



SAVONIA

OPINNÄYTETYÖ - AMMATTIKORKEAKOULUTUTKINTO
SOSIAALI-, TERVEYS- JA LIIKUNTA-ALA

THROMBOTRACK™ SOLO – HYYTYMISLAITTEEN VALI- DOINTI

TE -

Teija Koivunen

KIJÄ:

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala			
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma			
Työn tekijä(t) Teija Koivunen			
Työn nimi Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen validointi			
Päiväys	8.11.2016	Sivumäärä/Liitteet	41/2
Ohjaaja(t) Lehtori Sanna Kolehmainen			
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu			
<p>Tiivistelmä</p> <p>Veren hyytymisjärjestelmän tehtävänä on pitää veri juoksevana verisuonissa, mutta vaurion sattuessa se muodostaa hyytymän vauriokohtaan. Hyytymisjärjestelmä rajaa syntyneen hyytymän vauriokohtaan ja hajottaa sen, kun haava on parantunut. Veren hyytymistutkimuksia tarvitaan muun muassa antikoagulaatiohoidon seurannassa ja verenvuototaipumuksen selvittämisessä. Suomessa yleisin käytössä oleva hyytymistutkimus on P-INR-tutkimus, jota käytetään antikoagulaatiohoidon seurannassa.</p> <p>Kliinisen laboratorion pitää pystyä tarjoamaan tarkkoja ja toistettavia analyysituloksia, jotka ovat kliinisesti hyödyllisiä potilaan hoidossa. Laboratoriotyön laatua ylläpidetään jokaisessa laboratoriotutkimusprosessin vaiheessa. Laboratoriomenetelmän validoinnilla osoitetaan, että analyysimenetelmä soveltuu käyttötarkoitukseensa sekä antaa toistettavia ja luotettavia tuloksia.</p> <p>Opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida Savonia-ammattikorkeakoulun Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitte ja verrata sen tuloksia vertailulaboratoriona toimivan Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) Sysmex CS2100i – hyytymisanalysointilaitteeseen. Tavoitteena oli selvittää, soveltuuko laite käyttötarkoitukseen, tässä tapauksessa opetuskäyttöön sekä varmistaa luotettavat INR-tulokset myös koulun harjoitustunneilla. Toimeksiantajana toimi Savonia-ammattikorkeakoulu.</p> <p>Thrombotrack™ Solo on yksikanavainen hyytymislaitte, jolla analysoidaan manuaalisesti yksi näyte kerrallaan, jonka vuoksi näytteiden analysointiin kuluu paljon aikaa. Tulosten perusteella voidaan sanoa, että Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen toistettavuus on riittävän hyvä, kun mitataan normaaleja INR-pitoisuuksia ja sarjoissa käytetään kontrolleja. Laite soveltuu koulun opetuskäyttöön, koska koululla tutkitaan näytteitä, joiden INR-pitoisuudet ovat normaaleja ja tutkittavat näytemäärät ovat pieniä. Tämän tutkimuksen tuloksia ei voida yleistää.</p>			
Avainsanat			
Validointi, laatu, hyytymisjärjestelmä, INR			

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Teija Koivunen			
Title of Thesis Validation of Thrombotrack™ Solo coagulometer			
Date	8.11.2016	Pages/Appendices	41/2
Supervisor(s) Lecturer Sanna Kolehmainen			
Client Organisation /Partners Savonia University of Applied Sciences			
<p>Abstract</p> <p>The blood coagulation system keeps the blood running in blood vessels, but when injury occurs the system forms a clot. Coagulation system confines the clot to injury and degrades it, when the wound is cured. The coagulation assays are needed, for example when monitoring anticoagulation treatment and examination of bleeding tendency. The most common coagulation assay used in Finland is P-INR, which is used to monitor anticoagulation treatment.</p> <p>Clinical laboratory should provide accurate and repeatable test results which are clinically useful. Laboratory quality is maintained in every laboratory process phase. The validation of laboratory method shows that the analysis method is suitable to its use. The validation also shows that the analysis method gives repeatable and reliable results.</p> <p>The purpose of this thesis was to validate Thrombotrack™ Solo coagulometer and compare its test results to Sysmex CS2100i analyzer's results of the Eastern Finland laboratory center federation (ISLAB). The target was to examine, would the Thrombotrack™ Solo be suited for educational use and also to ensure reliable test results in school's practice lessons. The principal was Savonia University of Applied Sciences.</p> <p>Thrombotrack™ Solo is one-channel coagulometer which is used pipetting manually one sample at a time and that is why it takes long to analyze samples. Based on the results, Thrombotrack™ Solo's repeatability is good enough measuring normal INR-values and when controls are used in series. The device suits to education in school, because in school examined samples have normal INR-values and the sample numbers are small. This research results can't be generalized.</p>			
Keywords			
Validation, quality, coagulation system, INR			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	5
2	HYTYMISJÄRJESTELMÄ	6
2.1	Primaarinen hemostaasi	6
2.2	Sekundaarinen hemostaasi	7
2.3	Fibrinolyttinen järjestelmä	8
3	HYTYMISTUTKIMUKSET JA NIIDEN ANALYSOINTI	9
3.1	Tromboplastiiniaika P-TT ja INR-tulos P-INR.....	9
3.2	Thrombotrack™ Solo – hyytymislaite	10
4	LABORATORIOMENETELMIEN LAATU JA VALIDOINTI.....	12
4.1	Laboratoriotutkimusprosessi	13
4.2	Laboratoriomenetelmien validointi	15
5	TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSKYSYMYS	19
6	TYÖN TOTEUTTAMINEN, TUTKIMUSAINEISTO JA -MENETELMÄT.....	20
6.1	Määrällinen tutkimus	21
6.2	Tutkimuksessa käytetyt tilastolliset menetelmät	21
6.3	Opinnäytetyön eettiset kysymykset ja luotettavuus	23
7	TYÖN TULOKSET	25
8	POHDINTA.....	28
	LÄHTEET	31
	LIITE 1: VALIDOINTISUUNNITELMA	36
	LIITE 2: VALIDOINTIRAPORTTI	37

1 JOHDANTO

Veren hyytymisjärjestelmä pitää veren juoksevana verisuonissa, mutta verisuonivaurion sattuessa, se muodostaa fibriinihiyytymän vauriokohtaan ja haavan parantuessa se hajottaa hyytymän (Mahlamäki 2004, 310; Joutsu-Korhonen ja Koski 2010 275; Nayak, Rai ja Gupta 2012, 278–279; Fritsma ja Fritsma 2012, 627). Hyytymisjärjestelmän seulontatestit ja yksittäiset hyytymistekijämääritykset perustuvatkin ajan mittaamiseen, joka kuuluu fibriinihiyytymän muodostumiseen. Hyytymistutkimuksia tarvitaan esimerkiksi antikoagulaatiohoidon seurannassa, verenvuototaipumuksen selvittämisessä ja antitromboottisen hoidon laboratorioseurannassa. (Joutsu-Korhonen 2015, 152–154.)

Kliinisten laboratoriodien pitää tarjota tarkkoja ja luotettavia analyysituloksia, jotka ovat potilaan hoidon kannalta tärkeitä (Fritsma 2012b, 42). Laadunvarmistuksen pitää toteutua jokaisessa laboratoriotutkimusprosessin vaiheessa, jotta potilas saa laboratoriotutkimusten perusteella oikeanlaisen hoidon (Penttilä 2004, 35; Linko 2004, 60). Analyysipalveluita tarjoavan laboratorion toiminta perustuu validoitujen menetelmien käyttöön. Validoinnin tarkoitus on osoittaa menetelmän soveltuvuus aiotuun käyttötarkoitukseen. Vertailumateriaalin avulla tarkistetaan, että menetelmä antaa oikeita tuloksia ja toistomittausten tarkoituksena on arvioida menetelmän toistettavuutta. (Jaarinen ja Niirinen 2005, 11.) Kahden mittausmenetelmän vertailua ja tulosten yhtäpitävyyttä käytetään usein validoinnissa (Hiltunen, Linko, Hemminki, Hägg, Järvenpää, Saarinen, Simonen ja Kärhä 2011, 24, 26).

Tämän opinnäytetyön aiheena oli Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen validointi ja toimeksiantajana toimi Savonia-ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida Savonia-ammattikorkeakoulun Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitte ja verrata sen tuloksia vertailulaboratoriona toimivan Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) Sysmex CS2100i – hyytymisanalysaattorilla analysoituihin tuloksiin. Tavoitteena oli selvittää, soveltuuko laite käyttötarkoitukseensa, tässä tapauksessa opetuskäyttöön sekä varmistaa luotettavat INR-tulokset myös koulun harjoitustunneilla.

Tämä opinnäytetyö toteutettiin määrällisenä tutkimuksena, joten aineisto analysoitiin tilastollisin menetelmin. Työn lopussa on liitteenä validointisuunnitelma (liite 1) ja validointiraportti (liite 2).

2 HYYTYMISJÄRJESTELMÄ

Hemostaasi tarkoittaa veren hyytymistä verisuonivaurion sattuessa (Lassila 2012, 424). Veren hemostaasijärjestelmä eli hyytymisjärjestelmä pitää veren juoksevana verisuonissa ja ehjä verisuonen seinämän endoteeli hillitsee trombosyyttien eli verihiutaleiden aktivaatiota, ehkäisee hyytymistä ja tehostaa hyytymien liuottamista (Mahlamäki 2004, 310; Nayak ym. 2012, 278–279). Verisuonivaurion sattuessa hyytymisjärjestelmä kuitenkin muodostaa vauriokohtaan hyytymän, jotta verenvuoto loppuisi. Hemostaasijärjestelmä rajoittaa hyytymän vauriokohtaan, estää tulpan syntymistä verisuonessa ja hajottaa hyytymän, kun haava paranee. (Joutsu-Korhonen ja Koski 2010 275; Fritsma ja Fritsma 2012, 627.)

Hyytymisjärjestelmään kuuluvat primaarinen ja sekundaarinen hemostaasi sekä fibrinolyttinen järjestelmä. Primaarisessa hemostaasissa verisuonet supistuvat ja trombosyytit kiinnittyvät vauriokohtaan ja toisiinsa, muodostaen trombosyyttitulpan vauriokohtaan. Sekundaarisessa hemostaasissa trombosyyttitulppaa vahvistetaan fibriinillä ja fibrinolyttisessä järjestelmässä hyytymä poistetaan. (Mahlamäki 2004, 310–313; Fritsma ja Fritsma 2012, 627–628.) Verisuoni tukkeutuu hyytymisen seurauksena, mutta esimerkiksi veren virtaus huuhtelee pois aktivoituneita hyytymistekijöitä, trombosyyttejä sekä fibriiniä ja estää näin hyytymisen leviämisen. Hyytymistekijät kuluvat hyytymän muodostuessa, joten tämäkin rajoittaa osaltaan hyytymistä. (Nienstedt, Hänninen, Arstila ja Björkqvist 2009, 180–181.)

Hyytymistekijöitä ovat entsyymit ja muut aineet, jotka osallistuvat hyytymisreaktioon. Hyytymistekijät numeroidaan roomalaisilla numeroilla I–XIII. (Nienstedt ym. 2009, 181.) Hyytymistekijät ovat suurimmaksi osaksi seriiniproteiineja ja niiden aktivaatioon tarvitaan solukalvojen fosfolipidipintoja ja kalsiumia. Tekijät VII, IX ja X sekä protrombiini (II) tuotetaan maksassa ja ne ovat riippuvaisia K-vitamiinista. Varfariinihoito perustuu hyytymistekijöiden VII, IX ja X heikentämiseen. Hyytymistekijät VII, IX ja X sekä protrombiini sisältävät gammakarboksyloituneita glutamyyliähteitä, jotka sitoutuvat solukalvojen fosfolipideihin. Varfariini estää hyytymistekijöiden sitoutumista solukalvoihin. (Lassila 2015, 36.)

Osa hyytymisproteiineista on kofaktoreita, jotka tasapainottavat ja tehostavat entsyymaattista toimintaa. Tällaisia ovat tekijät V, ja VIII sekä suonin seinämän trombomoduliini ja kudostekijä (III). Joidenkin proteiinien tarkoituksena on ohjata hyytymisprosessia ja ehkäistä liiallista trombiinin muodostumista. Muun muassa trombomoduliini hidastaa ja kudostekijä lisää hyytymistä. (Fritsma ja Fritsma 2012 627, 632; Lassila 2015, 36–37.)

2.1 Primaarinen hemostaasi

Verisuonilla ja trombosyyteillä on keskeinen rooli trombosyyttitulpan alustavassa muodostumisessa. Primaarisessa hemostaasissa vasokonstriktio (verisuonten supistuminen), trombosyyttien eli veri-

hiutaleiden aggregaatio ja hyytymisentsyymit tekevät yhteistyötä lopettaakseen vuodon vauriokohdassa. Primaarisen hemostaasin mekanismit aktivoituvat joko verisuonivaurion tai endoteelisoluvaurion vuoksi. Vasokonstriktio saa verenvirtauksen painamaan trombosyyttejä suonin seinämää vasten lisäten adheesiota. Trombosyytit adheesoituvat eli kiinnittyvät vauriokohtaan ja aggregoituvat eli kiinnittyvät muiden trombosyyttien kanssa toisiinsa muodostaakseen trombosyyttitulpan. Vasokonstriktio ja trombosyyttitulpan muodostuminen on nopea ja lyhytkestoinen reaktio suonivauriolle. Ne eivät kuitenkaan riitä pelkästään hillitsemään suurta vuotoa, joten trombosyyttitulppaa pitää lopulta vahvistaa fibriniillä. (Mahlamäki 2004, 310–311; Fritsma ja Fritsma 2012, 627; Lassila 2015, 32–35.)

Trombosyyttien kiinnittymistä vauriokohtaan välittävät adheesioreseptorit muun muassa glykoproteiini (GP) Ib/IX/V ja glykoproteiini Ia/IIa. GP Ib/IX/V tunnistaa von Willebrand – tekijää ja GP Ia/IIa kollageenia. Von Willebrand – tekijä tarttuu paljastuneeseen kollageeniin ja yhdessä GP Ib:n ja GP IIb/IIIa:n kanssa ne saavat trombosyytit kiinnittymään vauriokohtaan. Plasman ja trombosyyttien von Willebrand-tekijä ja fibrinogeeni kiinnittävät GPIIb/IIIa-reseptorin välittämänä trombosyyttejä toisiinsa. Trombosyytit, von Willebrand – tekijä ja fibrinogeeni ovat normaalisti verenkierrossa erillään, mutta vaurion sattuessa ne aktivoituvat. Plasman tai trombosyyttien von Willebrand – tekijän vaje hidastaa verenvuodon tyrehtymistä vauriokohdassa, silloin siis primaarinen hemostaasi heikenee. (Lassila 2015, 32–35, 38.)

Kun trombosyytit ovat aggregoituneet, niistä vapautuu tromboksaani A₂:ta, serotoniinia ja adenosinifosfaattia, jotka lisäävät trombosyyttien aggregaatiota ja saavat verisuonet supistumaan. Trombosyyteistä vapautuu myös polyfosfaatteja, jotka aktivoivat hyytymistekijät V, XI ja XII sekä estävät fibrinolyysiä. Hyytymisen yhteydessä esiintyy myös verisuonen sisäpuolen seinämää päällystävän epiteelin eli endoteelin tuottamaa kudoshormonia prostasykliiniä, joka laajentaa verisuonia ja estää trombosyyttien kiinnittymistä toisiinsa. Hyytymä voidaan rajoittaa näin vaurioituneeseen kohtaan. (Nienstedt ym. 2009, 54, 180–181, 373; Lassila 2015, 34–35, 37.)

2.2 Sekundaarinen hemostaasi

Sekundaariseen hemostaasiin kuuluvat trombiinin muodostus ja säätely sekä fibriniin stabiloima hyytymä (Lassila 2012, 425). Hyytymisjärjestelmä aktivoituu verisuonivaurion ja kudosten soluissa olevan kudostekijän (III) päästessä kosketuksiin veren hyytymistekijöiden kanssa. Sekundaarisessa hemostaasissa plasmaproteiinit aktivoituvat, jotta vauriokohtaan saadaan muodostettua fibrinihiyytymä ja ettei vuoto alkaisi uudelleen. Sekundaarinen hemostaasi toimii ketjureaktion tavoin, veren plasma kuljettaa glykoproteiineja, jotka aktivoituvat hyytymisen aikana ja muodostavat komplekseja, jotka aktivoivat niin ikään muita entsyymien esimuotoja. Kudostekijä muodostaa kompleksin tekijän VIIa:n (a= aktiivinen muoto) ja aktivoivat hyytymistekijät IX:n ja X:n. IX yhdistyy kofaktorinsa VIII kanssa ja niiden muodostama kompleksi aktivoi myös tekijää X. Tekijän Xa ja sen kofaktorin V muodostama

kompleksi muuttaa protrombiinin aktiiviseksi trombiiniksi, joka muuttaa fibrinogeenin fibriniiksi. Lopuksi fibrini stabiloituu fibrinihyytymäksi hyytymistekijä XIII:n avulla. (Mahlamäki 2004, 312; Fritsma ja Fritsma 2012, 627.)

Trombiini on tärkeä entsyymi hyytymisessä paitsi siksi, että se pilkkoo peptidejä fibrogeenistä ja muuttaa sen fibriniiksi, mutta se myös aktivoi faktori XIII:n ristosidosta ja stabiloidakseen hyytymää se aktivoi trombosyytit ja hyytymistekijöitä V, VIII ja XI (Fritsma ja Fritsma 2012, 627). Trombiini aktivoi myös endoteeliä, joka erittää kudostekijän käynnistämän hyytymisen estäjää, (TFPI, tissue factor inhibitor), joka estää kudostekijän ja hyytymistekijän VIIa muodostamaa kompleksia sekä hyytymistekijää Xa (Lassila 2015, 38).

Sekundaarinen hemostaasi voidaan jakaa kahteen osaan, ulkoiseen ja sisäiseen aktivaatioreittiin (Joutsu-Korhonen ja Koski 2010, 279). **Ulkoisen aktivaatioreitti** käynnistyy kudostekijän ja FVII:n kautta. Kudostekijää on verisuonen seinämässä, eikä se ole normaalisti yhteydessä vereen. Suonivaurion sattuessa kudostekijää (tromboplastiini (III)) vapautuu vereen ja se käynnistää tämän hyytymisreitin. (Mahlamäki 2004, 312; Nayak ym. 2012, 279–280, 287.) **Sisäisen aktivaatioreitti** aktivoituu, kun verisuonivaurion seurauksena paljastuu vieraita pintoja, esimerkiksi kollageenia. Trombosyytit tarttuvat ympäristöönsä ja toisiinsa, kun ne joutuvat kosketuksiin näiden pintojen kanssa. Hyytymistekijä XII muuttuu XIIa:ksi eli aktiiviseksi muodokseen, joka aktivoi hyytymistekijän XI ja niin edespäin. (Nienstedt ym. 2009, 179, 181.)

2.3 Fibrinolyttinen järjestelmä

Fibrinolyysissä fibrinihyytymä rajataan vauriokohdan alueelle, liuotetaan ja poistetaan haavan parantuessa. Fibrinolyysi aktivoituu kudosaaktivaattori tPA:n johdosta, jota hyytymän fibrini ja trombiini vapauttavat endoteelisoluista. Inaktiivinen proentsyymi plasminogeeni ja tPA kiinnittyvät fibriniin ja plasminogeeni aktivoituu plasmiiniksi. Plasminogeenistä muodostuva plasmiini on fibrinolyysin keskeisin entsyymi, koska se hajottaa fibrinihyytymän. (Mahlamäki 2004, 313; Fritsma ja Fritsma 2012, 628; Lassila 2015, 39.)

Plasminogeenin kudosaaktivaattori tPA, urokinaasi, plasminogeenin aktivaattorin estäjä (PAI-1) ja antiplasmiini ylläpitävät fibrinolyysin tasapainoa. Hyytymistä estäviä hajoamistuotteita syntyy, kun plasmiini hajottaa fibrinogeeniä ja fibriniä. Hajoamistuotteet hajottavat pieniä hyytymiä verisuonissa ja palauttavat verenvirtausta normaaliksi. (Mahlamäki 2004, 313; Nayak ym. 2012, 284.) Hyytymisen ja fibrinolyysin tuloksena syntyvä fibriniverkko edistää vauriokohdan paranemista, kun sileät lihassolut saavat fibriniisäikeistä tukea (Lassila 2015, 40).

tPA:n ja urokinaasin aktiivisuutta kontrolloidaan plasminogeenin aktivaattorin estäjällä (PAI-1), jota endoteelisolut ja trombosyytit erittävät ja se hidastaa hyytymän liukenemistä. Vapaata plasmiinia inaktivoi ja plasmiinia kontrolloi hyytymän ulkopuolella antiplasmiiniproteiini, jota on plasmassa ja verihiutaleissa. (Nayak ym. 2012, 284; Lassila 2015, 35, 40.)

3 HYYTYMISTUTKIMUKSET JA NIIDEN ANALYSOINTI

Hyytymisanalytiikka tarjoaa paljon erilaisia testejä hyytymisnäytteiden tutkimiseen. Hyytymislaitteet ovat joko automaattisia tai puoliautomaattisia. Puoliautomaattisissa laitteissa laitteenkäyttäjän pitää pipetoida näyte ja reagenssi manuaalisesti ja analysointeja voi tehdä vain yhdelle tai kahdelle näytteelle yhtä aikaa. Täysiautomaattiset analysaattorit pipetoivat näytteen ja reagenssin automaattisesti ja näillä laitteilla voidaan analysoida monta näytettä samaan aikaan. Analysaattori suorittaa analysoinnin ja antaa tuloksen automaattisesti. (McGlasson 2012, 784.)

Hyytymisjärjestelmän seulontatestit ja yksittäiset hyytymistekijämääritykset perustuvat ajan mittamiseen, joka kuuluu fibriinisaostuman muodostumiseen. Verinäyte sentrifugoidaan, jolloin saadaan käyttöön trombosyyttivapaa plasma, jota aktivoidaan hyytymisreagenssilla hyytymisen käynnistämiseksi. Hyytymistutkimuksia tarvitaan esimerkiksi akuutin hyytymishäiriön diagnostiikassa ja hoidon laboratorioseurannassa, verenvuototaipumuksen selvittämisessä, poikkeavan tukostaipumuksen selvittämisessä, antitromboottisen hoidon laboratorioseurannassa sekä antikoagulaatiohoidon seurannassa. (Joutsu-Korhonen 2015, 152–154.)

3.1 Tromboplastiiniaika P-TT ja INR-tulos P-INR

Tromboplastiiniaika eli P-TT, mittaa ulkoisen hyytymisjärjestelmän tekijöitä ja tulos ilmoitetaan prosentteina normaalista tuloksesta, viitearvojen ollessa välillä 70–130% (Joutsu-Korhonen ja Koski 2010, 279). Suomessa käytettävän menetelmän reagenssiin on lisätty fibrinogeenia (I) ja hyytymistekijää V. Testi mittaa sellaisia hyytymistekijöitä, jotka ovat maksan tuottamia ja K-vitamiiniriippuvaisia eli tekijöitä II, VII ja X. Tutkimusta käytetään hyytymisjärjestelmän toiminnan seurannassa, maksan toiminnan tutkimisessa, hyytymistekijävajauksessa, korvaushoidon seurannassa ja K-vitamiinin imeytymisen tutkimisessa. Alentuneita tuloksia aiheuttavat K-vitamiinin puutos, vakava maksavaurio, varfariinihoito tai yksittäisen hyytymistekijän (II, VII tai X) vajuus. (ISLAB 2015a; Joutsu-Korhonen 2015, 36, 153, 156.)

INR eli International Normalized Ratio on veren hyytymisaikaa kuvaava laskennallinen arvo. Tutkimusta käytetään antikoagulaatiohoidossa varfariini-lääkkeen tehon seuraamiseen. Antikoagulanttina käytettävä varfariini estää hyytymistekijöiden muodostumista maksassa, jonka takia veren hyytymistaipumus vähenee. Hyytyminen ei saa loppua kokonaan, koska se voi aiheuttaa vaarallisia verenvuotoja. Varfariinin tarkoituksena on vähentää hyytymistaipumusta siten, että vuotoja ei tule, mutta veritulpan riski vähenee. (Eskelinen 2012.) Eteisvärinä on merkittävin veritulpan syntyiselle altistava tekijä (Käypä hoito – suositus 2015). Varfariinin tarve vaihtelee eri ihmisten välillä, joten sen annos on syytä säädellä yksilöllisesti jokaiselle potilaalle (Asmundela, Karjalainen, Wikström ja Vuorna 2011, 42). INR-aika mitataan menetelmällä, jossa hyytymisaika on riippuvainen näytteen hyytymistekijöiden II, VII ja X aktiivisuuksista (Joutsu-Korhonen 2015, 158).

INR on laskennallinen arvo, joka voidaan laskea kaavalla:

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

Mitattu tromboplastiiniaika tarkoittaa näytteestä mitattua hyytymisaikaa ja normaali tromboplastiiniaika taas käytettävän reagenssierän määritettyä normaalia hyytymisaikaa. ISI eli International Sensitivity Index tarkoittaa reagenssin herkkyyssindeksiä, joka määritetään reagenssieräkohtaisesti. Tällä arvolla korjataan hyytymisaikojen suhdetta niin, että se vastaa kansainvälistä tasoa. Tulostaso on silloin yhdenmukainen, vaikka käytettäisiin eri valmistajien reagensseja. (Mahlamäki 2004, 317; Huslab 2016a.) Herkimmillä tromboplastiinireagensseilla ISI-arvo on lähellä 1 (Fritsma 2012a, 768).

Normaalisti P-INR ilman antikoagulanttihoitoa on n. 1,0. Laskimotromboosin ja keuhkoembolian hoidossa ja ennaltaehkäisyssä arvon tulisi olla 2,0–3,0, kuten myös kroonisen eteisvärinän ja vaikean sydämen vajaatoiminnan hoidossa. Tekoläppäpotilaan hoitoalueen pitäisi asettua 2,5–3,5 välille. (IS-LAB 2015b.)

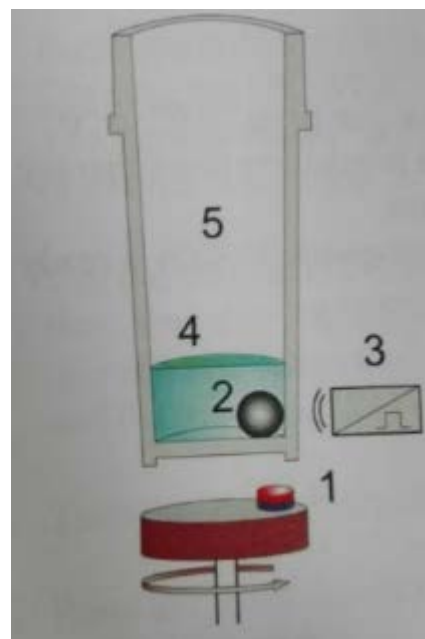
3.2 Thrombotrack™ Solo – hyytymislaite

Thrombotrack™ Solo on yksikanavainen ja puoliautomaattinen hyytymislaite (kuva 1.) ja sillä voidaan määrittää hyytymisaktiivisuus ja INR-arvo kokove-
restä, plasmasta tai kapillaariverestä. Hyytymän muodostuminen aiheuttaa näytteessä viskositeetin muutoksen ja laite havaitsee kuulan muuttuneen liikkeen. Laitteeseen voidaan liittää automaattipipetti (kuva 1.), jolloin mittaus käynnistyy pipetin painalluksella. Laite mittaa hyytymisajan sekunteina. Laitteeseen pitää syöttää hyytymisen normaaliaika ja reagenssin ISI-arvo, jos halutaan saada näytteen INR-arvo. Laitteen yläreunassa on mittauskaivo ja sen ympärillä viisi inkubaatiokaivoa. (Axis-Shield 2009, 2, 5, 7, 10–11, 13.)



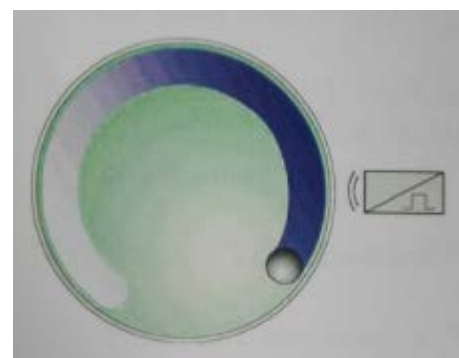
KUVA 1. Thrombotrack™ Solo -hyytymislaite ja automaattipipetti (Koivunen 2016-10-04).

Kuvassa 2 on Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen mittausperiaate. Magneetti (1) on kyvetin alapuolella (5) ja se saa metallikuulan (2) pyörimään. Pyöriminen mahdollistaa sen, että näyte (4) sekoittuu tasaiseksi seokseksi optimaalisesti ja hellävaraisesti. Sensori (3) tarkkailee metallikuulan pyörimistä. Hyytymän muodostuessa näytteen viskositeetti muuttuu ja se saa kuulan joko pysähtymään tai siirtymään kohti kyvetin keskiosaa. Molemmissa tapauksissa sensori havaitsee muutoksen ja lopettaa mittauksen. (Axis-Shield 2009, 9.)



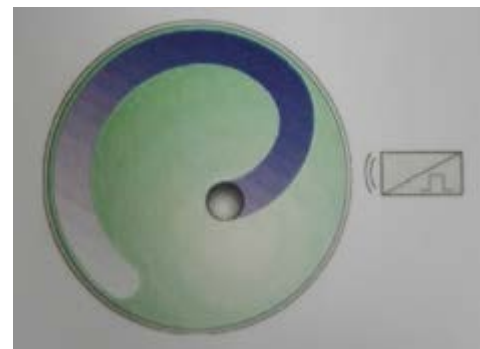
KUVA 2. Laitteen mittausperiaate (Axis-Shield 2009).

Hyytymän muodostuessa näytteen viskositeetti muuttuu ja se vaikuttaa kuulan jatkuvaan liikkeeseen. Kun syntyy vahva hyytymä, metallikuula pysähtyy (kuva 3). (Axis-Shield 2009, 9.)



KUVA 3. Metallikuula pysähtyy, kun syntyy vahva hyytymä (Axis-Shield 2009).

Heikko hyytymä saa kuulan liikkumaan kohti kyvetin keskiosaa (kuva 4). Sensori havaitsee kuulan muuttuneen liikkeen suunnan ja pysäyttää mittauksen. (Axis-Shield 2009, 9.)



KUVA 4. Metallikuula liikkuu kohti kyvetin keskiosaa, kun syntyy heikko hyytymä (Axis-Shield 2009).

4 LABORATORIOMENETELMIEN LAATU JA VALIDOINTI

Kliinisessä laboratoriotyössä laatu tarkoittaa kykyä tarjota tarkkoja ja toistettavia analyysituloksia, jotka antavat kliinisesti hyödyllistä tietoa. Tulosten pitää olla myös luotettavia, koska lääkärit tekevät paljon hoitopäätöksiä laboratoriotulosten perusteella. (Fritsma 2012b, 42.) Laboratoriotutkimuksiin liittyy aina erityyppisiä virhelähteitä ja ongelmia. Oikeanlaisella työskentelyllä, laadunvarmistuksella sekä – valvonnalla näitä virheitä pyritään vähentämään. Laadunvarmistuksen pitää toteutua jokaisessa laboratoriotutkimusprosessin vaiheessa, näytteet tulee ottaa laadukasti, analysoida oikein ja potilaan pitää saada oikea hoitopäätös. (Penttilä 2004, 35; Linko 2004, 60.)

Laadunhallintajärjestelmällä tähdätään potilastutkimusten luotettavuuteen ja onnistuneeseen asiakaspalveluun kliinisessä laboratoriotyössä. Toimivan laatujärjestelmän avulla voidaan siis taata laboratoriotyön laatu, jota ylläpidetään ja kehitetään kokoajan. Laboratoriotyöhön kohdistuu erilaisia laatuvaatimuksia, jotka laboratorioden pitää pystyä täyttämään. Laadunhallintajärjestelmä kartoittaa laboratoriotyön suorittamisen sekä miten toiminnan laatu ja tulosten luotettavuus voidaan saavuttaa. Perustana laadunhallintajärjestelmille ovat kansainväliset standardit tai hyvät laboratoriokäytännöt (GLP). (Hänninen ym. 2012, 22; Sinervo 2014, 190–191.) Standardit ovat yleisesti hyväksytyjä käytäntöjä, jotka laaditaan sen mukaan, mille on tarvetta. Näillä hyväksytyillä käytännöillä parannetaan turvallisuutta. (Suomen standardisoimisliitto SFS ry.)

Toimivan laatujärjestelmän omaava laboratorio voi osoittaa virallisesti pätevyytensä antamalla ulkopuolisen ja puolueettoman tahon tarkastaa toimintansa standardien vaatimusten mukaisesti. Tätä menettelyä kutsutaan akkreditoinniksi, jossa arvioidaan laboratoriotyön vaatimusten täyttymistä ja pätevyyttä. Akkreditointi perustuu kansainvälisiin standardeihin ja akkreditoitu laboratorio sitoutuu noudattamaan sovittuja toimintatapoja. Akkretoidun laboratorion pitää esimerkiksi dokumentoida menetelmät ja niiden menettelytavat, tehdä laitteiden huolto- ja kalibrointisuunnitelma sekä toteuttaa ne. Myös uusien menetelmien validointi ennen käyttöönottoa ja henkilökunnan jatkuva koulutus kuuluvat akkretoidun laboratorion vaatimuksiin. (Hänninen 2012, 22–23; Sinervo 2014, 191.) Sertifiointissa sen sijaan ulkopuolinen ja puolueeton taho arvioi toiminnan asianmukaisuutta, mutta ei ota kantaa analyysiprosessin tekniseen pätevyyteen (Penttilä 2004, 38). Suomessa FINAS suorittaa akkreditoinnit (FINAS 2016).

Sisäisillä laadunvalvonnoilla ja ulkoisilla laadunarvioinneilla eli auditoinneilla valvotaan laboratorion laatua (Hänninen ym. 2012, 23). Niillä pyritään myös kehittämään ja lisäämään laboratoriotutkimusten luotettavuutta. Sisäisellä laadunvalvonnalla tarkoitetaan työyksikön omien menetelmien jatkuvaa arviointia, laboratorio tutkii omilla näytteillään tai kaupallisten tuotteiden avulla menetelmiensä tasoa ja luotettavuutta. Hematologisissa laboratoriotutkimuksissa on päädytty käyttämään prosentuaalisia tavoiterajoja, jotka saadaan määritettyä vertailulaboratorioiden tai laadunvalvontakierroksille osallistuvien laboratorioden arvojen avulla. Tavoiterajojen tarkoituksena on, että laboratorio pystyisi toistamaan analyysin sallittujen rajojen mukaisesti joka kerta. (Penttilä 2004, 36.)

Ulkoisen auditoinnin tekee puolueeton viranomainen, joka selvittää, toimitaanko laboratoriossa laatu- ja järjestelmän mukaisesti. Ulkoisessa laadunarvioinnissa laboratorio tutkii näytteitä, joiden arvoja se ei tiedä. Kun oman laboratorion tuloksia verrataan muiden laboratorioden saamiin arvoihin, voidaan omien menetelmien tasoa arvioida kotimaisella ja kansainvälisellä tasolla. (Penttilä 2004, 38; Hänninen ym. 2012, 23.) Labquality Oy on suomalainen palveluntarjoaja, joka tarjoaa ulkoista laadunarviointia, sertifiointi- ja koulutuspalveluita sekä kontrolli- ja referenssimateriaaleja sisäiseen laadunvarmistukseen. Yrityksen tarkoituksena on kehittää laadunhallintaa ja parantaa potilasturvallisuutta. (Labquality Oy.)

Kalibroinnissa käytetään vertailunäytteitä, jotka ovat analysoitu vertailumenetelmällä ja joiden arvot ovat varmennettuja. Kalibroinnissa tehdään kalibroitinkäyrä, joka kuvaa mittaussignaalin tason ja analyysin pitoisuuden välistä suhdetta. Kalibroinnin tarkoituksena on selvittää vertailumateriaalin ja analyysilaitteistolla saadun tuloksen eroa. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 18; Hiltunen ym. 2011, 49; Fritsma 2012b, 48.) Kontrolleilla sen sijaan on tarkoituksena seurata analyysimenetelmän toimintaa ja huomata muutokset toistettavuudessa ja tulostasossa. Kontrollimateriaalin pitää olla mahdollisimman samankaltainen kuin potilasnäytteiden ja niitä käsitellään kuin potilasnäytteitäkin. Kontrolleilla pitää olla pitkä säilyvyys, joka kaupallisilla kontrolleilla yleensä on. Potilasnäytekontrolleilla säilyvyys saattaa olla heikompi kuin kaupallisten kontrollien. (Linko 2004, 60–61; Katajamäki 2014, 206.) Åkermanin, Kultin ja Anttilan (2011, 148) mukaan kontrollimateriaalit eivät kuitenkaan välttämättä käytäydy samalla tavalla kuin potilasnäytteet, joten kontrollinäytteiden rinnalla tulisi käyttää aitoa potilasnäytettä (Åkerman, Kultti ja Anttila 2011, 148).

4.1 Laboratoriotutkimusprosessi

Kliininen laboratoriotutkimusprosessi voidaan jakaa kolmeen eri vaiheeseen: pre-, ana- ja postanalyttiseen vaiheeseen. Tutkimusprosessi alkaa **preanalyttisella vaiheella**, johon kuuluvat tutkimuspyynnön tekeminen, potilaan ohjaus ja valmistautuminen tutkimukseen, näytteenotto, näytteen säilytys ja kuljetus sekä käsittely analysointia varten. 46–68,2 % kaikista laboratoriotutkimusprosessin virheistä tapahtuu preanalyttisessä vaiheessa ja siksi onkin tärkeää, että tähän vaiheeseen kiinnitetään erityistä huomiota. Näytteiden pitää täyttää laatuvaatimukset, jotka ovat luotettavien laboratoriotutkimusten edellytys. Preanalyttisessä vaiheessa tapahtuvat asiat heijastuvat suoraan analyttiseen ja postanalyttiseen vaiheeseen. Jos tulos on virheellinen, myös tuloksen tulkinta on virheellinen. Tällä on siis suuri merkitys potilaan hoidon kannalta. (Tuokko ym. 2008, 5, 7-13.) Prenalyttinen vaihe toimii perustana laboratoriotulosten luotettavuudelle (Matikainen ym. 2016, 12). Preanalyttisessä vaiheessa virheitä voi sattua niin potilaan tunnistamisessa, tutkimukseen valmistautumisessa, näytteenotossa kuin myös näytteen käsittelyssä (Penttilä 2004, 35).

Laadukas verinäyte hyytymistutkimuksiin saadaan huolellisella työskentelyllä, oikeilla toimintatavoilla ja asianmukaisilla välineillä. Hyytymistutkimusten näytteenotossa ja näytteen käsittelyssä pyritään estämään hyytymisjärjestelmän aktivoituminen ja solukontaminaatio. Näytteenotossa noudatetaan

yleisiä valmistautumisohjeita ja tupakointia, alkoholia sekä ruumiillista rasitusta pitää välttää näytteenottoa edeltävän vuorokauden aikana. (Pohja-Nylander ja Joutsu-Korhonen 2013, 2; Joutsu-Korhonen 2015, 152.)

Hyytymistutkimuksissa käytetään 3,2-prosenttista sitraattia sisältäviä näyteputkia (Joutsu-Korhonen 2015, 152). Näyteputkessa oleva natriumsitraatti sitoutuu veren kalsiumiin, jolloin se estää veren hyytymisen. Näytteenotossa on tärkeää tarkistaa, että hyytymisputki on täyttynyt oikein. Sitraatti-putket otetaan ennen hepariiniiniputkia, ettei antikoagulantti pääse siirtymään korkin kautta seuraavaan putkeen, koska hepariini estää myöskin veren hyytymisen. (Matikainen, Miettinen ja Wasström 2016, 78.) Hyytymistutkimusten verinäytteenotossa staasia tulisi pitää enintään 30 sekunnin ajan (Tuokko, Rautajoki ja Lehto 2008, 47). Liian pitkä staasin käyttö voi aiheuttaa hyytymisen aktiivatiota sekä paikallista hemokonsentraatiota ja hyytymistulokset saattavat nousta merkittävästi näiden asioiden vuoksi. Siipineulaa käytettäessä otetaan hukkaputki, ettei siipineulan letkun ilmatilavuus aiheuta hyytymisputken jäämistä vajaaksi. Avo- tai vakuumitekniikalla hukkaputkea ei tarvitse ottaa, jos näyte otetaan P-INR-, P-TT- tai P-APTT-tutkimuksia varten. (Pohja-Nylander ja Joutsu-Korhonen 2013, 3; Javela 2015, 22.)

Hyytymistutkimuksia otettaessa laskimopiston pitää onnistua hyvin ja sen on osuttava suoraan suoneen. Käytettävän neulan pitää olla sopivan kokoinen, koska liian pienellä neulalla otettaessa veren virtaus saattaa olla liian heikko. Veren heikko virtaus saattaa aiheuttaa näytteen hyytymistä tai hemolyysejä eli punasolujen hajoamista. Liian iso neula saattaa aiheuttaa liian kovan verenvirtauksen, jolloin hyytymistekijät saattavat aktivoitua. Uusintapisto tehdään toiseen suoneen, jos ensimmäinen pisto epäonnistuu. Näytteen on tultava hyvin putkeen ja putken pitää täytyä vaivatta. Putken pitää täytyä merkkiviivaan asti, jolloin antikoagulantin ja veren suhde on oikea (1:10). Näyte laimenee sitraatilla ja sen hyytymisaika pitenee, jos putki jää vajaaksi. Liian täydessä putkessa näytteen hyytyminen saattaa käynnistyä liian nopeasti. Liian vajaan tai täyden putken analysoinnissa saatu tulos on virheellinen. (Pohja-Nylander ja Joutsu-Korhonen 2013, 3; Javela 2015, 22.)

Näytteenoton jälkeen putki pitää sekoittaa, jotta antikoagulantti sekoittuu vereen tasaisesti, koska viivästynyt sekoittaminen johtaa hyytymien muodostumiseen näytteessä. Putkea käännellään rauhallisesti 4-5 kertaa, putkea ei saa sekoittaa liikaa, koska liiallinen sekoittaminen saattaa käynnistää hyytymisprosessin putkessa. Näytteenottajan pitää huolehtia, että ainoastaan hyvin otettuja näytteitä lähetetään analysoitavaksi. Hyytymisnäytteet otetaan hyytymisputkeen, eikä sitä saa täyttää kaatamalla verta toisesta putkesta. Hemolyysoituneita näytteitä ei saa käyttää hyytymistutkimuksiin. Näytteen hemolyysoituminen voi johtua epäonnistuneesta näytteenotosta tai siitä, että näyte on kuljetettu liian kylmässä. (Pohja-Nylander ja Joutsu-Korhonen 2013, 3; Javela 2015, 22–23; Matikainen ym. 2016, 80.)

Hyytymistutkimusnäytteistä INR- ja TT-näytteet säilyvät sentrifugoimatta ja erottelematta huoneenlämmössä 24 tuntia (Joutsu-Korhonen 2010, 208; Huslab 2016a; Huslab 2016b). ISLAB:n ohjekirjan (2015b) mukaan P-INR-näyte säilyy 2 vuorokautta sentrifugoimatta tai sentrifugoituna huoneenlämmössä. Ohjeessa kuitenkin sanotaan, yli 30 tuntia sitten otetun näytteen INR-arvon ollessa yli 4,5,

lausuntoon kirjataan näytteen olevan todennäköisesti ikääntynyt. (ISLAB 2015b.) Näytteiden lyhyt säilytys ja nopea kuljetus lisäävät tulosten luotettavuutta. Näytteessä tapahtuvat reaktiot halutaan minimoida, jotta näytteen laatu säilyisi mahdollisimman samanlaisena kuin sitä otettaessa. Laboratoriotutkimusten keskittäminen isojen sairaaloiden laboratorioihin aiheuttaa sen, että näytteitä joudutaan kuljettamaan enemmän ja välimatkat ovat pitkiä. (Tapola 2004, 29.)

Huslabin ohjekirjassa (2016a, 2016b) neuvotaan sentrifugoimaan P-INR- ja TT-näytteet 2500g ja 15 minuutin ajan (Huslab 2016a, 2016b). Åkermanin (2010, 79–80) mukaan sentrifugointivoima- ja aika riippuvat putkivalmistajien suosituksista, jotka voivat vaihdella. Eri lähteissä g-arvot vaihtelevat 1000-2500g välillä ja sentrifugointiajat 5-15 minuutin välillä. (Åkerman 2010, 79–80.) Lotta Joutsu-Korhonen (2010, 208) taas kirjoittaa artikkelissaan Moodissa, että näytteet tulisi sentrifugoida riittäväällä nopeudella, joka on yleensä 2000g ja 15 minuuttia (Joutsu-Korhonen 2010, 208). Sentrifugointivoimakkuudet ja –nopeudet voivat vaihdella eri laboratorioden välillä ja jokainen yksikkö noudattaa oman laboratorion työohjeita (Tuokko, Rautajoki ja Lehto 2008, 11).

Analyttisessä vaiheessa käsitelty näyte analysoidaan testatulla ja hyväksytyllä menetelmällä, jonka on varmennettu antavan oikeellisia tuloksia. Tämän tutkimusprosessin vaiheessa virheitä voi sattua esimerkiksi pipetoinnissa, analysointilämpötilassa tai mittausprosessissa. Nykyään työskennellään paljon analysointilämpötilalla, jotka pipetoivat näytteet itse ja seuraavat lämpötilaa, eikä inhimillistä virhettä pääse näin tapahtumaan. (Laitinen 2004, 33–34; Tuokko ym. 2008, 12.) Mittaussuoritus voi olla asianmukainen, mutta jos menetelmä on vakioitu väärin, voi se aiheuttaa liian korkeita tai matalia tuloksia. Siksi laitteiston kuntoa ja menetelmien analyysitasoa pitää seurata laadunvarmistuksella. (Penttilä 2004, 36.)

Postanalytiikkaan kuuluvat kaikki ne vaiheet, joita tarvitaan ennen kuin hoitoyksikkö antaa tutkimustuloksen perusteella hoitopäätöksen. Laboratorion henkilökunnan pitää arvioida tuloksen oikeellisuutta ja luotettavuutta, ennen kuin se lähetetään hoitoyksikköön. Näytteen analysointi suoritetaan tarvittaessa uudelleen, jos epäillään tuloksen oikeellisuutta. Joissakin tapauksissa joudutaan pyytämään uusi näyte, jos esimerkiksi hemolysoitunut näyte häiritsee tuloksen tulkintaa. Myös hoitoyksikön kuuluu arvioida tuloksen luotettavuutta ja verrata tulosta potilaan aiempiin tuloksiin. Hyväksytyt tulokset perusteella hoitoyksikkö voi tehdä jonkinlaisen hoitopäätöksen. (Tuokko ym. 2004, 12–13.)

4.2 Laboratoriomenetelmien validointi

Analyysipalveluita tarjoavan laboratorion toiminta perustuu sellaisten analyysimenetelmien käyttöön, jotka ovat validoituja. Validoinnilla osoitetaan menetelmän soveltuvuus aiottuun käyttötarkoitukseen. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 11.) Sen sijaan verifiointilla varmistetaan, että menetelmä täyttää sille määritellyt vaatimukset (Suomen standardisoimisliitto SFS ry 2013, 645). Validoinnissa tutkittavia asioita ovat selektiivisyys, spesifisyys, lineaarisuus, mittausalue, toteamisraja, määristysraja, poikkeama, saanto, häiriökestävyys, toimintavarmuus, mittausepävarmuus, tarkkuus, toistettavuus ja uusittavuus (Hiltunen ym. 2011, 25; Fritsma 2012b, 42).

Validointia tarvitaan esimerkiksi silloin, kun halutaan varmistaa, että kahden eri mittausmenetelmän, käytössä olevan menetelmän ja uuden menetelmän, tulokset ovat samansuuntaiset tai kun kehitetään uutta menetelmää tiettyyn käyttötarkoitukseen. Validoinnin laajuus riippuu aina siitä, minkälaiseen käyttötarkoitukseen laite on tarkoitettu ottaa käyttöön. Tutkimusmenetelmän validointi tarkoittaa menetelmän testausta suunnitelluissa olosuhteissa. Kahden mittausmenetelmän vertailu ja tulosten yhtäpitävyys on usein käytetty menetelmä validoinnissa, silloin molemmilla menetelmillä mitataan samaa näytettä. (Hiltunen ym. 2011, 24, 26.) Vertailumateriaalilla tarkastetaan, että menetelmä antaa oikeat tulokset ja toistomittauksilla arvioidaan menetelmän toistettavuutta, kun näytteiden tulokset ovat matalia, keskikorkeita ja korkeita. Menetelmän luotettavuus todetaan validoinnin tulosten perusteella. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 11, 30.)

Lineaarisuus on analyttisen menetelmän kyky antaa hyväksyttävä lineaarinen korrelaatio tulosten ja näytteestä tutkittavan aineen pitoisuuden välillä tietyllä alueella. Lineaarisuuden avulla määritetään myös analyysimenetelmän luotettava mittausalue, joka on yleensä laajempi kuin lineaarinen alue. Mittalaitteen herkkyyks on vakio lineaarisella mittausalueella ja tällä alueella mittalaitteen virhe on tunnetuissa ja määritellyissä rajoissa. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 13; Hiltunen ym. 2011, 12–13.)

Tarkkuus eli mitatun arvon ja teoreettisen arvon yhteensopivuus, johon vaikuttavat systemaattinen ja satunnaisvirhe. Tarkkuus ilmoitetaan usein mittaustulosten keskiarvo \pm pitoisuus, jonka välillä tulokset ovat tietyllä todennäköisyydellä. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 12; Suomen standardisoimisliitto SFS ry 2007, 63.) Satunnaisvirheen suuruus liittyy rinnakkaismääritysten hajontaan. Satunnaisvirhettä ei voida poistaa kokonaan, mutta sen suuruutta voidaan pienentää huolellisella työskentelyllä. Systemaattinen virhe sen sijaan toistuu samanlaisena samoissa olosuhteissa. (Hänninen ym. 2012, 128.) Systemaattinen virhe eli **poikkeama** voi johtua esimerkiksi virheellisestä kalibroinnista tai mittalaitteen viallisuudesta. Mittalaitteiden systemaattiset virheet on hyvä tunnistaa mittausepävarmuuden arvioimiseksi. Tärkeintä on kuitenkin tietää koko analyysimenetelmän systemaattinen kokonaisvirhe, joka on mittaustuloksen ja teoreettisen arvon välinen ero. (Hiltunen ym. 2011, 14.)

Mittausepävarmuus on vaihteluväli, jolle mittaustulos sijoittuu tietyllä todennäköisyydellä. Arvioidessa mittausmenetelmän epävarmuutta pitää ottaa huomioon kaikki tekijät, jotka ovat voineet vaikuttaa analyysitulokseen. Määrittämisessä käytetään arvioitua tai mitattua keskihajontaa. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 35.)

Toistettavuus tarkoittaa täsmällisyyttä, joka saavutetaan, kun määrittys tehdään samanlaisissa olosuhteissa, samalla menetelmällä ja laitteella lyhyen ajan sisään. Silloin mittaussarjan sisäinen toistettavuus eli peräkkäisten mittaustulosten keskihajonta on pieni. Toistettavuus määritetään tekemällä useita rinnakkaismäärittäyksiä eri pitoisuuksien omaavilla näytteillä. Yleensä mittaussarjojen välinen hajonta on suurempi kuin mittaussarjan sisäinen hajonta. Jos sarjojen välinen vaihtelu on huomattavasti suurempi kuin sarjojen sisäinen vaihtelu, niin silloin sarjojen välillä esiintyy todellista vaihtelua ja silloin pitäisi selvittää, miksi vaihtelua esiintyy. Vaihtelu voi johtua esimerkiksi lämpötilan vaihtelusta, joka yleensä sarjan sisällä on sama, mutta sarjojen välillä vaihtelua voi syntyä. Menetelmän

uusittavuus tarkoittaa mittaustulosten yhteensopivuutta muuttuneissa olosuhteissa ja tämä saavutetaan silloin, kun sama näyte analysoidaan samalla menetelmällä eri laboratorioissa ja eri laitteilla. Uusittavuudella arvioidaan laboratorioiden suorituskykyä ja menetelmien siirrettävyyttä laboratorion toiseen. Uusittavuutta varten samasta näytteestä tehdään samalla menetelmällä riittävä määrä toistomittauksia. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 12, 34; Hiltunen ym. 2011, 19–20.)

Selektiivisyys kuvastaa tutkimusmenetelmän kykyä erottaa tutkittava analyytti näytetaustasta ja määrittää sen pitoisuus muiden yhdisteiden läsnäollessa. Analyysimenetelmä on selektiivinen, jos sen avulla analyytti voidaan spesifisesti määrittää muiden yhdisteiden joukosta. **Spesifisyys** tarkoittaa menetelmän kykyä mitata vain haluttua analyyttiä eli mittauksesta saatava signaali on peräisin vain tutkittavasta näytteestä. Menetelmä on spesifinen, jos se on täysin selektiivinen analysoitavalle näytteelle. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 11; Hiltunen ym. 2011, 11.)

Toteamisraja on analyytin pienin pitoisuus, joka voidaan todeta luotettavasti ja se eroaa nollanäytteen arvosta huomattavasti, esimerkiksi kolme kertaa nollanäytteen keskihajonnan suuruisesti. Toteamisraja määritetään analysoimalla nollanäytteitä toistuvasti taustan hajonnan tutkimiseksi. Rinnakkaismääritysten perusteella voidaan laskea taustalle keskiarvo ja keskihajonta. Toteamisrajalla analyytin vasteen pitää olla sen verran suuri, että se ei johdu enää taustan satunnaisvaihtelusta.

Määrittäysraja tarkoittaa näytetaustaa vastaan mitatun analyytin pienintä pitoisuustasoa, jolle voidaan tietyllä luotettavuustasolla suorittaa kvantitatiivisia mittauksia. Määrittäysraja voidaan todeta käyttämällä vertailumateriaalia ja yleensä suositellaan 6-10 mittauksen toistamista. Määrittäysraja lasketaan niin kuin toteamisrajakin, nollanäytteen hajonnan avulla. Analyytin pitoisuuden ollessa toteamis- ja määrittäysrajan välillä ns. harmaalla alueella, analyyttiä voidaan todeta olevan näytteessä, mutta sen määrää on hankala määrittää. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 13; Hiltunen ym. 2011, 13.)

Saanto sen sijaan tarkoittaa analyysimenetelmän tehoa havaita tutkittavan analyytin kokonaismäärä. Sitä voidaan tutkia esimerkiksi vertaamalla tulosta sellaisen menetelmän tuloksiin, jonka saanto tunnetaan. (Hiltunen ym. 2011, 16.)

Häiriökestävyys tarkoittaa menetelmän antamien tulosten herkkyyttä ja vaikutusta tulosten oikeellisuuteen silloin, kun tehdään pieniä muutoksia suorituksen aikana, laboratorioissa tai henkilökunnassa. **Toimintavarmuudella** tarkoitetaan sen sijaan mittausmenetelmän kykyä tuottaa hyväksytyjä tuloksia, vaikka mittausmenetelmän yksityiskohdissa tapahtuisi muutoksia. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 12; Hiltunen ym. 2011, 16.)

Validointisuunnitelmaan kirjataan koejärjestelyjen suunnittelu ja miten validointi aiotaan suorittaa. Validoinnin aikana tehdyt mittaukset kirjataan validointiraporttiin, johon on kirjattu myös menetelmän tavoite ja toteutus, käytetty laitteisto, välineet ja materiaalit. Raportin sisältö määrittyy validoinnin ja sen laajuuden perusteella. Validointisuunnitelmaan kirjatut toimenpiteet ja tulokset kirjataan myös validointiraporttiin. Raporttiin on myös syytä kirjata käytetyt materiaalit (reagenssit, vertailunäytteet). Validointiraportissa pitää käydä ilmi, miten tuloksia on tulkittu ja minkälainen mit-

tausepävarmuus tuloksilla on. Validointiraportissa tuodaan esille, soveltuuko laite käyttötarkoitukseensa ja luotettavuutta kuvataan mitattujen parametrien avulla. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 14; Hiltunen ym. 2011, 27.)

5 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSKYSYMYS

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on validoida Savonia-ammattikorkeakoulun Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitte ja verrata sen tuloksia vertailulaboratoriona toimivan ISLAB:n analyysituloksiin Sysmex CS2100i - hyytymisanalysointilaitteella.

Tavoitteena tässä työssä on selvittää, soveltuuko laite käyttötarkoitukseen, tässä tapauksessa ope-
tuskäyttöön sekä varmistaa luotettavat INR-tulokset myös koulun harjoitustunneilla.

Tämän opinnäytetyön tutkimuskysymys on: Miten Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen INR-tu-
lokset vastaavat ISLAB:n laitteella saatuihin tuloksiin?

6 TYÖN TOTEUTTAMINEN, TUTKIMUSAINEISTO JA -MENETELMÄT

Opinnäytetyöaiheet esitettiin keväällä 2015 opinnäytetyöinfossa ja aiheeksi valikoitui Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen validointi. Aihekuvauksen tekemisen aloitin heti ja se hyväksyttiinkin samana keväänä. Alkuvuonna 2016 aloin etsiä kirjallisuutta tutkimussuunnitelmaa, mutta myös varsinaista opinnäytetyötä varten. Tutkimussuunnitelma hyväksyttiin huhtikuussa 2016, jonka jälkeen suoritin työn menetelmällisen osuuden eli validoinnin. Jätin opinnäytetyön arvioitavaksi ulkopuoliselle arvioijalle marraskuussa 2016. Käytin teoria-aineistona opinnäytetyössä paljon suomenkielistä kirjallisuutta, mutta mukaan valikoitui myös hyviä englanninkielisiä lähteitä. Pysin valitsemaan kirjallisuuden opinnäytetyöhön siten, että käytetyt lähteet ovat mahdollisimman uusia ja ajankohtaisia, jotta niiden sisältämä tieto olisi mahdollisimman luotettavaa.

Suoritin validointiosuuden keväällä 2016 Savonia-ammattikorkeakoulun hematologian luokkatiloissa. Laitteiden vertailuun tarvittavat näytteet (N=10) sain ISLAB:n kliinisen hematologian laboratoriosta. Näytteet oli otettu 3,2 % sitraattiputkiin ja laboratoriohoitajat olivat esikäsitelleet näytteet etukäteen. Näytteet analysoitiin P-INR-tutkimuksena ISLAB:n Sysmex CS2100i – analysaattorilla, joka toimii vertailulaitteena. Kliinisen hematologian laboratoriohoitajat olivat erotelleet plasmat ja numeroineet putket juoksevalla numeroinnilla ja kirjoittaneet putken kylkeen näytteen tuloksen, joka oli saatu heidän hyytymisanalysaattorillaan. Näytteet oli otettu aamun ja aamupäivän aikana, mutta tarkkaa kellonaikaa en tiedä, koska näytteet oli eroteltu jo valmiiksi. Suoritin validoinnin näytteenottopäivänä, iltapäivän ja alkuillan aikana. Näytteiden säilytyslämpötilaa ja säilytysaikaa en tiedä tarkasti, joten arvioitu säilytysaika oli 7–10 tuntia.

ISLAB:n ohjekirjassa (2015b) kuitenkin sanotaan, että P-INR – tutkimusta varten otettu näyte säilyy 2 vuorokautta huoneenlämmössä, joko sentrifugoimattomana tai sentrifugoituna. Yli 30 tuntia sitten otetun näytteen luotettavuutta voidaan kuitenkin kyseenalaistaa, jos tulos on yli 4,5. (ISLAB 2015b.) 7-10 tunnin säilytysajan puitteissa näytteet ovat olleet analysointikelpoisia validoinnin loppuun asti.

Aloitin tutkimuksen suorittamisen tutustumalla laitteen käyttöohjeisiin, jotka olivat lyhyet ja yksinkertaiset, joten ne olivat helpot ymmärtää. Näytteiden analysointia varten keräsin tarvittavat tarvikkeet, pipetit ja niiden kärjet, kyvetit sekä kuulat. Tarvittavat aineet, reagenssit, kalsiumkloridin ja kontrollin otin huoneenlämpöön ennen mittauksen suoritusta, näytteet olivat jo valmiiksi huoneenlämmössä. Tarkistin näytteet, eikä niissä näkynyt merkkejä hyytymisestä tai hemolyysistä. Toimeksiantaja Savonia-ammattikorkeakoulu kustansi tarvittavat välineet validoinnin suoritukseen. Suoritin näytteiden analysoinnin käyttöohjeiden mukaisesti. Validoinnissa on tärkeää kirjata kaikki tutkimuksen vaiheet ylös. Kirjasin kaikki tutkimustulokset, käytetyt reagenssit ja kontrollin tuloksen ylös, jotta tulosten tulkinta olisi vaivattomampaa, eikä kaikkea tarvitsisi muistaa ulkoa.

Analysoin näytesarjan ensin yhden kerran kokonaan läpi, jonka jälkeen valitsin 5 näytettä laitteen toistettavuuden tutkimiseksi. Tuloksien perusteella valittujen näytteiden tulokset olivat matalia, kes-

kikorkeita ja korkeita, jotta pystyin tutkimaan laitteen toistettavuutta eritasoisten näytteiden kohdalla. Thrombotrack™ Solo on puoliautomaattinen hyytymislaitte, joten pipetoin kaikki näytteet manuaalisesti.

6.1 Määrällinen tutkimus

Määrällinen eli kvantitatiivinen tutkimus keskittyy muuttujien mittaamiseen, joita voidaan tarkastella tilastollisin menetelmin. Tutkimus edellyttää riittävää otoskokoja, jotta tulokset olisivat luotettavia ja ne voisivat koskea koko perusjoukkoa. Tavoitteena on tuottaa perusteltua, luotettavaa ja yleistettävää tietoa. (Kananen 2008, 10; Kankkunen ja Vehviläinen-Julkunen 2013, 55.) Opinnäytetyössä käytetty näytemäärä oli pieni (N=10), joten tämän tutkimuksen tuloksia ei pystytä yleistämään.

Määrällistä tutkimusta tehdessä pitää tietää, mitkä tekijät vaikuttavat tutkimukseen. Mittaaminen on mahdotonta, jos ei tiedetä, mitä ollaan mittaamassa. Kvantitatiivinen tutkimus on prosessi, joka etenee vaiheittain. Tutkimuksen lähtökohtana on tutkimusongelma, joka perustuu tarkoitukseen ja tavoitteeseen, johon halutaan ratkaisu. (Kananen 2008, 11; Kananen 2011, 12; Kankkunen ja Vehviläinen-Julkunen 2013, 85, 99.) Tässä opinnäytetyössä haluttiin selvittää, vastaavatko Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteella saadut tulokset ISLAB:n Sysmex CS2100i – analysaattorilla saattuihin tuloksiin.

Kvantitatiivinen tutkimus soveltuu erilaisiin tutkimusasetelmiin ja ne voidaan jakaa esimerkiksi pitkitäis- ja poikittaistutkimuksiin. Pitkittäistutkimuksessa aineistoa kerätään enemmän kuin kerran ja tutkimusilmiö säilyy samana. Poikittaistutkimuksessa aineisto kerätään kerran. (Kankkunen ja Vehviläinen-Julkunen 2013, 56.) Tässä opinnäytetyössä tehtävä tutkimus oli tämän jaon perusteella poikittaistutkimus, koska aineisto kerättiin vain kerran.

6.2 Tutkimuksessa käytetyt tilastolliset menetelmät

Hajontakaavion avulla voidaan tarkastella kahden muuttujan (x ja y) välistä riippuvuutta. Hajontakaavio kertoo muuttujien riippuvuuden suunnan (positiivinen, negatiivinen, ei riippuvuutta), sen voimakkuuden ja muodon. Jokainen piste kaaviolla kuvastaa yhtä muuttujaparia ja näiden muuttujaparien perusteella voidaan myös havaita poikkeavuudet. X-akselilla oleva piste kuvaa x-muuttujan arvoa ja y-akselilla oleva piste kuvaa sen sijaan y-muuttujan arvoa. Jos tulosten välillä nähdään jonkinlaista lineaarisuutta, voidaan tuloksia alkaa tutkia muillakin tilastollisilla menetelmillä. (Nummenmaa, Holopainen ja Pulkkinen 2014, 56; Heikkilä 2014, 158.)

Muuttujien välistä yhteyttä voidaan tarkastella laskemalla muuttujien välinen korrelaatiokerroin, joka vaihtelee -1:n ja +1:n välillä ja tällä mitataan muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta. Muuttujien välillä on positiivinen korrelaatio, jos toisen muuttujan arvon kasvaessa myös toisen arvo kasvaa, eli kerroin on lähellä +1. Korrelaatio on negatiivinen, jos toisen muuttujan arvon kasvaessa toisen arvo pienenee, eli kerroin on lähellä -1. Muuttujien välillä ei ole lineaarista yhteyttä, jos kerroin on lähellä

0. (Heikkilä 2014, 90–91; Nummenmaa ym. 2014, 214–215.) Yksikin huomattavasti poikkeava arvo pienessä otoskoossa voi vaikuttaa korrelaatiokertoimen arvoon (Nummenmaa ym. 2014, 216).

Keskihajonta on tärkeä hajonnan mitta, jota käytetään keskiarvon kanssa. Keskihajonta kuvastaa, miten havaintoarvot ovat sijoittuneet keskiarvon ympärille. Ne arvot, jotka poikkeavat paljon keskiarvosta, nostavat keskihajonnan arvoa suuremmaksi. Variaatiokerroin eli CV- % saadaan laskettua keskihajonnan ja keskiarvon avulla ja tulos ilmoitetaan prosentteina. Variaatiokerroin saadaan jakamalla keskihajonta keskiarvolla ja kertomalla niiden osamäärä 100:lla. (Heikkilä 2014, 86–87.) CV- % kertoo, kuinka paljon muuttujan arvot suurinpiirtein poikkeavat keskiarvosta (Nummenmaa ym. 2014, 84).

Lukujen välisiä muutoksia voidaan kuvata prosentteina. Muutosprosentti voidaan laskea esimerkiksi vähentämällä uusi arvo ja alkuperäinen arvo toisistaan ja jakamalla niiden erotus alkuperäisellä arvolla. (Saaranen, Koltola ja Pösö 2016, 371.) Näytteiden välisessä tulostasovertailussa voidaan verrata tuloksien täsmävyyttä, kun samoja näytteitä analysoidaan eri laitteilla. Tulostasovertailussa voidaan käyttää prosentuaalisen eron laskentaa yksittäisille näytteille ja hyödyntää eroprosenttien keskiarvoa. (Åkerman ym. 2011, 148.) Moodin asiantuntijasuosituksessa P-TT-INR vieritestauslaitteille on annettu ± 15 % tavoiteprosentiksi. Samaisessa julkaisussa sanotaan, että "*Vieritestien sallitut analyttiset kokonaisvirheet tulostusryhmän keskiarvosta kvantitatiivisissa vieritutkimuksissa perustuvat pääosin varsinaisten laboratoriotutkimusten vastaaviin tavoiteprosentteihin.*" (Linko, Savolainen, Åkerman, Nissinen, Ilanne-Parikka, Joutsu-Korhonen, Jylhä, Lassila, Linko-Parvinen, Linko, Meneses, Muukkonen, Nokelainen, Porkkala-Sarataho, Puhakainen, Siitonen, Suni ja Vuento 2009, 298.) Terho ja Saarinen-Valta (2015) tekivät opinnäytetyönsä aiheesta INR- ja TT-NT-tasovertailu Fimlab laboratoriot Oy:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteiden välillä. He vertailivat työssään kahden eri analysaattorin tasoeroja ja arvioivat, olivatko molempien laitteiden tulokset yhtäpitäviä. He käyttivät tulosten tulkinnassa myös laitteiden tulosten välistä prosentuaalista eroa. Tasovertailussa laitteiden keskimääräisten INR-arvojen tulosten eroprosentit olivat 8,8–9,1 %. (Terho ja Saarinen-Valta 2015.)

Tähän opinnäytetyön tutkimukseen valikoituivat tilastollisista menetelmistä korrelaatio, hajontakaavio, keskiarvo, keskihajonta, CV- % ja laitteiden tulosten väliset eroprosentit. Ensimmäistä näytesarjaa, jossa kaikki näytteet analysoitiin kerran läpi, on analysoitu käyttäen laitteiden välistä eroprosenttia, keskiarvoa ja laitteiden tuloksia on havainnoitu myös hajontakaavion avulla. Toistettavuustuloksia on arvioitu keskiarvon, keskihajonnan, CV %:n ja eroprosenttien avulla. Toistettavuustuloksia verrattiin vertailulaitteen tuloksiin laskemalla tuloksille prosentuaalinen vaihtelu. Validoinnin tulosten prosentuaalisten erojen tarkastelussa on käytetty ± 15 % tavoiteprosenttia. Tulosten eroprosentteja tutkittiin näytesarjan ja toistettavuusmittausten keskiarvojen, mutta myös yksittäisten näytteiden tulosten perusteella.

Tulokset syötettiin Microsoft Excel – ohjelmaan, jonka avulla tuloksia oli helppo muokata yksinkertaiseen muotoon ja tällöin myös tulosten tulkinta oli mielekkäämpää. Tulokset taulukoitiin niin, että ensimmäisen näytesarjan tulokset (taulukko 1) ovat omassa taulukossaan ja toistettavuustulokset

sekä laitevertailussa saadut prosentuaaliset erot (taulukko 2) ovat yhdessä taulukossa. Tulosten taulukoinnin lähtökohdaksi oli, että taulukot olisivat yksinkertaisia ja ne olisivat helppolukuisia.

6.3 Opinnäytetyön eettiset kysymykset ja luotettavuus

Bioanalyytikon työn tavoitteena on potilaan hyvinvointi ja hänen oikeuksiensa kunnioittaminen. Hänen velvollisuuksiinsa kuuluvat ammattitaidon ylläpitäminen ja kehittäminen sekä uusien menetelmien ja toimintatapojen omaksuminen. Bioanalyytikon pitää noudattaa salassapitovelvollisuutta ja hän hankkii laboratoriotutkimusprosessia varten vain niiden suorittamisen kannalta oleellisen tiedon. Bioanalytikko ottaa vastuun omasta toiminnastaan ja ylläpitää ammatin luottamusta ja arvostusta. Laboratoriotutkimusten laadusta ja luotettavuudesta pidetään huolta koko laboratoriotutkimusprosessin ajan. Kaikkia näyttemateriaaleja käsitellään potilaan yksityisyyttä ja oikeuksia kunnioittaen. (Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2011.) Tässä opinnäytetyössä en käsitellyt mitään potilastietoja. Käytin validoinnissa ISLAB:n hematologian laboratorion näytteitä. Alkuperäisistä näytteistä oli otettu talteen vain plasmat, joita tarvitsin analysoinnissa. Näytteistä poistettiin potilaiden henkilötiedot ja näytteitä käsiteltiin anonyymisti. Näytteet numeroitiin juoksevalla numeroinnilla. Mitään henkilötietoja en käsitellyt tutkimuksen aikana, koska ISLAB:n laboratoriohoitajat olivat erelleet tarvittavat plasmat ja numeroineet näyteputket.

Bioanalytikit tekevät laboratoriotutkimuksia ja huolehtivat tutkimusten luotettavuudesta ja laadunvarmistuksesta. He vastaavat potilaan hyvinvoinnista ja turvallisuudesta tutkimuksen aikana sekä huolehtivat tutkimusvälineistä ja –laitteista. (Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2016.) Tässä työssä varmistin ja testasin laitteen luotettavuutta tekemällä useita mittaustoistoja yksittäisille näytteille. Työskentelin tutkimuksen aikana huolellisesti, jotta pystyin välttämään turhat virheet. Virheiden satuesssa arvioin, mistä ne johtuivat. Suunnittelin mittauksen suorituksen etukäteen ennen laitteen testausta. Selkeät tavoitteet helpottivat työskentelyäni.

Tutkimustyö pitää suorittaa hyvän tieteellisen käytännön edellyttämällä tavalla, jotta tutkimuksen tulokset olisivat luotettavia. Tutkimuksen aikana ja tulosten arvionnissa noudatetaan huolellisuutta ja tarkkuutta, tutkimustyön suorittaja vastaa itse hyvän tieteellisen käytännön noudattamisesta. Tutkimusaineistoa ja työn tuloksia ei saa väärentää. Eettisyydestä ja luotettavuudesta työssä kertoo myös se, että tekstiviitteet ja lähteet ovat merkattu asianmukaisesti eikä tekstiä ole plagioitu. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012, 6–7; Kankkunen ja Vehviläinen-Julkunen 2013, 211–212.) Etsin työtä varten mahdollisimman uusia, ajankohtaisia ja luotettavia lähteitä, jotta työn teoria tukisi mahdollisimman hyvin tutkimuksen suorittamista ja tulosten tulkintaa.

Opinnäytetyössä pitää arvioida validiteettia ja reabiliateettia eli työn luotettavuutta. Työssä on tuotava esille, jos luotettavuus on jäänyt alhaiseksi. (Kananen 2008, 13.) **Validiteetilla** tarkoitetaan pätevyyttä eli tutkimuksen pitää mitata sitä, mitä tutkimuksella oli tarkoituskin selvittää. Tutkimukselle asetetaan täsmälliset tavoitteet, koska muuten saatetaan tutkia vääriä asioita. Validius pitää varmistaa etukäteen huolellisella suunnittelulla, koska sitä on hankala tarkastella jälkikäteen. Perus-

joukko pitää määrittää tarkkaan ja otoksen pitää olla edustavan kokoinen, jotta pystyttäisiin toteuttamaan validi tutkimus. **Reabiliteetilla** tarkoitetaan luotettavuutta eli tulosten tarkkuutta. Tutkimuksessa saadut tulokset eivät saa olla sattumanvaraisia. Otoksoon ollessa liian pieni, tulokset ovat sattumanvaraisia. Tutkimuksen aikana on oltava tarkka ja kriittinen, virheitä voi sattua esimerkiksi tietoja kerätessä, käsiteltäessä ja tulkittaessa tuloksia. (Heikkilä 2014, 27–28.) Tässä työssä käytetty otoskoko on pieni (N=10), joten tutkimuksen validiutta ja rehabiliteettia ei voida täysin todentaa. Otin näytekoon pienen määrän kuitenkin huomioon tuloksia tulkittaessa ja luotettavuuden arvioinnissa. Tulosten tulkinnassa käytin useita tilastollisia menetelmiä, jotta tutkimus olisi mahdollisimman luotettava pienellä näytemäärällä.

7 TYÖN TULOKSET

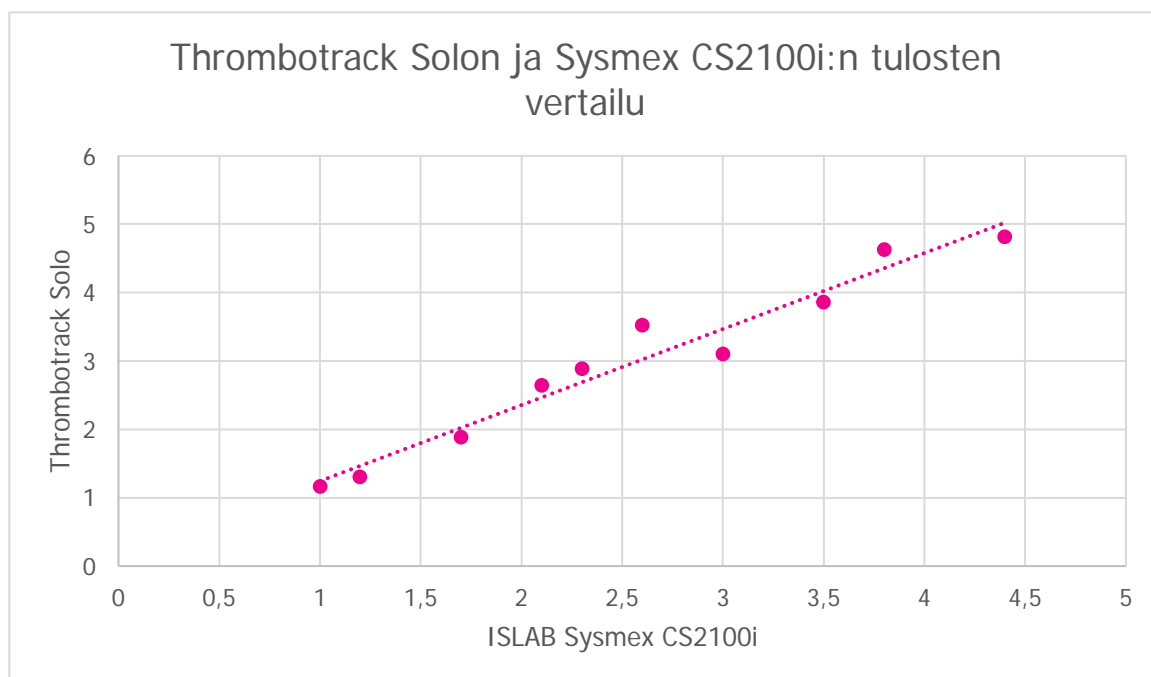
Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitte mittaa hyytymisajan INR-arvona, mutta myös sekunteina. IS-LAB:n Sysmex CS2100i laskee myös hyytymisajan sekunteina, mutta tässä opinnäytetyössä keskityttiin tarkastelemaan pelkästään INR-tulostusta. Näytesarjan tulosten analysoinnin apuna käytettiin hajontakuviota ja korrelaatiota, joiden avulla saatiin selvitettyä, onko tulosten välillä positiivista yhteyttä. Toistettavuutta on tarkasteltu keskiarvon, keskihajonnan ja CV- %:n avulla. Kaikkia tuloksia arvioitiin myös niiden prosenttimääräisten erojen eli tulostasovertailun perusteella.

Näytesarjan tuloksista havaittiin (taulukko 1), että Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen INR-tulokset ovat korkeampia kuin Sysmex CS2100i – analysaattorilla saadut tulokset. Näytenumerot 5, 8 ja 9 analysoitiin uudelleen, koska niiden tulokset (sulkeissa olevat INR-tulostukset, taulukko 1) olivat huomattavasti korkeampia (>1) kuin vertailulaitteella saadut tulokset. Tulosten tulkinnessa käytetään näitä uusintatuloksia, koska näiden näytteiden tulokset, varsinkin näytteen 9, laskivat uudelleen analysoinnin jälkeen.

TAULUKKO 1. Näytesarjojen tulokset.

Näytenumero	Sysmex CS2100i (INR-tulostus)	Thrombotrack™ Solo (INR-tulostus)	Tulosten % -ero
1	2,1	2,64	+25,7
2	1,2	1,3	+8,3
3	3,5	3,86	+10,3
4	1,7	1,88	+10,6
5	2,6	3,52 (3,65)	+35,4
6	1,0	1,16	+16
7	3,0	3,1	+3,3
8	3,8	4,63 (4,83)	+21,8
9	2,3	2,88 (3,35)	+25,2
10	4,4	4,81	+9,3
Keskiarvo	2,56	2,978	+16,3

Sysmex CS 2100i:n ja Thrombotrack™ Solon välinen korrelaatio on 0,9579, tulosten välillä on siis vahva positiivinen yhteys, koska korrelaatio on lähellä +1. Kuvio 1 kuvastaa Sysmex CS2100in ja Thrombotrack™ Solon välistä riippuvuutta. Kuvaajassa Thrombotrack™ Solo on muuttuja y ja Sysmex CS2100i muuttuja x. Kaavion suora on positiivisesti nouseva ja havaintoparit ovat asettuneet lähelle suoraa.



KUVIO 1. Hajontakaavio Sysmex CS2100i:n ja Thrombotrack Solon tuloksista.

Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitella saadut toistettavuustulokset ja prosentuaaliset erot vertailulaitteen tuloksiin ovat kirjattuna taulukkoon 2. Prosenttiero on laskettu siten, että laitteiden tulokset on vähennetty toisistaan ja erotus on jaettu Sysmex CS2100i:n antamalla tuloksella. Jakolaskun osamäärä on kerrottu sen jälkeen luvulla 100, jolloin saadaan prosenttiluku. Toistettavuustulosten keskiarvoja on verrattu vertailulaitteella saatuihin tuloksiin ja laskettu niiden välille prosentuaalinen ero. Toistettavuuden mittaamiseksi valittiin näytenuumerot 1, 5, 6, 7 ja 10. Toistettavuustuloksissa (taulukko 2) näytteiden arvot olivat yleisesti ottaen laskeneet verrattuna näytesarjan tuloksiin Thrombotrack™ Sololla (taulukko 1). Näytenuumero 5:n CV- % oli yli 33, kun muiden näytteiden CV- % asettuivat välille 1,5–6,9. Näytenuumero 7:n toistettavuustulokset ja näytenuumero 10:n kaksi toistettavuustulosta olivat toistettavuustesteissä matalammat kuin vertailulaitteella saadut tulokset.

TAULUKKO 2. Toistettavuustulokset ja laitevertailussa saadut prosentuaaliset erot.

Näyte 1	INR (ISLAB 2,1)	%-ero
Tulos 1	2,39	+13,8
Tulos 2	2,34	+11,4
Tulos 3	2,17	+3,3
Tulos 4	2,32	+10,5
Tulos 5	2,31	+10
Keskiarvo	2,306	+9,8
Keskihajonta	0,08204	
CV-%	3,55767	

Näyte 5	INR (ISLAB 2,6)	%-ero
Tulos 1	3,52	+35,4
Tulos 2	3,28	+26,2
Tulos 3	3,3	+27
Tulos 4	3,27	+25,8
Tulos 5	3,2	+23,1
Keskiarvo	3,314	+27,5
Keskihajonta	1,121161	
CV-%	33,83105	
Näyte 6	INR (ISLAB 1,0)	%-ero
Tulos 1	1,05	+5
Tulos 2	1,09	+9
Tulos 3	1,09	+9
Tulos 4	1,1	+10
Tulos 5	1,05	+5
Keskiarvo	1,076	+7,6
Keskihajonta	0,02408	
CV-%	2,2379	
Näyte 7	INR (ISLAB 3,0)	%-ero
Tulos 1	2,74	-8,7
Tulos 2	2,71	-9,7
Tulos 3	2,76	-8
Tulos 4	2,66	-11,3
Tulos 5	2,68	-10,7
Keskiarvo	2,71	-9,7
Keskihajonta	0,04123	
CV-%	1,5214	
Näyte 10	INR (ISLAB 4,4)	%-ero
Tulos 1	4,44	+0,91
Tulos 2	4,13	-6,1
Tulos 3	4,88	+10,9
Tulos 4	4,55	+3,4
Tulos 5	4,16	-5,5
Keskiarvo	4,432	+0,73
Keskihajonta	0,30817	
CV-%	6,9532	

8 POHDINTA

Tulosten oikeellisuuden arvioinnissa lähdettiin siitä olettamuksesta, että kaikki näytteet oli otettu asianmukaisesti ja laadukkaasti. Näytteet analysoitiin 7-10 tunnin kuluessa näytteenotosta eli näytteet olivat vielä analysointikelpoisia. Sysmex CS2100i – hyytymisanalysaattori on kliinisessä käytössä ISLAB:n kliinisen hematologian laboratoriossa ja laitteen tuloksia käytetään potilaiden terveydenseurannassa. Laite on siis validoitu ja sen on todettu antavan oikeellisia tuloksia (Jaarinen ja Niiranen 2005, 11). Joten jos Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen tuloksissa esiintyy vaihtelua, niiden voidaan olettaa johtuvan Thrombotrack™ Solosta, käytettävistä reagensseista tai laitteenkäyttäjistä.

Suoritettu validointi oli suppeampi kuin kliinisten laboratoriodien tekemät validoinnit uudelle laitteelle tai menetelmälle. Tulosten tulkinnassa oli hyvä käyttää monia tilastollisia menetelmiä, koska varsinkin korrelaatio ei ole yksistään tarpeeksi pätevä mitta luotettavuuden toteamiseksi pienellä näytemäärällä. Yksikin huomattavasti poikkeava arvo pienessä otoskoossa voi vaikuttaa korrelaatiokertoimen arvoon (Nummenmaa ym. 2014, 216).

Yleistä sallittua tulostasovaihtelua oli hankala löytää kirjallisuudesta. Moodin asiantuntijuussuosituksen perusteella laitteiden tulostasovertailussa käytettiin ± 15 % tavoiteprosenttia (Linko ym. 2009, 298). Terho ja Saarinen-Valta (2015) käyttivät myös työssään tulostasovertailussa laitteiden tulosten prosentuaalista eroa. Tasovertailussa laitteiden keskimääräisten INR-arvojen tulosten eroprosentit olivat 8,8–9,1 %. (Terho ja Saarinen-Valta 2015.) Heidän tutkimuksessaan laitteiden väliset eroavaisuudet olivat pienemmät kuin tässä työssä havaitut erot.

Hajontakaaviossa (kuvio 1) näytesarjojen tulosten havaintoparit asettuivat lähelle kuvaajan suoraa, eli Thrombotrack™ Solon ja Sysmex CS2100i:n tuloksilla on vahva yhteys, vaikka osa havaintopareista poikkeaaakin käyrältä. Myös tulosten välinen korrelaatio 0,9579 oli hyvä, joten se tukee myös tulosten positiivista yhteyttä. (Nummenmaa ym. 2014, 212, 215.) Kuitenkin näytesarjan analysoinnissa (taulukko 1) puolet tuloksista olivat sallitun ± 15 % sisällä ja puolet taas eivät. Laitteiden näytesarjojen keskiarvojen prosentuaalinen ero oli +16,3 %, joten 15 % raja ylittyi myös sen osalta.

Toistettavuuden mittauksissa (taulukko 3) näytteet pysyivät sallituissa rajoissa paremmin kuin näytesarjan analysoinnissa. Näyttenumero 5:n tulokset olivat edelleen huomattavasti korkeammat kuin vertailulaitteella saadut tulokset (+23,1–35,4 %), joten näytteen korkea arvo ei todennäköisesti johtunut mittaajasta. Muiden toistettavuuteen valittujen näytteiden tulokset olivat sallituissa rajoissa. Näytteiden 1, 6, 7 ja 10 CV- %:t olivat hyvät (1,5–6,9 %), mutta näytteellä 5 CV- % oli hyvin korkea (33,8 %). Toistettavuusmittauksissa (taulukko 3) kaikkien näytteiden tulokset, paitsi näyttenumero 10:n yksi toistettavuustulos, olivat matalampia kuin näytesarjan analysoinnissa saadut tulokset Thrombotrack™ Sololla. Yhden toistettavuustuloksen korkeutta ei nähty kuitenkaan mitenkään merkitseväenä, koska kaikki muut tulokset olivat madaltuneet Thrombotrack™ Solon näytesarjan tuloksista. Näyttenumero 6:n tulos (taulukko 1) oli yli 15 % suurempi kuin vertailulaitteella saatu tulos.

Toistettavuustesteissä (taulukko 3) sen tulokset kuitenkin laskivat ja tulosten erot vertailulaitteen tuloksiin olivat alle 15 %.

Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen analysoinnit suoritetaan manuaalisesti pipetoiden, joten potentiaalisia virhelähteitä ovat väärä reagenssi- ja näytemäärä. Pipetoidessa oltiin huolellisia, mutta inhimillisen virheen mahdollisuutta ei suljeta pois. Myös reagenssin inkubaatioaikaa pitää seurata tarkasti ja suunnitella työ niin, että reagenssit eivät inkuboidu kuin vaaditun 5 minuuttia. Esimerkiksi pitkiä sarjoja analysoidessa osa reagensseista saattaa joutua inkuboitumaan pidempään, jos kaikki viisi inkubaatiokaivoa ovat yhtä aikaa käytössä ja jos tutkittavilla näytteillä hyytymisaika on pitkä, esimerkiksi 2 minuuttia.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli verrata Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen tuloksia IS-LAB:n Sysmex CS2100i – hyytymisanalysaattorilla analysoituihin tuloksiin. Tavoitteena oli selvittää, soveltuuko Thrombotrack™ Solo käyttötarkoitukseensa eli opetuskäyttöön sekä varmistaa luotettavat INR-tulokset myös koulun harjoitustunneilla. Tämän opinnäytetyön tutkimuskysymys oli: Miten Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen INR-tulokset vastaavat ISLAB:n laitteella saatuihin tuloksiin?

Pitkien sarjojen analysointi yksikanavaisella laitteella on aikaa vievää, koska reagenssi ja näyte pitää pipetoida käsin sekä siksi, että laite mittaa hyytymisajan reaaliajassa. Thrombotrack™ Solo soveltuu pienen näytemäärän analysointiin. Tutkimuksessa saatujen tulosten perusteella voidaan todeta, että Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen toistettavuus on riittävän hyvä, kun mitataan normaaleja INR-pitoisuuksia ja sarjoissa käytetään kontrolleja. Laite soveltuu koulun opetuskäyttöön, koska koululla tutkitaan näytteitä, joiden INR-pitoisuudet ovat normaaleja. Näytemäärän pienen koon vuoksi tutkimuksen luotettavuutta ei pystytä täysin todentamaan, eikä tuloksia voida yleistää (Kananen 2008, 10; Kankkunen ja Vehviläinen-Julkunen 2013, 55).

Tämä opinnäytetyö syvensi osaamistani veren hyytymisjärjestelmästä, jonka opiskelu on ollut tähän asti pelkkää pintaraapaisua. Veren hyytymisjärjestelmän laajempi ymmärtäminen toi myös lisää mielekkyyttä hyytymistutkimusten analysoinnin opiskelussa. Menetelmien validoinnin avulla laboratorio työn laadun hallitseminen kehittyi ja kehityin opinnäytetyöni aikana myös analytiikassa, kun validoin Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen ja pääsin analysoimaan näytteet manuaalisesti. Vaikka suuremmissa kliinisissä laboratorioissa työskennellään isojen analysaattoreiden parissa, mielestäni on kuitenkin tärkeää, että näytteen analysointia pääsee tekemään myös manuaalisesti. Silloin ymmärtää paremmin, mistä asioista analyysi koostuu ja analysointi ei ole pelkkää suorittamista.

Halusin, että opinnäytetyöni aiheesta olisi hyötyä tuleville opiskelijoille ja mielestäni onnistuin henkilökohtaisessa tavoitteessani, koska validoinnin jälkeen Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytikko-opiskelijat voivat käyttää laitetta harjoitustunneillaan. Bioanalytikko-opiskelijat pystyvät kehittämään ammatillisuuttaan, kun he pääsevät tutustumaan analyysilaitteisiin jo koulun harjoitustunneilla. Toivon myös, että varsinaisesta opinnäytetyöstäni on hyötyä tuleville opiskelijoille, jotka tekevät oman lopputyönsä samankaltaisesta aiheesta. Tekemäni validointiraportti jää koululle, jotta tiedetään milloin se on laadittu, kuka sen on suorittanut ja onko menetelmä luotettava. Laitteelle on jo

aiemmin tehty käyttöohje, joten suoritettu validointi ja laitteen käyttöohje tukevat toisiaan. Savonia-ammattikorkeakoululla on kaksi Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitetta, joista toinen validoitiin tätä opinnäytetyötä varten. Tämän jälkeen laitteiden tulostasoa voitaisiin vertailla ja varmistua siitä, että molemmat laitteet antavat keskenään yhteneväisiä tuloksia.

Opinnäytetyössä aikataulutuksen nousi hyvin keskeiseen rooliin. Oman opinnäytetyöni aiheen sain jo hyvissä ajoin, mutta syventyminen työhön tapahtui vasta viimeisen puolen vuoden aikana. Aikataulu piti kuitenkin suhteellisen hyvin ja työ valmistui ajallaan. Prosessina opinnäytetyö on pitkä ja vaativa, työ muokkautuu paljon matkan varrella ja lopulta se päivä koittaa, kun työ on valmis. Opinnäytetyön tekeminen vaatii pitkäjänteisyyttä ja paineen sietokykyä. Tämä työ edisti oppimistani monin eri tavoin ja pitkäjänteisyyttä tarvittiin koko prosessin ajan ja onneksi sitä riitti ihan näille loppumetreille asti.

LÄHTEET

ASMUNDELA, Heidi, KARJALAINEN, Tuula, WIKSTRÖM, Johanna ja VUORMA, Sirkku 2011. Liite 1. Potilasohje. Ohje varfariinia käyttävälle potilaalle. Julkaisussa: PUHAKKA, Jaana 2011. Antikoagulaatiohoidon käsikirja. Ohjeistus varfariinihoidon toteutuksesta. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. Tampere: Juvenes Print.

AXIS-SHIELD POC AS 2009. Thrombotrack™ Solo Instruction Manual.

ESKELINEN, Seija 2012. Senkka ja 100 muuta tutkimusta. Tromboplastiiniaika (P-INR). Duodecim. Terveyskirjasto. [verkkajulkaisu]. [viitattu 2015-05-07]. Saatavissa: http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03040&p_teos=snk&p_osio=&p_selaus=9078

FINAS 2016. FINNISH ACCREDITATION SERVICE. [viitattu: 2016-10-31]. Saatavissa: <https://www.finas.fi/Tietoa/Sivut/Tietoa-FINASista.aspx>

FRITSMA, George A. 2012a. Monitoring Antithrombotic Therapies. Julkaisussa: RODAK, Bernadette F., FRITSMA, George A. ja KEOHANE, Elaine M 2012. Hematology: clinical principles and applications. 4. Painos. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

FRITSMA, George A. 2012b. Quality Assurance in Hematology and Hemostasis Testing. Julkaisussa: RODAK, Bernadette F., FRITSMA, George A. ja KEOHANE, Elaine M 2012. Hematology: clinical principles and applications. 4. painos. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

FRITSMA, Margaret G. ja FRITSMA, George A. 2012. Normal Hemostasis and Coagulation. Julkaisussa: RODAK, Bernadette F., FRITSMA, George A. ja KEOHANE, Elaine M 2012. Hematology: clinical principles and applications. 4. painos. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

HEIKKILÄ, Tarja 2014. Tilastollinen tutkimus. 9. uudistettu painos. Helsinki: Edita Publishing Oy.

HILTUNEN, Erkki, LINKO, Linnéa, HEMMINKI, Sari, HÄGG, Margareta, JÄRVENPÄÄ, Eila, SAARINEN, Pertti, SIMONEN, Seppo ja KÄRHÄ, PETRI 2011. MITTATEKNIIKAN KESKUS. Laadukkaan mittaamisen perusteet. Metrologian neuvottelukunta. Espoo: Mittatekniikan keskus.

HUSLAB 2016a. Tromboplastiiniaika, INR-tulostus, plasmasta. [verkkajulkaisu]. [viitattu 2016-10-11]. Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/4520.html>

HUSLAB 2016b. Tromboplastiiniaika, plasmasta. [verkkajulkaisu]. [viitattu 2016-10-25]. Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/1731.html>

HÄNNINEN, Hanna, RUISMÄKI, Mia, SEIKOLA, Aila ja SLÖÖR, Sari 2012. Laboratoriotyön perusteet. 9. uudistettu painos. Helsinki: Edita Publishing Oy.

ISLAB 2015a. ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ. P-Tromboplas-tiiniaika, P-TT. [verkkajulkaisu]. [viitattu 2016-10-05]. Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islabohje/labohje.csp?indeksi=4143>

ISLAB 2015b. ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ. P-Tromboplas-tiiniaika, INR-tulos. [verkkajulkaisu]. [viitattu 2016-04-12]. Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islabohje/labohje.csp?indeksi=2783>

JAARINEN, Soili ja NIIRANEN, Jukka 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5. uudistettu painos. Hel-sinki: Edita Prima Oy.

JAVELA, Kaija 2015. Hemostaasitutkimusten preanalytiikka. Julkaisussa: Moodi 1/2015. Preanaly-tiikka. Labquality Oy. Lahti: Esa Print.

JOUTSI-KORHONEN, Lotta 2010. Preanalytiikka luo perustan tutkimusten luotettavuudelle. Julkai-sussa: Moodi 4/2010. Labquality Oy. Helsinki: Yliopistopaino.

JOUTSI-KORHONEN, Lotta 2015. Hyytymistutkimukset. Julkaisussa: PORKKA, Kimmo, LASSILA, Riitta, REMES, Kari ja SAVOLAINEN Eeva-Riitta 2015. Veritaudit. Duodecim. 4. painos. Riika: Livonia Print.

JOUTSI-KORHONEN, Lotta ja KOSKI, Tomi 2010. Hemostaasin tutkimukset. Julkaisussa: NIEMELÄ, Onni ja PULKKI, Kari 2010. Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. painos. Hel-sinki: Kandidaattikustannus Oy.

KANANEN, Jorma 2008. Kvantti. Kvantitatiivinen tutkimus alusta loppuun. Jyväskylän ammattikor-keakoulun julkaisuja 89. Jyväskylän ammattikorkeakoulu. Jyväskylä: Jyväskylän yliopistopaino.

KANANEN, Jorma 2011. Kvantti. Kvantitatiivisen opinnäytetyön kirjoittamisen käytännön opas. Jy-väskylän ammattikorkeakoulun julkaisuja 118. Jyväskylän ammattikorkeakoulu. Jyväskylä: Jyväsky-län yliopistopaino.

KANKKUNEN, Päivi ja VEHVILÄINEN-JULKUNEN, Katri 2013. Tutkimus hoitotieteessä. 3. painos. Hel-sinki: Sanoma Pro Oy.

KATAJAMÄKI, Arto 2014. Katsaus laboratorion sisäisen laadunohjauksen hyviin käytäntöihin. Julkai-sussa: Moodi 6/2014. Kliinisen kemian teemanumero. Labquality Oy. Lahti: Esa Print.

KOIVUNEN, Teija 2016-10-04. KUVA 1. Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitte ja automaattipipetti. [digikuva].

KÄYPÄ HOITO - SUOSITUS 2015. Eteisvärinä. [verkkajulkaisu]. [viitattu 2016-02-03]. Saatavissa: <http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suosituks/suositus?id=hoi50036>

LABQUALITY OY. [viitattu 2016-09-28]. Saatavissa: <http://www.labquality.fi>

LAITINEN, Matti 2004. Analytiikan ja vierianalytiikan virhelähteet. Julkaisussa: PENTTILÄ, Iikka 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY.

LASSILA, Riitta 2012. 11.40 Hemostaasi ja tromboosi. Julkaisussa: MÄKINEN, Markus, CARPÉN, Olli, KOSMA, Veli-Matti, LEHTO, Veli-Pekka, PAAVONEN, Timo ja STENBÄCK, Frej 2012. Patologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

LASSILA, Riitta 2015. Veren hyytyminen ja fibrinolyysi. Julkaisussa: PORKKA, Kimmo, LASSILA, Riitta, REMES, Kari ja SAVOLAINEN Eeva-Riitta 2015. Veritaudit. 4. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

LINKO, Solveig 2004. Kontrollien merkityksestä käytännön laboratoriotyössä. Julkaisussa: Moodi 2/2004. Ajankohtaisia haasteita ja saavutuksia. Labquality Oy. Lahti: Esa Print.

LINKO, Solveig, SAVOLAINEN, Eija-Riitta, ÅKERMAN, Kari, NISSINEN, Antti, ILANNE-PARIKKA, Pirjo, JOUTSI-KORHONEN, Lotta, JYLHÄ, Anneli, LASSILA, Riitta, LINKO-PARVINEN, Anna-Maria, LINKO, Linnéa, MENESES, Ennamaria, MUUKKONEN, Leila, NOKELAINEN, Satu, PORKKALA-SARATAHO, Elina, PUHAKAINEN, Eino, SIITONEN, Anja, SUNI, Jukka ja VUENTO, Risto 2009. Julkaisussa: MOODI 6/2009. Vieritestaus terveydenhuollossa. Labquality Oy. Helsinki: Yliopistopaino.

MAHLAMÄKI, Eila, K 2004. Hemostaasi. Julkaisussa: PENTTILÄ, Iikka 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY.

MATIKAINEN, Anna-Mari, MIETTINEN, Marja ja WASSTRÖM, Kalle 2016. Näytteenottajan käsikirja. 2. uudistettu painos. Helsinki: Edita Publishing Oy.

MCGLASSON, David L., 2012. Coagulation Instrumentation. Julkaisussa: RODAK, Bernadette F., FRITSMA, George A. ja KEOHANE, Elaine M 2012. Hematology: clinical principles and applications. 4. painos. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

NAYAK, Ramadas, RAI, Sharada ja GUPTA, Astha 2012. Essentials in Hematology & Clinical Pathology. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.

NIENSTEDT, Walter, HÄNNINEN, Osmo, ARSTILA, Antti ja BJÖRKQVIST, Stig-Eyrik 2009. Ihmisen fysiologia ja anatomia. 18. uudistettu painos. Helsinki: WSOY.

NUMMENMAA, Lauri, HOLOPAINEN, Martti ja PULKKINEN, Pekka 2014. Tilastollisten menetelmien perusteet. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

PENTTILÄ, Iikka 2004. Tutkimustulosten laatu ja laadunvarmistus. Julkaisussa: PENTTILÄ, Iikka 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY

POHJA-NYLANDER, Paula ja JOUTSI-KORHONEN, Lotta 2013. HUSLAB. Näytteenotto hyytymistutkimuksia varten HUS-piirin ulkopuolisille laboratorioille. [verkkojulkaisu]. [viitattu 2016-02-09]. Saatavissa: http://huslab.fi/preanalytiikan_kasikirja/verinaytteenotto/naytteenotto_hyytymistutkimuksia_varten_husulko.pdf

SAARANEN, Pirjo, KOLTTOLA, Eliisa ja PÖSÖ, Jarmo 2016. Liike-elämän matematiikka. Helsinki: Edita Publishing Oy.

SINERVO, Tuija 2014. Eri standardien vaatimusten sovittaminen yhteen laadunhallintajärjestelmään vaatii asiantuntemusta. Julkaisussa: Moodi 6/2014. Kliinisen kemian teemanumero. Labquality Oy. Lahti: Esa Print.

SUOMEN BIOANALYYTIKKOLIITTO RY 2011. Bioanalytiikan, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. [verkkojulkaisu]. [viitattu 2016-08-01]. Saatavissa: <http://www.bioanalyttikko-liitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+%281%29.pdf>

SUOMEN BIOANALYYTIKKOLIITTO RY 2016. Bioanalytiikan ammatti. [viitattu 2016-08-01]. Saatavissa: http://www.bioanalyttikkoliitto.fi/bioanalytiikan_ammatti/

SUOMEN STANDARDISOIMISLIITTO SFS RY 2007. Tilastollinen laatusanasto. Helsinki: SFS.

SUOMEN STANDARDISOIMISLIITTO SFS RY 2013. Mittausepävarmuus. Helsinki: SFS.

SUOMEN STANDARDISOIMISLIITTO SFS RY. Standardi tutuksi. [viitattu 2016-10-12]. Saatavissa: http://www.sfs.fi/julkaisut_ja_palvelut/standardi_tutuksi

TAPOLA, Hilikka 2004. Näytteiden käsittely ja lähettäminen sekä kuljetus. Julkaisussa: PENTTILÄ, Iikka 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY.

TERHO, Pauliina ja SAARINEN-VALTA, Mari 2015. INR- ja TT-NT-tasoverailu Fimlab laboratoriot Oy:n Jyväskylän ja Tampereen toimipisteiden välillä. [opinnäytetyö]. [viitattu 2016-10-10]. Saatavissa: https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/90459/Saarinen-Valta_Mari_Terho_Pauliina.pdf?sequence=2

THROMBOTEST™. Correlation table for manual method.

THROMBOTEST™ – reagenssipakkauksen ohje.

TUOKKO, Seija, RAUTAJOKI, Anja ja LEHTO, Liisa 2008. Kliiniset laboratorionäytteet –opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

TUTKIMUSEETTINEN NEUVOTTELUKUNTA 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. [verkkajulkaisu]. [viitattu 2016-09-19]. Saatavissa: http://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf

ÅKERMAN, Kari 2010. Näytteiden esikäsittelylaitteet. Julkaisussa: NIEMELÄ, Onni ja PULKKI, Kari 2010. Laboratoriolääketiede - kliininen kemia ja hematologia. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

ÅKERMAN, Kari, KULTTI, Johanna ja ANTTILA, Petra 2011. Tilastotiede apuna laboratorion sisäisessä laadunohjauksessa. Julkaisussa: Moodi 5/2011. Labquality Oy. Lahti: Esa Print.

LIITE 1: VALIDOINTISUUNNITELMA

Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen validointisuunnitelma

28.4.2016

Validoitavana laitteena toimii Thrombotrack™ Solo, joka on yksikanavainen ja puoliautomaattinen hyytymislaitte, jolla tehtävät analysoinnit suoritetaan manuaalisesti pipetoiden (Axis-Shield 2009, 2). Vertailulaite on Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) hematologian laboratorion Sysmex CS2100i – hyytymisanalysointilaitte ja tarvittavat näytteet (N=10) saadaan heidän laboratorionsa. Työhön soveltuu suppeampi validointi, koska laite tulee opetuskäyttöön. Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen validointi suoritetaan 28.4.2016 Savonia-ammattikorkeakoulun hematologian luokkatiloissa.

Näytemuotona on plasma ja tutkimusnimike on P-INR. Näyteputki on 3,2 % sitraattiputki, ISLAB:n laboratoriohoitajat ovat ottaneet ja käsitelleet näytteet valmiiksi. Näytteet (N=10) analysoidaan manuaalisesti ensin yhtenä sarjana, jonka jälkeen valitaan 5 eritasoista näytettä, joilla testataan laitteen toistettavuutta. Jokainen toistettavuuden mittaamiseen valittu näyte analysoidaan 5 kertaa.

Lähteestä riippuen P-INR-näytteen säilyvyys on 1-2 vuorokautta huoneenlämmössä sentrifugoimatta tai sentrifugoituna (ISLAB 2015b; Huslab 2016a). Jotta validointi onnistuisi halutulla tavalla ja tulokset olisivat luotettavia, näytteiden analysointi suoritetaan näytteenottopäivänä.

Validoinnissa saatuja tuloksia tulkitaan tilastollisten menetelmien avulla. Näytesarjan tuloksia tulkitaan hajontakaavion ja korrelaation avulla. Toistettavuustulosten tulkinnan apuna käytetään keskiarvoa, keskihajontaa ja CV- %:a. Kaikkia Thrombotrack™ Sololla saatuja tuloksia verrataan vertailulaitteen tuloksiin laskemalla tulosten väliset eroprosentit. Tulokset taulukoidaan, jotta niiden tulkinta olisi helpompaa.

LÄHTEET

AXIS-SHIELD POC AS 2009. Thrombotrack™ Solo Instruction Manual.

HUSLAB 2016a. Tromboplastiiniaika, INR-tulostus, plasmasta. [verkkajulkaisu]. [viitattu 2016-10-11]. Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/4520.html>

ISLAB 2015b. ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ. P-Tromboplastiiniaika, INR-tulos. [verkkajulkaisu]. [viitattu: 2016-04-12]. Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islabohje/la-bohje.csp?indeksi=2783>

LIITE 2: VALIDOINTIRAPORTTI

Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen validointiraportti

Tekijä: Teija Koivunen 23.10.2016

Validoitavana laitteena toimi Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitte, jonka validointi suoritettiin 28.4.2016 Savonia-ammattikorkeakoulun hematologian luokkatiloissa. Tarvittavat näytteet (N=10) saatiin Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) kliinisen hematologian laboratorion ja vertailulaitteena toimi ISLAB:n Sysmex CS2100i – hyytymisanalysaattori. Näytteiden analysointi suoritettiin Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen käyttöohjeiden mukaisesti. Toistettavuutta on tarkasteltu keskiarvon, keskihajonnan ja CV- %:n avulla. Kaikkia tuloksia arvioitiin myös niiden prosenttimääraisten erojen eli tulostasovertailun perusteella ja tavoiteprosenttina käytettiin ± 15 %.

Tämän validoinnin tarkoituksena oli verrata Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen tuloksia ISLAB:n Sysmex CS2100i – hyytymisanalysaattorin tuloksiin. Tavoitteena oli selvittää, soveltuuko laite opetuskäyttöön sekä varmistaa luotettavat INR-tulokset myös koulun harjoitustunneilla.

Thrombotrack™ Solo on yksikanavainen ja puoliautomaattinen hyytymislaitte ja sillä voidaan määrittää hyytymisaktiivisuus ja INR-arvo kokoverestä, plasmasta tai kapillaariverestä. Hyytymän muodostuminen aiheuttaa näytteessä viskositeetin muutoksen, joka saa kyvetissä olevan metallikuulan joko pysähtymään (vahva hyytymä) tai liikkumaan kohti kyvetin keskiosaa (heikko hyytymä). Molemmissa tapauksissa laitteen sensori havaitsee muutoksen ja lopettaa mittauksen. (Axis-Shield 2009, 2, 9.)

Laitteen mittausalue on 3,9–300 s ja suositeltu mittausalue INR-tulostuksena 1-8. Analysoinnissa käytettiin Thrombotest™ -reagenssia, jonka mukana tulee reagenssin kalibrointitiedot (korrelaatiotaulukko), jossa on merkittynä käytettävän reagenssierän hyytymisajat sekunteina ja niitä vastaavat INR-arvot. Thrombotest™ -reagenssi liuotetaan kalsiumkloridiin ja liuos käytetään huoneenlämpöisenä. (Thrombotest™ -reagenssi; Thrombotest™; Axis-Shield 2009, 7, 18.) Alla olevassa taulukossa on kirjattuna reagenssin säilyvyys ja säilytys.

Thrombotest™ -reagenssin säilyvyys ja säilytys (Thrombotest™ -reagenssi).	
Avaamattomat pullot	≤ 20 °C, 2 vuotta
Liuotettu reagenssi	37 °C, 1 tunti
	15–25 °C, 10 tuntia
	2–8 °C, 3 vrk
	≤ 20 °C, 2kk

P-INR-tutkimusta varten näyte otetaan 3,2 % sitraattiputkeen ja putkea käännellään 4-5 kertaa. Näyte säilyy, riippuen lähteestä, 1-2 vrk huoneenlämmössä sentrifugoituna tai sentrifugoimattomana (ISLAB 2015b;

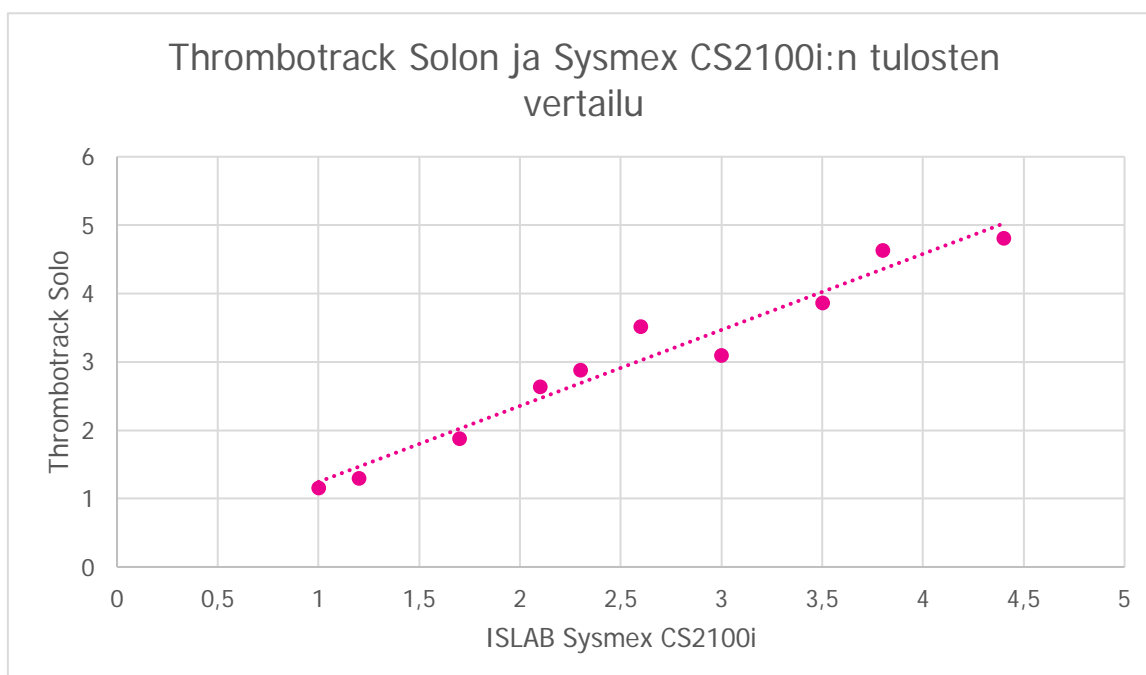
Huslab 2016a). Näyte sentrifugoidaan jokaisen laboratorion työohjeiden mukaisesti. Näytemuotona P-INR-tutkimuksessa toimii plasma.

Näytteet (N=10) analysoitiin manuaalisesti ensin yhtenä sarjana. Kolme näytettä analysoitiin uudelleen (5, 8 ja 9), koska niiden tulokset (suluissa olevat INR-tulostukset, näytesarjan tulokset – taulukko) olivat niin korkeat verrattuna vertailulaitteen tuloksiin. Tulosten tulkinnassa käytettiin näitä uusia tuloksia, koska näiden näytteiden tulokset, varsinkin näytteen 9, laskivat uudelleen analysoinnin jälkeen.

Näytesarjan tuloksista havaittiin (näytesarjan tulokset – taulukko), että Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteella saadut tulokset ovat korkeampia kuin Sysmex CS2100i – hyytymisanalysaattorilla saadut tulokset. Puolet näytesarjan tuloksista olivat yli 15 % korkeampia kuin vertailulaitteella saadut tulokset ja puolet alittivat tämän prosentuaalisen rajan. Näytesarjoille laskettiin myös keskiarvot ja Thrombotrack™ Solon näytesarjan tulosten keskiarvo oli 16,3 % korkeampi kuin vertailulaitteella saatu keskiarvo.

NÄYTESARJAN TULOKSET			
Näytenu- mero	Sysmex CS2100i (INR-tulostus)	Thrombotrack™ Solo (INR-tulostus)	Tulosten % -ero
1	2,1	2,64	+25,7
2	1,2	1,3	+8,3
3	3,5	3,86	+10,3
4	1,7	1,88	+10,6
5	2,6	3,52 (3,65)	+35,4
6	1,0	1,16	+16
7	3,0	3,1	+3,3
8	3,8	4,63 (4,83)	+21,8
9	2,3	2,88 (3,35)	+25,2
10	4,4	4,81	+9,3
Keskiarvo	2,56	2,978	+16,3

Thrombotrack™ Solon ja Sysmex CS2100i:n väliseksi korrelaatioksi saatiin 0,9579, joka kertoo, että tulosten välillä on vahva positiivinen yhteys. Hajontakaavio laitteiden välisestä vertailusta kuvastaa näiden laitteiden välistä riippuvuutta. Kaavion suora on positiivisesti nouseva ja vaikka osa havaintopareista poikkeekin käytännössä, ovat kaikki havaintoparit asettuneet lähelle suoraa.



Toistettavuuden testaamista varten valittiin 5 eritasoista näytettä (1, 5, 6, 7 ja 10), joista jokainen analysoidiin 5 kertaa. Toistettavuustuloksissa (toistettavuustulokset ja laitevertailussa saadut prosentuaaliset erot – taulukko) näytteiden arvot olivat yleisesti ottaen laskeneet verrattuna näytesarjan tuloksiin Thrombotrack™ Sololla. Näyttenumero 5:n CV- % oli yli 33, mikä on hyvin korkea. Muiden näytteiden CV- %:t asettuivat välille 1,5–6,9 %. Näyttenumero 5:n toistettavuustulokset ylittivät ± 15 % tavoiteprosentin reilusti. Muiden näytteiden (1, 6, 7 ja 10) toistettavuustulokset olivat sallituissa rajoissa.

Toistettavuustulokset ja laitevertailussa saadut prosentuaaliset erot		
Näyte 1	INR (ISLAB 2,1)	%-ero
Tulos 1	2,39	+13,8
Tulos 2	2,34	+11,4
Tulos 3	2,17	+3,3
Tulos 4	2,32	+10,5
Tulos 5	2,31	+10
Keskiarvo	2,306	+9,8
Keskihajonta	0,08204	
CV- %	3,55767	
Näyte 5	INR (ISLAB 2,6)	%-ero
Tulos 1	3,52	+35,4
Tulos 2	3,28	+26,2
Tulos 3	3,3	+27
Tulos 4	3,27	+25,8
Tulos 5	3,2	+23,1

Keskiarvo	3,314	+27,5
Keskihajonta	1,121161	
CV- %	33,83105	
Näyte 6	INR (ISLAB 1,0)	%-ero
Tulos 1	1,05	+5
Tulos 2	1,09	+9
Tulos 3	1,09	+9
Tulos 4	1,1	+10
Tulos 5	1,05	+5
Keskiarvo	1,076	+7,6
Keskihajonta	0,02408	
CV- %	2,2379	
Näyte 7	INR (ISLAB 3,0)	%-ero
Tulos 1	2,74	-8,7
Tulos 2	2,71	-9,7
Tulos 3	2,76	-8
Tulos 4	2,66	-11,3
Tulos 5	2,68	-10,7
Keskiarvo	2,71	-9,7
Keskihajonta	0,04123	
CV- %	1,5214	
Näyte 10	INR (ISLAB 4,4)	%-ero
Tulos 1	4,44	+0,91
Tulos 2	4,13	-6,1
Tulos 3	4,88	+10,9
Tulos 4	4,55	+3,4
Tulos 5	4,16	-5,5
Keskiarvo	4,432	+0,73
Keskihajonta	0,30817	
CV- %	6,9532	

Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteella tehtävät analysoinnit suoritetaan manuaalisesti pipetoiden, joten silloin potentiaalisia virhelähteitä ovat väärä reagenssi- tai näytemäärä. Reagenssin inkubaatioajaksi annetaan käyttöohjeissa 5 minuuttia, mutta käytännössä tämä aika voi ylittyä, jos kaikki laitteen viisi inkubaatioaikavaa otetaan käyttöön yhtä aikaa ja näytteiden hyytymisaika on pitkä, esimerkiksi kaksi minuuttia.

Tulosten perusteella voidaan sanoa, että Thrombotrack™ Solo – hyytymislaitteen toistettavuus on riittävän hyvä, kun mitataan normaaleja INR-pitoisuuksia ja sarjoissa käytetään kontrolleja. Laitte soveltuu silloin koulun opetuskäyttöön, koska koululla tutkitaan näytteitä, joiden INR-pitoisuudet ovat normaaleja.

LÄHTEET

AXIS-SHIELD POC AS 2009. Thrombotrack™ Solo Instruction Manual.

HUSLAB 2016a. Tromboplastiiniaika, INR-tulostus, plasmasta. [verkkajulkaisu]. [viitattu 2016-10-11]. Saatavissa: <http://huslab.fi/ohjekirja/4520.html>

ISLAB 2015b. ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ. P-Tromboplastiiniaika, INR-tulos. [verkkajulkaisu]. [viitattu: 2016-04-12]. Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/is-labohje/labohje.csp?indeksi=2783>

THROMBOTEST™. Correlation table for manual method.

THROMBOTEST™ -reagenssipakkauksen ohje.