



Ionisoituneen kalsiumin säilyvyys

Sentrifugoimattomassa näytteessä

Jenni Syrjälä

Mira Vuolle

OPINNÄYTETYÖ
Marraskuu 2021

Bioanalytiikan koulutusohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma

SYRJÄLÄ JENNI & VUOLLE MIRA:

Ionisoituneen kalsiumin säilyvyys
Sentrifugoimattomassa näytteessä

Opinnäytetyö 68 sivua, joista liitteitä 13 sivua
Marraskuu 2021

Ionisoitu kalsium (Ca-Ion) on plasmassa vapaana kiertävää kalsiumia, jonka pitoisuutta säätelevät parathormoni ja 1,25-dihydroksi-D-vitamiini. Ionisoitua kalsiumia käytetään hoidon seurannassa esimerkiksi munuaisten vajaatoiminnasta kärsivillä, leikkauksesta toipuvilla ja tehohoitopotilailla. Näissä tilanteissa kalsiumin sitoutuminen proteiineihin on poikkeavaa, ja siksi kalsiumpitoisuudesta ei saada luotettavia tuloksia muilla menetelmillä. Ionisoitu kalsium on herkkä pH-muutoksille. Muutosten minimoimiseksi näyte säilytetään anaerobisesti ja sentrifugoidaan tunnin kuluessa näytteenotosta.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli verrata 4, 8 ja 24 tunnin ajan sentrifugoimattomana säilytettyjä näytteitä tunnin sisällä sentrifugoituun näytteeseen. Lisäksi vertailtiin huoneenlämmössä ja jääkaapissa säilytettyjä näytteitä keskenään. Tämän opinnäytetyön toimeksiantaja oli Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin kliinisen kemian tutkimusyksikkö, jossa tutkimukseen kerätyt näytteet analysoitiin Radiometer ABL90 Flex- verikaasuanalysaattoreilla. Tulosten laskennallinen analyysi tehtiin Excel- taulukkolaskentaohjelmalla keskittyen biasprosentteihin sekä biasyksiköihin.

Tuloksia vertailtiin jokaisen analyysin kohdalla (pH, Ca-Ion ja pH-korjattu Ca-Ion). Tulokset osoittivat, että pH on näytteissä eniten muuttuva analyysi ja sen muutos vaikuttaa samalla koko S-Ca-Ion tutkimuksen tuloksiin. Jopa vain 4 tunnin ajan säilytettyjen näytteiden pH säilyi huonosti varsinkin huoneenlämmössä. Ionisoitu kalsium sekä pH-korjattu ionisoitu kalsium säilyivät keskimäärin tyydyttävästi 4 tuntia sentrifugoimattomana molemmissa säilytyslämpötiloissa. Kaikki tutkitavat analyysit säilyivät huonosti 8 ja 24 tunnin ajan molemmissa lämpötiloissa.

Opinnäytetyön tutkimuksen tulokset osoittivat pH:n muuttuvan näytteissä eniten, ja sen vuoksi jatkotutkimusaiheena voitaisiin keskittyä vain pelkän pH:n säilymiseen. Potentiaalisena jatkotutkimusaiheena voisi olla myös vastaava tutkimus, jossa keskityttäisiin lyhyempiin säilytysaikoihin. Näin saataisiin tietoa siitä, mihin aikapisteeseen asti näytteet pysyvät lähes muuttumattomina, kun verrataan tunnin sisällä sentrifugoituun näytteeseen.

Asiasanat: kalsium, ionisoitunut, pH, säilyvyys

ABSTRACT

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

SYRJÄLÄ JENNI & VUOLLE MIRA:
Preservation of Ionized Calcium in an Uncentrifuged Sample

Bachelor's thesis 68 pages, appendices 13 pages
November 2021

Ionized calcium (Ca-Ion) is a free-circulating calcium in plasma that is regulated by the parathyroid hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D. Ionized calcium is used to monitor treatment, for example, in patients with renal insufficiency, recovering from surgery, and intensive care patients. In these situations, the binding of calcium to proteins is abnormal, and therefore, reliable results on calcium concentration are not obtained by other methods. Ionized calcium is sensitive to changes in pH. To minimize changes, the sample is stored anaerobically and centrifuged within one hour of sampling.

The purpose of this thesis was to compare samples stored without centrifugation for 4, 8, and 24 hours with a sample centrifuged within one hour. In addition, samples stored at room temperature and refrigerated were compared. This thesis was commissioned by the Clinical Chemistry Research Unit of the South Ostrobothnia Hospital District, where the samples collected for the study were analyzed with Radiometer ABL90 Flex blood gas analyzers. The computational analysis of the results was performed with an Excel spreadsheet program focusing on bias percentages and bias units.

The results were compared for each analyte (pH, Ca-Ion and pH-adjusted Ca-Ion). The results showed that pH is the most variable analyte in the samples and that its change also affects the results of the whole S-Ca-Ion analysis. The pH of the samples stored for only 4 hours was poorly maintained, especially at room temperature. The ionized calcium, as well as the pH-adjusted ionized calcium, remained satisfyingly for an average of 4 hours at both storage temperatures. All analytes tested were poorly preserved for 8 and 24 hours at both temperatures.

The results of the thesis showed that the pH changes in the samples the most, and therefore the preservation of pH alone could be the subject of further research. A similar study focusing on shorter storage time could also be a potential topic for further research. This would provide information on the point at which the samples remain virtually unchanged when compared to a sample centrifuged within an hour.

Key words: calcium, ion, pH, storage

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	5
2	KALSIUM ELIMISTÖSSÄ	7
2.1	Kalsiumpitoisuuden säätely ja kalsiumsäätelyn häiriöt.....	8
2.2	Ionisoitu kalsium.....	10
3	IONISOITUNEEN KALSIUMIN MÄÄRITYS	13
3.1	Prealanalytiikka.....	13
3.2	Analytiikka ja mittaustekniikka.....	15
3.3	Postanalytiikka	17
4	OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYKSET	19
5	MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT.....	20
6	TYÖN TOTEUTUS.....	22
7	TULOKSET JA TULOSTEN TULKINTA	24
7.1	Sentrifugoimattoman näytteen pH:n muutokset	25
7.2	Ca-lon muutokset sentrifugoimattomassa näytteessä.....	31
7.3	Sentrifugoimattoman näytteen pH-korjatut Ca-lon muutokset.....	36
8	JOHTOPÄÄTÖKSET	44
8.1	pH, Ca-lon ja pH-korjattu Ca-lon 4 tunnin säilytyksessä	45
8.2	pH, Ca-lon ja pH-korjattu Ca-lon 8 tunnin säilytyksessä	46
8.3	pH, Ca-lon ja pH-korjattu Ca-lon 24 tunnin säilytyksessä	47
9	EETTISYYS JA LUOTETTAVUUS	48
10	POHDINTA	51
	LÄHTEET.....	53
	LIITTEET	56

1 JOHDANTO

Ionisoitu kalsium antaa tärkeää tietoa esimerkiksi lisäkilpirauhastoiminnan, erilaisten luustosairauksien ja kouristustapausten tutkimisessa, joiden tutkimiseen tavallinen plasman kokonaiskalsiumpitoisuus antaisi myös vastauksen. Ionisoitu kalsium antaa kuitenkin luotettavamman kuvan kalsiumtasosta, jos näytteenottohetkellä ei ole tietoa happoemäs-taseesta tai plasman proteiinien pitoisuuksista. (EPSHP 2016.) Lisäksi esimerkiksi leikkauksesta toipuvilla, munuaisten vajaatoiminnasta kärsivillä ja akuuttia haimatulehdusta sairastavilla seurataan ionisoidun kalsiumin pitoisuutta. Tällöin kalsium sitoutuu poikkeavasti plasman proteiineihin ja siksi kalsiumpitoisuudesta ei saada luotettavia tuloksia muilla menetelmillä. (Uotila 2014, 57.)

Ionisoitu kalsiumpitoisuus on herkkä pH:n muutoksille, sillä kalsiumin sitoutuminen kantajaproteiiniin on pH:sta riippuvaa (Uotila 2014, 58). Näytteen sentrifugoinnilla tunnin sisällä näytteenotosta estetään aineenvaihdunta ja laktaattimuodostus näyteputken sisällä, joilla on vaikutusta näytteen pH-pitoisuuteen ja siksi myös ionisoidun kalsiumin määrään veressä. (Risteli, Winter, Kleerekoper, & Risteli 2015, 748.) Kalsiumpitoisuutta tutkitaan myös kotihoidon asiakkailta, jolloin kotihoito ottaa näytteet asiakkaista kotona ja kuljettaa näytteet klinisen kemian laboratorioon tutkittaviksi. Näytteet eivät välttämättä ehdi laboratorioon tunnin sisällä näytteenotosta sentrifugoitavaksi ja siksi kotihoidon asiakkailta mitataan vaihtoehtoisesti albumiinikorjattua kalsiumia, joka säilyy paremmin sentrifugoimattomana (EPSHP 2020). Tällöin kuitenkin tulosten vertailu sairaalassa ja kotona otettujen välillä hankaloituu.

Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin klinisen kemian tutkimusyksikkö on tämän opinnäytetyön toimeksiantaja. Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää huoneenlämmössä sekä jääkaapissa sentrifugoimattomana säilytetyn näytteen käyttömahdollisuutta ionisoituneen kalsiumin (Ca-Ion) määrittämisessä. Tämä tieto parantaa kotihoidon asiakkaiden potilasturvallisuutta, sillä laadukkaat näytteet takaavat luotettavan tuloksen myös laboratorioprosessissa. Kotihoidon ottamia näytteitä ei voida sentrifugoida ennen näytteen saapumista laboratorioon, ja toisinaan ajat voivat venyä huomattavasti yli tunnin mittaisiksi. Mikäli tutkimuksen

tulokset osoittavat, että näytteet säilyvät pidempään sentrifugoimattomana, voidaan kotihoidossakin siirtyä ionisoidun kalsiumin tutkimiseen albuminikorjatun kalsiumin sijasta. Tämä helpottaisi potilastulosten vertailua keskenään. Lisäksi laboratorio-ohjeistuksia voitaisiin muuttaa.

Opinnäytetyön tarkoituksena on verrata 4, 8 ja 24 tunnin ajan sentrifugoimattomana säilytettyjä näytteitä tunnin sisällä sentrifugoituun näytteeseen. Lisäksi tarkoituksena on verrata, vaikuttaako kylmäsäilytys sentrifugoimattomana 4, 8 ja 24 tunnin ajan säilytettyjen putkien tuloksiin verrattuna tunnin sisällä sentrifugoituun näytteeseen. Vertaamme myös, onko huoneenlämpö- ja kylmäsäilytyksellä vaikutusta näytteiden tuloksiin näissä aikapisteissä. Ohjeistuksen mukaan näytettä saa säilyttää sentrifugoimattomana enintään tunnin ajan (EPSHP 2016).

2 KALSIUM ELIMISTÖSSÄ

Kalsium on ihmiselimistön tärkein rakennusaine sekä runsain mineraali, josta suurin osa sijaitsee luustossa. Luut toimivat kalsiumvarastoina, jotka olennaisena osana edesauttavat veren kalsiumin säätelyä. Riittävä kalsiumin saanti on kuitenkin turvattava koko ihmisen elinkaaren ajan. Erityisesti maitotuotteet ovat suomalaisten tärkein kalsiumlähde, ja siksi maitotuotteita käyttämättömillä ihmisillä on riski saada liian vähän kalsiumia ravinnosta. (Risteli & Risteli 2010, 179; Käypähoito 2020.) Lisäksi kala on hyvä kalsiumin lähde (Terveystieteiden tutkimuskeskus 2019). Kalsiumia tarvitaan esimerkiksi hermosolujen sekä lihassolujen toimintaan (Eskelinen 2016). Aikuisella on kalsiumia elimistönsä keskimäärin yhden kilogramman verran, eli 25 moolia. Elimistön kalsiumtarve määräytyy sen mukaan, kuinka suuri osa ravinnosta saadusta kalsiumista imeytyy suoliston kautta elimistöön. (Risteli & Risteli 2010, 179.)

Kalsiumpitoisuuden muutokset verenkierron aikana aiheuttavat erilaisia oireita. Vaikea hyperkalsemia eli liian suuri kalsiumpitoisuus plasmassa aiheuttaa monia oireita, esimerkiksi ruokahaluttomuutta, vatsavaivoja, väsymystä, keskittymiskyvyn puutetta sekä sekavuutta, ja suurentaa riskiä munuaisten vajaatoimintaan sekä munuaiskivien muodostukseen. Hypokalsemia eli kalsiumin liian alhainen pitoisuus plasmassa ei lievässä tapauksissa aiheuta oireita, mutta altistaa osteoporoosille. Jos hypokalsemia on vaikea, esiintyy ääreishermostossa erilaisia oireita, esimerkiksi varpaiden ja sormien, sekä suun ympäristön pistelyä ja puutumista sekä lihaskrampit lisääntyvät. Hypokalsemia altistaa myös sydämen rytmihäiriöille, sillä se vaikuttaa myös sydämen sähköiseen toimintaan. (Mustajoki 2020.)

Kalsium poistuu kehosta pääasiassa virtsan ja ulosteiden mukana, mutta pieniä määriä kalsiumia erittyy myös kehon muiden nesteiden, kuten hien mukana. Ulosteeseen erittyvä kalsium on suoleen imeytymätöntä. Aikuisilla poistuu yhden vuorokauden aikana kalsiumia ulosteen mukana noin 2,1 mg kiloa kohden, ja lapsilla 1,4 mg kiloa kohden. Tätä ulosteen ja hien kautta tapahtuvaa poistumista kutsutaan endogeeniseksi kalsiumin erittymiseksi, eli se on luonnollinen elimistön

tapahtuma. Endogeeninen kalsiumin erittyminen ei muutu huomattavasti ikääntymisen myötä toisin kuin virtsan kautta tapahtuva kalsiumin erittyminen, joka heikentyy ikääntyessä. (Ross, Taylor, Yaktine & Del Valle 2011, 41.)

Veressä kalsiumia on kahdessa muodossa. Ionisoitunut kalsium on vapaana veriplasmassa, ja vain tämä kalsiumin muoto osallistuu aineenvaihdunnan reaktioihin. Plasman proteiineihin sitoutunut kalsium on niin sanottu varastomuoto, josta kalsiumia voi siirtyä ionisoituneeksi tai päinvastoin. (Eskelinen 2016.)

2.1 Kalsiumpitoisuuden säätely ja kalsiumsäätelyn häiriöt

Plasman kalsiumpitoisuus on tarkoin säädeltyä. Kalsiumtasapainon tärkeimmät vaikuttajat ovat D-vitamiini, lisäkilpirauhasissa muodostuva parathormoni, sekä kilpirauhasen solujen erittämä kalsitoniini. Nämä tekijät yhdessä muodostavat säätelyverkoston, joiden vaikutukset kohdistuvat munuaisiin, ruoansulatuskanavaan ja luukudokseen. (Huupponen & Savontaus 2018.)

D-vitamiinin tärkein vaikutuskohde on suolisto, jossa 1,25-dihydroksikolekalsiferoli (D-vitamiinin aktiivinen muoto) edistää kalsiumin sekä fosfaatin imeytymistä. Kalsiumin imeytyminen lisääntyy, kun aktiivinen D-vitamiini sitoutuu suolen seinämässä olevaan reseptoriin, joka käynnistää proteiinin synteesin. Luukudoksessa D-vitamiini puolestaan edesauttaa kalsiumin ja fosfaatin kiinnittymistä luustoon, herkistäen kudosta paratyreoideahormonin (parathormoni) vaikutukselle. (Huupponen & Savontaus 2018.)

Parathormoni on rakenteeltaan polypeptidi. Se edesauttaa kalsiumin pääsyä solun sisään, estää kalsiumin liiallista vähenemistä seerumissa, sekä fosfaatin liiallista lisääntymistä. Lisäksi parathormoni lisää kalsiumin takaisinimeytymistä. Yksi kalsiumin poistumisreitti kulkee munuaisten kautta. Glomerulussuodoksen kalsiumista kuitenkin suurin osa imeytyy takaisin verenkiertoon, ja sen säätelystä vastaa parathormoni. Solunulkoisella kalsiumilla on myös vaikuttavuutta parathormonin toimintaan. Silloin kun kalsiumpitoisuus nousee, parathormonin erityshäipyy, ja kun erityshäipyy, kalsiumpitoisuus vähenee. (Risteli & Risteli 2010, 179; Huupponen & Savontaus 2018.)

Kalsitoniini on polypeptidi, joka rakentuu 32 aminohaposta. Sen syntetisaatio tapahtuu kilpirauhasen parafollikulaarisissa soluissa. Munuaistasolla kalsitoniini lisää kalsiumin sekä fosfaatin erittymistä virtsaan. Luukudoksessa se puolestaan vähentää luunsyöjäsolujen eli osteoklastien määrää. Tämän seurauksena kalsiumin ja fosfaatin imeytyminen luusta verenkiertoon vähenee. (Huupponen & Savontaus 2018.)

Kalsiumsäätelystä voi ilmetä myös häiriöitä, jotka saavat elimistössä aikaan erinäisiä oireita. Häiriöt aiheutuvat usein jonkun säätelystekijän puutteesta tai liikatuotosta. Hypoparatyreoosista puhutaan, kun elimistö kärsii parathormonin puutteesta. Se voi olla seurausta esimerkiksi kilpirauhasen leikkauksista. (Huupponen & Savontaus 2016.) Hormonin puute johtaa kalsiumpitoisuuden liialliseen vähenemiseen veressä (hypokalsemia). Mikäli ionisoituneen kalsiumin pitoisuus pääsee laskemaan alle 1,0 mmol/l, alkaa ääreishermostossa esiintymään oireita, kuten varpaiden ja sormien pistelyä ja puutumista. Lihaskrampit sekä rytmihäiriöt voivat kuulua myös oireistoon. Kalsiumin antaminen suoneen tippana, toimii ensiapuna vaikean hypokalsemian hoidossa. (Mustajoki 2020 & Saha 2020.)

Hyperparatyreoosia on kahta muotoa, primaarinen- ja sekundaarinen muoto. Primaarisessa parathormonia tuotetaan liikaa. Sekundaarisessa parathormonin ylimäärä puolestaan johtuu elimistön reaktiosta kalsiumin puutteeseen. (Huupponen & Savontaus 2018.) Tilaa, jossa veressä on liikaa kalsiumia, kutsutaan hyperkalsemiaksi (P-Ca yli 2,60 mmol/l tai P-Ca-lon yli 1,30 mmol/l). Väsymys, keskittymisen vaikeus, vatsakivut ja ruokahaluttomuus ovat tähän liittyviä oireita. Myös osteoporoosin vaara on läsnä, kun hyperkalsemia johtuu kilpirauhashormonin liikatuotosta. Kalsiumpitoisuus saadaan laskemaan nopeasti lääkkeiden ja nestehoidon avulla. Suurentuneen rauhasen poisto normalisoi myös hyperparatyreoosista johtuneen elimistön tilan. (Mustajoki 2020; Saha 2020.)

2.2 Ionisoitu kalsium

Kaikesta verenkierron kalsiumista plasman proteiineihin, etenkin albumiiniin, on sitoutuneena noin 40 % veren kalsiumista ja noin puolet on ionisoitua, metaboli-
sesti aktiivista kalsiumia. Ionisoitu kalsium (Ca-Ion) tarkoittaa plasmassa va-
paana kiertävää kalsiumia, jonka pitoisuutta säätelevät parathormoni ja 1,25-di-
hydroksi-D-vitamiini. Kaikki kalsiumin eri muodot ovat tasapainossa keskenään
plasmassa. Proteiineihin sidotut muodot toimivat ionisoidun kalsiumin varastoina,
jotka joko sitovat tai vapauttavat kalsiumia tarpeen mukaan. Siksi ionisoidun kal-
siumin viitealue on kokonaiskalsiumin viitealuetta pienempi. Se lisää ionisoidun
kalsiumin diagnostista herkkyyttä sekä virhealttiutta. (Uotila 2014, 56.)

Ionisoituneen kalsiumin viitearvo oikeassa pH:ssa on 1,18–1,30 mmol/l. Ionisoi-
tua kalsiumia käytetään hoidon seurannassa erityisesti munuaisten vajaatoimin-
nasta kärsivillä, sekä henkilöillä, joilla on hyperbilirubinemia eli bilirubiinin liian
korkea pitoisuus tai akuutti pankreatiitti, eli haimatulehdus. Lisäksi sairaalahoi-
dossa olevilla, kuten tehopotilailla ja leikkauksesta toipuvilla seurataan nimen-
omaan ionisoitua kalsiumia. Kaikissa näissä tilanteissa kalsiumin sitoutuminen
proteiineihin on poikkeavaa, ja siksi kalsiumpitoisuudesta ei saada luotettavia tu-
loksia muilla menetelmillä. Usein myös päivystystilanteissa, kun happoemäs-tase
eikä proteiinien määrä ole tiedossa, käytetään Ca-Ion tutkimusta luotettavuuden
vuoksi. (EPSHP 2016; Uotila 2014, 57; Metsävainio & Saha 2020.) Hypoalbumi-
nemia, eli albumiinin vähyys, on kuitenkin yleisin syy, miksi potilaalle tehdään Ca-
lon määrittäminen kokonaiskalsiumin sijasta. Tällöin kokonaiskalsium ei anna oikeaa
kuvaa potilaan kalsiumpitoisuudesta. Tämä virhelähde voidaan kuitenkin poistaa
käyttämällä laskennallista kaavaa albumiinikorjatun kalsiumpitoisuuden saa-
miseksi. (EPSHP 2020.)

Albumiinikorjattu kalsium voidaan laskea käyttäen seuraavaa kaavaa:

$$P\text{-Ca-albk} = P\text{-Ca} + 0,020 * (41,3 - Alb)$$

Laskentakaavassa on määritetty kokonaiskalsium- ja albumiinipitoisuudet. Niitä käyttäen saadaan albumiinin viitevälin keskipitoisuuteen (41,3 g/l) laskennallisesti korjattu kalsiumpitoisuus. Albumiinikorjatun kalsiumin tulos on usein yhtä informatiivinen kuin Ca-lon-tutkimus ja sitä suositellaan käytettäväksi paremman säilymisensä ja taloudellisten etujensa vuoksi. (EPSHP 2020.)

Ionisoitu kalsium on herkkä pH-muutoksille, sillä kalsiumin sitoutuminen proteiineihin on pH:sta riippuvaa. Kun pH nousee, kalsiumin sitoutuminen proteiineihin kasvaa ja vapaan kalsiumin määrä laskee. Kun pH nousee 0,1 yksikköä, ionisoituneen kalsiumin pitoisuus laskee yli 0,05 mmol/l, joka on lähes 40 % viitevälistä. Ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta laskevat myös suonensisäisesti annostellut laktaatti, sitraatti sekä bikarbonaatti, jotka sitovat kalsiumia itseensä. (Uotila 2014, 58; Metsävainio & Saha 2020.) Sen vuoksi pH:n muutoksia pyritään estämään seeruminäytteessä sillä, että näyte säilytetään anaerobisesti ja sentrifugoidaan aineenvaihdunnan ja laktaattimuodostuksen pysäyttämiseksi (Risteli, Winter, Kleerekoper, & Risteli 2015, 748.)

Ionisoidun kalsiumin ja pH:n välinen suhde tunnetaan hyvin, joten tulos voidaan korjata matemaattisen kaavan avulla pH korjatuksi ionisoiduksi kalsiumiksi. Aina ionisoitua kalsiumia mitattaessa mitataan myös näytteen pH, joten seuraavaa kaavaa käyttäen, voidaan tulos korjata elimistön optimaalista pH-arvoa vastaavaksi ionisoidun kalsiumin tulokseksi. (Baird 2011, 689.)

pH korjattu Ca-ion (pH 7,4) = Mitattu Ca-ion $\times 10^{-0,24(7,4-\text{mitattu pH})}$ (Radiometer 2014., 8–34)

Kaavaa käyttäessä on kuitenkin huomioitava, että se toimii vain, jos näytteen pH on välillä 7,2–7,6. Muuten tulokset ovat liian epätarkkoja. (Baird 2011, 698.) Korjauksen jälkeen potilaan aikaisempia tuloksia on helpompi vertailla keskenään, sillä pH muutokset on eliminoitu tuloksesta pois.

Mikäli plasman albumiinitaso laskee alle viitealueen esimerkiksi munuaistaudissa, niin automaattisesti myös kokonaiskalsium laskee. Albumiinipitoisuuden

muutos 10 g/ l muuttaa suoraan kalsiumin pitoisuutta 0,2 mmol/l. Eli vaikka ionisoituneen kalsiumin pitoisuus olisikin normaali, plasman kokonaiskalsiumpitoisuus alenee hypoalbuminemiassa. (Metsävainio & Saha 2020.)

3 IONISOITUNEEN KALSIUMIN MÄÄRITYS

3.1 Preanalytiikka

Laboratoriotutkimusprosessissa preanalyttinen vaihe on perusta tutkimustulosten luotettavuudelle, ja siihen liittyvät tekijät vaikuttavat tuloksiin ennen analysointia. Preanalytiikka kattaa muun muassa näytteenoton, näytteiden käsittelyn, säilyttämisen, kuljetuksen sekä edustavuuden arvioinnin. (Matikainen, Miettinen & Wasström 2016, 12.)

Tavoilla, joilla näytteitä otetaan, käsitellään ja säilytetään, on vaikutusta niiden laatuun. Ionisoituneen kalsiumin näytteenotossa staasin käyttöä ei suositella. Mikäli sitä on käytettävä, niin puristus saa kestää korkeintaan minuutin ajan. Staasin käyttö aiheuttaa veden virtaamista pois verisuonistosta puristuksen aikana ja tämä nostaa kalsiumin sitoutumista proteiineihin. (Risteli ym. 2015, 748–749.) Lisäksi pitkä staasin käyttö voi aiheuttaa hemolyysiä, eli punasolujen hajoamista. Puhdistettaessa näytteenottoa alkoholla, tulee sen antaa haihtua ihon pinnalta ennen pistosta, sillä ihon pinnalle jäänyt alkoholi voi myös hemolysoida näytteen (Kurec 2016). Näytteenantaja ei saisi myöskään liikuttaa käsivarttaan tai esimerkiksi puristaa kättään nyrkkiin ennen näytteenottoa, sillä se voi aiheuttaa laktaatin muodostumista vereen. Laktaatti aiheuttaa pH:n alentumista, ja siten ionisoidun kalsiumpitoisuuden nousemista ja vääristää tuloksia. (Burtis & Bruns 2015, 749; EPSHP 2016.)

Ca-Ion-näytteeksi tarvitaan 0,5 ml seerumia vakuumigeeliputkeen (EPSHP 2016). BD Vacutainer-seerumigeeliputki sisältää lisäaineenaan hyytymisaktivaattoria, joka saa aikaan näytteen hyytymisen. Lisäksi putki sisältää geeliä, joka erottaa seerumin ja hyytymän toisistaan sentrifugoinnin aikana. Valmistajan suosittelema vähimmäishyytymisaika putkille on 30 minuuttia. (Mediq 2013.) Kyseisiä putkia käytetään myös EPSHP:lla. EDTA:ta, sitraattia tai oksalaattia sisältävät putket puolestaan eivät ole soveliaita ionisoidun kalsiumin määrittämiseen, sillä nämä lisäaineet sitovat kalsiumia itseensä vääristäen tuloksia. Myöskään nestemäistä hepariinia sisältävä putki ei sovellu sen näytettä laimentavan ja kalsiumin kanssa komplekseja muodostavan vaikutuksen vuoksi. (Risteli ym. 2015, 748.)

Verinäytteissä aineita siirtyy säilytyksen aikana plasmasta tai seerumista soluihin ja toisinpäin. Näytteet sentrifugoidaan tunnin sisällä näytteenotosta, jotta aineenvaihduntareaktiot putkessa eivät pääsisi muuttamaan ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta. Ionisoitu kalsium on riippuvainen plasman pH:sta. Kun veren pH nousee esimerkiksi hyperventilaation seurauksena, Ca-lon tulos laskee. Toisaalta anaerobisesti säilytettynä pH pitoisuus laskee veressä tapahtuvan aineenvaihdunnan ja laktaattimuodostuksen vuoksi. Tämä nostaa hieman Ca-lon pitoisuutta. Jos näytteet ovat tekemisissä ilman kanssa, niiden pH nousee hiilidioksidin häviämisen takia, joka puolestaan vääristää tuloksia. Siksi näytteet tulee säilyttää suljetuissa astioissa, eikä näytettä saisi ottaa avotekniikalla. Näin myös muualta kulkeutuneiden bakteerien ja muiden aineiden pääsy näytteeseen estetään. (EPSHP 2016; Matikainen ym. 2016, 42–44.)

Ca-lon näytteitä ei suositella otettavaksi avotekniikalla, eli näytteenotto pyritään suorittamaan vakuumi- tai siipineulaa käyttäen (EPSHP 2016). Vakuumineulassa on pieni ja ihon helposti läpäisevä kärki, jonka ansiosta kudოსvauriot sekä hemolyysin riski ovat pieniä. Siipineula toimii myös vakuumitekniikalla, mutta neulan ja holkin välissä on muoviletku. Letku antaa näytteenottajalle lisää liikkumavaraa, ja vapaat kädet näyteputkien vaihtoa ja sekoitusta varten. Erityisesti, jos tarvittavia näyteputkia on useita, käsien vapaus sujuvoittaa näytteenottoa. Siipineulaa käytettäessä on muistettava täyttää ensin niin kutsuttu hukkaputki, jotta letkusta saadaan ylimääräinen ilma pois. Seuraaviin näyteputkiin saadaan tällöin oikea määrä verta eikä ilma pääse vaikuttamaan Ca-lon tuloksiin. (Matikainen ym. 2016, 69–70, 75.)

Säilytyslämpötila vaikuttaa näytteessä tapahtuviin aineenvaihduntareaktioihin. Näytteen nopea viilennys hidastaa näytteessä tapahtuvaa aineenvaihduntaa säilyttäen näin näytteen paremmin. (Risteli ym. 2015). Mikäli näyte lähetetään näytteenottopaikasta muualle analysoitavaksi, kuten maakunnasta keskussairaalaan, tavoitteena on, että näyte on määränpäähän päästyään mahdollisimman samanlainen kuin se on ollut näytteenottohetkellä. Sen vuoksi näytteen kuljetuslämpötilan tulisi pysyä tasaisena. (EPSHP 2016; Matikainen ym. 2016, 42–44.)

Hemolyysi tarkoittaa punasolujen hajoamista, joka aiheuttaa punasolun sisäisten komponenttien, esimerkiksi hemoglobiinin, vapautumista plasmaan tai seerumiin. Hemolyysi voi tapahtua elimistön sisällä eli in vivo tai elimistön ulkopuolella eli in vitro. Kummallakin tavalla aiheutunut hemolyysi vaikuttaa tutkimuksesta riippuen, joko tuloksia nostavasti tai laskevasti, joten siksi hyvin suoritettu näytteenotto on ehdottoman tärkeää in vitro-hemolyysin välttämiseksi. Lippi, Cervellin, Favalo ja Plebani (2012) kertovat, että preanalyttiset virheet aiheuttavat jopa 70 % kaikista analyysivaiheessa huomatuista tulosvirheistä, jotka puolestaan kuormittavat terveydenhuoltoa ja kuluttavat resursseja. Lisäksi preanalyttiset virheet voivat aiheuttaa merkittävästi vääristyneitä tuloksia, joka on puolestaan potilasturvallisuusriski. In vitro-hemolyysi voi tapahtua heidän mukaansa esimerkiksi näytteenoton aikana, näytettä säilyttäessä tai kuljetettaessa. (Lippi ym. 2012.) Väisäsen, Metsävainion ja Romppaisen mukaan voimakas hemolyysi alentaa ionisoidun kalsiumin pitoisuutta merkittävästi (Väisänen ym. 2006, 122). Tätä väitettä tukee tutkimus, jonka mukaan hemolyysi laskee merkittävästi pH:ta ja ionisoidun kalsiumin arvoja. Tämän tutkimuksen aikana Lippi ym. (2013) huomasivat laskun olevan kliinisesti merkittävää ja sen vuoksi CLSI:n suositus hemolysoituneiden näytteiden Ca-lon tulosten hylkäämisestä on potilasturvallisuuden kannalta tärkeää. (Lippi ym. 2013.)

3.2 Analytiikka ja mittaustekniikka

Näytteiden analysoinnissa hyödynnetään erilaisia laboratoriotutkimuksia. Tutkimukset tulee tehdä määritettyjen menetelmien sekä laitteiden ohjeiden mukaan. Näitä noudattamalla analytiikka takaa sille asetetut laatuvaatimukset. Määritysmenetelmiä sekä laitteita kehittäessä hyödynnetään tietoa elimistön toiminnasta ja sairauksien aiheuttamista muutoksista. Elimistön nesteiden komponenttien pitoisuuksien tutkiminen kemiallisilla menetelmillä lukeutuu kliinisen kemian tutkimusalaan. Ca-lon tutkimus luokitellaan myös kliinisen kemian tutkimukseksi. (Matikainen ym. 2016, 12,46.)

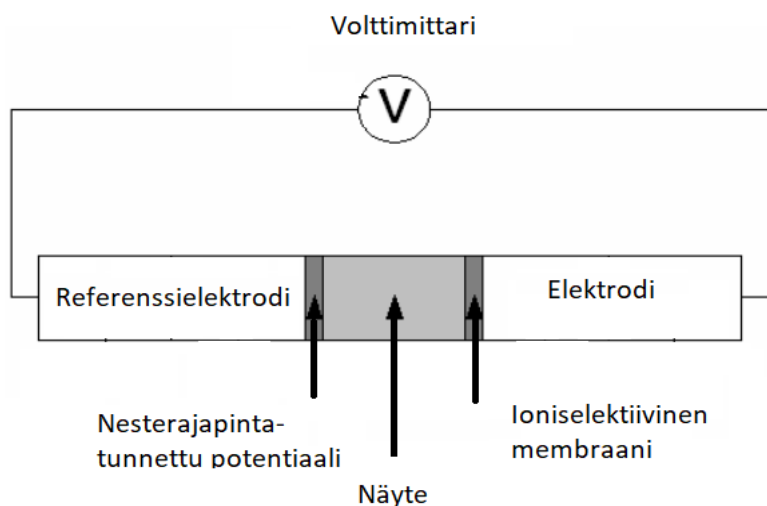
IFCC (The international federation of clinical chemistry and laboratory medicine) suosittaa ionisoidun kalsiumin mittaamiseen potentiometriaa, jossa käytetään ioniselektiivisiä membraanielektrodeja (ISE) (Burnett ym. 2000, 1302–1303).

EPSHP:n klinisen kemian laboratoriossa käytetään Ca- lon , pH:n ja pH korjatun Ca- lon määrittämiseen Radiometer ABL90 Flex -verikaasuanalysaattoria. Laite käyttää pH:n ja elektrolyyttiliuosten mittaamiseen potentiometristä menetelmää. Menetelmällä mitataan kahden elektrodin välistä jännite-eroa sähkökemiallisessa kennossa. Referenssi- eli vertailuelektrodissa potentiaali pysyy vakiona. Toinen elektrodi puolestaan on luotu reagoimaan mitattavan ionin kanssa, toimien samalla kohdennettuna indikaattorielektronina määritettävälle aineelle. Mitattu sähkövirta on verrannollinen konsentraatioon, joka muutetaan tulokseksi Nernstin yhtälöllä, joka on esitetty alla. (Åkerman & Jokela 2010, 62–64; Radiometer 2014, 5–18.)

$$E = E_0 - \frac{RT}{nF} \ln ax,$$

jossa E on kennon elektrodipotentiaali (V), E_0 on kennon standardielektropotentiaali (V), R on kaasuvakio, T on kennon absoluuttinen lämpötila (K), n on ionin varaus, F on Faradayn vakio ja ax on aktiivisuus. (Radiometer 2014., 5–19).

Potentiometriassa keskeisintä on valita juuri oikeanlainen elektrodi. Elektrodin sisältämän väliaineen tulee läpäistä valikoivasti mitattavaa ionia, jotta potentiaaliero voidaan mitata. Elektrodityyppejä on monenlaisia. Kalsiumin, kaliumin, magnesiumin, natriumin sekä ammoniakkin mittaukseen käytetään ioniselektiivisiä membraanielektrodeja. ISE-membraani voi olla materiaaliltaan lasia, polymeeria tai kristallia. pH:n määrittämiseen voidaan käyttää redox-elektrodia tai lasielektrodia. ABL90 Flex- analysaattorissa pH:n mittauksessa käytetään juuri redox-typistä elektrodia eli vielä tarkemmin hopea/hopeakloridielektrodia, joka on selektiivinen vetyioneille. (Åkerman & Jokela 2010, 62–64; Burtis & Bruns 2015, 152–155.) ABL90 Flex -verikaasuanalysaattorissa käytetään polymeerimembraanielektrodia eli PVC-membraania ionisoidun kalsiumin mittaamiseen (Radiometer, 2014). Kuvassa 1 on kuvattuna potentiometrinen mittaus.



KUVA 1. Potentiometrinen mittaus (Radiometer 2014, muokattu)

3.3 Postanalytiikka

Laboratoriotutkimusprosessissa postanalytiikkaan kuuluvat tuloksen luotettavuuden arviointi, tuloksen ilmoittaminen pyytävälle yksikölle, tulosten arkistointi sekä näytteen tai siitä tehtyjen valmisteiden säilyttäminen määritellyn ajan. Saatua tulosta arvioidaan kahdessa vaiheessa. Laboratorion tehtävä on arvioida tuloksen luotettavuutta, ja lääkäri puolestaan arvioi mitä laboratoriotulos kertoo asiakkaan terveydentilasta. Laboratorio hyödyntää luotettavuuden arvioinnissa kontroleja, joiden tulokset tunnetaan. Voidaan olettaa että, analysoidut asiakasnäytteet on analysoitu luotettavasti, mikäli kontrollinäytteen tulos on annettujen rajojen sisäpuolella. Tutkimusten luotettavuutta voidaan lisätä myös rinnakkaismääritysten avulla, siinä yhdestä näytteestä tehdään useampi määrittely, joiden tulosten tulee olla samanlaisia. (Matikainen ym. 2016, 47.)

Automatisointi vähentää osaltaan inhimillisten virheiden määrää, ja parantaa täten luotettavuutta eri työvaiheissa (Matikainen ym. 2016, 47). Tässä tutkimuksessa käytössämme oli kaksi verikaasuanalysaattoria. Analysoimme kunkin ihmisen kaikki näytteet samalla laitteella, jotta varmistamme tulostason pysymisen samankaltaisena automaation osalta.

Laboratoriotutkimuksia voi arvioida myös tilastollisesti. Tutkimusten laatua arvioidaan tällöin seuraamalla yksittäisen tutkimuksen pitkäaikaista keskiarvoa. Eli vaikka yksittäiset näytteet ovatkin peräisin eri asiakkaista, pitäisi pitkäaikaisen keskiarvon pysyä samana, saman tutkimuksen kohdalla. Mikäli keskiarvo muuttuu, voi tutkimusmenetelmässä olla virhe. Esimerkiksi väärä mittaus- ja säilytyslämpötila voi aiheuttaa liian matalia tai korkeita tuloksia. (Matikainen ym. 2016, 47.) Säilytyslämpötilan vaikutukset ovatkin juuri tässä opinnäytetyössä mielenkiinnon kohteena. Analysoidessamme kerättyä aineistoa hyödynnämme tunnuslukuja, kuten keskihajontaa ja edellä mainittua keskiarvoa tilasto-ohjelmassa. Sen avulla huomaamme mahdollisia massasta selvästi poikkeavia tuloksia, ja täten lisäämme tutkimuksen laatua.

4 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYKSET

Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää huoneenlämmössä sekä jääkaapissa sentrifugoimattomana säilytetyn näytteen käyttömahdollisuutta Ca-lon määrityksessä. Esimerkiksi kotihoidon ottamia näytteitä ei voida sentrifugoida ennen näytteen saapumista laboratorioon, ja toisinaan ajat voivat venyä huomattavasti yli tunnin mittaisiksi. Mikäli tulokset osoittavat, että näytteet säilyvät pidempään sentrifugoimattomana, voidaan kotihoidossakin siirtyä ionisoidun kalsiumin tutkimiseen albumiinikorjatun kalsiumin sijasta. Tämä lisää potilasturvallisuutta, sillä potilaan tulosten vertailu keskenään helpottuu. Lisäksi laboratorio-ohjeistuksia voidaan muuttaa.

Opinnäytetyön tarkoituksena on verrata 4, 8 ja 24 tunnin ajan sentrifugoimattomana säilytettyjä näytteitä tunnin sisällä sentrifugoituun näytteeseen. Lisäksi tarkoituksena on verrata, vaikuttaako kylmäsäilytys sentrifugoimattomana 4, 8 ja 24 tunnin ajan säilytettyjen putkien tuloksiin verrattuna tunnin sisällä sentrifugoituun näytteeseen. Vertaamme myös, onko huoneenlämpö- ja kylmäsäilytyksellä vaikutusta näytteiden tuloksiin näissä aikapisteissä. Ohjeistuksen mukaan näytettä saa säilyttää sentrifugoimattomana enintään tunnin ajan (EPSHP 2016).

Tutkimuskysymyksiämme ovat:

1. Miten Ca-lon, pH ja pH korjattu Ca-lon pitoisuus säilyvät 4, 8, ja 24 tunnin ajan huoneenlämmössä sentrifugoimattomana säilytetyissä näytteissä verrattuna tunnissa sentrifugoituun näytteeseen?
2. Miten Ca-lon, pH ja pH korjattu Ca-lon pitoisuus säilyvät sentrifugoimattomana jääkaapissa 4, 8 ja 24 tunnin ajan verrattuna tunnissa sentrifugoituun näytteeseen?
3. Miten Ca-lon, pH ja pH korjattu Ca-lon pitoisuus säilyvät sentrifugoimattomana jääkaapissa 4, 8 ja 24 tunnin ajan verrattuna huoneenlämmössä saman ajan säilytettyihin sentrifugoimattomiin näytteisiin?

5 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT

Määrällisellä eli kvantitatiivisella tutkimusmenetelmällä tehdyssä tutkimuksessa on tarkoitus numeroiden ja tilastollisten yhteyksien avulla perustella muuttujia koskevia väitteitä. Tällainen menettelytapa edellyttää tutkimusaineiston asettelua taulukkomuotoon, ja silloin on helpointa käsitellä tutkimusaineistosta saatua tietoa numeroiden avulla. Kyseistä taulukkoa kutsutaan havaintomatriisiksi. (Vilkkä 2021, 89.) Kvantitatiivista tutkimusmenetelmää käytämme myös tässä opinnäytetyössä, sillä verinäytteiden tulokset kuvataan numeroin.

Kvantitatiivisessa tutkimuksessa havaintoyksiköillä tarkoitetaan tutkittavaa kohdetta (Vilkkä 2021, 80). Perusjoukko sisältää kaikki havaintoyksiköt, joista halutaan tutkimukseen saada tietoa. Otantatutkimuksissa otoksen on oltava pienoiskuva perusjoukosta. Mikäli jokaisella perusjoukon yksilöllä ei ole mahdollisuutta päästä otokseen mukaan, kutsutaan valittua osajoukkoa näytteeksi. Tässä tapauksessa puhutaan siis harkinnanvaraisesta näytteestä. (Heikkilä 2014, 31, 39–40.) Tässä tutkimuksessa havaintoyksiköt ovat verinäytteitä. Otantamenetelmä on harkintaan perustuva, sillä tutkimukseen oli mahdollista osallistua vain vapaaehtoiset EPSHP:n henkilökunnan jäsenet.

Otoskokoa suunnitellessa on usein tehtävä kompromisseja esimerkiksi aikataulun ja kustannusten suhteen. Onnistuakseen tutkimus vaatii riittävän suurta sekä perusjoukkoon nähden edustavaa otoskokoa. Mikäli aineisto jaetaan ryhmiin, on myös jokaisen ryhmän otosten oltava riittäviä. (Heikkilä 2014, 40.)

Heikkilän (2014) mukaan aineiston informaatio voidaan pelkistää muutamaa muuttujaa kuvaavaan tunnuslukuun. Käytettäessä tunnuslukuja osa informaatiosta häviää, mutta toisaalta suurtenkin aineistojen sisältämä tieto saadaan tällä tavoin tiiviimpään ja ymmärrettävämpään muotoon. Näin ollen tuloksista on helpompaa tehdä tulkintoja ja päätelmiä, sekä esittää ne sanallisessa muodossa. Tunnusluvut voidaan luokitella jakauman sijaintia sekä hajontaa kuvaaviksi. Keskiarvo on jakauman sijaintia kuvaava luku, joka saadaan jakamalla mitattujen arvojen summa arvojen lukumäärällä. Jakauman sijaintia voidaan kuvata myös me-

diaanilla. Mediaaniksi kutsutaan suuruusjärjestykseen asetetuista arvoista keskimmäistä, kun havaintoja on pariton määrä. Mikäli havaintoja on parillinen määrä, mediaaniksi nimitetään kahden keskimmäisen arvon keskiarvo. Keskihajonta puolestaan kertoo siitä, kuinka hajallaan arvot ovat keskiarvon ympärillä. Vaihteluväli ilmoittaa pienimmän ja suurimman havaintoarvon eli millä välillä havainnot vaihtelevat. (Heikkilä 2014, 82–86.) Mittauksen harhalla (englanniksi bias) voidaan arvioida systemaattista virhettä mittausten välillä (Hiltunen ym. 2011).

6 TYÖN TOTEUTUS

Opinnäytetyön tekeminen aloitettiin syksyllä 2020 valitsemalla opinnäytetyöaihe. Ennen joulua 2020 opinnäytetyösuunnitelma valmistui. Tämän jälkeen lähdettiin työstämään teoriaosuutta. Sen rinnalla tehtiin tiedote tutkimuksesta henkilökunnalle (liite 1), suunniteltiin näyttemateriaalien kerääminen sekä valmisteltiin siihen liittyvät ohjeistukset näytteenottoon (liite 2 ja 3). Ohjeistukset toimitettiin tutustuttavaksi laboratorioon 26.2.2021 ja samalla tehtiin muut alkuvalmistelut klinisen kemian sekä Y-laboratorion tiloihin. Alkuvalmisteluihin lukeutuivat näytetelineiden esillepano sekä nimeäminen, näytetarrojen tulostaminen ja analysaattoreiden käyttöön tutustuminen.

Näyttemateriaali kerättiin 1.3.-2.3.2021. Suurin osa näytteistä kerättiin henkilökunnalta ja toimimme itse näytteenottajina. Kolmen henkilön näytteet otettiin muiden näytteenottajien toimesta. Ohjeistuksesta poiketen näytteenotot sijoituivat välille 7:00-12:00 kumpanakin päivänä. Suoritimme EPSHP:n (2016) työohjeen mukaisesti näytteiden käsittelyn vaiheet. 1 h -näytteitä seisotettiin 30–60 minuuttia huoneenlämmössä, kunnes näytteet olivat hyytyneet tarpeeksi. Seisotuksen jälkeen näyteputket sentrifugoitiin ja näytteet analysoitiin mahdollisimman nopeasti fuugauksen jälkeen. 4-, 8- ja 24 tunnin ajan huoneenlämmössä sekä jääkaappilämpötilassa seisotetut näytteet käsiteltiin sekä analysoitiin samalla tavoin kuin 1 tunnin näytteet vertailtavuuden parantamiseksi.

Tutkimuksen toteutukseen käytettiin kahta verikaasuanalysointilaitetta. Kunkin henkilön kaikki näytteet analysoitiin samalla laitteella, jotta tulostaseroja pystyi vertailemaan luotettavasti. Verikaasuanalysointilaitteet tulostivat tulokset paperille. Tulosteeseen liitettiin juokseva määritelty numerointi kullekin näytteelle, jotta tiedettiin mistä näytteestä on kyse. Paperilla olevat tulostiedot siirrettiin Excel-ohjelmaan taulukkomuotoon. Tässä on mahdollinen virhelähde, sillä tulokset voidaan kirjata inhimillisen virheen vuoksi väärin. Jotta tämä vältettiin, kiinnitettiin erityisesti huomiota oikein kirjaamiseen. Tulokset tarkistettiin tulosteista ja verrattiin Excel-ohjelmaan siirrettyihin arvoihin, jotta ne pysyivät varmasti muuttumattomina. Tutkimustuloksia säilytettiin siihen asti, kunnes opinnäytetyöprosessi saa-

tiin päätökseen. Sen jälkeen ne hävitettiin tietoturvalisest. Vajaat tai muuten hylättävät verinäyteputket, jotka eivät sisältäneet henkilötietoja, lajiteltiin biologiseen jätteeseen (EPSHP 2021). Analysointivaiheen ja tulosten saamisen jälkeen, keräämämme verinäytteet hävitettiin myös biologisen jätteen mukana.

Työn toteutuksessa ilmenneitä mahdollisia virhelähteitä oli muutama, jotka johtivat siihen, että kaksi näytesarjaa hylättiin tutkimuksesta preanalyttisten virheiden vuoksi. Ensimmäisen näytesarjan kohdalla referenssinäyteputken korkki aukesi sentrifugoinnin aikana, joka nosti pH tulosta aiheuttaen mahdollisesti virheellisiä tuloksia. Toisen näytesarjan referenssinäyte hemolysoitui näytteenoton seurauksena. Voimakas hemolyysi aiheuttaa Ca-lon tuloksen alentumista merkittävästi. Yksi virhelähde oli se, että säilytyksen aikana pH muuttuu, ja osassa näytteistä muutos oli niin suuri, ettei näytteistä saatu analysointivaiheessa pH-korjattua tulosta. Nämä näytteet ovat mukana tulosten analyysissä muiden laskettavien suureiden osalta. Kaikki lasketut tulokset laskettiin Exceliä käyttäen ja sen avulla toteutettiin myös kuvioiden luominen.

7 TULOKSET JA TULOSTEN TULKINTA

Tuloksista eriteltiin pH, Ca-lon-pitoisuus sekä pH-korjattu Ca-lon-pitoisuus. Tutkimuksessa saadut tulokset on esitetty näytteittäin liitteissä 4–6. Alkuperäinen aineisto koostui 25 henkilön näytteistä, joista kahden henkilön näytteet päädyttiin hylkäämään preanalyttisten virheiden vuoksi. Näytteiden poistolla pyrimme siihen, että tulokset kertoisivat todenmukaista tietoa hemolysoitumattomista ja anaerobisesti säilytetyistä näytteistä. Työelämän yhteyshenkilö toivoi työn tuloksista laskettavaksi bias%, bias%:n keskiarvot ja biasyksiköiden keskiarvot. Siksi työn tulosten raportoinnissa on keskitytty lähinnä näihin arvoihin. Excelissä lasketut bias% ja niiden keskiarvot sekä biasyksiköt keskiarvoineen löytyvät tämän tutkimuksen lopusta (liitteet 7–12).

Bias% tarkoittaa eroprosenttia kahden eri näytteen välillä. Bias% laskemiseen on käytetty seuraavaa kaavaa:

$$bias\% = \frac{a - b}{b} \times 100$$

Jossa a on tutkittava tulos ja b on referenssiarvo eli tunnin sisällä sentrifugoitu näyteputki. Tämän kaavan avulla saadaan joko positiivisia tai negatiivisia arvoja. Positiivinen bias% tarkoittaa, että referenssitulos oli arvoltaan pienempi, kuin mitattava tulos, eli säilytyksessä tulokset nousevat. Negatiivinen bias% tarkoittaa, että mitattavat tulokset ovat matalampia kuin referenssitulokset, eli säilytyksessä tulokset laskevat. Mikäli bias% on tasan 0 kertoo se siitä, että muutosta yhden tunnin referenssinäytteeseen ei ole.

Biasyksiköt kuvaavat tutkitun tuloksen eroa referenssinäytteeseen ja ne on laskettu kaavalla:

$$biasyksiköt = a - b$$

Jossa a on tutkittava tulos ja b on referenssitulos. Tämänkin kaavan avulla saadaan joko positiivisia tai negatiivisia arvoja.

7.1 Sentrifugoimattoman näytteen pH:n muutokset

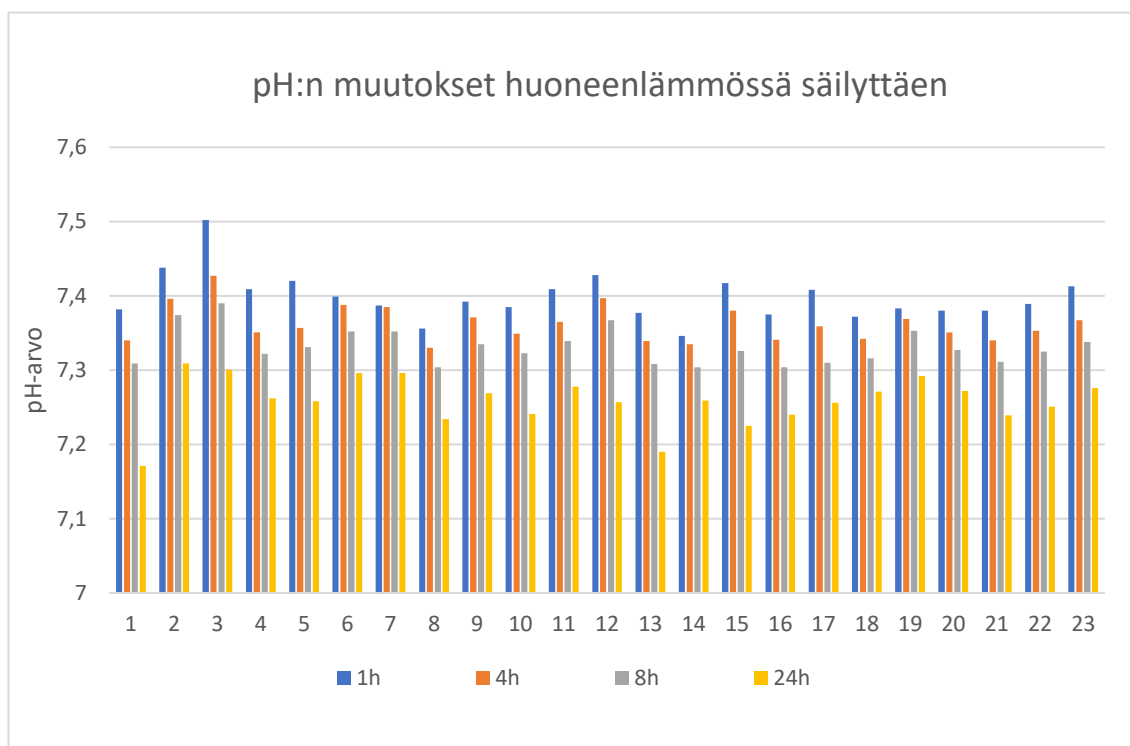
Taulukkoon 1 olemme laskeneet mitattujen pH tulosten keskiarvot, keskihajonnat, mediaanit sekä joukkojen minimin ja maksimin aikapisteissä. Tuloksista huomataan, että keskihajonta tulosten välillä on pieni. Keskiarvot kertovat näytteiden keskimääräisen pitoisuuden ja mediaani kertoo aineiston vinoudesta. Koska nämä luvut ovat lähellä toisiaan, voidaan päätellä, että aineiston sisällä tulokset pysyvät lähellä keskiarvoja. Minimi ja maksimi kertovat olennaisesti sen, että erityisesti 24 tunnin huoneenlämpösäilytyksen jälkeen nämä tulokset ovat laskeneet paljon referenssituloksista ja alle viitearvojen.

TAULUKKO 1. pH:n laskennallisia arvoja

Aikaväli	keskiarvo	keskihajonta	vaihteluväli (min-max)	Mediaani
1h	7,398	0,032	7,346– 7,502	7,389
4h	7,362	0,024	7,33– 7,427	7,357
8h	7,331	0,024	7,304– 7,39	7,326
24h	7,258	0,033	7,171– 7,309	7,259
4h jääkaapissa	7,408	0,025	7,376– 7,463	7,404
8h jääkaapissa	7,400	0,023	7,374– 7,453	7,397
24h jääkaapissa	7,375	0,022	7,346– 7,422	7,373

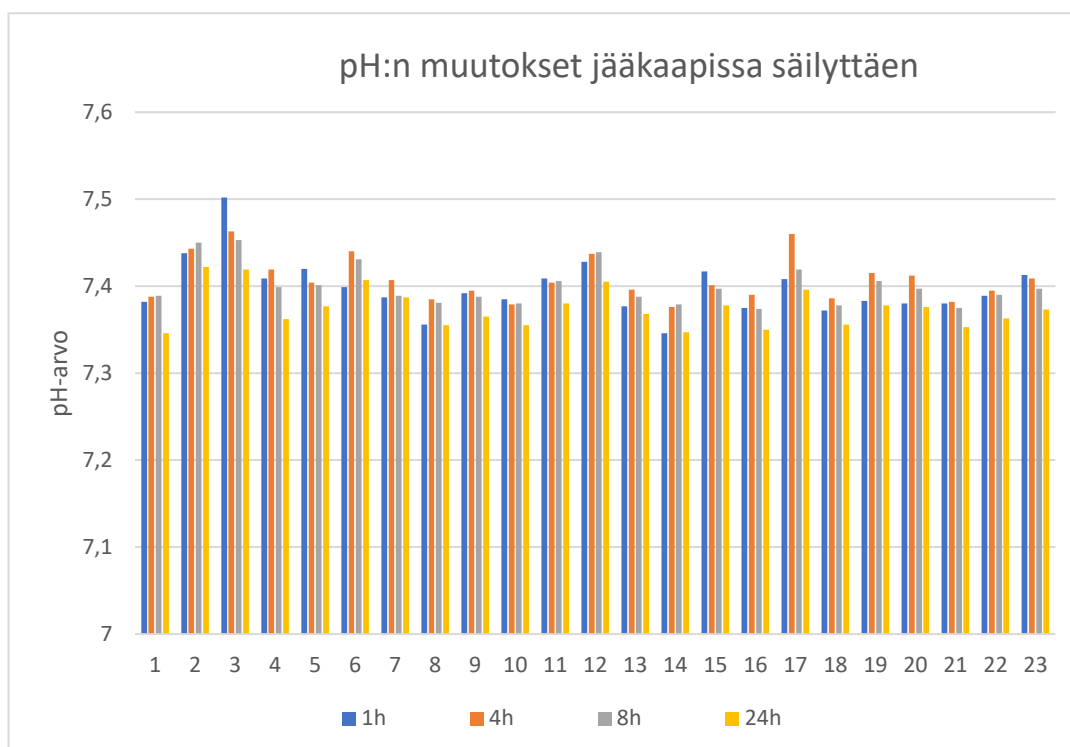
Kuviossa 1 kuvataan pH:n muutoksia huoneenlämmössä eri aikapisteissä. Pitoisuuksien vaihtelua visualisoivat pylväsdiagrammit. Vertailun vuoksi lisäsimme taulukkoon referenssiarvona toimivan 1 tunnin kohdalla sentrifugoidun näytteen

pH arvot. Korkeimmat pH-arvot havaitaan yhden tunnin säilytyksen jälkeen ja matalimmat vuorokauden säilytyksen jälkeen. Huoneenlämmössä säilytettyjen näyteputkien pH muutokset olivat varsinkin pidemmissä säilytysajoissa hyvin suuria.



KUVIO 1. Huoneenlämmössä säilytettyjen putkien pH-muutokset näytteittäin verrattuna 1 h referenssinäytteeseen

Kuviossa 2 esitellään jääkaappilämpötilassa säilytettyjen näytteiden pH-muutoksia 4, 8 ja 24 tunnin kohdalla. Tässä kuvaajassa näkyy selvästi, kuinka pH on vuorokauden säilytyksen jälkeen laskenut referenssiarvoihin verrattuna. Lyhyemmissä säilytysajoissa on puolestaan hajontaa sen suhteen, onko pH noussut vai laskenut referenssiarvoon nähden.



KUVIO 2. Jääkaappilämpötilassa säilytettyjen putkien pH-muutokset näytteittäin verrattuna 1 h referenssinäytteeseen

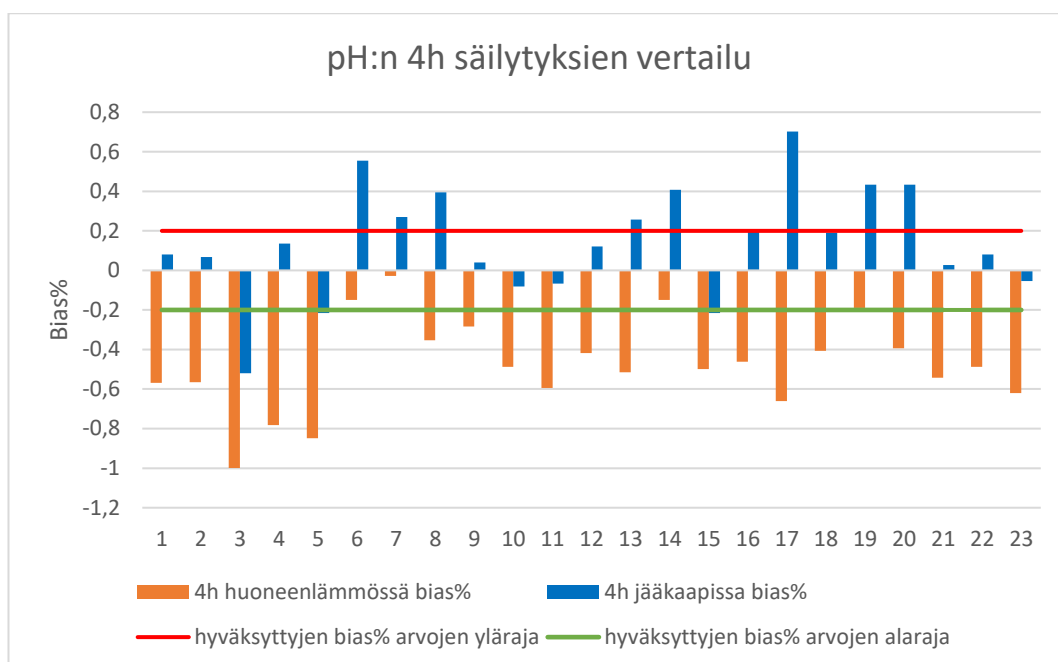
Taulukossa 2 on laskettuna pH-tulosten biasprosenttien ja biasyksiköiden keskiarvot. Nämä tulokset kertovat sen, kuinka paljon pH on eri säilytysajankohtina keskimäärin muuttunut suhteessa tunnissa sentrifugoituun näytteeseen. Koska pH:n viitearvoalue on kapea (7,35–7,45), ei suuria eroja näissä tuloksissa voida hyväksyä. EPSHP:n sisäisessä näytevertailussa on annettu valtimoveren pH:n bias% eroiksi yksittäisten näytteiden kohdalla 0,2 % ja suurempien joukkojen keskiarvoja tarkastellessa eron tulee olla enintään 0,1 %. Tutkimuksen tuloksissa varsinkin huoneenlämmössä säilytetyillä näytteillä muutokset ovat suuria. Jääkaappilämpötilassa 4 ja 8 tunnin ajan säilytettyjen putkien bias% keskiarvot ovat positiivisia, joka todennäköisesti johtuu siitä, että monen näytteen pH nousi säilytyksen aikana.

Biasyksiköiden kohdalle ei ole asetettu valmiita taulukoita, joihin tuloksia verrataan. Biasyksiköiden tulkinnassa huomioidaan kyseisen analyytin viitearvojen väli. Koska pH:n viitealue on kapea (0,10 yksikköä) biasyksiköiden suurin hyväksyttävä ero saa olla noin 2,5–3,5 % viitealueesta eli tässä tapauksessa noin 0,003 yksikköä. Huoneenlämmössä säilytettyjen näytteiden biasyksiköiden keskiarvot eivät ole hyväksytyllä alueella, mutta jääkaapissa säilytetyissä putkissa 8 tunnin näytteiden keskiarvo on hyväksyttävä.

TAULUKKO 2. pH-tulosten bias%- ja biasyksiköiden keskiarvot

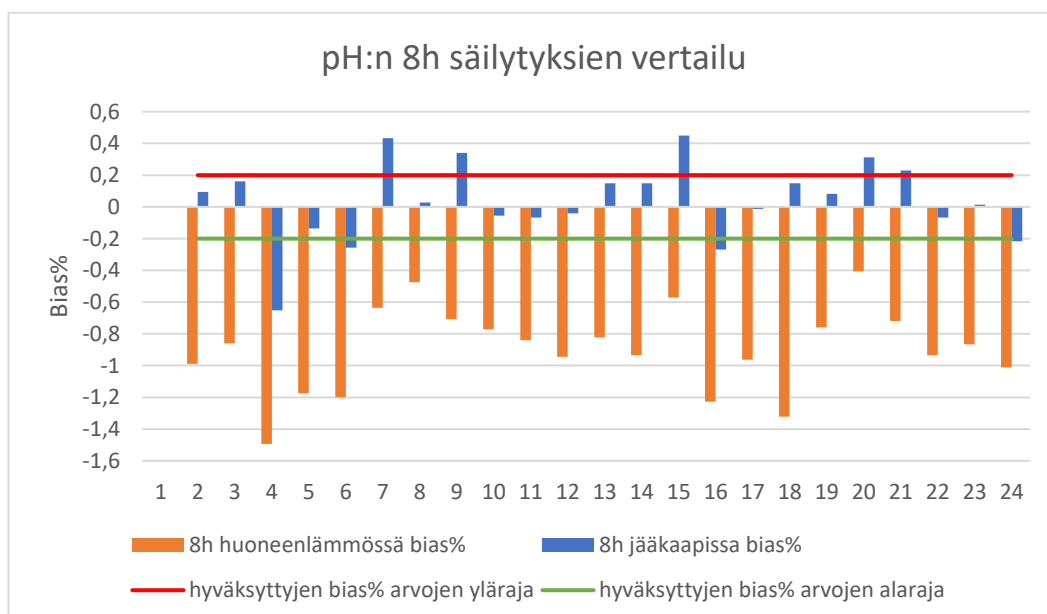
Aikaväli	4 h	8 h	24 h	4 h jää- kaappi	8 h jää- kaappi	24 h jää- kaappi
pH-tulos- ten bias% keskiarvot	-0,478 %	-0,897 %	-1,882 %	0,141 %	0,035 %	-0,31 %
Biasyksi- köiden keskiarvot	-0,035	-0,064	-0,139	0,010	0,003	-0,023

Yksi tutkimuskysymyksistä etsi vastausta siihen, miten jääkaapissa säilytetyt näyteputket säilyttävät tutkittavat analyytit verrattuna huoneenlämmössä säilytettyihin näyteputkiin. Tämän vertailun helpottamiseksi kaikkiin kuvioihin on lisätty EPSHP:n hyväksymien bias% muutosten ylä- ja alaraja. Kuviossa 2 nähdään 4 tunnin ajan säilytettyjen näyteputkien pH:n bias% vertailu. Jo 4 tunnin kohdalla huomataan eroa huoneenlämpösäilytyksen ja jääkaappisäilytyksen välillä. Moni huoneenlämmössä säilytetty näyte on yli sallittujen rajojen. Jääkaapissa säilytettyjen näytteiden kohdalla bias% muutokset ovat pienempiä.



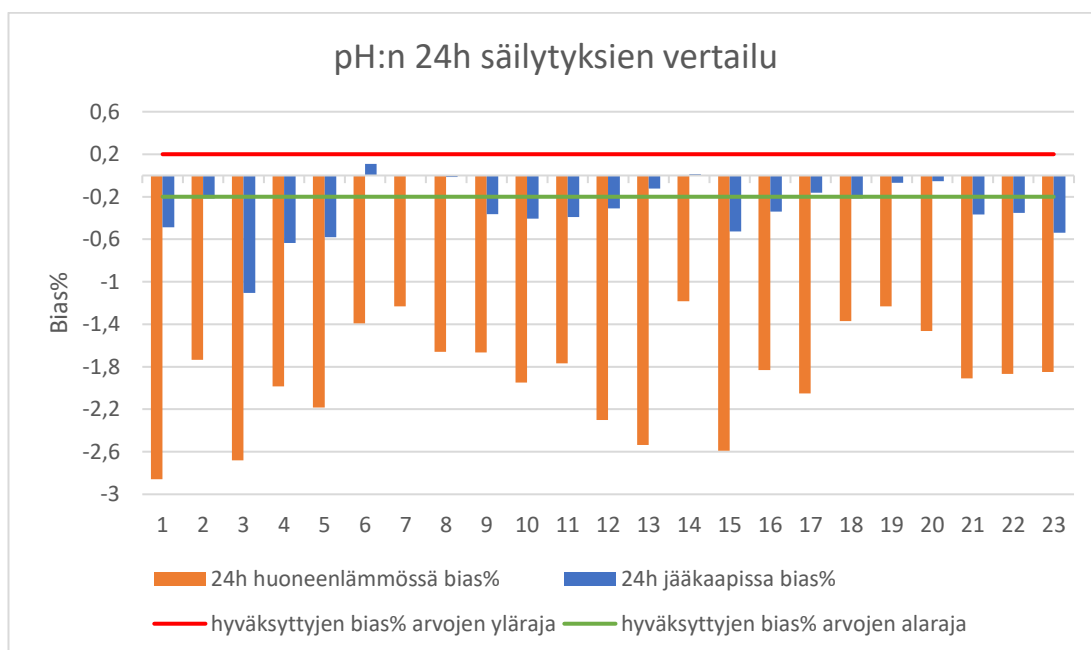
KUVIO 2. Huoneenlämmössä ja jääkaapissa 4 h ajan säilytettyjen näytteiden pH:n bias% vertailu

Kuviossa 3 esitetään 8 tunnin ajan säilytettyjen putkien pH:n bias% vertailu. Kuvioista nähdään, että 8 tunnin säilytyksen jälkeen huoneenlämmössä pH laskee yli alarajan jokaisen näytteen kohdalla. Jääkaappisäilytys ei vastaavasti aiheuta näin suuria muutoksia tuloksissa, vaikkakin osa näytteistä ylittää silti joko ylä- tai alarajat.



KUVIO 3. Huoneenlämmössä ja jääkaapissa 8 h ajan säilytettyjen näytteiden bias% vertailu

Kuviossa 4 näkyy 24 tunnin ajan säilytettyjen näytteiden pH:n bias% vertailu. Kuvioista huomataan, että 24 tunnin jääkaappisäilytys ei aiheuta näytteiden pH:n bias% niin suuria eroja, kuin huoneenlämpösäilytyksessä. Näytteen 7 kohdalla kuviossa ei näy lainkaan jääkaapissa säilytetyn näytteen bias% arvoa, koska tämän näytteen kohdalla bias% oli tasan 0, eli muutosta tunnin referenssinäytteeseen ei ollut.



KUVIO 4. Huoneenlämmössä ja jääkaapissa 24 h ajan säilytettyjen näytteiden bias% vertailu

7.2 Ca-lon muutokset sentrifugoimattomassa näytteessä

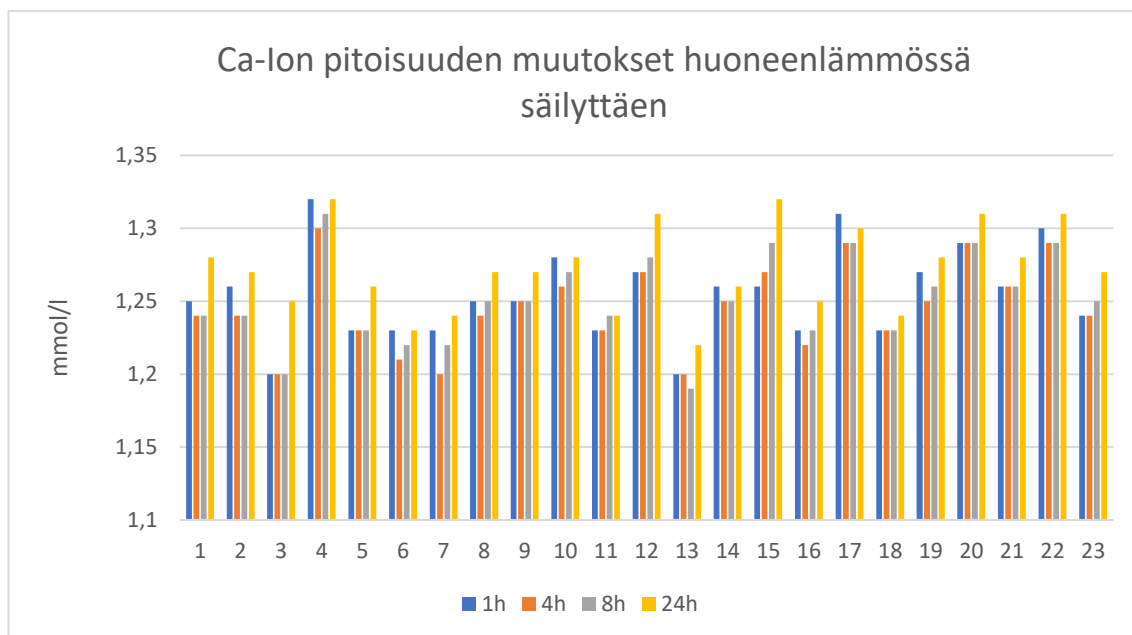
Talukossa 3 esittelemme Ca-lon tulosten kesiarvot, keskihajonnat, mediaanit sekä jokaisen aikapisteen minimin ja maksimin. Keskiarvotuloksia sekä minimiä ja maksimia tarkastellessa huomataan, että muutokset eri aikapisteissä tulosten välillä eivät ole suuria, mutta ne ovat laskusuuntaisia. Keskiarvot ja mediaanit vastaavat toisiaan, joka kertoo siitä, että aineiston sisällä tulokset ovat tasaisesti jakautuneet. Näin keskiarvot eivät anna vääristynyttä kuvaa tulosten muutoksista.

TAULUKKO 3 Ca-lon pitoisuuksien laskennallisia arvoja

Aikaväli	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (min-max) (mmol/l)	mediaani
1h	1,254	0,031	1,2– 1,32	1,25
4h	1,246	0,030	1,2– 1,3	1,24
8h	1,251	0,031	1,19– 1,31	1,25
24h	1,272	0,029	1,22– 1,32	1,27
4h jääkaapissa	1,239	0,029	1,18– 1,29	1,24
8h jääkaapissa	1,235	0,030	1,18– 1,29	1,23
24h jääkaapissa	1,232	0,030	1,16– 1,28	1,23

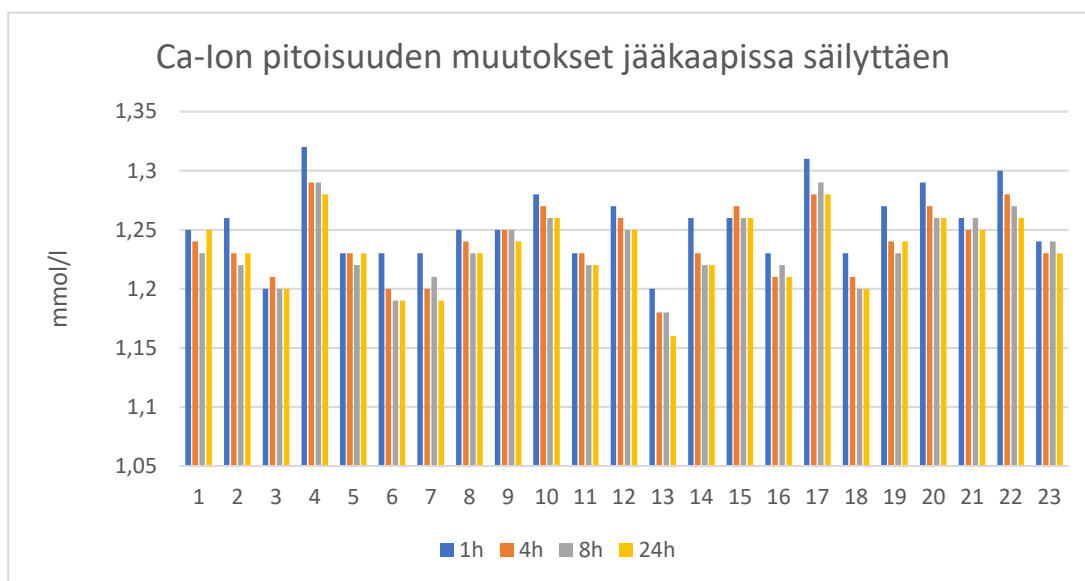
Kuviossa 5 havainnollistetaan Ca-lon pitoisuuksien muutoksia määritellyissä aikapisteissä huoneenlämmössä säilytettynä. Nähtävillä ovat myös referenssinäytteet vertailun helpottamiseksi. Kuviosta voidaan havaita, että 24 tunnin säilytys huoneenlämmössä aiheuttaa ionisoidun kalsiumin nousua yli referenssinäytteiden pitoisuuksien. Näytteiden pH:n lasku vähentää kalsiumin sitoutumista proteiineihin ja saa siten vapaan eli ionisoituneen kalsiumin pitoisuuden nousemaan.

Nämä huomioidut todettiin tarkasteltaessa yhdessä kuvioita 1 ja 5. Lyhyemmissä säilytysajoissa on eroja siinä nousevatko vai laskevatko pitoisuudet.



KUVIO 5. Huoneenlämmössä säilytettyjen putkien Ca-lon-muutokset näytteittäin verrattuna 1 h referenssinäytteeseen

Ca-lon pitoisuuden muutokset jääkaappilämpötilassa nähdään kuviossa 6. Voidaan havaita, että pitoisuuden vaihtelut ovat säilytysajan pidetessä vähäisiä yksittäisten näytteiden kohdalla jääkaapissa säilytettynä. Pylväistä on kuitenkin huomattavissa, että pitoisuuksien muutokset ovat pääosin laskusuuntaisia.



KUVIO 6. Jääkaappilämpötilassa säilytettyjen putkien Ca-lon-muutokset näytteittäin verrattuna 1 h referenssinäytteeseen

Taulukkoon 4 on laskettu Ca-lon tulosten biasprosenttien sekä biasyksiköiden keskiarvot. Näistä tuloksista nähdään, kuinka paljon Ca-lon pitoisuudet eri säilytysajankohtina keskimäärin ovat muuttuneet suhteessa tunnissa sentrifugoituihin näytteisiin. EPSHP:n sisäisessä näytevertailussa on annettu pH-korjatun ionisoidun kalsiumin bias%- eroiksi yksittäisten näytteiden kohdalla 4 % ja suurempien joukkojen keskiarvoja tarkastellessa eron tulee olla enintään 3 %. Hyödynnämme samaa vertailuarvoa myös pelkän ionisoidun kalsiumin bias% keskiarvojen tarkastelussa. Tuloksista voi havaita, että 24 tunnin ajan huoneenlämmössä säilytetyissä näytteissä on positiivinen bias%, joka tarkoittaa sitä, että säilytyksessä tulokset nousevat referenssituloksiin verrattuna. Muiden aikavälien kohdalla bias% on negatiivinen eli tulokset laskevat säilytyksessä. Jokaisen aikavälin keskimääräinen bias% -ero on kuitenkin alle 3%, jonka perusteella voi todeta, että ionisoitu kalsium- pitoisuus säilyy näytteissä kummassakin säilytyslämpötilassa.

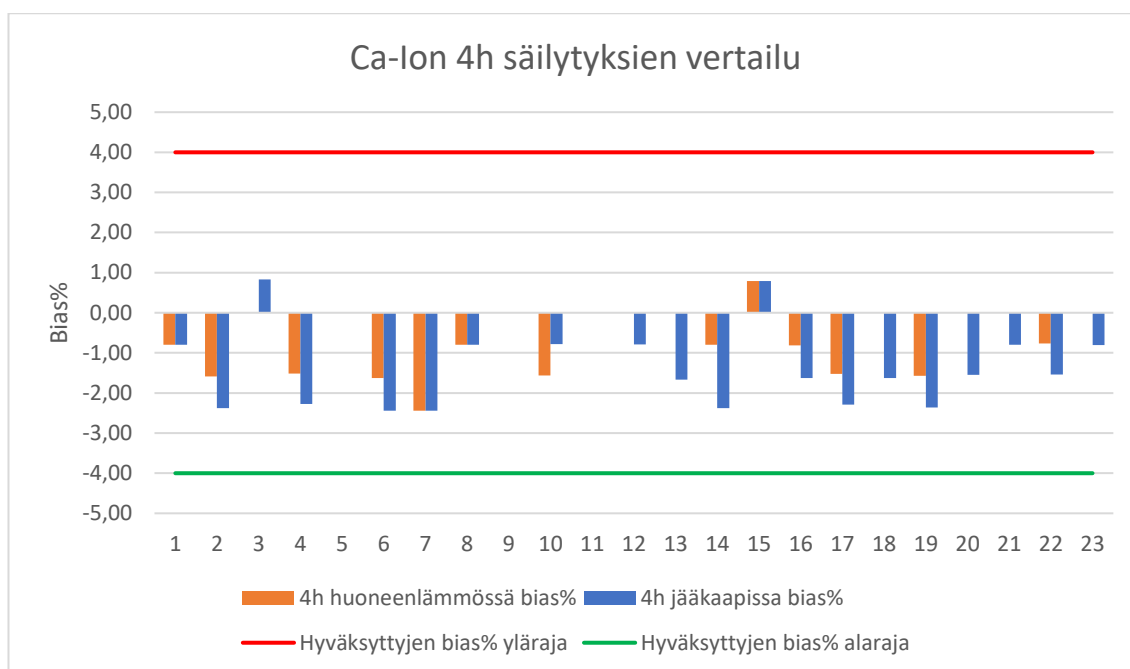
Biasyksiköiden keskiarvoja tulkittaessa huomioidaan Ca-lon pitoisuuksien viitearvo, joka on 1,18-1,3 mmol/l. Ionisoidun kalsiumin viiteväli on vain 0,12 mmol/l. Biasyksiköiden suurin sallittu ero viitealueesta saa olla noin 2,5-3,5 % eli ionisoidun kalsiumin kohdalla noin 0,0036 mmol/l. Näin ollen ainoastaan

huoneenlämmössä 8 tuntia säilytettyjen näytteiden biasyksiköiden keskiarvot ovat hyväksyttävissä rajoissa.

TAULUKKO 4. Ca-lon tulosten bias%- ja biasyksiköiden keskiarvot

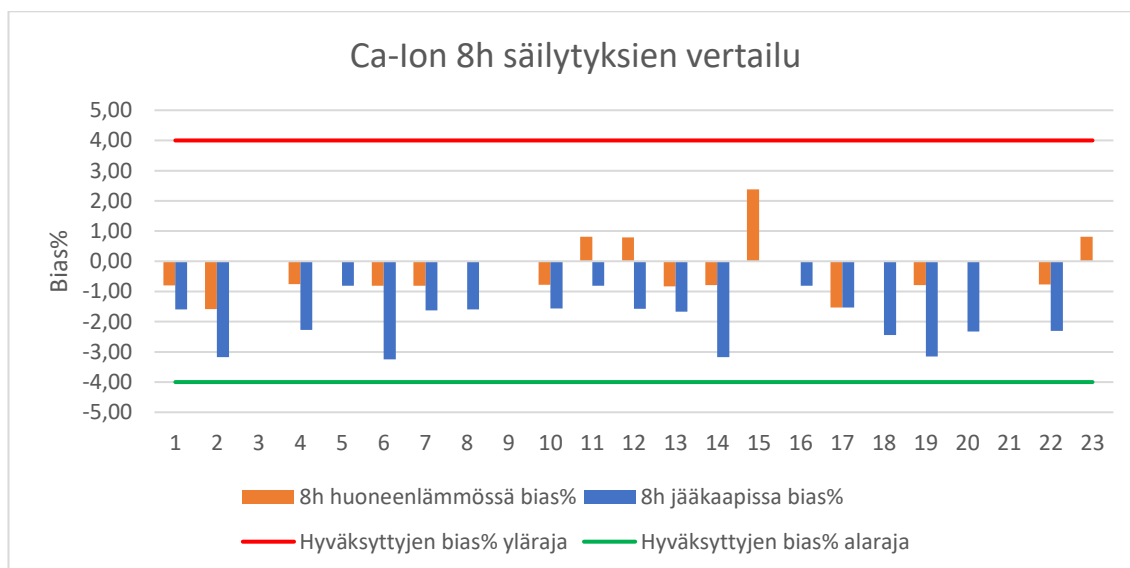
Aikaväli	4 h	8 h	24 h	4 h jää- kaappi	8 h jää- kaappi	24 h jää- kaappi
Ca-lon tulosten bias% keskiar- vot	-0,653 %	-0,238 %	1,434 %	-1,205 %	-1,552 %	-1,761 %
Bias yksi- köiden keskiar- vot (mmol/l)	-0,008	- 0,003	0,018	-0,02	-0,02	-0,02

Kuviossa 7 havainnollistetaan 4 tunnin ajan huoneenlämmössä ja jääkaapissa säilytettyjen näytteiden bias% eroja. Yksittäisten näytteiden bias%-erot saavat olla enintään 4 % ja ne on havainnollistettu kuvioon ylä- ja alarajoiksi. Kaikissa näytteissä ionisoidun kalsiumin bias% pitäytyvät 4 tunnin ajan rajojen sisäpuolella riippumatta säilytyslämpötilasta. Näytteiden 5, 9 ja 11 bias%-arvot olivat tasan 0 % eli muutosta referenssinäytteeseen ei ollut. Siksi näiden näytteiden kohdalla ei havaita pylväitä. Sama tilanne toistuu myös osassa huoneenlämmössä säilytetyjä näytteitä (näytteet 3,12,13,20,21 ja 23).



KUVIO 7. Huoneenlämmössä ja jääkaapissa 4 h ajan säilytettyjen näytteiden ionisoidun kalsiumin bias% vertailu

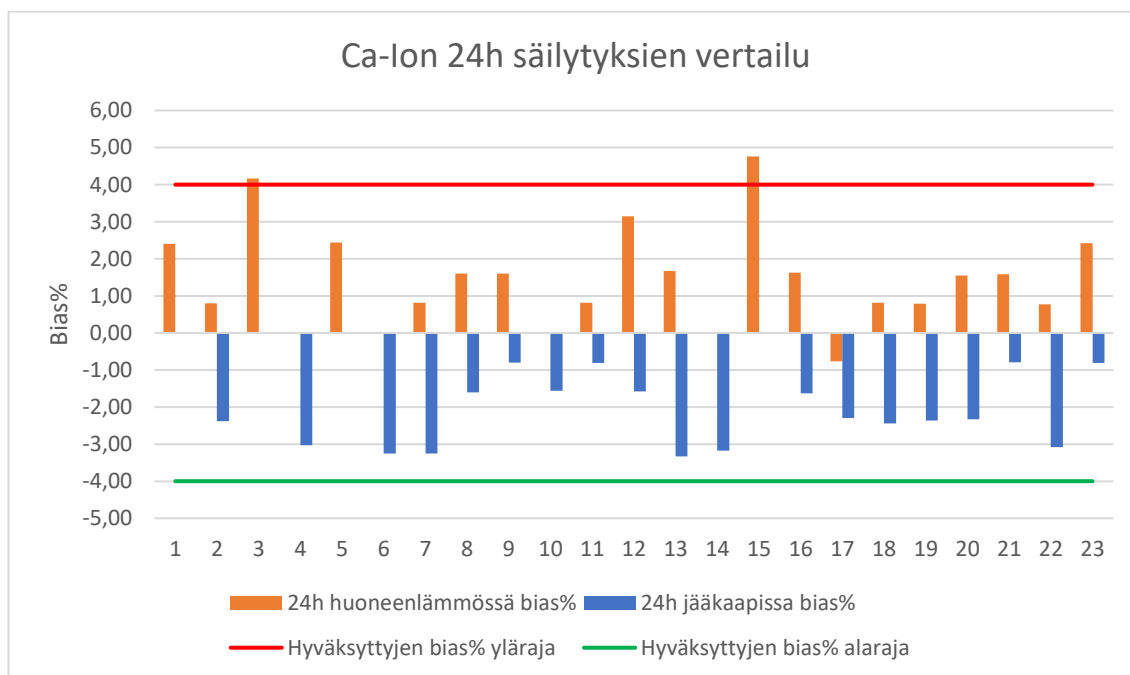
8 tunnin säilytyksen jälkeen näytteiden bias% pysyvät edelleen annettujen rajojen sisällä, eli Ca-Ion säilyy niin huoneenlämmössä kuin jääkaapissakin kyseisen ajan (kuvio 8).



KUVIO 8. Huoneenlämmössä ja jääkaapissa 8 h ajan säilytettyjen näytteiden ionisoidun kalsiumin bias% vertailu

Kuviosta 9 nähdään, että vuorokauden pituisella säilytyksellä on selkeämpi vaikutus ionisoidun kalsiumin biasprosentteihin. Jääkaappisäilytyksessä bias%

pysyvät vielä alarajan yläpuolella, mutta negatiiviset arvot kertovat ionisoidun kalsiumin laskusta säilytyksessä. Huoneenlämpösäilytys saa puolestaan aikaan positiiviset bias% eli Ca-lon pitoisuus tällöin kohoaa. Näytteiden 3 ja 15 bias% ovat nousseet jo yli sallitun ylärajan eli näiden näytteiden Ca-lon pitoisuus ei säilynyt 24 tuntia.



KUVIO 9. Huoneenlämmössä ja jääkaapissa 24 h ajan säilytettyjen näytteiden ionisoidun kalsiumin bias% vertailu

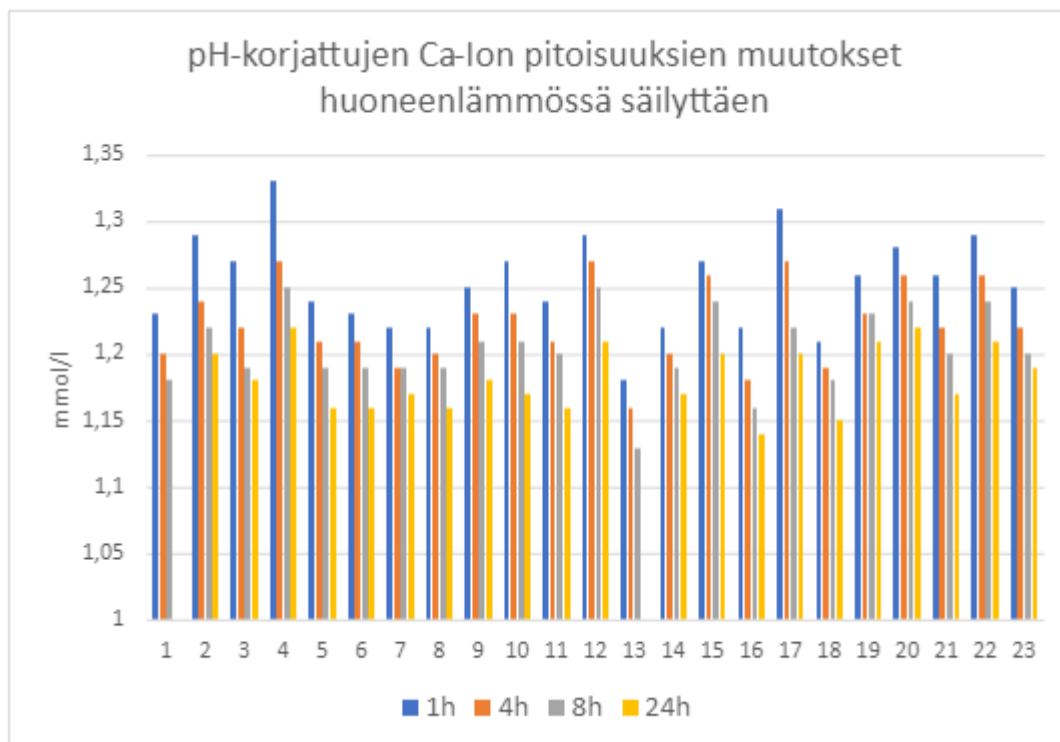
7.3 Sentrifugoimattoman näytteen pH-korjatut Ca-lon muutokset

Taulukossa 5 näkyy erilaisia laskettuja tunnuslukuja pH-korjatuista Ca-lon tuloksista eri aikapisteissä. Eri aikapisteiden minimi- ja maksimituloksia katsoessa huomataan, että vaihteluväli eri säilytysaikojen tulosten välillä on lähes sama 1 tunnin referenssinäytteen ja 4 tuntia jääkaapissa säilytetyn näytteen kohdalla. Keskiarvoa ja mediaania tarkastellessa havaitaan, että tulokset vastaavat toisiinsa. Tämä tarkoittaa, että aineisto ei ole vinoutunut ja keskiarvo antaa oikean kuvan tulosten jakautumisesta. Keskihajonta on hyvin pieni, joka kertoo, että tulokset eivät juuri poikkea toisistaan.

TAULUKKO 5. pH-korjattujen Ca-lon tulosten laskennallisia arvoja

Aikaväli	keskiarvo (mmol/l)	keskihajonta (mmol/l)	vaihteluväli (min-max) (mmol/l)	mediaani
1h	1,253	0,036	1,18– 1,33	1,25
4h	1,232	0,031	1,16– 1,27	1,22
8h	1,204	0,030	1,13– 1,25	1,2
24h	1,182	0,024	1,14– 1,22	1,18
4h jääkaapissa	1,245	0,035	1,17– 1,33	1,24
8h jääkaapissa	1,234	0,033	1,17– 1,30	1,23
24h jääkaapissa	1,215	0,032	1,14– 1,28	1,21

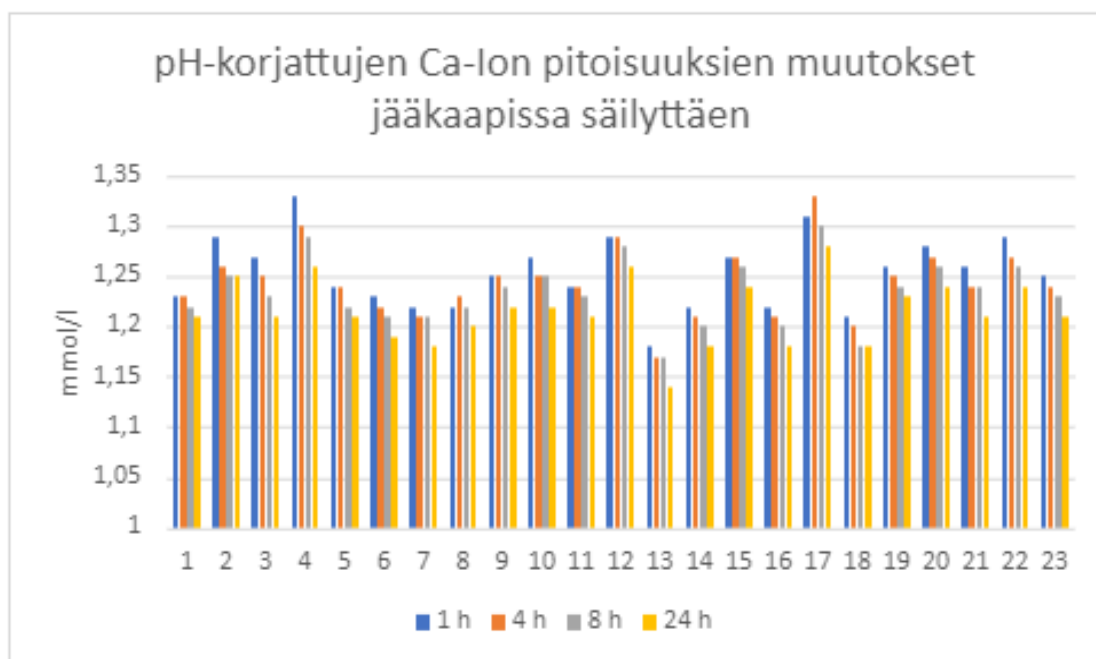
Kuviossa 10 esitellään pH-korjattujen Ca-lon pitoisuuksien muutokset näytteittäin huoneenlämmössä säilyttäen. Viitearvo pH- korjatulle ionisoidulle kalsiumille on 1,18–1,3 mmol/l. Kuvioista 10 voidaan huomata, että referenssinäytteiden lisäksi huoneenlämmössä säilytetyt 4 tunnin näytepitoisuudet pysyivät kaikki tämän viitevälin sisällä. Myös 8 tunnin säilytyksen jälkeen melkein kaikkien näytteiden pitoisuus ylsi tälle tasolle, mutta jäädessä kuitenkin lähelle alarajaa. Ca-lon pitoisuudet laskevat 8 tunnin ja varsinkin 24 tunnin säilytyksen jälkeen verrattuna tunnissa sentrifugoituihin näytteisiin.



KUVIO 1010. Huoneenlämmössä säilytettyjen putkien pH-korjatut Ca-lon muutokset näytteittäin verrattuna 1 h referenssinäytteeseen

Ionisoidun kalsiumin tulos voidaan pH-korjata, vain mikäli näytteen pH-pitoisuus on 7,2–7,6 välillä (Baird 2011, 698). Huoneenlämmössä 4 ja 8 tunnin ajan säilytettyjen näytteiden pH-arvot pysyivät rajojen sisällä. 24 tunnin huoneenlämpösäilytys kuitenkin johti rajuun pH:n laskuun, jolloin osa näistä näytteistä alitti sallitun pH-välin. Tämän vuoksi analysaattori ei kyennyt laskemaan näiden näytteiden pH-korjattua Ca-lon pitoisuutta. Kaikkien jääkaappilämpötilassa säilytettyjen näytteiden pH-pitoisuudet jäivät tälle sallitulle välille.

Kuviossa 11 esitellään pH-korjattujen Ca-lon pitoisuuksien muutokset jääkaappisäilytyksessä 4, 8 ja 24 tunnin kohdalla verrattuna tunnin referenssinäytteisiin. Kokonaisuudessaan kaikkien aikavälien pitoisuudet ovat jääkaappisäilytyksessä lähempänä referenssinäytteitä, kuin kuviossa 10 esiteltyt huoneenlämpösäilytyksen tulokset. Lisäksi pH-korjatut tulokset on saatu laskettua kaikille jääkaapissa säilytetyille näytteille. Suurimmat erot yhden tunnin näytteisiin verrattuna havaitaan vuorokauden säilytyksen jälkeen. Lähimmäksi referenssinäytepitoisuuksia pääsivät 4 tunnin ajan jääkaapissa säilytetyt näytteet.



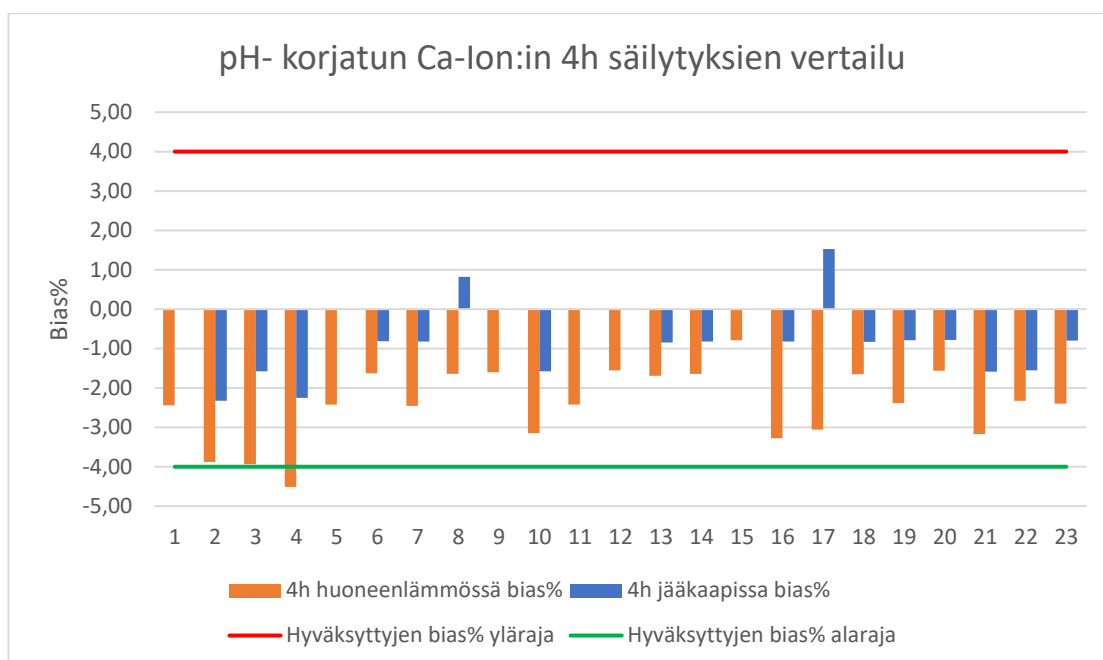
KUVIO 11 11. Jääkaappilämpötilassa säilytettyjen putkien pH-korjatut Ca-Ion muutokset näytteittäin verrattuna 1 h referenssinäytteeseen

Taulukkoon 6 on laskettu pH-korjattujen Ca-Ion tulosten biasprosenttien ja biasyksiköiden keskiarvot. EPSHP:n sisäisen näytevertailun mukaan pH-korjattujen Ca-Ion tulosten bias%- ero saa olla enintään 3 %, kun tarkastellaan suurempien joukkojen keskiarvoja. Kaikkien aikavälien bias% ovat negatiivisia, joka kertoo, että säilytyksessä pitoisuudet laskevat. Taulukosta huomataan, että 8 tunnin ajan huoneenlämmössä säilytetyt näytteet, sekä vuorokauden ajan säilytetyt näytteet molemmissa lämpötiloissa ylittivät 3 % rajan. Alle 3 % erot nähdään 4 tunnin säilytyksissä sekä 8 tunnin kylmäsäilytyksessä. Selvästi pienin bias% saatiin 4 tunnin jääkaappisäilytyksessä, jolloin pH-korjatut Ca-Ion pitoisuudet laskivat keskimäärin 0,7 % suhteessa tunnissa sentrifugoituihin näytteisiin. Taulukkoon 6 on laskettu myös biasyksiköiden keskiarvot kullekin aikavälille. Tämän analyysin kohdalla biasyksiköiden erot saavat olla enintään noin 0,0036 mmol/l. Näin ollen erot jokaisen aikavälin kohdalla ovat liian suuria.

TAULUKKO 6. pH -korjattujen Ca-Ion tulosten bias%- ja biasyksiköiden keskiarvot

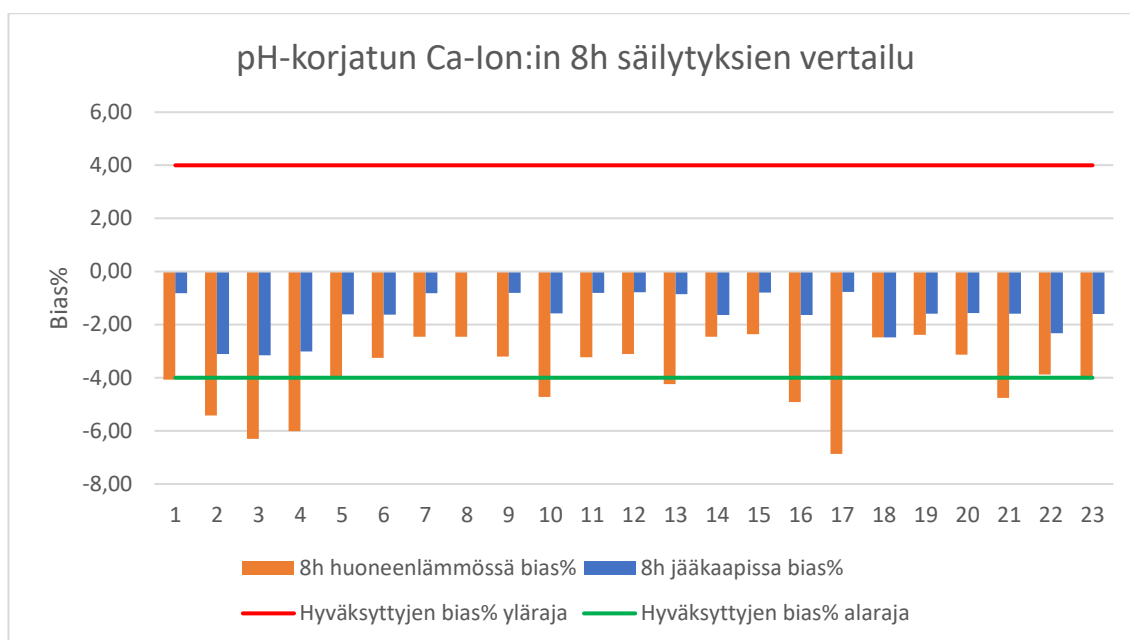
Aikaväli	4 h	8 h	24 h	4 h jää- kaappi	8 h jää- kaappi	24 h jää- kaappi
pH kor- jattujen tulosten bias% keskiar- vot	-2,416 %	-3,901 %	-5,977 %	-0,689 %	-1,158 %	-3,044 %
Biasyk- siköiden keskiar- vot (mmol/l)	-0,03	-0,05	-0,08	-0,01	-0,02	-0,04

Kuviossa 12 nähdään yksittäisten näytteiden bias% tulokset. Kuviossa on nähtävillä myös EPSHP:n sisäisen tulostasoverailun bias% rajat, jotta tuloksia on helpompi havainnoida. Eri säilytyslämpötilojen välillä havaitaan selviä eroja. Huoneenlämmössä säilytettyjen näytteiden bias% on kaikilla näytteillä negatiivinen, joka kertoo tulosten laskusta. Lisäksi näyte 4 huoneenlämmössä säilyttäen ylittää 4 % rajan. Kaikki jääkaapissa säilytetyt näytteet pysyvät rajojen sisäpuolella.



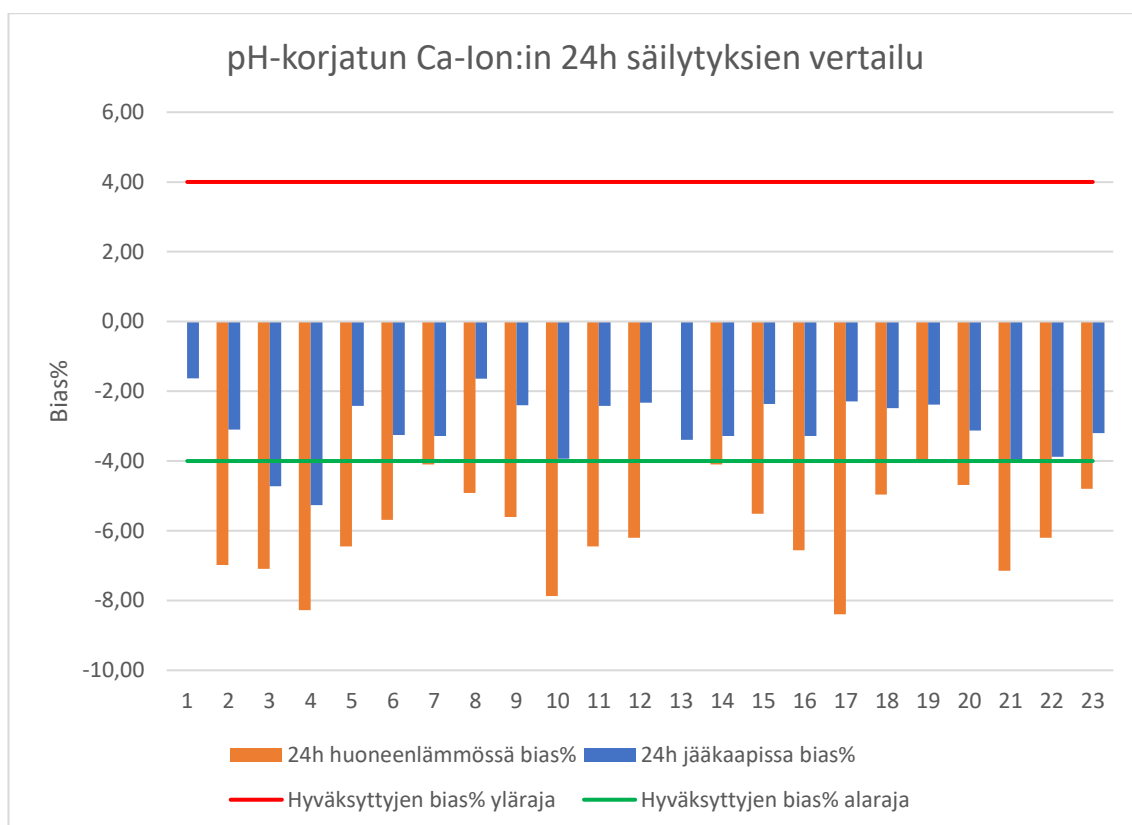
KUVIO 12. Huoneenlämmössä ja jääkaapissa 4 h ajan säilytettyjen näytteiden pH-korjatun ionisoidun kalsiumin bias% vertailu

Kuviosta 13 huomataan, että 8 tunnin säilytyksessä riippumatta säilytyslämpötilasta bias% ovat negatiivisia, eli pH-korjattu Ca-lon pitoisuus laskee. Huoneenlämmössä lasku on edelleen rajumpaa, kuin kylmäsäilytyksessä. Huomataan myös, että yhä useamman huoneenlämmössä säilytetyn näytteen bias% on laskenut alle alarajan tai on aivan alarajan tuntumassa.



KUVIO 13. Huoneenlämmössä ja jääkaapissa 8 h ajan säilytettyjen näytteiden pH-korjatun ionisoidun kalsiumin bias% vertailu

24 tunnin säilytys ei sovi pH-korjatulle Ca-lon:lle, sillä kuviosta 14 voidaan nähdä bias% lasku alle sallitun rajan kummankin säilytystavan kohdalla. Biasprosentit ovat laskeneet jopa yli 8 % osassa huoneenlämmössä säilytetyistä näytteistä. Näytteiden 1 ja 13 kohdalla ei ole nähtävissä pylvästä huoneenlämpösäilytykselle, sillä analysaattori ei ole kyennyt laskemaan tulosta kyseisille näytteille niin rajun pH-muutoksen vuoksi. Vuorokauden jääkaappisäilytyksessä joidenkin näytteiden bias% ovat vielä rajojen sisäpuolella.



KUVIO 14. Huoneenlämmössä ja jääkaapissa 24 h ajan säilytettyjen näytteiden pH-korjatun ionisoidun kalsiumin bias% vertailu

8 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tämän tutkimuksen tutkimuskysymysten avulla etsittiin tietoa siihen, että miten tutkitut analyytit (pH, Ca-lon ja pH-korjattu Ca-lon) säilyivät, kun niitä säilytettiin 4, 8 ja 24 tunnin ajan sentrifugoimattomina ja siihen oliko jääkaappisäilytyksen ja huoneenlämpösäilytysten välillä eroa. Tutkimuksen tulokset vastasivat teoriaa, sillä pH pitoisuuden tiedettiin laskevan veressä tapahtuvan aineenvaihdunnan ja laktaattimuodostuksen vuoksi, joka puolestaan nostaa Ca-lon pitoisuutta (EPSHP 2016). Säilytyslämpötilan tiedettiin vaikuttavan näytteessä tapahtuviin aineenvaihduntareaktioihin, koska näytteen nopea viilennys hidastaa näytteessä tapahtuvaa aineenvaihduntaa, jolloin näyte myös säilyy paremmin. (Risteli 2015).

Aiheesta on tehty myös aikaisemmin tutkimuksia. Näistä eräs on julkaistu vuonna 1987 ja siinä Shore, Booker, Sagnella, Markandu ja MacGregor (1987) tutkivat, miten anaerobinen säilytys huoneenlämmössä sekä anaerobinen säilytys kylmässä (4°C) vaikuttivat pH:n, ionisoidun kalsiumin ja pH-korjatun ionisoidun kalsiumin tuloksiin. Huoneenlämmössä säilytettyjä näytteitä pidettiin sentrifugoi-matta 30 minuuttia, 2,4 tai 6 tuntia. Kylmäsäilytettyjä näytteitä säilytettiin sentri-fugoimatta 30 minuuttia, 1 tai 3 tuntia. Lisäksi he vertailivat 30 minuutin ajan säi-lytettyjen näytteiden tulostaseroja eri säilytyslämpötiloissa. (Shore ym 1987.)

Tuloksissa todetaan, että huoneenlämmössä säilytetyissä näytteissä 2 ja 6 tunnin säilytys vaikutti ionisoituun kalsiumiin merkittävästi suurentavasti. Seerumin pH pieneni kaikissa säilytysajoissa, mutta keskiarvo pH-korjatuista ionisoidun kal-siumin tuloksista ei muuttunut merkittävästi säilytyksen aikana. Jo yhden tunnin kylmäsäilytys aiheutti muutoksia ionisoidun kalsiumin pitoisuuksissa. Keskiarvot pH:n ja pH-korjatun ionisoidun kalsiumin tuloksissa eivät muuttuneet merkittä-västi. 3 tunnin kylmäsäilytys vähensi merkittävästi ionisoidun kalsiumin ja pH-kor-jatun ionisoidun kalsiumin pitoisuuksia. Seerumin pH ei kuitenkaan muuttunut. Kun tutkijat vertailivat 30 minuutin säilytystä kylmässä ja huoneenlämmössä, he huomasivat, että huoneenlämmössä pH tulokset olivat merkittävästi matalampia ja Ca-lon ja pH-korjatut Ca-lon tulokset olivat merkittävästi korkeampia kuin jää-kaapissa säilytetyissä näytteissä. (Shore ym. 1987.)

8.1 pH, Ca-lon ja pH-korjattu Ca-lon 4 tunnin säilytyksessä

Tutkimuksessa jo 4 tunnin säilytyksen jälkeen analyyttien pitoisuuksissa havaittiin muutoksia niin huoneenlämmössä kuin jääkaappilämpötilassa. Näistä kolmesta analyytistä pH:n pitoisuudet muuttuivat kaikkein selvimmin ja merkittävimmin. Huoneenlämpösäilytys sai aikaan pH:n laskua, mutta jääkaapissa säilytettyjen näytteiden kohdalla huomattiin pH:n myös nousevan. Säilytyksen jälkeen pH:n bias% keskiarvot ylittivät sallitun muutosrajan (0,1 %). Suurimmat muutokset todettiin huoneenlämmössä säilytettynä. Myös biasyksiköiden keskiarvojen sallittu muutosraja (0,003 yksikköä) pH:n kohdalla ylittyi.

Ca-lon pitoisuuksissa ei suuria eroja referenssinäytteisiin verrattuna 4 tunnin jälkeen tapahtunut. Ionisoidun kalsiumin kohdalla bias% keskiarvo pitäytyi sallituissa rajoissa molemmissa lämpötilaolosuhteissa, eli muutos säilytyksessä oli vähäinen. Biasyksiköiden keskiarvot kuitenkin ylittyivät molemmissa säilytystavoissa.

Ionisoituneen kalsiumin kohdalla analysaattori kykeni pH-korjaamaan tulokset 4 tunnin säilytyksen jälkeen, sillä pH-pitoisuus näytteissä oli säilytysajan jälkeen 7,2–7,6. Negatiiviset bias%:n keskiarvot kertoivat pH-korjatun ionisoidun kalsiumin laskusta referenssinäytteisiin nähden. Huoneenlämmössä säilytettyjen näytteiden bias% olivat suurempia, kuin jääkaapissa säilytetyillä näytteillä. Muutos 4 tunnin säilytyksissä bias% keskiarvojen perusteella oli kuitenkin pientä, sillä muutosprosentti jäi alle kolmeen. Biasyksiköiden keskiarvot kuitenkin ylittyivät molemmissa lämpöolosuhteissa sallitusta 0,0036 yksiköstä.

Tämän tutkimuksen 4 h tuloksista voidaan siis päätellä, että pH sekä pH- korjattu Ca-lon säilyvät paremmin jääkaappilämpötilassa kuin huoneenlämmössä. Ca-lon pitoisuus taas säilyy paremmin huoneenlämmössä kuin jääkaapissa. Yhden tunnin referenssinäytteisiin verrattuna huoneenlämmössä 4 tuntia säilytettyjen näytteiden pH säilyy huonosti. Ca-lon säilyi tyydyttävästi ja pH- korjattu Ca-ion säilyi pääsääntöisesti huoneenlämmössä tyydyttävästi kyseisen ajan. Yhden tunnin referenssinäytteisiin verrattuna jääkaapissa 4 h ajan säilytettyjen näytteiden pH säilyy heikosti, Ca-lon sekä myös pH-korjattu Ca-lon säilyvät tyydyttävästi.

8.2 pH, Ca-lon ja pH-korjattu Ca-lon 8 tunnin säilytyksessä

Kuten 4 tunnin säilytyksessä, myös 8 tunnin säilytyksen aikana huomataan merkittävimmät muutokset juuri pH:n kohdalla. Huoneenlämmössä säilytetyistä putkista yhdenkään pH:n bias% ei pysy sallitun muutosrajan (0,1 %) sisällä. Jääkaappisäilytys johti siihen, että 9 näytettä ylitti sallitun rajan ja loput pysyivät muutosrajojen sisällä. Biasyksiköiden keskiarvojen sallittu muutos (0,003 yksikköä) ylittyi kummankin säilytystavan kohdalla.

Kun tarkastellaan bias% keskiarvoa, huomataan, että kaikkien näytteiden Ca-lon pitoisuudet pysyivät sallituissa rajoissa myös 8 tunnin säilytyksen ajan molemmissa lämpötiloissa. 8 tunnin säilytyksen jälkeen biasyksikköjen keskiarvo huoneenlämmössä säilytettynä oli alle 0,0036 yksikköä, eli muutos säilytyksessä on hyvin vähäinen. Jääkaapissa säilyttäen tuo raja kuitenkin ylittyi.

Huoneenlämmössä säilytettyjen näytteiden pH-korjatut Ca-lon tulokset ovat kaikki laskeneet verrattuna referenssinäytteeseen. Jääkaappisäilytyksessäkin näytteiden pitoisuudet laskivat, mutta näytteen 8 kohdalla ei tapahtunut mitään muutosta. Yleisesti voidaan todeta, että bias% tuloksia tarkastellessa jääkaappisäilytys piti näytteiden tulokset lähempänä referenssituloksia, kuin huoneenlämpösäilytys.

Tutkimuksen kaikista 8 tunnin tuloksista voidaan päätellä, että huoneenlämmössä säilytetyt näytteet säilyivät huonosti. Tuloksista erityisesti pH ja pH-korjattu ionisoitu kalsium eivät säilyneet. Jääkaappisäilytys piti nämä analyytit hie- man parempana 8 tunnin ajan. Näistä pH-korjattu Ca-lon säilyi bias% muutosrajojen sisällä jääkaappisäilytyksessä, mutta biasyksiköiden keskiarvo ylitti annetut rajat, joten näytteet eivät ole hyväksyttävissä.

8.3 pH, Ca-lon ja pH-korjattu Ca-lon 24 tunnin säilytyksessä

Tutkimuksen suurimmat pitoisuusmuutokset todettiin odotetusti 24 tunnin säilytyksen jälkeen. Erityisesti huoneenlämpösäilytys aiheutti muutoksia analyyttien pitoisuuksissa. Bias%- ja biasyksiköiden keskiarvoja pH:n osalta tarkastellessa havaittiin 24 h säilytyksen aiheuttaneen niin suuria eroja verrattuna referenssinäytteisiin, että tulokset eivät pysyneet hyväksyttävissä rajoissa. Vaikka keskimääräisesti molempien säilytystapojen bias%:n keskiarvot ylittivät asetetut rajat, kylmäsäilytys oli pH:lle huomattavasti edukkaampi.

Ca-lon pitoisuuksissa ei havaittu niin selkeitä eroja verrattuna referenssinäytteisiin, kuin kahden muun analyytin kohdalla. Kummankin säilytystavan keskimääräinen bias% ero jäi alle 3 %, mutta biasyksiköiden keskiarvot ylittivät suurimman sallitun eron. Silmiinpistävin eroavaisuus bias%:n keskiarvoja tarkasteltaessa oli se, että ainoastaan 24 h huoneenlämpösäilytyksellä oli positiivinen bias%, ja kaikilla muilla aikaväleillä negatiivinen. Tällöin ionisoitu kalsium pitoisuus siis nousi huoneenlämmössä vuorokaudessa, mutta muilla tavoilla säilytettynä laski tunnin näytteisiin verrattuna.

Tutkimusten tuloksista voitiin melko nopeasti todeta, että 24 tunnin säilytys ei sovi pH-korjatulle ionisoidulle kalsiumille. Ensinnäkin näytteiden 1 ja 13 pH:t muuttuivat huoneenlämmössä niin paljon, ettei analysaattori kyennyt laskemaan näille pH-korjattua tulosta. Lisäksi bias%:n keskiarvot ja biasyksiköiden keskiarvot ylittivät sallitut raja-arvot, jotka ovat bias%:lla 3 % ja biasyksiköillä 0,0036 mmol/l.

Tutkimuksen tuloksista voidaan päätellä, että tutkittavat analyytit säilyvät huonosti kummallakin säilytystavalla 24 tunnin ajan. Varsinkin huoneenlämmössä huomattiin todella selkeitä muutoksia näytteiden pitoisuuksissa. Kylmässä näytteet säilyivät hieman paremmin, mutta silti muutokset olivat liian suuria.

9 EETTISYYS JA LUOTETTAVUUS

Opinnäytetyöprosessin ajan olemme noudattaneen Tutkimuseettisen neuvottelukunnan tutkimuseettisiä ohjeita. Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluvat mm. rehellisyys ja avoimuus (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2019.) Siksi tämä tutkimus on suoritettu rehellisesti eikä saatuja tuloksia ole muokattu. Luotettavuuden edellytys on se, että tutkimus on suoritettu tieteelliselle tutkimukselle annettujen kriteerien mukaan. Tutkimuksen luotettavuutta arvioidaan vakiintuneilla käsitteillä validiteetti ja reliabiliteetti, eli pätevyys ja toistettavuus. Nämä muodostavat yhdessä tutkimuksen kokonaisluotettavuuden. Tutkimusaineistoon kohdistuvia laatuun vaikuttavia virheitä ovat muun muassa käsittely-, mittaus- sekä otantavirheet. (Heikkilä 2014, 176; Vilkkä 2021.)

Tutkimuksen validiteetilla tarkoitetaan sitä, että tutkimus on pätevä mittaamaan sitä, mitä sen on tarkoituskin mitata. Huolellinen suunnittelu on avain pätevään tutkimukseen. Validius varmistetaan tarkoin harkitulla tiedonkeruulla. Lisäksi aineiston tarkka määrittely sekä riittävän edustavan otoksen saaminen tukevat validin tutkimuksen toteutumista. (Heikkilä 2014, 27, 177.) Validiteetti tämän tutkimuksen kohdalla toteutui, koska asetettuihin tutkimuskysymyksiin pystyttiin vastaamaan. Tutkimuskysymyksiin kyettiin vastaamaan, sillä tuloksista lasketut biasyysiköt- ja prosentit sekä tunnusluvut antoivat päteviä vastauksia. Tutkimusprosessissa ilmenneet poikkeamat, niiden johdosta tehdyt toimenpiteet sekä perustelut on kirjattu ylös, joka osaltaan lisää tutkimuksen luotettavuutta.

Reliabiliteetilla puolestaan tarkoitetaan tutkimuksen luotettavuutta antaa toistettavia tuloksia. Tulokset eivät saisi olla sattumanvaraisia. Sisäistä reliabiliteettia voidaan todentaa mittaamalla sama tilastoyksikkö useampaan kertaan. Ulkoinen reliabiliteetti puolestaan kuvastaa sitä, että mittaukset ovat toistettavissa myös toisissa tutkimuksissa. (Heikkilä 2014, 28, 178.) Reliabiliteettia tutkimuksessa lisättiin sillä, että olemme raportoineet työn toteutuksen vaiheet ja ne ovat toistettavissa ulkoisen reliabiliteetin mukaisesti. Lisäksi analysoinnissa käytetty laite on pitkälle automatisoitu ja helppokäyttöinen, joten eri henkilöiden suorittamalla mittauksilla ei ole vaikutusta niiden toistettavuuteen. Tämän tutkimuksen kohdalla

sisäistä reliabiliteettia ei ole mahdollista todentaa käytännön syistä johtuen. Samaa tilastoyksikköä eli tässä tapauksessa samaa näyteputkea ei voitu analysoida useampaan kertaan, ja täten saada samoja tuloksia, sillä näyteputken korkin aukaiseminen muuttaa näytteen pitoisuuksia joutuessaan tekemisiin ilman kanssa. Tässä tutkimuksessa analysoidut näytteet antavat kuitenkin toistuvasti samankaltaisia tuloksia niiden näytteiden välillä, jotka on säilytetty samanlaisissa olosuhteissa.

Eettisyyden kannalta ei ole tarkoituksenmukaista julkaista tutkimukseen osallistuneiden henkilöiden tietoja niin, että heidät voisi tunnistaa. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2019). Työn eettisyyden takaamiseksi kaikki näytteet tähän työhön kerättiin vapaaehtoisilta, eikä heidän henkilötietojaan ole kerätty muistiin. Kaikki näytteet koodattiin anonyymeillä numerosarjoilla, joita ei pysty jäljittämään yhteenkään yksittäiseen henkilöön. Kerätyt verinäyteputket hävitettiin biologisen jätteen mukana tulosten saamisen jälkeen.

Eettiset toimikunnat hyödyntävät arviointityönsä lähtökohtana ihmiseen kohdistuvan tutkimuksen eettisiä periaatteita, ja tutkimuksen saa aloittaa vasta sitten, kun eettinen toimikunta on antanut myönteisen lausunnon. Tays:in alueellinen eettinen toimikunta antaa lausuntoja Pirkanmaan sairaanhoitopiirissä ja sen vastuualueilla, johon lukeutuu myös EPSHP:n sairaanhoitopiiri. Eettisen toimikunnan lupaa tarvitaan, mikäli mielitään tehdä potilaisiin kohdistuvaa tutkimusta. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2019; Tays 2020; EPSHP n.d.) Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirissä ei ammattikorkeakoulujen opiskelijoille myönnetä lupia potilaita koskeviin tutkimuksiin. Tämän työn aineisto kerättiin henkilökunnalta. Hallintoylihoitaja myöntää luvat opinnäytetöihin, jota ennen on työstä täytynyt tehdä hyväksytty suunnitelma kustannuserittelyineen, tiedote tutkimukseen osallistuville sekä allekirjoitettu opinnäytetyösopimus. Opinnäytetyöllä tulee olla myös nimetty yhteyshenkilö EPSHP:stä, joka ohjaa ja neuvoa tekijöitä mm. käytännön järjestelyissä. (EPSHP 2015.) Tämän tutkimuksen yhteyshenkilönä on toiminut ylikemisti Kari Åkerman.

Tutkimukseen tarvittavat näytteet suurimmaksi osaksi olemme ottaneet itse, pois lukien kolmen henkilön näytteet, jotka on otettu eri näytteenottajien toimesta. Näytteenottajien toimintatavat saattavat erota toisistaan joiltain osin, esimerkiksi

staasin käyttöaika voi vaihdella. Näytteenantajilta ei edellytetty paastoa tutkimukseen. Preanalyyttisten ohjeiden mukainen 15 minuutin istuminen ja verenkierron tasaantuminen ei ennen näytteenottoa toteutunut (Matikainen ym. 2016, 22). Analysoinnin suoritimme kokonaan itse, jolloin pystyimme havaitsemaan mahdolliset poikkeamat analysointivaiheessa.

Tutkimuksen luotettavuutta olisi lisännyt se, että otos olisi ollut suurempi. Nyt näytteet kerättiin 25 henkilöltä, joista 23:n näytteet hyväksyttiin mukaan tutkimukseen. Tällä otoskoolla saatiin kuitenkin esiin havaittavia eroja.

10 POHDINTA

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää huoneenlämmössä sekä jääkaapissa sentrifugoimattomana säilytetyn näytteen käyttömahdollisuutta Ca-Ion määrityksessä. Tutkimuksen tarkoituksena oli verrata 4, 8 ja 24 tunnin ajan sentrifugoimattomana säilytettyjä näytteitä tunnin sisällä sentrifugoituun näytteeseen. Lisäksi vertailtiin huoneenlämmössä säilytettyjä näytteitä jääkaapissa säilytettyihin. Aineiston analysoinnissa keskityttiin biasprosentteihin sekä biasyksiköihin, joilla saatiin selvitettyä kunkin aikavälin pitoisuuksien eroavaisuuksia verrattuna yhden tunnin referenssinäytteisiin. Tutkimuksesta saatujen tulosten perusteella voidaan todeta, että opinnäytetyöhön asetettuihin tutkimuskysymyksiin saatiin vastaukset, ja tavoite sekä tarkoitus toteutuivat. Tutkimuksesta saatuja tuloksia verrattiin teorian tietoon, jolloin todettiin niiden olevan yhteneväisiä sekä johdonmukaisia. Tutkimuksen aikana kuitenkin havaittiin, että 4 ja 8 tunnin kylmäsäilytys aiheutti joidenkin näytteiden kohdalla pH:n nousua. Tähän ei löytynyt selitystä teoriasta, joten tulos on mielenkiintoinen.

Opinnäytetyöprosessi sujui suunnitellun aikataulun mukaisesti kokonaisuudessaan. Tutkimuksessa käytetty aineisto onnistuttiin keräämään ja näytteet analysoimaan laitteilla kolmessa päivässä. Työn kirjoittaminen tapahtui vuoden 2021 aikana. Itse aineiston analysointi vaati meiltä erityisesti tilastomatematiikan käsitteisiin ja käyttöön tutustumista sekä taulukkolaskentaohjelma Excelin käytön kertausta. Haastava osuus prosessissa oli onnistua koostamaan olennainen teoriaosuus saatavilla olevista, jopa osittain iäkkäistäkin lähteistä.

Suuremmalla otoskoolla toteutettu tutkimus olisi tuonut työhön lisää luotettavuutta, ja täten saaduille tuloksille lisää vahvistusta. Näytteiden säilytyslämpötilat jäivät mittamaatta työn ohessa, ja tämä seikka olisi tuonut työn luotettavuuteen myös osaltaan lisää arvoa.

Tutkimuksen perusteella laboratorio-ohjeistusta Ca-Ion tutkimuksen kohdalla ei ole syytä muuttaa, sillä pH säilyy huonosti jopa 4 tunnin ajan varsinkin huoneenlämmössä säilytetyissä putkissa. Siksi jääkaappisäilytyksen lisätutkimisella voitaisiin saada lisää tietoa siitä, voitaisiinko näyteputkea säilyttää kylmässä sen

sentrifugointiin asti. Toisaalta potentiaalisena jatkotutkimusaiheena voisi olla vastaava tutkimus, jossa keskityttäisiin lyhyempiin säilytysaikoihin. Näin saataisiin tietoa siitä, mihin aikapisteeseen asti näytteet pysyvät lähes muuttumattomina, kun verrataan tunnin sisällä sentrifugoituun näytteeseen. Eräänä jatkotutkimusaiheena voitaisiin keskittyä vain pelkän pH:n säilymiseen, sillä se oli tämän tutkimuksen aikana eniten muuttuva analyytti, ja jonka muutos vaikuttaa koko S-Ca-lon tutkimuksen tuloksiin.

LÄHTEET

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

Burnett, R. W., Christiansen, T. F., Covington, A. K., Fogh-Andersen, N., Külpmann, W. R., Lewenstam, A., Maas, A. H. J., Müller-Plathe, O., Sachs, C., Siggaard-Andersen, O., VanKessel, A. L. & Zijlstra, W. G. 2000. IFCC Recommended Reference Method for the Determination of the Substance Concentration of Ionized Calcium in Undiluted Serum, Plasma or Whole Blood. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 38 (12), 1302– 1303.

Burtis, C. A. & Bruns, D. E. 2015. Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics. 7. painos. St. Louis, Missouri: Saunders.

Eskelinen, S. 2016. Kalsium (P-Ca, Ca-albk ja Ca-Ion). Terveyskirjasto Duodecim. Julkaistu 30.6.2016. Luettu 22.1.2021. https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03063

EPSHP. 2015. Ammattikorkeakoulujen terveystieteen opintokokonaisuuden opinnäytetyöt Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiirin sairaaloissa ja toimintayksiköissä. Julkaistu 2.4.2015. Luettu 12.11.2021. https://www.epshp.fi/files/7434/Ammattikorkeakoulujen_opinnaytetöitä_koskeva_ohje.pdf

EPSHP. 2016. Laboratorio-ohjekirja. Kalsium, ionisoitunut. Päivitetty 25.1.2016. Luettu 4.2.2021. <http://81.209.127.193/labraohje/labraohje.asp?tutkimus=2019>

EPSHP. 2020. Laboratorio-ohjekirja. Kalsium, albumiinikorjattu, plasmasta. Päivitetty 5.8.2020. Luettu 4.2.2021. <http://81.209.127.193/labraohje/labraohje.asp?tutkimus=9219>

EPSHP. 2021. Työohje. Verinäytteiden ottaminen koti- ja laitoshoidossa. Päivitetty 11.1.2021. Luettu 20.8.2021. https://www.epshp.fi/files/12502/Verinäytteiden_ottaminen_koti-_ja_laitoshoidossa_1.7.pdf

EPSHP. N.d. Tutkimusluvut. Luettu 12.11.2021. https://www.epshp.fi/sairaanhoitopiiri/tutkimus- ja_kehittämistoiminta/tieteellinen_tutkimus/tutkimusluvut

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

Hiltunen, E., Linko, L., Hemminki, S., Hägg, M., Järvenpää, E., Saarinen, P., Simonen, S. & Kärhä, P. 2011. Laadukkaan mittaamisen perusteet. Julkaisu J4/2011. Metrologian neuvottelukunta ja Mittatekniikan keskus. Espoo. <https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/MIKES/2011-J4.pdf>

Huupponen, R. & Savontaus, E. 2018. Kalsiumin aineenvaihduntaan vaikuttavat lääkkeet. Teoksessa Ruskoaho, H., Hakkola, J., Huupponen, R., & Anttila, V. Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia. 5. uud. painos. Kustannus Oy Duodecim. Luettu 18.1.2021. Vaatii käyttöoikeuden. <https://www.oppiportti.fi/op/ift00329/do>

Kurec, A. 2016. Proper patient preparation, specimen collection, and sample handling are critical to quality care. Julkaistu 22.12.2016. Luettu 16.8.2021. <https://www.mlo-online.com/diagnostics/specimen-collection/article/13008896/proper-patient-preparation-specimen-collection-and-sample-handling-are-critical-to-quality-care>

Käypähoito. 2020. Osteoporoosi. Julkaistu 8.12.2020. Luettu 12.10.2021. <https://www.kaypahoito.fi/hoi24065>

Lippi, G., Cervellin, G., Favaloro, E.-J. & Plebani, M. 2012. In Vitro and In Vivo Hemolysis: An Unresolved Dispute in Laboratory Medicine. Berlin: De Gruyter (Patient Safety). Luettu 6.9.2021. <https://search.ebscohost-com.lib-proxy.tuni.fi/login.aspx?direct=true&AuthType=cookie,ip,uid&db=e000xww&AN=494124&site=ehost-live&scope=site>

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

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

Mediq. 2013. BD Vacutainer SST II Advance -seerumigeeliputki. Luettu 14.8.2021. <https://tuoteluettelo.mediq.fi/n349386/bd-vacutainer-sst-ii-advance--seerumigeeliputki>

Metsävainio, K. & Saha, H. 2020. Kalsiumin aineenvaihdunta, hypo- ja hyperkalsemia. Teoksessa Ala-Kokko, T., Alahuhta, S., Hyppölä, H., Kaartinen, J., & Savolainen, T. Peruselintoimintojen häiriöt ja niiden hoito. 3. uud. painos. Kustannus Oy Duodecim. Luettu 4.2.2021. Vaatii käyttöoikeuden. <https://www.oppi-portti.fi/op/phh00145/do>

Mustajoki, P. 2020. Kalsium - liikaa (hyperkalsemia) tai liian vähän (hypokalsemia) veressä. Terveyskirjasto Duodecim. Julkaistu 5.2.2020. Luettu 22.1.2021. https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00025

Radiometer. 2014. ABL90 Flex. Reference manual.

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

Ross, A. C. Taylor, C. L. Yaktine, A. L. & Del Valle, H. B. 2011. Dietary Reference Intakes Calcium, Vitamin D. Washington, DC: National Academies Press. Luettu 22.1.2021. Vaatii käyttöoikeuden. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/tampere/reader.action?docID=3378769&query=>

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

Saha, H. 2020. Kalsiumin aineenvaihdunta, hypo- ja hyperkalsemia. Teoksessa Ala-Kokko, T., Alahuhta, S., Hyppölä, H., Kaartinen, J., & Savolainen, T. Peruselintoimintojen häiriöt ja niiden hoito. 3. uud. painos. Kustannus Oy Duodecim. Luettu 4.2.2021. Vaatii käyttöoikeuden. <https://www.oppiportti.fi/op/phh00088/do>

Shore, A., Booker, J., Sagnella, G., Markandu, N. & MacGregor, G. 1987. Serum Ionized Calcium and pH. Journal of Hypertension, 5 (4), 499–506. Vaatii käyttöoikeuden. <https://oce-ovid-com.libproxy.tuni.fi/article/00004872-198708000-00017/HTML>

Tays. 2020. Eettinen toimikunta. Päivitetty 18.11.2020. Luettu 12.11.2021. https://www.tays.fi/fi-FI/Tutkimus_ja_kehittaminen/Eettinen_toimikunta

Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. 2019. Terveellinen ruokavalio. Päivitetty 25.2.2019. Luettu 28.1.2021. <https://thl.fi/fi/web/elintavat-ja-ravitsemus/ravitsemus/ravitsemus-ja-terveys/terveellinen-ruokavalio>

Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2019. Ihmiseen kohdistuvan tutkimuksen eettiset periaatteet ja ihmistieteiden eettinen ennakkoarviointi Suomessa. Luettu 11.11.2021. https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/Ihmistieteiden_eettisen_ennakkoarvioinnin_ohje_2019.pdf

Uotila, L. 2014. Kalsium-määritys: Kokonaiskalsium, albumiini korjattu vai ionisoitu? Moodi 2/2014, 56–58.

Vilka, H. 2021. Tutki ja kehitä. 5. päivitetty painos. Jyväskylä: PS-kustannus.

Väisänen, S., Metsävainio, K. & Romppanen, J. 2006. Preanalyttisistä virheistä verikaasuanalysaattoreilla tehtävissä analyyseissä. Finnanest, 121–123. Luettu 7.9.2021. http://finnanest.fi/files/a_vaisanen.pdf

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

LIITTEET

Liite 1. Tiedote tutkimuksesta

Teitä pyydetään mukaan tutkimukseen, joka käsittelee ionisoituneen kalsiumin säilymistä sentrifugoimattomassa näytteessä. Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää huoneenlämmössä sekä jääkaapissa sentrifugoimattomana säilytetyn näytteen käyttömahdollisuutta Ca-ion määrittämisessä.

Opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää vertaamalla ohjeistuksen mukaisesti käsiteltyä näytettä sentrifugoimattomana säilytettyjen näytteiden tulostasoihin 4 tunnin, 8 tunnin ja 24 tunnin ajalta. Lisäksi tarkoituksena on verrata, vaikuttaako kylmäsäilytys fuugaamattomana säilytettyjen putkien tulostasiin verrattuna ohjeistuksen mukaiseen näytteeseen.

Tähän tutkimukseen osallistuminen on vapaaehtoista, ja suostumuksen voi perua missä vaiheessa tahansa. Tavoitteenamme on kerätä näytteitä 25 henkilöltä. Näytteitä tutkimukseen kerätään maanantaina 1.3.2021 ja tiistaina 2.3.2021. Tutkimukset suoritamme EPSHP:n kliinisen kemian laboratoriossa. Suoritamme mittaukset itse.

Tutkimusprosessi kattaa näytteenoton, näytteiden säilyttämisen sekä huoneenlämmössä että jääkaapissa 4,8 ja 24 tunnin ajan. Tuloksia vertaillaan ohjeen mukaisesti säilytetyn näytteen tuloksiin Excel-ohjelman avulla.

Tutkimukseen osallistuvien henkilötietoja ei merkitä ylös missään tutkimuksen vaiheessa anonymiteetin säilyttämiseksi. Näytteistä saadut tulokset koodataan siten, että yksittäisen henkilön näytetietoja ei voida selvittää. Tulokset hävitetään asianmukaisesti opinnäytetyöprosessin päätyttyä. Tulokset säilytetään excel-taulukossa, johon pääsee käsiksi vain salasanan avulla. Tietoja ei luovuteta ulkopuoliselle taholle.

Terveisin,
bioanalyttikko-opiskelijat
Jenni Syrjälä ja Mira Vuolle

jenni.syrjala@seamk.fi

mira.vuolle@seamk.fi

Liite 2. Ca-Ion tutkimuksen näytteenotto-ohjeet (Kemia)

Ca-ion tutkimuksen näytteenotto-ohjeet (Kemia)

1.3-2.3.2021

Näytteenotossa tulisi ottaa 7 täyttä seerumigeeliputkea, jotka merkitään numerotarralla. Hyväksymme näytteiksi kaikki putket, jotka täyttävät teidän normaalit standardinne näytemäärälle. Näytteenottoa varten ei tarvitse paastota. Näytteiden keräämiseen on varattu 2 päivää aikaa, joten kaikkia näytteitä ei tarvitse kerätä samana päivänä. Analysoimme kaikki näytteet itse ja siksi toivomme, että näytteenotot sijoittuvat 06-12 väliselle ajalle.

Tarrat näytteisiin on tulostettu valmiiksi. Numerotarrassa 2 ensimmäistä numeroa kertovat ”henkilöllisyyden” ja viimeinen numero kertoo näytteen säilytysajasta ja -tavasta. Tarroihin tulee merkata näytteenottoaika kuulakärkikynällä. Ohessa on lista, johon voit halutessasi kirjoittaa nimesi. Jos et halua nimeäsi kirjoittaa, merkitse esimerkiksi X listassa siihen kohtaan, mitkä tarrat olet liittänyt näytteisiisi.

Putkien säilytyspaikat kemian laboratoriossa:

011,021,031... = Teline (1h) ABL90Flex laitteen takana

012,022,032 ...= Teline (4h) ABL90Flex laitteen takana

013,023,033...= Teline (8h) ABL90Flex laitteen takana

014,024,034...= Teline (24h) ABL90Flex laitteen takana

015,025,035...= Teline (4h) ”Kylmävarastossa”

016,026,036...= Teline (8h) ”Kylmävarastossa”

017,027,037...= Teline (24h) ”Kylmävarastossa”

Liite 3. Ca-Ion tutkimuksen näytteenotto-ohjeet (Y-laboratorio)

Ca-ion tutkimuksen näytteenotto-ohjeet (Y-laboratorio)

1.3-2.3.2021

Näytteenotossa tulisi ottaa 7 täyttä seerumigeeliputkea, jotka merkitään numerotarralla. Hyväksymme näytteiksi kaikki putket, jotka täyttävät teidän normaalitandardinne näytemäärälle. Näytteenottoa varten ei tarvitse paastota. Näytteiden keräämiseen on varattu 2 päivää aikaa, joten kaikkia näytteitä ei tarvitse kerätä samana päivänä. Analysoimme kaikki näytteet itse ja siksi toivomme, että näytteenotot sijoittuvat 06-12 väliselle ajalle.

Tarrat näytteisiin on tulostettu valmiiksi. Numerotarrassa 2 ensimmäistä numeroa kertovat ”henkilöllisyyden” ja viimeinen numero kertoo näytteen säilytysajasta ja -tavasta. Tarroihin tulee merkata näytteenottoaika kuulakärkikynällä. Ohessa on lista, johon voit halutessasi kirjoittaa nimesi. Jos et halua nimeäsi kirjoittaa, merkitse esimerkiksi X listassa siihen kohtaan, mitkä tarrat olet liittänyt näytteisiisi. Haemme itse näytteitä tunnin välein analysoitavaksi, joten teidän ei tarvitse niistä huolehtia.

Putkien säilytyspaikat Y-laboratoriossa:

- 161,171,181...= Laboratorion takakäytävällä teline (Ca-ion tutkimus)
- 162,172,182...= Laboratorion takakäytävällä teline (Ca-ion tutkimus)
- 163,173,183...= Laboratorion takakäytävällä teline (Ca-ion tutkimus)
- 164, 174, 184...= Laboratorion takakäytävällä teline (Ca-ion tutkimus)
- 165, 175, 185...= Jääkaappiin telineeseen (Ca-ion tutkimus)
- 166, 176, 186...= Jääkaappiin telineeseen (Ca-ion tutkimus)
- 167,177,187...= Jääkaappiin telineeseen (Ca-ion tutkimus)

Liite 4. pH tutkimustulokset näytteittäin

näytenu- mero	1h	4h	8h	24h	4h jää- kaapissa	8h jää- kaapissa	24h jää- kaapissa
1	7,382	7,340	7,309	7,171	7,388	7,389	7,346
2	7,438	7,396	7,374	7,309	7,443	7,45	7,422
3	7,502	7,427	7,39	7,301	7,463	7,453	7,419
4	7,409	7,351	7,322	7,262	7,419	7,399	7,362
5	7,42	7,357	7,331	7,258	7,404	7,401	7,377
6	7,399	7,388	7,352	7,296	7,44	7,431	7,407
7	7,387	7,385	7,352	7,296	7,407	7,389	7,387
8	7,356	7,330	7,304	7,234	7,385	7,381	7,355
9	7,392	7,371	7,335	7,269	7,395	7,388	7,365
10	7,385	7,349	7,323	7,241	7,379	7,38	7,355
11	7,409	7,365	7,339	7,278	7,404	7,406	7,38
12	7,428	7,397	7,367	7,257	7,437	7,439	7,405
13	7,377	7,339	7,308	7,19	7,396	7,388	7,368
14	7,346	7,335	7,304	7,259	7,376	7,379	7,347
15	7,417	7,38	7,326	7,225	7,401	7,397	7,378
16	7,375	7,341	7,304	7,24	7,39	7,374	7,35
17	7,408	7,359	7,31	7,256	7,46	7,419	7,396
18	7,372	7,342	7,316	7,271	7,386	7,378	7,356
19	7,383	7,369	7,353	7,292	7,415	7,406	7,378
20	7,38	7,351	7,327	7,272	7,412	7,397	7,376
21	7,38	7,34	7,311	7,239	7,382	7,375	7,353
22	7,389	7,353	7,325	7,251	7,395	7,39	7,363
23	7,413	7,367	7,338	7,276	7,409	7,397	7,373
Keskiarvot	7,398	7,362	7,331	7,258	7,408	7,400	7,375

Liite 5. Ca-Ion tutkimustulokset näytteittäin (mmol/l)

näyte- numero	1h	4h	8h	24h	4h jää- kaapissa	8h jää- kaapissa	24h jää- kaapissa
1	1,25	1,24	1,24	1,28	1,24	1,23	1,25
2	1,26	1,24	1,24	1,27	1,23	1,22	1,23
3	1,2	1,2	1,2	1,25	1,21	1,2	1,2
4	1,32	1,3	1,31	1,32	1,29	1,29	1,28
5	1,23	1,23	1,23	1,26	1,23	1,22	1,23
6	1,23	1,21	1,22	1,23	1,2	1,19	1,19
7	1,23	1,2	1,22	1,24	1,2	1,21	1,19
8	1,25	1,24	1,25	1,27	1,24	1,23	1,23
9	1,25	1,25	1,25	1,27	1,25	1,25	1,24
10	1,28	1,26	1,27	1,28	1,27	1,26	1,26
11	1,23	1,23	1,24	1,24	1,23	1,22	1,22
12	1,27	1,27	1,28	1,31	1,26	1,25	1,25
13	1,2	1,2	1,19	1,22	1,18	1,18	1,16
14	1,26	1,25	1,25	1,26	1,23	1,22	1,22
15	1,26	1,27	1,29	1,32	1,27	1,26	1,26
16	1,23	1,22	1,23	1,25	1,21	1,22	1,21
17	1,31	1,29	1,29	1,3	1,28	1,29	1,28
18	1,23	1,23	1,23	1,24	1,21	1,2	1,2
19	1,27	1,25	1,26	1,28	1,24	1,23	1,24
20	1,29	1,29	1,29	1,31	1,27	1,26	1,26
21	1,26	1,26	1,26	1,28	1,25	1,26	1,25
22	1,3	1,29	1,29	1,31	1,28	1,27	1,26
23	1,24	1,24	1,25	1,27	1,23	1,24	1,23
Kes- kiarvot	1,254	1,246	1,251	1,272	1,239	1,235	1,232

Liite 6. pH korjatut ca-ion tutkimustulokset näytteittäin (mmol/l)

näytenu- mero	1h	4h	8h	24h	4h jää- kaapiss a	8h jää- kaapiss a	24h jää- kaapiss a
1	1,23	1,2	1,18		1,23	1,22	1,21
2	1,29	1,24	1,22	1,2	1,26	1,25	1,25
3	1,27	1,22	1,19	1,18	1,25	1,23	1,21
4	1,33	1,27	1,25	1,22	1,3	1,29	1,26
5	1,24	1,21	1,19	1,16	1,24	1,22	1,21
6	1,23	1,21	1,19	1,16	1,22	1,21	1,19
7	1,22	1,19	1,19	1,17	1,21	1,21	1,18
8	1,22	1,2	1,19	1,16	1,23	1,22	1,2
9	1,25	1,23	1,21	1,18	1,25	1,24	1,22
10	1,27	1,23	1,21	1,17	1,25	1,25	1,22
11	1,24	1,21	1,2	1,16	1,24	1,23	1,21
12	1,29	1,27	1,25	1,21	1,29	1,28	1,26
13	1,18	1,16	1,13		1,17	1,17	1,14
14	1,22	1,2	1,19	1,17	1,21	1,2	1,18
15	1,27	1,26	1,24	1,2	1,27	1,26	1,24
16	1,22	1,18	1,16	1,14	1,21	1,2	1,18
17	1,31	1,27	1,22	1,2	1,33	1,3	1,28
18	1,21	1,19	1,18	1,15	1,2	1,18	1,18
19	1,26	1,23	1,23	1,21	1,25	1,24	1,23
20	1,28	1,26	1,24	1,22	1,27	1,26	1,24
21	1,26	1,22	1,2	1,17	1,24	1,24	1,21
22	1,29	1,26	1,24	1,21	1,27	1,26	1,24
23	1,25	1,22	1,2	1,19	1,24	1,23	1,21
Keskiarvot	1,253	1,223	1,204	1,182	1,245	1,234	1,215

Liite 7. Lasketut bias%- tulokset verrattuna referenssinäytteiden pH-tuloksiin

näytenu- mero	4h vrt 1h bias%	8h vrt 1h bias%	24h vrt 1h bias%	4h jääk. Vrt 1h bias%	8h jääk. Vrt. 1h bias%	24h jääk. Vrt 1h bias%
1	-0,569	-0,989	-2,858	0,081	0,095	-0,488
2	-0,565	-0,860	-1,734	0,067	0,161	-0,215
3	-1,000	-1,493	-2,679	-0,520	-0,653	-1,106
4	-0,783	-1,174	-1,984	0,135	-0,135	-0,634
5	-0,849	-1,199	-2,183	-0,216	-0,256	-0,580
6	-0,149	-0,635	-1,392	0,554	0,432	0,108
7	-0,027	-0,474	-1,232	0,271	0,027	0,000
8	-0,353	-0,707	-1,659	0,394	0,340	-0,014
9	-0,284	-0,771	-1,664	0,041	-0,054	-0,365
10	-0,487	-0,840	-1,950	-0,081	-0,068	-0,406
11	-0,594	-0,945	-1,768	-0,067	-0,040	-0,391
12	-0,417	-0,821	-2,302	0,121	0,148	-0,310
13	-0,515	-0,935	-2,535	0,258	0,149	-0,122
14	-0,150	-0,572	-1,184	0,408	0,449	0,014
15	-0,499	-1,227	-2,589	-0,216	-0,270	-0,526
16	-0,461	-0,963	-1,831	0,203	-0,014	-0,339
17	-0,661	-1,323	-2,052	0,702	0,148	-0,162
18	-0,407	-0,760	-1,370	0,190	0,081	-0,217
19	-0,190	-0,406	-1,233	0,433	0,312	-0,068
20	-0,393	-0,718	-1,463	0,434	0,230	-0,054
21	-0,542	-0,935	-1,911	0,027	-0,068	-0,366
22	-0,487	-0,866	-1,868	0,081	0,014	-0,352
23	-0,621	-1,012	-1,848	-0,054	-0,216	-0,540
keskiarvot	-0,478	-0,897	-1,882	0,141	0,035	-0,310

Liite 8. Lasketut bias%-tulokset verrattuna referenssinäytteiden ca-ion tuloksiin

näytenu- mero	4h vrt. 1h bias%	8h vrt. 1h bias%	24h vrt. 1h bias%	4h jääk. vrt. 1h bias%	8h jääk. vrt. 1h bias%	24h jääk. Vrt 1h bias %
1	-0,800	-0,800	2,400	-0,800	-1,600	0,000
2	-1,587	-1,587	0,794	-2,381	-3,175	-2,381
3	0,000	0,000	4,167	0,833	0,000	0,000
4	-1,515	-0,758	0,000	-2,273	-2,273	-3,030
5	0,000	0,000	2,439	0,000	-0,813	0,000
6	-1,626	-0,813	0,000	-2,439	-3,252	-3,252
7	-2,439	-0,813	0,813	-2,439	-1,626	-3,252
8	-0,800	0,000	1,600	-0,800	-1,600	-1,600
9	0,000	0,000	1,600	0,000	0,000	-0,800
10	-1,563	-0,781	0,000	-0,781	-1,563	-1,563
11	0,000	0,813	0,813	0,000	-0,813	-0,813
12	0,000	0,787	3,150	-0,787	-1,575	-1,575
13	0,000	-0,833	1,667	-1,667	-1,667	-3,333
14	-0,794	-0,794	0,000	-2,381	-3,175	-3,175
15	0,794	2,381	4,762	0,794	0,000	0,000
16	-0,813	0,000	1,626	-1,626	-0,813	-1,626
17	-1,527	-1,527	-0,763	-2,290	-1,527	-2,290
18	0,000	0,000	0,813	-1,626	-2,439	-2,439
19	-1,575	-0,787	0,787	-2,362	-3,150	-2,362
20	0,000	0,000	1,550	-1,550	-2,326	-2,326
21	0,000	0,000	1,587	-0,794	0,000	-0,794
22	-0,769	-0,769	0,769	-1,538	-2,308	-3,077
23	0,000	0,806	2,419	-0,806	0,000	-0,806
keskiarvo	-0,653	-0,238	1,434	-1,205	-1,552	-1,761

Liite 9. Lasketut bias%-tulokset verrattuna referenssinäytteiden pH-korjattuihin ca-ion tuloksiin

näytenu- mero	4h vrt. 1h bias%	8h vrt. 1h bias%	24h vrt. 1h bias%	4h jääk. vrt. 1h bias%	8h jääk. Vrt 1h bias%	24h jääk. vrt. 1h bias%
1	-2,439	-4,065		0,000	-0,813	-1,626
2	-3,876	-5,426	-6,977	-2,326	-3,101	-3,101
3	-3,937	-6,299	-7,087	-1,575	-3,150	-4,724
4	-4,511	-6,015	-8,271	-2,256	-3,008	-5,263
5	-2,419	-4,032	-6,452	0,000	-1,613	-2,419
6	-1,626	-3,252	-5,691	-0,813	-1,626	-3,252
7	-2,459	-2,459	-4,098	-0,820	-0,820	-3,279
8	-1,639	-2,459	-4,918	0,820	0,000	-1,639
9	-1,600	-3,200	-5,600	0,000	-0,800	-2,400
10	-3,150	-4,724	-7,874	-1,575	-1,575	-3,937
11	-2,419	-3,226	-6,452	0,000	-0,806	-2,419
12	-1,550	-3,101	-6,202	0,000	-0,775	-2,326
13	-1,695	-4,237		-0,847	-0,847	-3,390
14	-1,639	-2,459	-4,098	-0,820	-1,639	-3,279
15	-0,787	-2,362	-5,512	0,000	-0,787	-2,362
16	-3,279	-4,918	-6,557	-0,820	-1,639	-3,279
17	-3,053	-6,870	-8,397	1,527	-0,763	-2,290
18	-1,653	-2,479	-4,959	-0,826	-2,479	-2,479
19	-2,381	-2,381	-3,968	-0,794	-1,587	-2,381
20	-1,563	-3,125	-4,688	-0,781	-1,563	-3,125
21	-3,175	-4,762	-7,143	-1,587	-1,587	-3,968
22	-2,326	-3,876	-6,202	-1,550	-2,326	-3,876
23	-2,400	-4,000	-4,800	-0,800	-1,600	-3,200
keskiarvo	-2,416	-3,901	-5,997	-0,689	-1,518	-3,044

Liite 10. Lasketut biasyksiköt pH:sta (mmol/l)

näytenu- mero	Bias yksiköt 4h vrt 1h	Bias yksiköt 8h vrt 1h	Bias yksiköt 24h vrt 1h	Bias yksiköt 4h jääk. vrt 1h	Bias yksiköt 8h jääk. Vrt 1h	Biasyksi- köt 24h jääk. vrt 1h
1	-0,04	-0,07	-0,21	0,01	0,01	-0,04
2	-0,04	-0,06	-0,13	0,00	0,01	-0,02
3	-0,08	-0,11	-0,20	-0,04	-0,05	-0,08
4	-0,06	-0,09	-0,15	0,01	-0,01	-0,05
5	-0,06	-0,09	-0,16	-0,02	-0,02	-0,04
6	-0,01	-0,05	-0,10	0,04	0,03	0,01
7	0,00	-0,03	-0,09	0,02	0,00	0,00
8	-0,03	-0,05	-0,12	0,03	0,03	0,00
9	-0,02	-0,06	-0,12	0,00	0,00	-0,03
10	-0,04	-0,06	-0,14	-0,01	0,00	-0,03
11	-0,04	-0,07	-0,13	0,00	0,00	-0,03
12	-0,03	-0,06	-0,17	0,01	0,01	-0,02
13	-0,04	-0,07	-0,19	0,02	0,01	-0,01
14	-0,01	-0,04	-0,09	0,03	0,03	0,00
15	-0,04	-0,09	-0,19	-0,02	-0,02	-0,04
16	-0,03	-0,07	-0,14	0,01	0,00	-0,03
17	-0,05	-0,10	-0,15	0,05	0,01	-0,01
18	-0,03	-0,06	-0,10	0,01	0,01	-0,02
19	-0,01	-0,03	-0,09	0,03	0,02	0,00
20	-0,03	-0,05	-0,11	0,03	0,02	0,00
21	-0,04	-0,07	-0,14	0,00	0,00	-0,03
22	-0,04	-0,06	-0,14	0,01	0,00	-0,03
23	-0,05	-0,08	-0,14	0,00	-0,02	-0,04
keskiarvot	-0,04	-0,06	-0,14	0,01	0,00	-0,02

Liite 11. Lasketut biasyksiköt ca-ion tuloksista (mmol/l)

näytenu- mero	Bias yksiköt 4h vrt 1h	Bias yksiköt 8h vrt 1h	Bias yksiköt 24h vrt 1h	Biasyksi- köt 4h jääk. vrt 1h	Biasyksi- köt 8h jääk. vrt 1h	Bias yksikkö 24h jääk. Vrt 1h
1	-0,01	-0,01	0,03	-0,01	-0,02	0,00
2	-0,02	-0,02	0,01	-0,03	-0,04	-0,03
3	0,00	0,00	0,05	0,01	0,00	0,00
4	-0,02	-0,01	0,00	-0,03	-0,03	-0,04
5	0,00	0,00	0,03	0,00	-0,01	0,00
6	-0,02	-0,01	0,00	-0,03	-0,04	-0,04
7	-0,03	-0,01	0,01	-0,03	-0,02	-0,04
8	-0,01	0,00	0,02	-0,01	-0,02	-0,02
9	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	-0,01
10	-0,02	-0,01	0,00	-0,01	-0,02	-0,02
11	0,00	0,01	0,01	0,00	-0,01	-0,01
12	0,00	0,01	0,04	-0,01	-0,02	-0,02
13	0,00	-0,01	0,02	-0,02	-0,02	-0,04
14	-0,01	-0,01	0,00	-0,03	-0,04	-0,04
15	0,01	0,03	0,06	0,01	0,00	0,00
16	-0,01	0,00	0,02	-0,02	-0,01	-0,02
17	-0,02	-0,02	-0,01	-0,03	-0,02	-0,03
18	0,00	0,00	0,01	-0,02	-0,03	-0,03
19	-0,02	-0,01	0,01	-0,03	-0,04	-0,03
20	0,00	0,00	0,02	-0,02	-0,03	-0,03
21	0,00	0,00	0,02	-0,01	0,00	-0,01
22	-0,01	-0,01	0,01	-0,02	-0,03	-0,04
23	0,00	0,01	0,03	-0,01	0,00	-0,01
keskiarvot	-0,01	0,00	0,02	-0,02	-0,02	-0,02

Liite 12. Lasketut biasyksiköt korjatun pH:n tuloksista (mmol/l)

näytenu- mero	bias yk- siköt 4h vrt 1h	bias yk- siköt 8h vrt 1h	bias yk- siköt 24h vrt 1h	bias yk- siköt 4h jääk. Vrt 1h	bias yk- siköt 8h jääk. Vrt 1h	bias yk- sikö 24h jääk. Vrt 1h
1	-0,030	-0,050		0,000	-0,010	-0,020
2	-0,050	-0,070	-0,090	-0,030	-0,040	-0,040
3	-0,050	-0,080	-0,090	-0,020	-0,040	-0,060
4	-0,060	-0,080	-0,110	-0,030	-0,040	-0,070
5	-0,030	-0,050	-0,080	0,000	-0,020	-0,030
6	-0,020	-0,040	-0,070	-0,010	-0,020	-0,040
7	-0,030	-0,030	-0,050	-0,010	-0,010	-0,040
8	-0,020	-0,030	-0,060	0,010	0,000	-0,020
9	-0,020	-0,040	-0,070	0,000	-0,010	-0,030
10	-0,040	-0,060	-0,100	-0,020	-0,020	-0,050
11	-0,030	-0,040	-0,080	0,000	-0,010	-0,030
12	-0,020	-0,040	-0,080	0,000	-0,010	-0,030
13	-0,020	-0,050		-0,010	-0,010	-0,040
14	-0,020	-0,030	-0,050	-0,010	-0,020	-0,040
15	-0,010	-0,030	-0,070	0,000	-0,010	-0,030
16	-0,040	-0,060	-0,080	-0,010	-0,020	-0,040
17	-0,040	-0,090	-0,110	0,020	-0,010	-0,030
18	-0,020	-0,030	-0,060	-0,010	-0,030	-0,030
19	-0,030	-0,030	-0,050	-0,010	-0,020	-0,030
20	-0,020	-0,040	-0,060	-0,010	-0,020	-0,040
21	-0,040	-0,060	-0,090	-0,020	-0,020	-0,050
22	-0,030	-0,050	-0,080	-0,020	-0,030	-0,050
23	-0,030	-0,050	-0,060	-0,010	-0,020	-0,040
keskiarvot	-0,030	-0,049	-0,076	-0,009	-0,019	-0,038