

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Kliininen biokemia

2013

Niina Mäkinen & Millamari Strengell

TULOSTASOVERTAILU KONELAB 20i JA KONELAB 20XTi VÄLILLÄ



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Niina Mäkinen & Millamari Strengell

Tulostasovertailu

Konelab 20i ja Konelab 20XTi välillä

Hyvän laboratoriokäytännön kannalta on tärkeää, että laboratorion samoja analyyskejä suorittavien analysaattoreiden tulostasot ovat yhtenevät. Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun toimipisteen kliinisen kemian luokassa 517 on käytössä kolme Konelab-analisaattoria; kaksi Konelab 20i –analisaattoria ja yksi Konelab 20XTi, joka on näistä analysaattoreista uusin. Näiden kahden eri mallin välistä tulostasovertailua ei ole aiemmin suoritettu Turun ammattikorkeakoulussa.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli kliinisen kemian analysaattoreiden eri analyyttien tulostasovertailu Konelab 20XTi:n ja kahden Konelab 20i:n välillä. Tarkoituksena oli myös saattaa loppuun keväällä 2011 aloitettu opinnäytetyö. Tavoitteena oli selvittää, onko Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun toimipisteen kliinisen kemian luokan 517 Konelab-analisaattoreiden tulostaso yhtenäinen.

Konelab 20i:n ja Konelab 20XTi:n välistä mahdollista tulostasoeroa tutkittiin tilastollisen käsittelyn keinoin. Analysaattoreiden antamien tulosten tilastollista riippuvuutta arvioitiin Excel- ja SPSS -ohjelmien avulla. Referenssiarvona käytettiin jo käytössä olevan Konelab 20i:n antamia arvoja.

Tuloksena saatiin, että Konelab 20i:n ja 20XTi:n tulostasot vastaavat toisiaan riittävän hyvin, jotta niitä voidaan käyttää analyysseissä samanarvoisesti. Korrelaatiot kaikkien analyyttien osalta olivat vahvoja.

ASIASANAT:

Tulostasovertailu, regressioanalyysi, Konelab-analisaattori, validointi

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Biomedical Laboratory Science | Clinical Biochemistry

Spring 2013 | 31

Instructor: Marja Kelandar

Niina Mäkinen & Millamari Strengell

Comparison of Result Levels Konelab 20i and Konelab 20XTi

In laboratory, analyzers doing the same analyses should produce equal result levels. At Turku University of Applied Sciences, in Clinical Chemistry classroom 517, three Konelab analyzers are being used. Two of them are Konelab 20i analyzers, whereas one of them, the latest addition, is a Konelab 20XTi analyzer. The result levels of these two models have not been compared at Turku School of Applied Sciences.

The objective of the thesis was to conduct a comparative analysis on the result levels of Konelab 20i and Konelab 20XTi – the two models of analyzers used in Turku University of Applied Sciences, Clinical Chemistry classroom 517. Another aim was to complete the analysis started by another thesis writer in Spring 2011.

The possible differences between the result levels of Konelab 20i and Konelab 20XTi were analyzed with statistical methods. Excel and SPSS were utilized to study the correlation between the results provided by the two models.

As a result, it was discovered that the result levels of Konelab 20i and Konelab 20XTi are similar enough to be used equally in analyses. The correlations between all analytes were strong.

KEYWORDS: Result levels, regression analysis, Konelab analyzer, validation

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	5
2 KONELAB 20i JA 20XTi – TOIMINTA JA TULOSTASOVERTAILU	6
2.1 Menetelmävertailu	6
2.2 Validointi	7
2.2.1 Laboratoriomenetelmien validointi	7
2.2.2 Laboratoriolaitteiden validointi	9
2.3 Konelab- analysaattori	9
2.4 Opinnäytetyön klinisen biokemian tutkimukset ja menetelmät	13
2.4.1 Kineettiset mittaukset	13
2.4.2 Päätepistemittaukset	14
2.4.3 Potentiometriset määritykset	18
3 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT	20
4 TOTEUTUS JA TILASTOLLINEN KÄSITTELY	21
4.1 Tutkimusmenetelmä	21
4.2 Tutkimuksen kulku ja tilastollinen käsittely	21
5 TULOKSET	23
6 LUOTETTAVUUS JA EETTISYYS	26
7 POHDINTA	28
LÄHTEET	30
 KUVAT	
Kuva 1. Konelab 20XTi	11
Kuva 2. Konelab 20i	11
Kuva 3. Korrelaation voimakkuus (Ernvall 2012)	23
 KUVIOT	
Kuvio 1. Regressiokuvaajan kaava	6
Kuvio 2. Friedewaldin kaava	16
Kuvio 3. Nernstin yhtälö	19
Kuvio 4. Aktiivisuusosamäärä	19
 TAULUKOT	
Taulukko 1. Laitteiden väliset korrelaatiot ja selitysasteet	24
Taulukko 2. Poikkeamat tavoiteväleistä	25

1 JOHDANTO

Turun ammattikorkeakoulussa Ruiskadun toimipisteessä klinisen kemian tutkimuksia tehdään plasmanäytteistä kolmella eri analysaattorilla: Konelab 20i (2kpl) ja Konelab 20XTi. Aikaisemmin ei ole tehty tulostasovertailua koulun Konelab 20XTi - ja Konelab 20i - analysaattoreiden välillä, joten tämän opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää näiden analysaattoreiden tulosten yhteneväisyys. Tämä on tärkeää hyvän laboratoriokäytännön kannalta, koska toisiaan vastaavien analysaattoreiden tulee vastata toisiaan myös tulostason osalta. Mahdollisen tulostasoveron kliinistä merkitsevyyttä arvioidaan vertaamalla tuloksia sallittuihin analyttisiin vaihteluväleihin.

Turun ammattikorkeakoulussa tutkimustulosten oikeellisuudesta vastaa sisäinen laadunvalvonta, jonka opiskelijat suorittavat laatukäsikirjan ohjeiden mukaan, opettajan ohjauksessa. Koulun laboratoriossa käytetään sisäisiä kontrolleja valmistajan suosittelemien kontrollien lisäksi. Kontrollinäytteiden analysointi suoritetaan aina ennen näytteiden analysoimista. Turun ammattikorkeakoulu osallistuu myös Labquality Oy:n laaduntarkkailukierrokseen, joka taas on ulkoista laadunvalvontaa.

Tulostasovertailua varten plasmanäytteistä on analysoitu Konelab 3-paketti, joka sisältää seuraavat klinisen kemian tutkimukset: ALAT, ASAT, GT, AFOS, TRIGLY, KOL, HDL, LDL, KREA, GLUK, K, NA ja URAAT. Tutkimuksessa käytettävät näytteet (n=73) on kerätty ja analysoitu keväällä 2011 ja tulokset tallennettu syksyllä 2011. Plasmanäytteistä on tehty rinnakkaisajot Konelab 20i:llä ja Konelab 20XTi:llä. Asiakastulokset on numeroitu juoksevin numeroin ja tallennettu Excel-taulukkolaskentamuotoon. Nämä tulokset analysoidaan tilastollisin menetelmin Excel-taulukkolaskentaohjelmalla.

2 KONELAB 20I JA 20XTI – TOIMINTA JA TULOSTASOVERTAILU

2.1 Menetelmävertailu

Regressioanalyysi on yleisesti käytetty lähestymistapa menetelmävertailuun. Tulostasovertailussa testataan noudattavatko tulokset normaalijakaumaa, suoritetaan regressioanalyysit ja lopuksi arvioidaan tulostaserojen kliinistä merkitsevyyttä. (Burtis, Ashwood & Bruns. 2008, 213-228.)

Kolmogorov-Smirnovin testin (Lilliefors-korjauksella) ja Shapiro-Wilkin testin avulla testataan noudattavatko tulokset normaalijakaumaa. Pearsonin korrelaatiota laskettaessa tulosten tulee noudattaa normaalijakaumaa ja jolleivät tulokset sitä noudata, on käytettävä Spearmanin korrelaatiota. (Vainio 2003-2004.)

Regressioanalyysissä uuden menetelmän tuottamia tuloksia verrataan pareittain vakiintuneen referenssimenetelmän tuottamiin tuloksiin. Pareittaisista tuloksista arvioidaan niiden välisen yhteyden luonnetta ja voimakkuutta.

$$X_{uusi} = X_{referenssi} + \varepsilon$$

Kuvio 1. Regressiosuoran kaava.

Edellä mainitussa kaavassa X_{uusi} kuvaa uutta menetelmää, $X_{referenssi}$ vakiintunutta referenssimenetelmää ja ε näiden arvojen poikkeamaa toisistaan (Burtis ym. 2008, 213-228).

Kliininen merkitsevyys on kuitenkin tilastollista merkitsevyyttä tärkeämpi menetelmävertailussa, koska virhe voi olla kliinisesti merkitsevä, vaikkei se olisikaan tilastollisesti merkitsevä ja päinvastoin. Kliinistä merkitsevyyttä arvioidessa verrataan tilastollisesti saatuja eroja sallittuihin virherajoihin. (Westgard 2003, 135-136.)

2.2 Validointi

Validoinnilla osoitetaan, että menetelmä toimii hyväksyttävästi käytettävässä tehtävässä ja sillä varmistetaan menetelmän sopivuus käyttötarkoitukseen. Validoinnilla pyritään selvittämään täyttääkö menetelmä sille asetetut vaatimukset. Vaatimukset voivat tulla lainsäädännöstä, laboratorion omista tai asiakkaan asettamista vaatimuksista. Validoinnin ohella käytetään myös vertifiointia, joka varmistaa käyttöönotettavan menetelmän tuottavan luotettavia ja toistettavia tuloksia. Tilastotieteellisin menetelmin yksittäiset tulokset voidaan yhdistää kokonaisuudeksi, ja niiden suhteet voidaan esittää muutamien numeroiden avulla. Validoinnin yhteydessä määritetään luotettava mittausalue, jossa hyväksyttävä tarkkuus ja täsmällisyys saavutetaan. Vaikka uusi menetelmä olisikin yksinkertainen tai muutos aiempaan vähäinen, sen toimivuus on silti tarkistettava. (Liimatainen 2002; 12-13, Westgard 2003; 70, Lehtonen & Sihvonen 2006; 94, Jaarinen & Niiranen 2008; 30, Evira 2010.)

2.2.1 Laboratoriomenetelmien validointi

Laboratoriomenetelmiä validoitaessa on tehtävä tarkka validointisuunnitelma ja tulee pohtia kuinka laajaa validointia kyseinen menetelmä tarvitsee. Validointimenetelmän vaatimuksiin vaikuttaa suuresti onko validoinnin kohteena oleva menetelmä laboratorion itsensä kehittämä, vai virallinen standardimenetelmä. Validoinnissa määritettäviä parametrejä ovat selektiivisyys, lineaarisuus, havaitsemisraja, määritysraja, toistettavuus, oikeellisuus, herkkyys, häiriöalttius ja stabiilisuus (Lehtonen & Sihvonen 2006; 95-97, Mittatekniikan keskus 2008, Evira 2010).

Spesifisyyteen liittyvät vaatimukset täyttyä, jos menetelmällä pystytään mittaamaan mitä vain analyyttiä riittävän tarkasti. Useimmiten tähän ei päästä, joten tällöin on tyydyttävä tietynasteiseen selektiivisyyteen. Selektiivisyys pystytään määrittämään vertaamalla puhdasta analyyttiä ja lisätyn analyytin vastetta tyypillisessä näytematriisissa. Lineaarisuuden kriteeriksi validoinnissa riittää, että menetelmä on lineaarinen määritetyllä mittausalueella. Analyysimenetelmässä mittausalue on pitoisuusalue, jossa menetelmän

lineaarisuus, tarkkuus ja toistotarkkuus ovat hyväksyttävällä tasolla. Määritetyllä mittaalueella pitää sijaita tuotannon tai valvonnan kannalta tärkeä raja-arvo. Opinnäytetyössä lineaarisuutta arvioidaan kuvaajista vertaamalla R^2 -arvoja. (Lehtonen & Sihvonen 2006; 95, Mittatekniikan keskus 2008.)

Toteamisrajalla tarkoitetaan tutkittavan yhdisteen pienintä pitoisuutta, mikä voidaan todeta luotettavasti. Määritysraja on kvantitatiivisen määrittelyn pitoisuusraja tutkittavassa näytteessä mitattuna. Toistettavuus voidaan määrittää saman näytteen peräkkäisistä määrittelyistä, jolloin saadaan varmuus peräkkäisten mittausten paikkansapitävyydestä. Uusittavuus kuvaa mittaustulosten yhtäpitävyyttä eri olosuhteissa tai pitkällä aikavälillä. Saanto on tutkittavan suureen suhteellinen osuus näytteessä olevasta tai siihen lisäystä, joka voidaan määrittää. Herkkyys kuvaa menetelmän kykyä havaita pienetkin vaihtelut. Häiriönsietokyky selvitetään yleensä pienten muutosten osalta, joita ovat mm. määrittelylämpötila, liuosten ja reagenssien koostumus ja pH. Menetelmän stabiilisuus selvitetään toistamalla määrittelyä monta kertaa ja käyttämällä koko ajan samoja standardeja, liuoksia ja näytteitä niin kauan, että vasteessa on havaittavissa suuri muutos. (Lehtonen & Sihvonen 2006; 96-97, Evira 2010)

Validointisuunnitelmassa on tärkeää myös pohtia tuleeko menetelmän toimia erilaisissa ympäristöolosuhteissa. Validointia tehtäessä on valittava tehdäänkö täydellinen validointi vai osittainen validointi. Kyseisillä validoinnilla on eroja, täydellinen validointi tehdään, kun implementoidaan ensimmäistä kertaa uusi menetelmä. Tuolloin validoinnin on oltava kattava ja se on suoritettava monipuolisella materiaalilla. Näytteiden määrän ollessa riittävä, pystytään varmistamaan erilaiset mittauserävarmuuteen liittyvät tekijät. Osittaisessa validoinnissa taas tehdään lisäystä jo validoituun menetelmään, esimerkiksi menetelmän siirto laboratorion toiseen tai uuden näytematriksin käyttöönotto. Laittevalmistaja on suorittanut Konelab -analysaattoreiden validoinnin ennen laitteen toimittamista asiakkaalle. (Lehtonen & Sihvonen 2006; 94-96, Evira 2010)

2.2.2 Laboratoriolaitteiden validointi

Laboratoriolaitteiden validointi on tärkeä prosessi uuden laboratoriolaitteen käyttöönotossa. Standardi SFS-EN 45001 vaatii, että toiminnassa olevassa laboratoriossa tulee olla tarvittavat ja asianmukaiset laitteet testien ja mittausten tekemiseen. Ennen analyysilaitteen käyttöönottoa tulee osoittaa analyysilaitteen toimivan tarkoituksenmukaisesti vaadittavaan tehtävään, ja analyysilaitteen on tuotettava toistuvasti riittävän tarkkoja tuloksia. Laitteen pitää olla myös tieteellisesti pätevä käytössä olevaan tarkoitukseen. Analyysilaitte tulee myös validoida ja kalibroida ennen käyttöönottoa. Validoinnista ja kalibroinnista tulee aina tehdä kirjalliset dokumentit, sillä tehty validointi täytyy osoittaa myös kirjallisessa muodossa. Laboratorion laitteisto on kalibroitava kyseisen laboratorion kalibrointiohjelman mukaisesti. Laboratorion kirjaamat laatuksiteerit analyysilaitteelle voidaan varmistaa sekä osoittaa validoinnin ja kalibroinnin avulla. (Lehtonen & Sihvonen 2006, 97-98.)

2.3 Konelab -analysaattori

Kliinisen kemian analysaattorit sisältävät monimuotoisia ominaisuuksia, jotka helpottavat esimerkiksi kiireellisten näytteiden käsittelyä. Kiireelliset päivystysnäytteet pystytään ajamaan ensiksi ohittamalla vähemmän kiireelliset tutkimukset random-access-periaatetta käyttäen. Random-access on analysaattorissa käytössä oleva muistiohjelma, joka tallettaa ohjelman väli- sekä lopputuloksia. Kliinisen kemian analysaattorit sisältävät pääsääntöisesti fotometrin ja lisäominaisuutena moni analysaattori sisältää ionispesifiset elektrodit. Kyseiset elektrodit mahdollistavat tekemisen laajemmalle skaalalle analyysijä, mm. kalium ja natrium. Nykyaikaisissa analyysilaitteissa sisäänrakennettuja toimintoja ovat: näytteentunnistus, automaattiset annostelijat, tulostusautomaatiikka, sekä laaduntarkkailu. (Signaalikäsittelytekniikan laboratorio 2004, Niemelä & Pulkki 2010; 83.)

Opinnäytetyössä verrataan kliinisen kemian analysaattoreiden Konelab 20i (Kuva 2.) ja 20XTi (Kuva 1.) tuottamia tuloksia. Molemmilla Konelab -analysaattoreilla voidaan suorittaa erilaisia kemian rutiinitestejä. Ne soveltuvat

entsyymien ja spesifisten proteiinien määrittämiseen, jonka lisäksi Konelab 20XTi:llä voidaan suorittaa lääke- ja huumausaineiden määrittämiä. Näiden testien lisäksi analyyttoreilla voidaan määrittää kehon eri elektrolyyttejä ionispesifisten elektrodien (ISE) avulla. Opinnäytetyössä ionispesifiset tutkimukset ovat kalium ja natrium. (Thermo Scientific 2008-2009)

Konelab -analyyttorit koostuvat viidestä pääosasta: segmenttien syöttö, reagenssikiekko, kyvettilaturi, kyvetien jäteastia ja tislatus- ja jäteveden astiat. (Juutilainen, seppälä, & Lampinen 2000, Thermo Scientific 2008-2009)

Konelab -analyyttoreissa mittauksen suorittaa yksikanavainen suodatinfotometri, jossa mittausmenetelmiä on kaksi: kolorimetrinen ja turbidimetrinen. Suodatinfotometrissä voidaan käyttää 11 eri aallonpituutta. Mittauksen aikana on myös mahdollista käyttää kahta aallonpituutta samanaikaisesti. Mittaus tapahtuu aallonpituuksien 340-800 nm välillä ja mittauslämpötila on 37 °C. Mittaus tapahtuu joko päätepistemittauksella tai kineettisesti, riippuen analyytistä. Valonlähde mittauksissa on halogeenilamppu, jonka lineaarinen absorbanssiväli on 0- 2.5 A, tarkkuudella 0.001 A. (Thermo Scientific 2008.)



Kuva 1. KoneLab 20XTi.



Kuva 2. KoneLab 20i.

Spektrofotometriassa mitataan absorboitunutta, eli imeytynyttä tai transmittoitunutta, eli läpimennyttyä valoa. Valon absorptio tai emissio on suoraan verrannollinen tutkittavassa näytteessä olevan analyytin pitoisuuteen. UV/VIS-spektrofotometrissä säteilylähteestä tuleva valo suodatetaan haluttuun aallonpituuteen monokromaattorilla, jonka jälkeen valo ohjataan näytekyvetin läpi. Valodetektori muuttaa läpitulleen valon sähköiseksi signaaliksi, jonka lukulaite muuttaa tietokoneen avulla tulostettavaksi yhdisteen pitoisuudeksi. (Ward, Lehman & Leiken 1994; 45-53, Penttilä 2004, 67-69.)

Analysaattoreiden näytekapasiteetti on 84, jonka lisäksi se sisältää viisi paikkaa päivystysnäytteille. Konelab 20i:n suoritusteho on 200 näytettä tunnissa, 20XTi:ssä suoritusteho on 250 näytettä tunnissa. Ensimmäiset tulokset tulevat keskimäärin jo 3-12 minuutissa. Konelab -analysaattoreissa näytteenä voidaan käyttää virtsaa, likvoria, seerumia, plasmaa ja kokoverta. Näytteet asetetaan 0,5 ml:n ja 2,0 ml:n näytekuppeihin, tai 5 ml:n ja 7 ml:n näyteputkiin. 10 ml:n näyteputket voidaan asettaa analysaattoriin erikoissegmentin avulla. Analysaattori hoitaa automaattisesti näytteiden esi- tai jälkilaimentamisen, laimennussuhteiden 1:1 ja 1:120 välillä. (Thermo Scientific 2008, Thermo Scientific 2012.)

Reagensseja analysaattorin jäähdytettyyn näytekiekkoon mahtuu 35 kappaletta, jossa reagenssien tunnistuksen hoitaa analysaattorin ulkoinen viivakoodinlukija. Reagenssien määrää voi koko ajan seurata työaseman näytöltä reaaliajassa. Analysaattorin analysoidessa näytteet ja reagenssit ohjelmoidaan 12 mittauskaivon kertakäyttökyvetteihin. Analysaattorissa on yhteensä 600 reaktiopaikkaa. Kyvettejä voidaan myös poistaa ja lisätä ajon aikana. (Juutilainen ym. 2000, Thermo Scientific 2008.)

Konelabissa on käytössä reaaliaikainen laaduntarkkailutoiminto, joka toimii Westgardin sääntöjä soveltaen. Westgardin sääntö perustuu viiteen eri valvontasääntöön, arvioiden hyväksyttävyyttä analyttisellä aikavälillä. Westgardin sääntöjä noudattaessa, käytetään yleensä kahta tai neljää valvontamittausta ajoa kohden. Analysaattorin muistiin mahtuu 99 kontrollinäytettä. Kontrollinäytteiden tuloksia voidaan tulostaa ja tarkastella

päivittäin tai kumulatiivisina. Potilastuloksien poikkeavuudesta laaduntarkkailuohjelma huomauttaa, jos käytetyn menetelmän viimeinen kontrollitulos on ollut asetettujen rajojen ulkopuolella. (Juutilainen ym. 2000, Thermo Scientific 2008, Westgard QC 2009.)

Kalibrointi, joka tarkoittaa menetelmän vakioimista, suoritetaan Konelab -analysaattorissa kantavakioista laimentamalla tai erillisillä vakioilla. Kalibroinnin tuloksista saatu vakiokuvaaja voi olla joko lineaarinen, tai epälineaarinen. (Juutilainen ym. 2000.)

2.4 Opinnäytetyön klinisen biokemian tutkimukset ja menetelmät

2.4.1 Kineettiset mittaukset

Entsyymiaktiivisuusmittauksissa mitataan entsyymien toimivuutta tai määrää, ja entsyymiproteiinien määrällä pystytään tutkimaan entsyymien vapautumista verenkiertoon eri elinten sairauksissa. Entsyymien avulla voidaan myös mitata monien substraattien ja analyyttien määrää näytteissä. Toimimattomia entsyymien rakenteita tutkittaessa tarvitaan sekä aktiivisuusmittauksia, että entsyymiproteiinin määrän mittaamista. Substraatin määrää mitattaessa, reaktioseoksessa on paljon entsyymiä ja vain vähän substraattia. Reaktioseoksen kokoonpano entsyymiaktiivisuuden mittauksissa valitaan sen mukaan, mitä halutaan tutkia. Entsyymireaktioista useimmat tarvitsevat spesifisen koentsyymien, koska reaktion nopeuden tulee olla riittävä sen toiminnan kannalta. Entsyymireaktioiden nopeuteen vaikuttaa myös entsyymien oma pH ja reaktion lämpötila. (Penttilä 2004, 82-83.)

Elimistön aineenvaihdunnan kannalta maksa toimii tärkeänä synteesieliminä yhdessä suoliston kanssa. Maksaan suolistosta imeytyneet yhdisteet hyödynnetään pääsääntöisesti aineenvaihdunnan hyväksi, jossa ne voidaan myös varastoida. Elimistölle vieraita yhdisteitä maksa pystyy muokkaamaan niin, että ne muuntuvat erityiseen muotoon tai toksiset yhdisteet vähemmän toksiseksi ennen yhdisteiden poistumista elimistöstä. Opinnäytetyössä on analysoitu maksan ALAT-, ASAT-, AFOS- JA GT -entsyymejä. Maksassa on

hyvin paljon ASAT- entsyymiä, mutta selkeimmin tavallisista maksan entsyymeistä maksaan assosioituu ALAT. ALAT- arvo nousee hyvin herkästi maksan vaurioissa, joten kyseinen tutkimus on hyvä maksan toiminnan selvittämisessä yhdessä ASAT -entsyymien kanssa. Maksasolujen toimintahäiriöiden tutkimuksissa hyvä mittari on glutamyyli transferaasi (GT), joka on myös hyvä tutkimus sapen virtauksen häiriöistä maksassa. Alkoholin suuri kulutus nostaa hyvin herkästi seerumin GT -arvoa, varsinkin naisilla. GT -arvon tavoin alkaalinen fosfataasi (S-AFOS) kuvastaa sapen virtauksen häiriöitä maksassa, mutta myös sen ulkopuolella. (Penttilä 2004, 233-236.)

2.4.2 Päätepestemittaukset

Tärkeimmät tutkimukset rasva-aineenvaihdunnan toiminnan selvittämiseksi ovat triglyseridien ja kolesterolin häiriöiden tutkiminen. Opinnäytetyössä on tutkittu TRIGLY-, KOL-, LDL-, ja HDL -tutkimuksia. Kyseiset tutkimukset ovat myös tärkeitä sydän- ja verisuonisairauksien etiologisina tekijöinä. Kolesterolin kohonnut arvo on huonoksi elimistölle eri haittavaikutusten takia, mutta silti kolesteroli on hyvin tärkeä yhdiste elimistölle solukalvojen ja soluseinän rakenneosina. Elimistöön saatu rasva hajotetaan ohutsuolessa, jossa suolen seinämät ottavat vastaan rasvahapot, kolesterolin ja glyseriinin. Näistä nämä yhdisteet rakentavat uudestaan esteröityjä yhdisteitä, kolesterolin estereitä ja triglyseridejä. Triglyseridiarvo on hyvin keskeinen rasva-arvo sydän- ja verisuonisairauksien selvittämisessä. Kyseisen tutkimuksen arvoon vaikuttavat suurimmaksi osin nautitun ruoan määrä ja sen laatu, liikalihavuus nostaa hyvin usein Trigly-arvoa. Triglyseridiarvoa tutkittaessa vaaditaan aina paastonäyte (fS-Trigly). Entsymaattisten mittausten avulla selvitetään näytteen Trigly-arvo. Näytteessä olevat triglyseridit hydrolysoidaan lipaasilla, jonka jälkeen vapautunut glyseroli mitataan entsyymaattisella päätepestemittauksella. (Penttilä 2004, 135-138.)

Entsyymaattisessa päätepestemittauksessa triglyseridimolekyylit hydrolysoidaan lipaasin avulla glyseroliksi ja rasvahapoiksi. Seuraavassa vaiheessa glyserolikinaasin avulla glyseroli fosforyloidaan glyseroli-3-fosfaatiksi, joka

hapetetaan glyserolifosfo-oksidaasilla dihydroksiasetonifosfaatiksi ja vetyperoksidiksi. Peroksidaasin läsnä ollessa vetyperoksidi reagoi yhdessä värireagenssin kanssa, muodostaen värillisen yhdisteen. Värillinen yhdiste mitataan fotometrisesti aallonpituudella 510 nm. (Thermop Scientific: Konelab / T Series Manuals & Applications and Inserts CD)

Elimistö saa kolesterolin ravinnon mukana saaduista rasvoista, ja lisäksi myös syntetisoimalla sitä meripihkahaposta ja asetaatista. Määritettäessä kokonaiskolesterolia, näytteessä olevat esterit täytyy hydrolysoida vapaaksi kolesteroliksi. Tällöin mitataan näytteen vapaata kolesterolia, joka määritetään entsymaattisesti peroksioksidaasi- ja kolesterolioksidaasientsyymien avulla. Kokonaiskolesterolin määityksessä ensimmäiseksi kolesteroliesteraasi hydrolysoi kolesteroliesterit kolesteroliksi ja vapaiksi rasvahapoiksi. Seuraavaksi kolesterolioksidaasin avulla kolesterolia hapetetaan kolest-4-en-3-ioniksi, joiden lisäksi syntyy vetyperoksidia. Mitattava värillinen yhdiste syntyy hydroksidibentsoehapon avulla, joka mitataan aallonpituuksien 500-550 nm välillä. (Konelab / T Series Manuals & Applications and Inserts CD, Penttilä 2004; 138)

HDL- kolesterolia syntyy suolen tai maksan valmistamana HDL -partikkeliksi. Runsaasti ja aktiivisesti liikuntaa harrastavilla Kol-HDL -arvo nousee, lisäksi myös estrogeenin saanti nostaa kyseistä arvoa. On todettu, että suuri S-Kol-HDL / S-Kol -suhde vähentää verisuonten kovettumissairauksia. Silti ei voida yksilötasolla tätä todistaa, mutta tilastollinen riski verisuonten kovettumissairauksiin vähentyy. S-Kol-HDL -arvo saadaan suoralla menetelmällä inhiboimalla tai saostamalla näytteessä olevat muut lipoproteiinifraktiot, ennen HDL- fraktion entsymaattista kolesterolimäärittystä. HDL -kolesterolin määityksessä magnesiumsulfaatin läsnä ollessa dekstraanisulfaatista muodostuu selektiivisesti vesiliukoisia komplekseja LDL, VLDL ja kylomikronien kanssa. Kyseiset entsymit ovat resistenssejä PEG -modifioituille entsyymeille, joten näin voidaan määrittää HDL- partikkeleiden sisältämä kolesterolin määrä entsymaattisesti päätepipistemittauksella. (Konelab / T Series Manuals & Applications and Inserts CD; Penttilä 2004; 138-140.)

LDL- kolesterolia kertyy helposti verisuonten seinämiin, ja on yksi iso syy verisuonten kovettumissairauksissa. Kun elimistö ei pysty poistamaan verestä LDL- lipoproteiinipartikkeleita S-Kol-LDL- arvo kohoaa. Kyseinen arvo mitataan entsyymaattisten reaktioiden avulla. Ensin mitataan LDL -fraktion kolesterolin määrää muiden partikkeleiden mukana olo analyysissä. Kolesterolin määrää verestä määritettäessä käytössä on myös Friedewaldin kaava, jolla saadaan laskettua LDL -kolesterolin arvo. Friedewaldin kaavaa voidaan käyttää jos fS-Trigly-, S-Kol-LDL- ja S-Kol-arvot on saatu ensin määritettyä tarpeen mukaisesti.

$$\text{S-Kol-LDL} = \text{S-Kol} - (\text{S-Kol-HDL} + 0,45 \times \text{fS-Trigly})$$

Kuvio 2. Friedewaldin kaava.

LDL- kolesterolin määrittämisessä ensimmäisessä vaiheessa pintajännitystä alentavalla detergentillä vapautetaan LDL -kolesterolin partikkeleistaan. Kolesterolin reaktio estyy sokeriyhdisteen, Mg-ionin, ja detergentin vaikutuksesta yhdessä muiden lipoproteiinien (HDL, VLDL, kylomikronit) kanssa. Näiden reaktioiden avulla pystytään määrittämään pelkän LDL- kolesterolin määrän. (Konelab / T Series Manuals & Applications and Inserts CD; Penttilä 2004; 138-140.)

Opinnäytetyössämme munuaistutkimuksista on tutkittu kreatiniiniarvoa (S-Krea). Kreatiniini on elimistön aineenvaihdunnan lopputuote ja se poistetaan virtsaan kreatiniinina. Sitä syntyy kreatiniinifosfaatista lihaskudoksessa energian siirtäjänä, mutta sitä erittyy munuaisissa, glomeruluksissa ja tubuluksissa. Munuaisten toimintavaurioissa S-Krea- arvo nousee, kun yli puolet glomeruluksista on tuhoutunut, mutta munuaissairauksissa S-Krea kohoaa munuaisten toimintakyvyn mukaan. Kreatiniiniarvoa mitataan Konelab - analysaattorilla entsyymaattisella päätepestemittauksella. Ensimmäisessä vaiheessa kreatiniini muutetaan sarkosiiniksi, kreatiniiniaasin ja kreatinaasin avulla. Seuraavassa vaiheessa hapen ja sarkosiinioksidiaasin avulla sarkosiini muutetaan glysiiniksi, formaldehydiksi ja vetyperoksidiksi. Edellisessä

reaktiossa muodostunut vetyperoksidi reagoi 4-aminofenatsolin ja HTIB:n (2,4,6-triodo-hydroxybenzoic acid) kanssa peroksidaasin katalysoimana. Reaktioiden tuloksena syntyy värillinen yhdiste joka mitataan aallonpituudella 540 nm. (Konelab / T Series Manuals & Applications and Inserts CD, Penttilä 2004; 224.)

Ihminen saa ruoan mukana pieniä hiilihydraattimolekyylejä (monosakkaridit) glukoosin muodossa ja suuria hiilihydraattimolekyylejä (polysakkaridit) tärkkelyksen ja glykogeenin muodossa. Polysakkaridien on pilkkouduttava monosakkareiksi ennen kuin ne voivat imeytyä elimistöön, samalla toimien hiilihydraattien rakennusaineina. Suoliston monosakkareista valtaosa on glukoosia, mutta suolistossa muodostuu myös pieni määrä fruktoosia ja galaktoosia, jotka muuntuvat maksassa glukoosiksi. Tästä johtuen soluissa tapahtuva hiilihydraattiaineenvaihdunta on ensisijaisesti glukoosin aineenvaihduntaa. Veren glukoosipitoisuutta mitattaessa entsymaattisen päätepestemittauksen ensimmäisessä vaiheessa glukoosi fosforyloituu heksokinaasin katalysoimana glukoosi-6-fosfaatiksi. Seuraavassa reaktiossa muodostuu 6-fosfo-glukonaattia ja samalla NAD pelkistyy NADH:ksi. Katalysaattorina reaktioissa toimii glukoosi-6-fosfaattidehydrogenaasi. Reaktioissa syntyvän NADH:n määrää mitataan mittaamalla sen absorbanssi fotometrisesti aallonpituudella 340 nm. (Haug, Sand, Sjaastad & Toverud 1995; 397; 404-405, Konelab / T Series Manuals & Applications and Inserts CD.)

Uraattia, eli virtsahappoa syntyy elimistössä puriiniemästen hajoamisen tuotteena. Uraattia erittyy munuaisten kautta, tubulaarisen erityksen avulla, sekä glomerulussuodatuksen avulla. Indikaatio uraatti-tutkimuksen pyytämiseen on yleensä kihtiepäily, mutta syynä voi olla myös epäily raskausmyrkytyksestä. Reaktion ensimmäisessä vaiheessa näytteessä oleva virtsahappo hapetetaan allantoiiniksi vetyperoksidin avulla. Allantoiini reagoi 4-aminoantipyriinin ja 2,4,5, tribromo-3-hydroksidi-bentsoehapon kanssa, jonka seurauksena syntyy mitattava värillinen yhdiste. Yhdisteen absorbanssi mitataan aallonpituudella 510 nm. Absorbanssi on verrannollinen näytteen virtsahapon konsentraatioon,

josta saadaan lopullinen tulos. (Konelab / T Series Manuals & Applications and Inserts CD, Tykslab 2013)

2.4.3 Potentiometriset määitykset

Potentiometrisen pitoisuuden määrittämiseen tarvitaan ioniselektiivisen elektrodin ja vertailuelektrodin muodostama sähköpari. Potentiometriassa mitataan näiden elektrodien välistä jännite-eroa, joka kertoo halutun ionipitoisuuden. Ionipitoisuuden mittaaminen onnistuu, koska vertailuelektrodin potentiaali pysyy aina vakiona ja ioniselektiivisen elektrodin potentiaaliin vaikuttaa mitattavan ionilajin pitoisuus. Opinnäytetyössä on tarkasteltu kalium- ja natrium tuloksia. (Niemelä & Pulkki 2010, 62-65)

Kalium (K^+) on solunsisäinen kationi, jonka päivittäinen saanti on keskimäärin 50-100 mmol. Elimistön ollessa tasapainotilassa noin 90 % kaliumista poistuu virtsaan, ja jäljelle jäävä kalium poistuu ulosteisiin ja hieken. Keskimäärin kaliumia on ihmisessä noin 135 grammaa, joista vain 2 % on solun ulkoisessa nesteessä. Kaliumpitoisuus on ihmiselle hyvin tärkeä, sillä matala pitoisuus vähentää lihasten ja hermosolujen ärsyyntyvyyttä. Korkea pitoisuus taas lisää ärsyyntyvyyttä solun kalvopotentiaalin muutoksina. Alhainen kalium-arvo voi johtua usein ripulista ja oksentelusta. Kaliumpitoisuudet määritetään plasmasta tai seerumista ionispesifisellä elektrodilla. (Penttilä 2004, 157-158.)

Natrium (Na^+) on solunulkoisen nesteen tärkein kationi, elektrolyytti, jota on elimistössä noin 90 grammaa (4 moolia). Natrium vastaa elimistössä plasman ja soluvälinesteen osmolaliteetista ja tilavuuden säilyttämisestä. Päivittäinen natriumin tarve ihmisellä on päivittäin noin 100-140 mmol, joka saadaan helposti ravinnosta. Elimistön ollessa tasapainotilassa, natriumin ylimäärä poistuu virtsaan. Virtsasta se otetaan lähes kokonaan tubuluskierron aikana. (Penttilä 2004, 156.)

Ihmisen nautittua liian vähän natriumkloridipitoista ravintoa, voi sen seurauksena ilmentyä natriumin puute. Tämä ilmenee nestetilavuuksien pienentymänä. Virtsan, plasman ja seerumin natrium-arvoa määritetään

ionispesifisellä elektrodilla. Elimistön elektrolyyteistä kalium ja natrium mitataan samalla mittaamenetelmällä, käyttäen hyväksi ioniselektiivisiä elektrodeja. Näytteen kulkeutuessa elektrodiblokkiin se pysähtyy samanaikaisesti mittauksen ajaksi. Ioniselektiivisen elektrodin ollessa samanaikaisesti yhteydessä referenssielektrodin kanssa näytteeseen, syntyy näiden välille jännite-ero. Kyseinen reaktio mahdollistetaan ioniselektiivisen elektrodin kyvystä selektiivisesti kuljettaa tutkittua ionia (kalium, natrium) näytteestä kalvon läpi. Tulos saadaan mittaamalla elektrodin ja referenssielektrodin välinen jännite-ero, jota kuvaa Nernstin yhtälö. Lopullinen tulos lasketaan Nernst -yhtälön ja kalibrointisuoran avulla. (Konelab / T Series Manuals & Applications and Inserts CD, Penttilä 2004; 157.)

$$E_i = E_i^0 - \frac{RT}{zF} \cdot \ln(Q)$$

Kuvio 3. Nernstin yhtälö.

E_i^0 = elektrodin normaalipotentiali

R = yleinen kaasuvakio = 8,3145 J/(molK)

T = lämpötila (K)

z = reaktion varausluku eli reaktioon osallistuvien elektronien lukumäärä

F = Faradayn vakio = 96485 C/mol

Q = aktiivisuusosamäärä

Yleiselle reaktiolle: $bB + cC + \dots + ke = lL + mM + \dots$ voidaan ilmoittaa aktiivisuusosamäärä Q :

$$Q = \frac{a_L^l a_M^m \dots}{a_B^b a_C^c \dots} = \frac{[L]^l [M]^m \dots}{[B]^b [C]^c \dots},$$

Kuvio 4. Aktiivisuusosamäärä.

(Biofysiikan harjoitustyöt 2006.)

3 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT

Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää, onko Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun toimipisteen klinisen kemian luokan 517 Konelab -analysaattoreiden tulostaso yhtenäinen. Samoja analyysejä tekevien analysaattoreiden tulostason on vastattava toisiaan hyvän laboratoriokäytännön kannalta. Mahdollisesti ilmenevät kliinisesti merkitsevät tulostasoerot korjataan tutkimuksen tulosten perusteella.

Opinnäytetyön tarkoituksena on klinisen kemian analysaattoreiden eri analyyttien tulostasoverailu Konelab 20XTi:n ja kahden Konelab 20i:n välillä. Aihe saatiin Turun ammattikorkeakoululta ja tarkoituksena on saattaa loppuun jo aloitettu tutkimus.

Tutkimusongelmat ovat:

- Millainen korrelaatio on Konelab XTi:n ja Konelab 20i:n tuloksilla?
- Onko Konelab XTi:n tulostaso ja Konelab 20i-laitteiden tulostasot sallittujen analyyttisten vaihteluvälien rajoissa?
- Onko mahdollisilla tulostasoeroilla kliinistä merkitystä?

4 TOTEUTUS JA TILASTOLLINEN KÄSITTELY

4.1 Tutkimusmenetelmä

Opinnäytetyön tutkimusmenetelmä on kvantitatiivinen, eli määrällinen tutkimus, jossa tutkimuksen kohde on määriteltävä ja täsmennettävä mahdollisimman tarkasti. Määrällisessä tutkimuksessa käsitellään tietoa tilastollisina yksikköinä ja se perustuu käsitteisiin tilastoyksikkö ja otos. Opinnäytetyössä päädyttiin määrälliseen tutkimukseen, koska tilastollisessa analysoinnissa tulosten kuvailu tapahtuu muun muassa prosenttilukoiden avulla. Määrällisessä tutkimuksessa edetään teoriasta empiiriseen tarkasteluun, joka toteutetaan deduktiivisesti. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2001; 129, Virtuaaliammattikorkeakoulu, 2007.)

Deduktiivisessa tutkimusotteessa ovat keskeisiä johtopäätökset aiemmista tutkimuksista ja siihen liittyvä teoria. (Virtuaaliammattikorkeakoulu, 2007.) Opinnäytetyössä tutkittava aineisto on koottu tilastollisesti klinisen kemian analyysilaitteella syksyllä 2011 saaduista tuloksista, joita ei ole aiemmin analysoitu.

4.2 Tutkimuksen kulku ja tilastollinen käsittely

Tutkimus on aloitettu keväällä 2011, jolloin analysoitavat plasmanäytteet on kerätty Turun ammattikorkeakoulun opiskelijoilta ja henkilökunnalta. Näytteet on tämän jälkeen numeroitu, eikä henkilötietoja ollut enää tunnistettavissa. Plasmanäytteet analysoitiin samana keväänä Turun ammattikorkeakoulun klinisen kemian luokassa 517 Konelab 20i- ja Konelab 20XTi-analysaattoreilla ja niistä ajettiin Konelab3-paketti. Tulokset tallennettiin syksyllä 2011 Excel- taulukkolaskentamuotoon, jossa on pystysarakkeissa juokseva numerointi, Konelab 20i:n antama tulos ja Konelab 20XTi:n antama tulos. Tässä vaiheessa tutkimus jäi kesken. Joulukuussa 2012 tutkimusta jatkettiin eri tekijöiden toimesta. Tällöin aineistona käytettiin Excel-työkirjoja, jotka oli tallennettu syksyllä 2011.

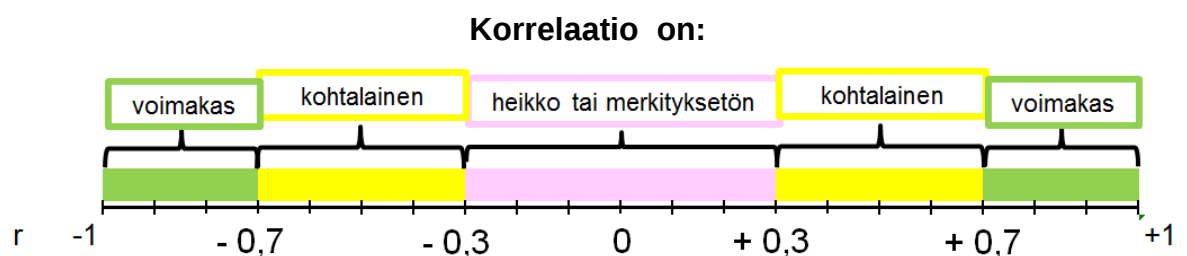
Konelab 20i:n ja Konelab 20XTi:n välistä mahdollista tulostaseroa tutkittiin tilastollisen käsittelyn keinoin. Analyysoitavien tulosten tilastollista riippuvuutta arvioitiin Excel- ja SPSS -ohjelmien avulla. Referenssiarvona käytettiin jo käytössä olevan Konelab 20i:n antamia arvoja. Jokaisen analyysin osalta laskettiin analyysoitavien välinen Pearsonin korrelaatio, prosentuaaliset poikkeamat referenssiarvosta, tavoiteväleihin sijoittuneiden poikkeamien prosenttiosuudet kaikista tuloksista, sekä prosentuaalisten poikkeamien keskiarvot ja keskihajonnat. Tehdyistä korrelaatiokuvaajista saatiin selitysasteet ja regressiosuorien kaavat. Prosentuaalisia poikkeamia referenssiarvosta verrattiin Labquality Oy:n määrittämiin analyysikohtaisiin tavoiteväleihin. Lisäksi SPSS -ohjelmistolla tutkittiin noudattavatko tulokset normaalijakaumaa ja tämän jälkeen laskettiin Spearmanin korrelaatio niiden analyysien tuloksille, jotka eivät normaalijakaumaa noudattaneet.

Analyttisen virheen koko on hyödyllisempi työkalu metodin toimivuuden arviointiin kuin korrelaatiokerroin, koska systemaattinen virhe ei näy korrelaatiokertoimesta. Analyttiseen virheeseen kuuluvat satunnaisvirhe, systemaattinen virhe ja suhteellinen virhe. Satunnaisvirhe määritetään laskemalla keskihajonta, joka kasvaa satunnaisvirheen kasvaessa, sekä korrelaatiokerroin, joka laskee satunnaisvirheen kasvaessa. Systemaattinen virhe on aina yksisuuntainen, eli kaikki tulokset ovat joko liian matalia tai liian korkeita verrattuna referenssituloksiin. Regressiosuora ei tällöin kulje origon kautta kahden metodin suhdetta kuvaavassa kuvaajassa. Suhteellinen virhe taas muuttaa regressiosuoran jyrkkyyttä, jota arvioidaan regressiosuoran kulmakertoimen avulla. Virhe on siis suhteellinen, koska virhe kasvaa pitoisuuden kasvaessa. (Westgard 2003, 22-25; 128-129)

5 TULOKSET

Kolmogorov-Smirnovin testin (Lilliefors-korjauksella) ja Shapiro-Wilkin testin avulla selvitettiin analyytteittäin noudattavatko tulokset normaalijakaumaa. Tuloksena saatiin, että ainoastaan natriumin (Na) ja glutamyyli transferaasin (GT) tulokset eivät noudattaneet normaalijakaumaa, muiden analyyttien tulosten noudattaessa sitä riittävän hyvin. Tämän johdosta normaalijakaumaa noudattavien analyyttien tuloksista laskettiin Pearsonin korrelaatio. Natriumin ja glutamyyli transferaasin tuloksista laskettiin Spearmanin korrelaatio, koska niiden tulokset eivät noudattaneet normaalijakaumaa. Tuloksina esitetään analysoittajien väliset korrelaatiot ja selitysasteet, sekä prosentuaaliset poikkeamat sallituista vaihteluväleistä.

Korrelaatio kuvaa kahden muuttujan välisen suhteen luonnetta ja voimakkuutta. Korrelaatiota ei ole, jos muuttujat ovat toisistaan riippumattomia. Korrelaatio vaihtelee välillä $-1,000$ – $+1,000$. Mitä lähempänä arvo on $-1,000$, sitä vahvempi on muuttujien välinen negatiivinen korrelaatio ja mitä lähempänä arvo on $+1,000$, sitä vahvempi on muuttujien välinen positiivinen korrelaatio. Korrelaatiota $+1,000$ pidetään täydellisenä korrelaationa, jolloin x:n arvojen kasvaessa y:n arvot kasvavat samassa suhteessa. (Westgard 2003; 82-86, Burtis ym. 2008; 213-228.)



Kuva 3. Korrelaation voimakkuus (Ernvall 2012).

Analysaattoreiden väliset korrelaatiot vaihtelivat analyytteittäin välillä $r=0,8182$ – $0,9984$, joten ne olivat kaikki vahvoja korrelaatioita. Heikoin korrelaatio oli natriumilla ($0,8308$) ja vahvin triglyserideillä ($0,9984$). Selitysasteet vaihtelivat välillä $R^2=0,69$ – $1,00$. Saadut R^2 -arvot kertovat, että Konelab 20i:n antamien

tulosten muutokset selittävät Konelab 20XTi:n antamien tulosten muutoksista 69-100%. Heikoin selitysaste oli natriumilla (0,69) ja vahvin triglyserideillä (1,00). Tulokset ovat esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Laitteiden väliset korrelaatiot ja selitysasteet

Analyytti	n	Konelab 20i ja Konelab 20XTi	
		Korrelaatio	Selitysaste (R^2)
AFOS	48	0,9608	0,92
ALAT	62	0,9939	0,99
ASAT	73	0,9795	0,96
Gluk	71	0,9724	0,95
GT	57	0,9760*	0,95
K	72	0,9827	0,97
Kol	68	0,9936	0,99
Kol-HDL	73	0,9924	0,99
Kol-LDL	72	0,9965	0,99
Krea	70	0,9770	0,95
Na	68	0,8308*	0,69
Trigly	73	0,9984	1,00
Uraat	65	0,9959	0,99

* Spearmanin korrelaatio

Kliinistä merkitsevyyttä arvioitaessa Konelab 20XTi:n antamista tuloksista vähennettiin samasta plasmanäytteestä analysoitu Konelab 20i:n antama tulos. Tämän erotuksen prosenttiosuus Konelab 20i:n antamasta arvosta ja näiden poikkeamien keskiarvo ja keskihajonta laskettiin analyyteittäin.

Labquality Oy on määritellyt kokonaisvirheen tavoitevälit analyyteittäin. Saatujen poikkeamien sijoittumista näihin tavoiteväleihin arvioitiin. Heikoiten tavoitevälille sijoituivat alaniiniaminotransferaasin (ALAT) tulokset, joista 88,7% sijoittui tavoitevälille. Vahvimmin tavoitevälille sijoituivat kaliumin, LDL - kolesterolin, natriumin, triglyseridien ja uraatin tulokset, joista kaikki (100%) sijoituivat tavoitevälille. Tulokset ovat esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Poikkeamat tavoiteväleistä

		Konelab 20i ja Konelab 20XTi			
		Kokonaisvirheen	Poikkeamien	Poikkeamien	Osuus arvoista
Analyytti	n	tavoiteväli (%)	keskiarvo (%)	keskihajonta	tavoitevälillä (%)
AFOS	48	± 12	0,6	8,1	89,6
ALAT	62	± 12	0,4	7,2	88,7
ASAT	73	± 12	-0,9	5,3	97,3
Gluk	71	± 6	2,6	2,7	93
GT	57	± 12	0,8	6,6	93
K	72	± 4	1,1	1,4	100
Kol	68	± 5	-0,6	2,4	97,1
Kol-HDL	73	± 10	2,5	3,8	97,3
Kol-LDL	72	± 10	1,6	2,5	100
Krea	70	± 8	-2,6	4,1	94,3
Na	68	± 2	0,5	0,6	100
Trigly	73	± 15	-2,4	2,6	100
Uraat	65	± 8	1,4	2,0	100

6 LUOTETTAVUUS JA EETTISYYS

Tutkimuksen aihetta valittaessa tehdään jo eettinen ratkaisu; miksi tutkimus aloitetaan ja kenen ehdoilla tutkimuksen aihe valitaan. Koko tutkimuksen ajan on toimittava huolellisesti ja raportoitava tuloksista rehellisesti. Aineiston käytössä on otettava huomioon luottamuksellisuus ja tutkimukseen osallistuvien anonyymiuden takaaminen, sekä aineiston tallentamisen asianmukaisuus. Epärehellisyyttä ja plagiointia on vältettävä kaikissa tutkimuksen osavaiheissa, eikä toisten tutkijoiden osuutta saa vähätellä. Tutkimuksessa käytettävän lähdemateriaalin on keskityttävä olennaiseen kirjallisuuteen tutkimusongelman kannalta ja käytettävän kirjallisuuden tulee olla asianmukaista, sekä tutkimusaiheeseen liittyvää. Lähdemateriaalin avulla tutkimusmenetelmien ja –tekniikoiden tuntemuksen tulee kasvaa tutkimusprosessin edetessä. Ensisijainen vastuu hyvän tieteellisen käytännön noudattamisesta on aina tutkijalla itsellään. (Hirsjärvi, ym. 2001; 23-28; 107-110, Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012.)

Opinnäytetyön toimeksiantosopimus solmittiin Turun ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutuspäällikkö Leila Tiilikan kanssa joulukuussa 2012. Opinnäytetyössä käytetyt plasmanäytteet numeroitiin juoksevin numeroin, eikä asiakkaan tunnistetietoja ollut enää saatavissa. Ennen näytteiden analysointia kliinisen kemian syventävien opiskelijat ovat opettajan valvonnassa ajaneet ja hyväksyneet kontrollit kaikilla Konelab -analysaattoreilla. Kontrolliajojen tulokset on tallennettu ja niistä on tehty tulosraportit. Näytteet analysoitiin ohjeiden mukaisesti, jonka jälkeen ne hävitettiin asianmukaisesti. Tulokset tallennettiin kahden kliinisen kemian syventävien opiskelijoiden toimesta asianmukaisesti siten, että toisen tallentaessa toinen opiskelija tarkisti tallennetun tiedon oikeellisuuden.

Luotettavuutta heikensi tulosten puuttuminen osittain, jolloin näytemäärät vaihtelivat analyyteittain (n=48-73). Excel-taulukkolaskentamuotoon tallennettuja tuloksia käytettiin aineistona, kun opinnäytetyötä jatkettiin syksyllä 2012. Aineisto analysoitiin tilastollisin menetelmin Excel- ja SPSS -ohjelmistoilla, jolloin tuloksiksi saatiin korrelaatiot, selitysasteet, sekä Konelab

20XTi:n arvojen poikkeamat referenssiarvosta (Konelab 20i), joita verrattiin Labquality Oy:n julkaisemiin kokonaisvirheen tavoiteväleihin. VTM Koivisto M. suoritti samat tilastolliset analyysit samasta aineistosta. Tulokset olivat yhtäläiset tässä opinnäytetyössä saatujen tulosten kanssa, joka lisäsi opinnäytetyön tulosten luotettavuutta. Kaikki saadut tulokset esitetään raportissa, eivätkä käytetyt taulukot tai kuvaajat vääristä tietoa.

7 POHDINTA

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun toimipisteen klinisen kemian luokan 517 Konelab -analysaattoreiden tulostason yhtenäisyys. Laboratoriossa samoja analyysejä suorittavien analysaattoreiden tulostasojen tulee vastata toisiaan sallittujen tavoitevälien puitteissa.

Arja-Leena Ruotsi ja Tanja Pesonen vertailivat opinnäytetyössään (2012) analysaattoreiden Advia 1800, Konelab 30 ja Konelab 20i tulostasoja. Vertailut suoritettiin pareittain, joten Konelab -analysaattoreita verrattiin myös keskenään. Saadut korrelaatiot olivat parempia kuin tässä opinnäytetyössä saamamme korrelaatiot. Ne vaihtelivat välillä $r=0,9797 - 0,9998$, kun tässä työssä ne vaihtelivat välillä $r=0,8182-0,9984$. Selitysasteet olivat myöskin paremmat Ruotsin ja Pesosen opinnäytetyössä niiden vaihdellessa välillä $R^2=0,96 - 0,99$. Omassa opinnäytetyössämme selitysasteet vaihtelivat välillä $R^2=0,69 - 1,00$.

Tämän opinnäytetyön korrelaatiot olivat kaikki kuitenkin vahvoja korrelaatioita r :n ollessa yli 0,7 jokaisen analyytin kohdalla. Selitysasteet ovat myös hyvin selittäviä R^2 :n ollessa yli 0,5 jokaisen analyytin kohdalla. Tulostasoerojen klinistä merkitsevyyttä tarkasteltaessa totesimme arvojen sijoittuvan riittävän hyvin Labquality Oy:n asettamille kokonaisvirheen tavoiteväleille. Huonoimmin tavoiteväleille sijoittuneiden AFOS:in ja ALAT:in, ja näiden lisäksi GT:n poikkeamien keskihajonnat olivat muita analyyttejä suuremmat. Näiden analyyttien kohdalla myös näytemäärät olivat pienimmät, jolloin yksittäiset poikkeamat erottuvat joukosta herkemmin. Keskihajonnan suuruudet voivat ainakin osittain selittää poikkeamat tavoiteväleistä AFOS:in ja ALAT:in kohdalla. Konelab 20i:n ja 20XTi:n tulostasot vastaavat toisiaan siis riittävän hyvin, jotta niitä voidaan käyttää analyyseissä samanarvoisesti.

Opinnäytetyön lähdemateriaalin kokoaminen onnistui verrattain hyvin. Suurimpaan osaan opinnäytetyötä käytettiin englanninkielistä lähdemateriaalia. Lähdemateriaalia käytettiin paitsi teoriaosuuden luomisessa myös tilastollisen käsittelyn apuna. Tulosten tilastollista käsittelyä varten opettelimme SPSS -

ohjelmiston käyttöä, jotta saimme tarvittavat tilastolliset arvot käyttämästämme aineistosta.

Opinnäytetyö onnistui kokonaisuudessaan mielestämme hyvin ja työpanos jakautui tasaisesti tekijöiden kesken. Pysyimme laatimassamme aikataulussa. Aloitimme analyysit joulukuussa 2012 ja raportin kirjoittamisen tammikuussa 2013. Opinnäytetyö on valmis huhtikuussa 2013. Saimme kaikki tarvittavat tulokset tulostasoverailun suorittamiseksi ja raportoimme ne kokonaisuudessaan.

Jatkotutkimusaiheeksi ehdotamme tulostasoverailua samojen analyysoijien välillä suuremmalla otoksella, joka olisi yhtä suuri eri analyyteillä. Voittaisiin myös selvittää tulostasojen yhteneväisyys viiterajat ylittävien arvojen kohdalla.

LÄHTEET

Biofysiikan harjoitustyöt. 2006. Oulun yliopisto: Kurssien 766107P ja 764324A kurssimateriaali. Viitattu 20.3.2013.

http://physics oulu.fi/fysiikka/oj/766107P/2006/elektrodit_ja_mittaaminen_s2006.pdf

Burtis, C.; Ashwood, E. & Bruns, D. 2008. Fundamentals of clinical chemistry. United States: Saunders elsevier.

Ernvall, S. 2012. Tilastolliset menetelmät. Turun AMK: Bioanalyttikko-opiskelijoiden kurssimateriaali.

Haug, E; Sand, O; Sjaastad, Ø & Toverud, K. 1995. Ihmisen fysiologia. 1. painos. Porvoo: Werner Söderström Osakeyhtiö.

Heikkilä, R. 2008. Biologisten menetelmien validointi. Mittatekniikan keskus. Viitattu 5.3.2013. http://www.mikes.fi/documents/upload/finas-paiva2008_heikkila.pdf

Hirsjärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara, P. 2001. Tutki ja kirjoita. 6.-7. painos. Helsinki: Tammi.

Jaarinen, S.& Niiranen, J. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5.-6. painos. Helsinki: Edita.

Juutilainen, J.; Seppälä, K & Lampinen, H. Konelab 20i kliinisen kemian analysaattorin koestus. Kliinlab 6/2000, 96–99

Labquality 2013. Tavoitearvot 2013. Viitattu 25.3.2013. http://www.labquality.org/LQ/pdf.aspx?dir=3&path=/PJ/Tavoitearvot_DT12.pdf

Lehtonen, P. & Sihvonen, M-L. 2006. Laboratorioalan analyttinen kemia. 1-1. painos. Opetushallitus.

Liimatainen, Olli. 2002. Menetelmien validointi ja verifiointi kliinisen mikrobiologian laboratoriossa: yleisiä periaatteita. Moodi 1 – 2002. Laaduntarkkailupäivät 14.- 15.2.2002.

Niemelä, O. & Pulkki, K. 2010. Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3., uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Penttilä, I. 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. 1. painos. Helsinki: Werner Söderström Osakeyhtiö.

Ruotsi, A-L. & Pesonen, T. 2012. Kliinisen kemian analyysien tasovertailu Advian 1800:n, Konelab 30:n ja Konelab 20i:n välillä. Metropolian AMK: Opinnäytetyö. Viitattu 22.11.2012 <https://publications.theseus.fi/handle/10024/47365>.

Saari, L. 2010. Kemiallisten menetelmien validointi ja mittausepäyarkkuus. Evira. Viitattu 5.3.2013 http://www.evira.fi/files/attachments/fi/evira/esittely_toiminta_valvonta/laboratoriotoiminta/koulutus/leena_saari_13.10.10.pdf

Signaalikäsittelytekniikan laboratorio 2004. Digitaalitekniikan perusteet- luento 2. Viitattu 27.2.2013. <http://signal.hut.fi/digis/printtaa/luento2/luento2.html>

Thermo Scientific 2008. Technical Specifications Konelab 20. Viitattu 23.1.2013. http://www.thermo.com/eThermo/CMA/PDFs/Product/productPDF_27380.pdf

Thermo Scientific 2009. Konelab käyttö-ohje 28-08-2009.

Thermo Scientific. Konelab / T Series Manuals & Applications and Inserts CD

Thermo Scientific 2012. Konelab 20 and 20XT Clinical Chemistry Analyzer.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö. Viitattu 3.4.2013.
<http://www.tenk.fi/fi/htk-ohje/hyva-tieteellinen-kaytanto>

Tykslab, ohjekirja. 2013. Viitattu 16.1.2013.
(<http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/4533.html>)

Vainio, J. 2003-2004. Aineistojen tilastollinen analyysi. Helsingin yliopisto: Kurssimateriaali.
Viitattu 26.3.2013. <http://www.helsinki.fi/~jvainio/ata.htm>

Virtuaaliammattikorkeakoulu 2007. Kvantitatiivisen analyysin perusteet. Viitattu 20.3.2013.
<http://www.amk.fi/opintojaksot/0709019/1193463890749/1193464131489/1194289328583/1194289824724.html>

Virtuaaliammattikorkeakoulu 2007. Kvantitatiivisen analyysin perusteet. Viitattu 20.3.2013.
<http://www.amk.fi/opintojaksot/0709019/1193463890749/1193464114103/1194104887231/1194105949194.html>

Ward; Lehmann & Leiken 1994. Clinical laboratory instrumentation and automation.
Philadelphia, USA: W.B. Saunders Company

Westgard, J. 2003. Basic Method Validation. 2. painos. Madison, USA: Westgard QC, Inc.

Westgard QC. Tools 2009, Technologies and Training for Healthcare Laboratories. Viitattu 4.2.2013. <http://www.westgard.com/westgard-rules-and-multirules.htm#westgard>