



STArt4[®]-hyytymisanalysaattorin käyttö- ja lyhytohjeet bioanalytikko-opiskelijoille

Meeri Lehtinen

Pirita Puskala

Opinnäytetyö
Lokakuu 2014
Bioanalytiikan koulutusohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma, 11BIO

LEHTINEN, MEERI & PUSKALA, PIRITA
STArt4[®]-hyytymisanalysointin käyttö- ja lyhytohjeet bioanalyttikko-opiskelijoille

Opinnäytetyö 92 sivua, joista liitteitä 52 sivua
Lokakuu 2014

Veren hyytyminen on monivaiheinen tapahtumaketju. Elimistön hyytymisjärjestelmä koostuu kahdesta osasta; sisäisestä ja ulkoisesta hyytymisjärjestelmästä. Hyytymisjärjestelmän tehtävänä on pysäyttää verenvuoto elimistössä verisuonen vaurioituttua. Hyytymisjärjestelmän osista (trombosyytit, punasolut, hyytymistekijät) koostuvaa kokonaisuutta kutsutaan hemostaasiksi. Hyytymisjärjestelmän vaurioitumisesta aiheutuvia häiriöitä voidaan tutkia veren hyytymistutkimuksilla. Hyytymistutkimukset tehdään hyytymisnäytteestä, joka on otettu näytteenottojärjestyksessä ensimmäisenä natriumsitraattiputkeen, noudattaen erittäin huolellista näytteenottotekniikkaa. Hyytymistutkimusten mittaaminen perustuu STArt4[®]-hyytymisanalysointilla eri reagenssien ja plasman yhteisvaikutuksesta aiheutuvaan plasman viskositeetin muutokseen.

Opinnäytetyö tehtiin Tampereen ammattikorkeakoululle (TAMK), tarpeesta saada uusi, selkeämpi käyttöohje STArt4[®]-hyytymisanalysointin käyttöä varten. Opinnäytetyö rajattiin koskemaan elimistön hyytymisjärjestelmää ja siihen liittyviä, Tampereen ammattikorkeakoulun hyytymisanalysointilla tehtäviä tutkimuksia. Hyytymisjärjestelmän käsittelystä rajasimme pois fibrinolyysin, sillä se ei kuulu niihin veren hyytymisen vaiheisiin, joita STArt4[®]-analysointilla mitataan, emmekä kokeneet tarpeelliseksi käsitellä kyseistä aihetta työssämme.

Työn tarkoituksena oli selvittää STArt4[®]-hyytymisanalysointin peruserä ja –toiminta sekä laatia helppokäyttöiset käyttö- ja lyhytohjeet opiskelijoille STArt4[®]-hyytymisanalysointin käyttöä varten. Opinnäytetyön tavoitteena on helpottaa hyytymisanalysointin käyttöä kliinisen hematologian opetuksessa.

Opinnäytetyö on toiminnallinen opinnäytetyö. Se koostuu raporttiosuudesta ja tuotoksesta. Raportissa kerrotaan elimistön hyytymisjärjestelmästä ja hyytymisjärjestelmän häiriöistä, hyytymisnäytteenotosta sekä hyytymisnäytteistä tehtävistä tutkimuksista häiriöiden tason mittaamiseksi. Raportissa on kuvailtu myös opinnäytetyön tavoitetta, tarkoitusta ja tehtäviä, toiminnallisen opinnäytetyön menetelmää sekä opinnäytetyön prosessia.

Opinnäytetyön tuotos on kaksiosainen ohjeisto STArt4[®]-hyytymisanalysointin käyttöön bioanalyttikko-opiskelijoille. Tuotoksen ensimmäiseen osaan, laajempaan 38-sivuiseen käyttöohjeeseen, kuuluu laitteen tarkempi kuvaus, ohjeistus sen käytöstä, sillä tehtävät tutkimukset ja niissä käytettävät reagenssit sekä laitteelle tehtävät kalibraatiot ja huollot. Tuotoksen toisena osana on 13-sivuinen lyhytohje, opiskelijoiden jokapäiväiseen käyttöön. Lyhytohje on tuotettu kattavamman käyttöohjeen perusteella. Ohjeet tallennetaan DVD-levylle, josta niitä voidaan tarvittaessa muokata.

Asiasanat: primaarihemostaasi, sisäinen ja ulkoinen hyytymisjärjestelmä, STArt4[®]-hyytymisanalysointin käyttö, hyytymistutkimukset, käyttöohje, lyhytohje

ABSTRACT

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

LEHTINEN, MEERI & PUSKALA, PIRITA
Introduction Material for the STArt4[®] Coagulation Analyzer for Students of the Degree programme in Biomedical Laboratory Science

Bachelor's thesis 92 pages, appendices 52 pages
October 2014

The objective of this study was to provide the students of Biomedical Laboratory Science with an introduction material for Diagnostica Stago's STArt4[®] coagulation analyzer.

The main purpose of this study was to help students using the STArt4[®] coagulation analyzer and support their learning. Our personal purpose was to learn more about coagulation cascade of human and coagulation laboratory analysis. Our objective was also to clarify what should be included in good and usable introduction material.

The approach applied in this study was functional. The thesis is composed of three parts, the report and two sets of written instructions. The report contains information about human coagulation cascade, STArt4[®] coagulation analyzer, coagulation analyses and samples but also information about good introduction material. The other instruction material gives step by step directions on how to use STArt4[®] coagulation analyzer and the other one contains more detailed knowledge about analyzer.

The challenge with this study was the conciseness of acceptable source of information. The sources of information were also for the most part in foreign-language. The concise instructions have been tested by students.

Key words: primary haemostasis, internal and external coagulation cascade, STArt4[®] coagulation analyzer, coagulation analysis, instructions for use, concise instructions for use

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	5
2	OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT	7
3	HEMOSTAASI- JA HYYTYMISJÄRJESTELMÄ SEKÄ NIIDEN HÄIRIÖT.....	8
	3.1 Primaarihemostaasi	8
	3.2 Sisäinen ja ulkoinen hyytymisjärjestelmä.....	10
	3.3 Hyytymisjärjestelmän häiriöt.....	11
	3.4 Hyytymistutkimusten näytteenotto	13
	3.5 Näytteen säilytys, käsittely ja kuljetus.....	15
4	HYYTYMISTUTKIMUKSET	17
	4.1 Tromboplastiiniaika (P-TT-SPA), (P-TT-INR).....	17
	4.2 Reagenssit ja kontrollit	18
	4.3 Tromboplastiiniaika, aktivoitu partiaalinen (P-APTT).....	20
	4.4 Reagenssit ja kontrollit	21
5	START 4 [®] -HYYTYMISANALYSAATTORI	22
	5.1 Koagulometria	23
	5.2 Laitteen käyttö	24
	5.3 Laitteen huoltotoimet.....	27
6	HYVÄ TYÖOHJE	29
7	TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ	30
8	OPINNÄYTETYÖPROSESSIN KUVAUS	31
9	OPINNÄYTETYÖN TUOTOS	33
10	POHDINTA.....	34
	LÄHTEET.....	37
	LIITTEET	41
	Liite 1. Käyttöohje STArt4 [®] -hyytymisanalysointilaitteen käyttöä varten	41
	Liite 2. Lyhytohje STArt4 [®] -hyytymisanalysointilaitteen käyttöä varten.....	41

1 JOHDANTO

Veren hyytymiseen liittyvät häiriöt kuormittavat merkittävästi Suomen klinisiä laboratorioita. Näihin häiriöihin liittyvät tutkimukset ovat nykyään merkittävä osa bioanalytiikon/laboratoriohoitajan työtä. Hyytymistutkimuksilla tutkitaan muun muassa vuoto- ja tukostaipumuksia ja seurataan hyytymisjärjestelmän toimintaa lääkitystasojen optimoinnissa. Esimerkiksi laskimotukoksiin sairastuu jopa joka tuhannes ihminen vuosittain ja juuri aloitettua Marevan[®]-hoitoa seurataan laboratorionkokeilla 1-2 kertaa viikossa. Päivittäin tehtäviä hyytymistutkimuksia ovat muun muassa P-TT-SPA/ P-INR (oraalisen antikoagulanttihoiton seuranta, esim. varfariini, kauppanimeltään Marevan[®]) ja P-APTT (hepariinihoidon seuranta). (Punainen Risti 2013, 22-23; Ellonen 2014; Vilpo 2010, 173.)

Hyytymistutkimuksia varten on käytössä erilaisia analysointilaitteita; pienille näytelukumäärille ja isoja massatuotantoon sopivia laitteistoja. Opinnäytetyössä käsittelemme tarkemmin pienille näytemäärille sopivaa Diagnostiga Stagon STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitetta. Laitteella voidaan määrittää P-APTT, P-TT-SPA/P-INR, fibrinogeeni, erilaisia hyytymistekijöitä sekä proteiineja S ja C (Stago 2014, 10).

Opinnäytetyön aiheena on STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteen työhöjeisto bioanalytiikan opiskelijoille klinisen hematologian hemostaasi-opintojakson opetukseen. Opinnäytetyömme koostuu raporttiosuudesta ja kahdesta tuotoksesta; käyttö- ja lyhytohjeesta. Opinnäytetyön tuotoksena syntyvien ohjeistojen tarkoitus on tukea bioanalytiikkopokkaiden oppimista ja helpottaa laitteen käyttöä. Koska hyytymisnäytteet ovat herkkiä erityisesti preanalyttisille, mutta myös analyysiin liittyville virheille, on olennaista, että näytteitä ottava tai analysoiva henkilö on tietoinen hyytymistutkimusten periaatteista.

Tässä opinnäytetyössä käsitellään hyytymisnäytteenottoa, veren hyytymisjärjestelmää, STArt4[®]-analysointilaitteen toimintaperiaatetta, laitteen käyttöä, siinä käytettäviä reagensseja ja kontrolleja sekä työhöjeiden laatimista. Rajasimme työstä pois fibrinolyysin eli verihiyytymän pilkkoutumisen.

Opinnäytetyön aiheen saimme Tampereen ammattikorkeakoululta syksyllä 2013. STArt4[®] -hyytymisanalysaattori on hankittu opetuskäyttöön syksyllä 2011 ja selkeää ohjetta sen opetuskäyttöön ei ole. Valitsimme aiheen kehittääksemme ammatillista osaamistamme ja ymmärrystämme hyytymistutkimusten periaatteisiin ja laatuun vaikuttaviin tekijöihin. Lisäksi päätökseemme vaikuttivat mielenkiinto aiheeseen sekä sen ajankohtaisuus.

2 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TEHTÄVÄT

Opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää STArt4[®]-hyytymisanalysoitsijan perusperiaate ja toiminta. Opinnäytetyön tarkoituksena on myös laatia Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille selkeä ja yksinkertainen käyttö- ja lyhytohje STArt4[®]-hyytymisanalysoitsijan käyttöä varten. Käyttöohjeesta tehdään kattavampi tarkempisisältöinen ohjeistus laitteen käyttöön. Käyttöohjeeseen sisällytetään tarkat tiedot muun muassa laitteen mittausperiaatteesta ja käytöstä, reagensseista, huolloista ja vikailmoituksista. Lyhytohjeesta tehdään puolestaan lyhyt, kuvilla selkeytetty ohje jokapäiväistä käyttöä varten. Siitä voi nopeasti tarkistaa tarvitsemansa asian.

Opinnäytetyön tavoitteena on helpottaa STArt4[®]-hyytymisanalysoitsijan käyttöä kliinisen hematologian opetuksessa. Analysoitsijan käyttö helpottuu selkeämpien ohjeiden avulla. Omana tavoitteenamme on työtä tehtäessä laajentaa tietoa elimistön hyytymisjärjestelmästä ja hyytymistutkimuksista. Näiden lisäksi tavoitteenamme on oppia enemmän tiedonhausta, tekstin- ja kuvankäsittelyohjelmista sekä ajankäytön suunnittelusta.

Opinnäytetyömme tehtävät:

1. Miten STArt4[®]-hyytymisanalysoitsija toimii?
2. Mitä tapahtuu veren hyytymisjärjestelmässä?
3. Miten hyytymisnäytteenotto, näytteiden käsittely ja säilytys sekä näissä vaiheissa tapahtuvat virheet vaikuttavat hyytymistutkimuksiin ja niiden tuloksiin?
4. Miten laaditaan hyvä työohjeisto?

3 HEMOSTAASI- JA HYYTYMISJÄRJESTELMÄ SEKÄ NIIDEN HÄIRIÖT

Hyytymisjärjestelmän tarkoitus elimistössä on pysäyttää verenvuoto verisuonen vahingoittumisen jälkeen. Hyytymisjärjestelmän osia ovat muun muassa trombosyytit ja hyytymistekijät, joiden kirjo on laaja. Tämä hemostaasiksi kutsuttu järjestelmä voidaan jakaa kolmeen vaiheeseen: verisuonivaiheeseen (vaurioituneen verisuonen supistuminen, primäärivaihe), koagulaatiovaiheeseen (sekundäärivaihe) ja fibrinolyyttiseen vaiheeseen. Nämä kolme vaihetta toimivat kokonaisuutena, joten yhdenkin vaiheen muutokset vaikuttavat järjestelmään merkittävästi. Tavallisesti trombosyytit kiertävät veressä vapaana vaikuttamatta toisiinsa tai toisiin solutyyppeihin. Tavatessaan jonkin stimuloivan agonistin, trombosyytit muuttuvat inaktiivisista aktiivisiksi. (Bjälle ym. 2011, 328; Italiano & Hartwig 2009, 1781.) Opinnäytetyössä käsitellään sekä primaari- että sekundaarihemostaasia.

3.1 Primaarihemostaasi

Verisuonen sisäpinta on normaalisti sileä eivätkä trombosyytit siksi normaalisti tartu siihen tai toisiinsa. Hyytymän syntymisen estämiseen vaikuttavat endoteelisolujen syntetisoimat komponentit, erityisesti prostaglandiini I₂, typpioksidi ja entsyymi CD39 joka hajottavat adenosiinidifosfaattia, ADP:tä. Tämän tarkoitus on estää trombosyyttejä aktivoitumasta verisuonen endoteelin ollessa normaali. Verisuonen sisäinen tai ulkoinen vaurio tekee suonen pinnasta reaktioalttiin ja käynnistää hemostaasimekanismit sekä saa aikaan suonen seinämän sileiden lihassolujen supistumisen. Näin ollen verisuonesta vuotavan veren määrä pienenee. Paljastuneet kollageenisäikeet aikaansaavat lepotilassa kiertäneiden trombosyyttien aktivoitumisen. Tätä verihiutaleiden vuotopaikkaan kerääntymistä ja aktivoitumista kutsutaan primaarivaiheen hemostaasiksi. (Bjälle ym. 2011, 326; Italiano & Hartwig 2009, 1781-1782; Bonar¹, Favaloro & Adcock 2010; Tuomisto & Kallio 2007, 595-617.)

Endoteelin vaurioituessa sidekudoksen kollageenisäikeet paljastuvat ja trombosyytit kiinnittyvät niihin. Tämä aiheuttaa verihiutaleiden turpoamisen, valeskalojen muodostumisen ja niiden varastorakkuloiden tyhjenemisen. Trombosyyttien aktivoituessa niiden sisältämä ATP muuttuu ADP:ksi, joka muuttaa verihiutaleiden pintaa niin, että ne tarttuvat helposti toisiinsa. Verihiutaleet alkavat muodostaa myös tromboksaani A:ta

arakidonihaposta, joka myös tehostaa verihiutaleiden tarttumista toisiinsa (aggregaatio). Membraanin sisältämät fosfolipidit ovat ensimmäinen tärkeä osa trombosyyttifaktori 3:n synteesissä, jota tarvitaan hyytymisjärjestelmän ja tromboksaanin aktivoitumiseen ja esimerkiksi prostaglandiinin eliminoimiseen aggregaation edellytyksenä. Erilaiset glykoproteiinit trombosyytin pinnalla toimivat reseptoreina. Esimerkiksi glykoproteiini I toimii reseptorina von Willebrandin faktorille (vWF). Glykoproteiini V sitoo trombiinia. Muodostunut kompleksi IIb/IIIa aktivoi plasman fibrinogeenin ja plasmafaktori V, VII-IC ja XI siirtyvät trombosyytin pinnalle. (Spaethe 1984, 20; Bjälle ym. 2011, 326; Bonarl ym. 2010.)

Osa trombosyytin soluorganelleista sisältää ATP:tä, ADP:tä, ionisoitunutta kalsiumia (Ca^{++}) ja serotoniinia. Jotkut soluorganellit sisältävät fibrinogeeniä, faktori V:tä, Von Willebrandin (vWF) faktoria ja fibronektiiniä. Trombosyyttifaktori 4 ja β -tromboglobuliini ovat trombosyyttispesifisiä proteiineja, jotka toimivat kationeina: ne kykenevät sitomaan hepariinia ja näin ollen neutraloimaan sen. Trombosyyttifaktori 4 kykenee kiinnittymään endoteliumiin, joka saa aikaan prostasykliinin vapautumisen. Näiden mekanismien myötä trombosyyttien on helpompi kerääntyä endoteelin vaurio-alueelle. (Spaethe, 1984, 20; Bjälle ym. 2011, 326; Bonarl ym. 2010.)

Trombosyyttien kiinnittymisen edellytyksenä on, että hyytymisfaktori VIII: vWF (vWF sitoo faktori VIII:n) stimuloi trombosyyttejä muuttamaan muotoaan. Trombosyyttien tarttuminen toisiinsa on aktiivinen metabolinen prosessi, jossa tarvitaan ionisoitunutta kalsiumia (Ca^{++}) ja fibrinogeeniä. Vapautunut ADP saa muutkin trombosyytit muuttamaan muotoaan. Fibrinogeeni kiinnittyy näiden trombosyyttien pinnalla oleviin reseptoreihin, ja näin ollen trombosyytit kiinnittyvät toisiinsa. (Spaethe 1984, 20-21; Howard & Hamilton 2013, 74-75.)

Niin kutsuttu vapautumisreaktio on trombiinin ja kollageenin aikaansaama. Aggregaatiota eli sitoutumista stimuloivan prostaglandiinin, tromboksaanin, muodostumista arakidonihaposta stimuloi trombosyyttien reaktio kollageenin kanssa. Tromboksaani puolestaan aiheuttaa ADP:n vapautumisen. ADP:n vapautuminen saa aikaan toisen prostaglandiinin, prostasykliinin paikallisen vapautumisen endoteliumista. Näillä kahdella prostaglandiinilla on päinvastaiset vaikutukset: tromboksaani edistää ADP:n vapautumista, kun taas prostasykliini estää sen vapautumista. (Italiano & Hatrwig 2009, 1783-1784; Spaethe 1984, 20-21.)

Muiden entsyymien lisäksi trombiini on tehokas prostaglandiinien synteesiä stimuloiva tekijä. Fosfolipaasien aktivaation myötä arakidonihappo vapautuu membraanin fosfolipideistä. Lipoksigenaasin kautta arakinodihappo muunnetaan muotoihin, joilla on kemotaktiset ominaisuudet ja joiden vaikutuksesta kapillaarien läpäisevyys suurenee. Sykloosigenaasin tuotannolla on verisuonia laajentava ja verihiutaleiden aggregaatiota edistävä tai hidastava vaikutus. Tromboksaani A (TXA₂) on tehokas trombosyyttien aggregaation stimulaattori. PGD₂ jota tuotetaan trombosyyteissä, on tärkeä aggregaation inhibiittori. (Italiano & Hartwig 2009, 1785-1789; Spaethe 1984, 20-22.)

3.2 Sisäinen ja ulkoinen hyytymisjärjestelmä

Hyytymisjärjestelmän ulkoisesta käynnistymisestä puhutaan verisuonen vaurioituessa, jolloin hyytymisen käynnistää kudostekijä (kudostromboplastiini eli hyytymistekijä III). Reaktioketju alkaa kudostekijän aktivoitessa hyytymistekijät VII ja VIIa. Tämän seurauksena tekijä X muuttuu Xa:ksi, joka puolestaan irrottaa protrombiinista kaksi peptidisidosta muodostaen trombiinia (IIa). Xa vaatii toimiakseen ionisoitunutta kalsiumia (Ca⁺⁺), fosfolipidejä ja hyytymistekijä V:tä. Näiden yhteisvaikutuksesta muodostuvat protrombinaasikompleksit trombosyyttien pinnalla. (Kallio 2007, 595-617; Vilpo 2010, 160; Hoffbrand & Moss 2011, 320; Bjälle ym. 2011, 32; Italiano & Hartwig 2009, 1781.)

Hyytyminen voi käynnistyä myös niin sanottua sisäistä reittiä, jolloin hyytymistekijä XII, prekallikreiini ja kininogeeni kohtaavat negatiivisesti varautuneen pinnan tai vaurioituneen suonen kollageenisyyt. Tästä seuraa XII:n muuttuminen XIIa:ksi, XI:n muuttuminen XIa:ksi, ja IX:n muuttuminen IXa:ksi. Hyytymistekijä IXa muuttaa edelleen X tekijän Xa:ksi. Tästä eteenpäin reaktioketju etenee kuten sisäisessä hyytymisjärjestelmässä. Nämä kaksi järjestelmää voivat aktivoitua myös yhtä aikaa, sillä hyytymistekijä VIIa ja kudostekijä voivat aktivoida tekijä IX:n. (Kallio 2007, 595-617; Vilpo 2010, 160; Hoffbrand & Moss 2011, 320; Bjälle ym. 2011, 328; Italiano & Hartwig 2009, 1781.)

3.3 Hyytymisjärjestelmän häiriöt

Monet kliinisesti merkittävät sairaudet pystytään perustelevaan hemostaasin häiriöiden kautta, joista tärkeimpänä voi mainita hemofilian, erilaiset trombosyyttisairaudet ja verisuonisairaudet. Hyytymistutkimusten tarkoitus onkin tarkentaa ja täydentää sairauksien diagnoosia. (Bonarl ym. 2010.) Molempien, sekä tukos- että vuototaipumusten seulontatutkimuksena on laboratoriotutkimus P-APTT, joka mittaa sisäisen hyytymisjärjestelmän toimintaa (protrombiini, F V, F VIII, F IX, F X, F XI, F XII). Edellä mainittujen hyytymistekijöiden lievien puutosten löytämiseen tutkimus ei kuitenkaan ole tarpeeksi herkkä. Sen tarkoituksena on lähinnä seulontatyyppisesti selvittää pysyvän, perinnöllisen yksittäisen hyytymistekijän vajuus. (Fimlab Laboratoriot Oy 2012b; Huslab Laboratoriot 2014a.)

Tukostaipumus

Trombofilia (tukosalttius) on yksi tukostaipumuksen aiheuttajista. Trombofilia ilmenee sekä perinnöllisenä että hankinnaisena. Tavallisimmin perinnöllisen tukosalttiuden aiheuttavat hyytymistekijä V:n R506Q –geenin pistemutaatio, joka johtaa aktivoituneen proteiini C:n resistenssiin tai protrombiinin FII –geenivariaatio. Myös antitrombiinin, proteiini C:n tai proteiini S:n puutokset ovat mahdollisia, joskin harvinaisempia ja yleensä vaikea-asteisia. Mutaatioiden homotsygoottisuus ja useampi geenimuutos yhtä aikaa lisäävät tukoksen riskiä huomattavasti. (Armstrong ym. 2013.)

Tukostaipumuksen selvittely on aiheellista silloin, kun potilaalla todetaan toistuvia tai epätavallisissa paikoissa olevia tukoksia, hän on alle 50-vuotias, hänellä on ollut sekä laskimo- että valtimotukoksia, hänen lähisuvussaan on todettu laskimotukoksen sairastaneita tai potilaalla on ollut toistuvia keskenmenoja tai sikiökuolema. Perinnöllisen tai hankitun tukostaipumuksen selvittelyyn voidaan käyttää laboratoriotutkimusta P-Trombot, joka sisältää lukuisia osatutkimuksia: B -FII-D, B -FV-D, P -APCres., P -AT3., P -B2GPAbG, P -FVIII., P -KardAbG, P -LupusAk, P -PC, P -PS-AgV, P -TT. ja P.-Trombai. (Joutsu-Korhonen 2014.)

Yleisin hyytymistekijöiden perinnöllinen muutos on geenissä, joka vastaa hyytymistekijä 5:n (faktori V) tuotannosta. Geenimuutoksen vuoksi hyytymistekijä muuttuu epäherkäksi sitä hajottavalle proteiinille, jota kutsutaan nimellä "aktivoitunut proteiini C". Täl-

löin hyytymistekijän vaikutus jatkuu pidempään ja lisää tukosvaaraa. Tilaa kutsutaan myös APC-resistenssiksi tai nimellä "FV Leiden". Seuraavaksi yleisimmän hyytymistekijämuutoksen yleisyys on noin 1 %. Kyseessä on hyytymistekijäproteiinin protrombiinin geenimuoto, joka altistaa tukoksille. Muita harvinaisempia geenimuutoksia kutsutaan nimillä proteiini C:n vajoitus, proteiini S:n vajoitus ja antitrombiini III:n vajoitus. Näiden lisäksi tunnetaan useita vielä harvinaisempia geenimuutoksia, jotka altistavat verisuonitukoksille. (Mustajoki 2014.)

Laskimoveritulpan mahdollisuutta voidaan tutkia erityisellä verikokeella (D-dimeeri, Fibriniin D-dimeerit plasmasta (P-FiDD)), mutta lopullinen diagnoosi tehdään kaikututkimuksella. Laskimotukoksen hoitoon ja ehkäisyyn käytettävän Marevan[®]-lääkkeen pitoisuutta seurataan P-INR – arvolla. (Mustajoki 2013.)

Vuototaipumus

Vuototautien toteaminen on potilaan kannalta ensiarvoisen tärkeää, sillä oikealla diagnoosilla voidaan välttää jopa henkeä uhkaavat verenvuodot toimenpiteissä. Perinnöllisistä vuototaudeista von Willebrandin tauti on yleisin, harvinaisempia ovat hemofiliat A ja B. Hemofilioista melkein puolet ilmenee henkilöillä, joiden suvussa ei aiemmin ole todettu hemofiliaa. (Punainen Risti 2013.)

Hemofilia on seurausta yhden tai harvemmin useamman hyytymistekijän puutoksesta. Sen yleisin muoto on hemofilia A, joka johtuu tekijä VIII:n puutoksesta tai virheestä. Hemofilia B on harvinaisempi, ja se johtuu hyytymistekijä IX:n puutoksesta tai virheestä. Molempien merkitys hyytymisen sekundaarisessa vaiheessa on tärkeä, joten molemmat ovat yhteydessä vuotosairauksiin. Sekä hemofilia A että B periytyvät resessiivisesti X-kromosomissa. Von Willebrandin tauti on seurausta von Willebrandin tekijän puutoksesta tai virheestä plasmassa. Se ilmenee usein pienenä vuototaipumuksena ja helposti mustelmien muodostumisena. Von Willebrandin tauti on useimmiten perinnöllinen, mutta se voi ilmetä myös hankinnaisena. (Bonarl ym. 2010.)

Vuototaipumuksen selvittelyyn voidaan käyttää tutkimusta P-Vuotot, joka sisältää lukuisia osatutkimuksia (P -APTT., P -Fibr., P -FII, P -FIX, P -FV, P -FVII, P -FVIII, P -FX, P -FXI, P -FXII, P -FXIII., P -TT., P -vWF-Ag, P -vWFRCo. ja P.-Trombai). Tarkoituksena on selvittää merkittävän, pitkään kestäneen tai perinnölliseksi epäillyn vuo-

totaipumuksen syytä. Ennen tätä suljetaan pois se, että vuototaipumus ei johdu vaikeasta trombosytopeniasta, trombosyyttien toimintahäiriöstä tai muusta perustaudista. Tutkimusta voidaan käyttää myös epäiltäessä Von Willebrandin tautia tai hyytymistekijäva-
jeesta johtuvaa vuototautia. (Huslab Laboratoriot 2014a.)

3.4 Hyytymistutkimusten näytteenotto

Hyytymistutkimusten onnistumisen edellytyksenä on hyvä preanalytiikka. Hyvällä näytteenotolla ja näytteiden käsittelyllä estetään kudostekijän joutuminen näytteeseen, plasman solukontaminaatio ja hyytymisjärjestelmän enneaikainen aktivoituminen. Huolellisella näytteenottotekniikalla turvataan laadukas hyytymisnäyte. (Joutsi-Korhonen & Koski 2010, 276.)

Hyytymisnäyte pyritään ottamaan aamulla, kevyen aterian jälkeen. Ennen näytteenottoa on erittäin tärkeää identifioida potilas, jotta oikeat näytteet tulee otettua oikeasta potilaasta. Hyytymistutkimusnäytteet otetaan 109 mM:n, 3,2 prosentista Na-sitraattia sisältävään näyteputkeen. Näytteet otetaan tarpeeksi paksulla neulalla, optimikoko neulalle on 19-20 G (gauge). Pienempiä neuloja voidaan käyttää vauvoilla, lapsilla tai huonosuonisilla aikuisilla. 25 G:n tai sitä pienemmän neulat voivat aiheuttaa näytteen hemolysoitumista tai aktivoida trombosyyttejä ja näin saada aikaan virheellisiä tuloksia. Näytteenottoneula voi olla joko avo-, vakuumi- tai siipineula, kunhan näyteputki täyttyy vaivatta. (Tuokko ym. 2008, 37; Clinical and Laboratory Standards Institute 2008; Joutsi-Korhonen & Koski 2010, 276.)

Hyytymistutkimusnäyte suositellaan otettavaksi ilman puristussidettä eli staasia. Puristus saattaa kohottaa hydrostaattista painetta laskimossa ja lisätä näytteen makromolekyylejä. Liiallinen puristus aiheuttaa hyytymistekijöiden liian aikaisen aktivoitumisen, mikä johtaa näytteen enneaikaiseen hyytymiseen. Jos puristussidettä kuitenkin tarvitaan suonen etsimiseen, sen käyttöaika on minimoitava mahdollisimman lyhyeksi; alle yhteen minuuttiin. (Joutsi-Korhonen & Koski 2010, 276; Joutsi-Korhonen 2010.)

Näytteenottojärjestyksessä hyytymisnäyteputki on ensimmäinen. Ennen tätä on kuitenkin otettava hukkaputki, jotta vältetään hyytymisnäytteen kudostenkontaminaatio. Hukkaputken tulee olla lisääaineeton ja tyhjä. Hyytymisnäyte tulee ottaa heti hukkaput-

ken jälkeen, sillä tällöin hyytymisaktivaatiosta on kulunut mahdollisimman lyhyt aika. Hukkaputken otto ei aina ole kuitenkaan välttämätöntä; siipineulalla näytettä otettaessa hukkaputki tulee käyttää vajaan hyytymisputken välttämiseksi, mutta vakuumi- ja avotekniikalla sitä ei tarvitse tehdä. Vertailtaessa eri laboratorioiden tapoja ottaa hyytymisnäytteitä voidaan huomata, että esimerkiksi Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin laboratorioissa ei ole välttämätöntä ottaa hukkaputkea ennen tromboplastiiniaikamäärityspotkea, kun taas Suomen Punaisen Ristin Veripalvelussa hyytymisnäytteitä ennen otetaan hukkaputki. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008; Nikiforow 2014; Huslab Laboratoriot 2013; Suomen Punainen Risti 2013.)

Hyytymisnäytteenoton tulee olla atraumaattista eli piston tulisi onnistua ensimmäisellä kerralla eikä neulaa saisi liikutella edestakaisin suonta etsittäessä. Jos ensimmäinen pisto epäonnistuu, toinen pisto on tehtävä eri suoneen. Veren on valuttava putkeen vaivattomasti, sillä näyte saattaa hyytyä jo etukäteen, jos veri ei pääse valumaan putken pohjalle riittävän nopeasti. Näytteenottoputken tulee täytyä tarkasti annettuun merkkiviivaan. Poikkeama optimimäärästä saa olla korkeintaan $\pm 10\%$. Jos näyteputki jää liian vajaaksi, näytteen laimeneminen sitraatilla on liian voimakasta, ja jos taas näytettä on paljon yli merkkiviivan, hyytyminen voi käynnistyä ennenaikaisesti, hyytymistekijöitä kuluu ja tämä saa aikaan virheellisiä tutkimustuloksia. Esimerkiksi nestemäisen antikoagulantin haihtuminen, sen joutuminen pois näytteenottoputkesta ennen näytteenottoa tai kahden eri putkessa olevan näytteen sekoittaminen keskenään voivat olla syynä virheelliseen suhteeseen näytteen ja antikoagulantin välillä. Hyytymisnäyteputki sekoitetaan välittömästi näytteenoton jälkeen rauhallisesti korkkia vasten 4-5 kertaa. Jos näyteputkea sekoitetaan useammin kuin ohjeissa on sanottu, jotkin hyytymistekijät saattavat aktivoitua ennenaikaisesti. Hyytymisputkea ei saa laittaa putkisekoittajalle. Jos taas sekoitus on liian vähäistä, näyte ei sekoitu riittävästi natriumsitraattiin ja näyte saattaa hyytyä. Otettaessa hyytymisnäytettä laskimo- ja valtimokatetreista tai -kanyyleista tulee varmistaa huuhtelemalla kanyyli keittosuolalla ja hukkaverellä, että näytteenottoputkeen otettavassa veressä ei ole hyytymiä tai aineita, joita annostellaan verenkiertoon kanyylin kautta. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008, 3; Nikiforow 2014.)

Näytettä ottavan laboratorion tulee olla tietoinen potilaan mahdollisesta verenvuototaudista, sillä se vaikuttaa näytteenottoon. Verenvuototautia sairastavan näytteenotto tulee suorittaa mahdollisimman atraumaattisesti, puristussiteen käyttöä välttäen ja neulana käytetään 21 G siipineulaa. Näytteenoton jälkeen pistoskohtaan sidotaan sideharsoa ja

pyydetään potilasta painamaan pistoskohtaa noin 15 minuuttia ja välttämään fyysistä rasitusta saman päivän aikana. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 276.)

3.5 Näytteen säilytys, käsittely ja kuljetus

Näytteet tulee toimittaa tutkivaan laboratorioon mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen, sillä tavoitteena on, että tutkimustulokset kuvaavat mahdollisimman tarkasti näytteenottohetkellä vallinnutta potilaan elimistön tilaa. Näytteenottajan tulee tietää mahdollisista näytteeseen liittyvistä erityiskuljetustavoista. Näyte tulee lähettää tutkivaan laboratorioon siten, että näytteessä välittömästi näytteenoton jälkeen alkavat fysikaaliset ja kemialliset muutokset ovat mahdollisimman vähäisiä tutkimuksen tekohetkellä. (Tuokko ym. 2008, 214.)

Näytteessä tapahtuvat muutokset johtuvat siis pääosin fysikaalisista ja kemiallisista perusilmiöistä. Hyytymistutkimuksissa tällainen on esimerkiksi proteaasien eli plasmassa proteiinia hajottavien entsyymien aiheuttama ilmiö. Ne aikaansaavat hyytymistekijöiden alenemista liian pitkän säilytysajan vuoksi ja näin vaikuttavat tutkimustulokseen. (Tuokko ym. 2008, 215.)

Määritykset tehdään sentrifugoidusta näytteestä. Näytteet sentrifugoidaan 2000-2500 G:n teholla 10-15 minuutin ajan. Näytteen säilyvyys on parempi huonelämpötilassa, jos se sentrifugoidaan heti näytteenoton jälkeen. Pienien laitteiden analyysijä varten plasma tulee erotella, mutta suuremmat laitteet sentrifugoivat ja pipetoivat plasman itse. Näytteet voivat säilyä huonelämpötilassa jopa vuorokauden. Näytteitä ei suositella säilytettäväksi jääkaappilämpötilassa (+ 2°C - + 8°C), koska kylmä lämpötila aiheuttaa muun muassa faktorien VII, XI ja XII aktivoitumisen sekä faktorin VIII ja vWF:n (von Willebrand-tekijä) asteittaista alenemista. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008; Tuokko ym. 2008, 116.) Erityisen tarkka on oltava hepariinihoidossa olevan potilaan P-APTT-tutkimusta varten otettujen näytteiden kuljetuksesta näytteenottohetkestä analysoitavaksi. Näytteen tulee olla laboratorioissa maksimissaan 30 minuutin kuluttua näytteenotosta ja näyte on sentrifugoitava ja analysoitava maksimissaan, laboratoriosta riippuen, joko tunnin tai kahden tunnin kuluttua näytteenotosta. (Fimlab Laboratoriot Oy 2012a; Tykslab Laboratoriot 2013.)

Jos hyytymistutkimusta (tromboplastiiniaika) ei voida suorittaa viimeistään vuorokauden kuluttua näytteenotosta, laboratoriosta riippuen, hyytymisnäyte erotellaan ja plasma joko pakastetaan lähetystä varten -20°C asteeseen (Huslab) tai se lähetetään huoneenlämpöisenä (Fimlab). Joidenkin laboratorioiden mukaan P-APTT-tutkimusta varten plasma voidaan tarvittaessa pakastaa. Näin tehdään esimerkiksi Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin Huslabissa, Turun Tykslabissa ja Oulun Nordlabissa. Jos plasma pakastetaan, jäänyt plasma tulee sulattaa hyvin nopeasti 37°C :ssa, minkä jälkeen suoritetaan näytteen kevyt sekoitus ja näyte analysoidaan. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008, 5; Huslab Laboratoriot 2014b; Huslab Laboratoriot 2014c; Fimlab Laboratoriot Oy 2012b; Nordlab Laboratoriot 2014; Tykslab Laboratoriot 2013.)

4 HYYTYMISTUTKIMUKSET

Hyytymistutkimuksilla selvitetään hyytymisjärjestelmän toimintaa. Hyytymistutkimuksia tarvitaan muun muassa tilanteissa, joissa seurataan potilaan akuuttia hyytymishäiriön diagnostiikkaa, selvitetään sekä laskimotukostaipumusta että verenvuototaipumusta ja seurataan potilaan antitromboottista hoitoa. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 275.)

Tampereen ammattikorkeakoulun STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteella määritetään kahta hyytymistutkimusta, tromboplastiiniaikaa eli P-TT-SPA:ta; oraalisen antikoagulanttihoitoon seurannassa käytettävää INR-tulostusta eli P-INR:ää, ja aktivoitua partiaalista tromboplastiiniaikaa eli APTT:ta. Seuraavassa käsittelemme näitä tutkimuksia tarkemmin, mutta opetusta varten laadituissa työohjeissa asiat on esitetty vielä tarkemmin.

4.1 Tromboplastiiniaika (P-TT-SPA), (P-TT-INR)

Tromboplastiiniajalla (TT) mitataan ulkoisen hyytymisjärjestelmän tekijöitä. Tromboplastiiniaika heijastaa myös hyytymisjärjestelmän sekundaarisen osan niin sanotun ulkoisen (tekijä VII) ja yhteisen (tekijät II ja X) tien aktiivisuutta hyytymisprosessissa. Tromboplastiiniaika mittaa maksaperäisten K-vitamiinista riippuvien II, V, VII ja X osuutta hyytymistapahtumassa. P-TT-SPA-tutkimusta käytetään yleensä yhdessä APTT-tutkimuksen (aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika) kanssa. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 279-280.) Antikoagulanttihoitona käytettävä varfariini estää edellä mainittujen K-vitamiinista riippuvien hyytymistekijöiden lisäksi tekijän IX synteesiä (Fimea 2008). Tromboplastiiniajan käyttöaiheita ovat muun muassa perinnöllisen ja hankinnaisen hemostaasihäiriön seulonta ja maksan toimintakyvyn seuranta (Fimlab Laboratoriot Oy 2012a; Yhtyneet Medix-laboratoriot 2013a).

Tromboplastiiniaika-määrittämisessä trombosyyttiköyhää plasmaa laimennetaan huoneenlämpöisellä sitraattipuskurilla ennen varsinaisen määrittäksen tekoa. Laimennosta inkuboidaan 37 °C:ssa fosfolipidiä sisältävän SPA-reagenssin kanssa. Hyytymisen muodostumiseen kuluvan ajan mittaus alkaa välittömästi SPA-reagenssin lisäämisen jälkeen ja loppuu, kun hyytymä on muodostunut. (Practical-Haemostasis 2012.)

4.2 Reagenssit ja kontrollit

STArt4[®] -hyytymisanalysointilaitteissa kliinisen hematologian hemostaasi-opintojakson opinnoissa käytettävät reagenssit ovat Diagnostica Stago valmistamia. Tromboplastiiniaika-määrittämisessä käytettävä reagenssi on SPA 20[®] (Stago prothrombincomplex assay). SPA 20[®]-reagenssi on seos kanin aivoista eristettyä kudostromboplastiinia ja naudan plasmaa. Seoksesta on poistettu hyyttymistekijät II, VII ja X. Naudan plasmasta reaktioon saadaan tekijä V ja fibrinogeeni. Varsinaisen SPA-reagenssin lisäksi reagenssipakkaukseen kuuluu kalsiumin sisältävä diluentti eli laimentaja, joka laimentaa reagenssin. Diluenttina käytetään pH:ltaan hieman emäksistä (7.35) sitraattipuskuria. Reagenssit otetaan huoneenlämpöön noin 30 minuuttia ennen käyttöä. Diluenttia pipetoidaan reagenssipullon kyljessä oleva määrä (4 ml) SPA-reagenssipulloon. Ennen sekoitusta liuoksen annetaan liueta huoneenlämmössä noin 30 minuuttia. Liuotuksen jälkeen reagenssipulloa sekoitetaan hellävaraisesti niin kauan kunnes liuos on kokonaan homogenisoitunut. Käyttämätön SPA-reagenssi säilyy 2-8°C:ssa viimeiseen käyttöpäivään asti, kun taas SPA-diluentti -seoksen säilyvyysaika on jääkaappilämpötilassa kolme vuorokautta. (Diagnostica Stago 2009b.)

Kontrollit tromboplastiiniaika-määrittämisessä ovat kauppanimiltään Scandinorm[®] ja Scandipath[®]. Scandinorm[®] on normaalitason plasmakontrolli ja Scandipath[®] on epänormaali ja hoitotason kontrolli. Kontrollipulloihin lisätään pullon kyljessä ilmoitettu määrä tislattua vettä (1 ml), minkä jälkeen kontrollin annetaan liueta huoneenlämmössä vähintään 15 minuuttia. Liukenemisen jälkeen kontrollipulloa sekoitetaan hellävaraisesti niin kauan kunnes liuos on kokonaan homogenisoitunut. (Diagnostica Stago 2009b.)

Tulosten vastaaminen ja tulkinta

Hyttymistutkimusten tulokset annetaan aina sekunteina ja muussa halutussa muodossa. Prosenttiyksikkö (%) kertoo prosenttiosuuden hyttymiseen kuluneesta ajasta, prosentti-INR (%-INR) kertoo INR-tuloksen prosentteina (vrt. 100%). Sec. ilmaisee hyttymiseen kuluneen ajan sekunteina, Ratio ilmaisee potilasnäytteen hyttymisajan ja referenssiajan suhteen sekä Ratio-INR ilmaisee potilasnäytteen hyttymisajan ja referenssiajan suhteen sekä INR-arvon. Taulukossa 1, sivulla 19 on esitetty edellä mainitut yksiköt ja niiden määritelmät.

TAULUKKO 1. Hyytymistutkimusten yksiköt ja niiden määritelmät (Reference manual for STArt4[®] 2009, 5-2, muokattu)

Yksikkö	Määritelmä
%	Prosenttiosuus
%-INR	Prosenttiosuus ja INR (International Normalized Ratio)
sec.	Sekunti
Ratio	Potilasnäytteen hyytymisajan suhde referenssiaikaan
Ratio-INR	Potilasnäytteen hyytymisajan suhde referenssiaikaa ja INR (International Normalized Ratio)

Viitearvo P-TT-SPA –tutkimukselle on 70-130%. SPA-arvo luetaan sekuntien mukaan reagenssieräkohtaiselta vakiokuvaajalta. Pidentynyttä P-TT-SPA-arvoa tavataan perinnöllisissä tai hankituissa hyytymistekijöiden II, VII ja X puutostiloissa, vitamiinien puutostiloissa tai maksan vaurioissa. Alentunut P-TT-SPA arvo viittaa oraaliseen antikoagulanttihoitoon, K-vitamiinin vajaukseen tai maksan vakavaan vaurioon tai alentuneeseen fibrinogeenipitoisuuteen. (Fimlab Laboratoriot Oy 2011; Yhtyneet Medix-laboratoriot 2013a.)

Oraalisen antikoagulanttihoidon seurannassa käytetään INR-tulostusta. INR-termi tulee englannin kielen sanoista *International Normalized Ratio*. INR on laskennallinen suure, joka saadaan mitatusta P-TT:stä. INR-arvo saadaan laskettua kaavan (1) mukaisesti. (Syrjälä 2014.)

$$INR = \frac{\text{mitattu tromboplastiiniaika (s)}^{ISI}}{\text{normaali tromboplastiiniaika (s)}} \quad (1)$$

Kaavassa 1 ISI-lyhenne tulee englannin kielen sanoista *international sensitivity index*. ISI-arvo huomioi herkkyyserot reagensseissa ja saa aikaan yhdenmukaisemmat tulokset oraalisen antikoagulanttihoidon stabiilissa vaiheessa. INR:n ja tromboplastiiniajan (TT) tulosten prosenttiarvojen suhde on käänteinen eli, kun tromboplastiiniajan prosenttiosuus pienenee, INR-tulos kasvaa. Viitearvot INR:lle ovat 0,9-1,2. INR:n normaaliar-

vo on 1. Hoidon indikaatiosta riippuen INR:n terapeuttiset arvot voivat vaihdella, esimerkiksi tromboosin ja embolismien ennaltaehkäisyssä INR-arvo on 2-3, läppäproteeseiden asennuksen jälkeen 2,5-3,5 ja keuhkoveritulpan jälkeen 2-3. (Syrjälä 2014; Fimlab Laboratoriot Oy 2012c.)

4.3 Tromboplastiiniaika, aktivoitu partiaalinen (P-APTT)

APTT eli aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika on sisäisen hyytymisjärjestelmän seulontatutkimus. APTT:ta käytetään tutkittaessa perinnöllisiä ja hankittuja hyytymistekijäpuutoksia ja seurattaessa hepariinihoitoa. Perinnöllisistä hyytymistekijävajauksista yleisimpiä ovat VIII- ja IX-tekijöiden puutokset ja vajaukset. Tällöin kyseessä on A- tai B-hemofilia. (Mustonen ym. 2007, 516; Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 280-281.)

Vuototaipumusten selvittelyn lisäksi yksi tärkeimmistä APTT:n käyttöalueista on hepariini-liuotushoidon seuranta. Fraktioimatonta hepariinia (UFH) käytetään esimerkiksi äkillisten valtimotukosten ja keuhkoembolian alkuvaiheen hoidossa sekä hemolyysihoidojen ja plasmanvaihtojen yhteydessä. Hepariinia annostellaan parenteraalisesti eli muutoin kuin ruoansulatuskanavan kautta, ja sen annostus jatkuu potilaan painokilojen mukaan. Ensimmäinen APTT-mittaus tehdään kahden-neljän tunnin kuluttua hoidon aloittamisesta, minkä perusteella tehdään päätös annoksen muuttamisesta. Tavoitteena APTT-tasolle on hoidon aloittamisen jälkeen 1,5-2,5 kertaa normaalin viitevälin keskiarvo. (Mustonen & Lassila 2007, 602-603.)

Hyytymistekijöistä APTT:hen vaikuttavat fibrinogeeni, hyytymistekijät II, V, VIII, IX, X, XI ja XII. APTT on epäherkkä osoittamaan fibrinogeenin ja protrombiinin muutosta. APTT:hen eivät vaikuta hyytymistekijöiden VII ja XIII aktiivisuudet. (Joutsu-Korhonen & Koski 2010, 280-281.)

APTT määritetään plasmasta. Määrittämisessä lähes trombosyyttiköyhää plasmaa inkuboidaan 37°C:ssa fosfolipidejä ja kontaktiaktivaattoria sisältävän APTT-reagenssin kanssa. Inkuboinnin vaikutuksesta näytteessä käynnistyy kontaktiaktivaatio, kun hyytymistekijä XII aktivoituu. Aktivaation tapahduttua näytteeseen lisätään kalsiumkloridia. Kalsiumkloridin lisäyksen jälkeen näytteen hyytyminen alkaa ja hyytymiseen kulu-
nut aika mitataan. (Practical-Haemostasis 2012.)

4.4 Reagenssit ja kontrollit

APTT-reagenssi sisältää kontaktiaktivaattoria ja fosfolipidiä. Reagenssissa olevat fosfolipidit korvaavat verihiutaleiden fosfolipidikalvot ja kontaktiaktivaattori verisuonen seinämän. (Practical-Haemostasis 2012.) STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteissa APTT-reagenssi on Diagnostica Stago PTT Automate 5[®]. Stago reagenssi koostuu kanin aivoista eristetyistä trombosyyteistä korvaavista aineista ja puskuroiduista partikkeliaktivaattoreista. Reagenssi on kylmäkuivattu jauhe, joka sekoitetaan reagenssipullon kyljessä ilmoitettuun määrään (5ml) tislattua vettä ja seoksen annetaan seistä huoneenlämmössä noin 30 minuuttia. Ennen käyttöä liuos sekoitetaan. Sekoittamaton jauhe säilyy 2-8 °C:ssa viimeiseen käyttöpäivään asti, mutta valmiin liuoksen säilymisaika on seitsemän vuorokautta jääkaappilämpötilassa. Reagenssipakkaukseen ei sisälly kalsiumkloridia (CaCl₂). Kalsiumkloridi tulee ottaa huoneenlämpöön 30 minuuttia ennen käyttöä ja sekoittaa hyvin. (Standardized operating procedures for STArt4[®] 2002; Diagnostica Stago 2009a.)

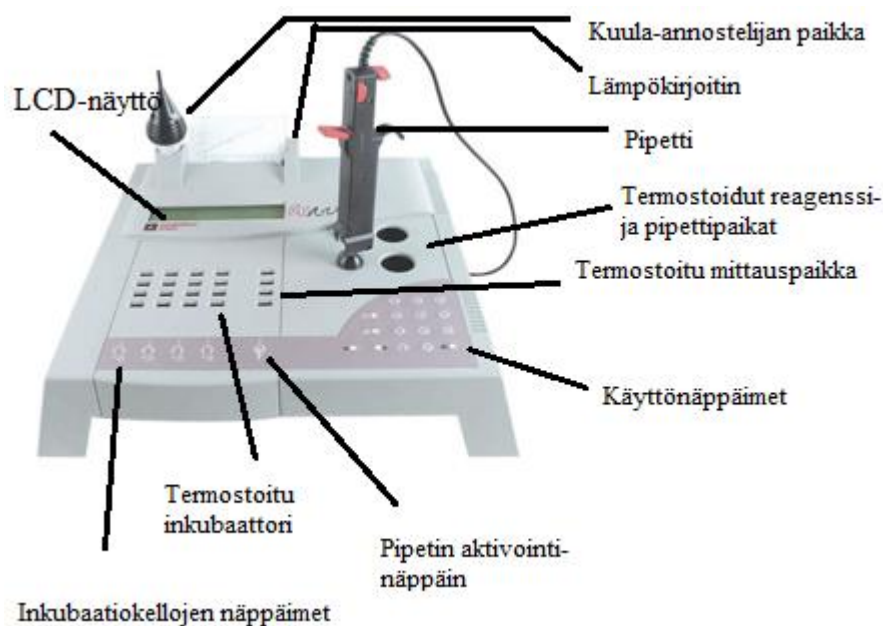
Myös APTT:ssa käytetään TT:n tavoin kontrolleina Scandinormia[®] ja Scandipathia[®]. Kontrollipulloihin lisätään pullon kyljessä ilmoitettu määrä tislattua vettä (1 ml), minkä jälkeen kontrollin annetaan liueta huoneenlämmössä vähintään 15 minuuttia. Liukeneamisen jälkeen kontrolliliuosta sekoitetaan sen homogeenisoimiseksi. (Diagnostica Stago 2009a.)

Tulosten vastaaminen ja tulkinta

P-APTT:n tulos ilmaistaan sekunteina (Standardized operating procedures for STArt4[®] 2002). Viitearvo P-APTT-tutkimukselle on Yhtyneiden Medix laboratorioden mukaan 23-33 sekuntia ja Fimlab laboratoriot Oy:n mukaan 23-35 sekuntia. (Yhtyneet Medix Laboratoriot 2013b, Fimlab laboratoriot Oy 2012b). Viitearvot vaihtelevat laboratorioittain ja ovat riippuvaisia laitteen käyttötekniikasta eli onko laite manuaali- vai automaattikäyttöinen, aktivaattorista, käytetystä inkubaatioajasta ja reagensseista. (Practical-Haemostasis 2012.) P-APTT-arvoa pidentävät A- ja B-hemofilia, von Willebrandin tauti, vaikeat hyytymistekijävajeet (esim. disseminoitunut intravaskulaarinen koagulopatia eli DIK), vasta-aineet ja lupusantikoagulantti. (Mäkiperna 2014.)

5 START 4[®]-HYTYMISANALYSAATTORI

Tampereen ammattikorkeakoulun kliinisen hematologian opetuksessa käytetään ranskalaisen Diagnostica Stagon valmistamaa STArt4[®]-hytyymisanalyysaattoria. Analyysaattori on pöytämallinen ja se on suunniteltu pienten laboratorioiden tarpeisiin. STArt4[®] on kompakti, nimensä mukaisesti 4-kanavainen *in vitro*-tutkimuksille tarkoitettu koagulometri. Kuvassa 1 nähdään STArt4[®] -hytyymisanalyysaattori. (Triolab 2014.)



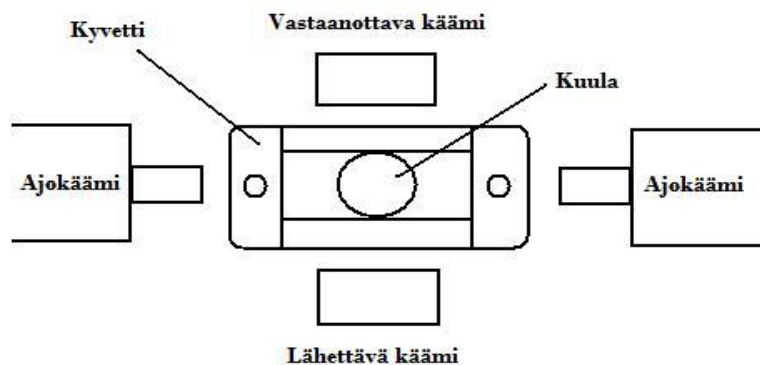
KUVA 1. STArt 4[®] -hytyymisanalyysaattori (Triolab 2014, muokattu)

Analyysaattorin pääosat ovat sisäänrakennetut plasman ja reagenssien inkubaatioalueet, integroitu lämpötulostin, laskin, neljä erillistä inkubaatioajastinta ja neljä mittauskanavaa. Laitteen mittausperiaate on sähkömagneettinen. (Stago 2014; Reference manual for STArt 4[®] 2009, 2.) Mittausmenetelmä on luotettava vaikka tutkittava näyte olisi näytteenotosta johtuen muuttunut hemolyyttiseksi, lipeemiseksi tai ikteeriseksi, sillä nämä virhelähteet eivät vaikuta laitteen sähkömagneettiseen mittausmenetelmään (Triolab 2014).

5.1 Koagulometria

Laitteen mittausperiaate on sähkömagneettinen, mekaaninen hyytymisen mittaus, jossa hyytymisen mittaus perustuu plasman viskositeetin kasvuun tutkimuksen aikana. Toisin kuin optisilla laitteilla lipeemiset, hemolyyttiset tai ikteeriset näytteet eivät aiheuta ongelmia. Myös kokoverta voidaan käyttää mittauksissa. (Diagnostica Stago 2006.) Reagenssin lisääminen aikaan saa hyytymisen käynnistymisen, jolloin kyvetissä oleva kuula alkaa liikkua painovoimansa ansiosta pitkästä suunnassa kyvetissä. Pallon liikkeen aikaansaavat molemmiin puolin kyvetiä vuorotellen toimivat magneetit. Hyytymisreaktiossa muodostuva fibriini alkaa muodostaa estettä pallon liikkeelle. Magneeteissa on myös sensori, joka mittaa automaattisesti ajan pallon liikkeen alkamisesta sen pysähtymiseen. (Spaethe, R. 1984; Diagnostica Stago 2006, 6.)

Viskositeetin muutosta mitataan mittaamalla heiluvan teräskuulan amplitudia erityisesti muotoillussa kyvetissä. Teräskuulan liikkeen saa aikaan kaksi vuoronperään aktivoitua käämiä, jotka ylläpitävät heiluriliikettä. Kun aloitusreagenssi lisätään, mittaus sekä kello käynnistyvät välittömästi ja samanaikaisesti. Kuulan heilahdellessa vuoroin vasemmalle ja oikealle, sen liikkeen amplitudia mitataan. Amplitudia mitataan läpi koko hyytymisprosessin. Amplitudi pysyy muuttumattomana niin kauan kuin hyytymistä ei tapahdu. Kello mittaa näytteen hyytymiseen kuluneen ajan. Kun hyytymä alkaa muodostua, näytteen viskositeetti kasvaa, jolloin amplitudi pienenee. Perustuen useisiin algoritmeihin, kello pysähtyy vaikka hyytymä olisi heikko ja kuula ei pysähdy. (Diagnostica Stago 2006.) Kuvio 1 näyttää periaate, jolla teräskuula saadaan liikkumaan ajo-käämien aikaansaamassa magneettikentässä kyvetin pohjalla.



KUVIO 1. Kaavakuvana esitetty hyytymisaikaa mittaava mittalaitteisto (Reference manual for STArt4® 2009, 4-1, muokattu)

5.2 Laitteen käyttö

Ennen käytön aloitusta STArt4[®] –hyytymisanalysointilaitteen tulee asettaa tasaiselle, värinää kestäväälle alustalle. Analysointilaitteen ympärille tulee jättää riittävästi tilaa, Diagnostica Stagon ohjeiden mukaan leveydelle 600 mm ja syvyydelle 700 mm. Analysointilaitteeseen käynnistetään takapaneelissa sijaitsevasta virtakytkimestä. Käynnistyksen jälkeen laite suorittaa testausohjelman ja näyttöön tulee teksti ”End of Self-Check: OK. Press any key to continue”. Painamalla esimerkiksi Enter-näppäintä päästään päävalikkoon. Laitteen ohjeiden mukaan suoritetaan alkutoimet eli tarkistetaan laitteen asetukset (System Check), joihin kuuluvat esimerkiksi päivämäärän ja kellonajan asentaminen sekä laitteen äänten asentaminen päälle tai pois. Laitteelle tehtäviin alkutoimiin kuuluu myös tulospaperirullan tarkistus. (Triolab 2014; Reference manual for STArt 4[®] 2009, 3-2.)

Laitteen tulee olla käynnissä vähintään 30 minuuttia ja sen lämpötilan tulee olla vähintään 36,5 °C ennen kuin tutkimusten tekeminen voidaan aloittaa. Laitteen päävalikosta päästään halutun toiminnon valikkoon syöttämällä sen numero ja painamalla *Enter*-painiketta. (Reference manual for STArt4[®] 2009, 3-2.) Taulukossa 2 on esitetty laitteen päävalikko.

TAULUKKO 2. STArt[®] 4-hyytymisanalysointilaitteen päävalikko (Reference manual for STArt4[®] 2009, 6-1, muokattu)

DIAGNOSTIGA STAGO	
1: TEST MODE	2: CALIBRATION
3: TEST PARAMETERS	4: SYSTEM CHECK
Enter code number	:

Päävalikon ensimmäiseen alavalikkoon *Test mode* etenemisen edellytyksenä on, että laitteen lämpötila on noussut 36,5 °C:een. *Test mode*:ssa on jokaiselle laitteella tehtävälle tutkimukselle tallennettuna omat parametrit. Tällaisia parametreja ovat esimerkiksi maksimaalinen aika eli analyysiin maksimissaan käytettävä aika, inkubaatioaika, kahden tuloksen välinen maksimaalinen sallittu ero prosentteina sekä haluttu yksikkö tuloksille. (Reference manual for STArt4[®] 2009, 6-1.)

Test mode-valikosta valitaan sen nimen mukaisesti tehtävä tutkimus. Diagnostica Stagon Reference manual:n mukaan valittavia tutkimuksia ovat tromboplastiiniaika, aktivoitu partiaalinen tromboplastiiniaika, fibrinogeeni, hyytymistekijät, hepariini, inhibiitorit, TCT, Lupus ja SPA. Käytettävissä oleva tutkimusvalikoima riippuu käytössä olevista reagensseista. (Reference manual for STArt4[®] 2009, 6-1.)

Ennen analyysin tekoa valitaan myös tapa potilaan näytteen identifioinnille laitteeseen. Identifiointitapoja on kaksi: manuaalinen tai automaattinen. Manuaalisessa (*Manual mode*) identifioinnissa jokaiselle potilasnäytteelle näppäillään omat tunnistenumerot, esimerkiksi syntymäaika, numeronäppäinpaneelin avulla. Tunnistenumeroita täytyy olla vähintään yksi ja niitä saa olla enintään seitsemän. Automaattisessa (*Automatic mode*) identifioinnissa ensimmäiseen näytekohtaan kirjoitetaan jokin numero tai numerosarja, ja seuraavat näytenumerot päivittyvät automaattisesti kasvavassa järjestyksessä. (Reference manual for STArt4[®] 2009, 6-2.) Näytenumeroitavan valinnan ja näytteiden identifioinnin jälkeen laite siirtyy mittaustilaan. (Triolab 2014.)

Analyysien alussa tehdään huolelliset esivalmistelut. Reagenssit otetaan huoneenlämpöön, liuotetaan ohjeiden mukaan ja laitetaan inkuboitumaan laitteen niille kuuluville paikoille kuten myös kyvetit, joiden tulee lämmitä inkubaattorissa +37°C:een. Kyvetteihin jaotellaan plasman hyytymisen osoittavat kuulat valmiiksi kuulajakajalla. Myös pipettiin asennetaan sopivan kokoinen kärki. (Reference manual for STArt4[®] 2009, 6-3.)

Pipettinä analysaattorissa käytetään Finnpipe[®] -merkkistä kaapelipipettiä. Diagnostica Stago on muokannut pipettiä siten, että siihen on asennettu tarvittavan reagenssitilavuuden säilytys- ja jakojärjestelmä, ja kaapeli, jonka kautta tieto reagenssin jakamisesta siirtyy laitteeseen. Kaapeloidun pipetin ansiosta hyytymisajan mittaus käynnistyy automaattisesti heti, kun reagenssit on lisätty kyvetiin. Pipetissä käytetään kärkiä, joissa on eri tilavuudet. Kärjet vaihdetaan aina eri reagenssien välillä kontaminaation estämiseksi. Periaate reagenssin jaettava tilavuus saadaan kertomalla pipetin kärjen minimi-tilavuus pipetin tilavuuden valitsimessa olevalla numerolla. (Reference manual for STArt4[®] 2009, 2-5.)



KUVA 2. STArt4[®] -hyytymisanalysaattorin kaapelipipetin kärki sekä kaapelipipetti (KUVA: Lehtinen & Puskala, 2014)

Kyvettien, reagenssien ja pipetin riittävän pitkän inkuboinnin jälkeen pipettiin täytetään haluttu tilavuus reagenssia ja myöhemmässä vaiheessa plasmaa. Pipetistä reagenssit ja plasma jaetaan mitta-alueella oleviin kyvetteihin analyysin teko-ohjeiden mukaisesti. Hyytymisajan mittaus alkaa välittömästi viimeisen reagenssin lisäämisen jälkeen. Eri-tyisen tärkeää on täyttää kyvetit oikeassa järjestyksessä, oikeaan potilaan plasmalla, jotta näytteet eivät mene sekaisin. Kun analyysit ovat valmiita, laite tulostaa automaattisesti tulosten saaduista testituloksista. Käsittelemme yksityiskohtaisemmin analyysin teko-vaiheita tuotoksessamme. (Reference manual for STArt4[®] 2009, 6-3, 6-4.)

Test mode-valikosta seuraava on *Calibration*-valikko. Edellä mainitun valikon kautta laite kalibroidaan, jotta voidaan määrittää kalibrointipisteet ja laatia niiden avulla kalibraatiokuvaaja. Lehtori Leena Mattila-Oksasen (2014) mukaan kalibraattorit tulee tilata erikseen ja ne toimitetaan erillään reagenssipakkauksista. Kalibrointipisteet syötetään laitteeseen jokaisen analyysin kohdalla erikseen käyttäen reagenssivalmistajan käsime-
netelmän kuvaajaa. Kalibrointipisteistä muodostuu kuvaaja, joka tulee hyväksyä manu-
aalisesti. Hyväksyty kuvaaja tulostuu paperille. Kalibraatio tehdään aina reagenssierän
vaihtuessa. Opinnäytetyömme tuotokseen oli suunniteltu kuuluvaksi laitteella tehty ka-
libraatiokuvaaja, mutta se jätettiin tekemättä, koska uutta reagenssierää ei ollut tarkoi-
tuksen mukaista hankkia. Kalibraatio tarkastetaan tunnetuilla kontrolleilla (Scandinorm
ja Scandipath) ennen potilasnäytteiden tutkimista. Kontrollit analysoidaan samalla ta-
voin kuin potilasnäytteet. (Reference manual for STArt4[®] 2009, 7-3; Triolab 2014.)

Mittausparametrejä pystytään muokkaamaan *Test parameters*-valikosta. Tästä valikosta säädetään maksimimittausaikaa, inkubointiaikaa, yksittäis- ja rinnakkaismäärittäyksiä, niiden välistä hyväksyttävää eroa ja mittayksiköitä. Maksimimittausaika ilmaisee ajan,

jonka laite mittaa. Triolabin käyttöohjeen mukaan yleensä kannattaa käyttää maksimiai-
kaa, joka on alle 250 sekuntia. Inkubaatioajoista STArt4[®] pystyy hallitsemaan kahta
inkubaatioaikaa jokaiselle testille. Ensimmäinen on pre-inkubaatioaika (T_1) eli inkubaa-
tioaika ennen analyysin tekoa ja toinen on varsinainen inkubaatioaika (T_2) analyysin
teon aikana. Menetelmissä, joissa tarvitaan vain yksi inkubaatio, aika merkitään kohtaan
 T_2 ja kahden inkubaation menetelmissä. Inkubaatioajan valitsemisen jälkeen laitteen
näyttöön ilmestyy mittayksiköitä, joista valitaan se, jota halutaan mitata. (Reference
manual for STArt4[®] 2009, 5-1 & 5-2; Triolab 2014.)

5.3 Laitteen huoltotoimet

STArt[®]-hyytymisanalysaattorin ennaltaehkäisevät huoltotoimenpiteet jaetaan päivittäi-
sin, viikottaisin ja puolivuositain tehtäviin huoltotoimenpiteisiin. Päivittäin tehtäviin
huoltotoimenpiteisiin kuuluvat pipettimen lämpöjohtimen eli lämpöhauteen puhdistami-
nen keittosuolaliuokseen kostutetulla vanulapulla, lämpöhauteen huuhtelu tislattulla
vedellä ja kuivaaminen imukykyisellä paperilla. Pipetin kärjet huuhdellaan jokaisen
käyttökerran jälkeen keittosuolaliuoksella ja huuhdellaan tislattulla vedellä. Tämän jäl-
keen pipetin mäntä otetaan ulos ruiskusta ja sen annetaan kuivua. Kun pipettiä käytetään
päivittäin, samaa pipetinkärkeä voidaan käyttää useamman kerran, jonka jälkeen se vas-
ta vaihdetaan. Tampereen ammattikorkeakoulun hemostaasiopinnoissa käytettävät pipe-
tinkärjet ovat kertakäyttöisiä, sillä määrityksiä tehdään laitteella hyvin harvoin. (Refe-
rence manual for STArt4[®] 2009, 9-1; Triolab 2014.)

Kerran viikossa tehtäviin huoltotoimenpiteisiin kuuluu laitteen pinnan pyyhkiminen ja
reagenssipullojen lämpöhauteiden puhdistaminen keittosuolaliuokseen kostutetulla
imukykyisellä paperilla. Mittausalue, inkubaatioalue ja pipetti tulee puhdistaa 20-40%
etanoliin kostutetulla vanulapulla. Keittosuolaliuoksella ja etanolilla puhdistetut alueet
huuhdellaan tislattuun veteen kostutetulla paperilla ja kuivataan imukykyisellä paperilla.
Jos näytekyvetit ovat rikkoutuneet tai laitteen osiin on roiskunut näytettä, reagenssia tai
kontrollia, kontaminoituneet alueet puhdistetaan 0,37% keittosuolaliuoksella, huuhdel-
laan ja kuivataan huolellisesti. Huoltotoimenpiteitä tehtäessä on välttämätöntä käyttää
kertakäyttökäsineitä. (Reference manual for STArt4[®] 2009, 9-1 & 9-2; Triolab 2014.)

Puolivuositain tehtäviin huoltotoimenpiteisiin kuuluu *self-test*:n tekeminen. Self-testillä tarkistetaan, toimiiko laite oikein vai ei. Testillä testataan laitteen kaikkien painikkeiden ja pipetin toiminta. (Reference manual for STArt4® 2009, 9-2.)

Huoltotoimenpiteiden lisäksi laitteeseen on myös tarpeen tullen vaihdettava tulostuksessa käytettävä paperirulla ja laitteen takaosassa sijaitsevat sulakkeet. Vanha paperirulla otetaan pois ennen uuden asettamista. Uuden rullan pää leikataan saksilla lievään V-muotoon ja rullan pää asetetaan paperin syöttöaukkoon ja painetaan tulostusnäppäintä. Loppu rulla asetetaan sille kuuluvalla paikalle. Tulostusnäppäintä painetaan, kunnes paperin pää tulee ulos tulostimesta. Paperia ei tule vetää, sillä se voi vahingoittaa tulostinta. Sulakkeita vaihdettaessa on ensin sammutettava virta analysaattorista, minkä jälkeen virtakaapeli irrotetaan ja avataan sulakkeen pitimet ruuvimeisselillä. Vanhojen sulakkeiden tilalle vaihdetaan uudet, virran arvoltaan samansuuruiset sulakkeet kuin vanhat. Tämän jälkeen ruuvataan sulakkeenpitimet takaisin paikoilleen, kiinnitetään virtakaapeli ja käynnistetään laite. (Reference manual for STArt4® 2009, 9-4 & 9-5.)

6 HYVÄ TYÖOHJE

Työohjeen tarkoituksena on vähentää suullisen opetuksen määrää ja helpottaa opiskelijan itsenäistä työskentelyä. Työohje etenee loogisesti ja siitä selviää vaihe vaiheelta, mitä pitäisi seuraavaksi tehdä. Se on tyyliältään myönteinen ja innostaa sekä motivoi lukijaansa. Ymmärtämisen helpottamiseksi työohje kuvitetaan. Tämä hyödyttää etenkin visuaalista oppijaa. Hyvä työohje on helppolukuinen ja ymmärrettävä. Työohjeen tulisi olla kieliopillisesti oikein, sitä ei tule kirjoittaa esimerkiksi kokonaan isoilla kirjaimilla. (Melakoski-Vistbacka S. 2005; Highet 2008.)

Kuvien ja tekstin tulee olla yhdenmukaiset. Työohjeen tulisi olla hyvin rakenneltu ja jäsennelty ja sen tulisi edetä loogisesti. Sanojen, lauseiden ja kokonaisuuden tulee olla käyttäjälle ymmärrettäviä ja epämääräisiä ilmaisuja tulee välttää. Se ei ole liian monimutkainen, mutta ei myöskään liian yksinkertainen. Se sisältää siis sopivasti informatiivista tekstiä ja on tyyliältään yhtenäinen. Hyvä työohje on johdonmukainen eli sitä on helppo seurata työn edetessä. Työohjeen ei tulisi sisältää epäolennaista tietoa ja sen tulisi antaa tunteen siitä, että sen lukemisesta on hyötyä. Hyvä työohje on ajantasainen ja luotettava, se on dokumentoitu ja se on helposti löydettävissä. Koska tuotteen valmistaja tuntee tuotteen tekniset tiedot parhaiten, on luonnollista, että alkuperäisen käyttöohjeen laatii laitteen valmistaja. (Mattila 2006; Melakoski-Vistbacka S. 2005; Highet 2008.)

Tämän vuoksi opinnäytetyömme tuotoksena syntyvän käyttö- ja laiteohjeen perustana ovat laitteen valmistajan alkuperäiset käyttöohjeet.

Työohjeen suunnittelua varten kokeilemme itse käyttää analysointia, jota varten ohjeita tehdään. Näin saamme paremmin käsityksen siitä, millainen työohjeen tulisi olla. Samalla otamme kuvia työn edetessä eri vaiheista. Pyrimme noudattamaan hyvän työohjeiston teko-ohjeita ja näin ollen laatimaan ohjeistoista kattavat ja helposti ymmärrettävät.

7 TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ

Tavoitteena ammattikorkeakoulusta saadulle koulutukselle on opiskelijan ammattitaitoinen toimiminen valmistuttuaan alansa tehtävissä. Ammattikorkeakoulun opintojen loppuvaiheessa opiskelija laatii omaa ammatillista osaamistaan osoittavan opinnäytetyön. Opinnäytetöiden aiheet tulevat työelämästä ja ne ovat käytännönläheisiä. (Vilka & Airaksinen 2003, 10.)

Toiminnallinen opinnäytetyö on kehittämistyö, joka tehdään työelämää varten. Se muun muassa kehittää ja järkeistää ammatillisessa toiminnassa käytännön tehtäviä. Toiminnallisessa opinnäytetyössä toimeksiantaja antaa tehtävän, esimerkiksi kehittämissuunnitelman, oppaan tai kirjan laatimisen. (Vilka & Airaksinen 2003, 9.) Toiminnallista opinnäytetyötä tehtäessä tulee käsiteltävää asiaa tarkastella tutkivalta ja kehittyvältä kannalta. Kirjoittajan tulee myös arvioida tekemiään opinnäytetyön valintoja kriittisesti ja pohdiskelevasti. (Lumme ym. 2006.)

Toiminnallinen opinnäytetyö koostuu kahdesta osasta, opinnäytetyöraportista ja toiminnallisesta osuudesta eli tuotoksesta. Raportti kuvailee opinnäytetyöprosessia. Raportissa kuvaillaan, mitä, miksi ja miten on tehty. Raportista tulee näkyä myös kuvausta työprosessista ja omaa arviointia oppimista kohtaan. (Vilka & Airaksinen 2003, 65.) Tuotoksen tulee pohjautua ammattiteoriaan ja siihen tulee kuulua teoreettinen viitekehys. Tuote voi olla esimerkiksi opas, kirja, video tai kotisivut. (Vilka & Airaksinen 2003, 9, 16-17.)

Opinnäytetyössämme on tarvittavat kriteerit toiminnalliselle opinnäytetyölle. Työmme on toiminnallinen, koska siihen liittyy sekä raporttiosuus että tuotos. Työllämme on myös tilaaja; Tampereen ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyön tuotoksena on STArt[®] 4-hyytymisanalysointin käyttöohje tarkempine selityksineen sekä tästä tiivistetty, selkeä lyhytohje oppitunneille bioanalytiikan opiskelijoiden käytettäväksi.

8 OPINNÄYTETYÖPROSESSIN KUVAUS

Opinnäytetyöprosessi alkoi syksyllä 2013 aiheen valinnalla. Aihe oli aluksi nimeltään ”STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteen mukaiset käyttö- ja laiteohjeet opiskelijoille”. Työn nimi muotoutui kuitenkin muotoon ”STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteen käyttö- ja lyhytohjeet bioanalyttikko-opiskelijoille”. Aiheen valinta perustui kiinnostukseemme syventää tietoaamme kliinisestä hematologiasta ja edesauttaa nuorempien opiskelijoiden opiskelua. Työn nimeksi muutimme ”käyttö- ja lyhytohjeet”, sillä ne kuvaavat mielestämme parhaiten laatimiamme ohjeita. Jätimme prosessissa työn nimestä myös pois sanat ”laatukäsikirjan mukaiset”, sillä emme käsitelleet teoriaosuudessa laatukäsikirjaa millään tavalla.

Aiheen valinnan jälkeen teimme ideapaperin opinnäytetyötä varten. Ideapaperin laatimisen jälkeen teimme opinnäytetyösuunnitelman ja sen saimme valmiiksi lokakuussa 2013. Lokakuussa oli myös suunnitelman esitys. Ohjaavien opettajien sekä opponenttien palautteiden perusteella teimme ehdotetut korjaukset suunnitelmaan. Lokakuussa aloimme myös kerätä lähteitä opinnäytetyömme teoriaosuutta varten. Käyttökelpoista teoriatietoa oli vaikea löytää, sillä kliinisen hematologian erikoiskirjat hemostaasia koskien ovat peräisin pääosin ennen vuotta 2010. Luvan opinnäytetyön tekoon saimme joulukuussa 2013.

Aloitimme raporttiosuuden kirjoittamisen keväällä 2014. Rajasimme heti teoriaosuuteen sellaiset aiheet, jotka olisivat olennaisia opinnäytetyön tuotoksen kannalta. Huhtikuun itsenäisen opiskelun viikolla saimme testattua STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitetta käytännössä Tampereen ammattikorkeakoulun kliinisen hematologian opetustiloissa. Testasimme laitetta käyttäen kontrolleja. Koska käyttämämme reagenssierää oli vielä runsaasti jäljellä ja katsoimme parhaaksi olla avaamatta uutta reagenssipakkausta, jätimme kalibroinnin ja vakiokuvaajan tekemättä. Otimme laitteesta myös valokuvia ohjeita varten. Valokuvassimme laitteen eri osia ja määritysten työvaiheita. Otetuista valokuvista valitsimme parhaat lopullisiin tuotoksiin.

Kesän 2014 kuluessa saimme kirjoitettua raporttiosuutta paljon ja laadimme toisen opinnäytetyön tuotoksista eli käyttöohjeen. Kesällä 2014 käyttöohje haki vielä muotoaan ja lopullisen muodon se sai syyskuussa 2014. Työn toisen tuotoksen, lyhytohjeen,

laadimme elokuun 2014 itsenäisen opiskeluviikon aikana. Lyhytohje oli testauksessa koulutusohjelmamme myöhemmin aloittaneilla opiskelijoilla sekä ohjaavalla opettajallamme. Teimme ohjeeseen pieniä muutoksia saamiemme palautteiden perusteella. Syyskuussa kävimme ohjaavan opettajamme kanssa läpi molempia tuotoksia laitteen äärellä vaihe vaiheelta. Otimme silloin myös täydentäviä valokuvia tuotoksia varten. Kuten käyttöohje, myös lyhytohje sai lopullisen muotonsa syyskuussa 2014.

Syksyllä 2014 kirjoitimme raporttiosuutta ja teimme muutoksia sekä raporttiin että ohjeisiin ohjaavien opettajiemme opastuksella. Opinnäytetyö viimeisteltiin lopulliseen muotoonsa syyskuussa 2014.

9 OPINNÄYTETYÖN TUOTOKSET

Opinnäytetyön tuotos koostuu kahdesta osasta, kattavammasta käyttöohjeesta ja päivitetäiseen käyttöön tarkoitettusta lyhytohjeesta. Ohjeisto laadittiin Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille helpottamaan STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteen käyttöä.

Opinnäytetyön tuotoksille ei esitetty erityisiä vaatimuksia niiden ulkonäön suhteen, joten tekijät suunnittelivat sen itse. Ensimmäinen tuotoksista, käyttöohje, on 38 A4-sivun mittainen. Lyhytohje on pituudeltaan 13 A4-sivua. Tuotokset tehtiin Microsoft Office Word 2007-ohjelmalla. Käyttöohjeen leipätekstin kirjasintyypiksi valittiin Times New Roman ja kirjasinkooksi 12 pistettä. Pääotsikko kirjasinkooksi valittiin 24 pistettä ja väliotsikoiden 12. Lyhytohjeen leipätekstin kirjasintyypiksi valittiin Arial ja kirjasinkooksi 14 pistettä. Lyhytohjeen pääotsikon kirjasinkoko on 26 pistettä ja väliotsikoiden 16 pistettä. Käyttöohjeessa rivivälinä käytettiin 1,5 ja lyhytohjeessa 1,15. Käyttöohjeen kannessa on Tampereen ammattikorkeakoulun logo ja käyttöohjeen tekijöiden nimet. Lyhytohjeen kanteen laitettiin Tampereen ammattikorkeakoulun logo, kuva STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteesta sekä lyhytohjeen tekijöiden nimet. Käyttöohjeen ulkonäkö jätettiin pelkistetyksi. Lyhytohjeen sivut reunustettiin vaaleanpunaisella kehyksellä, jonka leveys on 31 pt. Taustaväriä sekä käyttö- että lyhytohjeen sivuissa on valkoinen.

Tuotokset sisältävät tekstiä ja itse otettuja valokuvia sekä alkuperäisistä Diagnostica Stagon laatimista käyttöohjeista lainattuja laitekuvia. Valokuvat otettiin Panasonic Lumix DMC-TZ20 –digikameralla ja niistä pyrittiin tehdä mahdollisimman selkeitä jo kuvia otettaessa. Valokuvia muokattiin Windows Live valokuvavalikoima -työkalulla. Valokuvia otettiin yhteensä 132, joista opinnäytetyöhön käytettiin 12.

Käyttöohje on tulostettu valkoiselle paperille ja laitettu muovikansioon. Lyhytohje on painettu sekä laminoitu kierrekansioon Eura Print Oy-nimisessä painoyrityksessä. Tuotokset tallennetaan DVD-levylle Word-tiedostona, josta niitä voidaan muokata tarpeen tullen.

10 POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää STArt4®-hyytymisanalysointilaitteen perusperiaatteet ja toiminta sekä laatia Tampereen ammattikorkeakoulun (TAMK) bioanalytiikka-opiskelijoille selkeä ja yksinkertainen käyttö- ja lyhytohje STArt4®-hyytymisanalysointilaitteen käyttöä varten. Opinnäytetyö koettiin tarpeelliseksi, koska kliinisen hematologian hemostaasi-opintojakson opetuksessa käytettävällä laitteella ei ole selkeitä, suomenkielisiä käyttöohjeita opetuksessa käytettävää hyytymisanalysointilaitetta varten. Opinnäytetyön tuotoksiin tulevat asiat rajattiin käsittelemään vain niitä työvaiheita, joita suoritetaan Tampereen ammattikorkeakoulun kliinisen hematologian opetuksessa käytettävällä hyytymisanalysointilaitteella. Tuotoksien ulkonäön tekijät saivat päättää itse, kunhan niihin sisällytettäisiin tieto siitä, että kyseessä on Tampereen ammattikorkeakoululle tulevat tuotokset. Tekijät onnistuivat mielestään laatimaan selkeät ja melko yksinkertaiset tuotokset, mutta ohjeiden ulkoasun päättäminen oli haastavaa. Opinnäytetyön tavoitteena oli helpottaa STArt4®-hyytymisanalysointilaitteen käyttöä kliinisen hematologian opetuksessa.

Opinnäytetyön tekijöiden henkilökohtaisina tavoitteina oli syventää tietoaan elimistön hyytymisjärjestelmästä, laadukkaasta hyytymisnäytteenotosta ja hyytymistutkimuksista. Opinnäytetyön raporttiosuudessa käsiteltiinkin hemostaasia, veren hyytymisjärjestelmää ja sen häiriöitä, hyytymisnäytteenottoon liittyviä asioita, STArt4®-hyytymisanalysointilaitteella tehtäviä hyytymistutkimuksia sekä laitteen toimintaa ja käyttöä. Opinnäytetyöprosessin edetessä työn tekijät huomasivat, että opinnäytetyön tekeminen on auttanut teoreettisen syventämisessä. Näiden lisäksi tekijöiden tavoitteena oli oppia enemmän tiedonhausta, tekstinkäsittelyohjelmista ja ajankäytön suunnittelusta.

Opinnäytetyön tehtäviksi laadittiin STArt4®-hyytymisanalysointilaitteen toimintaperiaatteen selvittäminen, veren hyytymisjärjestelmän tapahtumaketjun selvittäminen, miten hyytymisnäytteenotto, näytteiden käsittely ja säilytys sekä näissä vaiheissa tapahtuvat virheet vaikuttavat hyytymistutkimuksiin ja niiden tuloksiin, ja miten laaditaan hyvä käyttö- ja lyhytohje. Työn tehtävät saavutettiin ja vastaukset kysymyksiin löytyivät työn raporttiosuudesta.

Tuotosten luotettavuuden takaamiseksi opinnäytetyön tuotoksena syntyneitä ohjeita testattiin myöhemmin aloittaneilla bioanalyttikko-opiskelijoilla. Palautetta tuli siitä, että etenkin lyhytohjeessa voisi olla tarkemmin määritysten välivaiheita ja itse otettuja kuvia hieman enemmän. Palautteen perusteella tehtiin tarvittavat korjaukset ohjeisiin ja käytiin vielä ottamassa laitteesta valokuvia, joita liitettiin sekä opinnäytetyön raporttiin että tuotoksiin. Opinnäytetyön luotettavuutta lisää myös se, että sekä raporttiosuutta että tuotoksia täydennettiin ohjaavilta opettajilta saatujen palautteiden ja korjausehdotusten perusteella. Sekä käyttö- että lyhytohjeen luotettavuutta lisää myös se, että niiden teon pohjana käytettiin alkuperäistä laitteen käyttömanuaalia.

Opinnäytetyössä käytetyt lähteet olivat tarkkaan harkittuja ja niiden kriittinen tarkastelu oli osa opinnäytetyöprosessia. Kliinisen hematologian alaan kuuluvat, veren hyytymiseen liittyvät, työssä käytetyt lähteet ovat melko tuoreita. Vanhin lähde on kuitenkin vuodelta 1984. Tätä lähdetä pystyttiin käyttämään, sillä sen rinnalle etsittiin tuoreempia lähteitä. Yksittäin käytettynä vanhin kliiniseen hematologiaan liittyvä lähde oli vuodelta 2007. Tätä vanhempia lähteitä kliiniseen hematologiaan liittyvissä teoretiedoissa käytettiin harkiten, sillä alan tiedot muuttuvat todella nopeasti vuosien varrella eli tätä vanhemmat lähteet voisivat olla epäluotettavia nykypäivän tietoon verrattuna. Opinnäytetyöprosessin edetessä opinnäytetyön tekijät huomasivat, että tuoreita kirjallisia lähteitä löytyi melko vähän. Vanhempia kirjallisia lähteitä löytyi sitäkin enemmän. Muihin kuin kliinisen hematologian aiheisiin liittyvää lähdeaineistoa opinnäytetyön tekijät käyttivät vanhimmillaan vuodelta 2003, sillä tekijät katsoivat, että esimerkiksi tiedot toiminnallisen opinnäytetyön rakenteesta eivät ole vuosien varrella muuttuneet.

Kliinisen hematologian alaan liittyvät kirjalliset lähteet olivat suurimmalta osin vieraskielisiä, mikä tuotti hieman hankaluuksia tiedon etsimiseen. Vieraskielisessä lähdekirjallisuudessa tiedot olivat hyvin tarkkoja, joten olennaisen tiedon rajaaminen ja tiivistäminen oli haastavaa. Suurin osa käytetyistä lähteistä on verkkolähteitä. Tekijät käyttivät myös eri laboratorioiden ohjekirjoja lähteinä, vaikka se ei olekaan suositeltavaa. Tällaisia lähteitä on tuettu luotettavammilla lähteillä. Kaikki lähteet kirjattiin lähdeluetteloksi opinnäytetyön loppuun.

Opinnäytetyön tekijät suoriutuivat koko opinnäytetyön tekemisestä mielestään hyvin ja saivat kerättyä olennaisimmat tiedot työn teoriaosuuteen. Opinnäytetyön tuotoksien laatiminen oli melko haastavaa sen vuoksi, että tekijöiden oli itse päätettävä niiden ul-

konäkö, mutta kuitenkin melko helppoa, sillä niiden laatimisen pohjana oli STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteen englanninkielinen käyttömanuaali ja aiemmin laaditut, tiedoiltään vielä hieman puutteelliset, lyhyemmät ohjeet. Yhteistyö opinnäytetyön tekijöiden kesken sujui hyvin. Tekijät saivat jaettua opinnäytetyön vaiheet tasapuolisesti keskenään. Opinnäytetyön tekijät asuivat eri paikkakunnilla suurimman osan työn tekoajasta, joten työ tehtiin pääasiassa eri osissa. Lyhytohjeen ja raporttiosuuden pohdinnan tekijät laativat yhdessä.

Jatkotutkimusaiheeksi opinnäytetyön tekijät esittävät tarkan ja selkeän hyytymisnäytteenotto-ohjeiston laatimisen kliinisen hematologian opetukseen. Laiteohjetta testattaessa huomattiin, että toinen jatkotutkimusaihe olisi selvittää, millaisia tuloksia hyytymistutkimuksista tulisi STArt4[®]-analysointilaitteella, jos näytteet inkuboitaisiin kahdesti.

LÄHTEET

Airaksinen, T. 2009. Toiminnallisen opinnäytetyön kirjoittaminen. Luettu 8.10.2013.
<http://www.slideshare.net/TiinaMarjatta/toiminnallinen-opinnytyy-tekstin>

Armstrong, E., Joutsi-Korhonen, L., Mäkiperna, A., Laasila, K., Asmundela, H., Niemistö, S. & Lassila, R. 2013. Taipumus saada veritulppa: Tietoa potilaalle ja hoitohenkilökunnalle.

<http://www.hus.fi/sairaanhoito/sairaalat/meilahden-kolmiosairaala/poliklinikat/Documents/Taipumus%20saada%20veritulppa.pdf>

Bjålie, J. G., Haug, E., Sjaastad, Ø. V. & Sand, O., Toverud, K. 2011. Ihminen – anatomia ja fysiologia. Helsinki: WSOYpro Oy.

Bonar1 R., Favalaro, E., Adcock, D. Quality in coagulation and haemostasis testing. Biochemia Medica 2010. Luettu 17.12.2013.

<http://www.biochemia-medica.com/content/quality-coagulation-and-haemostasis-testing>

Clinical and Laboratory Standards institute. 2008. Collection, Trasporty, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth edition.

<http://www.scribd.com/doc/175328469/CLSI-H21-A5-2008>

Diagnostica Stago. 2009a. PTT Automate. Determination of activated partial thromboplastin time (APTT). Pakkausseloste.

Diagnostica Stago. 2009b. Stago prothrombincomplex assay (SPA). Determination of the combined factors II-VII-X. Pakkausseloste.

Diagnostica Stago. 2006. Viscosity-Based Detection System.

Ellonen, M. 2014. Verenohennuslääkkeet (antikoagulanttihoito). Terveyskirjasto Duodecim. Luettu 1.6.2014

http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00007

Fimea. 2008. Valmisteyhteenvedo. Marevan 3 mg. Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus. Luettu 25.5.2014.

<http://www.fimea.fi/laaketieto/valmisteyhteenvedot/humspc>

Fimlab Laboratoriot Oy. 2012a. Tromboplastiiniaika. Ohjekirja. Luettu 13.5.2014.

http://www.laboratorio.fi/lake/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6660;id=11411

Fimlab Laboratoriot Oy. 2012b. Tromboplastiiniaika, aktivoitu, partiaalinen. Ohjekirja. Luettu 13.5.2014.

http://www.fimlab.fi/lake/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6658;id=8413

Fimlab Laboratoriot Oy. 2012c. Tromboplastiiniaika, INR-tulostus. Ohjekirja. Luettu 13.5.2014.

http://www.fimlab.fi/lake/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=6659;id=11412

Fimlab Laboratoriot Oy. 2011. Tromboplastiiniaika, SPA. Ohjekirja. Luettu 24.9.2014. http://www.fimlab.fi/laboratoriotutkimukset/nayta.tpl?sivu_id=34;id=3909;talleta_url=1

Highet, D. Work introductions That Work. 2008. Luettu 17.12.2013. http://www.grizmo.com/management_news_200810.html

Hoffbrand, A.V. & Moss, P.A.H, 2011. Essential haematology. United Kingdom: Wiley-Blackwell.

Howard M. & Hamilton P. 2013. Haematology: an illustrated colour text. 4. painos. China: Churchill Livingstone Elsevier.

Huslab laboratoriot 2014a. Vuototaipumuksen selvittely, plasmasta. Tutkimusohjekirja. Luettu 24.9.2014.

Huslab Laboratoriot. 2014b. Tromboplastiiniaika, plasmasta. Tutkimusohjekirja. Luettu 11.9.2014. <http://huslab.fi/ohjekirja/1731.html>

Huslab Laboratoriot 2014c. Tromboplastiiniaika, aktivoitu, partiaalinen, plasmasta. Tutkimusohjekirja. Luettu 11.9.2014. <http://huslab.fi/ohjekirja/2783.html>

Nikiforow, M. Hyytymisnäytteiden näytteenotto. 2014. Huslab. Luentolyhennelmä. Labquality Days.

Italiano E. & Hartwig H. Hematology basic principle and practice, 2009. Teoksessa Hoffman, R., Benz, E., Shattil, S., Furie, B., Silberstein, L., Mc Glave, P., Heslop, H. Churching Livingstone Elsevier, Philadelphia.

Joutsu-Korhonen, L. & Koski, T. 2010. Hemostaasin tutkimukset. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus.

Joutsu-Korhonen, L. 2014. Tromboositaipumuksen selvittely, plasmasta. Huslab tutkimusohjekirja. Luettu 12.8.2014.

Joutsu-Korhonen, L. 2010. Preanalytiikka luo perustan tutkimusten luovuudelle. Moodi 2/2010.

Lassila, R, Siimes, M. & Rasi, V. 2007. Hemofiliat ja muut perinnölliset hyytymistekijöiden puutokset. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R., Porkka, K.(toim.) Veritaudit. 3. painos. Helsinki: Duodecim.

Lumme, R., Leinonen, R., Leino, M., Falenius, M. & Sundqvist, L. 2006. Monimuotoisen/ toiminnallisen opinnäytetyö. Luettu 9.4.2014. <http://www2.amk.fi/digma.fi>

Mattila H. 2006. Hyvä käyttöohje lisää turvallisuutta. TUKES KATSAUS 1/2006, s.1. Luettu 3.9.2014

Mattila-Oksanen, L. lehtori. 2014. Henkilökohtainen tiedonanto. 8.9.2014. Tampere.

Melakoski-Vistbacka S., Wäljas M., Ahtee T., Sovellusohje ohjelmistotuotannon projektityökurssille. Päivitetty: 12.10.2005. Luettu: 3.9.2014

Mustajoki, P. 4.11.2013. Laskimotukos (laskimoveritulppa). Terveyskirjasto Duodecim. Luettu 12.8.2014

Mustajoki, P. 27.1.2014. Perinnöllinen verisuonitukos (veritulppa). Terveyskirjasto Duodecim. Luettu 12.8.2014

Mustonen, P. & Lassila, R. 2007. Antitromboottinen ja fibrinolyttinen hoito. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R., Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. painos. Helsinki: Duodecim.

Mäkipernaa A. Tromboplastiiniaika, aktivoitu, partiaalinen, plasmasta. Lääkärin tietokannat. Terveysportti. 2014. Luettu 29.5.2014.

http://www.terveysportti.fi.elib.tamk.fi/dtk/ltk/koti?p_artikkeli=ykt00380&p_haku=tromboplastiiniaika

Nordlab Laboratoriot. 2014. Tromboplastiiniaika, aktivoitu, partiaalinen, plasmasta. Tutkimusohjekirja. Luettu 24.9.2014. <http://oyslab.fi/ohjekirja/2783.html>

Pohja-Nylander, P. & Joutsu-Korhonen, L. 2013. Näytteenotto hyytymistutkimuksia varten HUS-piirin ulkopuolisille laboratorioille. Palvelutuotanto, toimintaohje. Huslab. Luettu 8.4.2014.

http://huslab.fi/preanalytiikan_kasikirja/verinaytteenotto/naytteenotto_hyytymistutkimuksia_varten_husulko.pdf

Practical-Haemostasis. Activated Partial Thromboplastin Time [APTT]. 2012. A Practical guide to laboratory haemostasis. Luettu 21.5.2014. <http://practical-haemostasis.com/Screening%20Tests/aptt.html>

Punaisen Ristin Veripalvelu. Vuotopotilaan tutkimukset. Viimeksi päivitetty 13.8.2013. Luettu 17.12.2013. <http://www.veripalvelu.fi/www/2866>

Reference manual for STArt4[®]. 2009. Diagnostica Stago.

Spaethe, R. 1984. Hemostasis. Physiology, Pathophysiology, Diagnostics. AHS/Deutschland GmbH.

Stago. 2014. Products and services. Haemostasis catalogue. Diagnostica Stago. Luettu 26.5.2014. <http://www.stago.com/products-services/catalogue/>

Standardized operating procedures for STArt4[®]. 2002. Diagnostica Stago.

Start4. Luotettava ja kustannustehokas laite pieniin laboratorioihin. Triolab. Luettu 26.5.2014. <http://www.triolab.fi/start-4>

Suomen Punainen Risti. Hemostaasitutkimusten näytteenotto-ohjeet, Veripalvelu. 2013. Luettu 11.9.2014.

file:///C:/Users/HP/Downloads/20130328_Hemostaasitutkimusten%20nyytteenotto-ohjeet.pdf

Syrjälä, M. 2014. Suositus INR:n käytöstä oraalisen antikoagulanttihoidon laboratorio-seurannassa. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim. Helsinki: Suomalainen lääkäri-seura Duodecim. Luettu 21.5.2014.

http://duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&viewTy-pe=viewArticle&tunnus=duo80132&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_auth=

Tuomisto J., Kallio, J. ym. 2007. Farmakologia ja toksikologia – Veren hyytymiseen vaikuttavat lääkeaineet. Medicina. Luettu 12.8.2014. <http://www.medicina.fi/fato/37.pdf>

Triolab. 2014. Käyttöohje – Start 4. Päivitetty 19.5.2014. Turku.

Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näyt-teiden ottoa varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Tykslab Laboratoriot. 2013. P-Tromboplastiiniaika, aktivoitu, partiaalinen. Ohjekirja. Luettu 24.9.2014. <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/2783.html>

Vilka, H. & Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Vilpo, I. 2010. Ilmari Palvan Veritaudit. Helsinki: Medivil Oy.

Yhtyneet Medix-laboratoriot. 2013a. P-Tromboplastiiniaika. Laboratoriotutkimukset. Luettu 29.5.2014.

http://www.terveysportti.fi.elib.tamk.fi/dtk/ltk/koti?p_artikkeli=ykt00380&p_haku=tromboplastiiniaika

Yhtyneet Medix laboratoriot. 2013b. Tromboplastiiniaika, aktivoitu, partiaalinen. Laboratoriokäsikirja. Luettu 29.5.2014

http://www.yml.fi/tuotekuvaus_show.php?tuotenro=737

LIITTEET

Liite 1. Käyttöohje STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteen käyttöä varten

Liite 2. Lyhytohje STArt4[®]-hyytymisanalysointilaitteen käyttöä varten