

Meeri Haataja

**HEMOLYYSI JA SEN VAIKUTUKSET TUTKIMUSPARAMETREIHIN  
SUONIVERINÄYTTEENOTOSSA**

**HEMOLYYSI JA SEN VAIKUTUKSET TUTKIMUSPARAMETREIHIN  
SUONIVERINÄYTTEENOTOSSA**

Meeri Haataja  
Opinnäytetyö  
Kevät 2019  
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma  
Oulun ammattikorkeakoulu

## TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

---

Tekijä: Meeri Haataja

Opinnäytetyön nimi: Hemolyysi ja sen vaikutukset tutkimusparametreihin suoniverinäytteenotossa

Työn ohjaajat: Mika Paldanius ja Outi Mäkitalo

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Kevät 2019

Sivumäärä: 55 + 5

---

Näytteiden hemolyysi eli punasolujen hajoaminen on yksi merkittävimmistä virhelähteistä kliinissä laboratoriotoinnassa. Keskimäärin kolme prosenttia laboratorioihin tulevista verinäytteistä on hemolyytisiä, mutta huomattavasti tätä enemmän sitä esiintyy ensiavusta, teho-osastolta ja lastenosastolta saapuvissa näytteissä. Hemolyysiä aiheuttaa poikkeamiset vakioidusta näytteenottotavasta esimerkiksi epäonnistuneet näytteenottoyritykset ja näytteenotto kanyylin kautta. Hemolyysin vuoksi useiden tutkimusparametrien pitoisuudet vääristyvät, mikä voi johtaa virheellisiin diagnooseihin ja hoitopäätöksiin vaarantaen potilasturvallisuuden.

Tutkimuksen tarkoituksena oli kerätä tutkimuskirjallisuudesta luotettavaa ja ajankohtaista tietoa hemolyysistä ja sen vaikutuksista eri analyttien tutkimustuloksiin. Tavoitteena oli löytää hemolyysille alttiit parametrit ja esitellä lukijoille taustaa hemolyysin vaikutustavoista, jotta heillä olisi helpompi soveltaa tuloksia käytännön näytteenottotilanteisiin eli välttää näytteenottoon liittyviä virheitä. Tavoitteena oli esittää asiat selkeästi, jotta kirjallisuuskatsausta voisivat hyödyntää kaikki laskimoverinäytteiden ottoon osallistuvat henkilöt, näytteenottoon liittyvästä kokemustasosta riippumatta.

Tutkimusmenetelmänä oli laadullisen tutkimuksen kuvaileva kirjallisuuskatsaus. Tutkimusaineisto käsitti 18 kansainvälistä tutkimusta ja yhden kotimaisen opinnäytetyön hemolyysin vaikutuksista eri tutkimusparametreihin. Ne sisälsivät kliiniskemiallisia, hyytymis-, sydänmerkkiaine-, hormoni-, verenkuva- sekä keliakia- ja eturauhassyövän tutkimusparametrejä.

Hemolyysin vaikutustapoja on useita. Veren solujen hajotessa verinesteeseen eli plasmaan vapautuu useita aineita, jotka voivat vaikuttaa analyttien pitoisuuksiin suoraan tai välillisesti. Hemolyysille herkkiä parametrejä, joiden pitoisuus lisääntyy suoraan solujen sisällön purkautumisen vuoksi, ovat kalium, laktaattidehydrogenaasi, aspartaattiaminotransferaasi, alaniiniaminotransferaasi, epäorgaaninen fosfaatti ja folaatti. Intraselulaarinsteen plasmaa laimentava vaikutus on heikompi eli analyttien pitoisuuden laskua esiintyy vasta huomattavan suurilla hemolyysiasteilla (natrium, kloridi, albumiini, glukoosi). Spektrofotometrinen häirintä voi vaikuttaa mm. kreatiiniakinaasin, raudan, bilirubiinin, gammaglutamyylitransferaasin, alkalisen fosfataasin ja lipaasin pitoisuuksiin. Lisäksi niihin vaikuttavat kemiallisesti solujen sisältä vapautuvat aineet, jotka voivat kilpailla reagenssien kanssa, reagoida analyttien kanssa tai kuluttaa reaktioiden lopputuotteita. Useiden vaikutustapojen yhteisvaikutuksen vuoksi analyttien pitoisuusmuutosten suuruus ja suunta voivat vaihdella määritysmenetelmien mukaan, jolloin tutkimustuloksia ei pystytä ennakoimaan tai vertailemaan.

Hemolyysiin liittyviä käsitteitä, yksiköitä, tutkimusmenetelmiä ja tulosten merkitsevyyden määrittelyä on yhtenäistettävä, jotta analyteille pystytään asettamaan hylkäykseen johtavat kynnsarvot.

---

Asiasanat: hemolyysi, preanalytiikka, näytteenoton laatu, potilasturvallisuus

## ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences  
Degree programme in Biomedical Laboratory Science

---

Author: Meeri Haataja

Title of thesis: The effect of hemolysis on analytical parameters in venous blood sampling

Supervisors: Mika Paldanius and Outi Mäkitalo

Term and year when the thesis was submitted: Spring 2019

Number of pages: 55 + 5

---

Preanalytical hemolysis, the rupture of erythrocytes and the release of their intracellular components in plasma, is a common problem in medical practice, especially in emergency, intensive care and pediatric departments. Spurious hemolysis results from difficulty in venous access, unsatisfactory attempts and the use of intravenous catheters. Sample hemolysis leads to unreliable laboratory results and delayed diagnosis thus jeopardizing the patient safety.

The purpose of this literature review was to study current and reliable scientific evidence concerning the causes of blood sample hemolysis and its consequences on clinical laboratory parameters. The aim was to define analytical parameters especially prone to hemolysis and help nursing staff and laboratory personnel to deal with them and avoid errors in blood sampling techniques. I aimed to explain the facts explicitly in order for readers with different practical experience and backgrounds to be able to make the best use of it.

This thesis was executed as a descriptive literature review. The analysed material consisted of 18 international research articles and one national thesis on the effects of hemolysis upon laboratory analytes. The issues dealt with were clinical chemistry, coagulation, cardiac troponin, hormone and hematological testing along with celiac disease and prostatic cancer testing.

Hemolysis interferes with laboratory results through the release of intracellular components, dilutional effects, proteolysis and interference with analytical techniques. Parameters directly elevated by the release of intracellular components are potassium, lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, phosphorus and folate. Dilutional effects of sodium, chloride, glucose and albumin are exhibited only with significant hemolysis. Analytical interference have an effect on the concentration of creatine kinase, iron, bilirubin,  $\gamma$ -glutamyltransferase, alkaline phosphatase and lipase. These may also be influenced by chemical interferences of intracellular substances that interact or compete with the assay reagents. Due to combined effects of several interference methods at a time, the bias of analytical interference for some parameters can be heterogenous and unpredictable.

To be able to establish reliable thresholds for rejection of hemolysed specimen, hemolysis index assessment and use must be harmonized. Without that the management of unsuitable samples and standardized practice can not be achieved.

---

Keywords: hemolysis, preanalytics, bloodsampling quality, patient safety

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	8
2	HEMOLYYSI .....	9
2.1	<i>In vivo</i> hemolyysi .....	9
2.2	<i>In vitro</i> hemolyysi .....	9
2.3	Hemolyysi-indeksi ja analyysitulosten korjaus .....	11
2.4	Preanalyttinen vaihtelu ja näytteiden hylkääminen .....	13
2.5	Näytteenoton laatu .....	14
2.5.1	Standardit.....	14
2.5.2	Näytteenottovälineet .....	14
2.5.3	Näytteenottotekniikka .....	16
2.5.4	Näytteenottajan kokemus- ja koulutustaso.....	18
2.6	Potilasturvallisuus.....	18
3	HEMOLYYSIN VAIKUTUSMEKANISMIT.....	20
3.1	Analyytin pitoisuusero solun sisä- ja ulkopuolella .....	20
3.2	Spektrofotometrinen mittausvirhe.....	21
3.3	Kemiallinen vaikutus.....	21
3.4	Immunologisten tutkimusten häirintä.....	22
3.5	Hematologisten tutkimusten häirintä .....	22
4	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT .....	24
5	OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS.....	25
5.1	Kirjallisuuskatsaustyypit.....	25
5.2	Aineiston haku .....	26
5.3	Aineiston analyysi.....	28
6	KIRJALLISUUSKATSAUKSEN TULOKSET .....	29
6.1	Kliiniskemialliset tutkimukset .....	29
6.1.1	Analyytin konsentraatioero solukalvon eri puolilla.....	29
6.1.2	Spektrofotometrinen häirintä.....	30
6.1.3	Kemiallinen häirintä.....	31
6.2	Hyytymistutkimukset.....	31
6.3	Immunologiset tutkimukset.....	32
6.3.1	Troponiinitutkimukset.....	32

6.3.2	Hormonitutkimukset .....	33
6.3.3	Muut immunologiset tutkimukset .....	35
6.4	Hematologiset tutkimukset .....	36
7	POHDINTA.....	37
7.1	Tutkimuksen eettinen tarkastelu ja luotettavuuden arviointi .....	37
7.2	Tulosten tarkastelu ja johtopäätökset.....	38
7.3	Ammatillinen kasvu.....	44
7.4	Jatkotutkimusehdotuksia / kehittämishaasteita .....	45
	LÄHTEET.....	46
	LIITTEET .....	56

Raportissa käytettyjä lyhenteitä:

ACL:	Acceptable change limit
AFOS:	Alkalinen fosfataasi
ALAT:	Alaniiniaminotransferaasi
Alb:	Albumiini
Alko:	Alkoholi
APTT:	Aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika
ASAT:	Aspartaattiaminotransferaasi
Bil:	Bilirubiini
CK:	Kreatiinikinaasi
Cl:	Kloridi
Fe:	Rauta
Fibr:	Fibrinogeeni
Folaat:	Folaatti
GGT:	Gammaglutamyylitransferaasi
Gluk:	Glukoosi
Haptog:	Haptoglobiini
HCO <sub>3</sub> :	Bikarbonaatti
hsTnT:	erittäin herkkä (high sensitive) troponiini T
HI:	Hemolyysi-indeksi
Insu:	Insuliini
K:	Kalium
Kol:	Kolesteroli
Korsol:	Kortisoli
LD:	Laktaattidehydrogenaasi
Lipaas:	Lipaasi
Mg:	Magnesium
Na:	Natrium
Pi:	Epäorgaaninen fosfaatti
proBnP:	Natriureettinen peptidi, B-tyypin N-terminaalinen propeptidi
Prot:	Proteiini
PSA:	Prostata spesifinen antigeeni
PT:	Protrombiiniaika
RF:	Reumafaktori
TAE-arvo:	Total Allowable Error
TfR:	Transferriniinireseptori
TnI:	Troponiini I
TnT:	Troponiini T
Trigly:	Triglyseridit
Trom:	Verihiutaleet
tTGAbA:	Kudostransglutaminaasi IgA-vasta-aineet

# 1 JOHDANTO

Valitsin opinnäytetyöni menetelmäksi kuvailevan kirjallisuuskatsauksen ja aiheeksi laskimoverinäytteiden hemolysoitumisen ja sen vaikutukset eri tutkimusparametreihin, koska hemolyysiä pidetään yhtenä tärkeimmistä näytteiden hylkäämiseen johtavista tekijöistä (Lippi, Blanckaert, Bonini, Green, Kitchen, Palicka, Vassault & Plebani 2008). Viime vuosikymmeninä tutkimusprosessin pre-analyttiseen vaiheeseen, kuten näytteenottoon, on kiinnitetty entistä enemmän huomiota näytteenoton laadun ja potilasturvallisuuden varmistamiseksi (Lippi, Guidi, Mattiuzzi & Plebani 2006, 358; Lippi, Mattiuzzi & Favaloro 2015, 4; Mäkitalo & Liikanen 2013, 13). Samaan aikaan näytteenotto on siirtynyt yhä enenevässä määrin laboratorionhenkilökunnalta muulle hoitohenkilöstölle. Tutkimusten laadukkuudelta vaaditaan paljon, koska arviolta n. 60 - 70 %:n kliinikoiden hoitopäätöksistä ajatellaan pohjautuvan laboratoriotutkimustuloksiin (Forsman 1996, 813).

Kuitenkin näytteenoton ammattilaisiltakin voi puuttua kokonaiskuva virhelähteiden todellisista vaikutuksista tutkimusten tuloksiin ja sitä kautta potilaan diagnoosiin, hoitoon ja ennen kaikkea potilasturvallisuuteen. Näytteenottaja voi olla tietoinen esimerkiksi hemolyysiä aiheuttavista tekijöistä ja osaa välttää niitä, mutta jos häneltä puuttuu tieto hemolysoituneen näytteen vaikutuksista esimerkiksi näytteen kaliumpitoisuuteen, voi toimintatapoihin tulla haastavan tapauksen eteen sattuesssa lipsumista ja suonta haetaan esimerkiksi liian pitkällä kiristyssiteen käytöllä, jotta saataisiin edes jonkinlainen näyte otettua, mikä voi aiheuttaa virheellisiä tutkimustuloksia ja vaikuttaa potilasturvallisuuteen. Suoniverinäytteitä ottavien henkilöiden on tärkeää tiedostaa laboratoriotutkimusten kokonaisprosessi ja näytteen laadun merkitys tutkimusten kokonaisprosessissa potilaan saamaan hoitoon (Mäkitalo & Holappa-Girginkaya 2016, 114).

Keskityn kirjallisuuskatsauksessani hemolyysiin liittyviin tekijöihin niiden tärkeyden ja yleisyyden vuoksi ja rajasin tutkimuksen ulkopuolelle muut verinäytteiden analysointivirheitä aiheuttavat ominaisuudet kuten hyytymät, lipeemisyys ja ikteerisyys. Rajasin kirjallisuuskatsauksestani pois myös ihopistonäytteenoton, koska siihen liittyy ihan omat haasteensa ja koska suurin osa verinäytteistä otetaan laskimoista. Kirjallisuuskatsauksessani käsittelem myös ensiapu- ja teho-osastoilla otettuja kanyylinäytteitä (vaikka ne eivät Suomessa bioanalytiikan toimenkuvaan kuulukaan), koska niissä hemolyysiä ilmenee keskimääräistä enemmän, joten ne antavat hyvän kuvan näytteenoton laadun tärkeydestä ja lisäksi siksi, että kanyylinäytteiden laadusta on olemassa paljon tutkimustietoa.



## 2 HEMOLYYSI

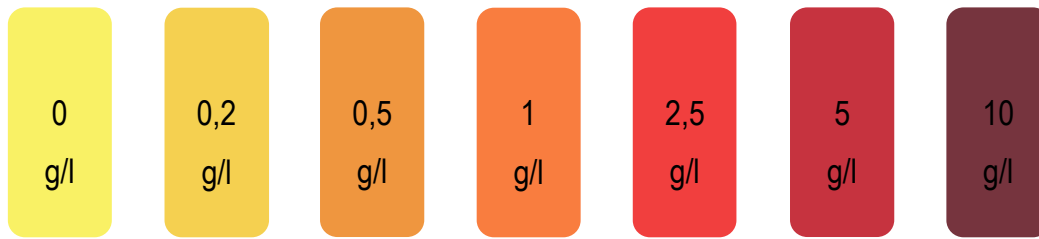
Hemolyysi-sana tulee kreikan kielen sanoista *hemo* (veri) ja *lysis* (hajoaminen) ja sillä tarkoitetaan veren punasolujen hajoamista. Tällöin solujen sisältä vapautuu verinesteeseen eli plasmaan erilaisia aineita, mm. hemoglobiinia, ja solun rakennekomponentteja. Punasolujen hajoamista voi tapahtua elimistössä verisuonten sisällä, jolloin puhutaan *in vivo* hemolyysistä. Jos solujen hajoaminen tapahtuu vasta elimistön ulkopuolella, on kyseessä *in vitro* hemolyysi. Kliinisiin laboratorioihin tulevista hemolysoituneista näytteistä alle 2 % edustaa *in vivo*- tyyppiä ja loput johtuvat verinäytteen otto-, käsittely-, säilytys- tai analysointivaiheessa tapahtuneista virheistä (Carraro, Servidio & Plebani 2000, 306).

### 2.1 *In vivo* hemolyysi

*In vivo* -hemolyysiä esiintyy mm. hemolyttisissä anemioissa, virheellisten verensiirtojen yhteydessä, DIK-syndroomassa (disseminoitunut intravaskulaarinen koagulaatio ts. veren hyytymishäiriö), keinoläppien vuoksi, vakavissa infektioissa ja laajoissa palovammoissa (Nordlab 2019, viitattu 21.3.). Koska *in vivo* hemolyysi on elimistön tila eikä sen esiintyvyyteen voida vaikuttaa preanalytiikan laadun avulla, en paneudu aiheeseen syvällisesti tässä kirjallisuuskatsauksessa vaan keskityn niihin hemolyysiä aiheuttaviin tekijöihin, joihin näytteenottaja pystyy suoniverinäytettä ottaessaan vaikuttamaan. Kuitenkin *in vivo* ja *in vitro* hemolyysin erottaminen on tärkeää potilasturvallisuuden kannalta, jota käsittelem tarkemmin kappaleessa 2.6.

### 2.2 *In vitro* hemolyysi

*In vitro* hemolyysillä (englanniksi myös spurious hemolysis) tarkoitetaan verisuonten ulkopuolella tapahtuvaa punasolujen hajoamista. Terveen ihmisen plasmassa vapaan hemoglobiinin pitoisuuden tulisi olla alle 0,05 g/l ja seerumissa alle 0,02 g/l (Thomas 2002, 96). Kuitenkin näytettä pidetään hemolysoituneena vasta, kun vapaan hemoglobiinin pitoisuus on plasmassa 0,10 – 0,13 g/l ja seerumissa 0,22 – 0,25 g/l (Lippi, Giavarina, Gelati & Salvagno 2014, 145). Hemolysoituneen näytteen tunnistaa plasman tai seerumin punertavasta väristä. Tällöin vapaata hemoglobiinia on näytteessä yli 0,3 – 0,5 g/l, mikä tarkoittaa, että n. 0,5 % punasoluista on hajonneena (Lippi ym. 2008, 765). Kuvioon 1 olen hahmotellut eri hemolyysiasteiden värieroa plasmassa.



KUVIO 1. Hemolyyssiasteikko (kuvioiden RGB asetukset Killilea, Rohner, Ghosh, Otoo, Smith, Siekmann & King 2017 mukaan).

Hemolyyssi on monien lähteiden mukaan suurin yksittäinen näytteen laadukkuutta alentava tekijä muodostaen jopa 70% kaikista analyysikelvottomista näytteistä ja noin 3 % kaikista rutiininäytteistä (sekä avohoito- & sairaalapotilaat, rutiini- & päivystysnäytteet) (Lippi & Guidi 2007, 721; Lippi ym. 2008, 764; Darcy, Barasch, Souers & Perrotta 2016, 125). Taulukossa 1 on lueteltu erilaisia hemolyyysin aiheuttajia. Tässä opinnäytetyössä keskityn näytteenottoon liittyviin tekijöihin.

TAULUKKO 1. Hemolyyysin aiheuttajia (Mukaiillen European Preanalytical Scientific Committee 2012 viitattu 26.3.2019; Lippi, Cervellin, Favaloro ja Plebani 2012b, 22)

Potilas	Näytteenotto	Välineperäiset	Näytteen käsittely, kuljetus ja säilytys
Potilaskohtaiset <i>in vivo</i> hemolyyysin aiheuttajat (esim. AIHA)	Näytteenottajan taidot Näytteenottokohta Kirstyssiteen käyttöaika	Epäsopivat näytteenottovälineet Ruisku Kanyyli, IV-näytteenotto	Näytteenottoaika (ensiapu, teho-osasto, lasten poliklinikka) Puutteellinen tai liian raju näytteen sekoitus/kääntely Putkiposti, lähettipalvelu
Aineenvaihduntasairaudet	Traumaattinen näytteenotto	Kanyylin pehmeys (litistyminen)	Kuljetusolosuhteet (kuljetusaika, -lämpötila ja mekaaninen ravistus)
Kemialliset tekijät esim. lääkkeet	Epäonnistuneet yritykset Suonen karkaaminen kesken näytteenoton	Perhosneulat	Näytteenoton ja sentrifugoinnin välinen viive
Fysikaaliset tekijät esim. keino-läpät, heikot suonet	Putken vajaatäyttö Ihopistonäytteenotto	Liian ohut neula	Väärä sentrifugointinopeus, -aika tai -lämpötila
Infektiot	Puhdistusainejäämä Putkityyppi Näyte otettu mustelmakohdasta tai sen yläpuolelta		Heikkolaatuinen erotusgeeli Uudelleen sentrifugointi Säilytysaika ja -lämpötila Alkuperäisputken uudelleen sentrifugointi säilytyksen jälkeen

### 2.3 Hemolyysi-indeksi ja analyysitulosten korjaus

Plasman hemoglobiini pitoisuuden (P-Hb) avulla voidaan tarkkailla paitsi *in vivo* hemolyysiä, myös näytteen laadukkuutta ja käyttökelpoisuutta eli näytteen otossa tai käsittelyssä mahdollisesti tapahtuneiden virheiden esiintymistä. Normaali kokoveren hemoglobiinipitoisuus (B-Hb) on terveellä aikuisella noin 120 - 160 g/l tietämissä. Suurin osa hemoglobiinista on punasolujen sisällä, eikä siksi näy plasmamäärytyksissä, jossa solut sentrifugoidaan erilleen plasmasta. Lisäksi plasmassa vapaana oleva hemoglobiini sitoutuu normaalisti haptoglobiiniin ja poistuu verenkierrosta retikuloendoteliaalijärjestelmän kautta, mikä selittää terveen ihmisen pienet (< 0,05 g/l) P-Hb arvot. (Nordlab 2019)

Aiemmin hemolysoituneen näytteen kliinisesti merkitseväenä kynnysarvona pidettiin P-Hb arvoa 0,50 g/l, koska tämän ylittävät hemolyysiasteet oli havaittavissa visuaalisesti (Lippi ym. 2014, 143). Nykyisellä automaatiolla kaikki näytteet eivät välttämättä edes kulje ihmissilmän ohi, mikä on virheiden havaitsemisen kannalta hyvä asia, koska koneet hoitavat tehtävän nopeasti, edullisesti, tuloksen tallentaen ja eritoten paremmalla herkkyydellä ja tarkkuudella kuin ihmissilmä (Simundic, Nikolac, Ivankovic, Ferenc-Ruzic, Magdic, Kvaternik & Topic 2009, 1363-64; Dolci & Panteghini 2014, 39). Tällöin visuaalista rajaa heikommatkin hemolyysiasteet tulee havaittua, mikä voi joidenkin tutkimusparametrien osalta (esim. ASAT, LD, K) olla ratkaisevan tärkeää (Lippi, Salvagno, Blanckaert, Giavarina, Green, Kitchen, Palicka, Vassault, & Plebani, 2009, 935).

Koneellisen hemoglobiinipitoisuuden määrittämisen ansiosta eri analyyteille olisi mahdollista valita omat näytteen hylkäämiseen johtavat vapaan hemoglobiinipitoisuuden kynnysarvot, mikä ei kuitenkaan ole käytössä diagnostiikassa, jossa kynnysarvot ovat olleet määritysmenetelmäkohtaisia ja perustuvat yleensä tuloksen sallittuun (esim. 10 %) poikkeamaan viitearvoista (Dolci & Panteghini 2014, 40-41). Hemoglobiini pitoisuuksien avulla pystytään laskemaan joillekin tutkimusparametreille myös korjauskertoimia, jotka mahdollistaisivat hemolysoituneiden näytteiden analysoinnin. Yleisesti ottaen korjauskertoimien käyttö ei ole kuitenkaan suositeltavaa, koska esimerkiksi punasolujen lisäksi myös valkosoluja ja verihiutaleita voi hajota vapauttaen erilaisia ainesosia tai näyte voi olla ikteerinen tai lipeeminen, joten korjauskertoimissa pitäisi pystyä ottamaan huomioon muitakin asioita kuin pelkkä plasman hemoglobiinipitoisuus (Dimeski, Clague & Hickman 2005, 119).

Tarkkojen numeeristen vapaan hemoglobiinin pitoisuuksien sijaan monet laitevalmistajat ovat ohjelmoineet analysaattorit kuvaamaan hemolyysin laajuutta semikvantitatiivisillä hemolyysi-indeksillä (HI). Eri laitteissa on käytössä eri määrä indeksejä, ja ne perustuvat erilaisiin P-Hb pitoisuuksiin (Dolci & Panteghini 2014, 41). Hemolyysi-indeksien teoreettisista hyödyistä huolimatta valtaosassa laboratorioita ei ainakaan vielä vuonna 2012 ollut siirretty hemolyysiasteen koneelliseen määrittämiseen (Lippi ym. 2012b, 12-13, 61). Hemolyysi-indeksien käytössä on suurta vaihtelua myös tutkimuspuolella. Tutkimusraporteissa käytetään esimerkiksi käsitteitä lievä, kohtalainen ja voimakas hemolyysi toisistaan suuresti poikkeavilla vapaan hemoglobiinin arvoilla (Lippi 2015, 162-164). Normien puute johtaa käytäntöjen vaihteluun. On olemassa vain suosituksia siitä, miten hemolyysiasteet tulee määrittää tai ilmaista ja millaisia kynnyksisarvoja on käytettävä kullekin analyysille (Lippi 2015, 164). Esimerkiksi Lippin ym. (2012b, 8) ja Lippin (2015, 160) mukaan hemolyysiasteet voidaan jakaa taulukon 2 ilmoittamalla tavalla. Hemolyysi-indeksien käyttö vaatii laajaa käsitteiden ja käytäntöjen yhtenäistämistä, jonka tulee ulottua käytännön tilanteissa aina klinikoille esitettäviin vakiolausuntoihin asti (Dolci & Panteghini 2014, 42).

TAULUKKO 2: Hemolyysiasteet Lippin ym. (2012b) ja Lippin (2015) mukaan

Vapaan hemoglobiinin pitoisuus seerumissa	Hemolyysiaste (Lippi ym. 2012b)	Vapaan hemoglobiinin pitoisuus seerumissa	Hemolyysiaste (Lippi 2015)
< 0,05 g/l	Ei-hemolyysiä	< 0,25 g/l	Normaali seerumi
0,05 – 0,3 g/l	Hieman hemolysoitunut	0,25 – 0,5 g/l	Merkityksetön hemolyysi
0,3 – 0,6 g/l	Lievästi hemolysoitunut	0,5 – 3,0 g/l	Lievä hemolyysi
0,6 – 3,0 g/l	Selvästi hemolysoitunut	3,0 – 5,0 g/l	Kohtalainen hemolyysi
> 3,0 g/l	Voimakkaasti hemolysoitunut	> 5,0 g/l	Voimakas hemolyysi

Hemolyysi-indeksien käyttämisellä voi olla myös huonoja puolia. Koneellisen määrittämisen ja kynnyksisarvojen asettamisen vuoksi hylkäysten määrä voi kasvaa eikä laboratoriohenkilöstö pysty käyttämään harkintaa ja olemaan reagoimatta koneen antamiin liputuksiin. Esimerkiksi tehohoidon, ensiavun tai lastenosaston näytteiden kliinisestä hyväksyttävyydestä voi syntyä erimielisyyttä. Käyttöarvoa heikentää myös vaihtelu laitteiden välisissä määrittämenetelmissä, yksiköiden käytössä ja kynnyksisarvojen asetuksissa sekä laaduntarkkailun puute. Laboratorion tehokkuutta tai taloudellisuutta hemolyysi-indeksien käyttö ei kuitenkaan heikennä. (Lippi 2015, 162-163)

## 2.4 Preanalyttinen vaihtelu ja näytteiden hylkääminen

Virheellisen näytteenottotekniikan ja näytteen käsittelyn aiheuttama solujen hajoaminen johtaa virheellisiin tutkimustuloksiin, jotka voivat joissain tilanteissa ja tiettyjen analyyttien osalta vaarantaa potilasturvallisuutta väärin arvioidun hoidon vuoksi, jos klinikolla ei ole syytä epäillä tulosten laadukkuutta. Toisaalta myös laboratorionäytteiden hylkääminen voi aiheuttaa potilaalle harmia näytteenoton uusimisen tai jopa hengenvaaraa tulosten viivästyksen takia. Epäselvissä tilanteissa tutkimusta pyytävän klinikon konsultaatio on tarpeen ja yhteistyötä laboratorion ja muun hoitohenkilökunnan välillä tulee lisätä. Koska näytteiden hylkäämisen perusteista ei ole olemassa yhdenmukaista protokollaa, voi seurauksena olla kiireellisten vastausten viivästyminen, jos näytteet hylätään hemolyysin vuoksi, vaikka sillä ei olisi diagnostiikan kannalta kliinistä merkitystä. (Cadamuro, Simundic, Ajzner & Sandberg 2017, 579-580)

Hylkäysprosentit vaihtelevat eri sairaalaosastoilla otettujen näytteiden välillä. Eniten hylkäyksiä esiintyy teho-osaston ja ensiavun sekä vuode-osastojen näytteissä (Carraro, Servidio & Plebani 2000, 306; Darcy, Barasch, Souers & Perrotta 2016, 126). Syynä hylkäyksiin ovat mm. erilainen näytteenottotapa (kanyyli vs. suora neula), näytteenotto kohta (kämmenselkä vs. kyynärtaive) ja näytteenottokoulutuksen tasoerot laboratoriotyöntekijöiden ja muun hoitohenkilökunnan välillä (Phelan, Reineks, Schold, Hustey, Chamberlin & Procop 2017b, 231; Burns & Yoshikawa 2002, 379).

Eri tutkimusten mukaan laboratoriovirheiden esiintyvyys vaihtelee suuresti (1/8300 – 1/33) riippuen virheen määritelmästä ja kussakin tutkimuksessa huomioon otetuista tutkimusprosessin vaiheista; esim. lasketaanko tutkimuspyynnöt ja potilaan ohjaus mukaan laboratoriotutkimusprosessiin vai ei (Lippi, Salvagno, Montagnana, Franchini & Guidi 2006e, 217; Plebani 2010, 103). Lippin ym. (2006e, 218) mukaan näytteenottoon liittyvät tekijät muodostavat n. 60 % kaikista preanalytiikan virheistä. Onneksi laboratorio havaitsee valtaosan virheistä eivätkä ne aiheuta vaaraa potilasturvallisuudelle, vaikka taloudellisesti uusintänäytteiden otto ja potilaan hoidon viivästyminen aiheuttavatkin suuren menoerän sairaaloiden budjettiin (Green 2013, 1177-78).

## 2.5 Näytteenoton laatu

### 2.5.1 Standardit

Kliinisten laboratorioiden toimintaa ohjaavat tarkat kansainväliset standardit. SFS-EN ISO 15189 standardit sisältävät mm. alla mainittuja näytteen laatuun ja näytteenottoon liittyviä vaatimuksia. Henkilökunnan osaaminen on varmistettava pätevyyskriteerein, perehdytyksellä ja täydennyskoulutuksella. Virhelähteiden syyt on paitsi pikaisesti korjattava, myös niiden esiintymistä on pyrittävä ennaltaehkäisemään erilaisilla tunnistavilla ja ennakoivilla toimenpiteillä. Näytteiden laatukriteerien toteutumista on seurattava ja kehitettävä näytteenottoa analysoimalla siitä kerättyä tietoa ja toteuttamalla parannusehdotuksia. Laboratoriolla on oltava siis dokumentoidut menettelytavat primaarinäytteiden oikeaan näytteenottoon ja käsittelyyn ja niiden on oltava kaikkien näytteenotosta vastaavien henkilöiden saatavilla riippumatta siitä, onko näytteenottoja laboratorion henkilökuntaa vai ei. Lisäksi tutkimusvastauksesta tulee ilmetä näytteen laatua ja sopivuutta koskevat kommentit ja hyväksymis/hylkäyskriteerit, jos laatu on voinut vaarantaa tulosten luotettavuuden. (SFS-EN ISO 15189 2017, 18-19, 32, 40 mukailten. Viitattu 1.4.2019).

Standardit eivät kuitenkaan yksistään ohjaa toimintaa kyllin tarkasti. Kansallisilla ja kansainvälisillä suosituksilla voidaan vaikuttaa esimerkiksi verinäytteenoton suorittamiseen (Simundic 2013). Vakioidussa näytteenottotekniikassa kiinnitetään huomio mm. näytteenoton ajankohtaan, potilaan valmistautumiseen, näytteenottokohtaan, putkijärjestykseen, sopiviin näytteenottovälineisiin (mm. neulan kokoon), kiristysiteen käyttöaikaan sekä näytteen käsittelyyn, kuljetukseen, säilytykseen jne. (Lippi & Guidi 2007, 723; Lippi ym. 2008, 767, 769). Kuitenkaan ideaalisia menetelmiä ei ole aina mahdollista käyttää mm. taloudellisista tai poliittisista syistä, joten laboratorioissa on pyrittävä tutkimustulosten parhaan mahdollisen laadun takaaviin toimintatapoihin mm. lisäämällä eri ammattiryhmien välistä yhteistyötä (Lippi & Guidi 2007, 723, 276).

### 2.5.2 Näytteenottovälineet

Tavallisin verinäytteenottotapa on käyttää näytteenottoneulaa (englanniksi straight needle eli ”suora neula”) esimerkiksi turvaneulaa, ja vakuuminäyteputkea. Haastavissa tapauksissa (esim. lapsilla sekä heikkosuonisilla vanhuksilla ja sairailta) voidaan käyttää myös avotekniikkaa tai ns. perhosneulaa, jolla pystytään Lippin ym. mukaan ottamaan osaavan näytteenottajan toimesta yhtä

laadukkaita näytteitä kuin tavallisella neulalla (Lippi, Salvagno, Brocco & Guidi 2005, 319, 325). Pitää ottaa huomioon, että Lippin ym. (2005, 320) tutkimuksessa oli käytetty perhosneulastakin kokoa 21 G ja kaikki 30 vapaaehtoista (keski-ikä 47 vuotta) olivat avohoitopotilaita eli luultavasti varsin hyväsuonisia ja suhteellisen terveitä henkilöitä, joilla solukalvot ovat vahvempaa tekoa kuin sairailta ja iäkkäillä ihmisillä. Myös Wollowitzin, Bijurin, Essesin & Gallagherin (2013, 1153) tutkimuksessa perhosneulalla saatiin ensiavussakin laadukkaita näytteitä.

Ensiavussa, teho-osastolla ja tilanteissa, joissa potilailta joudutaan ottamaan useita näytteitä lyhyen ajan sisällä, saatetaan turvautua potilastyytyväisyys ja tehokkuussyistä näytteenottoon kanyyleista, vaikka tätä menetelmää ei yleisesti suositella. Sen on todettu lukuisissa tutkimuksissa lisäävän hemolyysin esiintyvyyttä ja vaikuttavan negatiivisesti näytteiden laatuun (Kennedy, Angermuller, King, Noviello, Walker, Warden & Vang 1996, 568; Grant 2003, 118; Wollowitz ym. 2013, 1153; Barnaby, Wollowitz, White, Pearlman, Davitt, Holihan, Bijur & Gallagher 2016, 206; Phelan 2017b, 231). Syitä IV-näytteiden hemolysoitumiselle ovat näytteenottoaikan distaalisuus, kanyylin liian pieni halkaisija, muovikanyylin pehmeys (jolloin alipaine litistää kanyyliä aiheuttaen pyörteitä), näyteputkien vajaatäyttö sekä liian pitkäaikainen kiristysiteen käyttö (Burns & Yoshikawa 2002, 379 – 380; Phelan ym. 2017b, 231). Oikeaoppisella ruiskun käytöllä ei näyttäisi olevan vaikutusta hemolysoitumiseen (Burns & Yoshikawa 2002, 379; Phelan 2017b, 234). Teknologian kehittyminen mahdollistaa hemolysoitumattomien näytteiden saamisen myös IV-kanavan kautta mm. Velano Vascular yhtiön kehittämän PIVO™ teknologian avulla (Natali, Wand, Doyle & Noguez 2018, 42).

Liian pieni neulan sisähalkaisija ( $\geq 25$  G) aiheuttaa hemolyysiä. Myös liian suurten neulojen ( $< 19$  G) on todettu rikkovan solukalvoja luomalla veren virtaukseen turbulenssia. Onkin tärkeää valita neulan koko suonen koon ja haurauden mukaan, ottaen huomioon myös tarvittava näytemäärä (liian hidas täytyminen voi aiheuttaa hyytymiä), analyysin herkkyys hemolyysin vaikutuksille ja potilaan pelot. Normaalisissa näytteenottotilanteissa optimi neulan koko on 19 - 21 gaugea. Oikealla tekniikalla myös 23 G neulalla on mahdollista saada edustavia näytteitä. (Lippi, Salvagno, Montagnana, Brocco & Guidi 2006c, 1012; Lippi, Salvagno, Montagnana, Poli & Guidi 2006b, 560)

Cox, Dages, Jarjoura ja Hazelett (2004, 531) totesivat, että suuremmissa (10ml vs 5ml) seerumivakuuminäyteputkissa esiintyi enemmän hemolyysiä kuin pienemmissä putkissa, kun näytteet oli otettu ensiapupolilla IV-kanavan kautta. Samanlaisissa oloissa myös Phelanin, Reineksin, Berriochoan, Scholdin, Husteyn, Chamberlinin ja Kovachin (2017a, 333) tutkimuksessa päädyttiin yhtäläiseen lopputulokseen 6 ml vs. 2ml litium-hepariini vakuuminäyteputkia käytettäessä. Nykyiset

analyssaattorit pystyvät suorittamaan tutkimuksia yhä pienemmillä näytemäärillä, joten Lippi, Musa, Battistelli ja Cervellini (2012c, 1188) tutkivat oliko 6ml, 4ml ja puolitäysien 6ml vakuumputkien käytämisessä havaittavissa eroja hemolyysin esiintyvyydessä tai voimakkuudessa seeruminäytteissä. Tulokset osoittivat, että kokoneen näytteenottajan turvaneulalla käden perifeerisistä laskimoista otamisessa näytteissä ei esiintynyt tilastollisia saati kliinisesti merkittäviä eroja hemolyysiasteissa tai K, LD ja ASAT arvoissa eri putkikokojen eikä edes täyttömäärien välillä. Putken täyttöasteella onkin eniten merkitystä hyytymistutkimuksissa, joissa nestemäisen antikoagulantin on oltava täsmälleen oikeassa suhteessa näytemäärään. Kuitenkin putkipostilla kuljetetuissa alle puoliväliin täytetyissä näytteissä esiintyi Burns ja Yoshikawan (2002, 379) tutkimuksessa selvästi enemmän hemolyysiä kuin yli puoleen väliin täytetyissä näyteputkissa, joten näytteitä otettaessa tulee aina pyrkiä täyttämään putket valmistajan suosittamaan tilavuuteen asti.

Yhtenä mahdollisena näytteenottovälineisiin liittyvänä hemolyysin aiheuttajana on pidetty ihon puhdistukseen käytettävää alkoholia. Kuitenkin Sarmah, Sharma, Sharma ja Mathew (2016, 17) sekä Lippi, Simundic, Musile, Danese, Salvagno ja Tagliaro (2017, 401) eivät tutkimuksissaan todenneet etanolin aiheuttavan asiakkaalle epämiellyttävää tuntemusta, vaikka sitä ei pyyhitty pois tai annettu kuivua. Etanolin kuivumattomuudella ei myöskään ollut vaikutusta plasmasta suoritettuihin alkoholimäärityksiin (Lippi ym. 2017, 401) eikä vapaan hemoglobiinin tai yleisimpien hemolyysille alttiiden analyyttien (mm. K ja LD) pitoisuuksiin (Sarmah ym. 2016, 17).

### **2.5.3 Näytteenottotekniikka**

Joiltakin henkilöiltä suonen hakeminen voi olla haastavaa, jolloin traumaattinen näytteenotto aiheuttaa solujen hajoamista (Wollowitz ym. 2013, 1153). Liiallista suonen hakemista tulee välttää eli suoni on syytä "sitoa" piston ajaksi ja käyttää hukkaputkea, mikäli suonta on joutunut etsimään (Lippi 2012b, 70). Paras näytteenottoaika on kyynärtaipeen pinnalliset laskimot, joita tulee suosia myös IV-näytteenotossa (Burns & Yoshikawa 2002, 379; Heyer, Derzon, Wings, Shaw, Mass, Snyder, Epner, Nichols, Gayken, Ernst & Liebow 2012, 1018; Wollowitz ym. 2013, 1153).

Kiristyssidettä eli staasia joudutaan usein käyttämään laskimon etsintään. Liian kireä tai pitkäaikainen puristus lisää suonten hemokonsentraatiota eli suurimolekyylisten aineiden pitoisuuden kasvua veressä plasman ja pienimolekyylisten aineiden karatessa paineen vaikutuksesta verisuonten seinämien läpi kudostesteeseen. Samasta syystä potilaita ei tule myöskään pyytää laittamaan



kättä nyrkkiin tai pumppaamaan nyrkkiä verinäytteitä otettaessa (Gambino, Sanfilippo & Lazcano 2009, 177). Kiristyssiteen käytön on todettu aiheuttavan myös hemolyysiä, jos siteen käyttöaika venyy yli minuutin mittaiseksi (Saleem, Mani, Chadwick, Creanor & Ayling 2009, 245; Wollowitz ym. 2013, 1153). Kiristyksen voimakkuutta on kuitenkin vaikea hallita manuaalisesti ja siten yhtenäistää sen käyttöä, joten suositeltava käyttöaikakin riippuu kiristyksen voimakkuudesta sekä tutkittuista analyyteistä ja niiden herkkyydestä hemokonsentraatiolle. Koskaan side ei saa olla niin kireällä, että se estää valtimovirtauksen eli puristuksen aiheuttaman paineen tulee olla 20 - 30 mm Hg alle systolisen paineen (Lippi ym. 2006e, 220).

Erilaisten näytetyyppien ottojärjestyksestä on olemassa kansainvälisiä suosituksia, jotka perustuvat yli 30 vuoden takaisiin tutkimuksiin, joissa hyperkalemia, hypernatremia ja hypokalsemia tuloksia selitettiin näyteputkista peräisin olevilla lisäainekontaminaatioilla ottojärjestyksessä seuraaviin putkiin. Tutkimusvälineet ovat vuosien saatossa kehittyneet ja uudet tutkimukset osoittavat, että vakuumputkia käytettäessä, lisäaineiden merkittävää siirtymistä putkesta toiseen ei tapahdu, vaikka putki on näytteenottohetkellä pohja viistosti ylöspäin eli putken sisäpuolella oleva osa neulasta on kosketuksissa lisäainetta sisältävään vereen (Salvagno, Lima-Oliveira, Brocco, Danese, Guidi & Lippi 2013, 2282 - 2284). Tämän tutkimuksen perusteella esimerkiksi glukosiputkesta ei pitäisi päästä soluja hajottavaa sitraattifluoridia seuraaviin putkiin, jonka vuoksi glukosinäytteet ovat näytteenottojärjestyksen hännillä. Kuitenkin on olemassa myös tutkimuksia, joiden tulokset tukevat näytteenottojärjestyksen noudattamisen tärkeyttä ja siksi ohjeistusta on syytä noudattaa (Lima-Oliveira, Volanski, Lippi, Picheth & Guidi 2017, 158).

Myös näytteen sekoittamistarpeesta näytteenoton jälkeen on uutta tutkimustietoa (Lima-Oliveira ym. 2017, 158). Esimerkiksi Lima-Oliveira, Lippi, Salvagno, Montagnana, Gelati, Volanski, Boritiza, Picheth ja Guidi (2013, 252) eivät havainneet näytteen voimakkaan ravistamisen aiheuttavan hemolyysiä tai virheellisiä hyytymis-, immunokemiallisia tai hematologisia tutkimustuloksia Terumon valmistamia vakuumputkia käytettäessä. Näytteiden onkin todettu vakuumputkissa sekoittuvan itseksensä näytteenoton yhteydessä, jolloin esim. täyteen otettujen EDTA-näytteiden kokonaan sekoittamatta jättämiselläkään (verrattuna 6 ja 12 kääntämiseen) ei havaittu olevan kliinisesti merkitsevää vaikutusta (eli ei tullut hyytymiä) terveiden ihmisten verenkuvan arvoihin, vaikka tilastollisia eroja havaittiinkin (Lippi, Salvagno, Montagnana, Banfi ja Guidi 2007, 724).

## 2.5.4 Näytteenottajan kokemus- ja koulutustaso

Näytteitä ottavat yhä enemmän varsinaisten laboratoriotyöntekijöiden (bioanalytikot ja laboratoriohoitajat) lisäksi myös muu hoitohenkilöstö (sairaanhoitajat, lähihoitajat ym.). Esimerkiksi teho-osastoilla ja ensiavussa näytteiden oton suorittavat monissa maissa yleensä sairaanhoitajat. Heillä ei välttämättä ole takanaan kunnollista koulutusta huomioimaan kaikki näytteenoton laadun kannalta vaadittavat standardit ja suositukset (Holappa-Girginkaya & Mäkitalo 2018, 2). Tämä käy ilmi selvästi mm. hemolysoituneiden näytteiden esiintyvyydestä. Esimerkiksi Shin, Kim, Uh, Lee, Seo, Kim, Jang, Lee, Yoon ja Yoon (2014, 309) totesivat tutkimuksessaan, että teho-osaston, ensiavun ja vuodeosastojen näytteistä 10 – 11 % sisälsi vapaata hemoglobiinia yli 50 mg/dl (= 0,5 g/l), kun sama lukema avohoitopuolella oli 0,8 %. Samantyyllisiä tuloksia ovat saaneet myös esimerkiksi Burns ja Yoshikawa (2002, 379), joiden tutkimuksessa ensiavun näytteistä hemolyysin vuoksi analysaattorit olivat hylänneet 12,4 % ja laboratoriohenkilöstön ottamista näytteistä vain 1,6 %. Eroja aiheuttavat tässäkin tapauksessa mm. kanyylien (etenkin käytettäessä vakuumputkia ruiskun sijaan) vs näytteenottoneulan käyttö, näytteen kuljetus (putkiposti vs manuaalinen kuljetus) ja näytteenotto kohta (kyynärtaive vs distalisempi kohta) (Burns & Yoshikawa 2002, 379 – 380).

Yksi tärkeä syy hemolysoituneiden näytteiden epätasaiseen esiintyvyyteen eri osastojen ja näytteenottajien välillä ovat asenteet. Esimerkiksi erään Yhdysvaltalaisen tutkimuksen mukaan useat ensiapuosaston hoitajat luulivat virheellisesti, että hyytymistutkimuksissa esiintyneet hemolysoituneet näytteet olivat seurausta potilaan saamasta antikoagulanttihoidosta tai analysointivaiheiden virheistä, näytteenotossa tapahtuneiden virheiden sijaan (Stauss, Sherman, Pugh, Parone, Loob-Rodrigues, Bell & Reed 2012, 16). Milutinović, Andrijević, Ličina ja Andrijević (2015, 408) havaitsivat, että vaikka sairaanhoitajien tietotaso vakioidun näytteenoton suosituksista olikin hyvällä mallilla, ei tietoa siirretty kuitenkaan päivittäisiin käytännön toimenpiteisiin. Myös kokeneet laboratoriotyöntekijät joutuvat pitämään tietotaitonsa ajan tasalla perehtymällä jatkuvasti uusiin tutkimustuloksiin myös näytteenoton osalta (Makhumula-Nkhoma, Whittaker & McSherry 2015, 380).

## 2.6 Potilasturvallisuus

Laboratoriotutkimustulokset vaikuttavat suuresti potilaan diagnoosiin (Forsman 1996, 813; Hallworth 2011, 487 - 488). Virheelliset laboratoriotutkimustulokset voivat johtaa väärin hoitopäätöksiin, hoidon viivästyymiseen tai jopa hoitamattomuuteen (Lippi & Guidi 2007, 725). Koska hemolyysi

on yksi tärkeimmistä virhelähteistä, tulee näytteenottajien ja -käsittelijöiden tuntee hemolyysin mahdolliset aiheuttajat ja eri tutkimusparametrien herkkyys sen vaikutuksille, jotta kliinisesti merkittävät virheet olisivat eliminotavissa. Hyvä esimerkki hemolyysin vaikutuksista näytteiden luotettavuuteen on veren kaliumpitoisuuden määrittäminen. Kalium on tärkeä ioni elimistön homeostaasissa. Punasolujen hajoaminen lisää virheellisesti veren kaliumpitoisuutta aiheuttaen riskin (pseudo)hyperkalemia diagnosoitiin ja väärin hoitopäätöksiin (Bailey & Thurlow 2008, 268). Veren kaliumpitoisuudet voivat näytteen hemolyysin vuoksi nousta myös sairaalloisen alhaisesta pitoisuudesta näennäisesti normaalitasolle, jolloin hypokalemia voi jäädä huomaamatta ja hoitamatta (Sinert 2016, 72).

Hemolysoituneiden näytteiden osalta on tärkeä erottaa *in vivo* ja *in vitro* hemolyysit toisistaan, koska *in vivo* hemolyysi on seurausta mahdollisesti henkeä uhkaavasta elimistön tilasta, johon on reagoitava heti, kun taas *in vitro* hemolyysi on seurausta näytteen laadun heikkenemisestä. On esimerkiksi raportoitu tapauksia, joissa viitearvot ylittäviä veren kaliumpitoisuuksia ei ole ilmoitettu hoitavalle lääkärille, koska laboratorion käytäntö on ollut jättää hemolysoituneen näytteen kohonneet arvot huomioimatta, mikä on johtanut siihen, että potilaan todellinen hyperkalemia on aiheuttanut hänelle sydämen pysähdyksen ja kuoleman (Lippi ym. 2012b, 35). On tärkeää, että pienetkin epäilykset *in vivo* hemolyysistä tarkistetaan ja tiedonkulku laboratorion ja klinikon välillä on sujuvaa. Epäily voi herätä esimerkiksi, jos potilaan kaikki näytteet ovat hemolysoituneita.

Hemolyysin mahdollisen *in vivo* alkuperän selvittämiseksi voidaan määrittää plasman haptoglobiinin (P-Haptog) pitoisuus. Elimistön sisällä vapautuva hemoglobiini nimittäin sitoutuu haptoglobiiniin. Koska veressä oleva haptoglobiini ei riitä sitomaan kaikkea voimakkaassa suonen sisäisessä hemolyysissä vapautuvaa hemoglobiinia, voi hemoglobiinin pitoisuus plasmassa kasvaa. Täten plasman alhainen tai olematon haptoglobiinipitoisuus yhdistettynä mahdollisesti suurentuneeseen plasman hemoglobiinipitoisuuteen ja/tai koholla olevaan laktaattidehydrogenaasin aktiivisuuteen kielivät elimistön *in vivo* hemolyyttisestä tilasta, kuten myös se, että P-Hb ja LD:n arvot ovat koholla plasman kaliumpitoisuuden ollessa samanaikaisesti normaali. (Thomas 2002, 96 - 97; Nordlab 2019, viitattu 21.3.2019).

### 3 HEMOLYYSIN VAIKUTUSMEKANISMIT

Hemolyysi voi vaikuttaa tutkimustuloksiin vaikuttamalla joko suoraan tutkittavien analyyttien pitoisuuksiin, välillisesti esimerkiksi tutkimusmenetelmässä käytettyjen reagenssien välityksellä tai yhteisvaikutuksena esimerkiksi näytteen lipeemisyyden kanssa, mikä voi tehdä virheiden havaitsemisesta hankalaa ellei toisinaan jopa mahdotonta. Hemolyysitutkimuksissa näytteiden solut voidaan hajottaa mm. mekaanisesti ohuen neulan ja ruiskun avulla, osmoottisesti tislattulla vedellä tai fysikaalisesti pakastamalla riippuen tutkittavista parametreista ja käytettävästä analyysimenetelmästä. Toisaalta hemolyysin ei tarvitse olla keinotekoista eli tutkimus voi perustua eri hemolyyysiasteiden vaikutusten tutkimiseen, kun hemolyysi on aikaansaatu vaikkapa erilaisilla näytteenottomenetelmillä, esim. kiristysiteen eri pituisilla käyttöajoilla. Jotkut määritysmenetelmät ovat toisia herkempiä hemolyysin vaikutuksille, mikä on otettava huomioon punnittaessa analyysitulosten käyttökelpoisuutta ja laadukkuutta. (Lippi ym. 2012b, 64 – 66)

#### 3.1 Analyytin pitoisuusero solun sisä- ja ulkopuolella

Punasolujen hajotessa tutkittavien analyyttien pitoisuudet tai entsyymiaktiivisuudet kasvavat virheellisesti niiden aineiden osalta, joiden pitoisuus / aktiivisuus on solun sisällä huomattavasti suurempi kuin solun ulkopuolella. Tällaisia aineita ovat mm. kalium (K), laktaattidehydrogenaasi (LD tai LDH), aspartaattiaminotransferaasi (ASAT), alaniiniaminotransferaasi (ALAT), epäorgaaninen fosfaatti (P<sub>i</sub>), folaatti (Folaat), magnesium (Mg) ja urea. Kuitenkin magnesiumilla, jota on solun sisällä lähes kolminkertaisesti plasmaan verrattuna, vaaditaan kliinisesti merkitsevään pitoisuuden nousuun jo erittäin voimakas hemolyysi. (Lippi ym. 2008, 766; Lippi ym. 2012b, 44; Heireman, Van Geel, Musger, Heylen, Uyttenbroeck & Mahieu 2017, 1320)

Vastaavasti aineiden, joita on runsaammin solujen ulkopuolella, pitoisuus voi laskea merkitsevästi soluliman plasmaa (tai seerumia) laimentavan vaikutuksen vuoksi, mikäli analyytin viitealue on rajoittunut hyvin pienelle vaihteluvälille. Tällaisia aineita ovat mm. natrium (Na), kloridi (Cl), glukoosi (Gluk), bilirubiini (Bil), glutamyyliitransferaasi (GT), alkalinen fosfataasi (AFOS) ja albumiini (Alb). Plasman rautapitoisuus voi vapaan hemoglobiinin lisääntymisen myötä nousta, mutta myös pysyä ennallaan tai jopa laskea riippuen määritysmenetelmässä käytetystä pH:sta ja reagensseista tai spektrofotometrisen mittaustavan vuoksi. (Lippi ym. 2008, 766; Lippi ym. 2012b, 44)

### 3.2 Spektrofotometrinen mittausvirhe

Vapaa hemoglobiini absorboi voimakkaasti näkyvää valoa aallonpituuksilla 415 nm, 540 nm ja 570 nm, aiheuttaen näillä aallonpituusalueilla tapahtuviin fotometriin määrittäisiin virhettä. Tämä selittää osittain mm. bilirubiinin, raudan, lipaasin ja gammaglutamyylitransferaasin (GGT) pitoisuuden/aktiivisuuden muutoksen. Lisäksi hemoglobiini esiintyy eri ympäristöissä (hapan, emäs jne) erilaisissa rakenteellisissa muodoissa, aiheuttaen eri reagensseja ja laitteita käytettäessä virhettä muillakin kuin vain edellä mainituilla aallonpituuksilla. Esimerkiksi alkalisen fosfataasin (AFOS) määrittämissä voidaan saada liian alhaisia aktiivisuuksia johtuen hemoglobiinin denaturoitumisesta hematiiniksi emäksisessä ympäristössä. Hemoglobiinin aiheuttamat virheet ovat kuitenkin melko lineaarisia suhteessa näytteen lopulliseen vapaan hemoglobiinin pitoisuuteen, aiheuttaen mm. ASAT:n, ALAT:n, LD:n ja kreatiiniakinaasin (CK) entsyymiaktiivisuuksien yliarviointia. AFOS:n lisäksi virheellisen alhaisia mittaustuloksia on saatu mm. GGT:lle, magnesiumille, epäorgaaniselle fosfaatille ja lipaasille. (Lippi ym. 2008, 766 - 767; Lippi ym. 2012b, 45; Heireman ym. 2017, 1320)

### 3.3 Kemiallinen vaikutus

Veren solujen (myös valkosolujen ja verihytaleiden) hajotessa niiden sisältä vapautuu hemoglobiinin lisäksi muitakin aineita, jotka voivat vaikuttaa joko suoraan tai välillisesti analyysituloksiin. Vapautuvat proteiinit, entsyymit, lipidit ja hiilihydraatit voivat esimerkiksi kilpailla reagenssien kanssa sitoutumispaikoista tai muodostaa komplekseja mitattavien analyyttien tai reagenssien kanssa (Lippi ym. 2012b, 45). Esimerkiksi adenylaattikinaasi entsyymin vapautuminen punasoluista johtaa kreatiiniakinaasin aktiivisuuden kasvuun. Hemoglobiinista vapautuva pseudoperoksidaasi sen sijaan hajottaa bilirubiinia ja lisäksi vaikuttaa sen spektrofotometriseen määrittämiseen azovärin muodostumista inhiboiden ja siten bilirubiinin arvoa alentaen (Thomas 2002; 97; Lippi ym. 2012b, 45). Proteolyttiset entsyymit puolestaan hajottavat pienikokoisia valkuaisaineita kuten insuliinia, glukagonia, kalsitoniinia, parathormonia (PTH), adrenokortikotropiinia (ACTH) ja gastriinia (Lippi ym. 2008, 767). Proteaasit saattavat hajottaa myös troponiini molekyylejä, minkä vuoksi niiden immunomäärittämisessä tulee käyttää molekyylin stabiiliin osaan kiinnittyviä vasta-aineita tulosten vääristymisen ehkäisemiseksi (Lippi, Avanzini, Dipalo, Aloe & Cervellini 2011a, 4; Daves, Salvagno, Cemin, Gelati, Cervellini, Guidi & Lippi 2012, 335). Seerumin fosfataasit puolestaan hajottavat orgaanisia esteiteitä, mikä voi johtaa epäorgaanisen fosfaatin pitoisuuden kasvuun veressä (Lippi 2012b, 44).

### 3.4 Immunologisten tutkimusten häirintä

Immunokemiallisia menetelmiä käytettäessä, hemolyysissä vapautuvat aineet voivat häiritä mm. vasta-aineen ja antigeenin välistä reaktiota, merkkiaineen mittausta tai vasta-aineen tunnistusta esimerkiksi entsyymi-immunologisissa määrytyksissä. Häirintää esiintyy etenkin käytettäessä homogeenistä entsyymi-vasta-aine määrytysmenetelmää, jossa sitoutuneita ja sitoutumattomia komponentteja ei eroteta toisistaan toisin kuin heterogeenisessä menetelmässä. Immunokemiallisia menetelmiä käytetään mm. sydänmarkkereiden (ProBNP, troponiini T, troponiini I), hormonien (LH, FSH, PROG) ja vitamiinien (B<sub>12</sub>, Folaat) määrytyksissä. Hemolyysin vaikutukset eri tutkimusten välillä vaihtelevat suuresti määrytysmenetelmän mukaan. Siksi yleistyksiä virheen suuruudesta ja jopa suunnasta on immunokemiallisille määrytyksille vaikea antaa ja näytteiden analysoijan tulee noudattaa erityisen tarkkaan laitevalmistajan antamia suosituksia näytteen laadun suhteen. Näytteenoton vakioinnin vaatimukset korostuvat erityisesti siitä syystä, että monista immunoanalyyseista ja -vierilaitteista puuttuu luotettava hemolyysin tunnistusmenetelmä, eikä hemolysoitunut näyte ole aina tunnistettavissa visuaalisesti. (Lippi ym. 2011a, 2 – 3; Lippi ym. 2012b, 49 – 51)

### 3.5 Hematologisten tutkimusten häirintä

Veren hyytymistutkimukset ovat kliinisistä tutkimuksista herkimpiä preanalyttisille virheille. Hemolyysin vaikutustavat hyytymisjärjestelmään eivät ole kuitenkaan vielä täysin selvillä. Mikäli hemoglobiinin pitoisuudella on merkitystä hyytymisjärjestelmässä, sen vaikutus on monimutkainen. Punasolujen hajotessa vapautuu myös mikropartikkeleita, jotka ovat pieniä solukalvon ja soluelimien palasia. Ne saattavat vaikuttaa hyytymisreaktioon hyytymistekijöitä aktivoimalla. Punasolujen lisäksi myös verihiiutaleista ja valkosoluista saattaa vapautua hyytymisjärjestelmää häiritseviä aineita. On mahdollista, että vapautuneet fosfolipidikalvojen palaset lisäävät verihiiutaleiden tartuntapinta-alaa edesauttaen siten hyytymiskaskadin etenemistä, mikä lyhentää hyytymisaikaa. Toisaalta, hyytymisaika voi myös pidentyä fosfolipidikalvojen kilpaillessa tromboplastiinin kanssa aktivoituneen hyytymistekijä VII:n saatavuudesta. Hyytymistutkimuksissa hemolyysin vaikutuksia analyytien tuloksiin onkin siksi vaikea ennustaa ja tutkimustulokset ovat olleet ristiriitaisia, joten selvästi hemolysoituneiden näytteiden tilalle lienee hyytymistutkimuksiin syytä ottaa uusintänäytteet, vaikka kaikki tutkimukset eivät sitä tuekaan. (Lippi, Montagnana, Salvagno & Guidi 2006d, 183 - 184; van Beers, Schaap, Berckmans, Nieuwland, Sturk, van Doormaal, Meijers & Biemond 2009, 1518; D'Angelo, Villa, Tamborini ja Villa 2015, 826 - 828)

Veriryhmämääritykset ja muut verensiirtotutkimukset eivät ole kovin alttiita näytteen hemolyysille, koska ne otetaan EDTA putkiin, joissa oleva EDTA sitoo magnesiumin ja ehkäisee komplementin muodostumista ja *in vitro* hemolyysiä. Tutkimuksissa massiivinenkeinoinen hemolyysi ei ole aiheuttanut vääriä negatiivisia vasta-aine määrityksiä tai antanut tulokseksi vääriä veriryhmiä. (Lippi ym. 2012b, 53)

## 4 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT

Opinnäytetyöni tarkoituksena oli kerätä tutkimuskirjallisuudesta kattavasti tuoretta tietoa verinäytteiden luotettavuuden kannalta tärkeimmän virhelähteen, hemolyysin, syistä ja etenkin seurauksista laboratoriotutkimusparametreihin liittyen. Rajasin käsittelyn koskemaan vain laskimoverinäytteenottoa ja siltäkin osin vain asioita, joihin näytteenottaja voi omalla työskentelyllään vaikuttaa ja siten parantaa laboratoriotutkimusten luotettavuutta.

Tavoitteena oli paitsi edistää omaa ammatillista tietoutta ja kasvua verinäytteiden ottoon liittyen, myös esittää hankkimani tieto selkeästi, jotta katsauksesta olisi mahdollisimman paljon hyötyä muillekin hoitoalan opiskelijoille ja työntekijöille, bioanalyttikko-opiskelijoiden ja valmiiden laboratoriohoitajien lisäksi. Preanalytiikan merkitys tutkimustulosten luotettavuudelle on oleellinen kuten on myös tulosten luotettavuuden merkitys kliinikoiden tekemiin hoitopäätöksiin. Verinäytteitä ottavien tulee olla selvillä näytteenottoon liittyvistä mahdollisista virhelähteistä ja niiden ehkäisymahdollisuuksista. Kirjallisuuskatsaukseni antaa monelle näytteenottotyötä tekeväälle uusia näkökulmia laskimoverinäytteenoton laadukkuuteen liittyen.

Tässä kirjallisuuskatsauksessa on pyritty keräämään tietoa seuraavan tutkimuskysymyksen avulla: Miten erilaiset hemolyyysiasteet vaikuttavat hemolyyksille herkkien tutkimusparametrien arvoihin? Lisäksi olen laajentanut pohdintaa käytännön kannalta ymmärrettävämpään muotoon eli vastamaan myös kysymykseen: Miten hemolyyysin aiheuttamia virheitä pystytään minimoimaan laskimoverinäytteenotossa?



## 5 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

### 5.1 Kirjallisuuskatsaustyypit

Kirjallisuuskatsauksissa haetaan, kootaan yhteen ja tarkastellaan kriittisesti jo olemassa olevaa tietoa jostakin tietyistä aiheesta, siihen liittyvistä ristiriitaisuuksista, yhteneväisyyksistä ja puutteista. Salmisen (2011, viitattu 18.3.2019) mukaan erilaisia kirjallisuuskatsaustyyppejä ovat kuvaileva kirjallisuuskatsaus, systemaattinen kirjallisuuskatsaus ja meta-analyysi. Opinnäytetyössäni olen käyttänyt kuvailevaa kirjallisuuskatsausta, joka ei ole kriteereiltään yhtä tiukka kuin systemaattinen kirjallisuuskatsaus tai meta-analyysi, mutta pystyy silti luokittelemaan tutkittavan ilmiön ominaisuuksia. Sen tutkimuskysymys saa olla vapaampi ja aineisto laajempi kuin muissa kirjallisuuskatsaustyypeissä. (Salminen 2011, viitattu 18.3.2019)

Kuvailevan kirjallisuuskatsauksen suuntauksista opinnäytetyöni noudattaa lähinnä narratiivista yleiskatsausta eli se antaa laajan kuvauksen aiheesta tiivistäen samalla aiheesta aiemmin tehtyjä tutkimuksia. Opinnäytetyöstäni on kuitenkin löydettävissä paljon integroivan kirjallisuuskatsauksen ja systemaattisen kirjallisuuskatsauksen piirteitä. Integroiva kirjallisuuskatsaus kun tutkii ilmiötä mahdollisimman monipuolisesti sekä arvioi ja syntetisoi kirjallisuudesta löydettyjä tuloksia kriittisesti tuottaen samalla uutta tietoa jo tutkitusta asiasta. Narratiiviselta kirjallisuuskatsaukselta ei vaadita kriittistä tulkintaa. Systemaattisen kirjallisuuskatsauksen aineisto vaatii tiukemmat sisäänottokriteerit ja sen avulla seulotaan tuloksia tarkemmin ja suppeammasta perspektiivistä kuin kuvailevissa kirjallisuuskatsauksissa. (Salminen 2011, viitattu 18.3.2019)

Ahonen, Jääskeläinen, Kangasniemi, Liikanen, Pietilä ja Utriainen (2013, viitattu 18.3.2019) kuvaavat artikkelissaan seikkaperäisesti kuvailevan kirjallisuuskatsauksen etenemistä. Sen vaiheita ovat: tutkimuskysymyksen muodostaminen, aineiston valitseminen, kuvailun rakentaminen ja tuloksien tarkastelu. Kuvailevalle kirjallisuuskatsaukselle on tyypillistä, että eri vaiheet voivat edetä osin päällekkäin. Kirjallisuuden avulla tutkitaan siis ensin valitun aiheen taustaa, siihen liittyviä keskeisiä käsitteitä sekä niiden välisiä yhteyksiä ja päätetään tutkimuskysymys, joka ohjaa varsinaisen tutkimusaineiston hakua. Kuvailevassa kirjallisuuskatsauksessa voidaan poiketa kriteereistä, esimerkiksi aineiston tuoreudesta, jos siten saadaan hankittua aineisto, joka vastaa paremmin tutkimuskysymykseen. (Ahonen ym. 2013, viitattu 18.3.2019)

Haetun aineiston valinta voi olla joko implisiittistä tai eksplisiittistä. Implisiittisessä aineiston valinnassa ei raportoida erikseen aineiston hankintaan käytettyjä tietokantoja tai sisäänotto- ja arviointikriteerejä. Sen sijaan nämä asiat tuodaan esille tekstissä sisällyttämällä lähteiden valinta ja lähdekritiikki aineiston käsittelyyn ja kuvaukseen. Eksplisiittinen aineistonvalinta muistuttaa tältä osin suuresti systemaattista kirjallisuuskatsausta, koska kirjallisuuden valinta kuvataan verrattain tarkasti. Olen käyttänyt työssäni eksplisiittistä aineiston valinnan kuvaamistapaa. (Ahonen ym. 2013, viitattu 18.3.2019)

Kuvailevassa kirjallisuuskatsauksessa sen käsittelyosan rakentaminen on ydinasemassa ja tavoitteena on vastata harkitun tutkimusaineiston avulla tutkimuskysymykseen laadullisella kuvailulla ja uusia johtopäätöksiä tekemällä. Tutkituista asioista voidaan, tutkimuskysymyksen kannalta olennaisia tiedon paloja yhdistelemällä, johtaa uusia päätelmiä alkuperäisten tietojen kuitenkin muuttumatta. Tutkimusaineisto pyritään esittämään jäsennehtynä kokonaisuutena analysoimalla olemassa olevan tiedon vahvuuksia ja heikkouksia ja tekemällä niistä laajempia päätelmiä kuin mitä yksittäisissä tutkimuksissa on pystytty tekemään. Ilmiöitä voidaan tarkastella esimerkiksi teemoittain, kuten minä olen tehnyt, tai esim. suhteessa teoreettiseen lähtökohtaan. Aineiston järjestelmissä voidaan käyttää apuna aineistolähtöistä sisällönanalyysiä, kuten itse olen oman aineistoni osalta tehnyt. (Ahonen ym. 2013, viitattu 18.3.2019)

Tulosten tarkastelussa tutkimuskysymyksen ja aineiston valinnan avulla pyritään arvioimaan tutkimuksen eettisyyttä, luotettavuutta ja laatua, esimerkiksi oikeudenmukaisuutta, tasavertaisuutta ja rehellisyyttä, ja tehdään lopulta johtopäätökset. Pohdinta-osuus onkin tärkeä osa myös kuvailevaa kirjallisuuskatsausta, joka muutoin perustuu pitkälti aiempaan kirjallisuuteen.

## **5.2 Aineiston haku**

Hain tutkimusartikkeleita katsaukseeni käyttämällä seuraavia suuria kansainvälisiä tietokantoja: Elsevier Science Direct, EBSCOhost CINAHL sekä PubMed. Lisäksi käytin apuna Google Scholar hakupalvelua, jolla hain lähinnä löytämieni maksullisten artikkelien ilmaisversioita. Kokeilin myös kotimaisten lehtiartikkelien tietokanta Mediciä. Sisäänottokriteereinä minulla oli ulkomaisten artikkelien osalta englanninkielisyys. Halusin tutkimusten olevan tuoreita, joten rajasin artikkelien julkaisuajankohdan vuoteen 2010 ja sen jälkeen julkaistuihin tutkimusartikkeleihin.

Tarkistin ensin hakutulosten otsikot ja osasta luin myös abstraktit. Kaikki päällisin puolin hakukriteerit täyttävät artikkelit latsin pilvipalvelun teemoittaisiin kansioihin ensimmäisen kirjoittajan sukunimen mukaiseen aakkosjärjestykseen, odottamaan tarkempaa seulontaa. Artikkelien tuli käsitellä hemolyyysin vaikutuksia yleisimpiin tutkimusparametreihin. Yleisyyden käsitteen rajauksessa käytin omaa harkintaa. Montaa tutkimusta ei tämän vuoksi tarvinnut hylätä. Ennen tallennusta tarkistin artikkelin esiintymisen jo aiemmissa hauissa, jolloin sain suoraan eliminoitua kaksoiskappaleet. Taulukossa 3 on esitetty käyttämäni hakutermit, haun rajaukset ja hakutulosten lukumäärät hakujärjestyksessä ylhäältä alaspäin. Kunkin haun osalta on taulukon alaviitteessä esitettyä vain ne tutkimukset (N = 19), jotka läpäisivät lopullisen seulonnan eli päätyivät analyysiin asti.

TAULUKKO 3. Kirjallisuuskatsauksen hakutulokset ja valitut tutkimukset hakujärjestyksessä

Tietokanta	Hakusanat	Rajaukset (+ 2010 tai uudempi + english)	Tuloksia	*	
	interference hemolysis		19	a	
EBSCOhost	"in vitro hemolysis" [Tx]	Journal article Biomedical human	4	b	
CINAHL	effect [Ti] AND hemolysis [Ti]	Journal article	9	c	
	hemolysis [Ti] AND interference [Ti]	Journal article	4	d	
	haemolysis [Ti] AND effect* [Ti]		6	e	
	hemoly* [Ti] AND interference* [Ti]		humans	11	f
PubMed	hemoly* [Ti] AND index [Ti]		humans	19	g
	hemoly* [Ti] AND reliab* [Ti]		humans	4	h
	"in vitro hemolysis"	free full text	humans	17	i
Science	"effect of hemolysis"			186	j
Direct	"influence of hemolysis"			53	k
Google Scholar	influence of hemolysis on			25600	l
Medic	hemolyyysi* AND vaikut*	Ei rajauksia		2	m

\*) Valitut tutkimukset (N = 19): **a: Tang**, Jin, Sun & Jian 2017; **Lippi** & Ippolito 2014; **Sağlam**, Köse, Özdemir & Adsan 2012; **b: Lippi**, Musa, Avanzini, Aloe, Pipitone & Sandei 2012a; **c: Bais** 2010; **Florkowski**, Wallace, Walmsley & George 2010; **d: Monneret**, Mestari, Atlan, Corlouer, Ramani, Jaffre, Denver, Fressart, Alkouri & Lamari 2015; **e: Woolley**, Golmard & Kitchen 2016; **f: Garinet**, Fellahi, Marlin, Capeau, Lefèvre & Bastard 2014; **Koseoglu**, Hur, Atay & Kuhadar 2011; **g: Goyal** & Schmotzer 2015; **h: Wolf**, Haendel, Remmler, Kutzner, Kaiser & Mothes 2018; **i: Lippi**, Avanzini, Pavesi, Bardi, Ippolito, Aloe & Favalaro 2011b; **j: Cook**, Glenn & Armston 2010; **Puelacher**, Twerenbold, Mosimann, Boeddinghaus, Gimenez, Wildi, Jaeger, Reichlin, Schneider & Honegger 2015; **Livesey** & Dolamore 2010; **k: Ji** & Meng 2011; **l: Lippi**, Avanzini, Dipalo, Aloe & Cervellini 2011a; **m: Hartikainen** & Joki 2013

Ti = Title

Tx = full text

Hemolyysistä on yleisellä tasolla paljon tutkimuksia, joten koin hyödylliseksi hakea artikkeleita kohdistamalla hakusanat artikkelien otsikoihin. Esimerkiksi Science Direct löytää sanahauilla valtavan määrän osumia, vaikka hakusanoja yhdistelisikin Boolean operaattoreilla, joten totesin fraasien olevan yksittäisten sanojen sijaan käytännöllisempiä, kriteerit täyttävien artikkelien hakemisessa. Google Scholar löysi myös paljon tuloksia, joten valitsin listauksen osuvuuden mukaan ja kävin hakutuloksista läpi vain muutaman ensimmäisen sivun. Kaikki haut eivät tuottaneet uusia, aiemmin löytymättömiä tuloksia, joten en listannut kaikkia tekemiäni hakuja edellä esitettyyn taulukkoon.

Lopullisiin sisäänottokriteereihini kuului myös, että tutkimuksen vaiheiden ja menetelmien tuli olla kattavasti esitelty, jotta tulosten vertailukelpoisuutta toisiinsa nähden pystyy arvioimaan. Esimerkiksi erilaiset yhdysvaikutukset (hemolyysin ja lipeemisyuden tms. välillä) tulisi ottaa huomioon tutkimusasetelmassa (mm. analyttien erilaiset pitoisuudet näytteissä), jotta tulokset olisivat yksiselitteisiä. Myös hemolyysiasteiden laajan kirjon vuoksi jouduin hylkäämään joitain tutkimuksia, koska niissä käytetyt hemolyysiasteet olivat mielestäni vertailukelvottomia tai tutkijoille oli sattunut ajatus/laskuvirheitä hemolyysiasteita käsitellessä. Jotkut artikkelit jäivät puolestaan pois niiden maksullisuuden vuoksi ja kirjallisuuskatsauksia en ottanut mukaan lainkaan, vain alkuperäistutkimuksia. Katsauksen ulkopuolelle jätin myös kapillaariveri- ja arteriaverinäytteisiin kohdistuvat tutkimukset sekä tutkimukset, joiden tulokset eivät olleet sovellettavissa Suomen käytäntöihin.

### **5.3 Aineiston analyysi**

Tässä tutkimuksessa olen käyttänyt aineiston järjestämisen apuvälineenä teorialähtöistä sisällysanalyysiä. Jaoin tutkimusartikkelit eri teemojen mukaisesti kansioihin jo artikkelien tallennusvaiheessa. Teemoja olivat: kemialliset tutkimukset, immunologiset tutkimukset, hyytymistutkimukset ja verenkuvatutkimukset. Sittemmin, raportin tietopohjaa kuvatessani, totesin hemolyysin vaikutusmekanismien olevan myös kelvollinen ryhmittelyperuste. Tutkimustulosten tyypittelyn suoritin Excel-taulukkoon (tekstin värjäyksellä) sen mukaan, aiheuttiko hemolyysiasteen kasvu analyyteissä pitoisuuden nousua, laskua, vaihtelevasti molempia vai ei kumpaakaan. Viimeistä vaihtoehtoa edustavia analyyttejä oli suhteellisen vähän, koska tutkimukset keskittyvät analyytteihin, joihin hemolyysin oli aiemmin todettu vaikuttavan. Kuitenkin, jotkin tutkimukset osoittivat, että aiemmin hemolyysille herkkinä pidetyt analyytit eivät sitä välttämättä olekaan, jos näytteenotto ja -käsittely tapahtuvat vakioidusti eli virheettömästi. Tulosten vertailua hankaloitti mm. erilaiset kliinisen merkitsevyyden määritelmät (ACL = acceptable change limit vs. vaihteluväli: esim.  $\Delta 10\%$ ).

## 6 KIRJALLISUUSKATSAUKSEN TULOKSET

Liitteen 1 taulukossa on esitetty tutkimustulokset teemojen (eri värit numeropalkissa) mukaisesti ryhmiteltynä. Joidenkin tutkimusten parametrit sisältyivät useamman teeman alle, joten tuloksia voidaan käsitellä useammassa osassa. Käytän tekstin luettavuuden vuoksi tutkimuksista ensimmäisen tuloksen jälkeen lyhyempää vuosiluvutonta ja sivunumerotonta muotoa, koska tutkimusten tulokset löytyvät suurin piirtein samoilta sivuilta.

### 6.1 Kliiniskemialliset tutkimukset

#### 6.1.1 Analyytin konsentraatioero solukalvon eri puolilla

Selvimmän hemolyysin vaikutukset näkyivät ja olivat selitettävissä analyytin pitoisuuksien poikkeudessa paljon intra- ja ekstrasellulaarinessiteiden välillä. Analyyttejä, joiden pitoisuus kasvoi solujen hajoamisen vuoksi tutkimuksissa yksimielisesti, olivat: ASAT, LD, K, ALAT, Pi ja Fe. P-Hb:n kynnyksarvot, joiden ylittävät vapaan hemoglobiinin pitoisuudet aiheuttavat tuloksen hylkäämisen, olivat aspartaattiaminotransferaasille (ASAT) ja kaliumille (K) 0,4 ja 2,0 g/l (Ji & Meng 2011, 1551), 0,5 ja 1,0 g/l (Koseoglu ym. 2011, 81 - 83), 0,5 ja 0,51 g/l (Goyal & Schmotzer 2015, 580 - 581) sekä 0,31 ja 0,55 g/l (Monneret ym. 2015, 165 - 166) tuossa järjestyksessä. Vastaavat kynnyksarvot laktaattidehydrogenaasille (LD), epäorgaaniselle fosfaatille (Pi) ja alaniiniaminotransferaasille (ALAT) olivat 0,41, 2,0 ja 2,35 g/l (Ji & Meng), 0,5, 0,51 ja 2,51 g/l (Koseoglu ym.) sekä 0,18, 1,08 ja 2,48 g/l (Monneret ym.). Raudalle (Fe) P-Hb:n kynnyksarvot olivat 0,4 g/l (Ji & Meng) ja 2,48 g/l (Monneret ym.). Folaattia tutkittiin vain Monneretin ym. tutkimuksessa ja sille P-Hb:n kynnyksarvo oli 0,56 g/l (kun 10% ero vertailuarvosta) ja 1,55 g/l (kun ACL pohjainen merkitsevyyden mittausmenetelmä).

Intrasellulaarinessiteen laimentavan vaikutuksen vuoksi pitoisuus laski tutkimuksissa alkalisen fosfaatin (AFOS) osalta P-Hb-kynnyksarvojen ollessa 2,35 g/l (Ji & Meng) sekä 3,74 g/l (Monneret ym.). Koseoglun ym. tutkimuksessa hemolyysi vaikutti AFOS arvoon tilastollisesti, muttei kliinisesti merkitsevästi. Monneretin ym. tutkimuksessa, kun kliinisen merkitsevyyden raja määräytyi ACL arvon perusteella, kloridi- ja natriumionien määrille saatiin merkitsevä lasku P-Hb:n ollessa yli 3,51 ja 3,61 g/l (vastaavasti), mutta Koseoglun ym. tutkimuksessa, jossa käytettiin kliinisen merkitsevyyden rajana 10% muutosta vertailuarvosta, Cl:n lasku jäi vain tilastollisesti merkitsevälle tasolle. Sen

sijaan Jin ja Mengin tutkimuksessa hemolyysi ei vaikuttanut kloridi- ja natriumtuloksiin kliinisesti merkitsevästi, vaikka hemolyysiä tutkittiin 8 g/l P-Hb tasolle asti.

Gammaglutamyylitransferaasin (GGT) ja magnesiumin (Mg) tulokset olivat epä johdonmukaisia. Esimerkiksi Koseoglun ym. tutkimuksessa GGT:n arvo oli alimmilla hemolyysitasoilla vertailuarvoa pienempi, mutta suurimmalla vapaan hemoglobiinin pitoisuudella (2,51 – 4,5 g/l) nollanäytettä suurempi. Jin ja Mengin tutkimuksessa GGT puolestaan laski kliinisesti merkitsevästi vasta yli 6 g/l hemolyysitasolla ja Monneretin ym. tutkimuksessa vaihtelu ei ollut merkitsevää, vaikka Roche suosittelee heidän käyttämälleen analysaattorille magnesiumille 2 g/l kynnyksrajaa vapaan hemoglobiinin suhteen. Monneret ym. totesivat magnesiumin kasvavan kliinisesti merkitsevästi (ACL: P-Hb:n arvon ylittäessä 3,46 g/l ja 10%Δ: 4,25 g/l), mutta Jin ja Mengin tai Koseoglun ym. tutkimuksissa kasvu ei ollut kliinisesti merkitsevää, vaikka Koseoglun ym. tutkimuksessa se olikin tilastollisesti merkitsevää. Hemolyysillä ei ollut missään tutkimuksessa kliinisesti merkitsevää vaikutusta plasman albumiinin tai glukoosin pitoisuuteen.

### **6.1.2 Spektrofotometrinen häirintä**

Hemoglobiinin ja analyytin mittausspektrien päällekkäisyyden vuoksi spektrofotometrinen mittaamenetelmä voi aiheuttaa virhettä mm. bilirubiinin, raudan, lipaasin, kreatiniinikinaasin (CK), GGT:n, ASAT:n, ALAT:n, LD:n, AFOS:n, magnesiumin, epäorgaanisen fosfaatin (Pi) ja urean mittaustuloksiin. Määritysmenetelmän aiheuttamaa virhettä on luonnollisesti mahdoton erottaa solujen sisältä purkautuneiden aineiden aiheuttamista vaikutuksista. ASAT, ALAT, CK ja LD arvoille muutoksen tulee Lippin ym. (2012b, 45) mukaan olla positiivinen, jota se olikin, edellisessä kappaleessa kerrotulla tavalla. Edellä kuvattujen vaikutusten lisäksi hemolyysillä oli luultavasti spektrofotometristä määrittäytävistä aiheutuvaa vaikutusta myös lipaasin ja bilirubiinin arvoihin. Tämän katsauksen tutkimuksissa havaittiin lipaasin arvon kasvavan kliinisesti merkitsevästi P-Hb arvon ylittäessä 3,0 g/l (Ji ja Meng) ja 2,90 g/l (Monneret ym.) eli näytteissä, jotka erottuvat jo selvästi punertavan plasman ansiosta. Kokonaisbilirubiinin todettiin sekä Jin ja Mengin että Koseoglun ym. tutkimuksissa kasvavan hemolyysin takia (kynnysarvoilla 0,8 ja 1 g/l), mutta bilirubiinin konjugaattien (Bil-kj) määrän laskevan Jin ja Mengin tutkimuksessa kliinisesti merkitsevästi jo vapaan hemoglobiinin pitoisuuden ylittäessä plasmassa 0,4 g/l.

### 6.1.3 Kemiallinen häirintä

ACL-arvoon perustuvassa merkitsevyysanalyysissä Monneret ym. totesivat kreatiinikinaasin (CK) arvon kasvavan kliinisesti merkitsevästi plasman vapaan hemoglobiinin ollessa vain 0,56 g/l, kun taas Jin ja Mengin tutkimuksessa kliinisesti merkitsevä nousu havaittiin vasta P-Hb ylittäessä 4 g/l ja Koseoglun ym. tutkimuksessa se ei muuttunut kliinisesti merkitsevästi edes voimakkaimmalla hemolyysitasolla eli vapaan hemoglobiinin ollessa 2,51 - 4,5 g/l, vaikka tilastollisesti muutos olikin merkitsevä jo 0,51 - 1,00 g/l tasolla. Jäljemmissä merkitsevyyden mittarina pidettiin 10% pitoisuusmuutokseen perustuvaa systeemiä, jolla Monneretin ym. tutkimuksessa hemolyysi-indeksin kynnyksarvoksi tuli CK:lle arvo 1,35 g/l. Bilirubiinin virheellisen alhaiset pitoisuudet voivat olla, spektrofotometrisen mittausvirheen lisäksi, tulosta myös hemoglobiiniperoksidaasin (jota muodostuu vapaasta hemoglobiinista tietyissä kemiallisissa olosuhteissa) bilirubiinia hajottavasta vaikutuksesta. Haptoglobiinin pitoisuus laskee kliinisesti merkitsevästi vapaan hemoglobiinin lisääntymisen (ja sen haptoglobiinia sitovan vaikutuksen) myötä P-Hb kynnyksarvoilla 1,18 g/l (Ji & Meng) ja 1,42 g/l (Monneret ym.). Vaikka monien hormonien pitoisuuden aleneminen lienee seurausta hemolyysin vuoksi vereen vapautuneiden proteolyttisten entsyymien toiminnasta, käsittelemme niitä immunologisten tutkimusten yhteydessä kappaleessa 6.3.

### 6.2 Hyytymistutkimukset

Missään katsauksen kolmesta hyytymistutkimuksesta (Lippi & Ippolito 2014, Woolley ym. 2016 ja Tang ym. 2017) hemolyysin ei havaittu aiheuttavan kliinisesti merkitseviä muutoksia millekään kolmesta hyytymistutkimusparametristä (PT, APTT ja Fibr), lukuunottamatta Woolleyn ym. kokeessa havaittua kliinisesti merkitsevää laskua aktivoituneissa osittaisissa tromboplastiiniajassa (APTT) yhdellä reagenssilla kolmesta. Tutkimuksissa käytetyt korkeimmat hemolyysitasot olivat 3,6 g/l (Lippi & Ippolito), >3 g/l (Woolley ym.) ja 13,4 g/l (Tang ym.). Tangin ym. tutkimuksessa tutkittiin myös lieviä (P-Hb 0,5 - 1,0 g/l) ja kohtalaisia (P-Hb 2,3 - 5,8 g/l) hemolyysitasoja.

## 6.3 Immunologiset tutkimukset

### 6.3.1 Troponiinitutkimukset

Troponiini T:n arvot laskivat hemolyysiasteen noustessa Florkowskin ym. (2010, 1196) tutkimuksen päivystysnäytteissä ja hsTnT:n (high sensitivity TnT) pitoisuudet sekä Florkowskin ym. (kummankin määrittäminen Roche ElecSys 2010 analysaattorilla) että Baisin (2010, 1357) (määr. ElecSys E170-analysaattorilla) tutkimuksissa. TnT:n laskua tapahtui Florkowskin tutkimuksen päivystysmäärityksessä kuitenkin vain kahdella suuremmalla TnT:n pitoisuudella (näytteiden alkuperäisiä TnT-pitoisuuksia ei ole ilmoitettu, taulukon perusteella n. 70 ja 270 ng/l). Sen sijaan hsTnT:n pitoisuus laski 20 ng/l pitoisuudesta noin puoleen hemolyysiasteen noustessa 3,92 g/aan/l. Alin hsTnT-pitoisuus (< 3ng/l) ei muuttunut, joten korkeammillakin hemolyysitasoilla tulos oli edelleen < 3 ng/l eli alle laitteen herkkyyden. Baisin tutkimuksessa kliinisesti merkitsevän ( $\Delta > 20\%$ ) pitoisuuden laskun hsTnT-pitoisuuteen (silloin kun se alunalkaen oli lähellä viiterajaa) aiheutti P-Hb arvo 1,9 g/l. Monneretin ym. tutkimuksessa kliinisesti merkitsevä lasku hsTnT-pitoisuudessa havaittiin 10%:n pitoisuusmuutokseen perustuvassa menetelmässä 2,82 g/l ja ACL-arvoon pohjautuvassa menetelmässä 2,32 g/l P-Hb tasolla.

Troponiini I:n pitoisuus nousi Florkowskin tutkimuksessa Vitros ECi analysaattorilla mitattuna kolmella alimmalla TnI-pitoisuudella (0 ng/l, 30 ng/l ja 500 ng/l), mutta ylimmän pitoisuuden (5  $\mu$ l/l) muutos oli epäjohtomukainen. Abbott Architect analysaattorilla muutokset jäivät alle 10% eli kliinisesti merkityksettömiksi. Baisin tutkimuksessa viiterajan läheiset TnI -pitoisuudet kasvoivat kliinisesti merkitsevästi, kun vapaan hemoglobiinin määrä ylitti 1,9 g/l. Lippin ym. (2011a, 2) tutkimuksessa infarktipotilaiden näytteiden TnI-pitoisuuksien (Beckman Coulter UniCel Dxl 800 Accu-TnI-määritys) todettiin sen sijaan laskevan hemolyysin lisääntyessä (hemolyysi aikaansaatu mekaanisesti aspiroimalla ohuella neulalla 1 tai 2 kertaa). Infarktipotilaiden TnI arvot olivat alkujaan > 200 ng/l. Yksi aspirointikerta, jolloin P-Hb nousi heidän mukaansa 9,5 – 16 g/l (todellisuudessa 0,95 – 1,6 g/l?), ei riittänyt laskemaan tuloksia kliinisesti merkitsevästi (> 20%) missään 12 näytteestä. Kuitenkin lasku oli kliinisesti merkitsevä 3/12 näytteessä, joita aspiroitiin kaksi kertaa (jolloin P-Hb nousi heidän ilmoittamana 16,5 – 29,5 g/l eli todellisuudessa 1,65 – 2,95 g/l?). Sen sijaan terveiden henkilöiden TnI-arvot eivät muuttuneet eli pysyivät hemolyysistä huolimatta alle 40 ng:ssa/l.



Edelleen Puelacherin ym. (2015, 314 - 315) tutkimuksessa infarktiepäilyjen vuoksi otetuista näytteistä kolmella eri laitteella (ks. Liite 1) analysoitujen troponiini I näytteiden tulosten vertailu osoitti, että näytteissä, jotka kokenut bioanalytikko oli visuaalisesti todennut hemolysoituneiksi, TnI-pitoisuudet olivat hieman korkeampia kuin ei-hemolysoituneista näytteistä mitatut, mutta erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä ( $P = 0,18 - 0,39$ ). Kuitenkin potilailla, jotka saivat sydäninfarktidiagnoosin, TnI-pitoisuudet olivat huomattavasti suurempia kuin muista sydänvaivoista ja ei-sydänperäisistä vaivoista kärsineillä potilailla (208 ng/l vs 6,6 ng/l ja 4 ng/l), joten hemolyysistä ei voida ajatella olevan haittaa troponiini I-määrityksissä.

N-terminaalisen Pro-BNP:n pitoisuudessa ei Monneretin ym. tutkimuksessa havaittu hemolyysin vaikuttavan kliinisesti merkitsevästi mitään kolmea eri merkitsevyytystapaa käytettäessä.

### **6.3.2 Hormonitutkimukset**

Liveseyn ym. (2010, 1479) tutkimuksen mukaan hemolyysi alensi ACTH:n pitoisuutta kliinisesti merkitsevästi vapaan hemoglobiinin määrän ollessa plasmassa niinkin alhainen kuin 0,14 g/l, mikäli näytteen annettiin seisoa huoneenlämmössä (+22°C) tunti ennen analysointia (sulatuksen jälkeen), vaikka olisi käytetty kylmänäytteenottoa (näyteputki 30 minuutiksi jääveteen heti näytteenoton jälkeen) ja kylmäseentrifugointia ennen plasman pakastusta. Jos näytettä ei otettu kylmänäytteenotolla, mutta se kylmäseentrifugoitiin ja pakastettiin välittömästi ja analysoitiin heti pakastenäytteen sulatuksen jälkeen, tulos laski kliinisesti merkitsevästi 0,26 g/l hemolyysitasolla. Jos kylmänäytteenottoa käytettiin, ja näyte analysoitiin heti kylmäseentrifugoinnin jälkeen, ACTH-pitoisuus laski merkitsevästi vapaan hemoglobiinin pitoisuuden ylittäessä 0,40 g/l. Parhaiten ACTH-hormonin pitoisuus säilyi näytteessä, jos se otettiin kylmänäytteenotolla ja siihen lisättiin N-fenyylimaleimidiä kylmäseentrifugoinnin jälkeen ennen plasman pakastusta ja analysointi tapahtui viiveettä näytteen sulatuksen jälkeen. Tällöinkin 1,13 g/l vapaan hemoglobiinin taso riitti alentamaan ACTH:n pitoisuutta kliinisesti merkitsevästi eli yli 10%. Insuliinin osalta (näytteen alkuperäisen insuliinipitoisuuden ollessa 75,6 pmol/l) vapaan hemoglobiinin kynnyksarvot olivat vastaavassa käsittelyiden järjestyksessä 0,28; 0,42; 0,91 ja 0,97 g/l. Maleimidin käytöstä ei siis ollut insuliinille vastaavaa hyötyä kuin ACTH:lle, mutta muuten insuliini sietä hemolyysiä paremmin kuin ACTH.

Cookin ym. (2010, 622) tutkimuksessa hemolyysi aiheutti kliinisesti merkitsevän ( $\Delta 10\%$ ) laskun insuliiniaktiivisuuksiin (jotka olivat kahdessa eri näytteessä alun perin 2,49 ja 17,41 mU/l), kun vapaan hemoglobiinin pitoisuus ylitti n. 1 g/l. Samansuuntaiseen (0,8 g/l) kynnyksarvoon päätyivät tutkimuksessaan myös Garinet ym. (2012, 446) 136 pmol/l insuliinipitoisuuden omaavalla näytteellä. Samanlaisen progressiivisen aleneman hemolysaatin lisäys aiheutti myös kahdelle muulle Garinetin ym. tutkimuksen insuliinipitoisuudelle (43 ja 265,5 pmol/l). Heidän tutkimuksessaan verrattiin paitsi erilaisia hemoglobiinin lisäysmenetelmiä (hemolysaatti vs kaupallinen puhdas hemoglobiini) myös erilaisia säilytysaikoja/säilytyslämpötiloja ja näiden yhdistelmiä. Puhtaalla hemoglobiinilla ei ollut vaikutusta insuliinipitoisuuteen toisin kuin hemolysaatilla, joka sisälsi myös soluista vapautuneita entsyymejä. Lievästi hemolysoituneessa näytteessä (P-Hb = 0,8 g/l) insuliinipitoisuus säilyi huoneenlämmössä hyväksyttävissä rajoissa Garinetin ym. mukaan 50 minuuttia, kun taas hemolyyssistä vapaa näyte säilyi analysointikelpoisena 3 - 5 tuntia. Selvästi hemolysoituneen näytteen (P-Hb = 1,5 g/l) insuliinipitoisuus laski kliinisesti merkitsevästi huoneenlämmössä jo 30 minuutissa. Sen sijaan jääkaappilämpötilassa hemolysoitumattoman näytteen aktiivisuus laski 8 tunnissa vain alle 5 prosenttia ja hemolysoituneen näytteenkin (P-Hb = 1,0 g/l) aktiivisuuden lasku hidastui selvästi ollen (kuvaajan perusteella) kliinisesti merkitsevää noin kolmen tunnin kuluttua.

Hartikaisen ja Joen (2013, 60 - 62) opinnäytetyötä varten tehdyssä tutkimuksessa näytteiden insuliiniaktiivisuus laski 13% vapaan hemoglobiinin pitoisuuden ollessa vain 0,5 g/l, 19% P-Hb pitoisuuden ollessa 1,9 g/l ja 28% P-Hb pitoisuuden ollessa 15 g/l, kun näytteitä ei ilmeisesti ollut otettu kylmänäytteenotolla, mutta ne analysoitiin viiveettä hemolysaatin lisäämisen jälkeen. He totesivat insuliinipitoisuuden pysyvän lähes muuttumattomana 48 tunnin ajan, jos niihin ei lisätty lainkaan hemolysaattia. Säilytys huoneenlämmössä tehosti hemolyyysin vaikutuksia, kun taas pakastettujen näytteiden insuliiniaktiivisuus pysyi muuttumattomana koko 48 h ajan 1,9 g/l hemolyyssitasosta huolimatta. P-Hb 15 g/l hemolyyysin omaavissa näytteissä aktiivisuus lähti merkitsevään laskuun jo yhden tunnin pakasteessa tai jääkaapissa säilyttämisen jälkeen. Jääkaapissa 0,5 g/l hemolyyssitason omaavan näytteen insuliiniaktiivisuus säilyi muuttumattomana ja 1,5 g/l hemolyyssitasollakin lasku alkutilanteeseen nähden oli merkityksetöntä vielä 48 tunnin säilytyksen jälkeen.

Monneretin ym. tutkimuksessa tutkittiin hormoneista luteinisoivaa hormonia (LH), follikkelia stimuloivaa hormonia (FSH), estradiolia (E2), progesteronia (PROG) ja kortisolia (Korsol). Hemolyyssillä ei kuitenkaan todettu olevan kliinisesti merkitsevää vaikutusta mihinkään näistä parametreista.

### 6.3.3 Muut immunologiset tutkimukset

Sağlamın ym. (2012, 2) tutkimuksessa todettiin prostata spesifisen antigeenin (PSA) pitoisuuden laskevan hemolyysin vuoksi. Erilaiset hemolyysiasteet saatiin aikaiseksi pienentämällä neulakokoa 26 gaugeen (vs. 18G) ja käyttämällä kiristyssidettä koko näytteenoton ajan (vs. vakioitu näytteenotto) ja edelleen siirtämällä näyte paineella ruiskusta näyteputkeen. Näin saavutettu hemolyysitaso aiheutti näytteen kaliumpitoisuuden nousun yli 7 mmol/l eli yli hälytysrajan. Kolmantena hemolyysitasona käytettiin näytteen (joka oli erotettu osanäytteeksi vakioidusti otetusta näytteestä) erittäin voimakasta hemolysointia, joskaan menetelmää tämän saavuttamiseksi ei ilmoitettu. Sen tarkoituksena oli vain vahvistaa havaittavan muutoksen suunta. PSA:n arvo laski 7 % lievempää hemolyysiastetta (26G neula ym.) käytettäessä ja 63 % erittäin voimakkaassa hemolyysissä.

Myös keliakiatutkimuksissa hemolyysin on todettu voivan laskea kudostransglutaminaasivasta-aine A:n (tTGAbA) pitoisuutta ja aiheuttavan vääriä negatiivisia tuloksia. Sen vuoksi pääsy biopsiatutkimuksiin sekä oikea diagnoosi voivat viivästyä. Jo 0,25 tai 0,50 g/l vapaata hemoglobiinia näytteessä (riippuen laitteesta) todettiin Wolfin ym. (2017, 2 - 4) tutkimuksessa aiheuttavan kliinisesti merkitsevän 10% laskun tTGAbA-pitoisuuteen, kun kyseessä oli vain lievästi positiiviset vasta-ainepitoisuudet, joissa tTGAbA-arvo oli 1-5 kertaa yli viiterajan. 5–10 kertaisesti tTGAbA:n viitearvon ylittävässä näytteissä tarvittiin 1 g/l ja vahvasti positiivisissa (10-15 x yli viitearvo) näytteissä 2 g/l vapaata hemoglobiinia saavuttamaan kliinisesti merkitsevä 10 % pitoisuuden lasku. Tarkasteltaessa viiterajoja, yksi lievästi positiivinen näyte sai väärän negatiivisen tuloksen vapaan hemoglobiinipitoisuuden ollessa veressä 0,125 - 0,25 g/l välillä, eli alle visuaalisen hemolyysin erotuskyvyn. Kun hemolyysiaste oli 1 – 3 g/l välillä, seitsemästä lievästi positiivisesta näytteestä jo kolme sai virheellisesti negatiivisen tuloksen eli olisi johtanut keliakiadiagnoosin viivästymiseen. Selvästi positiivisistakin näytteistä jopa 2/5 sai virheellisesti negatiivisen tuloksen, mutta vasta kun vapaan hemoglobiinin määrä plasmassa ylitti 8 g/l. Sen sijaan ylimmän (10-15 x) vasta-ainetason näytteisiin suurinkaan hemolyysi ei aiheuttanut virheellisesti negatiivisia tuloksia. Wolfin ym. populaatio-tutkimusosuuden perusteella näytteiden hemolyysitasot pysyivät käytännön tilanteissa sen verran alhaisina, että 1102 näytteestä vain kolme oli luultavasti saanut väärän negatiivisen tuloksen.

Monneret ym. totesivat laajassa tutkimuksessaan B12 vitamiinin ja  $\alpha$ -fetoproteiinin (AFP) osalta, ettei hemolyysillä ollut niihin kliinisesti merkitsevää vaikutusta. Merkityksellisyttä ei siis havaittu pitoisuusmuutokseen pohjautuvalla, ACL arvoon perustuvalla eikä viitearvoon perustuvalla (RCV = reference change limit) merkitsevyytensä laskentamenetelmällä.

## 6.4 Hematologiset tutkimukset

Verenkuvatutkimuksia löytyi katsaukseen mukaan kaksi kappaletta eli Lippin ym. 2011b ja 2012a tutkimukset. Niissä kummassakin hemolyysi aikaansaatiin aspiroimalla näytettä 30G neulan läpi, joko 0, 5 tai 10 kertaa (Lippi ym. 2012a, 180 - 181) tai 0, 1, 2, 3, 4 tai 5 kertaa (Lippi ym. 2011b, 299 - 300). Samasta lyysausmenetelmästä, samoista analysointilaitteista ja osittain samoista tutkijoista huolimatta tutkimusten hemolyysisitasot olivat ristiriidassa keskenään, joka sai epäilemään että tutkijoille oli tullut vuonna 2011 julkaistussa tutkimuksessa pilkkuvirhe. Lisäksi siinä oli tekstiosuuteen kirjattu tuloksia väärin, jonka vuoksi lähes kaikki tulokset tuntuivat olevan ensisilmäyksellä ristiriidassa 2012 julkaistun tutkimuksen kanssa. Kuvaajista kävi kuitenkin selville pitoisuusmuutosten oikea suunta. Sen perusteella kummassakin tutkimuksessa hemolyysi kasvatti punasolujen keskimääräistä hemoglobiinipitoisuutta (E- MCH) sekä verihiutaleiden määrää (B-Trom), joskin aiemmassa tutkimuksessa yhden näytteen käyrä kulki epäjohdonmukaisesti, joka sai aikaan sen ettei nousu ollut kliinisesti merkitsevää ennen kuin vapaan hemoglobiinin pitoisuus ylitti arvon 5 g/l. Sen sijaan punasolujen määrä (B-Eryt), hematokriitti (B-Hkr) ja punasolujen keskitilavuus (E-MCV) laskivat hemolyysiasteen noustessa. Valkosolujen määrän (B-Leuk) todettiin 2011 tutkimuksessa laskevan marginaalisesti, mutta hyvin epälineaaraisesti eikä vuoden 2012 tutkimuksessakaan lasku ollut kliinisesti merkitsevää. Hemolyysi ei vaikuttanut kummassakaan tutkimuksessa kokoveren hemoglobiinipitoisuuteen (B-Hb), mutta kasvatti näytteiden laktaattidehydrogenaasin (LD) pitoisuutta.

## 7 POHDINTA

### 7.1 Tutkimuksen eettinen tarkastelu ja luotettavuuden arviointi

Pyrin löytämään ja sisällyttämään kirjallisuuskatsaukseen valitsemani tutkimukset selkeiden sisäntokriteereiden ja tutkimuskysymysten avulla. Wolfin ym. (2017) keliakiaa koskevan tutkimuksen hyväksyin mukaan henkilökohtaisen kiinnostukseni vuoksi, vaikkei sitä voida yleisimpiin tutkimuksiin laskeakaan. Joitain löytämiäni tutkimuksia jouduin jättämään katsauksen ulkopuolelle havaitessani niissä virheitä, jotka heikensivät tutkimusten luotettavuutta. Sen sijaan joitain mielestäni selkeitä pilkkuvirheitä sisältäviä tutkimuksia sisällytin tarkasteluun, koska niissä tulokset olivat silti tarkasteltavissa virheitä korjaamalla ja koska tutkijajoukossa oli mukana alan huippututkijoita. Eri-tyisesti hyytymistutkimusten osalta jouduin karsimaan pois tutkimuksia, joiden tuloksiin en luottanut, koska monessa niistä oli käytetty hemolyysitasoja, jotka eivät mielestäni olleet mahdollisia saavuttaa hyytymisnäytteiden tarkkaa näytteenotto-ohjeistusta noudattamalla.

Johtuen hemolyysin moninaisista vaikutustavoista, tutkimustuloksia tulkittaessa oli otettava huomioon erilaiset menetelmät, joilla eri hemolyysitasot oli saatu aikaiseksi, erilaisten analyysimenetelmien lisäksi. Esimerkiksi puhtaan hemoglobiinin lisääminen näytteisiin ei aiheuttanut muutoksia hyytymisparametreissa, koska mukana ei tullut hyytymiskaskadia häiritseviä muita aineita ja koska hyytymisajat määritettiin näytteen viskositeetin avulla, jolloin ylimääräisistä analyyttien kanssa reagoimattomista aineista ei ollut haittaa samalla tavalla kuin fotometrisissä mittauksissa. Selkeyden vuoksi päädyin ryhmittelemään tutkimustulokset hemolyysin vaikutustavan mukaisesti. Osaan analyteistä (ellei jopa kaikkiin) hemolyysi voi kuitenkin vaikuttaa useammalla kuin yhdellä tavalla, mikä vaikeutti selkeiden johtopäätösten vetämistä.

Eri analysoijissa käytettävien erilaisten hemolyysi-indeksien vuoksi jouduin tarkastelemaan tuloksia vapaan hemoglobiinin pitoisuuksien avulla. Tämä edellytti kirjavan yksikköjärjestelmän (g/l, g/dl, mg/l, mg/dl) yhtenäistämistä eli muutin artikkeleissa ilmoitetut tulokset g/l muotoon. Lisäksi pyrin esittämään tulokset mahdollisuuksien mukaan kynnyksarvoina eli tuomaan esille alhaisimman mahdollisen vapaan hemoglobiinin pitoisuuden, joka aiheutti kyseisessä parametrissa kliinisesti merkitsevän pitoisuuden muutoksen. Joidenkin parametrien osalta pakkaa sekoitti edelleen se, että osa tuloksista oli esitetty pitoisuuksina ja osa entsyymiaktiivisuuksina.

## 7.2 Tulosten tarkastelu ja johtopäätökset

Vaikka hemolyysi onkin yksi yleisimmistä virhelähteistä kliinisessä laboratoriotöinnässä ja hemolysoituneiden näytteiden havaitseminen on tekniikan kehittymisen vuoksi helpottunut, liittyy aiheeseen edelleen paljon kehitettävää mm. käytännön näytteenotossa. Johtuen laskimoverinäytteitä ottavien henkilöiden taustojen ja koulutustason lisääntyvästä moninaisuudesta, asenteet nousevat yhä suurempaan asemaan laadukkaiden näytteiden saamisessa. Jokaisen näytteitä ottavan ja käsittelevän henkilön tulee tiedostaa riski, joka voi liittyä yksinkertaiselta tuntuvan asian, kuten suonen hakemisen, näytteelle aiheuttamiin laaturvirheisiin. Pahimmillaan voimakkaasti hemolysoitunut näyte ja siitä saatavat virheelliset analyysitulokset voivat aiheuttaa potilaalle hengenvaaran, mikä olisi vältettävissä vakioitua näytteenottomenetelmää käyttämällä.

Asiaa ei helpota se, että hemolyysiä ei pysty päällepäin sentrifugoimattomasta näytteestä tunnistamaan itse näytteenottotilanteessa, jolloin sen tilalle voisi helposti ottaa uuden laadukkaamman näytteen. Isoissa yksiköissä toimiessa näytteen jatkokäsittelijällä ei laboratorioissa ole mitään tietoa näytteenottoon mahdollisesti liittyneistä hankaluuksista, joten jokaisen näytteenottajan tulee tietää mihin parametreihin liittyy suurimmat riskit hemolyysin, ja myös muiden virhelähteiden, suhteen ja noudattaa erityistä huolellisuutta niiden osalta ja ottaa uusi näyte välittömästi eri pistolla, jos vaikeuksia näytteen saamisessa ilmenee. Toisaalta myöskään laboratorioissa hemolysoituneita näytteitä ei voida ohittaa ajatellen, että tämän tutkimuksen kohdalla hemolyysillä ei ole niin merkitystä, koska kyse voikin olla *in vivo* hemolyysistä, joka on tärkeä pystyä erottamaan *in vitro* hemolyysistä. Jos kaikki näytteet pystyttäisiin ottamaan vakioidusti, olisi laboratorioissakin helpompaa suhtautua jokaiseen hemolysoituneeseen näytteeseen sen vaatimalla painoarvolla.

Edelleen laboratorion henkilökunnan tulee ottaa huomioon näytteen pyyntöpaikan ja kiireellisyysluokituksen (päivystysnäytteet) aiheuttama oma vaateensa uusintänäytteen tarpeellisuuden suhteen. Laboratorioissa tulee olla selvät työohjeet esimerkiksi ensiavusta tulevien näytteiden osalta, kuinka toimia hemolysoituneen näytteen kanssa. Henkilökunnan pitää pystyä päättämään, voidaanko hoitavalle klinikalle toimittaa ripeästi edes jonkinlainen tutkimustulos, jonka lisätietoihin on liitetty kommentti tai arvio hemolyysin aiheuttamasta virheen suuruudesta. Kiireellisissä tapauksissa myös soitto ja konsultaatio voivat olla tarpeen. Tällöin klinikon ei tarvitse odotella uusintänäytteen ottoa ja analyysijä, mikä saattaa ääritapauksissa pelastaa potilaan hengen. Analysoitavien liputukset tulee siis tarpeen mukaan pystyä ohittamaan manuaalisesti maalaisjärkeä ja tarkkaa harkintaa käyttäen.

Esimerkiksi Cadamuron ym. (2017, 580) mukaan julkaisemattomassa pohjoismaisessa laaduntarkkailun kyselytutkimuksessa 72 % laboratorioista olisi kieltäytynyt vastaamasta 4,1 mmol/l kaliumtuloksen, koska tiesivät tuloksen olevan hemolyysin vuoksi 7 % koholla (mutta silti täysin viitearvojen sallimissa rajoissa). Kun tietoihin lisättiin, että kyseinen potilas oli 2-vuotias syöpäpotilas, jolta oli hankala saada näytettä, 43 % laboratorioista olisi edelleen kieltäytynyt vastaamasta klinikon pyynnöstä huolimatta hemolysoituneen näytteen antamaa tulosta.

Edellä kuvattu esimerkki osoittaa hyvin, miten eri tutkimusparametreille, joiden tiedetään olevan hemolyysille herkkiä, tarvitaan kullekin yksilölliset vapaan hemoglobiinin kynnyksarvot, joissa on otettu huomioon kyseisen analyysin kliininen merkitsevyytensä, jossa on edelleen huomioitu myös analyysin sisältämä biologinen vaihtelu. Suurimpien sallittavien poikkeamien eli kynnyksarvojen määrittäminen ei saisi pohjautua enää perinteiseen pitoisuuden (esim.  $\Delta 10\%$ ) sallittuun maksimivaihteluun. Käytännön kannalta tämä vaatii suuren määrän työtä ja tutkimusta, koska eri analyyseille ja mahdollisesti eri reagensseillekin pitäisi olla omat P-Hb (tai HI) kynnyksarvot eri analyyteille. Esimerkiksi Monneretin ym. (2015, 166) mukaan GGT:n kynnyksarvon voi nostaa Modular P800 analyyttorilla Roche'n suosittelemasta 2 grammasta/l ainakin 4,5 grammaan /l ja ALAT:n kynnyksarvon 0,6 grammasta/l 2,48 grammaan/l.

On selvää, että jokaisen hemolyysiherkän parametrin analysoinnin tulee tapahtua laitteella, jossa on koneellinen hemolyysiasteen tunnistus, koska ihmissilmän tapahtuva määrittäminen on epäluotettavaa (Simundic ym. 2009, 1364). Hemolyysiasteet, siihen liittyvät käsitteet (lievä, kohtalainen, voimakas jne.) ja yksiköt on yhtenäistettävä sekä laitteissa että tutkimuksissa ja esitettävä mieluummin numeerisina arvoina kuin semi-kvantitatiivisina indekseinä (Lippi ym. 2009, 938). Nykyinen kirjava käytäntö vaikuttaa aiheuttavan harmaita hiuksia jopa tutkijoille, mistä kielii tutkimusraporteista löytyneet selkeästi virheelliset arvot P-Hb pitoisuuksissa, saati sitten laboratorioille, joissa näytteiden laadun pitäisi arvioida nopeasti.

Laboratoriotutkimuksissa käytetyt viitearvot on hankittu käyttämällä vakioitua näytteenottotekniikkaa, joten kaikki poikkeamat tästä tekniikasta voivat aiheuttaa poikkeamia tuloksiin ja johtaa virheellisiin johtopäätöksiin ja vaarantaa potilasturvallisuuden. Näytteiden laadun parantamiseksi, näytteenoton vakioinnin tärkeyttä tulee koulutuksessa ja opastuksessa korostaa entistä enemmän (Holappa-Girginkaya & Mäkitalo 2018, 2). Etenkin laboratorion ulkopuolisen henkilökunnan asenteisiin täytyy saada iskostettua vakioitua näytteenottoon kuuluvat käytänteet. Ja jos vakioidusta näytteenottotavasta on jostain syystä poikettava, tulee sen aiheuttamat riskit tunnistaa ja pystyä

minimoimaan. Jos verinäytteet joudutaan ottamaan jostain syystä kanyylin kautta, tulee ne ottaa ruiskulla vakuumputkien sijaan, jolloin alipaine on säädeltävissä, eikä se pääse litistämään pehmeää kanyyliä ja aiheuttamaan hemolyysiä. Näytteenottotapahtuman laadukkuutta tulisi myös pystyä kontrolloimaan (Simundic, 1591).

Laskimoverinäytteenottoon liittyy monia myyttejä ja uskomuksia, jotka vuosikymmeniä sitten ovat hyvinkin voineet pitää paikkansa. Määritysmenetelmät ja näytteenottovälineet ovat kuitenkin kehittyneet ja tulevat kehittymään jatkossakin, joten näytteenottajien tulee saada mahdollisuus päivittää osaamistaan jatkuvasti. Esimerkiksi näytteenottoaikan puhdistukseen käytettävän alkoholin ei tarvitse nykytietämyksen valossa antaa enää kuivua, mikä auttaa lyhentämään kiristysiteen käyttöaika (Sharmah ym. 2016, 17; Lippi ym. 2017, 401). Myöskään putken vajaatäytöstä seurauksena oleva alipaine ei näytä hajottavan soluja, mikä tarkoittaa käytännössä sitä, ettei näyteputken korkkia tarvitse käyttää auki, vaikka putki jäisi vajaaksi (Lippi ym. 2012a). Myöskään putkijärjestyksellä ei suoraa neulaa ja vakuuminäyteputkia käytettäessä ole ehkä sellaista painoarvoa, kuin aiemmin on luultu (Salvagno ym. 2013, 2284).

Näytteenottoon liittyy edelleen useita vaiheita, joiden virheettömyys takaa näytteiden laadukkuuden. Tällaisia vakioituun näytteenottoon kuuluvia yksityiskohtia ovat mm. suonien löytäminen kertapistolla ja neulan pysyminen suonessa koko näytteenoton ajan, näytteenotto kyynärtaipeen isoista laskimoista esimerkiksi kämmenselän sijaan, maksimissaan minuutin kestävä kiristysiteen käyttö, oikeanlaiset välineet eli esim. sopiva neulakoko jne. Etenkin, jos näytteenottotarroissa ei lue näytteenottoon liittyviä ohjeita (kuten vältettävä hemolyysiä tai käytettävä kylmänäytteenottoa), on näytteenottaja vastuussa siitä, että tietää kunkin näytteen herkkyys eri virhelähteille tai jos tutkimus ei ole ennestään tuttu, niin on syytä tarkistaa siihen liittyvät kriittiset tiedot tutkimusohjekirjasta ennen näytteen ottoa.

Sanomattakin on selvää, että hemolyyttisiä sairauksia selviteltäessä näytteen tulee ehdottomasti olla vapaa in vitro hemolyysistä. Esimerkiksi plasman vapaan hemoglobiinin mittaauksessa näytteestä sentrifugoidaan ensin plasma ja solut erilleen ja eroteltu plasma sentrifugoidaan uudelleen ennen hemoglobiinimäärittystä, joten jos näytteenotto ei ole sujunut vakioidusti ja hajonneista punasoluista on päässyt hemoglobiinia plasman joukkoon, aiheuttaa se radikaalin virheen vapaan hemoglobiinin pitoisuuteen. Sen sijaan kokoveren hemoglobiinipitoisuutta (B-Hb) määritettäessä solut hajotetaan analysaattorin sisällä joka tapauksessa ja mitataan kokonaihemoglobiinin määrä,



jolloin näytteen in vitro hemolyysillä ei ole merkitystä, mutta tällöinkin esimerkiksi kiristysasteen käytössä on huomioitava ettei hemokonsentraatiota pääse esiintymään.

Mutta mitkä sitten ovat hemolyysille herkimpiä tutkimuksia eli mitkä näytteet erityisesti vaativat näytteenoton virheettömyyttä? Kirjallisuuskatsaukseni perusteella erityisen herkkiä hemolyysin vaikutuksille ovat sellaiset analyytit, joiden pitoisuus eroaa suuresti solujen sisä- ja ulkopuolella. Myös analyytit, joiden pitoisuuteen vaikuttavat solujen sisältä vapautuvat entsyymit ovat herkkiä hemolyysin vaikutuksille, kuten myös analyytit, joiden spektrofotometrinen mittausta tapahtuu samoilla aallonpituuksilla soluista vapautuneiden aineiden kanssa. Herkimpiä (P-Hb kynnysarvo alle 2 g/l) tutkimusparametreista ovat laktaattidehydrogenaasi, aspartaattiaminotransferaasi, bilirubiini (myös konjugaatit), kalium, adrenokortikotropiini, insuliini, kreatiiniinikinaasi, transferrinireseptori, epäorgaaninen fosfaatti, bikarbonaatti, haptoglobiini, folaatti, alkoholi ja ammoniumioni. Edelleen alle 3 g/l kynnysarvoja saivat rauta (jolle Jin ja Mengin tutkimuksessa saatiin jopa 0,4 g/l kynnysarvo), alaniiniaminotransferaasi, lipaasi ja troponiiniT (myös herkkä), sekä ristiriitaisin tuloksin myös proteiini, kolesteroli ja alkalinen fosfataasi. Aiemmin tutkitusta poiketen gammaglutamyyliitransferaasin P-Hb kynnysarvoa voitaneen nostaa 4,5 grammaan/l (Koseoglu ym. 2011) ellei jopa 6 grammaan/l (Ji & Meng, 2011).

Kaikkia edellä mainittuja analyyttejä ei voida pitää yleisimpiin kuuluvina, mutta ne päätyivät katsaukseen mukaan, koska samoissa tutkimuksissa oli käsitelty myös sellaisia analyyttejä, jotka mielestäni kuuluivat yleisimpien kliinisten tutkimusten joukkoon. Täysin vertailukelpoisia liitteen 1 taulukossakin ilmoitetut kynnysarvot eivät ole eri tutkimusten välillä, koska niissä käytetyt analysaattorit ja kliinisen merkitsevyyden määritelmät voivat poiketa toisistaan. Tämän vuoksi en pysty esittämään kullekin parametrille sopivaa kynnysarvoa, koska ne eivät ole yleistettävissä eli laboratorioskemistien täytyy ne itse tutkimuksilla selvittää tai etsiä valmiita laitekohtaisia luotettavia tutkimustuloksia. Erilaisten määrittämenetelmien ja merkitsevyyden laskentamenetelmien ero näkyy selvästi esimerkiksi raudan (Fe) P-Hb-kynnysarvojen toisistaan huomattavasti poikkeavista arvoista Jin ja Mengin (2011) ja Monneretin ym. (2015) tutkimuksissa (0,40 g/l vs 2,48 g/l).

Huomion arvoista oli hyytymistutkimusparametrien (PT, APTT ja Fibr) epäherkkyys hemolyysille, koska Lippin ym. aiemmassa tutkimuksessa (Lippi ym. 2006d) kliinisesti merkitseviä pitoisuusmuutoksia tavattiin PT:lle ja APTT:lle 1,7 g/l ja fibrinogeenille 3,4 g/l vapaan hemoglobiinin tasolla. Protrombiiniajan sijaan Suomessa tutkitaan tromboplastiiniajan INR (international ratio) muotoa,

mutta voitaneen olettaa, että hemolyysin hyytymistapahtumaa häiritsevä vaikutus olisi TT-INR tutkimuksissa vastaavanlaista kuin PT:lla. Selittävä ero tämän katsauksen hyytymistutkimusten ja Lippin ym. (2006d) välillä löytyy näytteen hemolyysien aikaansaamisessa eli näytteiden solujen mekaanisessa hajotuksessa ohuen neulan avulla verrattuna Lippin ym. (2006d) käyttämään hemolysaatin lisäys menetelmään. Neulalla tapahtuva hajotus havainnollistaa paremmin traumaattista näytteenottoa eli normaalia näytteen *in vitro* hemolyysiä, mikä vahvistaa käsitystä että hyytymistutkimukset eivät ole niin herkkiä hemolyysin vaikutuksille kuin aiemmin on luultu. Kynnysarvon nosto esimerkiksi Lippin ja Ippoliton (2014) ehdottamaan 3,6 g/l vähentäisi selvästi uusintänäytteiden tarvetta, koska suurin osa hyytymistutkimuksiin tulevista näytteistä menisi tämän rajan alle.

Hormonitutkimuksissa tuli yksimielisesti esille, että hemolyysi ja soluista vapautuvat aineet, kuten proteolyttiset entsyymit, vaikuttavat selvästi pienikokoisten hormonien eli esimerkiksi insuliinin ja ACTH:n määrää vähentävästi. Liveseyn ja Delamoren (2010) tutkimuksessa oli tutkittu myös maleimidien lisäyksen vaikutusta hormonipitoisuuden säilyvyyteen näytteissä. Hyöty ACTH:n kannalta jää kuitenkin vain tutkimuskäyttöön, koska laboratoriossa maleimidien lisäys olisi käytännössä mahdotonta. Sen käyttökelpoisuutta heikentää lisäksi se, että se itsessään hemolysoi näytettä. Vaikka insuliini sietää hemolyysiä hieman paremmin kuin ACTH, tuli tutkimustuloksia analysoidessa mieleen, että tulisiko insuliininkin osalta siirtyä kylmänäytteenottoon, joka Hartikaisen ja Joen (2013) sekä Liveseyn ja Dolamoren (2010) tutkimuksissa osoitti hidastavan hemolyysin hormoneja hajottavaa vaikutusta? Myöskään huoneenlämmössä seisotus ei tutkimustulosten mukaan ole hormoninäytteille suotavaa, jos näyte on vähääkään hemolysoitunut, mitä ei siis pysty visuaalisesti aina havaitsemaan.

Hartikaisen ja Joen tutkimuksen suurin hemolyysitaso (15 g/l) oli mielestäni turhan korkea eli alhaisemmasta esim. 3 – 5 g/l hemolyysiasteen omaavasta näytteestä olisi ollut enemmän hyötyä tutkimuksen kannalta. Lisäksi heidän tutkimuksestaan ei löytynyt muuta raporttia kuin lehtiartikkeli, jonka perusteella moni asia (mm. näytteenottotapa ja viive näytteenoton ja sentrifugoimisen välillä) jäi oletusasteelle. He mm. totesivat, että näytteiden insuliiniaktiivisuudet pysyivät inkubaatioajoista huolimatta muuttumattomina tietyillä hemolyysiasteilla, mutta kuvaajista ol todettavissa yli 10% ero hemolysoitumattomiin näytteisiin verrattuna jo heti säilytyksen alkutilanteessa, vaikka insuliinipitoisuudet pysyivätkin tasaisina tämän jälkeen. Täten merkittävin johtopäätös, mitä heidän tutkimuksestaan voidaan vetää on, että jo 0,5 g/l hemolyysitaso aiheuttaa kliinisesti merkitsevän laskun (13%) insuliiniaktiivisuuteen, vaikka näytteen analysointi tapahtuisikin viiveettä.

Sağlamin tutkimuksessa ei kerrottu minkälainen muutos PSA-arvoissa olisi ollut kliinisesti merkitsevä eli vaikuttaisiko 26G neulalla, jatkuvalla kiristysiteen käytöllä ja näytteen ylipaineistetulla siirrolla näyteputkeen saavutettu 7% pitoisuuden lasku kliinisesti merkitsevästi klinikon päätöksentekoon? Artikkelissa ei ollut myöskään ilmoitettu näytteiden vapaan hemoglobiinin tasoja, mutta kaliium pitoisuuden (jonka on todettu olevan suoraan verrannollinen suure hemolyysiasteen kanssa) ja Goyalin ym. (2015) tuloksiin perustuvan interpoloinnin perusteella sain alhaisemmalle hemolyysitasolle n. 6 g/l P-Hb vastaavuuden. Täten normaalinäytteissä PSA:n arvo ei luultavasti muuttuisi niin paljoa, että lievistä hemolyysistä kannattaisi olla huolissaan PSA tutkimusten osalta.

Lippin ym. (2011b ja 2012a) molemmissa verenkuvatutkimuksissa päänvaivaa aiheutti tutkimusraportteihin kirjatut ohuen neulan avulla aspiroimalla saavutetut hemolyysitasot. Asiaa aikani tutkailtuani tulin siihen johtopäätökseen, että Lippin ym. (2011b) tutkimuksessa samoin kuin Lippin ym. (2011a) troponiinitutkimuksessa tutkijoille oli täytynyt sattua yksikkömuunnoksissa pilkkuvirhe eli vapaan hemolyysin pitoisuus oli ilmoitettu kymmenkertaisena sen todelliseen pitoisuuteen nähden. Tällöin tutkimuksissa saavutetut hemolyysitasot vastaisivat suurin piirtein muiden ohuella neulalla mekaanisesti saavutettujen hemolyysitasojen arvoja taulukon 4 mukaisesti, lukuunottamatta Lippin ja Ippoliton tutkimusta (2014), jonka poikkeaville hemolyysiasteille en keksinyt mitään ilmeistä syytä. Näitä taulukossa ilmoitettuja korjattuja arvoja olen käyttänyt myös liitteen 1 taulukon tuloksissa.

TAULUKKO 4. Tutkimusten P-Hb pitoisuus (g/l) ohutneula-aspiraatiomenetelmää käytettäessä

Aspiraatioiden lkm	1	2	3	4	5	6	10 tai 12
Lippi & Ippolito	2,40	2,89	3,62				
Lippi ym. 2011a <sup>1)</sup>	0,95-1,6	1,65-2,95					
Lippi ym. 2011b <sup>1)</sup>	0,70	1,40	2,20	2,90	3,70		
Lippi ym. 2012a					4,0-4,5		9-9,5 <sup>2)</sup>
Tang ym.*	0,5-1,0					2,0-6,0	7,02 <sup>3)</sup>

\* Neulana käytetty 25G neulaa, muissa 30G

<sup>1)</sup> alkuperäiset tulokset jaettu kymmenellä; <sup>2)</sup> 10 aspiraatiota; <sup>3)</sup> 12 aspiraatiota

Toisaalta Lippin ym. (2012a) tutkimuksenkin arvot vastaisivat paremmin Lippin ym. (2012b, 8) kirjassa esitettyä jaottelua, jos senkin P-Hb arvot jaettaisiin kymmenellä, koska he ovat käyttäneet 4-

4,5 g/l vapaata hemoglobiinia sisältävästä tasosta tutkimusartikkelissaan nimitystä lievästi (mildly) hemolysoitunut (johon 0,4 g/l kuuluisi) ja 9-9,5 g/l sisältävästä nimitystä selvästi (frankly) hemolysoitunut (johon 0,9 g/l sisältävä näyte kirjan mukaan kuuluisi). Jo yli 3 g/l P-Hb arvon omaavaa näytettä tulisi Lippin ym. (2012b, 8) mukaan kutsua vahvasti (grossly) hemolysoituneeksi. Tarkasteltaessa Beckman Coulter DxC analysaattorin antamia hemolyysi-indeksejä, Lippin ym. 2011b tutkimuksessa yhden aspirointikerran jälkeen laite antoi hemolyysi-indeksiksi 15, mutta Lippin 2012a tutkimuksessa lähes vastaavaan hemolyysi-indeksiin (19,1) samalla analysaattorilla päästiin vasta kymmenellä aspiraatiolla, mikä viittaisi siihen, että kaikissa muissa taulukon 4 tutkimuksissa pitäisi arvot jakaa edelleen kymmenellä. Tämä jos mikä vahvistaa käsitystäni siitä, että hemolyysi-indeksien käytössä ja merkitsemistavoissa tarvitaan pikaista käytäntöjen yhtenäistämistä.

Kun ottaa huomioon Lippin ym. 2011b tutkimuksessa sattuneen virheen tulosten kirjaamisessa, vaikuttaa siltä, että hemolyysi lisää sekä punasolujen keskimääräistä hemoglobiinipitoisuutta (E-MCH) että hemoglobiinikonsentraatiota (E-MCHC) ja verihiutaleiden määrää ja kokoa. Valkosoluista hemolyysi lisää basofiilien, monosyyttien sekä ns. LUC-solujen (large unstained cells, käsitteää tavallisesti mm. suuret ja reaktiiviset lymfosyytit, monosyytit ja blastit) määrää. Sen sijaan valkosolujen kokonaismäärä oli kummassakin verenkuvatutkimuksessa lievästi laskemaan päin, mikä todennäköisesti tarkoittaa sitä, että myös valkosoluja hajooa punasolujen lisäksi ohutneulakäsittelyssä. Solujen lyysaus aiheutti näytteissä loogisesti myös punasolujen vähenemistä, hematokriitin laskua sekä punasolujen koon pienenemistä, mutta ei vaikuttanut kokoveren hemoglobiinimäärään. Verenkuvatutkimuksetkin kuuluvat siksi huolella otettavien näytteiden joukkoon, koska ne määritetään kokoverestä, jonka hemolyysiä ei voi päälle päin havaita.

### **7.3 Ammatillinen kasvu**

Haastavinta opinnäytetyön tekemisessä oli suunnitellusta aikataulusta kiinni pitäminen. Projektin venyminen puolella vuodella ei johtunut kuitenkaan työskentelyn tehottomuudesta, vaan sairastelukierteestä, joka alkoi kesällä 2018 ja on kestänyt tähän mennessä yli 10 kuukautta. Tarkoitukseni oli saada opinnäytetyö tehtyä viimeisen harjoittelun jälkeen eli syys-joulukuussa 2018. Sairastelun ja unettomuuden vuoksi pääsin aloittamaan työskentelyn vasta helmikuussa 2019. Ennakoon kaavailmani aihekin vaihtui siinä välissä seuraavan sukupolven sekvenssoinnista (NGS) hemolyysiin, koska tunsin, että en pystyisi tässä tilassa käsittelemään liian vaikeatajuista aihetta. Hemolyysin valitsin aiheeksi tarkasteltuani uusimpia tutkimuksia ja etsimällä aihetta, joka olisi paitsi

kiinnostava, myös hyödyllinen tuntee syvällisemmin kuin mitä opiskelujen aikana siitä on irti saanut. Oma hankaluutensa oli projektin sovittamisessa yksinhuoltajaäidin arkeen, mikä tarkoitti työskentelyä vain aamu- ja iltapäivisin lasten ollessa päiväkodissa ja koulussa.

Olisi ollut henkisesti varmasti helpompaa tehdä työtä yhdessä opiskelijatoverin/tovereiden kanssa, mutta ajankäytöllisesti se ei onnistunut, koska muilla oli kursseja ja/tai harjoitteleja kesken, joita itse olin saanut aikaistettua. Päätin jo opintojen alkuvaiheessa, että teen ensin muut kurssit alta pois ja keskityn sen jälkeen ainoastaan opinnäytetyöhön, jolloin se olisi mahdollista saada nopeammin valmiiksi, eikä aikaa kuluisi niin paljon kertaamiseen eli siihen että saa taas ajatukset virtaamaan. Projektina opinnäytetyö ei sinällään ollut liian haastavaa, olihan minulla takana jo pro gradu- tutkielman tekeminen aiempien opintojen yhteydessä. Yllätyin kuitenkin siitä, kuinka paljon hyödyllistä tietoa tutkimuksista löytyi tulevaa bioanalyytikon ammattia silmällä pitäen eli mitä kaikkea koulussa jää tärkeistä asioista oppimatta.

#### **7.4 Jatkotutkimusehdotuksia / kehittämishaasteita**

Ensimmäinen ja ratkaisevan tärkeä kehityskohde, johon olisi puututtava, on hemolyysiin liittyvien käsitteiden, yksiköiden ja tutkimuskäytänteiden yhtenäistäminen. Tällöin hemolyysiin liittyvien tutkimusten tulokset olisivat helpommin sovellettavissa laboratorioiden käytäntöihin ja erityisesti kynnysarvojen määrittämiseen. Erityisesti laitevalmistajilta tulisi vaatia enemmän yhteistyötä laboratorioiden ja toisten laitevalmistajien kanssa. Tarvitaan siis tarkempia tutkimuksia erilaisten virhelähteiden kynnysarvoille niille herkiksi havaittujen analyyttien osalta. Vasta tämän ja kliinisten merkitsevyytasojen laskentamenetelmien yhtenäistämisen jälkeen tiedetään, minkä parametrien osalta kaivataan lisää tutkimusta. Kehitystyötä voitaisiin kohdistaa myös määritysmenetelmiin yrittämällä löytää keino eliminoida / poistaa näytteistä fotometrissä häirintää aiheuttavia aineita, sikäli kun tällaista kehitystyötä ei ole jo suunnitteilla tai kehitteillä.

Näytteenottoa ajatellen tärkeimmät kehityskohteet ovat laboratorion ulkopuolisten näytteenottajien koulutuksen ja näytteenottoharjoituksen lisääminen sekä asenteisiin vaikuttaminen. Näytteenotto tapahtumia olisi hyvä pystyä myös jotenkin valvomaan esimerkiksi ”pistokokein” kokeneiden ammattilaisten toimesta. Bioanalytytikot voisivat myös järjestää koulutustilaisuuksia muille näytteenottoa harjoittaville ammattikunnille, jos heidän koulutukseensa ei muuten saada lisättyä näytteenottoharjoittelua opinahjon puolesta.

## LÄHTEET

Ahonen, S.-M., Jääskeläinen, P., Kangasniemi, M., Liikanen, E., Pietilä, A.-M. ja Utriainen, K. 2013. Kuvaileva kirjallisuuskatsaus: eteneminen tutkimuskysymyksestä jäsenettyyn tietoon. Sairaanhoidajien koulutussäätiö. *Hoitotiede* 25 (4), 291-301. Viitattu 18.3.2019. <https://search.proquest.com/openview/ed57a64622d13d705c3b8500b77e5af0/1?pq-origsite=gscholar&cbl=406341>

Bailey, I. R. & Thurlow, V. R. 2008. Is suboptimal phlebotomy technique impacting on potassium results for primary care? *Annals of Clinical Biochemistry* 45 (3), 266-269.

Bais, R. 2010. The effect of sample hemolysis on cardiac troponin I and T assays. *Clinical chemistry* 56 (8), 1357-1359.

Barnaby, D. P., Wollowitz, A., White, D., Pearlman, S., Davitt, M., Holihan, L., Bijur, P. & Gallagher, E. J. 2016. Generalizability and effectiveness of butterfly phlebotomy in reducing hemolysis. *Academic Emergency Medicine* 23 (2), 204-207.

Burns, E. R. & Yoshikawa, N. 2002. Hemolysis in serum samples drawn by emergency department personnel versus laboratory phlebotomists. *Laboratory Medicine* 33 (5), 378-380.

Cadamuro, J., Simundic, A., Ajzner, E. & Sandberg, S. 2017. A pragmatic approach to sample acceptance and rejection. *Clinical biochemistry* 50 (10), 579-581.

Carraro, P., Servidio, G. & Plebani, M. 2000. Hemolyzed specimens: a reason for rejection or a clinical challenge? *Clinical chemistry* 46 (2), 306-307.

Cook, P. R., Glenn, C. & Armston, A. 2010. Effect of hemolysis on insulin determination by the Beckman Coulter Unicell DXI 800 immunoassay analyzer. *Clinical Biochemistry* 43 (6), 621-622.

Cox, S. R., Dages, J. H., Jarjoura, D. & Hazelett, S. 2004. Blood samples drawn from IV catheters have less hemolysis when 5-mL (vs 10-mL) collection tubes are used. *Journal of emergency nursing* 30 (6), 529-533.

D'angelo, G., Villa, C., Tamborini, A. & Villa, S. 2015. Evaluation of the main coagulation tests in the presence of hemolysis in healthy subjects and patients on oral anticoagulant therapy. *International journal of laboratory hematology* 37 (6), 819-833.

Darcy, T. P., Barasch, S. P., Souers, R. J. & Perrotta, P. L. 2016. Test cancellation: a college of American Pathologists Q-probes study. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 140 (2), 125-129.

Daves, M., Luca Salvagno, G., Cemin, R., Gelati, M., Cervellin, G., Cesare Guidi, G. & Lippi, G. 2012. Influence of hemolysis on routine laboratory cardiac marker testing. *Clinical laboratory* 58 (3), 333-336.

Dimeski, G., Clague, A. E. & Hickman, P. E. 2005. Correction and reporting of potassium results in haemolysed samples. *Annals of Clinical Biochemistry* 42 (2), 119-123.

Dolci, A. & Panteghini, M. 2014. Harmonization of automated hemolysis index assessment and use: is it possible? *Clinica Chimica Acta* 432, 38-43.

European Preanalytical Scientific Committee. 2012. Preanalytical Flow Charts. Factors Affecting Haemolysis. Viitattu 26.3.2019. [www.specimencare.com/main.aspx?cat=711&id=3031](http://www.specimencare.com/main.aspx?cat=711&id=3031)

Florkowski, C., Wallace, J., Walmsley, T. & George, P. 2010. The effect of hemolysis on current troponin assays—a confounding preanalytical variable? *Clinical chemistry* 56 (7), 1195-1197.

Forsman, R. W. 1996. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? *Clinical chemistry* 42 (5), 813-816.

Gambino, R., Sanfilippo, M. & Lazcano, L. 2009. Pseudohyperkalaemia from finger flexion during venepuncture masks true hypokalaemia. *Annals of Clinical Biochemistry* 46 (2), 177.

Garinet, S., Fellahi, S., Marlin, G., Capeau, J., Lefèvre, G. & Bastard, J. 2014. Differential interferences of hemoglobin and hemolysis on insulin assay with the Abbott Architect®-Ci8200 immunoassay. *Clinical biochemistry* 47 (6), 445-447.

Goyal, T. & Schmotzer, C. L. 2015. Validation of hemolysis index thresholds optimizes detection of clinically significant hemolysis. *American Journal of Clinical Pathology* 143 (4), 579-583.

Grant, M. S. 2003. The effect of blood drawing techniques and equipment on the hemolysis of ED laboratory blood samples. *Journal of Emergency Nursing* 29 (2), 116-121.

Green, S. F. 2013. The cost of poor blood specimen quality and errors in preanalytical processes. *Clinical biochemistry* 46 (13-14), 1175-1179.

Hallworth, M. J. 2011. The '70% claim': what is the evidence base? *Annals of clinical biochemistry* 48 (6), 487-488.

Hartikainen, H. & Joki, A. 2013. Seerumin hemolyysin vaikutus insuliinituloksiin. *Kliinlab* 30 (4), 60-62.

Heireman, L., Van Geel, P., Musger, L., Heylen, E., Uyttenbroeck, W. & Mahieu, B. 2017. Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory. *Clinical Biochemistry* 50 (18), 1317-1322.

Heyer, N. J., Derzon, J. H., Wings, L., Shaw, C., Mass, D., Snyder, S. R., Epner, P., Nichols, J. H., Gayken, J. A., Ernst, D. & Liebow, E. B. 2012. Effectiveness of practices to reduce blood sample hemolysis in EDs: A laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis. *Clinical biochemistry* 45 (13), 1012-1032.



Holappa-Girginkaya, J. & Mäkitalo, O. 2018. Developing educational content about the preanalytical phase of the total testing process for non-laboratory healthcare personnel. *International Journal of Biomedical Laboratory Science* 7 (1&2), 1-8.

Ji, J. Z. & Meng, Q. H. 2011. Evaluation of the interference of hemoglobin, bilirubin, and lipids on Roche Cobas 6000 assays. *Clinica Chimica Acta* 412 (17), 1550-1553.

Kennedy, C., Angermuller, S., King, R., Noviello, S., Walker, J., Warden, J. & Vang, S. 1996. A comparison of hemolysis rates using intravenous catheters versus venipuncture tubes for obtaining blood samples. *Journal of Emergency Nursing* 22 (6), 566-569.

Killilea, D. W., Rohner, F., Ghosh, S., Otoo, G. E., Smith, L., Siekmann, J. H. & King, J. C. 2017. Identification of a hemolysis threshold that increases plasma and serum zinc concentration. *The Journal of nutrition* 147 (6), 1218-1225.

Koseoglu, M., Hur, A., Atay, A. & Cuhadar, S. 2011. Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters. *Biochemia medica: Biochemia medica* 21 (1), 79-85.

Lima-Oliveira, G., Lippi, G., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Gelati, M., Volanski, W., Boritiza, K. C., Picheth, G. & Guidi, G. C. 2013. Effects of vigorous mixing of blood vacuum tubes on laboratory test results. *Clinical biochemistry* 46 (3), 250-254.

Lima-Oliveira, G., Volanski, W., Lippi, G., Picheth, G. & Guidi, G. C. 2017. Pre-analytical phase management: a review of the procedures from patient preparation to laboratory analysis. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 77 (3), 153-163.

Lippi, G. 2015. Systematic assessment of the hemolysis index: pros and cons. *Advances in clinical chemistry*. G. Makowski. *Advances in Clinical Chemistry*. Elsevier, 157-170.

Lippi, G., Avanzini, P., Dipalo, M., Aloe, R. & Cervellin, G. 2011a. Influence of hemolysis on troponin testing: studies on Beckman Coulter UniCel Dxl 800 Accu-Tnl and overview of the literature. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 49 (12), 2097-2100.

Lippi, G., Avanzini, P., Pavesi, F., Bardi, M., Ippolito, L., Aloe, R. & Favaloro, E. J. 2011b. Studies on in vitro hemolysis and utility of corrective formulas for reporting results on hemolyzed specimens. *Biochemia medica: Biochemia medica* 21 (3), 297-305.

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., Cervellin, G., Favaloro, E. J. & Plebani, M. 2012b. In vitro and in vivo hemolysis: an unresolved dispute in laboratory medicine. Berlin. W. de Gruyter GmbH & co.

Lippi, G., Giavarina, D., Gelati, M. & Salvagno, G. L. 2014. Reference range of hemolysis index in serum and lithium-heparin plasma measured with two analytical platforms in a population of unselected outpatients. *Clinica Chimica Acta* 429, 143-146.

Lippi, G. & Guidi, G. C. 2007. Risk management in the preanalytical phase of laboratory testing. *Clinical Chemical Laboratory Medicine* 45 (6), 720-727.

Lippi, G., Guidi, G. C., Mattiuzzi, C. & Plebani, M. 2006f. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clinical chemistry and laboratory medicine* 44 (4), 358-365.

Lippi, G. & Ippolito, L. 2014. Interference of spurious haemolysis on prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and fibrinogen. *New Zealand Journal of Medical Laboratory Science* 68 (2), 52-54.

Lippi, G., Mattiuzzi, C. & Favaloro, E. J. 2015. Pre-analytical variability and quality of diagnostic testing. Looking at the moon and gazing beyond the finger. *New Zealand Journal of Medical Laboratory Science* 69 (1), 4-8.

Lippi, G., Montagnana, M., Salvagno, G. L. & Guidi, G. C. 2006d. Interference of blood cell lysis on routine coagulation testing. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 130 (2), 181-184.

Lippi, G., Musa, R., Avanzini, P., Aloe, R., Pipitone, S. & Sandei, F. 2012a. Influence of in vitro hemolysis on hematological testing on Advia 2120. *International journal of laboratory hematology* 34 (2), 179-184.

Lippi, G., Musa, R., Battistelli, L. & Cervellin, G. 2012c. Relationship between sampling volume of primary serum tubes and spurious hemolysis. *Clinical laboratory* 58 (11), 1187-1191.

Lippi, G., Salvagno, G. L., Blanckaert, N., Giavarina, D., Green, S., Kitchen, S., Palicka, V., Vassault, A. J. & Plebani, M. 2009. Multicenter evaluation of the hemolysis index in automated clinical chemistry systems. *Clinical chemistry and laboratory medicine* 47 (8), 934-939.

Lippi, G., Salvagno, G. L., Brocco, G. & Guidi, G. C. 2005. Preanalytical variability in laboratory testing: influence of the blood drawing technique. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 43 (3), 319-325.

Lippi, G., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Banfi, G. & Guidi, G. C. 2007. Evaluation of different mixing procedures for K2 EDTA primary samples on hematological testing. *Laboratory Medicine* 38 (12), 723-725.

Lippi, G., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Brocco, G. & Guidi, G. C. 2006a. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 44 (3), 311-316.

Lippi, G., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Brocco, G. & Guidi, G. C. 2006c. Influence of the needle bore size used for collecting venous blood samples on routine clinical chemistry testing. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 44 (8), 1009-1014.

Lippi, G., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Franchini, M. & Guidi, G. C. 2006e. Phlebotomy issues and quality improvement in results of laboratory testing. *Clinical laboratory* 52 (5-6), 217-230.

Lippi, G., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Poli, G. & Guidi, G. C. 2006b. Influence of the needle bore size on platelet count and routine coagulation testing. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 17 (7), 557-561.

Lippi, G., Simundic, A., Musile, G., Danese, E., Salvagno, G. & Tagliaro, F. 2017. The alcohol used for cleansing the venipuncture site does not jeopardize blood and plasma alcohol measurement with head-space gas chromatography and an enzymatic assay. *Biochemia medica* 27 (2), 398-403.

Livesey, J. H., Dolamore, B. 2010. Stability of plasma adrenocorticotrophic hormone (ACTH): Influence of hemolysis, rapid chilling, time, and the addition of a maleimide. *Clinical Biochemistry* 43 (18), 1478-1480.

Makhumula-Nkhoma, N., Whittaker, V. & McSherry, R. 2015. Level of confidence in venepuncture and knowledge in determining causes of blood sample haemolysis among clinical staff and phlebotomists. *Journal of Clinical Nursing* 24 (3-4), 370-385.

Milutinović, D., Andrijević, I., Ličina, M. & Andrijević, L. 2015. Confidence level in venipuncture and knowledge on causes of in vitro hemolysis among healthcare professionals. *Biochemia medica: Biochemia medica* 25 (3), 401-409.

Monneret, D., Mestari, F., Atlan, G., Corlouer, C., Ramani, Z., Jaffre, J., Dever, S., Fressart, V., Alkouri, R. & Lamari, F. 2015. Hemolysis indexes for biochemical tests and immunoassays on Roche analyzers: determination of allowable interference limits according to different calculation methods. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 75 (2), 162-169.

Mäkitalo, O. & Holappa-Girginkaya, J. 2016. Turvallisuuskulttuuria edistävän näytteenotokoulutuksen juurruttaminen moniammatilliseen yhteistyöhön. *Moodi* 39 (3-4), 114-115.

Mäkitalo, O. & Liikanen, E. 2013. Improving quality at the preanalytical phase of blood sampling. Literature review. *Journal of Biomedical Laboratory Science* 2 (1), 7-16.

Natali, R., Wand, C., Doyle, K. & Noguez, J. H. 2018. Evaluation of a new venous catheter blood draw device and its impact on specimen hemolysis rates. *Practical laboratory medicine* 10, 38-43.

Nordlab 2019. Tutkimusohjekirja. Hemoglobiini, plasmasta. Viitattu 21.3.2019. [oyslab.fi/ohjekirja/1554.html](https://oyslab.fi/ohjekirja/1554.html)

Phelan, M. P., Reineks, E. Z., Berriochoa, J. P., Schold, J. D., Hustey, F. M., Chamberlin, J. & Kovach, A. 2017a. Impact of Use of Smaller Volume, Smaller Vacuum Blood Collection Tubes on Hemolysis in Emergency Department Blood Samples. *American Journal of Clinical Pathology* 148 (4), 330-335.

Phelan, M. P., Reineks, E. Z., Schold, J. D., Hustey, F. M., Chamberlin, J. & Procop, G. W. 2017b. Preanalytic Factors Associated With Hemolysis in Emergency Department Blood Samples. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 142 (2), 229-235.

Plebani, M. 2010. The detection and prevention of errors in laboratory medicine. *Annals of Clinical Biochemistry* 47 (2), 101-110.

Puelacher, C., Twerenbold, R., Mosimann, T., Boeddinghaus, J., Gimenez, M. R., Wildi, K., Jaeger, C., Reichlin, T., Schneider, J. & Honegger, U. 2015. Effects of hemolysis on the diagnostic accuracy of cardiac troponin I for the diagnosis of myocardial infarction. *International journal of cardiology* 187, 313-315.

Saleem, S., Mani, V., Chadwick, M. A., Creanor, S. & Ayling, R. M. 2009. A prospective study of causes of haemolysis during venepuncture: tourniquet time should be kept to a minimum. *Annals of Clinical Biochemistry* 46 (3), 244-246.

Salminen, A. 2011. Mikä kirjallisuuskatsaus? Vaasan yliopiston opetusjulkaisu. Viitattu 18.3.2019. [https://www.univaasa.fi/materiaali/pdf/isbn\\_978-952-476-349-3.pdf](https://www.univaasa.fi/materiaali/pdf/isbn_978-952-476-349-3.pdf)

Salvagno, G., Lima-Oliveira, G., Brocco, G., Danese, E., Guidi, G. C. & Lippi, G. 2013. The order of draw: myth or science? *Clinical chemistry and laboratory medicine* 51 (12), 2281-2285.

Sarmah, D., Sharma, B., Sharma, D. & Mathew, S. 2016. Alcohol used as disinfectant before venipuncture does not lead to sample haemolysis or sample dilution. *Journal of clinical and diagnostic research* 10 (2), 16-18.

Sağlam, H. S., Köse, O., Özdemir, F. & Adsan, Ö. 2012. Effect of heamolysis on prostate-specific antigen. *International Scholarly Research Network Urology* 2012. 1-4.

SFS-EN ISO 15189/Korjaus:2017. Lääketieteelliset laboratoriot. Laatu ja pätevyyttä koskevat vaatimukset. Medical laboratories. Requirements for quality and competence. Suomen Standardisoimisliitto SFS. Sisäinen lähde. Viitattu 1.4.2019. <https://online.sfs.fi/fi/index/tuotteet/SFS/CENISO/ID2/1/568553.html.stx>

Shin, D. H., Kim, J., Uh, Y., Lee, S. I., Seo, D. M., Kim, K. S., Jang, J. Y., Lee, M. H., Yoon, K. R. & Yoon, K. J. 2014. Development of an integrated reporting system for verifying hemolysis, icterus, and lipemia in clinical chemistry results. *Annals of laboratory medicine* 34 (4), 307-312.

Simundic, A., Cornes, M., Grankvist, K., Lippi, G., Nybo, M., Kovalevskaya, S., Sprongl, L., Sumarac, Z. & Church, S. 2013. *Clinical chemistry and laboratory medicine* 51 (8), 1585-1593.

Simundic, A. M., Nikolac, N., Ivankovic, V., Ferenec-Ruzic, D., Magdic, B., Kvaternik, M. & Topic, E. 2009. Comparison of visual vs. automated detection of lipemic, icteric and hemolyzed specimens: can we rely on a human eye? *Clinical chemistry and laboratory medicine* 47 (11), 1361-1365.

Sinert, R. 2016. Do We Need to Repeat a Potassium After a Hemolyzed Sample? Maybe? *Journal of Emergency Medicine* 51 (3), 71-72.

Stauss, M., Sherman, B., Pugh, L., Parone, D., Looby-Rodriguez, K., Bell, A. & Reed, C. 2012. Hemolysis of Coagulation Specimens: A Comparative Study of Intravenous Draw Methods. *Journal of Emergency Nursing* 38 (1), 15-21.

Sylte, M. S., Wentzel-Larsen, T. & Bolann, B. J. 2013. Random variation and systematic error caused by various preanalytical variables, estimated by linear mixed-effects models. *Clinica Chimica Acta* 415, 196-201.

Tang, N., Jin, X., Sun, Z. & Jian, C. 2017. Effects of hemolysis and lipemia interference on kaolin-activated thromboelastography, and comparison with conventional coagulation tests. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 77 (2), 98-103.

Thomas, L. 2002. Haemolysis as influence & interference factor. *The Journal of The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 13 (4), 95-98.

van Beers, E. J., Schaap, M. C., Berckmans, R. J., Nieuwland, R., Sturk, A., van Doormaal, F. F., Meijers, J. C. & Biemond, B. J. 2009. Circulating erythrocyte-derived microparticles are associated with coagulation activation in sickle cell disease. *Haematologica* 94 (11), 1513-1519.

Wolf, J., Haendel, N., Remmler, J., Kutzner, C. E., Kaiser, T. & Mothes, T. 2018. Hemolysis and IgA-antibodies against tissue transglutaminase: When are antibody test results no longer reliable? *Journal of clinical laboratory analysis* 32 (4), 1-6.

Wollowitz, A., Bijur, P. E., Esses, D. & John Gallagher, E. 2013. Use of butterfly needles to draw blood is independently associated with marked reduction in hemolysis compared to intravenous catheter. *Academic Emergency Medicine* 20 (11), 1151-1155.

Woolley, A., Golmard, J. & Kitchen, S. 2016. Effects of haemolysis, icterus and lipaemia on coagulation tests as performed on Stago STA-Compact-Max analyser. *International journal of laboratory hematology* 38 (4), 375-388.

Tutkimuksen tekijä(t), maa, julkaisu vuosi	Metodologiset lähtökohdat	Keskeiset tulokset
1 Ji & Meng, Kiina, 2011	Ei tietoa replikaattien tai ajojen määrästä eikä hemolyysiasteista. Tiedoista ei myöskään selviä mitä analyysimenetelmää Cobas 6000 valikoimasta kullekin analytyille on käytetty. Tulosta pidetty kliinisesti merkitsevästä kun $\Delta > 10\%$ vertailuarvosta.	Kliinisesti merkitsevä kasvu (P-Hb kynnysarvo, g/l): <b>ASAT</b> (0.4), <b>Fe</b> (0.4), <b>LD</b> (0.41), <b>TfR</b> (0.5), <b>Bil</b> (0.8), <b>K</b> (2.0), <b>NH<sub>4</sub>-ioni</b> (2.0), <b>P<sub>i</sub></b> (2.0), <b>ALAT</b> (2.35), <b>Lipaa</b> (3.0), <b>CK</b> (4.0), <b>Prealb</b> (4.0), <b>Kol</b> (6.0), <b>Prot</b> (7.41). Kliin. Merk. lasku: <b>Bil-kj</b> (0.4), <b>Haptog</b> (1.18), <b>HCO<sub>3</sub></b> (1.3), <b>Alko</b> (2.0), <b>RF</b> (2.0), <b>AFOS</b> (2.35), <b>GGT</b> (6.0).
2 Koseoglu ym., Turkki, 2011	Näytteet 16 terveeltä vapaaehtoiselta. Näytteiden lysaus mekaanisesti ruiskulla. 5 eri hemolyysiastetta: I: 0 - 0.1 g/l (non-hemolyzed, N = 15); II: 0.10 - 0.50 g/l (slightly hemol., N = 12); III: 0.51 - 1.00 g/l (mildly hemol., N = 10); IV: 1.01 - 2.50 g/l (moder. hemol., N = 15); V: 2.51 - 4.5 g/l (severely hemol., N = 12).	<b>LD ja ASAT</b> : P-Hb häiritsee jo $< 0.50$ g/l pitoisuuksina. <b>P<sub>i</sub></b> nousi, kun P-Hb $> 0.51$ g/l. <b>K ja Bil</b> : kliinisesti merkitseviä poikkeamia, kun P-Hb $> 1$ g/l. <b>ALAT ja GGT</b> : vain suuret (2.51 - 4.5 g/l) P-Hb pitoisuudet vaikuttivat merkitsevästi. <b>Alb, AFOS, Amyl, Cl, HDL, CK, Gluk, Mg, Prot, Trigly, TfR, Uraat</b> : tilastollisesti, mutta ei kliinisesti merkitseviä poikkeamia.
3 Goyal & Schmotzer, Yhdysvallat, 2015	Tarkasteltu avohoitopotilailta joko 6 kk: K (N = 45661) ja ASAT (N = 38671) tai 12 kk: Mg (N = 13030) ja LD (N = 6348) aikana saatuja analyysituloksia. Näytteet jaoteltu 8 ryhmään Siemens Dimension Vista analysaattorin HI perusteella. Verrattu ryhmäkohtaisia keskiarvoja, keskihajontoja ja viitearvoista poikkeavien tulosten esiintyvyyksiä. Kliin. merkitsev. TAE (total allowable error) -arvoista.	Kaikkien analyttien pitoisuus muuttui tilastoll. merkitsevästi hemolyysiasteen myötä. <b>Mg</b> : pitoisuuden kasvu epäohdonmukaista. <b>K</b> : Laitevalmistajan suositaman HI:n kynnysarvon voi nostaa 0.26 g/l $\rightarrow$ 0.51 g/l, jolloin hemolysoituneiksi luokiteltujen näytteiden osuus laskee 3.4%:sta 1.1%:iin. <b>ASAT ja LD</b> : kliinisesti merkitsevä pitoisuuden kasvu tavattiin HI:n kynnysarvolla 0.5 g/l.
4 Monneret ym., Ranska, 2015	Hemolysaatin lisäysmenetelmä. Häiriötekijät (lipeem., ikteer.) eliminoitu. P-Hb mittaus duplikaateista, 2 aallonpituudella (570 ja 600nm), 2 laitteella. Kolme eri laskutapaa kliiniselle merkitsevyydelle: 1) $\Delta > \pm 10\%$ , 2) ACL (acceptable change limit) huomioi analyttisen virheen ja 3) RCV (reference change value) huomioi myös yksilön biol. vaihtelun.	$\Delta > \pm 10\%$ ja RCV ovat liian sallivia (antaa korkeat HI-kynnysarvot), ACL potilasturvallisin. P-Hb kynnysarvot (g/l): <b>Kasvoivat</b> : <b>LD</b> (0.18), <b>ASAT</b> (0.31), <b>K</b> (0.55), <b>CK</b> (0.56), <b>P<sub>i</sub></b> (1.08), <b>Folaat</b> (1.55), <b>Prot</b> (2.38), <b>ALAT</b> (2.48), <b>Fe</b> (2.58), <b>Kol</b> (2.80), <b>Lipaa</b> (2.90), <b>Trigly</b> (3.19), <b>Mg</b> (3.46). <b>Laskivat</b> : <b>Haptog</b> (1.42), <b>hsTnT</b> (2.32), <b>Cl</b> (3.51), <b>Na</b> (3.61), <b>AFOS</b> (3.74). Ei merkitsevää vaikutusta: <b>GGT, CO<sub>2</sub></b> (max. P-Hb: 4.51 g/l).

Värikoodien selitykset löytyvät Liitteen 1 viimeisen taulukon alta.



5	Lippi & Ippolito, Italia, 2014	Näytteet otettu 1 päivän aikana avohoitopotilailta (12 tervettä, 12 warfariinihoidossa olevaa) rutiininäytteinä natriumsitraattiputkiin. Rutiini hyytymistutkimusten jälkeen loppunäyte sekoitettu ja jaettu 4 osaan: 0-näyte, fuugattu ja analysoitu heti tai näyte hemolysoitu vetämällä 30G neulan läpi yhden (1), kaksi (2) tai kolme (3) krt.	Keskim. P-Hb (g/l): <b>0: 0.35 ± 0.16; 1: 2.40 ± 0.85; 2: 2.89 ± 0.63 ; 3: 3.62 ± 1.87.</b> Hemolyyssiasteella ei ollut tilastollisesti eikä kliinisesti merkitsevää vaikutusta kummassakaan potilasryhmässä millekään parametille ( <b>PT, APTT, Fibr</b> ). Hyytymistutkimusten osalta laitteen P-Hb kynnysarvo voisi siten olla ainakin 3.6 g/l, mikä kattaa suurimman osan hyytymistutkimuksiin tulevista näytteistä.
6	Woolley ym. Iso-Britannia, Ranska, 2016	2 tutkimusta: <b>1)</b> hemolyyysin vuoksi hylättyjä potilasnäytteitä verrattu 4h sisällä otettuihin ei-hemol. uusintänäytteisiin (N=40). <b>Hemol.asteet:</b> 0: < 0.3 g/l; +: 0.3-1.0 g/l; ++: 1.1-3 g/l; +++: > 3.0 g/l; <b>2)</b> plasmapooleihin lisätty punasoluja, joita hajotettu aspiroimalla ruiskulla ja ohuella neulalla joko 0 (H0), 1 (H1), 3 (H3) tai 5 (H5) kertaa. <b>Hemolyyssiasteita ei ilmoitettu.</b> Ajot duplikaatteina. Fibr: 1, PT: 2 ja APTT: 3 eri reagenssia. MAB (max. acceptable bias) arvot: PT: 8.6%; APTT: 9.2%; Fibr: 16.7%. Vastaavuus merkitsevä, kun 95% luottamusväli sijoittui [-MAB, +MAB] sisään.	<b>1)</b> Hemolyysoituneiden näytteiden <b>PT</b> ja <b>Fibr</b> tulokset eivät eronneet tilastollisesti tai kliinisesti merkitsevästi hemolyysoitumattomien näytteiden tuloksista millään parametrilla, millään reagenssilla. <b>APTT:</b> Kahdella reagenssilla, ero hemol. vs. ei-hemol. näytteiden välillä oli tilastollisesti merkitsevä, mutta vain yhdellä reagenssilla kliinisesti merkitsevä. <b>2)</b> <b>PT:</b> H5 laski tilastollisesti merkitsevästi (vs H0) kummallakin reagenssilla, mutta ei kliinisesti merkitsevästi. <b>APTT:</b> H3 ja H5 laski tilastollisesti merkitsevästi yhdellä reagenssilla, mutta ei kliinisesti merkitsevästi. Muissa ei tilastollista tai kliinisesti merkitsevää hemolyyysistä johtuvaa eroa.
7	Tang ym., Kiina, 2017	Näytteet 12 terveeltä vapaaehtoiselta Na-sitr. (3.2%; 9:1) putkiin. Hemolysoitiin aspiroimalla 25G neulalla ruiskuun 0 (kontrolli), 2, 6 tai 12 krt. <b>Hemolyyssitasot:</b> lievä: 0.5-1.0 g/l; kohtalainen: 2.0-6.0 g/l; voimakas: 7.0-13.0 g/l. CV-arvot: PT: 3.5%; APTT: 1.8%; Fibr: 3.3% ja Trom: 3.6%. Kliiniset merkitsevyysrajat (CLIA88): PT ja APTT: ±15%; Fibr: ±20%. Laskettu mediaanit ja kvartiilivälit. Vertailtu keskiarvoja (Wilcox U-test).	P-Hb: 0: 0.02 g/l; lievä: 0.9 (0.5-1.0) g/l; koht.: 4.8 (2.3-5.8) g/l; voim.: 10.9 (7.1-13.4) g/l. <b>APTT:</b> arvon lasku kaikilla hemolyyssiasteilla suurempaa kuin sallittu biol. vaihtelu, mutta ei kliinistä merkitsevyyttä. <b>PT:</b> vaihtelu severe-tasolla tilastollisesti, mutta ei kliinisesti merkitsevää. <b>Fibr:</b> ei merkitsevää vaihtelua. <b>Trom:</b> lievä: lasku vain tilastollisesti merkitsevää; kohtal. ja voim.: tilastollisesti ja kliinisesti merkitsevä lukumäärän kasvu.
8	Florkowski ym., Uusi Seelanti, 2010	Lisätty hemolyyssiasteita eri troponiinipitoisuuden (TnI: 0.00; 0.03; 0.5 ja 5 µg/l; TnT: ?) omaaviin hepariiniplasmapooleihin, jolloin saatu eri hemolyyssiasteet: 0.12, 0.43, 0.77, 1.32, 2.35 ja 3.92 g/l. Lisäksi kerätty tiedot 966 tutkimuksesta (788 ensiapuosaston potilaalta), joista oli määritetty sekä troponiini-I:n että P-Hb:n pitoisuudet.	Päivystysmäärityksellä <b>TnT-pitoisuudet</b> kahdella suuremmalla <b>TnT</b> -tasolla laskivat hemolyyssiasteen noustessa. <b>hsTnT</b> -pitoisuus laski jopa 50% hemolyyssiasteen noustessa. <b>TnI</b> -pitoisuuksien muutoksissa oli suuria eroja laitteiden välillä: Vitros Eci: <b>TnI</b> -pitoisuus nousi jopa 676% poolissa B (TnI: 0.03 µg/l), suuremmilla <b>TnI</b> -pitoisuuksilla nousu heikompa / laskua. Abbott Architect: hemolyyssi aiheutti vain n. 10% nousun/laskun <b>TnI</b> -pitoisuuksiin eri pooleissa.

9	Bais, Australia, 2010	Hemolysaatti valmistettu osmoottisesti & pakastamalla pestyjä punasoluja. Näytteiden hemolyyssiasteita ei ilmoitettu. Valittu näytteitä, joiden troponiinitasot lähellä viitearvojen ylärajaa (99.persentiiliä): Tnl: 24, 36 ja 49 ng/l; hsTnT: 6, 12 ja 23 ng/l.	Kliinisesti merkitsevän ( $\Delta > 20\%$ ) muutoksen eli <b>Tnl nousun</b> ja <b>hsTnT laskun</b> (kun troponiiniipitoisuus oli lähellä viitearvoa) aiheutti P-Hb:n pitoisuus 1.9 g/l.
10	Lippi ym., Italia, 2011(a)	Valittu ensiavusta tulleiden näytteiden joukosta I: 12 epänorm. näytettä, joissa Troponiini I -arvo epätavallisen korkea ( $> 0.20 \mu\text{g/l}$ ) ja II: 9 normaalia näytettä, joissa Troponiini I-arvo $< 0.04 \mu\text{g/l}$ . 3 käsittelyä: ei lyysausta (A), mekaaninen hajotus aspiroimalla ohuen neulan (30G) läpi yhden (B) tai kaksi kertaa (C). A: P-Hb: $< 0.05 \text{ g/l}$ ; B: P-Hb: $0.95 - 1.60 \text{ g/l}$ ; C: P-Hb: $1.65 - 2.95 \text{ g/l}$ . (Huom! Artikkelin arvot jaettu kymmenellä)	<b>Tnl-arvot</b> laskivat hemolyyssiasteen noustessa. I: <b>Infarkti-näytteet</b> : A: $0.89 \mu\text{g/l}$ ( $0.20 - 20.16 \mu\text{g/l}$ ); B: $0.81 \mu\text{g/l}$ (95% CI: $0.17 - 18.37 \mu\text{g/l}$ ) ( $p=0.041$ ); C: $0.78 \mu\text{g/l}$ (95% CI: $0.15 - 17.48 \mu\text{g/l}$ ) ( $p=0.026$ ). B: muutos ei kuitenkaan kliinisesti merkitsevä missään näytteessä. C: 3 näytteessä (12:sta eli 25%:ssa) <b>Tnl:n</b> lasku ylitti sallitun vaihtelun ( $\Delta 20\%$ ) eli kliinisen merk. rajan. $\Delta\text{AB}$ mediaani: 10%; $\Delta\text{AC}$ mediaani: 17%. II: ei muutosta <b>terveiden Tnl</b> arvoissa eli kaikki silti $< 0.04 \mu\text{g/l}$ .
11	Puelacher ym. Espanja, Sveitsi, 2015	1095 sydäninfarktiepäily potevan potilaan hepariiniplasmanäytteet, jotka kerätty heti potilaan saavuttua ensiapupolille (N = 3612) sekä 1h (N=799), 2h (N=640), 3h (N=554) ja 6h (N=?) sen jälkeen. <b>Hemolyyysin olemassaolon</b> tarkistanut kokenut laboratoriohvitaja visuaalisesti. Mittaukset suoritettu kolmella eri laitteella (I: hs ja II: s Beckman-Coulter Access 2, III: Siemens Dimension Vista 1500 hs) sattumanvaraisesti. Kardiologit eivät olleet tietoisia mittaustuloksista tehdessään diagnoosia.	518 näytteistä hemolyysoituneita (14.3%). 181 potillaalla oli sydäninfarkti. Keskimääräiset <b>Tnl-pit.</b> olivat ei-hemolyysoituneissa vs hemolyysoituneissa näytteissä: I: $5.6$ vs $6.4 \text{ ng/l}$ ( $p = 0.18$ ); II: $6.2$ vs $7.1 \text{ ng/l}$ ( $p = 0.32$ ); III: $5.4$ vs $6 \text{ ng/l}$ ( $p = 0.39$ ). Infarktipotilaiden <b>Tnl-pitoisuudet</b> olivat selvästi korkeammat kuin muista sydänvaivoista ja ei-sydänperäisistä vaivoista kärsineillä potillailla (esim. I: $208 \text{ ng/l}$ vs $6.6 \text{ ng/l}$ vs $4 \text{ ng/l}$ ). Koska infarktipotilaiden <b>Tnl-taso</b> on huomattavasti korkeampi kuin muilla, ei hemolyyysistä ole haittaa diagnosoitaessa sydäninfarktia <b>Tnl-pitoisuuksista sensitiivisillä</b> mittausten menetelmillä.
12	Livesey & Dolamore, Uusi Seelanti, 2010	10 terveen vapaaehtoisen näytteet kerättiin 21G perhosneulalla 9ml K3EDTA-putkiin. Lisätty hemolysaattia 0; 0.1; 0.25; 0.5 tai 1 til-%. Kaikille hemol.asteille suoritettiin 4 käsittelyä: A) ei kylmänäytt.ottoa + välitön kylmäseparointi + analysointi heti pakastetun näytteen sulatuksen (6 min $20-25^\circ\text{C}$ vedessä) jälkeen; B) jääveteen heti näytteenoton jälkeen (30 min $0^\circ\text{C}$ ) + analysointi heti; C) kylmänäytteenotto + seisotus 1h RT ( $22^\circ\text{C}$ ) pakastetun näytteen sulatusta; D) kylmänäytteenotto + NPM:n (N-fenyylimaleimidi) lisäys ennen pakastusta + 1h inkubointi $+20^\circ\text{C}$ ennen analysointia.	Keskimääräinen hemolyysoitumattoman näytteen <b>ACTH</b> : $4.8 \text{ pmol/l}$ ja <b>insuliini</b> : $75.6 \text{ pmol/l}$ . P-Hb:n kynnyksrajat eri käsittelyille (g/l): A) <b>ACTH</b> : $0.26$ , <b>Insu</b> : $0.42$ ; B) <b>ACTH</b> : $0.4$ , <b>Insu</b> : $0.91$ ; C) <b>ACTH</b> : $0.14$ , <b>Insu</b> : $0.28$ ; D) <b>ACTH</b> : $1.13$ , <b>Insu</b> : $0.97$ . <b>Hemolyyysin kasvu alentaa sekä ACTH:n että insuliinin pitoisuutta progressiivisesti.</b> Pitoisuuden heikkenemistä ehkäisee, jos 1) näyte laitetaan jääveteen heti näytteenoton jälkeen, 2) näyte analysoidaan heti tai 3) siihen lisätään NPM (jos joutuu olemaan huoneenlämmössä ennen analysointia). <b>ACTH</b> on herkempi hemolyyssille kuin <b>insuliini</b> . Jos P-Hb $0.1 - 0.2 \text{ g/l}$ eikä jääveteen + 1h RT $\rightarrow$ yli <b>10% lasku ACTH:n pit.</b> Analysointi mahd. pian näytteen sulatuksen jälkeen.

13	Cook ym., Iso-Britannia, 2010	2 plasmapoolia, joiden insuliiniaktiivisuudet 2.49 mU/l ja 17.41 mU/l. Ajot duplikaatteina. Hemolysaatin lisäysmenetelmä. <b>6 eri hemolysiaastetta P-Hb: 0 (kontr.), 2, 4, 6, 8 ja 10 g/l.</b>	Näytteen <b>insuliiniaktiivisuus</b> laski progressiivisesti hemolysiaasteen noustessa. Lasku oli yhtäläinen kummallakin insuliinipitoisuudella. Kliinisesti merkitseviä ( $\Delta > 10\%$ ), kun P-Hb > 1 g/l.
14	Hartikainen & Joki, Suomi, 2013	Hemolysaatti valmistettu osmoottisesti/ pakastamalla pestyjä punasoluja. Immunofluorimetrinen Sandwich-määritysmenetelmä. <b>4 eri hemolysiaastetta: kontrolli: 0 g/l, I: 0.5 g/l, II: 1.9 g/l ja III: 15 g/l.</b> 5 säilytysaikaa (0, 1, 3, 24 ja 48h); 3 säilytyslämpötilaa (-20, +4 ja +20°C), käsittelyjä yht. 15 (N=60), tilastomenetelmää ja merkitsevyytasoja ei ilmoitettu.	<b>Insuliinin</b> aktiivisuus säilyy muuttumattomana, jos ei hemolysia tai pakastamalla näytteet heti plasman erottelun jälkeen. Huoneenlämmössä vähäininkin hemolysia (P-Hb: 0,5 g/l) laskee <b>insuliinin</b> aktiivisuutta. Aktiivisuuden lasku on progressiivista hemolysiaasteen noustessa. <u>Määritys heti:</u> insuliinin aktiivisuus laski I: 13%, II: 19% ja III: 28%. <u>1h säilytys +20°C:ssa:</u> insul. akt. laski I: 18%, II: 27%, III: 80%; <u>1h +4°C:ssa tai -20°C:ssa:</u> ei laskua; <u>3h +20°C:ssa:</u> insul. akt. laski I: 20%, II: 51%, III: 98%; <u>3h +4°C:ssa:</u> insul. akt. laski I: -, II: -, III: 57%; <u>3h -20°C:ssa:</u> ei laskua; <u>24h +20°C:ssa:</u> insul. akt. laski I: 41%, II: 92%, III: 99%; <u>24h +4°C:ssa:</u> I: -, II: 32%, III: 99%; <u>24h -20°C:ssa:</u> I: -, II: -, III: 72%.
15	Garinet ym., Ranska, 2014	Ei-hemolysoituneen näytepoolin insuliinin pit. oli 136 pmol/l. Tästä erotettu osanäytteitä, joihin lisätty kasvava määrä hemolysaattia tai hemoglobiinia aina 8.0 g/l asti. Näytteiden kokonaismäärää ja <b>HI-arvot?</b> Ajot duplikaatteina. Käsittelyt: I: hemolysaatin lisäys; II: hemoglobiinin lisäys; III: säilytys huoneenlämmössä; IV: säilytys jääkaapissa (+4°C); V: säilytysaika (0-9h: mittaus tunnin välein).	Hemolysaatin lisäys alensi progressiivisesti <b>insuliinin</b> pitoisuutta. P-Hb 0.80 g/l aiheutti klin. merk. 10% laskun <b>insuliinin</b> pitoisuuteen. 3h säilytys huoneenlämmössä alensi hemolysoitumattoman näytteen <b>insuliinin</b> pit. 10%. <b>Kaupallisella puhtaalla hemoglobiinilla ei vaikutusta.</b> Jääkaappisäilytys hidasti hemolysin vaikutusta <b>insuliinin</b> pit. P-Hb $\approx 0 \rightarrow$ säilyy jääkaapissa 8h. Lievä hemolysia (P-Hb: 0.8 g/l) + säilytys RT $\rightarrow$ klin. merkitsevä lasku 50 min:ssa. P-Hb 1.5 g/l + RT $\rightarrow$ klin. merkitsevä muutos 30 min:ssa.
16	Sağlam ym., Turkki, 2012	Näytteet sattumanvaraisesti saman aamun aikana laboratoriotutkimuksiin tulleesta 39 miehestä (40-84v). Oikeasta kyynärtaipeesta vakioidusti 18 G neulalla 4 ml, joka jaettu 2 putkeen, joille käsittelyt: 1) kontrollinäyte (ei hemolysia); 2) voimakas hemolysointi. 3) Vasemmasta käsivarresta 2 ml 26 G neulalla ja siirto näyteputkeen paineella, staasi koko näytteenoton ajan kiristettynä jolloin saavutettu käytännössäkin mahdollinen (?) hemolysitaso.	<b>Kalium-pit. nousivat hemolysiaasteen kasvaessa (<math>P &lt; 0.001</math>): ei-hemolysia: <math>4.178 \pm 0.511</math> mmol/l; 26G neula: <math>7.11 \pm 2.576</math> mmol/l; voimakas hemolysia: <math>39.545 \pm 5.775</math> mmol/l. (Interpoloiden Goyal ym. tuloksiin: 7.11 kaliumarvo vastaa n. P-Hb: 5.7 g/l hemolysitasoa.)</b> 26 G neula ym. alensi PSA:n arvoa 7 % ( $P < 0.001$ ) . Runsas hemolysia alensi PSA:n arvoa 63 % ja PSA-V:n 68 %. Runsas hemolysia alensi PSA-V/PSA-suhteen 21.46%:sta 18.30%:iin.

17	<p><b>Wolf ym., Saksa, 2017</b> 1) Tarkasteltaviksi valittiin 17 koepalan perusteella keliakiadiagnoosin saaneen lapsen biopsiaa edeltäneet seeruminäytteet, joiden P-Hb &lt; 0,05 g/l. Näytteet jaettiin niiden tTGAbA-pitoisuuden perusteella 3 ryhmään: I: lievästi positiivinen: 1-5 x viitealueen yläraja (N=7); II: selvästi positiivinen: 5-10 x viitealueen yläraja (N=5); III: vahvasti positiivinen: 10-15 x viitealueen yläraja (N=5). <b>Näytteistä tehtiin 7 eri hemolyysiasteen (0.125 g/l, 0.25 g/l, 0.5 g/l, 1 g/l, 2 g/l, 4 g/l ja 8 g/l) osanäytteet lisäämällä hemolyysiaattia.</b> Kaikille ryhmille tehtiin kontrollinäytteet alhaisen hemolyysiasteen (P-Hb &lt; 0.07 g/l) ja tTGAbA-pit. (&lt; 20 U/ml) omaavasta seerumista. Analysointi 2 eri analyysointilaitteella, joiden cut-off-arvot A: ≥ 20 ja B: ≥ 4 U/ml.</p> <p>2) 2 vuoden aikana lastensairaalassa tutkittujen tTGAbA-pit. monitorointi, sellaisista näytteistä, joista oli määritetty myös P-Hb.</p>	<p>Hemolyysi alentaa <b>tTGAbA</b>-pitoisuuksia progressiivisesti. Laskun suuruus riippuu myös näytteen alkuperäisestä <b>tTGAbA</b>-pitoisuudesta. Kliinisesti merkitsevän 10% laskun <b>tTGAbA</b>-pitoisuuteen aiheuttava P-Hb oli I: 0.25 g/l tai 0.5 g/l (riippuen laitteesta), II: 1 g/l ja III: 2 g/l. Rungas hemolyysi (P-Hb 8 g/l) laski III-ryhmän näytteiden <b>tTGAbA</b>-pitoisuutta 25 %. I: P-Hb: 0.125 - 0.25 g/l → yksi näytteistä sai väärän negatiivisen tuloksen. I: P-Hb 1-3 g/l → 3/7 näytteestä sai väärän negatiivisen tuloksen. II: P-Hb 8 g/l → 2/5 näytteestä väärä negat. tulos.</p> <p>III: edes P-Hb 8 g/l ei aiheuttanut väärää negatiivisia tuloksia. Hemolyysi ei muuttanut väärää positiivisia <b>tTGAbA</b> arvoja negatiivisiksi. Hemolyysi ei vaik. deamidoitujen gliadiinipeptidien vasta-aineiden (<b>DGPAbA</b>) pitoisuuteen.</p> <p>Populaatiotutkimuksessa 28.8%:ssa näytteistä P-Hb ≥ 0.25 g/l. 9 näytteessä P-Hb ≥ 1.0 g/l. Ylin P-Hb 2.98 g/l. <b>3 näytettä 1102:sta sai luultav. väärän negat. tuloksen</b></p>
18	<p><b>Lippi ym., Italia, 2011 (b)</b> Li-Hep-näytteet (2 kpl, poolattu yhteen) vakioidusti 5 terveeltä henkilöltä. Mekaaninen lyysaus insuliiniruisilla (0,5ml; 30G) 0-5 krt. Määritetty verenkuvaa, jonka jälkeen fuugaus. Plasmasta LD, ASAT, K ja P-Hb.</p> <p>P- Hb: 0: &lt; 0.5 g/l; 1: ≈ 0.7 g/l; 2: ≈ 1.4 g/l; 3: ≈ 2.2 g/l; 4: ≈ 2.9 g/l; 5: ≈ 3.7 g/l (Huom! Artikkelissa annetut arvot jaettu kymmenellä)</p>	<p><b>Arvot nousivat HI:n kasvaessa: E-MCH, LD, ASAT ja K.</b></p> <p>Arvo laski <b>B-Eryt, B-Hkr, E-MCV ja B-Leuk.</b></p> <p>Ei korrelaatiota: Hb ja Gluk; Trom (nousi, kun P-Hb &gt; n. 5 g/l ).</p> <p>Korjaukskertoimia ei voi käyttää, koska tuloksissa esiintyy joko kliinisesti merkitsevää vaihtelua (K), voimakasta yksilöiden välistä hajontaa (B-Eryt, B-Hkr, E-MCV, E-MCH) tai näitä molempia (Trom, Leuk, LD, ASAT).</p>
19	<p><b>Lippi ym., Italia, 2012 (a)</b> Näytteet 13 terveeltä vapaaeht. vakuu EDTA-putkiin. Jaettu 3 osanäytt. Hemolysoitu aspiromalla 30G neulalla ruiskuun A: 0, B: 5 tai C: 10 krt. Määr. verenkuvaa ja sen jälkeen fuugaus. Plasmasta LD ja P-Hb. P-Hb: A: &lt; 0.5 g/l; B: 4 - 4.5 g/l; C: 9 - 9.5 g/l. Määritykset duplikaatteina, joista keskiarvot ja SEM. Tilastokäs. Student's T-testillä. Vertailu Bland &amp; Altman Plot:illa.</p>	<p><b>LD kasvoi hemolyysiasteittain (A: 358±23 U/l; B: 1736±356 U/l, C: 2273±579 U/l) (P &lt; 0,01).</b> Hemolyysi aiheutti tilastollisesti ja kliinisesti merkitsevää kasvua: <b>E-MCH, E-MCHC, L-Baso, L-Monos</b> (B: ei klin.merk.), <b>LUC *</b>, <b>B-Trom, B-MPV.</b></p> <p>Lisäksi trombositositikasat lisääntyivät. Hemolyysi aiheutti tilastollisesti ja kliinisesti merkitsevää laskua: <b>B-Eryt, B-Hkr ja L-Ly. E-MCV</b> tilastoll., mutta ei kliinisesti merkitsevää laskua. <b>B-Leuk</b> lasku vähäistä. Hemolyysi ei vaikuttanut: <b>B-Hb, E-RDW, L-Neut ja L-Eos.</b></p>

kliinis-kemialliset tutkimukset	hyttymistutkimukset	immunologiset troponiinitutkimukset	immunologiset hormonitutkimukset
muut immunologiset tutkimukset	verenkuvatutkimukset	hemolyysi aiheuttaa kasvua	hemolyysi aiheuttaa laskua
hemolyysin vaik. on epäjohdonmukaista	hemolyysillä ei ole kliinisesti merkitsevää vaikutusta		hemolyysiasteet