



# **BD Vacutainer® Barricor™ - plasmaputken uudelleen sentri- fugoinnin vaikutus tuloksiin**

K, Na, Ca, Alb, ASAT, ALAT & HIL-indeksi

Topi Kortetjärvi

Nelli Välikorpi

OPINNÄYTETYÖ  
Joulukuu 2021

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

## TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

KORTETJÄRVI, TOPI & VÄLIKORPI, NELLI:

BD Vacutainer® Barricor™ - plasmaputken uudelleen sentrifugoinnin vaikutus tuloksiin

K, Na, Ca, Alb, ASAT, ALAT & HIL-indeksi

Opinnäytetyö 66 sivua, joista liitteitä 5 sivua  
Joulukuu 2021

---

Veren plasmaa käytetään usein kliinisen kemian tutkimuksissa, koska plasman analysointi on sentrifugoinnin ansiosta nopeaa. Plasman erottelua kokoverestä helpottaa geelin tai mekaanisen erottelijan käyttäminen verinäyteputkissa. Geeli tai mekaaninen erottelija asettuu plasman ja punasolun välille sentrifugoinnin aikana pitäen ne erillään toisistaan.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, vaikuttaako BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasmaputken uudelleen sentrifugointi tutkittavien analyyttien tuloksiin. Opinnäytetyön yhteistyökumppanina toimii Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin Seinäjoen keskussairaalan kliinisen kemian ja mikrobiologian toimintayksikkö. BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasmaputki on verinäyteputki, jossa plasman ja verisolujen erottelijana toimii kaksiosainen mekaaninen erottelija. Valmistaja lupaa, että mekaanisen erottelijan ansiosta saadaan eroteltua puhtaampaa plasmaa nopeammin kuin tavallisella geeliputkella.

Tutkimusaineistona oli 49 Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin Seinäjoen keskussairaalan kliinisen kemian laboratorion näytearkistosta kerättyä potilasnäytettä BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasmaputkessa. Lisäksi otettiin 14 vapaaehtoiselta vakuumitekniikalla yksi BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasmaputki. Näytteet analysoitiin toimeksiantajan laboratoriossa Roche cobas c702 ja ISE moduuleilla. Tulokset analysoitiin Microsoft Excel-taulukkolaskentaohjelmalla. Jokaiselle analytyille määritettiin vaihteluväli, BIAS% ja sen keskiarvo sekä HIL-indeksin ja analyyttien muutosten väliset korrelaatiokertoimet. HIL-indeksin kohdalla käytettiin BIAS%:n sijaan absoluuttista BIAS:sta. Näiden lisäksi tehtiin pylväsdiagrammit analysointikierrösten erojen ja BIAS% suuruuksien havainnollistamiseksi.

Uudelleen sentrifugoinnin jälkeen kliinisesti merkittävää muutosta analyyttien tuloksissa havaittiin ainoastaan kaliumin kohdalla. Muidenkin analyyttien tuloksissa tapahtui pieniä muutoksia, mutta niillä ei ollut kliinistä merkitystä. HIL-indeksin muutoksen ja analyyttien muutosten välillä ei havaittu lineaarista yhteyttä.

---

Asiasanat: BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasmaputki, uudelleen sentrifugointi, verinäyteputki

## ABSTRACT

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

KORTETJÄRVI, TOPI & VÄLIKORPI, NELLI:  
The Effect of Re-Centrifugation in the BD Vacutainer® Barricor™ Plasma Blood  
Collection Tube to the Analytes  
K, Na, Ca, Alb, ASAT, ALAT & HIL index

Bachelor's thesis 66 pages, appendices 5 pages  
December 2021

---

Plasma is often used in the clinical chemistry analysis. Separating plasma from blood is made easier by adding separator gel or mechanical separator into the blood collection tube. Separator gel or mechanical separator settles in between the plasma and the red blood cells during the centrifugation keeping them apart from each other.

The purpose of this thesis was to find out if re-centrifugation has an effect on analytes' results in the BD Vacutainer® Barricor™ - lithium heparin plasma tube. The topic of the thesis was received from the Clinical Chemistry and Microbiological Unit of the Hospital District of South Ostrobothnia. BD Vacutainer® Barricor™ - plasma blood collection tube has a mechanical separator instead of the separator gel. BD promises that the tube provides a fast, clean and high-quality plasma sample.

A total of 49 BD Vacutainer® Barricor™- plasma tube samples were collected from the Clinical Chemistry unit's sample archive. In addition, a total of 14 samples were collected from volunteers. All samples were analysed by using the Roche's cobas c702 and ISE modules. The collected data were analysed statistically with Microsoft Excel. The range, BIAS% and its mean, and also the correlation of HIL index' and analytes BIAS for each sample were calculated.

The results of the thesis suggest that re-centrifugation does not cause clinically significant changes in the analytes' results. The only exception are the results of potassium. In case of the other analytes, there are changes in the results, but they remain under the allowed change range. Regarding the correlation between HIL index' and the analytes' changes, there is no linear connection or it is extremely weak.

---

Key words: BD Vacutainer® Barricor™ plasma blood collection tube, re-centrifugation, blood collection tube

## SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	6
2	VERINÄYTEPUTKET JA NIIDEN OMINAISUUDET .....	8
	2.1 Verinäyteputket .....	8
	2.2 Näytemuodot ja antikoagulantit .....	9
	2.3 Sentrifugointi .....	11
	2.4 Geeliputket .....	13
	2.5 BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasma-putki .....	14
3	TUTKITTAVAT ANALYYTIT .....	17
	3.1 Kalium (P-K).....	17
	3.2 Natrium (P-Na).....	18
	3.3 Kalsium (P-Ca).....	18
	3.4 Albumiini (P-Alb) .....	19
	3.5 Aspartaattiaminotransferaasi (P-ASAT) .....	20
	3.6 Alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT) .....	21
	3.7 HIL-indeksi .....	21
4	ANALYSAATTORIT JA MITTAUSMENETELMÄT .....	23
	4.1 Roche cobas 8000 sarja .....	23
	4.2 Fotometria .....	24
	4.3 Ioniselektiivinen elektrodi (ISE) .....	25
5	TUTKIMUKSEN TAVOITE, TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT	27
6	TUTKIMUSMENETELMÄT .....	28
7	TUTKIMUKSEN TOTEUTUS .....	31
	7.1 Aineiston kerääminen.....	31
	7.2 Analyysi.....	33
8	TULOKSET .....	34
	8.1 HIL-indeksi .....	34
	8.2 Kalium (P-K).....	37
	8.3 Natrium (P-Na).....	39
	8.4 Kalsium (P-Ca).....	40
	8.5 Albumiini (P-Alb) .....	42
	8.6 Aspartaattiaminotransferaasi (P-ASAT).....	44
	8.7 Alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT) .....	45
9	TULOSTEN TARKASTELU .....	48
10	JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA.....	51
	10.1 Johtopäätökset .....	51
	10.2 Luotettavuus, eettisyys ja jatkotutkimusaiheet .....	53

LÄHTEET .....	56
LIITTEET .....	61

## 1 JOHDANTO

Verinäyteputket ovat laboratoriotutkimuksissa käytettäviä alipaineistettuja muovi-putkia, jotka voivat sisältää antikoagulantin, hyytymisaktivaattorin, näytteen komponenttien erottelua helpottavan geelin tai mekaanisen erottelijan (Bowen & Remaley 2014, 31–33; Matikainen, Miettinen & Wasström 2016, 72; BD Vacutainer® 2016). Kokoverestä voidaan erotella monia eri näytetyyppejä, kuten plasmaa ja seerumia, joita käytetään kliinisen kemian laboratoriotutkimuksissa. Näytetyyppien erottelu tehdään monesti sentrifugoimalla. Sentrifugoinnissa saadaan eroteltua kevyemmät ja raskaammat partikkelit toisistaan keskipakovoiman avulla. Sentrifugointi suoritetaan sentrifugilla. (Carreiro-Lewandowski 2013, 28; Stanley 2015, 117–118.)

Becton, Dickinson and Company (BD) Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasma-putki on suhteellisen uusi ja vasta hiljattain käyttöön otettu verinäyteputki. Aiemmin veren komponenttien erottelussa käytettiin geeliä, jonka BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasma-putken mekaaninen erottelija korvaa plasmaa eroteltaessa. Valmistaja lupaa plasman olevan puhtaampaa mekaanisen erottelijan ansiosta. Tämä johtuu siitä, että mekaanisen erottelijan sivuille syntyvät kanavat pysyvät avoinna koko sentrifugoinnin ajan. (Bowen & Remaley 2014, 36–37; BD 2021a; BD 2021b.) Uuteen verinäyteputkeen vaikuttavat muuttujat ovat vielä suhteellisen tuntemattomia ja muuttujien aiheuttamat muutokset koetaan mielenkiintoisiksi. Lisäksi tutkittua tietoa uudelleen sentrifugoinnin vaikutuksista BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasma-putkeen ja valittuihin analyytteihin ei löydy, joten tämän aiheen tutkiminen koetaan tärkeäksi.

Opinnäytetyössä selvitetään BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasma-putken uudelleen sentrifugoinnin vaikutus valittujen analyyttien tuloksiin. Kalium, natrium, kalsium, albumiini, ASAT ja ALAT valittiin tutkittaviksi analyyteiksi niiden tutkimiseen käytettävien menetelmien, herkkyuden ja monipuolisuuden perusteella.

Tässä opinnäytetyössä analyyttien mittaamiseen käytetään Roche cobas 8000 sarjan c702- ja ISE moduuleja, jotka ovat käytössä Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin Seinäjoen keskussairaalan kliinisen kemian laboratoriossa. HIL- indeksistä eli hemolyysin, ikteerisyyden ja lipeemisyiden muodostamasta indeksistä ollaan kiinnostuneita siksi, että BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasma-putken erottelija aiheuttaisi ennakko-oletuksen mukaan mekaanista räsitusta punasoluille, mikä johtaisi hemolyysin määrän kasvuun näytteissä.

Yhteistyökumppanina toimii Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin (EPSHP) Seinäjoen keskussairaalan kliinisen kemian ja mikrobiologian toimintayksikkö, joka hyötyy tästä työstä saamalla tiedon siitä, miten BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasma-putken uudelleen sentrifugointi mahdollisesti vaikuttaa valittujen analyyttien tuloksiin. On mahdollista, että EPSHP:n ulkopuolelta tulevat näytteet on jo sentrifugoitu ennen lähetystä ja putket voidaan vahingossa sentrifugoida uudelleen kliinisen kemian laboratoriossa johtuen inhimillisistä syistä. Tästä työstä saatujen tietojen avulla on mahdollista reagoida näihin näytteisiin eri tavalla ja muuttaa esimerkiksi ohjeistuksia niihin liittyen.

## 2 VERINÄYTEPUTKET JA NIIDEN OMINAISUUDET

### 2.1 Verinäyteputket

Laboratoriotutkimuksissa käytettävät verinäyteputket ovat kertakäyttöisiä käyttö-tarkoituksen mukaisesti värikoodattuja vakuumputkia. Tiiviin kumikorkin ansiosta verinäyteputkessa oleva alipaine pysyy verinäyteputkessa ja imee ennalta määritellyn verimäärän verinäyteputkeen. (Bowen & Remaley 2014, 31–33.) Alipai-neen ansiosta veren virtaus verinäyteputkeen on nopeaa ja hygieenistä verrat-tuna avonäytteenottoon. Verinäyteputkia on eri tilavuuksilla, mutta yleisin käytetty verinäyteputken tilavuus on 3 ml. (Eskelinen 2016.)

Verinäyteputket ovat tehdasvalmistettuja muoviputkia, jotka yleisimmin valmiste-taan polyeteenitereflaatista, polypropeenista tai niiden yhdisteistä. Muovista val-mistetut verinäyteputket ovat turvallisempia henkilökunnalle, kuin ennen käytetyt lasista valmistetut verinäyteputket, koska muoviset verinäyteputket eivät hajoa helposti. Vaikka muoviputkillla on suurempi kaasujen läpäisevyys, ei sillä ole tut-kittua kliinistä merkitystä. (Bowen & Remaley 2014, 32–33.)

Verinäytteestä tehtävä tutkimus määrittää näytteenotossa käytettävän putken tyypin, koon sekä sen mahdollisesti sisältämät lisäaineet, kuten antikoagulantin eli hyytymisenestoaineen, hyytymisaktivaattorin tai näytteen erottelua helpotta-van geelin tai mekaanisen erottelijan (Matikainen, Miettinen & Wasström 2016, 72; BD Vacutainer® 2016). Verinäytteen säilyvyyteen vaikuttavat monet tekijät ja monet niistä ovat preanalyttisiä eli ennen analyysiä tapahtuvia tekijöitä. Näitä tekijöitä ovat esimerkiksi sentrifugoinnin viivästyminen, näytteen säilytyslämpötila ja verinäyteputkessa oleva antikoagulantti. (Odoze, Lombard & Portugal 2012, 464–469.)



## 2.2 Näytemuodot ja antikoagulantit

Aikuisen ihmisen kokonaispainosta noin 6–8 % on kokoverta, josta noin 55 % on plasmaa (Estridge & Reynolds 2012, 197). Veri koostuu keltaisesta nestemäisestä plasmasta sekä puna- että valkosoluista ja verihiutaleista. Suurin osa kliinisen kemian laboratoriotutkimuksista tehdään plasmasta tai seerumista. (Carreiro-Lewandowski 2013, 28.)

Plasma pystytään erottelemaan kokoverestä antikoagulanttien ja sentrifugoinnin avulla. Plasman ja seerumin erottelu kokoverestä eroaa sillä, että plasmaa eroteltaessa näyteputkessa on antikoagulantti ja seerumia eroteltaessa näyteputkessa ei ole mitään hyytymistä estäviä aineita vaan putkessa saattaa olla hyytymisaktivaattoreita, jotka kiihdyttävät veren hyytymisreaktioita. (Matikainen ym. 2016, 65, 72, 78, 81.) Seeruminäytteet, joissa ei ole erottelua helpottavaa geeliä, annetaan seistä 60 minuuttia näytteenoton jälkeen, minkä jälkeen näytteet sentrifugoidaan ja analysoidaan (Synlab 2021). Mikäli seeruminäytteessä on geeli, seisotusaika on lyhyempi eli 15–30 minuuttia, jonka jälkeen näyte sentrifugoidaan plasmanäytteen tavoin. Suurin ero plasman ja seerumin välillä on se, että plasma sisältää fibrinogeeniä. (Matikainen ym. 2016, 81.) Koska plasmanäytettä ei tarvitse seisottaa vaan verinäytteen tarvitsee ainoastaan jäähtyä huoneenlämpöiseksi, on tulosten saaminen nopeampaa verrattuna seeruminäytteeseen. Tiettyjen analyyttien arvot ovat korkeampia näytemuodosta riippuen, kuten kalium on hieman korkeampi seerumissa kuin plasmassa. (Carreiro-Lewandowski 2013, 28.) Tämän lisäksi seerumissa olevat pienet fibriinipartikkelit saattavat tukkia analysaattorien neulat tai häiritä kemiluminesenssimäärytyksiä (Minder ym. 2011, 2).

Antikoagulantit estävät nimensä mukaisesti veren hyytymistä verinäyteputkessa. Ne ovat valmiiksi verinäyteputken sisällä joko jauheena, nesteenä tai sumutettuna putken sisäseinämille. Jauhemuodossa olevan antikoagulantin käyttö on vähentynyt, sillä se tarttuu verinäyteputken kumikorkkiin ja saattaa siirtyä seuraavaan verinäyteputkeen näytteenoton yhteydessä, mikä saattaisi häiritä seuraavasta verinäyteputkesta tehtävien tutkimuksien tuloksia. Sumutetun antikoagulantin käyttö verinäyteputkissa on lisääntynyt, sillä sumutettuna antikoagulantti

estää veren hyytymistä myös ennen kuin verinäyteputkea on sekoitettu. (Matikainen ym. 2016, 72.) Yleisimmät verinäyteputkissa käytettävät antikoagulantit ovat etyleenidiamiinitetraetikkahappo (EDTA), sitraatti ja hepariini (Bowen & Remaley 2014, 34).

**EDTA** eli etyleenidiamiinitetraetikkahappo on erityisesti hematologisissa määrityksissä käytetty antikoagulantti, jonka toiminta perustuu kalsiumin sitoutumiseen EDTA:han. (Bowen & Remaley 2014, 34). Hyytymisprosessin eri vaiheissa tarvitaan kalsiumia, kun kalsium sidotaan esimerkiksi antikoagulantteihin hyytymisprosessi estyy (Sand, Sjaastad, Haug, & Bjålie 2014, 329). Hematologisissa määrityksissä, esimerkiksi perusveren kuvan ja hemoglobiinipitoisuuden määrityksissä, on tärkeää säilyttää muuttumattomina verisolujen morfologia eli muoto ja koko. Koska EDTA:ssa on kalsiumpitoisuuksia alentavaa kaliumia, otetaan EDTA-verinäyteputki hepariini-antikoagulanttia sisältävien verinäyteputkien jälkeen, jotta mahdollista kontaminaatiota ei tapahtuisi. (Matikainen ym. 2016, 78.)

**Natriumsitraatti** estää veren hyytymisen sitomalla veren kalsiumin itseensä (Sand ym. 2014, 329). Natriumsitraattia käytetään hyytymisaikatutkimuksissa, jonka vuoksi veren ja antikoagulantin suhteen säilyminen verinäyteputkessa on äärimmäisen tärkeää. Natriumsitraattiputki ei sovellu kemiallisiin määrityksiin. (Haverstick & Groszbach 2015, 77.) Jos näytteenottojärjestys on väärä ja sitraattiputkeen pääsee hepariini-antikoagulanttia, hyytymisaikatutkimuksissa tutkittava hyytymisaika pitenee (Matikainen ym. 2016, 78).

**Hepariini** on eniten käytetty antikoagulantti kemiallisissa määrityksissä. Hepariinia on monessa muodossa, kuten esimerkiksi natrium, kalium ja litium, mutta kaikki hepariinin muodot estävät koagulaatiota eli hyytymistä. (Haverstick & Groszbach 2015, 77.) Litiumhepariini on suositelluin antikoagulantti, sillä se aiheuttaa vähiten analysointia häiritseviä haittoja plasmassa (Arslan ym. 2017, 2). Tämän lisäksi litiumia ei normaalisti esiinny veressä ja sen pitoisuuksia mitataan seerumista (EPSHP 2020c). Hepariini aiheuttaa rakenteellisen muutoksen antitrombiini III:seen kompleksoituessaan sen kanssa. Tämä nopeuttaa trombiinin ja Xa-tekijän toiminnan estämistä, jolloin trombiinin aktivaatio sekä fibriinin muodostuminen fibrinogeenistä estyy. (Bowen & Remaley 2014, 34.) Teoriassa hepariini on paras antikoagulantti, sillä sitä esiintyy luonnollisesti elimistössä eikä

se aiheuta hemolyyysiä tai muutoksia pH-arvoihin. Hepariinin antitrombiiniset vaikutukset kestävät noin 24 tuntia, jonka jälkeen hepariinin vaikutus lakkaa. (Matiainen 2016, 78.)

### 2.3 Sentrifugointi

Jotta veren eri komponentit saadaan eroteltua toisistaan, täytyy näyte ensin sentrifugoida. Sentrifugilla suoritettava sentrifugointi on erotteluprosessi, jossa suspensiosta tai liuoksesta saadaan eroteltua kevyemmät ja raskaammat partikkelit toisistaan keskipakovoiman avulla. Kliinisessä laboratoriossa sentrifugointia käytetään muun muassa seerumin tai plasman erotteluun punasoluista. (Stanley 2015, 117.) Sentrifugointi perustuu keskipakovoimaan, joka perustuu massaan, nopeuteen ja säteeseen. Nopeus ilmoitetaan kierroksia minuutissa eli rpm:nä (revolutions per minute) ja tuotettu keskipakovoima ilmoitetaan suhteellisenä keskipakovoimana (RCF) tai painovoimana (g). (Carreiro-Lewandowski 2013, 18.) Sentrifugin suhteellinen keskipakovoima voidaan laskea vakioidulla kaavalla tai katsoa sentrifugin valmistajan tuottamasta nomogrammista. Suhteellinen keskipakovoima lasketaan vakioidulla kaavalla (1)

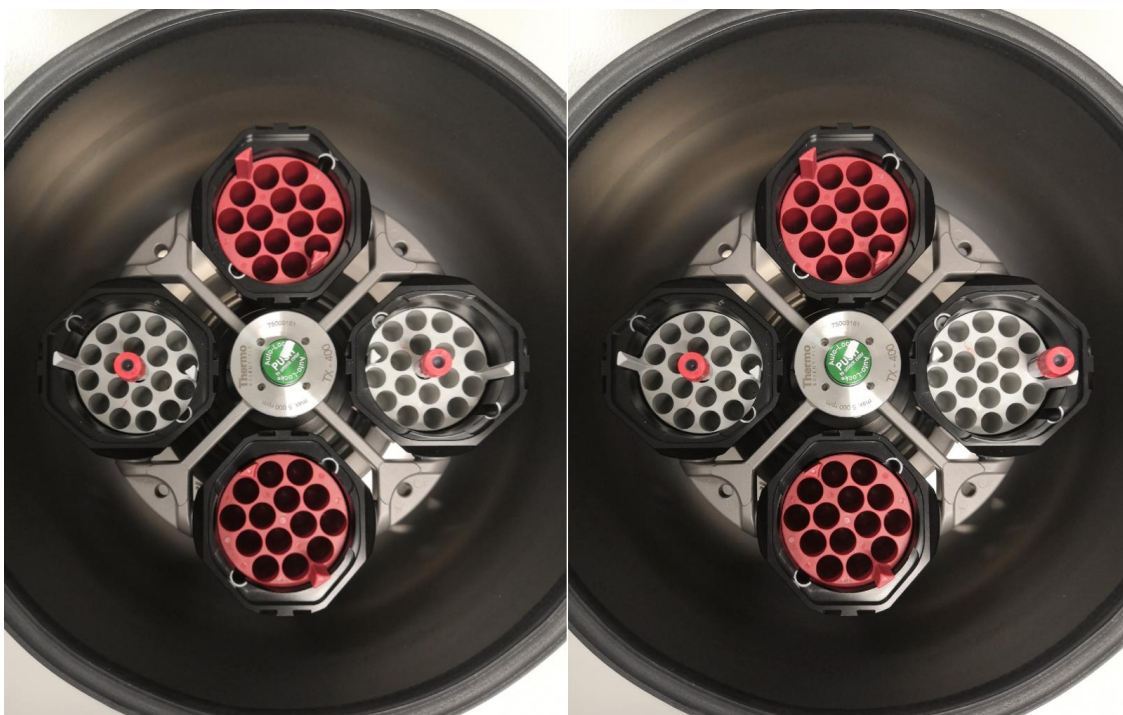
$$RCF=1.118 \times 10^{-5} \times r \times rpm^2, \quad (1)$$

jossa r on säde sentrifugin roottorin keskipisteestä verinäyteputken pohjaan ja rpm on nopeus kierroksina minuutissa.

Säteellä tarkoitetaan etäisyyttä sentrifugin roottorin keskipisteestä verinäyteputken pohjaan riippumatta siitä, onko kyseessä vapaasti keskipakovoiman mukaan kääntyvästä (swing-bucket) mallista tai kiinteällä kulmalla (fixed-angle) olevasta mallista. Aika, joka vaaditaan aineiden erotteluun, riippuu roottorin nopeudesta, säteestä ja partikkelien kulkemasta matkasta. Tarkkoja sentrifugointi aikoja tai nopeuksia ei ole, vaikka sentrifugointia on käytetty erotteluun laboratorioissa jo pitkään. Monesti sentrifugointiaika sekä -nopeus ovat verinäyteputkien valmistajien määrittämiä ja ne ovat erilaisia eri tutkimuksissa. (Stanley 2015, 117.)

Koska sentrifugin sisälämpötila voi nousta jopa viisi celsiusastetta yhden sentrifugoinnin aikana, on monissa sentrifugeissa lämpötilan säätömahdollisuus. Kehittyneimmissä sentrifugeissa on jäähdytyskäämit sentrifugin sisällä, mitkä mahdollistavat lämpötilan ylläpitämisen yhden asteen vaihtelulla. (Stanley 2015, 118.) Lämpötilan nouseminen vaikuttaa joidenkin analyyttien stabiiliteettiin eli pysyvyyteen, minkä vuoksi kyky säädellä sentrifugin lämpötilaa on tärkeää analysoinnin laadun takaamiseksi. Lämpötilalle erityisen herkkiä analyyttejä ovat entsyymit ja hormonit. (LabCE 2021.)

Ennen sentrifugointia täytyy sentrifugin näytetelineet tasapainottaa, jotta sentrifugi toimii turvallisesti. Sentrifugin tasapainotuksessa näytteet asetellaan niin, että samanpainoiset ja -kokoiset verinäyteputket asetetaan roottoriin vastakkaisille puolille (kuva 1). Jos näytteitä ei ole parillista määrää, voidaan käyttää tasapainotusputkia, joissa on esimerkiksi vettä. (Carreiro-Lewandowski 2013, 18–19.) Mikäli sentrifugi on tasapainotettu huonosti tai ei ollenkaan, se alkaa väristä ja pitää tavallista enemmän ääntä. Sentrifugoitaessa verinäyteputkia pitää kiinnittää huomiota siihen, että putket asettuvat tukevasti sentrifugiin ja kestävät sentrifugointia. Tämä on tärkeää siksi, että jotkin putkityypit eivät kestä yhtä suuria g-voimia kuin toiset putkityypit. (Stanley 2015, 117–118.)



KUVA 1. Vasemmassa laidassa on esimerkki sentrifugin oikeanlaisesta tasapainotuksesta ja oikeassa laidassa esimerkki sentrifugin vääränlaisesta tasapainotuksesta.

## 2.4 Geeliputket

Geeliputkella tarkoitetaan verinäyteputkia, joissa on näytemateriaalien erottelua helpottava geeli. Geeli on tiksotrooppinen eli sen viskositeetti muuttuu siihen kohdistettaessa voimaa. Geelin avulla voidaan erotella seerumi hyytyneestä kokove-restä tai plasma veren soluista. Koska geelin asettuminen perustuu painovoimaan, asettuu se sentrifugoinnin aikana seerumin tai plasman ja punasolujen väliin. Koska seerumilla ja plasmalla on pienempi painovoima kuin punasoluilla, asettuvat punasolut sentrifugoinnissa verinäyteputken pohjalle. Tämän vuoksi on tärkeää, että geelin painovoima on seerumin tai plasman ja punasolujen painovoiman välistä, jotta se asettuisi niiden väliin muodostaen täydellisen tulpan. (Bowen & Remaley 2014, 36–37.)

Geelin tarkkaan asettumiskohtaan vaikuttavat verinäyteputkesta, potilaasta ja muista tekijöistä johtuvat muuttujat. Verinäyteputken ominaisuuksista viskositeetti, tiheys ja painovoima ovat osa vaikuttavista tekijöistä. Potilaasta johtuvat tekijät, kuten plasman kohonnut proteiinipitoisuus sekä korkea tai matala hematokriitti arvo, vaikuttavat näyteperäisiin tekijöihin. Muista preanalyttisistä tekijöistä johtuvia muuttujia ovat esimerkiksi lämpötila, säilytys sekä sentrifugointinopeus. Nämä muuttujat saattavat aiheuttaa sen, että geeli asettuu väärään kohtaan. (Bowen & Remaley 2014, 36–37.) BD:n ohjeistuksen mukaan geeliputkia tulee sentrifugoida 1300–2000 g 10 minuutin ajan (BD 2018, 20).

Geeliputkien käytöllä on laboratoriossa monia etuja, joiden ansiosta sen käyttö verinäyteputkissa on lisääntynyt. Tulosten saaminen nopeutuu, koska näytettä ei tarvitse siirtää sekundaariputkeen analysointia varten eikä seeruminäytteiden seisotusaika ole niin pitkä. Geelin ansiosta näyte on analyttisesti vakaampi ja hemolyysin määrä on alhaisempi, kun seerumi saadaan eroteltua punasoluista nopeammin. (Arslan ym. 2017, 1.)

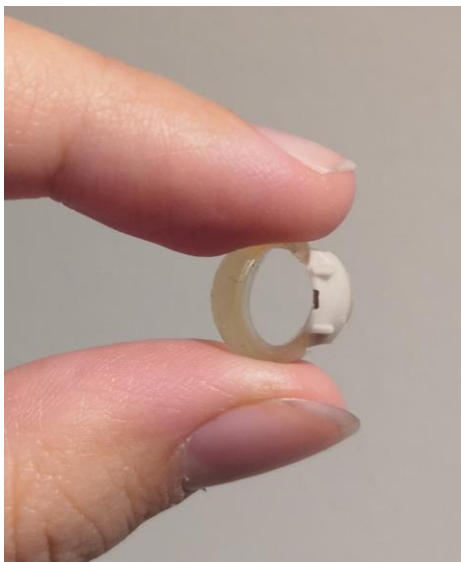
Verinäyteputkissa käytettävällä geelillä on myös haittoja. Jotkin lääkeaineet imeytyvät geeliin, mikä häiritsee niiden mittausta. Geeli saattaa myös päästää ohitseeseen punasoluja, jotka nostavat seerumin tai plasman kaliumarvoja. Geelistä saattaa myös tihkua geelimateriaaleja, jotka häiritsevät analysointimenetelmiä.

(Bowen & Remaley 2014, 36–37.) Mikäli verinäyteputki täytyisi jostain syystä uudelleen sentrifugoida, pitää seerumi tai plasma erotella sekundääriputkeen ennen uudelleen sentrifugointia. Tämä johtuu siitä, että geeliä saattaa tihkua näytteeseen. (Synlab 2021; ACL Laboratories 2014.)

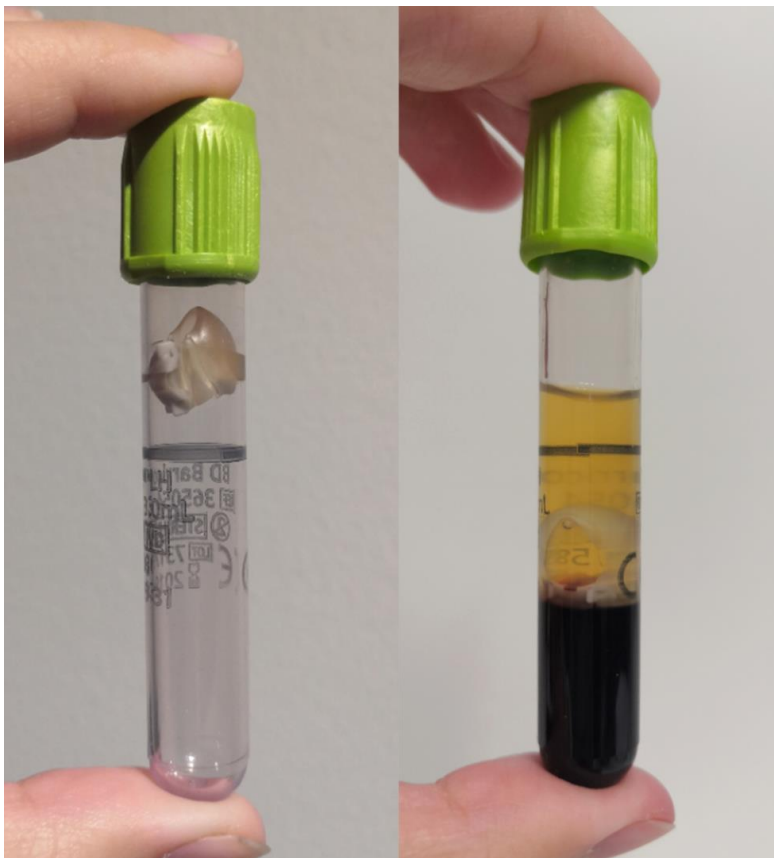
## **2.5 BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasma-putki**

BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasma-putki (Barricor-putki) on vakuoitu verinäyteputki, jossa on erottelua helpottava mekaaninen erottelija. Barricor-putken antikoagulanttina toimii litiumhepariini, joka on sumutettuna verinäyteputken sisäpinnoille. Jotta Barricor-putken kokoaminen tehtaassa olisi helpompaa, putken korkki sekä mekaaninen erottelija on voideltu silikonipohjaisella surfaktantilla eli pintajännitystä alentavalla aineella. (BD Vacutainer® 2016.)

Barricor-putki kestää sentrifugoinnin 5000 g:hen asti tasapainotetussa sentrifugissa. Sentrifugi ei saa olla kiinteällä kulmalla olevaa mallia, sillä silloin mekaaninen erottelija ei asetu plasman ja punasolujen väliin. Putken valmistajan suositus optimaaliselle sentrifugoinnille on 4000 g:n sentrifugointi 3 minuutin ajan. (BD Vacutainer® 2016.) Sentrifugoimattomassa Barricor-putkessa mekaaninen erottelija on asetettu putken yläosaan niin, että veri pystyy kulkemaan erottelijan lävitse. Mekaaninen erottelija koostuu elastomeerisestä yläosasta ja korkeatiheyksisestä alaosasta, mitkä näkyvät kuvassa 2. Sentrifugoinnin aikana elastomeeriosa venyy, mikä vapauttaa erottelijan veren sekaan. Erottelija käyttää nostetta asettuakseen plasman ja punasolujen väliin siten, että korkeatiheyksinen alaosa asettuu punasoluja vasten (kuva 3). Elastomeeriosan ollessa venytettynä erottelijan ympärille muodostuu kanavia, joiden avulla punasolut kulkeutuvat pois plasmapasta. Kun sentrifugointi lopetetaan, elastomeeriosa palaa alkuperäiseen muotoonsa ja muodostaa vakaan ja kestävä tulpan plasman ja punasolujen väliin. (BD 2021a.)



KUVA 2. Barricor-putken mekaaninen erottelija, jonka elastomeeriosa vasemmalla ja korkeatiheksinen alaosa oikealla



KUVA 3. Vasemmalla Barricor-putki käyttämättömänä ja oikealla sentrifugoinnin jälkeen

Koska Barricor-putkessa oleva mekaaninen erottelija pysyy auki koko sentrifugoinnin ajan, lupaa Barricor-putken valmistaja näytteen olevan puhtaampi verrattuna geeliverinäyteputkiin. Barricor-putkessa olevassa plasmanäytteessä on

vähemmän solukontaminaatiota eikä ollenkaan geelistä aiheutuvia artefakteja. (BD 2021b.) Näytteiden laatua ja säilyvyyttä on tutkittu useissa eri tutkimuksissa monesti verraten Barricor-putkea saman valmistajan geeliputkiin ja myös normaaleihin litiumhepariiniverinäyteputkiin. Näissä tutkimuksissa plasmasta tehtävien tutkimuksien valitut analyytit olivat verrattavissa toisiinsa, mutta Barricor-putkista tutkittujen analyyttien toistettavuus oli parempi sekä geeliputkiin että normaaleihin litiumhepariiniverinäyteputkiin verrattuna. (Dupuy ym. 2018, 1–2; Gawria, Tillmar & Landberg 2020, 2.)



### 3 TUTKITTAVAT ANALYYTIT

#### 3.1 Kalium (P-K)

Kalium on elimistön tärkein intrasellulaarinesteen kationi. Kaliumista 98 % sijaitsee intrasellulaaritulassa eli solun sisällä. Merkittävä määrä kaliumista sijaitsee lihaksissa, joten naisilla kaliumin määrä on luonnollisesti hieman alhaisempi kuin miehillä. 70-kiloisella aikuisella miehellä kaliumia on noin 3,5 moolia elimistössään. (Uotila 2010, 103.) Kalium on tärkeää aktiopotentiaalitoiminnan kannalta (Sand ym. 2014, 72–73).

Kun natriumia reabsorboidaan munuaisissa eli sitä uudelleen imeytyy verenkiertoon, kaliumia erittyy virtsaan. Natriumin määrä veressä täten vaikuttaa kaliumin erittymiseen. Tämän lisäksi myös aldosteroni ja happo-emästasapaino vaikuttavat kaliumin erittymiseen. (EPSHP 2020b.) Plasman kaliumin määrittäminen käytetään neste- ja elektrolyyttitasapainon tutkimiseksi (HUS 2020b). Kaliumin viitearvo plasmassa aikuisilla on 3,3–4,8 mmol/l (EPSHP 2020b).

Hypokalemia tarkoittaa kaliumin määrän laskua elimistössä viitearvojen alapuolelle. Hypokalemiaan johtavia syitä ovat esimerkiksi ripuli, tubulusvaurio, pitkäaikainen nestevajaus, kaliumin riittämätön saanti ravinnosta ja insuliinin liikaeritys, jolloin kaliumia siirtyy ekstrasellulaaritulasta soluihin. Hyperkalemia on tila, jossa elimistössä on kaliumia yli viitearvojen. Tilaan johtavia syitä ovat esimerkiksi kaliumin vähentynyt erityminen johtuen munuaisten vajaatoiminnasta, liiallinen kaliumin saanti ravinnosta, insuliinin puute ja laaja kudosisvaurio, jolloin solujen sisältämä kalium vapautuu ekstrasellulaaritulasta. (Uotila 2010, 103–104.) Kaliumin määrää mitataan ioniselektiivisellä elektrodilla eli ISE:llä. Hemolyysi häiritsee mittausta nostamalla kaliumin arvoja, sillä solujen hajotessa kaliumia vapautuu näytteeseen. (cobas 2017.)

### 3.2 Natrium (P-Na)

Natrium on elimistön yleisin ekstrasellulaarinesteessä eli solun ulkopuolella oleva kationi, sillä se muodostaa yli 90 % kationeista. 70-kiloisella aikuisella on 4 moolia natriumia elimistössään. Natriumista 55–60 % on elimistön nesteissä ja loput on luustossa. Koska natrium on yleisin ekstrasellulaarinesteessä oleva kationi, on se myös tärkein kationi ekstrasellulaarinesteen osmoottisen paineen ja tilavuuden ylläpidolle. (Uotila 2010, 101–103.)

Plasmasta tehtävää natriumin määritystä käytetään kehon neste- ja elektrolyyttitasapainon selvittelyssä (HUS 2021c). Natriumia eritetään normaalisti saantia vastaava määrä munuaisissa. Lisäksi natriumia erittyy kehosta ulos ulosteen ja hien mukana muutamia millimooleja vuorokaudessa. (Uotila 2010, 101–102.) Natriumin viitearvo on 137–144 mmol/l (EPSHP 2018a).

Hyponatremiassa kehossa on natriumia alle viitearvojen. Hyponatremia syntyy, kun kehosta poistuu enemmän natriumia kuin sitä saadaan. Tästä esimerkkinä toimii runsas hikoilu tai munuaisten tubulusten toimintahäiriö. Hyponatremia, jossa natriumin määrä on normaali tai kohonnut alentuneen plasmapitoisuuden takia, viittaa yleensä sydämen vajaatoimintaan. Hypernatremiassa natriumia on kehossa yli viitearvojen. Hypernatremia aiheutuu, kun ravinnon mukana saadaan liikaa natriumia tai natriumia ei poistu kehosta tarpeeksi. Hypernatremiaa esiintyy esimerkiksi sydämen vajaatoiminnassa, jossa munuaisten toiminta hidastuu verivirtauksen hidastuessa ja natriumin reabsorptio kasvaa, nestehukassa ja natriumin liiallisesta nauttimisesta. (Uotila 2010, 101–102.) Natriumia mitataan ioniselektiivisen elektrodin eli ISE:n avulla (cobas 2017). Hemolyysi voi häiritä natriumin mittausta laimentamalla näytettä (Lippi ym. 2008, 766).

### 3.3 Kalsium (P-Ca)

Kalsium on elimistön runsain kationi, josta suurin osa eli noin 99 % on sitoutuneena luustoon. Esimerkiksi 70-kiloisella aikuisella on noin 25 moolia kalsiumia elimistössään. Kalsiumista 1 % on kehon nesteissä, mutta siitä huolimatta sillä

on lukuisia tärkeitä tehtäviä elimistössä. Kalsium osallistuu esimerkiksi hermoimpulssien kulkuun, solujen jakautumiseen, proteiinisynteesiin ja veren hyytymisreaktioon. (Uotila 2010, 104–105.)

Plasmasta tehtävää kalsiumin määrittystä käytetään kalsium aineenvaihdunnan diagnostiikassa sekä lisäkilpirauhasen ja luuston sairauksien seurannassa (HUS 2020c). Ionisoidun kalsiumin määrittäminen on kalsiumin kokonaismäärittäystä parempi tapa tutkia kalsiumia, koska ionisoitu kalsium on fysiologisesti aktiivista. Kuitenkin kalsiumin kokonaismäärittäminen on vielä laajasti käytössä, koska se on helppo automatisoida. (Uotila 2010, 104–105.) Kalsiumin viitearvo plasmassa on aikuisilla 2,15–2,51 mmol/l (EPSHP 2018b).

Hypokalsemia on tila, jossa kehossa oleva kalsiumin taso on viitearvojen alapuolella. Hypokalsemiaa esiintyy esimerkiksi D-vitamiinin puutteessa, hypomagnesemiassa ja akuutissa pankreatiitissa. Hyperkalsemia vuorostaan on tila, jossa kehossa oleva kalsiumin taso on viitearvojen yläpuolella. Hyperkalsemiaa esiintyy esimerkiksi maligneissa kasvaimissa, D- tai A-vitamiinin liika-annostuksessa ja Pagetin taudissa. (Uotila 2010, 104–105.) Kalsiumin määrää mitataan fotometrian avulla. Muodostuva kompleksi aiheuttaa muutosta absorbanssissa, mikä on suoraan verrannollinen kalsiumin konsentraatioon. (cobas 2019b.)

### **3.4 Albumiini (P-Alb)**

Albumiinin tilavuus on 55–65 % plasman proteiineista. Albumiini ylläpitää plasman kolloidiosmoottista painetta. Albumiini osallistuu myös aineiden, kuten bilirubiinin, kuljetukseen veressä. (Irjala 2010, 137–138.) Albumiinin viitearvo on 36–48 g/l 18–39-vuotiailla (EPSHP 2020d).

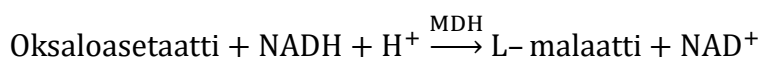
Albumiinipitoisuuden kohoaminen on harvinaista, mutta se nousee yleensä elimistön kuivumisen yhteydessä. Patologista albumiinin nousun syytä ei tunneta. Hypoalbuminemiassa albumiinin määrä on vähentynyt. Hypoalbuminemiassa esiintyy yleensä turvotusta, sillä nestettä kertyy raajoihin, plasman ja interstitiaaliseen epätasapainon takia. Fysiologisesti albumiini laskee raskauden yhteydessä. (Irjala 2010, 137–138.) Albumiinin mittaaminen suoritetaan kolorimetrisesti.

Reaktiossa muodostuu sinivihreä väri, joka mitataan fotometrisesti. Väriin voimakkuus on suoraan verrannollinen albumiinin pitoisuuteen. (cobas 2019a.) On mahdollista, että hemolyysi vaikuttaa laskevasti albumiinin tulokseen, koska näyte laimenee. (Lippi ym. 2008, 766).

### 3.5 Aspartaattiaminotransferaasi (P-ASAT)

Aspartaattiaminotransferaasi eli ASAT on kudonvaurioissa esiintyvä entsyymi. ASAT esiintyy maksassa, sydänlihaksessa, munuaisissa ja luurankolihasessa. (HUS 2021b.) ASAT:n viitearvo miehillä on alle 45 U/l ja naisilla alle 35 U/l (EPSHP 2020a). ASAT arvo voi nousta virushepatiitissa yli 10-kertaiseksi tai jopa 40-kertaiseksi. Korkeimpia ASAT arvoja tavataan toksisissa ja iskeemisissä hepatiiteissa. Raskas urheilusuoritus voi nostattaa hetkellisesti ASAT arvoja (HUS 2021b.) ASAT:a voidaan käyttää ALAT:n kanssa esimerkiksi alkoholin suurkulutuksen tutkimiseen laskemalla ASAT/ALAT suhde, jonka arvo on alkoholin suurkulutuksen yhteydessä usein yli 2 (EPSHP 2020a).

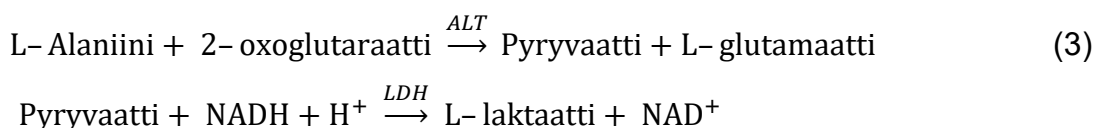
ASAT mitataan spektrofotometrillä. Reaktiossa ASAT katalysoi L-aspartaatin ja 2-oxoglutaraatin reaktiota. Toisessa vaiheessa käytetään hyödyksi malaattidehydrogenaasia, joka muuttaa oksaloasetaatin malaatiksi ja NADH muuttuu NAD:ksi kaavan (2) mukaisesti. NADH:n määrän väheneminen on suoraan verrannollinen ASAT:n aktiivisuuteen, joka määritetään absorbanssin määrän laskeamisella aallonpituudella 340 nm. Mittaamista häiritsevä tekijä on punasolujen pääsy seerumiin tai plasmaan, joka voi nostaa tulosta, sillä analyyttiä vapautuu hajonneista punasoluista. (cobas 2020a.)



### 3.6 Alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT)

Alaniiniaminotransferaasi eli ALAT on erityisesti maksan soluissa esiintyvä entsyymi, jonka pitoisuus plasmassa nousee soluvaurioissa. Pääasiassa maksan parenkyymisoluiissa esiintyvää ALAT:a tavataan myös pieninä määrinä lihaksissa, sydämessä, munuaisissa ja keuhkoissa. (HUS 2021a.) Viitearvot miehillä ovat alle 50 U/l ja naisilla alle 35 U/l (EPSHP 2020e). ALAT:a esiintyy yleensä maksan soluvaurioissa, mutta ALAT:n pitoisuus voi kohota myös kohtalaisesti esimerkiksi keuhkoinfarktissa tai lihasdystrofoissa. ALAT voi kohota jopa 40-kertaiseksi virusten ja lääkeaineiden hepatiitissa. (HUS 2021a.)

ALAT mitataan spektrofotometrialla. Reaktiossa ALAT katalysoi L-alaniinin ja 2-oxoglutaraatin reaktiota. Toisessa vaiheessa laktaattihydrogenaasi katalysoi NADH:ta ja pyryvaattia, jota muodostuu ensimmäisessä vaiheessa. Tästä muodostuu L-laktaattia ja NAD kaavan (3) mukaisesti. NADH:n väheneminen on suoraan verrannollinen ALAT aktiivisuuteen. Absorbanssin laskeminen mitataan aallonpituudella 340 nm. Määritystä häiritsevät hajonneet punasolut, joista voi vapautua määritettävää analyyttiä. (cobas 2018.)



### 3.7 HIL-indeksi

HIL-indeksi eli hemolyysistä, ikteerisyydestä ja lipeemisyydestä muodostuva indeksi mittaa näytettä häiritseviä tekijöitä, jolloin voidaan automaattisesti arvioida näytteen laatua. Laitteella voidaan määrittää näytteestä hemoglobiini, bilirubiini ja triglyseridipitoisuus. Jos jokin ennalta määrätty raja-arvo ylittyy, laite antaa hälytyksen ja voidaan havaita virheelliset tulokset. (Åkerman 2010, 82–83.) Hemolyysissä (H) hajonneiden punasolujen sisältä vapautuu solunsisäisiä aineita, kuten hemoglobiinia, jotka häiritsevät mittausta nostamalla tai laskemalla mitattavaa analyyttiä. Hemolyysi voidaan havaita silmämääräisesti näytteen punerta-

vuudesta. Ikteerisyys (I) aiheutuu kohonneesta bilirubiinipitoisuudesta näytteessä. Kohonnut bilirubiinipitoisuus voi olla seurausta jostakin sairaudesta, kuten maksan heikentyneestä kyvystä käsitellä bilirubiinia. Kohonnut bilirubiinipitoisuus näkyy keltaisuutena näytteessä. Lipemia (L) aiheuttaa näytteeseen sameutta, joka häiritsee näytteen fotometrasta mittaamista. Sameus aiheutuu kohonneesta triglyseridi pitoisuudesta. HIL-indeksin määrittäminen perustuu laimennettujen näytteiden absorbanssin määrittämiseen eri aallonpituuksilla. Hemolyysi määritetään aallonpituudella 570 nm ja 600 nm, ikteerisyys 480 nm ja 505 nm sekä lipeemisyys 660 nm ja 700nm. Saaduista absorbanssiarvoista laite laskee HIL-indeksi arvot. (cobas 2020b.)

## 4 ANALYSAATTORIT JA MITTAUSMENETELMÄT

### 4.1 Roche cobas 8000 sarja

Cobas 8000 on Rochen analysaattorisarja, johon voidaan liittää tarpeen mukaan moduuleita, kuten c702 ja ISE moduuli kuvassa 4. Cobas c702 voi suorittaa 2000 määrittystä tunnissa ja ISE moduulilla voidaan suorittaa 1800 määrittystä tunnissa. Cobas c702 on kliinisen kemian analysaattorin moduuli, jolla suoritetaan fotometrisiä määrittäyksiä erilaisille analyyteille esimerkiksi albumiinille. Cobas ISE moduulilla suoritetaan ISE määrittäyksiä, joista tähän työhön liittyviä esimerkkejä ovat natrium ja kalium. (Roche 2021.) Tämän työn muut analyytit, kuten kalsium, ASAT, ALAT ja HIL-indeksi, määritetään c702 moduulilla.



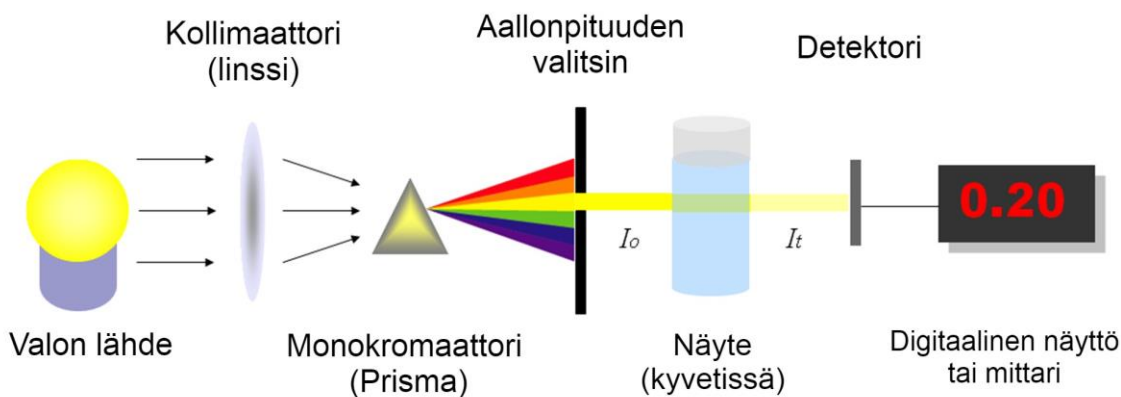
KUVA 4. ISE (vasen) ja c702 (oikea) moduulit EPSHP:n kliinisen kemian laboratoriossa kuvattuna

## 4.2 Fotometria

Yksinkertaistettuna fotometria on valon intensiteetin mittaamista jostakin kohteesta nähden. Valo joko läpäisee kohteen (transmittanssi) tai imeytyy siihen (absorbanssi). Beewertin lain mukaan aineen konsentraatio on suoraan verrannollinen valon absorptioon tai käänteisesti verrannollinen transmittanssin logaritmiin. Mitattaessa fotometrisellä menetelmällä jonkin verran valoa heijastuu pois mitauskyvetistä tai häviää absorboitumalla mitattavaan liuokseen, vaikka liuos ei sisältäisikään mitattavaa ainetta. Syntyvä virhe voidaan korjata käyttämällä referenssikyvettä tai mittaamalla nollanäyte. (Kricka & Park 2015, 131–132.) Absorptiohuippujen kohdalla mitattava aine absorboi eniten tiettyä valon aallonpituutta. Esimerkiksi syanmethemoglobiinin absorptiomaksimi on 540 nm:n aallonpituudella. Eri aallonpituuksia käytetään hyväksi eri aineiden konsentraatioiden mittaamiseen. (Jokela & Åkerman 2010, 54–56.)

Spektrofotometri on laite, jolla mitataan valon absorbanssia. Spektrofotometri eroaa fotometristä siten, että se käyttää filttareiden sijaan prismaa tai hilaa halutun aallonpituuden aikaansaamiseksi (Kricka & Park 2015, 131). Nykyaikaisilla spektrofotometreillä pystytään mittaamaan absorptiohuipusta lähes teoreettisia absorptiokertoimia, sillä laitteissa oleva interferenssifilteri pääsee hyvin kapeisiin puoliarvoveyksiin, jotka ovat noin 1–2 nm (Jokela & Åkerman 2010, 56). Spektrofotometri rakentuu valonlähteestä, linssistä, monokromaattorista (prisma), aallonpituuden valitsimesta, kyvetistä (näyte), detektorista ja tietokoneesta, joka muuttaa arvot luettavaan muotoon (kuvio 1). Valon lähteenä voidaan käyttää hehkulamppua tai laservaloa. Hehkulamppua käytetään yleisesti näkyvän valon aallonpituuksien mittaamisessa. Laserilla saadaan aikaan hyvin tarkasti kohdistettua monokromaattista valoa. Monokromaattoria käytetään halutun aallonpituuden erottamiseen muista aallonpituuksista. Monokromaattori voi olla esimerkiksi prisma. Detektori muuttaa valon sähköiseksi signaaliksi detektoriin osuvan valon määrän perusteella. Lopuksi sähköinen signaali muutetaan luettavaan muotoon, jolloin tulokset voidaan käsitellä tietokoneohjelman avulla. (Kricka & Park 2015, 133–137.)





KUVIO 1. Spektrofotometrin osat havainnollistettuna (Heesung Shim 2020, muokattu)

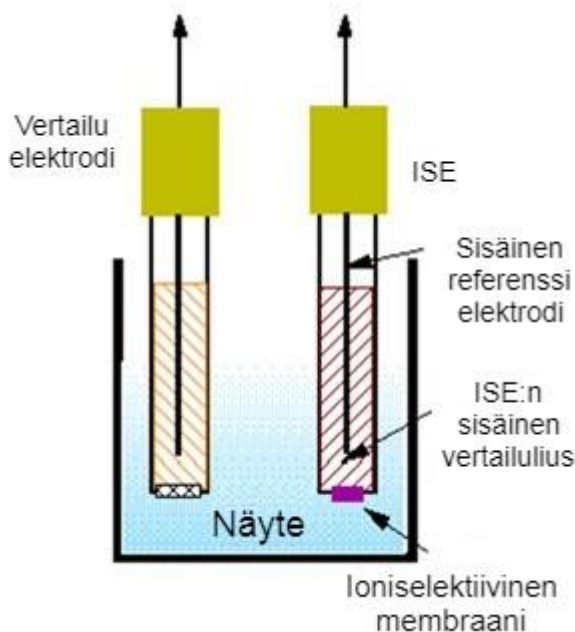
Kolorimetria perustuu näytteen väriominaisuuksiin, kuten vaaleuteen ja kylläisyyteen. Näitä ominaisuuksia käytetään aineen pitoisuuden määrittämiseksi. Haluttu analyytti reagoi tietyn reagenssin kanssa muodostaen värillisen yhdisteen. Muodostuneesta värillisestä yhdisteestä mitataan värin intensiteetti fotometrisesti. (cobas 2019a.)

Virhettä mittaustuloksiin fotometriassa voi aiheuttaa ikteerisyys, hemolyysi ja sameus, joka voi aiheutua lipemiasta (Jokela & Åkerman 2010, 56). Hemoglobiini absorboi eniten aallonpituutta 415, 540 ja 570 nm, mikä saattaa aiheuttaa tulosten nousua mitattaessa näillä aallonpituuksilla (Lippi ym. 2008, 766). Kuten hemoglobiini, niin myös bilirubiinista johtuva ikteerisyys, aiheuttaa häiriötä fotometrisessä mittauksessa. Bilirubiini absorboi samoja aallonpituuksia kuin hemoglobiini. Bilirubiini voi aiheuttaa häiriötä analyysissä käytettävissä reagensseissa häiriten niiden kemiallisia reaktioita. Lipemiassa esimerkiksi näytteessä olevat triglyseridi hiukkaset sirottavat valoa aiheuttaen sameutta, joka aiheuttaa häiriötä fotometrisissä menetelmissä. (Kroll & McCudden 2013, 21–31, 35.)

### 4.3 Ioniselektiivinen elektrodi (ISE)

Ioniselektiivistä elektrodiä käytetään nopean diagnoosin tekemiseen potilaasta. ISE:llä mitataan kriittisimpiä analyyttejä, kuten natriumia tai kaliumia. ISE perustuu sähkökemiallisen kennon tuottamaan sähköiseen signaaliin. Mitattaessa ioneja käytetään potentiometriaa. (Dimeski, Badrick & St John 2010, 309–310.)

Potentiometriassa mitataan kahden elektrodin välistä sähköistä potentiaalia sähkökemiallisessa kennossa (kuvio 2). Jännite muodostuu ioniselektiivisen elektrodin ja vertailuelektrodin välille. Vertailuelektrodi sisältää mitattavaa analyyttiä. Vertailuelektrodin potentiaali on aina vakio, joten muodostuva jännite riippuu ioniselektiivisen elektrodin ionikonsentraatiosta. Ioniselektiivinen elektrodi päästää lävitseen vain tietyn analyytin anioneja tai kationeja. Ioniselektiivinen kalvo voi olla materiaaliltaan lasia, kiteitä tai polymeerejä. Kalvon materiaali riippuu siitä, mitä analyyttiä halutaan mitata. Potentiometriä voidaan jakaa suoraan ja epäsuoraan potentiometriin. Suorassa potentiometriassa mitataan suoraan haluttua analyyttiä eikä näytettä tarvitse laimentaa. Epäsuorassa potentiometriassa näyte laimennetaan. (D’Orazio & Meyerhoff 2015, 152–158; Scott, LeGry & Schindler 2015, 415.) Potentiometriassa häiriöitä aiheutuu pääasiassa hemolysin takia. Solun hajotessa sen sisältä vapautuu analyyttejä, joita ei tavallisesti ole plasmassa. Esimerkiksi kaliumin mitattu arvo nousee oikeasta arvosta hemolysin takia. (Dimenski, Badrick & St John 2009, 309–319.)



KUVIO 2. Ioniselektiivisen elektrodin osat (Jones, Michael & Sittampalam 2021, muokattu)

## 5 TUTKIMUKSEN TAVOITE, TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT

Opinnäytetyön tavoite on selvittää, häiritseekö BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasmaputken uudelleen sentrifugointi valittujen analyyttien tuloksia. Mikäli muualta tulevissa näytteissä on jossain prosessin vaiheessa mennyt sentrifugoidut ja ei sentrifugoidut näytteet sekaisin, on hyvä tietää, onko näytteen uudelleen sentrifugoinnilla jotakin vaikutusta tuloksiin. Tätä tietoa hyväksikäyttäen EPSHP:n kliinisen kemian laboratorion on mahdollisuus muuttaa muualta tulevien näytteiden ohjeistuksia tai omia toimintatapojaan.

Opinnäytetyön tarkoitus on verrata BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasmaputken tiettyjen valittujen analyyttien tuloksia ennen ja jälkeen uudelleen sentrifugoinnin.

Tutkimusongelmat:

1. Muuttuuko näytteiden HIL-indeksi uudelleen sentrifugoinnin jälkeen?
2. Miten uudelleen sentrifugointi vaikuttaa plasmasta mitattavien analyyttien konsentraatioon?
3. Selittääkö HIL-indeksin muutos valittujen analyyttien konsentraation mahdollisen muutoksen?

## 6 TUTKIMUSMENETELMÄT

Kvantitatiivinen tutkimus eli määrällinen tutkimus antaa kuvan mitattavien asioiden ominaisuuksista vastaten kysymyksiin, kuinka paljon, kuinka usein ja kuinka moni. Määrällisen tutkimukselle on tavallista, että otosta käsitellään tilastollisin menetelmin. Numeroiden avulla päätellään, miten asiat liittyvät tai eroavat toisistaan. Myös laadullisen aineiston voi ryhmitellä numeeriseen muotoon. Määrälliselle tutkimukselle on tyypillistä, että otos on suuri. Tyypillisesti otos on yli 100 kappaletta. Kansainvälisessä terveydenhuollon tutkimuksessa jopa 500–1000 kappaletta. Suuren otoksen avulla pystytään tekemään havaintoja monista näkökulmista. (Kananen 2008, 10–11, 73–74.) Tässä opinnäytetyössä otoskoko määräytyi sen mukaan, minkä toimeksiantaja koki riittäväksi.

Otoksella tarkoitetaan ryhmää, jota tutkittava ilmiö koskettaa. Esimerkiksi tämän opinnäytetyön tapauksessa otoksella tarkoitetaan tutkimusta varten käytettäviä näytteitä. Otoksen tarkoituksena on edustaa koko populaatiota, jotta tulosta voidaan yleistää siihen. Kasvattamalla otoksen kokoa, voidaan lisätä luotettavuutta tiettyyn pisteeseen asti. Mitä suurempi otos, sen vähemmän otoskoon suurentaminen lisää luotettavuutta. (Kananen 2008, 70–71.)

Kun halutaan tarkistaa jonkun olettamuksen paikkaansa pitävyyttä, voidaan tehdä kokeellinen tutkimus. Tutkimus suoritetaan joko laboratoriossa tai oikeassa tilanteessa. Tutkimus tehdään vertaamalla koeryhmän tuloksia vertailuryhmän tuloksiin. Koeryhmänä toimii perusjoukosta otettu otos. Kun halutun muuttujan annetaan vaikuttaa koeryhmään, saadaan vertailuryhmä. (Heikkilä 2014, 19.) Esimerkiksi tässä tutkimuksessa verrataan yhden sentrifugointikerran jälkeisiä tuloksia (koeryhmä) toisen sentrifugointikerran jälkeisiin tuloksiin (vertailuryhmä).

Informaatio, joka on muuttujien arvoissa, pelkistetään muuttujaa kuvaavaksi tunnusluvuksi. Tämä mahdollistaa suurten aineistojen tiedon tiivistämisen, vaikka osa informaatiosta katoaakin prosessin aikana. Käytettävien tunnuslukujen valinta perustellaan muuttujan mitta-asteikolla. (Heikkilä 2014, 82–83.) Tässä opinnäytetyössä aineistosta lasketaan keskiarvo, absoluuttinen BIAS, BIAS%, BIAS%:n keskiarvo sekä korrelaatiokerroin.

**Minimi ja maksimi** tarkoittavat pienintä ja suurinta arvoa, mikä kertoo havaintoarvojen vaihteluvälin. Vaihteluvälin avulla saadaan tieto arvojen vaihtelun suuruudesta. (Heikkilä 2014, 85.)

**Keskiarvolla** tarkoitetaan lukujen summaa jaettuna niiden lukumäärällä. Keskiarvoa käytetään havainnollistamaan keskimääräisyyttä kaavalla (4)

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}, \quad (4)$$

jossa  $x$  on havaintoarvo ja  $n$  on havaintojen lukumäärä. (Heikkilä 2014, 83.)

**Korrelaatiokerroin** kuvaa kahden muuttujan välistä riippuvuutta. Yleensä käytetään Pearsonin korrelaatiokerrointa, jolla voidaan mitata lineaarisen riippuvuuden voimakkuutta välimatkan ja suhdeluvun tasoille muuttujille. Sitä voidaan hyödyntää myös normaaliasteikon kaksiarvoisille muuttujille. Korrelaatiokerroin saa arvoja välillä 1– (-1). Jos arvo on 1 tai -1 on muuttujien välillä vahva lineaarinen riippuvuus siten, että arvolla 1 on voimakas positiivinen korrelaatio ja arvolla -1 voimakas negatiivinen korrelaatio. Arvon ollessa 0, ei muuttujien välillä ole lineaarista riippuvuutta. (Heikkilä 2014, 90–91.) Esimerkiksi tässä opinnäytetyössä tutkitaan HIL-indeksin ja sentrifugoinnin aiheuttaman muutoksen yhteyttä kaavalla (5)

$$\frac{s_{xy}}{s_x s_y}, \quad (5)$$

jossa  $s_{xy}$  on otoskovarianssi,  $s_x$  ja  $s_y$  ovat  $x$  ja  $y$  keskihajonnat.

**Absoluuttisen BIAS:n ja BIAS%:n** avulla pystytään määrittämään menetelmän toimivuus määrällisesti. BIAS on systemaattisen virheen laskettu arvo. BIAS voidaan ilmaista absoluuttisena BIAS:na eli yksinkertaistettuna tulosten erotuksena kaavalla (6)

$$\text{Absoluuttinen bias} = y - x, \quad (6)$$

jossa  $x$  on referenssitulos ja  $y$  on uusi tulos. (UNIVERSITY of TARTU. n.d.)

**BIAS%:n eli suhteellisen BIAS:n** avulla voidaan ilmaista BIAS:a. BIAS% määritetään tulosten ero jaettuna referenssiarvolla kaavalla (7)

$$\text{BIAS}\% = \frac{y-x}{x} \times 100, \quad (7)$$

jossa  $x$  on referenssitulos ja  $y$  on uusi tulos. (UNIVERSITY of TARTU. n.d.) Tässä työssä  $x$  on ensimmäisen sentrifugoinnin jälkeinen tulos ja  $y$  on toisen sentrifugoinnin jälkeinen tulos.

## 7 TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

### 7.1 Aineiston kerääminen

Aineisto kerättiin maaliskuussa 2021 EPSHP:n kliinisen kemian laboratorion arkiston potilasnäytteistä. Laboratoriossa potilasnäytteet säilytetään normaalisti 24 tuntia näytteenoton jälkeen arkistossa, jossa verinäyteputket ovat ilman korkkia suljetussa kaapissa huoneenlämmössä. Aineistona käytettiin ainoastaan Barricor-putkissa olevia näytteitä. Näytteistä 27 oli hieman yli 24 tuntia vanhoja ensimmäisen analysointikierroksen aikana ja toisen analysointikierroksen aikana 46 näytettä oli yli 24 tuntia vanhoja. Osa näytteistä valikoitiin aiempien potilastulosten perusteella, jotta aineistoon saatiin sekä matalia että korkeita arvoja. Potilastuloksia käsittelivät ainoastaan laboratorion henkilökunta eikä mahdollisia aiempia tuloksia käytetty muuhun kuin valikoimaan mahdolliset korkeat ja matalat arvot omaavat potilasnäytteet aineistoon mukaan. Loput näytteet olivat täysin satuman varaisesti valikoituja näytearkistosta. Tavoitteena oli kerätä 50 näytettä arkistosta ja 10–20 näytettä vapaaehtoisilta niin sanottuja tuorenäytteitä. Laadunvarmistukseksi otetut tuorenäytteet havainnollistaisivat sen, vaikuttaisiko näytteiden vaihtelevan kestoisen seisotus analyytteihin ja niiden reagointiin uudelleen sentrifugointiin. Kaiken kaikkiaan tuorenäytteitä otettiin 14 vapaaehtoiselta. Jokaiselta vapaaehtoiselta otettiin yksi Barricor-putki vakuumitekniikalla. Näytteenottovaiheen jälkeen mitään putkia ei enää sekoiteltu ylösalaisin missään vaiheessa.

Näytteet identifioitiin kasvavalla numerosarjalla ja uudella viivakooditarralla. Viivakodeihin tehtiin tutkimuspyynnöt laitepäätteeltä, jotta tutkittavien analyyttien tulokset saataisiin jokaiselle näytteelle. Arkistosta valitut näytteet olivat numerosarjan alussa ja vapaaehtoisista otetut näytteet numerosarjan lopussa, jotta laadunvarmistus pystyttäisiin suorittamaan.

Ennen analysointia jokainen näyte tarkistettiin silmämääräisesti eli näytteistä katsottiin, onko näyte hemolyyttinen, ikteerinen tai lipeeminen. Yksikään näytteistä ei ollut ennen analysointia hemolyyttinen, ikteerinen tai lipeeminen.

Vapaaehtoisista otetut näytteet sentrifugoitiin näytteiden jäädyttyä huoneenlämpöiseksi. Arkistosta valittuja näytteitä ei sentrifugoitu, sillä sentrifugointi oli suoritettu jo kertaalleen niiden saavuttua laboratorioon. Näytteet laitettiin analysaattoriradalle, jossa analysointi tapahtui muiden potilasnäytteiden seassa. Tällä tavalla saatiin referenssitulos, johon toisen sentrifugointikerran jälkeistä tulosta verrattaisiin. Näytteiden tulosten saapumisen jälkeen jokaiseen näyteputkeen laitettiin uudet kertakäyttöiset muovikorkit ja näytteet sentrifugoitiin uudelleen. Sentrifugointi tehtiin Thermo Scientific Megafuge 16R- sentrifugilla 2500 g:ssä 10 minuutin ajan 22 celsiusasteessa. Sentrifugointiaika määräytyi klinisen kemian laboratorion omien toimintatapojen perusteella, jonka mukaan massa-analyytikan seerumi- ja plasmanäytteet sentrifugoidaan 2500 g:ssä 10 minuutin ajan. Tällä tavalla sentrifugointiohjelmaa ei tarvitse toistuvasti vaihtaa eivätkä näytteet päädy vahingossa väärään sentrifugointiohjelmaan.

Toisen sentrifugoinnin aikana näytteille tehtiin uudet pyynnöt laitepäätteeltä, jotta näytteet voitaisiin analysoida analysaattoriradalla uudelleen. Toisen sentrifugointikerran jälkeen näyteputkista poistettiin korkit ja putket asetettiin uudelleen analysaattoriradalle. Ensimmäisen ja toisen analyysikierroksen välillä oli suunnilleen 2 tuntia. Toisen analyysikierroksen aikana analysaattoriradalta loppui albumiinin reagenssi, joka aiheutti albumiinin tuloksien puuttumisen joiltakin näytteitä. Nämä näytteet kirjattiin muistiin varmuuden vuoksi, jos jotain muutosta tapahtuisi. Samaa LOT-numeroa oleva reagenssi lisättiin ja albumiini kontrolloitiin, joka oli sille määriteltujen tavoitearvojen mukainen. Näytteet, joilta puuttui albumiinin toisen analyysikierroksen tulokset, ajettiin analysaattoriradalla uudelleen.

Näytteistä saadut tulokset tulostettiin paperille. Tulostuksissa näkyi sekä ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset että toisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset. Nämä tulokset kirjoitettiin Microsoft Excel-taulukkolaskentaohjelmaan. Tulokset tarkistettiin kahdesti kirjoitusvirheiden varalta eri henkilöiden toimesta.

Yksi arkistosta valituista näytteistä jouduttiin poistamaan aineistosta, koska näytteestä ei saatu toisen analysointikierroksen tuloksia. Tämä johtui siitä, että näytteessä oli ensimmäisellä analysointikierroksella ollut niin suuria tuloksia, että näyte jäi laitepäätteelle kiinni korkean hemolyysi arvonsa takia. Tätä ei huomattu



analysoinnin aikana vaan vasta aineiston käsittelyn aikana. Tämän vuoksi näyte jouduttiin poistamaan aineistosta.

## 7.2 Analyysi

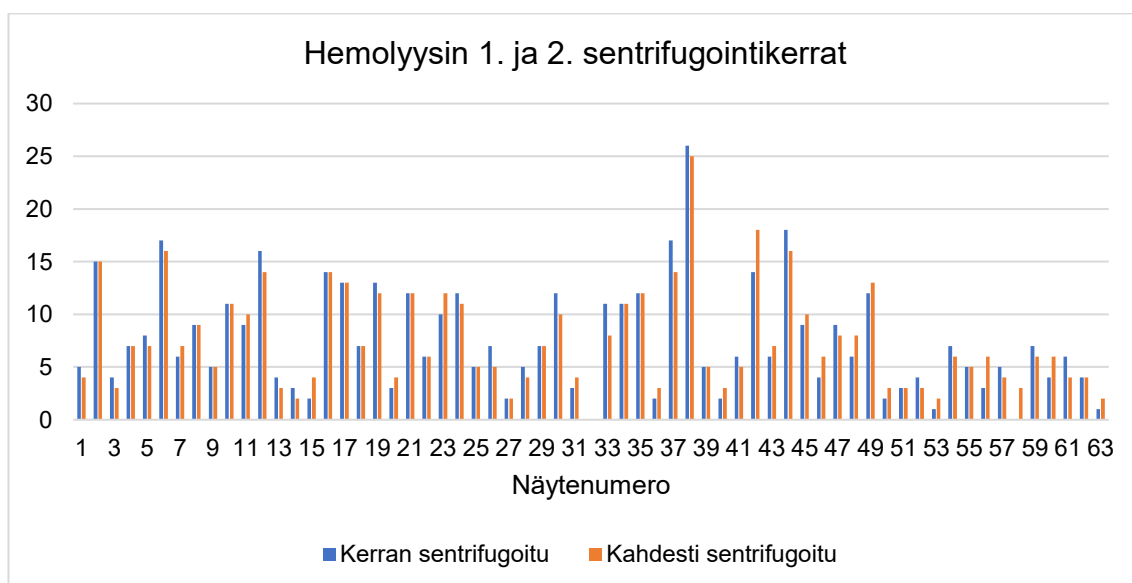
Tulokset analysoitiin Microsoft Excel-taulukkolaskentaohjelman avulla. Microsoft Excel-taulukkolaskentaohjelmalla laskettiin analyyttikohtaisesti BIAS%, jonka jälkeen laskettiin BIAS%:n keskiarvo. BIAS%:n avulla tutkittiin ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen välistä analyyttikohtaista tuloksen muutosta. HIL-indeksin tulosten kohdalla laskettiin ainoastaan absoluuttinen BIAS, sillä huomattiin, että pieni arvon muutos pienissä luvuissa voi nostaa BIAS% jopa 100 %, joka antaa väärän kuvan muutoksen suuruudesta ja hankaloittaa tulkintaa. Analyyttien tuloksista tehtiin pylväsdiagrammeja, joissa verrattiin ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen välisiä tuloksia. Pylväsdiagrammit tehtiin BIAS%:n ja absoluuttisen BIAS:n muutosten havainnollistamiseksi. Pylväsdiagrammien lisäksi esitellään tuloksista saadut BIAS%:n keskiarvot, joiden avulla nähdään, ovatko tulokset pääosin laskevia vai nousevia. Tuloksissa on myös esitetty seisotettujen näytteiden arvot ja tuorenäytteiden arvot erikseen selkeyden vuoksi. Näiden lisäksi käydään läpi myös hemolyysin muutosten ja lipeemisyiden muutosten korrelaatiokertoimet suhteessa analyyttien muutoksiin, jotta nähdään muutoksien välinen yhteys. Tämän takia HIL-indeksin tulokset on käsitelty ensimmäisenä, sillä ne ovat liitoksissa kaikkien muiden analyyttien tuloksiin. Korrelaatiokertoimien pistekuvaajat on esitetty liitteessä 1.

Aineisto muodostuu näytearkistosta valikoidusta 49 seisotetusta näytteestä sekä 14 vapaaehtoisista otetuista ns. tuorenäytteistä eli kaiken kaikkiaan aineistoon kuuluu yhteensä 63 Barricor-putkessa olevaa näytettä. Jokaisen näytteen kohdalla jokaisesta analyytistä muodostui kahdet tulokset. Tämä tarkoittaa sitä, että ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset sekä toisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset saatiin jokaisesta näytteestä jokaisen analyytin kohdalla.

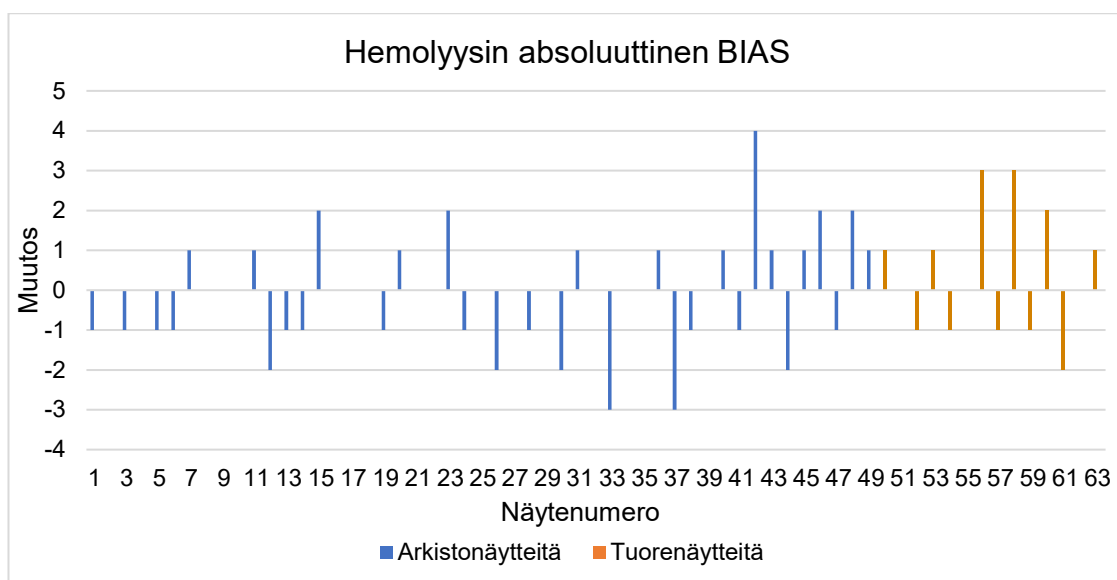
## 8 TULOKSET

### 8.1 HIL-indeksi

Tämän luvun alle on kerätty hemolyysistä, ikteerisyydestä ja lipeemisyydestä saadut tulokset. Kuviossa 3 esitetään hemolyysistä saadut tulokset rinnakkain ennen ja jälkeen uudelleen sentrifugoinnin. Tuloksia on yhteensä 63 kappaletta, joista 14 viimeisintä on tuorenäytteitä. Hemolyysin ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 0–26 ja sen tulosten keskiarvo on 7,52. Hemolyysin toisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 0–25 ja keskiarvo on 7,52. Kuvio 4 esittää hemolyysin arvon muutoksen, josta huomataan tulosten reagoivan vaihtelevasti uudelleen sentrifugointiin. Tyhjät kohdat kuviossa 4 tarkoittavat, ettei tuloksissa tapahtunut minkäänlaista muutosta. Hemolyysin muutoksen keskiarvoksi saatiin 0, joten sen mukaan hemolyysin arvo ei vaikuta pääosin muuttuneen uudelleen sentrifugoinnin jälkeen. Tuorenäytteiden muutoksen keskiarvo on 0,36 ja seisotettujen näytteiden muutoksen keskiarvo on -0,1.

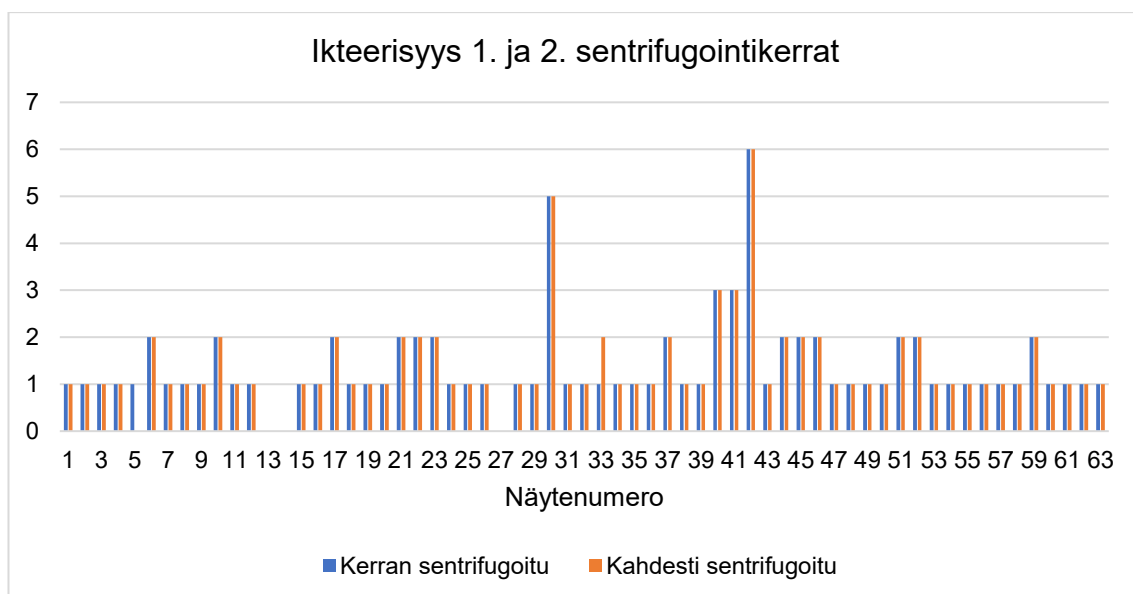


KUVIO 3. Hemolyysin 1. ja 2. sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset

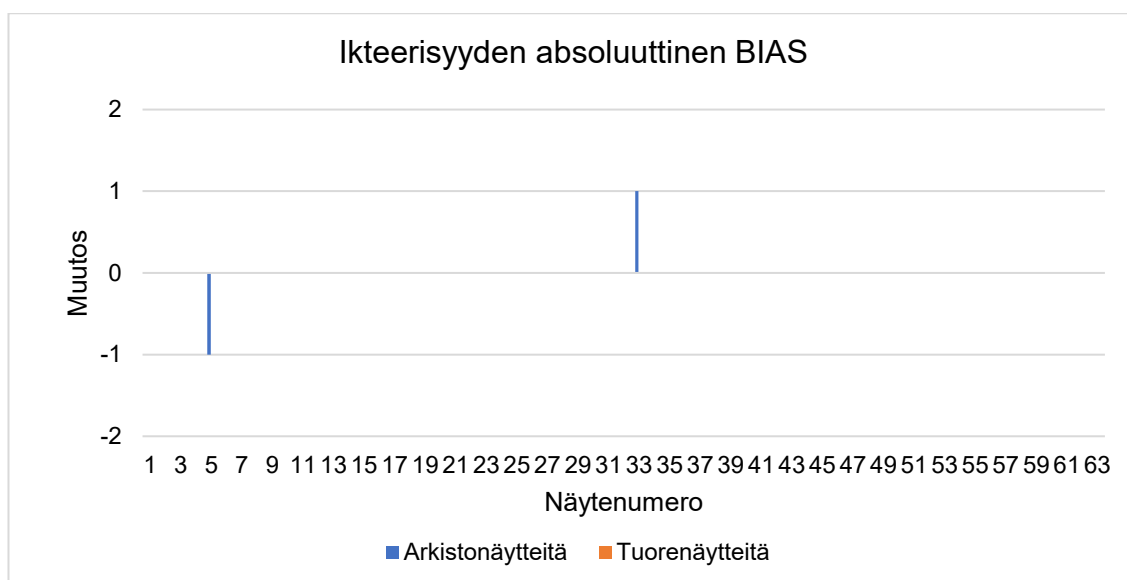


KUVIO 4. Hemolyysin 1. ja 2. sentrifugointikertojen välinen muutos näytekohtaisesti

Ikteerisyyden tulokset ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeen näkyvät kuviossa 5. Tuloksia on 63 kappaletta, joista 14 viimeisintä on tuoreinäytteitä. Ikteerisyyden ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 0–6 ja keskiarvo on 1,37. Kuviossa 6 esitetään ikteerisyyden tulosten arvojen muutoksen, missä tyhjätkohdat tarkoittavat tulosten muuttumattomuutta. Tulosten muutoksen keskiarvo oli 0, joten ikteerisyyden arvot eivät muuttuneet uudelleen sentrifugoinnin jälkeen lukuun ottamatta kahta näytettä.

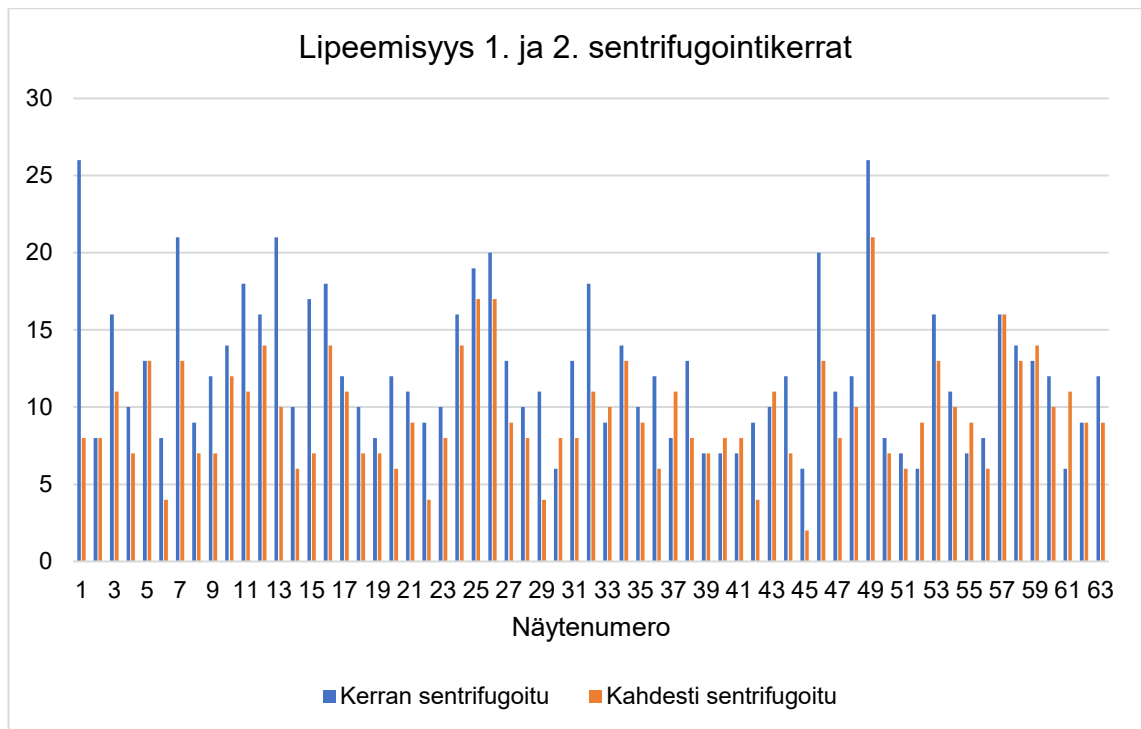


KUVIO 5. Ikteerisyyden 1. ja 2. sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset

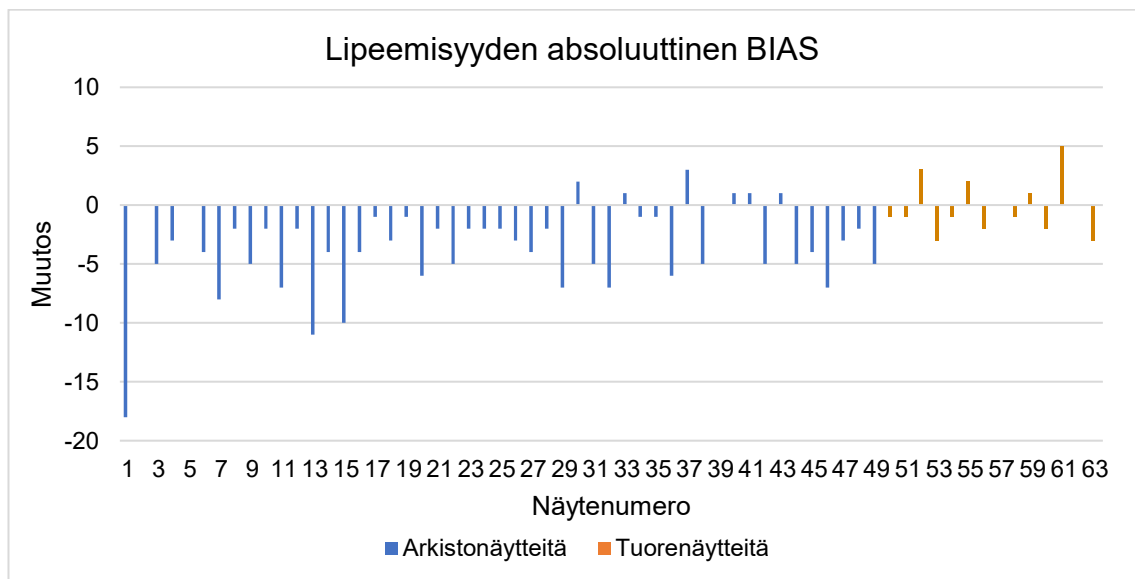


KUVIO 6. Ikteerisyyden 1. ja 2. sentrifugointikertojen välinen muutos näytekohtaisesti

Kuvio 7 esittää lipeemisyden tulokset ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeen. Tuloksia on 63 kappaletta, joista 14 viimeisintä on tuorenäytteitä. Ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 6–26 ja keskiarvo on 12,27. Toisen sentrifugointikerran jälkeisten tulosten vaihteluväli on 2–21 ja keskiarvo on 9,49. Kuviosta 8 nähdään lipeemisyden ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen välisten tulosten muutos, missä tyhjät kohdat tarkoittavat tulosten muuttumattomuutta. Tulosten muutosten keskiarvo on -2,78, joten muutos on pääosin laskevaa. Tuorenäytteiden muutoksen keskiarvo on -0,21 ja seisotettujen näytteiden tulosten muutoksen keskiarvo on -3,51.



KUVIO 7. Lipeemisyys 1. ja 2. sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset

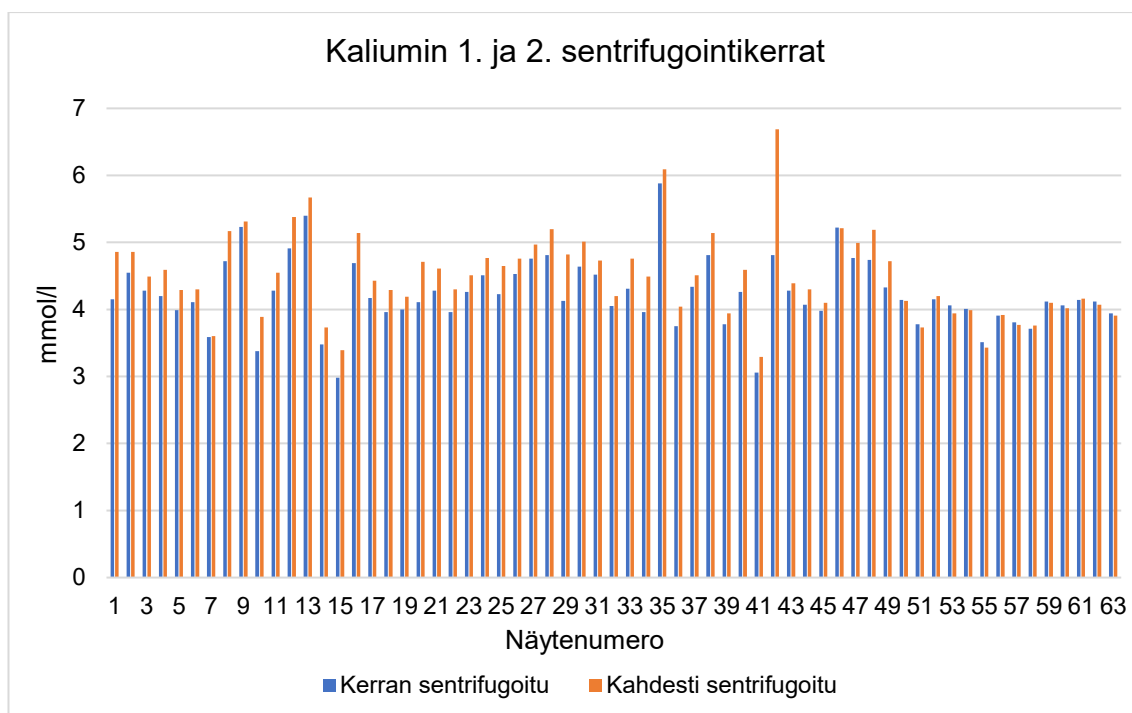


KUVIO 8. Lipeemisyys 1. ja 2. sentrifugointikertojen välinen muutos näytekohtaisesti

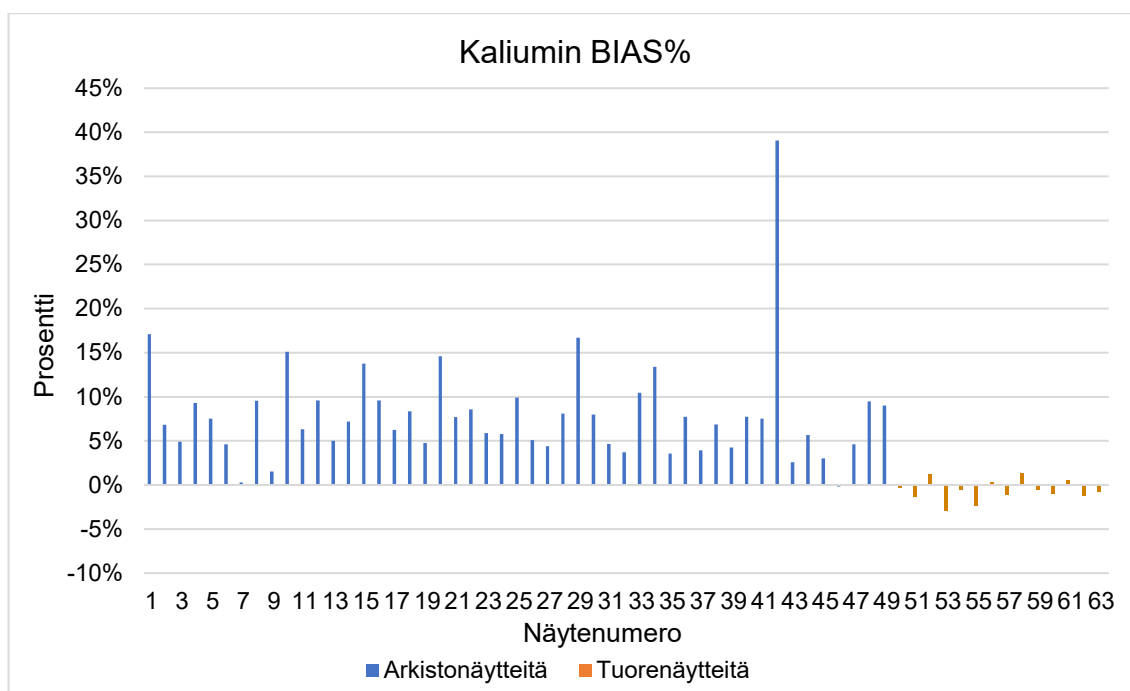
## 8.2 Kalium (P-K)

Kuviossa 9 esitetään kaliumin ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset rinnakkain erojen havainnollistamisen helpottamiseksi. Tuloksia on

yhteensä 63 kappaletta, joista 14 viimeisintä on tuorenäytteitä. Kaliumin ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 2,98–5,88 mmol/l ja tulosten keskiarvo on 4,23 mmol/l. Toisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 3,29–6,69 mmol/l ja keskiarvo on 4,49 mmol/l. Yhdeksällä näytteellä tulos muuttui viitearvoista yli viitearvojen. Yhdessä tapauksessa tulos nousi viitearvojen alta viitearvoihin. Kuviossa 10 esitetään kaliumin tuloksista saadut BIAS%:t. Kaliumin BIAS%:n keskiarvo on 6,04 %. BIAS%:n keskiarvo tuorenäytteillä on -0,6 %. BIAS%:n keskiarvo seisotetuilla näytteillä on 7,94 %. Kaliumin tulosten muutoksen korrelaatiokerroin verrattuna hemolyysin tulosten muutokseen on 0,16, joten tulosten muutoksen välillä ei ole lähes minkäänlaista lineaarista riippuvuutta. Kaliumin tulosten muutoksen korrelaatiokerroin verrattuna lipeemisyden muutokseen on -0,31, joten lineaarinen riippuvuus on heikko.



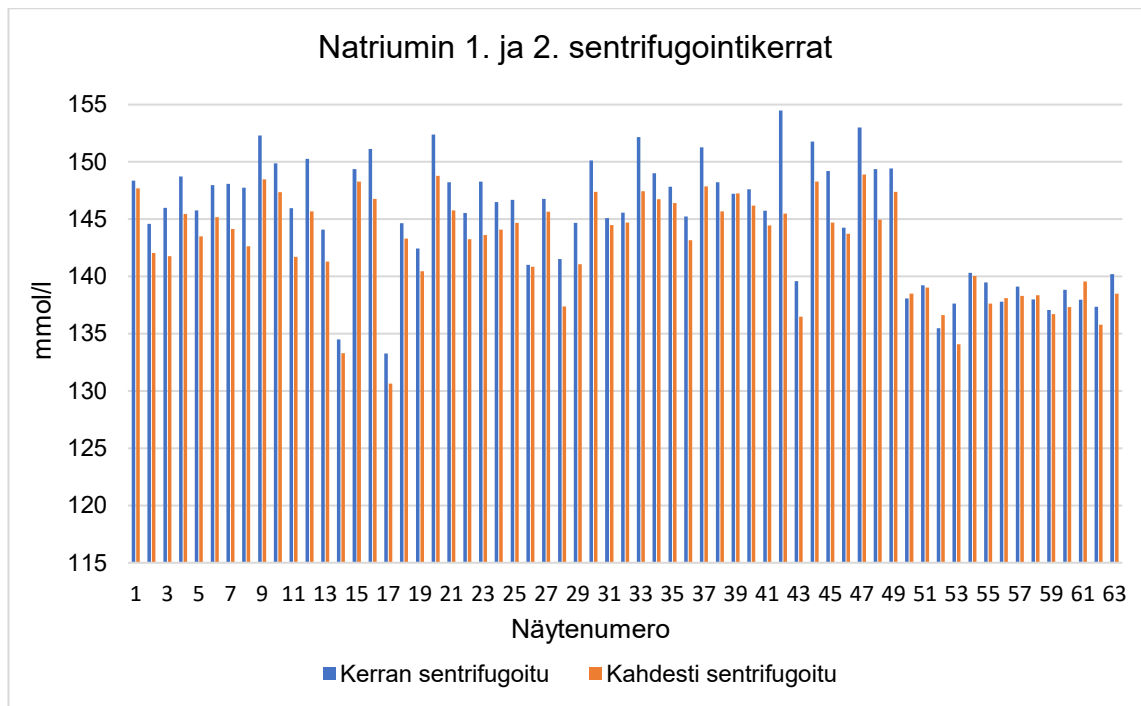
KUVIO 9. Kaliumin tulokset 1. ja 2. sentrifugointikertojen jälkeen



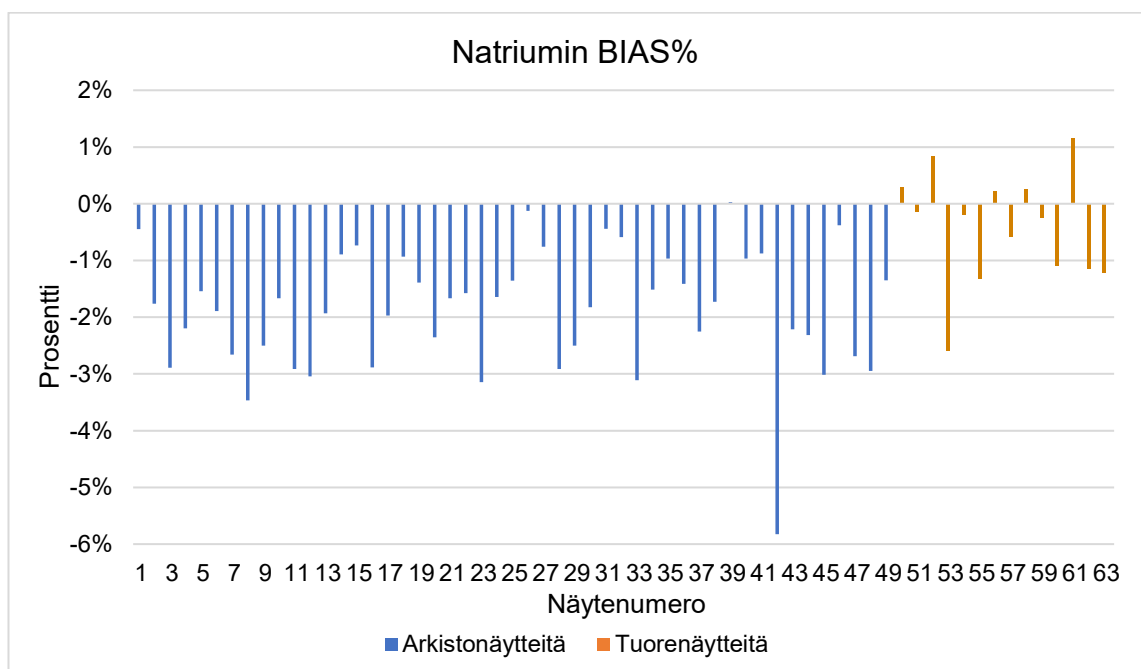
KUVIO 10. Kaliumin 1. ja 2. sentrifugointikertojen välinen BIAS% näytekohtaisesti

### 8.3 Natrium (P-Na)

Natriumin ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset esitetään kuviossa 11 rinnakkain. Tuloksia on yhteensä 63 kappaletta, joista 14 viimeisintä on tuorenäytteistä. Natriumin ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 133,27–154,47 mmol/l ja keskiarvo on 145,06 mmol/l. Toisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 130,64–148,88 mmol/l ja keskiarvo on 142,77 mmol/l. Kaikista näytteistä 12 näytteen tulokset muuttuivat viitearvojen yläpuolelta normaaleihin arvoihin. Näytteistä neljällä tulokset laskivat viitearvoista viitearvojen alle. Kuviossa 12 esitetään ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen väliset BIAS%:n tulokset näytteittäin. BIAS%:n tulokset ovat melkein kaikkien tulosten osalta laskevia. BIAS%:n keskiarvo on -1,6 %. Tuorenäytteiden BIAS%:n keskiarvo on -0,41 % ja seisotettujen näytteiden BIAS%:n keskiarvo on -1,88 %. Korrelaatiokerroin natriumin tulosten muutoksen ja hemolyysin tulosten muutoksen välillä on -0,095, joten lineaarinen riippuvuus on lähes olematon. Natriumin tulosten muutoksen ja lipeemisyden tulosten muutoksen välinen korrelaatiokerroin on 0,19, joten lineaarinen riippuvuus on heikko.



KUVIO 11. Natriumin 1. ja 2. sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset



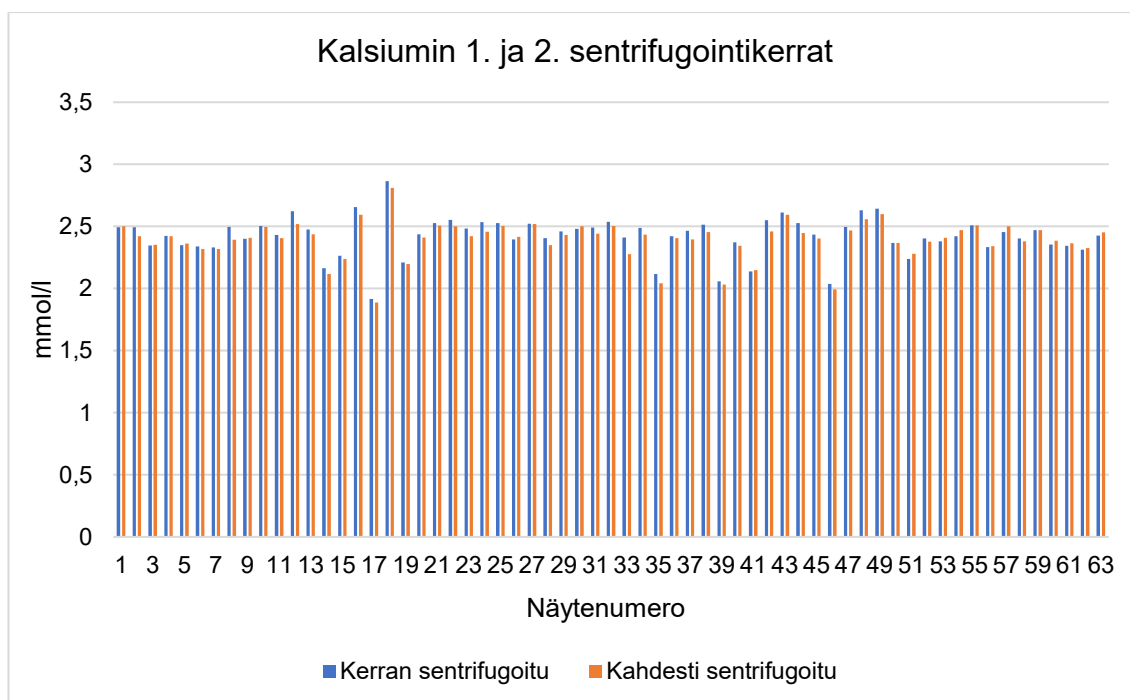
KUVIO 12. Natriumin 1. ja 2. sentrifugointikertojen välinen BIAS% näytekohtaisesti

#### 8.4 Kalsium (P-Ca)

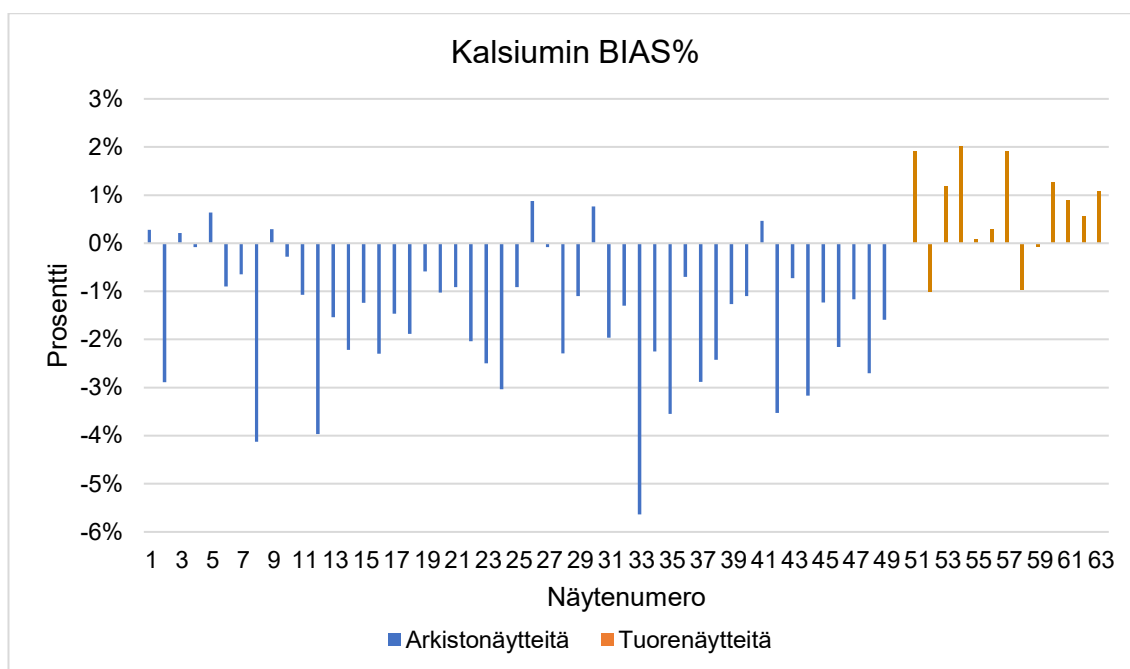
Kuviossa 13 on nähtävissä kalsiumin ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset. Tuloksia on yhteensä 63 kappaletta, joista viimeisimmät 14



ovat tuorenäytteitä. Ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 1,92–2,87 mmol/l ja tulosten keskiarvo on 2,42 mmol/l. Toisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 1,89–2,81 mmol/l ja niiden keskiarvo on 2,39 mmol/l. Kaikista tuloksista yksi tulos muuttui normaaleista viitearvoista niiden alle. Kahdeksan tulosta laski korkeista viitearvoista normaaleihin viitearvoihin. Kuviossa 14 nähdään kalsiumin tulosten BIAS%. Kalsiumin tulokset ovat suurimmilta osin laskevia. BIAS%:n keskiarvo on -1,04 %. Tuorenäytteiden BIAS%:n keskiarvo on 0,65 % ja seisotettujen näytteiden BIAS%:n on -1,52 %. Kalsiumin tulosten muutoksen korrelaatiokerroin hemolyysin tulosten muutokseen on 0,044, joten lineaarista riippuvuutta ei löydy. Kaliumin tulosten muutoksen korrelaatiokerroin lipeemisyden tulosten muutokseen on 0,069, joten lineaarinen riippuvuus on mitätön.



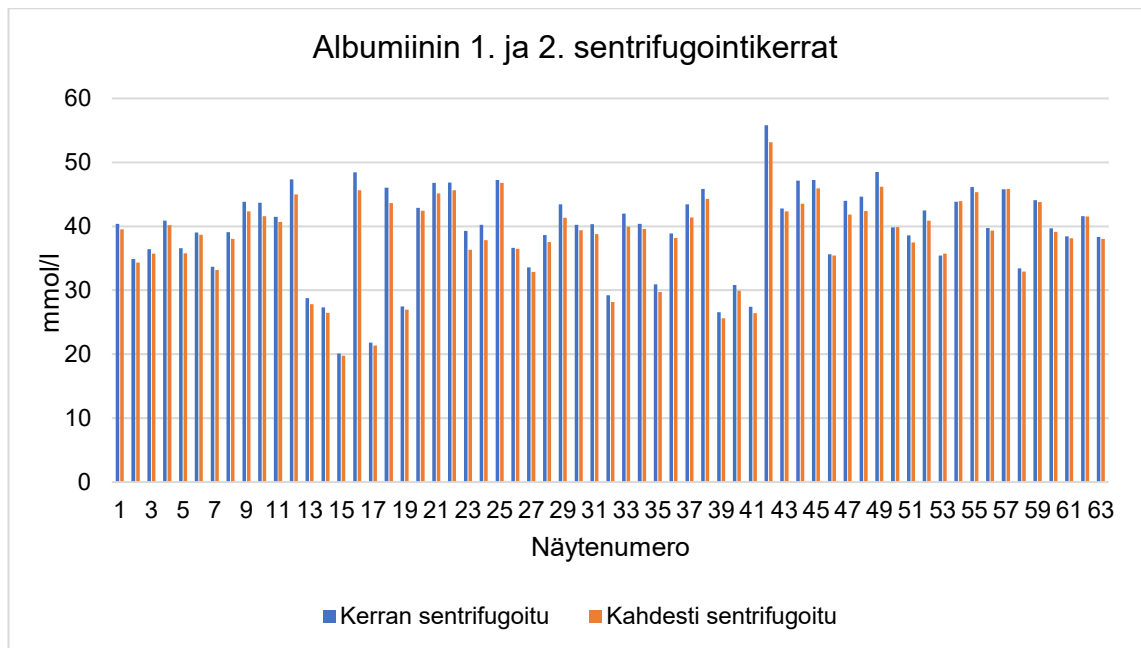
KUVIO 13. Kalsiumin 1. ja 2. sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset



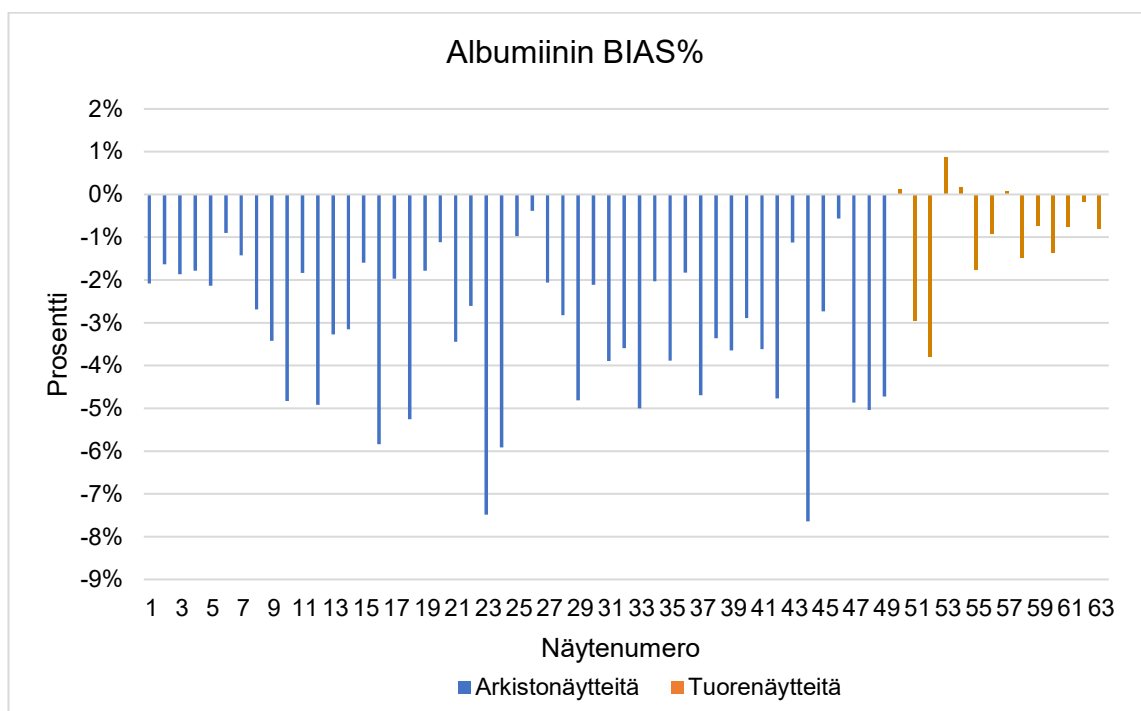
KUVIO 14. Kalsiumin 1. ja 2. sentrifugointikertojen välinen BIAS% näytekohtaisesti

## 8.5 Albumiini (P-Alb)

Albumiinin ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset ovat nähtävissä rinnakkain kuviossa 15. Albumiinin tuloksia on yhteensä 63 kappaletta, joista 14 viimeisintä on tuorenäytteiden tuloksia. Ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 20,10–55,81 g/l ja tulosten keskiarvo on 39,39 g/l. Toisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 19,78–53,15 g/l ja keskiarvo on 38,30 g/l. Albumiinin kohdalla näytteistä kaksi arvoa muuttui viitearvon yläpuolelta normaaliksi ja kahden näytteen arvo muuttui normaalista viitearvon alapuolelle. Kuvio 16 esittää albumiinin tulosten BIAS%:t. BIAS%:n keskiarvo on -2,69 %. Tuorenäytteiden BIAS%:n keskiarvo on -0,96 % ja seisotettujen näytteiden BIAS%:n keskiarvo on -3,18 %. Albumiinin tulosten muutoksen ja hemolyysin tulosten muutoksen välinen korrelaatio on 0,095, joten lineaarisuus tulosten välillä on olematon. Albumiinin tulosten muutoksen ja lipeemisyden tulosten muutoksen välinen korrelaatiokerroin on 0,059, joten tulosten välinen lineaarisuus on hyvin pientä.



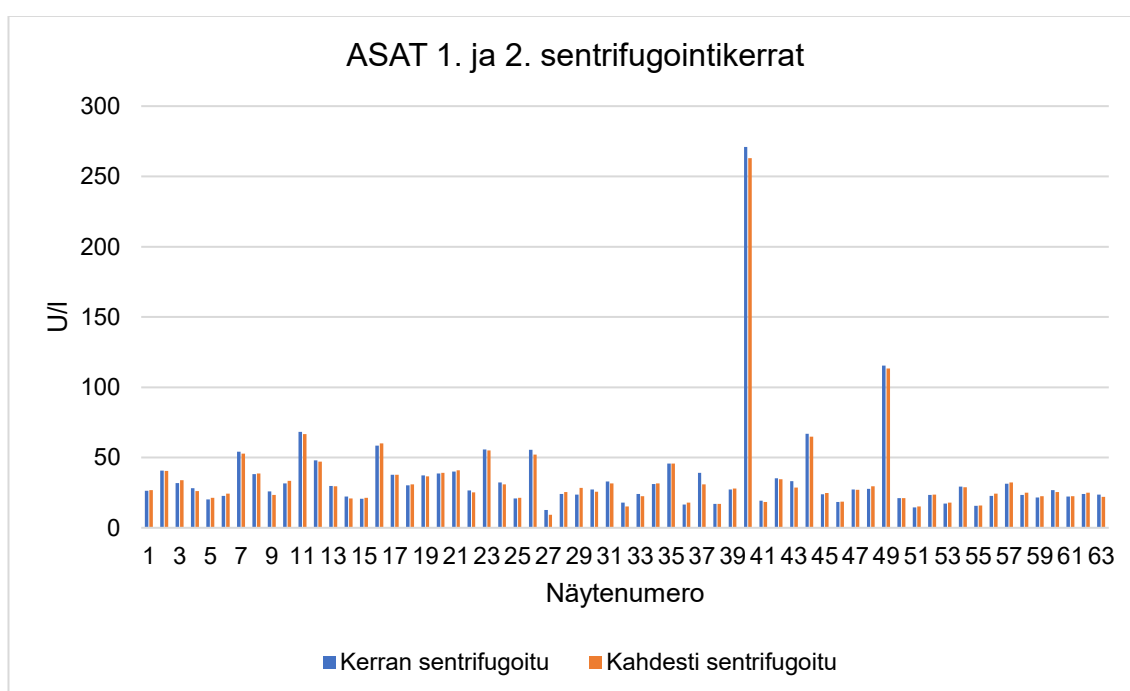
KUVIO 15. Albumiinin 1. ja 2. sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset



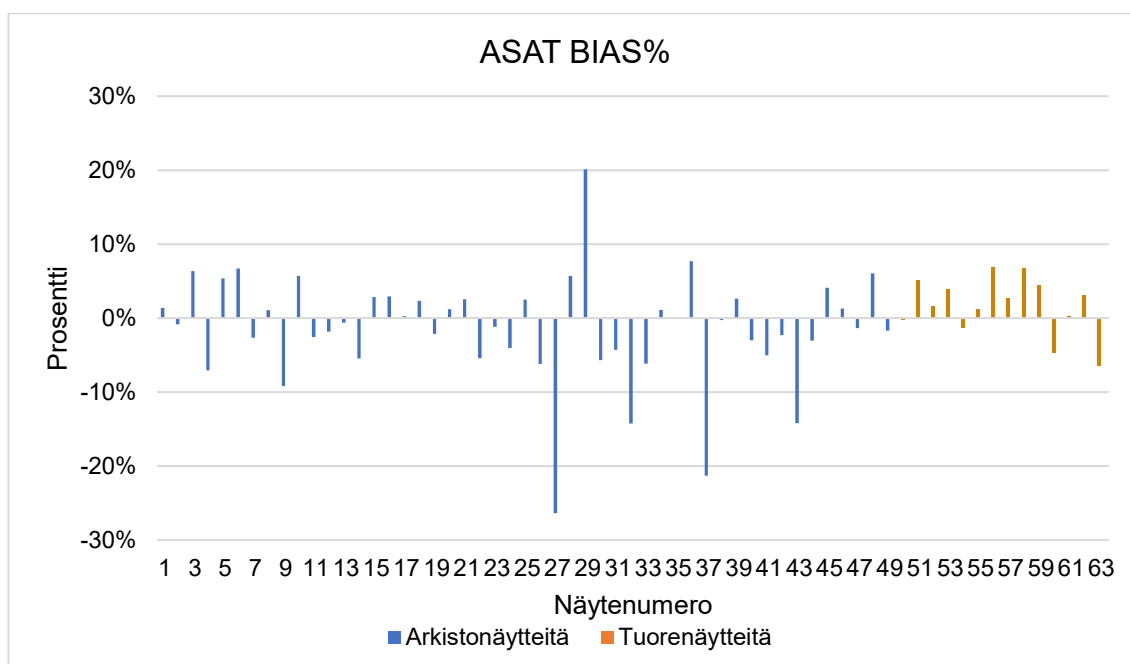
KUVIO 16. Albumiinin 1. ja 2. sentrifugointikertojen välinen BIAS% näytekohtaisesti

## 8.6 Aspartyyliaminotransferaasi (P-ASAT)

Kuviossa 17 näkyy ASAT:n ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset vierekkäin. ASAT:n tuloksia on yhteensä 63 kappaletta, joista 14 viimeistä on tuorenäytteitä. ASAT:n ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 12,62–271,01 U/l ja tulosten keskiarvo on 35,50 U/l. Toisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 9,29–262,89 U/l ja keskiarvo on 35,06 U/l. ASAT:n viitearvot ovat miehillä ja naisilla erilaiset, joten ei voida päätellä tulosten muutoksia viitearvoissa. Kuviossa 18 näkyy ASAT:n näytekohtaiset BIAS%:t. BIAS%:n keskiarvo on -0,72 %. Tuorenäytteiden BIAS%:n keskiarvo on 1,65 % ja seisotettujen näytteiden BIAS%:n keskiarvo on -1,40 %. Kaikkien ASAT:n tulosten muutoksen ja hemolyysin tulosten muutoksen välinen korrelaatiokerroin on 0,175, joten lineaarista riippuvuutta tulosten välillä ei ole lähes ollenkaan. ASAT:n tulosten muutoksen ja lipeemisyys tulosten muutoksen välinen korrelaatiokerroin on -0,172, joten tulosten välinen lineaarinen riippuvuus on mitätön.



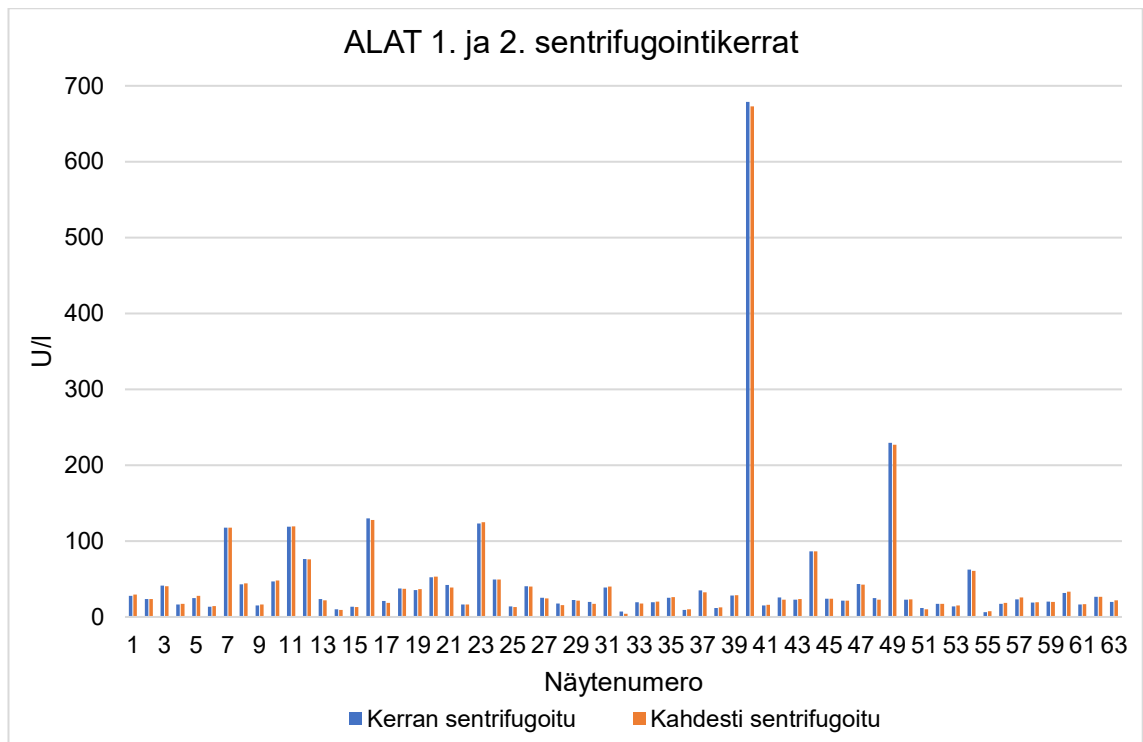
KUVIO 17. ASAT:n 1. ja 2. sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset



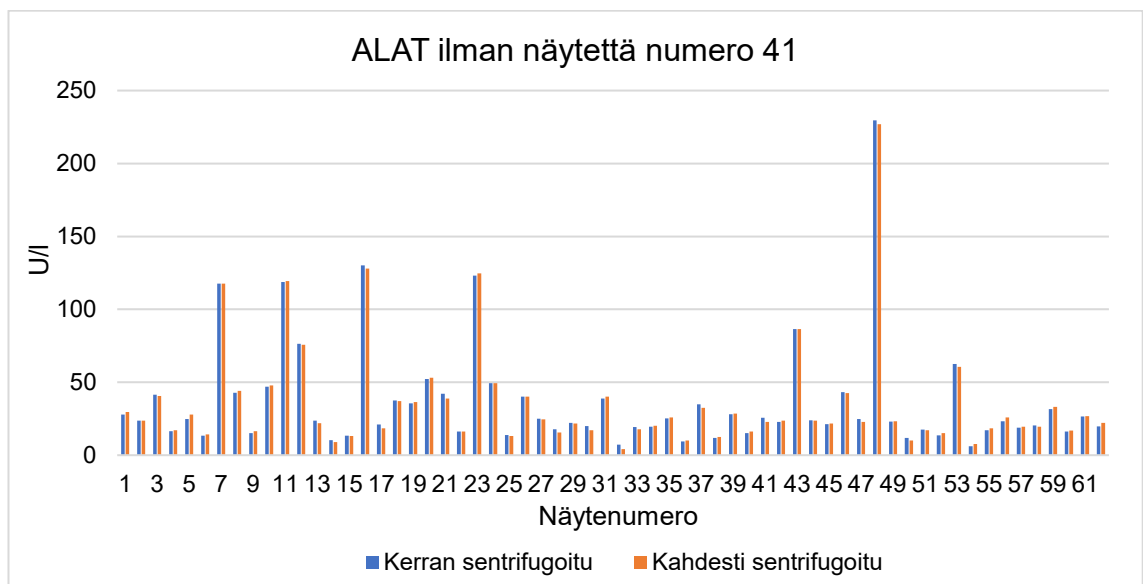
KUVIO 18. ASAT:n 1. ja 2. sentrifugointikertojen välinen BIAS% näytekohtaisesti

## 8.7 Alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT)

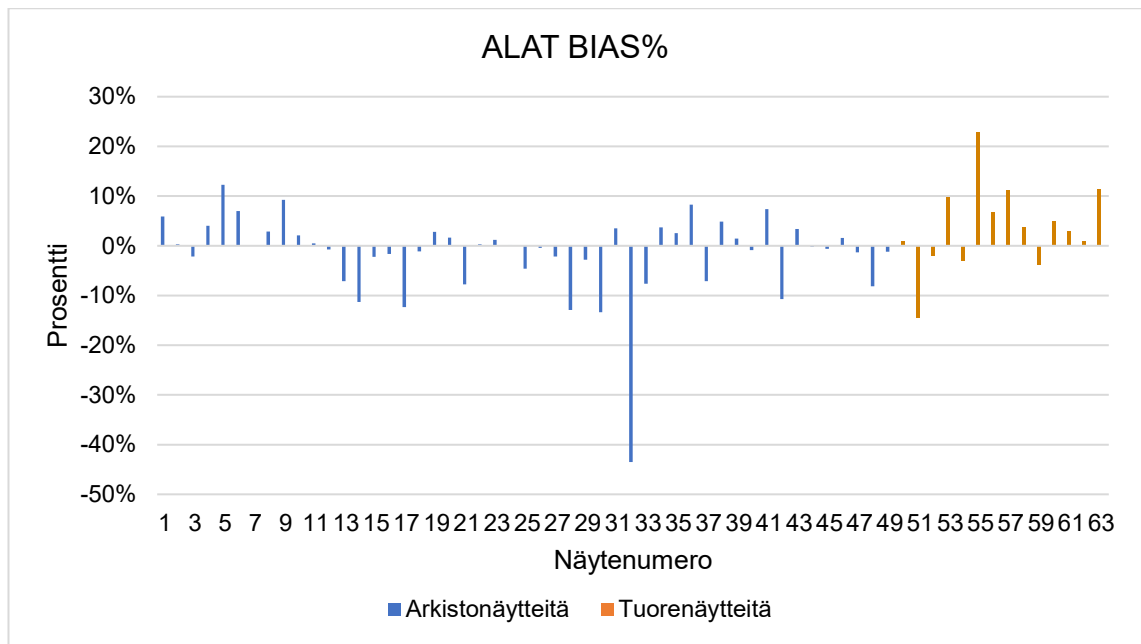
ALAT:n ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset ovat nähtävissä kuviossa 19. ALAT:n tuloksia on yhteensä 63 kappaletta, joista 14 viimeistä on tuorenäytteitä. ALAT:n ensimmäisen sentrifugointikerran jälkeiset tulokset vaihtelevat välillä 6,24–678,63 U/l ja tulosten keskiarvo on 46,56 U/l. Toisen sentrifugointikerran jälkeisten tulosten vaihteluväli on 4,09–672,72 U/l ja keskiarvo on 46,35 U/l. ALAT:n viitearvot ovat miehillä ja naisilla erilaiset, joten ei voida päätellä tulosten muutoksia viitearvoissa. Kaikista ALAT:n tuloksista yksi äärimmäisen korkea näytteen tulos on poistettu pylväsdiagrammista paremman havainnollistamisen saavuttamiseksi kuviossa 20. Näytteiden BIAS%:t ovat nähtävissä kuviossa 21. BIAS%:n keskiarvo on -0,39 %. Tuorenäytteiden BIAS%:n keskiarvo on 3,73 % ja seisotettujen näytteiden BIAS%:n keskiarvo on -1,57 %. ALAT:n tulosten muutoksen ja hemolyysin tulosten muutoksen välinen korrelaatiokerroin on 0,091, joten tulosten lineaarinen riippuvuus on heikko. ALAT:n tulosten muutoksen ja lipeemisyden tulosten muutoksen välinen korrelaatiokerroin on -0,0041, joten lineaarista riippuvuutta tulosten välillä ei ole.



KUVIO 19. ALAT:n 1. ja 2. sentrifugointikertojen jälkeiset tulokset



KUVIO 20. ALAT:n 1. ja 2. sentrifugointikertojen tulokset ilman yhtä erittäin korkeaa näytettä



KUVIO 21. ALAT:n 1. ja 2. sentrifugointikertojen välinen BIAS% näytekohtaisesti

## 9 TULOSTEN TARKASTELO

Työn tavoitteena oli selvittää EPSHP:n kliinisen kemian laboratoriolle, mikäli näytteiden uudelleen sentrifugointi häiritsee BD Vacutainer® Barricor™ -litiumhepariiniplasmaputkesta tutkittujen analyyttien tuloksia. Työssä verrattiin näytekohtaisesti ensimmäisen ja toisen sentrifugointikertojen jälkeisiä tuloksia toisiinsa valituilta analyyteiltä.

Uudelleen sentrifugoinnin jälkeen arvojen havaittiin joko nousevan, laskevan tai pysyvän samana riippuen analyytistä. Kaliumin arvot pääosin nousivat uudelleen sentrifugoinnin jälkeen. Natriumin, kalsiumin, albumiinin, ALAT:n ja ASAT:n arvot laskivat keskimäärin uudelleen sentrifugoinnin jälkeen. Tuorenäytteissä tapahtuvat muutokset eivät olleet yhtä huomattavia kuin seisotettujen näytteiden kohdalla. Hemolyysin tuloksien kohdalla tapahtui hyvin pientä muutosta uudelleen sentrifugoinnin jälkeen. Uudelleen sentrifugointi ei vaikuttanut ikteerisyyden arvoihin mitenkään. Lipeemisyys kohdalla muutokset olivat laskevia varsinkin seisotettuja näytteitä verrattaessa tuorenäytteisiin, joiden lipeemisyys laski hieman.

Tulosten kliininen merkitsevyys pystytään arvioimaan EPSHP:n kliinisen kemian toimeksiantajan toimittaman taulukon avulla, jossa on nähtävissä Labqualityn antamat tavoitearvot BIAS% (Anttila ym. 2021). Nämä tavoitteet sekä analyyttikohtaiset BIAS% tulokset ovat nähtävissä taulukossa 1.

TAULUKKO 1. Kaikkien tuloksien BIAS% ja niiden Labqualityn hyväksymät tavoitearvot

Analyytti	Labqualityn tavoitearvo BIAS%	BIAS% keskiarvo	Tuorenäytteiden BIAS% keskiarvo	Seisotettujen näytteiden BIAS% keskiarvo
Kalium	4 %	6,0421 %	-0,6073 %	7,9419 %
Natrium	2 %	-1,5542 %	-0,411 %	-1,8808 %
Kalsium	3 %	-1,0423 %	0,656 %	-1,5275 %
Albumiini	5 %	-2,6898 %	-0,9624 %	-3,1833 %
ASAT	12 %	-0,7218 %	1,6487 %	-1,3991 %
ALAT	12 %	-0,3915 %	3,7333 %	-1,5701 %



Tutkimuskysymykseen, muuttuuko näytteiden HIL-indeksi uudelleen sentrifugoinnin jälkeen, vastaus on tehtyyn tutkimukseen pohjautuen kyllä. Tämän perustellaan sillä, että hemolyysin absoluuttisessa BIAS:ssa havaitaan muutoksia, vaikka muutoksien keskiarvo on 0. Hemolyysin arvot muuttuvat keskimäärin yhdellä, joten muutosta ei voi sanoa merkittäväksi. Lipeemisydessä tapahtuu laskevaa muutosta, sillä sen tulosten absoluuttisen BIAS:n keskiarvo on -2.78. On huomioitava, että seisotettujen näytteiden lipeemisyden muutos on poikkeavaa verrattuna tuorenäytteiden muutokseen. Vaikka hemolyysissä ja lipeemisydessä on nähtävissä muutosta, on ikteerisyden muutos niin äärimmäisen pientä, ettei sen voida sanoa vaikuttavan indeksiin sen muutosten keskiarvon ollessa 0.

Vastaus toiseen tutkimuskysymykseen uudelleen sentrifugoinnin vaikutuksista plasmasta mitattavien analyyttien konsentraatioon on kyllä. BIAS%:a tarkasteltaessa kaikilla analyyteillä huomataan, että analyyttien konsentraatiossa tapahtuu muutoksia.

Kaliumin arvoissa on tapahtunut merkitsevää nousevaa muutosta, sillä sen tulosten BIAS%:n keskiarvo on 6,04 % ja se ylittää Labqualityn asettaman tavoitearvon 4 %. Tuorenäytteiden osalta BIAS%:n keskiarvo on -0,6 %, joten huomattava osa muutoksesta johtuu seisotettujen näytteiden BIAS%:n keskiarvosta, joka on 7,94 %.

Natriumin, kalsiumin, albumiinin, ASAT:n ja ALAT:n arvoissa ei tapahdu merkittävää muutosta, sillä niiden BIAS%:n keskiarvot eivät ylitä Labqualityn asettamia tavoitearvoja (taulukko 1). Näillä analyyteillä sekä seisotetut näytteet että tuorenäytteet pysyvät sallituissa rajoissa.

Kolmannen tutkimuskysymyksen kohdalla, selittääkö HIL-indeksin muutos valittujen analyyttien konsentraation muutoksen, vastaus on tutkimukseen perustuen ei. Tämä voidaan perustella HIL-indeksin ja analyyttien välisellä korrelaatiokerroimella (taulukko 2). Hemolyysin muutoksen ja analyyttien muutoksen välinen korrelaatiokerroin on kaikilla analyyteillä erittäin pieni eli lähellä nollaa, joten voidaan sanoa lineaarisen riippuvuuden olevan todella heikkoa. Ikteerisyden muutoksen ollessa lähes mitätön kaikilla näytteillä, sen aiheuttamaa muutosta ei

ole sen takia laskettu. Lipeemisyden muutoksen ja analyyttien muutoksen välistä korrelaatiokertoimesta on nähtävissä, ettei lineaarista riippuvuutta näiden kahden välillä ole.

TAULUKKO 2. Hemolyysin ja lipeemisyden korrelaatiokertoimet analyyttikohtaisesti

	Hemolyysi	Lipeemisyys
Kalium	0,16	-0,31
Natrium	-0,095	0,19
Kalsium	0,044	0,069
Albumiini	0,095	0,059
ASAT	0,175	-0,172
ALAT	0,091	-0,0041

## 10 JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA

### 10.1 Johtopäätökset

Ensimmäisen tutkimuskysymyksen kohdalla huomattiin, että seisotettujen näytteiden ja tuorenäytteiden tuloksissa oli eroja. Hemolyysissä tapahtuu yksittäisten näytteiden kohdalla kasvavaa muutosta, mikä saattaa johtua sentrifugoinnin aikana muodostuneesta mekaanisesta rasituksesta punasoluihin. Seisotetuissa näytteissä hemolyysin määrä on laskevaa, vaikka se onkin äärimmäisen pientä keskiarvon ollessa -0.1. Tuorenäytteiden kohdalla hemolyysin määrä on noususuhdanteista absoluuttisen muutoksen keskiarvon ollessa 0.36. On mahdollista, että seisotetuissa näytteissä on jo seisotuksen aikana tapahtunut hemolyysiä. Mikäli hemolysoituneet punasolut pääsisivät kulkeutumaan uudelleen sentrifugoinnin aikana aukeavien kanavien kautta plasmaan, voisi hemolyysin arvo nousta ja häiritä mittauksia. Näin ei kuitenkaan ole käynyt, sillä hemolyysin arvot eivät ole nousseet kaikilla näytteillä.

Lipeemisyden huomattiin laskevan huomattavasti varsinkin seisotettujen näytteiden kohdalla, mutta tuorenäytteiden kohdalla lipeemisyden arvot laskevat vähemmän. Uudelleen sentrifugointi näyttää hieman puhdistavan plasmaa, kuten Barricor-putken valmistaja lupaakin (BD 2021b). Lipeemisyden nousu yksittäisillä näytteillä uudelleen sentrifugoinnin jälkeen voi johtua mittausvirheestä, sillä lipeemisyden ei pitäisi lisääntyä plasmassa, kun mitataan sen tuloksia samasta näytteestä. Lipeemisyden arvon lasku on voinut aiheuttaa muutosta analyyttien tuloksiin, joiden määrittämiseen käytetään fotometristä määritysmenetelmää. Korrelaatiokertoimien mukaan näin ei ole kuitenkaan tapahtunut, sillä lipeemisyden ja analyyttien tulosten muutosten välillä ei ole havaittavissa korrelaatiota.

Ikteerisyden arvoissa ei ole tapahtunut oikeastaan mitään muutoksia. Ikteerisyys johtuu näytteessä olevasta bilirubiinista, jota muodostuu punasolujen hajoitusprosessin aikana. Jos keho ei pysty poistamaan normaalisti bilirubiinia, kohoaa sen arvo veressä, mikä näkyy näytteessä plasman keltaisuutena.

Toisessa tutkimuskysymyksessä mietitään uudelleen sentrifugoinnin vaikutusta analyyttien arvojen muutoksiin. Huomattiin, että ainoastaan kaliumin kohdalla voidaan puhua merkittävän muutoksen tapahtuvan näytteiden tuloksissa. Kalium on herkkä analyytti johtuen sen vähäisestä määrästä veressä. Koska kaliumia pääsee vapautumaan punasolujen sisältä niiden hajotessa, nousee kaliumin arvo herkästi plasmassa. Tämä saattaa selittää arvojen nousun uudelleen sentrifugoinnin jälkeen.

Kaikkien analyyttien tuloksissa tapahtui vaihtelevasti muutoksia, jolla voi olla merkittävää vaikutusta, jos muutos tapahtui viitearvojen sisältä ulos tai päinvastoin. Tässä voi olla vaarana se, että päädytään väärään diagnoosiin tai diagnoosi jää antamatta. Tulosten vaihtelu on kuitenkin niin pientä, että tulokset muuttuvat vain hieman viitearvojen molemmin puolin. Reilusti viitearvojen ulkopuolella olevat tulokset pysyvät selkeästi viitearvojen ulkopuolella sekä selkeästi viitearvojen sisällä olevat tulokset pysyttelevät viitearvoissa. Hoitavan lääkärin pitää olla tarkkana siitä, kuinka paljon arvot ylittävät viitearvot.

Näytteitä ei sekoiteltu ylösalaisin näytteenoton jälkeisen sekoittamisen jälkeen, mikä on saattanut vaikuttaa analyyttien painumiseen plasman pohjalle. Tämä voisi selittää tiettyjen analyyttien konsentraation laskun varsinkin seisotettujen näytteiden kohdalla. Seisotetuissa näytteissä analyyttien mahdollinen painuminen on todennäköisempää kuin tuorenäytteiden kohdalla, sillä tuorenäytteet ovat nimensä mukaan tuoreita ja seiseeet vasta muutaman tunnin eikä analyyttien painumista ole ehtinyt tapahtua niin runsaasti.

Kolmannessa tutkimuskysymyksessä mietitään, selittääkö HIL-indeksin arvojen muutos tutkittavien analyyttien muutosta. Korrelaatiokertoimien perusteella huomataan, että HIL-indeksin arvojen muutos ei vaikuta analyyttien arvojen muutokseen. Kuitenkin teorian mukaan hemolyysin pitäisi vaikuttaa voimakkaasti ainakin kaliumin arvoihin. On kuitenkin mahdollista, että muutosten ollessa kaikkien HIL-indeksin suhteen niin pieniä, ettei korrelaatiota näiden muuttujien välillä voida havaita.

## 10.2 Luotettavuus, eettisyys ja jatkotutkimusaiheet

Tutkimuksen luotettavuutta tarkasteltaessa on tutkijan tarkasteltava koko tutkimuksen validiteettia ja reliabiliteettia. Tarkastelu on tehtävä kaikkien saatavilla olevien tutkimuksen tietojen perusteella. Tämän lisäksi tutkijan on ylläpidettävä objektiivisuutensa tutkimustaan kohtaan, mikä tarkoittaa puolueettomana pysytelyä koko tutkimuksen prosessin ajan. Tutkija ei saa tahallisesti muuttaa tutkimuksen tuloksia haluamaansa hypoteesia kohti, mutta inhimillisten virheiden tapahtumista on lähes mahdotonta estää. (Heikkilä 2014, 178, 28.)

Jotta tutkimuksen validiteetti eli pätevyys olisi hyvä, tulee tutkimuksen mitata tarkoituksen mukaista asiaa. Tätä helpottaa jo tutkimuksen suunnitteluvaiheessa tarkkaan määritellyt tutkimuskysymykset ja niiden tarkka rajaus. (Heikkilä 2014, 27.)

Kun tutkimuksen tulokset eivät ole sattumanvaraisia, on tutkimuksen reliabiliteetti eli luotettavuus hyvä. Tämän saavuttamiseksi tutkijan on ylläpidettävä tarkkuus ja kriittisyys omaa työskentelyään kohtaan. Tarkkojen tuloksien saavuttaminen on helpompaa otoskoon ollessa tarpeeksi suuri ja perusjoukkoa mahdollisimman hyvin edustava. Tutkimuksen ulkoinen reliabiliteetti kertoo tutkimuksen toistettavuudesta muissa tilanteissa ja tutkimuksissa. (Heikkilä 2014, 28, 178.)

Barricor-putken säilyvyys on litiumhepariinin vuoksi vain 24 tuntia. Tämä on saattanut vaikuttaa tuloksiin, sillä osa näytteistä oli yli 24 tuntia vanhoja jo ensimmäisen analysointikierron kohdalla. Antikoagulantin toiminnan heikentymistä ja sen voimakkuutta on melkein mahdotonta toistaa, joten tämä vaikuttaa tutkimuksen toistettavuuteen ja sitä kautta sen luotettavuuteen. Luotettavuuden kannalta on mahdotonta määrittää, onko analyyteissä havaitut muutokset johtuneet pelkästään uudelleen sentrifugoinnista vai myös antikoagulantin vaikutuksen lakkaamisesta.

Koska näytteet säilytetään laboratorion arkistossa ilman korkkeja, on mahdotonta sanoa, mitä näytteenottotekniikkaa näytteiden otossa on käytetty. Tämä johtuu siitä, että EPSHP:n klinisen kemian laboratorion ohjeistuksen mukaan verinäy-

teputken korkkiin laitetaan merkintä, mikäli näyte on otettu avotekniikkaa käyttäen. Tämän takia ainoastaan tuorenäytteiden näytteenottotekniikka on tiedossa eikä voida sanoa varmaksi, onko näytteenottotavalla vaikutusta tutkimukseen.

Yksittäisillä näytteillä BIAS%:t ovat Labqualityn tavoitearvojen ulkopuolella, mutta niitä käsittävä tieto katoaa monesti kvantitatiivisessa tutkimuksessa tyypillisellä tavalla. Aineiston ollessa suuri ja arvoja ollessa paljon yksittäisten suurien muutosten vaikutus katoaa esimerkiksi keskiarvon takia. Tavoitteena on kuitenkin saada tutkimuksen toteutuksesta kokonaiskuva eikä jokaista yksittäistä näytettä voida käsitellä muutoksineen.

BIAS%:a käytettäessä on mahdollista, että arvot saattavat vääristää todellista muutosta. Tämä johtuu siitä, että pienillä tuloksilla pienikin muutos aiheuttaa suuren BIAS%:n. Esimerkiksi tuloksen muuttuessa arvosta 1 arvoon 2 on BIAS% jo 100 %. Tällaisien pienten tuloksien muutokset vaikuttavat paljon tuloksien BIAS%:n keskiarvoon.

Työn objektiivisuuden kannalta pyrittiin välttämään vahvan hypoteesin muodostamista, sillä se olisi voinut johdatella seuraamaan sitä. Tietenkin tutkimuksen aikana seurattiin tarkasti mahdollisia muutoksia, sillä tämän työn tarkoituksena oli seurata uudelleen sentrifugoinnin aiheuttamia muutoksia. Tutkimuksen tuloksia tai kuvaajia ei muunneltu tahallisesti eikä virheellisiä tuloksia luotu. Kaikki tutkimus tulokset ovat todellisia tutkimuksesta saatuja tuloksia, eikä niitä ole poistettu tutkimuksesta johtopäätöksien muuttamisen toivossa.

Tutkimusetiikka tarkoittaa sitä, että tutkija pitää tutkimustaan avoimena ja rehellisenä. Tutkimusetiikan mukaan tutkimuksen on oltava toistettavissa ja se on pidettävä laadukkaana ja ammattitaitoisena. Tutkimusta varten on pyydettävä lupa ja tutkimus on suunniteltava ennen sen toteuttamista. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012, 6.)

Työn eettisyyden kannalta on huomioitavaa, että potilasnäytteiden seasta valikoidut korkeat ja matalat arvot omaavat näytteet valitsi henkilökuntaan kuuluva henkilö eikä potilaiden omia tietoja käytetty missään vaiheessa prosessia. Tämän lisäksi työhön ei vaadittu potilailta otettavan ylimääräisiä putkia. Työssä käytetyt

näytteet olivat niin sanotusti jätettä, koska niistä ei olisi voinut tutkia virallisten ohjeistuksien mukaan mitään ja ne olivat jo menossa hävitykseen. Työssä käyetyt tuorenäytteet kerättiin vapaaehtoisilta, joilta jokaiselta pyydettiin suullinen suostumus tutkimukseen osallistumista varten eikä vapaaehtoisten näyteputkia identifioitu mitenkään elleivät he sitä itse halunneet.

Opinnäytetyön prosessi sujui aikataulussa suunnitelman mukaisesti. Teoreettisen viitekehysten rajaaminen tuntui aluksi hieman hankalalta, mutta siihen saatiin hyvin tukea opinnäytetyön ohjaajalta ja työelämän edustajalta. Tarvittavien tunnuslukujen valitseminen onneksi tapahtui pääosin työelämän edustajan toiveiden mukaisesti, sillä tutkimus oli molemmille opinnäytetyön tekijöille ensimmäinen tutkimus. Kaiken kaikkiaan opinnäytetyöprosessi sujui ennakko-oletuksesta huolimatta suhteellisen helposti ja sen työstäminen oli ajoittain jopa mielekäästä. Yhteistyö opinnäytetyön tekijöiden välillä oli tasavertaista ja ongelmatilanteet, varsinkin pohdinnassa, käsiteltiin yhdessä. Ainut opinnäytetyön prosessissa kohdattu korjattava asia on se, että 2. ohjaajaa olisi käytetty enemmän korjausehdotuksien kohdalla varsinkin prosessin loppuvaiheissa.

Vaikka tuorenäytteet otettiin ainoastaan laadunvarmistamisen vuoksi, huomattiin niissä olevan nähtäviä eroja seisotettuihin näytteisiin verrattuna. Tämän vuoksi olisi hyvä varmistaa tutkimuksen tulos pelkästään tuorenäytteistä. Jos aineisto kerättäisiin ainoastaan vapaaehtoisista ja näytteet tutkittaisiin ilman seisotusvaihetta, tutkimuksessa olisi mahdollisesti vähemmän tuloksiin vaikuttavia muuttujia.

## LÄHTEET

ACL Laboratories. 2014. "Do's & Don'ts" for Reliable Specimen Quality. Pdf-dokumentti. Julkaistu 11.2014. Luettu 18.2.2021. <https://www.acllaboratories.com/static/documents/Dos-Donts-Specimen-Handling-Flyer.pdf>

Anttila, P., Tuomi, H., Kultti, J., Åkerman, K., Kangastupa, P. & Nivukoski, U. 2021. TAVOITE CV% JA BIAS% MENETELMÄVERTAILUSSA, SISÄISESSÄ KONTROLLISEURANNASSA SEKÄ MAAKUNNAN JA SISÄISESSÄ TULOS-TASOVERTAILUSSA. Taulukko.

Arslan, F., Karakoyun, I., Basok, B., Aksit, M., Baysoy, A., Ozturk, Y., Guclu, Y. & Duman, C. 2017. The local validation of a new lithium heparin tube with a barrier: BD Vacutainer® Barricor LH Plasma tube. *Journal of Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. Biochemia Medica* 27 (3), 1–11.

BD. 2021a. How BD Barricor™ tube works. Verkkosivu. Päivitetty 2021. Luettu 9.2.2021. <https://www.bd.com/en-ca/offerings/capabilities/specimen-collection/blood-specimen-collection/venous-collection/bd-vacutainer-barricor-plasma-blood-collection-tube/vacutainer-barricor-blood-collection-tube/how-bd-barricor-works>

BD. 2021b. How BD Barricor™ Tubes Provide a Fast, Clean, High-Quality Plasma Sample. Verkkosivu. Päivitetty 2021. Luettu 9.2.2021. <https://www.bd.com/en-ca/offerings/capabilities/specimen-collection/blood-specimen-collection/venous-collection/bd-vacutainer-barricor-plasma-blood-collection-tube/vacutainer-barricor-blood-collection-tube/barricor-provides-cleaner-samples>

BD. 2018. Preanalytical Systems. Pdf-dokumentti. Luettu 8.11.2021. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=34369>

BD Vacutainer®. 2016. Barricor™ Lithium Heparin<sup>N</sup> Plasma Blood Collection Tube: For In Vitro Diagnostic Use. Moniste.

Bowen, R. & Remaley, A. 2014. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Journal of Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. Biochemia Medica* 24 (1), 31–44.

Carreiro-Lewandowski, E. 2013. Basic Principles and Practices. Teoksessa Bishop, M., Fody, E. & Schoeff, L. (toim.) *Clinical Chemistry: Principles, Techniques, and Correlations*. 7. painos. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2–34.

cobas. 2017. ISE indirect Na, K, Cl for Gen.2. Pdf-dokumentti. Luettu 4.1.2021. <https://pim-eservices.roche.com/LifeScience/Document/a9d84592-8b83-e711-5790-00215a9b3428>

cobas. 2018. ALT. Pdf-dokumentti. Luettu 7.1.2021. <https://pim-eservices.roche.com/LifeScience/Document/e6c22c8c-a1c2-e811-2d93-00215a9b3428>



cobas. 2019a. ALB2. Pdf-dokumentti. Luettu 7.1.2021. <https://pim-eservices.roche.com/LifeScience/Document/6ceb0d05-a1c1-e411-a8af-00215a9b0ba8>

cobas. 2019b. CA2. Pdf-dokumentti. Luettu 7.1.2021. <https://pim-eservices.roche.com/LifeScience/Document/13941a1a-a1a9-e911-f690-005056a772fd>

cobas. 2020a. ASTPM. Pdf-dokumentti. Luettu 7.1.2021. <https://pim-eservices.roche.com/LifeScience/Document/8c83d746-2c6e-ea11-fa90-005056a772fd>

cobas. 2020b. SI2. Pdf-dokumentti. Luettu 8.1.2021. [https://dmec.moh.gov.vn/documents/10182/17759629/upload\\_00011775\\_1607409591911.pdf?version=1.0&fileId=17768066](https://dmec.moh.gov.vn/documents/10182/17759629/upload_00011775_1607409591911.pdf?version=1.0&fileId=17768066)

Dimeski, G., Badrick, T. & St John, A. 2010. Ion Selective Electrodes (ISEs) and interferences—A review. *The Official Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Clinica Chimica Acta* 411 (5–6), 309–317.

D’Orazio, P. & Meyerhoff, M. 2015. *Electrochemistry and Chemical Sensors*. Burtis, C. & Bruns, D. (toim.) *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 7. painos. St. Louis: Saunders, 151–170.

Dupuy, A., Badiou, S., Daubin, D., Bargnoux, A., Magnan, C., Klouche, K. & Cristol, J. 2018. Comparison of Barricor™ vs. lithium heparin tubes for selected routine biochemical analytes and evaluation of post centrifugation stability. *Journal of Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. Biochemia Medica* 28 (2), 1–7.

EPSHP. 2018a. NATRIUM. Verkkosivu. Päivitetty 26.7.2018. Luettu 18.2.2021. <http://81.209.127.193/labraohje/labraohje.asp?tutkimus=3622>

EPSHP. 2018b. KALSIUM. Verkkosivu. Päivitetty 26.7.2018. <http://81.209.127.193/labraohje/labraohje.asp?tutkimus=4514>

EPSHP. 2020a. ASPARTAATTIAMINOTRANSFERAASI. Verkkosivu. Luettu 7.1.2021. <http://81.209.127.193/labraohje/labraohje.asp?tutkimus=4591>

EPSHP. 2020b. KALIUM. Verkkosivu. Luettu 18.2.2021. <http://81.209.127.193/labraohje/labraohje.asp?tutkimus=1999>

EPSHP. 2020c. LITIUM. Verkkosivu. Luettu 1.12.2021. <http://81.209.127.193/labraohje/labraohje.asp?tutkimus=2260>

EPSHP. 2020d. ALBUMIINI. Verkkosivu. Päivitetty 27.2. 2020. Luettu 18.2.2021. <http://81.209.127.193/labraohje/labraohje.asp?tutkimus=4586>

EPSHP. 2020e. ALANIINIAMINOTRANSFERAASI. Verkkosivu. Päivitetty 28.2.2020. Luettu 18.2.2021. <http://81.209.127.193/labraohje/labraohje.asp?tutkimus=1024>

Eskelinen, S. 2016. Verinäytteen otto. Terveyskirjasto. Julkaistu 6.5.2016. Luettu 4.1.2021. [https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk02013](https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk02013)

Estridge, B. & Reynolds, A. 2012. Basic Clinical Laboratory Techniques. 6. painos. New York: Delmair Cengage Learning.

Gawria, G., Tillmar, L. & Landberg, E. 2020. A comparison of stability of chemical analytes in plasma from the BD Vacutainer® Barricor™ tube with the mechanical separator versus tubes containing gel separator. *Journal of Clinical Laboratory Science* 34 (2), 1–8.

Haverstick, D. & Groszbach, A. 2015. Specimen Collection, Processing, and Other Preanalytical Variables. Teoksessa Burtis, C. & Bruns, D. (toim.) *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 7. painos. St. Louis: Saunders, 72–89.

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

HUS. 2020a. Albumiini, plasmasta. Verkkosivu. Luettu 5.1.2021. <https://huslab.fi/ohjekirja/4586.html>

HUS. 2020b. Kalium, plasmasta. Verkkosivu. Luettu 4.1.2021. <https://huslab.fi/ohjekirja/1999.html>

HUS. 2020c. Kalsium, plasmasta. Verkkosivu. Luettu 5.1.2021. <https://huslab.fi/ohjekirja/4598.html>

HUS. 2021a. Alaniiniaminotransferaasi, plasmasta. Verkkosivu. Luettu 7.1.2021. <https://huslab.fi/ohjekirja/1024.html>

HUS. 2021b. Aspartaattiaminotransferaasi, plasmasta. Verkkosivu. Luettu 5.1.2021. <https://huslab.fi/ohjekirja/4591.html>

HUS. 2021c. Natrium, plasmasta. Verkkosivu. Luettu 5.1.2021. <https://huslab.fi/ohjekirja/3622.html>

Irjala, K. 2010. Proteiinitutkimukset. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratorio lääketiede: Kliininen kemia ja hematologia*. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 135–140.

Jokela, H. & Åkerman, K. 2010. Fotometria. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratorio lääketiede: Kliininen kemia ja hematologia*. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 54–58.

Jones, E., Michael, S. & Sittampalam, S. 2021 *Basics of Assay Equipment and Instrumentation for High Throughput Screening*. Teoksessa Markossian, S.,

Grossman, A. & Brimacombe, K. (toim.) Assay Guidance Manual [Internet]. Bethesda: Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.

Kananen, J. (toim.) 2008. Kvantti: Kvantitatiivinen tutkimus alusta loppuun. Jyväskylä: Jyväskylän ammattikorkeakoulu.

Kricka, L. & Park, J. 2015. Optical Techniques. Teoksessa Burtis, C. & Bruns, D. (toim.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 7. painos. St. Louis: Saunders, 129–150.

Kroll, M. & McCudden, C. 2013. Endogenous Interferences in Clinical Laboratory Tests: Icteric, Lipemic and Turbid Samples. 5. painos. Berlin: De Gruyter.

LabCE. 2021. Centrifugation Temperature. Verkkosivu. Päivitetty 2021. Luettu 5.4.2021. [https://www.labce.com/spg803262\\_centrifugation\\_temperature.aspx](https://www.labce.com/spg803262_centrifugation_temperature.aspx)

Lippi, G., Blanckaert, N., Bonini, B., Green, S., Kitchen, S., Palicka, V., Vas-sault, A. & 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.

Matikainen, A., Miettinen, M. & Wasström, K. 2016. Näytteenottajan käsikirja. 2. painos. Helsinki: Edita.

Minder, E., Schibli, A., Mahrer, D., Nestic, P. & Plüer, K. 2011. Effects of different centrifugation conditions on clinical chemistry and Immunology test results. *Biomed Central Clinical Pathology* 11 (6), 1–15.

Oddoze, C., Lombard, E. & Portugal, H. 2012. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clinical Biochemistry* 45 (6), 464–469.

Roche. 2021. cobas® 8000 modular analyzer series. Verkkosivu. Päivitetty 18.2.2021. Luettu 18.2.2021. [https://diagnostics.roche.com/global/en/products/systems/cobas\\_-8000-modular-analyzer-series.html#productSpecs](https://diagnostics.roche.com/global/en/products/systems/cobas_-8000-modular-analyzer-series.html#productSpecs)

Sand, O., Sjaastad, Ø., Haug, E. & Bjålie, J. 2014. Ihminen: Fysiologia ja anatomia. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Scott, M., LeGrys, V. & Schindler, E. 2015. Electrolytes and Blood Gases. Burtis, C. & Bruns, D. (toim.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 7. painos. St. Louis: Saunders, 412–421.

Stanley, F. 2015. Principles of Basic Techniques and Laboratory Safety. Teoksessa Burtis, C. & Bruns, D. (toim.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 7. painos. St. Louis: Saunders, 107–128.

Synlab. 2021. Verinäytteet. Laboratoriokäsikirja. Päivitetty 2021. Luettu 7.1.2021. <https://www.yml.fi/laboratoriokasikirja/verinaytteet>

Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. Pdf-dokumentti. Luettu 22.10.2021. [https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK\\_ohje\\_2012.pdf](https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf)

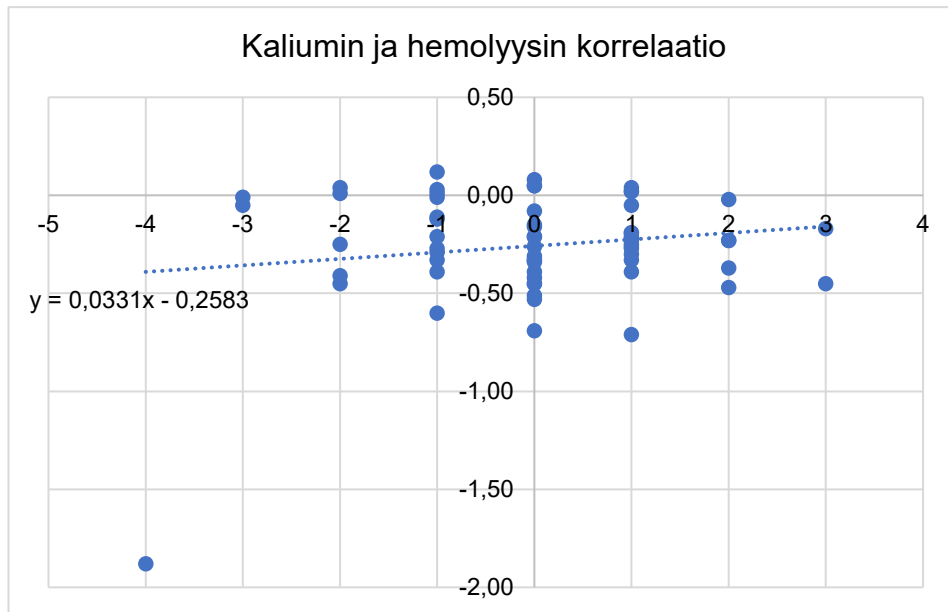
UNIVERSITY of TARTU. n.d. Bias and its constituents. Verkkosivu. Luettu 3.3.2021. [https://sisu.ut.ee/lcms\\_method\\_validation/51-Bias-and-its-constituents](https://sisu.ut.ee/lcms_method_validation/51-Bias-and-its-constituents)

Uotila, L. 2010. Neste-, elektrolyytti- ja happo-emästasapaino. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratorio lääketiede: Kliininen kemia ja hematologia. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy. 93–120.

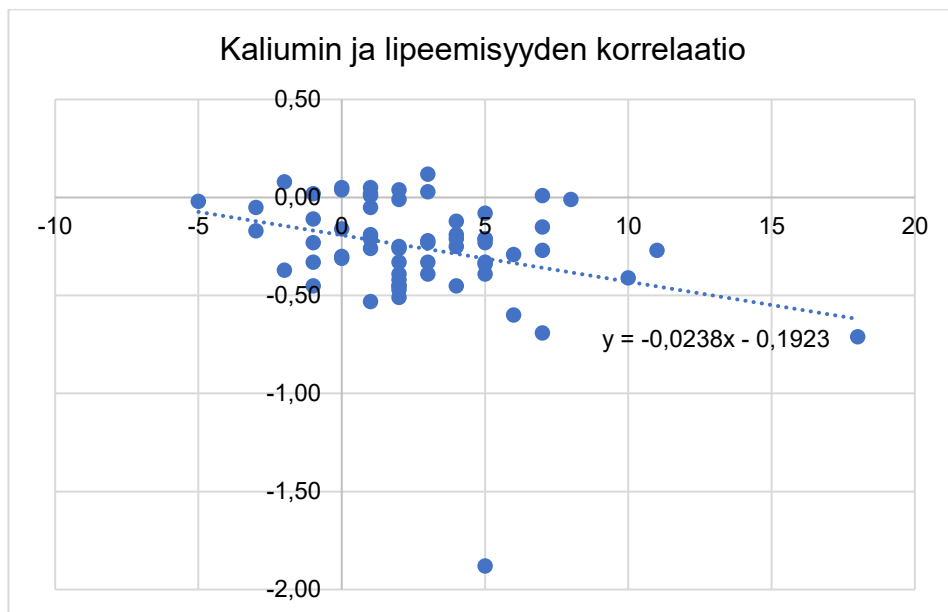
Åkerman, K. 2010. Kemialliset analysointimetodit. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratorio lääketiede: Kliininen kemia ja hematologia. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 82–83.

## LIITTEET

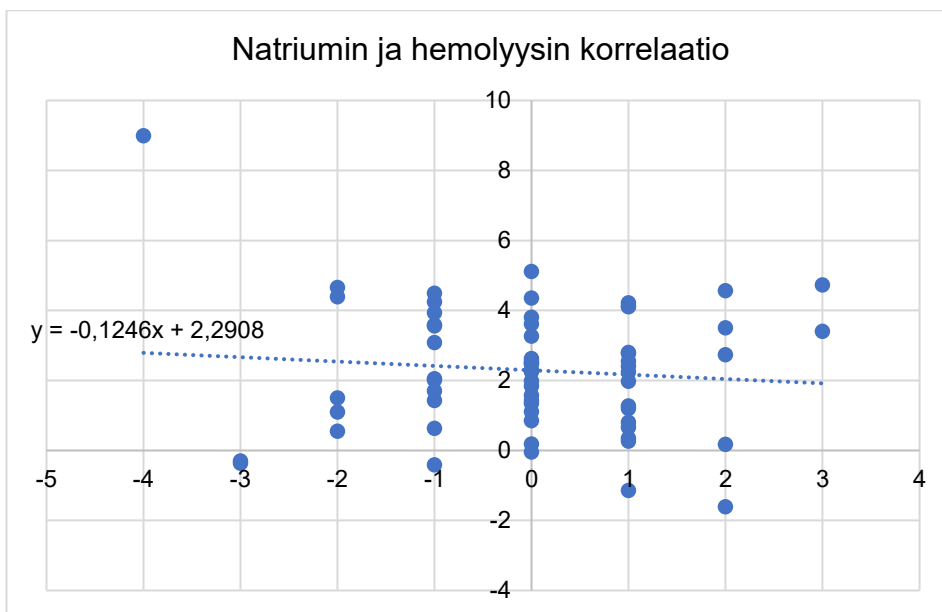
## Liite 1. Korrelaatioiden pistekuvaajat



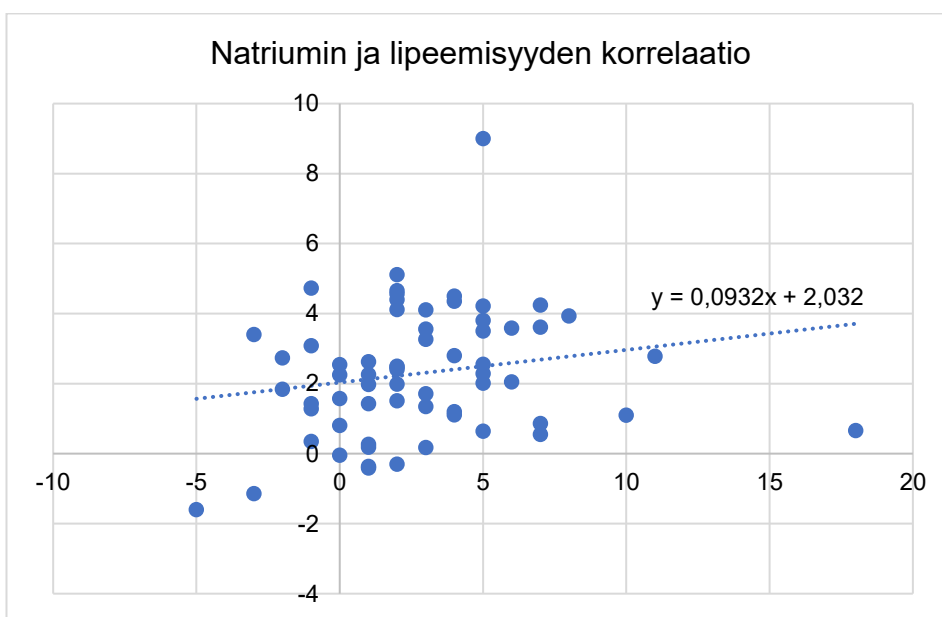
KUVIO 22. Kaliumin tulosten muutoksen ja hemolyysin tuloksen muutoksen korrelaatio



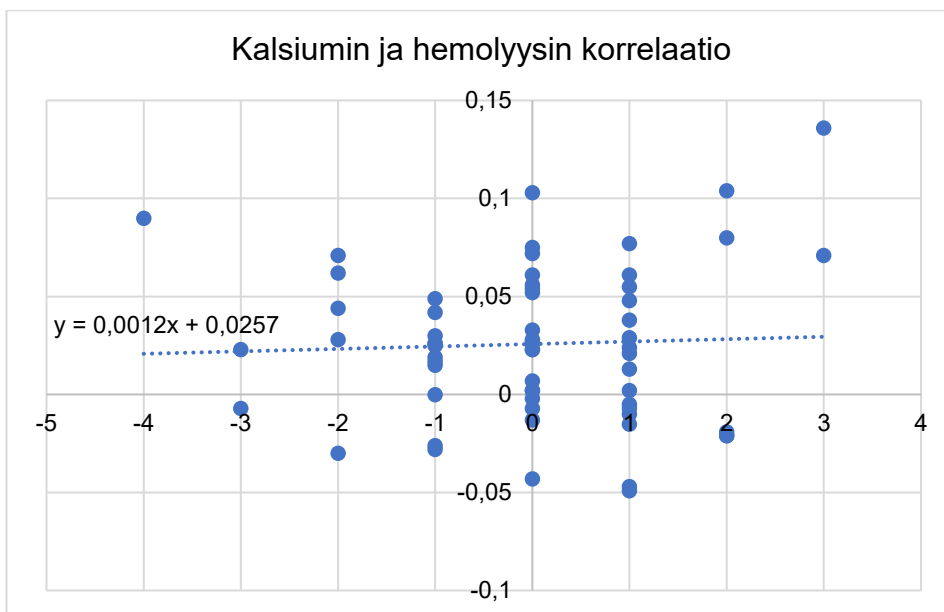
KUVIO 23. Kaliumin tulosten muutoksen ja lipeemisyden tuloksen muutoksen korrelaatio



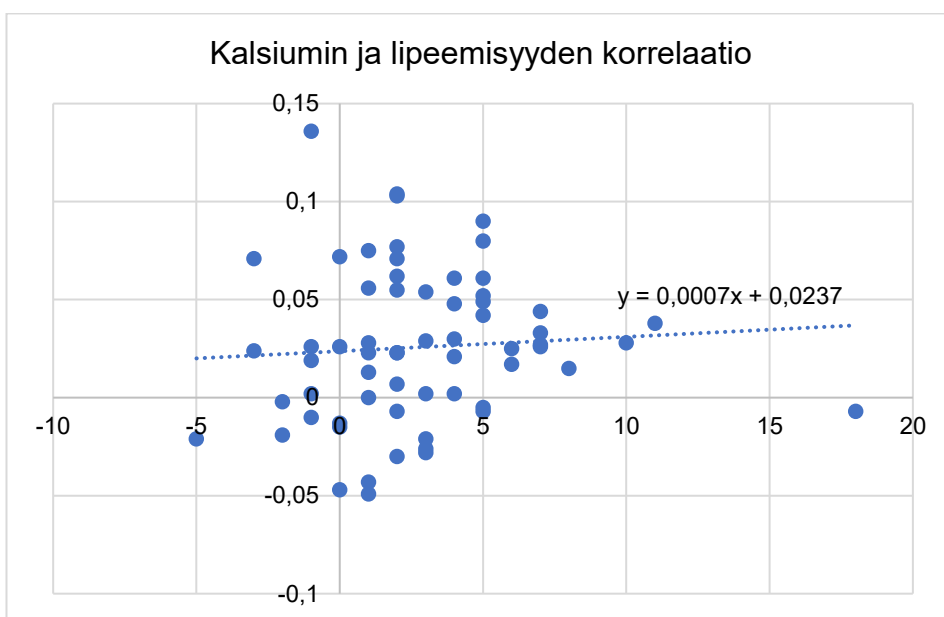
KUVIO 24. Natriumin tulosten muutoksen ja hemolyysin tuloksen muutoksen korrelaatio



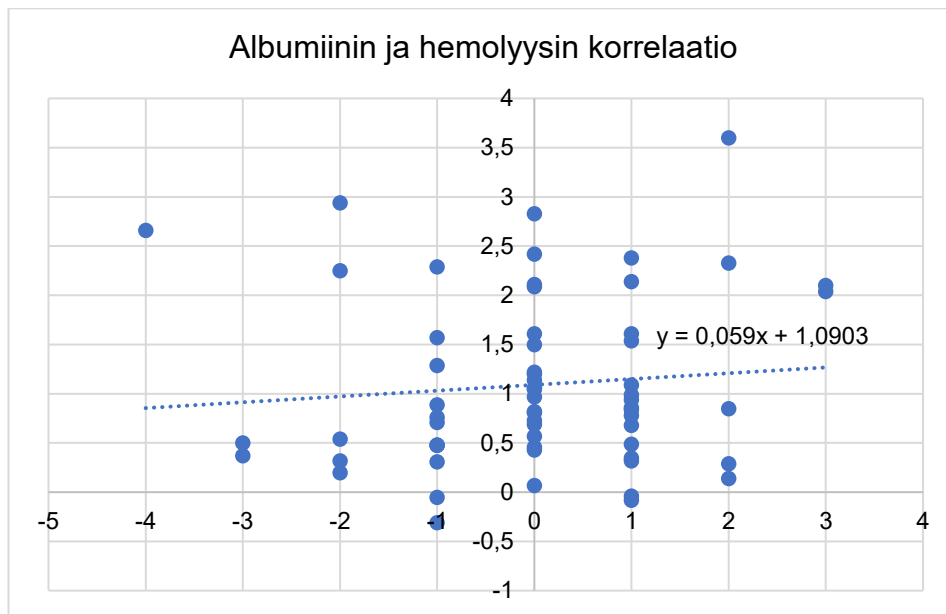
KUVIO 25. Natriumin tulosten muutoksen ja lipeemisyden tuloksen muutoksen korrelaatio



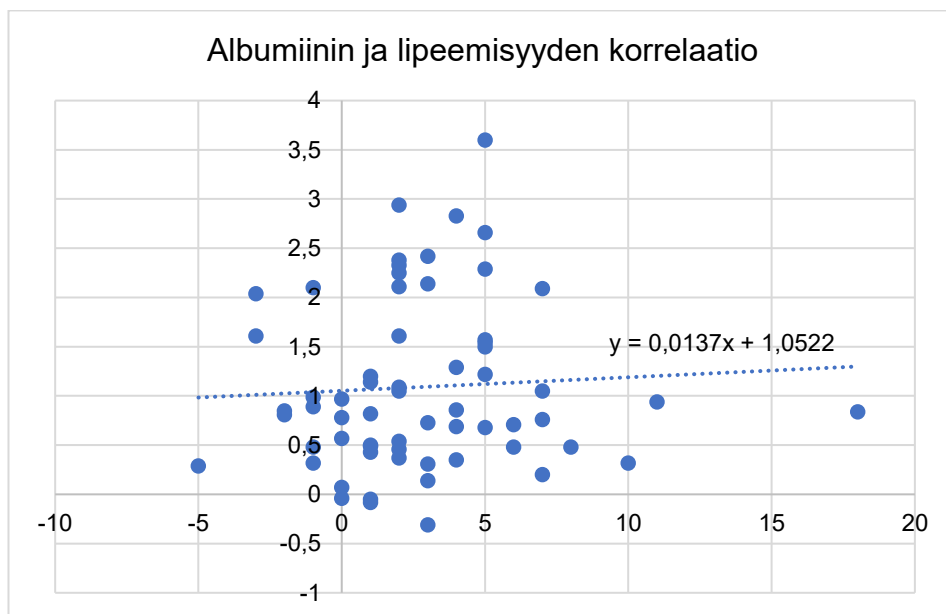
KUVIO 26. Kalsiumin tulosten muutoksen ja hemolyysin tuloksen muutoksen korrelaatio



KUVIO 27. Kalsiumin tulosten muutoksen ja lipeemisyden tuloksen muutoksen korrelaatio

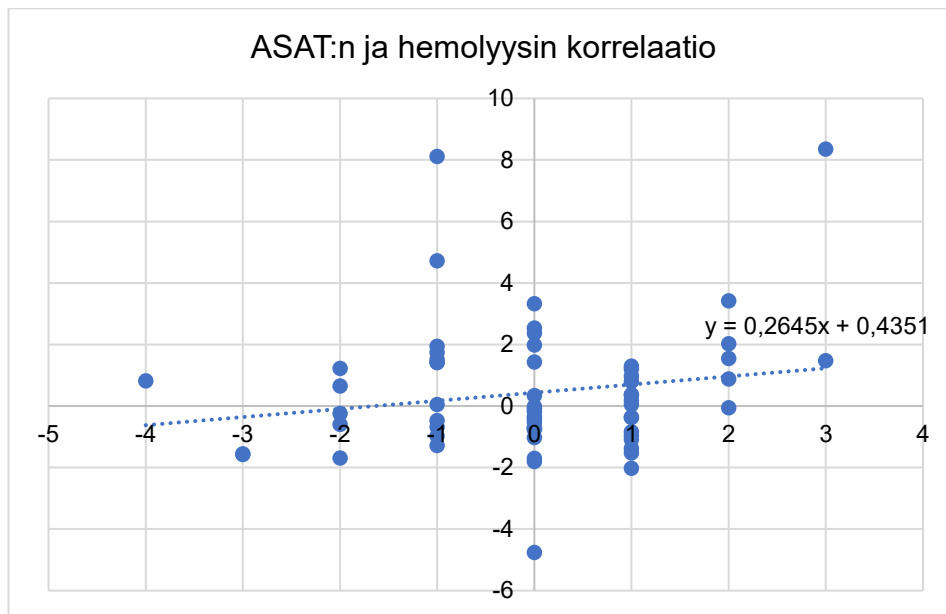


KUVIO 28. Albumiinin tulosten muutoksen ja hemolyysin tuloksen muutoksen korrelaatio

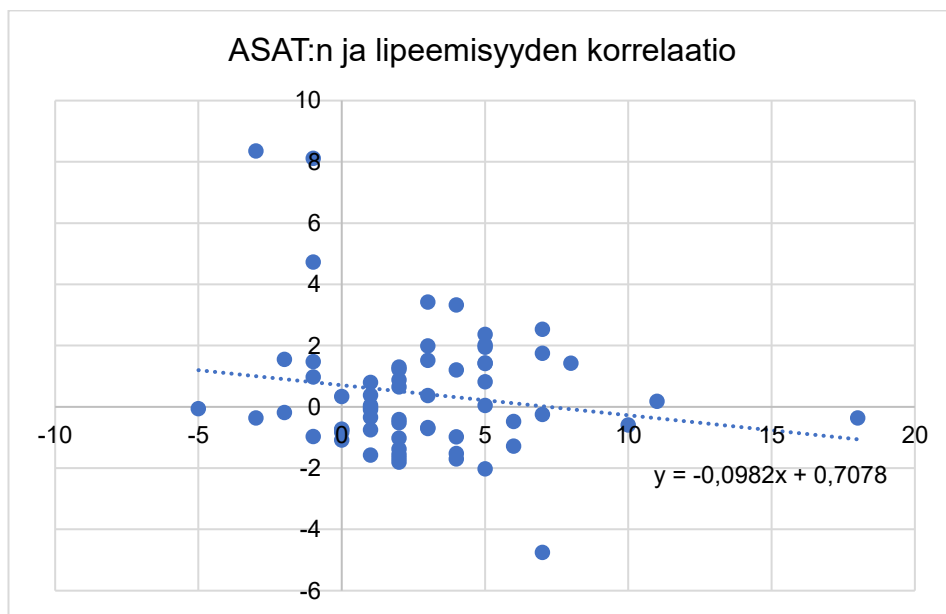


KUVIO 29. Albumiinin tulosten muutoksen ja lipeemisyiden tuloksen muutoksen korrelaatio

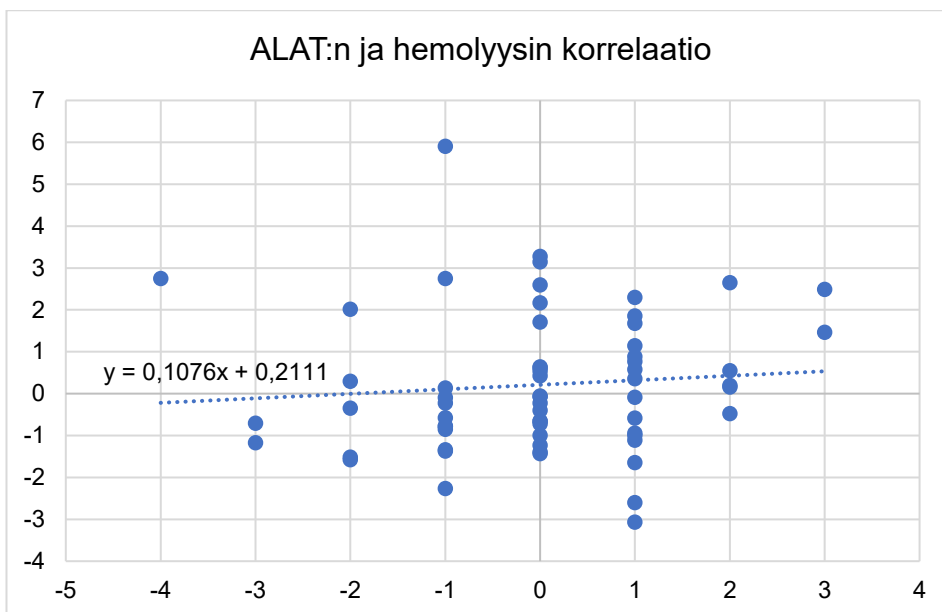




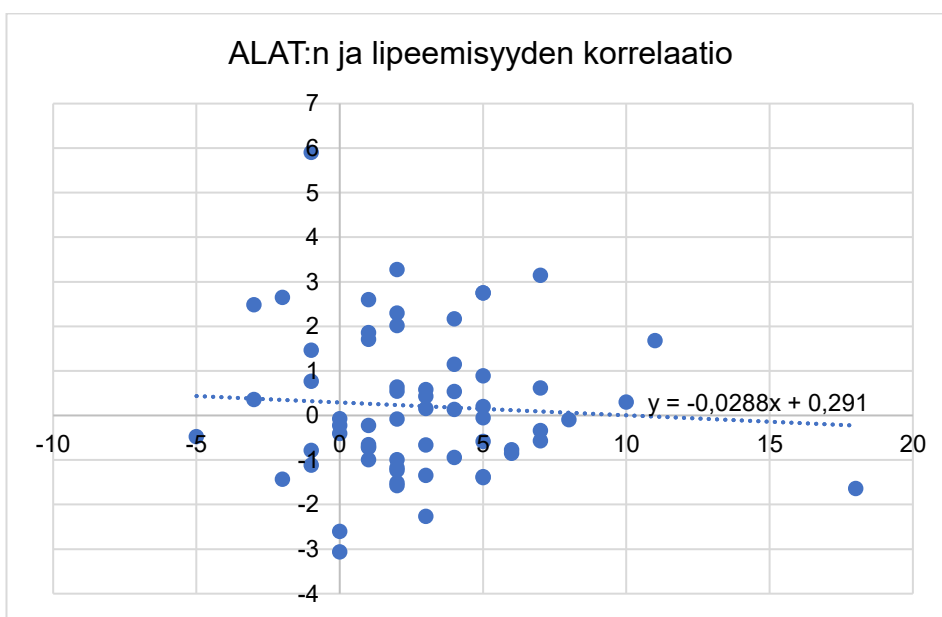
KUVIO 30. ASAT:n tulosten muutoksen ja hemolyysin tuloksen muutoksen korrelaatio



KUVIO 31. ASAT:n tulosten muutoksen ja lipeemisyden tuloksen muutoksen korrelaatio



KUVIO 32. ALAT:n tulosten muutoksen ja hemolyysin tuloksen muutoksen korrelaatio



KUVIO 33. ALAT:n tulosten muutoksen ja lipeemisyiden tuloksen muutoksen korrelaatio