeen avulla pystytään erottamaan satunnainen ja krooninen alkoholin käyttö. Se ei nouse merkittävästi satunnaisen, sosiaalisesti kohtuudella alkoholia käyttävällä henkilöllä, kun taas runsaasti alkoholia käyttävällä PEth-arvo nousee huomattavasti korkeammaksi. B-PEth verikokeen tulokset kohtuukäyttäjällä ovat <0,05-0,30 $\mu\text{mol/l}$, kun taas runsaasti alkoholia käyttävän PEth-arvo nousee yli 0,30 $\mu\text{mol/l}$ tason (Fosfatidyylietanoli, verestä 2025). PEth verikokeen tuloksen perusteella voidaan jo varhaisessa vaiheessa huomata ongelmallinen alkoholikäyttö ja tarvittaessa puuttua asiaan. Viitearvot antavat suuntaa alkoholinkäytön luonteesta eli onko kyse kohtuukäytöstä vai alkoholin suurkulutuksesta.

B-PEth verikoetta käytetään muun muassa alkoholista pidättäytymisen osoittamiseen elinsiirtopotilaiden, varsinkin maksansiirtopotilaiden, hoidon yhteydessä. Veren PEth-arvo pysyy alle 0,05 $\mu\text{mol/l}$, kun alkoholia ei olla käytetty ollenkaan tai hyvin vähän. Ennen kuin potilas voidaan listata elinsiirtojonoon, on alkoholista pidättäytyminen osoitettava vähintään kuuden kuukauden ajalta. Alkoholista pidättäytyminen on myös tärkeää elinsiirron jälkeen elinsiirron pitkäikäisyyden varmistamiseksi. (Luginbühl & Van Uyt-fanghe & Stöth & Wurst & Stove 2022; Savolainen & Hotakainen 2021.)

On myös pohdittu B-PEth tutkimuksen käyttöä arvioimaan raskaana olevien alkoholi-käytön riskiä raskauden aikana. Alkoholinkäyttö voi johtaa häiriöön sikiön kehityksessä ja keskushermoston muodostumisessa, minkä vuoksi on tärkeää pidättäytyä alkoholin käytöstä koko raskauden aikana (Tiitinen 2024). Nykyisin raskaana olevilta seulotaan alkoholin käyttöä muun muassa Alcohol Use Disorders Identification Test eli AUDIT-kyselyllä, jonka tulokset perustuvat vastaajan oman alkoholin käytön arviointiin. Tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet, että vastausten tulokset eivät ole verrannollisia sikiönaikaisen alkoholi-altistusten määrään (Lange & Shield & Koren & Rehm & Popova 2014). Tämän vuoksi B-PEth tutkimusta on pohdittu käytettäväksi alkoholin käytön seulomiseen raskauden aikana. Jo raskauden alkuvaiheessa pystytään selvittämään raskaana olevan alkoholinkäytön luonne eli onko se kohtuullista käyttöä vai ongelmallista. Verikoetta voidaan myös hyödyntää raskauden aikana mittaamalla kuluneiden viikkojen alkoholikäyttö. Tosin B-PEth tutkimuksen hyödyntäminen tällaisessa tarkoituksessa on ongelmallista, sillä sen avulla ei voida osoittaa vähäistä tai satunnaista alkoholin käyttöä, ellei PEth:in tunnistamisrajaa lasketa. Tällä hetkellä tunnistamisrajan alaraja on 0,05 $\mu\text{mol/l}$, joka ei osoita täyttä alkoholista pidättäytymistä. (Häkkinen & Arponen & Jylhä & Sulin & Gunnar 2024).

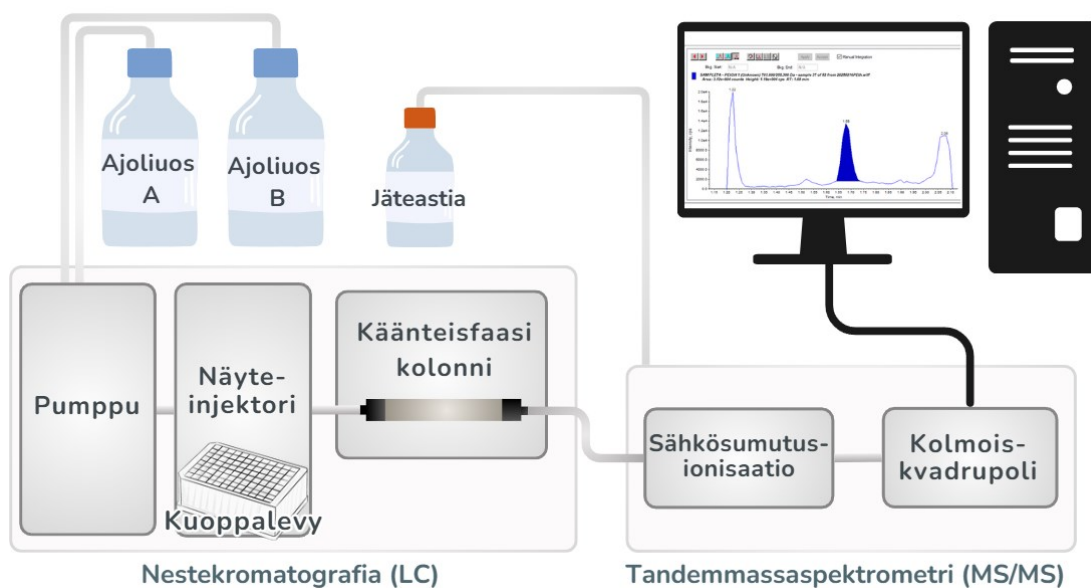
2.3 B-PEth tutkimuksen preanalytiikka

Preanalytikalla tarkoitetaan kaikkia niitä laboratoriotutkimuksen vaiheita, jotka tapahtuvat ennen näytteen analysointia. Preanalyttisiä vaiheita ovat muun muassa näytteenotto, esikäsitely, kuljetus ja säilytys. Kaikilla preanalyttisillä vaiheilla on vaikutusta tulosten luotettavuuteen, joten oikein otettu ja käsitelty näyte antaa luotettavan kuvan potilaan sen hetkisestä terveydentilasta. Jokaisella laboratoriotutkimuksella on omat preanalyttiset vaatimukset, jotka on määritetty riippuen siitä, mitä halutaan analysoida. (Ellervik & Vaught 2015; Green 2008.)

kuukautta (Aradóttir ym. 2004). Ongelmana on se, että näytteen sulattaminen johtaa hemolyyysiin, joka vapauttaa PEth-molekyylit punasolujen solukalvolta. Vapaana olevat PEth-molekyylit hajoavat nopeammin kuin solukalvolla olevat. Tämän vuoksi näytteen pakastamista ei suositella ennen sen lähettämistä laboratorioon. (Faller ym. 2013, 608–609.)

2.4 Nestekromatografia-tandemmassaspektrometria menetelmä

B-PEth tutkimuksen menetelmä on pääsääntöisesti aina nestekromatografia-tandemmassaspektrometria eli LC-MS/MS. Se on erittäin tarkka ja herkkä analyysimenetelmä, jonka avulla pystytään suorittamaan tarkkoja kvantitatiivisia analyysejä. Siinä hyödynnetään nestekromatografian erotuskykyä ja tandemmassaspektrometrian tunnistuskykyä. Analyytinä PEth on hankala, jonka vuoksi LC-MS/MS menetelmää suositetaan sen analyysissä. Kuvassa 2 on esitelty opinnäytetyössä käytetyn LC-MS/MS menetelmän pääkomponentit.



Kuva 2. Opinnäytetyössä käytetyn LC-MS/MS menetelmän pääosat

2.4.1 Nestekromatografia

Nestekromatografian (liquid chromatography, LC) avulla näytteessä olevat yhdisteet erotellaan toisistaan hyödyntämällä niiden vuorovaikutusta liikkuvan nestefaasin ja kiinteän stationaarifaasin välillä. Liikkuvalla nestefaasilla tarkoitetaan ajoliuosta, joka virtaa

tietyllä paineella ja tietyllä virtausnopeudella kolonnin läpi kuljettaen mukanaan injektoidua näytemateriaalia. Stationaarifaasilla tarkoitetaan tietynlaisia partikkeleita, jotka ovat pakkautuneena kolonnin seinille. Näyte on jatkuvasti vuorovaikutuksessa faasien kanssa, kun se kulkee kolonnin läpi. (Kostiainen 2010a., 171)

Nestekromatografiassa on olemassa erilaisia erotusmekanismeja. Erotusmekanismit perustuvat siihen, millä tavalla yhdisteet halutaan erottaa toisistaan hyödyntäen niiden tapaa reagoida liikkuvan ja stationaarifaasin kanssa. Erotusmekanismeja ovat muun muassa normaalifaasi- (NP), käänteisfaasi- (RP), ionivaihto- (IEC) ja eksklusiokromatografia (SEC). Käänteisfaasinestekromatografia on näistä käytetyin muoto ja sitä on myös käytetty tässä opinnäytetyössä. (Kostiainen 2010a, 173; Riekkola & Hyötyläinen 2002, 137–138, 145.)

Käänteisfaasikromatografiassa yhdisteet erotellaan toisistaan niiden polaarisuuden perusteella. Käänteisfaasikromatografian erottelu perustuu siihen, että näytemateriaalissa olevat yhdisteet poistuvat kolonnista poolisuusjärjestyksessä. Mitä polaarimpi yhdiste on, sitä nopeammin se kulkeutuu kolonnista pois. Tämä johtuu siitä, että nestefaasin vetovoima on korkeampi kuin stationaarifaasin vetovoima. Riippuen siitä, missä ajassa yhdiste on poistunut kolonnista, voidaan ne erottaa toisistaan. (Alagrund ym. 2023, 96–98; Kostiainen 2010a, 174; Riekkola & Hyötyläinen 2002, 167–170.)

2.4.2 Tandemmassaspektrometria

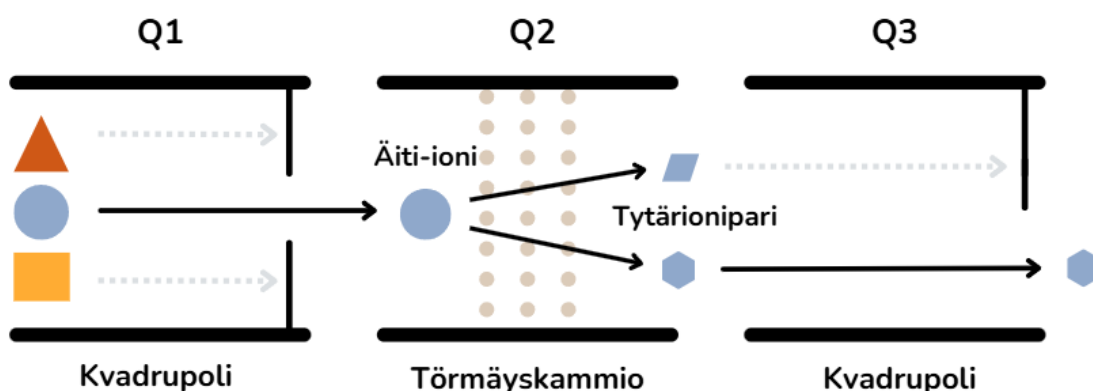
Massaspektrometria (mass spectrometry, MS) on mittaustekniikka, jossa ionisoituneet yhdisteet erotellaan ja detektoidaan niiden massa/varaus -suhteen eli m/z -suhteen perusteella. Mittausta varten yhdisteet on ionisoitava ennen massa-analysaattoriin menemistä. Ionilähteessä molekyyli joko vastaanottaa tai luovuttaa elektronin, minkä seurauksena syntyy molekyyli-ioni. Massaspektrometriin, johon on yhdistetty nestekromatografi, tarvitsee näytteiden ionisoinnissa erikoiskäsittelyä nestefaasin vuoksi. Sähkösumutusionisaatiossa neste sumutetaan korkean jännitteen avulla pieniksi pisaroiksi, jotta nestefaasi saadaan haihdutettua pois yhdisteen ympäriltä. Lopputuloksena syntyy kaasufaasi-ioni, joka kuljetetaan massaspektrometriin. (Kostiainen 2010b, 71; Oksman & Kauppila & Kotiaho & Ketola 2010, 15–23; Riekkola & Hyötyläinen 2002, 38, 160–161.)

Massaspektrometri voidaan varustaa komponenteilla, jotka suodattavat tai analysoivat siihen tulevia ioneja. Esimerkkejä tällaisista massa-analysaattoreista ovat sektori-,

kvadrupoli-, orbitrap- ja lentoaikamassatekniikat. Tässä opinnäytetyössä käytettiin kvadrupolilla varustettua massaspektrometria. (Haapala 2010, 27.)

Tandemmassaspektrometria (tandem mass spectrometry, MS/MS) on erittäin spesifinen mittaussuunnitelma, sillä siinä on yhdistetty vähintään kaksi massa-analysointia. Tässä opinnäytetyössä käytettiin kolmoiskvadrupolilla varustettua tandemmassaspektrometria. (Haapala 2010, 32–33; Jänis & Vainiotalo 2010, 116.)

Kvadrupoli koostuu neljästä elektrodista, jotka kulkevat yhdensuuntaisesti. Elektrodien väliin muodostuu sähkökenttä, joka toimii suodattimena. Se päästää läpi vain tietyn m/z -suhteen omaavia ioneita. Kolmoiskvadrupoli koostuu kahdesta kvadrupolista (Q1 ja Q3) ja törmäyskammioista (Q2). Ionit kuljetetaan ensimmäisen kvadrupolin läpi, jossa erotellaan tutkittava äiti-ioni muista ioneista. Törmäyskammiossa (Q2) on törmäyskaasua, joka hajottaa äiti-ionin tytäri-ionipareiksi. Tytäri-ionit detektoidaan kolmannessa kvadrupolissa (Q3). (Haapala 2010, 32–33.) Kuvassa 3. on esitetty kolmoiskvadrupolimene- telmä, jossa äiti-ioni hajotetaan tytäri-ioneiksi.



Kuva 3. Yksinkertaistettu kuva kolmoiskvadrupoli menetelmästä.

3 Opinnäytetyön tarkoitus ja tavoite

Opinnäytteen tarkoituksena oli saada selville näytteenoton yhteydessä ihon puhdistukseen käytetyn alkoholin vaikutus B-PEth tutkimuksen tuloksiin. PEth-molekyyliä muodostuu ainoastaan etanolin läsnä ollessa, joten näytteenoton yhteydessä tapahtunut etanolikontaminaatio voi johtaa ylimääräisen fosfatidyylietanolin muodostumisen *in vitro*. B-PEth tutkimuksen tuloksista voi koitua hoidon estymistä, juridisia tai taloudelli-

sia seuraamuksia potilaalle. Siksi jokainen etanolikontaminoitunut näyte on kontrolloitava uudella näytteellä. Tämä tarkoittaa uutta näytteenottoa, mikä lisää terveydenhuollon kuormitusta ja potilaan hoidon viivästymistä.

Opinnäytetyön tavoitteena oli saada tietoa etanolikontaminoitujen näytteiden luotettavuudesta, jotta toimintatapoja voidaan muuttaa paremmiksi.

Tutkimuskysymykset:

1. Vaikuttaako näytteenotossa käytetty etanoli B-PEth tutkimuksen tuloksiin?

Tavoitteena oli saada tietoa siitä, muuttuvatko B-PEth tulokset, kun näytteenoton yhteydessä on käytetty etanolia ihonpuhdistukseen. Opinnäytetyössä käytetään kolmea eri tapaa ihonpuhdistukseen. Näistä yksi on kontrolli ja kahdesta muusta selvitetään etanolikontaminaation vaikutus. Nykyisen HUS Diagnostiikkakeskuksen tutkimusohjekirjan näytteenotto-ohjeiden mukaan etanolia ei saa käyttää ihonpuhdistukseen etanolikontaminaation vuoksi, mutta tieteellistä näyttöä siitä ei ole.

*2. Muodostuuko etanolikontaminoidussa näytteessä fosfatidyylietanolia *in vitro* jääkaappisäilytyksessä ja kuinka paljon?*

Tarkoituksena oli selvittää, muodostuuko jääkaappisäilytyksen aikana fosfatidyylietanolia *in vitro* etanolikontaminoituihin näytteisiin. Näytteitä säilytetään jääkaappilämpötilassa 5 päivää ja niitä analysoidaan sen aikana kolmena päivänä (päivä 1, 3 ja 5). Tämän avulla saadaan arvio siitä, kuinka nopeasti mahdollinen fosfatidyylietanoli on muodostunut *in vitro*.

4 Opinnäytetyön toteuttaminen

4.1 Toimeksiantaja

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi HUS Diagnostiikkakeskuksen (HUS DGK) Erikoiskemian laboratorio. Opinnäytetyön vastuukemistinä toimi Niina Niskanen, joka on vastuussa B-PEth tutkimuksesta HUS DGK:ssa. Tutkimuksen tarpeeseen vaikutti se, että tällä hetkellä ei ole riittävästi tutkimustietoa näytteenotossa ihon puhdistukseen käytetyn etanolin vaikutuksesta B-PEth tuloksiin.

Opinnäytetyö toteutettiin Erikoiskemian laboratoriossa. Vapaaehtoisten verinäytteet kerättiin Tullinpuomin näytteenottotiloissa. Verinäytteiden esikäsittelyyn käytettiin erikoiskemian Tecan EVO 150 pipetointirobottia ja analyysiin LC-MS/MS -laitetta.

4.2 Vapaaehtoisten rekrytointi

Opinnäytetyöhön rekrytoitiin 18 vapaaehtoista. Heidät rekrytoitiin pääsääntöisesti Erikoiskemian laboratorion henkilökunnasta. Rekrytointi oli kohdistettu koko Erikoiskemian henkilökunnalle eli kaikki siellä työskentelevät henkilöt pystyivät halutessaan osallistumaan tutkimukseen. Henkilökunnan rekrytointi tapahtui sähköisesti sähköpostiviestin välityksellä sekä suullisesti. Kaikille vapaaehtoisille lähetettiin tutkittavan tiedote (kts. liite 1.), jossa kerrottiin opinnäytetyön tarkoitus ja tavoite.

Vapaaehtoisten rekrytoinnissa ei ollut valinta- tai poissulkukriteereitä. Vapaaehtoisten ei tarvinnut muuttaa alkoholinkäyttöään ennen tutkimukseen osallistumista. Vapaaehtoisilta ei kerätty henkilötietoja, kuten esimerkiksi nimeä, ikää tai sukupuolta. Vapaaehtoisilta kerätyt näytteet anonymisoitiin heti näytteenotossa, joten tuloksia ei voida yhdistää kehenkään tiettyyn henkilöön.

Ennen näytteiden keräämistä vapaaehtoiset allekirjoittivat kirjallisen suostumuksen tutkimukseen osallistumisesta (kts. liite 2.). Allekirjoittamalla suostumuksen tutkittava vahvisti, että hän on saanut riittävästi tietoa tutkimuksesta ja hän on ymmärtänyt tutkimuksen olevan vapaaehtoista.

4.3 Verinäytteiden kerääminen vapaaehtoisilta

Verinäytteiden kerääminen tapahtui Tullinpuomin laboratorion tiloissa. Näytteenottotilannetta valvoi yksi henkilö ja toinen henkilö suoritti näytteenoton. Valvonnalla varmistettiin, että näytteenotto suoritettiin jokaisen vapaaehtoisen kohdalla samalla tavalla. Tämä takasi tulosten vertailukelpoisuuden.

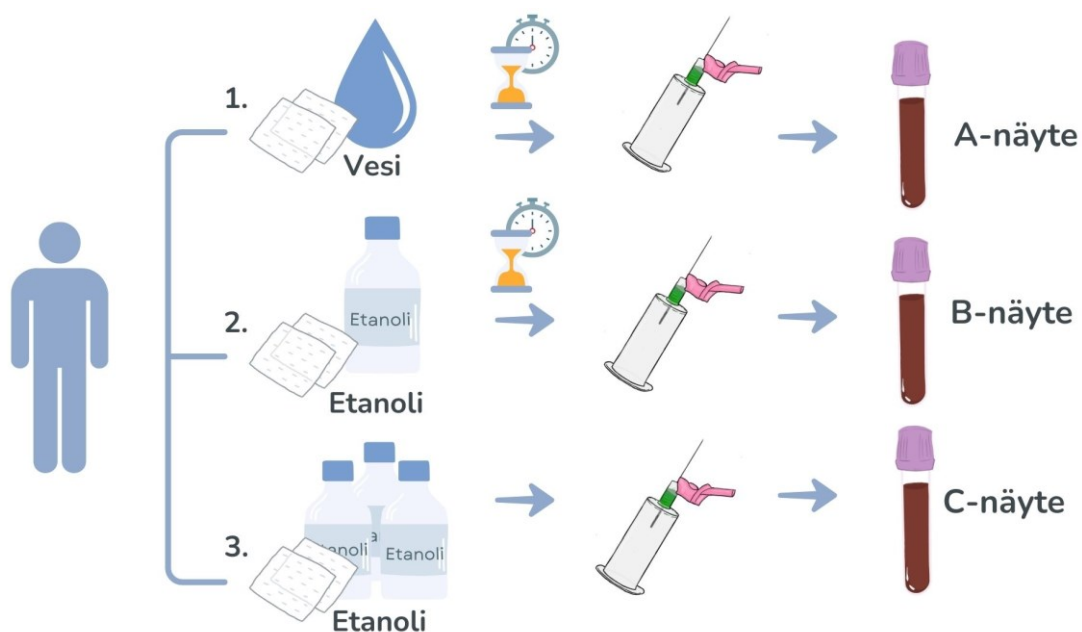
Putkille annettiin anonymisoitu tunnusluku, jonka avulla tiedettiin, mitkä putket ovat peräisin samalta vapaaehtoiselta ja mikä näytteenottotapahtuma on kyseessä. Esimerkiksi yhden vapaaehtoisen näytetunnukset olivat 1A, 1B ja 1C, kun toisen olivat 2A, 2B ja 2C ja niin edelleen. Näyteputkien numerointi ei noudattanut vapaaehtoisten saapumisjärjestystä näytteenottotilanteeseen, vaan numerointi oli arvottu 1 ja 18 väliltä.

Tämä varmisti tulosten anonymiteetin.

Yhdeltä vapaaehtoiselta kerättiin kolme B-PEth näytettä kolmella eri pistokerralla. Ensimmäisellä pistokerralla iho puhdistettiin pelkällä vedellä pistokohdasta (A näyte). Toisella pistokerralla iho pyyhkäistiin vain kerran etanolilla kostetulla ihonpuhdistuslapulla, jonka jälkeen ihon annettiin kuivua ennen piston suorittamista (B näyte). Kolmannella pistokerralla iho pyyhittiin reilusti etanolilla kastetulla ihonpuhdistuslapulla ja pistos suoritettiin märkään ihoon (C näyte). Taulukossa 2 on esitetty näytteenottotapahtumaan liittyvät nimeämiset ja kuvassa 4 on havainnollistettu visuaalisesti miten näytteenottotapahtuma suoritetaan.

Taulukko 2. Näytetyyppien nimeäminen ja näytteenottotapahtuman kuvaus

Näytetyyppi	Näytteenottotapahtuma
A-näyte	Näytteenottokohta puhdistetaan pelkällä vedellä ja pisto suoritetaan kuivalle iholle. Näytteenotossa ei käytetä lainkaan etanolia. A-näyte otetaan ensimmäisenä.
B-näyte	Näytteenottokohta pyyhitään kohtuullisella etanolimäärällä ja pistokohdan annetaan kuivua ennen piston suorittamista. B-näyte otetaan toiseksi.
C-näyte	Näytteenottokohta pyyhitään runsaalla etanolimäärällä ja pisto suoritetaan, kun iho on vielä märkä. C-näyte otetaan viimeisenä.



Kuva 4. Havainnollistava kuva näytteenottotapahtumista ja näytetyyppien nimeämisestä

4.4 Verinäytteiden analysointiprosessi

Verinäytteet analysoitiin neljänä eri päivänä. Ensimmäinen analyysipäivä oli näytteenottopäivänä eli päivä 0. Toinen analyysipäivä oli sitä seuraavana päivänä eli päivä 1. Kolmas analyysi tapahtui, kun näytteenotosta oli kulunut kolme päivää eli päivä 3. Viimeinen analyysi tapahtui, kun näytteenotosta oli kulunut viisi päivää eli päivä 5. Viimeiseksi analyysipäiväksi tuli päivä 5, koska HUSin tutkimusohjekirjassa sanotaan B-PEth näytteen säilyvän jääkaappilämpötilassa 5 vuorokautta.

Näytteenottopäivänä näytteet olivat huoneenlämmössä noin 1-7 tuntia riippuen siitä, missä järjestyksessä näyte oli otettu. Muina päivinä (päivä 1, 3 ja 5) näytteitä säilytettiin jääkaappilämpötilassa (+4°C). Analyysipäivänä primääriputkesta pipetointiin noin 500 µl näytettä sekundaariputkeen ja primääriputki laitettiin takaisin jääkaappiin. Sekundaariputket vietiin pakastimeen (-80°C) tunnin ajaksi, jotta punasolut hemolysoituvat. Hemolysoinnin avulla punasolujen solukalvolle tarttuneet PEth-molekyylit vapautuivat näyteputkeen.

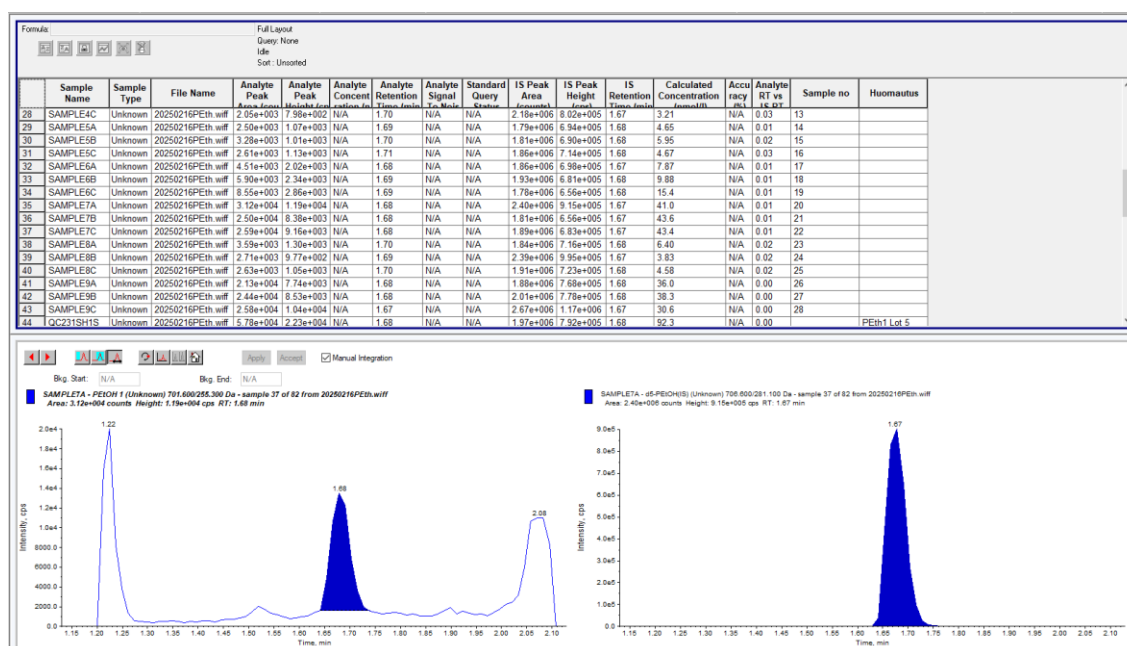
Pakastuksen jälkeen näytteet käsiteltiin Tecan EVO 150 automaattisen pipetointirobotin avulla. Laite pipetoi ja esikäsitteli näytteet, kontrollit ja vakiot. Esikäsittely tehtiin kuoppalevyille, joka analysoitiin LC/MS-MS analysaattorilla (kts. kuva 2.).

Jokaisessa analyysissä oli mukana kolme kontrollia: korkea-, matala- ja keskitaso. Korkeatason kontrollin tavoitearvo oli noin 1600 nmol/l, matalantason kontrollin tavoitearvo oli noin 100 nmol/l ja keskitason kontrollin tavoitearvo oli noin 300 nmol/l. Jokaiseen näytteeseen, vakioon ja kontrolliin tuli mukaan myös sisäinen vakio. Sisäisellä vakiolla kontrolloidaan esikäsittelyssä ja analysoinnissa tapahtuvaa näytehävikkiä.

LC-MS/MS laitteella analysoidut näytteet (kts. kappale 2.4) näkyvät tietokoneella kromatogrammeina, jossa tutkittu yhdiste esiintyy piikkinä sille ominaisena aikana. Kromatogrammissa X-akselilla on aika ja Y-akselilla on saadun signaalin intensiteetti. Ennen kuin näytteen lopullinen PEth pitoisuus voidaan määrittää, on kromatogrammin piikit integroitava. Integrointi on laskennallinen prosessi, jossa määritellään piikin pinta-ala. Integroinnissa laskemiseen käytetään pitoisuudeltaan tunnettujen vakioiden muodostamaa vakiokuvaajaa, jonka avulla määritetään tuntemattomien piikkien pitoisuus. Piikin pinta-ala on suoraan verrannollinen PEth:in määrään näytteessä. Tämän vuoksi jokaisen näytteen integrointi tehtiin samalla suurennuksella ja samalla tarkkuudella, jotta pystyttiin varmistamaan tulosten tarkkuus.

Opinnäytetyön tulosten integrointia vaikeutti saatujen signaalien heikkous, mikä näkyi hyvin pienissä piikeissä. Joidenkin näytteiden kohdalla piikit jäivät niin sanotun taustakohinan alle, mikä aiheutti vaihtelua mitatuissa PEth-pitoisuuksissa.

Kuvassa 5 on esitetty korkea piikki, joka erottuu selkeästi taustakohinasta. 1.67 minuttin kohdalla esiintyy PEth 16:0/18:1 yhdisteelle ominainen piikki. Vasemmanpuoleinen piikki kuvaa näytteen PEth määrää ja oikeanpuoleinen piikki on sen sisäinen vakio.



Kuva 5. Esimerkkikuva näytteiden integrointinäköymästä tietokoneella

4.5 Aineiston käsittely

Aineiston käsittelyssä käytettiin Microsoft Excel - ja IBM SPSS Statistic -ohjelmia. Raakadatan käsittelyssä ja kuvioiden tekemisessä käytettiin Excel -taulukointiohjelmaa. Tulosten analyysiin hyödynnettiin SPSS-ohjelman tilastollisia laskukaavoja. Opinnäytetyön aineiston käsittelyssä käytettiin niin parametrisiä kuin ei-parametrisiä testejä, sillä kaikki tulokset eivät olleet normaalisti jakautuneita.

Tulosten normaalijakautuma löytyy liitteestä 3, taulukko 11. Päivän 0, 1 ja 3 tulokset olivat normaalisti jakautuneita (p-arvot olivat yli 0,05), mutta päivän 5 tulokset eivät (p-arvot olivat alle 0,05). Tämän vuoksi tulosten käsittelyssä käytettiin kahden riippuvan otoksen t-testin lisäksi Wilcoxonin järjestystestiä päivän 5 tuloksien varmistamisessa.

Opinnäytetyössä tutkittiin, onko näytteenotossa ihon puhdistukseen käytetyllä etanolilla vaikutusta B-PEth tutkimuksen tuloksiin sekä muodostuuko PEth:iä *in vitro* jääkaappisäilytyksen aikana. Aineistosta mitattiin etanolikontaminoitujen näytteiden tulosten muutosta verrattuna 0 näytteeseen (0 päivän A-näyte) sekä mitattiin kuinka paljon fosfatidyylietanolia oli muodostunut etanolikontaminoituihin näytteisiin verrattuna 0 päivän tuloksiin. Nollanäyte toimii tutkimuksen nolla kontrollina ja siihen verrattiin kaikkia tuloksia. Nollanäytteen näytteenotossa ei käytetty etanolia lainkaan, mikä vuoksi siihen verrattiin etanolikontaminoituneiden näytteiden tuloksia. Taulukossa 3 on kuvattu, mitä eri näytetyypeistä mitataan ja mihin tuloksia on verrattu.

Taulukko 3. Mitattavat muuttujat ja niihin käytetyt näytetyypit

Mittauksen kohde	Mitattava muuttuja
Päivä 0 A-näyte ja päivä 0 B-näyte	Kuinka paljon PEth:iä on muodostunut B-näytteeseen, kun tulosta verrataan A näytteeseen.
Päivä 0 A-näyte ja päivä 0 C-näyte	Kuinka paljon PEth:iä on muodostunut C-näytteeseen, kun tulosta verrataan A näytteeseen.
Päivä 0 A-näyte ja päivä 1 A-näyte	Onko PEth:in määrä muuttunut kontrollinäytteessä.
Päivä 0 A-näyte ja päivä 1 B-näyte	Kuinka paljon PEth:iä on muodostunut B-näytteeseen, kun tulosta verrataan 0 päivän A-näytteeseen.
Päivä 0 A-näyte ja päivä 1 C-näyte	Kuinka paljon PEth:iä on muodostunut C-näytteeseen, kun tulosta verrataan 0 päivän A-näytteeseen.
Päivä 0 A-näyte ja päivä 3 A-näyte	Onko PEth:in määrä muuttunut kontrollinäytteessä.
Päivä 0 A-näyte ja päivä 3 B-näyte	Kuinka paljon PEth:iä on muodostunut B-näytteeseen, kun tulosta verrataan 0 päivän A-näytteeseen.
Päivä 0 A näyte ja päivä 3 C-näyte	Kuinka paljon PEth:iä on muodostunut C-näytteeseen, kun tulosta verrataan 0 päivän A-näytteeseen.
Päivä 0 A-näyte ja päivä 5 A-näyte	Onko PEth:in määrä muuttunut kontrollinäytteessä.
Päivä 0 A-näyte ja päivä 5 B-näyte	Kuinka paljon PEth:iä on muodostunut B-näytteeseen, kun tulosta verrataan 0 päivän A näytteeseen.
Päivä 0 A-näyte ja päivä 5 C-näyte	Kuinka paljon PEth:iä on muodostunut C-näytteeseen, kun tulosta verrataan 0 päivän A näytteeseen.

5 Tulokset

Opinnäytetyössä tutkittiin kolme erilaista B-PEth näytetyyppeä (A-, B- ja C-näyte) ja jokaista näytetyyppeä kerättiin 18 kappaletta. Yhteensä näytteitä oli 54 kappaletta. Jokainen näyte analysoitiin neljänä eri päivänä ja mitattuja tuloksia saatiin 216 kappaletta. Tulokset on esitetty liitteessä 3. Tuloksista mitattiin etanolikontaminaation vaikutus ja muodostuiko etanolikontaminoituneisiin näytteisiin fosfatidyylietanolia jääkaappisäilytyksen aikana.

Taulukossa 4 on esitetty 0 päivän A-näytteiden eli nollanäytteiden B-PEth tuloksien jakauma. Nollanäytteistä kolmasosa (33 %) tuloksista oli 5.0-9.9 nmol/l välillä ja yli puolet tuloksista (56 %) oli alle 19.9 nmol/l.

Taulukko 4. B-PEth tulosten jakauma 0 päivän A-näytteiden tuloksissa

0 päivän A-näytteiden PEth tulokset (nmol/l)	N	%	Kumulatiivinen %
0 - 4.9	1	6 %	6 %
5.0 - 9.9	6	33 %	39 %
10.0 - 19.9	3	17 %	56 %
20.0 - 29.9	3	17 %	72 %
30.0 - 39.9	3	17 %	89 %
40.0 - 49.0	1	6 %	94 %
≥ 50.0	1	6 %	100 %

Taulukossa 5 on osoitettu nollanäytteiden tuloksien keskiarvo, keskihajonta, minimi ja maksimi. Nollanäytteiden tulokset olivat keskiarvoltaan 22.72 nmol/l. Pienin laskettu B-PEth arvo oli 4,61 nmol ja korkein arvo oli 96,70 nmol/l.

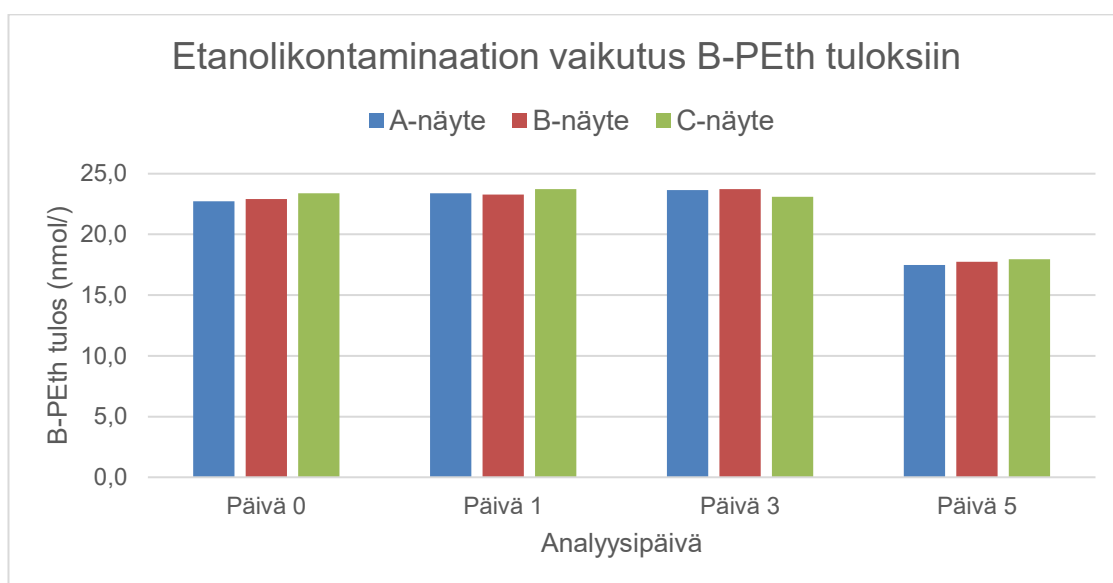
Taulukko 5. 0 päivän A näytteiden B-PEth tulokset

	N	Keskiarvo	Keskihajonta	Minimi	Maksimi
0 päivän A näytteiden PEth tulokset (nmol/l)	18	22,72	22,40832	4,61	96,70

5.1 Etanolikontaminaation vaikutus B-PEth tuloksiin

Opinnäytetyön ensimmäisenä tutkimuskysymyksenä oli selvittää, vaikuttaako näytteenotossa käytetty etanoli B-PEth tutkimuksen tuloksiin.

Saaduista tuloksista tarkasteltiin, muuttuiko B-PEth tulos eri näytetyyppien välillä. Kuviossa 1 nähdään tuloksien keskiarvot eri näytetyyppien ja analyysipäivien välillä. Kuviossa nähdään, että etanolikontaminaatiosta huolimatta näytteiden keskiarvot pysyivät saman tasoisina, mutta eri analyysipäivien välillä oli pitoisuusmuutoksia. Päivän 5 näytteissä tapahtui B-PEth pitoisuuden laskua näytetyypistä riippumatta.



Kuvio 1. B-PEth näytetyyppien keskiarvot neljänä analyysipäivänä

Etanolikontaminoituneista näytteistä (B- ja C-näyte) laskettiin tuloksien ero verrattuna nollanäytteeseen (kts. liite 3 taulukko 12). Tulosten eron tilastollinen merkitsevyys selvitettiin t-testin avulla. Etanolikontaminaation määrässä ei ollut tilastollisesti merkitsevää muutosta B-PEth tuloksiin, kun tuloksia verrattiin etanolikontaminoitumattomaan näytteeseen (A-näyte). Taulukossa 6 on esitetty t-testin tulokset. Näytetyyppi on kuvattu siten, että kirjain osoittaa näytetyyppiä ja numero osoittaa analyysipäivää. P-arvo kertoo, kuinka todennäköisesti tulosten ero johtuu otantavirheestä. Etanolikontaminaatio ei aiheuttanut tilastollisesti merkitsevää muutosta B-PEth tuloksiin, koska p-arvot (0,705 ja 0,271) olivat yli 0,05.

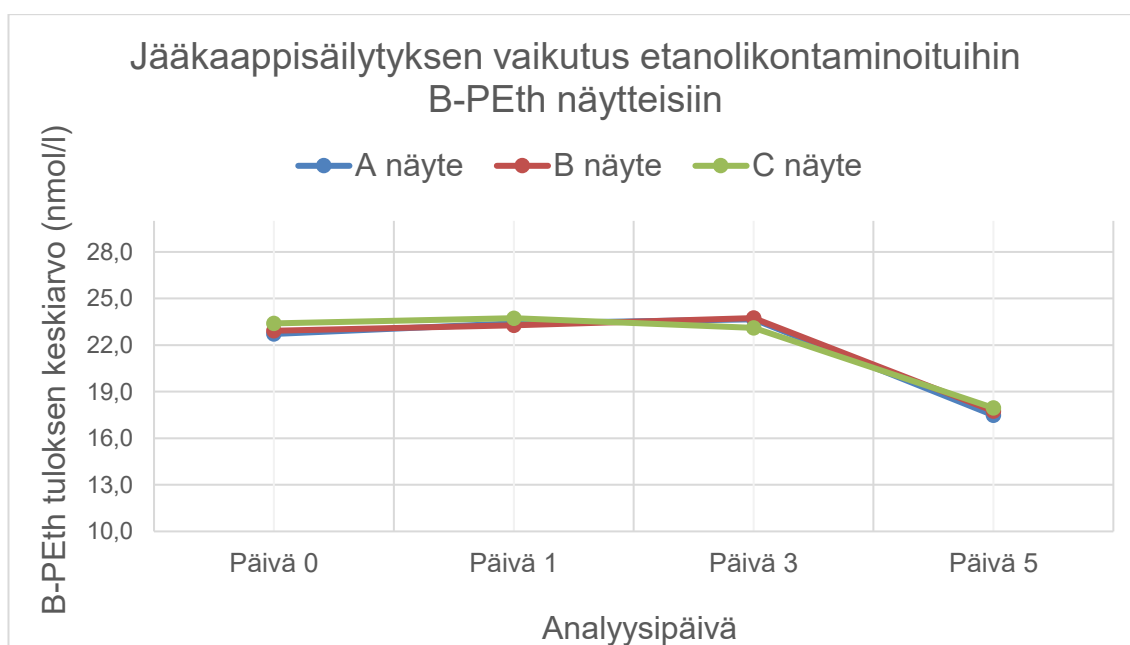
Taulukko 6. 0 päivän tulosten t-testin tulokset.

Näytepari	Keskiarvo	Keskihajonta	Keskivirhe	t	df	p-arvo
B0 - A0	0,2039	2,2450	0,5292	0,385	17	0,705
C0 - A0	0,6733	2,5133	0,5924	1,137	17	0,271

5.2 B-PEth tulosten muutos jääkaappisäilytyksen jälkeen

Opinnäytetyön toisena tutkimuskysymyksenä oli saada tieto, muodostuuko etanolikontaminoidussa näytteessä fosfatidyylietanolia *in vitro* jääkaappisäilytyksessä ja kuinka paljon.

Tuloksista tarkasteltiin, muuttuiko B- ja C-näytteiden B-PEth tulokset jääkaappisäilytyksen jälkeen mittaamalla niitä neljänä eri päivänä (päivä 0, 1, 3 ja 5). 0 päivän näytteitä ei säilytetty jääkaapissa lainkaan ennen analyysiä, joten ne toimivat vertailukohteenä. Kuviossa 2 on esitetty mitattujen näytetyyppien tuloksien keskiarvot eri analyysipäivinä. Kuvioista nähdään, että näytetyypistä riippumatta tulokset pysyvät saman tasoisina päivään 3 saakka. Päivänä 5 nähdään huomattavaa B-PEth tuloksien laskua jokaisessa näytetyypissä etanolikontaminaatiosta riippumatta.



Kuvio 2. Jääkaappisäilytetyjen B-PEth tuloksien keskiarvot eri analyysipäivinä

Jääkaappisäilytyksien tuloksien erosta laskettiin tilastollinen merkitsevyys t-testin avulla. Testissä verrattiin etanolikontaminoitujen jääkaappisäilytettyjen näytteiden tuloksia nollanäytteeseen, jota ei säilytetty jääkaapissa. Taulukossa 7 on esitetty t-testin tulokset. Päivän 1 ja 3 etanolikontaminoituneissa näytteissä ei ollut tilastollisesti merkitsevää muutosta (p -arvot $\geq 0,055$) nollanäytteeseen verrattuna. Päivän 5 tuloksissa kuitenkin havaittiin tilastollisesti merkittävä muutosta (p -arvot $< 0,01$) näytetyypistä riippumatta.

Taulukko 7. Jääkaappisäilytettyjen näytteiden t-testin tulokset.

Näytepari	Keskiarvo	Keskihajonta	Keskivirhe	t	df	p-arvo
A1 - A0	0,6783	2,4562	0,5789	1,172	17	0,257
B1 - A0	0,5617	2,3506	0,5540	1,014	17	0,325
C1 - A0	1,0156	2,4320	0,5732	1,772	17	0,094
A3 - A0	0,9433	2,5687	0,6054	1,558	17	0,138
B3 - A0	1,0222	2,1030	0,4957	2,062	17	0,055
C3 - A0	0,3817	2,4967	0,5885	0,649	17	0,525
A5 - A0	-5,2367	5,8009	1,3673	-3,830	17	0,001
B5 - A0	-4,9689	6,6152	1,5592	-3,187	17	0,005
C5 - A0	-4,7644	5,2455	1,2364	-3,854	17	0,001

Päivän 5 tuloksille tehtiin t-testin lisäksi Wilcoxonin järjestystesti (kts. liite 3, taulukko 13), koska tulokset eivät olleet normaalisti jakautuneita (kts. liite 3, taulukko 11). Taulukossa 8 on esitetty Wilcoxonin järjestystestin Z- ja p-arvot. Z-arvo kertoo, kuinka suuri tulosten ero on oletettuun nollahypoteesiin verrattuna. Nollahypoteesillä tarkoitetaan olettamusta, että ero johtuu otantavirheestä (Nollahypoteesi n.d.). Wilcoxonin testin tulokset varmistavat tehdyn t-testin tulokset. Jokaisessa päivän 5 näytetyypissä havaittiin tilastollisesti erittäin merkitsevä ero (p -arvot $< 0,001$).

Taulukko 8. Wilcoxon järjestystestin Z-tulokset ja p-arvot

Näytepari	N	Z-arvo	p-arvo
A0 - A5	18	-3.419	<0,001
A0 - B5	18	-3.195	<0,001
A0 - C5	18	-3.288	<0,001

6 Pohdinta

6.1 Tulosten tarkastelu

Vaikuttaako näytteenotossa käytetty etanoli B-PEth tutkimuksen tuloksiin?

T-testin avulla voitiin osoittaa, että näytteenotossa käytetyllä etanolimäärällä ei ollut vaikutusta B-PEth tutkimusten tuloksiin. B-PEth tulokset pysyivät saman tasoisena etanolikontaminaatiosta riippumatta.

*Muodostuuko etanolikontaminoidussa näytteessä fosfatidyylietanolia *in vitro* jääkaappisäilytyksessä ja kuinka paljon?*

T-testin perusteella ei havaittu tilastollisesti merkitsevää muutosta B-PEth tuloksissa, kun etanolikontaminoituja näytteitä oli säilytetty jääkaappilämpötilassa 3 vuorokautta. Tämä viittaa siihen, että näytteisiin ei muodostunut fosfatidyylietanolia *in vitro*, vaikka näytteenoton aikana olisi tapahtunut etanolikontaminaatio. Lisäksi tulokset osoittivat, että PEth-molekyylien pitoisuus säilyi stabiilina mahdollisesta kontaminaatiosta huolimatta ainakin 3 päivää.

Päivän 5 tulokset poikkeavat selkeästi muiden päivien tuloksista. PEth-pitoisuus alentui näytetyypistä riippumatta. Päivän 5 näytteiden esivalmistelussa ilmeni kuitenkin tekninen virhe. Saadut tulokset viittaisivat siihen, että Tecan pipetointirobotti ei pipetoinut riittävästi näytemateriaalia jokaisen kuoppalevyn kuopalle. Virhe huomattiin analyysivaiheessa, kun kontrollitulokset olivat tavoitearvoa matalampia. Näytteiden uusi esikäsittely ja analysointi suoritettiin samana päivänä (päivä 5). Toisessa analyysikerrassa pipetointirobotti ei pystynyt pipetoimaan kaikkia näytteitä kuoppalevylle automaattisesti, sillä näytemateriaalia ei ollut riittävästi jokaisessa näytteessä. Tämän vuoksi osa näytteistä jouduttiin pipetoimaan käsin kuoppalevylle, mikä heikentää tuloksien vertailukelpoisuutta ja tarkkuutta.

Teknisistä ongelmista huolimatta päivän 5 tuloksista voidaan kuitenkin tehdä huomio, että näytteisiin ei ollut muodostunut PEth-molekyyliä *in vitro* viiden vuorokauden jääkaappisäilytyksen jälkeen. Osa tuloksista on kuitenkin kyseenalaisia teknisen ongelman vuoksi.

6.2 Eettisyys

Opinnäytetyön aikana noudatettiin hyvää tieteellistä käytäntöä (HTK) sekä toimittiin suomalaisen tutkimus- ja henkilötietoja suojaavan lainsäädännön mukaan.

Ennen kuin opinnäytetyötä päästiin toteuttamaan, sille oli haettava HUSin eettiseltä toimikunnalta puoltava lausunto ja HUSin tutkimuslupa. Tutkimusluvan saaminen edellytti puoltavaa lausuntoa eettiseltä toimikunnalta, koska opinnäytetyössä puututtiin ihmisen fyysiseen koskemattomuuteen keräämällä vapaaehtoisilta verinäytteitä. Nämä hakemukset edellyttivät tarkan tutkimussuunnitelman laatimista ennen kuin opinnäytetyölle myönnettiin tutkimuslupa.

Eettinen toimikunta ennakoarvioi opinnäytetyöhön osallistumisen mahdolliset haitat suhteessa sen tuomaan tietoon. Eettinen ennakoarviointi arvioi mahdolliset riskit ja vahinkojen välttämiset. Vapaaehtoisille oli toimitettava tiedote (kts. liite 1.) ja suostumuslomake (kts. liite 2.) luettavaksi ennen opinnäytetyöhön suostumista. Tutkittavan tiedotteessa tuli kertoa opinnäytetyön tarkoituksesta, tavoitteista ja sen etenemisestä. Tiedotteessa ilmoitettiin, mitä tietoja heistä kerätään, miten sitä käsitellään ja mitä tietoja julkaistaan. Opinnäytetyöhön osallistuminen oli vapaaehtoista ja vapaaehtoisilla oli oikeus kieltäytyä tutkimukseen osallistumisesta milloin tahansa, vaikka olisi jo antanut suostumuksen. Vapaaehtoisten suostumus opinnäytetyöhön osallistumisesta oli tietoon perustuvaa.

Opinnäytetyöhön osallistuminen ei vaatinut mitään esivalmisteluita vapaaehtoisilta, esimerkiksi vapaaehtoisten ei tarvinnut muuttaa alkoholinkäyttöä ennen opinnäytetyöhön osallistumista. Rekrytoinnissa ei myöskään ollut mitään valinta- tai poissulkukriteereitä eli jokainen halukas pystyi osallistua tutkimukseen.

Opinnäytetyössä minimoitiin vapaaehtoisille koituvan haitan todennäköisyys toteuttamalla se anonymisoidusti. Vapaaehtoisilta ei kerätty mitään henkilötietoja, kuten ikää, nimeä tai sukupuolta. Putkiin merkittiin tunnusluku, mutta sen avulla ei pysty tietämään kenestä näyte oli otettu. Opinnäytetyössä toteutui täysi tunnistamattomuus, eikä missään sen vaiheessa voitu yhdistää saatuja B-PEth tuloksia tiettyyn vapaaehtoiseen. Vapaaehtoisten allekirjoittamat suostumuslomakkeet hävitettiin opinnäytetyön valmistuttua.

Opinnäytetyön aikana oli hyödynnetty OpenAI:n ChatGPT 4-turbo ilmaisversiota. Tekoälyn käyttö noudatti Metropolia Ammattikorkeakoulun tekoälyn käytön ohjeistusta (Koirikivi & Kuosa & Hämäläinen & Leiviskä 2024). Tekoälyä käytettiin opinnäytetyön sisällön ideoinnissa, mutta sitä ei käytetty sisällön tai tiedon tuottamisessa. Tekoälyn käyttö on noudattanut hyvää tieteellistä käytäntöä ja vastuullista tutkimuksen periaatteita. Opinnäytetyön tekijänä olen vastuussa opinnäytetyön sisällöstä.

6.3 Luotettavuus

Opinnäytetyön luotettavuutta arvioitiin jokaisen työvaiheen aikana. Ennen opinnäytetyön toteutusta laadittiin tarkka suunnitelma, joka ohjasi toteutuksen kulkua. Ennen toteutusta opinnäytetyölle kerättiin tietoperusta, jonka ympärille tutkimuskysymykset muodostuivat. Näytteenotossa tapahtuneesta etanolikontaminaatiosta ei ollut riittävästi tietoa, mutta fosfatidyylietanolin muodostumisesta *in vitro* löytyi paljonkin tietoa. Tämän vuoksi tutkimuskysymykset keskittyivät näytteenotossa tapahtuneen etanolikontaminaation vaikutukseen B-PEth tuloksiin. Suunnitelmavaiheessa päätettiin opinnäytetyön toteutuksesta, jotta tulosten luotettavuus ja vertailukelpoisuus voitiin taata.

Opinnäytetyön laajuuden vuoksi vapaaehtoisia voitiin rekrytoida Erikoiskemian laboratorion henkilökunnasta vain rajallinen määrä. Vapaaehtoisten määrä pystyi maksimissaan olemaan 20 henkilöä, sillä vapaaehtoisten näytteenottoon sekä näytteiden analysoimiseen oli rajallisesti aikaa. Opinnäytetyöhön osallistuneet vapaaehtoiset olivat perusterveitä työkykyisiä ja -ikäisiä henkilöitä, joiden B-PEth arvot heijastivat sitä. Saadut B-PEth tulokset kuvaavat alhaista B-PEth tulostasoa eli opinnäytetyöstä puuttui kokonaan korkeat tulostasot. Opinnäytetyön tulokset eivät sisällä alkoholin suurkuluttajien B-PEth tuloksia, minkä vuoksi ei saatu tarkkaa tietoa näytteenotossa tapahtuneen etanolikontaminaation vaikutuksesta korkeisiin B-PEth tuloksiin.

Verinäytteiden ottamisen aikana valvottiin, että jokaisen vapaaehtoisen kohdalla näytteiden keruu suoritettiin samalla tavalla. Näyteputket tarroitettiin heti jokaisen näytteenoton jälkeen. Tämän avulla vältettiin tilanteita, jossa työpöydälle olisi jäänyt näyteputki ilman näytetunnusta tai näyteputki olisi saanut väärän näytetyyppi -tunnuksen (A-, B- tai C-näyte). Tulosten vertailukelpoisuuden ja luotettavuuden kannalta oli siis tärkeää, että oikea näytetunnus kiinnitettiin oikeaan näyteputkeen ja näytteenottotilanteet suoritettiin samalla tavalla jokaisen vapaaehtoisen kohdalla.

Näytteiden esikäsittely ja analysointi tehtiin samoilla laitteella koko opinnäytetyön ajan. B-PEth menetelmä oli verifioitu käytetyille LC-MS/MS laitteistolle ja Tecan EVO 150 robotti oli ohjelmoitu esikäsittämään B-PEth näytteet jokaisen sarjan kohdalla samalla tavalla. Opinnäytetyön aikana käytettiin saman erän ajoliuoksia, kontrolleja, vakioita ja reagensseja. Tulosten luotettavuutta vahvistettiin ajamalla jokaisen sarjan mukana eri tason kontrolleja, joiden tuli olla tavoiterajoissa ennen tulosten hyväksymistä.

Tulosten integroinnin suoritti vain yksi henkilö, sillä integrointitavalla voi olla vaikutusta B-PEth tulokseen ja näin tulosten toistettavuuteen. Integroinnissa toistettavuutta haasatoi matalat tulokset, sillä fosfatidyylietanolille ominainen piikki jäi taustakohinan alle. Tulosten toistettavuuteen ja mittausepävarmuuteen vaikutti itsessään myös se, että integrointi oli manuaalista.

Päivän 5 näytteet analysoitiin kahdesti, sillä ensimmäisessä analyysissä saadut kontrollitulokset olivat alle tavoiterajan. Tämä johtui todennäköisesti teknisestä virheestä Tecan pipetointirobotilla, jossa näytteitä ei pipetoitu oikeaa määrää kuoppalevyille. Tämän vuoksi näytteiden esikäsittely ja analysointi oli tehtävä uudestaan. Toisen analyysin kontrollitulokset olivat tavoitearvojen sisällä ja ne olivat saman tasoisia kuin muiden päivien kontrollitulokset. Tosin näytetuloksissa huomattiin tilastollisesti merkitsevä B-PEth pitoisuuksien lasku. Tätä muutosta voisi selittää se, että toisessa analyysissä ei ollut riittävästi näytemateriaalia jäljellä, mikä alensi PEth-arvoja. Osa näytteistä oli myös pipetoitava käsin, mikä heikentää tulosten vertailukelpoisuutta. Päivän 5 tuloksista kuitenkin huomattiin, että näytteisiin ei muodostunut fosfatidyylietanolia *in vitro* 5 vuorokauden pituisen jääkaappisäilytyksen jälkeen.

Opinnäytetyöstä saatujen tuloksien perusteella pystyttiin vastaamaan opinnäytetyön tutkimuskysymyksiin. Vaikka opinnäytetyössä ei ollut mukana korkeita B-PEth tuloksia, pystytään matalien B-PEth tuloksien perusteella kuitenkin arvioimaan etanolikontaminaation vaikutusta B-PEth tutkimuksen tuloksiin. Tulosten yleistettävyyttä vaikeuttaa kuitenkin aiempi tutkimustieto, jossa huomattiin korkea tuloisten B-PEth näytteiden muodostavan kaksi kertaa nopeammin fosfatidyylietanolia *in vitro* verrattuna matala tuloisiin B-PEth näytteisiin (Verga & Alling 2002).

Opinnäytetyössä käytetty kvantitatiivinen tutkimusmenetelmä valikoitui opinnäytetyön tarkoituksen, tavoitteen ja tutkimuskysymysten mukaan. Etanolikontaminaation vaikutuksen osoittamiseen käytettiin tilastollisia menetelmiä eli kahden riippuvan otoksen t-testiä ja Wilcoxonin järjestystestiä. Tilastollisten menetelmien avulla pystyttiin osoittamaan, muodostuiko etanolikontaminoiduissa näytteissä fosfatidyylietanolia tilastollisesti

merkitsevästi. Fosfatidyylin muodostumisen osoittamiseen käytettiin nollakontrollia (0 päivän A-näyte).

Opinnäytetyön tulokset ovat kuvattu läpinäkyvästi ja totuudenmukaisesti. Opinnäytetyön alkuperä on tarkastettu Turnitin Originality Check -ohjelmalla.

6.4 Jatkotutkimukset

Tähän opinnäytetyöhön rekrytoidut henkilöt olivat työssäkäyviä ja perusterveitä, mikä heijastuu matalissa B-PEth tuloksissa. Tämän vuoksi olisi suositeltavaa toistaa tutkimus uudelleen, mutta rekrytoida siihen alkoholin suurkuluttajia. Aiemmat tutkimukset ovat osoittaneet, että PEth-molekyylejä kertyy nopeammin alkoholin suurkuluttajilla kuin kohtuukäyttäjillä (Verga & Alling 2002). Tämän vuoksi olisi hyvä selvittää, onko korkeilla B-PEth tuloksilla vaikutusta näytteenotossa tapahtuneessa etanolikontaminaatioon näytteiden fosfatidyylietanolin muodostumiseen *in vitro*. Teoriassa olisi mahdollista, että alkoholin suurkuluttajien näytteissä voisi muodostua enemmän PEth-molekyylejä *in vitro* jääkaappisäilytyksen aikana. Tämä olisi hyvä selvittää, sillä B-PEth tulos voi aiheuttaa asiakkaalle hoidon estymistä, taloudellisia ongelmia tai juridisia seurauksia.

Opinnäytetyöstä voitaisiin myös tehdä vastaava tutkimus muille alkoholin käyttöä mittaaville laboratorioskokeille. Esimerkiksi P-EtOH verikokeella on samanlainen näytteenotto-ohjeistus, jossa kielletään ihon pyyhkiminen alkoholilla (Etanoli, plasmasta). Eli P-EtOH laboratorioskokeelle voitaisiin tehdä samanlainen tutkimus, jossa selvitettäisiin, millaisia muutoksia tuloksiin tulee, kun näytteenotossa on käytetty alkoholia ihonpuhdistukseen.

6.5 Johtopäätökset

Vapaaehtoisten nollanäytteiden B-PEth tulokset ovat erittäin matalia. Kolmasosa (33 %) tuloksista sijoittui 5.0-9.9 nmol/l välille ja yli puolet (56 %) oli alle 19.9 nmol/l. Nämä tulokset ovat alle vastausrajan, joka on 50 nmol/l (0,05 µmol/l). HUSin tutkimusohjekirjan mukaan tulokset olisi vastattu vain muodossa < 0,05 µmol/l.

Opinnäytetyön tulosten perusteella voidaan kuitenkin todeta, että ihon pyyhkiminen alkoholilla näytteenoton yhteydessä ei vaikuta tilastollisesti merkittävästi B-PEth tuloksiin.

eikä näytteisiin muodostu PEth:iä *in vitro* jääkaappisäilytyksen aikana. Kuitenkaan tämän opinnäytetyön tulosten perusteella ei voida poissulkea sitä mahdollisuutta, että PEth-molekyylä ei muodostuisi *in vitro* näytteille, joiden PEth-arvo on korkeampi.

Jatkotutkimuksessa olisi hyvä käyttää suurempaa otoskokoa ($N \geq 30$) ja rekrytoida alkoholin suurkuluttajia, jotta tutkimukseen saataisiin myös mukaan korkeita PEth arvoja ($> 0,05 \mu\text{mol/l}$).

6.6 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyöprosessi vahvisti ammatillista kasvuani bioanalytikkona. Opinnäytetyön käytännönläheinen toteutus tarjosi erinomaisen tavan kehittää osaamistani monella eri osa-alueelta. Pääsin toimeksiantajan avulla tekemään tutkimuksen ja sain onnistuneesti vastauksen asettamiini tutkimuskysymyksiini. Oli erityisen palkitsevaa, että opinnäytetyöni kautta saatiin hyödyllistä tietoa näytteenotossa tapahtuneen etanolikontaminaation vaikutuksesta B-PEth tuloksiin ja saatua tietoa voidaan jalostaa eteenpäin. Saadut tulokset ovat myös aidosti tärkeitä B-PEth tulosten luotettavuuden arvioinnissa, sillä virheellisten tulosten perusteella voi koitua vakaviakin seuraamuksia.

Opinnäytetyöprosessin aikana pääsin hyödyntämään kaikkia oppimiani taitoja sekä tunnistamaan ja kehittämään heikkouksiani. Prosessin aikana erityisesti itsenäinen työskentely, tieteellinen kirjoittaminen ja lähdekriittisyys kehittyivät entisestään.

Opinnäytetyöni aihe oli aidosti mielenkiintoinen. Aiheesta oppiminen ja tiedon saaminen oli mielekästä ja palkitsevaa. Ajatus näytteenotossa ihonpuhdistukseen käytetyn alkoholin vaikutuksesta B-PEth tuloksiin oli noussut jo aiemmin mieleeni, joten olin jo prosessin alussa erittäin motivoitunut tutkimaan tätä asiaa syvemmin. Nautin opinnäytetyöprosessista suuresti, vaikka se olikin työläs tehdä yksin. Aiheeni oli riittävän monipuolinen, jotta pystyin haastamaan itseni toteuttamaan laadukkaan opinnäytetyön. Haastavuus myös ylläpiti motivaatiani sekä kehitti minua ammatillisesti.

Lähteet

Alagrund, Katariina & Nivukoski, Ulla & Orpana, Arto & Savukoski, Tanja & Sirén, Saija & Åkerman, Kari 2023. Laboratorion perusmenetelmät. Kromatografia ja massaspektrometria. Teoksessa Hotakainen, Kristina & Lakkisto, Päivi & Lempiäinen, Anna (toim.). 2023. Laboratoriolääketiede - Kliininen kemia ja hematologia. Kandidaatti kustannus, Helsinki. 5. Painos. 96–98.

Aradóttir, Steina & Seidl, Stephan & Wurst, Friedrich M. & Jönsson, Bo A.G & Alling, Christer 2004. Phosphatidylethanol in Human Organs and Blood: A Study on Autopsy Material and Influences by Storage Conditions. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 28 (11). 1718–1723. <<https://doi.org/10.1097/01.alc.0000145687.41646.e5>>. Viitattu 28.3.2025.

Eerola, Hannaleena 2021. Desialotransferriini (S-CDT). Laboratoriotutkimusten tulkinta. Terveyskirjasto. Lääkärikirja Duodecim. snk99004 (033.055). <<https://www.terveyskirjasto.fi/snk99004>>. Viitattu 2.4.2025

Ellervik, Christina & Vaught, Jim 2015. Preanalytical Variables Affecting the Integrity of Human Biospecimens in Biobanking. *Clinical Chemistry* 61 (7). 914–934. <<https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.228783>>. Viitattu 6.4.2025

Etanoli, plasmasta 2025. Tutkimusohjekirja. HUS Diagnostiikkakeskus. Ammattilaisen sivusto. Saatavana sähköisesti <<https://diagnostiikka.hus.fi/tutkimus?id=4613>>. Viitattu 2.4.2025

Etyyliglukuronidi, varmistus virtsasta 2023. Laboratoriokäsikirja. Synlab. Saatavana sähköisesti <https://www.yml.fi/tuotokuvaus_show.php?tuotenro=1102>. Viitattu 2.4.2025

Faller, Andrea & Richter, Barbara & Kluge, Matthias & Koenig, Patrick & Seitz, H.K. & Skopp, Giesla 2013. Stability of phosphatidylethanol species in spiked and authentic whole blood and matching dried blood spots. *International journal of legal medicine* 127 (3). 603–610. <<https://doi.org/10.1007/s00414-012-0799-y>>. Viitattu 2.4.2025

Fosfatidyylietanoli, verestä 2025. Tutkimusohjekirja. HUS Diagnostiikkakeskus. Ammattilaisen sivusto. Saatavana sähköisesti <<https://diagnostiikka.hus.fi/tutkimus?id=12510>>. Viitattu 19.3.2025

Green, Sol 2008. Improving the Preanalytical Process: The Focus on Specimen Quality. *Journal of Medical Biochemistry* 27 (3). 343–347. <<https://doaj.org/article/90c379b535024392b4fdc069ca8b29d7>>. Viitattu 6.4.2025

Haapala, Markus 2010. Kvadrupolianalysointorit. Teoksessa Ketola, Raimo & Kostianen, Risto & Kotiaho, Tapio & Vainiotalo, Pirjo (toim.). 2010. Massaspektrometrian perusteet. Suomen Massaspektrometrian Seura ry. Finnish Mass Spectrometry Society. Hakapaino, Helsinki 2010. 27–33.

- Hansson, Per & Caron, Murielle & Johnson, Goran & Gustavsson, Lena & and Alling, Christer 1997. Blood Phosphatidylethanol as a Marker of Alcohol Abuse: Levels in Alcoholic Males during Withdrawal. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21 (1). 108–110. < <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1997.tb03736.x> >. Viitattu 17.4.2025
- Harris, Julia & Leggio, Lorenzo & Farokhina, Mehdi 2021. Blood Biomarkers of Alcohol Use: A Scoping Review. *Curr Addict Rep.* 8 (4). 500–508. <<https://doi.org/10.1007/s40429-021-00402-7>>. Viitattu 2.4.2025
- Helander, Anders & Böttcher, Michael & Dahmen, Norbert & Beck, Olof 2019. Elimination Characteristics of the Alcohol Biomarker Phosphatidylethanol (PEth) in Blood during Alcohol Detoxification. *Alcohol and Alcoholism* 54 (3). 251–257 < <https://doi.org/10.1093/alcalc/agz027> >. Viitattu 16.4.2025
- Herzog, Josefine & Skopp, Gisella & Musshoff, Frank. 2022. Development and Validation of Seven Phosphatidylethanol Homologues in Dried Blood Spots Including Preliminary Results after Excessive Use of an Ethanol-Based Hand Sanitizer. *Journal of Analytical Toxicology* 47(3). 245–252. 2023. < <https://doi.org/10.1093/jat/bkac086> >. Viitattu 11.11.2024
- Hotakainen, Kristina & Niemelä, Onni 2023. Alkoholikäytön osoituskeinot. Teoksessa Hotakainen, Kristina & Lakkisto, Päivi & Lempiäinen, Anna (toim.). 2023. Laboratoriolääketiede - Kliininen kemia ja hematologia. Kandidaatti kustannus, Helsinki. 5. PAINOS. 414–418.
- Häkkinen, Margareeta & Arponen, Anne & Jylhä, Antti & Sulin, Kati & Gunnar, Teemu 2024. Phosphatidylethanol is a promising tool for screening alcohol consumption during pregnancy. *Alcohol: Clinical and Experimental Research* 48 (10). 1892–1897. < <https://doi.org/10.1111/acer.15418> >. Viitattu 2.4.2025
- Jokelainen, Kalle 2016. Suurentuneet maksa-arvot - mitä sitten? *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 2016. 132 (18): 1688–1692. <<https://www.duodecim-lehti.fi/duo13315>>. Viitattu 17.2.2025
- Jones, Alan Wayne 2024. Brief history of the alcohol biomarkers CDT, EtG, EtS, 5-HTOL, and PEth. *Drug testing and analysis.* 16 (6). 570–587. < <https://doi.org/10.1002/dta.3584> >. Viitattu 28.3.2025
- Jänis, Janne & Vainiotalo, Pirjo 2010. Tandemmassaspektrometria. Teoksessa Ketola, Raimo & Kostianen, Risto & Kotiaho, Tapio & Vainiotalo, Pirjo (toim.). 2010. Massaspektrometrian perusteet. Suomen Massaspektrometrian Seura ry. Finnish Mass Spectrometry Society. Hakapaino, Helsinki 2010. 116–128.
- Koirikivi, Pia & Kuosa, Kirsi & Hämäläinen, Mika & Leiviskä, Kimmo 2024. Tekoälyn käyttö opetus- ja oppimistoiminnassa sekä opinnäytetyössä - Työohje opettajille, ohjajille ja opiskelijoille. *Metropolia Ammattikorkeakoulu*. Julkaistu 8.8.2024. Viitattu 14.4.2025

Kostiainen, Risto 2010a. Nestekromatografia-massaspektrometria. Teoksessa Ketola, Raimo & Kostiainen, Risto & Kotiaho, Tapio & Vainiotalo, Pirjo (toim.). 2010. Massaspektrometrian perusteet. Suomen Massaspektrometrian Seura ry. Finnish Mass Spectrometry Society. Hakapaino, Helsinki 2010. 171–180.

Kostiainen, Risto 2010b. Ionisaatiotekniikat ilmanpaineessa. Teoksessa Ketola, Raimo & Kostiainen, Risto & Kotiaho, Tapio & Vainiotalo, Pirjo (toim.). 2010. Massaspektrometrian perusteet. Suomen Massaspektrometrian Seura ry. Finnish Mass Spectrometry Society. Hakapaino, Helsinki 2010. 71–73.

La hood, Anthony & Kok, Stephanie 2023. Ethanol Toxicity. National Institutes of Health. Päivitetty 21.6.2023. Teoksessa StatPearls Treasure Island (FL). StatPearls Publishing. PMID: 32491313. Saatavana sähköisesti. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557381/>>. Viitattu 6.9.2024

Lange, Shannon & Shield, Kevin & Koren, Gideon & Rehm, Jürgen & Popva, Svetlana 2014. A comparison of the prevalence of prenatal alcohol exposure obtained via maternal self-reports versus meconium testing: a systematic literature review and meta-analysis. BMC Pregnancy Childbirth 14 (127). <<https://doi.org/10.1186/1471-2393-14-127>>. Viitattu 31.3.2025

Luginbühl, Mark & Van Uytvanghe, Katleen & Stöth, Frederike & Wurst, Friedrich M & Stove, Christophe P. 2022. Current evolutions, applications, and challenges of phosphatidylethanol analysis for clinical and forensic purposes. WIREs Forensic Science 4(5). e1456. <<https://doi.org/10.1002/wfs2.1456>>. Viitattu 29.3.2025

Niemelä, Onni 2015. Laboratoriokokeiden merkitys alkoholin liikakulutuksen toteamisessa. Artikkelin tunnus: nix02224 (050.028). Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. Käypähoito. <<https://www.kaypahoito.fi/nix02224>>. Viitattu 28.9.2024

Nollahypoteesi n.d. Tilastokeskus. Käsitteet. Saatavana sähköisesti. <<https://stat.fi/meta/kas/nollahypoteesi.html>>. Viitattu 15.4.2025

Oksman, Pentti & Kauppila, Tiina & Kotiaho, Tapio & Ketola, Raimo 2010. Massaspektrometrian peruskäsitteitä. Teoksessa Ketola, Raimo & Kostiainen, Risto & Kotiaho, Tapio & Vainiotalo, Pirjo (toim.). 2010. Massaspektrometrian perusteet. Suomen Massaspektrometrian Seura ry. Finnish Mass Spectrometry Society. Hakapaino, Helsinki 2010. 15–23.

Reisfield, Gary & Teitelbaum, Scott & Jones, Joseph & Lewis, Ben. 2024. The effect of incidental ethanol exposures on the formation of blood phosphatidylethanol. Drug Testing and Analysis 17 (4). 570–578. <<https://doi.org/10.1002/dta.3752>>. Viitattu 11.11.2024

Riekkola, Marja-Liisa & Hyötyläinen, Tuulia 2002a. Nestekromatografia. Kolonnikromatografia ja kapillaarielektromigraatio-tekniikat. Yliopistopaino, Helsinki 2002. 2. Painos. 37–40, 137–138, 145, 160–161, 167–170. Viitattu 16.3.2025

Savolainen, Markku & Hotakainen, Kristina 2021. Fosfatidyylietanolin (PEth) määrittäminen - testi luotettavampaan alkoholinkäytön osoittamiseen. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 2021;137(6). 553–555. <<https://www.duodecimlehti.fi/duo16131>>. Viitattu 28.9.2024

Staub, Christian & Spörri, Aline Staub 2014. Kappale 4 - Ethanol- and Drug-Facilitated Crime. *Toxicological Aspects of Drug-Facilitated Crimes*. 93–119. <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416748-3.00004-9>>. Viitattu 2.4.2025

Suomen virallinen tilasto: Kuolemansyyt. ISSN=1799-5051. 2020. Helsinki: Tilastokeskus. Päivitetty 10.12.2021. Saatavana sähköisesti. <https://stat.fi/til/ksyyt/2020/ksyyt_2020_2021-12-10_tie_001_fi.html> Viitattu 7.9.2024

Tiitinen, Aila 2024. Raskaus ja tupakka, alkoholi sekä huumeet. *Terveyskirjasto. Lääkärikirja Duodecim*. <<https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00984>>. Viitattu 31.3.2025

Varga, Arthur & Alling, Christer 2002. Formation of phosphatidylethanol in vitro in red blood cells from healthy volunteers and chronic alcoholics. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 140 (2). 79–83. <<https://lup.lub.lu.se/record/110293>>. Viitattu 17.2.2025

WHO 2024a. World Health Organisation 2024. Alcohol. Fact sheet. <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>>. Viitattu 7.9.2024

WHO 2024b. World Health Organisation 2024. Global status report on alcohol and health and treatment of substance use disorders. <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240096745>>. Viitattu 7.9.2024

Wurst, Friedrich & Thon, Natasha & Aradottir, Steina & Hartmann, Susanne & Wiesbeck, Gerhard & Lesch, Otto & Skala, Katrin & Wolfersdorf, Manfred & Weinmann, Wolfgang & Alling, Christer 2010. CLINICAL STUDY/BIOMARKER: Phosphatidylethanol: normalization during detoxification, gender aspects and correlation with other biomarkers and self-reports. *Addiction Biology*. 15 (1). 88–95. <<https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2009.00185.x>>. Viitattu 17.4.2025

Tiedote tutkittavalle



3.12.2024 (Versio 2.)

TIEDOTE TUTKIMUKSESTA

Tutkimuksen nimi

Näytteenotossa ihon puhdistukseen käytetyn alkoholin vaikutus B-PEth tuloksiin

Pyyntö osallistua tutkimukseen

Sinua pyydetään mukaan tutkimukseen, jossa tutkitaan kuinka paljon näyteenoton yhteydessä käytetty alkoholi vaikuttaa B-PEth verikokeen tuloksiin. B-PEth verikokeella osoitetaan viimeisen 2–4 viikon alkoholinkäyttöä. B-PEth verikokeen tuloksia käytetään muun muassa osoittamaan alkoholinkäytöstä pidättäytymistä ennen maksansiltoa tai määrittämään alkoholin kulutusta yhdessä potilaan esitietojen kanssa. Tutkimuksessa on tarkoitus selvittää, lisääntykö verikokeen fosfatidyylietanolin eli PEth:in määrä, kun näyteenotossa on käytetty alkoholia ihonpuhdistukseen. Tutkimukseen osallistuminen vaatii sinulta vain hetken aikaa. Sinulta kerätään kolme verinäytettä kyynärtalpeen laskimosta yhden päivän aikana. Tämä tiedote kuvaa tutkimusta ja sinun mahdollista osuuttasi siinä.

Lue rauhassa tämä tiedote. Jos sinulla on kysyttävää, ota yhteyttä tutkimushenkilökuntaan (yhteystiedot löytyvät asiakirjan lopusta). Jos päätät osallistua tutkimukseen, sinua pyydetään allekirjoittamaan erillinen suostumus, jonka löydät asiakirjan lopusta.

HUSin tutkimuseettinen toimikunta on antanut tutkimussuunnitelmalle puoltavan lausunnon.

Osallistumisen vapaaehtoisuus, keskeyttäminen ja suostumuksen peruuttaminen

Tähän tutkimukseen osallistuminen on vapaaehtoista. Voit kieltäytyä osallistumasta tutkimukseen, keskeyttää osallistumisesi tai peruuttaa jo annetun suostumuksesi tähän tutkimukseen syytä ilmoittamatta. Tämä onnistuu milloin tahansa tutkimuksen aikana ilman, että se vaikuttaa työsuhteeseesi tai asemaasi työpalkalla.

Halutessasi peruuttaa tutkimukseen osallistumisesi ota yhteyttä Nilna Niskaseen, nilna.niskanen@hus.fi, tai Janette Kuplaseen, janette.kuplainen@metropolla.fi.

Jos päätät peruuttaa suostumuksesi, sinusta siihen mennessä kerättyjä näytteitä käytetään osana tutkimusaineistoa, koska näytteet ovat anonymisoituja. Eli tutkimustuloksia ei voida yhdistää Suostumuslomakkeesi hävitetään asianmukaisesti heti, jos päätät peruuttaa suostumuksesi.

Mitä tutkitaan ja miksi

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on selvittää, muuttuuko B-PEth tutkimuksen tulos, jos näyteenoton yhteydessä iho on puhdistettu alkoholilla. HUSLAB-tutkimusohjekirjassa ohjeistetaan, että näyteenottokohdasta ei saa puhdistaa alkoholilla B-PEth verikoeetta otettaessa. Ohjeistuksesta huolimatta näin voi käydä. Tämä voi johtaa epäluotettaviin tuloksiin, koska PEth:in määrä voi lisääntyä näyteenottoputken sisällä. Tämän vuoksi tutkimus on tärkeä, jotta meillä on tietoa siitä, onko ihonpuhdistuksella vaikutusta tulokseen ja kuinka paljon.



3.12.2024 (Versio 2.)

Tutkimuksessa halutaan selvittää, miten tietty näytteenotto-tilanne vaikuttaa B-PEth tutkimuksen tuloksiin. Tästä johtuen ei voida hyödyntää valmista potilasmateriaalia, vaan tarvitaan vapaaehtoisia, joilta voidaan kerätä näytteitä toteuttaen haluttu näytteenotto-tilanne.

Miten tutkitaan

Mikällä suostut osallistumaan tutkimukseen, kerätään sinulta kolme verinäytettä kolmella eri pistokerralla. Pistokertoja on kolme, koska näytteenottoa puhdistetaan eri alkoholimäärillä. Ennen näytteenottoon saapumista sinun ei tarvitse tehdä mitään erillisiä esivalmisteluja.

Tutkimuksessa sinulta ei kerätä mitään henkilötietoja, kuten ikää, sukupuolta tai nimeä. Näytteenotto tapahtuu HUSLAB Tullinpuomin laboratorion näytteenotto-tiloissa, joka sijaitsee HUSLAB-talon yhteydessä. Näytteenotto toteutetaan vain yhtenä päivänä.

	Näytteenottotapahtuma
Ensimmäinen verinäyte	Näytteenottoa puhdistetaan vedellä ja pisto suoritetaan kuivalle iholle.
Toinen verinäyte	Näytteenottoa pyyhitään kohtuullisella alkoholimäärillä ja pistokohdan annetaan kuivua ennen piston suorittamista
Kolmas verinäyte	Näytteenottoa pyyhitään runsaalla alkoholimäärillä ja pisto suoritetaan, kun iho on vielä märkä

Verinäytteitä analysoidaan kolmena eri päivänä ja saadut tulokset käsitellään taulukointiohjelmilla. Tuloksista saadaan lukema siitä, kuinka paljon näytteenotossa käytetty alkoholi on mahdollisesti muuttanut B-PEth tutkimuksen tuloksia, kun sitä verrataan sellaisen B-PEth näytteen tuloksiin, jonka näytteenotossa ei ole käytetty alkoholia ihon puhdistamisessa.

Tutkimuksen päättyminen

Tutkimuksen alkamisesta sen tulosten julkaisuun on arvioitu kestävän 3 kuukautta. Tutkimusosuus kestää noin viikon verran, jonka aikana verinäytteet kerätään ja tutkitaan.

Osallistumisesi tutkimukseen päättyy näytteenoton jälkeen ja sinulta ei vaadita tämän jälkeen mitään lisätoimenpiteitä. Kun tutkimus on valmis, esitetään sen tulokset erikoiskemian laboratorion henkilökunnalle ja tutkimuksen aikana tehdyn opinnäytetyön pääsee lukemaan Thesus-verkkopalvelusta, jonne se palautetaan viimeistään 17.4.2025. Opinnäytetyö löytyy samalla nimellä kuin tutkimus (näytteenotossa ihon puhdistukseen käytetyn alkoholin vaikutus B-PEth tuloksiin).

Tutkimuksen toteuttaja ja kustannukset

Tutkimusryhmässä on mukana Metropolian ammattikorkeakoulun bioanalytiikan tutkinto-ohjelman opiskelija, jonka opinnäytetyön aihe on "Näytteenotossa ihon puhdistukseen käytetyn alkoholin vaikutus B-PEth tuloksiin". Tutkimusryhmän vastaavana henkilönä ja vastuukemistinä toimii erikoiskemian laboratorion kemisti Niina Niskanen.



3.12.2024 (Versio 2.)

Tutkimukseen liittyvät laboratoriotutkimukset ja näytteenotto ovat sinulle maksuttomia. Tutkimuksen rahoituksesta vastaa Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri. Tutkimukseen osallistuville henkilöille ei makseta erillistä korvausta tutkimuksen tekemisestä.

Tutkimuksen mahdolliset hyödyt ja riskit

Tutkimukseen osallistuminen auttaa meitä tuottamaan uutta tietoa, jonka avulla voidaan tarkentaa B-PEth tutkimuksen näytteenotto-ohjeita ja parantamaan toimintaohjeita alkohollilla **kontaminoitujen** näytteen suhteen. Tutkimukseen osallistuessasi et saa tietää B-PEth tulostasi, koska sinulta ei kerätä mitään henkilötietoja, jolla henkilöllisyytesi voitaisiin yhdistää **tutkimustulokseesi**.

Tutkimukseen osallistumisen ei aiheutaa sinulle mitään haittaa, mutta näytteenotosta voi mahdollisesti koitua epämukavuutta. Näytteenoton tavallisimmat oletetut epämukavuudet ovat mustelman muodostuminen pistokohtaan tai ohimenevä arkuus pistokohdissa. Myös huilmaus näytteenoton aikana on mahdollista.

Tutkittavien vakuutusturva ja korvaukset

Mikäli tutkimuksen takia tehdystä toimenpiteestä, kuten näytteenotosta, aiheutuu sinulle henkilövahinko, voitte hakea korvausta. HUS on vakuuttanut tutkimukseen osallistujat potilasvakuutuslain mukaisesti. Muusta syystä kuin tutkimuslääkkeestä aiheutuneista henkilövahingoista haetaan korvausta tutkimuskeskuksen potilasvakuutuksesta. Se korvaa potilasvahinkolain mukaisesti terveyden- ja sairaanhoidon yhteydessä aiheutuneita henkilövahinkoja laissa tarkemmin säädellyin edellytyksin. Potilasvakuutuskeskus huolehtii potilasvahinkojen korvauskäsittelystä.

Henkilötietojen käsittely ja tietojen luottamuksellisuus

Tässä tutkimuksessa sovelletaan suomalaista tutkimus- ja henkilötietojen suojaa koskevaa lainsäädäntöä. Tutkijat ja muu tutkimushenkilöstö ovat sitoutuneet noudattamaan hyvää tieteellistä käytäntöä ja tutkimuksen eettisiä ohjeita. **Tarkempi kuvaus tutkimuksen oikeusperustasta on tämän tiedotteen lopussa.**

Henkilötietojasi käsitellään tieteellistä tutkimustarkoitusta varten. Sinusta kerättyä tietoa ja tutkimustuloksia käsitellään luottamuksellisesti lainsäädännön edellyttämällä tavalla. Kaikki tietojasi käsittelevät tahot ja henkilöt ovat salassapitovelvollisia.

Lisätiedot ja yhteystiedot

Jos sinulla on kysyttävää tutkimuksesta, voit olla yhteydessä Niina Niskaseen tai Janette Kuplaseen. Voit keskustella heidän kanssaan kaikista tutkimuksen aikana mielestäsi askaruttavista asioista.

Yhteystiedot

Sairaalakemisti ja vastuukemisti
Niina Niskanen
Erikoskemian laboratorio, HUS Diagnostiikkakeskus

Bioanalytiikko-opiskelija
Janette Kuplainen
Metropolian ammattikorkeakoulu



3.12.2024 (Versio 2.)

KUVAUS TUTKIMUKSESSA TAPAHTUVASTA HENKILÖTIE TOJEN KÄSITTELYSTÄ JA SIIHEN LIITTYVÄT TUTKITTAVAN OIKEUDET

Rekisterinpitäjä

Rekisterinpitäjänä tutkimuksessa on Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri, joka vastaa tutkimuksen yhteydessä tapahtuvien henkilötietojen käsittelyn lainmukaisuudesta.

Tutkimusrekisterin tallennetaan vain tutkimuksen tarkoituksen kannalta välttämättömiä henkilötietoja. Tietojen kerääminen perustuu tutkimussuunnitelmaan.

Henkilötietojen käsittelyperuste

Yleinen etu lääketieteellisessä tutkimuksessa:

Lääketieteellisessä tutkimuksessa henkilötietojen käsittelyperusteena on lääketieteellisestä tutkimuksesta annetun lain 21 a § mukaisesti keskeisten tutkimuksen suorittamiseen liittyvien käsittelytoimien osalta yleinen etu ja kansanterveyteen liittyvä yleinen etu (EU:n yleisen tietosuoja-asetuksen artikkelit 6.1.e ja 9.2.i) sekä turvallisuusraportointiin ja muihin viranomaisille tehtäviin ilmoituksiin liittyen osalta lakisääteisen veloitteen noudattaminen ja kansanterveyteen liittyvä yleinen etu (tietosuoja-asetuksen artikkelit 6.1.c ja 9.2.i).

Henkilötietojen käsittely

Tutkimuksessa henkilötietoja käsittelevät ainoastaan tutkimusryhmään nimetyt henkilöt, joiden työtehtäviin niiden käsittely kuuluu. Tutkimuksessa sinulta kerätään vain suostumuslomakkeessa oleva tieto (nimi, syntymäaika ja osoite), mutta tietoa ei käytetä tutkimuksessa tai sen ohessa tehtävässä opinnäytetyössä lainkaan.

Tutkittavien henkilöllisyyden tietää vain tutkimuksen henkilökunta, jolla on salassapitovelvollisuus. Tutkimuksen toteuttamiseen ei tarvita sinulta mitään henkilötietoja. Näytteenoton jälkeen putkissa ei ole tunnisteita, jolla henkilöllisyytesi voidaan tietää. Tutkimus toteutetaan siten, että tutkimukseen liittyvistä tutkimustuloksista, selvityksistä tai julkaisuista ei voida tunnistaa henkilöitä, jotka ovat osallistuneet tutkimukseen.

Tässä tutkimuksessa henkilötietoja ei näytettäväksi ei luovuteta muille taholle ja niitä käsitellään tieteellistä tutkimustarkoitusta varten.

Henkilötietojesi säilytysaikaa sääntelee lainsäädäntö sekä hyvä kliininen tutkimustapa. Henkilötietojesi säilytyksestä vastaa HUS. Suostumuslomakettasi säilytetään tietoturvalisessa ympäristössä tutkimuksen loppuun saakka, jonka jälkeen ne hävitetään asianmukaisesti. Myös sinusta kerätyt verinäytteet hävitetään asianmukaisesti, kun ne on tutkittu ja tutkimus on päättynyt. Tutkimuksen alkamisesta sen tulosten julkaisuun on arvioitu kestävän 3 kuukautta.

Jos keskeytät tutkimukseen osallistumisen, peruutat suostumuksen tai osallistumisesi tutkimukseen keskeyty muusta syystä, sinusta siihen mennessä kerättyjä näytettä voidaan käyttää osana tutkimusaineistoa. Se on välttämätöntä tutkimustulosten varmistamiseksi.



3.12.2024 (Versio 2.)

Tutkittavan oikeudet

Sinulla on oikeus saada tietoa henkilötietojesi käsittelystä ja pyytää henkilötietojesi käsittelyn rajoittamista. Sinulla on myös oikeus tarkastaa tietosi ja pyytää niiden oikaisemista tai täydentämistä, jos esimerkiksi havaitset niissä virheen tai ne ovat puutteellisia tai epätarkkoja. Sinulla on myös oikeus vastustaa henkilötietojesi käsittelyä.

Tieteellisen tutkimuksen yhteydessä näitä oikeuksia voidaan kuitenkin rajoittaa. Laki voi velvoittaa rekisterinpitäjän säilyttämään tutkimustietosi tietyn määräajan rekisteröidyn oikeuksista riippumatta. Laki sallii poikkeukset rekisteröidyn oikeuksista silloin, kun se on välttämätöntä tieteellisten tutkimustulosten ja tutkittavien turvallisuuden varmistamiseksi.

Voit milloin tahansa tiedustella, käsittelemmekö henkilötietojasi ja vaatia käsittelyn perustelua. Voit myös tiedustella, mistä olemme saaneet tietojasi ja mihin näytteitäsi ja tietojasi on luovutettu. Sinulla on oikeus saada tiedot maksutta ja kohtuullisessa ajassa (yhden kuukauden kuluessa pyynnöstä). Jos tietopyyntösi on hyvin laaja tai jostakin muusta perustellusta syystä tietojen kerääminen on erityisen aikaa vievää, voidaan määräaikaa pidentää enintään kahdella (2) kuukaudella. Määräajan jatkamisesta ja syystä ilmoitetaan sinulle.

Tietosuoja-asioissa suosittelemme ottamaan yhteyttä tutkimuksen vastuuhenkilöön tai rekisterinpitäjän tietosuojavastaavaan.

HUSin tietosuojavastaava on:

Petri Hämäläinen, kehittämisspäälikkö, tietosuojavastaava
HUS-yhtymä, yleishallinto- ja juridiikka, lakiasiat
eutietosuoja@hus.fi
Postiosoite: PL 440, 00029 HUS

Tutkimuksesta vastaavien yhteystiedot

Sairaalakemisti ja vastuukemisti
Nina Niskanen
Erikoskemian laboratorio, HUS DGK

Bioanalyttikko-opiskelija
Janette Kuplainen
Metropolian ammattikorkeakoulu

Sinulla on oikeus tehdä valitus erityisesti vakinaisen asuin- tai työpalkkasijainnin mukaiselle valvontaviranomaiselle, mikäli katsot, että henkilötietojen käsittelyssä rikotaan EU:n yleistä tietosuoja-asetusta (EU) 2016/679 tai tietosuojalakiä (1050/2018). Suomessa valvontaviranomainen on tietosuojavaltuutettu.

Tietosuojavaltuutetun toimisto, Lintulahdenkuja 4, 00530 Helsinki, PL 800, 00531 Helsinki
Puhelinvalhe: 029 566 6700, Sähköposti (kirjaamo): tietosuoja@om.fi

Tutkittavan suostumuslomake



3.12.2024 (Versio 2.)

TUTKITTAVAN SUOSTUMUS TUTKIMUKSEN OSALLISTUMISESTA

Näytteenotossa ihon puhdistukseen käytetyn alkoholin vaikutus B-PEth tuloksiin -tutkimus

Erikolokemian laboratorio, HUS Diagnostiikkakeskus
Niina Niskanen ja Janette Kupiainen

Sinua on pyydetty osallistumaan yllä mainittuun tieteelliseen tutkimukseen, jonka tarkoituksena on selvittää, muuttuuko B-PEth tutkimuksen tulos, jos näytteenoton yhteydessä iho on puhdistettu alko-

hoilla.

Allekirjoittamalla tämän sopimuksen, vahvistat alla mainitut asiat.

Olet lukenut ja ymmärtänyt saamasi tutkimustiedotteen ja annat suostumuksesi sen mukaiseen tutkimukseen. Olet saanut tiedotteesta riittävästi tietoa tutkimuksesta ja sen yhteydessä suoritettavasta tietojen keräämisestä, käsittelystä ja luovuttamisesta. Tiedotteen sisältö on kerrottu sinulle myös suullisesti ja olet saanut riittävän vastauksen kaikkiin tutkimusta koskeviin kysymyksiini.

Sinulla on ollut riittävästi aikaa harkita tutkimukseen osallistumista. Olet saanut riittävät tiedot tutkimuksen tarkoituksesta ja sen toteutuksesta, tutkimuksen hyödyistä ja riskeistä sekä oikeuksista. Sinua ei ole painostettu eikä houkuteltu osallistumaan tutkimukseen.

Tiedät, että tietojasi käsitellään luottamuksellisesti eikä niitä luovuteta sivullisille. Olet tietoinen, että sinun henkilö-tietojasi ei käytetä tutkimuksessa tai opinnäytetyössä millään tavalla. Ymmärrät, että tutkittavista kerättyjä näytteitä ei voida yhdistää yksittäiseen henkilöön.

Ymmärrät, että tähän tutkimukseen osallistuminen on vapaaehtoista. Olet selvillä siitä, että sinulla on oikeus kieltäytyä tutkimukseen osallistumisesta. Voit myöhemmin halutessasi myös keskeyttää tutkimuksen tai peruuttaa suostumuksesi milloin tahansa syytä ilmoittamatta, eikä se tule vaikuttamaan työsuhteeseesi tai asemaasi työpaikalla.

Sinulla on myös oikeus peruuttaa antamasi suostumus milloin tahansa ennen tutkimuksen päättämistä. Olet tietoinen siitä, että mikäli keskeytät tutkimuksen tai peruutat suostumuksen, sinusta keskeyttämiseen ja suostumuksen peruuttamiseen mennessä kerättyjä näytteitä käytetään osana tutkimusta.

Tiedät, että tutkimukseen osallistumisesta aiheutuneista kuluista ei makseta korvausta.



3.12.2024 (Versio 2.)

Allekirjoituksellani vahvistan osallistumiseni tähän tutkimukseen ja suostun vapaaehtoisesti tutkimushenkilöksi.

Tutkittavan allekirjoitus

Päiväys

Tutkittavan nimeselvennys

Tutkittavan syntymäaika tai henkilötunnus

Tutkittavan osoite

Suostumus vastaanotettu

Suostumuksen vastaanottajan allekirjoitus

Päiväys

Nimeselvennys

Rooli tutkimusryhmässä

Alkuperäinen allekirjoitettu asiakirja jää arkistoon ja kopio allekirjoitetusta suostumuksesta annetaan tutkittavalle.

Tutkimustulokset

Taulukko 9. Näytteenottopäivän eli 0 päivän B-PEth tulokset

Tunnusluku	A näyte (nmol/l)	B näyte (nmol/l)	C näyte (nmol/l)
Sample 1	5,68	5,46	6,34
Sample 2	5,15	5,14	6,44
Sample 3	24,8	27	27,8
Sample 4	4,61	5,37	4,47
Sample 5	5,54	6,64	4,03
Sample 6	13,6	14	13,3
Sample 7	42,9	45	50
Sample 8	7,14	6,68	4,88
Sample 9	38,4	34,8	39,8
Sample 10	19,2	18,9	20,4
Sample 11	15,2	15	14,7
Sample 12	23,4	28,1	26,3
Sample 13	96,7	96,5	96,9
Sample 14	7,93	6,1	7,08
Sample 15	5,26	6,99	8,29
Sample 16	31,6	32,9	32,3
Sample 17	25,8	27,4	26,8
Sample 18	36	30,6	31,2

Taulukko 10. Jääkaappisäilytettyjen B-PEth näytteiden tulokset

Tunnusluku	Päivä 0 (nmol/l) Ei jääkaappisäilytystä	Päivä 1 (nmol/l)	Päivä 3 (nmol/l)	Päivä 5 (nmol/l)
Sample 1A	5.68	5.74	4.82	2.55

Liite 3
2 (5)

Sample 1B	5.46	3.6	4.24	6.86
Sample 1C	6.34	4.68	3.22	5.05
Sample 2A	5.15	6.39	4.54	4.98
Sample 2B	5.14	4.51	6.21	4.73
Sample 2C	6.44	6.14	5.59	6.16
Sample 3A	24.8	28.9	26.8	18.2
Sample 3B	27	25.4	27.4	25.9
Sample 3C	27.8	28.6	26.8	17.1
Sample 4A	4.61	4.23	5.51	3.22
Sample 4B	5.37	4.31	4.75	3.37
Sample 4C	4.47	5.1	5.1	1.9
Sample 5A	5.54	7.62	4.72	2.07
Sample 5B	6.64	5.73	6.78	2.55
Sample 5C	4.03	5.69	6.43	4.08
Sample 6A	13.6	12.9	15.7	12.1
Sample 6B	14	12.9	13.1	8.75
Sample 6C	13.3	14	11.3	5.25
Sample 7A	42.9	47.4	48.2	22.3
Sample 7B	45	46.7	47.4	25.2
Sample 7C	50	48.5	44.1	27
Sample 8A	7.14	2.1	5.53	4.55
Sample 8B	6.68	1.67	5.4	5.02
Sample 8C	4.88	5	5.59	3.42
Sample 9A	38.4	38.6	42.1	22.1
Sample 9B	34.8	37.8	39.8	38.4
Sample 9C	39.8	38.1	40.6	21.4
Sample 10A	19.2	16.9	24.3	12.1
Sample 10B	18.9	22.9	19.7	13.3
Sample 10C	20.4	23.3	23	11.9
Sample 11A	15.2	15.5	14.9	7.03
Sample 11B	15	15.7	15.8	11.1

Sample 11C	14.7	14.3	13.8	10.3
Sample 12A	23.4	26.3	27.5	19.1
Sample 12B	28.1	25.6	28.5	19
Sample 12C	26.3	27.4	28	16.6
Sample 13A	96.7	99.7	100	99.2
Sample 13B	96.5	96.1	95.7	90.7
Sample 13C	96.9	99.2	101	96.3
Sample 14A	7.93	5.81	4.7	4.59
Sample 14B	6.1	8.06	7.75	6.37
Sample 14C	7.08	6.94	3.85	4.17
Sample 15A	5.26	7.73	5.67	5.46
Sample 15B	6.99	9.24	5.58	6.42
Sample 15C	8.29	9.04	4	4.12
Sample 16A	31.6	34.2	29.5	27.8
Sample 16B	32.9	35.1	30.6	23.4
Sample 16C	32.3	30.2	29.7	25.3
Sample 17A	25.8	26.3	27	14.9
Sample 17B	27.4	26.5	27.6	16.1
Sample 17C	26.8	23.3	25.4	25.7
Sample 18A	36	34.8	34.4	32.4
Sample 18B	30.6	37.2	41	12.3
Sample 18C	31.2	37.7	38.3	37.4

Taulukko 11. B-PEth näytteiden normaalijakauma

Näytepari	Statistic	vapausaste	p-arvo
B0-A0	0.928	18	0.176
C0-A0	0.948	18	0.395
A1-A0	0.969	18	0.782
B1-A0	0.914	18	0.100

C1-A0	0.938	18	0.271
A3-A0	0.955	18	0.516
B3-A0	0.906	18	0.074
C3-A0	0.967	18	0.731
A5-A0	0.866	18	0.015
B5-A0	0.811	18	0.002
C5-A0	0.884	18	0.030

Taulukko 12. Näytetyyppien erotukset

Näyte	B0-A0	C0-A0	A1-A0	B1-A0	C1-A0	A3-A0	B3-A0	C3-A0	A5-A0	B5-A0	C5-A0
Sample 1	-0,22	0,66	0,06	-2,08	-1,00	-0,86	-1,44	-2,46	-3,13	1,18	-0,63
Sample 2	-0,01	1,29	1,24	-0,64	0,99	-0,61	1,06	0,44	-0,17	-0,42	1,01
Sample 3	2,20	3,00	4,10	0,60	3,80	2,00	2,60	2,00	-6,60	1,10	-7,70
Sample 4	0,76	-0,14	-0,38	-0,30	0,49	0,90	0,14	0,49	-1,39	-1,24	-2,71
Sample 5	1,10	-1,51	2,08	0,19	0,15	-0,82	1,24	0,89	-3,47	-2,99	-1,46
Sample 6	0,40	-0,30	-0,70	-0,70	0,40	2,10	-0,50	-2,30	-1,50	-4,85	-8,35
Sample 7	2,10	7,10	4,50	3,80	5,60	5,30	4,50	1,20	-20,60	-17,70	-15,90
Sample 8	-0,46	-2,26	-5,04	-5,47	-2,14	-1,61	-1,74	-1,55	-2,59	-2,12	-3,72
Sample 9	-3,60	1,40	0,20	-0,60	-0,30	3,70	1,40	2,20	-16,30	0,00	-17,00
Sample 10	-0,30	1,20	-2,30	3,70	4,10	5,10	0,50	3,80	-7,10	-5,90	-7,30
Sample 11	-0,20	-0,50	0,30	0,50	-0,90	-0,30	0,60	-1,40	-8,17	-4,10	-4,90
Sample 12	4,70	2,90	2,90	2,20	4,00	4,10	5,10	4,60	-4,30	-4,40	-6,80
Sample 13	-0,20	0,20	3,00	-0,60	2,50	3,30	-1,00	4,30	2,50	-6,00	-0,40
Sample 14	-1,83	-0,85	-2,12	0,13	-0,99	-3,23	-0,18	-4,08	-3,34	-1,56	-3,76
Sample 15	1,73	3,03	2,47	3,98	3,78	0,41	0,32	-1,26	0,20	1,16	-1,14
Sample 16	1,30	0,70	2,60	3,50	-1,40	-2,10	-1,00	-1,90	-3,80	-8,20	-6,30
Sample 17	1,60	1,00	0,50	0,70	-2,50	1,20	1,80	-0,40	-10,90	-9,70	-0,10
Sample 18	-5,40	-4,80	-1,20	1,20	1,70	-1,60	5,00	2,30	-3,60	-23,70	1,40

Taulukko 13. 5 päivän tarkka Wilcoxon järjestys testin tulokset.

Näytepari		N	Mean rank*	Sum of ranks**
A0 - A5	Kuinka monen tulos nousi	2 (A0 < A5)	3.50	7.0
	Kuinka monen tulos laski	16 (A0 > A5)	10.25	164.0
	Kuinka monen tulos ei muuttunut	0 (A0 = A5)		
	N	18		
A0 - B5	Kuinka monen tulos nousi	3 (A0 < B5)	3.00	9.0
	Kuinka monen tulos laski	14 (A0 > B5)	10.29	144.0
	Kuinka monen tulos ei muuttunut	1 (A0 = B5)		
	N	18		
A0 - C5	Kuinka monen tulos nousi	2 (A0 < C5)	5.00	10.0
	Kuinka monen tulos laski	16 (A0 > C5)	10.06	161.0
	Kuinka monen tulos ei muuttunut	0 (A0 = C5)		
	N	18		

*Mean rank = Kuinka suuri oli keskimääräinen järjestysluku niissä tapauksissa, joissa havaittiin muutos.

**Sum of ranks = Näiden järjestyslukujen yhteenlaskettu summa.