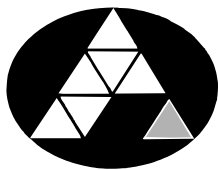


POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Irina Näveri

NATRIUMNÄYTTEEN SÄILYVYYS

Opinnäytetyö
Joulukuu 2011



POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

OPINNÄYTETYÖ
Joulukuu 2011
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tikkarinne 9
80200 JOENSUU
p. (013) 260 6600

Tekijä
Irina Näveri

Nimeke
Natriumnäytteen säilyvyys

Toimeksiantaja
Kymenlaakson sairaalapalveluiden Pohjois-Kymen sairaala

Tiivistelmä

Tärkein elimistön nesteiden elektrolyytti natrium on välttämätön aineenvaihdunnan toiminnalle. Plasman natriumpitoisuus on yleisin tutkimusmääritys neste-elektrolyyttitasapainon seurannassa. Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää säilyykö litiumhepariinigeeliputkeen otetun laskimoverinäytteen natriumpitoisuus plasmassa, kun näyteputki säilytetään ensimmäisen mittauksen jälkeen kaksi vuorokautta kylmähuoneessa. Tutkimusmenetelmänä oli kvantitatiivinen, kokeellinen tutkimus.

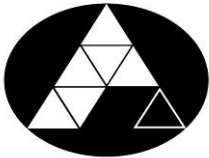
Tutkimusaineisto koostui Pohjois-Kymen sairaalan viidestäkymmenestä potilaiden aamukierroksella otetuista natriumnäytteistä. Yhden henkilön näytteestä tehtiin kaikkiaan kolme natriumpitoisuusmittausta tutkimuksen ensimmäisenä, toisena ja kolmantena aamupäivänä. Mittaustuloksista määritettiin Excel-ohjelmalla tilastollisia tunnuslukuja ja niiden perusteella aineiston jakauma. Näyteryhmille laskettiin tulosten välille korrelaatiokertoimet ja piirrettiin hajontakuviot. Aineiston jakauman perustella vertailevien näyteryhmien tulokset testattiin parittaisella t-testillä.

Tässä opinnäytetyössä saatujen tulosten mukaan litiumhepariinigeeliputkeen otetun laskimoverinäytteen natriumpitoisuus plasmassa säilyy, kun näyteputki säilytetään kylmähuoneessa. Litiumhepariinigeeliputken sentrifugoidun näytteen säilyttäminen ei muuta natriumtulosta merkittävästi. Tulokset pysyvät tilastollisesti ja kliinisesti hyväksytyissä rajoissa. Jatkotutkimukseksi ehdotettiin selvittää näytenatriumpitoisuuden pienen muutoksen syytä.

Kieli
suomi

Sivuja 29
Liitteet 3
Liitesivumäärä 3

Asiasanat
natrium, litiumhepariinigeeliputki, ioniselektiivinen elektrodi, näytteen säilyvyys, preanalytiikka

 <p>NORTH KARELIA UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES</p>	<p>THESIS December 2011 Degree Program in Biomedical laboratory sciences Tikkarinne 9 FIN 80200 JOENSUU FINLAND Tel. 358-13-260 6600</p>	
<p>Author Irina Näveri</p>		
<p>Title Sodium -Sample Preservation</p> <p>Commissioned by Kymenlaakso Hospital Services, North Kymi Hospital</p>		
<p>Abstract</p> <p>Sodium in body fluids is one of the most important substances for metabolic activities. Sodium concentration in plasma is a common subject for research and also for monitoring fluid-electrolyte balance. The purpose of this study was to investigate if the concentration of sodium in a test tube filled with lithium, heparin and gel remains the same over a period of two days. (The venous blood sample was kept in a cold room for two days.) The research method was quantitative and experimental.</p> <p>The research data consisted of fifty patients' samples that were received during morning rounds at North Kymi Hospital. Altogether, three measurements were done from (a test-tube of) the sample of each patient on the morning of the first, second, and third day of the research. From the results of the measurements, statistical parameters were defined with the help of Excel program, and on their basis, a data distribution was determined. The correlation coefficient was determined among the results of the groups. On the basis of the data distribution, the groups of the results of the groups were tested in couples by T-test.</p> <p>According to the result of this thesis, the concentration of sodium in plasma tube with lithium, heparin and gel stays the same if the tube is stored in a cool room temperature. Saving the samples after centrifugation does not change the results of the measurements of sodium concentration significantly. The results stay in the same parameters statistically and clinically. For further research, it was suggested that one clarify the reason for the small change of the sodium concentration.</p>		
<p>Language Finnish</p>	<p>Pages 29 Appendices 3 Pages of Appendices 3</p>	
<p>Keywords sodium, plasma tube with lithium, heparin and gel, ion selective electrode, sample holding time/sample preservation, preanalysis</p>		

Sisältö

Tiivistelmä

Abstract

1	Johdanto	5
2	Elimistön natrium	6
2.1	Natriumpitoisuuden määrittäminen plasmasta	7
2.2	Natriummäärityksessä käytettävät näytteenottoputket.....	8
3	Laboratorion tutkimusprosessi ja laatu.....	10
3.1	Preanalyttinen vaihe	10
3.2	Analyttinen ja postanalyttinen vaihe	12
3.3	Sisäinen laadunohjaus.....	12
3.4	Ulkoinen laadunarviointi.....	13
4	Tutkimuksen tarkoitus ja tutkimusongelma	13
5	Tutkimusmenetelmä ja tutkimuksen toteutus	14
5.1	Tutkimusaineiston keruu.....	15
5.2	Tutkimusaineiston käsittely	15
5.3	Tutkimuksessa käytettävät reagenssit ja välineet.....	17
6	Tilastollinen aineiston analysointi.....	18
6.1	Tilastolliset tunnusluvut.....	19
6.2	Pearsonin korrelaatiokerroin	20
6.3	Parittainen t-testi.....	20
7	Tulokset	21
7.1	Korrelaatio	22
7.2	T-testi.....	23
8	Johtopäätökset	24
9	Pohdinta.....	25
9.1	Tutkimuksen luotettavuus	25
9.2	Tutkimuksen eettisyys	26
9.3	Jatkotutkimusaihe	27
	Lähteet.....	28

Liitteet

Liite 1	Ohjeistus verinäytteenottoa varten
Liite 2	Cobas Integra 800 -analysaattorin antamat tulokset
Liite 3	Välineet, reagenssit ja niiden jäljitettävyyys

1 Johdanto

Natrium on tärkeimpiä elimistön suoloja. Elimistön nesteiden natriumpitoisuus on välttämätön aineenvaihdunnan toiminnalle. Natriumia tarvitaan elimistössä hermoimpulssien kuljetukseen, lihasten toimintaan sekä kehon nestetasapainon ja osmoottisen paineen säätelyyn. Veressä natrium on solunulkoinen elektrolyytti ja määrällisesti tärkein ioni. Elektrolyytin ja proteiinien muodostama kolloidosmoottinen paine on elimistön olennaisen tärkeä tekijä nestetasapainon ylläpitämisessä. Plasman natriummääritys (P-Na) on yleisin tutkimusmääritys neste-elektrolyyttitasapainon seurannassa. Natriumin kohonneet arvot voivat johtua nesteen hukasta. Matalat natriumarvot voivat johtua liiallisesta nesteytyksestä tai natriumin puutteesta. Lääkäri käyttää apunaan tutkimusten tuloksia potilaan diagnoosia tehdessä, sopivasta hoidosta päätettäessä sekä hoitovasteen arvioinnissa. (Penttilä 2004, 156.)

Veren natriumia analysoidaan nykyisin automaattisilla analysaattoreilla, joiden avulla saadaan nopeasti täsmäviä ja luotettavia tuloksia. Kymenlaakson sairaanhoitopiirin Pohjois-Kymen sairaalan laboratoriossa on kaksi Cobas Integra 800 -analysaattoria. Osaston apulaishoitaja Kärnän (2010) mukaan näillä koneilla tutkitaan päivittäin näytteitä, jotka tulevat Elimäen, Jaalan, Korian, Kouvolan, Valkealan ja Kuusankosken terveysasemien toimipisteistä. Tutkitut näytteet säilytetään kolme päivää kylmähuoneessa, ja määritetyt tulokset ovat löydettävissä Pohjois-Kymen sairaalan laboratorion sisäisestä atk-järjestelmästä. (Kärnä 2010.)

Tässä opinnäytetyössä tutkittiin veren natriumin säilyvyyttä litiumhepariinigeeli-putkessa kahtena vuorokautena +4 -asteisessa kylmähuoneessa. Ensimmäisenä tutkimuspäivänä mitattiin tutkimukseen valittujen näytteiden natriumpitoisuutta automaatti-analysaattorilla. Seisotusajan vaikutusta seurattiin vertaamalla ensimmäisen mittauksen tuloksia toisena ja kolmantena päivänä saatuihin natriumpitoisuustuloksiin.

2 Elimistön natrium

Natrium on veren solunulkoisen nesteen yleisin varaukseltaan positiivinen elektrolyytti. Elimistössämme on natriumia keskimäärin yhdeksänkymmentä grammaa, eli noin 4 moolia. Noin 60 prosenttia natriumista on elimistön nesteissä. Tästä lähes kaikki on aktiivisena ionina ekstrasellulaaritilassa eli kudostenesteessä, plasmassa ja imunesteessä. Hyvin vähän on solujen sisällä. Loppuosa eli noin 40 prosenttia sijaitsee luustossa. Plasman viitearvot ovat fP-Na 138-143 mmol/l, fS-Na 138-143 mmol/l. Sopiva veren ja muiden nesteiden natriumpitoisuus on välttämätön aineenvaihdunnan toiminnalle. Terve henkilö saa vaivattomasti nautitun ruoan ja juoman mukana päivittäin tarvittavan natriumin määrän eli 100 - 140 millimoolia. (Penttilä 2004, 156 – 157; The University of Arizona 2003.)

Natrium on määrällisesti tärkein ioni soluvälinesteen osmolaliteetin ja täten plasman tilavuuden säilyttämisessä (Penttilä 2004, 156). ”Natriumsuolat aiheuttavat yli 90 % solunulkoisten nesteen osmoottisesta paineesta” (Bjälle Haug, Sand, Sjaastad & Toverud 2008, 395). Liuosten osmoottinen paine kasvaa liuenneiden ionien lisääntyessä ja pienenee, kun liuenneiden hiukkasten määrä vähenee. Normaalisti osmoottinen paine on sama solun ulko- ja sisäpuolella, koska vesi pienempimolekyylisenä siirtyy solun puoliläpäisevän kalvon läpi suuntaan, jossa liuenneiden aineiden konsentraatio on suurempi. Bjälle ym. (2008, 395) huomauttavat, että elimistö säätelee solunulkoista nestemäärää tarkoin, koska ylimääräinen neste tai nestehukka aiheuttaa verenkiertohäiriöitä. Munuaiset ylläpitävät elimistön natriumtasapainoa muuntelemalla virtsaan erityyviä natriummääriä. Tärkein tekijä munuaisten natriumin erityksen säätelyssä on hormoni aldosteroni, joka stimuloi natriumionien takaisin imeytymistä distaalisista kiemuratiehyistä ja kokoojaputkesta, kun elimistön natriumpitoisuus pienenee. Erittävän virtsan natriumpitoisuus nousee tilanteessa, kun plasman natriumpitoisuus suurenee. Aldosteroni vähentää suolan ja veden erittymistä. (Bjälle ym. 2008; Penttilä 2004.)

Antidiureettinen hormoni (ADH) ja elimistön janokeskus toimivat säätelymekanismina osmolaliteetin ylläpitämisessä. ADH on hypotalamuksen tuottama antidiureettinen hormoni, jonka varastona toimii aivolisäke eli hypofyysi. Elimistön

veren tilavuuden muutokset ja varsinkin solun ulkoisen nesteen osmoottinen paine säätelevät ADH:n eritystä. Osmoottisen paineen kohoaminen tai Na^+ -pitoisuuden kasvu stimuloi hypotalamuksen janokeskuksen reseptoreja ja nostaa janon tunnetta. Tällöin antidiureettisen hormonin erittyminen vereen lisää läpäisevyyttä munuaisten distaalisissa kiemuratiehyissä ja kokoojaputkessa niin, että veden takaisin imeytyminen lisääntyy. Samanaikaisesti natrium erittyy virtsaan normaalisti, eli virtsan erityks vähenee ja virtsa väkevöityy. Elimistön nestehukka vähenee, ja veren solunulkoisen nesteen osmolaliteetti pienenee. (Bjälle ym. 2008, 392; Roche Diagnostics GmbH 2004.)

Elimistö käyttää natriumia hermoimpulssien kuljetukseen ja lihassupistukseen. Toiminta perustuu nopeisiin ja lyhytaikaisiin kalvojännitteen muutoksiin. Aistisolujen ja hermosolujen ärsytys on laukaiseva tekijä nopeaan ja lyhytaikaiseen kalvojännitteen muutokseen eli aktiopotentiaaliin. Aktiopotentiaalit eli hermoimpulssit etenevät suurella nopeudella hermosoluja pitkin ja samalla levittävät tiedon kohdesoluun. Tavallisesti negatiivinen solukalvon sisäpuoli muuttuu ärsytyksen jälkeen positiiviseksi eli depolaroi. Aktiopotentiaaleja muodostavissa soluissa on ionikanavia. Depolarisaatio aiheuttaa ionikanavien porttien avautumisen ja natriumionien solun sisään virtaamisen. Reaktioon osallistuu myös moni muu elimistön jänneherkkiä kanava ja ioni, kuten kalium ja kalsium. (Bjälle ym. 2008; Roche Diagnostics GmbH 2004.)

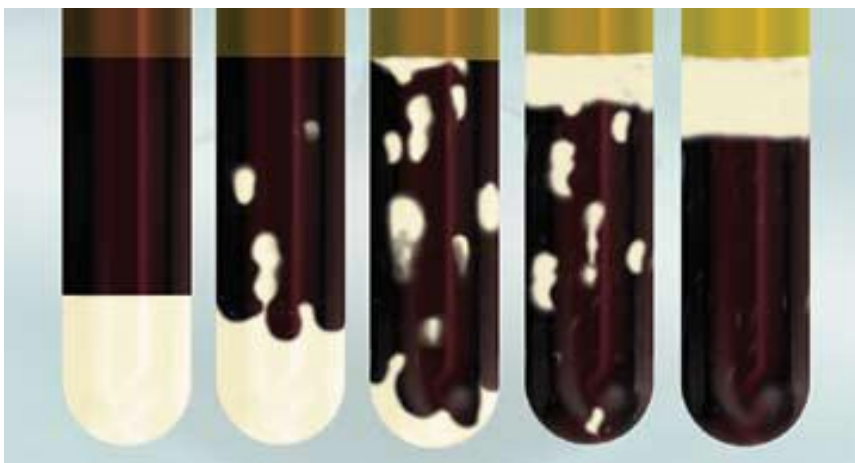
2.1 Natriumpitoisuuden määrittäminen plasmasta

Laboratoriossa natriumpitoisuus verinäytteen plasmasta mitataan kemian Cobas Integra 800 -analysointilaitteella. ISE (Ioniselektiiviset elektrodit) - moduuli eli koneen osa mittaa elektrolyyttien, muun muassa natriumin, konsentraatiota näytteen plasmasta ioniselektiivisellä elektrodilla kvantitatiivista määrittämistä varten epäsuoramenetelmää käyttäen. Natriumselektiivinen elektrodi on lasielektrodi, joka mittaa valikoiden eli spesifisesti natriumionin konsentraatiota näytteen plasmasta. Elektrodin aktiivisuus natriumionille saavutetaan muuttamalla lasin rakennetta, kun lisätään lasiin alumiinioksidia (Saarinen & Lajunen 1998, 130). Mittauselektrodien toiminta perustuu ioniselektiivisen kalvon ja näytteliuoksen välille kehittyvän potentiaalin mittaamiseen referenssi -eli vertailuelekt-

rodia käyttäen. Natriumioniselektiivisen elektrodin potentiaali on verrannollinen liuoksesta mitattavaan natriumionin pitoisuuteen. Vertailuelektrodin ja mittaus-elektrodin parin muodostama jännite-ero johdetaan mV-mittariin. Mittarin arvot muutetaan tietokoneellisesti luetettavaan muotoon ja mitattavan aineen pitoisuus luetaan millimooleina litrassa suoraan koneen ruudulta. (Arvonen & Levo-
nen 2002; Roche Diagnostics GmbH 2004.)

2.2 Natriummäärityksessä käytettävät näytteenottoputket

Litiumhepariinigeeliputki on suunniteltu turvalliseen ja laadukkaaseen verinäytteenottoon. Muoviseen 5 ml-putkeen mahtuu 3,5 ml verta. Vettä hylkivä muovimateriaali, polyeteenitereftalaatti PET estää nopeaa veren hyytymistä, sillä se hidastaa hyytymistekijän XII, elimistön hyytymisreaktioon osallistujan aktivoitumista. Reaktio käynnistyy huomattavasti nopeammin, kun veri joutuu kosketukseen puhtaan lasin kanssa. (Oriola 2009; Bjalie ym. 2008, 279.) Putkella on kaasusulkuominaisuus, turvakorkki, jossa tiivis kumiosa takaa parhaan mahdollisen näytteenoton. Oikea lisäainemäärä suhteessa näytemäärään on varmistettavissa läpinäkyvän muovietiketin merkkiviivojen avulla. Putken kokomerkinnästä tiedetään, että ensimmäinen luku on putken kokonaistilavuus ja jälkimmäinen on mahdollinen sisään otettu näytemäärä. Muovissa Venosafe-hepariinigeeliputken seinämillä on litiumhepariinilisäainetta suhteessa 15 IU/ml verta. Putkessa oleva geeli muodostaa sentrifugoitaessa kiinteän esteen solujen ja plasman välille. Kuvassa 1 on esitetty BD-litiumhepariinigeeliputket, jotka kooltaan, muodoltaan ja sisältönsä mukaan ovat samankaltaisia tässä työssä käyttävien putkien. (Becton, Dickinson & Company 2006.)



Kuva 1. Geelin liikkuminen sentrifugoinnin aikana hyytymättömässä näytteessä (Becton ym. 2006).

Penttilä (2004, 30) suosittelee näytteenotossa käytettäväksi putkia, joissa on geeliä, jolloin sentrifugoinnin jälkeen plasmanäyte säilyy muuttumattomana 8 tuntia näytteenotosta 25°C:n huoneenlämmössä. Korkillinen näyteastia auttaa välttämään näytteen haihtumista ja kontaminaatiota (Mediq Suomi 2011, 241).

Hepariini on luonnollinen veren antikoagulantti, jota on normaalisti basofiileissa ja syöttösoluissa. Hepariinin antikoaguloiva vaikutus perustuu sen kykyyn estää aktivoitunutta tekijää X (F Xa) ja trombiinin muodostusta tehostamalla voimakkaasti antitrombiini III:n vaikutusta, jolloin fibrinogeenista ei muodostu fibriiniä ja veren hyytyminen estyy. (Bjälje ym. 2008, 279; Ruutu, Rajamäki, Lassila & Porkka 2007, 602.)

Näyteputkessa eniten käytettyinä antikoagulanttina ovat natriumhepariini ja litiumhepariini. Kemian tutkimuksessa suositelluin käyttömuoto on litiumhepariini, koska ioni-selektiivisessä mittauksessa natriumnäyteputkesta, jossa on antikoagulanttina natriumhepariini, ei voi määrittää natriumia luotettavasti. (Becton ym. 2006, 1.) Kun hyytymätön verinäyte sentrifugoidaan, veren solut erottuvat veren plasmasta. Plasma on nopeammin valmis tutkittavaksi, sillä seerumin saanti vaatii näytteen jäähtymistä ja hyytymistä. Sentrifugoinnin aikana antikoaguloituneen näytteen veren solut vajoavat putken pohjalle suhteellisesti tasaisemmin, ja kokoverinäytteestä saadaan 15-20 prosenttia enemmän plasmaa kuin seerumia. (Penttilä 2004, 23-24; Becton ym. 2006, 3.)

3 Laboratorion tutkimusprosessi ja laatu

Laboratorion laatupolitiikka ohjaa organisaatiota tuottamaan korkeatasoisia lääketieteellisiä laboratoriopalveluja, jotka ovat tärkeitä potilaan hoidossa. Hyväksytyt kansainväliset ja kansalliset standardit, ohjeet ja suositukset loivat tukevat puitteet laboratoriotoinnalle. (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 126). Laatu- ja pätevyysvaatimukset on määritelty Suomen standardisoimisliiton hyväksymässä kansainvälisessä SES-EN ISO 15189 -standardissa. Jotta laboratorio pystyy varmistamaan, että sen tuottamat palvelut täyttävät sille asetetut spesifioidut vaatimukset, sen tulee luoda laatujärjestelmä. Laadulliset toimintaperiaatteet, menettelyohjeet ja sitoutumiset laatuun laboratorion johtaja valtuuttaa dokumentoimalla laatukäsikirjassa, jonka laatiminen laboratoriolle on tärkeää. Analyytin tutkimusprosessin laadun varmistusta, joka koostuu preanalyttisestä, analyttisestä ja postanalyttisestä vaiheesta, toteutetaan sisäisellä laadunohjauksella ja ulkoisella laadunarvioinnilla. (Suomen standardisoimisliitto SFS 2003, 8.)

3.1 Preanalyttinen vaihe

Laboratoriotutkimusprosessi on kokonaisuus, joka sisältää laboratoriotutkimustarpeen määrittelemisen, potilaan tutkimukseen valmistamisen, näytteenoton, näytteen kuljetuksen ja sen säilytyksen, tutkimukseen valmistelun ja sen suorituksen, tulosten arvioimisen, raportoimisen ja arkistoinnin. Ensimmäinen preanalyttinen vaihe on perusta tulosten luotettavuudelle. (Tuokko ym. 2008, 7.)

Preanalyttinen vaihe alkaa tutkimuspyynnön käsittelemisestä. Bioanalyttikko käyttää tutkimuspyynnön informaatiota koko tutkimusprosessin aikana ja tulostaa avuksi tutkimuspyyntötarroja, joissa käyvät ilmi tutkimusnimikkeen lyhenne, näytteen muoto, potilaan nimi ja henkilötunnus, hoitava osasto ja potilaan paikka. (Penttilä 2004, 21)

Näytteenotto kuuluu bioanalyttikon ammattitaitovaatimukseen, ja ammattilaisilla on sekä parhaat teoreettiset valmiudet että käytännön taidot. Näytteenotto ta-

pahtuu usein muualla kuin laboratorio-olosuhteissa, joita pyritään vakioimaan tutkimuksen vertailukelpoisuuden ja oikeellisuuden kannalta. (Penttilä 2004, 25.) Siihen velvollinen laboratorio antaa tutkimuksen pyytävälle taholle tarkat ohjeet potilaan tutkimukseen valmistautumisesta. Oikeanlaisella valmistautumisella taataan, että muutokset veriarvoissa kuvastavat parhaalla mahdollisella tavalla potilaan terveydentilaa. Tiettyjen rajoitusten asettaminen asiakkaalle, kuten ruokailu, fyysinen rasitus, asento, alkoholi, tupakka, kuuluvat näytteenototilanteen vakioimiseen. Hyvällä ohjauksella saadaan eri kerroilla otettuja keskenään vertailukelpoisia näytteiden tuloksia. Näytemuoto, oikea näyteputki, jossa on tutkimuskohtainen säilöntäaine ja sen määrä, näytemäärä ja teknisesti oikein otettu tutkimusnäyte, ovat tärkeät seikat näytteenotto-olosuhteiden vakioimisessa. Vaihtelua laboratoriotuloksiin aiheuttavat tekijät, joita ei hyvällä ohjauksella voida eliminoida, kuten esimerkiksi ikä ja sukupuoli, pyritään huomioimaan laatimalla kullekin ryhmälle omat viitearvonsa. Näytteenotto aloitetaan tunnistamalla potilas siten, että tutkimuspyyntö ja näytetarran henkilötiedot ovat yhtäpitävät. (Rautajoki 1998, 16, 17.)

Näytteiden kuljetus ja käsittely ovat laboratoriotutkimusten preanalyttisen vaiheen toimenpiteitä. Salomaan (2006) mukaan ”Ei riitä, että näyte on teknisesti otettu oikein.” Pitää aina muistaa, että ihmisen näyte on biologista materiaalia. Samat aineiden väliset reaktiot tapahtuvat elimistön ulkopuolellakin. Virheellinen näytteen käsittely ja kuljetus voivat pilata hyvinkin otetun näytteen. Jotta tutkitavan analyytin koostumus ja pitoisuus eivät muutu, näytteen käsittely aloitetaan jo potilaan vieressä. Tässä opinnäytetyössä käsiteltiin natriumin säilymistä litiumhepariinigeeliputkessa, jossa hepariini toimii antikoagulanttina. Näytteen välitön, solujen rikkoutumisen välttämiseksi 5-10 kertaa tehty hellävarainen sekoittaminen pysäyttää veressä tapahtuvan hyytymisen. Putken valmistaja vakuuttaa hepariinin vaikuttavan hyytymistapahtumaan 24 tuntia (Mediq Suomi 2011, 241). Näytteen suojaaminen auringonvalolta ja kuljetuksen aikainen säädetty lämpötila ovat merkityksellisiä komponenttien säilyvyydelle ja laboratoriotutkimusten tulosten paranemiselle. Näyteputkeen kiinnitetään näytetarra ja putki kuljetetaan suljettuna pystyasennossa laboratorioon, jossa se kuitataan saapuneeksi, tehdään vastaanottotarkastus ja esikäsittely ennen analysointia. Sentrifugointi suoritetaan näyteputken valmistajan suosituksen mukaisesti, minkä jälkeen näyte analysoidaan alkuperäisputkesta. (Tuokko ym. 2008, 11.)

3.2 Analyttinen ja postanalyttinen vaihe

Analyttisessä vaiheessa näyte analysoidaan laatuvaatimusten ja suositusten mukaisesti. Analyttisen vaiheen onnistuminen ja tulosten luotettavuus arvioidaan postanalyttisessä vaiheessa. Tulosten luotettavuuden arvioimisessa ja hyväksymisessä toimivat apuna hyväksymis- ja hylkäämisrajat, jotka on annettu mukana oleville kontrollinäytteille. Tässä työssä otettiin huomioon natriumelektrolyytille maassa käytössä oleva tavoiterajojen molemmiin puoleisiin 2-3 %:n toleranssi (Penttilä 2004, 36). Postanalyttisen vaiheen toimenpiteet antavat valtuutuksen tuloksen luovuttamiselle. Hyväksytty tutkimustulos lähetetään sekä tilaavalle osastolle että arkistoidaan. Analysoidut näytteet säilytetään määräjän mahdollisia tarkistuksia varten. Kaikki laboratoriotutkimusprosessin vaiheet ovat potilaan terveyden kannalta tärkeitä ja summattuna johtavat oikeaan potilaan hoitopäätökseen. (Suomen standardisoimisliitto SPS 2003, 12; Tuokko ym. 2008, 13.)

3.3 Sisäinen laadunohjaus

Sisäinen laadunohjaus eli laaduntarkkailu on klinisen laboratorion perustoimintaa, omia sisäisiä toimenpiteitä, tapa päivittäin seurata hyväksyttyä tulostasoa ja analyttistä tarkkuutta. Kansainvälinen standardi SFS-EN ISO 15189 määrittelee kliniselle laboratoriolle laatu- ja pätevyysvaatimukset. Täyttääkseen Suomen standardisoimisliiton 25.6.2007 vahvistaman standardin vaatimukset klinisen laboratorion tulee kehittää oma laadunhallintajärjestelmänsä eli valvonta-toimenpiteet sen varmistamiseksi, että laboratorion annettavat tulokset ovat riittävän luotettavia. (Suomen standardisoimisliitto SFS 2007; Rajamäki 1999; Kärpänoja 2000.)

Sisäisellä ohjauksella varmistetaan menetelmien toistuvuutta eli oikeellisuutta vakiointitoimenpitein ja tulostason vakautta kontrollinäyttein. Sisäinen päivittäinen tilan tarkkailu luotettavien potilastulosten saavuttamiseksi varmistaa, että laatu- ja pätevyysvaatimukset täyttyvät (Eurachem-Suomen laadunvarmistus sanastotyöryhmä 1997). Menetelmien vakioinnilla saadaan tuloksia, jotka ovat ”johdettavissa tunnustettuihin vertailumenetelmiin” (Rajamäki 1999, 117) eli ovat jäljitettävissä. Johdettavuus järjestyy siten, että laboratorion käytössä ovat

sellaiset vertailumateriaalit, vakiot, ”joiden tavoitearvot on tuotettu ko. tunnustetuilla vertailumenetelmillä” (Rajamäki 1999, 117). Vakioinnin yhteydessä laboratorio tutkii jatkuvasti omien menetelmiensä tasoa käyttäen potilaiden näytteitä ja kaupallisia laaduntarkkailunäytteitä. Tuloksen luotettavuuden arvioinnissa kontrollinäyte analysoidaan yhtä aikaa potilaan näytteen kanssa. Kontrollinäytteen tuloksen pysyminen annettujen rajojen sisäpuolella antaa varmuutta, ”että samassa analyysissä olleet asiakkaan näytteet on analysoitu luotettavasti” (Mattiainen, Miettinen & Wasström 2010, 45).

3.4 Ulkoinen laadunarviointi

Laboratorion tulee osoittaa ja varmentaa mittaus- ja testaustulostensa oikeellisuus osallistumalla laboratorioden välisiin vertailuihin, joita järjestetään ulkoisten laadunarviointikierrosten puitteissa. Suomessa ulkoisen laadunarviointikierrokseen osallistuminen on vapaaehtoista (Penttilä 2004, 38). Ulkoinen taho, Suomessa pääasiassa Labquality Oy, järjestää vertailumittauksen ja antaa objektiivisen arvion laboratorion toiminnasta. Osallistuva laboratorio ostaa tilaamalla laadunarviointinäytteitä ja analysoi ne potilasnäytteiden joukossa. Kaikki osallistujat saavat samanlaisen näytteen mitattavaksi. (Loikkanen 2009, 127).

Vertailumittauksen tehdessään laboratorio ei tiedä laadunarviointinäytteen pitoisuutta ja oikeaa tulosta, vaan kierrokseen osallistuneiden vertailuvastausten tulokset toimivat vertailulaatutasomittarina eli vertailumittarina. Käytettäessä laboratorioden vertailumittausten tuloksia loppuraportti on kuitenkin laboratorio-kohtainen ja luottamuksellinen. Osapuolilla on mahdollisuus saada vertailuarvo ja osallistua korjaavien toimenpiteiden toteuttamiseen silloin, kun laatukriteerit eivät täyty. (Suomen standardisoimisliitto SFS 2003, 50; Loikkanen 2009, 125-127).

4 Tutkimuksen tarkoitus ja tutkimusongelma

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää verinäytteen natriumin säilyvyyttä kylmähuoneessa litiumhepariinigeeliputkessa sentrifugoinnin jälkeen.

Tutkimusongelma oli:

Säilyykö litiumhepariinigeeliputkeen otetun laskimoverinäytteen Na:n pitoisuus plasmassa, kun parafilmillä suljettuna näyteputki säilytetään ensimmäisen mittauksen jälkeen kaksi vuorokautta kylmähuoneessa?

5 Tutkimusmenetelmä ja tutkimuksen toteutus

Tämä työ on yhden henkilön projekti, jossa tutkimusmenetelmänä oli kokeellinen kvantitatiivinen tutkimus. Kvantitatiivisessa eli määrällisessä tutkimuksessa asioita käsitellään täsmällisellä ja laskennallisella menetelmällä numeeristen suureiden avulla, jolloin aineiston keruussa otetaan huomioon havaintoaineiston soveltavuus määrälliseen ja numeeriseen mittaamiseen. Mittauksen kohteita kutsutaan havaintoyksiköiksi, joiden ominaisuuksia tutkitaan. Tutkimusongelman perusteella määräytyneiden havaintoyksiköiden valinnan jälkeen muodostunutta tutkimusaineistoa kutsutaan perusjoukoksi (KvantiMOTV 2003). Työn perusjoukkona olivat Kymenlaakson sairaalapalveluiden Pohjois-Kymen sairaalaan laboratorioon tulevien asiakkaiden natriumnäytteet. Näytteiden määrä, joiden natriumin pitoisuutta laboratorio määrittelee päivässä ja kuukaudessa kahdella Cobas Integra 800 -analysaattorilla, on esitetty taulukossa 1. Kuukauden luku on keskimääräinen arvo kolmesta tätä tutkimusta edeltävästä kuukaudesta.

Taulukko 1. Laboratorioon tulevat P-Na: n näytteet.

Analysaattori	Päivä/testi/kpl	Kuukausi/testi/kpl
I Cobas Integra 800	105	3150
II Cobas Integra 800	89	2660
Yhteensä	194	5810

Opiskelijalla ei ole aina mahdollisuutta käyttää valmista tutkimusaineistoa eikä valita tutkimukseen monipuolisesti ja sopivalla otantamenetelmällä edustavaa otosta. Holopaisen ja Pulkisen (2008, 29, 36) mukaan jokaisella otoksen havaintoyksiköllä on oltava mahdollisuus tulla valituksi otokseen yhtä suurella todennäköisyydellä, ettei koko tutkimus jäisi kovin pinnalliseksi. Tässä opinnäytetyössä tutkimuskohteena on havaintoyksiköiden joukko eli näyte. Tutkimusai-

neiston koko on rajoitettu harkitusti aineiston keräämiseen käytettävissä olleen ajan, budjetin ja tutkijamäärän perusteella. Näytteeseen kuuluvat kaikki tutkimuspäivänä Pohjois-Kymen sairaalan potilaiden aamukierroksella otetut natriumnäytteet. Yksi aamunäyteottokierros kattoi kaikki sairaalan osastot, joissa potilaat ovat eri-ikäisiä, eri tautia potevia henkilöitä. Perusjoukkoon nähden, eli keskimäärin 194 näytettä päivässä, otoksen koko viisikymmentä on riittävän edustava. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 31.)

Kokeellinen tutkimus on yksi kvantitatiivisen tutkimuksen menetelmistä, jossa mitataan vain yhden tutkitun muuttujan vaikutusta toiseen muuttujaan. Erityisesti olosuhteissa, tässä opinnäytetyön tapauksessa laboratorion olosuhteissa, perusjoukosta otetun näytteen kahden muuttujan syy- vaikutussuhteiden muutosta osoitetaan antamalla aikaa vaikuttaa koemuuttujaan. Kahden muuttujan välistä muutosta, jota ei voi selittää millään toisella tekijällä, mitataan numeerisesti. Tämän tutkimuksen muuttujina olivat natrium ja aika, jossa tarkkuusvaatimukset on fokusoitu yhteen tutkittavaan veriplasman ominaisuuteen eli natriumin säilyvyyteen plasmassa litiumhepariinigeeliputkessa sentrifugoinnin jälkeen geelin päällä. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2007, 130.)

5.1 Tutkimusaineiston keruu

Tutkimusaineiston keruu ja näytteiden analysointi tapahtuivat 3.5.2011 – 5.5.2011. Tutkimusta varten ei pyydetty potilaiden lupaa, koska tutkimuskäsittelyyn ei otettu näytteitä erikseen, vaan käytettiin sellaisten henkilöiden näytteitä, joilla oli tutkimuspyyntö P-Na:ta varten. Kaikki aamukiertoon osallistuvat laboratoriohoitajat saivat kirjalliset ohjeet tutkimuksen tarkoituksesta ja näyteputkien käsittelystä (liite 1). Näytteenoton jälkeen potilasnäytteet numeroitiin juoksevilla numeroinnilla. Tutkimusnäytteiden numerointi ja tutkimuksen tulokselle tarkoitettu kaavake (liite 2) vastasivat toisiaan.

5.2 Tutkimusaineiston käsittely

Ennen näytteiden analysointia näyteputkien täyttymistä tarkistettiin ja tutkimukseen otettiin vain oikein täytetyt, sillä ali- tai ylitäytettyjen putkien sisältämien

lisäaineiden ja näytteen konsentraatio on virheellinen (Makkonen & Tuokko 1997, 79). Litiumhepariinigeeliputket ovat vakuumputkea, ja niiden alipaine ja sisältämä antikoagulanttityyte on vakioitu. Putken valmistaja vakuuttaa hepariinin vaikuttavan hyytymistapahtumaan 24 tuntia. Tutkimukseen hyväksytyt näyteputket sentrifugointiin ja tarkistettiin geelin päällä plasman laatua ja määrää. Putkessa oleva geeli pitää verensolut ja plasman erotettuina, ja työohjeen (Kymenlaakson sairaalapalvelut 2009) mukaan näyte säilyy huoneenlämmössä kahdeksan tuntia. (Mediq Suomi 2011.)

Ikterus eli plasman keltaisuus, joka johtuu liiallisesta bilirubiinin määrästä veressä, ei ole este näytteen tutkimukseen (Kymenlaakson sairaalapalvelut. 2009; Penttilä 2004, 234). Hemolyysisessä näytteessä yli 10 g/l hemoglobiinin määrä vaikuttaa natriumin tulokseen nostavasti. Verikaasuanalysaattorilla ABL 700 tutkittiin niiden näytteiden hemoglobiinin määrä, joiden plasman väri oli poikkeava ja muuttunut punertavaksi. Syynä hemolyyttisen näytteen värimuutokseen on punasolujen hajoaminen, jolloin hemoglobiini vapautuu ja aiheuttaa plasman punertavan sävyn (Ruutu 2007, 199). Hemoglobiinin konsentraation tason 10 g/l ylittäneet näytteet oli hylätty ja haettu uusia näytteitä (Roche Diagnostics GmbH 2004).

Näytteet tutkittiin Cobas Integra 800 -analysaattorilla. Tulosten etsimisen helpottamiseksi nämä näytteet ajettiin ensimmäisinä. Esikäsitellyt näyteputket laitettiin telineeseen ja siirrettiin koneeseen natriumpitoisuuden määrittämiseksi. Kone huolehtii automaattisesti plasman konsentraatiosta, ja laboratorion työohjeen mukaan epäsuorassa menetelmässä analysaattori laimentaa kaikki näytteet tislattulla vedellä suhteessa 1:6 ennen mittausta (Kymenlaakson sairaalapalvelut 2009). Natriumin mittausalue plasmasta on 20 – 250 mmol/l. Mittausalueen ylityessä näytettä ei laimenneta, vaan vastataan tutkimuksen tilaajalle organisaa-tion koodilla: Y250. Mitattu veriplasman natriumpitoisuus ilmoitetaan millimoo-leissa litraa kohden. (Roche Diagnostics GmbH 2004.)

Yhden henkilön näytteestä tehtiin kaikkiaan kolme mittausta, jotka suoritettiin vastaavasti tutkimuksen ensimmäisenä, toisena ja kolmantena aamupäivänä. Ennen toista ja kolmatta mittausta analysaattorin tukkeutumisen välttämiseksi näytteiden plasma eroteltiin eppendorfin putkiin, sentrifugointiin neljä minuuttia mikrosentrifugissa ja konemittausta varten siirrettiin mikronäyteputkiin. Ensimmä-

mäisen päivän mittauksia vertailtiin toisessa ja kolmannessa mittauksessa saattuihin tuloksiin. Lopulliset mittaustulokset käsiteltiin Excel- ohjelmalla.

Määritysten jälkeen näyteputket pidettiin kylmähuoneessa muista laboratorion näytteistä erillisessä telineessä, jolloin putkien korkkien asemesta käytettiin parafilmiä. Parafilmi on helpoin tapa suojata näytteitä haihtumiselta ja kontaminaatiolta, eikä korkkien laittaminen oikealle putkelle vienyt ylimääräistä aikaa.

5.3 Tutkimuksessa käytettävät reagenssit ja välineet

Tutkimuksessa käytetyt Oriolan Venosafe-litiumhepariinigeeliputket, näytteenotto- ja mittausvälineet sekä laitteet ovat käytössä toimeksiantajan Pohjois-Kymen sairaalan laboratoriossa. Näytteenotossa käytettiin Venoject-merkkisiä neuloja kokoa 20G ja Venosafe-merkkisiä 5 ml:n litiumhepariinigeeliputkia. Ensimmäisen tutkimuspäivän näytteet sentrifugointiin Hettich Rotanta 460S – sentrifugilla 10 minuuttia nopeudella 3377 rpm. Koneen sisälämpötila oli +20°C. Toisena ja kolmantena päivänä luotettavampaa tutkimusmäärittystä edellyttäen, näytteiden plasma siirrettiin eppendorfin putkiin ja pyöritettiin Mikro 120 -sentrifugissa. (Roche Diagnostics GmbH 2004.) Sentrifugoinnin jälkeen näytteiden plasman natriumpitoisuudet oli mitattu natriumioniselektiivisellä elektrodilla referenssielektrodia käyttäen. Molempien jäljitettävyystiedot on esitetty taulukossa 1 (liite 3).

Käytettävissä olleet Labquality Oy:n lähettämät sisäisen laaduntarkkailun näytteet olivat humaani- ja eläinperäisiä kontrolliseerumeja. A-seerumi, jonka tavoitearvoja ei tiedetä, tulee Labquality:n laadunarviointipalveluina kerran kuukaudessa. DayTrol on kylmäkuivattu, pitkäjaksoinen kierrosnäyte, joka ajetaan kahdesti viikossa muiden näytteiden joukossa. Tavoitearvot ja tavoiteväli ovat mukana ja sarjakohtaisia.

Cobas Integra 800 -analysaattorin ohjeissa on asetettu laaduntarkkailunäytteiden käyttö, jonka tarkoituksena on seurata mittausmenetelmän tulostasoa ja analytiikan toistettavuutta. Kahden, Precinorm normaalitasoinen (PNU)- ja Pre-sipath patologinen (PPU) -laaduntarkkailunäytteiden tavoitearvot ja tavoitevälit on esitetty taulukossa 2 (liite 3).

Kalibroitiliuokset eli vakiot Solution 1 ja Solution 2 ovat ISE:n moduulin kalibroinnissaan käyttämiä kahdenpisteen mittausliuoksia, joiden avulla saadaan tieto vertailumittaan eli jäljitettävyyssmittanormaaliin. ISE:n moduulin mittausjärjestelmän muistissa on muun muassa natriumiin suhteutettu mittanormaali, joka on analysaattorin kiintomitta eli standardi. Päivän aikana viiden tunnin välein kone suorittaa automaattisen kalibroinnin ja hälyttää, jos kalibroitiliuosmittaus tulosten arvo on mittanormaalin tavoitevälin ulkopuolella. Samoin verinäytteen natriumin pitoisuuden mittaustulos on epäluotettava. (Cobas Integra 800 2002; Ehder 2005.)

Muiden ISE:n moduulin käyttämien liuosten LOT- tiedot on koottu taulukkoon 3 (liite 3). ISE- moduuli käyttää referenssiliuosta plasmanäytteiden sisältämien elektrolyyttien, muun muassa natriumin, konsentraatiota mittauksessa. Natriumelektrodin mittari mittaa jännite-eroa, joka syntyy mitattavan plasmanäytteen ja referenssiliuoksen välille (Vilpo & Niemelä 2003, 46; Penttilä 2004, 77).

Liuokset Etcher ja Deproteinizer ovat ISE:n moduulin ioniselektiivisten elektrodien puhdistusliuokset. Deproteinizer puhdistaa muun muassa ISE:n moduulin putkiston. Toiminta on manuaalinen. Se käynnistetään tarvittaessa. Etcher on ainoastaan natriumioniselektiivisen elektrodin puhdistukseen tarkoitettu. Sitä käytetään virtsanäytteiden natriumin konsentraation mittauksen jälkeen. Aktivatorliuos on suodatettu ja yhdistetty humaani seerumi tai kontrolliseerumi, joka aktivoi ISE:n moduulin natriumelektrodia ja suorittaa sen alustusta (initialization) joka viidenkymmenen natriumvirtsasarjan jälkeen. (Roche Diagnostics GmbH 2004).

6 Tilastollinen aineiston analysointi

Tilastollisen testauksen hypoteesi on lyhyt, selkeä ja perusjoukon tilaa, joidenkin asioiden välisiä suhteita koskeva väite. Hypoteesin asettaminen edellyttää perustelut, jotka pohjautuvat teoriaan, metodeihin, aiempiin tutkimuksiin. (Hirsjärvi 2007, 154.) Testauksessa asetetaan kaksi hypoteesia, jolloin vain toinen voi olla voimassa. Nollahypoteesi H_0 väittää tutkittavan asian olevan muuttumattoman eli muuttujan välillä ei ole riippuvuutta tai keskiarvojen välillä ei ole eroa.

Vastahypoteesi H_1 väittää, että riippuvuutta tai eroa on. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 175 - 176.)

Hypoteesin asettamisen jälkeen valitaan tilastollinen testi, jonka avulla nollahypoteesi H_0 pyritään hylkäämään ja vastahypoteesille H_1 saamaan tukea. Jos testin tulos ei ole merkitsevä, jää voimaan nollahypoteesi H_0 . Merkitsevyystaso p eli riskitaso hylätä nollahypoteesi H_0 on tilastollisessa tutkimuksessa apuna johtopäätöksiä tehdessä. Merkitsevyystason avulla mitataan luotettavuutta, todennäköisyyttä tehdä virheellinen valinta, kun H_0 hylätään. Raja 0,05 riittää yleensä opinnäytetyötä tehtäessä. (Heikillä 2008, 194,195.)

Tässä työssä asetetut hypoteesit olivat seuraavat:

H_0 : Toisen ja kolmannen päivän näyteryhmien natriumpitoisuuden mittaustulokset eivät eroa ensimmäisen päivän näyteryhmän tuloksista.

H_1 : Molempien näyteryhmien natriumpitoisuuden mittaustulokset eroavat ensimmäisen päivän näyteryhmän tuloksista.

6.1 Tilastolliset tunnusluvut

Tunnusluvuilla annetaan informaatiota muutamasta muuttujasta pelkistetyllä arvoilla ja tietoa sen aineiston jakauman sijainnista ja muodosta. Jakauman muoto puolestaan vaikuttaa aineiston analyysimenetelmän valintaan. Yksittäinen tunnusluku voi olla harhaanjohtava eli jakaumaa kuvaava vain yhdeltä kannalta. Tarkastelemalla yhtä aikaa useita tunnuslukuja saadaan luotettavampi kuvio koko jakauman sijainnista ja muodosta. Jakauma on normaali, kun mediaani ja keskiarvo ovat lähellä toisiaan, ja päinvastoin jakauma on vino, kun mediaani ja keskiarvo poikkeavat paljon toisistaan. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 78, 85.) Tässä työssä käytettiin keskiarvo-, keskihajonta- ja mediaanitunnuslukuja.

6.2 Pearsonin korrelaatiokerroin

Korrelaatiokerroin on tilastollinen tunnusluku, jolla selvitetään kahden muuttujan välistä yhteyttä. Pearsonin korrelaatiokerroin mittaa vähintään välimatka-asteikon tasoisten muuttujien välisen lineaarisen riippuvuuden voimakkuutta. Riippuvuuden tarkastelu aloitetaan hajontakaavion avulla, joka kuvaa, miten hyvin havaintopisteet ovat keskittyneet suoran ympärille. Pearsonin korrelaatiokerroin on normeerattu niin, että kertoimen numeerinen arvo on $-1:n$ ja $+1:n$ välillä. Kerroin lähellä $+1:tä$ kertoo muuttujien välisestä voimakkaasta positiivisesta korrelaatiosta, jolloin toisen muuttujan kasvaessa toinenkin kasvaa. Negatiivinen numeerinen arvo kertoo, että toisen muuttujan kasvaessa toisen muuttujan arvo pienenee. Muuttujien välillä ei ole riippuvuutta, jos kerroin on lähellä nollaa. (Heikkilä 2008, 90, 91.)

Riippuvuus on sitä voimakkaampi, mitä enemmän korrelaatiokertoimen arvo eroa nollasta. Poikkeama nollasta vahvistetaan testaamalla korrelaatiokertoimen arvo merkitsevyystason avulla. Tilastollinen merkitsevyys saadaan selville p-arvo ilmoittamalla. P-arvo on erehtymisriski. Korrelaatio on tilastollisesti merkittävä, jos p-arvo alittaa tässä työssä käytetyn merkitsevyystason. (Holopainen 2008, 242.)

6.3 Parittainen t-testi

Parittaisella t-testillä tehdään sisäisiä vertailuja aineistossa. Toistomittausasetelmaa käyttäen verrataan kahden toisistaan riippuvan otoksen keskiarvoja, eli otoksen samaa ominaisuutta mitataan useampaan kertaan. T-testi on parametrisen testi, jonka käyttö edellyttää ”normaalijakaumaoletuksen voimassaoloa, välimatka-astekollista mittausta ja vähintään kahtakymmentä havaintoa.” Tässä työssä parittaisen kaksisuuntaisen t-testin avulla testattiin hypoteesiparille asetettua nollahypoteesia, jonka mukaan ”kahden muuttujan keskiarvot ovat samansuuruiset” (Nummenmaa 2004, 169, 172) eli verrattavien ryhmien tuloksilla ei ole eroa. Kaksisuuntaisessa testauksessa vaihtoehtoisen hypoteesin asettamisessa voidaan olettaa, ovatko vertailevien näyteryhmien keskiarvot suurentaneet vai pienentäneet. (Nummenmaa 2004.) Tässä työssä oletettiin ainoastaan, että keskiarvot ovat erisuuruiset.

Parittaisen t-testin testisuuren määrittelyssä nojataan merkitsevyystasoon p eli kriittiseen tasoon. T-testin p -arvon ollessa pienempi kuin kriittinen arvo nollahypoteesi hylätään. T-testin p -arvon ollessa kriittistä arvoa suurempi tai yhtä suuri kuin kriittinen arvo, nollahypoteesi jää voimaan. (Nummenmaa 2004, 166-172.)

7 Tulokset

Cobas Integra 800 2002 -analysaattorilla saadut jokaisen mittauspäivän natriumplasmaipitoisuustulokset käsiteltiin Excel-ohjelmalla päivänäyteryhmittäin. Päivänäyteryhmät I, II ja III koostuvat näyteputkista, jotka ovat samat tutkimusputket ja joiden tutkimuspäiväkohtaisten tulosten tilastolliset tunnusluvut on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Aineistosta (50 näytettä) saadut tilastolliset tunnusluvut.

Tutkimuspäivä	Mediaani (md)	Keskiarvo (\bar{x})	Keskihajonta (SD)
I	138 mmol/l	138,08 mmol/l	4,54 mmol/l
II	140 mmol/l	139,14 mmol/l	4,61 mmol/l
III	140 mmol/l	139,52 mmol/l	5,04 mmol/l

Saatuja tuloksia on verrattu keskenään sillä periaatteella, että ensimmäisen tutkimuspäivänäytteiden tuloksia pidettiin nollatuloksina, joihin toisen ja kolmannen tutkimuspäivän tuloksia on vertailtu. Perusjoukon vertailuryhmät jakautuivat seuraavasti:

I – Ensimmäisen tutkimuspäivän näyteryhmä

II – Toisen tutkimuspäivän näyteryhmä

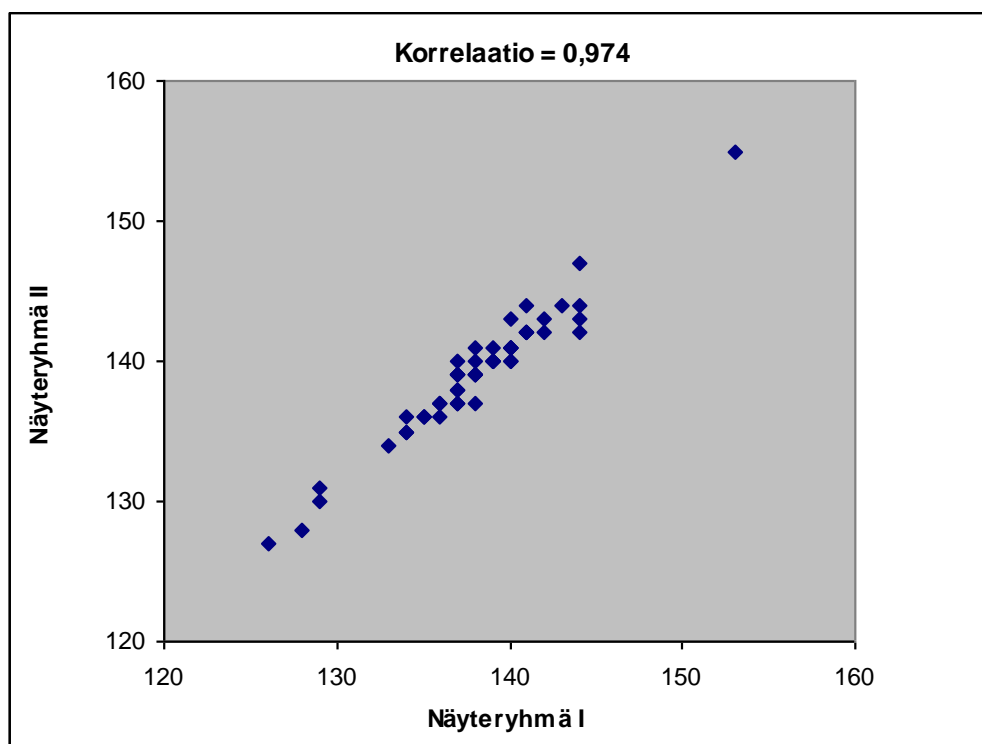
III – Kolmannen tutkimuspäivän näytetyhmä.

Näyteryhmien, eli hypoteesiparien I:n ja II:n sekä I:n ja III:n väliset vertailut antoivat vastaukset tässä työssä asetettuihin kappaleen 5 tutkimusongelmiin. Vertailevien ryhmien välisistä pareittaisista Cobas Integra 800 -analysaattorin antamista tuloksista esitettiin hajontakuviot (kuvio 1, kuvio 2). Pearsonin korrelaatiokertoimella selvitettiin edellä mainittujen ryhmien välistä yhteyden voimakkuutta. T-testin avulla testattiin hypoteesiparille asetettua hypoteesia merkitsevyystasoon nojaten.

7.1 Korrelaatio

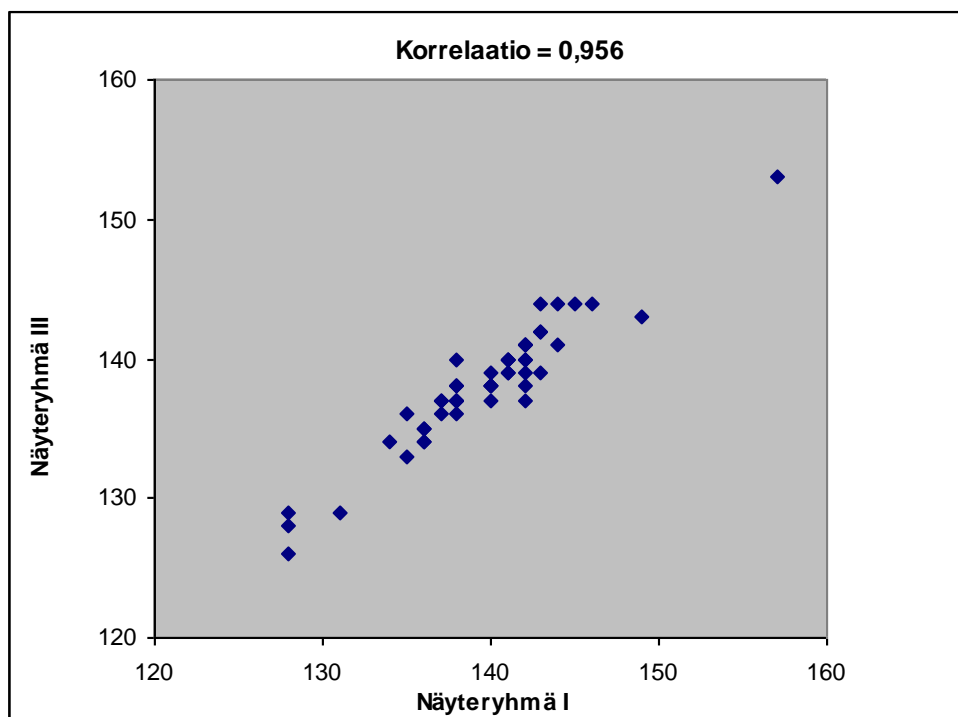
Näyteryhmien I ja II, sekä näyteryhmien I ja III samaa ominaisuutta mitatessa testattiin, onko säilyttämisaikalla vaikutusta natriumpitoisuustuloksiin, kun näyte analysoidaan ensimmäisen tutkimuspäivän lisäksi vastaavasti vuorokauden ja kahden vuorokauden kuluessa näytteenotosta. Korrelaatiokertoimella testattiin näyteryhmien välisen riippuvuuden voimakkuutta ja toistettujen mittausten t-testillä näytteiden natriumpitoisuuksien tilastollisia eroja.

Näyteryhmien I ja II välisen riippuvuuden voimakkuudesta saatu korrelaatioker-toimen arvo oli 0,974. Ryhmien mittaustuloksista on piirretty hajontakuvio (kuvio 1).



Kuvio 1. Hajontakuvio hypoteesiparien näyteryhmästä I ja näyteryhmästä II.

Näyteryhmien I ja III välisen riippuvuuden voimakkuudesta saatu korrelaatioker-toimen arvo oli 0,956. Ryhmien mittaustuloksista on piirretty hajontakuvio (kuvio 2).



Kuvio 2. Hajontakuviot hypoteesiparien näyteryhmästä I ja näyteryhmästä III.

7.2 T-testi

Parittaisella kaksisuuntaisella t-testillä testattiin vastaavasti kahden keskenään riippuvan näyteryhmän havaintoparien mittauserotukset. Sovittiin että tässä työssä vastahypoteesin oletettavan vain ainoastaan keskiarvojen olevan erisuuruiset. Testattujen ryhmien tulokset ovat seuraavat:

Näyteryhmien I:n ja II:n välisessä kaksisuuntaisessa vertailussa t-testin havaintoparien mittauserotusten p-arvoksi saatiin $3,03725 \times 10^{-9}$ eli 0,00000000303725. Vastaavasti näyteryhmien I:n ja III:n välisessä kaksisuuntaisessa vertailussa p-arvo oli $1,76722 \times 10^{-8}$ eli 0,0000000176722. Työn merkitsevyystasoksi valittiin 5%, jonka normaalijakauman hylkäämisalueet alkoivat seuraavien arvojen jälkeen: $z_{0,025} = 1,96$ ja $-z_{0,025} = -1,96$. Testin molempien vertailevien testiryhmien p-arvot asettuivat normaalijakaumaan 95%:n luottamusväliin eli $0,00000000303725 < \text{kuin } 1,96$ ja $0,0000000176722 < \text{kuin } 1,96$. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 178, 183.)

Kaikkien saatujen tulosten mukaan kummankin testiryhmien, eli vertailuryhmien I:n ja II:n sekä vertailuryhmien I:n ja III:n nollahypoteesit jäivät voimaan.

8 Johtopäätökset

Litiumhepariinigeeliputkeen otetun laskimoverinäytteen natriumpitoisuuden säilyvyyttä plasmassa tutkittiin vertailemalla I:n ja II:n, sekä I:n ja III:n näyteryhmien litiumhepariinigeeliputkista mitattuja natriumpitoisuuksien tilastollisia tunnuslukuja keskenään. Kyseisen ryhmien näytteet olivat yksi ja sama näyteputki, joka mitattiin vain kolmena peräkkäisenä päivänä.

Tunnuslukukorrelaatiokertoimella saadut tulokset kertovat näyteryhmien välisestä voimakkaista lineaarisista riippuvuuksista (Kuvio 1; Kuvio 2), jolloin vertailuryhmien toisen ryhmän tulosten kasvaessa toisenkin ryhmän tulokset kasvavat.

Aineistosta saadut tilastolliset tunnusluvut, mediaanit ja keskiarvot, ovat melko lähellä toisiaan. Tästä voidaan päätellä aineiston havaintojen jakautuneen normaalisti. Tilastollisella t-testillä, joka edellyttää aineiston normaalijakauman ja välimatkamitta-asteikkoa, testattiin nollahypoteesi eli pareittaisten muuttujien keskiarvot. T-testin tulosten perusteella eli p-arvon ollessa suurempi kuin asetettu kriittinen merkitsevyystaso 5%, tutkimusongelmasta muodostettu nollahypoteesi jää voimaan. (Holopainen & Pulkkinen 2008.)

Edellä esitetyillä tuloksilla on saatu vastaus tämän työn kysymykseen, eli tutkimusongelmaan. T-testin tulosten perusteella voidaan päätellä, että litiumhepariinigeeliputkeen otetun laskimoverinäytteen natriumpitoisuus plasmassa säilyy, kun näyteputki säilytetään ensimmäisen mittauksen jälkeen kaksi vuorokautta kylmähuoneessa. Litiumhepariinigeeliputken sentrifugoidun näytteen säilyttäminen ei muuta natriumtulosta tilastollisen merkitsevästi. Samoin päiväryhmien mittausten keskiarvot pysyvät tavoiterajoissa, vaikka hieman eroavat toisistaan (taulukko 2). Erot ovat kliinisesti hyväksyttäviä ja johtunevat menetelmän analyysitulostasosta (Penttilä 2004, 36). Toisena syynä voinee olla näyteputkien säilyminen ensimmäisen mittauksen jälkeen työohjeen mukaisesti työpöydällä kahdeksan tuntia. Ehdottaisin näytteiden siirtämistä kylmähuoneeseen heti mittauksen jälkeen.

9 Pohdinta

Tämän opinnäytetyön teko oli mielenkiintoista ja kiehtovaa, koska sen toimeksianto perustui todelliseen tarpeeseen. Toimeksiantajan konkreettiset ohjeet tutkimusongelmassa motivoivat ja auttoivat tutkimuksen suunnittelussa, tutkimusongelman täsmentämisessä ja tutkimuksen toteuttamisessa. Asetetut rajat harjaannuttivat kykyä ajatella loogisesti ja esittää asioita lyhyesti. Suunnitelmallinen aikataulu ja pitkäjänteisyys veivät työtä eteenpäin aineiston keräämisessä, tiedon käsittelyssä, analysoimisessa ja tulosten raportoinnissa. Opinnäytetyön teko on oppimisprosessia, teorian soveltamista käytäntöön, jossa ammattitaito lisääntyy oppimisen kautta.

9.1 Tutkimuksen luotettavuus

Luotettava tutkimus tarkoittaa asianmukaista tutkimuksen toteutusta. Reliabiliteetti ja validiteetti ovat kaksi termiä, joiden avulla arvioidaan tutkimuksen luotettavuutta. Reliabiliteetti on tulosten tarkkuutta, jolloin mittaustuloksiin eivät vaikuta satunnaiset tekijät, kuten mittaaaja ja mittaolosuhteet. Vakioidulla tavalla aineistosta suoritettavat mittaukset antavat eri mittauskerroilla ja eri mittaajien suorittamana toistettavat tulokset (Metsämuuronen 2000, 11). Tässä työssä, alkaen ohjeistetusta näytteenotosta ja koko preanalyttistä, analyttistä prosessia seuraten (kappale 6.2) nähdään tutkimustapahtumien menneen laboratorion laatuvaatimusten ja ohjeen mukaan (Kymenlaakson sairaalapalvelut 2009). Tutkimuksen luotettavuutta lisää kaupallisten kontrollinäytteiden, vakioiden ja kalibroitiliuosten käyttö. Saatujen tulosten numerointi potilaiden nimien mukaisesti ja siirto koneesta paperille oikeassa järjestyksessä oli suoritettu ja sitten varmistettu kahden työntekijän otteella.

Kvantitatiivisessa tutkimuksessa aiemmat teoriat ja tutkimukset ovat keskeisiä työn luotettavuutta arvioidessa (Hirsjärvi ym. 2007, 256). Tämän tutkimuksen tuottamat tulokset ovat Cobas Integra 800 -analysaattorin ohjeen mukaisia, eli pysyvät muuttumattomana, tilastollisten menetelmien mukaan hyväksytyssä rajoissa säilytyksen aikana (Roche Diagnostics GmbH. 2004).

Tutkimuksen luotettavuutta ja havainnollisuutta parantaa aineiston saattaminen tilastollisesti käsiteltävään muotoon, taulukkoon. Taulukkomuotoinen aineisto esittely osoittaa taloudellisuutta, jossa yhdellä rivillä on yhden tutkittavan yksikön tiedot ja yhdessä sarakkeessa kaikkien muuttujien samaa asiaa koskeva tieto (Heikkilä 2008, 123). Saadut tulokset ovat oikeita, eikä vääristeltyjä tai kaunisteltuja.

Tämän tutkimuksen validiteetin luotettavuussisältö täyttyi selvästi, koska Metsämuurosen (2000, 11) mukaan validiteetin keskeinen vaatimus on mitata sitä, mitä oli tarkoitus mitata. Tällä tutkimuksella yksiselitteisesti mitattiin oikeita asioita eli Na:n säilyvyyttä plasmassa ja saatiin vastauksen määritettyyn tutkimusongelmaan, jonka varmistettiin huolellisella suunnittelulla ja tiedonkeruulla (Heikkilä 2008, 29-30). Tutkimusotos oli hyvinkin perusjoukkoaan edustava (kappale 6), ja tämän tutkimuksen tulokset voidaan yleistää Kymenlaakson sairaanhoitopiirin kuntayhtymän potilaisiin (Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 152).

9.2 Tutkimuksen eettisyys

Hoitotieteellisessä tutkimuksessa tutkimuskohteet ovat pääasiallisesti ihmisiä. Sellainen tutkimus vaatii ehdottomasti rehellisyyttä, tarkkuutta, yksilön kunnioittamista, ihmisen moraalisen arvon varjelemista ja tutkimusongelman valinnassa pohtimista, miksi tutkimukseen ryhdytään. (Hirsjärvi ym. 2007, 25; Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 172). Tämän tutkimusaihe oli valittu Kymenlaakson sairaalapalveluiden Pohjois-Kymen sairaalan laboratorion ehdoilla. Kysymys, säilyykö veren natrium litiumhepariinigeeliputkessa kaksi vuorokautta kylmähuoneessa, oli todella ajankohtainen. Tutkimuksen eettinen vaatimus eli ihmisarvon kunnioittaminen, oli toteutettu jo preanalyttisessä vaiheessa. Näytteenoton jälkeen tutkimus jatkui anonyymisti. Ensimmäisen näytteenatriumpitoisuuden mittauksen jälkeen tulokset lähetettiin kohdeosastolle, potilaskohtaiset tiedot poistettiin ja näyteputket numeroitiin juoksevilla numerolla. Tutkimuksessa ei ole tarvittu potilaiden henkilökohtaisia tietoja. Koko tutkimus oli yksityiskohtaisesti suunniteltu, ja käytetyt menetelmät oli huolellisesti selostettu. Saadut tulokset oli tarkistettu eikä muokattu, ja ne oli raportoinnissa yksiselitteisesti esi-

tetty. Plagiointi eli toisten henkilöiden tiedon käyttöä oli tässä työssä vältetty kaikilla mahdollisilla tavoilla mm. ilmoittamalla lähteiden alkuperä.

9.3 Jatkotutkimusaihe

Tässä tutkimuksessa todettiin se, että natriumpitoisuus säilyy tilastollisesti ja kliinisesti hyväksytyissä rajoissa litiumhepariinigeeliputkessa, kun näyteputki säilytetään kaksi vuorokautta kylmähuoneessa. Pientä natriumpitoisuuden nousua ja laskua kuitenkin huomattiin toisen ja kolmannen mittauksen jälkeen.

Jatkotutkimuksena voidaan tutkia natriumpitoisuuden pienen muutoksen syytä.

Lähteet

- Arvonen, A. & Levonen, H. 2002. Ammattikorkeakoulun kemia. Keuruu: Otava.
- Becton, Dickinson and Company. 2006. Heparin Plasma Testing in Clinical Chemistry. USA: Olympus Corporation.
- Bjäljed, Q, V. & Toverud, K, C. 2008. Ihminen. Fysiologia ja anatomia. Helsinki: WSOY Oppimateriaalit.
- Ehder, T. (toim.) 2005. Kemian metrologian opas. <http://www.mikes.fi/frameset.aspx?url=publications.aspx%3fgetall%3d1%26categoryID%3d1&pageID=857>. 10.3.2011.
- Eurachem-Suomen laadunvarmistus sanastotyöryhmä. 1997. Analyttisen ja kliinisen kemian laadunvarmistussanasto. Helsinki: Eurachem-Suomi.
- Heikkilä, T. 2008. Tilastollinen tutkimus. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Hirsijärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2007. Tutki ja kirjoita. Helsinki: Tammi.
- Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2008. Tilastolliset menetelmät. Porvoo: WSOY.
- Kankkunen, P. & Vehvilainen-Julkunen, K. 2009. Tutkimus hoitotieteessä. Helsinki: WSOYpro Oy.
- KvantiMOTV. 2003. Otanta ja otantamenetelmät. FSD: <http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/otos/otantamenetelmat.html>. 9.2.2003.
- Kymenlaakson sairaalapalvelut. 2009. Työohje. Tunniste: Kemia. Kuusankosken aluesairaala: Laboratorio.
- Kärpänoja, P. 2000. Tilastointi sisäisen laadunohjauksen välineenä. Moodi (1), 23.
- Kärnä, M. 2010. Osaston apulaishoitaja. Kymenlaakson sairaalapalveluiden Pohjois-Kymen sairaala. Haastattelu. 28.01.2010
- Loikkanen, M. 2009. Ulkoisten laadunarviointikierrosten käyttö ja valinta. Moodi (2), 125-127.
- Makkonen, S. & Tuokko, S. 1997. Näytteenotto. Helsinki: Edita.
- Matikainen, A.M., Miettinen, M. & Wasström, K. 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: EDITA.
- Mediq Suomi. 2011. Perusterveydenhuollon tuoteluettelo. Espoo: Mediq Suomi Oy.
- Metsämuuronen, J. 2000. Tilastollisen kuvauksen perusteet. Metodologia-sarja 2. Viro: Jaabes Oy.
- Nummenmaa, L. 2004. Käyttätymistieteiden tilastolliset menetelmät. Helsinki: Tammi.
- Oriola. 2009. Perusterveydenhuollon tuotteet. Luettelo. Espoo.
- Penttilä, I. (toim.) 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSO.
- Rajamäki, A. 1999. Sisäinen laadunohjaus. Moodi 23 (3), 117.
- Rautajoki, A. 1998. Kliinisten laboratoriotutkimusten näytteenotto-opas hoito-henkilöstölle. Tampere: Anja Rautajoki & Kirjayhtymä Oy.
- Roche Diagnostics GmbH. 2004. COBAS Integra 800. Deutschland: Roche Diagnostics GmbH.
- Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassilla, R. & Porkka, K. 2007. Veritaudit. Jyväskylä: Duodecim.
- Saarinen, H. & Lajunen, L. 1998. Analyttisen kemian perusteet. Helsinki: Kowapaino Oy.
- Salomaa, L., 2006. Miksi näytteenottoa ei arvosteta? Bioanalytiikka (2), 6.

- Suomen standardisoimisliitto SFS. 2007. SFS-EN ISO 15189 Lääketieteelliset laboratoriot. Erityisvaatimukset laadulle ja pätevyydelle. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.
- The University of Arizona. 2003. Chemistry Tutorial. The University of Arizona. <http://www.biology.arizona.edu/biochemistry/tutorials/chemistry/page3.html>. 28.1.2003.
- Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoon varten. Helsinki: Kirjayhtymä Oy.
- Vilpo, J. & Niemelä, O. (toim.) 2003. Laboratoriolääketiede. 2., uudistettu painos Jyväskylä: Kandidaattikustannus Oy.
- Vilkka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Helsinki: Tammi.

Ohjeistus verinäytteenottoa varten

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on selvittää, säilyykö litiumhepariinigeeliputkeen otetun laskimoverinäytteen natriumin pitoisuus plasmassa, kun näyteputki parafilmi päällä säilytetään ensimmäisen mittauksen jälkeen kaksi vuorokautta kylmähuoneessa, jossa lämpötila on 4°C ja varmistaa kohdeosastolle lähetettyjen tulosvastausten luotettavuutta.

- Tutkimustilaustarrat ovat numeroitu potilaan nimen mukaan
- Tutkimukseen kuuluvat verinäytteet otetaan litiumhepariinigeeliputkiin ja laitetaan erilliseen näytetelineeseen
- Täytetyt näyteputket palautetaan samassa telineessä laboratorion kemian puolille, mistä ne lähtevät tutkimusprosessiin
- Näyteputkin sekoittaminen näytteenoton jälkeen
 - ⇒ Hellävarainen
 - Solujen ei saa rikkoutua
 - ⇒ Huolellinen 8-10 kerta
 - lisääaine sekoittuu näytteeseen
- Staasin käyttöä rajoitetaan vaan suoneen etsimiseen
 - ⇒ Hemolyyttisessä näytteessä hemoglobiinin määrä yli 10 g/l vaikuttaa natriumin tulokseen nousevasti

Cobas Integra 800 - analysaattorin antamat tulokset

Näyte	I mmol/l	II mmol/l	III mmol/l	Näyte	I mmol/l	II mmol/l	III mmol/l
1	136	137	137	26	141	144	144
2	137	139	138	27	135	136	136
3	126	127	128	28	139	140	141
4	136	136	135	29	134	135	136
5	137	138	138	30	134	135	135
6	135	136	136	31	138	139	140
7	133	134	135	32	139	140	141
8	136	137	138	33	142	143	143
9	138	139	142	34	140	141	141
10	134	136	136	35	140	140	141
11	140	143	142	36	144	143	144
12	139	141	143	37	138	137	138
13	137	139	138	38	141	142	142
14	137	139	142	39	141	142	142
15	129	130	128	40	139	140	140
16	153	155	157	41	137	138	138
17	143	144	149	42	142	142	143
18	137	140	140	43	138	139	138
19	129	131	131	44	137	137	137
20	144	147	146	45	140	141	141
21	138	140	140	46	139	140	142
22	138	141	140	47	144	144	145
23	128	128	128	48	137	137	137
24	141	142	142	49	140	140	138
25	140	141	142	50	144	142	143

Välineet, reagenssit ja niiden jäljitettävyyshiedot

Taulukko 1. Elektrodit.

Na ⁺ elektrodi, n:o 21029371, vaihto 6 kk:n välein
Referenssielektrodi n:o 21029398, kesto noin 2 vuotta

Taulukko 2. Kontrollinäytteet sekä kahdenpisteen kalibrointiliuokset

	Mittanormaali/tavoiteväli
DayTrol	142,1 mmol/l (139,3 - 144,9)
Precinorm PNU	123 mmol/l (119 - 124)
Precipath PPU	148 mmol/l (145 - 151)
ISE Calibrator Solution 1	110 mmol/l
ISE Calibrator Solution 2	150 mmol/l

Taulukko 3. Muut liuokset.

	LOT
ISE Reference, liuos	21403302
Etcher, liuos	21404002
Deproteinizer, liuos	21410204
Activator, liuos	161140-01