



## Ca-Ion-näytteiden laatu

### Vajaatäyttöisen putken vaikutus tuloksiin

Emilia Koskinen

Jasmin Laitinen

OPINNÄYTETYÖ

Syksy 2022

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

## TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma

KOSKINEN, EMILIA & LAITINEN, JASMIN:  
Ca-lon-näytteiden laatu  
Vajaatäyttöisen putken vaikutus tuloksiin

Opinnäytetyö 45 sivua, joista liitteitä 8 sivua  
Syyskuu 2022

---

Laskimoverinäytteiden otto vakuumitekniikalla voi aika-ajoin olla haasteellista ja täysien näytemäärien saaminen lähes mahdotonta. S-Ca-lon on päivystyksellinen tutkimus, jonka indikaatioita ovat esimerkiksi kalsiumaineenvaihdunnan häiriöt munuaisten vajaatoiminnassa sekä happo-emästasapainon häiriöissä. Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, voidaanko tulevaisuudessa S-Ca-lon-tutkimus tehdä vajaatäyttöisestä näyteputkesta. Tavoitteena oli vähentää vajaatäyttöisten näyteputkien hylkäämisestä aiheutuvan uusintänäytteenoton lisäkustannuksia, hoidon viivästymistä sekä ylimääräistä vaivaa niin työntekijöille kuin potilaille. Tutkimus on osa Fimlab Laboratoriot Oy:n preanalyyttisten ohjeistusten tarkistamisprosessia ja toimeksiantajana opinnäytetyölle toimi Fimlabin Tampereen klinisen kemian analytiikkalaboratorio Tampereen yliopistollisessa sairaalassa.

Työ on toteutettu kvantitatiivisena eli määrällisenä tutkimuksena. Opinnäytetyössä selvitettiin vakuuminäytteenottotekniikalla otettujen täysien sekä vajaiden (50 % täyttöaste) S-Ca-lon-näytteiden tulosten poikkeavuutta toisistaan. Poikkeavuuksille tehdään tilastanalyysyjä, joilla vajaatäyttöisten näytteiden luotettavuutta voidaan arvioida. Tutkimusmateriaalina toimi 50 näyteparia S-Ca-lon-näytteitä, jotka on kerätty Fimlabin toimesta Tampereen yliopistollisen sairaalan osastonäytteenoton yhteydessä potilaista, joista S-Ca-lon-tutkimus on pyydetty. 50 potilaasta otettiin jokaisesta kaksi näytettä: 50 % vajaatäyttöinen sekä potilasnäyte, joka oli täyttömäärällisesti oikeaoppinen näyte. Näytteet analysoitiin ABL-800-laitteilla ja käsiteltiin yhtenäisesti tulosten verrattavuuden vuoksi. Samasta potilaasta samalla kertaa otettujen näyteputkien (täysi vs. puolikas) suurin sallittu primaarivastausten välinen poikkeama on sairaalakemistin ja ylilääkärin päätöksellä +/- 2 %.

Opinnäytetyöstä saatujen tulosten perusteella todetaan, että putken vajaatäyttöisyydellä on tilastollisesti merkitsevä vaikutus verrattaessa täydestä näyteputkesta saatuihin tuloksiin. Kahden toisistaan riippuvien otosten t-testi osoitti tilastollisesti merkitsevää eroa vajaatäyttöisten ja täysien näyteputkien tulosten välillä. Lisäksi osan näyteparien vastausten välinen ero ylitti asetetun +/- 2 %:n poikkeaman. Opinnäytetyön tulos vahvistaa vallalla olevan vastausmenettelyn Fimlabin laboratoriossa olevan pätevä: vajaatäyttöiset näyteputket hylättävä ja pyydetävä uusintänäytteenotto.

---

Asiasanat: kalsium, pH, ionisoitu kalsium, puskurijärjestelmä, näytteenottoputken vajaatäyttöisyys

## ABSTRACT

Tampere University of Applied Sciences  
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

KOSKINEN, EMILIA & LAITINEN, JASMIN:  
Quality of Ionized Calcium Samples  
Influence of Partially Filled Tubes on Results

Bachelor's thesis 45 pages, appendices 8 pages  
September 2022

---

This thesis is part of the revision of preanalytical instructions in Fimlab Laboratoriot Oy Ltd and the client for this Bachelor's thesis was their laboratory of clinical chemistry. The purpose was to determine if S-Ca-Ion analysis could be done from a partially filled sample tube. The objective was to decrease added expense, delay of treatment and excessive inconvenience for the employees and patients caused by new sampling for rejecting results from partially filled sample tubes.

The study was carried out as quantitative research and examined the deviation between the S-Ca-Ion results of full and partial (50 % filling rate) sample tubes. By analysing the statistical deviation, the reliability of the results of partially filled tubes can be estimated to determine if using an incomplete amount of blood in a sample could be accepted for analysis. The greatest permitted deviation between primary results of samples (full vs. half-filled) taken from same patient simultaneously is  $\pm 2$  % according to the hospital chemist and the senior physician.

Based on the results, the partial filling rate has a statistically significant effect compared to the correct filling rate and its results, in addition, some deviations of the primary results surpassed the permitted  $\pm 2$  %. Based on those facts, an incomplete amount cannot be used in S-Ca-Ion analysis.

---

Key words: calcium, ionized calcium, pH, buffer system, partial filling rate of a sample tube

## SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	6
2	HAPPO-EMÄSTASAPAINO.....	8
	2.1 Elimistön puskurijärjestelmät ja pH .....	8
	2.2 Bikarbonaattipuskuri .....	9
	2.3 Munuaiset ja keuhkot osana puskurijärjestelmää.....	9
3	KALSIUM .....	11
	3.1 Kalsium elimistössä .....	11
	3.2 Kalsiumin säätely .....	11
4	IONISOITU KALSIUM LABORATORIOSSA.....	13
	4.1 Ionisoidun kalsiumin preanalytiikka .....	13
	4.2 Ionisoitu kalsium ja pH .....	14
	4.3 Näytteenotto.....	15
	4.4 Analyysimenetelmä .....	16
5	OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT .....	18
6	MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT JA TUTKIMUKSEN HYPOTEESEIT	19
7	AIKAISEMPAA TUTKIMUSTIETOA .....	22
8	TYÖN TOTEUTUS .....	23
	8.1 Tutkittavien näytteiden keräys ja analysointi .....	23
	8.2 Tulosten käsittely .....	24
9	TULOKSET .....	25
10	TULOSTEN TULKINTA JA JOHTOPÄÄTÖKSET .....	31
11	POHDINTA .....	32
	LÄHTEET .....	35
	LIITTEET .....	38

**LYHENTEET JA TERMIT**

alkaloosi	elimistön emäksisyystila
antikoagulantti	hyytymisenestoaine
asidoosi	elimistön happamuustila
Ca-Ion	ionisoitunut kalsium
IU/ml	international units per milliliter
kompleksoituminen	sitoutuminen
kPa	paineen yksikkö, kilo Pascal
mm ol/l	pitoisuus, millimoolia litrassa
PTH	parathormoni, lisäkilpirauhashormoni

## 1 JOHDANTO

Elimistö tarvitsee kalsiumia toimiakseen. Sillä on elimistössä tärkeä rooli esimerkiksi veren hyytymisreaktioissa sekä lihasten toiminnassa. Lisäksi kalsium on tärkeä luuston rakennusaine. Sitä on elimistössä kolmessa eri muodossa, joista vapaa eli ionisoitunut kalsium (Ca-Ion) on aktiivinen ja muodostaa kattaa noin puolet plasman kokonaiskalsiumista.

Ionisoitunutta kalsiumia (S-Ca-Ion) määritetään kalsiumtasapainon ja kalsiumaineenvaihdunnan häiriöiden yhteydessä. Se on päivystyksellinen tutkimus, jonka indikaatioina ovat muun muassa munuaisten vajaatoiminta johtuen kalsiumaineenvaihdunnan häiriöistä sekä happo-emästasapainon häiriöt. Lisäksi se on yleinen tutkimus tehohoitopotilaista. Näytteiden otossa preanalytiikka on tärkeässä roolissa, näytemäärän tulisi olla oikea ja näyte tulee ehdottomasti olla otettu anaerobisesti. Ionisoitunut kalsium on hyvin herkkä pH muutoksille, ja suurin syy pH muutoksille löytyy näytteen anaerobisesta käsittelystä ja heikosta preanalytiikasta. Elimistön pH on tarkoin säädelty järjestelmä erilaisia puskureita, joita ovat bikarbonaattipuskuri, fosfaattipuskuri, hemoglobiini sekä plasman proteiinit. Munuaiset ja keuhkot toimivat osana puskurijärjestelmiä, ja munuaisten vajaatoiminta onkin yleinen S-Ca-Ion mittauksen pyyntöperuste.

Opinnäytetyön aiheena on näytteenotossa näyteputken vajaatäyttöisyyden vaikutus ionisoituneen kalsiumin tulokseen. Laskimoverinäytteen saaminen laadukkaasti vakuumitekniikalla on joskus haastavaa, ja on tilanteita, joissa täyden täyttöasteen saavuttaminen näyteputkessa tuntuu lähes mahdottomalta. Syitä ovat esimerkiksi pitkäaikaissairaiden potilaiden verisuonten heikennyt kunto sekä arpeumat, jotka johtuvat jatkuvasta verinäytteiden otosta. Myös erilaiset lääkitykset vaikuttavat esimerkiksi potilaan verenpaineeseen, suonten rikkoutumistaipumukseen sekä suonten kykyyn parantua, jotka vaikeuttavat yleisesti vakuumitekniikalla suoritettua näytteenottoa, mutta erityisesti laadukkaan S-Ca-Ion näytteen saamista. Ionisoitu kalsium voidaan määrittää myös kapillaariverestä ihopistosnäytteenä otettuna, mutta johtuen yllä mainituista seikoista koettiin tarpeelliseksi tutkia, olisiko S-Ca-Ion näytteitä ottaa myös vajaatäyttöisinä laskimoverestä.

Opinnäytetyön toimeksiantajana on Fimlab Laboratoriot Oy:n kliinisen kemian analytiikkalaboratorio, joka sijaitsee Tampereen yliopistosairaalan Kaupin kampuksella. Suomessa osa klinisistä laboratorioista hyväksyy vajaita näyteputkia analyysiin kelpaaviksi. Fimlab Laboratoriot Oy:n vastauskäytänteiden mukaisesti vajaatäyttöiset Ca-Ion-näytteet kuitenkin edelleen hylätään, sillä putken vajaatäyttöisyyden epäillään vaikuttavan saatujen tulosten luotettavuuteen.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää, voidaanko tulevaisuudessa mahdollisesti hyväksyä vajaatäyttöinen, 50 % täyttöasteinen näyteputki. Tavoitteena on vähentää vajaatäyttöisen näyteputken hylkäämiskäytännöstä johtuvaa lisätyötä laboratoriossa ja hoitavissa yksiköissä. Jos vajaatäyttöisetkin näyteputket voidaan jatkossa hyväksyä, saadaan hylättyjen näytteiden määrää vähennettyä ja vältetään uusintanäytteenotosta aiheutuvat lisäkustannukset. Myös lisätyö laboratorion työntekijöille ja hoitohenkilökunnalle vähenisi, ja vältettäisiin potilaan mahdollinen hoidon viivästyminen. Opinnäytetyön tutkimuksesta saaduilla tuloksilla voidaan tehdä päätöksiä vallalla olevan vastauskäytännön muuttamiseksi osana preanalyttisten ohjeistusten tarkistamista Fimlabilla.

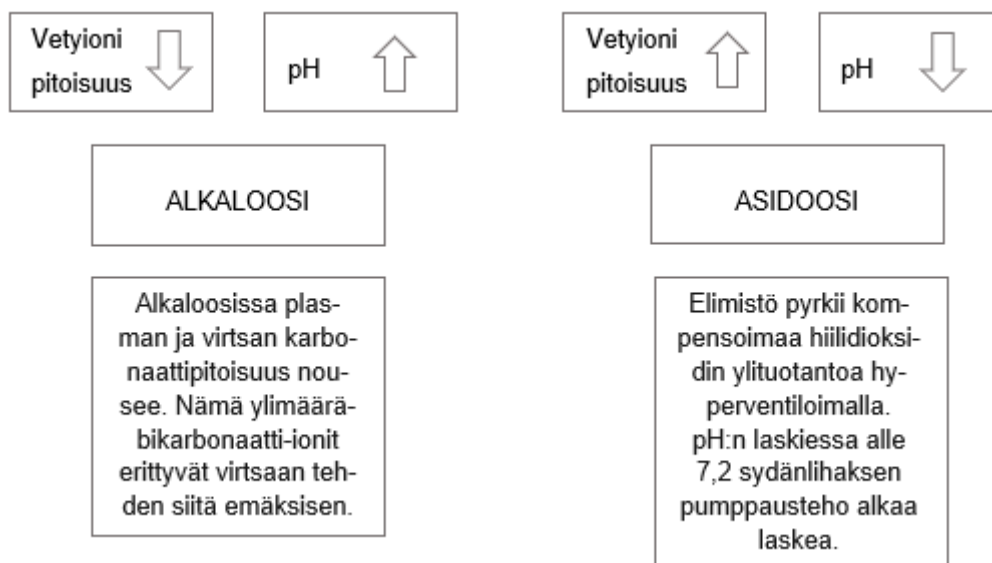
Opinnäytetyössä haetaan vastausta sille, vaikuttaako näyteputken vajaatäyttöisyys Ca-Ion tuloksiin, vai ei. Menetelmänä käytetään kvantitatiivista tutkimusta, eli aineistoa kuvaillaan numeerisesti. Tilastollisten analyysien avulla tutkitaan tulosten välisten erojen tilastollisista merkitsevyyttä. Toisistaan riippuvien otosten vertailu tilastollisesti on tarkkaa ja, kun asetetaan oikeat merkitsevyytasot, voidaan tuloksia vertailla hyvin pienelläkin marginaalilla merkitsevyyden osalta. Lisäksi verikaasuanalytiikasta vastaavan sairaalakemistin sekä ylilääkärin päätöksellä annettiin primaarivastausten suurimmaksi sallituksi poikkeamaksi täyttöasteellisesti vajaiden ja täysien näyteputkien välille  $\pm 2$  %. Tutkimuksesta saatujen tulosten perusteella voidaan päättää, voidaanko vallitsevaa käytäntöä vajaatäyttöisten näyteputkien vastaamisesta muuttaa ja siten vähentää hylättyjen näytteiden määrää.

## 2 HAPPO-EMÄSTASAPAINO

### 2.1 Elimistön puskurijärjestelmät ja pH

Muutokset veren pH:ssa voivat olla hengenvaarallisia, jonka vuoksi elimistön pH on tarkkaan säädelty. Elimistö pitää pH:n välillä 7,35–7,45. Sääteelyyn osallistuu puskuroivia aineita sekä erityselimiä. Elimistössä toimintojen tasapainoa ylläpitävää ja säätelevää moniulotteista järjestelmää sanotaan homeostaasiksi. (Reinikainen 2020)

Veressä on neljä erilaista puskurijärjestelmää: bikarbonaattipuskuri, fosfaattipuskuri, hemoglobiini sekä plasman proteiinit. Puskurijärjestelmät pystyvät sitomaan ylimäärän happoa tai emästä, mutta vain tiettyyn pisteeseen asti. Elimistön puskurijärjestelmien tehtävänä on pitää pH:n muutokset vähäisinä asidoottisen tai alkaloottisen tilan välttämiseksi. Kuviossa 1 on esitetty pH:n muuttumisen vertautuminen asidoosiin ja alkaloosiin. Vetyionipitoisuuden muutos vaikuttaa kaikkien puskurijärjestelmien tasapainoon. Reinikaisen (2020) mukaan pH arvon merkittävästi muuttuessa, proteiinien varaustilaan aiheutuu muutoksia. Vaikutus näkyy entsyymijärjestelmän toiminnassa.



Kuvio 1 Alkaloosin ja asidoosin periaatteet ja aiheuttamat muutokset (kuvio piirretty itse)



## 2.2 Bikarbonaattipuskuri

Bikarbonaattipuskuri on solunulkoisen nesteen merkittävin puskurijärjestelmä. Hiilidioksidia tuotetaan soluhengityksellä ja hiilidioksidin reagoiessa veden kanssa syntyy hiilihappoa. Hiilihapon ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) määrä on verrannollinen hiilidioksidin ( $\text{CO}_2$ ) määrään; mitä enemmän elimistöön kertyy hiilidioksidia, sitä enemmän hiilihappoa tuotetaan. Hiilihappo muodostaa edelleen bikarbonaatti- ( $\text{HCO}_3^-$ ) ja karbonaatti-ioneja ( $\text{CO}_3^{2-}$ ). Bikarbonaatin ja hiilidioksidiosapaineen avulla lämpötilan ollessa  $37^\circ\text{C}$  voidaan määrittää veren pH arvo kaavassa 1 olevan Henderson-Hasselbach-yhtälön mukaisesti:

$$\text{pH} = 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{0,23 \cdot \text{pCO}_2} \quad (1)$$

jossa

$[\text{HCO}_3^-]$  bikarbonaattipitoisuus mmol/l

$\text{pCO}_2$  hiilidioksidiosapaine kPa

Yhtälöstä ilmenee, että pH arvo nousee, kun  $[\text{HCO}_3^-] / \text{pCO}_2$  osamäärä kasvaa. Vastaavasti osamäärän lasku aiheuttaa pH arvon laskun. (Reinikainen 2020)

## 2.3 Munuaiset ja keuhkot osana puskurijärjestelmää

Munuaiset säätelevät elimistön pH:ta erittämällä emäksistä tai vastaavasti hapanta virtsaa. Munuaiset takaisinimevät suodattuneen bikarbonaatin ( $\text{HCO}_3^-$ ) ja myös tuottavat uutta bikarbonaattia. Elimistöön kertyvä ylimääräinen happo on poistettava, jotta pH ei muutu merkittävästi. Munuaisten tubulussolujen erittämät vetyionit sekä glomeruluksissa takaisin suodatunut bikarbonaatti neutraloivat toisensa. Happon-emästasapainon ollessa kohdallaan, vetyionien erityys vastaa bikarbonaatin määrää: vetyioneja erittyy bikarbonaatin määrään verrattuna yhtäläisesti. Vetyionipitoisuuden noustessa munuaiset pystyvät poistamaan pienen osan  $\text{H}^+$  ioneja suoraan. Tällöin bikarbonaatin määrä virtsassa nousee ja virtsasta tulee emäksistä. Esimerkiksi munuaisten vajaatoiminnassa munuaiset eivät pysty säätelemään puskurina toimivan bikarbonaatin takaisinottoa ja kehon happamien kuona-aineiden poisto ei onnistu. Tästä seuraa elimistöön lopulta asidoottinen tila. (Arola 2020)

Respiratorisessa alkaloosissa valtimoveren happiosapaine ( $pO_2$ ) on laskenut ja näin ollen elimistön pH on noussut. Munuaiset kompensoivat alkaloosia, jolloin  $H^+$  ja  $Cl^-$  -eritys vähenee ja  $HCO_3^-$  -ionien erityys virtsaan kasvaa. Toisin sanoen pH:n noustessa elimistö kompensoi tätä hengitystä hidastamalla, jolloin hiilidioksidipaine nousee ja pH saadaan laskettua normaalille tasolle. Toisaalta pH:n laskiessa elimistö pyrkii hyperventilaatiolla eli ylihengityksellä samaan ylimäärän hiilidioksidia ulos elimistöstä, jolla pH saadaan normaalille tasolle. (Reinikainen 2020)

## 3 KALSIUM

### 3.1 Kalsium elimistössä

Elimistö tarvitsee kalsiumia solunsisäisesti sekä -ulkoisesti toimiakseen. Kalsium-ioni on mukana esimerkiksi veren hyytymisreaktiossa vaikuttamalla fibrinin tuotantoon sekä lihasten supistumistyössä. Se on myös välttämätön kationi luuston kehitykselle ja rakenteelle. Kalsium esiintyy elimistössä kolmessa eri muodossa, joista ainoastaan vapaa eli ionisoitunut kalsium (Ca-lon) on biologisesti aktiivinen. Tämä vapaa kalsium muodostaa lähes 50 % plasman kokonaiskalsiumista. Noin 40 % kalsiumista on albumiiniin tai muihin valkuaisaineisiin sitoutuneena, lisäksi kalsiumia on 10 % kompleksoituneena pienimolekyylisten anionien kuten fosfaatin kanssa. Sitoutuneella kalsiumilla ei ole kliinistä merkitystä, koska sillä ei ole biologista vaikutusta. (Metsävainio & Saha 2020)

Vapaa eli ionisoitu kalsium on kalsiumin muoto, joka soluille on helposti saatavilla ja jonka mittaaminen on tarkempi kuvastamaan fysiologista kalsiumtasoa kuin kokonaiskalsium. Ionisoitu kalsium on myös se kalsiumin muoto, joka stimuloi tai estää kalsiumin homeostaasiin liittyviä hormoneita (esim. PTH, D-vitamiini ja kalsitoniini). (University College of Veterinary Medicine n.d.)

### 3.2 Kalsiumin säätely

Verenkierrossa vapaana kiertävän eli ionisoidun kalsiumin tason säilyttäminen kapealla fysiologisella alueella on elimistön normaalin toiminnan kannalta tärkeää. Seerumin kalsiumpitoisuuden säätelyä elimistössä ylläpidetään endokriinisen järjestelmän kautta, jossa D-vitamiinilla, kalsitriolilla sekä lisäkilpirauhashormonilla on merkittävä rooli. (Ross, Taylor, ym. 2011) Lisäkilpirauhashormonin tai D-vitamiinin puutetilat voivat aiheuttaa hypokalsemiaa eli veren kokonaiskalsiumpitoisuuden laskemista liian alhaiseksi. Toisaalta liiallinen lisäkilpirauhashormonin tuotanto elimistössä aiheuttaa yleisimmin veren kalsiumpitoisuuden suurentumista eli hyperkalsemiaa. Joskus syynä voi olla luihin levinnyt syöpä tai harvemmin

elimistön liiallinen D-vitamiinipitoisuus, joka aiheuttaa kalsiumin liiallista imeytymistä elimistöön. (Mustajoki 2020) Ionisoidun kalsiumin määrään elimistössä vaikuttaa myös elimistön happoemästäapaino ja sitä kautta elimistön pH; asidoosissa eli elimistön liiallisessa happamoitumisessa ( $\text{pH} < 7,35$ ) ionisoituneen kalsiumin pitoisuus suurenee, kun taas alkalosisissa eli elimistön liiallisessa emäksisyydessä ( $\text{pH} > 7,45$ ) pitoisuus pienenee. (Mustajoki 2021)

## 4 IONISOITU KALSIUM LABORATORIOSSA

### 4.1 Ionisoidun kalsiumin preanalytiikka

Kalsiumin mittaamisessa preanalytiikka on suuressa roolissa, jotta tuloksia voidaan pitää luotettavina: näytteenottotekniikka, oikea ja oikea-aikainen käsittely sekä käytetyt antikoagulantit. Avainasemassa ovat näyteputket ja niiden sisältämät yleisimmät antikoagulantit. Ionisoitua kalsiumia mitattaessa antikogulantiksi, eli hyytymistä estäväksi lisäaineeksi, valitaan usein balansoitu hepariini, jolla voidaan välttää kalsiumin sitoutumista. Balansoitua hepariinia antikoagulanttina käytetään ruisku- ja kapillaarinäytteissä. Muut näytteenotossa yleisesti käytössä olevat antikoagulantit EDTA ja sitraatti pystyvät kompleksoitumaan vapaan kalsiumin kanssa. Hepariinin pitoisuus verinäytteessä, eli sen suhde verinäytteen verimäärään, tulee olla optimi, sillä hepariinilla on taipumusta sitoa kalsiumia määrästä riippuen; pitoisuus ei saisi ylittää 15 IU/ml. (Hamroun, Pekar ym. 2020 & Boink, Buckley ym. 1991).

Hepariini antikoagulanttina voi kuitenkin aiheuttaa virheitä, jonka vuoksi käytetyn hepariinin tulee olla testattua, menetelmään sopivaa, balansoitua hepariinia. Nestemäistä hepariinia käytettäessä on vaarana näytteen laimeneminen ja siitä johtuva virhe tuloksessa. Vaihtoehtoina on joko pitää hepariinipitoisuus mahdollisimman matalana tai käyttää kuivattua, lyofilioitua hepariinia (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI suositus). Laimennosvirhe aiheuttaa poikkeamaa ionisoidun kalsiumin arvoissa. Lisäksi nestemäisen hepariinin käyttö laimentaessaan näytettä aiheuttaa muutoksia verikaasuanalyytteihin, kuten pH arvoon, joka itsessään vaikuttaa suoraan Ca-lon-arvoon. Toinen virhelähde johtuu hepariinin taipumuksesta sitoa kalsiumia. Hepariinin sitoutuminen vähentää ionisoidun kalsiumin pitoisuutta suoraan verrannollisesti hepariinkonsentraation lisääntyessä. 15IU/ml pitoisuus hepariinia alentaa kalsiumpitoisuutta noin 0,03 mmol/l. Tätä sitoutumista torjumaan kehitettiin käyttöön niin sanottu balansoitu hepariini, joka sisältää sekä litium- että natriumhepariinia ja kalsium kloridia. Balansoidun hepariinin ionisoidun kalsiumin pitoisuus on 1,25 mmol/l, eli keskiarvollisesti aikuisen ihmisen Ca-lon-pitoisuus. Valmiste eliminoi kalsiumin sitoutumisen kyseisellä pitoisuudella, pitoisuuden noustessa ilmenee kliinisesti merkityksetöntä sitoutumista. (Higgins 2007)

Antigoakulanttien sitoutumista, sekä niiden aiheuttamaa vaihtelua Ca-Ion-arvoihin vältetään valitsemalla laskimoverinäytteen näyteputkeksi seerumigeeliputki, sillä se ei sisällä hyytymisenestoaineita. Seerumigeeliputkeen otettu näyte soveltuu säännöllisesti tehtäviin kliinisen kemian analyysiin. Lisäksi seerumigeeliputken geeli toimii suojageelinä, jolla muun muassa pH-arvojen muutos voidaan minimoida muiden Ca-Ion-tuloksiin vaikuttavien muuttujien ohella. Seerumigeeliputken käyttö kuitenkin hidastaa vastauksen valmistumista, sillä käsittelyvaiheessa on odotettava näytteen hyytymistä noin 20–30 minuuttia ennen sentrifugointia (seisotus). (Jafri, Khan & Azeem, 2014.) Näyte sentrifugoidaan mahdollisimman nopeasti, viimeistään 1–2 tunnin kuluttua näytteenotosta. Sentrifugoitu näyte säilyy määrittyskelpoisena avaamattomana, tiiviisti suljetussa seerumigeeliputkessaan jääkaapissa vuorokauden. (Fimlab, ohjekirja).

Näyte tulee ottaa tyhjiöputkeen, sillä CO<sub>2</sub> -vuodot aiheuttavat näytteessä pH muutoksia. Tärkeää on myös analysoida näytteet mahdollisimman nopeasti, jotta anaerobisen aineenvaihdunnan aiheuttamat glykolyysin mahdolliset vaikutukset saataisiin rajattua vain punasoluihin ja leukosyytteihin. (Hamroun, Pekar ym. 2020)

## 4.2 Ionisoitu kalsium ja pH

Elimistön pH vaikuttaa ionisoidun kalsiumin tasoon sen vaikutuksella proteiinien ja muiden anionien komplekseihin. Näytteen kohonnut pH edistää kalsium-albumiini-kompleksien muodostumista ja siten aiheuttaa ionisoidun kalsiumin tason laskua. Toisaalta käänteisesti laskenut pH arvo voi aiheuttaa veren kalsiumin vapaan osan pitoisuuden suurentumista ja johtaa näin kohonneisiin ionisoidun kalsiumin tasoihin.

Ionisoidun kalsiumin ja pH:n välinen korrelaatio on niin ikään vahva; 5 % kalsiumpitoisuuden muutos jokaista 0,1 pH yksikön vaihtelua kohti. Tämä yhteys on kuitenkin todennettu vain pH arvoille välillä 7,2–7,6. (Hamroun, Pekar ym. 2020) Plasmassa pH:n muutokselle on pääasiassa kaksi syytä: hiilidioksidin menetys matalan osapaineen vuoksi sekä glykolyysin aiheuttama laktaattituotanto. Hiilidioksidin menetys vaikuttaa pH:ta nostavasti, kun taas glykolyysi pH:ta laskevasti. (Kallner 1996)

Pääsyy näytteen muuttuneeseen pH arvoon on CO<sub>2</sub> menetys johtuen ei-anaerobisesta käsittelystä sekä glykolyysin aiheuttamasta maitohappotuotannosta (laktaattituotanto) punasoluissa ja leukosyyteissä. Tätä voidaan välttää plasma- tai seeruminäytteiden kohdalla täydellä näyteputkella sekä pitämällä putki suljettuna sentrifugoinnin sekä koko prosessin ajan, kunnes varsinainen mittaus suoritetaan (anaerobinen käsittely, ilmakontaminaatioiden esto). Maitohappojen muodostuminen voidaan minimoida erottelemalla seerumi tai plasma erytrosyyteistä tunnin sisällä näytteenotosta. Boink & Buckleyn mukaan näyte voidaan tasapainottaa hiilidioksidia sisältävällä kaasuseoksella ennen mittausta, jos anaerobinen käsittely ei jostain syystä ole mahdollinen. Suomessa kuitenkin kaasuseoksella tasapainotus ei ole käytäntö.

### 4.3 Näytteenotto

Näytteenotto aloitetaan potilaan tunnistamisella. Ihanteellisessa tilanteessa potilas kertoo nimensä ja henkilötunnuksensa. Mikäli potilas ei ole kykenevä itse ilmaisemaan henkilöllisyyttään, voidaan nimi sekä henkilötunnus tarkistaa potilasrannekkeesta. Kaikki potilaat tunnistetaan tuplatunnistuksella eli näytteenottaja tarkistaa potilaan henkilötiedoista kaksi asiaa, yleisimmin nimi ja henkilötunnus. Potilasrannekkeesta tunnistamisen lisäksi voidaan tuplatunnistamisen apuna käyttää osaston hoitajaa tilanteessa, jossa potilaan ilmaisukyky on rajallinen. (Hotus, 2015)

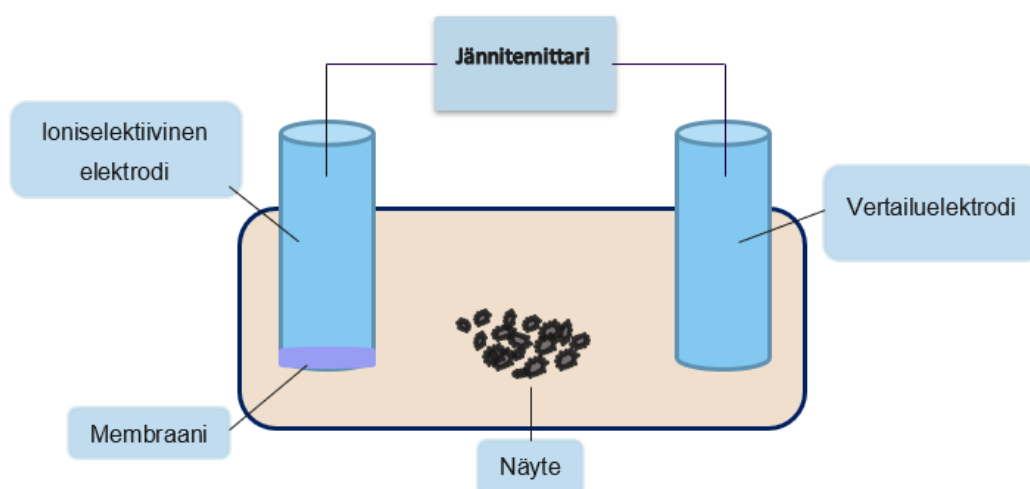
Näyte tulee ottaa anaerobisesti ja mahdollisuuksien mukaan ilman staassia vakuumiseerumigeeliputkeen. Ehdottoman tärkeää näytteenotossa on se, että näytteeseen ei saa päästä ilmaa, joten esimerkiksi avonäytteenotto tekniikkana ei ole käyttökelpoinen. Näyteputken korkkia ei avata ennen analysointia. Näytteenotossa otetaan ensimmäisenä hukkaputki, jos käytetään siipineulaa. Tällä vältetään siipineulan letkusta tulevan ilman joutuminen näyteputkeen. Näytteenoton jälkeen putkea käännettäessä varovasti ylösalaisin (max. 5 kertaa), jonka jälkeen näyte identifioidaan tunnistetarralla.

Vaihtoehtoisesti ionisoitunut kalsium voidaan ottaa ihopistosnäytteenä heparinisoituun veri-kaasukapillaariin päivystystilanteissa tai jos laskimoverinäytteen saanti vakuumitekniikalla on mahdotonta. Näytteeseen ei kuitenkaan saa jäädä ilmakuplia, eikä näyte saa laimentua

kudosnesteellä. Kapillaarinäytteet tulee analysoida kahden tunnin sisällä näytteenottohetkestä. Kapillaarinäytteessä näytteeseen jäänyt ilma ja liiallisesta sormen puristamisesta johtuva kudosneste ovat merkittäviä preanalyttisiä virheitä.

#### 4.4 Analyysimenetelmä

Ionisoidun kalsiumin mittaaminen tapahtuu potentiometrillä käyttäen suoraa ISE-menetelmää (ioniselektiivinen elektrodi) kansainvälisen kliinisen kemian liiton (The International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) suosituksesta. Käytössä on vertailuelektrodi, joka sisältää saturoitua eli kyllästynyttä kaliumkloridia, pH-elektrodin sekä ioniselektiivisen elektrodin, jossa sisäinen vertailuliuos (kalsium- ja natriumkloridiliuoksista) ja standardin mukaisen Ag/AgCl elektrodin. Nestemäinen kalvo, joka sisältää orgaanisen kalsiumia keloivan molekyylin, erottaa ioniselektiivisen elektrodin näytteestä siten, että vain kalsiumkationit kulkeutuvat sen läpi. Kalvon yli kehittyvä näytteen ja vertailuelektrodin välinen potentiaali liittyy logaritmisesti vapaan (ionisoidun) kalsiumin aktiivisuuteen potilasnäytteessä. Ionisoidun kalsiumin pitoisuus näytteessä voidaan johtaa matemaattisesti mitatusta potentiaalista, kalsiumin pitoisuudesta ISE-liuoksessa sekä kalsiumin aktiivisuuskertoimista. Kuitenkin yleensä potilaiden tulokset on johdettu vertaamalla mitattua potentiaalia kalibroituihin liuoksiin, eli standardi kuvaajalla. (Baird 2011) Lisäksi ISE-yksikössä on vetyioneille selektiivinen pH-elektrodi, joka mittaa näytteen pH:ta. Kuviossa 2 on esitetty potentiometriä periaate kaaviona.



Kuvio 2 Ca-Ion määrittämisen periaate, potentiometriä (kuvio piirretty itse)



Ionisoitu kalsium analysoidaan verikaasuanalysointilaitteilla, Fimlab Tampereen kliinisen kemian laboratorioissa käytössä ABL800- ja ABL90 Flex -laitteet. Laitteissa on kaasuja mittaavien elektrodien lisäksi elektrolyyttejä, sekä muita elektrodeja, jotka ovat tarpeellisia tehohoidon tutkimuksille. Analysointilaitteissa on sisäänrakennettu kalibrointi- sekä kontrollointiohjelmisto, ja laaduntarkkailu tapahtuu laitteen sisäisten toimintojen kautta. Laaduntarkkailua käytetään laboratorioissa analysointilaitteiden toiminnan arvioimiseksi ja tällä tavalla varmistetaan analysointilaitteen oikeanlainen toiminta. Säännöllisellä laaduntarkkailulla varmistetaan potilasnäytteistä saatujen tulosten luotettavuus, virheettömyys ja tarkkuus. Osana laaduntarkkailua käytetään kalibrointiprosessia, jonka avulla tarkistetaan ja määritetään se tarkkuus, jolla analysointilaitteet mittaavat parametreja. Kalibroinnit suoritetaan kustakin mitattavasta parametrasta käyttämällä liuoksia ja kaasuja, joissa on tunnettu pitoisuus. Kalibroinnit on ajastettu automaattisesti määrättyin aikaväleihin, jotka valitaan analysointilaitteeseen kohtaisesti. Kalibrointitulokset tallennetaan automaattisesti. Tämän lisäksi käyttäjät voivat suorittaa kalibrointia, milloin vain tarpeen mukaan. (Radiometer. 2019. ABL800 Flex -käyttöopas.)

## 5 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TEHTÄVÄT

Opinnäytetyön tarkoitus on selvittää, vaikuttaako näyteputken vajaatäyttöisyys Ca-Ion-tutkimuksen tuloksiin ja tutkimuksen luotettavuuteen. Tulosten perusteella voidaan päättää, voidaananko muuttaa vallitsevaa käytäntöä ja vähentää hylättyjen näytteiden määrää. Tavoitteena on vähentää lisätyötä laboratoriossa ja hoitavissa yksiköissä, välttää uusintanäytteenotosta johtuvia kustannuksia sekä potilaalle aiheutuvaa vaivaa ja mahdollista hoidon viivästyistä.

Opinnäytetyön kysymysasettelut ovat seuraavat:

- 1) Voidaanko tulevaisuudessa mahdollisesti hyväksyä vajaatäyttöinen (50 %) näyte?
- 2) Vaikuttaako S-Ca-Ion putken vajaatäyttöisyys (50 %) näytteen analyysituloksiin?

## 6 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT JA TUTKIMUKSEN HYPOTEESIT

Opinnäytetyö toteutetaan kvantitatiivisena eli määrällisenä tutkimuksena, joka tarkoittaa sitä, että tutkimuksessa tutkittavaa kohdetta kuvataan numeerisesti. (Heikkilä 2014) Opinnäytetyössä selvitetään vakuuminäytteinä otettujen, vajaaksi jätettyjen S-Ca-Ion näyteputkien vaikutusta saatuihin pH -arvoihin, Ca-Ion-pitoisuuksiin sekä pH -korjattuihin Ca-Ion-pitoisuuksiin. Analysaattorilta saadut tulosteet analysoidaan siis tilastollisesti ja raportoidaan sanallisesti.

Tilastollisilla menetelmillä voidaan selvittää, onko aineiston muuttujien välillä tilastollisesti merkitseviä eroja ja johtuvatko eroavaisuudet esimerkiksi sattumasta. Otoskoko tässä tutkimuksessa on 50 näyteparia, joka voidaan vielä mieltää pieneksi aineistoksi (rajana pidetään 30 muuttujan aineistoa). Koska kyseessä on pieni aineisto, tulee sen jakautuminen ensiksi selvittää; onko aineisto normaalisti jakautunut. Normaalisti jakautuneisuus vaikuttaa tilastollisen testin valitsemiseen. Toisaalta usein ihmisen fysiologiaan liittyvät ominaisuudet voidaan olettaa normaalisti jakautuneiksi. (Almquist, Kwart & Brännström 2019)

Koska aineistossamme on kyse ihmisen fysiologiaan liittyvistä arvoista, sekä aineiston koko on yli 30, ei normaalijakaumaa periaatteessa tarvitsisi selvittää erikseen, vaan se voitaisiin olettaa. Normaalijakauma on jatkuva todennäköisyysjakauma, joka voidaan laskea aineistolle joko tilastosovelluksia hyödyntäen tai käsin yhtälön (2) mukaisesti. Normaalijakauman kaava (Weisstein):

$$P(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-(x-\mu)^2/(2\sigma^2)} \quad (2)$$

jossa

$x$  = satunnaismuuttuja

$\mu$  = keskiarvo

$\sigma^2$  = varianssi

Tässä työssä tutkitaan kahden muuttujan yhteyttä, onko näyteputken vajuudella vaikutusta tuloksiin, kun verrataan täyden näyteputken tuloksiin. Kun halutaan tutkia, vaikuttaako vajaa näyteputki tuloksiin, niin voidaan toimia seuraavasti: valitaan otos ihmisiä, joista otetaan

vertailunäytteet, eli Ca-lon-näyte oikeaoppisesti (täysi täyttöaste) sekä tutkittava eli verrattava näyte, jonka täyttöaste jätetään tarkoituksella, määrätyllä täyttöasteella vajaaksi (50 % täyttöaste). Näytteet käsitellään yhtäläisesti, ja analysoidaan samalla analysaattorilla. Otosjoukon tuloksista lasketaan keskiarvot sekä vertailunäytteiden, että tutkittavien, vajaatäyttöisten näytteiden tuloksista Toisistaan riippuvat otokset näistä tekee se, että kyseessä ovat samat ihmiset, joilta Ca-lon-näytteet on otettu sekä täysimääräisinä, että vajaatäyttöisinä, jolloin ainoa muuttuva parametri on näytteen määrä näyteputkessa. Menetelmää voidaan kutsua myös toistomittaukseksi, kun mittaukset suoritetaan samoille henkilöille.

Keskiarvojen erotuksella voidaan osoittaa vajaan putken vaikutusta tuloksiin; mitä enemmän täysien ja vajaiden putkien keskiarvojen erotus poikkeaa nolasta, sitä enemmän on syytä epäillä vajaan putken vaikuttavan tuloksiin. Pieni poikkeama nolasta voi selittyä otantavirheellä. Keskiarvojen poikkeamalle nolasta voidaan etsiä selitystä toisistaan riippuvien otosten t-testillä. (Almquist ym. 2019) Vastaukseksi siis saadaan, johtuuko poikkeama otantavirheestä vai onko vajaalla putkella osuutta.

Kahden toisistaan riippuvan otoksen t-testistä saadaan ulos testisuure eli t-arvo, jonka lisäksi sitä vastaava merkitsevyysarvo eli p-arvo. (Karjalainen 2010, 220–221)

T-testiä varten pitää tietää, onko aineisto normaalisti jakautunut. Aineiston jakautuneisuus selvitettiin käyttäen SPSS-ohjelman *Explore* -komentoa, sekä Kolmogorov-Smirnoff-testiä. *Explore* tuloksista tarkastellaan ”*Skewness*” -arvoa (ns. g-arvo). Tämän g-arvon ollessa alle 2, voidaan tuloksia pitää normaalisti jakautuneina. Kolmogorov-Smirnoff testillä saadaan määritettyä p-arvo muuttujille, ja sen ollessa yli 0,05 voidaan aineistoa pitää normaalisti jakautuneena. (Reunamo 2015)

Kolmogorov-Smirnoff-testi eli K-S-testi vertaa tietoja tunnettuun, hypoteettiseen todennäköisyysjakaumaan (normaalijakauma) ja kertoo sopiiko aineiston jakautuneisuus tähän; selvitetään, onko aineisto normaalisti jakautunut. Testiä käytetään myös varianssianalyysin normaalisuuden arviointiin. Aineiston jakautuneisuus voidaan selvittää Kolmogorov-Smirnoff-testillä verraten mihin tahansa ennalta tunnettuun jakaumaan. (Glen ym. 2022)

Aineiston ollessa normaalisti jakautunut, voidaan aineistojen välistä tilastollista merkitsevyyttä testata kahden riippuvan otoksen t-testillä. T-testillä saadaan selville muun muassa

kulloinkin tutkitun parin muuttujien välinen korrelaatiokerroin sekä parien erojen keskiarvot ja keskeiset testin tunnusluvut, joita ovat t eli testimuuttujan arvo, df eli vapausasteiden lukumäärä sekä Sig. (2-tailed) eli niin sanottu p-arvo. Tilastollisen merkitsevyyden tulosten välillä katsotaan olevan erittäin merkitsevä, jos p-arvo < 0,001 ja merkitsevä jos p-arvo < 0,010. (Almquist ym. 2019)

Tilastollisten analyysien lisäksi halutaan tarkastella poikkeamia. Suurin sallittu primaarivastausten välinen poikkeama samasta potilaasta samalla kertaa otettujen näyteputkien välillä (täysi vs. puolikas) on +/- 2 %. Mikäli näistä kymmenestä näyteparista saadut poikkeamat eivät asetu +/- 2 % marginaaliin, voidaan todeta arvojen eriävän liiaksi täysien ja vajaiden putkien välillä. Poikkeama laskettiin alla olevan yhtälön (3) mukaisesti Ca-lon-, pH- sekä pH-korjatuilla Ca-lon-arvoilla täysissä ja vajaissa putkissa:

$$\text{Poikkeama} = \frac{\text{arvo(täysi)} - \text{arvo(vajaa)}}{\text{arvo(täysi)}} \cdot 100\% \quad (3)$$

Hypoteesien asettaminen perustuu teorian pohjalta tehtyihin oletuksiin, jotka kirjoitetaan tilastollisesti nollahypoteesiksi ( $H_0$ ) sekä vaihtoehdohypoteesiksi ( $H_1$ ). Nollahypoteesissa muuttujien välillä ei ole eroa, ja vaihtoehdohypoteesissa muuttujien välillä on eroa. Merkitsevyydestason mukaan toinen näistä jää voimaan. (Heikkilä, 2014) Merkitsevyydestasoksi tälle tutkimukselle valittiin 0,01.

Tutkimuskysymyksellä haetaan vastausta siihen, miten arvot pH:lle, ionisoidulle kalsiumille sekä pH-korjatulle ionisoidulle kalsiumille eroavat täysien ja vajaiden näyteputkien välillä. Tällä perusteella asetettiin seuraavat hypoteesit taulukkoon 1:

Taulukko 1 Tutkimuskysymysten mukaiset hypoteesit

$H_0$	Täysissä ja vajaissa vakuumiputkissa Ca-lon -pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-lon-pitoisuuksien välillä ei ole eroa
$H_1$	Täysissä ja vajaissa vakuumiputkissa Ca-lon -pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-lon-pitoisuuksien välillä on eroa

## 7 AIKAISEMPAA TUTKIMUSTIETOA

Eläinlääketieteen puolella 2012 julkaistussa kirjassa Fluid Electrocyte and Acid-Base Disorders in small animal Practice kirjoitetaan vajaasti täyttyneen putken vaikutuksista ionisoituneen kalsiumin tuloksiin. Dibartolan (2012) mukaan vajaatäyttöinen putki vaikuttaa alentavasti ionisoituneen kalsiumin tuloksiin verrattaessa täysistä putkista saatuihin tuloksiin. Näyteputket, joissa oli 50 % ihanteellisesta näytemäärästä saivat 0,04 mmol/l alhaisemmat tulokset ja näyteputket, joissa oli vain 25 % ihanteellisesta näytemäärästä saivat 0,07 mmol/l alhaisemmat tulokset.

Burtis & Bruns (2015) ovat tutkimuksessaan todenneet, että ionisoidun kalsiumin eli vapaan kalsiumin mittaukset on kerättävä ja käsiteltävä anaerobisesti. Prosessin on oltava mahdollisimman nopea, jotta minimoidaan pH:n ja vapaan kalsiumin muutokset hiilidioksidin menetyksestä ja verisolujen metaboliasta johtuen. Näytteen vapaa kalsiumpitoisuus ja todellinen pH on ilmoitettava jokaisessa näytteessä. pH on hyödyllinen apu näytteen asianmukaisen käsittelyn varmistamiseksi. Toisaalta on otettava huomioon, että vapaan kalsiumin korjaaminen pH 7,4 voi olla harhaanjohtava, jos asiakkaalla on alkaloosi tai asidoosi.

## 8 TYÖN TOTEUTUS

### 8.1 Tutkittavien näytteiden keräys ja analysointi

Aineisto kerättiin Fimlab laboratorion toimesta Tampereen yliopistollisen keskussairaalan osastonäytteenoton yhteydessä syyskuussa 2021. Potilailta otettiin 2 näytettä samalla näytteenottokerralla, joista toinen oli normaali potilasnäyte eli täyttömäärällisesti oikeaoppinen näyteputki. Tämän lisäksi otettiin tutkimusta varten vajaatäyttöinen näyteputki, joka oli 50 % oikeaoppisesta näytemäärästä. Laboratorio tutkimuksen toimeksiantajana huolehti potilaiden suostumuksista toimiessaan myös näytteiden kerääjänä. Näytteet otettiin Vacuette 454078 (5/4 ml) seerumigeeliputkiin (näyteputkityyppi saattaa vaikuttaa tuloksiin) anaerobisesti ohjeiden mukaisesti (liite 1). Vajaaseen näyteputkeen tuli merkitä mustalla tussilla puolikas täyttöaste ja putken korkkia ei saanut missään vaiheessa avata. Näytteet sekoitettiin käsin kääntelemällä putkea ylösalaisin max. 5 kertaa, jonka jälkeen näytteet tuotiin näytekäsittelytyöpisteeseen. Näytteiden sekoittamiseen ei käytetty sekoittajaa.

Sentrifugointityöpisteellä näytteiden annettiin hyytyä 30 minuuttia ennen näytteiden sentrifugointia; molempien putkien oikea, ennalta määritelty täyttömäärä tarkistettiin ennen fuugausta. Tässä vaiheessa hylättiin väärin otettu näytteet tutkimuksen osalta, mutta potilasnäyte analysoitiin mahdollisuuksien mukaan. Hylätyt näytteet vietiin verikaasutyöpisteelle vastattavaksi hylättyihin näytteisiin (liite 3). Sentrifugoinnin jälkeen näytepari vietiin verikaasutyöpisteelle. Ehtona analysoinnille oli näyteparin säilyminen identtisinä koko ajan ennen analysointiin saapumista.

Näyteparit analysoitiin Fimlab Tampereen kliinisen kemian verikaasutyöpisteellä työntekijöiden toimesta samalla ABL800-analysaattorilla peräkkäin. Näytepari ajettiin samalla analysaattorilla, jotta mahdollinen laitteiden välinen ero ei vääristä tuloksia. Varsinainen potilasnäyte ajettiin ensimmäiseksi ja vastattiin Laboniin (laboratorion potilastietojärjestelmä). Vajaa putki nimettiin analysaattorille kirjaamalla ”testi + näytenumero”. Analysointien valmistuttua näytteiden tulosteet tulostettiin ja liitettiin nitojalla yhteen, jonka jälkeen tulosteet laitettiin niille nimettyyn kansioon (1 tuloste/muovitasku).

## 8.2 Tulosten käsittely

Tulosten käsittely aloitettiin käymällä analysoitavilta saadut tulosteet läpi silmämääräisesti; tarkasteltiin jo ennalta, onko täysien ja vajaiden putkien tuloksissa odotettavissa heittoa ja mihin suuntaan (nousevatko arvot vai laskevatko arvot putken vajaatäyttöisyyden johdosta). Saaduista tulosteista tehtiin Excel-taulukointi, jossa piirrettiin näytteille kuvaajia (liitteet 5, 6 & 7). Kuvaajatyyppiä valikoitiin palkkikuvaaja, sillä täysien ja vajaiden näyteputkien tulosten vertaaminen silmämääräisesti, sekä asettuminen viitearvoihin nähden on siten helposti tarkasteltavissa.

Tämän jälkeen tiedostolle tehtiin tilastollisia analyysejä SPSS Statistics -ohjelmalla. Tätä varten Exceliin taulukoitu aineisto vietiin SPSS:n. Määritettiin perustunnusluvut: keskiarvot, keskihajonnat sekä vaihteluvälit (minimi ja maksimi) kaikille kolmelle aineistoparille (Ca-Ion vajaissa ja täysissä putkissa, pH täysissä ja vajaissa putkissa, pH-korjattu Ca-Ion täysissä ja vajaissa putkissa). Keskiarvojen erotus aineistoparia kohti laskettiin käsin täysien ja vajaiden putkien tuloksista koskien Ca-Ion-pitoisuutta, pH arvoa sekä pH-korjattua Ca-Ion-pitoisuutta.

Aineiston normaalijakautuneisuus varmistettiin SPSS:llä, jonka jälkeen suoritettiin parittaiten otosten t-testi. Aineistolle ajettu parittaiten otosten t-testi taulukoitiin tutkimukselle relevanttien tulosten osalta. Lopuksi kymmenestä valikoidusta näyteparista tehtiin oma taulukointi, jota käytettiin poikkeamien laskemiseen.



## 9 TULOKSET

Aineisto koostui 50 näyteparin tuloksista. Vertailtavia parametrejä olivat Ca-lon-pitoisuus, pH sekä pH-korjattu Ca-lon-pitoisuus. pH-korjaus tehdään pH-arvolla 7,4. Tilastolliseen analyysiin käytetyt tulokset löytyvät liitteestä 4. Liitteessä 5 on esitetty täysien ja vajaiden putkien Ca-lon-pitoisuudet, liitteessä 6 pH-arvot täysissä ja vajaissa putkissa ja liitteessä 7 pH-korjatut Ca-lon pitoisuudet täysissä ja vajaissa putkissa. Aineistomme todettiin olevan normaalisti jakautunut, sillä kunkin vertailtavan ryhmän (Ca-lon, pH ja pH-korjattu Ca-lon) SPSS-ohjelmassa saatu Skewness g-arvo oli alle 2 ja K-S p-arvo yli 0,05.

Keskiarvoksi täysien putkien Ca-lon-pitoisuuksille saatiin 1,214 mmol/l ja vajaiden putkien pitoisuuksille 1,179 mmol/l. Keskiarvojen erotukseksi laskettiin  $\approx 0,035$  mmol/l. Keskihajonaksi täysille putkille saatiin  $\approx 0,107$  mmol/l ja vajaille 0,103 mmol/l. Kaikki tilastolliset tunnusluvut on ilmoitettu taulukossa 3. SPSS Statisticsilla toisistaan riippuvien otosten t-testillä täysien ja vajaiden putkien Ca-lon pitoisuuksille saaduista tuloksista taulukoitiin taulukkoihin 2 ja 3 tutkimuksen kannalta relevantit tulokset.

Taulukko 2 Parillisten otosten statistiikka, Ca-lon täysissä ja vajaissa putkissa

Statistiikka	Keskiarvo	N	Keskihajonta	Keskihajonnan keskivirhe
Ca-lon, täysi	1,214	50	0,108	0,015
Ca-lon, vajaa	1,179	50	0,104	0,015

Taulukko 3 Parillisten otosten t-testi, Ca-lon täysissä ja vajaissa putkissa

Parillis- ten otosten t-testi	Kes- kiarvo	Keskiha- jonta	Keskihajon- nan keski- virhe	95 % luotta- musväli, ala	95 % luotta- musväli, ylä	t	df	Sig. (2- suuntai- nen)
Ca-lon, täysi – Ca- lon,va- jaa	0,035	0,018	0,003	0,030	0,040	14,018	49	0

Pitoisuuksien keskiarvo vajaissa putkissa oli  $\approx 1,179$  mmol/l (keskihajonta = 0,104, n = 50) erosi täysien putkien keskiarvosta  $\approx 1,214$  mmol/l (keskihajonta 0,108, n = 50). Ero osoittautui riippuvien otosten t-testillä erittäin merkitseväksi:  $t(49) = 14,018$ ,  $p > 0,001$ , 2-suuntainen.

Taulukko 4 Ca-lon-pitoisuuksien tilastolliset tunnusluvut

Ca-lon pitoisuus	Keskiarvo	Keskiarvojen erotus	Keskihajonta	Vaihteluväli (min – max)	p-arvo
Täysi putki	1,214	0,0352	0,108	0,91–1,46	0
Vajaa putki	1,179		0,104	0,88–1,39	

Täysien putkien pH-arvojen keskiarvo oli  $\approx 7,40$  ja vajaiden putkien pH-arvojen keskiarvo  $\approx 7,47$ . Keskiarvojen erotukseksi laskettiin 0,07. Keskihajonta täysien putkien pH:lle oli 0,04 ja vajaiden putkien pH:lle 0,05. SPSS Statisticsilla toisistaan riippuvien otosten t-testillä pH-arvoille saadut tutkimuksen kannalta relevantit tulokset on taulukoitu alle taulukkoihin 5 ja 6. Taulukossa 7 esitetty kaikki pH -arvojen tilastolliset tunnusluvut.

Taulukko 5 Parillisten otosten statistiikka, pH täysissä ja vajaissa putkissa

Statistiikka	Keskiarvo	N	Keskihajonta	Keskihajonnan keskivirhe
pH, täysi	7,40	50	0,04	0,006
pH, vajaa	7,47	50	0,05	0,007

Taulukko 6 Parillisten otosten t-testi, pH täysissä ja vajaissa putkissa

Parillisten otosten t-testi	Keskiarvo	Keskihajonta	Keskihajonnan keskivirhe	95 % luottamusväli, ala	95 % luottamusväli, ylä	t	df	Sig. (2-suuntainen)
pH, täysi – pH, vajaa	-0,063	0,027	0,004	-0,071	-0,055	-16,755	49	0

Vajaiden putkien pH:n keskiarvo  $\approx 7,47$  (keskihajonta  $\approx 0,05$   $n = 50$ ) oli suurempi, kuin täysien putkien pH:n keskiarvo  $\approx 7,40$  (keskihajonta  $\approx 0,04$ ,  $n = 50$ ). Ero osoittautui riippuvien otosten t-testillä erittäin merkitseväksi:  $t(49) \approx -16,76$ ,  $p > 0,001$ , 2-suuntainen.

Taulukko 7 pH-arvojen tilastolliset tunnusluvut

pH	Keskiarvo	Keskiarvojen erotus	Keskihajonta	Vaihteluväli (min -max)	p-arvo
Täysi putki	7,40	0,07	0,044	7,316–7,49	0
Vajaa putki	7,47		0,050	7,36–7,563	

Täysien putkien pH-korjattu Ca-lon-pitoisuuksien keskiarvo oli  $\approx 1,215$  mmol/l ja vajaiden putkien pitoisuuksien keskiarvo  $\approx 1,22$  mmol/l. Keskiarvojen erotukseksi laskettiin 0,0048 mmol/ml. Keskihajonta sekä täysien että vajaiden putkien pH-korjatuille Ca-lon-pitoisuuksille oli 0,097 mmol/l. SPSS Statisticsilla toisistaan riippuvien otosten t-testillä pH-korjatuille Ca-lon-pitoisuuksille saaduista arvoista taulukoitiin tutkimuksen kannalta relevantit tulokset taulukkoihin 8 ja 9. Taulukkoon 10 on kirjattu kaikki pH -korjattuja Ca-lon-pitoisuuksia koskevat tilastolliset tunnusluvut.

Taulukko 8 Parillisten otosten statistiikka, pH-korjattu Ca-lon täysissä ja vajaissa putkissa

Statistiikka	Keskiarvo	N	Keskihajonta	Keskihajonnan keskivirhe
pH-korj. Ca-lon, täysi	1,215	50	0,098	0,014
pH-korj. Ca-lon, vajaa	1,220	50	0,098	0,014

Taulukko 9 Parillisten otosten t-testi, pH-korjattu Ca-lon täysissä ja vajaissa putkissa

Parillis-ten otosten t-testi	Keskiarvo	Keskihajonta	Keskihajonnan keskivirhe	95 % luottamusväli, ala	95 % luottamusväli, ylä	t	df	Sig. (2-suuntainen)
pH-korj. Ca-lon, täysi – pH-korj. Ca-lon, vajaa	-0,005	0,010	0,001	-0,008	-0,002	-3,562	49	0,001

Vajaiden putkien pH -korjattu Ca-lon-pitoisuuksien keskiarvo 1,220 mmol/l (keskihajonta = 0,09791, n = 50) on suurempi, kuin täysien putkien pH-korjattujen Ca-lon-pitoisuuksien keskiarvo 1,2154 mmol/l (keskihajonta = 0,09755, n = 50). Ero osoittautui toisistaan riippuvien otosten t-testillä merkitseväksi:  $t(49) = -3,562$ ,  $p = 0,001 < 0,010$ , 2-suuntainen.

Taulukko 10 pH-korjattujen Ca-lon-pitoisuuksien tilastolliset tunnusluvut

pH -korjattu Ca-lon pitoisuus	Keskiarvo	Keskiarvojen erotus	Keskihajonta	Vaihteluväli (min-max)	p-arvo
Täysi putki	1,215	0,0048	0,098	0,94–1,47	0,001
Vajaa putki	1,220		0,098	0,94–1,47	

Näytteet oletetaan tasalaatuisiksi, sillä ne on otettu, käsitelty ja analysoitu samalla tavalla. Suurin sallittu primaarivastausten välinen poikkeama samasta potilaasta samalla kertaa otettujen näyteputkien välillä (täysi vs. puolikas) on +/- 2 %. Tilastollisen analyysin jälkeen valikoitiin näytepareista kymmenen, joille laskettiin Ca-lon-, pH- ja pH-korjattujen Ca-lon-arvojen erotukset, ja erotuksia verrattiin täysien putkien arvoihin.

Kymmenen satunnaisesti valikoidun näyteparin Ca-lon-, pH- ja pH-korjattujen Ca-lon-arvojen erotukset kirjattu taulukkoon 11, joista lasketut poikkeamat on kirjattu taulukkoon 12. Poikkeaman laskemisessa käytettiin yhtälöä (3):

$$\text{Poikkeama} = \frac{\text{arvo(täysi)} - \text{arvo(vajaa)}}{\text{arvo(täysi)}} \cdot 100\% \quad (3)$$

Taulukko 11 Kymmenen valikoidun näyteparin täysien ja vajaiden putkien erotukset Ca-lon-, pH- ja ph-korjatuille Ca-lon-arvoille

Näyte- pari	Täysi Ca-lon	Vajaa Ca-lon	Erotus Ca-lon	Täysi pH	Vajaa pH	Erotus pH	Täysi korjattu Ca-lon	Vajaa korjattu Ca-lon	Erotus korjattu Ca-lon
N5	1,26	1,22	0,04	7,39	7,441	-0,051	1,25	1,25	0
N10	1,46	1,39	0,07	7,41	7,508	-0,098	1,47	1,47	0
N16	1,39	1,35	0,04	7,366	7,41	-0,044	1,37	1,36	0,01
N20	1,19	1,15	0,04	7,454	7,49	-0,036	1,22	1,21	0,01
N24	1,33	1,34	0,01	7,42	7,432	-0,019	1,35	1,37	0,02
N30	1,28	1,24	0,04	7,443	7,528	-0,095	1,31	1,32	0,01
N40	1,29	1,27	0,02	7,36	7,425	-0,065	1,27	1,29	0,02
N45	1,19	1,18	0,01	7,401	7,421	-0,02	1,19	1,19	0
N49	1,21	1,12	0,09	7,4	7,513	-0,0113	1,21	1,19	0,02

Taulukko 12 Kymmenen valikoidun näyteparin laskennalliset poikkeamat yllä olevan kaavan mukaisesti Ca-lon-, pH- ja pH-korjatuille Ca-lon arvoille

Näytepari	Poikkeama, Ca-lon (%)	Poikkeama, pH (%)	Poikkeama, pH korjattu Ca-lon (%)
N5	3,17	-0,69	0
N10	4,79	-1,32	0
N16	2,88	-0,60	0,73
N20	3,36	-0,48	0,82
N24	0,75	-0,26	1,48
N30	3,125	-1,28	0,76
N40	1,5	-0,88	1,57
N45	0,84	-0,27	0
N49	7,44	-0,15	1,65

## 10 TULOSTEN TULKINTA JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Näytteiden tuloksista määritetyt keskiarvot sekä -hajonnat olivat lähellä toisiaan, pH -korjattujen Ca-Ion-pitoisuuksien erot selkeästi pienempiä, kuin Ca-Ion-pitoisuuksien ilman pH korjausta. Toisistaan riippuvien otosten t-testillä voitiin kuitenkin havaita tilastollisesti merkitseviä eroja täysien ja vajaiden näyteputkien tuloksissa.

Näyteputkien vajaa täyttöaste vaikutti näytteen happamuuteen, pH-arvoon. Vajaisissa putkissa pH oli korkeampi, kuin täysissä putkissa, ja pH-arvojen eroavaisuuden takia vajaatäyttöisen näyteputken Ca-Ion-tulos erosi merkittävästi täyden näyteputken Ca-Ion-tuloksesta. Vajaiden ja täysien putkien keskiarvojen erotus Ca-Ion-, pH- sekä pH-korjatuille Ca-Ion-arvoille poikkesivat nolasta, ei kuitenkaan merkittävästi. Merkittävyyttä selvitettiin kahden rinnakkaisen otoksen t-testillä, jonka mukaan ero osoittautui tilastollisesti merkitseväksi. Taulukosta 9 huomataan, että suurin osa valittujen näyteparien Ca-Ion poikkeamista ylittää sallitun poikkeaman rajan  $\pm 2$  %. Esimerkiksi näyteparin 49 erotus poikkeaa täyden putken arvosta lähes 8 %. pH arvojen sekä pH-korjattujen Ca-Ion arvojen poikkeamat ovat kuitenkin annetun rajan sisällä.

Hypoteeseja asetettiin kaksi, jotka on kirjattu taulukkoon 1. Vaihtoehtoisia lopputulemia olivat siis joko tilanne, jossa näyteparien tulosten välillä ei ole tilastollisesti merkittävää eroa tai tilanne, jossa näyteparien tulosten välillä on eroa. Kahden rinnakkaisen otoksen t-testin tuloksiin nojaten, sekä kymmenen valikoidun näyteparin poikkeamien perusteella, hylkäämme nollahypoteesin, missä täysien ja vajaiden putkien välillä ei ole eroa. Voimaan jää vaihtoehtohypoteesi; täysien ja vajaiden putkien välillä on eroa. Vajaa putki siis vaikuttaa tuloksiin, eikä vajaatäyttöistä näyteputkea voida edelleenkaan hyväksyä käytäntöön.

## 11 POHDINTA

Saatujen tulosten perusteella päädyimme hylkäämään nollahypoteesin; täysissä ja vajaissa vakuumputkissa Ca-Ion-pitoisuuksien, pH-arvojen ja pH-korjattujen Ca-Ion-pitoisuuksien välillä ei ole eroa. Perusteluna hypoteesin hylkäämiselle toimi tilastollisen analyysin tulos kerätylle aineistolle sekä saadut poikkeamat vajaiden ja täysien putkien välillä tulosten välillä.

Nollahypoteesin hylkäys oli odotettavissa jo aiempien tutkimusten sekä aiheeseen linkittyvän teorian perusteella. Boinkin (1991) mukaan Ca-Ion-näyte tulisi ottaa täysimääräisenä näytteenä aina, sillä vajaasta määrästä aiheutuva CO<sub>2</sub> menetys nostaa pH arvoa ja näin ollen vääristää Ca-Ion-pitoisuutta. Higgins (2007) toteaa vajaatäyttöisen putken aiheuttavan myös tilanteen, jossa antikoagulanttipitoisuus suhteessa näytemäärään on väärä, ja hepariinin ollessa kyseessä aiheutuu tästä vääristyneitä Ca-Ion-tuloksia johtuen kalsiumin sitoutumisesta hepariiniin.

Kun käytetään tilastollisia menetelmiä otoksien vertailuun, on mahdollista tehdä hypoteesien hylkäämisen ja hyväksymisen kohdalla virheitä: hylkäämisvirhe (type I error) ja hyväksymisvirhe (type II error). Hylkäämisvirheessä nollahypoteesi hylätään, vaikka se olisi tosi. Hylkäämisvirheen todennäköisyytenä toimii asetettu riskitaso. Hyväksymisvirhe puolestaan tarkoittaa nollahypoteesin hyväksymistä, vaikka se olisi tosi. Todennäköisyydet hylkäämis- ja hyväksymisvirheelle ovat toisistaan riippuvaisia; valitsemalla riskitasoksi erittäin matala 0,01 kasvatetaan hyväksymisvirheen todennäköisyyttä ja päinvastoin. (Tietoarkisto)

Koska tilastoanalyysissä parillisten otosten t-testille käytettiin tässä työssä merkitsevyydestä 0,01 ja sen kautta päädyttiin hylkäämään nollahypoteesi, emme pidä todennäköisenä, että nollahypoteesin hylkäämisen kanssa olisi tehty edellä kuvatus kaltaista virhettä. Lisäksi hypoteesin hylkäämistä tukivat myös kymmenen, satunnaisesti valikoidun näyteparin poikkeamatulokset, jotka eivät sopineet annettuun +/- 2 % marginaaliin.

Analysaattorilta saatuja tulosteita taulukoidessa havaittiin, että osan näytepareista täysien ja vajaiden putkien välillä tuloksissa oli selvästi enemmän heittoa, kuin toisaalta joidenkin



toisten. Alkuperäiset tulosteet käytiin läpi uudelleen ja todettiin, että heittoa tuloksissa ei ole kummassakaan laitteessa toistansa enempää, vaan täysien ja vajaiden putkien tulosten poikkeavat erot näytepareja keskenään verraten ovat tasaisesti jakautuneita analysaattoreiden välillä. Herääkin siis kysymys, mitkä seikat ovat voineet näytteitä analysoitaessa vaikuttaa siihen, että osan näytepareista tulokset heittävät täysien ja vajaiden putkien välillä toisia näytepareja runsaammin. Yleisesti vajaiden putkien Ca-Ion-pitoisuudet olivat pienempiä, kuin täysien putkien Ca-Ion-pitoisuudet. Tähän vaikuttaa suoraan pH; Ca-Ion-pitoisuus laskee, kun pH nousee. Voimme siis valistuneesti pohtia, olisiko näiden näyteparien kohdalla, joiden vajaiden ja täysien putkien tulokset heittävät suhteessa enemmän toisistaan käynyt niin, että näyte on ollut avattuna hieman kauemmin. Tällöin ilmalle altistuminen on nostanut näytteen pH:ta verrattain hieman enemmän ja aiheuttanut tuloksissa näkyvän ”rajumman” aleneman Ca-Ion-arvoihin. Tämä olisi Boinkin ym. (1991) julkaisun mukaan hyvinkin mahdollista.

Koska työssä käsiteltiin potilasnäytteitä ja potilastietoja, oli nämä asiat huomioitava työtä tehdessä. Tässä tilanteessa potilasnäytteistä ja esimerkiksi oikeasta potilaan tunnistuksesta, sekä täysien näyteputkien vastaamisesta potilasnäytteinä huolehti Fimlab Laboratoriot Oy. Näyttemateriaali kerättiin potilaista, joista muutenkin S-Ca-Ion-tutkimus oli pyydetty ja analysaattorilta saadut tulosteet käsiteltiin ilman potilastietoja taulukoimalla juoksevilla numerolla.

Opinnäytetyön näyteparit analysoitiin ABL800-laitteilla johtuen siitä, että ABL90Flex-laitteen näyteneulan liikerata on rajoittunut. Näyteneula ei olisi yltänyt puolikkaan näyteputken seerumipinnan alapuolelle. Toisaalta, koska alueilla käytetään lähinnä ABL90Flex-analysaattoreita, vajaatäyttöisen putken käyttökelpoisuutta olisi voinut tai voisi tulevaisuudessa tutkia kapillaari- tai ruiskutekniikkaa hyödyntäen niillä: vajaatäyttöisestä putkesta otettaisiin seerumia kapillaariin tai ruiskuun (esim. 1 ml ruiskulla), jolla tutkimus suoritettaisiin. Vastaavasti sama täydestä putkesta. Kuitenkin, koska tässä opinnäytetyössä jo todettiin vajaatäyttöisyyden vaikuttavan tuloksiin, ei vastaavalle tutkimukselle enää ABL90Flex-analysaattorille kapillaareja hyödyntäen liene tarvetta. Aihe vaatisi oman opinnäytetyönsä, sillä tutkiminen vaatisi paljon huomioitavaa esimerkiksi laitteiden asetuksiin sekä työskentelynopeuteen liittyen.

Saimme hyvin kerättyä tietoa ionisoituun kalsiumiin liittyvästä teoriasta sekä esimerkiksi elimistön happo–emästasapainosta, joka osittain vaikuttaa Ca-Ion-tuloksiin. Aineiston keräys sujui suhteellisen mutkattomasti, ohjeistusta tarkennettiin kertaalleen, jotta näyteparien tasalaatuinen käsittely voitiin taata paremmin. Tilastollisen analyysin tekemisessä oli hake- mista tutkimusongelmaan sopivan menetelmän kanssa, mutta lopputuloksena saatiin ulos vastauksia, jonka pohjalta nollahypoteesi pystyttiin hylkäämään. Tulosten käsittelyssä ja analysoinnissa käytettiin erilaisia menetelmiä, joilla tilastollista riippuvuutta ja vajaatäyttöi- syyden vaikutusta tuloksiin voitiin todentaa.

## LÄHTEET

A. Hamroun, J-D. Pekar, A. Lionet, A. Ghulam, P. Maboudou, A. Mercier, T. Brousseau, G. Grzych & F. Glowacki, 2020. Ionized calcium: analytical challenges and clinical relevance, Journal of Laboratory and Precision Medicine JLPM. Viitattu 22.10.2021

<https://jlp.amegroups.com/article/view/5652/html>

A Catharine Ross, Christine L Taylor, Ann L Yaktine & Heather B Del Valle, 2011. Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium, Institute of Medicine (US) Committee. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information. National Academies Press (US), Washington DC. Viitattu 18.04.2022

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>

A. B. T. J. Boink, B. M. Buckley, T. F. Christiansen, A. K. Covington, A. H. J. Maas, O. Miiller-Plathe, Ch. Sachs & O. Siggaard-Andersen, 1991. IFC recommendation on sampling, transport and storage for the determination of the concentration of ionized calcium in whole blood, plasma and serum, Journal of Automatic Chemistry. Viitattu 20.10.2021

[https://www.researchgate.net/publication/23388024\\_IFCC\\_Recommendation\\_on\\_Sampling\\_Transport\\_and\\_Storage\\_for\\_the\\_Determination\\_of\\_the\\_Concentration\\_of\\_Ionized\\_Calcium\\_in\\_Whole\\_Blood\\_Plasma\\_and\\_Serum](https://www.researchgate.net/publication/23388024_IFCC_Recommendation_on_Sampling_Transport_and_Storage_for_the_Determination_of_the_Concentration_of_Ionized_Calcium_in_Whole_Blood_Plasma_and_Serum)

Anders Kallner, 1996. Preanalytical Procedures in the Measurement of Ionized Calcium in Serum and Plasma. Department of Clinical Chemistry, Karolinska Hospital, Stockholm, Sweden. Viitattu 15.10.2021 [https://www.researchgate.net/profile/Anders-Kallner/publication/14498386\\_Preanalytical\\_procedures\\_in\\_the\\_measurement\\_of\\_ionized\\_calcium\\_in\\_serum\\_and\\_plasma/links/5654421b08aeafc2aabaf63/Preanalytical-procedures-in-the-measurement-of-ionized-calcium-in-serum-and-plasma.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Anders-Kallner/publication/14498386_Preanalytical_procedures_in_the_measurement_of_ionized_calcium_in_serum_and_plasma/links/5654421b08aeafc2aabaf63/Preanalytical-procedures-in-the-measurement-of-ionized-calcium-in-serum-and-plasma.pdf)

Fimlab, Ohjekirja. Kalsium, ionisoitunut (S-Ca-Ion). Viitattu 11.08.2022 <https://fimlab.fi/tutkimus/6813>

Free ionized calcium, Cornell University College of Veterinary Medicine: eClinpath. Viitattu 22.10.2021 <https://eclinpath.com/chemistry/minerals/ionized-calcium/>

Geoffrey S. Baird, 2011. Ionized calcium, ScienceDirect. Viitattu 15.10.2021 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898111000131?via%3Dihub>

Heikkilä, T. 2014. Tilastollinen tutkimus. Helsinki: Edita. Viitattu 21.10.2021

Hoitotyön tutkimussäätiö, Hotus. 2015. Hoitosuositus. Potilaan ohjaus laboratorionäytteenottoon. Viitattu 25.8.2022 <https://www.hotus.fi/wp-content/uploads/2019/03/naytteenottohs-lyh.pdf>

C. Higgins, 2007. The use of heparin in preparing samples for blood gas analysis. Acute care testing. Viitattu 20.04.2022 <https://acutecaretesting.org/en/articles/the-use-of-heparin-in-preparing-samples-for-blood-gas-analysis>

J. Reunamo, 2015. Pikaohjeita SPSS:lle. Helsinki, Helsingin yliopisto. Viitattu 21.10.2021 <https://www.mv.helsinki.fi/home/reunamo/opetus/spssohje.htm>. Viitattu 25.10.2021

J. Laamanen, 2013. Veren happoemästasapaino. Kandidaatin tutkielma, Helsingin yliopisto Kemian laitos, Matemaattisluonnontieteellinen tiedekunta. Viitattu 19.04.2022 <https://docplayer.fi/4909993-Veren-happoemastasapaino.html>

K. Laine, 2005. Lääkkeiden yhteisvaikutukset, kustannusosakeyhtiö Tammi, 2005, 4.painos. Viitattu 20.05.2022

L. Jafri, A. H. Khan, S. Azeem, 2014. Ionized Calcium Measurement in Serum and Plasma by Ion Selective Electrodes: Comparison of Measured and Calculated Parameters. Indian J Clin Biochem. Viitattu 11.08.2022

Neelima Satyam, 2021. Modeling in Geotechnical Engineering. Academic press. Viitattu 18.04.2022

O. Siggaard-Andersen, 2006. Encyclopedia of Respiratory Medicine. Academic press. Viitattu 20.04.2022

Radiometer. 2013. ABL90 Flex -käyttöopas. Viitattu 21.10.2021.

M. Reinikainen, 2020. Peruselintoimintojen häiriöt ja niiden hoito, Duodecim, Oppiportti. Viitattu 19.04.2022 <https://www.oppiportti.fi/op/phh00013/do>

S. Głąb, A. Hulanicki, 2005. Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition). Elsevier. Viitattu 19.04.2022

S. Glen, 2022. "Kolmogorov-Smirnov Goodness of Fit Test" From [StatisticsHowTo.com](https://www.statshowto.com): Elementary Statistics for the rest of us! Viitattu 20.05.2022 <https://www.statshowto.com/kolmogorov-smirnov-test/>

Tampereen yliopisto, Tietoarkisto. Hypoteesien testaus. Viitattu 20.04.2022 <https://www.fsd.tuni.fi/fi/palvelut/menetelmaopetus/kvanti/hypoteesi/testaus/>

Weisstein, Eric W. "Normal Distribution." MathWorld--A Wolfram Web Resource. Viitattu 19.04.2022 <https://mathworld.wolfram.com/NormalDistribution.html>

Ylva B Almquist, Signild Kvarn, & Lars Brännström, 2019. A practical guide to quantitative methods with SPSS. Viitattu 19.04.2022

## LIITTEET

### Liite 1 Ohjeistus S-Ca-Ion näytteiden keräystä varten.

#### OHJEISTUS S-CA-ION NÄYTTEIDEN KERÄYSTÄ VARTEN

S-Ca-Ion näytteiden keräys toteutetaan Tays osastonäytteenoton yhteydessä. S-Ca-Ion pyynnön yhteydessä otetaan myös vajaa putki, joka on 50% täydestä putkesta. Keräys suoritetaan syyskuun ja lokakuun aikana tai niin kauan, kunnes n. 50kpl näytepareja on kasassa. Työn tarkoituksena on selvittää soveltuuko vajaatäyttöinen putki Ca-Ion määrittelyyn.

#### NÄYTTEENOTTAJA

1. Näytteet tulee ottaa anaerobisesti ja mahdollisuuksien mukaan ilman staasia seerumigeeli-putkeen.
2. Merkkää mustalla tussilla 50 % täyttymisaste putkeen, geeliä ei lasketa täyttöasteeseen. (Suosittelemme siipineulan käyttöä, jolloin oikea täyttöaste on helpompi katsoa näyteputken ollessa pystyasennossa.) Identifioi vajaa putki kirjoittamalla tyhjälle tarralapulle näytenumero. **(Älä tulosta tupla tarraa.)**
3. Näytteenoton jälkeen putkia käännellään varovasti ylösalaisin max 5 kertaa.
4. Molemmat näytteet tuodaan käpy-työpisteeseen sentrifugoitavaksi. Kumpikaan näyte **El saa päätyä esikäsittelijälle.**

#### ESIKÄSITTELIJÄ

1. Näytteiden annetaan hyytyä noin 30 minuuttia.
2. Tarkista ennen sentrifugointia oikea täyttöaste molemmista putkista. (Emme voi hyväksyä liian täyttä tai vajaata putkea tutkimukseen. Jos näyte hylätään, viedään näyteputket verikaasutyöpisteelle vastattavaksi hylättyihin näytteisiin. Potilasnäyte analysoidaan mahdollisuuksien mukaan.)
3. Näytteet sentrifugoidaan käpy-työpisteessä mahdollisimman nopeasti, mutta viimeistään kahdentunnin kuluessa näytteenotosta.
4. Näytteet viedään sentrifugoinnin jälkeen verikaasutyöpisteelle.

#### NÄYTTEEN ANALYSOIVA

1. Näytepari analysoidaan samalla ABL 800 analysaattorilla peräkkäin. Varsinainen potilasnäyte ajetaan ensimmäiseksi ja **vastataan laboniin.**
2. Analysoi vajaa näyte **"testi + näytenumero"**
3. Analysoinnin valmistuessa näytteiden tulosteet tulostetaan ja liitetään nitojalla yhteen, jonka jälkeen tulosteet laitetaan niille nimettyyn kansioon **(1 tulostepari/muovitasku.)**

## Liite 2. Erillinen ohjeistus S-Ca-Ion näytteiden ottoon.

### OHJEISTUS ION-CA NÄYTTEIDEN KERÄYSTÄ VARTEN

S-Ca-Ion näytteiden keräys toteutetaan Tays osastonäytteenoton yhteydessä. S-Ca-Ion pyynnön yhteydessä otetaan myös vajaa putki, joka on 50% täydestä putkesta. Keräys suoritetaan syyskuun ja lokakuun aikana tai niin kauan, kunnes tarvittava näytemäärä on kerätty.

#### NÄYTTEENOTTAJA

1. Lue ohjeet tarkasti ja soita, jos kysyttävää 76536/käpy-työpiste
2. Näytteet tulee ottaa **anaerobisesti** ja mahdollisuuksien mukaan ilman staasia seerumigeeliputkeen.
3. Tutkimukseen **otetaan 2 näytettä**, joista toinen otetaan merkkiviivaan asti.
4. Toinen näyte on 50% normaalista täyttöasteesta. Merkitse mustalla tussilla 50% täyttöaste putkeen, geeliä ei lasketa täyttöasteeseen. (Emme voi hyväksyä liian vajaata tai täyttä putkea tutkimukseen.)
5. (Suosittelemme siipineulan käyttöä, jolloin oikea täyttöaste on helpompi katsoa näyteputken ollessa pystyasennossa.) Identifioi vajaa putki kirjoittamalla tyhjälle tarralapulle näytenumero. **(Älä tulosta tupla tarraa.)**
6. Näytteenoton jälkeen putkia käännellään varovasti ylösalaisin max 5 kertaa.
7. Molemmat näytteet tuodaan käpy-työpisteeseen sentrifugoitavaksi. Kumpikaan näyte **Ei saa päätyä esikäsittelijälle.**

## Liite 3.

MERKITSE RASTILLA (X) TÄHÄN, KUN OLET LAITTANUT NÄYTEPARISTA TULOSTEEN KANSIOON.  
 MERKITSE MYÖS MAHDOLLISET HYLÄTYT NÄYTTEET VIIVALLA (-) HYLÄTTYJEN NÄYTTEIDEN TAULUK-  
 KOON JA LISÄÄ HYLKÄÄMISEN PERUSTE

HYVÄKSYTTYJEN NÄYTTEIDEN LUETTELO

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.
21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.
31.	32.	33.	34.	35.	36.	37.	38.	39.	40.
41.	42.	43.	44.	45.	46.	47.	48.	49.	50.

MERKITSE HYLÄTTY NÄYTE (-) JA HYLKÄÄMISEN PERUSTE

Näyte tulee hylätä seuraavissa tilanteissa.

- A = Näyte on voimakkaasti hemolyyttinen
- B = Näyte on hyytynyt
- C = Näytettä ei ole sentrifugoitu kahden tunnin sisällä näytteenotosta
- D = Näytemäärä poikkeaa ohjeistetusta määrästä
- E = Muu syy

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.
21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.
31.	32.	33.	34.	35.	36.	37.	38.	39.	40.
41.	42.	43.	44.	45.	46.	47.	48.	49.	50.

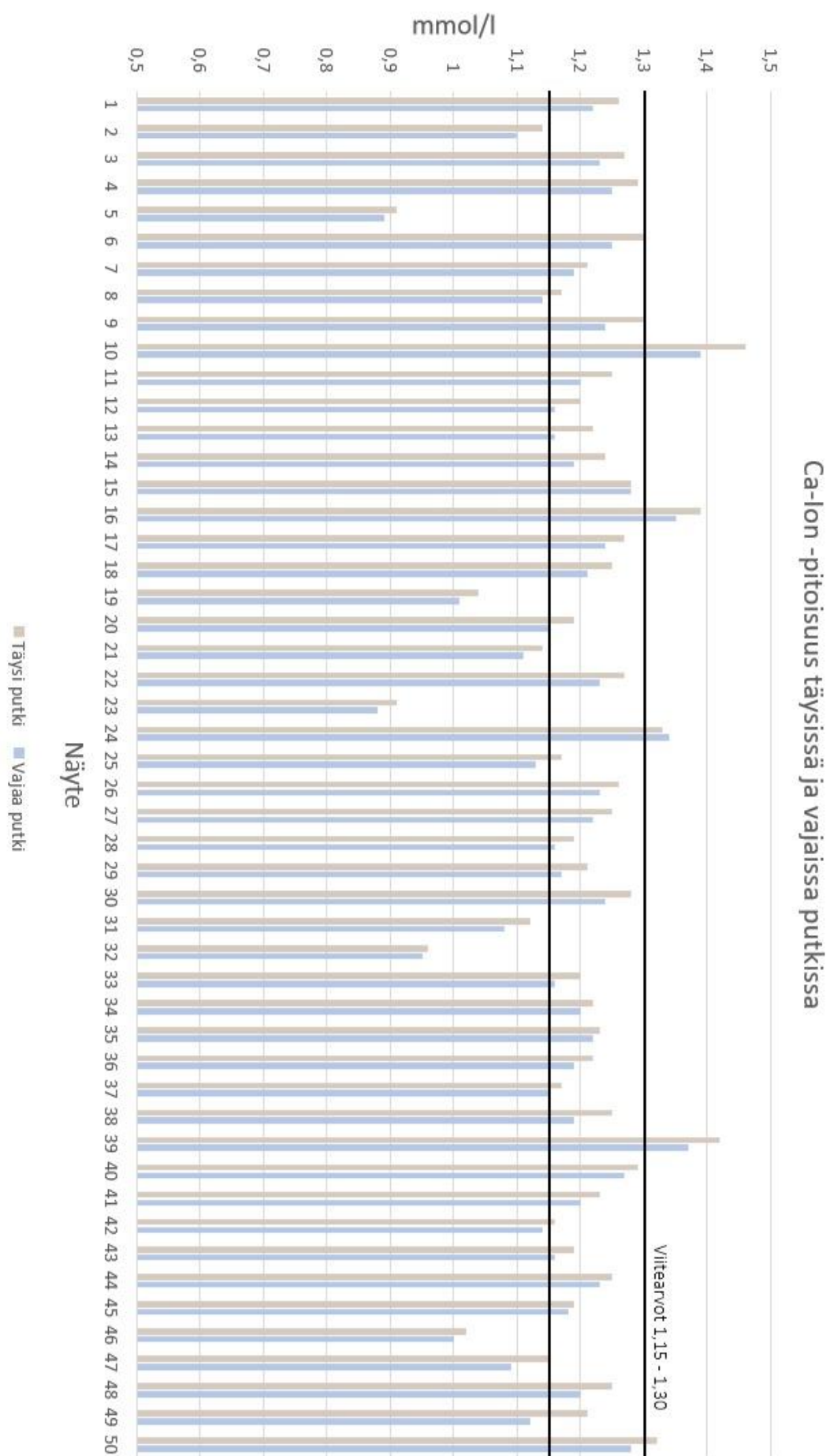


Liite 4 Aineisto täysien ja vajaiden putkien Ca-ion-pitoisuuksien ja pH -arvojenvertailua varten

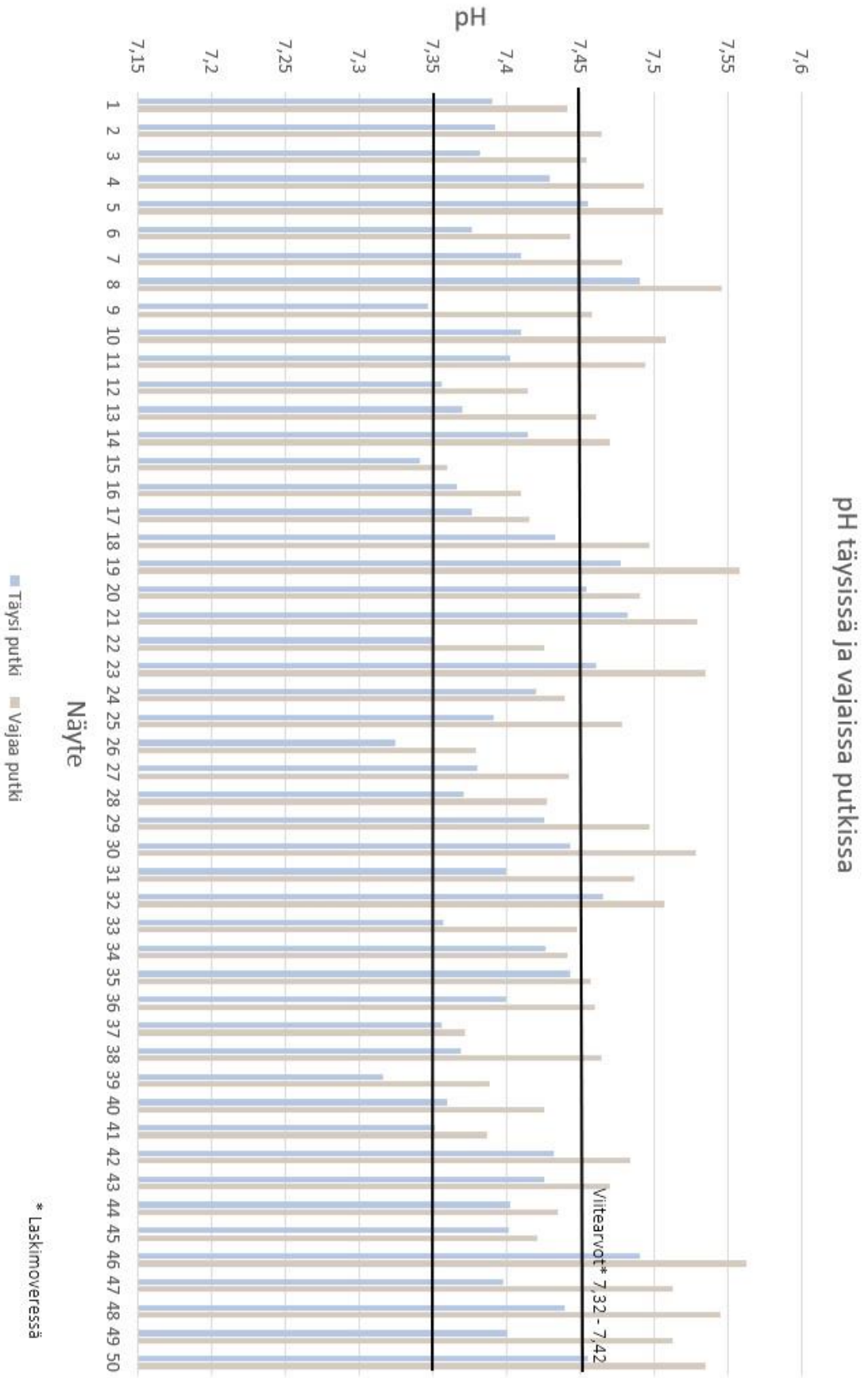
Näytenu- mero	Ca-ion täydet putket	Ca-ion va- jaat put- ket	pH täydet putket	pH vajaat putket	pH kor- jattu Ca- ion täydet putket	pH kor- jattu Ca- ion vajaat putket
1	1,26	1,22	7,39	7,441	1,25	1,25
2	1,14	1,1	7,392	7,464	1,14	1,14
3	1,27	1,23	7,382	7,454	1,26	1,26
4	1,29	1,25	7,429	7,493	1,31	1,32
5	0,91	0,89	7,455	7,506	0,94	0,94
6	1,3	1,25	7,376	7,443	1,28	1,28
7	1,21	1,19	7,41	7,478	1,22	1,23
8	1,17	1,14	7,49	7,546	1,23	1,23
9	1,3	1,24	7,347	7,458	1,26	1,28
10	1,46	1,39	7,41	7,508	1,47	1,47
11	1,25	1,2	7,402	7,494	1,25	1,26
12	1,2	1,16	7,356	7,414	1,17	1,17
13	1,22	1,16	7,37	7,461	1,2	1,2
14	1,24	1,19	7,414	7,47	1,24	1,24
15	1,28	1,28	7,341	7,36	1,24	1,25
16	1,39	1,35	7,366	7,41	1,37	1,36
17	1,27	1,24	7,376	7,415	1,26	1,25
18	1,25	1,21	7,433	7,497	1,27	1,28
19	1,04	1,01	7,477	7,558	1,09	1,1
20	1,19	1,15	7,454	7,49	1,22	1,21
21	1,14	1,11	7,482	7,529	1,19	1,19
22	1,27	1,23	7,35	7,425	1,24	1,24
23	0,91	0,88	7,461	7,535	0,94	0,95
24	1,33	1,34	7,42	7,439	1,35	1,37
25	1,17	1,13	7,391	7,478	1,16	1,17
26	1,26	1,23	7,324	7,379	1,21	1,21
27	1,25	1,22	7,38	7,442	1,23	1,25
28	1,19	1,16	7,371	7,427	1,17	1,18
29	1,21	1,17	7,425	7,497	1,23	1,23
30	1,28	1,24	7,443	7,528	1,31	1,32
31	1,12	1,08	7,399	7,487	1,12	1,13
32	0,96	0,95	7,465	7,507	0,99	1,01
33	1,2	1,16	7,357	7,448	1,18	1,19
34	1,22	1,2	7,426	7,441	1,23	1,23
35	1,23	1,22	7,443	7,457	1,26	1,26
36	1,22	1,19	7,399	7,46	1,22	1,23
37	1,17	1,15	7,356	7,372	1,15	1,13
38	1,25	1,19	7,369	7,464	1,23	1,23
39	1,42	1,37	7,316	7,388	1,35	1,36
40	1,29	1,27	7,36	7,425	1,27	1,29
41	1,23	1,2	7,351	7,386	1,19	1,19

42	1,16	1,14	7,432	7,484	1,18	1,19
43	1,19	1,16	7,425	7,47	1,2	1,2
44	1,25	1,23	7,402	7,435	1,25	1,25
45	1,19	1,18	7,401	7,421	1,19	1,19
46	1,02	1	7,49	7,563	1,07	1,08
47	1,15	1,09	7,398	7,513	1,15	1,16
48	1,25	1,2	7,439	7,545	1,27	1,29
49	1,21	1,12	7,4	7,513	1,21	1,19
50	1,32	1,28	7,455	7,535	1,36	1,38

Liite 5 Ca-lon pitoisuus täysissä ja vajaissa putkissa



Liite 6 pH täysissä ja vajaissa putkissa



# Liite 7 pH-korjattu Ca-Ion pitoisuus täysissä ja vajaissa putkissa

