



Laura Härmä

Kliinisen kemian analyyttien säilyvyys avonaisissa seerumi-geeliputkissa jääkaappilämpötilassa

Metropolia Ammattikorkeakoulu
Bioanalyttikko AMK
Bioanalytiikka
Opinnäytetyö
26.10.2011

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Laura Härmä Kliinisen kemian analyyttien säilyvyys avonaisissa seerumi-geeliputkissa jääkaappilämpötilassa 24 sivua + 5 liitettä 26.10.2011
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikka
Suuntautumisvaihtoehto	-
Ohjaajat	Lehtori Annikki Railio Kemisti Airi Rakkolainen
<p>Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää kuinka hyvin avonaisissa seerumi- geeliputkissa säilytetyt kliinisen kemian analyytit säilyivät ja pystytäänkö avonaisista putkista analysoimaan jälkikäteen saapuvia lisäpyyntöjä luotettavasti, jos näytteitä säilytetään jääkaappilämpötilassa ilman suojamateriaalia.</p> <p>Näytteitä säilytettiin jääkaapissa seitsemän vuorokauden ajan avonaisina. Tutkimukseen valittiin 24 kliinisen kemian analyyttiä ja vapaaehtoisia osallistujia oli 15. Näytteet tutkittiin Olympus AU640- analysaattorilla. Analysaattori mittaa kaikki tutkimukset samalla kertaa ja käyttää määrittämiin fotometrisiä määrittämiä sekä ioniselektiivisiä elektrodeja.</p> <p>Tuloksista voitiin todeta, että avonaisina säilytetyistä analyyteistä parhaiten säilyi LDL- kolesteroli, konjugoitunut bilirubiini, CRP, transferrini, rauta, amylaasi, afos, alat, GT ja CK. Kolmesta kuuteen vuorokautta säilyivät asat, uraatti, bilirubiini, triglyseridit, HDL- kolesteroli, krea, glukoosi, proteiini, albumiini, kolesteroli, fosfaatti ja kalium. Huonoiten säilyivät kalsium ja natrium, jotka säilyivät 1- 2 vuorokautta. Aiemmin oli tehty samankaltainen opinnäytetyö, jossa näytteitä säilytettiin korkitettuna jääkaappilämpötilassa ja tulosten tarkastelussa tämän työn jääkaappituloksia verrattiin oman työni tuloksiin. Aiemman työn tuloksien vertailu tämän työn tuloksiin osoitti, että näytteet säilyvät parhaiten korkitettuna.</p> <p>Päätelmänä voidaan todeta, että analyyttien suojaaminen on tarpeellista luotettavan lisäpyyntö mahdollisuuden takaamiseksi.</p>	
Avainsanat	Analyyttien säilyvyys, kliinisen kemian analyytit

Author Title	Laura Härmä The Stability of Clinical Chemistry Analytes in Open Serum-Gel Tubes in Fridge Temperature
Number of Pages Date	24 pages + 5 appendices 26 October 2011
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Annikki Railio, Senior Lecturer Airi Rakkolainen, Clinical Chemist
<p>The purpose of my study was to determine the stability of clinical chemistry analytes in cool temperature without protective materials and if laboratories were able to deal with afterward requests. The need for my study come from the lack of research data on the subject. A previous study observed the stability in cool temperature with sealed serum-gel tubes. There is no information available on how time and storing the analytes in cool storage, without protection, effects the quality of the analytes.</p> <p>Serum samples were collected from 15 volunteers. The serum samples were stored in a fridge. Analytes were analysed with Olympus AU640-analyzer. The analyzer measures the values of all analytes at the same time. The analyzer uses photometric methods and ion-selective electrodes to measure the values.</p> <p>My study shows that LDL-cholesterol, conjugated bilirubin, CRP, transferrin, iron, amylase, afos, alat, GT and CK values are stable in cool temperature. The lowest results come from calcium and sodium. These two analytes stay stable only for 1-2 days.</p> <p>The results lead to the conclusion that all analytes must be covered with some protective material.</p>	
Keywords	stability of analytes, clinical chemistry analytes

Sisällys

1 Johdanto	1
2 Kliinisen kemian näytteiden säilyminen	2
3 Olympus AU640- analysaattori	4
3.1 Toimintakyvyn varmistaminen	4
3.2 AU- yksikkö	5
3.3 Olympuksen ISE- yksikkö	5
3.4 Kliinisen kemian menetelmät	6
3.4.1 Kineettinen fotometria	6
3.4.2 Kolorimetrinen menetelmä	6
3.4.3 Immunoturbidimetrinen menetelmä	7
3.4.4 Entsymaattinen menetelmä	7
3.4.5 ISE- menetelmä	7
4 Tutkimusongelma	8
5 Kliinisen kemian analyyttien säilyvyyden tutkiminen	8
5.1 Näytteiden otto ja esikäsittely	9
5.2 Tutkimusten analysointi	10
5.3 Tulosten tilastollinen käsittely	11
6 Tulokset	11
6.1 Vertailu Hanna Sipin opinnäytetyön tuloksiin	19
6.2 Yhteenveto tuloksista	22
7 Tulosten luotettavuuden arviointi	22
8 Pohdinta	23
Lähteet	25
Liitteet 1-5	

1 Johdanto

Peruskemian näytteet saapuvat laboratorioon korkillisissa putkissa ja seeruminäytteiden säilyvyys on yleisesti ottaen hyvä. WHO:n suosituksessa (liite 3) fosfaatti säilyy 4 vuorokautta 4 – 8 °C, kun taas IgA säilyy kahdeksan kuukautta samassa lämpötilassa säilytettynä. Pakastettuna eroteltuna seerumina WHO:n suosituksessa glukoosi säilyy yhden päivän ja pisin säilyvyysaika on CRP:llä, kolme vuotta. Näytteen komponenttien säilymiseen vaikuttavat esimerkiksi lämpötila, auringonvalo ja näyteastian materiaali. Lämpötiloissa suositellaan jääkaappilämpötiloja tai pakastamista. Auringonvalo hajottaa esimerkiksi bilirubiinia (Tuokko- Rautakoski-Lehto 2008: 10; World health organization 2002.)

Opinnäyte pohjautuu toimeksiantajan tarpeeseen selvittää kuinka analyytit säilyisivät ilman korkkia tai muuta suojaa jääkaappilämpötilassa. Lähinnä haluttiin tietoa haihtumisen vaikutuksesta analyytteihin ja vastausta, voidaanko asiakkaille taata lisäpyyntö mahdollisuus luotettavasti, kun näytteitä säilytetään viikon ajan ilman suojamateriaalia. Tällä hetkellä näytteet suojataan parafilmillä viikon ajan mahdollisia lisäpyyntöjä ajatellen. Parafilmi on kuitenkin kallista säilytysmateriaalia. Folio ei tule kyseeseen ongelmajätteen vuoksi ja korkittaminen ei ole myöskään halpaa ja sitoo yhden ihmisen työpanosta valtavasti ja lisäriskinä ovat käsien rasisusvammojen ilmentyminen. Työn tavoitteena onnistuessaan olisi saada myös säästöjä säilytysmateriaalikustannuksissa.

Mittaukset tehtiin Olympus AU640- analysaattorilla. Valituista tutkimuksista suurin osa mitataan fotometrisellä periaatteella. Työhöni valitut 24 kemian analyyttiä olivat albumiini, amylaasi, alkaalinen fosfataasi, konjugoitunut bilirubiini, bilirubiini, kalsium, kolesteroli, kreatiinikinaasi, kreatiniini, C- reaktiivinen proteiini, rauta, prot, glutamyyli transferaasi, glukoosi, aspartaattiaminotransferaasi, alaniiniaminotransferaasi, HDL- kolesteroli, LDL- kolesteroli, uraatti, kalium, natrium, epäorgaaninen fosfaatti, transferrini sekä triglyseridit.

Aiemmissä tutkimuksissa on havaittu näytteiden säilyvän eroteltuina seitsemän vuorokauden ajan, kun tutkimus suoritettiin käyttäen Hitachi 737- analysaattoria. (Heins-, Heil ,- Withold, 1995:1). Hanna Sipin opinnäytetyössä käytettiin Olympus

AU640- analysaattoria ja 26 analyytistä 25 säilyi seitsemän vuorokauden ajan, ainoastaan kalium säilyi neljän vuorokauden ajan.

2 Kliinisen kemian näytteiden säilyminen

Yleensä tutkittavat näytteet säilytetään ja analysoidaan suljetuista putkista. Liitteessä kolme on lueteltu opinnäytteessä tutkittujen analyyttien suositusajat säilyttämisestä jääkaappilämpötilassa sekä pakastettuna WHO:n mukaan, suositus on erotellulle seerumille. WHO:n suosituksessa on selostettu seerumin, plasman ja kokoveren edut ja haitat, oikean näytemateriaalin valinta tutkimukseen, sekä annettu suositukset näytteenotosta ja lähetysajoista, sentrifugoinnista ja säilytyksestä (World health organization 2002.)

Uusien tekniikoiden, näytteenottovälineiden ja – astioiden myötä ovat näytteiden säilyvyyteen vaikuttavat tekijät monessa suhteessa aiempaa helpommin hallittavissa. Toisaalta uudet tekniikat ovat tuoneet tullessaan entistä tarkempia vaatimuksia mm. eri näytemuotojen soveltuvuuden suhteen ja esille on noussut näkökohtia, joita tulee tarkkailla: mm. erikoisputkien vanhenemispäivät ja geeliputkien käsittelyolosuhteet (Siloaho 2000: 185.)

Näytteiden säilyvyyteen vaikuttavat mm. fysikaaliset ja kemialliset sekä niihin perustuvat biokemialliset ja mikrobiologiset ilmiöt, joita ovat seuraavat: verisolujen aineenvaihdunta, haihtuminen/sublimoituminen, kemialliset reaktiot, mikrobiologinen hajoaminen, osmoosin aiheuttamat muutokset, valo ja kaasujen diffuusio. Edellä mainituista syistä johtuvia haitallisia muutoksia voidaan ehkäistä seuraavilla tavoilla: Nopea kuljetus ja lyhyt säilytys parantavat tuloksen luotettavuutta. Mitä pidempään näytteitä säilytetään, sitä kylmemmässä niitä tulee säilyttää, poikkeuksia kuitenkin on. Säilytysastioiden tulisi aina olla suljettuja, haihtumista tapahtuu myös jääkaapissa (Guder - Narayanan - Wisser - Zanta 2009: 42; Siloaho 2000:185- 186.)

Analysoidut näytteet säilytetään laboratoriossa sovitun ajan. Tavoitteena on, että tutkittavan analyytin pitoisuus ja koostumus eivät muutu näytteen kuljetuksen ja säilytyksen aikana. Avonaisessa astiassa tapahtuu näytteen haihtumista,

kontaminoitumista ilmassa olevilla aineosilla, bakteerikontaminaatiota jne., minkä seurauksena näytteessä tapahtuu muutoksia (Tuokko- Rautakoski- Lehto 2008: 10.) Tällä hetkellä toimeksiantajan laboratoriossa näyteputket suojataan parafilmillä analysoinnin jälkeen mahdollisen lisäpyynnön tekemisen ajaksi. Näytteitä säilytetään 7 vuorokautta kylmähuoneessa. Folio on ongelmajätettä ja korkittaminen on myös kallista sekä altistaa työntekijän pitkällä aikavälillä erilaisille käden rasituksille. Lisäksi suojaaminen vie työaika.

Hanna Sipi on tutkinut opinnäytteessään "Kliinisen kemian analyyttien säilyvyys geeliputkessa ja analysointi olympus AU640- analysaattorilla" vuonna 2008 näytteiden säilyvyyttä jääkaappi- ja huoneenlämpötiloissa. Opinnäytetyö on tehty samalle toimeksiantajalle, jolle tämä työ tehdään. Tutkimuksessa selvitettiin analyyttien säilyvyyttä Vacuette- geeliputkissa huoneenlämmössä ja jääkaappilämpötilassa (+3 °C - +7 °C). Tutkittavana oli 26 kemian analyyttiä. Huoneenlämmössä säilymistä oli seurattu neljän vuorokauden ajan ja jääkaappilämpötilassa seitsemän päivän ajan. Tutkimuksen tuloksena voitiin päätellä, että jääkaappilämpötilassa säilytetyistä suljetuista putkista 25 analyyttiä säilyi täydet 7 vuorokautta ja ainoastaan kalium, säilyi neljä vuorokautta.

Toinen tutkimus suoritettiin Hitachi 737- analysaattorilla ja säilyvyyttä tutkittiin tässä tutkimuksessa seuraavilla analyteilla: natrium, kalium, kalsium, kloridi, epäorgaaninen fosfaatti, magnesium, kreatiniini, urea, uraatti, bilirubiini, kolesteroli, HDL ja LDL- kolesteroli, triglyseridi, CK, asat, alat, γ - glutamyyli transferaasi, alkalinen fosfataasi, α - amylaasi, koliiniesteraasi sekä laktaattidehydrogenaasi. Erotellut näytteet säilytettiin + 9 °C seitsemän vuorokauden ajan. Merkitsevät muutokset tapahtuivat epäorgaanisella fosfaatilla sekä laktaattidehydrogenaasilla, nämä ylittivät raja-arvot huomattavasti. Muut analyytit säilyivät riittävän stabiileina. Huoneenlämmössä epäorgaaninen fosfaatti, uraatti, HDL- kolesteroli ja triglyseridit lisääntyivät jatkuvasti, kun taas CK ja asat vähenivät enemmän kuin ohjekirjat sallivat säilytyksen aikana. Tutkimus osoitti, että analyytit säilyivät tasaisena neljän vuorokauden ajan säilytettäessä + 9 °C:ssa (Heins, Michael ym. 1995.)

3 Olympus AU640- analysaattori

Olympus AU640- analysaattorilla voidaan analysoida kliinisen kemian ja immunologian tutkimuksia. Analysaattorilla voidaan analysoida 118 erilaista tutkimusta. Analysaattori koostuu fotometrisestä yksiköstä sekä ISE- yksiköstä (ioniselektiivinen elektrodi). Laitte pystyy analysoimaan 1200 tutkimusta tunnissa (Olympus america 2011.) Toimeksiantajan laboratorioissa Olympus AU640- analysaattorilla analysoidaan 39 eri analyyyttiä.

Laitteessa on kaksi mahdollisuutta ajaa näytteitä: ONLINE ja OFFLINE- tilat. ONLINE-tilassa näytteen laadun ja tehtävien testien tunnistus tapahtuu telineen ja näytteen viivakoodin avulla. Laitteen käyttäjä asettaa näytteet telineisiin. Laitte lukee viivakoodin telineen kyljestä, jolloin laite tunnistaa mitä näytetyyppejä (seerumia, virtsaa vai muuta) teline sisältää ja putken viivakoodin perusteella, mitä niistä on analysoitava. OFFLINE-tilassa käyttäjä määrittää päätteen kautta näytteen laadun ja tehtävät tutkimukset.

Näytteen kulkua analysaattorilla määrittää se, onko näyte tutkittava AU- puolella (automatic unit) vai onko kyseessä ISE- mittaus.

Laitteisto toimii tietokoneyhteydellä. Päätteeltä voidaan myös seurata reagenssien vanhentumista ja reagenssien riittävyttä.

Tulokset siirtyvät suoraan näytölle ja tulostimelle, josta tulokset ovat paperilla poimittavissa. Tulokset siirtyvät laboratorion tietojärjestelmään automaattisesti. Tuloksessa näkyy näytteen numero, mitattu analyyytti ja sen tulos. Jos tulos poikkeaa mittausalueesta, on tuloksen perässä kirjain osoittamassa poikkeamaa (AU640 User Guide Version 2.1.)

3.1 Toimintakyvyn varmistaminen

Laitteella voidaan ajaa seerumi-, plasma- tai virtsanäytteitä. Joka aamu ennen analysointien aloittamista varmistetaan laitteen toimintakyky. Aluksi tarkastetaan kaikki reagenssit ja niiden riittävyys sekä lisätään reagensseja tarvittaessa. Vakioidaan tarvittavat tutkimukset, ajetaan kontrollit ja katsotaan ovatko kontrollitulokset sallituissa rajoissa. Vakioinnit tehdään, jos kontrollit eivät mene kontrolleille

asetettuihin rajoihin. Tasokontrolleja on kahta eri tasoa, yleensä matala ja korkea taso, ja ne vaihtelevat analyttikohtaisesti Kontrolleina käytetään BioRadin Unassayed chemistry controlia. Kyseessä on päivittäiskontrolli, jota on kahta eri tasoa (1,2). BioRadin kontrolleista analysoidaan seuraavat testit: alat, afos, alb, amyl, asat, bil, bil-Kj, CK, Pi, gluk, GT, K, Ca, krea, kol, kol-HDL, kol-LDL, trigly, Na, prot, Fe, uraatti, CRP (taso 1). Lisäksi kontrolleina ovat Immunology control, taso 1 (MAS1), josta analysoidaan transferrini sekä Immunology control, taso 3 (MAS3), josta analysoidaan CRP ja transferrini.

Laite ilmoittaa myös tietyn ajanjakson välein, jolloin vakiointi on tehtävä uudelleen, sekä reagenssierien vaihtuessa. Vakiointi ISE- yksikölle tehdään kerran vuorokaudessa. Vakioina käytetään Olympus systeemikalibraattoria, jota käytetään vakioimaan seuraavat tutkimukset: alat, asat, afos, alb, amyl, bil, bil-Kj, gluk, Ca, krea, CK, GT, Pi, kol, trigly, prot, Fe ja uraatti. CRP:n vakiointiin käytetään latex calibrator highly sensitive set. Kaliumin ja natriumin vakiointiin ISE Low Serum Standardia ja ISE High Serum Standardia. HDL- kolesterolin vakiointiin käytetään HDL- cholesterol calibrator for clinical chemistry analysers- vakiota. LDL- kolesterolin vakiointiin käytetään Olympus LDL-cholesterol calibrator- vakiota sekä transferrinin vakioimiseksi käytetään Olympus serum protein multi-calibrator vakiota. Työssä käytetyt reagenssit on lueteltu liitteessä 2 (AU640 User Guide Version 2.1.)

3.2 AU - yksikkö

Robotti- ruisku jakaa reagenssi 1:stä kyvetteihin, jotka ovat pyörivässä kyvettipyörässä. Ionivaihdettua vettä käytetään reagenssi 1:n laimentamiseen, nämä kaksi liuosta on sekoitettu. Pieni määrä näytettä lisätään kyvettiin. Nämä sekoittuvat homogeeniseksi nesteeksi. Toinen ruisku lisää reagenssi 2:sta kyvetteihin ja sekoittaa jälleen kerran. Näyteseos ohittaa fotometrin. Valkoinen valo läpäisee seoksen ja mittaa sen optisen tiheyden (OD). Reaktio tapahtuu reagenssin ja tutkittavan analyytin välillä. Tämä reaktio tuottaa muutoksen absorbanssissa, jonka laite mittaa. Lopuksi seos imetään pois kyvetistä ja kyvetti pestään ja kuivataan ennen kuin se palaa takaisin näytteen siirto- tilaan ja on valmiina uuteen analyysiin. Laite pesee jokaisen osan systeemistä, tutkimus ja sekoitusyksiköissä, kun niitä on käytetty (AU640 User Guide Version 2.1).

3.3 Olympuksen ISE- yksikkö

ISE- yksiköllä voidaan mitata natrium Na^+ - kalium K^+ - ja kloridipitoisuuksia. Se mittaa potentiometrisesti ja on sisäänrakennettu, mutta itsenäinen testiyksikkö. Tämä yksikkö mittaa potentioeroa ioniselektiivisen elektrodin ja referenssielektrodin välillä.

Näytettä annostellaan pieni määrä ISE- yksikön näyteastiaan. Tarkka määrä laimennusliuosta lisätään näytteeseen ja ISE- yksikön oma sekoitin sekoittaa näytteen ja liuoksen. Seos kulkeutuu ioniselektiivisen elektrodin mittauspisteeseen ja mittauksen jälkeen seos pumpataan jäteastiaan (AU640 User Guide Version 2.1).

3.4 Kliinisen kemian menetelmät

Työssä käsiteltyjen analyyttien määritysmenetelmien periaatteet esitellään tässä luvussa. Laite käyttää analysoinneissa fotometrisiä menetelmiä sekä ioniselektiivisiä elektrodeja.

3.4.1 Kineettinen fotometria

Absorbanssia seurataan ajan funktiona. Seurannan kohteena voi olla lähtöaineiden väheneminen tai tuotteiden muodostuminen. Muutos on suoraan verrannollinen näytteen sisältämän entsyymin määrään. Menetelmässä mitataan absorbanssin muutosta. Kineettisiä määryksiä käytetään mm. entsyymaattisissa tutkimuksissa (Jaarinen - Niiranen 2000:59.)

3.4.2 Kolorimetrinen menetelmä

Kolorimetrinen menetelmä mittaa väriä, joka on muodostunut kemiallisen reaktion lopputuloksena. Kun näytteestä tutkitaan haluttua yhdistettä, se reagoi näytteeseen lisättävän reagenssin kanssa muodostaen väriyhdisteen, joka voidaan mitata fotometrisesti. Muodostuneen värillisen yhdisteen absorbanssi on verrannollinen näytteestä mitattavan analyytin kanssa (Olympus clinical chemistry reagent guide 2006.)

3.4.3 Immunoturbidimetrinen menetelmä

Tutkittava analyytti reagoi reagenssissa olevan vasta-aineensa kanssa ja ne yhdessä muodostavat samentuman, jota mitataan. Samentuma on verrannollinen näytteen sisältämän analyytin pitoisuuteen. Tutkimukset ovat osoittaneet reaktion antigeenin ja vasta-aineen välillä alkavan millisekunneissa ja jatkuvan tunteja. Turbidimetriä käytettäessä on tärkeää, että reagenssit ja seerumi ei sisällä partikkeleita, jotka voivat aiheuttaa hajasirontaa. Menetelminä voidaan käyttää päätepistemenetelmää tai kineettistä menetelmää.

Turbidimetriä on menetelmä, jossa mitataan tavallisella fotometrillä näytekyvetin läpi sironneen valon lisäksi heijastuneen (reflektoituneen) ja absorboituneen valon kokonaismäärää. (Niemelä ym. 2010: 58; Bishop ym. 2000: 109.)

3.4.4 Entsymaattinen fotometria

Entsymaattisessa menetelmässä on yleensä kaksi vaihetta.

Tutkittava yhdiste muutetaan entsyymattisen reaktion avulla toiseksi yhdisteeksi, tässä vaiheessa kulutetaan entsyymattisen reaktion substraatti lähes loppuun. Tämä saadaan tapahtumaan siten, että syntynyt reaktiotuote toimii lähtöaineena toisessa entsyymattisessa reaktiossa, jonka lopputuotetta mitataan. Tämä lopputuote voi olla värillinen tai voidaan mitata esimerkiksi NADH:n muodostumista (esimerkiksi glukosimittaus). Syntyneen lopputuotteen absorbanssia mitataan ja tämä on suoraan verrannollinen näytteestä tutkittavan yhdisteen pitoisuuteen (Niemelä ym. 2010:67-70; Olympus clinical chemistry reagent guide 2006.)

Entsyymireaktioon vaikuttavat pH, lämpötila, aktivaattorit, yleisin Mg^{2+} ja inhibiittorit (näitä ei ole, jos käytetään kertakäyttö putkia) sekä koentsyymit ja prosteettiset ryhmät. Entsyymattinen termi kattaa substraatti- ja entsyymiaktiivisuusmääritykset.

3.4.5 ISE- menetelmä

Potentiometria on määrittämenetelmä, jossa verrataan kahden elektrodin välistä jännite-eroa (potentiaalia) sähkökemiallisessa kennossa. Kenno ja mittalaite muodostavat suljetun piirin, jossa sähkövirran kuljetukseen liittyvät seuraavat ilmiöt:

ulkoisessa mittapiirissä tapahtuva elektronien virtaus metallijohteissa. Sähkön kulkeutuminen elektrolyyttiliuoksessa olevien ionien mukana ja elektrodien ja elektrolyyttiliuoksen välisellä rajapinnalla tapahtuvat reaktiot, joiden avulla edellä mainitut kuljetustavat voivat liittyä toisiinsa. Potentiometrisissä mittauksissa olosuhteet järjestetään siten, että toisen elektrodin potentiaali pysyy vakiona. Tätä elektrodia kutsutaan vertailu- eli referenssielektrodiksi. Toinen elektrodi on rakennettu niin, että se reagoi mitattavan ionin kanssa toimien määritettävälle aineelle spesifisenä indikaattorielektrodina (Niemelä ym. 2010: 62-63.)

ISE- määrykset voidaan tehdä suoralla tai epäsuoralla tavalla. Olympus- analysaattori käyttää epäsuoraa mittausta. Epäsuorassa mittauksessa näyte laimennetaan ISE- puskuriliuokseen ennen analysointia. Suorassa mittauksessa näytettä ei laimenneta.

4 Tutkimusongelma

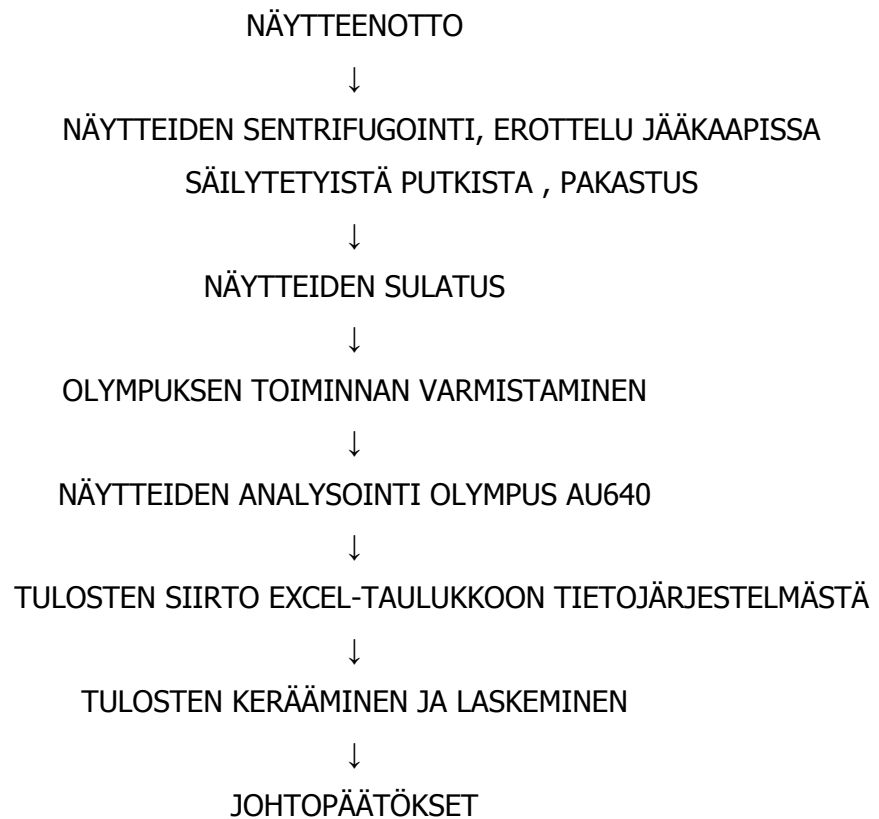
Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää näytteiden säilyvyys 7 vuorokauden ajan $+3\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $+7\text{ }^{\circ}\text{C}$ lämpötilassa ilman suojamateriaalia putkien päällä. Kuinka haihtuvuus vaikuttaa analyyttien pitoisuuteen seerumissa. Onko haihtuvuudella vaikutusta pitoisuutta nostavasti, laskevasti vai pysyväkö taso tutkimukselle määritellyn analyyttisen kokonaisvirheen rajoissa? Tutkimuksen pohjalta olisi tarkoitus miettiä suojamateriaalin tarpeellisuutta sekä pohtia parhainta vaihtoehtoa näytteiden suojamateriaaliksi.

Työn tulisi vastata kysymyksiin:

1. Miten haihtuvuus mahdollisesti vaikuttaa analyyttien säilyvyyteen? Kuinka analyyttien tasot muuttuvat: laskevatko, nousevatko vai pysyvätkö tasot tutkimukselle määritellyn analyyttisen kokonaisvirheen rajoissa?
2. Kuinka hyvin näytteet säilyvät ilman suojaa jääkaappilämpötilassa?
3. Miten pystytään asiakkaalle tarjoamaan luotettavasti lisäpyyntö-mahdollisuus?

5 Kliinisen kemian analyyttien säilyvyyden tutkiminen

Tässä kuvaan työni suorittamisen ja säilyvyyttä tarkasteltiin suorittamalla analyysit Olympus AU640- analysaattorilla. Alla olevassa kuvassa on kuvattuna prosessi kuvion muodossa. Työn suoritus alkaa näytteenotosta maanantaina, jolloin kaikkien vapaaehtoisten näytteet otettiin. Näytteenoton jälkeen näytteet käsitellään sentrifugoiden ja erotellaan ja pakastetaan 0- näytteet heti sentrifugoinnin jälkeen. Putket säilytetään jääkaapissa avonaisina, josta ne joka päivä erotellaan erotteluputkiin seitsemän vuorokauden ajan, lukuun ottamatta sunnuntaita, jolloin toimeksiantajan laboratorio ei ole auki ja nämä erotteluputket pakastetaan heti. Saman henkilön näytteet sulatetaan samalla kertaa ennen analysointia ja varmistetaan analysaattorin toiminta. Tämän jälkeen näytteet analysoidaan ja tulokset poimitaan tietojärjestelmästä. Analysoinnit olivat valmiina seitsemän vuorokauden jälkeen siitä, kun ensimmäiset näytteet analysoitiin. Tulokset käsitellään niin, että ne helppo käsitellä ja laskea tarvittavat tulokset. Tämä vaihe oli pitkäkestoisin. Tulosten muokkaamisessa kului aikaa kaksi viikkoa. Lopuksi tuloksien pohjalta tehdään johtopäätökset. Säilyvyyden tutkimisen kannalta kriittiset pisteet ovat näytteiden säilytys jääkaapissa ja pakastamisaika.



Kuvio 1. Säilyvyystutkimuksen suorituksen kuvaus

5.1 Näytteiden otto ja esikäsittely

Näytteet kerättiin samana päivänä 15 henkilöstä, jotka kuuluivat toimeksiantajan laboratorion henkilökuntaan. Paasto ei ollut ehdoton, koska tutkimuksella haluttiin tietoa säilyvyydestä. Näyteputkia otettiin kuusi kappaletta jokaiselta henkilöltä. Näyteputkina käytettiin 5 ml:n Vacuette-geeliputkia (Mekalasi). Seisotuksen jälkeen näytteet sentrifugoitiin käyttäen Heraus labofuge 300 (Thermo Scientific) sentrifugia kierrosluvulla $3,6 \times 1000$ 10 minuuttia arvioiden noin tunnin sisällä näytteenotosta. Näytteistä eroteltiin 0- näytteet välittömästi Mekalasin mekanismi-putkiin sentrifugoinnin jälkeen ja pakastettiin (Husqvarna Topas Plus, lämpötilaraja alle -20°C). Erottelu ja pakastaminen toistettiin 7 vuorokauden ajan. Säilytys tapahtui jääkaapissa geeliputkessa aina seuraavaan päivään (AEG, lämpötilaraja $+3^{\circ}\text{C} - +7^{\circ}\text{C}$) ennen erottelua. Eroteltu näytemäärä oli 0,5 ml jokaisesta putkesta.

Näytteille annettiin oma viivakoodinumero jokaiselle päivälle näytteen ajamista ja dokumentointia varten. Tulokset siirtyivät suoraan tietojärjestelmään, josta ne myöhemmin poimittiin suoraan excel-taulukkoon.

Saman henkilön kaikki näytteet sulatettiin yhtä aikaa ja tutkittiin samalla kertaa, jotta välttyttäisiin sarjojen välisiltä variaatioilta.

Valitut analyytit edustavat rutiinisti eniten pyydettyjä tutkimuksia. Liitteessä 1 on käytetyt tutkimukset ja niiden lyhenteet.

5.2 Tutkimusten analysointi

Aamulla tarkastettiin ensin laitteen toimintakyky AU-yksiköltä ja ISE-yksiköltä, lisättiin reagensseja tarvittaessa sekä ajettiin kontrollit.

Näytteet asetettiin telineisiin ja tutkimukset suoritettiin viivakoodin avulla.

Saman potilaan kaikki seitsemän vuorokauden aikana kerätyt näytteet sulatettiin ja ajettiin Olympus analysaattorilla yhtä aikaa, jotta sarjojen välisiltä variaatioilta välttyttäisiin. Näytteet ajettiin potilasnäytteiden seassa ja tutkimukset toteuttivat laboratorion henkilökunta. Tulokset siirtyivät viivakoodin ansiosta suoraan tietokantaan,

josta myöhemmin tulokset poimittiin omaan excel- taulukkoon tulosten käsittelyä varten.

5.3 Tulosten tilastollinen käsittely

Näytteistä lasketaan keskiarvo, keskihajonta, vaihteluväli ja muutos- %. Muutos-% on päivittäinen tärkein muuttuja, jota seurataan. Keskiarvon perusteella on laskettu muutos-% ja vaihteluväli havainnollistaa tulosten jakaumaa.

6 Tulokset

Tuloksia verrataan sallittuun analyyttiseen kokonaisvirheeseen analyyttikohtaisesti sekä Hanna Sipin opinnäytteessä saatuihin tuloksiin samoilla analyyteillä, joita käytän omassa työssäni. Yhden potilaan näytteet hylättiin tarkastelusta, koska hänen kohdallaan yhden päivän analysoinnit eivät onnistuneet syystä, johon ei ole selitystä.

Tulosten tarkastelussa aluksi tulokset poimittiin tietojärjestelmästä excel- taulukkoon, jota muokattiin vielä käsittelykelpoiseksi. Tällä tarkoitan sitä, että kun tulokset poimittiin tietojärjestelmästä, kaikki tulokset olivat yhtenäisesti, ei eriteltyinä. Tulokset muokattiin niin, että aina yhden henkilön tulokset olivat järjestyksessä tutkimuksen ja päivien osalta, jolloin tuloksia oli helpompi lähteä järjestelemään valittujen tilastollisten tarkastelujen mukaisesti. Excelin avulla tuloksista laskettiin keskiarvot, keskihajonta sekä muutos-%.

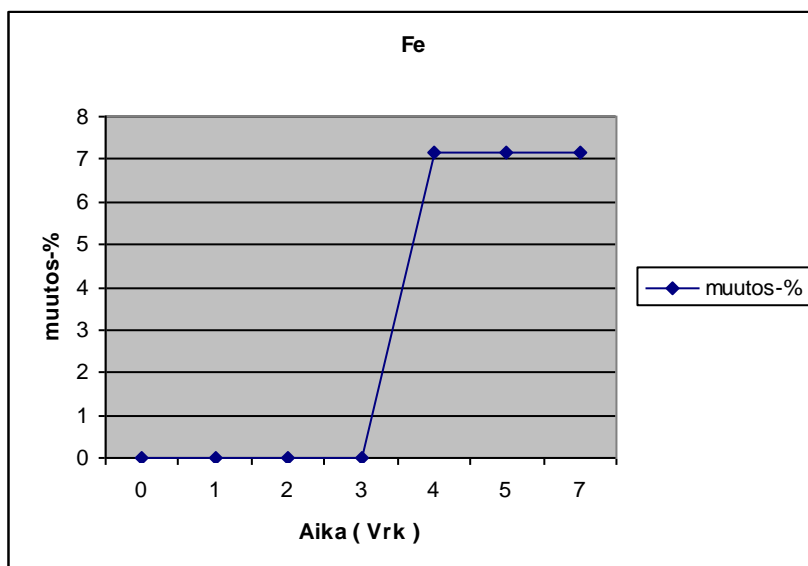
Korkilla varustetut putket olivat niin sanottuja 0- näyteputkia. Näihin laskettiin kaikkien 0- tulos yhteen ja laskettiin keskiarvo sekä keskihajonta. Tämä tulos oli pohjatulos, johon verrattiin muiden päivien tulostasoa. Kaikki tulokset eivät ole viitearvojen välillä, koska paastoa ei edellytetty, eikä tulosten tarkastelussa ole otettu huomioon joidenkin tutkimusten viitearvojen osalta sukupuoli ja ikää tulkinnassa, koska tutkimuksen tavoitteena oli seurata näytteen säilyvyyttä. Alla olevassa taulukossa (taulukko 1) on esimerkkinä osoitettu albumiin ja proteiinin 0- putkien keskiarvojen ja keskihajonnan laskeminen. Saatuun keskiarvo tulokseen verrataan muiden päivien tuloksia. Sarakkeeseen koostettiin kaikkien henkilöiden 0-putkien tulokset.

Taulukko 1. Albumiinin ja proteiinin keskiarvon ja keskihajonnan 0- putken tuloksen muodostuminen

S -Alb	Muutos- %	S -Prot
44		71
43		72
46		77
48		72
42		71
39		65
47		73
40		71
47		82
46		72
47		76
46		74
49		73
50		79
KA 45		KA 73
SD 3,27		SD 4,11

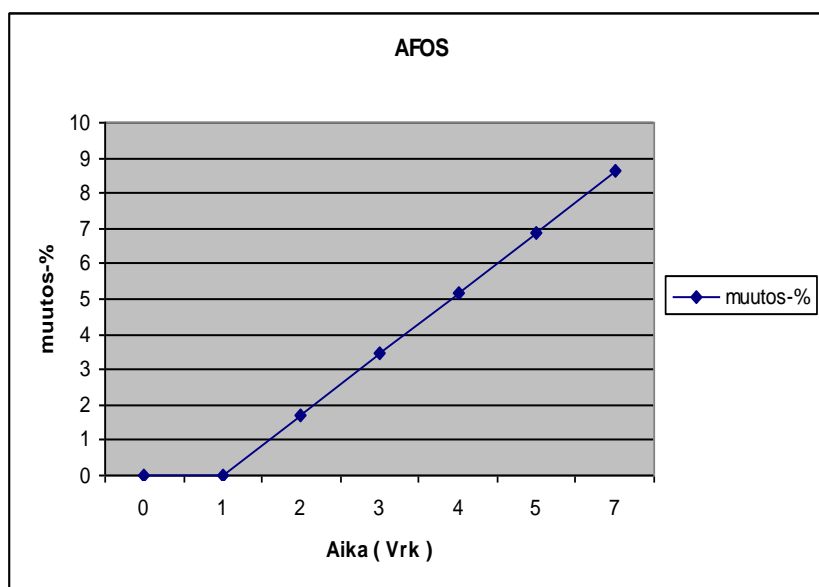
Tuloksia tarkastellessa analyyttiseen kokonaisvirheeseen kymmenen tutkittavan analyysin tulokset jäävät alle kokonaisvirheen, sallittu analyttinen kokonaisvirhe suluissa tutkimuksen perässä. Nämä analyytit olivat LDL- kolesteroli ($\pm 10\%$), konjugoitunut bilirubiini ($\pm 12\%$), C- reaktiivinen proteiini ($\pm 15\%$), transferrini ($\pm 8\%$), rauta ($\pm 12\%$), amylaasi ($\pm 12\%$), alkaalinen fosfataasi ($\pm 12\%$), alaniiniaminotransferaasi ($\pm 12\%$), glutamyyliaminyltransferaasi ($\pm 12\%$) sekä kreatiiniinikinaasi ($\pm 12\%$). Nämä kaikki analyytit säilyivät seitsemän vuorokautta (Yleiskemian laatutavoitteet 1994.)

Kuviossa 1 on esitetty raudan muutos-%:n muutos suhteessa aikaan. Kuvioista huomataan, että muutos-% pysyy tasaisena kolmanteen vuorokauteen saakka ja nousee sen jälkeen pysyen tasaisena ajanjakson loppuun saakka. Sallittu analyttinen kokonaisvirhe raudalla on $\pm 12\%$ ja tutkimuksen korkein muutos-% oli 7,14% (Yleiskemian laatutavoitteet 1994.)



Kuvio 1. Raudan muutos-%:n muutos suhteessa aikaan

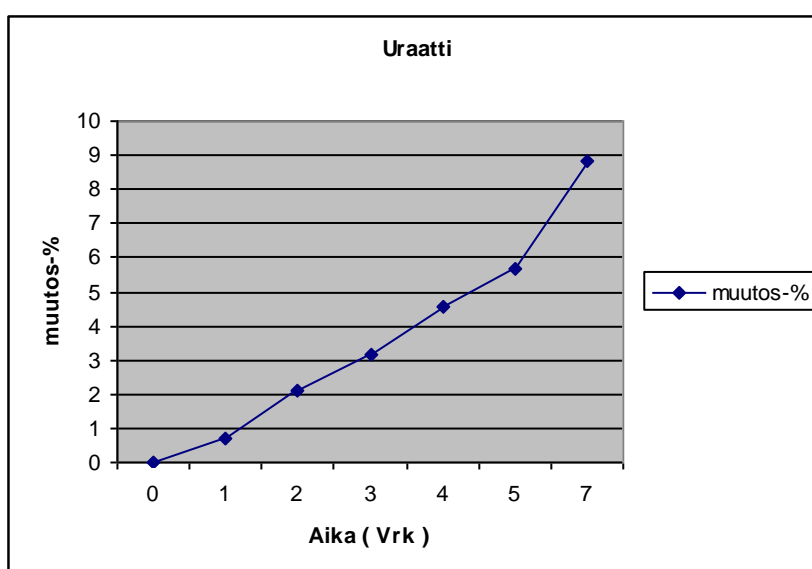
Kuviossa 2 on esitetty alkaalisen fosfaatin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan. Kuvioista huomaa, että muutos-% kasvaa koko ensimmäisen vuorokauden jälkeen tasaisesti. Sallittu analyttinen kokonaisvirhe on $\pm 12\%$ ja tutkimuksen aikana korkein muutos-% oli 8,62% (Yleiskemian laatutavoitteet 1994.)



Kuvio 2. Alkaalisen fosfaatin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan

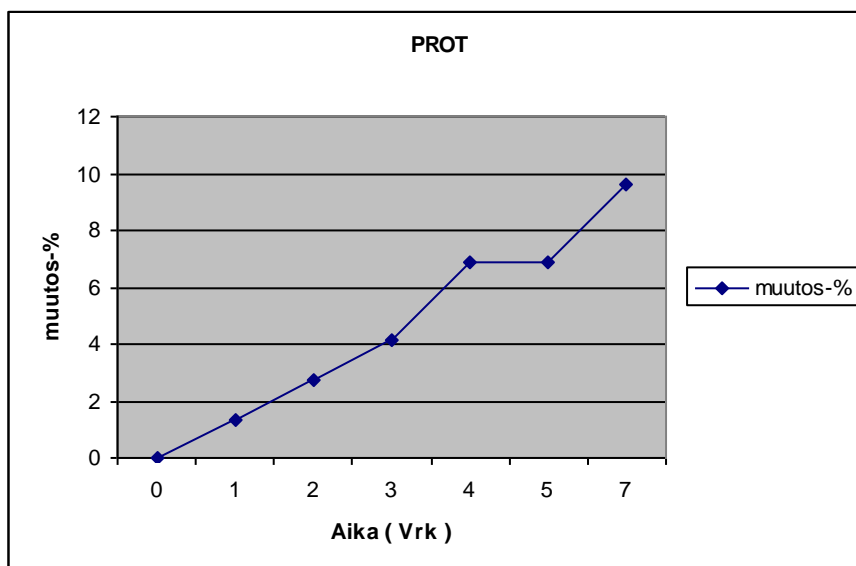
Aspartaattiaminotransferaasi ($\pm 12\%$), uraatti ($\pm 8\%$), bilirubiini ($\pm 12\%$), triglyseridit ($\pm 15\%$), HDL- kolesteroli ($\pm 10\%$), kreatiniini ($\pm 8\%$) näyttäisivät mittauskelpoisilta viiteen vuorokauteen saakka. Glukoosi ($\pm 6\%$) säilyisi neljä vuorokautta. Kolmen vuorokauden säilyvyys oli proteiinilla ($\pm 5\%$), albumiinilla ($\pm 5\%$), kolesterolilla ($\pm 5\%$), fosfaatilla ($\pm 6\%$) ja kaliumilla ($\pm 4\%$) (Yleiskemian laatutavoitteet 1994.)

Kuviossa 3 on esitetty uraatin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan. Kuviossa huomataan, että pitoisuus nousee tasaisesti koko ajan. Uraatin sallittu analyttinen kokonaisvirhe on $\pm 8\%$ ja ylitys saavutettiin seitsemäntenä vuorokautena, jolloin muutos-% on 8,83% (Yleiskemian laatutavoitteet 1994.)



Kuvio 3. Uraatin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan

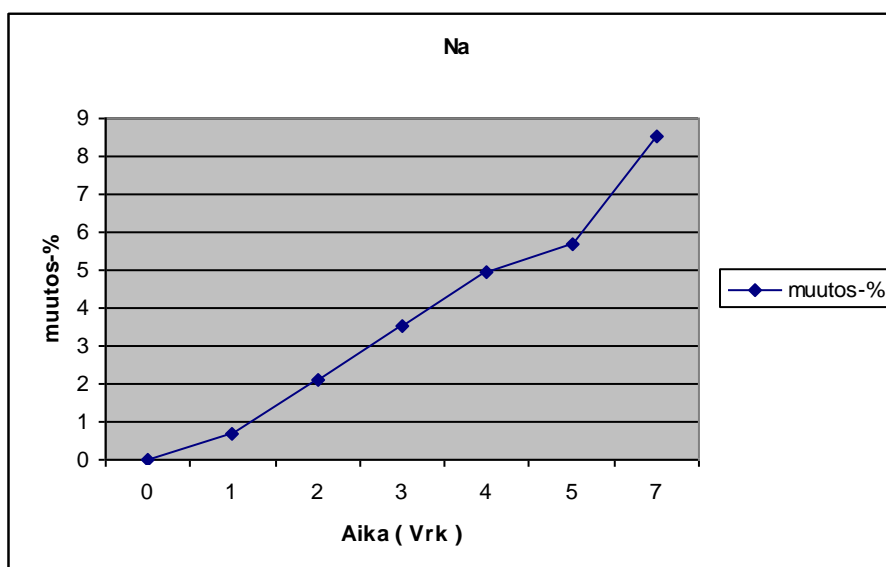
Kuviossa neljä on kuvattu proteiinin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan. Muutos-% kohoaa tasaisesti koko ajan. Proteiinin sallittu analyttinen kokonaisvirhe on $\pm 5\%$. Tämä ylittyy neljäntenä vuorokautena. Korkein muutos-% 9,59% (Yleiskemian laatutavoitteet 1994.)



Kuvio 4. Proteiinin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan

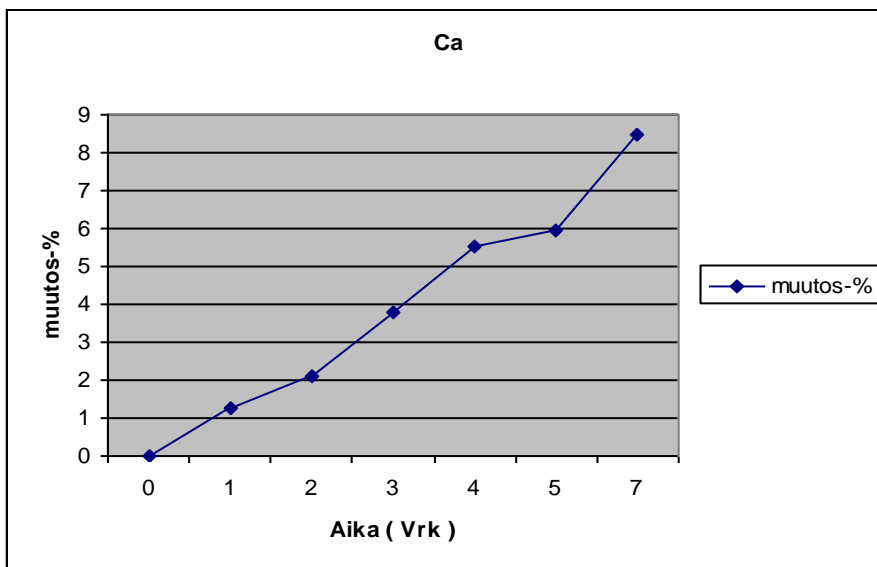
Huonoiten säilyivät kalsium ($\pm 3\%$), 2 vuorokautta sekä natrium ($\pm 2\%$), joka säilyi 1 vuorokauden (Yleiskemian laatutavoitteet 1994.)

Kuviossa 5 on kuvattu natriumin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan. Muutos-% kasvaa koko ajan tasaisesti. Sallittu analyttinen kokonaisvirhe on $\pm 2\%$, joka ylittyy toisena vuorokautena. Korkein muutos-% oli 8,5% (Yleiskemian laatutavoitteet 1994.)



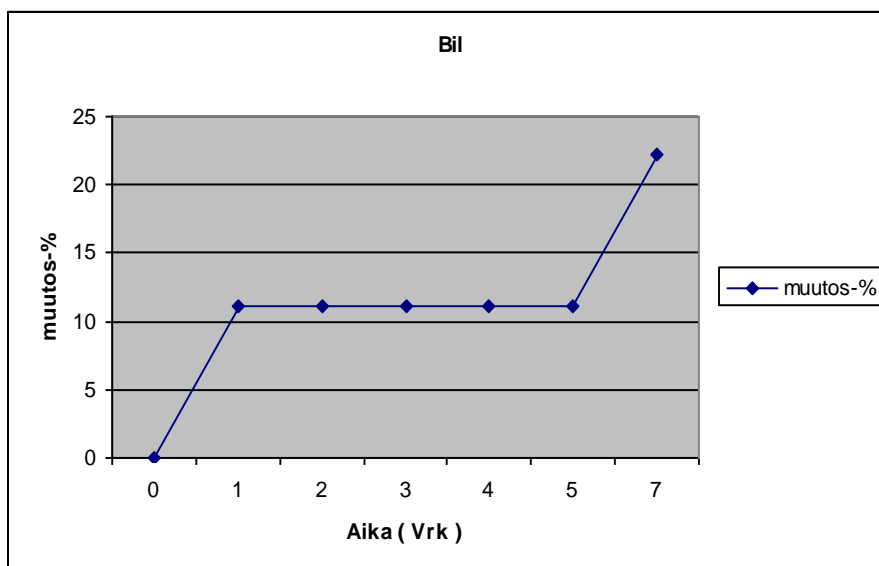
Kuvio 5. Natriumin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan

Kuviossa 6 on esitetty kalsiumin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan. Muutos-% nousee tasaisesti koko ajan. Kalsiumin sallittu analyttinen kokonaisvirhe on $\pm 3\%$, ja tämä ylittyy jo toisena vuorokautena. Korkein muutos-% oli 8,5% (Yleiskemian laatutavoitteet 1994.)



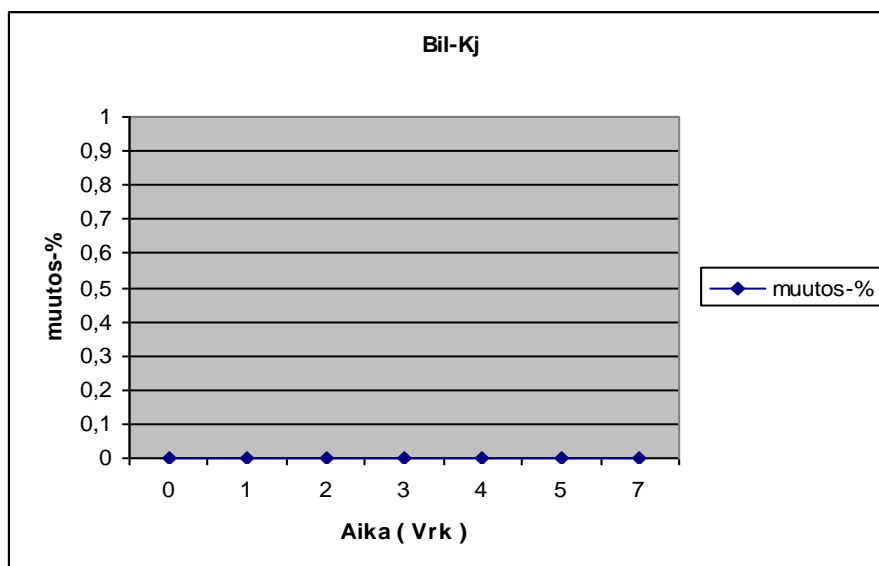
Kuvio 6. Kalsiumin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan

Bilirubiini ja konjugoitunut bilirubiini säilyy erittäin hyvin, vaikka näytteenoton ja säilytyksen aikana putkia ei suojattu valolta lainkaan. Kuviossa 7 on bilirubiinin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan. Kuviosta huomaa, että ensimmäisen vuorokauden aikana nousu on jyrkkä, mutta pysyy alle kokonaisvirheen $\pm 12\%$ ennen kuin se nousee rajusti 7 vuorokauden kohdalla 22,2%:iin. Tällöin nousu on puolet aiemmasta noususta (Yleiskemian laatutavoitteet 1994).



Kuvio 7. Bilirubiinin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan

Kuviossa 8 on konjugoituneen bilirubiinin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan. Konjugoitunut bilirubiini säilyy 7 vuorokautta muuttumattomana. Sallittu analyttinen kokonaisvirhe on sama kuin bilirubiinilla $\pm 12\%$ (Yleiskemian laatutavoitteet 1994).



Kuvio 8. Konjugoituneen bilirubiinin muutos-%:n muutos suhteessa aikaan

Tuloksia verrattaessa WHO:n säilyvyysaikoihin ainoastaan kuusi analyttiä säilyisi suositusten mukaisesti saman ajan. Nämä analyytit ovat amylaasi, afos, konjugoitunut

bilirubiini, GT, alat sekä LDL- kolesteroli. Kaikki muut tulokset jäävät selvästi säilyvyysajoista huonommiksi. Natriumille säilyvyysaika jääkaappilämpötilassa on 2 viikkoa, ja kalsiumille kolme viikkoa. Avonaisina säilytetyissä putkissa nämä analyytit säilyvät vain 1-2 vuorokautta. Hannan tuloksia verrattaessa WHO:n säilyvyksiin, 13 analyyttiä säilyy saman ajan. Taulukossa 2 on esitetty vuorokausina WHO:n, Hanna Sipin säilyvydet vuorokausina sekä tämän työn tulokset vuorokausina.

Taulukko 2. Säilyvydet WHO, Sipi ja Härmä

Säilyvydet WHO, Sipi, Härmä

	WHO 4-8 °c	Sipi	Härmä
ALB	5 kk	7 vrk	3 vrk
AMYL	7 pv	7 vrk	7 vrk
AFOS	7 pv	7 vrk	7 vrk
Bil-Kj	7 kk	7 vrk	7 vrk
BIL	7 pv	7 vrk	5 vrk
Ca	3 vko	7 vrk	2 vrk
Kol	7 pv	7 vrk	3 vrk
CK	1 kk	7 vrk	7 vrk
Krea	7 pv	7 vrk	5 vrk
CRP	2 kk	7 vrk	7 vrk
Fe	3 vko	7 vrk	7 vrk
PROT	4 vko	7 vrk	3 vrk
GT	7 pv	7 vrk	7 vrk
GLUK	7 pv	7 vrk	4 vrk
ASAT	7 pv	7 vrk	5 vrk
ALAT	7 pv	7 vrk	7 vrk
HDL	7 pv	7 vrk	5 vrk
LDL	7 pv	7 vrk	7 vrk
Uraat	7 pv	7 vrk	5 vrk
K	6 vko	6 vrk	3 vrk
Na	2 vko	7 vrk	1 vrk
Pi	4 pv	7 vrk	3 vrk
Transf	8 kk	7 vrk	7 vrk
Trigly	7 pv	7 vrk	5 vrk

vrk = vuorokausi

pv = päivä

kk = kuukausi

6.1 Vertailu Hanna Sipin opinnäytetyön tuloksiin

Hanna Sipin opinnäytteessä putkia säilytettiin jääkaappilämpötilassa korkitettuina. Kun tarkastelen tuloksia vertaamalla Hannan tutkimuksessa saatuja muutos-% analyttiseen kokonaisvirheeseen, tulokset kertoisivat näytteiden säilyvän parhaiten korkitettuina. Ainoana kalium säilyi 4 vuorokautta suljettuna, vuorokauden pidempään kuin avonaisena säilytetty.

Taulukko 3. Hanna Sipin suljetut seerumi-geeliputket verrattuna avonaisiin seerumi-geeliputkiin jääkaappilämpötilassa 4 – 8 °C

Gluk								Anal.
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	kok.virhe
muutos-%	0	1,9	1,9	3,7	5,6	7,4	9,3	± 6 %
Sipi m-%	0	0	-0,08	0,23	0,7		0,63	
Krea								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-%	0	0	2,7	2,7	5,3	6,7	10,7	± 8 %
Sipi m-%	0	-0,6	0,06	0,42	2,62		5	
Na								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-%	0	0,7	2,1	3,6	5,0	5,7	8,5	± 2 %
Sipi m-%	0	-0,08	0,03	0,11	0,52		0,85	
K								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-%	0	2,3	0	2,3	4,7	7,0	11,6	± 4 %
Sipi m-%	0	0,09	0,75	1,77	3,08		5,04	
Ca								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-%	0	1,3	2,1	3,8	5,5	5,9	8,5	± 3 %
Sipi m-%	0	1,11	1,28	1,59	1,19		0,86	
Pi								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-%	0	1,8	3,5	5,3	6,2	7,1	10,6	± 6 %

%								
Sipi m-%	0	0,3	0,23	1,07	1,01		3,29	
Kol								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-								
%	0	0	1,9	3,9	5,8	7,7	9,6	± 5 %
Sipi m-%	0	0,25	0,25	0,67	0,67		1,24	
HDL								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-								
%	0	0	5,9	5,9	5,9	5,9	11,8	± 10 %
Sipi m-%	0	-0,51	-0,76	-0,51	-0,51		0	
LDL								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-								
%	0	0	0	3,3	3,3	3,3	3,3	± 10 %
Sipi m-%	0	0,31	-0,16	-0,16	0,31		-0,47	
Trigly								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-								
%	0	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	18,2	± 15 %
Sipi m-%	0	5,73	4,69	5,21	3,12		5,73	
Bil								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-								
%	0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	22,2	± 12 %
Sipi m-%	0	-2,46	-4,21	-4,56	-7,72		-11,58	
Bil-Kj								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-								
%	0	0	0	0	0	0	0	± 12 %
Sipi m-%	0	0	-5	-5	-10		-10	
ALB								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-								
%	0	2,22	2,22	4,44	6,66	6,66	8,88	± 5 %
Sipi m-%	0	0,17	-0,09	0,52	0,43		0,61	
PROT								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	

muutos- %	0	1,36	2,74	4,11	6,85	6,85	9,59 ± 5 %
Sipi m-%	0	0,21	0,26	0,89	1		1,62
CRP							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
muutos- %	0	5	10	10	10	15	15 ± 15 %
Sipi m-%	0	0,67	1,34	2,01	3,02		-2,01
Uraat							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
muutos- %	0	0,7	2,12	3,18	4,59	5,65	8,83 ± 8 %
Sipi m-%	0	0,28	0,04	1,15	-0,73		1,79
Transf							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
muutos- %	0	-6,67	-6,67	-3,33	-3,33	-3,33	0 ± 8 %
Sipi m-%	0	-0,14	-0,14	0,28	0,56		0,97
Fe							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
muutos- %	0	0	0	0	7,14	7,14	7,14 ± 12 %
Sipi m-%	0	0,25	0,25	0,25	0		1,47
Amyl							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
muutos- %	0	1,75	1,75	3,51	7,02	7,02	8,77 ± 12 %
Sipi m-%	0	-0,34	-0,28	0,22	0,45		1,12
Afos							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
muutos- %	0	0	1,72	3,45	5,17	6,9	8,62 ± 12 %
Sipi m-%	0	-0,27	0,14	0,55	0,41		0,2
Asat							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
muutos- %	0	4,17	4,17	8,33	8,33	8,33	12,5 ± 12 %
Sipi m-%	0	0,16	1,26	2,04	1,88		2,51
Alat							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
muutos- %	0	-3,7	0	-3,7	0	0	-3,7 ± 12%

%								
Sipi m-%	0	-3,56	3,56	2,77	7,91		8,7	
GT								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-								
%	0	0	0	5,56	5,56	5,56	5,56	± 12%
Sipi m-%	0	0	0	0,19	0,19		-0,38	
CK								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
muutos-								
%	0	0,7	1,41	3,52	4,93	5,63	8,45	± 12 %
Sipi m-%	0	0,17	0,12	1,08	1,12		0,96	

6.2 Yhteenveto tuloksista

Yhteenvetona tuloksista on, että näytteet säilyvät parhaiten korkitettuina tai jollakin suojamateriaalilla suojattuna jääkaappilämpötilassa. Osa tutkimuksista säilyy hyvinkin pidempiä aikoja, mutta suurimman osan analyyttien tuloksista kohoavat yli sallitun kokonaisvirherajan tämän tutkimuksen aikana. Tulokset nousevat tasaisesti kaikilla analyyteillä mittauksen aikana. Haihtumisella on suurin merkitys tulostason kohoamisessa. Kaikkia näytteitä joudutaan pakostakin säilyttämään samalla tavalla, joten suojaaminen on tarpeellista lisäpyyntöjä ajatellen.

7 Tulosten luotettavuuden arviointi

Tulosten luotettavuutta arvioitaessa ensimmäisenä tulee mieleen näytteiden sentrifugointi ja erottelut päivittäin erotteluputkiin. Sentrifugointi tapahtui tunnin sisällä näytteenotosta, mutta seisotusaikoja ei dokumentoitu. Joku näyte saattoi seisoa vähemmän tai enemmän aikaa kuin toinen näyte. Sentrifugointiviiveellä voi olla vaikutusta kaliumin, fosfaatin ja glukoosin määrityksissä. Erottelu tapahtui joka päivä lähes samaan aikaan. Yhden vapaaehtoisen tulokset jouduttiin hylkäämään, koska yhdeltä päivältä ei tuloksia saatu. Mahdollisesti yhden päivän seerumi näytteet jäivät erottelematta tältä vapaaehtoiselta, jolloin mittaukset hylättiin kokonaisotoksesta.

Näytteiden analysointivaiheessa laitteen toimintavarmuus oli varmistettu ja näytteiden analysointi tapahtui potilasnäytteiden joukossa. Lisäksi analysoinnit suorittivat laboratorion henkilökunta, joka ammattitaitoinen ja osaavat puuttua laitteen ilmoittamiin virheilmoituksiin tarvittaessa.

Tuloksien koostamisessa ja tarkastelussa inhimillinen virhe on huomioonotettava tekijä. Näytemäärä oli suuri ja käsittelyssä laskettiin useiden välivaiheiden kautta tulokset lopulliseen muotoon. Lisäksi en itse ole tottunut käsittelemään näin suurta informaatiomäärää, joten tarkkuutta vaadittiin paljon.

Haihtuvuus selvästi vaikuttaa näytteiden säilyvyyteen. Ainoastaan kymmenen analyyttiä jää analyyttisen kokonaisvirheen rajoihin. Suurin osa analyyteistä säilyy kolmesta viiteen vuorokautta. Tasot nousevat tasaisesti kaikilla analyteilla. Pakastamisella erottelun jälkeen voi olla tasoihin tasaavampi vaikutus, kuin jos näytteitä olisi säilytetty analysointiin saakka jääkaapissa. Asiakkaille lisäpyyntö mahdollisuus voidaan luotettavasti taata silloin, kun näytteet ovat suojattu.

8 Pohdinta

Opinnäytteen näytteiden kerääminen paikan päällä vapaaehtoisista toimeksiantajan laboratorion työntekijöistä jättää välistä todellisen tilanteen, jolloin näytteet otetaan jossain muualla ja kuljetetaan laboratorioon analysoitavaksi. Tulokset voisivat olla toisenlaisia, jos näytteet olisivat tulleet muualta ja samalla olisi katsottu kuljetusaikaa sekä kuinka ja missä ajassa näytteet olisi käsitelty lähettävässä laboratoriossa. Tällä olisi voinut olla vaikutusta säilyvyyteen.

WHO:n säilyvyysajat on annettu erotellulle seerumille. Näistä säilyvyysajoista jäädään huomattavasti tuloksien perusteella, kuten taulukossa 2 on aiemmin esitetty.

Korkeiden ja matalien tuloksien säilyvyyttä voisi tarkastella erillisellä tutkimuksella. Lisäksi konjugoitunut bilirubiini ja bilirubiini säilyi poikkeuksellisen hyvin, vaikka putkia ei suojattu valolta missään vaiheessa. Kehittämistehtävänä varmaan olisi hyvä vaihtoehto tutkia onko suojaaminen valolta tarpeellista.

Hanna Sipin opinnäytetyö puoltaa suojamateriaalin käyttöä näytteitä säilytettäessä lisäpyyntöjä varten. Kalsium ja natrium, jotka säilyivät tässä työssä huonosti, säilyisivät suljettuina 7 vuorokautta.

Näytteitä joudutaan suojamaan lisäpyyntöjen varalle vastaisuudessakin ja paras vaihtoehto näyttäisi olevan parafilmin käyttäminen edelleen. Folio on ongelmajätettä ja korkittaminen on kallis ja aikaa vievä vaihtoehto. Myös työntekijöiden käsien rasittaminen tarpeettomasti ei ole hyvä ratkaisu.

LÄHDELUETTELO

Tuokko, Seija – Rautakoski, Anja – Lehto, Liisa 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi

Jaarinen, Soili – Niiranen, Jukka 2000. Laboratorion analyysitekniikka. Helsinki: Edita

Niemelä, Onni – Pulkki, Kari (toim.) 2010. Laboratoriolääketiede kliininen kemia ja hematologia. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy

Guder, W.G – Narayanan, S – Wisser, H – Zanta, B 2009. Diagnostic samples: From the patient to the laboratory. 4. painos.

Heins, Michael – Heil, Wolfgang – Withold, Wolfgang 1995. Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature. Clinical chemistry and laboratory medicine vol. 33 (4)

Siloaho, Maritta 2000. Miten saada näyte säilymään analysointiin saakka? Moodi 2000/6 vsk. 24

AU640 User Guide Version 2.1

Olympus. Olympus America. Verkkodokumentti. <<http://olympusamerica.com>> luettu 10.10.2011

World health organization 2002. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations

Yleiskemian laatutavoitteet 1994. Moodi. Erillisjulkaisu.

Olympus clinical chemistry reagent guide 2006. Germany. Version 0.2

Laboratoriokäsikirja. VITA terveystalvelut Oy. Verkkodokumentti. <<http://www.vita.fi>> luettu 14.9.2011

LIITTEET

LIITE 1 TUTKIMUKSEEN MUKAAN VALITUT ANALYYTIT JA LYHENTEET

S-ALB Albumiini
S-AMYL Amylaasi
S-AFOS Alkaalinen fosfataasi
S-Bil-Kj Konjugoitunut bilirubiini
S-BIL Bilirubiini
fS-Ca Kalsium
fS-Kol Kolesteroli
S-CK Kreatiini
fS-Krea kreatiniini
S-CRP C-reaktiivinen proteiini
fS-Fe Rauta
S-PROT Proteiinimääritys
S-GT Glutamyylitransferaasi
fS-GLUK Sokeri
S-ASAT Aspartaattiaminotransferaasi
S-ALAT Alaniiniaminotransferaasi
fS-Kol-HDL Kolesteroli, High density lipoproteiinit
fS-kol-LDL Kolesteroli, Low density lipoproteiinit
S-Uraat Uraatti
S-K Kalium
S-Na Natrium
fS-Pi Fosfaatti, epäorgaaninen
fS-Transf Transferriniini
fS-Trigly Triglyseridit

LIITE 2 OPINNÄYTTEESSÄ KÄYTETYT REAGENSIT ANALYYTTIKOHTAISESTI

- S-ALB Olympus system reagent, albumin
- S-AMYL Olympus system reagent α - amylase EPS liquid
- S-AFOS Olympus system reagent, alkaline phosphatase
- S-Bil-Kj Olympus system reagent, direct bilirubin
- S-BIL Olympus system reagent, total bilirubin
- fS-Ca Olympus system reagent, calcium
- fS-Kol Olympus system reagent, cholesterol
- S-CK Olympus system reagent, CK-NAC
- fS-Krea Olympus system reagent, creatinine
- S-CRP Olympus system reagent, CRP latex
- fS-Fe Olympus system reagent, iron
- S-PROT Olympus system reagent, total protein
- S-GT Olympus system reagent, GT
- fS-GLUK Olympus system reagent, glucose
- S-ASAT Olympus system reagent AST/GOT, pyridoksaalifosfaatti
- S-ALAT Olympus system reagent ALT/GPT pullot 1 ja 2, pyridoksaalifosfaatti
- fS-Kol-HDL Kolesteroli Olympus system reagent, HDL cholesterol
- fS-kol-LDL Kolesteroli Olympus system reagent, LDL cholesterol
- S-Uraat Olympus system reagent, uric acid
- S-K K- elektrodi, referenssi elektrodi, reference internal solution, reference solution, puskuri mid standard
- S-Na Na- elektrodi, referenssi elektrodi, reference internal solution, reference solution, puskuri mid standard
- fS-Pi Olympus system reagent, inorganic phosphorus
- fS-Transf Olympus system reagent, transferrin
- fS-Trigly Olympus system reagent, triglyseride

Lähde: Työohjeet, VITA

LIITE 3 WHO:N SÄILYVYYSAJAT ANALYYTEILLE

	- 20 °C	4-8 °C
S-ALB	4 kk	5 kk
S-AMYL	12 kk	7 pv
S-AFOS	2 kk	7 pv
S-Bil-Kj	6 kk	7 kk
S-BIL	6 kk	7 pv
fS-Ca	8 kk	3 viikkkoa
fS-Kol	3 kk	7 pv
S-CK	1 kk	1 kk
fS-Krea	3 kk	7 pv
S-CRP	3 vuotta	2 kk
fS-Fe	12 kk	3 viikkkoa
S-PROT	12 kk	4 viikkkoa
S-GT	12 kk	7 pv
fS-GLUK	1 pv	7 pv
S-ASAT	3 kk	7 pv
S-ALAT	7 pv	7 pv
fS-Kol-HDL	3 kk	7 pv
fS-kol-LDL	3 kk	7 pv
S-Uraat	6 kk	7 pv
S-K	12 kk	6 viikkkoa
S-Na	12 kk	2 viikkkoa
fS-Pi	12 kk	4 pv
fS-Transf	6 kk	8 kk
fS-Trigly	12 kk	7 pv

Lähde : World health organization 2002.

LIITE 4 YLEISKEMIAN TUTKIMUSTEN LAATUTAVOITTEET

ANALYYTTINEN KOKONAISVIRHE

S-ALB	± 5 %
S-AMYL	± 12 %
S-AFOS	± 12 %
S-Bil-Kj	± 12 %
S-BIL	± 12 %
fS-Ca	± 3 %
fS-Kol	± 5 %
S-CK	± 12 %
fS-Krea	± 8 %
S-CRP	± 15 %
fS-Fe	± 12 %
S-PROT	± 5 %
S-GT	± 12 %
fS-GLUK	± 6 %
S-ASAT	± 12 %
S-ALAT	± 12%
fS-Kol-HDL Kolesterol	± 10 %
fS-kol-LDL Kolesterol	± 10 %
S-Uraat	± 8 %
S-K	± 4 %
S-Na	± 2 %
fS-Pi	± 6 %
fS-Transf	± 8 %
fS-Trigly	± 15 %

Lähde: Yleiskemian laatutavoitteet 1994

LIITE 5 OLYMPUS AU640- ANALYSAATTORILLA ANALYSOIDUT TULOKSET

Gluk								Anal.
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	kok.virhe
KA	5,4	5,5	5,5	5,6	5,7	5,8	5,9	
SD	0,94	0,95	0,98	0,94	1,02	1,05	1,05	
muutos-%	0	1,9	1,9	3,7	5,6	7,4	9,3	± 6 %
Vaihteluväli	3,4;7,4	3,4;7,4	3,3;7,5	3,5;7,7	3,3;7,9	3,4;7,2	3,5;8,1	
n = 14								

Krea								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	75	75	77	77	79	80	83	
SD	12,14	12,02	13,05	12,85	13,19	13,71	14,22	
muutos-%	0	0	2,7	2,7	5,3	6,7	10,7	± 8 %
Vaihteluväli	62;98	59;98	59;102	61;102	62;104	63;107	63;109	
n = 14								

Na								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	141	142	144	146	148	149	153	
SD	1,82	1,83	1,66	2,41	1,63	1,88	2,21	
muutos-%	0	0,7	2,1	3,6	5,0	5,7	8,5	± 2 %
Vaihteluväli	138;144	138;145	141;147	141;150	145;150	146;152	149;159	
n = 14								

K								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	4,3	4,4	4,3	4,4	4,5	4,6	4,8	
SD	0,35	0,35	0,25	0,25	0,42	0,25	0,32	
muutos-%	0	2,3	0	2,3	4,7	7,0	11,6	± 4 %
Vaihteluväli	3,9;4,9	3,9;4,0	4,0;4,7	4,0;4,8	4,0;5,7	4,1;4,9	4,2;5,3	
n = 14								

Ca								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	2,36	2,39	2,41	2,45	2,49	2,5	2,56	
SD	0,09	0,09	0,09	0,09	0,1	0,09	0,09	
muutos-%	0	1,3	2,1	3,8	5,5	5,9	8,5	± 3 %
Vaihteluväli	2,22;2,49	2,24;2,54	2,28;2,52	2,31;2,59	2,39;2,69	2,38;2,62	2,44;2,68	
n = 14								

Pi								
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	1,13	1,15	1,17	1,19	1,2	1,21	1,25	
SD	0,13	0,13	0,13	0,14	0,13	0,14	0,14	
muutos-%	0	1,8	3,5	5,3	6,2	7,1	10,6	± 6 %
Vaihteluväli	0,94;1,34	0,94;1,33	0,95;1,37	1,00;1,42	0,99;1,41	0,99;1,44	1,05;1,49	
n = 14								

Kol							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
KA	5,2	5,2	5,3	5,4	5,5	5,6	5,7
SD	0,56	0,57	0,57	0,61	0,63	0,59	0,63
muutos-%	0	0	1,9	3,9	5,8	7,7	9,6 ± 5 %
Vaihteluväli	4,1;6,2	4,1;6,3	4,3;6,4	4,3;6,6	4,4;6,7	4,5;6,7	4,6;6,8
n = 14							

HDL							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
KA	1,7	1,7	1,8	1,8	1,8	1,8	1,9
SD	0,51	0,52	0,54	0,54	0,55	0,55	0,56
muutos-%	0	0	5,9	5,9	5,9	5,9	11,8 ± 10 %
Vaihteluväli	1,1;3,0	1,1;3,0	1,1;3,1	1,1;3,1	1,1;3,2	1,2;3,2	1,2;3,3
n = 14							

LDL							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
KA	3	3	3	3,1	3,1	3,1	3,1
SD	0,44	0,43	0,45	0,46	0,45	0,47	0,47
muutos-%	0	0	0	3,3	3,3	3,3	3,3 ± 10 %
Vaihteluväli	2,1;3,6	2,1;3,7	2,2;3,7	2,2;3,8	2,3;3,8	2,3;3,9	2,3;3,9
n = 14							

Trigly							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
KA	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,3
SD	0,52	0,52	0,54	0,53	0,55	0,52	0,55
muutos-%	0	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	18,2 ± 15 %
Vaihteluväli	0,5;2,4	0,5;2,4	0,5;2,5	0,5;2,5	0,5;2,5	0,6;2,5	0,6;2,6
n = 14							

Bil							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
KA	9	10	10	10	10	10	11
SD	3,3	3,34	3,61	3,55	3,58	3,69	3,63
muutos-%	0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	22,2 ± 12 %
Vaihteluväli	6;17	6;17	6;18	6;18	6;19	6;19	7;19
n = 14							

Bil-Kj							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
KA	1	1	1	1	1	1	1
SD	1,14	1,03	1,04	1,04	1,03	1,04	1,04
muutos-%	0	0	0	0	0	0	0 ± 12 %
Vaihteluväli	0;3	0;2	0;2	0;2	0;2	0;2	0;2
n = 14							

ALB							
Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7
KA	45	46	46	47	48	48	49
SD	3,27	3,06	3,38	3,71	3,47	3,59	3,72
muutos-%	0	2,22	2,22	4,44	6,66	6,66	8,88 ± 5 %
Vaihteluväli	39;50	40;50	40;51	40;52	41;52	40;52	42;53

n = 14

PROT

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	73	74	75	76	78	78	80	
SD	4,11	4,08	4,76	4,42	4,78	4,81	5,27	
muutos-%	0	1,36	2,74	4,11	6,85	6,85	9,59	± 5 %
Vaihteluväli	65;82	65;82	66;85	67;85	68;88	68;88	70;90	

n = 14

CRP

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	2	2,1	2,2	2,2	2,2	2,3	2,3	
SD	2,84	2,92	2,93	2,94	2,97	3,07	3,06	
muutos-%	0	5	10	10	10	15	15	± 15 %
Vaihteluväli	0,3;9,6	0,2;9,9	0,2;9,8	0,2;9,9	0,2;10	0,2;10,4	0,2;10,3	

n = 14

Uraat

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	283	285	289	292	296	299	308	
SD	54,41	54,08	56,6	56,49	57,68	57,45	59,71	
muutos-%	0	0,7	2,12	3,18	4,59	5,65	8,83	± 8 %
Vaihteluväli	226;389	227;390	227;395	233;403	236;409	238;409	246;427	

n = 14

Transf

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	3	2,8	2,8	2,9	2,9	2,9	3	
SD	0,51	0,54	0,54	0,54	0,58	0,55	0,59	
muutos-%	0	-6,67	-6,67	-3,33	-3,33	-3,33	0	± 8 %
Vaihteluväli	2,0;3,5	2,0;3,7	2,0;3,7	2,0;3,7	2,1;3,8	2,1;3,8	2,1;3,9	

n = 14

Fe

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	14	14	14	14	15	15	15	
SD	5,52	5,59	5,54	5,74	5,67	5,65	5,73	
muutos-%	0	0	0	0	7,14	7,14	7,14	± 12 %
Vaihteluväli	4;21	4;22	4;22	4;22	4;22	5;22	5;22	

n = 14

Amyl

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	57	58	58	59	61	61	62	
SD	16,53	16,9	16,54	17	17,26	17,27	17,92	
muutos-%	0	1,75	1,75	3,51	7,02	7,02	8,77	± 12 %
Vaihteluväli	26;81	26;82	27;83	27;85	28;85	28;86	29;89	

n = 14

Afos

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	58	58	59	60	61	62	63	
SD	12,17	12,32	13	12,68	13	12,87	13,47	

muutos-%	0	0	1,72	3,45	5,17	6,9	8,62	± 12 %
vaihteluväli	42;80	43;81	41;82	44;83	44;85	44;84	45;86	
n = 14								

Asat

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	24	25	25	26	26	26	27	
SD	5,76	5,54	5,72	5,95	5,64	5,53	5,91	
muutos-%	0	4,17	4,17	8,33	8,33	8,33	12,5	± 12 %
vaihteluväli	16;35	18;37	18;37	19;38	20;38	20;37	20;38	
n = 14								

Alat

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	27	26	27	26	27	27	26	
SD	12,07	11,98	11,35	11,76	11,36	11,59	11,23	
muutos-%	0	-3,7	0	-3,7	0	0	-3,7	± 12%
vaihteluväli	13;48	12;46	14;45	13;46	13;45	13;46	12;44	
n = 14								

GT

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	18	18	18	19	19	19	19	
SD	9,48	9,46	9,66	9,89	9,82	10,03	10,17	
muutos-%	0	0	0	5,56	5,56	5,56	5,56	± 12%
vaihteluväli	8;47	8;47	8;48	8;49	8;49	8;50	8;51	
n = 14								

CK

Aika (vrk)	0	1	2	3	4	5	7	
KA	142	143	144	147	149	150	154	
SD	121,26	121,35	119,69	126,79	124,81	127,2	129,12	
muutos-%	0	0,7	1,41	3,52	4,93	5,63	8,45	± 12 %
vaihteluväli	40;529	41;530	41;523	40;551	41;545	42;554	42;563	
n = 14								