



TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

SEERUMIN IONISOITUNEEN KALSIUMPITOISUUDEN TUTKIMINEN

Vajaan putken, avonäytteen ja säilytyksen vaikutus

Tuire Kauppi

Saara Kurki

Opinnäytetyö
Toukokuu 2018
Bioanalytikkokoulutus



TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytikkokoulutus

KAUPPI, TUIRE & KURKI, SAARA:
Seerumin ionisoituneen kalsiumpitoisuuden tutkiminen
Vajaan putken, avonäytteen ja säilytyksen vaikutus

Opinnäytetyö 50 sivua, joista liitteitä 3 sivua
Toukokuu 2018

Ionisoituneen kalsiumin määrittämistä käytetään mm. lisäkilpirauhaseen, luustoon, munuasiin ja suolistoon liittyvien sairauksien diagnosoinnissa ja seurannassa. Veressä olevasta kalsiumista puolet on vapaana eli ns. ionisoituneena kalsiumina, joka on fysiologisesti aktiivinen kalsiumin muoto. Ionisoituneen kalsiumin määrittäminen antaa kokonaiskalsiumin määrittämistä paremman kuvan elimistön kalsiumtasapainosta. Määrittäminen edellyttää anaerobista näytteenottoa, koska hapen läsnä ollessa näytteen hiilidioksidipitoisuus vähenee ja pH nousee, jolloin ionisoituneen kalsiumin pitoisuus laskee.

Opinnäytetyön tarkoitus oli selvittää vajaan täyttyneen vakuumputken ja avonäytteen käyttömahdollisuutta sekä 24 tunnin säilytyksen vaikutusta seerumin ionisoituneen kalsiumin eli Ca-Ion -pitoisuuteen, pH-arvoon ja pH-korjattuun Ca-Ion -pitoisuuteen. Opinnäytetyö tehtiin Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin kliinisen kemian toimintayksikölle. Näytteiden analysointiin käytettiin Radiometer ABL90 Flex -verikaasuanalysointilaitetta. Aineiston tilastollinen analyysi tehtiin SPSS-ohjelmalla käyttäen parittaisten otosten t-testiä.

Testin perusteella vajaan ja täyden putken Ca-Ion -pitoisuuksissa, pH-korjatuissa Ca-Ion -pitoisuuksissa sekä pH-arvoissa oli tilastollisesti merkitseviä eroja. Avo- ja vakuuminäytteiden Ca-Ion -pitoisuuksien ja pH-arvojen välillä oli tilastollisesti merkitseviä eroja, mutta pH-korjatuissa Ca-Ion -pitoisuuksissa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa. 24 tunnin säilytyksellä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja Ca-Ion -pitoisuuksissa, pH-korjatuissa Ca-Ion -pitoisuuksissa eikä pH-arvoissa.

Tulosten perusteella Ca-Ion -määrittämiseen tulee käyttää vain täyttä näyteputkea, koska hiilidioksidipitoisuuden väheneminen nostaa pH:n, jolloin Ca-Ion -pitoisuus laskee. Tulosten perusteella avonäyte on käyttökelpoinen näytemuoto, koska potilaalle vastataan pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus. Tulosten perusteella Ca-Ion -näyte säilyy sentrifugoinnin jälkeen huoneenlämmössä jopa 24 tuntia näytteenotosta.

Tutkimus vahvistaa toimeksiantajalle sen, että näytteen 24 tunnin säilytys ei vaikuta tuloksiin. Tutkimuksen perusteella on mahdollista myös harkita avonäytteen käyttömahdollisuutta Ca-Ion -tutkimuksissa.

Asiasanat: kalsium, ionisoitunut, pitoisuus, pH, säilyvyys

ABSTRACT

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

KAUPPI, TUIRE & KURKI, SAARA:
Ionized calcium concentration
Influence of half-filled tubes, aerobic method and storage

Bachelor's thesis 50 pages, appendices 3 pages
May 2018

The ionized calcium concentration of the serum is often determined when a disease of the parathyroid gland, bone, kidneys, or intestine is suspected, or treatment is monitored. Half of the calcium in the blood exists in a free, ionized form, which is the active form of calcium. An anaerobic method is recommended when calcium ion samples are taken, because if a specimen is exposed to air, carbon dioxide loss will increase the pH and decrease the ionized calcium.

The aim of this study was to find out how half-filled tubes and samples taken with aerobic method (with an open needle) affect the results of ionized calcium, pH and pH-adjusted ionized calcium. The purpose was also to find out if 24 hours storage after centrifugation influences the results of ionized calcium concentration, pH and pH-adjusted ionized calcium concentration in the sample. This study was done at The Hospital District of Southern Ostrobothnia (EPSHP), in the laboratory of the Clinical Chemistry, Seinäjoki, Finland. The samples were analyzed by Radiometer ABL 90 Flex blood gas analyzer. The statistical analysis was done using the SPSS software with the paired samples t-test.

Differences between the concentrations of Ca-Ion, pH and pH-adjusted Ca-Ion in full tubes and half-filled tubes were statistically significant. Similarly, differences between the concentrations of Ca-Ion and pH in the aerobic and anaerobic samples were statistically significant, but the concentration of the pH-adjusted Ca-Ion was not statistically significant. Differences between the concentrations of Ca-Ion, pH and pH-adjusted Ca-Ion in samples analyzed, according to the instructions and after 24 hours storage, were not statistically significant.

The results showed that half-filled tubes are not suitable for measurement of ionized calcium, because the concentration will decrease significantly when the tube is not full. The results also showed that aerobic sample can be used, because the pH-adjusted Ca-Ion concentration is the result which is informed to the patient. According to the results, centrifugated ionized calcium sample can be stored at room temperature at least 24 hours.

Key words: calcium, ion, concentration, pH, storage

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	5
2	KALSIUM.....	7
2.1	Kalsium elimistössä	7
2.2	Kalsiumpitoisuuden säätely	8
2.3	Kalsiumin määritykset ja sen indikaatiot.....	10
3	IONISOITUNEEN KALSIUMIN MÄÄRITYS LABORATORIOSSA.....	13
3.1	Ionisoituneeseen kalsiumin preanalytiikka.....	13
3.2	Ionisoituneen kalsiumin mittaustekniikka ja siihen vaikuttavia seikkoja	16
4	OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT	19
5	MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT	20
6	TYÖN TOTEUTUS	24
6.1	Tutkimusnäytteiden kerääminen ja analysointi	24
6.2	Tulosten käsittely.....	26
7	TULOKSET	28
7.1	Täysien ja vajaiden vakuumiputkien Ca-Ion -pitoisuus ja pH.....	28
7.2	Vakuuminäytteiden ja avonäytteiden Ca-Ion -pitoisuus ja pH.....	31
7.3	Säilytyksen vaikutus Ca-Ion -pitoisuuteen ja pH-arvoon.....	34
8	TULOSTEN TULKINTA JA JOHTOPÄÄTÖKSET.....	38
8.1	Täysien ja vajaiden vakuumiputkien Ca-Ion -pitoisuus ja pH.....	38
8.2	Vakuuminäytteiden ja avonäytteiden Ca-Ion- pitoisuus ja pH.....	38
8.3	Säilytyksen vaikutus Ca-Ion- pitoisuuteen ja pH-arvoon.....	39
9	EETTISYYS JA LUOTETTAVUUS	40
10	POHDINTA.....	43
	LÄHTEET.....	45
	LIITTEET	48
	Liite 1. Tiedote laboratoriohoitajille tutkimusnäytteiden ottamiseksi.....	48
	Liite 2. Aineisto täyden ja vajaan putken sekä 24 tunnin säilyvyyden tutkimista varten	49
	Liite 3. Aineisto vakuuminäytteen ja avonäytteen tutkimista varten	50

1 JOHDANTO

Kalsium on elimistölle tärkeä hivenaine, josta suurin osa on luustossa (99 %) ja loppuosa elimistön nesteissä (1 %). Veressä olevasta kalsiumista puolet on vapaana eli ns. ionisoituneena kalsiumina, joka on fysiologisesti aktiivinen kalsiumin muoto. Ionisoituneen kalsiumin määrittäminen antaa kokonaiskalsiumin määritystä paremman kuvan elimistön kalsiumtasapainosta. Sitä käytetään mm. lisäkilpirauhaseen, luustoon, munuaisiin ja suolistoon liittyvien sairauksien diagnosoinnissa ja seurannassa. Määrittäminen edellyttää anaerobista näytteenottoa, koska hapen läsnä ollessa näytteen hiilidioksidipitoisuus vähentyy ja pH nousee, jolloin ionisoidun kalsiumin pitoisuus laskee. (Uotila 2010, 104; Baird 2011, 696–697; Uotila 2014, 56; Risteli, Winter, Kleerekoper & Risteli 2015, 744, 746.)

Anaerobinen näytteenotto vakuumitekniikalla ei onnistu kaikilta asiakkailta, jolloin näytteitä joudutaan ottamaan avotekniikalla. Vakuuminäyte voi myös joskus jäädä vajaaksi, koska esimerkiksi vakuumin imu voi imeä pienet tai hauraat suonet umpeen. (Matikainen, Miettinen & Wasström 2016, 76.) Avotekniikkaa käytetään erityisesti lapsipotilaiden näytteidenotossa. Työssä selvitetään, soveltuuko vajaasti täyttynyt vakuumiputki tai avonäytteenä otettu ionisoitunut kalsiumnäyte eli Ca-Ion -näyte analysoitavaksi. Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin (EpsHP) työohjeessa (2016) ionisoituneen kalsiumin vakuuminäytteenotolle (fS-Ca-Ion) vaihtoehtona on kapillaarinäytteenotto (cB-Ca-Ion) ja se edellyttää analyysin tekemisen 30 minuutin kuluttua näytteenotosta (EpsHP 2016). Koska ionisoituneen kalsiumin laboratoriotutkimukset ovat Etelä-Pohjanmaalla keskitetty Seinäjoelle, eikä maakunnan toimipisteissä ole laitteita analyysien tekemiseen kapillaarista, aiheuttaa tämä käytännössä haasteita. Vakuumitekniikalla otettu näyte on silloin ainoa käytettävissä oleva tapa ottaa näyte (EpsHP 2016).

Tutkimuksen yhtenä tavoitteena on tämän vuoksi selvittää, voidaanko vajaata putkea ja avonäytettä käyttää seerumin ionisoituneen kalsiumin määrittämisessä. Työssä verrataan Ca-Ion -pitoisuutta, pH-arvoa ja pH-korjattua Ca-Ion -pitoisuutta vakuumitekniikalla otetuissa täysissä ja vajaissa näyteputkissa, sekä avotekniikalla ja vakuumitekniikalla otetuissa näytteissä. Työssä selvitetään myös 24 tunnin säilytyksen vaikutusta Ca-Ion -pitoisuuteen, pH-arvoon ja pH-korjattuun Ca-Ion -pitoisuuteen, vertaamalla alle kahden tunnin ja 24 tuntia säilytettyjen näytteiden pitoisuuksia. Näytteet otetaan EpsHP:n työohjeen mukaisesti seerumigeeliputkeen (EpsHP 2016). Tässä työssä käytetään rinnakkain termejä

ionisoitunut kalsium ja vapaa kalsium tarkoittaen samaa asiaa. Ionisoituneesta kalsiumista käytetään lyhenteitä Ca^{2+} sekä Ca-Ion.

Opinnäytetyön toimeksiantaja on Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin kliinisen kemian toimintayksikkö. Ca-Ion -näytteiden analysointiin EpsHP:n toimintayksikössä käytetään Radiometer ABL90 Flex -verikaasuanalysointilaitetta. Työn tavoitteena on selvittää soveltuvatko vajaat näyteputket ja avotekniikalla otetut näytteet ionisoidun kalsiumin määrittämiseen Radiometer ABL90 Flex -verikaasuanalysointilaitteella. Laboratorioin tulee näytteitä myös maakunnan laboratorioista, jolloin näytteen analysointiajat voivat pidentyä ja siksi myös säilyvyyttä halutaan tutkia. Lisäksi laboratorion laatuvarmistus edellyttää laboratoriota tekemään omaa tutkimusta määrittämilleen analyysituloksille. (Åkerman 2017, 2018.)

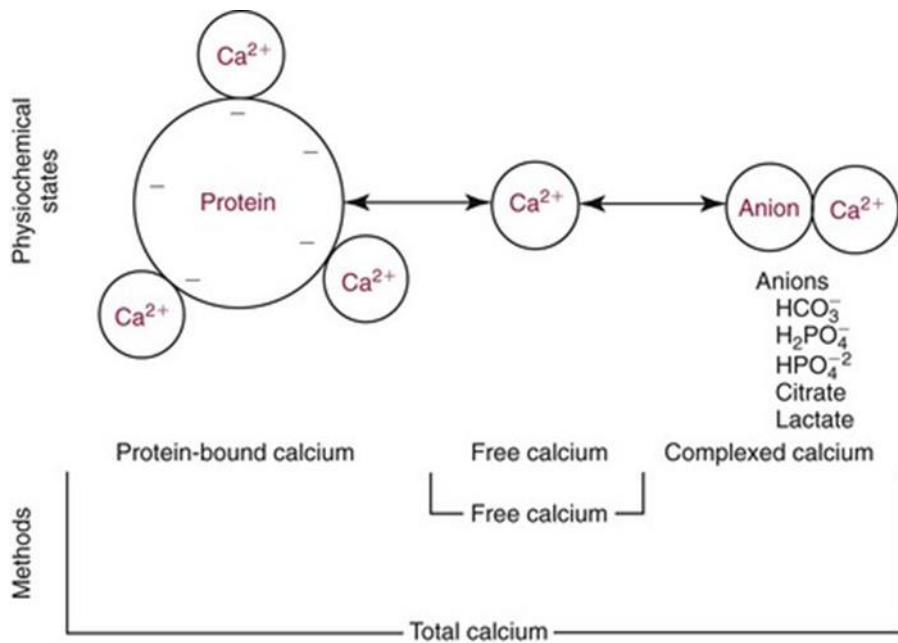
2 KALSIUM

2.1 Kalsium elimistössä

Ihmisen elimistössä on kalsiumia noin 1000 g ja siitä suurin osa (99 %) on luustossa, jossa se esiintyy enimmäkseen kalsiumfosfaattina. Vain pieni osa kalsiumista (1 %) on elimistön solun ulkoisessa (ekstrasellulaarisessa) ja sisäisessä (intraseellulaarisessa) nesteessä. (Uotila 2010, 104–106; Sand ym. 2011, 205, 216; Saha 2014, 169–170.) Ravinnosta tulisi saada päivittäin 800–1000 mg kalsiumia. Hyviä kalsiumin lähteitä ovat mm. maitovalmisteet, kala ja kaalikasvit. Kalsiumin imeytymiseen suolistosta elimistöön vaikuttaa elimistön senhetkinen kalsiumtarve. Sääteilyyn vaikuttaa D-vitamiinin aktiivinen metaboliitti, kalsitroli, joka lisää kalsiumin imeytymistä suolistossa. (Risteli & Risteli 2010, 179.) Myös fysiologiset tekijät, kuten ikä, kasvu, raskaus, imetys ja vaihdevuodet voivat vaikuttaa kalsiumin imeytymiseen. (Freese & Voutilainen 2012, 133–136.)

Veressä kaikki kalsium on käytännössä plasmassa, pitoisuuden ollessa keskimäärin 2,4 mmol/l. Veren kalsiumista puolet on vapaana eli ionisoituneena kalsiumina. Loppuosa veren kalsiumista on sitoutuneena valkuaisaineisiin, pääasiassa albumiiniin (40 %). Pieni osa (10 %) kalsiumista on liittyneenä pienimolekyylisiin anioneihin, esim. bikarbonaatin, fosfaatin, sitraatin, laktaatin ja sulfaatin kanssa. Vain vapaa ionisoitunut kalsium (Ca^{2+}) on fysiologisesti aktiivinen, joten sen määrittäminen antaa oikeamman kuvan elimistön kalsiumtasapainosta kuin kokonaiskalsiumin määrittäminen. (Saha 2014, 169–170; Risteli ym. 2015, 744; Larson 2017, 462.)

Terminä ionisoitunut kalsium on kuitenkin hieman harhaanjohtava, sillä kaikki elimistössä oleva kalsium on ionisoitunutta, vaikka se olisikin sitoutuneena proteiineihin tai pieniin anioneihin. Vapaa kalsium olisi parempi sanamuoto kuvaamaan ionisoitunutta kalsiumia, joka ei ole sitoutunut proteiineihin tai anioneihin. Kuvassa 1 on havainnollistettu kalsiumin kolme eri esiintymistapaa veressä; proteiineihin sidottuna, vapaana ja anioneihin sitoutuneena. (Baird 2011, 697; Risteli ym. 2015, 746.) Tässä työssä ionisoituneella kalsiumilla tarkoitetaan kalsiumin vapaata muotoa.



KUVA 1. Kalsiumin esiintymistavat veressä (Risteli ym. 2015, 744)

Ionisoituneella kalsiumilla on tärkeä tehtävä soluviestinnässä. Muutokset solun sisäisessä Ca²⁺ -pitoisuudessa ovat lyhytaikaisia, mutta voivat laukaista useita solun sisäisiä tapahtumia, kuten lihasten supistumisen, endokriiniseen eli umpirauhasten ja eksokriinisten eli avorauhasten hormonien erittymisen, impulssien välittymisen hermoissa tai vaikuttaa glykogeenin aineenvaihduntaan. Solunulkoinen kalsium on mukana mm. veren hyytymisessä kiinnittäen hyytymistekijöitä vauriokohdassa solukalvolle, luunmuodostuksessa ja hermoimpulssien johtumisessa. (Freese & Voutilainen 2012, 133–136; Saha 2014, 169–170; Risteli ym. 2015, 744; Larson 2017, 462.)

2.2 Kalsiumpitoisuuden säätely

Elimistön kalsiumpitoisuus on tarkoin säädeltyä ja plasman kalsiumin eri muodot ovat tasapainossa keskenään. Sitoutuneen kalsiumin muodot toimivat plasman vapaan kalsiumin varastoina. Säätely voi tapahtua nopeasti tai esimerkiksi hormonien kautta, jolloin säätely on hitaampaa. Seerumin proteiineista pääasiassa albumiini toimii nopeasti reagoivana kalsiumpuskurina, joka pitää ionisoituneen kalsiumin pitoisuuden tasapainossa. Normaalitilanteessa vapaan ionisoituneen kalsiumin pitoisuus on tasapainossa proteiineihin sitoutuneen kalsiumin kanssa. Jos ionisoituneen kalsiumin pitoisuus vähenee, albumiiniin sitoutunutta kalsiumia vapautuu. (Uotila 2010, 104–106; Baird 2011, 697; Sand ym. 2011, 206–208.)

Nopeassa säätelyssä vaikuttaa albumiini-kalsium-puskuri, joka on herkkä pH:n muutoksille. Kun veren pH:n nousee, esimerkiksi respiratorisen alkaloosin takia, kalsiumia sitoutuu lisää albumiiniin, jolloin vapaan kalsiumin määrä veressä pienenee. Vastaavasti, kun veren pH laskee, kalsiumia sitoutuu vähemmän albumiiniin ja silloin vapaan kalsiumin määrä veressä nousee. Respiratorinen alkaloosi aiheutuu hyperventilaatiosta eli liikahengityksestä, jolloin hiilidioksidia poistuu keuhkoista enemmän kuin sitä aineenvaihdunnan seurauksena syntyy. Tällöin veren hiilidioksidipitoisuus laskee, jolloin vetyionien määrä vähenee ja pH nousee. Vaikutus perustuu siihen, että vetyioni kilpailee albumiiniin sitoutumisesta. (Baird 2011, 697; Sand ym. 2011, 484–485; Risteli ym. 2015, 748; Larson 2017, 462.)

Pitempiaikaiseen kalsiumpitoisuuden säätelyyn vaikuttavat pääasiassa lisäkilpirauhashormoni eli parathormoni, mutta myös kalsitoniini ja D-vitamiini. Kilpirauhanen on noin 20 g painoinen rauhanen kurkunpään alapuolella. Kalsitoniini on yksi kilpirauhasen erittämä hormoni. Lisäkilpirauhaset, joita ihmisellä on yleensä 4 kappaletta, ovat 20–50 mg painavia rauhasia ja ne sijaitsevat kilpirauhasen lähellä, nielun ja ruokatorven rajakohdan takana. Ne tuottavat lisäkilpirauhashormonia eli parathormonia (PTH). D-vitamiini on auringonvalossa ihmisen ihon kautta muodostuva hormoni sekä ravinnosta saatava vitamiini. (Välimäki & Mäkitie 2009, 272–273, 276; Sand ym. 2011, 196.)

Lisäkilpirauhasen kalsiumreseptorit tunnistavat ionisoituneen kalsiumin määrän veressä ja jos sen pitoisuus laskee, parathormonin synteesi ja erittäminen lisääntyvät. Kalsiumaineenvaihdunnan hormonaaliseen säätelyyn osallistuvat luusto, munuaiset ja suolisto. Parathormoni vaikuttaa elimistössä useassa paikassa, ensin luustossa vapauttaen kalsiumia ja sitten munuaisissa lisäten kalsiumin takaisinimeytymistä. Parathormoni myös lisää fosfaatin erittymistä ja säätelee entsyymiä, joka muuttaa 25-hydroksivitamiini D:n aktiiviseksi metaboliitiksi eli kalsitrioliksi, joka lisää kalsiumin imeytymistä suolistosta. (Risteli & Risteli 2010, 179–180; Baird 2011, 697; Sand ym. 2011, 206–208, 329; Saha 2014, 169–170; Jean ym. 2015, 379.)

Kilpirauhasen erittämä kalsitoniini on hormoni, joka vaikuttaa päinvastaisesti kuin parathormoni ja pienentää veren kalsiumpitoisuutta vaikuttamalla luustossa ja munuaisissa. Hyperkalsemia eli veren liiallinen kalsiumpitoisuus lisää kalsitoniinin eritystä ja hypokalsemia eli veren vähentynyt kalsiumpitoisuus laskee sitä. Jos veren kalsiumpitoisuus

alkaa lisääntyä, lisäkilpirauhashormonin tuotanto vähenee, mikä johtaa kalsiumin siirtymiseen verestä luuhun ja lisää sen erittymistä virtsaan. Tämän säätelyn takia ravinnon kalsiummäärän vaihtelu ei vaikuta veren kalsiumarvoihin. (Freese & Voutilainen 2012, 133–136; Uotila 2014, 56; Eskelinen 2016.)

2.3 Kalsiumin määritykset ja sen indikaatiot

Elimistön kalsiumtilannetta voidaan määrittää useilla eri laboratoriotutkimuksilla, joista useimmiten käytetyt tavat ovat kokonaiskalsiumin määrittäminen, albumiini- ja kalsiumin määrittäminen tai ionisoituneen kalsiumin määrittäminen. Kalsiumin määrittäminen on tarpeen mm. plasman kalsiumpitoisuuden säätelyyn osallistuvien elinten (lisäkilpirauhanen, luusto, munuaiset, suolisto) sairauksien diagnosoinnissa ja seurannassa. Kalsiummäärityksiä tehdään myös neste- ja elektrolyyttitasapainon selvittelystä. Myös pahanlaatuisten kasvainten yhteydessä kalsiumia käytetään luustometastaasien selvittämiseksi. Muita syitä kalsiumin määrittämiseen ovat mm. akuutti haimatulehdus sekä myelooman tutkiminen. (Välimäki & Mäkitie 2009, 290, 308; Saha 2014, 169–170; Uotila 2014, 56–58.)

Kokonaiskalsium mittaa plasman koko kalsiummäärää, jolloin mukana on sekä ionisoitunut että plasman proteiineihin ja anioneihin sitoutunut osa kokonaiskalsiumia. Mittaukseen vaikuttaa seerumin proteiinitaso ja tämän vuoksi on parempi mitata kalsiumin toiminnallista eli vapaata, ionisoitua muotoa. Ionisoituneen kalsiumin pitoisuuden määrittäminen seeruminäytteestä pidetään parempana kuin plasmanäytteestä, koska seerumin albumiinkonsentraatio ei silloin vaikuta siihen. (Jafri, Khan & Azeem 2014, 327; Uotila 2014, 57–58; Larson 2017, 463–464.)

Ionisoituneen kalsiumin määrittäminen käytetään tehohoidossa oleville potilaille tai suurten leikkausten aikana ja niiden jälkeen, koska nämä potilaat saavat verensiirtojen mukana sitraattia tai muita kalsiumia sitovia aineita infuusioina. Ionisoitunutta kalsiumia määritetään myös munuaisten vajaatoiminnasta kärsiviltä ja vastasyntyneiltä, joilla happoemästäsapainon häiriöt ovat yleisiä. Lisäksi ionisoituneen kalsiumin määrittäminen käytetään akuutin haimatulehduksen selvittämisessä ja tiloissa, joissa veressä on runsaasti bilirubiinia (hyperbilirubinemia) tai paraproteiineja (paraproteinemia). Näillä potilasryh-

millä tai sairaustiloissa kokonaiskalsiumin käyttö antaa vääriä tuloksia, koska niissä kaikissa kalsiumin sitoutuminen muuttuu, eikä albumiinikorjausta voida käyttää. (Uotila 2010, 104–106; Saha 2014, 169–170; Uotila 2014, 56–58.)

Uotilan (2014) ja Eskelisen (2016) mukaan etenkin avohoitopotilailla albumiinikorjatun kalsiumin määrittäminen olisi riittävä. Jos plasman albumiinipitoisuus on alentunut, kokonaiskalsiumin ja ionisoituneen kalsiumin pitoisuussuhteet voivat poiketa normaalista. Tässä tapauksessa kokonaiskalsiumin ohella voidaan määrittää albumiinin pitoisuus ja ilmoittaa tuloksena kalsiumpitoisuus albumiinipitoisuuden osalta laskennallisesti korjattuna. Albumiinimäärittäminen voidaan tehdä automatisoituna, samasta näytteestä kuin muut kemialliset määrittäykset. (Uotila 2014, 58; Eskelinen 2016.) Albumiinikorjattu kalsium voidaan määrittää spektrofotometrisesti, eikä siihen tarvita erillistä ISE-yksikköä (Risteli ym. 2015, 746–747).

Kalsiumin aineenvaihdunnan häiriöt voivat aiheuttaa hypokalsemiaa ja hyperkalsemiaa. Näiden tilojen selvittämisessä käytetään myös ionisoituneen kalsiumin määrittämistä. (Välimäki & Mäkitie 2009, 290, 308; Saha 2014, 170.) Hypokalsemiassa veren kalsiumin pitoisuus vähenee, jolloin kalsiumia sitoutuu albumiiniin enemmän ja erityisesti ionisoitunut kalsium säilyy vakiopitoisuudessa. Hypokalsemiaan vaikuttavat lisäkilpirauhashormonin tai D-vitamiinin puute tai niiden toimimattomuus. Seerumin Ca^{2+} -pitoisuuden laskeessa alle 0,7 mmol/l lihas- ja hermoimpulssien kulku heikkenee. (Saha 2014, 171.) Lievä hypokalsemia ei aiheuta oireita, mutta jos ionisoitunut kalsium laskee alle 0,90–1,10 mmol/l tai kokonaiskalsium alle 1,8 mmol:iin/l, alkaa ilmaantua hermotoimintaan liittyviä oireita: raajojen pistelyä, puutumista ja lihaskrampeja. Myös sydämen rytmihäiriöitä voi ilmaantua. (Välimäki & Mäkitie 2009, 298; Saha 2014, 171; Uotila 2014, 56; Eskelinen 2016.)

Hyperkalsemiassa on kyse veren liian suuresta kalsiumin pitoisuudesta, siten että sitä vapautuu verenkiertoon runsaasti albumiinista eli veren kalsiumvarastosta, luustosta tai imeytyminen lisääntyy suolistosta. Tämän aiheuttaa pääasiassa joko lisäkilpirauhasen liiallinen parathormonin tuottaminen tai jokin pahanlaatuinen sairaus, kuten syöpä. Lievä hyperkalsemia voi olla oireeton, mutta sekin saattaa vaikuttaa luuntiheyteen. Vaikeammissa hyperkalsemiassa oireet voivat olla monimuotoisia kuten epämääräistä väsymystä, pahoinvointia tai ruokahaluttomuutta. Tila voi myös altistaa virtsakivien muodostumiselle tai munuaisten vajaatoiminnalle. Ca^{2+} -pitoisuuden noustessa yli 2,0 mmol/l saattaa

aiheutua henkeä uhkaava tila. (Välimäki & Mäkitie 2009, 283–284, 296; Freese & Vuottilainen 2012, 137; Saha 2014, 170; Uotila 2014, 56.)

Yksi potilasryhmä, jolla käytetään ionisoituneen kalsiumin määrittämistä, ovat munuaisten vajaatoiminnasta kärsivät ja etenkin dialyysipotilaat, koska sekä munuaisten toimimattomuus, että dialyysihoito aiheuttavat muutoksia veren Ca-Ion -pitoisuuksiin. Myös KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) suosittelee ionisoituneen kalsiumin määrittämistä dialyysipotilaille. Munuaiset ovat pavinmuotoiset noin 150 g painavat elimet, jotka sijaitsevat vatsaontelon takaseinämässä. Ne vastaavat elimistön kuonanerityksestä, mutta osallistuvat myös Ca^{2+} -aineenvaihduntaa säätelevän D-vitamiinin aktivoimiseen. Munuaisten vajaatoimintaan liittyy yleensä kalsiumin ja fosforin aineenvaihdunnan häiriöitä. Elleivät munuaiset pysty stimuloimaan riittävästi kalsitriolia, veren kalsiumpitoisuus vähenee. Tämä suurentaa parathormonipitoisuutta, joka lisää kalsiumionien vapautumista luustosta heikentäen luuston lujuutta. Dialyysillä voidaan korjata kehon kalsium- ja fosforitasapainoa, kaliumtasapainoa ja happoemäs -tasapainoa. Dialyysissä veren koostumusta muutetaan koneellisesti, suodattamalla kuona-aineita. Elimistön puhdistamisen lisäksi dialyysissä korjataan nestetasapainoa poistamalla ylimääräistä nestettä. (Sand ym. 2011, 207–208, 452; Evenepoel & Wolf 2013, 789–790; Vakkuri 2014, 212–214; Jean ym. 2015, 379.)

3 IONISOITUNEEN KALSIUMIN MÄÄRITYS LABORATORIOSSA

3.1 Ionisoituneeseen kalsiumin preanalytiikka

Preanalyttiset tekijät, kuten paasto, näytteenotto, näytteen säilytys ja kuljetus, on huomioitava ennen analyysiä. Näiden lisäksi asiakkaan ohjauksella voidaan vaikuttaa myös mm. ravitsemustilaan sekä lääkitykseen. Ikään ja sukupuoleen ei voida vaikuttaa, mutta ne voidaan ottaa huomioon tulosten tulkinnassa. Preanalyttiseen vaiheeseen liittyvien tekijöiden vakiointi on tärkeää. Tämä edellyttää laboratoriossa selkeitä ohjeita, kuten työohjeet ja tutkimusohjekirjat, sekä niiden noudattamista. (Seppälä & Tuokko 2010, 24; Matikainen ym. 2016, 12.)

Ionisoitunut kalsium voidaan määrittää seerumista (fS-Ca-Ion), kapillaariverestä (cB-Ca-Ion) ja arteriaverestä (aB-Ca-Ion). Ca-Ion -pitoisuus voidaan määrittää myös plasmasta (P-Ca-Ion), mutta tätä määrittystä ei tehdä EpsHP:ssä. Näytteenottotekniikka määräytyy käytetystä pyyntömuodosta. fS-Ca-Ion -näyte otetaan seerumiputkeen, cB-Ca-Ion -näyte ihopistosnäytteenä erikoiskapillaariin ja aB-Ca-Ion -näyte arteriasta kalsiumtitrattuun hepariiniruiskuun. Ca-Ion -näytteen säilyvyys on rajallinen, varsinkin kokoverinäytteellä. Ellei kokoverinäytettä pystytä analysoimaan puolen tunnin kuluessa näytteenotosta, on näytteen ottaminen seerumigeeliputkeen parempi vaihtoehto, vaikka senkin säilyvyys on rajallinen. Seeruminäyte tulee sentrifugoida tunnin sisällä näytteenotosta ja analysoida 1–2 vuorokauden kuluessa. (Uotila 2014, 57–58; Risteli ym. 2015, 748; EpsHP 2016.)

EpsHP:n käyttämässä BD Vacutainer -seerumigeeliputkessa on lisäaineena hyytymisaktivaattori, joka aktivoi näytteen hyytymisen, ja geeliä, joka erottaa hyytymän ja seerumin toisistaan sentrifugoinnin aikana. Valmistajan suosittelema hyytymisaika putkille on 30 minuuttia. (Mediq 2013.) Näyteputket, joiden antikoagulanttina eli lisäaineena on sitraattia, oksalaattia tai EDTA:ta, eivät sovellu ionisoidun kalsiumin määrittämiseen, koska ne muodostavat komplekseja kalsiumin kanssa. Myös nestemäinen hepariini muodostaa komplekseja sekä laimentaa näytettä. (Risteli ym. 2015, 748.) Tavallinen Li-hepariiniputki sopii kokonaiskalsiumin ja albumiinikorjatun kalsiumin määrittämiseen. Kokonaiskalsium voidaan määrittää samasta näytteestä kuin useat muutkin kemialliset määrittäykset, ja se ei ole herkkä pH:n muutoksille. (Uotila 2014, 57–58; Risteli ym. 2015, 748.)

Staasia ei suositella käytettäväksi ionisoituneen kalsiumin näytteenotossa, tai jos sitä käytetään, niin enintään minuutin ajan. Nyrkin puristusta tai käsivarren liikuttamista tulisi välttää ennen näytteenottoa, koska mahdollinen maitohapon (laktaatin) muodostuminen voi aiheuttaa pH:n alenemisen lisäten näin ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta. Ca-Ion -näyte suositellaan otettavaksi paastonäytteenä, mutta ruuan imeytymisellä on havaittu olevan vain vähäistä seerumin kalsiumpitoisuuden nousua. Näyteputkea ei saa avata ennen analysointia. Näytettä ei ohjeiden ja suositusten mukaan saa ottaa avotekniikalla. (Risteli ym. 2015, 749; Epshep 2016.)

Näytteenottotekniikkana vakuuminäytteenotto on suljettu järjestelmä. Putkessa on määriteltä alipaine, jolloin näytettä tulee putkeen oikea, tietty määrä. Käytännössä anaerobinen vakuuminäytteenotto ei aina onnistu. Joidenkin potilaiden suonet saattavat olla pieniä ja hauraita esim. iän tai sytostaattihoidojen vuoksi ja silloin vakuumin imu voi imeä suonen umpeen. Tällöin vaihtoehtona voidaan käyttää avonäytteenottoa. Avonäytteenotto-tekniikassa näyteneulan kanta on avoin ja veri valuu näyteputkeen, jonka korkki on avattu, omalla painollaan heti, kun näyteneula on viety laskimoon. Tässä tekniikassa näytteenottajan on itse arvioitava tarkka näytemäärä. Lisäainetta sisältävissä putkissa on oleellista, että lisäaineen ja näytteen suhde säilyy oikeana ja ei näin ollen aiheuta muutoksia tutkimustulokseen. (Seppälä & Tuokko 2010, 27–28.)

Ionisoituneen kalsiumin määrittystä varten näyte tulee ottaa ja käsitellä anaerobisesti eli siten, että näyte ei ole kehon ulkopuolella hapen kanssa tekemissä. Näin minimoidaan muutokset pH:ssa, koska ionisoituneen kalsiumin ja pH:n välillä on selvä yhteys. Jos pH nousee, ionisoidun kalsiumin pitoisuus laskee, kun taas pH:n laskeminen aiheuttaa Ca-Ion -pitoisuuden nousemisen. Koska Ca-Ion -pitoisuus vaihtelee pH:n mukaan, näytteet eivät saa joutua kosketuksiin ilman kanssa ennen analyysia, sillä hiilidioksidin vähentyminen näytteessä muuttaa näytettä emäksisemmäksi (pH nousee) ja keinotekoisesti vähentää ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta. Näyteputken on täytyttävä kokonaan ja oltava kiinni, ettei hiilidioksidia häviä näytteestä. Lisäksi anaerobisessa käsittelyssä estetään glykolyysi tai punasolujen tai valkosolujen metabolian aiheuttama laktaatin eli maitohapon muodostus. (Baird 2011, 696–701; Risteli ym. 2015, 748.) pH:n lasku vaikuttaa myös siten, että glukoosipitoisuus vähenee ja laktaattipitoisuus kasvaa (Sand ym. 2011, 40, 245; Woodworth & Pyle 2013, 40; Dasgupta & Wahed 2014, 43).

Ionisoituneen kalsiumin määrittämisessä käytetään verikaasuanalyysia. Verikaasuanalyysijä tehtäessä analyytit ovat hyvin herkkiä olosuhteiden muutoksille ja esimerkiksi aika, lämpötila ja käsittely vaikuttavat tuloksiin. Lämpötila vaikuttaa elektrodien toimintaan ja lisää kalsiumin sitoutumista proteiineihin ja pieniin anioneihin ja siten pH-arvoon. Kokoverinäytteissä pH laskee 0,04-0,08 yksikköä tunnissa, kun lämpötila on 37 °C ja 0,02-0,03 yksikköä tunnissa, kun lämpötila on 22 °C sekä alle 0,01 yksikköä, kun lämpötila on 4 °C. Tämän vuoksi mm. kapillaarinäytettä voi säilyttää huoneenlämmössä vain, jos näyte analysoidaan 30 minuutin kuluessa, muuten näyte säilytettävä jäädytettynä. (Dasgupta & Wahed 2014, 43.) Verikaasuanalyysiaattorit esilämmittävät kaikki näytteet 37 °C:een varmistaakseen, että näyte olisi analysointihetkellä elimistön fysiologisen lämpötilan kaltainen (Woodworth & Pyle 2013, 41; Risteli ym. 2015, 747–748). Myös ABL90 Flex -analyysiaattorissa potilaan lämpötilalle on oletusarvo 37 °C (Radiometer 2013, 13–4).

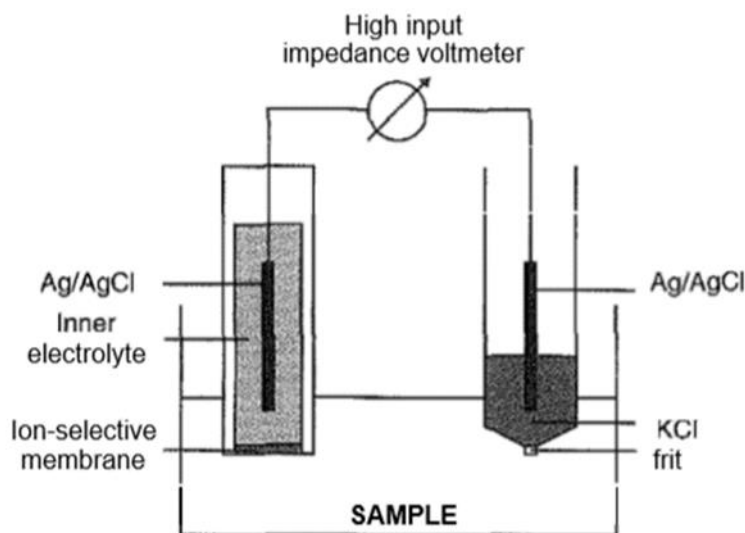
EpsHP:n klinisen kemian työohjeen mukaan ionisoituneen kalsiumin seeruminäyte, fS-Ca-Ion, otetaan laskimosta vakuumitekniikalla, ilman staasia, 5 ml:n seerumigeeliputkeen. Seeruminäytteen tulee antaa seisoa noin 30 minuuttia näytteenoton jälkeen, jonka jälkeen se on sentrifugoitava tunnin kuluessa ja analysoitava kahden vuorokauden kuluessa. (EpsHP 2016.) EpsHP:n työohje mukaillee IFCC:n (The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) ja CLSI:n (Clinical and Laboratory Standards Institute) kansainvälisiä suosituksia. Pääsääntöisesti kirjallisuudessa mainitaan, että sentrifugoinnin jälkeen näyte säilyy vakaana tunteja + 25 asteessa ja päiviä + 4 asteessa. (Boink ym. 1991, 236–237; D’Orazio, Toffaletti & Wandrup 2001, 10; Risteli ym. 2015, 748.) Putkivalmistajan, Becton Dickinsonin (BD), mukaan sentrifugoitu ionisoitu kalsiumnäyte säilyy huoneenlämmössä 72 tuntia (Guder ym. 2015, 38–39). Suosituksessa viitataan Kallnerin vuonna 1996 Ruotsissa tekemään tutkimukseen, jossa oli tutkittu näytteiden säilyvyyttä 24, 48 ja 72 tunnin aikana (Kallner 1996, 54–58).

Hemolyysi mainitaan EpsHP:n työohjeessa Ca-Ion -tutkimuksen virhelähteeksi (EpsHP 2016). Siinä punasolut hajoavat sekä vapauttavat hemoglobiinia ja solunsisäisiä nesteitä plasmaan. Hemolyysissä normaalisti kirkas seerumi tai plasma muuttuu punertavaksi. Hemolyysiä voivat aiheuttaa mm. ihon puhdistusaineen joutuminen näytteeseen, liian pienen neulan käyttö, näyteputken liiallinen ravistaminen näytteenoton jälkeen, liian korkea sentrifugointinopeus tai riittämättömästi hyytyneen näytteen sentrifugointi. Myös tie-

tyt sairaudet voivat aiheuttaa näytteen hemolyysoitumisen. (Lippi ym. 2008, 765–766; Risteli ym. 2015, 747.) Tutkimuksessa Lippi ym. (2013) havaitsivat, että voimakas hemolyyssi laskee pH-arvoa ja nostaa ionisoituneen kalsiumin arvoja, mikä todettiin tutkimuksessa kliinisesti merkittäväksi (Lippi ym. 2013, 1651). Myös CLSI:n suositusten mukaan on otettava huomioon näytteen hemolyysoituminen, koska se laskee ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta (D’Orazio ym. 2001, 6).

3.2 Ionisoituneen kalsiumin mittaustekniikka ja siihen vaikuttavia seikkoja

Ionisoituneen kalsiumin määrittäminen perustuu potentiometriin ja tarkemmin ioniselektiivisten membraanielektrodien (ISE) käyttämiseen. Menetelmä on myös IFCC:n suosittama referenssimenetelmä ionisoituneen kalsiumin määrittämiseen. (Burnett ym. 2000, 1301–1314; Åkerman & Jokela 2010, 62–63.) Potentiometria on menetelmä, jossa sähkökemiallisessa kennossa verrataan kahden elektrodin välistä jännite-eroa. Toisen elektrodin, referenssielektrodin eli vertailuelektrodin potentiaali pysyy vakiona. Toinen elektrodi reagoi mitattavan ionin kanssa toimien samalla spesifisenä indikaattorina määritettävälle aineelle. Menetelmän periaate on esitetty kuvassa 2. (Åkerman & Jokela 2010, 62–63; D’Orazio & Meyerhoff 2015, 152–155.)



KUVA 2. Periaatekuva ioniselektiiviseen kalvoon perustuvasta potentiometrillä (D’Orazio & Meyerhoff 2015, 152)

Elektrodin on oltava juuri oikeanlainen ja sen väliaineen läpäistävä valikoivasti mitattavaa ionia, jotta määritettävän ionin potentiaaliero voidaan mitata. Potentiometriassa voidaan käyttää erilaisia elektrodeja, mutta tiettyjen ionien, kuten kalsiumin, magnesiumin, ammoniakkin, natriumin ja kaliumin mittauksissa käytetään ioniselektiivisiä membraaneelektrodeja. Ioniselektiivisillä membraaneelektrodeilla on elektrolyytisensitiivinen membraani, joka päästää lävitseen vain haluttuja, mitattavia ioneja. ISE-membraani voi koostua lasista, kristallista tai polymeeristä. pH-määrittämiseen käytetään tietyntyyppisiä ISE-elektrodeja, kuten redox-elektrodeja tai lasielektrodeja, jotka määrittävät vetyionien konsentraation näytteessä. Ionisoituneen kalsiumin mittaukseen käytetään polymeerimembraaneelektrodia eli käytännössä PVC-membraania. (Åkerman & Jokela 2010, 62–63; Sepulveda 2013, 115–116; D’Orazio & Meyerhoff 2015, 152–155.)

Radiometer ABL90 Flex -analysaattorilla ionisoidun kalsiumin määrittämisessä käytetään ioniselektiivisenä membraaneelektrodina PVC-kalsium-bis (di-p-oktyylifenyylifosfaatti) -membraania. Ionitunnistus tapahtuu PVC-kalvolla elektrolyyttiliuoksen sisältävän kalvoholkin alapäässä. (Åkerman & Jokela 2010, 62–63; Radiometer 2014, 5–17; Epshp 2016.) Membraanin poikki kulkeva potentiaali, joka mitataan näytteen ja referenssielektrodin välillä, on logaritmisesti yhteydessä näytteessä olevien vapaiden kalsiumionien aktiivisuuteen. Ionisoidun kalsiumin aktiivisuus voidaan siis matemaattisesti johtaa mitattusta potentiaalista, kalsiumin konsentraatiosta ISE-liuoksessa ja kalsiumin aktiivisuuskertoimesta. (Baird 2011, 697.) Radiometer ABL90 Flex -analysaattorilla ionisoituneen kalsiumin mittauksissa käytetään pH-mittauksessa vetyioneille selektiivistä redox-tyypistä elektrodia, hopea/hopeakloridielektrodia 4 M natriumformaattiliuoksessa (Åkerman & Jokela 2010, 62–63; Radiometer 2014, 5–17; Epshp 2016).

Ionisoitunut kalsiumnäyte tulisi ottaa anaerobisesti vakuumitekniikalla ja näyteputken korkin pitäisi pysyä kiinni mittaukseen asti. Mikäli näyte kuitenkin joutuu kosketuksiin ilman kanssa ja pH muuttuu, voidaan ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta matemaattisesti korjata pH 7,4:ään, koska pH:n ja ionisoituneen kalsiumin välillä on lineaarinen yhteys. (Baird 2011, 696–701; Glendenning 2013, 191–193.)

ABL90 Flex reference manual -käyttöohje kertoo laitteen käyttävän yhtälön (1) mukaista kaavaa. pH 7,4:ään korjattu Ca-Ion -pitoisuus lasketaan käyttäen korjauskerrointa. Korjausta voidaan käyttää vain, jos pH on 7,2–7,6 välillä. (Radiometer 2014, 8–34.)

$$\text{Ca}^{2+} (7,4) = \text{Ca}^{2+} \times 10^{-0,24(7,40 - \text{pH})} \quad (1)$$

$\text{Ca}^{2+} (7,4)$ = pH 7,4:ään korjattu kalsiumpitoisuus (mmol/l)

Ca^{2+} = mitattu ionisoitu kalsiumpitoisuus (mmol/l)

$10^{-0,24(7,40 - \text{pH})}$ = korjauskerroin, joka on voimassa pH:n 7,2 – 7,6 välillä

pH = mitattu pH

(Radiometer 2014, 8–34.)

Radiometer ABL90 Flex -analysointilaitteelta ionisoituneesta kalsiumista saadaan kolme eri tulosta, joita ovat fS-Ca-Ion (aktuaalinen mitattu Ca^{2+} -pitoisuus), fS-pH (mitattu pH) ja fS- Ca^{2+} 7,4 (pH 7,4:ään korjattu Ca^{2+} -pitoisuus). EpsHP ilmoittaa aikuisten fS-Ca-Ion pH:ssa 7,4 viiteväliksi 1,18–1,30 mmol/l. Vastasyntyneiden viiteväli määritellään erillisen ohjeen mukaan. (Radiometer 2014, 8–9, 8–16, 8–19; EpsHP 2016.) CLSI suosittaa vastaamaan aktuaalisen Ca-Ion -pitoisuuden ja käyttämään pH-korjattua vastausta vain hiilidioksidin vähenemisen korjaamiseen (D’Orazio ym. 2001, 20). Myös Baird (2011) tuo esille, että aktuaalinen kalsiumpitoisuus olisi ensisijainen vastaustapa. Mikäli vastaan pH-korjattu pitoisuus, tulee se näkyä selkeästi, jolloin lääkäri on tietoinen siitä. (Baird 2011, 698.) Laboratorion saamista tuloksista EpsHP vastaa potilaalle pH-korjatun Ca-Ion -pitoisuuden eli fS- Ca^{2+} pH:ssa 7,4 (EpsHP 2016; Åkerman 2018).

4 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT

Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää vajaasti täyttyneen vakuumiputken käyttömahdollisuutta seerumin ionisoituneen kalsiumin määrittämisessä sekä selvittää avonäytteenotto-tekniikan vaikutusta Ca-Ion -pitoisuuteen ja pH-arvoon. Tavoitteena on myös selvittää, vaikuttaako 24 tunnin säilytys Ca-Ion -pitoisuuteen.

Opinnäytetyön tarkoituksena on verrata Ca-Ion -pitoisuutta, pH-korjattua Ca-Ion -pitoisuutta sekä pH-arvoa vakuumitekniikalla otetuissa täydessä ja vajaassa näyteputkessa. Vajaan putkeen täyttöaste on noin puolet normaalista täyttömäärästä. Lisäksi työn tarkoitus on verrata täyden vakuuminäyteputken ja avonäytteen välisiä eroja Ca-Ion -pitoisuudessa, pH-korjatussa Ca-Ion -pitoisuudessa sekä pH-arvossa. Avonäytteenotossa putkelle on tarkoitus käyttää samaa täyttöastetta kuin vakuumitekniikalla otettaessa. Lisäksi työn tarkoituksena on selvittää 24 tunnin säilytyksen vaikutusta analysoimalla täyden vakuumiputken Ca-Ion -pitoisuus, pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus sekä pH vuorokauden kuluttua ja verrata sitä alle 2 tunnin kohdalla tehtyyn määrittämiseen. Tutkittavien seeruminäytteiden annetaan hyytyä 30–60 minuuttia ennen sentrifugointia. Näytteet analysoidaan Radiometer ABL90 Flex -verikaasuanalysointilaitteella.

Työssä haetaan vastauksia seuraaviin kysymyksiin:

1. Miten Ca-Ion -pitoisuus, pH-arvo ja pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus eroavat täydessä vakuumiputkessa verrattuna vajaasti täyttyneeseen vakuumiputkeen?
2. Miten Ca-Ion -pitoisuus, pH-arvo ja pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus eroavat vakuumitekniikalla otetussa näytteessä verrattuna avotekniikalla otettuun näytteeseen?
3. Miten Ca-Ion -pitoisuus, pH-arvo ja pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus eroavat vakuuminäytteessä, kun näyte on analysoitu alle 2 tunnin päästä näytteenotosta verrattuna 24 tunnin päästä analysoituun näytteeseen?

5 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT

Tämä opinnäytetyö tehdään kvantitatiivisena eli määrällisenä tutkimuksena. Määrällisessä tutkimuksessa käsitellään numeerista tietoa. (Heikkilä 2014, 15.) Opinnäytetyössä selvitetään vakuuminäytteenä otettujen täyden ja vajaan putken sekä kahden eri näytteenottotavan, vakuuminäytteenoton ja avonäytteenoton, vaikutusta seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuuteen (Ca-Ion), pH-arvoon ja pH-korjattuun Ca-Ion -pitoisuuteen. Työssä selvitetään myös 24 tunnin säilytyksen vaikutusta Ca-Ion -pitoisuuteen, pH-arvoon ja pH-korjattuun Ca-Ion -pitoisuuteen.

Tutkittava ilmiö ja siihen vaikuttavat tekijät täytyy tuntea, jotta tiedetään mitä mitataan. Kvantitatiivisella tutkimuksella voidaankin vastata esimerkiksi kysymykseen ”mikä?” tai ”kuinka paljon?”. Otantatutkimukset perustuvat siihen, että valittu osajoukko edustaa perusjoukkoa. Ellei perusjoukon jokaisella otantayksiköllä ole yhtä suuri mahdollisuus tulla valituksi otokseen, kutsutaan sellaista osajoukkoa näytteeksi. Tällöin otantamenetelmä on harkintaan perustuva. (Nummenmaa, Holopainen & Pulkkinen 2014, 16, 26–27.) Tässä tutkimuksessa otantamenetelmä oli harkintaan perustuva. Tutkimukseen oli mahdollista osallistua Seinäjoen keskussairaalaista vain ne potilaat, joilla oli tutkimuspyyntönä fS-Ca-Ion -tutkimus sekä vapaaehtoiset henkilöt, jotka kuuluvat Eshp:n henkilökuntaan.

Onnistuakseen tutkimus edellyttää tarpeeksi suurta ja edustavaa otoskoko ja mitä suurempi otoskoko on, sitä varmempi voidaan olla tulosten luotettavuudesta (Heikkilä 2014, 15, 40). Karjalaisen (2010) mukaan yksinkertaista ohjetta otoskokoon on mahdoton antaa, koska perusjoukot ja tutkimustilanteet ovat erilaisia. Yleensä ehdottomana miniminä pidetään 100 tilastoyksikön otosta, mutta esimerkiksi lääketieteellisissä kokeissa, joissa on koeryhmä ja vertailuryhmä, otoskoko saattaa olla edellä mainittua pienempi. (Karjalainen 2010, 33–34.) Vajaan ja täyden putken tutkimuksessa otoskoko on 23 ja vakuuminäytteen ja avonäytteen tutkimuksessa otoskoko on 25. Tutkittaessa 24 tunnin säilytyksen vaikutuksia, otoskoko on 23.

Heikkilän (2014) mukaan opinnäytetyön tuloksia arvioidaan tunnusluvuilla, jotka kuvaavat jakauman sijaintia ja hajontaa. Keskiarvo on jakauman sijaintia kuvaava keskiluku, joka saadaan jakamalla havaintoarvojen summa havaintojen lukumäärällä. Keskihajonta kuvaa sitä, kuinka hajallaan arvot ovat keskiarvon ympärillä. Minimi- ja maksimi- arvot

puolestaan ilmoittavat muuttujien pienimmän ja suurimman havaintoarvon. (Heikkilä 2014, 82–86, 277.)

Tilastollisilla menetelmillä saadaan selville, onko aineiston muuttujien välillä tilastollisesti merkitseviä eroja. Tilastollisen testin valintaan vaikuttaa olennaisesti se, noudattavatko muuttujat normaalijakaumaa vai eivät. Normaalijakauma eli Gaussin käyrä on yleisesti tunnettu jatkuvan jakauman esitystapa. Se on symmetrinen jakauma, jonka keskellä havaintojen lukumäärä on suurimmillaan ja joka pienenee asteittain reunoja kohti. Esimerkiksi monet ihmisen ominaisuudet noudattavat normaalijakaumaa. (Heikkilä 2014, 99–100.) Kolmogorov-Smirnovin testi on tilasto-ohjelmien käyttämä testi, jolla selvitetään, ovatko muuttujat normaalisti jakautuneita. Nollahypoteesina on, että muuttuja on normaalisti jakautunut. Testin tulosta vastaa merkitsevyystaso eli p-arvo. Testin tulosta tulkitaan siten, että testin pienillä (alle 0,05) p-arvoilla nollahypoteesi hylätään, jolloin jakauma poikkeaa normaalista. (Karjalainen 2010, 220–221; Heikkilä 2014, 221.)

Opinnäytetyön tuloksien tilastolliset analyysit tehdään SPSS-ohjelmalla. Tilastollisena analyysinä käytetään kahden muuttujan välisen yhteyden tutkimista. Analysoinnissa käytetään toisistaan riippuvien muuttujien keskiarvojen vertailua ja selvitetään, poikkeavatko eri ryhmien keskiarvot toisistaan vai ovatko niiden mahdolliset erot satunnaisvaihtelua. Normaalijakaumaa noudattaville toisistaan riippuville muuttujille käytetään toisistaan riippuvien otosten t-testiä (paired-samples t-test). (Karjalainen 2010, 230; Heikkilä 2014, 174, 251.)

Testistä käytetään myös nimitystä toistettujen mittausten t-testi, ja sitä käytetään, kun esimerkiksi halutaan tutkia mittaustuloksia tai niiden muutoksia jonkin ryhmän sisällä, jolloin otokset eivät ole enää toisistaan riippumattomia. Toistettujen mittausten t-testi testaa nollahypoteesia, jonka mukaan kahden muuttujan keskiarvot ovat samansuuruiset ja vaihtoehtoisessa hypoteesissa keskiarvot ovat erisuuruiset. Testissä ollaan kiinnostuneita lisäksi siitä, kuinka suurina havaintoparien erotukset keskimäärin ovat, jolloin tarkastellaan havaintoparien erotusten jakaumaa. Toistettujen mittausten t-testi lasketaan siten, että ensin lasketaan erotusmuuttuja, joka ilmaisee, kuinka paljon kahden mittauksen tulokset eroavat toisistaan kullakin tutkittavalla. Tämän jälkeen lasketaan erotusmuuttujan hajonta ja keskiarvo, ja tämän avulla voidaan laskea keskiarvon keskivirhe erotusmuuttujalle. Testin tuloksena saadaan testisuure, joka kertoo, kuinka monen keskivirheen päässä nolasta havaittu alku- ja loppumittauksen erotus on. Testisuureen positiivinen etumerkki

kertoo loppumittausten ja negatiivinen etumerkki alkumittausten olevan keskimäärin suurempia. Mitä pienempi t-testin merkitsevyystaso on, sitä todennäköisemmin muuttujien keskiarvot ovat erisuuret. (Nummenmaa 2004, 169–170; Nummenmaa ym. 2014, 187–189.)

Testin tuloksena saadaan testisuure (t-arvo), jota vastaa merkitsevyysarvo (p-arvo), joka on ns. hylkäämisvirheen todennäköisyys (Karjalainen 2010, 220–221). Tilastollisen analyysin merkitsevyystasona käytetään tässä opinnäytetyössä merkitsevyysarvoa eli p-arvoa 0,05, jolloin testaus tehdään 5 % merkitsevyystasolla. Heikkilän (2014) mukaan muuttujien välillä katsotaan olevan eroa, jos merkitsevyystaso alittuu ja nollahypoteesi hylätään. Ero on tilastollisesti merkitsevä, jos p-arvo on yli 0,001–0,01 tai alle ja erittäin merkitsevä, jos p-arvo on 0,001 tai alle. SPSS -ohjelma ilmoittaa merkitsevyystasosta käytetyn p-arvon sijaan havaitun merkitsevyystason sig.-arvona, englanniksi significance, merkitsevyys. (Heikkilä 2014, 184–185.)

Perusteltujen väittämien eli hypoteesien asettaminen perustuu teoriaan pohjautuviin oletuksiin. Nämä kirjoitetaan tilastollisten hypoteesien muotoon nollahypoteesiksi (H_0) ja vaihtoehoiseksi hypoteesiksi eli vastahypoteesiksi (H_1). Nollahypoteesi väittää, että muuttujien välillä ei ole eroa ja vastahypoteesi väittää, että on eroa. Asetetun merkitsevyystason mukaan toinen vain toinen hypoteesi jää voimaan. (Heikkilä 2014, 180–182.)

Asetetuilla tutkimuskysymyksillä (3 kpl) haetaan vastauksia siihen, miten Ca-Ion -pitoisuudet, pH-arvot ja pH-korjatut Ca-Ion -pitoisuudet eroavat täysissä ja vajaissa vakuumputkissa, vakuumi- ja avotekniikalla otetuissa näytteissä sekä alle 2 tunnin ja 24 tunnin kuluttua analysoitavissa vakuuminäytteissä. Niiden perusteella on asetettu seuraavat hypoteesit (taulukko 1).

TAULUKKO 1. Tutkimuskysymysten mukaiset hypoteesit

1.	H ₀ :	Täysissä ja vajaissa vakuumiputkissa Ca-Ion -pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-Ion -pitoisuuksien välillä ei ole eroa.
	H ₁ :	Täysissä ja vajaissa vakuumiputkissa Ca-Ion -pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-Ion -pitoisuuksien välillä on eroa.
2.	H ₀ :	Vakuumi- ja avotekniikalla otettujen näytteiden Ca-Ion -pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-Ion -pitoisuuksien välillä ei ole eroa.
	H ₁ :	Vakuumi- ja avotekniikalla otettujen näytteiden Ca-Ion -pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-Ion -pitoisuuksien välillä on eroa.
3.	H ₀ :	alle 2 ja 24 tunnin kuluttua analysoitujen näytteiden Ca-Ion -pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-Ion -pitoisuuksien välillä ei ole eroa.
	H ₁ :	alle 2 ja 24 tunnin kuluttua analysoitujen näytteiden Ca-Ion -pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-Ion -pitoisuuksien välillä on eroa.

6 TYÖN TOTEUTUS

6.1 Tutkimusnäytteiden kerääminen ja analysointi

Tutkimusaineisto opinnäytetyöhön kerättiin kahdessa eri vaiheessa Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin Seinäjoen keskussairaalassa ottamalla rinnakkaisnäytteitä potilailta (30.–31.8.2017) sekä vapaaehtoisilta sairaalan henkilökunnan jäseniltä (30.11.2017). Ajankohdat oli sovittu osastonhoitajien kanssa. Lain ihmisen elimien, kudoksien ja solujen lääketieteellisestä käytöstä (2.2.2001/101) mukaan näytteitä voidaan käyttää menetelmäkehitystä varten sen toimintayksikön luvalla, jonka toimintaa varten lupa on haettu. Åkermanin (2017) mukaan tällainen lupa on olemassa, joten erillistä tutkimuslupaa ei opinnäytetyölle tarvinnut hakea.

Ensimmäisellä kerralla (30.–31.8.2017) kerättiin näytteitä täyden ja vajaan putken sekä 24 tunnin säilytyksen tutkimista varten. Koska tutkimuksen tarkoitus oli selvittää Ca-Ion -pitoisuuksia, näytteet haluttiin ottaa vain niiltä asiakkailta, joilla oli todellinen Ca-Ion -tutkimuspyyntö, eikä esimerkiksi kaikilta näytteenotossa kävijöiltä. Ennen näytteenoton alkamista laboratorion henkilökunnalle vietiin tiedote ja ohjeita näytteenottoa varten (liite 1). Tutkimusta varten tehtiin fS-Ca-Ion näytepyynnölle kahden päivän ajaksi pyyntö lisäputkien ottamiselle. Kun potilaalla oli fS-Ca-Ion näytepyyntö, tulostui samalle pyynnölle lisätarrat kahdelle lisäputkelle (täysi vakuumiputki ja vajaa vakuumiputki). Vajaaseen putkeen näytettä ohjeistettiin tarroissa otettavaksi noin puolet normaalista täyttömäärästä. Ennen näytteenottoa asiakkailta pyydettiin suullinen suostumus tutkimukseen liittyvän ylimääräisen näytteen ottamiseen. Vakuuminäytteenottotekniikalla otettava fS-Ca-Ion -potilasnäyte ja sen rinnakkaisnäytteet (täysi ja vajaa putki) otettiin asiakkailta rutiininäytteenoton yhteydessä laboratorion henkilökunnan toimesta. Näytteitä otettiin 23 potilaalta (n=23). Näistä 21 kpl otettiin 30.8.2017 ja 2 kpl 31.8.2017.

Toisella kerralla (30.11.2017) kerättiin näytteet avonäytteenottotekniikan tutkimista varten, jolloin tarkoituksena oli selvittää vakuumi- ja avonäytteiden mahdollisia eroja Ca-Ion -pitoisuuteen, pH-arvoon ja pH-korjattuun Ca-Ion -pitoisuuteen. Näytteet otettiin kahdella eri pistokerralla, joten katsoimme parhaimmaksi käyttää tähän näytteiden keräysvaiheeseen vapaaehtoisia henkilökunnan jäseniä. Tähän tutkimukseen tulostettiin etukäteen juoksevalla numeroinnilla olevat viivakoodit sekä avo- että vakuumiputkea

varten. Ainoa tieto tarrassa oli juokseva numerointi ja onko näyte henkilön avo- vai vakuuminäyte esim. 1avo, 1vak, 2avo, 2vak jne. Näin vapaaehtoisten henkilötietoja ei missään kohtaa kirjattu ylös. Otimme ja analysoimme nämä näytteet itse. Näytteeksi otettiin 25 vapaaehtoiselta (n=25) yksi täysi vakuuminäyteputki ja yksi avonäyteputki. Vakuuminäytteen otimme anaerobisesti ionisoituneen kalsiumin näytteenotto-ohjeen mukaisesti. Avonäytteen otimme avoneulalla, erillisellä näytteenottokerralla ja tarkoituksena oli säästää sama täyttöaste kuin vakuumitekniikalla otettaessa. Koska otimme näytteet henkilökuntaan kuuluvalta, heidän työnsä ohessa, näytteenotto toteutettiin iltapäivällä. Tästä johtuen ei paastovaatimusta noudatettu. Myöskään näytteenotto-ohjeissa edellytetty noin 15 minuutin lepo ennen näytteenottoa ei toteutunut. Kuvassimme numerojärjestyksessä olevat näytteet analysoinnin jälkeen, jotta voimme tarvittaessa tarkastella ja vertailla avonäytteenä otettujen putkien täyttöasteita.

Kaikki työvaiheet, kuten näytteiden käsittely, hyytyminen, sentrifugointi ja säilytys tehtiin EpsHP:n (2016) työohjeen mukaan. Seeruminäytteitä seisotettiin 30–60 minuuttia, jotta näytteen hyytyminen lähtisi käyntiin. Sen jälkeen näytteet sentrifugoitiin ja säilytettiin huoneenlämmössä analysointiin saakka. Putkivalmistajan ohjeen mukaan seerumi-geeliputki tulisi sentrifugoida 1300–3000 g:n voimalla 10–15 minuutin ajan (Mediq 2013). EpsHP sentrifugoi seeruminäytteet 2500 g:n voimalla 10 minuutin ajan (Åkerman 2018). Seinäjoen keskussairaalan kliinisen kemian yksikössä on käytössä kaksi Radiometer ABL90 Flex -verikaasuanalysointilaitetta, joita näytteiden analysoinnissa on käytetty. Laite on automatisoitu analysointilaitte, joka mittaa pH:n, verikaasut, elektrolyytit, glukosin, laktaatin, bilirubiinin ja oksimetrian kokoverestä. Analyysiä varten tarvittava näytemäärä on 65 µl. (Radiometer 2013, 1–3, 4–2.) Tutkimusaineisto analysoitiin puoliksi molemmilla analysointilaitteilla.

Ensimmäisellä kerralla otetut fS-Ca-Ion -potilasnäytteet ja vajaa lisäputki analysoitiin alle kahden tunnin kuluessa näytteenotosta. Säilyvyystutkimukseen liittyvä täysi putki, rinnakkaisnäyte, analysoitiin 24 tunnin kuluttua näytteenotosta. Viimeisimmät näytteet analysoitiin siten 1.9.2017. Laboratorion henkilökunta analysoi nämä näytteet. Tutkimuksen tulokset, Ca-Ion -pitoisuus, pH ja pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus, oli talletettu Excel-tiedostomuotoon, josta myöhemmin jatkoimme aineiston käsittelyä. Koska emme itse olleet läsnä tutkimuksen aikana, analysointilaitteen viereen jätettiin tiedote, johon pyydettiin kirjoittamaan mahdolliset poikkeamat näytteen laadussa tai käsittelyssä. Tähän tiedotteeseen oli kirjattu yhteensä 2 poikkeamaa. Vajaista näyteputkista (n=23) kaksi putkea oli

ollut lähes täyttä, joten ne jätettiin pois aineiston tilastollisesta käsittelystä. Lisäksi 10 näytettä oli otettu ruiskulla, mutta tämä ei vaikuttanut tutkimukseemme, koska näyteputket analysoitiin samalla tavalla kuin muutkin näytteet. Koska olimme syksyllä 2017 käytännön harjoittelussa Seinäjoen klinisen kemian laboratoriossa ja saimme perehdytyksen ABL90 Flex -analysaattorin käyttöön, analysoimme toisella kerralla otetut näytteet itse. Jokaisesta mitatusta näytteestä tulostui analysaattorilta tulosliuska, jossa oli juokseva numerointi ja tieto, oliko tulos avonäytteestä vai vakuumputkesta. Saamamme tulokset, Ca-Ion -pitoisuus, pH ja pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus, syötimme Excel-ohjelmaan tulosten analysointia varten.

Laitteen käyttöohjeen mukaan analysoinnin alkaessa varmistetaan laitteen valmiustila. fS-Ca-Ion -näytteestä / putkesta poistetaan korkki ja nostetaan analysaattorin syöttöaukon läppä ylös oikeaan asentoon (ruiskuasentoon). Näyteputken aukko asetetaan tiiviisti syöttöyksikön pidintä vasten. Näyteneula ulottuu putkeen ja aspiroi näytteen analysaattoriin automaattisesti. Jos näyteneula ei ylety näytteeseen, analysaattorin käyttöohje neuvoo kallistamaan näyteputkea siten, että näyteneula yltää näytteeseen. Laite antaa äänimerkin, kun näyte on imetty laitteeseen. Tämän jälkeen putki poistetaan ja suljetaan syöttöaukon läppä rauhallisesti. Näytteen atk-tiedot luetaan viivakoodilla laitteeseen tai syötetään käsin näytteen tunniste. Tulokset siirtyvät automaattisesti Effican, potilastietojärjestelmän, kuittauslistalle. Laite laskee tulokset ja antaa vastauksena kolme tulosta: fS-Ca-Ion (mittausalue 0,4–2,7 mmol/l ja ilmaisualue 0,2–9,99 mmol/l), pH (mittausalue 6,75–7,85 ja ilmaisualue 6,3–8,0) ja Ca^{2+} pH:ssa 7,4 (mittausalue 0,18–10,95 mmol/l, kun pH on 7,2–7,6). (Radiometer 2014, 8–6, 8–9, 8–22; Epshep 2016.)

6.2 Tulosten käsittely

Tulokset vietiin Exceliin, jossa laskettiin keskiarvo ja keskihajonta, sekä selvitettiin vaihteluväli (minimi ja maksimi) ja piirrettiin kuvaajia. Muuttujien normaalijakaantuneisuus selvitettiin SPSS-ohjelmalla käyttäen Kolmogorov-Smirnovin testiä. Testin perusteella todettiin, että kaikki muuttujat ovat normaalisti jakautuneita eli niiden p-arvo oli $> 0,050$ (taulukko 2). Muuttujien normaalijakaantuneisuus selvitettiin, koska sen perusteella valittiin aineiston analysoinnissa käytettävä tilastollinen testi. Koska aineistomme muuttujat olivat toisistaan riippuvaisia ja normaalisti jakautuneita, tilastolliseksi testiksi valittiin parittaisten otosten t-testi. (Karjalainen 2010, 236; Heikkilä 2014, 84–87, 221, 251.)

TAULUKKO 2. Muuttujien normaalijakautuneisuus

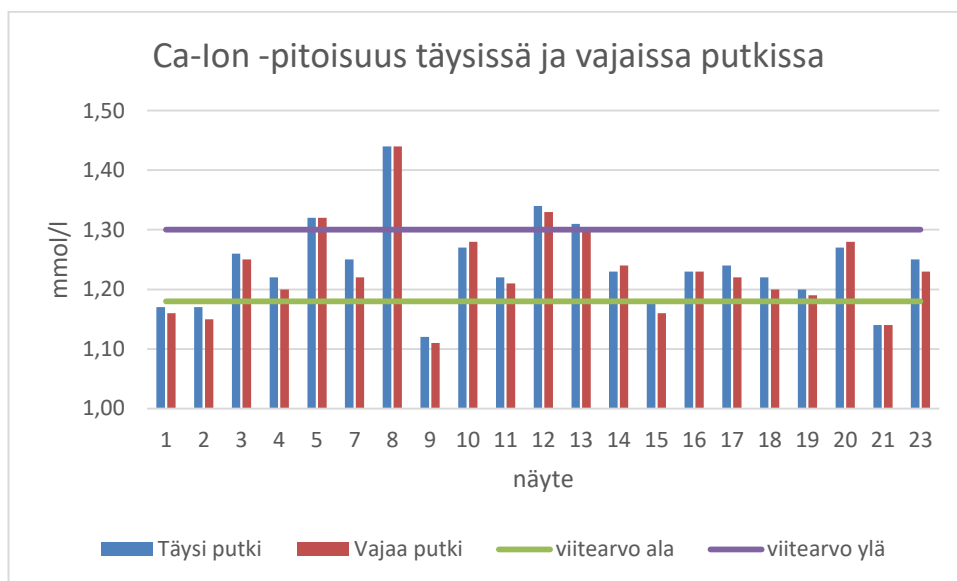
Muuttujat	otoskoko kpl	p-arvo
Ca-Ion, täysi putki	23	0,200
Ca-Ion, täysi putki	21	0,200
pH, täysi putki	21	0,200
pH-korjattu Ca-Ion, täysi putki	21	0,196
Ca-Ion, vajaa putki	21	0,200
pH, vajaa putki	21	0,200
pH-korjattu Ca-Ion, vajaa putki	21	0,050
Ca-Ion, säilytys 24 h	23	0,200
pH, säilytys 24 h	23	0,200
pH-korjattu Ca-Ion, säilytys 24 h	23	0,200
Ca-Ion, vakuuminäyte	25	0,200
pH, vakuuminäyte	25	0,200
pH-korjattu Ca-Ion, vakuuminäyte	25	0,200
Ca-Ion, avonäyte	25	0,200
pH, avonäyte	25	0,151
pH-korjattu Ca-Ion, avonäyte	25	0,200

Tilastolliset testit tehtiin SPSS-ohjelmalla. Tuloksista vertailtiin seuraavia muuttujapareja: Ca-Ion -pitoisuus täysi ja vajaa putki, pH täysi ja vajaa putki, pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus täysi ja vajaa putki. Lisäksi verrattiin vakuuminäytteenä ja avonäytteenä otettujen näytteiden pitoisuuksia: Ca-Ion vakuuminäyte ja avonäyte, pH vakuuminäyte ja avonäyte sekä pH-korjattu Ca-Ion vakuuminäyte ja avonäyte. Säilyvyyttä selvitetessä vertailtiin seuraavia muuttujapareja: Ca-Ion täysi putki (määritetty alle 2 h kuluttua näytteenotosta) ja Ca-Ion säilytys 24 h, pH täysi putki ja säilytys 24 h sekä pH-korjattu Ca-Ion täysi putki ja säilytys 24 h. Karjalaisen (2010, 220–221) mukaan tilastollisten testien tuloksena saatiin testisuure (t-arvo), jota vastaa merkitsevyysarvo (p-arvo), joka on ns. hylkäämisvirheen todennäköisyys. Tällöin muuttujien välillä katsotaan olevan eroa, jos merkitsevyystaso alittuu.

7 TULOKSET

7.1 Täysien ja vajaiden vakuumputkien Ca-Ion -pitoisuus ja pH

Aineisto koostui 23 vakuuminäyteputkesta, joista saatiin tuloksena Ca-Ion -pitoisuus, pH ja pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus. Tulokset on esitetty liitteessä 2. Tuloksista poistettiin näytteet 6 ja 22, koska niissä vajaan putket olivat lähes täysiä, joten otoskoko tässä vertailussa oli 21 kpl. Kuviossa 1 on esitetty kalsiumpitoisuudet täysissä ja vajaissa näyteputkissa. Ca-Ion -pitoisuudet olivat täysissä ja vajaissa putkissa hyvin lähellä toisiaan. Täysissä vakuuminäyteputkissa Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,24 mmol/l ja keskihajonta 0,07 mmol/l. Vajaissa vakuuminäyteputkissa keskiarvo oli 1,23 mmol/l ja keskihajonta 0,08 mmol/l. Keskiarvot, keskihajonnat sekä minimi- ja maksimi-arvot näkyvät taulukossa 3. Ca-Ion -pitoisuutta käsittelevissä kuvioissa on esitetty viitearvojen ala- ja yläraja 1,18–1,30 mmol/l, fS-Ca-Ion pH:ssa 7,4 (kuviot 1, 3, 4, 6, 7 ja 9).



KUVIO 1. Ca-Ion -pitoisuus (mmol/l) täysissä ja vajaissa näyteputkissa

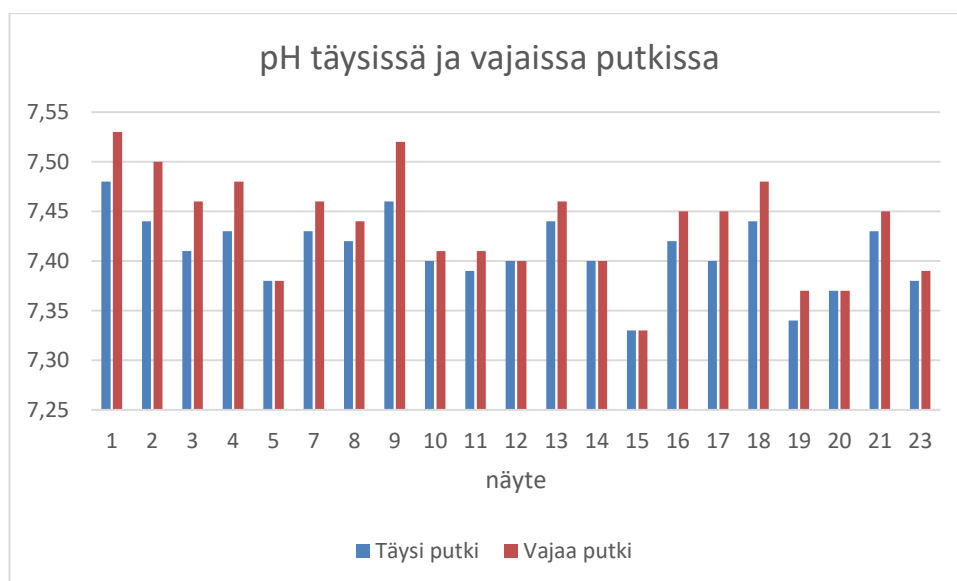
Parittaisten otosten t-testillä saatiin muuttujien (Ca-Ion -pitoisuus täydessä putkessa ja Ca-Ion -pitoisuus vajaassa putkessa) väliseksi t-arvoksi 3,650, ja p-arvoksi 0,002 (taulukko 3). Vaikka tulosten keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan, saatiin t-testin tuloksena tilastollisia eroja. Testin perusteella täyden ja vajaan putken Ca-Ion -pitoisuudet eroavat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi, koska testin tuloksena saatu p-

arvo alitti merkitsevyystasoksi valitun p-arvon 0,05. Testin tulos tuki siten vaihtoehtoista hypoteesia H_1 , joten nollahypoteesi hylättiin.

TAULUKKO 3. Täyden ja vajaan putken Ca-Ion -pitoisuuden arvoja ja parittaisten otosten t-testin p-arvo

Ca-Ion -pitoisuus	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (mmol/l) min - max	testattavan muuttujaparin p-arvo
Täysi putki	1,24	0,07	1,12 – 1,44	0,002
Vajaa putki	1,23	0,08	1,11 – 1,44	

Kuviossa 2 on esitetty täysien ja vajaiden putkien pH-arvot (n=21). Täysien vakuuminäyteputkien pH:n keskiarvo oli 7,41 ja keskihajonta 0,04. Vajaiden vakuuminäyteputkien pH:n keskiarvo oli 7,44 ja keskihajonta oli 0,05. Keskiarvot, keskihajonnat sekä minimi- ja maksimiarvot näkyvät taulukossa 4. Vajaiden putkien pH on suurimmassa osassa näytteitä (näytteet 1–4, 7–11, 13, 16–19, 21 ja 23) ollut hieman suurempi.



KUVIO 2. pH täysissä ja vajaissa putkissa

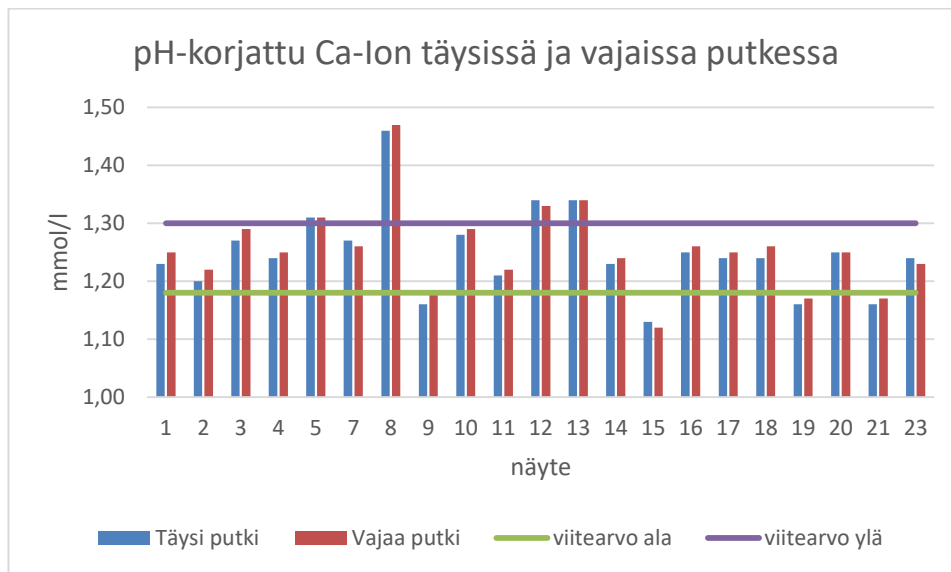
Parittaisten otosten t-testillä saatiin muuttujien (pH täydessä putkessa ja pH vajaassa putkessa) väliseksi t-arvoksi 3,650 ja p-arvoksi 0,002 (taulukko 4). Vaikka tulosten keskiarvot ja keskihajonnat olivat lähellä toisiaan, saatiin t-testin tuloksena tilastollisesti merkitäviä eroja. Täyden ja vajaan putken pH-arvoissa oli tilastollisesti merkitsevää eroa, koska

testin tuloksena saatu p-arvo alitti merkitsevyystasoksi valitun p-arvon 0,05. Testin tulos tuki siten vaihtoehtoista hypoteesia H_1 , joten nollahypoteesi hylättiin.

TAULUKKO 4. Täyden ja vajaan putken pH-arvoja ja parittaisten otosten t-testin p-arvo

pH-arvo	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (mmol/l) min - max	testattavan muuttujaparin p-arvo
Täysi putki	7,41	0,04	7,33 – 7,48	0,002
Vajaa putki	7,44	0,05	7,33 – 7,53	

Kuviossa 3 on esitetty pH-korjatut kalsiumpitoisuudet täysissä ja vajaissa näyteputkissa (n=21). pH-korjatut Ca-Ion -pitoisuudet olivat hyvin lähellä toisiaan. Täysissä näyteputkissa pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,25 mmol/l ja keskihajonta 0,07 mmol/l. Vajaissa putkissa pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,26 mmol/l ja keskihajonta 0,07 mmol/l. Keskiarvot, keskihajonnat sekä minimi- ja maksimiarvot näkyvät taulukossa 5.



KUVIO 3. pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus (mmol/l) täysissä ja vajaissa näyteputkissa

Parittaisten otosten t-testillä saatiin muuttujien (korjattu Ca-Ion -pitoisuus täydessä putkessa ja korjattu Ca-Ion -pitoisuus vajaassa putkessa) väliseksi t-arvoksi -3,101, ja p-arvoksi 0,006 (taulukko 5). Vaikka tulosten keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan, saatiin t-testin tuloksena tilastollisia eroja. Täysien ja vajaiden putkien pH-kor-

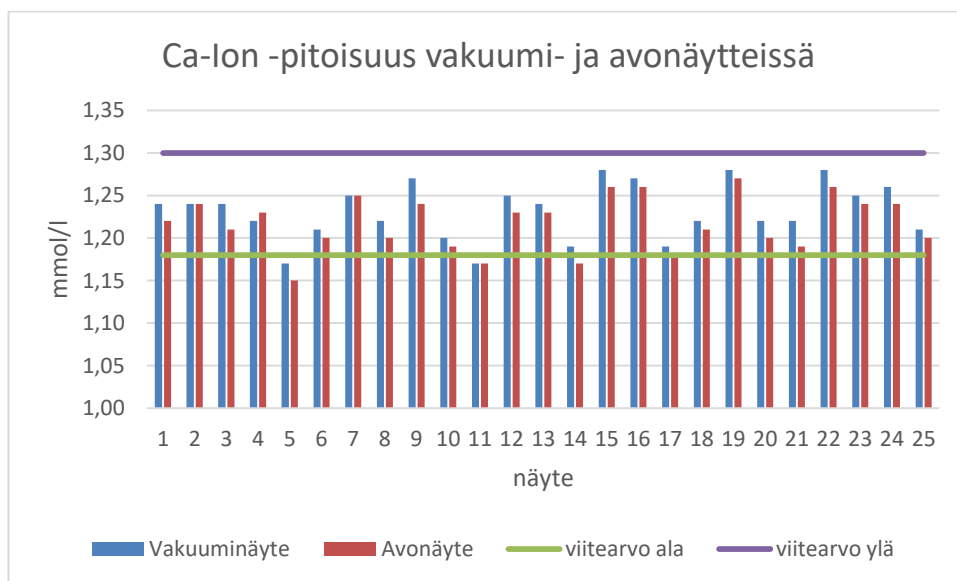
jatut Ca-Ion -pitoisuudet eroavat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi, koska testin tuloksena saatu p-arvo alitti merkitsevyystasoksi valitun p-arvon 0,05. Testin tulos tuki siten vaihtoehtoista hypoteesia H_1 , joten nollahypoteesi hylättiin.

TAULUKKO 5. Täyden ja vajaan putken pH-korjatun Ca-Ion -pitoisuuden arvoja ja parittaisten otosten t-testin p-arvo

pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (mmol/l) min - max	testattavan muuttujaparin p-arvo
Täysi putki	1,25	0,07	1,13 – 1,46	0,006
Vajaa putki	1,26	0,07	1,12 – 1,47	

7.2 Vakuuminäytteiden ja avonäytteiden Ca-Ion -pitoisuus ja pH

Vakuuminäytteen ja avonäytteen välisiä Ca-Ion -pitoisuuden ja pH-arvon eroja selvitetäessä tutkimusaineisto koostui 25 avo- ja vakuuminäytteestä. Kuviossa 4 on esitetty vakuumi- ja avonäytteiden Ca-Ion -pitoisuudet (n=25). Tulokset on esitetty liitteessä 3. Vakuumitekniikalla otetuissa putkissa Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,23 mmol/l ja keskihajonta 0,03 mmol/l. Avotekniikalla otetuissa putkissa Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,22 mmol/l ja keskihajonta 0,03 mmol/l. Keskiarvot, keskihajonnat sekä minimi- ja maksimiarvot näkyvät taulukossa 6.



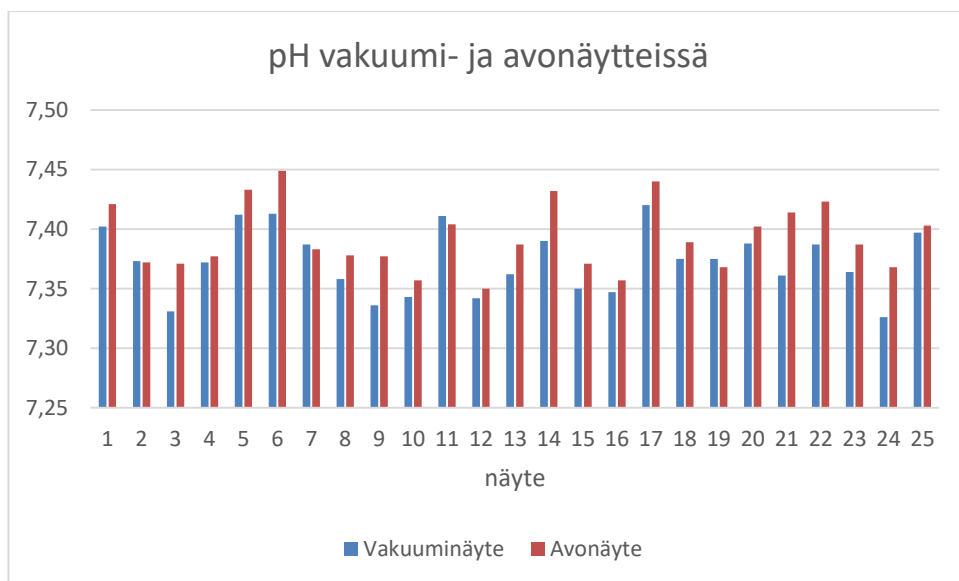
KUVIO 4. Vakuumi- ja avonäytteiden Ca-Ion -pitoisuudet (mmol/l)

Parittaisten otosten t-testillä saatiin muuttujien (Ca-Ion -vakuuminäyte ja Ca-Ion -avonäyte) väliseksi t-arvoksi 7,000 ja p-arvoksi 0,000 (taulukko 6). Vaikka tulosten keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan, saatiin t-testin tuloksena tilastollisia eroja. Testin perusteella vakuumi- ja avionäytteet poikkeavat toisistaan tilastollisesti erittäin merkittävästi, koska testin tulos alitti p-arvon 0,001. Testin tulos tuki siten vaihtoehtoista hypoteesia H_1 , joten nollahypoteesi hylättiin.

TAULUKKO 6. Vakuumi- ja avionäytteen Ca-Ion -pitoisuuden arvoja ja parittaisten otosten t-testin p-arvo

Ca-Ion -pitoisuus	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (mmol/l) min - max	testattavan muuttujaparin p-arvo
Vakuuminäyte	1,23	0,03	1,17 – 1,28	0,000
Avonäyte	1,22	0,03	1,15 – 1,27	

Kuviossa 5 on esitetty vakuumi- ja avionäytteiden pH-arvojen eroja (n=25). Vakuumitekniikalla otettujen näytteiden pH:n keskiarvo oli 7,37 ja keskihajonta 0,03. Avonäytteenototekniikalla otetuissa putkissa pH:n keskiarvo oli 7,39 ja keskihajonta 0,03. Lähes kaikissa näytteissä avionäytteiden pH on vakuuminäytettä korkeampi. Keskiarvot, keskihajonnat sekä minimi- ja maksimi-arvot näkyvät taulukossa 7.



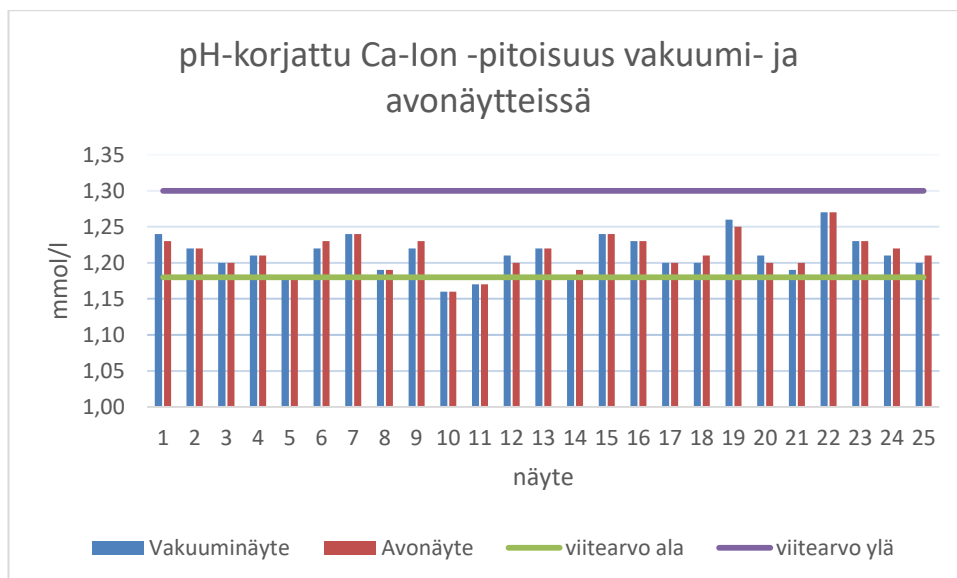
KUVIO 5. pH vakuumi- ja avionäytteissä

Parittaisten otosten t-testillä saatiin muuttujien (pH vakuumi ja pH avo) väliseksi t-arvoksi -5,881 ja p-arvoksi 0,000 (taulukko 7). Vaikka tulosten keskiarvot ja keskihajonnat olivat lähellä toisiaan, saatiin t-testin tuloksena tilastollisia eroja. Testin perusteella vakuumi- ja avonäytteiden välillä oli tilastollisesti erittäin merkitsevää eroa pH:ssa, koska testin tulos alitti p-arvon 0,001, jota pidetään tilastollisesti erittäin merkitsevänä. Testin tulos tuki siten vaihtoehtoista hypoteesia H_1 , joten nollahypoteesi hylättiin.

TAULUKKO 7. Vakuumi- ja avonäytteen pH-arvoja ja parittaisten otosten t-testin p-arvo

pH-arvo	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (mmol/l) min - max	testattavan muuttujaparin p-arvo
Vakuuminäyte	7,37	0,03	7,33 – 7,41	0,000
Avonäyte	7,39	0,03	7,35 – 7,45	

Kuviossa 6 on esitetty pH-korjatut Ca-Ion -pitoisuudet vakuumi- ja avonäytteiden osalta (n=25). Vakuumitekniikalla otetussa putkessa pH-korjattujen Ca-Ion -pitoisuuksien keskiarvo oli 1,21 mmol/l ja keskihajonta 0,02 mmol/l. Avonäytteenottotekniikalla otetussa putkessa pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,21 mmol/l ja keskihajonta 0,03 mmol/l. Keskiarvot, keskihajonnat sekä minimi- ja maksimiarvot näkyvät taulukossa 8.



KUVIO 6. Vakuumi- ja avonäytteiden pH-korjatut Ca-Ion -pitoisuudet (mmol/l)

Parittaisten otosten t-testillä saatiin muuttujien (Ca-Ion -vakuuminäyte ja Ca-Ion -avonäyte) väliseksi t-arvoksi -0,901 ja p-arvoksi 0,376 (taulukko 8). Tulosten keskiarvot ja

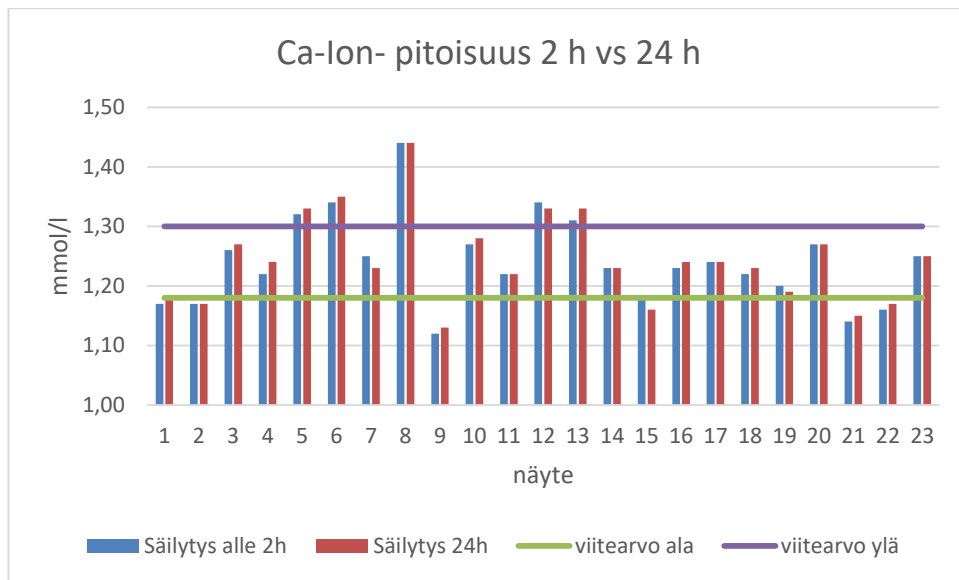
keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan, mutta t-testin tuloksena ei saatu tilastollisia eroja. Testin perusteella vakuumi- ja avonäytteiden pH-korjattujen Ca-Ion -pitoisuuksien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa, koska testin tuloksena saatu p-arvo ylitti merkitsevyystasoksi valitun p-arvon 0,05. Testin tulos tuki siten nollahypoteesia H_0 .

TAULUKKO 8. Vakuumi- ja avonäytteen pH-korjatun Ca-Ion -pitoisuuden arvoja ja parittaisten otosten t-testin p-arvo

pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (mmol/l) min - max	testattavan muuttujaparin p-arvo
Vakuuminäyte	1,21	0,02	1,16 – 1,27	0,376
Avonäyte	1,21	0,03	1,16 – 1,27	

7.3 Säilytyksen vaikutus Ca-Ion -pitoisuuteen ja pH-arvoon

Säilytyksen vaikutusta selvitettiin vertaamalla alle 2 tunnin ja 24 tunnin säilytyksen jälkeen analysoitujen näytteiden Ca-Ion- pitoisuutta, pH-arvoa ja pH-korjattua Ca-Ion -pitoisuutta. Otokoko tässä vertailussa on 23 kpl (n=23). Kuviossa 7 on esitetty alle 2 tunnin ja 24 tunnin jälkeen määritettyjen Ca-Ion -näytteiden vertailua täysissä vakuuminäyteputkissa. Alle 2 tunnin kuluessa määritetyissä näyteputkissa Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,24 mmol/l ja keskihajonta 0,07 mmol/l. 24 tunnin säilytyksen jälkeen Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,25 mmol/l ja keskihajonta 0,08 mmol/l. Keskiarvot, keskihajonnat sekä minimi- ja maksimiarvot näkyvät taulukossa 9.



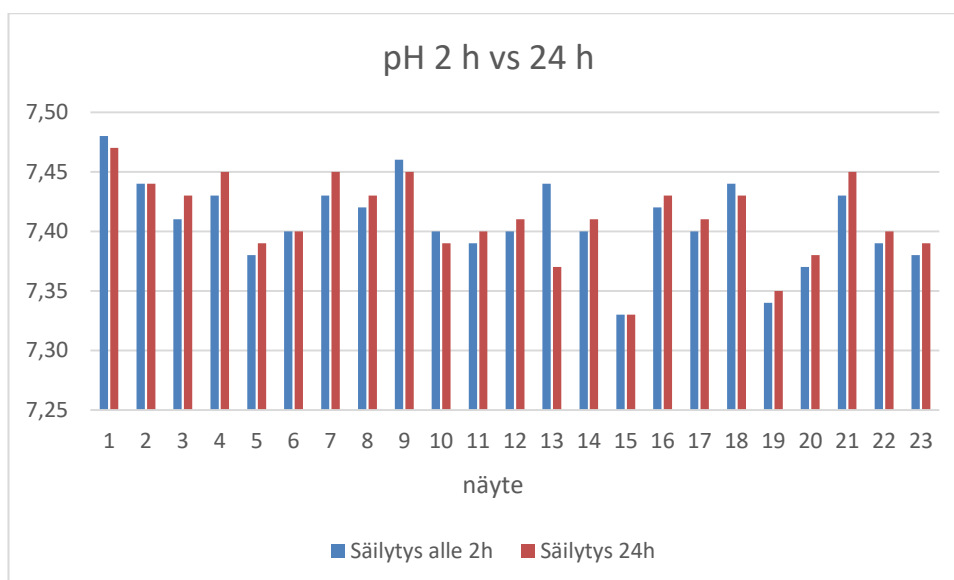
KUVIO 7. Ca-Ion -pitoisuus (mmol/l) alle 2 tunnin ja 24 tunnin säilytyksen jälkeen määritetyissä näytteissä

Parittaisten otosten t-testillä saatiin muuttujien (Ca-Ion täysi putki ja Ca-Ion, säilytys 24 h) väliseksi t-arvoksi -1,558 ja p-arvoksi 0,133 (taulukko 9). Tulosten keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan, mutta t-testin tuloksena ei saatu tilastollisia eroja. Alle 2 tunnin ja 24 tunnin kuluttua määritettyjen näyteputkien Ca-Ion -pitoisuuksissa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa, koska testin tuloksena saatu p-arvo oli suurempi kuin valitsemamme merkitsevyystason p-arvo 0,05. Testin tulos tuki siten nollahypoteesia H_0 .

TAULUKKO 9. Alle 2 h ja 24 h säilytettyjen näytteiden Ca-Ion -pitoisuuden arvoja ja parittaisten otosten t-testin p-arvo

Ca-Ion -pitoisuus	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (mmol/l) min - max	testattavan muuttujaparin p-arvo
alle 2 h	1,24	0,07	1,12 – 1,44	0,133
24 h	1,25	0,08	1,13 – 1,44	

Kuviossa 8 on esitetty alle 2 tunnin ja 24 tunnin säilytyksen jälkeen analysoitujen näyteputkien pH (n=23). Alle 2 tunnin kuluessa analysoitujen vakuuminäyteputkien pH:n keskiarvo oli 7,41 ja keskihajonta 0,04. 24 h säilytettyjen näytteiden pH:n keskiarvo oli 7,41 ja keskihajonta 0,03. pH oli suurempi suurimmassa osassa näytteitä säilytyksen jälkeen. Keskiarvot, keskihajonnat sekä minimi- ja maksimi-arvot näkyvät taulukossa 10.



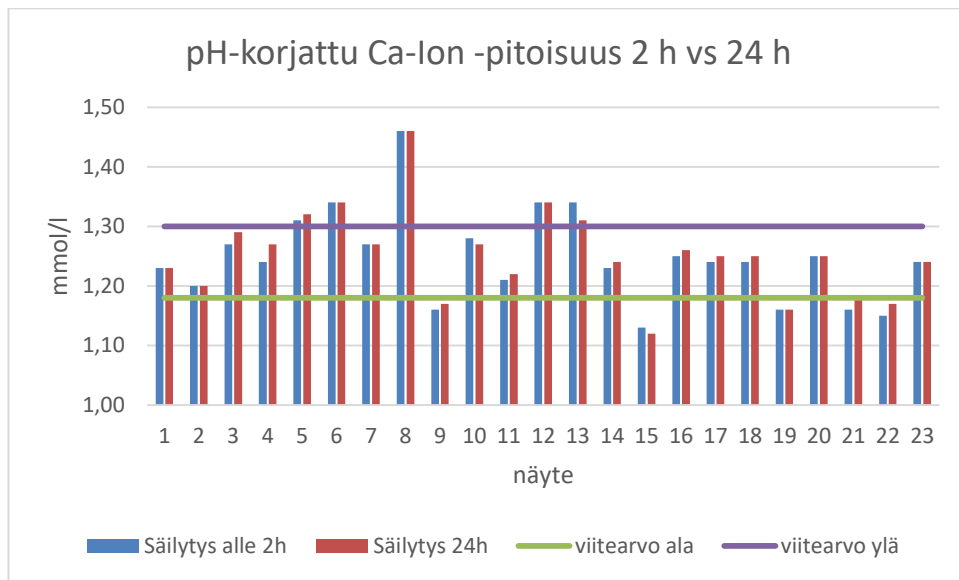
KUVIO 8. pH alle 2 h ja 24 tunnin säilytyksen jälkeen määritetyissä näytteissä

Parittaisten otosten t-testillä saatiin muuttujien (pH, täysi putki ja pH säilytys 24 h) väliseksi t-arvoksi -0,890 ja p-arvoksi 0,383 (taulukko 10). Tulosten keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan, mutta t-testin tuloksena ei saatu tilastollisia eroja. Alle 2 tunnin ja 24 tunnin kuluttua määritettyjen näyteputkien pH-arvoissa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa, koska testin tuloksena saatu p-arvo on suurempi kuin valitsemamme merkitsevyystason p-arvo 0,05. Testin tulos tuki siten nollahypoteesia H_0 .

TAULUKKO 10. Alle 2 h ja 24 h säilytettyjen näytteiden pH-arvoja ja parittaisten otosten t-testin p-arvo

pH-arvo	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (mmol/l) min - max	testattavan muuttujaparin p-arvo
alle 2 h	7,41	0,04	7,33 – 7,48	0,383
24 h	7,41	0,03	7,33 – 7,47	

Kuviossa 9 on esitetty pH korjatut Ca-Ion -pitoisuudet alle 2 tunnin ja 24 tunnin kuluttua analysoiduissa näyteputkissa (n=23). Alle 2 tunnin kuluessa määritetyissä näyteputkissa pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,25 mmol/l ja keskihajonta 0,08 mmol/l. 24 h:n säilytyksen jälkeen pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuuden keskiarvo oli 1,25 mmol/l ja keskihajonta 0,07 mmol/l. Keskiarvot, keskihajonnat sekä minimi- ja maksimi-arvot näkyvät taulukossa 11.



KUVIO 9. pH-korjatut Ca-Ion -pitoisuudet (mmol/l) alle 2 tunnin ja 24 tunnin säilytyksen jälkeen määritetyissä näytteissä

Parittaisten otosten t-testi tehtiin myös pH-korjatuille Ca-Ion -tuloksille ja saatiin muuttujien (korjattu Ca-Ion 2 h määrittys ja korjattu Ca-Ion 24 h määrittys) väliseksi t-arvoksi -1,853 ja p-arvoksi 0,077 (taulukko 11). Tulosten keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan, mutta t-testin tuloksena ei saatu tilastollisia eroja. Alle 2 tunnin ja 24 tunnin kuluttua määritettyjen näyteputkien pH-korjatuissa Ca-Ion -pitoisuuksissa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa, koska testin tuloksena saatu p-arvo on suurempi kuin vaillittu merkitsevyystason p-arvo 0,05. Testin tulos tuki siten nollahypoteesia H_0 .

TAULUKKO 11. Alle 2 h ja 24 h säilytettyjen näytteiden pH-korjatun Ca-Ion -pitoisuuden arvoja ja parittaisten otosten t-testin p-arvo

pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (mmol/l) min - max	testattavan muuttujaparin p-arvo
alle 2 h	1,25	0,08	1,13 – 1,46	0,077
24 h	1,25	0,07	1,12 – 1,46	

8 TULOSTEN TULKINTA JA JOHTOPÄÄTÖKSET

8.1 Täysien ja vajaiden vakuumiputkien Ca-Ion -pitoisuus ja pH

Näytteiden mittaustuloksissa keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan. Parittaisten otosten t-testin perusteella Ca-Ion -pitoisuuksissa ja pH-korjatuissa Ca-Ion -pitoisuuksissa oli tilastollisesti merkitseviä eroja täysien ja vajaiden putkien välillä. Tulokset ovat yhdenmukaisia jo olemassa olevan teorian kanssa. Tutkimusten mukaan Ca-Ion -määritykseen tulee käyttää vain täyttä näyteputkea, koska CO₂-pitoisuuden väheneminen nostaa pH:ta (emäksisemmäksi), jolloin Ca-Ion -pitoisuus laskee (Boink ym. 1991, 235; Baird 2011, 697; Glendenning 2013, 191; Risteli ym. 2015, 748). Lisäksi CLSI:n suosituksissa mainitaan, että vajaan putki laskee kalsiumpitoisuutta. Mitä vajaan putki on, sitä suurempi on ionisoituneen kalsiumin pitoisuuden muutos. (D’Orazio ym. 2001, 4, 20.)

Tulosten perusteella putken täyttöaste vaikutti myös happamuuteen. Täysien ja vajaiden putkien pH-arvoissa oli tilastollisesti merkitsevää eroa. Vajaissa putkissa pH nousee. Koska pH eroaa vajaan ja täydessä putkessa, vajaan putken käyttämisestä ei tämän tutkimuksen perusteella voi suositella. Työssä käytetty teoria tukee tätä samaa havaintoa. Ristelin ym. (2015) mukaan pH:n suureneminen laskee Ca-Ion -pitoisuutta, kun taas pH:n lasku nostaa sitä. Jokaista 0,1 yksikön muutosta pH-asteikolla vastaa noin 5 % muutos ionisoituneen kalsiumin pitoisuudessa. (Risteli ym. 2015, 748.)

8.2 Vakuuminäytteiden ja avonäytteiden Ca-Ion- pitoisuus ja pH

Näytteiden mittaustuloksissa keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan. Parittaisten otosten t-testin perusteella vakuuminäytteiden ja avonäytteiden Ca-Ion -pitoisuuksien välillä oli tulosten perusteella tilastollisesti erittäin merkitseviä eroja. Myös vakuumi- ja avonäytteiden pH-arvoissa oli tilastollisesti erittäin merkitseviä eroja. Kuitenkaan pH-korjatuissa Ca-Ion -pitoisuuksissa ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja avonäytteiden ja vakuuminäytteiden välillä. Tulokset tukevat teorian tietoa, koska avonäytteenotossa näytteeseen pääsevä happi vähentää CO₂ -pitoisuutta ja muuttaa näytettä

emäksisemmäksi, jolloin pH nousee ja siten keinotekoisesti vähentää ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta (Baird 2011, 696–701). Käytetyn teorian mukaan, mikäli näyte altistuu hapelle, tulee käyttää pH 7,4:ään korjattua Ca-Ion -pitoisuutta (Boink ym. 1991, 235; D’Orazio ym. 2001, 6; Baird 2011, 696–698; Glendenning 2013, 191). Tämän vuoksi avo- ja vakuuminäytteiden välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja pH-korjatun Ca-Ion -pitoisuuden kohdalla, vaikka pH:n ja aktuaalisen Ca-Ion -pitoisuuden kohdalla ero oli tilastollisesti erittäin merkitsevä. Tämän perusteella avonäytteen käyttö on mahdollista, koska potilaalle vastataan pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus eli fS-Ca²⁺ pH:ssa 7,4 (Epshep 2016).

8.3 Säilytyksen vaikutus Ca-Ion- pitoisuuteen ja pH-arvoon

Näytteiden mittaustuloksissa keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan, mutta parittaisten otosten t-testin perusteella alle 2 tunnin ja 24 tunnin kuluttua määritettyjen näyteputkien Ca-Ion -pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-Ion -pitoisuuksien välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja. Tutkimuksen tulokset osoittavat, että sentrifugoitu Ca-Ion -näyte säilyy huoneenlämmössä jopa 24 tuntia, joten 24 tunnin säilytyksellä ei ole vaikutusta Ca-Ion -pitoisuuteen eikä pH-arvoon.

Epshep:n työohjeet (Epshep 2016) ja putkivalmistajan suositukset (Guder ym. 2015, 38–39) ilmoittavat seerumin säilyvän geelin päällä kaksi vuorokautta huoneenlämmössä ja Risteli ym. (2015, 748) puhuu vastaavasti tunneista. Koska käytössä oleva laite, Radiometer ABL90 Flex -analysointilaitte, on herkkä pH -muutoksille, ja sitä myöten myös Ca-Ion -pitoisuuksille, on nyt saatu säilyvyyttä koskeva käytännön tutkimustulos hyödyllinen. Tämän tutkimuksen tuloksista voidaan päätellä, että Ca-Ion -näytteiden analysointi on mahdollista yhtä hyvin tehdä vasta 24 tunnin kuluttua näytteen ottamisesta, koska näytteen 24 tunnin säilytyksellä ei ole vaikutusta Ca-Ion -pitoisuuteen, pH-korjattuun Ca-Ion -pitoisuuteen ja pH-arvoon. Tutkimustulokset ovat siis yhteneväiset mm. Guderin ym. (2015, 38–39) esittämän kahden vuorokauden säilyvyysteorian kanssa.

9 EETTISYYS JA LUOTETTAVUUS

Tutkimuksen luotettavuuden ja eettisyyden edellytys on, että se on tehty tieteelliselle tutkimukselle asetettujen kriteerien mukaan eli rehellisesti, avoimesti sekä huolellisuutta ja tarkkuutta noudattaen. Tutkimuksen luotettavuutta voidaan kuvata kahdella termillä, validiteetilla (pätevyys) ja reliabiliteetilla (mittausten pysyvyys), jotka yhdessä muodostavat tutkimuksen kokonaisluotettavuuden. (Kananen 2015, 125, 343.) Tutkimusaineiston hankintavaiheessa laatuun vaikuttavia virheitä ovat mm. käsittelyvirheet, mittausvirheet ja otantavirheet (Heikkilä 2014, 176).

Validiteetti kertoo, miten on onnistuttu mittaamaan juuri sitä, mitä tutkimuksella on haluttu saada selville. Kun tietoja kerätään mittaamalla, mittaaminen kohdistuu johonkin muuttujaan. (Heikkilä 2014, 177; Nummenmaa ym. 2014, 17.) Tässä tutkimuksessa onnistuttiin mittaamaan valittuja muuttujia ja saatiin niistä luotettavia tuloksia. Tuloksista lasketut suureet ja käytetyt tilastolliset testit antoivat vastaukset asetettuihin tutkimuskysymyksiin. Luotettavuuden lisäämiseksi tehdyt toimenpiteet ja perustelut, mm. näytteiden analysointivaiheessa havaitut poikkeamat, on kirjattu ylös. Tutkimuksen luotettavuutta lisää aitojen potilasnäytteiden käyttö.

Reliabiliteetilla määritellään kykyä tuottaa ei-sattumanvaraisia tuloksia. Saman yksikön mittaustulosten pitäisi antaa sama tulos. (Heikkilä 2014, 178.) Tutkimuksen luotettavuutta on varmistettu kertomalla työn eri vaiheet, kuten näytteiden kerääminen, analysointi ja tulosten käsittely, joten tarvittaessa prosessi on toistettavissa samanlaisena. Reliabiliteettia lisää myös käyttämämme analysaattori. Radiometerin (2013) mukaan pitkälle automatisoitu ABL90 Flex -verikaasuanalysaattorin laadunhallintajärjestelmä tekee automaattisesti ja jatkuvasti tarkastuksia, esimerkiksi kolmesti päivässä sisäiset kontrollit. Laadunhallintajärjestelmä perustuu sisäiseen laadunvarmistukseen, järjestelmätarkastuksiin ja analyysitarkastuksiin. (Radiometer 2013, 5–3, 5–4, 5–6, 5–7.) Koska laitteen automatisointi on viety erittäin pitkälle ja laite on helppokäyttöinen, eri henkilöiden tekemillä mittauksilla ei ole vaikutusta mittausten toistettavuuteen.

Työ toteutettiin kahdessa eri vaiheessa. Tutkimuksen ensimmäisessä vaiheissa oli useita eri näytteenottajia ja henkilökunta analysoi näytteet, kun taas toisessa vaiheessa toi-

mimme itse näytteenottajina ja teimme näytteiden analysoinnit. Näytteenottajista aiheutuvat erot liittyvät vajaan putken ja avoputken täyttöasteeseen ja staasin käyttöaikaan. Preanalytiikkaan liittyvät paastoa ja 15 minuutin istumista koskevat vaatimukset eivät täytyneet tutkimuksen toisessa vaiheessa. Vaikka henkilökunta analysoi osan näytteistä, saimme kuitenkin tiedon analysoinnin aikana havaituista poikkeamista, jolloin pystyimme vaikuttamaan otokseen jälkikäteen.

Heikkilän (2014) mukaan tutkimuksen luotettavuuteen vaikuttavat otoksen edustavuus sekä otoskoko ja mitä suurempi otoskoko on, sitä varmempia voidaan olla tulosten luotettavuudesta (Heikkilä 2014, 40, 178). Yleisesti ehdottomana miniminä pidetään 100 tilastoyksikön otosta, mutta koejärjestelyissä, joissa tilanne on suhteellisen rajattu, esimerkiksi lääketieteelliset kokeet, otoskoko saattaa olla edellä mainittua pienempi. Tässä tutkimuksessa otantatapana on ollut näyte, jolloin tutkimusyksiköiden valinnassa on käytetty harkintaa. Näytteen perusteella ei voida tehdä luotettavia johtopäätöksiä koko kohdejoukosta, kuten otannan perusteella voidaan tehdä. (Karjalainen 2010, 33–34.) Tämän vuoksi myös pieni otoskoko on perusteltua, koska tälläkin menetelmällä voidaan saada melko luotettavia tuloksia, kunhan tutkimuksen tekoon kiinnitetään huomiota (Nummenmaa ym. 2014, 33). Tutkimuksen otoskoot olivat ensimmäisessä vaiheessa 23 ja toisessa vaiheessa 25. Ensimmäisessä vaiheessa vajaista putkista jätettiin 2 näytettä pois tilastollisesta käsittelystä, joten niiden kohdalla otoskoko oli 21. Kuitenkin jo tällä otoskoolla saatiin esille tilastollisesti merkittäviä eroja.

Tulosten käsittelyn kohdalla luotettavuutta on pyritty varmistamaan tarkistamalla tulosten syöttö useampaan kertaan. Ensimmäisessä saamastamme Excel-taulukosta taulukot tulostettiin ja tulokset syötettiin käsin uuteen Exceliin. Syötettyjä tuloksia verrattiin vielä kahdesti tulostettuihin taulukoihin. Toisessa tutkimusvaiheessa saimme suoraan analysaattorilta näytekohtaiset tulosteet, joiden tulokset syötettiin Excel-tilaukkoon. Nämäkin tulokset tarkastettiin vielä kahteen kertaan mahdollisten näppäilyvirheiden takia.

Työn luotettavuuden lisäämiseksi teoriaosuutta varten aineistoa on hankittu ajantasaisista kotimaisista sekä ulkomaisista lähteistä, joten teoriaosuus perustuu siten mahdollisimman laajaan, uuteen ja kansainväliseen tutkimusaineistoon. Työssä on käytetty yksittäisiä vanhempia lähteitä, esimerkiksi IFCC:n ja CLSI:n suositukset, jotka ovat edelleen käytössä ja uusimmat saatavissa olevat. Työn avoimuus tulee esiin siinä, että kaikki käytetyt lähteet on etsitty ja ilmoitettu, sekä niihin on viitattu tekstissä asianmukaisella tavalla. Myös itse

tutkimustyön tekemisessä on toimittu eettisesti. Tapahtumat on kerrottu todenmukaisesti ja kaikki tulokset on ilmoitettu niitä muokkaamatta.

Työn eettisyyden varmistamiseksi potilaiden ja vapaaehtoisten henkilöiden näytteiden henkilötietoja ei missään vaiheessa kirjattu ylös. Työn eettisyyttä lisää se, että tässä työssä esitetyt taulukot eivät johda yksittäisen henkilön jäljille, koska käytössä olevat tiedot ovat Excel-tilustuksessa, eivätkä suorassa yhteydessä potilastietojärjestelmään. Myös kaikki kerätty tutkimusmateriaali on hävitetty laboratorion muiden näytteiden mukana, käytössä oleva menetelmän mukaan. Eettisyys on huomioitu näytteiden keräämisessä asianmukaisin luvuin. Kliinisen kemian toimintayksiköllä on lupa näytteiden keräämiseen tutkimustarkoituksessa, joten erillistä kirjallista lupaa ei tätä tutkimusta varten tarvittu (Åkerman 2017). Eettisyys otettiin huomioon kuitenkin kysymällä ennen näytteen ottoa asiakkaalta suullinen suostumus tutkimukseen liittyvän ylimääräisen näytteen ottamiseen.

10 POHDINTA

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää vajaasti täyttyneen vakuumputken ja avonäytteen käyttömahdollisuutta seerumin ionisoituneen kalsiumin määrittämisessä sekä selvittää, vaikuttaako 24 tunnin säilytys Ca-Ion -pitoisuuteen, pH-korjattuun Ca-Ion -pitoisuuteen ja pH-arvoon. Aineiston tilastollinen analyysi tehtiin parittaisten otosten t-testillä, jota käytetään toisistaan riippuvien muuttujien välisten erojen selvittämiseen. Analysoimme kaikki saamamme tulokset lukuun ottamatta kahta näytettä, jotka jätimme pois tilastollisesta analyysistä. Kaikki työn vaiheet on kerrottu todenmukaisesti. Tutkimuksen tulosten perusteella voidaan todeta, että opinnäytetyön tavoitteet ja tarkoitus täyttyivät ja työssä saatiin vastaukset asetettuihin kysymyksiin.

Tutkimuksesta saatiin selkeitä tuloksia. Tulosten mukaan muuttujien keskiarvot ja keskihajonnat olivat hyvin lähellä toisiaan. Parittaisten otosten t-testillä saatiin tilastollisesti merkitseviä eroja, koska testi vertaa lisäksi yksittäisten muuttujaparien erotusten jakaumaa. Esimerkiksi muuttujien keskiarvon erotus voi olla hyvinkin pieni (0,01 mmol/l), mutta silti testin tulos voi olla tilastollisesti merkitsevä. Johtopäätökset tuloksista tehtiin tilastollisten analyysien perusteella.

Tuloksia verrattiin käytettyyn teoretiseen tietoon ja ne olivat yhteneviä teoretiedon kanssa. Tulosten perusteella vajaassa putkessa Ca-Ion -pitoisuus laskee ja pH nousee, joten vajaata putkea ei voida tämän tutkimuksen perusteella suositella. Tutkimuksessa saatiin myös avonäytteiden ja vakuuminäytteiden Ca-Ion -pitoisuuksien ja pH-arvojen välille tilastollisesti erittäin merkitseviä eroja. pH-korjatuissa Ca-Ion -pitoisuuksissa ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja avonäytteiden ja vakuuminäytteiden välillä. Tämän tutkimuksen perusteella avonäytettä voisi käyttää, koska potilaalle vastataan EpsHP:ssä pH-korjattu Ca-Ion -pitoisuus. Tulosten mukaan 24 tunnin säilytyksellä ei ollut vaikutusta Ca-Ion -pitoisuuteen, pH-arvoon, eikä pH-korjattuun Ca-Ion -pitoisuuteen, joten tulosten perusteella sentrifugoitujen Ca-Ion -näytteiden analysointia voidaan tarpeen vaatiessa siirtää myöhemmäksi, 24 tuntiin asti. Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin kliinisen kemian toimintayksikkö voi hyödyntää opinnäytetyön tuloksia toiminnassaan.

Tutkimusaineisto saatiin kerättyä suunnitellun aikataulun mukaisesti ja näytteiden otto sujui hyvin. Tutkimuksen olisi voinut toteuttaa suuremmalla otoskoolla. Näytteiden analysointi sujui myös ongelmitta ja suunniteltuja analysointiaikoja pystyttiin noudattamaan. Tuloksissa ei erikseen huomioitu kahden eri analysaattorin käyttöä, joten niiden mahdollisia tasoeroja olisi voinut myös selvittää. Näytteiden säilytyslämpötilan olisi voinut mitata tutkimuksen aikana. Myös ensimmäisen vaiheen näytteiden analysointi olisi ollut mielenkiintoista tehdä itse. Haastavaa työssä oli olennaisen tiedon löytäminen laajan teoriatiedon joukosta.

Tutkimuksen toteuttaminen suuremmalla otoskoolla antaisi jo nyt saaduille tuloksille vahvistusta. Koska tämän tutkimuksen aineistossa ei ollut kuin muutama viitearvojen ulkopuolella oleva tulos, yhtenä jatkotutkimusaiheena voisi olla sellaisten potilasnäytteiden tutkiminen, joissa jo tiedetään olevan poikkeamia pH-tasapainossa. Tutkimukseen siis valittaisiin esim. munuaisten vajaatoimintaa sairastavien tai dialyysipotilaiden näytteitä. Jatkossa voitaisiin myös selvittää yli 24 tunnin säilytyksen vaikutusta Ca-Ion -pitoisuuksiin ja pH-arvoihin.

LÄHTEET

Baird, G. S. 2011. Ionized calcium. *Clinica Chimica Acta* 412, 696–701.

Boink, A. B. T. J., Buckley, B. M., Christiansen, T. F., Covington, A. K., Maas, A. H. J., Müller-Plathe, O., Sachs, C. & Siggaard-Andersen, O. 1991. IFCC Recommendation on sampling, transport, and storage for the determination of the concentration of ionized calcium in whole blood, plasma and serum. *Journal of Automatic Chemistry* (13) 5, 235–239.

Burnett, R. W., Christiansen, T. F., Covington, A. K., Fogh-Andersen, N., Külpmann, W. R., Lewenstam, A., Maas, A. H. J., Müller-Plathe, O., Sachs, C., Siggaard-Andersen, O., VanKessel, A. L. & Zijlstra, W. G. 2000. IFCC Recommended Reference Method for the Determination of the Substance Concentration of Ionized Calcium in Undiluted Serum, Plasma or Whole Blood. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 38 (12), 1301–1314.

Dasgupta, A. & Wahed, A. 2014. *Clinical chemistry, immunology and laboratory quality control. A comprehensive review for board preparation, certification and clinical practice.* San Diego: Elsevier. 43–45.

D’Orazio, P. & Meyerhoff, M. E. 2015. Electrochemistry and chemical sensors. Teoksessa Burtis, C. A. & Bruns, D. E. (ed.) *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 7. painos. St. Louis, Missouri: Elsevier/Saunders, 152–155.

D’Orazio, P., Toffaletti, J. G. & Wandrup, J. 2001. Ionized calcium determinations: Pre-collection variables, specimen choice, collection and handling; approved guideline - Second edition. CLSI document C31-A2 21 (10), 4, 6, 10, 20.

Eskelinen, S. 2016. Kalsium (P-Ca, P-Ca-albk ja P-Ca-ion). *Duodecim Terveyskirjasto*. Luettu 14.1.2018.

http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03063

Epshp. 2016. Kalsium, ionisoitunut, seerumista. *Työohje* 14.7.2016.

Evenepoel, P. & Wolf, M. 2013. A balanced view of calcium and phosphate homeostasis in chronic kidney disease. *Kidney International* 83, 789–791.

Freese, R. & Voutilainen, E. 2012. Vitamiinit ja kivennäisaineet sekä muut ravinnon yhdisteet. Teoksessa Aro, A., Mutanen, M. & Uusitupa, M. (toim.) *Ravitsemustiede*. Helsinki: Duodecim, 133–137.

Glendenning, P. 2013. It is time to start ordering ionized calcium more frequently: pre-analytical factors can be controlled and postanalytical data justify measurement. *Annals of Clinical Biochemistry* 50 (5), 191–193.

Guder, W. G., Fiedler, G. M., da Fonseca-Wollheim, F., Schmitt, Y., Töpfer, G., Wisser, H & Zawta, B. 2015. Quality of Diagnostic Samples. Recommendations of the Working Group on Extraanalytical Quality Assurance of the German United Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Germany: German United Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 38–39.

Heikkilä, T. 2014. Tilastollinen tutkimus. Helsinki: Edita.

Jafri, L., Khan, A. H. & Azeem, S. 2014. Ionized Calcium Measurement in Serum and Plasma by Ion Selective Electrodes: Comparison of Measured and Calculated Parameters. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 29 (3), 327–332.

Jean, G., Granjon, S., Zaoui, E., Deleaval, P., Hurot, J-M., Lorriaux, C., Mayor, B. & Chazot, C. 2015. Usefulness and feasibility of measuring ionized calcium in haemodialysis patients. *Clinical Kidney Journal* 8 (4), 378–387.

Kallner, A. 1996. Preanalytical Procedures in the Measurement of Ionized Calcium in Serum and Plasma. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 34, 54–58.

Kananen, J. 2015. Opinnäytetyön kirjoittajan opas. Näin kirjoitan opinnäytetyön tai pro gradun alusta loppuun. Jyväskylä: Jyväskylän ammattikorkeakoulu.

Karjalainen, L. 2010. Tilastotieteen perusteet. Keuruu: Otavan Kirjapaino Oy.

Laki ihmisen elimien, kudoksien ja solujen lääketieteellisestä käytöstä 2.2.2001/101.

Larson, D. 2017. Bone, joint and skeletal muscle diseases. Teoksessa Larson, D., Hayden, J. & Nair, H. (ed.) *Clinical chemistry: fundamentals and laboratory techniques*. St. Louis, Missouri: Elsevier/Saunders, 461–464.

Lippi, G., Blanckaert, N., Bonini, P., Green, S., Kitchen, S., Palicka, V., Vassault, A. J. & Plebani, M. 2008. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 46 (6), 764–772.

Lippi, G., Fontana, R., Avanzini, P., Sandei, F. & Ippolito, L. 2013. Influence of spurious hemolysis on blood gas analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 51 (8), 1651–1654.

Matikainen, A-M., Miettinen, M. & Wasström, K. 2016. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita.

Mediq. 2013. BD Vacutainer SST II Advance -seerumigeeliputki. Luettu 16.1.2018. <http://tuoteluettelo.mediq.fi/n349386/bd-vacutainer-sst-ii-advance--seerumigeeliputki>

Nummenmaa, L. 2004. Käyttäytymistieteiden tilastolliset menetelmät. 1.–3. painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Nummenmaa, L., Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2014. Tilastollisten menetelmien perusteet. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Radiometer. 2013. ABL90 Flex -käyttöopas.

Radiometer. 2014. ABL90 Flex. Reference manual.

Risteli, J. & Risteli, L. 2010. Luusto ja muu sidekudos. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 179–180.

Risteli, J., Winter, W. E., Kleerekoper, M. & Risteli, L. 2015. Disorders of bone and mineral metabolism. Teoksessa Burtis, C. A. & Bruns, D. E. (ed.) Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics. 7. painos. St. Louis, Missouri: Elsevier/Saunders, 741–749.

Saha, H. 2014. Kalsiumin aineenvaihdunta, säätely ja määrittäminen. Teoksessa Alahuhta, S., Ala-Kokko, T., Kiviluoma, K., Perttilä, J., Ruokonen, E. & Silfast, T. (toim.) Peruselintoimintojen häiriöt ja niiden hoito. Helsinki: Duodecim, 169–171.

Sand, O., Sjaastad, Ø. V., Haug, E., Bjälle, J. G. & Toverud, K. C. 2011. Ihminen. Fysiologia ja anatomia. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Seppälä, E. & Tuokko, S. 2010. Potilas ja näyte. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 24, 27–28.

Sepulveda, J. 2013. Challenges in routine clinical chemistry testing. Analysis of small molecules. Teoksessa Dasgupta, A. & Sepulveda, J. L. (ed.) Accurate results in the clinical laboratory. A guide to error detection and correction. London: Elsevier, 115–116.

Uotila, L. 2014. Kalsium-määrittäminen: Kokonaiskalsium, albumiini- ja ionisoitu? *Moodi* 2/2014, 56–58.

Uotila, L. 2010. Neste-, elektrolyytti- ja happo-emästatapaino. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 104–106.

Vakkuri, A. 2014. Kroonisen munuaisten vajaatoimintapotilaan hoito. Teoksessa Alahuhta, S., Ala-Kokko, T., Kiviluoma, K., Perttilä, J., Ruokonen, E. & Silfast, T. (toim.) Peruselintoimintojen häiriöt ja niiden hoito. Helsinki: Duodecim, 212–214.

Välimäki, M. & Mäkitie, O. 2009. Luusto ja mineraaliaineenvaihdunta. Teoksessa Välimäki, M., Sane, T. & Dunkel, L. (toim.) Endokrinologia. 2. painos. Helsinki: Duodecim, 272–273, 276, 283–284, 290, 296, 298, 308.

Åkerman, K. ylikemisti. 2017. Henkilökohtainen tiedonanto. 23.5.2017. Seinäjoki. Kliinisen kemian laboratorio.

Åkerman, K. ylikemisti. 2018. Henkilökohtainen tiedonanto. 12.4.2018. Seinäjoki. Kliinisen kemian laboratorio.

Åkerman, K. & Jokela, H. 2010. Laboratorion perusmenetelmät. Elektrodit: Potentiometri. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia. 3.–4. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 62–63.

Woodworth, A. & Pyle, A. L. 2013. Sample processing and specimen misidentification issues. Teoksessa: Dasgupta, A. & Sepulveda, J. L. (ed.) Accurate results in the clinical laboratory. A guide to error detection and correction. London: Elsevier, 40–41.

LIITTEET

Liite 1. Tiedote laboratoriohoitajille tutkimusnäytteiden ottamiseksi

Opinnäytetyöhön (fS-Ca-Ion säilyvyys) liittyvä rinnakkaisnäytteenotto

Keskiviikko 30.8.2017 (ja mahdollisesti torstai 31.8.2017)

- Näytteenottoon tulee lisäpyyntötarrat
- Normaalin (fS-Ca-Ion) potilasnäytteen lisäksi otetaan:
 - o **1 lisäputki** (normaali täyttöaste)
 - o **1 lisäputki** (vajaasti täyttynyt, noin puoliksi täysi)

- Tarroissa on ohjeet myös näytteiden analysointiajoille:
 - o **täysi putki 24 h** kuluttua näytteenotosta
 - o **vajaa putki normaalin näytteen tapaan** EPSHP:n ohjeen mukaan

Terveisin,

bioanalyttikko-opiskelijat

Tuire Kauppi ja Saara Kurki

Liite 2. Aineisto täyden ja vajaan putken sekä 24 tunnin säilyvyyden tutkimista varten

Näyte- nu- mero	Ca-lon Täysi putki (mmol/l)	Ca-lon Vajaa putki (mmol/l)	Ca-lon 24h Täysi putki (mmol/l)	pH-kor- jattu Ca-lon Täysi putki (mmol/l)	pH-kor- jattu Ca-lon Vajaa putki (mmol/l)	pH-kor- jattu Ca-lon 24h Täysi putki (mmol/l)	pH alle 2h Täysi putki	pH 24 h Täysi putki	pH alle 2h Vajaa putki
1	1,17	1,16	1,18	1,23	1,25	1,23	7,48	7,47	7,53
2	1,17	1,15	1,17	1,20	1,22	1,20	7,44	7,44	7,50
3	1,26	1,25	1,27	1,27	1,29	1,29	7,41	7,43	7,46
4	1,22	1,20	1,24	1,24	1,25	1,27	7,43	7,45	7,48
5	1,32	1,32	1,33	1,31	1,31	1,32	7,38	7,39	7,38
6	1,34	1,35	1,35	1,34	1,35	1,34	7,40	7,40	7,41
7	1,25	1,22	1,23	1,27	1,26	1,27	7,43	7,45	7,46
8	1,44	1,44	1,44	1,46	1,47	1,46	7,42	7,43	7,44
9	1,12	1,11	1,13	1,16	1,18	1,17	7,46	7,45	7,52
10	1,27	1,28	1,28	1,28	1,29	1,27	7,40	7,39	7,41
11	1,22	1,21	1,22	1,21	1,22	1,22	7,39	7,40	7,41
12	1,34	1,33	1,33	1,34	1,33	1,34	7,40	7,41	7,40
13	1,31	1,30	1,33	1,34	1,34	1,31	7,44	7,37	7,46
14	1,23	1,24	1,23	1,23	1,24	1,24	7,40	7,41	7,40
15	1,18	1,16	1,16	1,13	1,12	1,12	7,33	7,33	7,33
16	1,23	1,23	1,24	1,25	1,26	1,26	7,42	7,43	7,45
17	1,24	1,22	1,24	1,24	1,25	1,25	7,40	7,41	7,45
18	1,22	1,20	1,23	1,24	1,26	1,25	7,44	7,43	7,48
19	1,20	1,19	1,19	1,16	1,17	1,16	7,34	7,35	7,37
20	1,27	1,28	1,27	1,25	1,25	1,25	7,37	7,38	7,37
21	1,14	1,14	1,15	1,16	1,17	1,18	7,43	7,45	7,45
22	1,16	1,16	1,17	1,15	1,15	1,17	7,39	7,40	7,39
23	1,25	1,23	1,25	1,24	1,23	1,24	7,38	7,39	7,39
Keski- arvo	1,24	1,23	1,24	1,25	1,25	1,25	7,41	7,41	7,43
Keski- ha- jonta	0,07	0,08	0,07	0,08	0,08	0,07	0,04	0,03	0,05

Liite 3. Aineisto vakuuminäytteen ja avonäytteen tutkimista varten

Näytenumero	Ca-lon Vakuumi- näyte (mmol/l)	Ca-lon Avo- näyte (mmol/l)	pH-arvo Vakuumi- näyte	pH-arvo Avo- näyte	pH-korjattu Ca-lon Vakuumi- näyte (mmol/l)	pH-korjattu Ca-lon Avo- näyte (mmol/l)
1	1,24	1,22	7,40	7,42	1,24	1,23
2	1,24	1,24	7,37	7,37	1,22	1,22
3	1,24	1,21	7,33	7,37	1,20	1,20
4	1,22	1,23	7,37	7,38	1,21	1,21
5	1,17	1,15	7,41	7,43	1,18	1,18
6	1,21	1,20	7,41	7,45	1,22	1,23
7	1,25	1,25	7,39	7,38	1,24	1,24
8	1,22	1,20	7,36	7,38	1,19	1,19
9	1,27	1,24	7,34	7,38	1,22	1,23
10	1,20	1,19	7,34	7,36	1,16	1,16
11	1,17	1,17	7,41	7,40	1,17	1,17
12	1,25	1,23	7,34	7,35	1,21	1,20
13	1,24	1,23	7,36	7,39	1,22	1,22
14	1,19	1,17	7,39	7,43	1,18	1,19
15	1,28	1,26	7,35	7,37	1,24	1,24
16	1,27	1,26	7,35	7,36	1,23	1,23
17	1,19	1,18	7,42	7,44	1,20	1,20
18	1,22	1,21	7,38	7,39	1,20	1,21
19	1,28	1,27	7,38	7,37	1,26	1,25
20	1,22	1,20	7,39	7,40	1,21	1,20
21	1,22	1,19	7,36	7,41	1,19	1,20
22	1,28	1,26	7,39	7,42	1,27	1,27
23	1,25	1,24	7,36	7,39	1,23	1,23
24	1,26	1,24	7,33	7,37	1,21	1,22
25	1,21	1,20	7,40	7,40	1,20	1,21
Keskiarvo	1,23	1,22	7,37	7,39	1,21	1,21
Keskihajonta	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07