



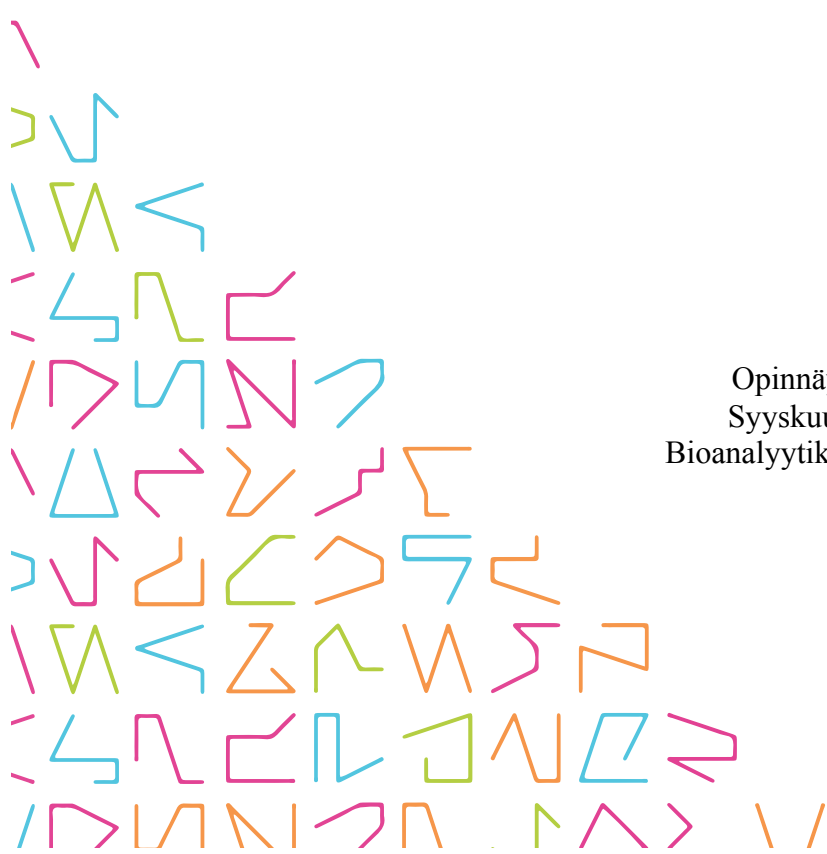
TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

P-TT-INR-NÄYTTEEN SÄILYVYYS KOKOVERENÄ NÄYTTEENOTTO- PUTKESSA HUONEENLÄMMÖSSÄ

Maija Heiska

Erika Liimatainen

Opinnäytetyö
Syyskuu 2015
Bioanalytikkokoulutus



TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytikkokoulutus
12BIO

HEISKA MAIJA & LIIMATAINEN ERIKA:

P-TT-INR-näytteen säilyvyys kokoverenä näytteenottoputkessa huoneenlämmössä

Opinnäytetyö 52 sivua, joista liitteitä 8 sivua
Syyskuu 2015

Tromboplastiiniajan INR-tulostus eli P-TT-INR on laboratoriotutkimus, jota käytetään varfariinilääkehoidon seurannassa. Tutkimuksen näytemateriaalina toimii potilaan natriumsitraatilla antikoaguloitu laskimoverinäyte. Yleisimmin käytetty varfariinilääke Marevan[®] pidentää veren hyytymisaikaa vaikuttamalla K-vitamiinista riippuviin hyytymistekijöiden synteesiin. Antikoagulanttihoitoa käytetään esimerkiksi laskimo- ja keuhkoveritulppien estoon.

Opinnäytetyön aihe saatiin Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastuualueelta. Opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia P-TT-INR-näytteen säilyvyyttä kokoverenä huoneenlämmössä yhden ja kahden vuorokauden ajan. Tavoitteena oli kehittää Fimlab Laboratoriot Oy:n näytteiden käsittely- ja säilytysohjeita. Saatujen tulosten pohjalta tavoitteena oli varmentaa jo olemassa olevaa Fimlab Laboratoriot Oy:n P-TT-INR-näytteen säilytysohjetta.

Opinnäytetyö toteutettiin kvantitatiivisena kokeellisena vertailevana tutkimuksena. Kokeellisen osuuden tulokset liitettiin kirjalliseen osuuteen. Opinnäytetyön kirjallisessa osuudessa käsiteltiin hyytymisjärjestelmän toimintaa, antikoagulanttihoitoa, INR-tulostustapaa sekä käytettyä analyysimenetelmää. Kokeellisen osuuden pohjalta syntyi matemaattisesti analysoitavaa materiaalia, jota havainnollistettiin kirjallisessa osuudessa taulukoiden avulla.

Otoksena kokeellisessa osuudessa määritettiin 47 eri potilaan kolme rinnakkaista näytettä Tampereen yliopistollisen sairaalan vuodeosastoilta. P-TT-INR-tulokset määritettiin Stago STA-R Evolution[®] -hyytymisanalyysaattorilla heti näytteenoton jälkeen sekä 24 ja 48 tunnin huoneenlämmössä säilytyksen jälkeen. Näytteiden säilytyksen jälkeinen tulos-
tasojen muutos oli vähäistä lähtöarvoon nähden. 24 tunnin säilytyksen aikana P-TT-INR-tutkimustulokset nousivat keskimäärin 7,1% tai laskivat 7,7%. 48 tunnin säilytyksen aikana tulokset nousivat keskimäärin 7,0% tai laskivat keskimäärin 7,3%. Saatujen analyysitulosten tulkinnan perusteella P-TT-INR-näyte säilyi kaksi vuorokautta kokoverenä huoneenlämmössä näytteenottoputkessa, sillä tutkimustulosten prosenttimuutokset eivät olleet kliinisesti merkitseviä. Jatkotutkimusaiheeksi saatujen tulosten pohjalta nousi erilaisten säilytys- ja kuljetustekijöiden vaikutus analyysitulokseen.

Asiasanat: hyytymisjärjestelmä, hyytymistekijä, antikoagulantti, tromboplastiiniaika, INR-tulostus, säilyvyys, Stago STA-R Evolution[®] -hyytymisanalyysaattori

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

HEISKA, MAIJA & LIIMATAINEN, ERIKA
Retain of the P-TT-INR Results in Room Temperature without Centrifugation

Bachelor's thesis 52 pages, appendices 8 pages
September 2015

The purpose of this study was to examine P-TT-INR analysis results after retaining samples in room temperature. The P-TT-INR is a follow-up study in anticoagulant pharmacotherapy. The aim of this study was to produce information on processing of the P-TT-INR samples.

The sample consisted of patient blood samples (N=47) from wards in Tampere University Hospital. The samples were analysed with Stago STA-R Evolution[®] immediately after venipuncture and after 24 and 48 hours. The data were analysed using quantitative content analysis.

As a result of this study it can be said that the changes in P-TT-INR results were comparatively slight after the retaining. The findings indicate that P-TT-INR results were reliable after keeping samples in room temperature without centrifugation. Further studies with longer retaining time and transportation factors could offer more information on the P-TT-INR samples.

Key words: haemostasis, coagulation, anticoagulant, blood sample, retaining, Stago STA-R Evolution[®] - coagulation analyzer

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	6
2	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITE.....	8
3	KOKEELLINEN TUTKIMUS	9
4	VEREN HYYTYMISJÄRJESTELMÄ JA FIBRINOLYYSI	10
	4.1 Primaarihemostaasi	10
	4.2 Sekundaarihemostaasi.....	12
	4.2.1 Hyytymistekijät.....	13
	4.2.2 Sisäinen ja ulkoinen aktivaatioreitti.....	15
	4.3 Fibrinolyysi.....	17
5	TROMBOPLASTIINIAIKAMÄÄRITYS, INR-TULOSTUS	18
	5.1 Laadukas hyytymisnäyte.....	18
	5.2 International Normalized Ratio.....	20
	5.3 Aikaisemmat tutkimukset	22
6	ANTIKOAGULANTTIHOITO	24
7	STAGO STA-R EVOLUTION® - HYYTYMISANALYSAATTORI	26
	7.1 Analyysin suoritus	27
	7.2 Virhelähteet.....	28
8	TUTKIMUKSEN SUORITUS.....	30
	8.1 Opinnäytetyön suunnittelu	30
	8.2 Kokeellisen osuuden suoritus	30
9	TULOSTEN ANALYSOINTI	33
10	TULOSTEN TULKINTA JA YHTEENVETO	37
11	POHDINTA.....	39
	LÄHTEET	42
	LIITTEET	45
	Liite 1. Tiedote laboratoriohoitajille.....	45
	Liite 2. P-TT-INR-näytteiden analyysitulokset 0, 24 ja 48 tunnin huoneenlämmössä säilytyksen jälkeen	47
	Liite 3. P-TT-INR-näytteiden analyysitulosten muutos	49
	Liite 4. P-TT-INR-näytteiden tulokset pienimmästä arvosta suurimpaan arvoon	51

ERITYISSANASTO

adheesio	trombosyyttien kiinnittyminen verisuonivaurioon
aggregaatio	trombosyyttien kiinnittyminen toisiinsa
amplitudi	värähdysliikkeen laajuus
antikoagulantti	veren hyytymistä ehkäisevä aine
fibrinolyysi	hyytymän liukeneminen ja hyytymisreaktion rajoittaminen suonivaurioalueelle, hyytymisreaktion viimeinen vaihe
hematokriitti	verisolujen suhteellinen osuus koko veren tilavuudesta
hemostaasi	elimistön reaktiot verisuonten vammoihin ja verenvuotoon
hyytymistekijät	proteiineja, jotka osallistuvat hyytymisjärjestelmän eri vaiheiden säätelyyn
inhibiittori	estäjä; tekijä joka estää tai hidastaa esim. entsyymaattista reaktiota tai fysiologista toimintoa
INR	International Normalised Ratio, tromboplastiiniajan tulostustapa
oraalinen	suun kautta annettava tai nautittava
tromboplastiini	verihiihtaleiden ja muiden solujen fosfolipidejä, jotka yhdessä hyytymistekijöiden kanssa stimuloivat protrombiinin muuttumista trombiiniksi
tromboplastiiniaika	hyytymistutkimus, joka suoritetaan kudostromboplastiinin läsnäollessa
viskositeetti	nesteen tai kaasun kyky vastustaa virtausta

1 JOHDANTO

Hemostaasi eli hyytymisjärjestelmä huolehtii elimistön tasapainon ylläpitämisestä vuotamisen ja hyytymisen välillä, sekä ylläpitää veren nestemäistä olomuotoa verisuonistossa. Lisäksi hemostaasin tehtävänä on pysäyttää verenvuoto muodostamalla hyytymävuotokohtaan ja rajoittaa hyytymä vauriokohdan läheisyyteen sekä huolehtia hyytymän liuottamisesta haavan parannuttua. (Harmening, Escobar & McGlasson 2009, 544; Moore, Knight & Blann 2010, 435; Laffan & Manning 2012, 393-394.) Hemostaasia voidaan käsitellä joko kolmivaiheisena tai kaksivaiheisena tapahtumaketjuna. Kolmivaiheiseen hemostaasiin kuuluvat primaarihemostaasi, plasman hyytymisjärjestelmä sekä fibrinolyysi, jotka toimivat osana samanaikaista tapahtumaketjua. Kaksiosaiseen hemostaasiin puolestaan kuuluu sisäinen ja ulkoinen aktivaatioreitti. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 275, 279.)

Joissain elimistön tiloissa kuten taipumuksessa laskimotukoksiin tai keuhkoveritulppiin sekä aivoveritulpan vaarassa on tarve hidastaa hyytymisjärjestelmän toimintaa. Tämä hemostaasia hidastava vaikutus toteutetaan antikoagulanttihoidolla, jonka käytetyimpänä lääkkeenä toimii varfariini. Varfariineista yleisimmin käytetty lääke on Marevan[®]. (Mustajoki & Ellonen 2014.) Osa hyytymistekijöistä on riippuvaisia K-vitamiinista (FII, FVII, FIX ja FX) (Fritsma & Fritsma 2007, 575, 579). Varfariinilääkityksen toiminta perustuu K-vitamiinista riippuvien hyytymistekijöiden toiminnan estämiseen (Lassila 2015, 36). Varfariinihoitoa seurataan tromboplastiiniaikaa mittaavalla P-TT-INR-laboratoriokokeella (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b).

Tromboplastiiniajan mittaaminen perustuu menetelmällisesti näytteen viskositeetin muuttamiseen. Tromboplastiiniajan INR-tulostustapa on kehitetty vähentämään eri laboratorioiden välillä tehtyjen tromboplastiiniajan mittaustulosten vaihtelevuutta, sekä parantamaan tulosten vertailukelpoisuutta käytetystä menetelmästä ja reagenssierästä riippumatta (Fimlab Laboratoriot Oy 2015c; My VMC 2014). P-TT-INR-tutkimusta käytetään antikoagulanttihoidon seurannassa. P-TT-INR-määrittelyssä näyttemateriaalina käytetään 3,2 %, 0,109 M Na-sitraatti-putkeen otettua laskimoverinäytettä. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b; Mustajoki & Ellonen 2015.)

Saimme opinnäytetyön aiheen Fimlab Laboratoriot Oy:ltä. Fimlab Laboratoriot Oy (Fimlab Medical Laboratories Ltd.) on Suomen suurin terveydenhuollon alan laboratorioyrittäjä, joka tuottaa laboratoriopalveluita julkisen terveydenhuollon tarpeisiin. Fimlab Laboratoriot Oy:n omistavat Pirkanmaan sairaanhoitopiirin kuntayhtymä, Kanta-Hämeen sairaanhoitopiirin kuntayhtymä sekä Keski-Suomen sairaanhoitopiirin kuntayhtymä. Laboratoriopalveluita sekä laboratorioalan tutkimusta ja koulutusta tuottava Fimlab Laboratoriot Oy on ensimmäinen julkisen terveydenhuollon puolelle perustettu laboratorioyhtiö. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015a; Pirkanmaan Sairaanhoitopiiri 2014.)

Opinnäytetyön tarkoituksena on tutkia P-TT-INR-näytteen säilyvyyttä kokoverenä näytteenottoputkessa huoneenlämmössä 0, 24 ja 48 tunnin ajan. Tulokset määritetään Stago STA-R Evolution[®] -hyytymisanalysointilaitteella Finn-Medi Deltassa kliinisen kemian yksikössä. Analysoitavien näytteiden otos koostuu 47 eri potilaan kolmesta rinnakkaisesta näytteestä, jotka otetaan Tampereen yliopistollisen sairaalan (TAYS) vuodeosastoilla. Fimlab Laboratoriot Oy:n olemassa olevan ohjekirjan mukaan (2015b) näyte säilyy kokoverenä huoneenlämmössä 24 tunnin ajan. Opinnäytetyö toteutetaan kvantitatiivisena kokeellisena tutkimuksena, jolloin se koostuu teoreettisesta viitekehystä, kokeellisesta osuudesta sekä tulosten analysoinnista. Tässä tutkimuksessa kliinisesti merkitsevällä tarkoitetaan analyysituloksen siirtymistä säilytyksen aikana antikoagulanttihoidon hoitoalueelta sen ulkopuolelle tai hoitoalueen ulkopuolelta takaisin hoitoalueelle. Antikoagulanttihoidon hoitoalue sijoittuu välille 2.0-3.0 (Puhakka 2011, 19, 22-23).

2 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITE

Opinnäytetyömme tarkoituksena on tutkia Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastualueelle P-TT-INR-näytteen säilyvyyttä kokoverenä huoneenlämmössä. Näytteitä säilytetään primaareissa näytteenottoputkissa natriumsitraatissa 24 ja 48 tunnin ajan ennen niiden analysointia. Tarkoituksemme on tuottaa tuloksia Fimlab Laboratoriot Oy:n hyödynnettäväksi P-TT-INR-näytteiden säilytystä varten.

Opinnäytetyömme tavoitteena on kehittää Fimlab Laboratoriot Oy:n näytteiden käsittely- ja säilytysohjeita. Saatujen tulosten pohjalta tavoitteena on varmentaa jo olemassa olevaa Fimlab Laboratoriot Oy:n P-TT-INR-näytteen säilytysohjetta, jonka mukaan näyte säilyy 24 tuntia kokoverenä huoneenlämmössä (Fimlab Laboratoriot Oy 2015c). Tutkimuksessa ei ole otettu huomioon näytteiden kuljetukseen vaikuttavia tekijöitä, joten opinnäytetyöstä saatuja tutkimustuloksia voidaan hyödyntää vain Tampereen yliopistollisessa sairaalassa otettujen näytteiden säilytyksessä.

Opinnäytetyön ongelmat:

Säilyykö tutkimustulos luotettavana, kun P-TT-INR-näytettä säilytetään kokoverenä näytteenottoputkessa huoneenlämmössä vuorokauden ajan?

Säilyykö tutkimustulos luotettavana, kun P-TT-INR-näytettä säilytetään kokoverenä näytteenottoputkessa huoneenlämmössä kaksi vuorokautta?

3 KOKEELLINEN TUTKIMUS

Opinnäytetyömme on kvantitatiivinen kokeellinen tutkimus. Kvantitatiiviselle tutkimukselle tyypillisiä piirteitä ovat muun muassa aiheesta kertovan aiemman teorian tutkiminen, koejärjestelyn tai aineiston keruun suunnittelu sekä koehenkilöiden tai tutkittavien aineiston valinta. Tutkimukselle on tyypillistä kerätä numeerista tai määrällistä tietoa tutkitusta aineistosta tai suoritetusta kokeesta, ja analysoida saatu aineisto taulukkomuotoon. Aineisto käsitellään tilastollisesti ja sen pohjalta tehdään päätelmiä analyttisessä muodossa. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2009, 140.)

Kokeellinen tutkimus on yksi perinteisistä kvantitatiivisen tutkimuksen muodoista. Kokeellinen tutkimus mittaa yhden käsiteltävän muuttujan vaikutusta toiseen muuttujaan. Tutkimusmuodolle tyypillistä on tietystä populaatiosta valittavien näytteiden valinta, joita analysoidaan erilaisissa koejärjestelyissä. (Hirsjärvi ym. 2009, 134.)

Opinnäytetyössämme kokeellisesti tutkittava aineisto koostuu Tampereen yliopistollisen sairaalan vuodeosastojen potilaiden verinäytteistä. Fimlab Laboratoriot Oy:n työntekijät ottavat näytteet aamukierrolla annettujen ohjeiden mukaisesti (liite 1). Opinnäytetyön tekijöinä olemme mukana aamukierrolla ottamassa näytteitä. Potilailta pyydetään suullinen lupa tutkimukseen osallistumisesta.

Muuttujana opinnäytetyömme kokeellisessa osuudessa toimii P-TT-INR-näytteiden säilytysaika. Tutkimusta varten samasta potilaasta otetaan kolme erillistä natriumsitraatinäytettä samalla näytteenottokerralla. Otos koostuu Tampereen yliopistollisen sairaalan eri vuodeosastoilla otetuista laskimoverinäytteistä. Näytteet numeroidaan ottojärjestyksen mukaisesti ja potilaskohtaisesti juoksevalla numerolla. Näyte numero yksi analysoidaan heti näytteenoton jälkeen, näyte numero kaksi 24 tunnin kuluttua näytteenotosta ja näyte numero kolme 48 tunnin kuluttua näytteenotosta. Kaikkia näytteitä säilytetään ennen analysointia kokoverenä huoneenlämmössä vakioituissa olosuhteissa.

4 VEREN HYYTYMISJÄRJESTELMÄ JA FIBRINOLYYSI

Hemostaasi eli hyytymisjärjestelmä on elimistön monimutkainen järjestelmä, joka huolehtii tasapainon ylläpitämisestä vuotamisen ja hyytymisen välillä sekä ylläpitää veren nestemäistä olomuotoa verisuonistossa. Lisäksi hemostaasin tehtävänä on pysäyttää verenvuoto trauman tai vamman yhteydessä muodostamalla hyytymä vuotokohtaan, ja rajoittaa hyytymä vauriokohdan läheisyyteen sekä huolehtia hyytymän liuottamisesta haavan parannuttua. Hemostaasi koostuu viidestä eri komponentista, joita ovat verisuonet, trombosyytit eli verihiutaleet, koagulaatioproteiinit, fibrinolyysi ja seriiniproteaasi-inhibiittorit. Epätasapaino hemostaasin komponenteissa aiheuttaa usein verisuonitukoksen tai verenvuodon. Komponenttien tasapainoa kontrolloidaan muun muassa positiivisen ja negatiivisen palautejärjestelmän (feedback) sekä inhibiittoreiden avulla. (Harmening, Escobar & McGlasson 2009, 544; Moore, Knight & Blann 2010, 435; Laffan & Manning 2012, 393-394.)

Hyytymisjärjestelmää voidaan käsitellä joko kolmivaiheisena tapahtumaketjuna tai jakamalla se kahteen osaan. Kolmivaiheisessa hemostaasissa primaarihemostaasi, plasman hyytymisjärjestelmä ja fibrinolyysi toimivat osana samanaikaisesti toimivaa tapahtumaketjua. Primaarihemostaasi käsittää verisuonten seinämän, trombosyyttien ja von Willebrand-tekijän toiminnan. Perinteisesti hyytymisjärjestelmä jaetaan kahteen osaan, joihin kuuluu sisäinen ja ulkoinen aktivaatioreitti. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 275, 279.)

Verisuonivauriot käynnistävät primaarihemostaasin, jolloin trombosyytit muodostavat vuotokohtaan hyytymän. Sekundaarihemostaasi käynnistyy primaarihemostaasin seurauksena. (Harmening ym. 2009, 545; Moore ym. 2010, 436.) Verisuonivaurion syvyydestä riippuen verisuonen endoteelista erittyy erilaisia hyytymistekijöitä, jotka kiihdyttävät veren hyytymistä (Lassila 2015, 31-32).

4.1 Primaarihemostaasi

Primaarihemostaasiin kuuluvat hyytymän muodostumiseen liittyvät ensimmäiset tapahtumat, ja tapahtumasarja käynnistyy verisuonivaurion seurauksena. Verenkierron muka-

na vaurioalueelle kulkeutuu trombosyyttejä, joiden mukana hyytymisjärjestelmä kuljetetaan alueelle. Välittömästi vaurion synnyttyä primaarihemostaasi muodostaa vauriokohtaan väljän hyytymän tarttumalla endoteelin pintaan adheesioreseptoreiden avulla. Trombosyytit vapauttavat tehokkaita koagulanttiyhdisteitä, jotka edistävät tiiviimmän hyytymän muodostamista. Trombosyyttien ja verisuonen endoteelin interaktio ovat ensimmäinen osa tapahtumaketjua, joka johtaa veritulpan muodostamiseen ja verenvuodon tyrehtymiseen suonivauriossa. (Harmening ym. 2009, 545; Lassila 2015, 32-33.)

Adheesioreseptorit osallistuvat trombosyyttien aktivaatioon sekä välittävät trombosyyttien tarttumista suonen seinämään. Trombosyyttien tärkeimmät adheesioreseptorit ovat glykoproteiini GPIb/IX/V-kompleksi ja GPIa/IIa. Ensimmäinen glykoproteiini tunnistaa von Willebrand-tekijää ja toinen glykoproteiini kollageenia. Von Willebrand-tekijä (VWF) pysäyttää trombosyyttireseptorien välityksellä trombosyytit verivirrasta ja näin ollen se on tärkeässä osassa primaarihemostaasin ylläpidossa. VWF:n avulla trombosyytit kiinnitetään sekä toisiinsa että verisuonivaurioon. Trombosyyttien kiinnittymistä toisiinsa kutsutaan aggregaatioksi ja trombosyyttien kiinnittymistä verisuonivaurioon kutsutaan adheesioksi. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 276-277; Moore ym. 2010, 444; Lassila 2015, 32-33.)

Suonesta paljastuu kollageenia, johon von Willebrand-tekijä tarttuu. Endoteelisolut reagoivat trombiinin, fibriinin, histamiinin ja adrenaliinin kanssa erittäin myös von Willebrand-tekijää. (Harmening ym. 2009, 552; Lassila 2015, 32.) Trombosyyteissä on spesifisen GPIb-reseptorin lisäksi GPIa-, GPIIb/IIIa- ja GPVI-reseptorit. GPIb-reseptorin avulla trombosyytit tunnistavat von Willebrand-tekijän ja GPIIb/IIIa-reseptorin avulla ne tarttuvat VWF-tekijään GPIa- ja GPVI-reseptorit muodostavat siteen kollageeniin. Vuorovaikutus reseptorien ja von Willebrand-tekijän välillä aikaansaa trombosyyttien kiinnittymisen vauriokohtaan nopeissakin virtausolosuhteissa. Trombosyyttireseptoreiden ja niitä tunnistavien vastinmolekyylien rakenneviat ja puutokset aiheuttavat vuotohäiriöitä. (Moore ym. 2010, 445; Lassila 2015, 35.)

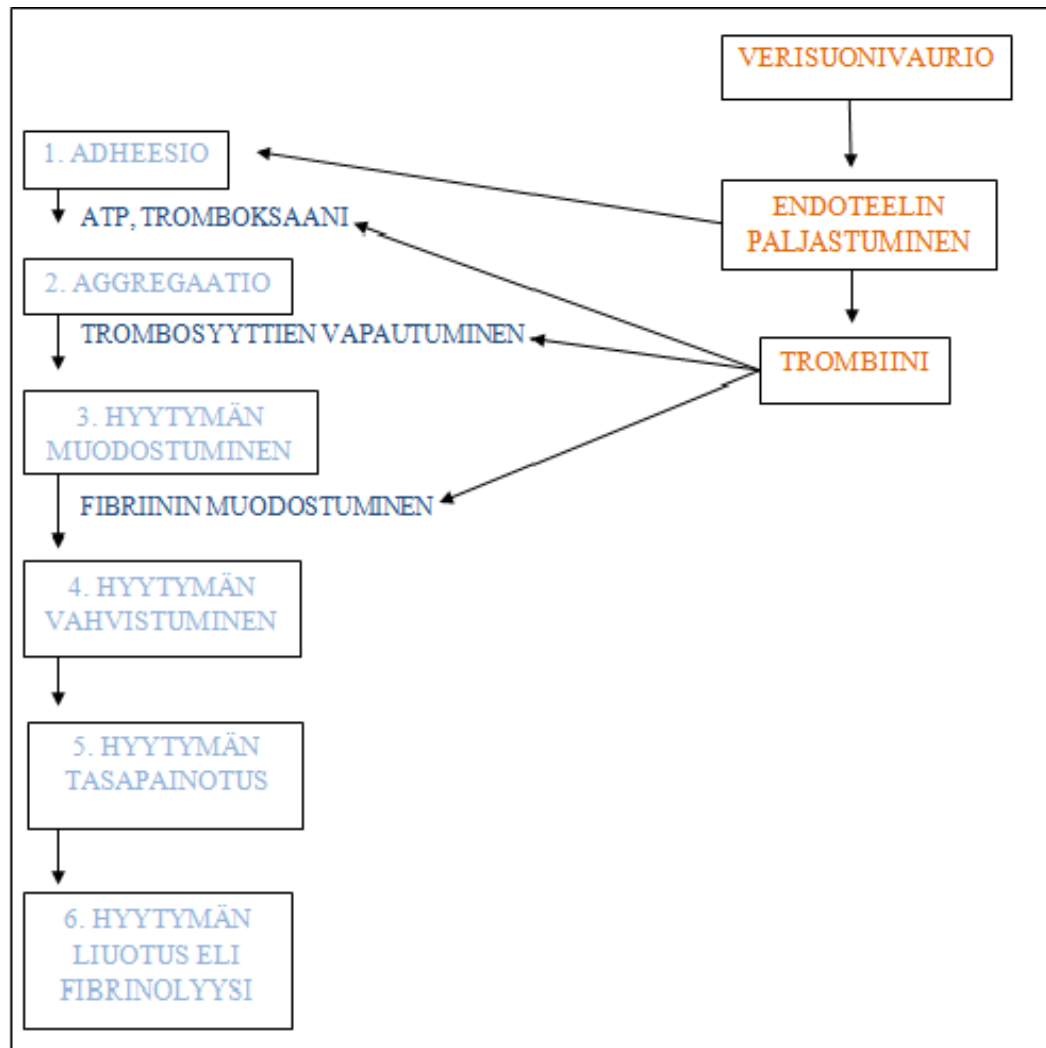
Adheesio aiheuttaa trombosyyttien aktivaation, jolloin trombosyytit muuttavat muotonsa kiekkomaisesta pallomaiseksi. Muodonmuutoksen ansiosta trombosyytit pystyvät tarttumaan toisiinsa ja muodostamaan veritulpan vauriokohtaan. Aktivaation myötä trombosyyttien varastorakkuloista vapautuu veritulpan muodostamista ja haavan para-

nemistä edistäviä välittäjäaineita, joita ovat serotoniini ja tromboksaani. Trombosyyttien aktivaation lisäksi serotoniini ja tromboksaani myös supistavat verisuonia, mikä mahdollistaa virtausvoimien kasvamisen ja sen myötä tehostaa trombosyyttien aggregaatiota sekä nopeuttaa veren hyytymistä trombosyyttien pinnassa. (Moore ym. 2010, 446-448; Lassila 2015, 33-34.)

Trombosyyttien tarttumista toisiinsa kutsutaan aggregaatioksi. Aggregaatio tapahtuu spesifisen GPIIb/IIIa-reseptorin kautta. Trombosyytit tarttuvat toisiinsa von Willebrand-tekijän ja fibrinogeenin välityksellä. Trombosyyttien aggregaatio vaatii energiaa, jota saadaan glykolyysissä tuotetusta adenosiinifosfaatista eli ATP:stä. Aggregaatio käynnistyy yleensä 10-20 sekunnin kuluttua verisuonivaurion synnystä ja trombosyyttien adheesiosta. Ionisoitu kalsium, fibrinogeenireseptori GPIIb/IIIa ja fibrinogeeni ovat välttämättömiä tekijöitä trombosyyttien aggregaatiossa. Trombosyyttien tarttumista toisiinsa kiihdytetään erilaisten trombosyyttiperäisten tuotteiden avulla, joita ovat mm. serotoniini, tromboksaani, adosiinidifosfaatti eli ADP ja trombiini. Fibrinogeenin sitouduttua aktivoituneen trombosyytin GPIIb/IIIa-reseptoriin, muodostaa solun ulkoinen kalsiumista riippuvainen fibrinogeeni siltoja trombosyyttien välille. Fibrinogeenilla on tärkeä merkitys hyytymän tasapainottamisessa, kun trombosyyttien pinnoilla syntyvä trombiini muuttaa fibrinogeenin fibriiniksi. (Harmening ym. 2009, 553–554; Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 277; Lassila 2015, 34-35.) Primaarihemostaasin toiminta on kuvattu kuvion 1 avulla.

4.2 Sekundaarihemostaasi

Fibriiniverkon muodostumista hyytymistekijöiden avulla kutsutaan sekundaarihemostaasiksi. Fibriiniverkon tarkoitus on vahvistaa trombosyyttitulppaa, joka on syntynyt primaarihemostaasissa. Trombiini, jota syntyy hyytymisjärjestelmän entsymaattisessa ketjureaktiossa, kiinnittää hyytymän paikoilleen. Verisuonivaurioiden johdosta endoteeliaalisista soluista vapautuu kudostromboplastiinia (FIII), joka voi käynnistää sekundaarihemostaasin. Puutteet sekundaarihemostaasissa vähentävät fibriinin tuotantoa ja heikentävät muodostetun tulpan pysyvyyttä, jolloin puutteet voivat ilmetä muun muassa mustelmina tai pehmytkudoksen verenvuotona. Hemofiliat ovat yksi esimerkki sekundaarihemostaasin ongelmista. (Harmening ym. 2009, 557–558.) Sekundaarihemostaasin toiminta osana primaarihemostaasia on kuvattu kuviossa 1.



KUVIO 1. Primaari- ja sekundaarihemostaasi (mukaiillen Harmening ym. 2009, 556)

4.2.1 Hyytymistekijät

Sekundaarihemostaasissa toimii useita eri hyytymistekijöitä, jotka yleensä esiintyvät veressä inaktiivisina. Hyytymistekijät voidaan jaotella ryhmiin kahdella eri tavalla. Ensimmäinen tapa on jakaa hyytymistekijät kofaktoreihin, jotka ovat entsyymattisia reaktioita kiihdyttäviä proteiineja tai glykoproteiineja, substraatteihin sekä entsyymeihin, jotka jaetaan vielä seriiniproteaaseihin ja transaminaaseihin. Toinen tapa on luokitella hyytymistekijät niiden fysikaalisten ominaisuuksien mukaan. Fysikaalisten ominaisuuksien mukaan hyytymistekijät jaetaan kontaktiproteiineihin, protrombiini-proteiineihin sekä fibrinogeenille tai trombiinille herkkiin proteiineihin. (Harmening ym. 2009, 558.) Hyytymistekijät on esitetty taulukossa 1.

TAULUKKO 1. Hyytymistekijät (mukaillen Fritsma & Fritsma 2007, 575; Harmening ym. 2009, 558; Moore ym. 2010, 450)

Hyytymistekijä	Tavanomainen nimi	K-vitamiinista riippuvainen
Faktori I	Fibrinogeeni	Ei
Faktori II	Protrombiini	Kyllä
Faktori III	Kudostromboplastiini (kudostekijä)	Ei
Faktori IV	Ionisoitu kalsium	Ei
Faktori V	Labiili tekijä	Ei
Faktori VI	Määrittelemätön	Ei
Faktori VII	Vakaa tekijä	Kyllä
Faktori VIII	Antihemofiliininen tekijä A	Ei
Faktori IX	Christmas-tekijä	Kyllä
Faktori X	Stuart-Prower-tekijä	Kyllä
Faktori XI	Protromboplastiini	Ei
Faktori XII	Hageman-tekijä	Ei
Faktori XIII	Fibriiniä stabiloiva tekijä	Ei
HMWK/HK	Kininogeeni, Fitzgerald-tekijä	Ei
PK	Prekallikreiini, Fletcher-tekijä	Ei

Useimmat hyytymistekijät muodostuvat maksassa ja osa hyytymistekijöistä on monosyyttien, endoteeliaalisolujen ja megakaryosyyttien tuottamia. K-vitamiinista riippuvaisia hyytymistekijöitä kutsutaan myös protrombiinien ryhmäksi samanlaisen rakenteensa vuoksi. Protrombiinien ryhmään kuuluvat hyytymistekijöistä II eli protrombiini, VII, IX ja X sekä säätelevistä proteiineista proteiini C, proteiini S ja proteiini Z. (Fritsma & Fritsma 2007, 575, 579.)

Protrombiinien ryhmään kuuluvat hyytymistekijät sisältävät gammakarboksyloituneita glutamyylitähteitä, joiden tarkoitus on sitoutua solukalvojen fosfolipideihin. Fosfolipidien sitominen on oleellinen osa hyytymisreaktiota. K-vitamiinia tarvitaan glutamyylitähteiden karboksylaatioon, joten sen vuoksi protrombiinien ryhmään kuuluvia hyytymistekijöitä ja proteiineja kutsutaan K-vitamiinista riippuvaisiksi. Oraalisen antikoagu-

lanttihoidon, esimerkiksi varfariinin (kauppanimi Marevan[®]), teho perustuu siihen, että gammakarbosylaatio estyy. (Fritsma & Fritsma 2007, 579; Lassila 2015, 36; Harmening ym. 2009, 558-559.)

4.2.2 Sisäinen ja ulkoinen aktivaatioreitti

Hyytymismekanismi voidaan jakaa kolmivaiheisen jaottelun lisäksi myös kahteen osaan, jotka ovat sisäinen ja ulkoinen aktivaatioreitti. Sekä sisäisen että ulkoisen reitin aktivoituminen vaatii laukaisevan tekijän. Reitin käynnistyminen johtaa useiden hyytymistekijöiden asteittaiseen aktivoitumiseen, mitä kutsutaan kaskadi- eli vesiputousreaktioksi. Kaskaditeorian mukaan jokainen hyytymistekijä aktivoituu edellisen tekijän johdosta biokemiallisten reaktioiden sarjassa. Jokainen reaktio tukeutuu edelliseen reaktioon, joten yhdenkin tekijän puutteellisuus vaurioittaa tapahtumaketjua. Hyytymistekijöiden puuttumisen seurauksena elimistön hyytymisjärjestelmä ei kykene toimimaan normaalisti, ja esimerkiksi hyytymiseen kulunut aika voi olla pidentynyt. (Harmening ym. 2009, 559; Sand, Sjaastad, Haug & Bjålie 2011, 328–329.)

Hyytymistekijät voidaan jaotella sen mukaan, toimivatko ne sisäisessä vai ulkoisessa aktivaatioreitissä. Osa hyytymistekijöistä osallistuu sekä sisäiseen että ulkoiseen aktivaatioreittiin, minkä vuoksi tällöin aktivaatioreittiä kutsutaan yhteiseksi. (Fritsma & Fritsma 2007, 580-581; Harmening ym. 2009, 560.) Taulukossa 2 on esitetty hyytymistekijät ja aktivaatioreitti, jossa ne toimivat.

TAULUKKO 2. (mukaillen Harmening ym. 2009, 560)

Hyytymistekijä	Aktivaatioreitti
I (fibrinogeeni)	Sisäinen ja ulkoinen
II (protrombiini)	Sisäinen ja ulkoinen
III (kudostromboplastiini)	Ulkoinen
V	Sisäinen ja ulkoinen
VII	Ulkoinen
VIII/vWF	Sisäinen
IX	Sisäinen
X	Sisäinen ja ulkoinen
XI	Sisäinen
XII	Sisäinen
XIII	Sisäinen ja ulkoinen
PK	Sisäinen
HMWK	Sisäinen

Ulkoinen aktivaatioreitti käynnistyy suonivaurion syntyessä, mikä aiheuttaa kudostekijän eli kudostromboplastiinin (hyytymistekijä III) vapautumisen. Kudostromboplastiini aktivoi hyytymistekijä VII:n ja VIIa:n, minkä seurauksena tekijä X muuttuu Xa:ksi. Xa muodostaa trombiinia (IIa eli aktivoitunut hyytymistekijä) irrottamalla protrombiinista (II) kaksi peptidisidosta. Xa tarvitsee hyytymistekijä V:tä, ionsoitunutta kalsiumia ja fosfolipidejä, jotta se pystyy muuttamaan protrombiinin aktiiviseksi trombiiniksi. Trombiini käynnistää myös oman säätelynsä aktivoidessaan proteiini C:n, joka inaktivoi hyytymistekijät Va:n ja VIIIa:n, mikä jarruttaa trombiinin syntyä. Trombiini aktivoi hyytymistekijä VIII:n ja V:n, jotka aikaansaavat fibrinogeenin muodostumisen fibriiniksi. Hyytymistekijä XIII:n aktivoituminen mahdollistaa fibriinin stabiloitumisen. (Lassila 2015, 38; Fritsma & Fritsma 2007, 580; Harmening ym. 2009, 561-562; Joutsikorhonen & Koski 2010, 279.)

Endoteelistä erittyy trombiinin stimuloimana kudostekijän käynnistämän hyytymisen estäjää (tissue factor pathway inhibitor, TFPI). TFPI estää hyytymistekijää Xa sekä kudostekijän ja hyytymistekijän VIIa kompleksia. Trombiinimuodostuksen säätelymekanismien pettäessä aiheutuu yleistynyt tukosmuodostus, mitä tapahtuu esimerkiksi DIC:n (disseminoitunt intravaskulaarinen koagulaatio) yhteydessä. (Lassila 2015, 38.)

Sisäinen aktivaatioreitti alkaa hyytymistekijä XII:n muuttaessa hyytymistekijän XI aktiiviseksi XIa:ksi. Jotta hyytymistekijä XII pystyy aktivoimaan XI:n, se tarvitsee HMWK:ta (High-molecular-weight kininogen) ja prekallikreiniä. Hyytymistekijä XII pystyy kuitenkin toimimaan myös ilman näitä tekijöitä, mutta tällöin aktivoituminen on paljon hitaampaa. XIa aktivoi ionisoituneen kalsiumin avulla hyytymistekijä IX:n IXa:ksi. IXa tarvitsee fosfolipidejä, ionisoitunutta kalsiumia ja hyytymistekijä VIIIa:ta, jotta se pystyy aktivoimaan hyytymistekijän X, joka johtaa reaktioketjun lopulta trombiinin ja edelleen fibrinin muodostumiseen. (Harmening ym. 2009, 562–563; Joutsikorhonen & Koski 2010, 279.)

Sekä sisäisellä että ulkoisella aktivaatioreitillä on hyytymistekijöitä, jotka toimivat molemmilla aktivaatioreitillä. Yhteisten hyytymistekijöiden vuoksi aktivaatioreittien voidaan sanoa yhtyvän toisiinsa tai tätä voidaan kutsua myös yhteiseksi aktivaatioreitiksi. Yhteisiä hyytymistekijöitä sisäisellä ja ulkoisella aktivaatioreitillä ovat I, II, X, V, XIII. (Fritsma & Fritsma 2007, 580; Harmening ym. 2009, 561-562.)

4.3 Fibrinolyysi

Fibrinolyysi, joka käsittää hyytymän liukenemisen ja hyytymisreaktion rajoittamisen suonivaurioalueelle, on hyytymisjärjestelmän viimeinen vaihe ja se käynnistyy välittömänä vasteena hemostaasille. Fibrinolyysisessä järjestelmässä pääasiallisena entsyyminä toimii plasmiini, joka pilkkoo fibriniä sakeiksi fibrinin hajoamistuotteiksi. Plasmiinia tuottaa plasminogeeni, joka on inaktiivinen entsyymien esiaste eli tsymogeeni. Plasminogeeni aktivoidaan plasmiiniksi kudosaktivaattori TPA:n avulla. TPA on plasminogeenin kudosaktivaattori. Plasminogeenin aktivoitumista plasmiiniksi edistävät myös prekallikreini, suurimolekyylinen kininogeeni (HMWK) ja hyytymistekijä XII. Fibrinolyysiä säädellään sekä aktivaattoreiden että inhibiittoreiden avulla ja siinä toimii mukana samoja tekijöitä kuin hyytymisreaktiossa. Fibrinolyysiä sääteleviä tekijöitä ovat muun muassa TAFI eli thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor, joka estää plasminogeenin tarttumista fibriniin ja PAI-1 eli plasminogeeniaktivaattorin estäjä, joka jarruttaa plasminogeenin aktivoitumista plasmiiniksi. (Fritsma & Fritsma 2007, 583-584; Harmening ym. 2009, 569; Moore ym. 2010, 468-470; Lassila 2015, 39-40.)

5 TROMBOPLASTIINIAIKAMÄÄRITYS, INR-TULOSTUS

Tromboplastiiniaika eli P-TT-tutkimus mittaa maksaperäisten K-vitamiinista riippuvien hyytymistekijöiden osuutta hyytymistapahtumasta. Sitraattiantikoaguloitua plasmaa aktivoidaan tromboplastiinilla, kalsiumin ja fosfolipidien läsnä ollessa, ja määritetään plasman hyytymiseen kuluvaa aikaa. (Joutsu-Korhonen 2015, 156.) Hyytymisajan mittaustaus perustuu menetelmällisesti näytteen viskositeetin muuttumiseen (Fimlab Laboratoriot Oy 2015c). Suomessa ja muun muassa muissa Pohjoismaissa on käytössä niin sanottu Owrenin menetelmä. Owrenin menetelmässä testireagensseihin on lisätty fibrinogeeniä ja hyytymistekijää V (FV). Testi mittaakin vain maksan tuottamien K-vitamiinista riippuvaisten tekijöiden II, VII ja X yhteisvaikutusta hyytymistapahtumassa. (Joutsu-Korhonen 2015, 156.) Potilastulos ilmoitetaan prosentuaalisena suhteena normaaliplasman protrombiinin aktiivisuuteen (normaaliplasman aktiivisuus = 100%) (Fimlab Laboratoriot Oy 2015c). Tromboplastiiniaikaa käytetään muun muassa maksan toiminnan tutkimisessa, hemostaasihäiriöiden seulonnassa ja jääplasman annostelun seurannassa. Oraalisen antikoagulanttihoidon seurannassa käytetään tromboplastiiniajan INR-tulostusta. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b.)

5.1 Laadukas hyytymisnäyte

Tromboplastiiniaika kuuluu kliinisen laboratoriodiagnostiikan alalla hyytymistutkimusten ryhmään. Laadukas hyytymistutkimustulos edellyttää huolellisesti otettua hyytymistekijänäytettä. Huolellisella preanalytiikalla ja hyvillä työtavoilla pyritään estämään kudostromboplastiinin joutuminen näytteeseen, hyytymismekanismien muu aktivoituminen sekä plasman solukontaminaatio. (Joutsu-Korhonen 2015, 152; Veripalvelu 2014.)

Näytteenotto tapahtuu normaalien laskimonäytteenottotapojen mukaisesti (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2009, 37-38, 42, 44). Kudostromboplastiinin joutumista näytteeseen voidaan estää, kun näytteenotossa käytetään mahdollisimman vähän tai ei ollenkaan staasia, ja näytteenotto tapahtuu ensimmäisellä pistolla. Näytteenotossa tulisi käyttää suurta neulaa, kooltaan esimerkiksi 19-23 G. Näyte voidaan ottaa myös tarvittaessa avotekniikalla. (Javela 2015, 22; Veripalvelu 2014.) Näytteenottoputken täyttyminen ei

saisi kestää 60 sekuntia kauempaa, ja putki tulisi täyttää huolellisesti merkkiviivaan asti (Horsti 2002).

Hyytymistekijänäyte P-TT-INR-tutkimukseen otetaan kansainvälisen sopimuksen mukaan 3,2 %, 0,109 M Na-sitraatti-putkeen (kuva 1) (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b; Joutsu-Korhonen 2015, 156). Näytteenotossa tulee noudattaa suositeltua näytteenottojärjestystä, jossa sitraattiputket otetaan ensimmäisinä mahdollisten veriviljelynäytteiden ja hukkaputkien jälkeen. Näin vältetään putkien mahdollisten säilöntäaineiden siirtyminen näyteputkesta toiseen. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015d; Tuokko ym. 2009, 40.) Kliinisen kemian laboratoriotutkimuksia varten on olemassa erilaisia säilöntäaineita sisältäviä näyteputkia. Tiedyt näistä säilöntäaineista sitovat ja inaktivoivat kalsiumia. Tällaisia antikoagulantteja ovat muun muassa sitraatti, EDTA ja oksalaatti. Näyteputkessa kalsiumin sitoutuminen antikoagulanttiin inaktivoi kalsiumin toimintaa. Kalsiumin toimintakyvyttömyys inhiboi näytteen hyytymisreaktioita, jolloin hyytymistekijöitä säilyy myöhempiä analyysejä varten. (Horsti 2002, 14.) Hukkaputkea ei tarvitse ottaa, jos hyytymisnäyte otetaan ensimmäisenä (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b; Joutsu-Korhonen 2015, 152).



KUVA 1. Na-sitraattiputkia (Kuva: Erika Liimatainen 2015)

Putki tulee täyttää huolellisesti, jolloin veren ja antikoagulantin suhde on oikea (9+1) (Javela 2015, 22; Yhtyneet Medix laboratoriot 2015). Näyteputken alitäyttö kasvattaa plasman sitraattikonsentraatiota. Sitraatin suhde lopullisessa näytteessä ei kuitenkaan ole vakio veren hematokriittiarvosta johtuen. Veren hematokriitillä eli verisolujen suhteellisella osuudella koko veren tilavuudesta on suurin vaikutus sitraattikonsentraatioon; korkea hematokriitti merkitsee korkeaa sitraattikonsentraatiota ja matala hematokriitti taas matalampaa sitraattikonsentraatiota. Suhde on suoraan verrannollinen, sillä sitraatti jakautuu näytteessä ainoastaan plasman alueelle. (Horsti 2002, 15.) Putkea tulee sekoittaa rauhallisesti kääntelemällä 4-7 kertaa eikä sitä saa ravistaa tai laittaa putkisekoittajaan. (Javela 2015, 22; Veripalvelu 2014.) Hyytymistutkimusten näytteet pyritään ottamaan aamulla ja vain kevyen aterian jälkeen. P-TT-INR-näyte voidaan kuitenkin ottaa mihin tahansa aikaan päivästä riippumatta ruokailusta tai mahdollisesti käytetystä anti-koagulanttihoidosta. (Joutsi-Korhonen 2015, 153; Puhakka 2011, 18.)

P-TT-INR-näyte säilyy 24 tuntia huoneenlämmössä kokoverenä (Fimlab Laboratoriot Oy 2015c; Laboratorio HUSLAB 2014). Fimlab Laboratoriot Oy:n (2015c) mukaan erotettu plasma säilyy kolme vuorokautta huoneenlämmössä. Plasman erottelu tapahtuu sentrifugoimalla näytteenottoputki laboratorikohtaisten ohjeiden mukaisesti. Fimlab Laboratoriot Oy:n (2015b) mukaan sentrifugointi tapahtuu MPA-C- eli Modular® Pre-analytics-C -laitteella tai manuaalisentrifugilla +20 celsiusasteessa 2000 x G:n kierrosnopeudella 10 minuutin ajan. Näytettä ei saa säilyttää jääkaappilämpötilassa (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b; Yhtyneet Medix laboratoriot 2015). Kokoveri- ja plasmanäytteen lähetys tapahtuu huoneenlämpöisenä (Laboratorio HUSLAB 2014; Yhtyneet Medix laboratoriot 2015). Plasmanäytteen pitempiaikainen säilytys tapahtuu pakastettuna (Yhtyneet Medix laboratoriot 2015).

5.2 International Normalized Ratio

International Normalised Ratio eli INR-tulostustapa luotiin vuonna 1983 (MyVMC 2014). Se kehitettiin vähentämään eri laboratorioiden välillä tehtyjen tromboplastiiniajan mittaustulosten vaihtelevuutta, sekä parantamaan tulosten vertailukelpoisuutta käytetystä menetelmästä ja reagenssierästä riippumatta (Fimlab Laboratoriot Oy 2015c; My VMC 2014). Vuonna 1985 julkaistiin (International Committee for Standardization in

Hematology 1985) suositus tromboplastiiniajan ilmoittamisesta INR-yksiköissä (Syrjä 1998).

Tromboplastiiniajan INR-arvo saadaan jakamalla potilasnäytteen hyytymisaika vertailuplasman hyytymisajalla, ja korottamalla saatu tulos ISI-potenssiin. Kontrolliarvoksi, eli vertailuplasman hyytymisajaksi luotiin alunperin keskiarvo yli kahdestakymmenestä (20) terveestä henkilöstä. Kontrolliarvoon vertaamalla saadut potilastulokset olivat laskukaavaa kehitettäessä kuitenkin vaihtelevia ja epävarmoja. INR-kaavaa johtamaan lisättiinkin vuonna 1983 kansainvälinen sensitiivisyysindeksi ISI (International Sensitivity Index) tulostustavan luotettavuuden varmistamiseksi. (MyVMC 2014.) ISI-indeksi huomioi oraalisen antikoagulanttihoidon stabiilissa vaiheessa reagenssien herkkyyserot ja yhdenmukaistaa tuloksen (Syrjä 1998).

P-TT-INR-tutkimusta käytetään yleisimmin oraalisen antikoagulanttihoidon seurannassa (Syrjä 1998). Varfariinihoidon aloittamisen jälkeen luotettava tutkimustulos on saatavilla vasta kahden viikon kuluttua. Tämä johtuu hyytymistekijöiden pitkästä puoliintumisajasta, jonka vuoksi varfariinilääkityksen hoitovasteen tasapainottuminen vie useita vuorokausia. Menetelmä ei ole herkkä hepariinihoidolle. (Yhtyneet Medix laboratoriot 2015.) Jos tromboplastiiniajan määrittämistä käytetään muihin tarkoituksiin, kuten hankinnaisten tai perinnöllisten hyytymishäiriöiden seulonnassa, tulos on hyvä ilmoittaa myös prosentteina INR-arvon rinnalla. P-TT-INR-arvon ja P-TT:n prosenttiarvojen suhde on käänteinen, jolloin P-TT:n prosenttiosuuden pienentyessä INR-arvo kasvaa. (Syrjä 1998.)

INR-tulos saadaan kaavion 1 mukaisesti:

$$\text{INR} = \left(\frac{\text{ISI} \times \text{potilaan hyytymisaika (s)}}{\text{vertailuplasman hyytymisaika (s)}} \right)$$

KAAVIO 1. International Normalized Ratio:n laskukaavio (mukaillen Fimlab Laboratoriot Oy 2015c)

P-TT-INR-arvon mittaukseen liittyy useita virhelähteitä, sillä on olemassa lukuisia tulosta nostavia ja laskevia tekijöitä. Antikoagulanttihoitoa saavan potilaan INR-arvo laskee esimerkiksi seuraavien lääkkeiden vaikutuksesta: K-vitamiini, diureetit, kortikosteroidit sekä antihistamiinit. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015c.) Matala arvo voi johtua myös maksavauriosta tai K-vitamiinin puutostiloista, joita ovat muun muassa haimainsuffisienssi, ohutsuolen limakalvon muutos sekä sappitieobstruktio. Myös estrogeenilääkityksellä on todettu olevan varfariinihoitoa pienentävä vaikutus. Peroraalisten antikoagulanttien vaikutus voi myös potentioitua esimerkiksi salisylaattien, fenytoiinin sekä amiodaronin käytön yhteydessä. Alkoholien käytöllä ja ruokavalion vaihtelulla voi edellä mainittujen tekijöiden lisäksi olla vaikutusta INR-tulostasoihin. (Yhtyneet Medix laboratoriot 2015.)

5.3 Aikaisemmat tutkimukset

Hyytymisnäytteiden analysointiin vaikuttavia tekijöitä on tutkittu aiemmin useissa opinnäytetöissä sekä ulkomailla erilaisissa olosuhteissa. Tutkimukset käsittelevät esimerkiksi hyytymisnäytteiden kuljetusta putkipostissa sekä pakastettuna. Putkipostilla kuljettamisen ei havaittu vaikuttavan merkittävästi tavallisimpiin hematologisiin ja hyytymistutkimuksiin, ja hyytymistekijöiden todettiin pysyvän stabiileina -20 °C :ssa neljä vuorokautta. (Felding, Hyltoft & Hørder 1981, 35–40; Kratz, Salem & Van Cott 2007, 293–296; Wallin, Söderberg, Grankvist, Jonsson & Hultdin 2008, 1443–1447.) Felding ym. (1981) tutkimuksessa tarkasteltiin muun muassa kemian analyttien, hormonien, hematologian analyttien, proteiinien ja hyytymistekijöiden stabiiliutta. Johtopäätöksenä hyytymistekijöiden ja trombosyyttien osalta voitiin todeta, etteivät ne säily stabiileina neljää vuorokautta $+4\text{ °C}$ ja $+20\text{ °C}$:ssa. Hyytymistekijät eivät säilyneet stabiileina myöskään ravistelussa (Felding ym. 1981, 35–40).

Kalliomäki (2012) tutki opinnäytetyössään INR-näytteen säilyvyyttä kokoverenä. Tulosten tulkinnassa hän toteaa, että saatujen tulosten perusteella P-TT-INR-näytettä on mahdollista säilyttää kokoverenä jääkaappilämpötilassa. Fimlab Laboratoriot Oy:n nykyistä P-TT-INR-näytteen 24 tunnin säilytysohjetta tukee muun muassa Fengin, Zhaon, Zhaon ja Shaon (2013) tutkimus, jossa tromboplastiiniajan analyysitulosten todettiin olevan luotettavia 24 tunnin ajan, kun näytteitä oli säilytetty 4 °C tai 24 °C :ssa. Koska opinnäytetyössämme ei tutkittu hyytymisnäytteiden kuljetukseen vaikuttavia tekijöitä,

ainoita tutkimusolosuhteisiin vaikuttavia muuttujia olivat säilytyslämpötila, säilytysaika sekä säilytys ilman sentrifugointia näytteenottoputkissa. Näitä tekijöitä käsitteleviä tutkimuksia löytyi opinnäytetyöprosessin aikana suhteellisen vähän. Aiemmat tutkimustulokset kuitenkin tukevat opinnäytetyön kokeellisen osuuden säilytysolosuhteita, ja P-TT-INR-näytteitä säilytettiin pimeässä kokoverenä huoneenlämmössä pystyasennossa näytteenottoputkissa.

6 ANTIKOAGULANTTIHOITO

Verenohennuslääkkeiden eli antikoagulanttihoidon tarkoitus on estää veritulppien syntyä pidentämällä hyytymisaika 2-3 kertaa normaalia pidemmäksi. Tällöin veri hyytyy normaaliin mekanismien avulla, mutta normaalia hitaammin. Veren ohentamista vaativia tiloja ovat muun muassa taipumus laskimotukoksiin tai keuhkoveritulppiin, aivoveritulpan vaara sekä sydämen tekoläpät. (Mustajoki & Ellonen 2014.) Maksassa tuotettavat K-vitamiinista riippuvaiset hyytymistekijät (protrombiini, FVII, FIX ja FX) sisältävät gammagarboksyloituneita glutamyyliähteitä, joiden tarkoitus on sitoutua solukalvojen fosfolipideihin. Varfariinihoidon teho perustuu gammagarboksylation estoon, josta seuraa hyytymistekijöiden toimintahäiriö huonon solukalvositoutumisen vuoksi. (Lassila 2015, 36.)

Varfariinilla toteutettu antikoagulanttihoito yleistyy terveydenhuollossa vuosittain väestön ikääntyessä ja hoitoindikaatioiden laajentuessa. Hoidon piiriin tulee asiakkaita vuosittain 5-10 % lisää. Vuonna 2007 varfariinia käytti yli 85-vuotiaista 25 % ja 75-84-vuotiaista 15 %. (Puhakka 2011, 7.) Varfariinin vaikutuksesta K-vitamiinista riippuvaisen hyytymistekijöiden synteesi muuttuu ja toiminta estyy (Joutsu-Korhonen 2015, 158). Varfariinin kaupp nimi on Marevan[®], ja sen hoitotasoa seurataan laboratoriotestien avulla. Muita viime vuosien aikana käyttöön otettuja verenohennuslääkkeitä ovat dabigatrani, rivaroksabaani ja apiksabaani. Näitä lääkkeitä käytettäessä ei laboratoriotestejä tarvita. (Mustajoki & Ellonen 2015.) INR-arvon seurannassa käytetään yhä laajemmin myös vieritestausta, jolloin määrittäminen tehdään kokoverinäytteestä, johon ei ole lisätty antikoagulanttia. Käytössä on niin sanottu Quickin menetelmä. INR-vieritestausta käytetään yleisesti kotisairaanhoidossa ja silloin, kun tulos halutaan nopeasti, joustavasti ja pienestä verimäärästä. (Joutsu-Korhonen 2015, 159.)

Marevanin[®] annos säädetään yksilöllisesti, sillä lääkkeen vaikutuksen tarve vaihtelee perimän vaikutuksesta eri ihmisillä. Lääkkeen yhteydessä käytetään usein erityistä korttia tai lomaketta hoidon sujumisen varmistamiseksi. (Mustajoki & Ellonen 2015.) Hoitoa aloitettaessa INR:n arvon tavoitetaso on 2.0-3.0. Tämä hoitoalue pätee henkilöillä, joilla hoidon aihe on esimerkiksi laskimotromboosin tai keuhkoembolian ehkäisy ja hoito tai krooninen eteisvärinä. Hoitoalue voi kuitenkin myös nousta yksilöllisesti. Esimerkiksi mekaanisen tekoläpän omaavien ihmisten intensiivinen hoitotason INR-arvo

on 2.5-3.5. (Puhakka 2011, 19, 22-23.) Terveen antikoagulanttihoitoa saamattoman henkilön INR-arvo on noin 0.7-1.2 (Laboratorio HUSLAB 2014). INR-arvo reagoi herkästi antikoagulanttihoidon hoitoalueella hyytymistekijöiden määrän muutoksiin, mutta normaalitasolla muutokset ovat hitaita. (Syrjä 1998.)

Lääkehoito tapahtuu suun kautta otettavilla tableteilla, joiden vahvuuden määrää hoitava lääkäri. Tablettien vahvuus voi olla esimerkiksi 3 milligrammaa tai 5 milligrammaa (Marevan forte®). Otettava lääkeannos määräytyy laboratoriotesteillä mitattavan P-TT-INR-arvon mukaan. Jos lääkeannoksen otto unohtuu, sen voi ottaa seuraavana päivänä. Vastaavasti jos otetaan vahingossa kaksi annosta samana päivänä, jätetään seuraavan päivän annos ottamatta. (Mustajoki & Ellonen 2015.)

Tärkeintä Marevan® -hoidossa on muistaa, että hoitotasopaino säilyy, jos elämäntavat ovat suhteellisen säännölliset. Esimerkiksi ruokavaliolla on suuri vaikutus hoitotasapainoon. (Mustajoki & Ellonen 2015.) Päivittäisessä ravinnosta suurin varfariinihoitoon vaikuttava tekijä on K-vitamiini. K-vitamiinia sisältävien kasvien käyttöä ei tarvitse vähentää, mutta vihannesten määrä on syytä pitää ruokavaliossa muuttumattomana. Vapaasti syötävinä aineksina pidetään useimpia kasviksia, juureksia sekä hedelmiä ja marjoja. Kohtuudella käytettäviä ruoka-aineita ovat kaalit, salaattit, herneet, ruusukaali, mustaherukat, kiivi ja avokado. Vain mausteenomaisesti saisi Marevan® -hoidon potilas käyttää pinaattia, nokkosta ja maustevihanneksia kuten tilliä ja persiljaa. (Terveystieteiden tutkimuskeskus ja Hyvinvoinnin tutkimuskeskus 2011.)

7 STAGO STA-R EVOLUTION® - HYYTYMISANALYSAATTORI

Fimlab Laboratoriot Oy:n Tampereen keskuslaboratoriossa hyytymisanalysointina on käytössä Stago STA-R Evolution® (kuva 2) (Diagnostica Stago, Ranska). Laitteen mittaustulos perustuu näytteen viskositeetin muuttumiseen, kun esilämmitettyyn ja laimennettuun plasmanäytteeseen lisätään tromboplastiinia ja määritetään hyytymiseen kulunut aika. Mittauskyvettiin asetettu kuula liikkuu elektromagneettisessa kentässä ja hyytymisen yhteydessä tapahtuva kuulan amplitudin muutos rekisteröidään. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b.)



KUVA 2. Stago-R Evolution® -hyytymisanalysointilaitteisto (Kuva: Erika Liimatainen 2015)

Tromboplastiiniajan mittaustulos ja sen INR-tulos kalibroidaan hyytymisanalysointilaitteelle STA-SPA+ -reagenssilla. Kalibrointi tapahtuu viivakoodikalibrointina erän vaihtuessa. Kontrolliliuoksina on käytössä STA-ScandiNorm ja STA-ScandiPath. P-TT-INR-määritykseen Stago-R Evolution®:n tarvitsee kolmea eri reagenssia. Näitä reagensseja ovat tromboplastiini, tromboplastiinin laimennin sekä STA-Owren-Koller. Tromboplastiini (reagenssi 1) on kanin tromboplastiinin ja naudan plasman seos, jossa ei ole hyytymistekijöitä II, VII ja X, ja jossa on ylimäärin tekijöitä V ja I eli fibrinogeeniä. Reagenssipakkaus sisältää 12 x 10 ml reagenssia. Reagenssi on kylmäkuivattu, ja säilytetään liuottamattomana huoneenlämmössä. Valmis reagenssi säilyy laitteessa 72 tuntia. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b.)

Tromboplastiiniireagenssi valmistetaan lisäämällä huoneenlämpöiseen reagenssipulloon (reagenssi 1) laimennusliuos eli tromboplastiinin laimennin. Tromboplastiinin laimennin on kalsiumia sisältävä liuos, ja sen tulee antaa lämmetä huoneenlämpöiseksi ennen liuotusta. Valmista liuotettua tromboplastiiniireagenssia pidetään pystyasennossa paikoillaan ensin viisi minuuttia, jonka jälkeen se sekoitetaan käsin pyörittelemällä. Liuotusta huoneenlämmössä jatketaan vielä 25 minuuttia, jonka jälkeen pulloa sekoitetaan kääntelemällä ylösalaisin. Tällöin stabilointiajan kokonaispituus ennen reagenssin asettamista analysaattorille on 30 minuuttia. Kiinteän aineen liuenneisuus tarkistetaan, ja valmiiseen reagenssiin merkitään liuotuspäivämäärä ja -kellonaika. Kun reagenssi asetetaan laitteeseen, pulloon laitetaan magneettisekoittaja sekä kavennin, mitkä parantavat reagenssin säilyvyyttä estämällä sen haihtumista. Korkiksi asetetaan reiällinen korkki. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b.)

Reagenssi 3, STA-Owren-Koller on näytteen laimennusliuos. Liuos säilytetään avoimattomana huoneenlämmössä ennen laitteeseen asettamista. Avattu pullo säilyy laitteessa 3 vuorokautta. Laimennosliuoksen pakkaus sisältää 24 x 15 ml reagenssia. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b.)

Laitteet saavat pyyntönsä Labon- ja PSM-laboratoriojärjestelmistä, ja lähettävät vastauksensa takaisin PSM:ään ja Laboniin, kun ne ovat valmistuneet. Sentrifugoidut näyteputket asetetaan analysaattorin tarjottimelle näytetelineissä ilman korkkeja. Näytteet voi laittaa koneeseen myös MPA:n eli esikäsitteilylinjaston kautta. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b.) Hyytymislinjaston esikäsitteilylaitteisto koostuu yhdestä sentrifugista, yhdestä korkinpoistajasta ja analysaattoreille vievästä kuljetuslinjastosta. MPA-C:ssä näytteet kulkevat telineissä, joihin mahtuu enintään viisi putkea kerrallaan telineitä kohti. (Rontu 2015.) Potilasnäytteiden vastaukset ovat nähtävissä erillisen näyttöpäätteen lisäksi laitteen tulospäytöllä näyteputkien ollessa analysaattorissa (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b).

7.1 Analyysin suoritus

Huoneenlämpöiset ja liuotetut tromboplastiiniireagenssit sekoitetaan varovasti kääntelemällä, niistä poistetaan pipetointineulan lävistyksen estävä punainen kumikorkki sekä

mahdolliset ilmakuplat poistetaan reagenssin pinnalta. Reagenssipulloon lisätään magneettisekoittaja sekä tarpeen mukaan säilyvyyttä parantava kavennin. Pullon korkiksi asetetaan reiällinen valkoinen korkki. Reagenssin 1 ja Owren-Kollerin viivakoodit lue-
taan laitteen viivakoodinlukijalla ja pullot asetetaan koneen ilmoittamille reagenssialu-
eille. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b.)

Stago R-Evolution[®] ilmoittaa tulokset prosentuaalisena vastauksena sekä INR-
tulostuksena. Menetelmän mittaustulos on INR:llä 0.7-8.0. Jos INR on yli 8 (tai
>MMax) vastataan yli 8. Jos tulos taas on alle 0.8 (tai <MMin), vastataan alle 0.8. Lait-
teen antamat >MMax ja <MMin tulokset tulee aina uusiksi ennen tuloksen validointia.
Ennen validointia on suositeltavaa tarkastella myös potilaan aiempia tuloksia ja varmis-
taa korkeiden INR-tulosten kohdalla tarvittaessa, ettei näyte ole hyytynyt. Tulos vasta-
taan esimerkiksi muodossa P-TT-INR 1.3, ja tuloksen viiteväli on 0.9-1.2. Tuloksen
hoitoalue, eli verenhennuslääkityshoidon tavoitetaso INR-yksiköissä on 2.0-3.0. (Fim-
lab Laboratoriot Oy 2015b.)

Hyytymisanalyysaattori Stago STA-R Evolution[®]:lle on määritelty tiettyjä asetuksia, joi-
den perusteella se uusii analyysijä. Laitteelle asetetut hyväksymisrajat P-TT-INR-
tutkimukselle ovat 0.9 ja 5.0. Jos potilastulos on alle 0.9 tai yli 5.0, analyysaattori siirtää
saadun tuloksen validointinäytölle odottamaan käyttäjän hyväksymistä. Yli 5.0 tuloksis-
sa laitteen käyttäjä tarkastelee aina potilaan tuloshistoriaa, ja yli 8.0 tuloksissa tarkastel-
laan myös näyte mahdollisten hyytymien varalta. Potilaan tuloshistoriasta poikkeavan
näytteen analyysi uusitaan aina. Uusinta suoritetaan valitsemalla analyysaattorin valinta-
näytöltä manuaalisesti näytteen uudelleenajo. Uusintatulokset vastataan huomautuksella
”Tulos varmistettu uusinta-ajossa”. Käytössä on myös delta-sääntö, joka vertaa saatua
mittaustulosta potilaan aiempaan tulokseen. Delta-säännön mukaan analyysi uusitaan,
jos saatu tulos poikkeaa yli 1.0 potilaan edellisestä arvosta. (Rontu 2015.)

7.2 Virhelähteet

Analyysimenetelmään liittyen saattaa mittaustulos olla virheellinen esimerkiksi näyte-
peräisten seikkojen takia. Vähänsikin hyytymien muodostuminen näytteessä aiheuttaa
hyytymistekijöiden kulutusta, jolloin tulokset ovat virheellisiä (Joutsu-Korhonen 2015,
152). Putken vajaa- tai liikatyttö muuttaa antikoagulantin ja veren suhdetta, ja myös

tällöin tulos voi analysoijan mittaamana olla virheellinen. Hemolyysi ei häiritse määritystä, mutta saattaa johtaa virheelliseen tulokseen, sillä putkeen on voinut jäädä vaakuun tai putki on voinut täytyä huonosti. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b.) Analyysituloksen virhelähteet voivat olla myös potilaan ominaisuuksista johtuvia. Jotkin lääke-aineet, kuten trombiini-inhibiittorit ja asetyylisalisylihapovalmisteet voivat vaikuttaa hyytymisaikaan. (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b; Mustajoki & Ellonen 2015.) Fraktioimaton tai pienimolekyylinen hepariinihoito ei kuitenkaan vaikuta tulokseen (Fimlab Laboratoriot Oy 2015b).

8 TUTKIMUKSEN SUORITUS

8.1 Opinnäytetyön suunnittelu

Saimme opinnäytetyön aiheen aihe- ja ideointiseminaarissa 9.9.2014. Aiheeksi valikoitui selvittää säilyykö P-TT-INR-näyte huoneenlämmössä kokoverenä 48 tuntia. Aiheen saimme Fimlab Laboratoriot Oy:ltä automaation vastuualueen laboratoriotyön esimies Marja-Leena Torkilta. Ylikemisti Riikka Rontu toimi opinnäytetyön päävastaavana toimeksiantajana. Opinnäytetyösuunnitelma laadittiin syksyllä 2014, ja luvat opinnäytetyön tekemiseen saimme 18.12.2014 sekä Fimlab Laboratoriot Oy:stä Eija Salo-Lievoselta että Tampereen ammattikorkeakoululta.

8.2 Kokeellisen osuuden suoritus

Opinnäytetyön kokeellisen osuuden suoritimme 13.-15.4.2015 Fimlab Laboratoriot Oy:n keskuslaboratoriossa kliinisen kemian automaatiolaboratoriossa. Ennen kokeellista osuutta olimme antaneet laboratoriotyön esimiehelle kirjalliset ohjeet (liite 1) näytteenottoa varten. Ohjeissa kerroimme, mistä aiheesta ja milloin tulemme tekemään opinnäytetyömme kokeellista osuutta ja kuinka se vaikuttaa näytteenottoon. Ohjeessa pyysimme työntekijöitä myös kysymään potilailta suullisen suostumuksen tutkimukseen osallistumisesta. Näytteet otettiin Tampereen yliopistollisen sairaalan vuodeosastoilta 47 eri potilaalta, joilla oli P-TT-INR-tutkimuspyyntö. Näytteenotto ei vaatinut mitään poikkeavia toimenpiteitä. Saatu otos koostui TAYS:n eri vuodeosastoilla otetuista potilasnäytteistä. Otos sisälsi eri-ikäisten potilaiden näytteitä riippumatta vuodeosastosta. Osalla potilaista oli antikoagulanttihoito, osalla ei, mutta sitä ei ole huomioitu tulosten tulkinnassa.

Olimme mukana aamukierrolla 13.4. ottamassa näytteitä kokeellista osuutta varten. Paikalla olleet laboratoriotyön esimiehet olivat kirjoittaneet ylimääräisten putkien tarroja valmiiksi. Aamukierron jälkeen jäimme odottamaan ylimääräisiä putkia, ja teimme taulukon näytenumeroista. Ensimmäiset näyteputket eli näytteet nro 1 menivät suoraan hyytymisanalysointilaitteeseen Stago STA-R Evolution[®]:lle. Kaiken kaikkiaan saimme kokeelliseen osuuteen näytteitä 47 eri potilaalta, jolloin näyteputkia oli yhteensä 141.

Stago STA-R Evolution[®]:n P-TT-INR-tulosten ollessa valmiita, kirjasimme ne samaan taulukkoon näytenumeroiden kanssa sekä maanantaina 13.4., tiistaina 14.4. että keskiviikkona 15.4. niille merkittyihin sarakkeisiin (liite 2). Maanantaina 13.4. asetimme juoksevilla numeroilla kaksi ja kolme merkityt putket putkitelineissä hyytymistyöpiirteen kaappiin säilytettäväksi. Kaapissa, jossa näytteitä säilytettiin, ei ollut valoa, ja sen ovet olivat kiinni koko säilytyksen ajan. Putkitelineiden viereen asetimme lämpömittarin, jonka tulokset kirjasimme ylös aamuisin klo 8 sekä tiistaina että keskiviikkona (taulukko 3). Lämpötilan tarkistuksen jälkeen lämpömittari nollattiin.

TAULUKKO 3. Lämpötilojen seuranta

	Lämpötila alin	Lämpötila ylin	Lämpötila ennen analyysia
Tiistai	22 °C	22 °C	22 °C
Keskiviikko	23 °C	24 °C	22 °C

Stago STA-R Evolution[®]:n käyttöön meidät perehdytti vuorossa oleva hyytymistyöpiirteen vastuuhoidtaja. Hyytymislinjaston laite numero kolme annettiin vain opinnäytetyön näytteiden analysointiin, jolloin sillä ei määritetty potilastuloksia muista hyytymisnäytteistä. Näytteet sentrifugoitiin näytteiden esikäsittelytyöpiirteen Thermo SL 16R sentrifugilla 2000 x G 10 minuutin ajan. Sentrifugoinnin jälkeen laitoimme näyteputket korkittomina analysaattorille. Tarkastimme näytteiden laadun silmämääräisesti sentrifugoinnin jälkeen samalla, kun laitoimme näyteputket analysaattorille. Yksikään näyteputki ei ollut vajaa tai hemolyyttinen. Stago STA-R Evolution[®]-hyytymisanalysaattori suoritti automaattisen kontrolloinnin näyteajon aikana SPA-INR-tutkimukselle. Vuorossa oleva hyytymistyöpiirteen hoitaja tarkisti kontrollitulokset jo ennen opinnäytetyön potilasnäytteiden analysoinnin aloitusta sekä sen aikana.

Tiistaina näyteputket numeroitiin uusilla juoksevilla numeroilla 1-47 ja keskiviikkona numeroilla 48-94. Putkiin jätettiin alkuperäinen käsinkirjoitettu näytenumero ja juokseva numero kaksi tai kolme. Valmiit tulokset kirjattiin taulukkoon (liite 2). Tiistaina analysoidut näyteputket korkitettiin ja jätettiin huoneenlämpöön säilytykseen varmuuden vuoksi. Keskiviikkona näytteiden analysoinnin jälkeen näyteputket hävitettiin asianmukaisesti.

9 TULOSTEN ANALYSOINTI

Tutkimuksessa määritimme P-TT-INR-arvon muuttumista 141 potilasnäytteestä. Näytteitä oli 47 eri potilaasta, joista jokaisesta oli kolme natriumsitraattihyytymisputkea. Tutkimuksessa vertailimme P-TT-INR-arvon muuttumista välittömästi näytteenoton jälkeen, 24 tunnin ja 48 tunnin säilytyksen jälkeen. Näytteitä säilytettiin kokoverenä huoneenlämmössä 22-24 °C lämpötilassa. Näyteputket sentrifugoitiin ennen analysointia. Analysoinnin suoritimme Stago STA-R Evolution[®] -hyytymisanalysaattorilla. Kirjasimme saadut tulokset taulukkoon (liite 2).

Hyytymisanalysaattori Stago STA-R Evolution[®]:lla saadut INR-arvot ovat kahden desimaalin tarkkuudella vastattuja. Potilastulokset vastataan kuitenkin Labon-laboratoriojärjestelmään yhden desimaalin tarkkuudella. Päätimmekin käyttää opinnäytetyön INR-tulosten kirjauksessa ja analysoinnissa yhden desimaalin tarkkuudella olevia arvoja. Analysaattorin tulosten pyöristäminen kahdesta desimaalista yhteen tuo suoraa tietoa INR-arvojen muutoksien vaikutuksista potilasvastauksiin, sillä P-TT-INR-tutkimuksen potilasvastaukset ilmoitetaan yhden desimaalin tarkkuudella.

Aloitimme tulosten analysoinnin laskemalla P-TT-INR-arvojen muutokset sekä desimaaleissa että prosenteissa. Vertailimme keskenään putkien numero yksi ja kaksi, kaksi ja kolme sekä yksi ja kolme P-TT-INR-arvoja. Laskennalliset tulokset kirjasimme taulukkoon (liite 3). P-TT-INR-tulosten muutoksissa saimme sekä negatiivisia että positiivisia muutosprosentteja. Osassa potilasnäytteistä arvo pysyi muuttumattomana koko säilytyksen ajan. Potilasnäytteiden P-TT-INR-lähtöarvojen vaihteluväli oli 0.9-3.3. Laskennallisia tuloksia on havainnollistettu myös taulukossa (taulukko 4).

Vertaillessamme putkien numero yksi ja kaksi P-TT-INR-tuloksia toisiinsa saimme korkeimmaksi negatiiviseksi muutosdesimaaliksi 0,3 näyttenumerolla #1126 ja #1128. Korkein positiivinen muutosdesimaali oli 0,1 näyttenumerolla #1131. Korkein negatiivinen prosentuaalinen muutos P-TT-INR-arvoissa oli näyttenumerolla #1727, jossa muutos oli 15,4%. Korkein positiivinen prosentuaalinen muutos oli 10% näyttenumerolla #1131. Matalin muutosdesimaali sekä -prosentti oli 0,0 esimerkiksi näyttenumerolla #1125 ja #1740, joilla arvo säilyi muuttumattomana. Keskimäärin INR-taso nousi 24 tunnin säilytyksen aikana 7,1% ja laski keskimäärin 7,7%.

TAULUKKO 4. Analyysitulosten muutosparametrejä

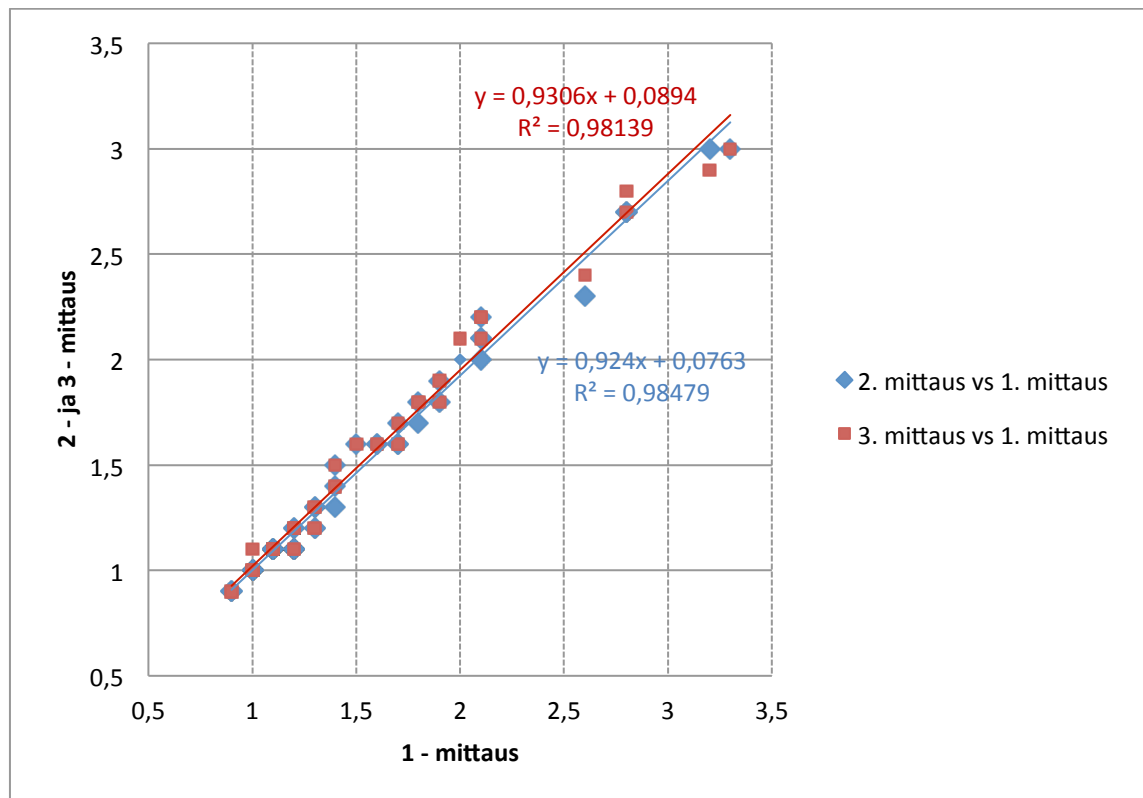
	Muutos putkien nro 1 ja 2 välillä	Muutos putkien nro 2 ja 3 välillä	Muutos putkien nro 1 ja 3 välillä
Matalin muutosdesimaali	0,0	0,0	0,0
Korkein negatiivinen muutosdesimaali	-0,3	-0,1	-0,4
Korkein positiivinen muutosdesimaali	0,1	0,2	0,1
Korkein negatiivinen muutosprosentti	-15,4%	-3,3%	-12,1%
Korkein positiivinen muutosprosentti	10%	10%	10%
Matalin muutosprosentti	0,0%	0,0%	0,0%
Muutosprosenttien keskiarvo	4,0%	1,7%	4,0%

Putkien numero kaksi ja kolme tuloksia vertaillessamme korkein negatiivinen muutosdesimaali oli 0,1 näytenumerolla #1126. Korkein positiivinen muutosdesimaali putkien numero kaksi ja kolme välillä oli 0,2 näytenumerolla #1750. Korkein negatiivinen muutosprosentti oli 3,3% näytenumerolla #1126. Vastaavasti korkein positiivinen muutosprosentti oli 10% näytenumeroilla #1758 ja #1750. Matalin muutosdesimaali sekä -prosentti myös näyteputkien numero kaksi ja kolme välillä oli 0,0 muun muassa näytenumeroilla #1786 ja #1733. INR-tason keskimääräinen nousu putkien numero kaksi ja kolme välillä oli 7,2% ja lasku 3,3%.

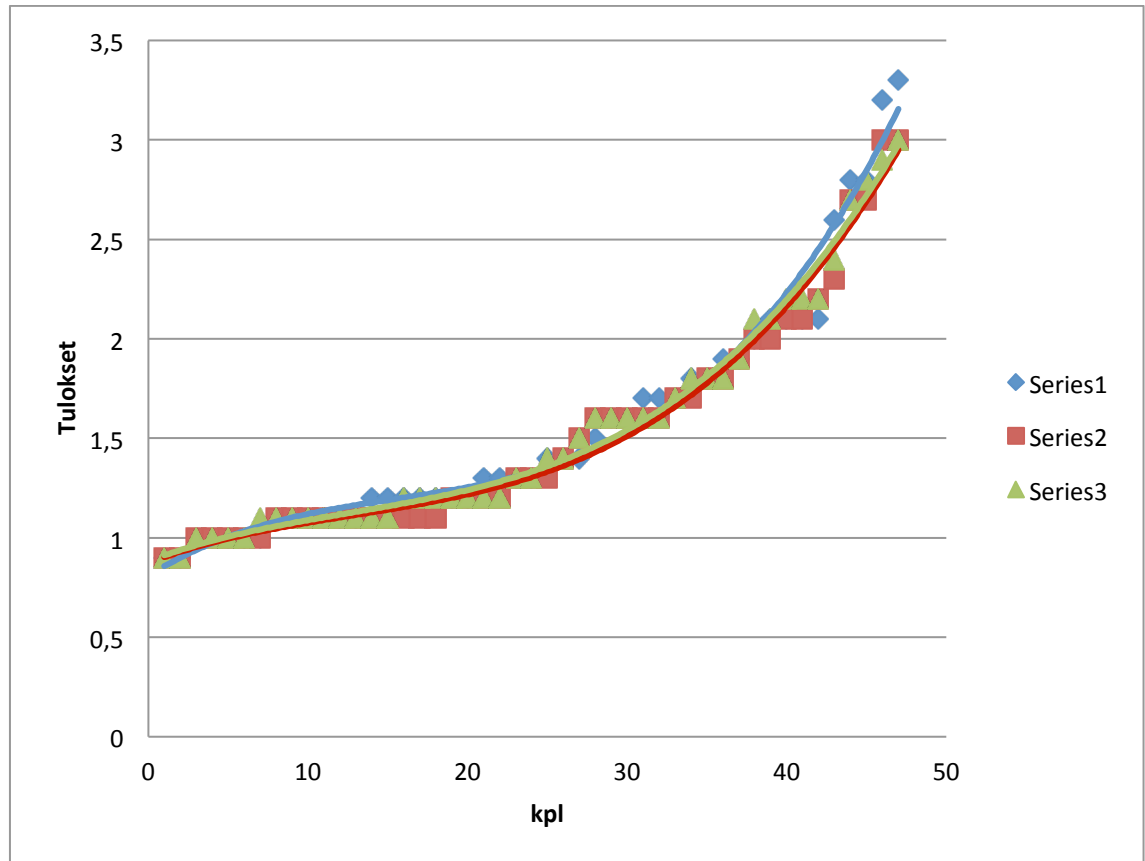
Viimeisenä vertailimme keskenään putkia numero yksi ja kolme. Näiden välillä korkein negatiivinen muutosdesimaali oli 0,4 näytenumerolla #1126. Korkein positiivinen muutosdesimaali oli 0,1, joka esiintyi usealla näytenumerolla muun muassa #1737 ja #1131. Korkein negatiivinen prosentuaalinen muutos oli 12,1% näytenumerolla #1126. Korkein

positiivinen prosentuaalinen muutos oli 10% näytenuumeroilla #1758 ja #1131. Matalin muutosprosentti sekä -desimaali näyteputkien numero yksi ja kolme välillä oli 0,0. INR-taso nousi 48 tunnin säilytyksen aikana keskimäärin 7,0% ja laski 7,3%.

Kun tarkastellaan säilytyksessä tapahtuvaa muutosta 24 ja 48 tunnin aikana huomataan, että muutos on suurinta ensimmäisen 24 tunnin aikana eli putkien numero yksi ja kaksi välillä. INR-tulostaso laskee 24 tunnin säilytyksen aikana, ja nousee 24 ja 48 tunnin säilytyksen välisenä aikana. Marevan[®] -hoitoalueella olevat ja sen ylittävät potilastulokset eli lähtöarvot välillä 2.0 ja 3.3 muuttuivat kaikki säilytyksen aikana. Vastaavasti hoitoalueen alapuolella olevista potilastuloksista osa pysyi muuttumattomina koko säilytyksen ajan. Saadut P-TT-INR-tulokset on esitetty taulukossa pienimmästä lähtöarvosta suurimpaan (liite 4). INR-arvojen muutoksia on havainnollistettu Excel-tilaukkokuvioilla (kuvio 2 ja 3).



KUVIO 2. INR-tulosten muutos 24 ja 48 tunnin säilytyksen aikana lähtöarvoon nähden. N=47. Ensimmäisen mittauksen (0 tunnin säilytys) analyysituloksia kuvaa X-akseli. 24 tunnin säilytyksen jälkeisiä mittauksia (2. mittaus vs 1. mittaus) kuvaa sininen neliö, ja 48 tunnin säilytyksen jälkeisiä mittauksia (3. mittaus vs 1. mittaus) kuvaa punainen neliö.



KUVIO 3. INR-tulokset sarjoittain pienimmästä lähtöarvosta suurimpaan. N=47.

10 TULOSTEN TULKINTA JA YHTEENVETO

Jos potilastulos on alle 0.9 tai yli 5.0 tulee mittaus uusia manuaalisesti hyytymisanalyysaattori Stago STA-R Evolution[®]:lla. Käytössä on myös delta-sääntö, jonka mukaan analyysi tulee uusia, jos saatu tulos poikkeaa yli 1.0 potilaan edellisestä mitatusta arvosta. (Rontu 2015.) Mittaustuloksissamme korkein mitattu P-TT-INR-tulos oli 3.3 ja matalin 0.9. Kaikki tulokset olivat siis mittausrajojen suhteen hyväksyttäviä. Saamamme tulokset olivat näin ollen analyytisesti luotettavia. P-TT-INR-mittaustulosten muutoksien taulukossa (liite 3) on merkitty sinisellä tulokset, jotka pysyivät muuttumattomina koko säilytyksen ajan. Delta-sääntöä ei voitu soveltaa näytteiden analysoinnissa, sillä näyteputket identifioitiin juoksevilla numeroilla eikä näytenumeroilla, jotka linkittyvät suoraan potilaskohtaisiin tuloksiin.

P-TT-INR-arvojen muutos 24 ja 48 tunnin säilytyksen aikana on suhteellisen pientä lähtöarvoon verrattuna. Suurin desimaalinen muutos 24 tuntia säilytettyjen näytteiden kohdalla tapahtui näytenumeroilla #1126 ja #1128, joissa muutos oli 0,3. Näytenuumeron #1126 P-TT-INR-lähtöarvo eli putken numero yksi tulos oli 3.3, ja näytenuumeron #1128 lähtöarvo oli 2.6. Näiden näytenuumeroiden lähtöarvot olivat yksiä korkeimmista kaikista lähtöarvoista. Matalin lähtöarvo oli 0.9 näytenumeroilla #1729 ja #1740. Molempien edellä mainittujen näytenuumeroiden arvot pysyivät muuttumattomina koko säilytyksen ajan.

Marevan[®]-hoidon kannalta on tärkeää tietää, onko mittaustulos hoitoalueella vai sen ulkopuolella (Rontu 2015). Lääkkeen hoitotaso on 2.0-3.0. Opinnäytetyötä tehdessämme emme tienneet kenellä potilaista on mahdollinen varfariinilääkitys. Tieto potilaan lääkityksestä ei ole oleellinen työmme kannalta, sillä emme tutki varfariinilääkkeen hoitotasoa vaan laboratoriotulosten luotettavuutta. Jos saatuja P-TT-INR-arvoja tulkitaan kuitenkin myös Marevan[®]-lääkehoidon kannalta, kahden eri potilaan näytteissä saadut tulokset siirtyivät säilytyksen aikana hoitotason ulkopuolelta hoitotasolle. Kyseisten potilaiden näytenuumerot olivat #1126 ja #1129.

Kaiken kaikkiaan saamamme P-TT-INR-tulokset säilyivät hyvin lähtöarvoon verrattuna koko 48 tunnin säilytyksen ajan. Muutokset tuloksissa olivat suhteellisen pieniä sekä desimaalisesti että prosentuaalisesti, jolloin ne eivät ole kliinisesti merkityksellisiä.

Kaikki saamamme tulokset olivat mittausrajojen sisällä eikä minkään tuloksen kohdalla tarvinnut soveltaa delta-sääntöä. Tästä voimme päätellä, että mittaustulokset ovat luotettavia vielä 48 tunnin kokoverenä huoneenlämmössä tapahtuneen säilytyksen jälkeen. Tulosten analysoinnissa varmentui näytteiden säilyvyys 24 tunnin ajan Fimlab Laboratoriot Oy:n nykyisen säilytysohjeen mukaisesti.

11 POHDINTA

Opinnäytetyömme tarkoituksena oli selvittää säilykö P-TT-INR-tutkimustulos luotettavana, kun näytettä säilytetään kokoverenä huoneenlämmössä yhden sekä kahden vuorokauden ajan. Saatuja tuloksia voidaan hyödyntää P-TT-INR-näytteiden säilytyksessä Fimlab Laboratoriot Oy:ssä. Teoriaosuudessa käsitellään elimistön hyytymisjärjestelmän toimintaa, P-TT-INR-mittauksen periaatteita, hyytymisnäytteenoton laadukkuutta, varfariinihoitoa sekä hyytymisanalysointia Stago STA-R Evolution[®]:n toimintaa.

Opinnäytetyömme ongelmina olivat; säilykö tutkimustulos luotettavana, kun P-TT-INR-näytettä säilytetään kokoverenä näytteenottoputkessa huoneenlämmössä vuorokauden ajan, ja säilykö tutkimustulos luotettavana, kun P-TT-INR-näytettä säilytetään kokoverenä näytteenottoputkessa huoneenlämmössä kaksi vuorokautta. Näihin ongelmiin voimme vastata yhtenäisesti tulosten analysoinnin perusteella P-TT-INR-näytteen tutkimustuloksen säilyvän luotettavana kokoverenä näytteenottoputkessa huoneenlämmössä sekä yhden että kahden vuorokauden ajan.

Opinnäytetyö tehtiin yhteistyössä Fimlab Laboratoriot Oy:n kanssa. Yhteyshenkilöinä ja työn tarkastajina toimivat Fimlab Laboratoriot Oy:n ylikemisti Riikka Rontu ja laboratoriotyön esimies Marja-Leena Torkki. Analysoitavien näytteiden keruussa aamunäytteenotossa 13.4.2015 olivat mukana osa Fimlab Laboratoriot Oy:n laboratoriohoitajista. Haluammekin kiittää Fimlab Laboratoriot Oy:n henkilökuntaa, joka on osallistunut opinnäytetyön kokeellisen osuuden toteutukseen, ja ohjannut opinnäytetyön tekemisessä.

Elimistön hyytymisjärjestelmän toiminnan ymmärtäminen on olennainen osa sekä anti-koagulanttihoitoa että hyytymistutkimusten analysointia ajatellen. Tämän vuoksi olemme käsitelleet työssämme hemostaasia sekä varfariinihoidon toteutusperiaatteita. Hyytymistutkimuksissa olennainen osa on myös hyytymisnäytteiden laatu, minkä takia olemme käsitelleet näytteenottoa omana osa-alueenaan. Koska opinnäytetyömme tarkoituksena oli tuottaa matemaattisesti analysoitua materiaalia, valitsimme opinnäytetyön menetelmäksi kvantitatiivisen kokeellisen tutkimuksen. Työn kirjallisen osuuden tuotossa käytimme Microsoft Word-tekstinkäsittelyohjelmaa sekä Excel-laskentataulukko-ohjelmistoa.

Alkuperäinen suunnitelmamme oli tehdä kokeellinen osuus 50 eri potilaan näytteistä. Kolmen potilaan näytteet jätettiin kuitenkin ottamatta. Nämä kolme potilasta joko kieltäytyivät tutkimukseen osallistumisesta tai heistä ei saatu kunnollisia näytteitä. Työn luotettavuuden kannalta kolmen potilaan näytteiden puuttuminen ei ollut merkittävää, ja otos oli riittävän suuri. Laboratoriotyönjohtajat olivat etukäteen tehneet ylimääräiset tarrat tutkimukseemme tuleville näyteputkille aamukiertoa varten, joten emme itse voineet vaikuttaa potilaiden valintaan tai rajaamiseen. Kaikki näytteet tarkistettiin visuaalisesti ennen analysointia, jolloin olemme pyrkineet laadunvarmistukseen kokeellisen osuuden eri vaiheissa. Saimme hyvän perehdytyksen Stago STA-R Evolution[®] – hyytymisanalysointilaitteen käyttöön, ja osasimme käyttää laitetta oikein saadaksemme luotettavia analyysituloksia.

Lähteinä opinnäytetyössä käytimme sekä suomenkielisiä että englanninkielisiä lähteitä. Pyrimme arvioimaan lähteiden luotettavuutta niiden alkuperän ja julkaisuajankohdan perusteella. Suurin osa hyytymisjärjestelmää käsittelevän teoriaosuuden lähteistä oli englanninkielisiä, mikä teki kirjoittamisesta haasteellista. Kääntämistä helpotti useiden termien kirjoitusasun samankaltaisuus kirjoituskielestä riippumatta. Osan yli kymmenen vuotta vanhoista lähteistä olemme arvioineet luotettaviksi, jolloin uskalsimme käyttää niitä. Vanhemmat lähteet käsittelevät muun muassa INR-tulostustavan historiaa. Lähteitä löytyi kirjoitettavasta teoriaosuudesta riippuen vaihtelevasti. Pyrimme merkitsemään lähteet ja lähdeviitteet asianmukaisella tavalla. Myös taulukoihin, kaavioihin ja kuviin on merkitty lähteet.

Opinnäytetyön kirjoittamiseen haastavuutta toi hyytymisjärjestelmän teoriaosuuden rajaus, sillä hemostaasi on mekanismina hyvin laaja ja monimutkainen. Sekä suomen- ja englanninkielisissä kirjallisuuslähteissä hyytymisjärjestelmän teoriatieto oli kuitenkin yhteneväistä, jolloin tiedon luotettavuutta oli helppo arvioida. Työtä tehdessämme huomasimme myös eri laboratorioiden ohjekirjojen poikkeavan toisistaan monessa suhteessa. Työssämme käytimme pääasiallisesti kuitenkin toimeksiantajamme eli Fimlab Laboratoriot Oy:n ohjekirjaa.

Tehdessämme opinnäytetyötä pyrimme huomioimaan bioanalytiikan eettiset ohjeet. Tutkimuksessa käytettyjen potilasnäytteiden potilastiedot eivät tulleet julki missään työn vaiheessa. Potilailta, joilta näytteet kerättiin, kysyttiin myös suullinen suostumus

tutkimusta varten. Osa potilaista ilmaisikin haluttomuutensa heistä peräisin olevien näytteiden käyttöön tutkimuksessa, ja näin ollen kieltäytyivät ylimääräisten näyteputkien otosta.

Teimme opinnäytetyötämme sekä yhdessä että erikseen. Jaoimme teoriaosuuden niin, että molemmat pystyivät kirjoittamaan sitä itsenäisesti. Tämä helpotti opinnäytetyön teon aikatauluttamista. Tarkastimme toistemme osuuksia useasti, ja hioimme niiden sisältöä vielä yhdessä. Kokeellisen osuuden ja siihen liittyvän kirjallisen tuotoksen, kuten taulukoinnin ja tulosten analysoinnin olemme suorittaneet kokonaan yhdessä. Opinnäytetyön työstäminen yhdessä tuo useita eri näkökulmia samoihin asioihin, ja näin meidän oli helpompi valita esimerkiksi taulukointi- ja analysointitapa. Opinnäytetyötä tehdessämme opimme suunnittelemaan kokeellisen tutkimuksen suoritusta, huomioimaan laadullisia tekijöitä laboratoriotyön eri vaiheissa sekä käyttämään enemmän englanninkielisiä lähteitä teoriaosuutta tehdessämme.

Saatujen tutkimustulosten pohjalta esille nousi mahdollisia jatkotutkimusehdotuksia. Mielestämme hyödyllistä olisi tutkia P-TT-INR-näytteen säilyvyyttä myös kolmen vuorokauden ajan. Kolmen vuorokauden säilyvyys vastaisi säilytystä esimerkiksi perjantaina maanantaihin Fimlab Laboratoriot Oy:n aluetoimipisteissä. Jos P-TT-INR-näytteet kuitenkin säilyisivät analyysikelpoisina kokoverenä huoneenlämmössä, ne voitaisiin luotettavasti analysoida vielä maanantaina säilytyksen jälkeen. Näin ollen aluetoimipisteissä näytteitä ei tarvitsisi sentrifugoida perjantai-iltapäivisin, vaan ne säilyisivät näytteenottoputkissa. Jatkotutkimuksena säilyvyyttä voisi vertailla myös eri putkivalmistajien ja laboratorioden välillä, sillä eri laboratorioden ohjekirjojen säilytysohjeet poikkeavat toisistaan. Kokeellisessa osuudessamme käytimme vain Tampereen yliopistollisen sairaalan vuodeosastoilla otettuja näytteitä, joten kuljetusta ei huomioitu tulosten tulkinnassa. Jatkotutkimuksena voisi tutkia erilaisten kuljetusolosuhteiden vaikutusta analyysituloksiin.

LÄHTEET

Fimlab Laboratoriot Oy. 2015a. Yritys. Luettu 19.1.2015. <http://www.fimlab.fi>

Fimlab Laboratoriot Oy. 2015b. Työohje: Tromboplastiiniaika, TT ja INR. Käyttöönottopäivä 12.1.2015. Tulostettu 12.1.2015. <http://www.myvmc.com/investigations/blood-clotting-international-normalised-ratio-inr/ - C2>

Fimlab Laboratoriot Oy. 2015c. Tromboplastiiniaika, INR-tulostus. Ohjekirja. Käyttöönottopäivä 5.6.2015. Luettu 17.9.2015. http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6659;id=13190

Fimlab Laboratoriot Oy. 2015d. Verinäytteenottoputket Taysissa. Ohjekirja. Käyttöönottopäivä 8.7.2015. Luettu 28.9.2015. http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=195;setid=5855;id=13276

Felding, P., Hyltoft Petersen, P. & Hørder, M. 1981. The stability of blood, plasma and serum constituents during stimulated transport. *Scandinavian Journal of Clinical Laboratory & Investigation*. 1981, nro 41, 35–40.

Feng, L., Zhao, Y., Zhao, H. & Shao, Z. 2013. Effects of storage time and temperature on coagulation test and factors in fresh plasma. Luettu 27.9.2015. <http://www.nature.com/articles/srep03868>

Fritsma, M. & Fritsma, G. 2007. Normal Hemostasis and Coagulation. Teoksessa Rodak, B., Fritsma, G. & Doig, K. (ed.) *Hematology Clinical Principals and Applications*. Third edition. St. Louis: Saunders Elsevier. 575-584.

Harmening, D.M., Escobar, C.E. & McGlasson D.L. 2009. Introduction to Hemostasis. Teoksessa Harmening, D.M. (ed.) *Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis*. Fifth edition. Philadelphia: F.A. Davis Company. 544–569.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita. 15. uudistettu painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Horsti, J. 2002. Prothrombin Time - Evaluation of Determination Methods. Tampereen yliopisto. Lääketieteen laitos. Väitöskirja. 14-15.

Javela, K. 2015. Hemostaasitutkimusten preanalytiikka. *Moodi* 1/2015. 22.

Joutsu-Korhonen, L. 2015. Hyytymistutkimukset. Teoksessa Porkka, K., Lassila, R., Remes, K. & Savolainen, E-R. (toim.) *Veritaudit*. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 152-153, 156, 158-159

Joutsu-Korhonen, L. & Koski, T. 2010. Hemostaasin tutkimukset. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia*. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 275-279.

Kalliomäki, A. 2012. INR-näytteen säilyvyys kokovereneä: Etelä-Karjalan sosiaali- ja terveystieteiden kliinisen kemian laboratoriossa. Bioanalytiikan koulutusohjelma. Savonia-ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö.

Kratz, A., Salem, R. O. & Van Cott, E. M. 2007. Effects of a Pneumatic Tube System on Routine and Novel Hematology and Coagulation Parameters in Healthy Volunteers. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2007, nro 131, 293–296.

Laboratorio HUSLAB. 2014. Tromboplastiini aika, INR-tulostus, plasmasta. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 27.8.2014. Luettu 16.4.2015. <http://huslab.fi/ohjekirja/4520.html>

Laffan, M.A. & Manning, R. 2012 Investigation of haemostasis. Teoksessa Bain, B.J., Bates, I. & Lewis, S.M. (ed.) *Practical Haematology*. 11th edition. London: Elsevier Churchill Livingstone. 393-394.

Lassila, R. 2015. Veren hyytyminen ja fibrinolyysi. Teoksessa Porkka, K., Lassila, R., Remes, K. & Savolainen, E-R. (toim.) *Veritaudit*. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 31-41.

Mustajoki, P. & Ellonen, M. 2015. Verenhennuslääkkeet (antikoagulanttihoito). *Terveyskirjasto*. Tarkastettu 7.4.2015. Luettu 28.4.2015. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00007 - s7

Moore, G., Knight, G. & Blann, A. 2010. *Haematology*. New York: Oxford University Press Inc. 435-470.

MyVMC. 2014. Blood Clotting: International Normalised Ratio (INR). My Virtual Medical Centry. Päivitetty 16.9.2014. Luettu 2.3.2015. <http://www.myvmc.com/investigations/blood-clotting-international-normalised-ratio-inr/>

Pirkanmaan Sairaanhoidopiiri. 2014. Fimlab Laboratoriot Oy. Julkaistu 19.6.2007. Päivitetty 24.7.2014. Luettu 19.1.2015. <http://www.pshp.fi/default.aspx?contentid=325>

Puhakka, J. (toim.) 2011. *Antikoagulanttihoito* käsikirja. Juvenes Print - Tampereen yliopistopaino Oy: Tampere. 7, 18-19, 22-23.

Rontu, R. ylikemisti. 2015. Ohjeita INR-arvojen tulkintaan. Sähköpostiviesti. erika.liimatainen@soc.tamk.fi. Luettu 16.4.2015

Sand, O., Sjaastad, Ø. V., Haug, E. & Bjälle, J. G. 2011. *Ihminen – anatomia ja fysiologia*. 1. painos. Helsinki: WSOYpro Oy. 328-329

Synlab. Tromboplastiini aika, INR-tulostus (4520 P-TT-INR). Laboratoriokäsikirja. Luettu 28.4.2015. <http://www.synlab.fi/laboratoriokasikirja/tuotekuvaukset/hyytymisjarjestelma-tutkimukset/tromboplastiiniaikainr/>

Syrjä, M. 1998. Suositus INR:n käytöstä oraalisen antikoagulanttihoito laboratorioseurannassa. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim*. Luettu 14.4.2015. http://duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&viewTy-pe=viewArticle&tunnus=duo80132&dlehtihaku view article WAR dlehtihaku p au th=

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. 2011. Ohje varfariinia käyttävälle. Päivitetty 15.12.2011. Luettu 29.3.2015. <https://www.thl.fi/fi/tutkimus-ja-asiantuntijatyo/tyokalut/antikoagulaatiohoidon-ohjeet/ohje-varfariinia-kayttavalle>

Tuokko S., Rautajoki A. & Lehto, L. 2009. Kliiniset laboratorionäytteet - opas näytteiden ottoa varten. 1.-2. painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi. 37-38, 40, 42, 44.

Veripalvelu. 2014. Hemostaasitutkimusten näytteenotto. Suomen Punainen Risti. Julkaistu 1.12.2014. Luettu 21.1.2015. <http://www.veripalvelu.fi/www/2900>

Wallin, O., Söderberg, J., Grankvist, K., Jonsson, P. A. & Hultdin, J. 2008. Preanalytical effects of pneumatic tube transport on routine haematology, coagulation parameters, platelet function and global coagulation. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2008, nro 46, 1443–1449.

Yhtyneet Medix Laboratoriot. 2015. Tromboplastiiniaika. Laboratoriokäsikirja. Päivitetty 14.1.2015. Luettu 16.4.2015. http://www.yml.fi/tuotekuvaus_show.php?tuotenro=359

LIITTEET

Liite 1. Tiedote laboratoriohoitajille

1 (2)



TIEDOTE LABORATORIOHOITAJILLE

Teemme opinnäytetyötä Tampereen ammattikorkeakouluun bioanalytiikan koulutusohjelmaan liittyen hyytymisnäytteisiin ja niiden säilyvyyteen. Vertailemme säilytysaikojen vaikutusta P-TT-INR-tutkimustuloksiin, kun näytteitä on säilytetty kokoverenä huoneenlämmössä.

Tutkimukseen tarvitsisimme 50 potilaasta **kolme** rinnakkaista hyytymisnäytettä, jotka otetaan aamukierrolla hyytymistekijäputkiin (Na-sitraatti 3,2%) 5/3,5 ml. Potilastiedot eivät tule ulkopuolisten tietoon missään vaiheessa opinnäytetyöprosessia. Potilaalta tulee pyytää suullinen suostumus tutkimukseen osallistumisesta. Lupa potilasnäytteiden keräämiseen potilaan suullisella suostumuksella on saatu Marja-Leena Torkilta 11.12.2014.

Tulemme tekemään kokeellista osuutta viikolla 16 (13.-17.4.2015). Toivoisimme näytteet otettavan maanantaina 13.4. aamukierrolla sellaisista potilaista, joista on valmiiksi tehty hyytymistutkimuspyyntö. Näytteenotto ei vaadi normaalista poikkeavia toimenpiteitä ja muut mahdolliset näytteet voi ottaa samalla näytteenottokerralla. Rinnakkaisiin näyteputkiin tulisi merkitä sama näytenumero kuin varsinaisessa tutkimusputkessa. Ylimääräisiin putkiin merkitään näytenuumeron lisäksi numerot kaksi (2) ja kolme (3).

Kiitos avustanne!

(jatkuu)

TOIMINTAOHJE

- Pyydä potilaalta suullinen lupa sisäiseen tutkimukseen osallistumisesta.
- Ota pyydetty verinäytteet näytteenotto-ohjeiden mukaisiin putkiin.
- Merkitse ylimääräiset putket tyhjällä tarralla, johon kirjoitetaan varsinaisen tutkimusputken näyttenumero sekä numerot 2 ja 3. Tulemme 13.4. aamukierrolle mukaan avuksi kirjoittamaan tarroja.
- Laita viivakoodittomat putket erilliseen telineeseen, etteivät rinnakkaiset näytteet joudu esikäsittelylinjastolle. Viivakoodilliset putket saavat mennä analysaattorille normaalisti.
- Toimita viivakoodittomat putket laboratorioon niille merkittyyn paikkaan.

Ystävällisin terveisin

Bioanalyytikko-opiskelijat

Maija Heiska

maija.sundell@soc.tamk.fi

0407007086

Erika Liimatainen

erika.liimatainen@soc.tamk.fi

0503434510

Liite 2. P-TT-INR-näytteiden analyysitulokset 0, 24 ja 48 tunnin huoneenlämmössä säilytyksen jälkeen

1 (2)

Näytenumero	Tulos putkelle nro 1	Tulos putkelle nro 2	Tulos putkelle nro 3
#1761	1.7	1.6	1.6
#1740	0.9	0.9	0.9
#1128	2.6	2.3	2.4
#1122	1.6	1.6	1.6
#1131	1.0	1.1	1.1
#1125	2.1	2.1	2.1
#1134	2.8	2.7	2.7
#1123	2.0	2.0	2.1
#1126	3.3	3.0	2.9
#1129	3.2	3.0	3.0
#1135	1.3	1.2	1.2
#1744	1.1	1.0	1.0
#1729	0.9	0.9	0.9
#1776	1.4	1.5	1.5
#1752	1.2	1.2	1.2
#1741	1.2	1.1	1.1
#1785	1.8	1.7	1.7
#1775	1.2	1.1	1.1
#1727	1.3	1.1	1.2
#1748	1.6	1.6	1.6
#1777	1.4	1.3	1.4
#1717	1.0	1.0	1.0
#1731	1.1	1.1	1.1
#1721	1.9	1.7	1.8
#1722	1.3	1.2	1.2

(jatkuu)

2 (2)

#1762	1.1	1.1	1.1
#1133	2.1	2.2	2.2
#1121	1.2	1.2	1.2
#1130	1.1	1.1	1.1
#1127	2.1	2.1	2.2
#1735	1.8	1.8	1.8
#1724	1.9	1.9	1.9
#1764	1.7	1.8	1.8
#1745	1.0	1.0	1.0
#1730	2.8	2.7	2.8
#1732	1.2	1.1	1.1
#1737	1.2	1.3	1.3
#1749	1.5	1.6	1.6
#1758	1.0	1.0	1.1
#1769	1.0	1.0	1.0
#1782	1.1	1.1	1.2
#1786	1.4	1.4	1.4
#1733	1.3	1.3	1.3
#1755	1.2	1.1	1.2
#1750	2.1	2.0	2.2
#3700	1.1	1.1	1.1
#1767	1.7	1.6	1.6

Liite 3. P-TT-INR-näytteiden analyysitulosten muutos

1 (2)

Näyttenumero	Muutos putkien nro 1 ja 2 välillä	Muutos putkien nro 2 ja 3 välillä	Muutos putkien nro 1 ja 3 välillä
#1761	-0.1, -5,9%	0, 0%	-0.1, -5,9%
#1740	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1128	-0.3, -11,5%	+0.1, +4,3%	-0.2, -7,7%
#1122	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1131	+0.1, +10%	0, 0%	+0.1, +10%
#1125	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1134	-0.1, -3,6%	0, 0%	-0.1, -3,6%
#1123	0, 0%	+0.1, +5%	+0.1, +5%
#1126	-0.3, -9,1%	-0.1, -3,3%	-0.4, -12,1%
#1129	-0.2, -6,3%	0, 0%	-0.2, -6,3%
#1135	-0.1, -7,7%	0, 0%	-0.1, -7,7%
#1744	-0.1, -9,1%	0, 0%	-0.1, -9,1%
#1729	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1776	+0.1, +7,1%	0, 0%	+0.1, +7,1%
#1752	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1741	-0.1, -8,3%	0, 0%	-0.1, -8,3%
#1785	-0.1, -5,6%	0, 0%	-0.1, -5,6%
#1775	-0.1, -8,3%	0, 0%	-0.1, -8,3%
#1727	-0.2, -15,4%	+0.1, +9,1%	-0.1, -7,7%
#1748	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1777	-0.1, -7,1%	+0.1, +7,7%	0, 0%
#1717	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1731	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1721	-0.2, -10,5%	+0.1, +5,9%	-0.1, -5,3%
#1722	-0.1, -7,7%	0, 0%	-0.1, -7,7%
#1762	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1133	+0.1, +4,8%	0, 0%	+0.1, +4,8%

(jatkuu)

2 (2)

#1121	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1130	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1127	0, 0%	+0.1, +4,8%	+0.1, +4,8%
#1735	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1724	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1764	+0.1, +5,9%	0, 0%	+0.1, +5,9%
#1745	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1730	-0.1, -3,6%	+0.1, +3,7%	0, 0%
#1732	-0.1, -8,3%	0, 0%	-0.1, -8,3%
#1737	+0.1, +8,3%	0, 0%	+0.1, +8,3%
#1749	+0.1, +6,7%	0, 0%	+0.1, +6,7%
#1758	0, 0%	+0.1, +10%	+0.1, +10%
#1769	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1782	0, 0%	+0.1, +9,1%	+0.1, +9,1%
#1786	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1733	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1755	-0.1, -8,3%	+0.1, +9,1%	0, 0%
#1750	-0.1, -4,8%	+0.2, +10%	+0.1, +4,8%
#3700	0, 0%	0, 0%	0, 0%
#1767	-0.1, -5,9%	0, 0%	-0.1, -5,9%
Negatiivisten muutosprosenttien keskiarvo	7,7%	3,3%	7,3%
Positiivisten muutosprosenttien keskiarvo	7,1%	7,2%	7,0%
Muutosprosentin keskiarvo	4,0%	1,7%	4,0%

Liite 4. P-TT-INR-näytteiden tulokset pienimmästä arvosta suurimpaan arvoon

1 (2)

Tulos putkelle nro 1	Tulos putkelle nro 2	Tulos putkelle nro 3
0,9	0,9	0,9
0,9	0,9	0,9
1	1	1
1	1	1
1	1	1
1	1	1
1	1	1,1
1,1	1,1	1,1
1,1	1,1	1,1
1,1	1,1	1,1
1,1	1,1	1,1
1,1	1,1	1,1
1,1	1,1	1,1
1,1	1,1	1,1
1,2	1,1	1,1
1,2	1,1	1,1
1,2	1,1	1,2
1,2	1,1	1,2
1,2	1,1	1,2
1,2	1,2	1,2
1,2	1,2	1,2
1,3	1,2	1,2
1,3	1,2	1,2
1,3	1,3	1,3
1,3	1,3	1,3
1,4	1,3	1,4
1,4	1,4	1,4

(jatkuu)

2 (2)

1,4	1,5	1,5
1,5	1,6	1,6
1,6	1,6	1,6
1,6	1,6	1,6
1,7	1,6	1,6
1,7	1,6	1,6
1,7	1,7	1,7
1,8	1,7	1,8
1,8	1,8	1,8
1,9	1,8	1,8
1,9	1,9	1,9
2	2	2,1
2,1	2	2,1
2,1	2,1	2,2
2,1	2,1	2,2
2,1	2,2	2,2
2,6	2,3	2,4
2,8	2,7	2,7
2,8	2,7	2,8
3,2	3	2,9
3,3	3	3