

KARELIA-AMMATTIKORKEAKOULU
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Sari Leskinen

NÄYTEPUTKEN VAJAATÄYTÖN VAIKUTUS ALANIINIAMIINO-
TRANSFERAASIN JA ASPARTAATTIAMINOTRANSFERAASIN PI-
TOISUUTEEN

Opinnäytetyö
Huhtikuu 2013



OPINNÄYTETYÖ
Huhtikuu 2013
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tikkarinne 9
80200 JOENSUU
p. 050 405 4816

Tekijä
Sari Leskinen

Nimeke
Näyteputken vajaatäytön vaikutus alaniiniaminotransferaasin ja aspartaattiaminotransferaasin pitoisuuteen

Toimeksiantaja
Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulu, bioanalytiikan koulutusohjelma

Tiivistelmä

Tässä tutkimuksessa selvitettiin, onko verinäyteputken vajaatäytöllä vaikutusta alaniiniaminotransferaasin (ALAT) ja aspartaattiaminotransferaasin (ASAT) pitoisuuteen. Vakuumisysteemiä käytettäessä näyteputki täyttyy itsestään tiettyyn näytemäärään asti. Joskus erilaisista verinäytteenottoon liittyvistä seikoista johtuen näyteputki ei täyty kokonaan (putkessa olevaan merkki-viivaan asti). Tällöin näyteputkeen jää alipainetta, joka aiheuttaa punasolujen hajoamista eli hemolyysia. Erityisesti ASAT:n määrittäminen kärsii hemolyysista, sillä punasoluista vapautunut ASAT nostaa virheellisesti analyysituloksia.

Tutkimuksen menetelmä oli kvantitatiivinen. Aineisto kerättiin 13.-15.11.2012 Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun (nykyisin Karelia-ammattikorkeakoulu) bioanalytiikan koulutusohjelman laboratoriossa. Oskoko oli 14. Vapaaehtoisilta henkilöiltä otettiin kaksi verinäyteputkea, joista toisen annettiin täyttyä normaalisti ja toinen jätettiin vajaaksi. Jokaisesta verinäyteputkesta analysoitiin ALAT ja ASAT. Lisäksi näytteiden plasman hemolysoitumisaste arvioitiin silmämääräisesti.

Näyteputkien vajaaksijättämisellä ei ollut ALAT:n ja ASAT:n pitoisuuksiin merkittävää vaikutusta. Yli puolet vajaaksijätetyistä näytteistä havaittiin vertailunäytettä enemmän hemolysoituneiksi.

Jatkotutkimusaihe on näyteputkien vajaatäytön vaikutus muiden analyyttien pitoisuuksiin ALAT:n ja ASAT:n lisäksi.

Kieli
suomi

Sivuja 24
Liitteet 5
Liitesivumäärä 5

Asiasanat
alaniiniaminotransferaasi (ALAT), aspartaattiaminotransferaasi (ASAT), preanalytiikka, verinäytteenotto



THESIS
April 2013
Degree Programme in Biomedical Science
Tikkariinne 9
FI 80200 JOENSUU
FINLAND
+358 50 405 4816

Author

Sari Leskinen

Title

The Effect of Under-filled Blood Collection Tubes on Analysed Concentrations of Alanine Aminotransferase and Aspartate Aminotransferase

Commissioned by

North Karelia University of Applied Sciences Degree Programme in Biomedical Science

Abstract

The purpose of this study was to find out whether under-filling of blood collection tubes has an effect on the analysed concentration of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). Vacuum blood collection tubes aspirate a specific amount of blood. Sometimes during blood drawing the test tube does not take in enough blood. This leaves pressure in the test tube which causes erythrocytes to rupture (haemolysis). Especially the analysis of AST, suffers from in vitro haemolysis due to intracellular AST released to plasma.

This quantitative study was carried out in the laboratory of the Degree Programme in Biomedical Science at North Karelia University of Applied Sciences between November 13 and 15, 2012. The sample size was 14. Two blood sample tubes were collected from each voluntary person. The first tube was filled normally while the other was purposefully left only partially full. The blood samples were analysed for ALT and AST. Plasma haemolysis after centrifugation was monitored visually.

Partial filling of the test tubes did not have a significant effect on ALT and AST concentrations. Over half of the partially filled test tubes were more haemolysed compared to control group.

Further research could be carried out by studying the effect of under-filled blood collection tubes on concentrations of analytes other than ALT and AST.

Language

Finnish

Pages 24

Appendices 5

Pages of Appendices 5

Keywords

alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), pre-analytics, blood specimen collection

Sisältö

Tiivistelmä

Abstract

1	Johdanto	5
2	Entsyymianalyyseihiin vaikuttavat preanalyttiset tekijät	5
2.1	Preanalytiikka	5
2.2	Hemolyysi	6
3	Aminotransferaasit ja entsyymianalyysi	9
3.1	Entsyymianalyysin periaatteita	9
3.2	Alaniiniaminotransferaasi (ALAT)	9
3.3	Aspartaattiaminotransferaasi (ASAT)	11
4	Tutkimuksen tarkoitus	12
5	Tutkimuksen toteutus	13
5.1	Tutkimuksen toteutuksen aikataulu	13
5.2	Tutkimusmenetelmä	13
5.3	Esitestaus	14
5.4	Näytteiden hankkiminen	14
5.5	Näytteiden esikäsittely ja analysointi	16
5.6	Laadunvarmistus	16
6	Tutkimuksen tulokset	17
6.1	Näytteiden hemolysoitumisaste	17
6.2	Tulosten tilastollinen analysointi	18
6.3	T-testi ja p-arvot	19
7	Pohdinta ja johtopäätökset	20
7.1	Tutkimuksen luotettavuus	20
7.2	Tutkimuksen eettisyys	21
7.3	Jatkotutkimusaiheet	22
	Lähteet	23

Liitteet

Liite 1	Näytteenotto-ohje laboratorioviikkojen järjestäjille
Liite 2	Tiedonanto tutkimuksen tarkoituksesta verinäytteiden antajille
Liite 3	KoneLab -analyysituloslomake
Liite 4	T-testit
Liite 5	Reagenssien ja kontrollien jäljitettävyyssiedot

1 Johdanto

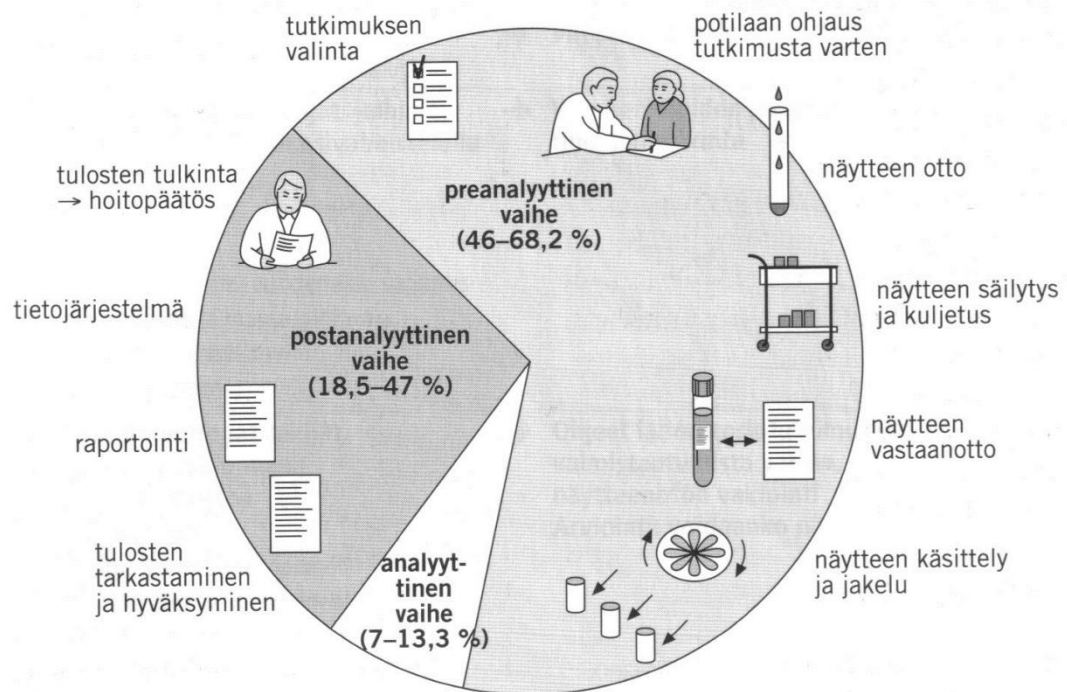
Hemolyysiä voidaan pitää tärkeänä analyysien häiriötekijänä, mikäli hemolyysi tapahtuu näytteenoton jälkeen ja mikäli sillä on vaikutusta analyysiin. Hemolyysi on yleinen verinäytteiden hylkäämisen syy sentrifugoinnin jälkeen. (Thomas 2002, 1.) Carraron, Servidion ja Plebanin (2000, 306 - 307) tutkimuksessa hylätyistä sentrifugoiduista näytteistä 60 prosenttia todettiin visuaalisesti hemolysoituneiksi. Kaikkiaan 3,3 prosenttia laboratorioon kliinis-kemiallista analyysia varten lähetetyistä näytteistä olivat hemolysoituneita. Kolme prosenttia hemolysoituneista näytteistä oli in vivo -syystä hemolysoituneita.

Lähtökohtana tämän tutkimuksen tekemiseen ovat omakohtaiset kokemukset käytännön harjoitteluista ja kesätöistä, joissa ohjaajat ja työtoverit ovat neuvoneet avaamaan korkin (mikäli tutkittava analyytti tämän sallii) hemolyysin välttämiseksi, mikäli näyteputki ei ole tullut vakuumisysteemillä täyteen. Tähän tutkimukseen valittiin tutkittaviksi analyytteiksi kaksi yleistä maksaentsyymiä, alaniiniaminotransferaasi sekä aspartaattiaminotransferaasi, jonka analysointiin hemolyysi vaikuttaa voimakkaasti (HUSLAB 2012).

2 Entsyymianalyysiin vaikuttavat preanalyytiset tekijät

2.1 Preanalytiikka

Laboratoriopalveluprosessin vaiheita ovat preanalyytin, analyytin ja postanalyytin vaihe. Preanalyyttiseen vaiheeseen kuuluvat kaikki tapahtumat ennen analysointia: tutkimuksen valinta ja suunnittelu, näytteenotto, näytteen säilytys ja kuljetus, näytteen vastaanotto laboratoriossa ja valmistaminen analyysikelpoiseksi. Näytteenoton ja näytteen käsittelyn yhteydessä tulee toimia oikein, sillä mikäli näyte ei ole halutunlainen, laboratoriopalveluprosessin muut vaiheet ovat turhia. (Laitinen, 2004, 32; Tuokko, Rautajoki, & Lehto 2008, 7) Preanalyytin vaiheen tärkeys laboratoriotutkimusprosessissa on havainnollistettu kuvassa 1.



Kuva 1. Laboratoriotutkimusprosessiin liittyvät virhetekijät ja niiden esiintymisen suhteellinen osuus kaikista virheistä (Tuokko ym. 2008, 13).

Preanalyttisen vaiheen aikana näytteessä voi tapahtua fysikaalisista, kemiallisista ja mikrobiologisista ilmiöistä johtuvia muutoksia. Eräs näistä ilmiöistä, solujen ainesosien siirtyminen soluista plasmaan, on tärkeä etenkin tämän tutkimuksen näkökulmasta. (Tuokko ym. 2008, 114.) Näytteenoton ja näytteen käsittelyn aikana voi tapahtua hemolyysiä eli punasolujen hajoamista. Punasolujen sisältämät ainesosat siirtyvät plasmaan ja voivat vääristää analyysituloksia, joko laskien tai nostaa niitä.

2.2 Hemolyysi

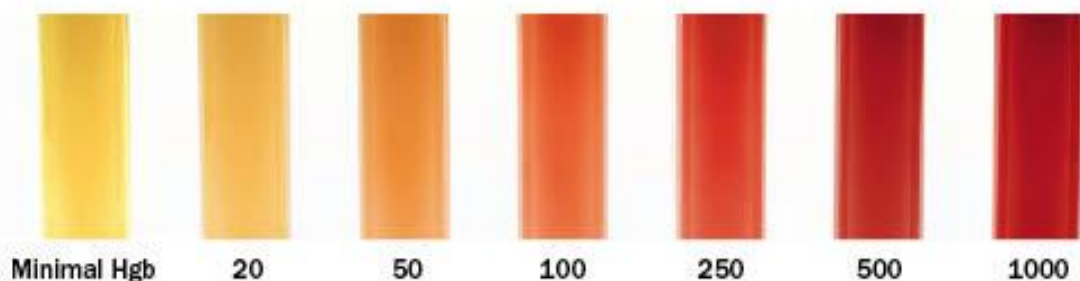
Veri on kudokseksi, joka muodostuu nestemäisestä plasmasta ja elävistä verisoluista. Näitä soluja ovat punasolut, valkosolut sekä verihiutalet. Punasolut ovat muodoltaan kiekkomaisia ja keskeltä litistyneitä, mikä tekee niiden pinta-alasta suhteessa suuremman verrattuna niiden tilavuuteen. Punasolut sisältävät hemoglobiinimolekyylejä ja muita valkuaisaineita, lähinnä entsyymejä. Hemoglobiinin osuus punasolun valkuaisaineista on noin 95 prosenttia. Hemolyysin seurauksena punasolun sisältämät aineet vapautuvat

plasmaan. Plasma itsessään koostuu 92 % vedestä ja n. 7 % proteiineista. (Bjålie, Haug, Sand, Sjaastad & Toverud 2008, 268 - 269)

In vivo -hemolyysi on elimistön sisällä tapahtuvaa punasolujen hajoamista. Vasta-aineet, erilaiset lääkkeet tai myrkyt, perinnölliset sairaudet, virheellinen entsyymituotanto tai tulehdukset voivat aiheuttaa in vivo -hemolyysiä. In vivo -hemolyysi on in vitro -hemolyysiä kliinisesti merkittävämpi löydös patologisen syntytapansa takia. On tärkeää selvittää hemolyysin syy ja erottaa in vivo - ja in vitro -hemolyysi toisistaan. (Thomas, 2002, 2.)

Näytteenoton jälkeistä in vitro- eli elimistön ulkopuolella tapahtuvaa hemolyysiä aiheuttavat useat tekijät. Näitä ovat esimerkiksi näyteputken ravistaminen, seeruminäytteiden sentrifugoiminen ennen näytteen hyytymistä, näyteputkien sisältämä yli- tai alipaine, hypotonisesta liuksesta aiheutuva veren laimeneminen ja näyteputkien virheellinen säilytys tai kuljetus. (Thomas 2002, 2.) Tässä tutkimuksessa näytteet pyritään ottamaan vakuuminäytteenottotekniikalla, sillä tällä tavoin voidaan tutkia näytteenotossa verinäyteputkeen jäävän alipaineen mahdollisesti aiheuttaman hemolyysin vaikutuksia ASAT:n ja ALAT:n pitoisuuksiin.

Hemolyysi voidaan näkyvästi havaita, kun seerumin hemoglobiinipitoisuus on yli 20 mg/dl. Hemolyysistä kertoo plasman tai seerumin punertava tai punainen väri (kuva 2). In vitro -hemolysoituneista näytteistä mitataan kohonneita kalium-, LD- ja ASAT-arvoja, alentuneita haptoglobiinipitoisuuksia, kohonneita konjugoimattoman bilirubiinin pitoisuuksia ja retikulosyytti-indeksin nousua. (Thomas 2002, 2) Islab (2012) ilmoittaa plasman hemoglobiinin viitearvoksi alle 50 mg/l.



Kuva 2. Hemoglobiinin pitoisuus seerumissa tai plasmassa (mg/dl) (Mayo Medical Laboratories 2008).

Lievällä hemolyysillä on vain pieni vaikutus useimpiin analyysihin. Vakava hemolyysi voi aiheuttaa näytteen laimenemista, mikäli punasoluissa tutkittavan analyytin pitoisuus on pienempi kuin plasmassa. Toisaalta, mikäli tilanne on päinvastainen ja analyyttia esiintyy suuremmissa pitoisuuksissa punasoluissa, hemolyysin takia kyseessä olevan analyytin pitoisuus plasmassa kasvaa. Esimerkiksi aspartaattiaminotranferaasin aktiivisuus kasvaa 2 % aina hemoglobiinipitoisuuden kasvaessa 10 mg/dl. (Burtis & Ashwood 1999, 49-50.) Lisäksi plasman hemoglobiini voi aiheuttaa ongelmia tiettyjä analysointimenetelmiä käytettäessä värinmuutoksen takia (Frank, Bermes, Bickel & Watkins 1978, 1).

Verinäytteenottotekniikka voi aiheuttaa näytteen hemolysoitumista. Suurten neulojen käytön yhteydessä verisuoneen kohdistuva imu on suurempaa ja on havaittu hemolyysiä enemmän kuin ohuita neuloja käytettäessä, jolloin veri virtaa suonesta neulan kautta putkeen hitaammin ja tasaisemmin. (Thomas 2002, 1.) Vakuuminäytteenotossa tavallisimmin käytettyjen neulojen G-arvot eli neulan ulkohalkaisijan läpimitat ovat 20-23 (Tuokko ym. 2008, 39).

Näytteenottajan tulee seurata näyteputken täyttymistä. Näyteputkien riittämätön täyttyminen voi johtua näyteputken alipaineen alenemisestä tai häviämisestä. Tällöin näyteputki ei täyty tarpeeksi suhteessa näyteputkessa olevaan antikoagulanttiin tai muuhun lisäaineeseen, mikä aiheuttaa virheellisiä analysointituloksia. Alipaineen puuttumisen syynä voi olla vanhentunut tai viallinen näyteputki. (Tuokko ym. 2008, 40-41.)

Näytteenottajia ohjeistetaan oikeaoppiseen näytteenottoon. Yksi noudatettava ohje vakuuminäytteenotossa on, että putken annetaan täytyä aina verentulon loppumiseen. Mikäli putki ei täyty merkkiviivaan asti, näytteenoton päätyttyä näytteenottajan on ”ilmattava” putki eli päästettävä näyteputkeen ilmaa aukaisemalla näyteputken korkki. Siipineulaa käytettäessä suositellaan ensimmäiseksi putkeksi ns. hukkaputkea, sillä siipineulan tyhjä letku aiheuttaa näyteputken vajaatäytön. Se voi aiheuttaa ongelmia sellaisten lisäaineiden kohdalla, jotka vaativat tiettyä lisäaineen ja veren suhdetta. (HUS-LAB 2010) Kun näyte on saatu putkeen, putkea on sekoitettava huolellisesti putken valmistajan ohjeiden mukaisesti. Sekoittaminen tapahtuu siten, että ilmakupla kulkee putken päästä toiseen. Tällä varmistetaan lisäaineen kunnollinen sekoittuminen näyttee-

seen. Näyteputken ravistaminen on yksi näytteen hemolysoitumisen aiheuttaja. (Tuokko 2008, 41.)

3 Aminotransferaasit ja entsyymianalyysi

3.1 Entsyymianalyysin periaatteita

Entsyymiaktiivisuutta on alettu kehittämistyön tuloksena tutkia ensinnäkin entsyymimääränä tai toimivuutena. Toiseksi voidaan tutkia entsyymien vapautumista kudoksista ja elimistä verenkiertoon eri sairauksien yhteydessä. Lisäksi voidaan mitata substraattien tai analyyttien määrää näytteissä. Entsyymiproteiinin määrän mittaaminen ja aktiivisuusmittaus on tarpeellista myös toimimattoman entsyymien rakenteen tutkimisessä. Entsyymireaktioissa tarvitaan yleensä spesifinen koentsyymi reaktionopeuden säätämiseksi riittäväksi sen toimintaa ajatellen. Entsyymireaktion nopeuteen vaikuttavat etenkin pH ja lämpötila. pH:n on oltava optimaalinen ja tarkka. Entsyymien toiminta vaatii useimmiten fysiologisen pH-alueen (7,1-7,6). Entsyymianalyysimenetelmien kansainvälisissä suosituksissa lämpötila on +37 °C. Muita reaktion kinetiikkaan vaikuttavia tekijöitä ovat esimerkiksi koentsyymien määrä ja reaktioseoksessa olevien aktivaattoreiden konsentraatiot. Kansainvälisissä suosituksissa ja entsyymien aktiivisuusmittausten standardoinnissa käytetään termejä preinkubaatio ja lag-faasi. Preinkubaatio on minimiaika, jossa reaktion eri komponentit liittyvät toisiinsa. Tämä aika voi vaihdella muutamasta sekunnista muutama minuuttiin. Lag-faasi on aika, jonka lineaarisen reaktion alkaminen vaatii substraatin tai näytteen lisäämisen jälkeen. Tämä vaihe kestää useimmiten 0-2 minuuttia. (Penttilä 2004a, 82-84.)

3.2 Alaniiniaminotransferaasi (ALAT)

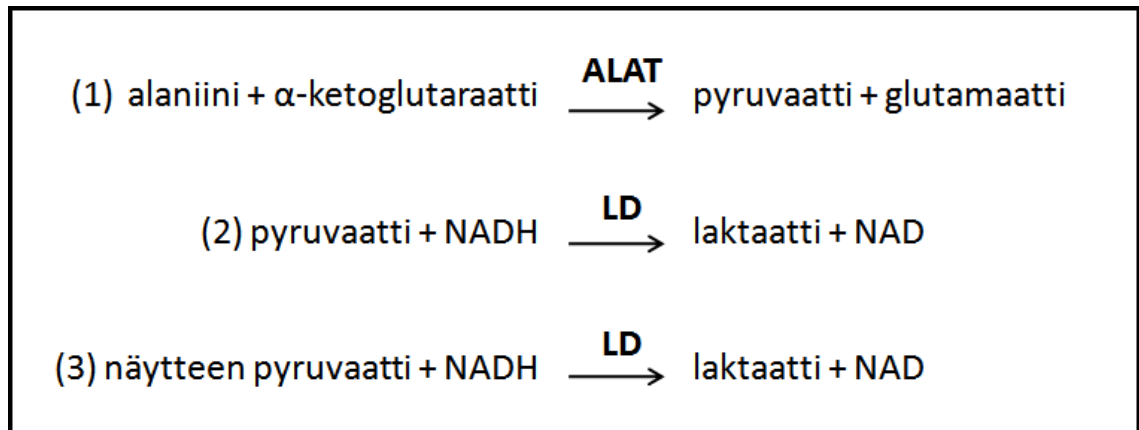
Alaniiniaminotransferaasia, lyhennettynä ALAT, esiintyy suurina pitoisuuksina maksassa ja jonkin verran munuaisissa, sydämessä, luurankolihaksissa, haimassa, pernassa ja keuhkoissa. Kohonneet ALAT-tasot johtuvat yleensä maksasairaudesta, johon liittyy

jonkinasteista maksakudoksen nekroosia, kuten kirroosi, karsinooma, viruksen tai alkoholin tai lääkkeiden aiheuttama toksinen hepatiitti tai obstruktiivinen ikterus. ALAT-arvo on yleensä ASAT-arvoa korkeampi potilailla, jotka sairastavat akuuttia virus- tai toksista hepatiittia. Sen sijaan kroonista maksatautiä sairastavilla ASAT-arvot ovat ALAT-arvoja korkeammat. ALAT on yleisesti ottaen ASAT:ia maksaspesifisempi entsyymi (taulukko 1). ALAT-arvojen nousua voidaan havaita myös vakavan trauman, lihastautien, hypoksian, sydänlihaskudoksen vaurion ja hemolyyttisen taudin yhteydessä. (Thermo Scientific 2009.) Islab (2012) ilmoittaa ALAT:n plasman viitearvoiksi naisilla 10-45 U/l ja miehillä 10-70 U/l.

Taulukko 1. ALAT:n ja ASAT:n aktiivisuudet eri kudoksissa verrattuna seerumiin. (Burtis & Ashwood 1999, 652).

	ALAT	ASAT
Sydän	450	7800
Maksa	2850	7100
Luustolihas	300	5000
Munuaiset	1200	4500
Haima	130	1400
Perna	80	700
Keuhkot	45	500
Punasolut	7	15
Seerumi	1	1

Alaniiniaminotransferaasin aktiivisuusmittaus on vakioitu kansainvälisellä tasolla International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) toimesta. ALAT katalysoi alaniinin transaminaatiota α -ketoglutaatiksi, muodostaen glutamaattia ja pyruvaattia (kuvio 1, kohta 1). Reagenssin sisältämä laktaattidehydrogenaasi (LD) pelkistää muodostuneen pyruvaatin laktaatiksi samalla, kun pelkistynyt NADH hapettuu NAD:ksi (nikotiiniamiidadieniinidinukleotidi) (kuvio 1, kohta 2). Analyysissä mitataan kineettisesti NADH:n hapettumisesta johtuvaa absorbanssin laskua ajan funktiona aallonpituudella 340 nm. LD pelkistää näytteessä olevan pyruvaatin preinkubaatiovaiheen aikana, mikä estää sitä häiritsemästä analyysia (kuvio 1, kohta 3). (Burtis ym.; Thermo Scientific 2009; Penttilä 2004a, 82, 84.)



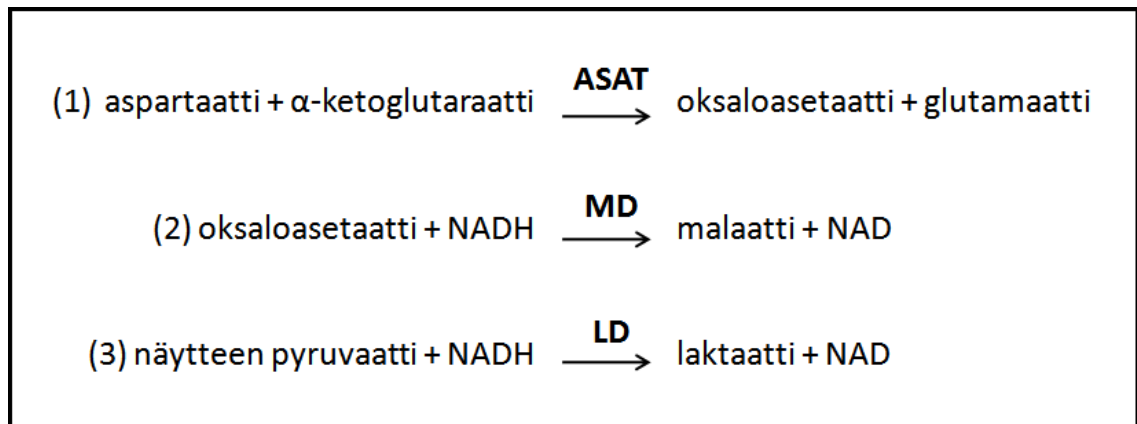
Kuvio 1. Alaniiniaminotransferaasin määrittäminen (Thermo Scientific 2009).

3.3 Aspartaattiaminotransferaasi (ASAT)

Aspartaattiaminotransferaasi, lyhennettynä ASAT, on alaniiniaminotransferaasin ohella kliinisesti merkittävin aminotransferaasientsyymi. ASAT on ALAT:ia epäspesifisempi maksaentsyymi, sillä sitä voi vapautua verenkiertoon ei vain maksasoluista, vaan myös sydäimestä, luurankolihasista, aivoista, munuaisista ja punasoluista. Plasman ASAT-arvo nousee edellä mainittujen kudosten sairauksissa, kuten sydäninfarktissa, viruksen aiheuttamassa hepatiitissa, maksakudoksen nekroosin, kirroosin ja lihasdystrofian yhteydessä. (Thermo Scientific 2008.) Maksasairauksien yhteydessä ASAT- ja ALAT-arvojen suhdetta tarkastelemalla voidaan tehdä päätelmiä maksasairaudesta (Penttilä 2004b, 236). Aspartaattiaminotransferaasin aktiivisuus on punasoluissa jopa 40-kertainen verrattuna plasmassa (Tuokko ym. 2008, 115). Potilailla, joilla ASAT-arvot ovat viiteväliä, voidaan havaita kasvaneita ASAT-aktiivisuuksia, kun plasman hemoglobiinipitoisuus on 1,5 g/l. (Thomas 2002, 3.) Islabin (2012) viitearvot plasman ASAT:lle ovat naisilla 15-35 U/l ja miehillä 15-45 U/l.

Aspartaattiaminotransferaasin aktiivisuusmittaus on vakioitu kansainvälisellä tasolla International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) toimesta. ASAT katalysoi aspartaatin transaminaation α -ketoglutaraatiksi muodostaen glutamaattia ja oksaloasetaatia (kohta 1, kuvio 2). Malaattidehydrogenaasi (MD) pelkistää muodostuneen oksaloasetaatin malaatiksi samalla, kun pelkistynyt NADH hapettuu NAD:ksi (kohta 2, kuvio 2). Näytteessä oleva pyruvaatti häiritsee määrittäystä, minkä takia reagenssiin on lisätty pyruvaattia pelkistävää laktaattidehydrogenaasia (LD) (kohta 3, kuvio 2). Analyysissa

mitataan kineettisesti NADH:n hapettumisesta johtuvaa absorbanssin laskua ajan funktiona aallonpituudella 340 nm. (Burtis ym. 1999, 654-655; Thermo Scientific 2008.)



Kuvio 2. Aspartaattiaminotransferaasin määrittäminen (Thermo Scientific 2008).

4 Tutkimuksen tarkoitus

Tutkimuksessa tarkasteltiin kahta yleisesti maksavaurioiden tutkimisessa käytettyä entsyymiä, alaniiniaminotransferaasia ja aspartaattiaminotransferaasia. Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, eroavatko vajaaksi jääneen näyteputken ALAT- ja ASAT-pitoisuudet oikeaoppisesti otetun näytteen pitoisuuksista.

Tutkimuksen oli tarkoitus vastata seuraaviin kysymyksiin:

1. Onko vertailtavien näytteiden pitoisuuksien välillä eroa?
2. Mistä mahdolliset pitoisuuserot johtuvat?

5 Tutkimuksen toteutus

5.1 Tutkimuksen toteutuksen aikataulu

Vapaaehtoisia henkilöitä pyydettiin henkilökohtaisesti osallistumaan tutkimukseen ennen varsinaisen tutkimuksen aloittamista. Näytteiden antajiksi pyydettiin pääasiassa Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun bioanalytiikan opiskelijoita ja laboratorioviikkojen asiakkaita. Näytteenotto ja näytteiden analysointi suoritettiin 13.-15.11.2012 välisenä aikana, Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun bioanalytiikan opiskelijoiden järjestämien laboratorioviikkojen aikaan, bioanalytiikan koulutusohjelman opetuslaboratoriossa, joka sijaitsi tämän tutkimuksen tekemisen hetkellä Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Liiketalouden ja tekniikan keskuksessa. Bioanalyttikko-opiskelijat tarjosivat laboratorioviikkojen aikana muutamia yleisiä klinisiä laboratoriotutkimuksia.

Laskimoverinäytteet otettiin vapaaehtoisilta koehenkilöiltä. Verinäytteitä otettiin jokaiselta koehenkilöltä yhteensä kaksi putkea.

- 1) Ensimmäiseen putkeen näyte otettiin oikeaoppisesti, varmistaen, että verta tulee putkessa olevaan merkkiviivaan asti ja että näytteen tulo putkeen ei hidastu näytteenoton aikana. (Vertailuryhmä)
- 2) Toinen putki jätettiin vajaaksi, jolloin näyteputken jää näyteputken ominaisuuksista johtuva alipaine. (Koeryhmä)

5.2 Tutkimusmenetelmä

Tässä opinnäytetyötutkimuksessa käytettiin kvantitatiivista eli määrällistä tai tilastollista tutkimusmenetelmää. Kvantitatiivisella tutkimuksella halutaan vastauksia lukumääriin ja prosenttiosuuksiin liittyviin kysymyksiin. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa otos on lukumäärältään suuri ja edustava. Tutkimuksen kysymyksiin haetaan vastauksia kontrolloiduissa laboratorio-olosuhteissa. Tämä tutkimus oli siis kokeellinen tutkimus. Kokeellisessa tutkimuksessa tutkitaan tutkitun muuttujan vaikutusta koeryhmään. Saatuja

tuloksia verrataan sitten vertailuryhmään, joihin koemuuttuja ei ole vaikuttanut. Koekellista tutkimusta käytetään etenkin lääke- ja luonnontieteellisissä tutkimuksissa sekä sosiaalitieteissä. (Heikkilä 2004, 15, 16, 21.)

5.3 Esitestaus

Ennen varsinaisessa tutkimuksessa tarvittavien näytteiden ottoa, testattiin koeasetelma yhden koehenkilön näytteillä. Esitestauksen onnistumisen avulla voidaan tehdä tarvittavia muutoksia tutkimussuunnitelman toimintatapoihin ja varmistaa tutkimuksen onnistuminen ja laitteiston toimiminen. Esitestauksen aikana käydään läpi koko tutkimusprosessi, näytteenotosta analyysitulosten luotettavuuden arviointiin. Esitestauksessa käytettäviä näytteitä määrä oli kaksi. Esitestaus ei tuonut muutoksia varsinaiseen tutkimukseen.

5.4 Näytteiden hankkiminen

Tutkimukseen pyydettiin henkilökohtaisesti vapaaehtoisia henkilöitä antamaan näytteitä. Henkilöitä saatiin tutkimukseen 14. Jokaiselta tutkimukseen osallistuneelta henkilöltä otettiin kaksi näyteputkea, ja jokaisesta putkesta tutkittiin alaniini- ja aspartaattiaminotransferaasipitoisuudet (kaksi analyysia/putki). Opinnäytetyön tekijä oli näytteenottaja 71 prosentissa näytteenottotilanteista. Laboratorioviikkojen järjestäjinä toimineet bioanalyytikko-opiskelijat ja bioanalytiikan koulutusohjelman opettaja ottivat loput näytteet.

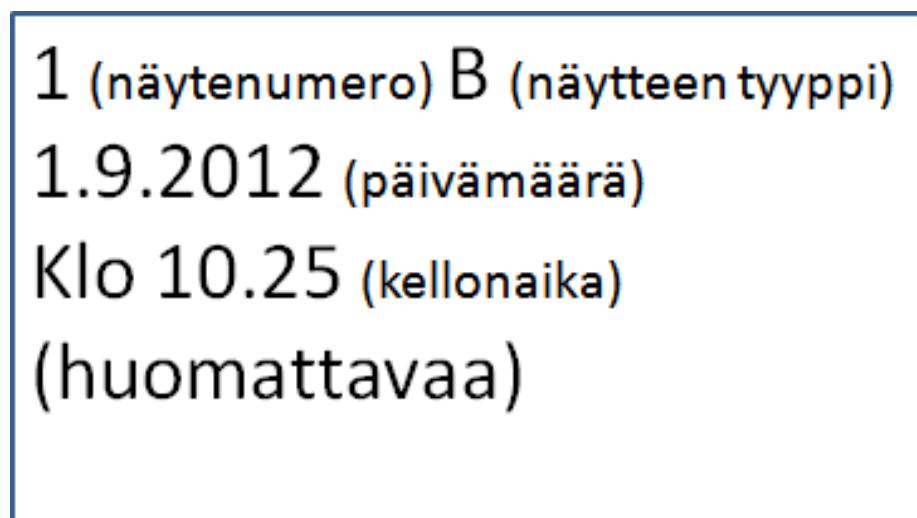
Laskimoverinäytteet otettiin Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun tiloissa. Näytteet otettiin järjestelmällisesti siten, että ensin otettiin normaali vertailunäyte (A-näyte). Varmistettiin, että veri virtaa putkeen esteettömästi ja että verentulo putkeen ei hidastu näytteenoton aikana. Toinen näyte on vajaaksi jätettävä näyte (B-näyte). Näytteenottaja tarkkaili verentuloa näytteenoton aikana, ja näyteputki irrotettiin ennen kuin putki oli täytynyt kokonaan. Tavoitteena oli, että verta on putkessa korkeintaan $\frac{3}{4}$ putken merkiviivan ilmoittamasta verimäärästä. Tämän jälkeen näyteputki sekoitettiin ja käsiteltiin ohjeiden mukaisesti ja varmistettiin, ettei putkeen pääse ilmaa.

Tutkimuksessa käytettiin vakuumitekniikkaa, joka on turvallinen potilaalle, näytteenotajalle sekä ympäristölle, sillä verta ei pääse kulkeutumaan suljetun systeemin ulkopuolelle (Tuokko 2008, 46). Vakuuminäyteputkissa on tarkkaan määritetty alipaine, jonka avulla saadaan näytteenotossa putkeen tietty tilavuus verta. Tätä tutkimusta varten näyteputki otettiin pois ennen kuin koko putki oli täyttynyt, jolloin putkeen jäi täyttymättä jäänyt alipaine. Käytettävät näyteputket olivat Terumon valmistamia Venosafe 3,5 ml:n litiumhepariinigeeliputkia. Putken sisäreunassa on veren hyytymistä estävää litiumhepariinia, joka toimii antikoagulanttina (Terumo 2013). Näytteenotossa käytettiin Terumon valmistamia Venoject Quick Fit -neuloja.

Taulukko 2. Näytteiden A ja B kuvaus.

Näyte A	Näyteputken annetaan täyttyä verellä merkkiviivaan asti.
Näyte B	Näyteputki irrotetaan neulanohjaimesta, kun näyteputki on korkeintaan $\frac{3}{4}$ täysi. Putkeen ei saa ennen sentrifugointia päästä ilmaa.

Näyteputket merkittiin selkeästi. Näyteputkeen liimattiin tarra (kuva 3), joka ilmaisee ensinnäkin näytenuumeron, joka on koehenkilön numero (1, 2, 3 jne.) ja toiseksi näytteen tyyppin. Normaalisti otettu näyte merkittiin tunnisteella ”A” ja vajaaksi jätetty näyte merkittiin tunnisteella ”B”. Jokaisesta näyteputkesta tuli myös ilmi näytteenoton ajankohta eli päivämäärä ja kellonaika. Tarraan voitiin merkitä lisätietoja, kuten näytteenottoon liittyviä poikkeuksia.



Kuva 3. Esimerkki putkitarran merkinnöistä.

5.5 Näytteiden esikäsittely ja analysointi

Verinäytteet sentrifugoitiin ja analysoitiin mahdollisimman pian näytteenotosta. Sentrifugointi tapahtui Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun opetuslaboratorion Heraeus Sepatech Megafuge 1.0 -sentrifugilla. Sentrifugointinopeus ja -aika olivat 3200 r/min 10 minuutin ajan. Erottelun jälkeen on putkesta mahdollista havaita hemolyysi visuaalisesti. Hemolyysiaste (mg/dl) määriteltiin silmämääräisesti käyttäen apuna asteikkoa (kuva 2) ja hemolyysiaste merkittiin analyysitulostaulukkaan.

Näytteet analysoitiin sentrifugoinnin jälkeen KoneLab Prime 60 -analysaattorilla. Reagensseina käytettiin Thermo Scientificin valmistamia ALT (GPT) - sekä AST (GOT) - reagensseja.

Analysoinnin jälkeen näytteitä säilytettiin jääkaapissa parafilmillä suojattuna. WHO:n (2002, 21, 23) mukaan sekä ALAT että ASAT säilyvät jääkaapissa 4-8 °C:n lämpötilassa seitsemän päivän ajan.

5.6 Laadunvarmistus

Laboratoriotutkimusten laatua hallitaan kliinisessä laboratoriotyöskentelyssä sekä sisäisesti että ulkoisesti. Sisäinen laadunohjaus on osana kaikissa laboratoriomenetelmissä. Lisäksi laboratorio voi osallistua ulkoisiin laadunohjauskierroksiin. Labqualityn järjestämiin lyhytjaksoisiin kierroksiin osallistuvat laboratoriot eivät tiedä tutkimiensa näytteiden arvoja. Näitä tuloksia verrataan kotimaisella ja kansainvälisellä tasolla. (Penttilä 2004c, 36, 38)

Tässä tutkimuksessa laboratorioanalyysien sisäiseen laaduntarkkailuun käytettiin Thermo Scientificin valmistamia Nortrol- ja Abtrol -laaduntarkkailunäytteitä. Kontrollinäytteet ajettiin kumpanakin päivänä, ensimmäisenä ja toisena päivänä kerran ennen varsinaisten näytteiden analysoimista ja toisena päivänä vielä toisen kerran.

6 Tutkimuksen tulokset

6.1 Näytteiden hemolysoitumisaste

Näytteissä voitiin havaita hemolysoitumisen lisääntymistä A- ja B-näytteiden välillä. Yli puolet B-näytteistä oli enemmän hemolysoituneita kuin vastaavat A-näytteet.

Taulukko 3. ALAT:n ja ASAT:n pitoisuuksien muutos-% ja hemolyysiasteen muutos A- ja B-näytteiden välillä. (+ = hemolyysiä havaittiin enemmän B-näytteessä A-näytteeseen verrattuna)

Näytenro	ALAT	ASAT	Hemolyysi
1	7,69%	-5,88%	+
2	-7,14%	4,77%	+
3	0%	0%	
4	5,41%	0%	+
5	3,23%	-2,38%	
6	10,87%	8,33%	+
7	0%	5,55%	
8	0%	0%	+
9	0%	4,35%	+
10	-3,57%	9,09%	+
11	7,69%	5,88%	
12	0%	0%	+
13	-10%	0%	
14	0%	0%	

Taulukosta 3 nähdään, että pitoisuuden muutos ei aina johtunut hemolyysin lisääntymisestä. On epäselvää, johtuvatko pitoisuuserot nimenomaan hemolyysistä. ALAT-pitoisuus oli korkeampi 36 prosentissa B-näytteistä. 43 prosentissa B-näytteissä ASAT-pitoisuus oli korkeampi kuin vastaava A-näyte. Taulukosta 4 nähdään näytteissä havaittu hemolyysitaso, joka on arvioitu kuvaan 2 verraten (s. 8).

Taulukko 4. Näytteiden hemolyysiaste mg/dl

Näyttenumero	A-näyte	B-näyte
1	-	20
2	-	20
3	-	-
4	-	20
5	-	-
6	-	20
7	-	-
8	-	20
9	-	20
10	20	50
11	-	-
12	-	20
13	-	-
14	-	-

6.2 Tulosten tilastollinen analysointi

Laboratoriotestien tuloksista laskettiin tilastollisia tunnuslukuja Excel - taulukkolaskentaohjelmaa käyttäen. Nämä tunnusluvut olivat keskiarvo, keskihajonta, mediaani, variaatiokerroin sekä keskivirhe. Lisäksi tehtiin t-testi.

Taulukko 5. ALAT:n tilastolliset tunnusluvut (n=14).

	A-näyte	B-näyte
keskiarvo U/l	25,36	25,93
keskihajonta	15,77	16,62
mediaani U/l	21	21
variaatiokerroin	62,19	64,08
keskivirhe	4,21	4,44

ALAT-analyysien tunnusluvuista voidaan nähdä, että B-näytteiden keskiarvopitoisuus on hieman korkeampi kuin A-näytteiden. Myös hajonta on suurempaa B-näytteiden kesken.

Taulukko 6. ASAT:n tilastolliset tunnusluvut (n=14).

	A-näyte	B-näyte
keskiarvo U/l	21,14	21,57
keskihajonta	8,20	7,98
mediaani U/l	19	19,5
variaatiokerroin	38,77	36,98
keskivirhe	2,19	2,13

ASAT-analyysien tilastollisten tunnuslukujen mukaan B-näytteiden keskiarvopitoisuus on hieman korkeampi kuin A-näytteiden. Keskihajonta on A-näytteiden kesken suurempi.

6.3 T-testi ja p-arvot

Tässä tutkimuksessa haluttiin selvittää, onko putken vajaatäytöllä vaikutusta ALAT:n ja ASAT:n analysointiin. Tutkimuksen hypoteesien eli ennakkokäsitysten, jotka perustuvat teorioihin tai aikaisempiin tutkimuksiin, paikkansapitävyys tietyssä perusjoukossa pyritään todistamaan.

Tilastollisena testinä tässä tutkimuksessa käytettiin t-testiä. Tätä varten asetettiin nollahypoteesi (H_0) sekä vastahypoteesi (H_1). Nollahypoteesin mukaan muuttujien välillä ei ole riippuvuutta eikä eroa ole. Vastahypoteesin mukaan muuttujien välillä on riippuvuutta. (Heikkilä 2004, 191.)

H_0) B-näytteiden pitoisuus ei eroa A-näytteen pitoisuudesta.

H_1) B-näytteiden pitoisuus eroaa A-näytteiden pitoisuudesta.

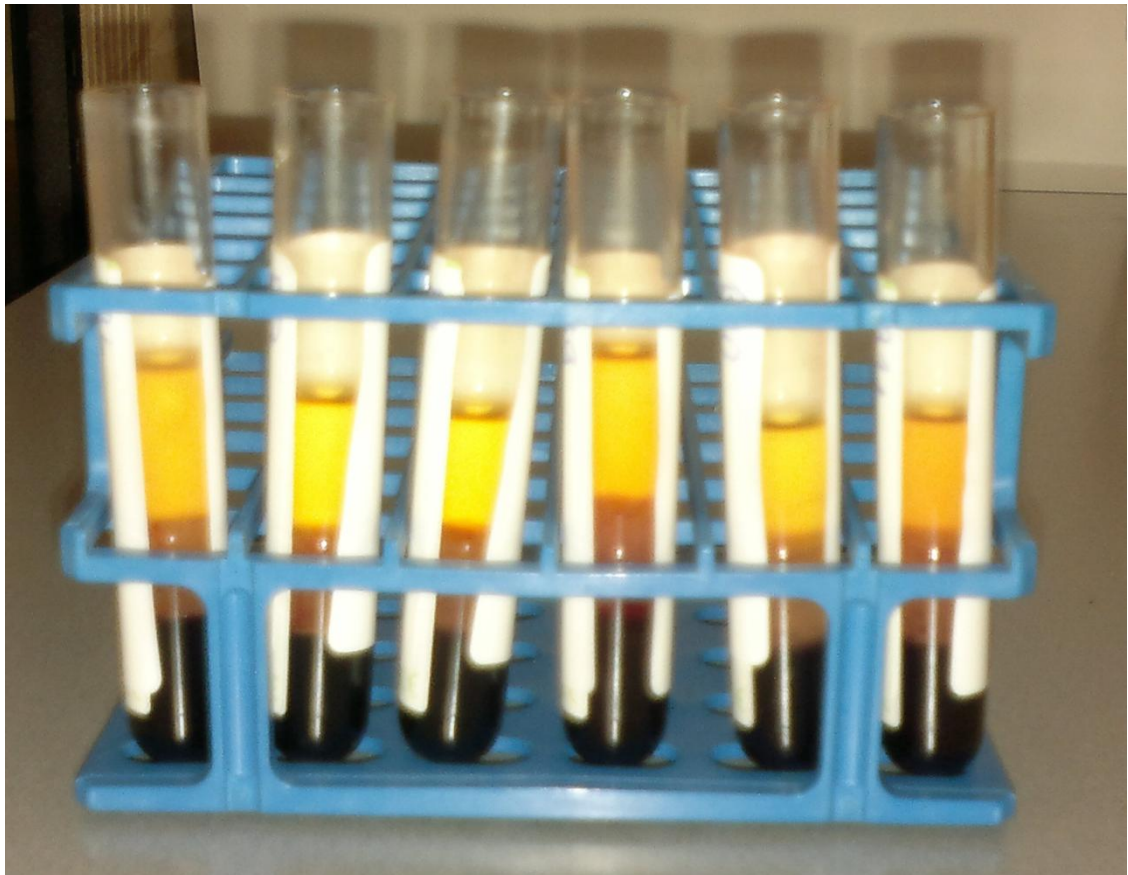
Tässä tutkimuksessa käytettiin toisistaan riippuvien parittaisten otosten kaksisuuntaista testausta. Testissä käytetty merkitsevyystaso eli riskitaso (p-arvo) oli 0,05 (5%). Heikkilän (2004, 194) mukaan merkitsevyystaso "ilmoittaa, kuinka suuri riski on, että saatu ero tai riippuvuus johtuu sattumasta". T-testillä saatu p-arvo oli sekä ALAT- että ASAT:n tuloksia tarkastellessa yli merkitsevyystason, eli nollahypoteesi jäi voimaan. B-näytteiden pitoisuus ei siis eroa merkitsevästi A-näytteiden pitoisuudesta 5%:n merkitsevyystasolla.

7 Pohdinta ja johtopäätökset

7.1 Tutkimuksen luotettavuus

Tutkimuksen luotettavuutta voidaan tarkastella sen reliabeliuden ja validiuden kautta. Tutkimuksen reliabiliteetti tarkoittaa sitä, että tutkimus on toistettava ja että tutkimus ei anna sattumanvaraisia tuloksia, riippumatta tutkimuksen suorittajasta. Jotta tutkimus olisi validi, tutkimuksessa on saatava tietoa juuri siitä asiasta, mistä oli tarkoitus saada tietoa. (Vilka 2007, 149-152)

Tähän tutkimukseen liittyi reliabeliusongelmia, erityisesti B-näytteiden ottamisessa. Näytteenoton aikana oli vaikea arvioida veren määrää putkessa (kuva 4).



Kuva 4. Näytemäärä erosi paljon B-näyteputkissa.

Jos näytteet olisi otettu siipineulalla tavallisen vakuumisysteemin sijasta, olisi veren määrän arvioiminen ollut ehkä helpompaa, sillä siipineulaa käytettäessä putkea olisi voitu pitää pystyasennossa. Myös näyteputkiin olisi voitu merkitä etukäteen merkkiviivat.

B-näytteiden korkeamman keskiarvopitoisuuden syy jäi epäselväksi. Tutkimuksessa käytetty näytemäärä (14) oli pieni. Suuremman otannan, vähintään 30, kautta oltaisiin saatu luotettavampia tuloksia. Näytteiden hemolyysiaste arvioitiin silmämääräisesti. Objektivisempia ja tarkempia tietoja hemolyysistä saataisiin, mikäli käytössä olisi plasman hemoglobiinimittari.

Tulosten analysoinnissa käytettiin t-testiä. T-testin mukaan nollahypoteesi jäi voimaan, mutta koska tutkittu ryhmä oli pienempi kuin 30, on johtopäätösten tekemisessä oltava varovaisia. (Heikkilä 2004, 225.)

7.2 Tutkimuksen eettisyys

Tieteellisessä tutkimuksessa tulee ottaa huomioon useita etiikkaan liittyviä kysymyksiä. Eräs tämän tutkimuksen osa edellyttää koehenkilöiden käyttöä laskimoverinäytteenoton muodossa. Tähän liittyvä ongelma on, miten koehenkilöiltä hankitaan suostumus tutkimukseen osallistumisesta ja miten heille annetaan tietoa tutkimuksen tarkoituksesta ja siihen liittyvistä riskeistä. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2004, 25-27.) Tässä opinnäytetyötutkimuksessa verinäytteet saatiin vapaaehtoisilta henkilöiltä, jotka saivat tietoa tutkimuksesta ja sen tarkoituksesta. Plagiointia ja muunlaista epärehellisyyttä vältettiin. Käytetyt lähteet ovat näkyvillä, eikä aiempien tutkimusten tekijöiden saamia tuloksia vähätelty tai vääristelty. (Vilkkä 2007, 164-166.) Tutkimuksessa ei kerätty verinäytteiden antajien henkilötietoja, ja kaikki näytteet kulkivat laboratoriotutkimusprosessissa pelkästään näytenumerotunnistein.

7.3 Jatkotutkimusaiheet

Tämän opinnäytetyön tulokset eivät olleet sen epätarkkuuden, suppeuden ja otoskoon pienuuden vuoksi vielä tarpeeksi luotettavia. Jatkossa tutkimusta voisi kehittää tekemällä näytteenotosta tarkempaa vakioimalla B-näyteputkiin otettava verimäärä. Mielenkiintoinen jatkotutkimusaihe olisi myös, onko näyteputkien vajaatäytöllä vaikutusta muiden analyyttien pitoisuuksiin ALAT:n ja ASAT:n lisäksi.

Lähteet

- Bjälje, J.G., Haug, E., Sand, O., Sjaastad, Ø.V. & Toverud, K.C. 2008. Ihminen - Fysiologia ja anatomia. Helsinki: WSOY.
- Burtis, C. A. & Ashwood, E. R. (toim.). 1999. Tietz Textbook of Clinical Chemistry Third Edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Carraro, P., Servidio, G. & Plebani, M. 2000. Hemolyzed Specimens: A Reason for Rejection or a Clinical Challenge? *Clinical Chemistry* 47 (2), 306-307. <http://www.clinchem.org/content/46/2/306.full.pdf+html>. 18.9.2012.
- Frank, J., Bermes, E., Bickel, M. & Watkins, B. 1978. Effect of In Vitro Hemolysis on Chemical Values for Serum. *Clinical Chemistry* 24 (11), 1966-1970. <http://www.clinchem.org/content/24/11/1966.full.pdf>. 17.8.2012.
- Heikkilä, T. 2004. Tilastollinen tutkimus. Helsinki: Edita.
- Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2004. Tutki ja kirjoita. Helsinki: Tammi.
- HUSLAB. 2010. Laskimoverinäytteenotto, työohje. http://huslab.fi/preanalytiikan_kasikirja/verinaytteenotto/laskimonaytteenotto.pdf. 14.8.2012.
- HUSLAB. 2011. Alaniiniaminotransferaasi, plasmasta. <http://huslab.fi/ohjekirja/1024.html>. 17.8.2012.
- HUSLAB. 2012. Aspartaattiaminotransferaasi, plasmasta. <http://huslab.fi/ohjekirja/4591.html>. 17.8.2012.
- Islab. 2012. Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen web-ohjekirja. <http://www.islab.fi/index.asp?tz=-3>. 13.8.2012.
- Laitinen, M. 2004. Analytiikan ja vierianalytiikan virhelähteet. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset Laboratoriotutkimukset*. Porvoo: WSOY, 32-34.
- Mayo Medical Laboratories. 2008. Preanalytic Laboratory Errors. <http://www.mayomedicallaboratories.com/articles/communique/2008/12.html>. 17.8.2012.
- Penttilä, I. 2004a. Entsyymianalyysien periaatteet. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset Laboratoriotutkimukset*. Porvoo: WSOY, 82-89.
- Penttilä, I. 2004b. Ruoansulatuskanavan ja maksan toiminnan häiriöt ja niiden tutkiminen. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset Laboratoriotutkimukset*. Porvoo: WSOY, 228-252.
- Penttilä, I. 2004c. Tutkimustulosten laatu ja laadunvarmistus. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset Laboratoriotutkimukset*. Porvoo: WSOY, 35-38.
- Terumo. 2013. Venosafe Polyolefin gel with heparin for plasma winning. http://www.mediq.fi/public/dokumenter/MediqSuomi/Labra/venosafe_heparin_en.pdf. 10.3.2013.
- Thermo Scientific. 2008. AST (GOT) Reagent Aspartate Aminotransferase. Tuoteseloste. <https://static.thermoscientific.com/images/D03098~.pdf>. 16.8.2012.
- Thermo Scientific. 2009. ALT (GPT) Reagent Alanine Aminotransferase. Tuoteseloste. <https://static.thermoscientific.com/images/D03099~.pdf>. 16.8.2012.
- Thomas, L. 2002. Haemolysis as influence and interference factor. *eJIFCC - electronic Journal of the IFCC*. <http://www.ifcc.org/ifccfiles/docs/130401002end.pdf>. 13.8.2012.
- Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet - opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.
- Vilkka, H. 2007. Tutki ja mittaa - Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Tammi.

World Health Organization. 2002. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations.

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/65957/1/WHO_DIL_LAB_99.1_REV.2.pdf. 4.11.2012

Yhtyneet Medix Laboratoriot. 2012. Alaniiniaminotransferaasi.

<http://www.yml.fi/do.xsp?viewType=productview&redirect1=%2Fdo.xsp%3FobjectType%3Dproduct%26viewType%3Dlistview%26indexLetter%3DA&objectType=product&directoryType=&productOID=8>. 31.10.2012.

Yhtyneet Medix Laboratoriot. 2012. Aspartaattiaminotransferaasi.

<http://www.yml.fi/do.xsp?viewType=productview&redirect1=%2Fdo.xsp%3FobjectType%3Dproduct%26viewType%3Dlistview%26indexLetter%3DA&objectType=product&directoryType=&productOID=41>. 31.10.2012.

Näytteenotto-ohje

Opinnäytetyötutkimukseeni tarvitsen jokaiselta koehenkilöltä kaksi verinäyteputkea. Verinäytteet otetaan litiumhepariinigeeliputkeen vakuumitekniikalla. Näytteenottajien tarvitsee siis ottaa asiakkailta yksi ylimääräinen näyteputki (näyte B, kuvattu alla).

Näyte A - otetaan normaalisti ja oikeaoppisesti, varmistaen, että verta on näyteputken merkkiviivaan asti. (sama putki mistä laboratoriovaikeiden rasva-arvot analysoidaan)

Näyte B - näyteputki irrotetaan neulanohjaimesta ennen kuin näyteputki on täyttynyt kokonaan, verta saa olla putkessa korkeintaan $\frac{3}{4}$ merkkiviivan osoittamasta verimäärästä. Näyteputkea ei saa avata eikä putkeen saa päästä ilmaa ennen sentrifugointia. Näytettä voidaan käsitellä muutoin normaalisti.

Näyteputken tunnistetarrasta on tultava selkeästi ilmi, että kyseessä on tutkimukseeni soveltuva näyte. Litiumhepariinigeeliputkiin otettujen näytteiden tarraan merkitään iso ”T”, sekä joko ”A” tai ”B” (ks. yllä). Lisäksi tarraan merkitään näytteenoton päivämäärä ja kellonaika.

Kiitos jo etukäteen!

Sari Leskinen

sari.leskinen@edu.pkamk.fi

Näytteiden käyttö opinnäytetyötutkimuksessa

Mikäli annatte luvan, näytteitänne käytetään opinnäytetyötutkimuksessa. Näytteenottaja ottaa tätä tarkoitusta varten **yhden ylimääräisen näyteputken**.

Tutkimuksessani tarkastelen kahta entsyymiä, alaniiniaminotransferaasia (ALAT) ja aspartaattiaminotransferaasia (ASAT). Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää eroaako vajaaksi jätetyn näyteputken ALAT- ja ASAT-pitoisuudet oikeaoppisesti otetun näytteen pitoisuuksista.

Ylimääräinen näyte otetaan muiden näytteiden yhteydessä, eikä näytteenotto aiheuta Teille vaaraa. Näytteet käsitellään opinnäytetyötutkimuksen aikana täysin nimettömästi, eikä näytteiden alkuperää voi tunnistaa opinnäytetyössäni.

Opinnäytetyön toimeksiantaja on Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelma.

Kiitos!

Sari Leskinen, bioanalyttikko-opiskelija

sari.leskinen@edu.pkamk.fi

ALAT

Kahden otoksen t-testi olettaen varianssit yhtäsuuriksi

	<i>A</i>	<i>B</i>
Keskiarvo	25,35714	25,92857
Varianssi	248,7088	276,0714
Havainnot	14	14
Yhdistetty varianssi	262,3901	
Arvioitu keskiarvojen ero	0	
va	26	
t Tunnusluvut	-0,09333	
P(T<=t) yksisuuntainen	0,463177	
t-kriittinen yksisuuntainen	1,705618	
P(T<=t) kaksisuuntainen	0,926354	
t-kriittinen kaksisuuntainen	2,055529	

ASAT

Kahden otoksen t-testi olettaen varianssit yhtäsuuriksi

	<i>a</i>	<i>b</i>
Keskiarvo	21,14286	21,57143
Varianssi	67,20879	63,64835
Havainnot	14	14
Yhdistetty varianssi	65,42857	
Arvioitu keskiarvojen ero	0	
va	26	
t Tunnusluvut	-0,14018	
P(T<=t) yksisuuntainen	0,444799	
t-kriittinen yksisuuntainen	1,705618	
P(T<=t) kaksisuuntainen	0,889597	
t-kriittinen kaksisuuntainen	2,055529	

ABTROL

REF	981044
LOT	F114E
exp.	2012-12

NORTROL

REF	981043
LOT	F113E
exp.	2012-12

ALT/GPT (IFCC) Reag A + Reag B

REF	981769
LOT	H107
exp.	2013-03

AST/GOT (IFCC) Reag A + Reag B

REF	981771
LOT	H871
exp.	2013-11