



# HEMOLYYSI- JA LIPEMIA- HÄLYTYSRAJOJEN MÄÄRITTÄMINEN SYSMEX CS-2100I -HYTYMIS- ANALYSAATTORILLE

TEKIJÄT: Merja Heikkinen  
Anna-Leena Hintikka  
Ilona Huuskonen

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijät Heikkinen, Merja, Hintikka, Anna-Leena, Huuskonen, Ilona	
Työn nimi Hemolyysi- ja lipemia-hälytysrajojen määrittäminen Sysmex CS-2100i –hyytymisanalysointilaitteille	
Päiväys	20.4.2016
Sivumäärä/Liitteet	48/4
Ohjaaja(t) Björn, Marko	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani Islab/ Mättö, Mikko	
<p>Tiivistelmä</p> <p>Potilasnäytteen ollessa hemolyyttinen sen punasolumäärä ja hematokriitti laskee. Verinäytteestä erotellun plasman tai seerumin värjää hemoglobiini, joka vapautuu, kun punasolujen solukalvot hajoavat. Solun hajotessa seerumiin tai plasmaan joutuvien solunsisäisten komponenttien vaikutuksesta plasman tai seerumin koostumus muuttuu, jonka vuoksi laboratoriotulokset ovat vääriä ja epäluotettavia. Hemolyysi vaikuttaa jopa 3,3 % kliinisen laboratorion rutiininäytteisiin. Analyysiin soveltumattomista näytteistä lähes 70 % on hemolyyttisiä.</p> <p>Lipemia on sameutta näytteessä ja se aiheutuu lipoproteiinien hiukkasten kertymisestä. Spektrofotometrinen laite ei pysty tulkitsemaan lipeemisiä näytteitä oikein niiden sameuden takia, koska laitteen käyttämä valo absorboituu lipoproteiinihiukkasiin.</p> <p>Hyytymisanalysointilaitteita, jota työssä käytettiin oli Sysmex CS-2100i. Kyseisellä laitteella on kyky havaita ja lähettää useita eri aallonpituuksia samaan aikaan. Analysointilaitteita käyttää kolmea menetelmää näytteiden virheiden tarkistukseen kaikissa määrityksissä. Näitä ovat HIL-arvot eli hemolyysi-, ikteria- ja lipeemia-arvot.</p> <p>Tutkimuksen tarkoituksena oli saada tuotettua toimivat ja yhtenäiset hälytysrajat laimennossarjojen avulla hemolyyttisille ja lipeemisille näytteille. Tarkoituksena oli myös selvittää, millaisilla pitoisuuksilla näytteen hemoglobiini ja triglyseridi vaikuttavat häiritsevästi analysointilaitteilla tehtäviin tutkimuksiin. Työn tavoitteena oli virheettömien ja luotettavien tulosten saaminen potilaan ensiluokkaisen ja laadukkaana hoidon turvaamiseksi. Työssä arvioitiin hemolyysin ja lipemian vaikutusta Sysmex CS-2100i -hyytymisanalysointilaitteiden menetelmien herkkyyteen.</p> <p>Jotta tulos voidaan hyväksyä, hemolyysi- ja lipemiahälytysrajat tulee asettaa niin matalalle, että potilasnäytteiden tulosten tulkinta on vielä luotettavaa. Hemolyyttisten näytteiden osalta vaikutus APTT-näytteissä on selkeä vasta Hb-pitoisuuden ollessa 2,5 g/l. Lipeemisissä näytteissä triglyseridipitoisuuden noustessa yli 4 mmol/l analysointilaitteita ei anna tuloksia. Näin ollen sekä hemolyyttisten, että lipeemisten näytteiden hälytysraja jää tasolle kaksi.</p>	
Avainsanat Hemolyysi, lipemia, hyytymistutkimukset, hyytymisanalysointilaitteita	

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Heikkinen, Merja, Hintikka, Anna-Leena, Huuskonen, Ilona			
Title of Thesis Defining hemolysis and lipaemia alarm values using Sysmex CS-2100I coagulation analyser			
Date	20.4.2016	Pages/Appendices	48/4
Supervisor(s) Björn, Marko			
Client Organisation /Partners Islab/ Mättö, Mikko			
<p><b>Abstract</b></p> <p>When a sample is hemolytic its red blood cell count and hematocrit decrease. When cell membranes of the red blood cells disintegrate, it dyes separated plasma or serum of the blood sample. It can lead to false laboratory results if intracellular components of the red blood cells get into plasma or serum. Hemolysis affects more than 3.3 % of clinical laboratory routine samples. The percentage of the samples that aren't suitable for analysis because the hemolysis is nearly 70 %.</p> <p>Lipaemia is opacity in the sample and it's caused by the accumulation of lipoprotein particles. The spectrophotometric device can't read the lipaemic samples correctly because of the opacity. That is because the light is absorbed in the lipoprotein particles.</p> <p>The coagulation analyser which was used in this study was Sysmex CS-2100i. The analyser has ability to detect and send several different wavelengths at the same time. The analyser uses three methods to detect the errors of the samples in all of the assays. These are the HIL-values, also known as hemolysis, icterus and lipaemia.</p> <p>The purpose of this study was to produce proper and coherent alarm values to hemolytic and lipaemic samples with dilution serial. Another objective was also to examine what kind of hemoglobin and triglycerin contents affect disturbingly the assays of analyser. The aim of this study is to get flawless and reliable results to guarantee first-class and high-quality treatment for the patients. In the thesis we estimated the sensitivity of the Sysmex CS-2100i methods and the effects of hemolysis and lipaemia to sensitivity.</p> <p>So the results can be accepted, hemolysis and lipaemia alarm values should be set so low that the interpretation of the patient sample results are still reliable. When hemoglobin was 2.5 g/l in APTT samples the effect of hemolysis can be seen. In lipaemic samples the analyser can't give any results when triglycerides are more than 4 mmol/l. Because of that the alarm value of hemolytic and lipaemic samples stays at the level of two.</p>			
Keywords Hemolysis, lipaemia, coagulation assays, coagulation analyser			

## SISÄLTÖ

1	JOHDANTO .....	5
2	TUTKIMUSMENETELMÄ.....	7
2.1	Reliabiliteetti.....	8
2.2	Validiteetti.....	9
3	LABORATORIOPROSESSI JA LAADUNHALLINTA .....	10
4	KESKEISET KÄSITTEET .....	14
4.1	Validointi .....	14
4.2	Hemostaasi .....	15
4.3	Hemolyysi .....	15
4.4	Lipemia .....	17
5	SYSMEX CS-2100I –HYTYMISANALYSAATTORI .....	18
6	TUTKIMUKSEEN KUULUVAT MÄÄRITYKSET .....	19
6.1	Aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika (APTT).....	19
6.2	Tromboplastiiniaika (TT ja INR) .....	20
6.3	Antitrombiini III (AT3).....	20
6.4	Antifaktori X-aktiivisuus (AntiFX-a) .....	21
7	TUTKIMUKSEN SUORITUS.....	22
7.1	Näytteiden keräys ja esikäsittely .....	22
7.2	Pitoisuussarjojen valmistus .....	23
7.3	Mittausten suoritus .....	24
8	TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TULKINTA .....	25
8.1	Hemolyyttisten näytteiden tulkinta .....	26
8.2	Lipeemisten näytteiden tulkinta .....	30
9	POHDINTA.....	34
9.1	Tutkimuksen luotettavuus ja ammattietiikka .....	35
	LÄHTEET .....	37
	LIITE 1. PITOISUUSSARJOJEN TEKO-OHJEET .....	41
	LIITE 2. INTRALIPID –VALMISTEEN TIEDOT .....	44
	LIITE 3. SYSMEX CS2100I-HYTYMISANALYSAATTORIN REAGENSsit .....	45
	LIITE 4. TUTKIMUSLUPA.....	46

## 1 JOHDANTO

Opinnäytetyön aiheeksi saatiin Islabilta (Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä) määrittää hälytysarvot Sysmex CS-2100i -hyytymisanalysaattorille lipeemisille ja hemolyyttisille näytteille. Tarkoituksena oli saada tuotettua toimivat ja yhtenäiset hälytysrajat laimennossarjojen avulla hemolyyttisille ja lipeemisille näytteille. Tavoitteena oli virheettömien ja luotettavien tulosten saaminen potilaan ensiluokkaisen ja laadukkaan hoidon turvaamiseksi. Tavoite ja tarkoitus on hyväksytty Islabin taholta. (LIITE 4.) Tutkimuksessa pyrittiin saamaan täsmällisiä ja tarkkoja tuloksia analysoitavista verinäytteistä. Eri häiriötekijöiden vähentäminen on tärkeää, jotta ne eivät vaikuta virheellisesti potilastuloksiin ja lopulliseen diagnoosiin. Opinnäytetyössä selvitettiin, millaisilla pitoisuuksilla näytteen hemoglobiini ja triglyseridi vaikuttavat häiritsevästi analysaattorilla tehtäviin tutkimuksiin. Laimennossarjat testattiin Sysmex CS-2100i -hyytymisanalysaattorilla. Opinnäytetyössä arvioitiin hemolyysin ja lipemian vaikutusta hyytymisanalysaattorin menetelmien herkkyyteen. Työstä saatavat tulokset tullaan todennäköisesti ottamaan käyttöön koko Islabin alueella kliinisen hematologian laboratorioissa.

Hemolyyttiset ja lipeemiset näytteet vaikuttavat koko analyysiprosessin laatuun vääristämällä tuloksia ja lisäämällä taloudellisia kustannuksia. Useat tutkimukset osoittavat, että hemolyysi on kaikkein yleisin preanalyyttinen virhelähde eli ennen analysointia tapahtuvan toiminnan seurauksen virhelähde, esimerkkinä liian pitkä staasin käyttöaika. Se vaikuttaa jopa 3,3 % kliinisen laboratorion rutiininäytteissä. Soveltumattomista näytteistä lähes 70 % on hemolyyttisiä. Nikolacin 2014 tekemän tutkimuksen mukaan lipeemisten näytteiden kokonaislukumäärä on 0,5 – 2,5 % kaikista näytteistä. (Lippi ym. 2009, 934–939; Nikolac 2014.)

Onnistunut näytteenotto ja potilaan oikeanlainen valmistautuminen siihen ovat edellytykset luotettaville hyytymistutkimuksille. Huonossa näytteenotossa hemolyysin riski suurenee aiheuttaen vääriä tuloksia. Lipemiaa taas aiheuttaa puutteellinen näytteenottoon valmistautuminen, ravinnon laatu, jotkin lääkkeet ja esimerkiksi diabetes. Näytteen ollessa hemolyyttinen tai lipeeminen hyytymisanalysaattori alkaa yleensä automaattisesti laimentamaan näytettä. Tällöin voimakkaasti hemolyyttiset ja lipeemiset näytteet laimenevat niin paljon, että tulokset vääristyvät. (Joutsu-Korhonen ja Koski 2010, 276; Penttilä 2004, 314–315.)

Näytteet tulisi tarkastaa visuaalisesti sentrifugoinnin jälkeen ennen analyysiä. Tällä tavalla voidaan havaita esimerkiksi mahdollinen hemoglobiinin aiheuttama hemolyysi tai lipemian aiheuttama sameus, jotka vaikuttavat tulosten luotettavuuteen. Lipemia voidaan havaita potilasnäytteen plasmasta triglyseridikonsentraation ollessa yli 3,4 mmol/l. Kokoverinäytteestä lipemian havaitseminen on haastavampaa ja siihen tarvitaan yli 11,3 mmol/l triglyseridikonsentraatio. Hemolyysi aiheutuu siitä, kun punasolujen hajotessa vapautuu solunsisäisiä aineita seerumiin tai plasmaan. Tällöin mitattavan näytteen pitoisuus muuttuu. Epähomogeenisyys ja siitä aiheutuva veden syrjäytyminen johtuvat voimakkaasta lipemiasta näytteessä. Näistä virheistä johtuen saadaan epäluotettavia tuloksia. (Leino 2008, 68; Nikolac 2014.)

## 2 TUTKIMUSMENETELMÄ

Tutkimusmenetelmänä työssä käytettiin kvantitatiivista eli määrällistä tutkimusta. Tutkimusmenetelmiä on kahdentyyppistä, on kvalitatiivista ja kvantitatiivista. Kvantitatiivisessa menetelmässä analyysi on arviointia eri arvojen ja niiden välisten tilastollisten yhteyksien avulla. Aineisto muokataan yleensä taulukkomuotoon. (Heikkilä 2010, 16)

Kvantitatiivinen tutkimus perustuu tilastollisten menetelmien käyttämiseen ja yleistämiseen. Siinä tarkastellaan ja mitataan muuttujia ja niiden välisiä yhteneväisyyksiä. On olemassa riippumattomia, riippuvia sekä väliin tulevia muuttujia. Riippumattomiin muuttujiin kuuluvat esimerkiksi potilasnäytteiden APTT- tulos. Riippuvaan muuttujaan voi taas vaikuttaa riippumattoman muuttujan paikkansapitävyys. Väliin tulevat muuttujat ovat vaikeita mitata ja havainnoida ja näitä voivat olla esimerkiksi analyysissä poikkeuksellinen lämpötila. (Kankkunen ja Vehviläinen-Julkunen 2010, 41–42.)

Kvantitatiivisen tutkimuksen perustana on positivismi eli tieteellinen tieto, joka pyrkii objektiiviseen ja absoluuttiseen totuuteen. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tutkitaan kerättyjen potilasnäytteiden tulosten yhteyttä selitettäviin ilmiöihin, kun halutaan arvioida tilastollista sekä kliinistä merkitsevyyttä. Niin tässä tutkimuksessa kuin kvantitatiivisessa tutkimuksessa yleensä keskeisintä on aiemmista tutkimuksista tehdyt johtopäätökset, aiemmat teoriat, hypoteesin eli väitteen esittäminen ja käsitteiden määrittely. Tietoa kerättiin tästä aihealueesta aikaisemmin tehdyistä tutkimuksista, joiden avulla saatiin pohjatietoa tutkimuksen tekoon. Artikkeleita käytettiin monipuolisesti ja niiden luotettavuutta tarkasteltiin kriittisesti. Artikkeleiden joukosta pyrittiin valitsemaan kansainväliset ja uusimmat. Kirjalähteissä jouduttiin käyttämään hieman vanhempia julkaisuja, koska uudempaa kirjallisuutta ei ollut saatavissa. Haasteellisuutta työhön lisäsi olemassa olevan aineiston kriittinen tarkastelu, etenkin kun kokemusta ei ollut käytännöstä, miten jokin asia oikeasti on. (Kananen 2011, 17–18, 22; Kankkunen ja Vehviläinen-Julkunen 2010, 41, 45; Hirsjärvi, Remes ja Sajavaara 2009, 140.)

Tutkimuksen materiaalina oli valmiiksi kerätyt verinäytteet Islabilta (Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä). Käytössä oli sekä normaalin, että korkean tason laimennossarjoja varten viidestä kuuteen potilasnäytteistä eroteltua plasmaa. Näitä samoja näytteitä käytettiin koko tutkimuksen ajan ja niistä tehtiin APTT- ja AntiFX-a -määritykset. Näytteiden vähäisyys vaikutti siihen, että rinnakkaisia sarjoja ei voitu tehdä. Asia huomattiin liian myöhään ja tämä korostaa tutkimuksen sattumanvaraisuutta. Plasman määrä määräytyi myös sen mukaan, miten niitä oli kerätty tutkimusta varten. Verinäytteen oli kerätty työn tilaajan toimesta jo aikaisemmin, joten niiden määrään ei voitu vaikuttaa enää tutkimuksen suorituksen aikana. Verinäytteistä osa oli otettu tutkimuspäivänä. Osa näytteistä oli kerennyt olla pakastuksessa muutaman päivän, koska ne oli kerätty aikaisemmin ja APTT-tutkimuksen näytteitä voidaan säilyttää vain kahdeksan tuntia huoneenlämmössä erottelemattomana, joten pakastus antoi näytteille pidemmän säilyvyyden. Näytteiden kuljetusta ei laboratorioden välillä tapahtunut, koska tutkimus tehtiin Islabin klinisen hematologian laboratoriossa, josta myös näytteet saatiin. Näin ollen näytteiden laatu ei kärsinyt ennen tutkimusten suoritusta, siltä osin ei virheitä syntynyt Hyytymisanalysointorin antamien tulospöytäkirjojen pohjalta koottiin taulukot ja määritettiin hälytysrajat. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa on tärkeää tuntea tutkimukseen liittyvät muuttujat esimerkiksi mittauslämpötila, näytteiden tuoreus ja tutkimuksessa käytettävät ainemäärät. Jos ei tiedetä, mitä mitataan, mittauksia ei voida suorittaa. (Kananen 2011, 17, 22; Kankkunen ja Vehviläinen-Julkunen 2010, 41.)

## 2.1 Reliabiliteetti

Reliabiliteetilla tarkoitetaan luotettavuutta ja tarkkuutta tuloksissa. Tulokset tutkimuksesta eivät saa olla sattumanvaraisia vaan niiden tulee olla toistettavia ja tekijän tulee olla kriittinen koko tutkimusprosessin ajan. Virheellisiä tuloksia tutkimuksessa voivat aiheuttaa monet asiat monessa eri vaiheessa esimerkiksi tietojen kirjaamisessa, kkeruussa ja käsitteilyssä. Myös tulosten tulkinnassa voi sattua virheitä. Tulokset voivat olla sattumanvaraisia, jos tutkimuksen otoskoko on liian pieni. Yksi tutkimus on harvoin riittävän pitävä todiste. Luotettavien tulosten saamiseksi kohderyhmän pitää olla tutkittavaa perusjoukkoa edustava. Reliabiliteetilla kvantitatiivisessa tutkimuksessa tarkoitetaan analyysin ja aineiston käsittelyn luotettavuutta. Tutkimuksen reliabiliteettia aletaan miettiä usein siinä vaiheessa, kun siirrytään tulosten tulkintaan. (Anttila 2006, 512, 517; Heikkilä 2010, 30.)



Luotettavuus on hyvin tärkeää myös tässä tutkimuksessa. Tulokset työstä eivät tule pelkäämään meidän käyttöömme vaan ne tulevat Islabille (Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä) käyttöön. Mikäli tutkimuksesta saatuihin tuloksiin ei voisi luottaa, ei tutkimusta voisi julkaista. Näytteet ja näiden lähtötiedot oli tarkistettu tilaajan toimesta. Tutkimuksen aikana toimitettiin koko ajan aseptisesti. Saadut tulokset tarkastettiin lopuksi Islabin kemistin kanssa ja ne todettiin käyttökelpoisiksi.

## 2.2 Validiteetti

Validiteetilla tarkoitetaan tutkimuksen luotettavuutta ja pätevyyttä eli toisin sanoen sitä, miten hyvin tutkimusmenetelmällä pystytään selvittämään sitä, mitä on tarkoitus selvittää. Tutkimuksella tulee olla hyvät ja selkeät tavoitteet ja tarkoitus. Systemaattisen virheen puuttuminen on validius. Kun tutkimus suunnitellaan etukäteen hyvin ja huolellisesti, varmistetaan sen validius. Tutkimukseen valitun tiedon tulee olla hyvin tarkoin harkittu, jotta saadaan aikaiseksi mahdollisimman edustava otos. (Heikkilä 2010, 30; (Anttila 2006, 512, 517.) Opinnäytetyöprosessin alussa laadittiin tarkka tutkimussuunnitelma työn tilaajan eli Islabin kemistin kanssa. Näin tutkimus saatiin rajattua oikein ja selkeästi. Rajauksen avulla teoretieto oli selkeämpi etsiä laadukkaista kansainvälisistä artikkeleista. Tutkimussuunnitelmassa tehtiin tarkka suunnitelma käytännönsuuden eli tutkimusosuuden suorittamisesta, jolloin tulevan laboratoriotyöskentelyn teorian ja käytännön vaatimukset olivat selvillä.

### 3 LABORATORIOPROSESSI JA LAADUNHALLINTA

Laboratoriolla on vastuu toimintojensa kehittamisestä ja analyysiensä laadusta. Mittaustuloksiin tulisi aina voida luottaa. Hyvä laatu laboratoriossa perustuu siihen, että toimintaa kehitetään aktiivisesti ja laadunhallintajärjestelmä on toimiva. Myös johtamiskäytäntöjen tulee olla toimivia ja hyväksi todettuja, henkilökunnan täytyisi olla ammattitaitoista ja osamistaan kehittävästä ja asiakkaiden tarpeet tulisi huomioida. Laboratorion laatukriteereinä voidaan pitää kustannusten pysyvyyttä sovitun suuruisina, tulosten saamista tarvittavaan ajankohtaan mennessä sekä oikeita, tarkkoja ja vertailukelpoisia tuloksia. (Sinervo 2011, 2; Jaarinen ja Niiranen 2005, 8.)

Laitteiden tulee toimia teknisesti moitteettomasti ja määrityksiin käytettävien reagenssien toimia oletetulla tavalla. Tämän tutkimuksen aikana jouduttiin vaihtamaan reagensseja muutama otteeseen, mutta muuten laitteet ja reagenssit toimivat moitteettomasti. Reagenssien vaihdon jälkeen tehtiin tarvittavat kontrollit. Useimmissa analyysisarjoissa tulee olla tasokontrolli, jolle on määritetty hyväksymisrajat. Kontrollinäytteiden tulee olla valittu niin, että ne ovat tasoiltaan kliinisesti merkitseviä. Yleisesti käytössä ovat korkean, matalan ja normaalin tason kontrollit. Tuloksen tulee olla tavoitearvojen sisällä, muuten sitä ei voida hyväksyä. Pitkille analyysisarjoille tasokontrolleja tulee olla useampia. Tämä on hyvä tapa varmistaa analysointilaitteiden ja reagenssien toiminta. Nykyisin kuitenkin hyytymislaitteet tarkkailevat toimintaansa enemmän automaattisesti, jolloin niiden käyttäminen on helpottunut. Jokaisessa sarjassa ei enää ajeta kontrolleja. Kun tutkimusnäytteiden analysointi aloitettiin, oli laitteille tehty jo kaikki tarvittavat kontrollit ja muut esivalmistelut. Laitteet olivat rutiinikäytössä ennen, kuin tutkimusta aloitettiin suorittaa. Tämän vuoksi laadunvarmistus toimi myös tässä tutkimuksessa koko prosessin ajan. Laboratoriossa on käytössä sisäinen laaduntarkkailu sekä ulkoinen laaduntarkkailu. Sisäiseen laaduntarkkailuun kuuluu edellä mainitut tasokontrollit eri laitteiden ja reagenssien mukaan. Sisäiseen laaduntarkkailuun käytetään rutiinivälillä 10–20 %. Ulkoiseen laadunvarmistukseen kuuluu esimerkiksi Labquality Oy:n erilliskierrokset. (Syrjälä 1999, 121–122; Penttilä 2004, 315; Jaarinen ja Niiranen 2005, 37; Islab 2016.)

Laadunhallinnassa on monia eri käyttötapoja vertailumateriaaleille. Yleisimmin käytetyt tavat ovat tulosten hyväksyttävyyden varmistaminen validoinnin yhteydessä sekä laitteiden kalibrointi. Vertailumateriaalien avulla on mahdollista vertailla tuloksia laboratorioden sisällä ja niiden välillä. Vertailumateriaaleja käytettäessä on tärkeää huomioida käyttöönottopäiväys, käyttöaika ja kontaminaatoriskit. Analysaattoreille tulisi tehdä vakioinnit säännöllisin väliajoin, aina tarvittaessa tai reagenssierän vaihtuessa. Islabilla AntiFX-a -tutkimuksessa kalibraattorina käytetään Chromogenix:n Calibration Plasma LMW Heparin -kittiä. APTT-tutkimuksessa kalibraattoria ei käytetä ollenkaan, koska APTT-tutkimuksella ei ole ennalta määritettyjä kalibraatiokäyriä. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 36–37; Islab 2016.)

Tulosten luotettavuuteen vaikuttavia preanalyttisia tekijöitä pyritään vähentämään tunnistamalla näytteistä hemolyysisuus ja lipeemisyys. Työntekijät koulutetaan tunnistamaan näitä virheitä, jotka voivat vaarantaa testauksen laadun koko testausprosessin ajan. Erityisesti preanalyttisessä vaiheessa näennäinen hemolyysi ja lipemia näytteissä ovat suurin diagnostinen haaste hyytymislaboratoriossa. Häiriöt hemostaasin testauksessa johtuvat yleensä sekä analyttisistä että biologisista tekijöistä. Mikäli on olemassa riski, että tulokset ovat epäluotettavia, näytettä ei pidä analysoida. (Lippi, Plebani ja Favaloro 2013; Shin ym. 2014, 307–312.)

Näytettä otettaessa on huomioitava näytteenottotekniikka, jotta välttyttäisiin näytteenottotilanteesta herkästi tapahtuvalta hyytymisjärjestelmän aktivoitumiselta (Penttilä 2004, 314). Hyytymisjärjestelmän entsyymaattisen ketjureaktion tärkeimpänä tehtävänä on muodostaa trombiinia. Trombosyyttien pinnalla syntyy trombiinia, joka aktivoi hyytymistekijöitä ja trombosyyttejä. Fibrinogeeni muuttuu liukenemattomaksi fibriiniksi trombiinin vaikutuksesta muodostaen hyytymän päälle tiiviin verkon. (Joutsu-Korhonen ja Koski 2010, 278.)

Onnistunut preanalytiikka on hyytymistutkimuksien onnistumisen kannalta tärkeää. Näytettä otettaessa ja sitä käsiteltäessä pyritään estämään hyytymisjärjestelmän aktivoitumisen lisäksi, plasman solukontaminaatio ja kudostekijän joutuminen näytteeseen. Hyytymistutkimusten tuloksiin ja niiden tulkintaan voivat vaikuttaa potilaan lääkitys ja akuutti tilanne, kuten raskaus, anemia, infektio ja vuoto. (Joutsu-Korhonen ja Koski 2010, 276.)

Laadukkaan tuloksen saavuttiseksi on tärkeää, että näytteenottoputkessa on oikea näytteen ja antikoagulantin suhde. Jos näytettä otetaan putkeen liian vähän, virhe on suurempi, kuin jos näytettä olisi liikaa. Vajaat näytteenottoputket eivät siis ole analyysikelpoisia. Hyytymistekijäputkia on saatavilla kolmella eri sitraattipitoisuudella. Kansainvälisesti on sovittu, että hyytymistutkimuksiin käytetään 3,2 % sitraattiantikoagulanttia sisältäviä vakuumputkia. Sitraattipitoisuuden tulee olla vakioitu yhteen pitoisuuteen, koska esimerkiksi APTT -määrityksissä hyytymisaika pidentyy korkeamman sitraattipitoisuuden seurauksena. Näytteen säilytysolosuhteilla on paljon vaikutusta tuloksiin. Esimerkiksi APTT-tutkimuksessa hyytymisaika lyhenee merkittävästi, jos säilytysolosuhteet ovat huonot. Näytettä käsiteltäessä tulee huomioida, että näyte säilyy kahdeksan tuntia huoneenlämmössä erottelemattomana. Mikäli määritystä ei voida tehdä tässä ajassa, tulee se sentrifugoida, plasma erottaa muoviputkeen ja pakastaa. Näytteitä kuljetettaessa laboratorioden välillä on huolehdittava, että näytteet on pakattu niin, että pakkaukset ja näyteastiat kestävät kuljetuksen. Näytteiden lämpötila, olosuhteet ja olomuoto tulee pysyä niille määritetyissä rajoissa. Nykyisin näytteiden mukana kulkee lämpömittari, joka mittaa esimerkiksi lämpötilaa kuljetuksen aikana. Jos näytettä vuotaa tai haihtuu kuljetuksen aikana, voi se vaikuttaa pitoisuuksien muutoksiin ja näytteiden määrään ja näin vääristää analyysituloksia. (Syrjälä 1999, 120–121; Horsti 2001, 145; Salvagno, Lippi, Bassi, Poli, ja Guidi 2008, 352; Niemelä ja Pulkki 2010, 276; Penttilä 2004, 31, 314; Tuokko, Rautajoki ja Lehto 2008, 12; Huslab 2016c.)

Otettaessa näytteitä hyytymistutkimuksia varten tulee välttää liiallista staasin käyttöä. Siitä voi seurata hemokonsentraation, fibrinolyysin sekä joidenkin hyytymistekijöiden ja trombosyyttien aktivoitumista. Staasia saa käyttää näytettä otettaessa yhtäjaksoisesti yhden minuutin ajan. Näytteenottoneulan tulee olla riittävän iso ja veren tulee virrata vaivattomasti näyteputkeen. Kun näytettä on saatu putkeen oikea määrä, täytyy putkea käännellä huolellisesti muutamia kertoja näytteen sekoittamiseksi antikoagulanttiin. Sekoittaminen estää hyytymien muodostumisen ja siitä johtuvan hyytymistekijöiden kulumisen. Näytteen virheellinen käsittely johtaa vääriin tuloksiin, joten se tulee sentrifugoida heti näytteenoton jälkeen. Plasma säilytetään sentrifugoinnin jälkeen solujen päällä vakuumputkessa. (Joutsikorhonen ja Koski 2010, 276; Penttilä 2004, 314; Horsti 2001, 145.)

Analyttisessä vaiheessa hyytymistutkimusnäytteestä määritetään analyysin hyytymisaika (esim. INR, APTT tai Trombai), josta voidaan edelleen määrittää analyysin pitoisuus esim. Fibr) tai osuus (esim. TT %) kalibraatiokuvaajan avulla. Menetelmän ja analysointilaitteen, jolla määrittäminen tehdään, on oltava siihen tarkoitukseen hyväksytty ja testattu. Näin tuloksia voidaan pitää oikeellisina ja ne voidaan jäljittää. Analyysivaiheessa voi tapahtua monenlaisia virheitä esimerkiksi tavallisimpia ovat pipetointivirheet, väärä analysointilämpötila ja virheellinen näytemäärien punnitseminen. Nykyisin analysointilaitteet tunnistavat itse melko hyvin ja tarkasti virheitä näytteessä ja analyysiprosessissa. (Penttilä 2004, 33; Tuokko ym. 2008, 12; Islab 2016.)

Postanalyttisessä vaiheessa tarkastellaan tulosten luotettavuutta, kuten analyysin virhelähteitä ja näytteiden häiriötekijöiden eli hemolyysin ja lipemian astetta. Tulosten luotettavuuden arvioinnin tueksi on määritetty kvantitatiivisessa analyysissä kontrollinäytteille hyväksymis- ja hylkäämisrajat. (Tuokko ym. 2008, 12–13.)

## 4 KESKEISET KÄSITTEET

### 4.1 Validointi

Validoinnin tarkoituksena on todeta laitteen ja menetelmien soveltuminen haluttuun käyttö-tarkoitukseen. Se koostuu testien ja niiden järjestelyiden suunnittelusta, mittausten tekemisestä, tulosten arvioinnista, tilastollisista laskuista sekä laadunvalvonnasta. On otettava huomioon mahdollisten häiriöiden ja olosuhdemuutosten vaikutus, koska käytännön työssä esimerkiksi erilaiset tavat työskennellä vaikuttavat olosuhteisiin. Validoinnin pohjalta saatava tieto sekä muu olemassa oleva tieto kootaan ja niiden perusteella selvitetään menetelmän luotettavuus. Validoinnin tulokset raportoidaan. Valittaessa validoitavaa menetelmää on huomioitava useita seikkoja, kuten menetelmän hinta ja nopeus, tulosten soveltuvuus ja tarkkuus sekä määritetyt analyttien pitoisuudet. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 11, 30.) Tässä tutkimuksessa ei ollut tarkoitus suorittaa laitteen koko validointia, vaan pelkästään määrittää hälytysrajat.

Mittauksien toistettavuus on tärkeää laboratorion analyyseissä. Mittauksia toistetaan pitoisuuksien ala- ja ylärajalla sekä keskivaiheella. Näiden perusteella määräytyy lineaarinen mittausalue, josta tutkitaan se mittausalue, jolla tarkkuus ja täsmällisyys voidaan hyväksytävästi saavuttaa. Lineaarinen alue on yleensä suppeampi kuin luotettava mittausalue. Mittausepävarmuus tarkoittaa tulokseen viittaavaa arviota. Määritetään todennäköisyys, jonka perusteella tulos on keskiarvon mukaan asetettujen rajojen sisäpuolella. Laboratoriotulos on aina likiarvo todellisesta pitoisuudesta. Mittausepävarmuus kertoo, kuinka luotettava tulos on ja se auttaa arvioimaan tulosten eroja. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 30; Viander 2007.)

## 4.2 Hemostaasi

Hemostaasin tarkoituksena on pysäyttää verenvuoto. Erilaiset hemostaasin mekanismit saavat veren hyytymään verisuonen vaurioituessa. Samanaikaisesti fibrinolyysi ja hyytymisen estäjät eli fibriiniä liuottava järjestelmä rajaavat vauriokohdan niin, että hyytyminen ei leviä vauriokohtaa pidemmälle. Hemostaasi kattaa kaikki verenvuodon tyrehtyttämiseen osallistuvat mekanismit. Hemostaasin tulisi toimia tarpeeksi hyvin, ettei vaaratilanteita synnyisi verisuonen vaurioitumisessa. Liian tehokas hemostaasin toiminta taas saattaa muodostaa hyytymiä verisuoniin aiheuttaen tukosvaaran. Veren hyytyminen, verihiihaleluppan muodostuminen ja verisuonen supistuminen ovat hemostaasin tärkeimpiä vaiheita. (Suomen Hemofiliayhdistys 2006, 28; Sand, Sjaastad, Haug, Bjålie ja Toverud 2011, 326.)

## 4.3 Hemolyysi

Puhuttaessa hemolyysistä elimistössä (*in vivo*), tarkoitetaan sillä punasolujen eliniän piene-  
nemistä jopa minuutteihin, kun se normaalisti on 120 päivää. Normaalin elinikänsä aikana punasolu käy läpi erilaisia metabolisia ja kemiallisia muutoksia ja lopulta tuhoutuu. Tuhoutuminen johtuu yleensä siitä, että punasolujen solukalvo on menettänyt kimmoisuuttaan sen verran, että ne eivät pääse hiussuonten läpi hajoamatta. Makrofagit pilkkovat tuhoutuneet punasolut raudaksi ja hemiksi. Lopuksi hemiryhmästä muodostuu bilirubiinia. Osa siitä pilkkoutuu suolistossa väriaineiksi bakteerien vaikutuksesta, osa kulkeutuu maksaan ja pieni osa erittyy virtsaan. (Sand ym. 2011, 321; Punnonen 2010, 260; Rodak, Fritsma ja Keohane 2012, 301–305.)

Intravaskulaarinen hemolyysi tarkoittaa punasolujen tuhoutumista verenkierrossa ja ekstravaskulaarinen hemolyysi punasolujen tuhoutumista retikuloendotelialijärjestelmässä. Punasolut voivat tuhoutua myös aikaisemmin luuytimen esiastevaiheessa. Hemolyysi voi olla joko punasolujen poikkeavuutta tai ulkoisten tekijöiden aiheuttamaa. (Punnonen 2010, 260; Rodak, Fritsma ja Keohane 2012, 301–305.)

Näytteen ollessa hemolyyttinen sen punasolumäärä ja hematokriitti laskee. Hemolyysi aiheuttaa näytteen plasmassa punertavan värin ja se näkyy vasta sentrifugoinnin jälkeen. Verinäytteestä erotellun plasman tai seerumin värjää hemoglobiini, joka vapautuu, kun punasolujen solukalvot hajoavat. Solun hajotessa seerumiin tai plasmaan joutuvien solunsisäisten komponenttien vaikutuksesta plasman tai seerumin koostumus muuttuu, jonka vuoksi laboratoriotulokset ovat vääriä tai epäluotettavia laboratoriotuloksia. (Leino 2008, 68; Lippi ym. 2009, 934–935.)

Staussin, Shermanin, Pughin, Paronen, Looby-Rodriquezin, Bellin ja Reedin vuonna 2012 tekemässä tutkimuksessa tutkittiin hemolyysin vaikutusta hyytymistutkimuksiin. Punasolujen hemolyysi hyytymistutkimuksissa johtaa virheellisiin eli liian mataliin tuloksiin. Punasolun sisäisen materiaalin joutuminen plasmaan tai seerumiin punasolun hajotessa aktivoi hyytymismekanismiin. Hemolyysi saattaa pienentää APTT-arvoja jopa yli 10 sekuntia. Esimerkiksi, jos näytteen APTT-arvo olisi oikeasti ilman hemolyysiä 41 sekuntia eli liian korkea, se tarkoittaisi sitä, että hemolysoitunut näyte näyttäisi normaalia tulosta, koska hemolyysi laskee APTT-tulosta. Normaalin APTT-tuloksen viitearvot ovat 23–33 sekuntia. Potilaalle vastattaisiin tällöin väärä tulos, eikä hän saisi tarvitsemaansa hoitoa. (Stauss ym. 2012; Islab 2016.)

Lagan, Chevesin ja Sweeneyn tutkimus vuodelta 2006 osoitti samanlaisia tuloksia. Myös tässä tutkimuksessa havaittiin lyhyemmät hyytymisajat hemolyyttisissä näytteissä verrattuna normaaleihin näytteisiin. Tutkimuksessa tehtiin vertailua TT %- ja APTT-määrityksissä. TT-tutkimuksen osalta ero oli 1 sekunti tai vähemmän suurimmassa osassa näytteistä. APTT-tutkimuksessa vastaava luku oli 2 sekuntia tai vähemmän. Jos tulos oli paljon yli viitearvojen, ero hemolyyttisten ja normaalien näytteiden tulosten välillä suureni merkittävästi. Tämä näkyi sekä TT- ja APTT-tutkimuksissa. (Laga, Cheves ja Sweeney 2006.)



#### 4.4 Lipemia

Lipemia aiheuttaa näytteessä sameutta ja se aiheutuu lipoproteiinien hiukkasten kertymisestä. Hiukkasten koko vaihtelee paljon. Suuret hiukkaset aiheuttavat sameutta herkemmin. Lipemia vaikuttaa suoraan esimerkiksi hemoglobiinin mittauksiin nostamalla hemoglobiiniarvoa. Spektrofotometrinen laite ei pysty tulkitsemaan lipeemisiä näytteitä oikein niiden sameuden takia, koska laitteen käyttämä valo absorboituu lipoproteiinihiukkasiin. Riippuen tutkittavasta analyytistä voidaan harkita lipeemisen näytteen kirkastamista. Tällöin näyte ultrasentrifugoidaan eli hiukkaset erotetaan seerumista tiheyserojen perusteella. Jos näyte ei ole analysointikelpoinen, eikä sitä pystytä ultrasentrifugoimaan, on hankittava uusi näyte. Ennen analysointia näyte tulisi tarkastaa visuaalisesti, sillä sameus voi olla hyvin havaittavissa. Joissain tapauksissa lipemiaa ei kuitenkaan pystytä näkemään paljain silmin. Yleisin syy lipeemisille näytteille on se, että potilas on käynyt verikokeissa liian pian raskaan aterian jälkeen. Potilaan tulisikin odottaa ruokailun jälkeen 4-6 tuntia, jotta imeytynyt rasva ehtii poistua plasmasta. Vaikka paastoa suositellaan vain tiettyihin näytteisiin, olisi kuitenkin hyvä olla syömättä raskaasti ennen näytteenottoa. Esimerkiksi tromboplastiiniajan mittauksessa ei saada tuloksia ollenkaan, jos näyte on erittäin lipeeminen, koska analysaattori ei pysty mittaamaan reaktiota loppuun. Lipemia saattaa joissain tapauksissa syrjäyttää tutkitavan analyytin niin, että tulos pienenee. (Rodak, Fritsma ja Keohane 2012, 616–617; Kovanen, Pentikäinen ja Viikari 2010; Nikolac 2014; Sand ym. 2011, 427.)

## 5 SYSMEX CS-2100I –HYTYMISANALYSAATTORI

Hyytymisanalyssaattorit ovat isommissa laboratorioissa pitkälti automatisoituja. Monissa hyytymisanalyssaattoreissa on käytössä useita mittausperiaatteita ja useita hyytymisajanmittaukseen perustuvia menetelmiä. Suurimmassa osassa analyssaattoreissa käytetään hyödyksi fotometriaa. Menetelmässä mitataan valon läpäisykyvyn muutosta mittauskyvetissä plasman hyytyessä. Hyytymisaikaan perustuvat verinäytteet otetaan näyteputkeen, joka sisältää antikoagulanttia, joka on yleensä sitraattia. Kalsium sitoutuu antikoagulantin vaikutuksesta. Puutosplasma on useimmiten käytössä oleva puskuri, jota lisätään reaktioseokseen. Puutosplasmasta puuttuvat mitattavat hyytymistekijät. Reaktioseokseen lisätään myös hyytymistä aktivoivia aineita ja kalsiumkloridia. (Niemelä ja Pulkki 2010, 90–91; Penttilä 2004, 66.)

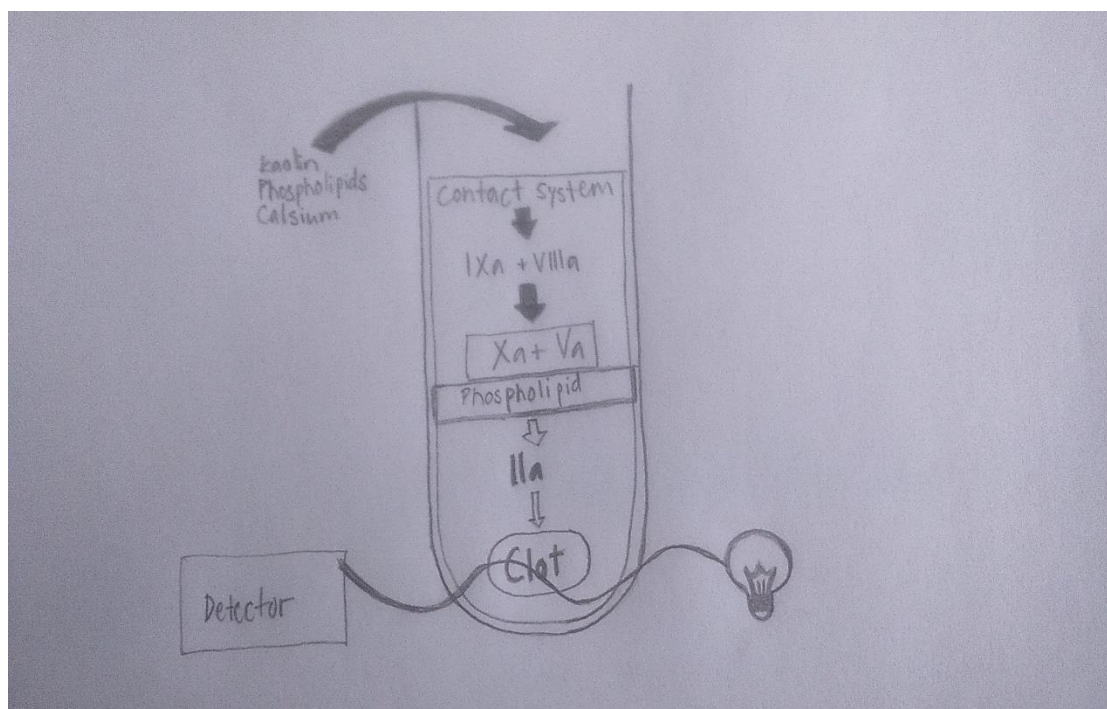
Hyytymisanalyssaattori, jota työssä käytettiin, oli Sysmex CS-2100i. Kyseisellä laitteella on kyky havaita ja lähettää useita eri aallonpituuksia samaan aikaan. Mittausmenetelmät Sysmex CS-2100i –analyssaattorissa ovat immunomääritys, aggregaatio, turbidometria ja kromogeeninen määritys. Turbidometria eli koagulaatio on näistä mittausmenetelmistä yleisimmin käytetty. Se perustuu hyytymisen mittaamiseen valonsironnan avulla. Turbidometriassa mitataan fotometrillä valoa, joka kulkee näytekyvetin läpi ja lisäksi reflektoituneen ja absorboituneen valon kokonaismäärää. Sysmex CS-2100i on kokonaan automatisoitu hyytymisanalyssaattori potilasnäytteille. Näytteitä voidaan analysoida suuria määriä nopeasti ja tarkasti. Analyssaattori on varustettu optisella kuidulla, joka toimii viidellä aallonpituudella ja ilmaisain kykenee vastaanottamaan moninkertaisen aallonpituuden. Analyssaattori testaa näytteet ennen analyysiä häiritseviltä tekijöiltä, kuten hemolyyysiltä, ikterialta ja lipemialta. Tämä suoritetaan ennen näytteen testausta käyttäen monia aallonpituuksia. (Siemens Sysmex training booklet, 5.)

Analyssaattori käyttää kolmea menetelmää näytteiden virheiden tarkistukseen kaikissa määrityksissä eli HIL-arvoja. Hyytymismääritysten virheille on yhdeksän tarkistusmenetelmää ja näitä voivat olla esimerkiksi ”ei hyytymistä” tai ”liian aikainen reaktio”. Kromogeenisille määrityksille ja immunomäärityksille on käytössä seitsemän tarkistusmenetelmää, kuten esimerkiksi ”virheellinen reaktiokäyrä”. Laite hälyttää näistä virheistä, kun vaaditut kriteerit eivät täyty. (Siemens Sysmex training booklet, 22.)

## 6 TUTKIMUKSEEN KUULUVAT MÄÄRITYKSET

### 6.1 Aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika (APTT)

APTT:lla tutkitaan potilaan sisäistä hyytymisjärjestelmää mittaamalla plasman hyytymisaikaa. Kuvassa 1 näkyy APTT:n määrittämenetelmän periaate. Siihen vaikuttaa aktiiviset hyytymistekijät XII, XI, IX, VIII, X, V, II ja I. APTT on aika, joka tarvitaan hyytymisen muodostumiseen veriplasmassa aktivoinnin jälkeen lisäämällä verihutaleiden korvikkeita, kuten aivojen kefaliineja tai vastaavia fosfolipidejä. APTT– testin herkkyys viritetään niin, että se kertoo sekä hyytymisajan pitenemisen että vuoto taipumuksen ilmenemisen. Esimerkiksi, kun hyytymistekijöiden VIII, IX ja XI pitoisuudet laskevat selkeästi, kertoo APTT-tulos hemofiasta. Pidentynyt APTT voi osoittaa puutteen missä tahansa hyytymistekijässä, kuten fibrinogeenissä ja tekijöissä XII, XI, IX, VIII, X, V ja II. (Joutsu-Korhonen ja Koski 2010, 280–281; Mayo Medical Laboratories 2011; Ruutu, Rajamäki, Lassila ja Porkka 2007, 43.)



KUVA 1. APTT:n määrittämenetelmän periaate (mukaillen A Practical Guide to Laboratory Haemostasis 2012b.)

## 6.2 Tromboplastiiniaika (TT ja INR)

Tromboplastiiniajalla mitataan ulkoisen aktivaatioreitin käynnistymistä sekä hyytymistekijöitä (II, VII ja X), jotka ovat riippuvaisia K-vitamiinista. Sen avulla voidaan selvittää perinnöllistä ja hankinnallista hemostaasihäiriötä, seurata lääkehoitoa sekä tutkia maksan toimintaa. Yleensä suun kautta otettavan antikoagulanttihoidon seurannassa käytetään tromboplastiiniajan INR-tulostusta eli hyytymisaikasuhdetta, joka on kansainvälisesti vakioitu. INR- tulos saadaan laskemalla näytteen hyytymisaajan, reagenssierien keskimääräisen normaalin hyytymisaajan ja reagenssin herkkyuden suhde. Tromboplastiiniaika viittaa kompleksin muodostumiseen eri plasman hyytymistekijöistä. Protrombiini muunnetaan trombiiniksi ja tästä muodostetaan fibrinogeenin hyytymä. (Joutsu-Korhonen ja Koski 2010, 279; Penttilä 2004, 316–317; A Practical Guide to Laboratory Haemostasis 2012a; Ruutu ym. 2007, 43.)

Tromboplastiiniaikaan perustuvaa INR-tulostusta (international normalized ratio) käytetään varfariinihoidon seurannassa. Peroraalisessa antikoagulaatiohoidossa käytetään yleisimmin varfariinia (Marevan®). Näyte voidaan ottaa mihin aikaan tahansa, eikä ruokailulla ja lääkkeenottoajalla ole väliä. Muita antikoagulantteja ovat esimerkiksi dabigatraani, rivaroksabaani ja apiksabaani. Nämä voivat nostaa INR-tasoa, mutta menetelmä ei ole kuitenkaan niin herkkä, että tämä vaikuttaisi INR-tulokseen. (Huslab 2016c.)

Tromboplastiiniajan määrittämistä käytetään hyytymistekijöiden II, VII ja X yhteisvaikutuksen mittaamisessa. INR-tulostuksen käyttö yhtenäistää eri tromboplastiiniaikamenetelmien tulostason ja mahdollistaa tulosten vertailun riippumatta eri laboratorioissa käytössä olevista reagensseista. INR-arvo saadaan vertaamalla näytteen hyytymisaikaa keskimääräiseen normaaliin hyytymisaikaan jokaisessa erillisessä reagenssierässä. (Huslab 2016d.)

## 6.3 Antitrombiini III (AT3)

Antitrombiini on plasman antikoagulantti, joka estää trombiinia muodostamalla sen kanssa kompleksin, joka ei ole aktiivinen. Antitrombiinin keskeisenä tehtävänä on hidastaa hyytymisjärjestelmän toimintaa. Mikäli antitrombiinissa esiintyy vajausta, voidaan se luokitella yhdeksi vaikeimmista trombofilioista. Tutkimusta käytetään tukostaipumuksen selvittämisessä, yleistyneessä intravaskulaarisessa koagulaatioissa eli hyytymisessä ja antitrombiinikorvaushoidon seurannassa. (Huslab 2016b; Ruutu ym. 2007, 577.)

#### 6.4 Antifaktori X-aktiivisuus (AntiFX-a)

AntiFX-a -tutkimusta käytetään, jos on tarpeen seurata hyytymistekijä X:ä ja pienimolekyyliä hepariineja. Tutkimus määrätään yleensä suurentuneen vuotovaaran potilaille, lapsille, raskauden yhteydessä odottaville äidille sekä maksan ja munuaisten vajaatoiminnan yhteydessä. AntiFX-a -tutkimuksella arvioidaan vuotoriskiä trombolyytisen hoidon jälkeen sekä antitromboottisen kombinaatiolääkityksen aikana. AntiFX-a-määrityksessä mitataan seerumin tai plasman kykyä inhiboida aktivoitua hyytymistekijä X:ä. (Huslab 2016a.)

## 7 TUTKIMUKSEN SUORITUS

Tutkimuksen suorittamista varten tehtiin tutkimus- ja opinnäytetyölupahakemus Islabille (Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä). Hyväksytty hakemus löytyy liitteestä 4.

### 7.1 Näytteiden keräys ja esikäsittely

Islabin (Itä-Suomen laboratorikeskuksen liikelaitoskuntayhtymä) kemisti hankki potilasnäytteet tutkimusta varten, koska hänellä oli valtuudet kerätä ne jatkokäsittelyä varten. Näytteet oli otettu alun perin normaaleina potilasnäytteinä, joista oli sattumanvaraisesti valittu käyttöön muutamia, joissa APTT-arvo oli normaali sekä korkea. Näytteistä oli eroteltu seerumi jo ennen tutkimuksen suoritusta. Osa potilasnäytteistä oli otettu tutkimuspäivänä ja osa oli kerennyt olla pakastuksessa muutaman päivän. Näin ollen näytteiden laatu ei kärsinyt missään vaiheessa ennen tutkimusten suoritusta. Potilasnäytteistä tehtiin keinotekoisesti hemolyyttisiä ja lipeemisiä. Lipeemiset näytteet valmistettiin lisäämällä seerumiin valmista Intralipid-liuosta. (LIITE 2.) Hemolyyttisiä näytteitä saatiin taas lisäämällä seerumiin hemolyyttiä eli sentrifugoituja punasoluja, joista on poistettu plasma, jonka jälkeen punasolut on pakastettu. Jäädyttäminen hemolysoi eli hajottaa punasolut. Kun hemolysaattia käytettiin tutkimuksessa, se sulatettiin ja sentrifugoitiin.

Näytteitä käsiteltiin normaaleina potilasnäytteinä sillä periaatteella, että näytteet voisivat olla tartuntavaarallisia, koska verinäytteissä voi olla aina riski tartunnasta. Käytössä oli suojatakit ja -hanskat, joiden avulla pyrittiin noudattamaan varovaisuutta käsiteltäessä erilaisia aineita ja välttämään ihokontakti näytteiden ja eri aineiden kanssa. Tutkimuksen aikana toimitettiin aseptisesti niin, etteivät myöskään näytteet tai reagenssit kontaminoituneet eli altistuneet ei-toivotuille osatekijöille esimerkiksi mikrobeille.

## 7.2 Pitoisuussarjojen valmistus

Pitoisuussarjojen valmistusohjeet (LIITE 1.) saatiin kemistiltä ja ne olivat olleet käytössä aikaisemminkin vastaavanlaisessa tutkimuksessa. Pitoisuussarjojen valmistusohjeita muutettiin kuitenkin hieman pienentämällä mitattavien liuosten määriä, koska potilasnäytteiden määrä oli niin vähäinen ja analysaattoriin riitti pienempi määrä näytettä, mitä alkuperäisessä ohjeessa oli. Suhteet liuosten välillä pysyivät samana. Kerätyistä seerumeista tehtiin erikseen normaalin ja korkean arvon poolit eli potilasnäytteiden seerumit sekoitettiin keskenään. Yhteen pooliin käytettiin viidestä kuuteen potilasnäytteestä eroteltua seerumia. Lisäksi käytettiin sekä lipemia- että hemolyyysisarjoissa viittä eri pitoisuutta. Näin pystyttiin vertaamaan hemolyysin ja lipemian vaikutusta analysaattorin hälytysarvoihin.

Hemolyyttisten näytteiden valmistamista varten tarkoitettu hemolysaatti saatiin kemistiltä. Hemolysaatti oli pakastettu etukäteen, joten se tarvitsi vain sulattaa ja sentrifugoida. Sentrifugoinnin jälkeen hemolysaatin hemoglobiinipitoisuus tarkistettiin Advia 2120- verenkuvaa-analysaattorilla. Hemoglobiiniarvoksi mitattiin 135 g/l. Tämän perusteella valittiin kaava, jolla laskettiin lisättävän veden määrä, jos hemoglobiiniarvo oli alle 200 g/l. Pitoisuussarjaa varten käytettiin pooliseerumia, hemolysaattia ja 0,9 % natriumkloridia. Hemoglobiinipitoisuuden mukaan valittiin sopiva kaava, jonka avulla laskettiin pitoisuussarjaa varten hemolysaatin ja natriumkloridin suhde.

Lipeemisten näytteiden tekoa varten oli valmiina Intralipidi-liuos. (LIITE 2.) Sen avulla tehtiin potilasnäytteistä lipeemisiä lisäämällä Intralipidi-liuosta seerumiin. Pitoisuussarjoihin käytettiin valmista Intralipid-liuosta, 0,9 % natriumkloridia ja pooliseerumia.

### 7.3 Mittausten suoritus

Mittaukset suoritettiin kahdessa eri vaiheessa KYS:n (Kuopion yliopistollinen sairaala) kliinisen hematologian laboratoriossa. Eri tutkimuskerroilla tehtiin hemolyyttisten ja lipeemisten näytteiden pitoisuussarjat. Kun pitoisuussarjat saatiin tehtyä, aloitettiin kemistin johdolla mittaukset Sysmex CS-2100i –hyytymisanalysointilaitteella. Sarjojen tiedot laitettiin laitteelle manuaalisesti. Tutkimusten aikana seurattiin reaktioiden etenemistä analysointilaitteen näyttöltä. Reaktioista tulostettiin yksityiskohtaiset tulosraportit, joita apuna käyttäen pystyttiin laatimaan tuloksista taulukot. Lopuksi tarkistettiin Cobas c 501 -analysointilaitteella triglyseridipitoisuudet lipeemisistä näytteistä, jotta voitiin verrata niitä annettuihin tavoitepitoisuuksiin pitoisuusarjassa. Myös korkean APTT-pitoisuuden näytteistä mitattiin AntiFX-a -arvot. Normaalin tason APTT-pitoisuuksista ei pystytty mittaamaan AntiFX-a-arvoja, koska näytteet loppuivat kesken ennen tätä. Lopuksi kaikista saaduista tuloksista koottiin taulukot.



## 8 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TULKINTA

Tutkimuksessa tehtiin hemolyyttisille ja lipeemisille näytteille viiden näytteen laimennossarjat sekä korkeilla että normaaleilla APTT-arvoilla. Tutkimuksessa ei käytetty rinnakkaisia näytteitä. Luotettavuutta ja näytteiden verrattavuutta ajatellen se olisi ollut tarpeen. Asia huomattiin vasta tulosten tulkintaa tehtäessä ja aikaraja tuli vastaan, joten niitä ei voitu enään uusia. Ennen sarjojen analysoinnin aloittamista ei tehty kontroleja. Kontrollit oli tehty jo aiemmin, koska laite oli laboratorion normaalissa rutiinikäytössä ennen laimennossarjojen mittausta. Hemolysoituneet näytteet tutkittiin myös antiFX-a:n osalta, mutta normaalin APTT-tason näytteet loppuivat jo APTT-määrityksen aikana, joten tulokset saatiin antiFX-a:lle vain korkean APTT-tason osalta. Alun perin ei ollut tarkoitus mitata hyytymisanalysointorilla AntiFX-a tuloksia ollenkaan eli näytemääriä ei ollut laskettu siihen riittäväksi. Tutkimuksen edetessä kemisti kuitenkin ehdotti, että voitaisiin kokeilla mielenkiinnosta, millaisia tuloksia saadaan AntiFX-a:n osalta.

Islabilla potilasnäytteissä eroprosentit saavat olla APTT-tutkimuksessa 12 % ja AntiFXa-näytteissä 15 %. Jotta tulos voidaan hyväksyä hemolyysi- ja lipemihälytysrajat tulee asettaa niin matalalle, että potilasnäytteiden tulosten tulkinta on vielä luotettavaa. Luotettavien tulosten ansiosta potilas saa oikeanlaista hoitoa. Jos esimerkiksi näytteiden kuljetus ja preanalytiikka on ollut virheellistä, tulokset ovat käyttökeltottomia, eivätkä kerro potilaan todellisesta tilasta. Hyytymistutkimuksille on määritetty omat viitearvot, jotka määräytyvät terveiden ihmisten viiterajojen mukaan. Tuloraporttien (KUVAT 2-5.) kuvaajilla voidaan nähdä clotting point eli näytteen hyytymispiste. Sen avulla nähtiin lähtöarvo, joka saatiin liitettyä talukkoon ja sitä käyttäen laskettiin muut taulukon arvot. Hyytymispisteen avulla pystyttiin määrittämään analyysitulokset. Alle on lueteltu taulukoissa käytetyt käsitteet.

Laimennossuhde:

Laimennossarjassa liuoksia laimennetaan tietyssä suhteessa. Laimennossuhde on laimennettavan ja laimennetun liuoksen tilavuuden suhde.

Laskennallinen pitoisuus näytteessä (lipeemisissä näytteissä):

Triglyseridipitoisuus on tarkastettu Cobas c 501 –analysointorilla

Analyysitulokset:

Sysmex CS-2100i –analysointorilla saadut tulokset APTT:lle ja AntiFX-a:lle.

Nollanäyte:

Laimennossarjojen ensimmäinen näyte, johon ei ole lisätty hemolysaattia tai Intralipid-liuosta. Nollanäytettä käsitellään, kuin laimennossarjan muita näytteitä.

Ero % verrattuna nollanäytteeseen:

Näytteiden prosentuaalinen ero verrattuna nollanäytteeseen.

Hälytys:

Laitteen antamat hälytystasot lipemisistä ja hemolyyttisistä näytteistä.

## 8.1 Hemolyyttisten näytteiden tulkinta

APTT:n osalta erot eivät ole prosentuaalisesti suuria. Potilasnäytevertailussa prosentuaaliset erot ovat hyvin pieniä, joten selkeää hälytysrajaa on vaikea asettaa. Hemolyysin vaikutus APTT-näytteissä on selkeä vasta Hb-pitoisuuden ollessa 2,5 g/l (Taulukko 1 ja 2). Sama on todistettavissa myös taulukossa 3, jossa on tutkittu hemolyysin vaikutusta AntiFXa-näytteissä. Hemolyysin hälytysraja asetetaan tasolle kaksi. Hemolyyttinen näyte ei ole niin samea kuin lipeminen näyte, joten mittaaminen onnistuu pidempään. Taulukoista 1 ja 2 voi huomata analyysitulosten laskun varsinkin lähellä hälytysrajaa. Taulukoiden arvot laskettiin tulosraporttien pohjalta (KUVAT 2 ja 3).

TAULUKKO 1. Hemolyysin vaikutus matalan APTT:n näytteissä.

Hb-pitoisuus	0 g/l	0,5 g/l	1,0 g/l	2,5 g/l	5,0 g/l
<b>Hemolysaatin laimennossuhde</b>	0 µl	0 µl	1,48 * 10 <sup>-03</sup> µl	9,26 * 10 <sup>-03</sup> µl	0,037 µl
<b>Analyysitulokset</b>	29,1 sec	28,9 sec	28,9 sec	28,8 sec	27,7 sec
<b>Ero % verrattuna nollanäytteeseen</b>	0 %	0,7 %	0,7 %	1 %	4,5 %
<b>Hemolyysihälytys</b>	0	0	0	1	5

TAULUKKO 2. Hemolyyisin vaikutus korkean APTT:n näytteissä.

Hb-pitoisuus	0 g/l	0,5 g/l	1,0 g/l	2,5 g/l	5,0 g/l
Hemolysaatin laimennossuhde	0 µl	0 µl	1,48 * 10 <sup>-03</sup> µl	9,26 * 10 <sup>-03</sup> µl	0,037 µl
Analyysitulokset	37,6 sec	37,3 sec	37,3 sec	36,8 sec	34,2 sec
Ero % verrattuna nollanäytteeseen	0 %	0,8 %	0,8 %	2,1 %	9,0 %
Hemolyyasihälytys	0	0	0	2	5

TAULUKKO 3. Hemolyyisin vaikutus AntiFXa-näytteissä (APTT-korkea).

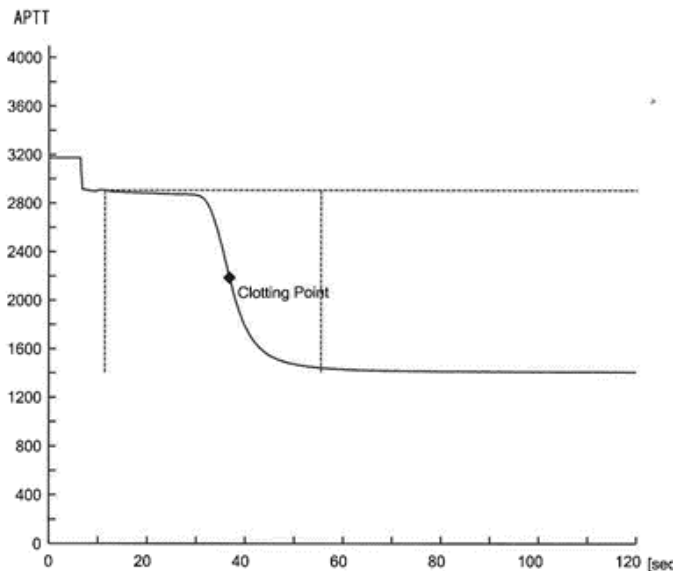
Hb-pitoisuus	0 g/l	1,0 g/l	2,5 g/l	5,0 g/l
Hemolysaatin laimennossuhde	0 µl	1,48 * 10 <sup>-03</sup> µl	9,26 * 10 <sup>-03</sup> µl	0,037 µl
Analyysitulokset	0,05 U/ml	0 U/ml	0,12 U/ml	0,22 U/ml
Ero % verrattuna nollanäytteeseen	0 %	0 %	-140 %	-340 %
Hemolyyasihälytys	0	0	2	5

CS-2100i Impi

admin: administrator

\*\*\*\*\* Graph Detail Print \*\*\*\*\*

Sample No: korkea2.5 M Seq: F  
 Rack Tube Pos: 000028-09 Re-analysis flag:  
 Status: Validate: Performed  
 S. Code: Meas. Date: 2015/11/20 12:47:19  
 Analysis Mode: Normal  
 Patient Name:  
 Sample Comment:  
 Sample Info.: Hem I\* Lip



Result  
 APTT FSL~sec 36.8 sec

Evaluation Info.  
 bH\_point\_time 11.4  
 bH 2907  
 End\_point\_time 55.5  
 dH 1465  
 Coag. % 50  
 dOD 0.3045

Measurement Info.  
 Temperature 37.0  
 Channel No. 2  
 Management ID 5250  
 Dilution Ratio 1 / 1  
 Reagent Lot APTT FSL 547440  
 CaCl2 539494  
 APTT FSL 0  
 CaCl2 0

Detail  
 1000.1000.0000 Hemolytic Sample  
 1000.2000.0000 Icteric Sample  
 1000.3000.0000 Lipemic Sample

Hem Detection Level 2  
 Ict Detection Level \*  
 Lip Detection Level 0  
 Vol Detection Level 60.0

Evaluation Data			
1%	14.7	21%	34.1
2%	24.2	22%	34.2
3%	30.3	23%	34.3
4%	31.1	24%	34.4
5%	31.6	25%	34.5
6%	31.9	26%	34.6
7%	32.1	27%	34.7
8%	32.3	28%	34.8
9%	32.5	29%	34.9
10%	32.7	30%	35.0
11%	32.8	31%	35.1
12%	33.0	32%	35.2
13%	33.1	33%	35.3
14%	33.3	34%	35.3
15%	33.4	35%	35.4
16%	33.5	36%	35.6
17%	33.6	37%	35.6
18%	33.7	38%	35.7
19%	33.9	39%	35.8
20%	34.0	40%	35.9
		41%	36.0
		42%	36.1
		43%	36.2
		44%	36.2
		45%	36.3
		46%	36.4
		47%	36.5
		48%	36.6
		49%	36.7
		50%	36.8
		51%	36.9
		52%	37.0
		53%	37.0
		54%	37.2
		55%	37.3
		56%	37.3
		57%	37.5
		58%	37.6
		59%	37.6
		60%	37.8
		61%	37.9
		62%	37.9
		63%	38.1
		64%	38.2
		65%	38.3
		66%	38.4
		67%	38.5
		68%	38.7
		69%	38.8
		70%	39.0
		71%	39.0
		72%	39.2
		73%	39.3
		74%	39.5
		75%	39.6
		76%	39.8
		77%	40.0
		78%	40.2
		79%	40.4
		80%	40.5
		81%	40.7
		82%	41.0
		83%	41.2
		84%	41.5
		85%	41.7
		86%	42.0
		87%	42.3
		88%	42.7
		89%	43.0
		90%	43.5
		91%	43.9
		92%	44.4
		93%	45.0
		94%	45.7
		95%	46.4
		96%	47.4
		97%	48.7
		98%	50.2
		99%	52.4
		100%	55.6

11990/01-65 build 10

1/1

2015/11/20 12:55

KUVA 2. Tulosraportti korkean APTT:n näytteestä Hb-pitoisuuden ollessa 2,5 g/l (Siemens Sysmex CS-2100i/ Islab 2015).

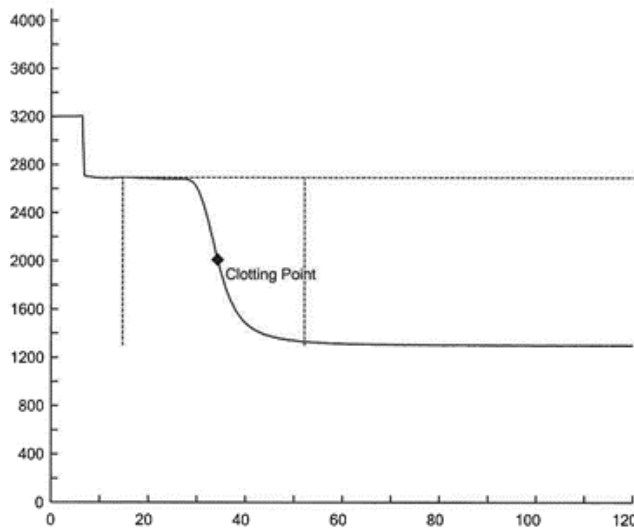
CS-2100i Impi

admin : administrator

\*\*\*\*\* Graph Detail Print \*\*\*\*\*

Sample No: korkea5.0 M Seq: F  
 Rack Tube Pos: 000028-10 Re-analysis flag:  
 Status: Validate: Performed  
 S. Code: Meas. Date: 2015/11/20 12:47:39  
 Analysis Mode: Normal  
 Patient Name:  
 Sample Comment:  
 Sample Info.: Hem I\* Lip

APTT



Result  
 APTT FSL~sec 34.2 sec

Evaluation Info.  
 bh\_point\_time 14.7  
 bh 2693  
 End\_point\_time 52.1  
 dH 1364  
 Coag. % 50  
 dOD 0.3065

Measurement Info.  
 Temperature 37.0  
 Channel No. 3  
 Management ID 5250  
 Dilution Ratio 1 / 1  
 Reagent Lot APTT FSL 547440  
 CaCl2 539494  
 APTT FSL 0  
 CaCl2 0

Detail  
 1000.1000.0000 Hemolytic Sample  
 1000.2000.0000 Icteric Sample  
 1000.3000.0000 Lipemic Sample

Hem Detection Level 5  
 Ict Detection Level \*  
 Lip Detection Level 0  
 Vol Detection Level 59.8

Evaluation Data			
1%	27.6	21%	31.7
2%	28.6	22%	31.8
3%	29.1	23%	31.9
4%	29.3	24%	31.9
5%	29.6	25%	32.1
6%	29.8	26%	32.2
7%	30.0	27%	32.2
8%	30.2	28%	32.3
9%	30.3	29%	32.4
10%	30.5	30%	32.5
11%	30.6	31%	32.5
12%	30.7	32%	32.7
13%	30.8	33%	32.8
14%	31.0	34%	32.8
15%	31.0	35%	32.9
16%	31.2	36%	33.0
17%	31.3	37%	33.0
18%	31.3	38%	33.1
19%	31.5	39%	33.2
20%	31.6	40%	33.3
			→ 50%
			51%
			52%
			53%
			54%
			55%
			56%
			57%
			58%
			59%
			60%
			61%
			62%
			63%
			64%
			65%
			66%
			67%
			68%
			69%
			70%
			71%
			72%
			73%
			74%
			75%
			76%
			77%
			78%
			79%
			80%
			81%
			82%
			83%
			84%
			85%
			86%
			87%
			88%
			89%
			90%
			91%
			92%
			93%
			94%
			95%
			96%
			97%
			98%
			99%
			100%

11990/01-65 build 10

1/1

2015/11/20 12:55

KUVA 3. Tulosraportti korkean APTT:n näytteestä Hb-pitoisuuden ollessa 5,0 g/l (Siemens Sysmex CS-2100i/ Islab 2015)

## 8.2 Lipeemisten näytteiden tulkinta

Taulukossa 5 näkyvän triglyseridipitoisuuden noustessa yli 4mmol/l analysaattori ei anna tuloksia, joten hälytysraja katsotaan taulukosta toisen pystysarakkeen mukaan. Sama on myös nähtävissä taulukossa 4. Lipemia hälytys jää tasolle kaksi. Kuten hemolyttisissä näytteissä myös näissä sarjoissa APTT:n osalta erot eivät ole prosentuaalisesti suuria. Potilasnäytevertailussa prosentuaaliset erot ovat hyvin pieniä, joten selkeää hälytysrajaa on vaikea asettaa. Hälytysraja tulisi asettaa mahdollisimman matalalle tasolle, jotta tulosten luotettavuutta voidaan parantaa. Taulukoiden arvot laskettiin tulosraporttien pohjalta (KUVAT 4 ja 5).

TAULUKKO 4. Lipemian vaikutus matalan APTT:n näytteissä.

<b>Triglyseridipitoisuus</b>	<b>1 mmol/l</b>	<b>4 mmol/l</b>	<b>7 mmol/l</b>	<b>12 mmol/l</b>	<b>22 mmol/l</b>
<b>Lipidien laimennossuhde</b>	0 µl	0,006 µl	0,013 µl	0,025 µl	0,050 µl
<b>Lipidien laskennallinen pitoisuus näytteessä</b>	1,24 mmol/l	4,39 mmol/l	6,83 mmol/l	13,75 mmol/l	-
<b>Analyysitulokset</b>	25,1 sec	25,0 sec	24,8 sec	24,8 sec	-
<b>Ero % verrattuna nollanäytteeseen</b>	0 %	0,4 %	1,2 %	1,2 %	-
<b>Lipemiahälytys</b>	0	2	-	-	-

TAULUKKO 5. Lipemian vaikutus korkean APTT:n näytteissä.

<b>Triglyseridipitoisuus</b>	<b>1 mmol/l</b>	<b>4 mmol/l</b>	<b>7 mmol/l</b>	<b>12 mmol/l</b>	<b>22 mmol/l</b>
<b>Lipidien laimennos-suhde</b>	0 µl	0,006 µl	0,013 µl	0,025 µl	0,050 µl
<b>Lipidien laskennallinen pitoisuus näytteessä</b>	1,93 mmol/l	4,39 mmol/l	7,57 mmol/l	14,75 mmol/l	25,34 mmol/l
<b>Analyysitulokset</b>	39,2 sec	37,7 sec	-	-	-
<b>Ero % verrattuna nollanäytteeseen</b>	0 %	3,8 %	-	-	-
<b>Lipemiahälytys</b>	0	2	4	5	-

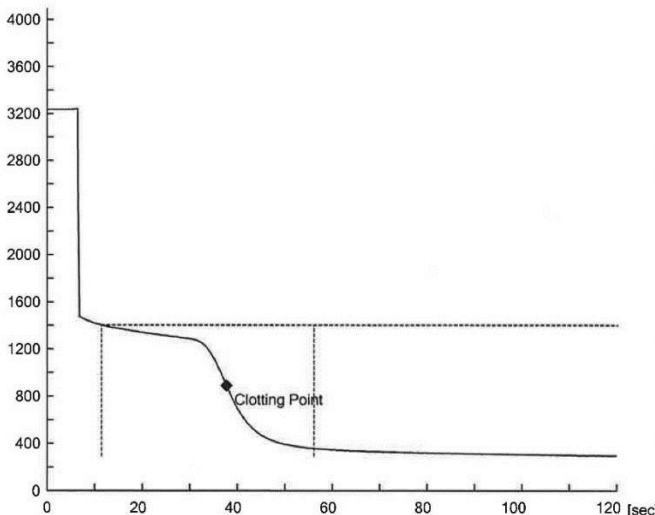
CS-2100i Immo

admin: administrator

\*\*\*\*\* Graph Detail Print \*\*\*\*\*

Sample No: korkea4 M Seq: F  
 Rack Tube Pos: 000009-04 Re-analysis flag:  
 Status: Review Validate: Performed  
 S. Code: Meas. Date: 2015/11/11 11:32:26  
 Analysis Mode: Normal  
 Patient Name:  
 Sample Comment:  
 Sample Info.: Hem I\* Lip

APTT



Result  
 APTT FSL~sec \* 37.7 sec

Evaluation Info.  
 bh\_point\_time 11.4  
 bh 1403  
 End\_point\_time 56.1  
 dh 1045  
 Coag.% 50  
 dOD 0.5932

Measurement Info.  
 Temperature 37.0  
 Channel No. 7  
 Management ID 5250  
 Dilution Ratio 1 / 1  
 Reagent Lot APTT FSL 547440  
 CaC12 539494  
 APTT FSL 43  
 CaC12 16

Detail  
 1000.1000.0000 Hemolytic Sample  
 1000.2000.0000 Ictericus Sample  
 1000.3000.0000 Lipemic Sample

Hem Detection Level 0  
 Ict Detection Level \*  
 Lip Detection Level 2  
 Vol Detection Level 59.0  
 61% 39.0 81% 42.4  
 62% 39.1 82% 42.7  
 63% 39.3 83% 43.0  
 64% 39.4 84% 43.2  
 65% 39.6 85% 43.5  
 66% 39.7 86% 43.8  
 67% 39.9 87% 44.1  
 68% 40.0 88% 44.5  
 69% 40.1 89% 44.8  
 70% 40.2 90% 45.3  
 71% 40.4 91% 45.8  
 72% 40.6 92% 46.3  
 73% 40.8 93% 46.9  
 74% 41.0 94% 47.6  
 75% 41.1 95% 48.3  
 76% 41.3 96% 49.3  
 77% 41.6 97% 50.6  
 78% 41.7 98% 52.1  
 79% 41.9 99% 53.6  
 80% 42.1 100% 56.2

Evaluation Data

1%	12.5	21%	34.0	41%	36.7
2%	13.7	22%	34.2	42%	36.8
3%	15.5	23%	34.3	43%	36.9
4%	16.9	24%	34.5	44%	37.0
5%	18.5	25%	34.7	45%	37.1
6%	20.2	26%	34.8	46%	37.3
7%	22.1	27%	35.0	47%	37.4
8%	23.7	28%	35.1	48%	37.5
9%	25.8	29%	35.2	49%	37.6
10%	27.9	30%	35.3	50%	37.7
11%	29.7	31%	35.5	51%	37.8
12%	31.1	32%	35.6	52%	37.9
13%	31.8	33%	35.7	53%	38.1
14%	32.2	34%	35.9	54%	38.2
15%	32.6	35%	36.0	55%	38.3
16%	32.9	36%	36.2	56%	38.4
17%	33.2	37%	36.2	57%	38.5
18%	33.4	38%	36.4	58%	38.7
19%	33.6	39%	36.5	59%	38.7
20%	33.9	40%	36.6	60%	38.9

12083/01-65 build 10

1/1

2015/11/11 11:51

KUVA 4. Tulosraportti korkean APTT:n näytteestä triglyseridipitoisuuden ollessa 4,0 mmol/l (Siemens Sysmex CS-2100i/ Islab 2015).

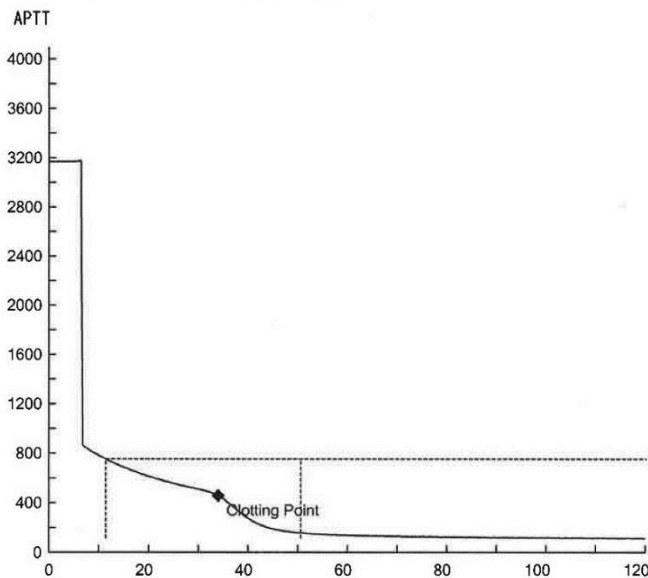


CS-2100i Immo

admin: administrator

\*\*\*\*\* Graph Detail Print \*\*\*\*\*

Sample No: korkea7 M Seq: F  
 Rack Tube Pos: 000009-03 Re-analysis flag:  
 Status: Review Validate: Performed  
 S. Code: Meas. Date: 2015/11/11 11:32:06  
 Analysis Mode: Normal  
 Patient Name:  
 Sample Comment:  
 Sample Info.: Hem I\* Lip



Result  
 APTT FSL ~sec \*\*\*\*\* \* sec

Evaluation Info.  
 bh\_point\_time 11.4  
 bh 755  
 End\_point\_time 50.6  
 dH 598  
 Coag. % 50  
 dOD 0.6820

Measurement Info.  
 Temperature 37.0  
 Channel No. 5  
 Management ID 5250  
 Dilution Ratio 1 / 1  
 Reagent Lot APTT FSL 547440  
 CaCl2 539494  
 APTT FSL 43  
 CaCl2 16

Detail  
 0008.0128.0002 Early Reaction Error : Start Angle 1  
 0008.0128.0016 Early Reaction Error : Early %  
 1000.1000.0000 Hemolytic Sample  
 1000.2000.0000 Icteric Sample  
 1000.3000.0000 Lipemic Sample

Hem Detection Level 0  
 Ict Detection Level \*  
 Lip Detection Level 4  
 Vol Detection Level 58.7

Evaluation Data

1%	11.6	21%	18.8	41%	30.2	61%	36.3	81%	40.2
2%	11.8	22%	19.3	42%	30.8	62%	36.5	82%	40.3
3%	12.2	23%	19.7	43%	31.3	63%	36.7	83%	40.6
4%	12.5	24%	20.2	44%	32.0	64%	36.9	84%	40.8
5%	12.8	25%	20.8	45%	32.5	65%	37.0	85%	41.1
6%	13.1	26%	21.1	46%	32.8	66%	37.2	86%	41.4
7%	13.4	27%	21.5	47%	33.2	67%	37.3	87%	41.8
8%	13.9	28%	22.2	48%	33.5	68%	37.6	88%	42.1
9%	14.2	29%	22.8	49%	33.8	69%	37.7	89%	42.3
10%	14.5	30%	23.1	50%	34.0	70%	37.9	90%	42.8
11%	14.8	31%	23.9	51%	34.2	71%	38.1	91%	43.1
12%	15.2	32%	24.3	52%	34.5	72%	38.3	92%	43.5
13%	15.7	33%	24.9	53%	34.7	73%	38.4	93%	44.0
14%	16.1	34%	25.6	54%	34.9	74%	38.7	94%	44.7
15%	16.4	35%	26.0	55%	35.1	75%	38.8	95%	45.2
16%	16.8	36%	26.8	56%	35.3	76%	39.0	96%	45.9
17%	17.3	37%	27.5	57%	35.5	77%	39.2	97%	46.7
18%	17.6	38%	28.2	58%	35.7	78%	39.5	98%	48.0
19%	18.0	39%	28.9	59%	35.9	79%	39.6	99%	49.0
20%	18.2	40%	29.3	60%	36.1	80%	39.9	100%	50.7

12083/01-65 build 10

1/1

2015/11/11 11:52

KUVA 5. Tulosraportti korkean APTT:n näytteestä triglyseridipitoisuuden ollessa 7,0 mmol/l (Siemens Sysmex CS-2100i/ Islab 2015).

Tutkimuksen suoritus onnistui kokonaisuudessaan hyvin. Aikataulut piti melkein koko tutkimusprosessin ajan. Loppua kohden tuli pieniä vastoinkäymisiä kirjallisen tuotoksen laatimisessa. Teoriaosuuden kirjoituksessa haastavaa oli ajantasaisen lähteiden löytäminen. Vanhempia lähteitä käytettiin perustellusti ja niistä valikoitiin vain niin sanotusti luotettavia tieteenalojen perusteoksia, joissa tieto ei todennäköisesti ole vanhentunutta. Artikkeleiksi valittiin niin uusia kuin mahdollista, joten niistä saatiin teoriaosuuteen luotettavuutta ja tuoretta näkökulmaa. Teksissä pyrittiin käyttämään useita eri lähteitä. Myös ulkomaisten artikkelien löytäminen tästä aihealueesta oli vaikeaa. Kuitenkin ne artikkelit, mitä löydettiin olivat erittäin hyviä, koska ne olivat ajankohtaisia ja uusia. Muutamassa artikkelissa oli jopa käytössä sama analysaattori kuin tässä tutkimuksessa.

Pitoisuussarjat tehtiin niin, että pitoisuudet saatiin vastaamaan haluttuja arvoja. Esimerkiksi lipeemiset näytteet testattiin vielä Cobas c501 –analysaattorilla luotettavuuden varmistamiseksi. Tuloksen tuli olla lähellä pitoisuussarjojen teko-ohjeen (LIITE 1.) haluttuja arvoja ja tämä myös toteutui halutulla tavalla. Pitoisuussarjojen mittaukset onnistuivat hyvin ja tulosraportit olivat selkeät. Tuloksista näki hyvin, että ne olivat johdonmukaisia ja vastasivat odotuksia. Niistä näki, miten selkeästi esimerkiksi hemolysaatin lisääntyminen vaikutti hemolyyssihälytykseen ja muihin laskettuihin arvoihin, kuten eron verrattuna nollanäytteeseen. Saaduista tuloksista saatiin koottua hyvin havainnollistavat ja helposti luettavat taulukot. Tutkimuksessa käytettiin APTT –määritystä, koska se on hyytymistutkimuksista herkin hemolyyssille ja lipemialle. Tämäkin lisäsi osaltaan tutkimuksen onnistumista. Tulosten pohjalta saatujen hälytysarvojen on tarkoitus helpottaa laboratoriotyöntekijöiden työtä niin, että heidän ei tarvitse enää tarkistaa hyytymisnäytteitä visuaalisesti hemolyyssin ja lipemian varalta vaan kone suorittaa näytteen laadun tarkistamisen näiltä osin.

Tutkimuksen luotettavuutta heikensivät muutamat seikat. Jälkikäteen mietittynä rinnakkaisen näytteiden käyttäminen olisi lisännyt merkittävästi luotettavuutta ja verrattavuutta. Pitoisuussarjoissa käytettyjä pitoisuuksia olisi pitänyt olla enemmän. Esimerkiksi hemolyyssisarjassa 1,0 g/l ja 2,5 g/l välissä olisi pitänyt olla muutama pitoisuus lisää. Näin olisi pitänyt olla läpi koko hemolyyttisten ja lipeemisten pitoisuussarjojen. Näin olisimme saaneet selkeämmän kuvan siitä, mihin kohtaan hälytysraja asettuu. Toisaalta tutkimuksessa käytetyt ohjeet olivat tulleet kemistiltä, joten niitä ei osattu kyseenalaistaa ennen tutkimusta. Oletetaan kuitenkin, että hälytysrajojen ei tarvitse olla niin tarkkoja vaan pientä hajontaa sallitaan.

Opinnäytetyö opetti yhteistyö- ja ongelmanratkaisutaitoja. yhteistyö ryhmän kesken toimi erittäin hyvin. Kokonaisuudessaan työtä oli paljon ja aikataulujen yhteensovittaminen sekä työn etenemisen suunnittelu oli haastavaa. Opinnäytetyön edetessä aihealueen teoriatiedon sisäistäminen ja oppiminen syventyi. Opinnäytetyön tekeminen vahvisti myös ammatillista osaamista. Työtä tehtiin paljon itsenäisesti ja useiden työvaiheiden pohdinta ja eteen tulleiden ongelmien ratkaiseminen ryhmäläisten kesken antoi varmuutta siitä, että kaikilta löytyy ammatillista osaamista jo ennestään ja uuden tiedon myötä sen määrä on vain kasvanut.

Työn tavoite oli saatujen tulosten käyttäminen koko Islabin alueen laboratorioissa. Kuitenkin muutamien seikkojen, kuten esimerkiksi rinnakkaisten puuttumisen ja pienien näyttemäärien vuoksi tutkimuksen tuloksia ei voidan yleistää ja käyttää näin laajasti. Tästä tutkimuksesta saatujen tulosten pohjalta voitaisiin kuitenkin tehdä esimerkiksi jatkotutkimus hieman suuremmalla näytemäärällä.

## 9.1 Tutkimuksen luotettavuus ja ammattietiikka

Opinnäytetyötä tehdessä toimittiin työn jokaisessa vaiheessa ammattietiikkaa noudattaen. Luvat tutkimuksen tekoon saatiin Islabilta. Potilaslaissa ei kielletä käyttämästä näytteitä tutkimustarkoitukseen. Näytteistä ei tullut missään vaiheessa tutkimusta potilastiedot esille, vaan niitä käsiteltiin täysin nimettöminä. Henkilötiedon määritelmä ei täyty ihmisestä otetuissa näytteissä, koska henkilöön liittyvää tietoa ei ole itse näytteissä, näin henkilötietolaissa on määritelty. (Mäenpää 2012, 22, 28.)

Analytiikan kannalta mahdollisia virhelähteitä ovat muun muassa tasoltaan huono mittausmenetelmä, vääränlainen tekniikka, viallinen laite, näytteenoton virheet ja näytteen väärä kuljetus- ja säilytyslämpötila. Tarkkuus ja spesifisyys voivat vaihdella laitteiden välillä, mikä vaikuttaa tuloksiin. Tämän vuoksi on tärkeää kiinnittää huomiota laitteiden kuntoon ja analyysien tasoon. (Penttilä 2004, 36.)

Laissa (101/2001) on säädös, että ihmisen elimiä, kudoksia sekä soluja saa käyttää vain lääketieteellisissä tutkimuksissa sekä opetuksessa terveydenhuollon yksikön luvalla, jonka toimintaa varten näyte on otettu. Henkilötietoja ei käsitellä näytteitä käytettäessä. (Laki ihmisen elimien, kudoksien ja solujen lääketieteellisestä käytöstä 2.2.2001/101.)

Tutkimuksessa toimittiin totuudenmukaisesti, inhimillisesti ja arvoperustaisesti. Tutkimuksen tarkoituksena oli löytää totuus eri tieteenaloilla niille hyväksytyillä toimintatavoilla. Hyvässä tieteellisessä tutkimuksessa täytyy noudattaa tieteelliselle tutkimukselle ominaisia toimintatapoja eli tarkkuutta, huolellisuutta ja rehellisyyttä. Tutkimuksessa raportoitiin, arvioitiin, tutkittiin ja hankittiin tietoa tieteellisesti ja eettisesti oikein. Tulokset julkaistiin avoimesti ja muiden tutkijoiden aikaisemmat työt huomioitiin arvostavasti. Tutkimuksen tausta, yhteistyökumppanit ja rahoituslähteet on ilmoitettu. Tutkimuksessa vastuu etiikasta on ollut tutkimuksen tekijöillä. (Leino-Kilpi ja Välimäki 2014, 361, 364–365.)

## LÄHTEET

ANTTILA, Pirkko 2006. Tekeminen ja tutkiva toiminta, ilmaisu teos. 2.painos. Hamina: Akatiimi Oy.

A Practical Guide to Laboratory Haemostasis 2012a. Activated Partial Thromboplastin Time [viitattu 2015-11-19.] saatavissa: <http://www.practicalhaemostasis.com/Screening%20Tests/aptt.html>

A Practical Guide to Laboratory Haemostasis 2012b. [kuva APTT] [viitattu 2016-03-01.] saatavissa: <http://practical-haemostasis.com/Screening%20Tests/aptt.html>

Heikkilä, T. 2010. Tilastollinen tutkimus. 7-8. painos. Helsinki: Edita.

HIRSJÄRVI, Sirkka, REMES, Pirkko, SAJAVAARA, Paula 2009. Tutki ja kirjoita. 15.painos Hämeenlinna: Kariston Kirjapaino Oy.

HORSTI, Juha 2001. Hyytymistutkimusten preanalyttisistä tekijöistä. Moodi 4-5.

Huslab 2016a. Antifaktori X-aktiivisuus, plasmasta. [web-ohjekirja] [viitattu 2016-01-28.] saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/3828.html>

Huslab 2016b. Antitrombiini III, plasmasta. [web-ohjekirja] [viitattu 2016-01-11.] saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/1103.html>

Huslab 2016c. Tromboplastiiniaika, aktivoitu, partiaalinen, plasmasta. [web-ohjekirja][viitattu 2016-03-01.] saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/2783.html>

Huslab 2016d. Tromboplastiiniaika, INR-tulostus, plasmasta. [web-ohjekirja] [viitattu 2016-01-11.] saatavissa: [http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt\\_show.exe?assay=4520&terms=INR](http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=4520&terms=INR)

Islab 2015. P -Tromboplastiiniaika, aktivoitu, partiaalinen. [web-ohjekirja] [viitattu 2015.] saatavissa: <http://islab.fi/index.asp?tz=-2>

JAARINEN, Soili ja NIIRANEN, Jukka 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5.painos. Helsinki: Edita Oy.

JOUTSI-KORHONEN, Lotta ja KOSKI, Tomi 2010. Hemostaasin tutkimukset. Teoksessa Niemelä, Onni ja Pulkki, Kari (toim.) 2010. Laboratoriolääketiede kliininen kemia ja hematologia. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 275–284.

KANANEN, Jorma 2011. Kvantti, Kvantitatiivisen opinnäytetyön kirjoittamisen käytännön opas, Jyväskylän ammattikorkeakoulun julkaisuja-sarja. Tampere: Yliopistopaino Oy-Juvenes print.

KANKKUNEN, Päivi ja VEHVILÄINEN-JULKUNEN, Katri 2010. Tutkimus hoitotieteessä. Helsinki: WSOYpro Oy.

KOVANEN, Petri, PENTIKÄINEN, Markku ja VIIKARI, Jorma 2010. Lipoproteiinit ja niiden aineenvaihdunta, Endokrinologia, Duodecim [Viitattu 2016-01-12.] Saatavissa: [http://www.terveysportti.fi/dtk/oppi/koti?p\\_artikkeli=end02001&p\\_haku=lipemia](http://www.terveysportti.fi/dtk/oppi/koti?p_artikkeli=end02001&p_haku=lipemia)

LAGA, Alvaro, CHEVES, Tracey ja SWEENEY, Joseph 2006. The effect of specimen hemolysis on coagulation test results. American Journal of Clinical Pathology, 126(5): 748–755.

Laki ihmisen elimien, kudosten ja solujen lääketieteellisestä käytöstä 2.2.2001/101. [viitattu 2016-04-13] saatavissa: <http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/2001/20010101>

LEINO, Aila 2008. Ikteerinen, lipeeminen tai hemolyyttinen näyte kemian analyyseissä. Moodi 1/2008.

LEINO-KILPI, Helena ja VÄLIMÄKI, Maritta 2014. Etiikka hoitotyössä. Sanoma Pro Oy.

LIPPI, Giuseppe, PLEBANI, Mario ja FAVALORO, Emmanuel 2013. Interference in Coagulation Testing: Focus on Spurious Hemolysis, Icterus, and Lipemia. Seminars in Thrombosis and Hemostasis 39(3):66-258.

LIPPI, Giuseppe, SALVAGNO, Gian, BLANCKAERT, Norbert, GIAVARINA, Davide, GREEN, Sol, KITCHEN, Steve, PALICKA, Vladimir, VASSAULT, Anne ja PLEBANI, Mario. 2009. Multi-center evaluation of the hemolysis index in automated clinical chemistry systems. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 47(8): 934–939

Mayo Medical Laboratories 2011. Activated Partial Tromboplastin Time [Viitattu 2015-11-19.] saatavissa: <http://www.mayomedicallaboratories.com/testcatalog/Clinical+and+Interpretive/9058>

MÄENPÄÄ, Pia 2012. Ihmisperäisiä näytteitä ja näytetietoja koskeva lainsäädäntö 8/2012. Bio Medi Tech [viitattu 2015-12-16] saatavissa: [http://www.uta.fi/tutkimus/etiikka/ihmis/ihmisperaiset\\_naytteet-1.pdf](http://www.uta.fi/tutkimus/etiikka/ihmis/ihmisperaiset_naytteet-1.pdf)

MÄKIPERNAA, Anne 2013. Verenvuotopotilaan tutkiminen ja hoito, Lähihoitajan käsikirja, Duodecim [Viitattu 2015-10-09] Saatavilla: [http://www.terveysportti.fi/dtk/ltk/koti?p\\_artikkeli=ykt00380&p\\_haku=hytytymistutkimus](http://www.terveysportti.fi/dtk/ltk/koti?p_artikkeli=ykt00380&p_haku=hytytymistutkimus)

MÄTTÖ, Mikko 2016-01-22. Sairaalakemisti. [HAASTATTELU.] Kuopion yliopistollinen sairaala, Islab.

NIEMELÄ, Onni ja PULKKI, Kari 2010. Hyytymisanalysointorit. Teoksessa: NIEMELÄ, Onni ja PULKKI, Kari (toim.) 2010. Laboratoriolääketiede, Kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 91-93.

NIKOLAC, Nora 2014. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochemia Medica*, 24(1): 57–67.

PENTTILÄ, Ilkka 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset, WS Bookwell Oy.

PUNNONEN, Kari 2010. Anemiat. Teoksessa NIEMELÄ, Onni ja PULKKI, Kari (toim.) 2010. Laboratoriolääketiede, Kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 260.

RODAK, Bernadette, FRITSMA, George ja KEOHANE, Elaine 2012. Hematology, Clinical principles and applications. 4. painos. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

LASSILA, Riitta 2007. Veren hyytyminen ja fibrinolyysi. Teoksessa: RUUTU, Tapani, RAJAMÄKI, Allan, LASSILA, Riitta ja PORKKA, Kimmo (toim.) 2007. Veritaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

SALVAGNO, Gian, LIPPI, Giuseppe, BASSI, Antonella, POLI, Giovanni ja GUIDI, Gian 2008. Prevalence and type of pre-analytical problems for inpatients samples in coagulation laboratory. *Journal of Evaluation in Clinical Practice*. Blackwell Publishing, 14(2): 3-351.

SAND, Olav, SJAASTAD, Øystein, HAUG, Egil, BJÅLIE, Jan ja TOVERUD, Kari 2011. Ihminen, Fysiologia ja anatomia. 2.painos. Helsinki: WSOYpro Oy, 326.

STAUSS, Mary, SHERMAN, Beth, PUGH, Lorene, PARONE, Dominic, LOOBY-RODRIGUEZ, Karen, BELL, Annette ja REED, Karole-Rae 2012. Hemolysis of coagulation specimen: A comparative study of intravenous draw methods. *Journal of emergency nursing*, 38(1): 15–21.

Suomen Hemofiliayhdistys 2006. Verenvuototaudit, tietopaketti potilaille, Helsinki, toimittaja: Vesa Rasi. [viitattu 2016-04-13] saatavissa: <http://www.hemofilia.fi/pdf/tietopaketti2006.pdf>

SHIN, Dong Hoon, KIM, Juwon, UH, Young, LEE, Se Il, SEO, Dong Min, KIM, Kab Seung, JANG, Jae Yun, LEE, Man Hee, YOON, Kwang Ro ja YOON, Kap Jun 2014. Development of an integrated reporting system for verifying hemolysis, icterus, and li-pemia in clinical chemistry results. *Annals of Laboratory Medicine* 34(4).

SINERVO, Tuija, 2011. Miten varmistaa laboriotoiminnan hyvä laatu nyt ja tulevaisuudessa. Finas- akkreditointipalvelu. [Power Point][viitattu 2016-04-13] saatavissa: [http://www.labquality.fi/@Bin/2306799/Tuija+Sinervo\\_Jatkuva+para](http://www.labquality.fi/@Bin/2306799/Tuija+Sinervo_Jatkuva+para)

SYRJÄLÄ, Martti 1999. Hyytymistutkimusten laadunohjaus. Moodi 3.

Siemens Sysmex CS-2000i/CS-2100i evaluation and check algorithm. 2012. Training Booklet. Version 2.1i. [ohjekirja]

TUOKKO, Seija, RAUTAJOKI, Anja ja LEHTO, Liisa 2008, Kliiniset laboratorionäytteet, opas näytteiden ottoa varten, Gummerus Kirjapaino Oy.

VIANDER, Markku 2007. Mittausepävarmuudesta. Turun yliopisto [Power Point][viitattu 2016-03-01.] saatavissa:

[http://www.labquality.org/LQ/Pdf.aspx?dir=1&path=A\)%202007%20Mb-laboratorioden%20edustajien%20kokous%2FMittausepavarmuus\\_Viander\\_.pdf&type=file&vuosi=2009](http://www.labquality.org/LQ/Pdf.aspx?dir=1&path=A)%202007%20Mb-laboratorioden%20edustajien%20kokous%2FMittausepavarmuus_Viander_.pdf&type=file&vuosi=2009)



## LIITE 1. PITOISUUSSARJOJEN TEKO-OHJEET

KYS

13.1.2016

Kliinisen kemian osasto

## HEMOLYYSIN JA LIPEMIAN VAIKUTUKSET SYSMEX CS-2100i HYYTYMISANALYSAATTORILLA TEHTÄVIIN TUTKIMUKSIIN

## LIPEMISEN SEERUMI-/PLASMANÄYTTEEN VALMISTAMINEN:

Intralipid-valmiste valmistajan mukaan:

1g triglyseridejä vastaa 5ml Intralipid:iä 200mg/ml infuusionesteessä

= 0,2g TRIGLY/ml Intralipid &gt; 200g/l

1g triglyseridejä vastaa 1,13 mmol TRIGLYä

&gt; Intralipid-liuksessa on 226 mmol TRIGLY/l

Käytännössä mitattu triglyseridipitoisuus on n. 2 kertaa korkeampi, mikä johtunee Intralipid:n mukana lisättävistä muista rasvoista, kuten glyserolista, joita Intralipid:ssä on 22 g/l. Sen vuoksi teoreettisen pitoisuuden sijasta tehdään käytännön kokemukseen perustuva laimennossarja. Lopullinen pitoisuus tarkastetaan pooleista mittaamalla triglyseridipitoisuus.

Pitoisuussarja (aiempaan kokemukseen perustuva):

Triglyseridi-pitoisuus	Intralipid-liuos (l)	0,9 % NaCl (l)	Pooliseerumi (ml)
n. 1 mmol/l	0	33	0,630
n. 4 mmol/l	4	29	0,630
n. 7 mmol/l	8	25	0,630
n. 12 mmol/l	16,5	16,5	0,630
n. 22 mmol/l	33	0	0,630

## HEMOLYSAATTILIUOKSEN VALMISTUS (HB-PITOISUUS 200g/l):

Otetaan yksi pussi punasoluja ja sentrifugoidaan ne. Poistetaan plasma, jonka jälkeen punasolut pakastetaan -20 C yön yli. Jäädystä hemolysoi punasolut. Pakastamisen jälkeen punasolut sulatetaan ja sentrifugoidaan 2000 g, 10 min.

Mitataan hemolysaatin hemoglobiinipitoisuus Advia- verisoluanalysointilaitteella. Jos Hb on yli 200 g/l, lasketaan seuraavalla kaavalla lisättävän veden määrä:

$$V_2 = \frac{C_1 \times V_1}{C_2}$$

C1= mitattu hemolysaatin hemoglobiini

C2= haluttu Hb-pitoisuus = 200 g/l

V1= hemolysaatin pitoisuus ennen veden lisäystä

V2 = lisättävä vesimäärä

Tarkistetaan hemolysaatin Hb-pitoisuus Advialla.

Mikäli Hb on alle 200 g/l, lisättävän veden määrä lasketaan seuraavalla kaavalla:

$$V_1 = \frac{C_1 \times V_2}{C_2}$$

C1= haluttu hemoglobiini pitoisuus (g/l), esim. 5,0 g/l

C2= mitattu väkevän hemolysaatin Hb-pitoisuus (g/l)

V1= pipetoitavan hemolysaatin tilavuus (µl)

V2= laimennetun hemolysaatin lopullinen tilavuus (esim. 2000 µl)

Esim. Hemolysaatin pitoisuus= 180 g/l

Laimennetun hemolysaatin lopullinen tilavuus = 2000 µl

Haluttu hemoglobiinipitoisuus = 5,0 g/l

$$V_1 = \frac{5,0 \text{ g/l} \times 2000 \text{ µl}}{180 \text{ g/l}} = 55,6 \text{ µl}$$

Hemolyttisen pitoisuussarjan valmistaminen:

Hb-pitoisuus	Hemolysaatti ( $\mu\text{l}$ )	0,9 % NaCl ( $\mu\text{l}$ )	Pooliseerumi (ml)
0 g/l	0	100	0,475
0,5 g/l	$V_1/10$	$100 - V_1/10$	0,475
1,0 g/l	$V_1/5$	$100 - V_1/5$	0,475
2,5 g/l	$V_1/2$	$100 - V_1/2$	0,475
5,0 g/l	$V_1$	$100 - V_1$	0,475

## LIITE 2. INTRALIPID –VALMISTEEN TIEDOT

**Intralipid**

Baxter

ClinOleic 200 mg/ml (20 %)

Infusioneste, emulsio iv.

Lot/eränro: 11K15N33

Vaikuttava-aine per 100 ml:

Olivae oleum raffin. (ca 80 %) et soiae oleum raffin. (ca 20 %) 20,00 g

## LIITE 3. SYSMEX CS2100I-HYYTYMISANALYSAATTORIN REAGENSsit

## APTT-reagenssit

1. Dade® Actin® FSL Activated PTT Reagent (ref B4219-1, Siemens Health Care Diagnostic Products GmbH)
2. 25 mmol/l CaCl<sub>2</sub> Solution (10x15 ml Siemens, ref ORHO37)

## AntiFX-a-reagenssit

Coamatic Heparin, Chromogenix, n:o 82339363, Mediq Suomi Oy

1. S-2732: R1
2. Factor XA: R2
3. Aqua (MilliQ)

## LIITE 4. TUTKIMUSLUPA


 ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN  
 LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

 TUTKIMUS JA 1(3)  
 OPINNÄYTETYÖLUPA HAKEMUS

Nro / 20

Lupahakemukseen liitetään tutkimussuunnitelma, aineiston keruulomakkeet saatekirjeineen ja rahoitussuunnitelma. Jos tutkimus- tai opinnäytetyössä käsitellään ISLABin yhteistyö-/asiakasorganisaatioiden toimintaa haetaan lupa myös heiltä.

**HAKIJA**

Vastuullinen tutkija

Ilona Huuskonen

ilona.m.huuskonen@edu.sevonia.fi

Osoite, puh, s-posti 040 8387249

Nimi

Muut tutkijat

Merja Heikkinen

merja.h.heikkinen@edu.sevonia.fi

040 7695317

Anna-Leena Hintikka

anna-leena.m.hintikka@edu.sevonia.fi

040 7426443

Työpaikka

Virka/toimi (ei koske opiskelijoita)

 Opiskelupaikka  AMK mikä Sevonia amk  yliopisto mikä \_\_\_\_\_  muu mikä \_\_\_\_\_

Suoritettava tutkinto

Bioanalytiikan koulutusohjelma
**TUTKIMUS / OPINNÄYTETYÖ**

 Tutkimuksen/  
 opinnäytetyön nimi

Hemolyyttisten ja lipeemisten näytteiden hälytysrajien  
 määrittäminen hyttymisanalysointilaitteille

Tutkimuksen/ opinnäytetyön lyhyt kuvaus (mm. tutkimuksen tarkoitus, kohderyhmä ja tutkimusmenetelmät) sekä julkaisusuunnitelma (maksimissaan 300 sanaa)

Scimme ISLAB:ita aiheuttamien määrittämien hälytysrajat Sysmex CS-2100; -hyttymisanalysointilaitteille lipeemisille ja hemolyyttisille näytteille.

Työn tarkoituksena on saada tuotettua toimivat ja yhtenevät hälytysrajat hemolyyttisille ja lipeemisille näytteille. Aikamäärämme on tehdä hyttymisanalysointilaitteille laimennosrajat kyseisille näytteille. Näin ollen pystyttäisiin vähentämään häiriötekijöistä johtuvien väärin tulosten ostemista potilaille.

Tavoitteena on virheettömien ja luotettavien tulosten saaminen ensiluokkeisissa ja laadukkaissa hoitojen turvaamisessa.

Tulokset tulevat ISLAB:n laboratorion käyttöön.

Tavoitteena on, että scimme opinnäytetyö tehtyjä huhtikuun loppuun mennessä.

 Tutkimus on  Opinnäytetyö amk / ylempi amk)  pro gradu  lisensiaattityö  väitöskirja  
 muu, mikä \_\_\_\_\_

 Monikeskustutkimus  ei  kyllä  kansallinen  kansainvälinen

Tutkimuksen kokonaisaika-alue

Aika-alue ISLABissa/ Yhteistyöorganisaatiossa

Kustannukset

 Arvio ISLABille / yhteistyöorganisaatiolle koituvista kustannuksista 813 €

Tarkempi kustannuserittely esitettävä erillisellä liitteellä

 Ei aiheuta kustannuksia ISLABille / yhteistyöorganisaatiolle



<b>Tutkimuseettisen toimikunnan lausunto</b>	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu	
Toimikunta	Mikko Mättö keskusteli asiasta Susanna Luukkosen kanssa. Lausunto pvm nro Koska opinnäytetutkimuksen tekeminen ei edellytä erillistä näytteenottoa potilaasta, vaan työssä käytetään ylijäämä näytteitä, ei tarvita tutkimuseettisen toimikunnan lausuntoa. Lisäksi tehtävä opinnäytetyö on ISLABin menetelmä keshitystyötä.
<b>Toimitusjohtajan lupa rekisteritutkimuksia varten</b> pvm _____	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu	
<b>STM:n lupa rekisteritutkimuksia varten</b> pvm _____	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu	
<b>Aluelaboratorion johtajan lupa laboratorion toimintaa ja henkilökuntaa</b> pvm _____ <b>koskevia tutkimuksia varten</b>	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu	
<b>Muu lupa (mikä/ mistä)</b> pvm _____	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä	
<b>ALLEKIRJOITUS JA SITOUMUS</b>	
Allekirjoittaneet tutkijat sitoutuvat noudattamaan ISLABin ohjeita, sairaalan yleisiä sääntöjä sekä salassapito- ja valtiolovelvollisuutta ja lähettämään tutkimusraportin yksikköön, jossa tutkimus on tehty sekä luvan myöntäjälle.	
19/11 2015	
Tutkijan allekirjoitus	Tutkijan allekirjoitus
Ilona Huuskonen	Merja Heikinen
Nimen selvennys	Nimen selvennys
Tutkijan allekirjoitus	Tutkijan allekirjoitus
Anna-Leena Hinkinen	
Nimen selvennys	Nimen selvennys
<b>TUTKIMUKSEN / OPINNÄYTETYÖN OHJAAJAT</b>	
Ohjaajan allekirjoitus	Ohjaajan allekirjoitus
Marko Björn	
Nimen selvennys	Nimen selvennys
Osoite, puhelin, s-posti	Osoite, puhelin, s-posti



PÄÄTÖS	
<input checked="" type="checkbox"/>	Myönnän tutkimusluvan
<input type="checkbox"/>	Myönnän tutkimusluvan, mutta ennen tutkimuksen aloittamista tutkimukselle tulee hakea tutkimuseettisen toimikunnan lausunto / toimitusjohtajan lupa rekisteritutkimuksia varten / STM:n lupa rekisteritutkimuksia varten / muu lupa, mikä
<hr/>	
<input checked="" type="checkbox"/>	Aluelaboratorion johtajan lupa; päätös nro
<input checked="" type="checkbox"/>	Toimitusjohtajan lupa; päätös nro
26_11_2016	1/2016
	Kari Punnonen Allekirjoitus Toimitusjohtaja Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä
	Nimen selvennys
Yhteyshenkilö ISLAB:ssa/ Yhteistyöorganisaatiossa (luvan myöntäjä nimeää)	
Mikko Mättö, sairaalakemisti	ISLAB/Kuopion aluelaboratorio/Puijo
Nimi	Työyksikkö
mikko.matto@islab.fi	044-7178981
S-posti	Puhelin

## LIITTEET

- Tutkimussuunnitelma \_\_\_\_\_ sivua  
 Rahoitussuunnitelma \_\_\_\_\_ sivua  
 Muita liitteitä \_\_\_\_\_ sivua