



LIPEMIAN VAIKUTUS KALIUM- JA NATRIUMMÄÄRITYKSIIN

**Cobas® 6000- ja ABL800 FLEX-
analysointilaitteilla vertailtuna**

Anette Johansson

Maria Mäkelä

Opinnäytetyö
Syyskuu 2013
Bioanalytiikan koulutusohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma
10SBIO

JOHANSSON, ANETTE & MÄKELÄ, MARIA:

Lipemian vaikutus kalium- ja natriummääriytyksiin
Cobas® 6000- ja ABL800 FLEX-analysointilaitteilla vertailtuna

Opinnäytetyö 49 sivua, joista liitteitä 4 sivua
Syyskuu 2013

Seerumin ja plasman elektrolyyteistä määritetään useimmin kalium- ja natriumpitoisuudet. Kaliumia ja natriumia analysoidaan yleisimmin potentiometriaan perustuvien ioniselektiivisten elektrodien eli ISE:n avulla. Osa tutkittavista näytteistä voi olla lipeemisiä. Näyte on lipeeminen, jos siinä esiintyy merkitsevästi lipidejä, joita on esimerkiksi very low density-lipoproteiineissa (VLDL) ja kylomikroneissa.

Opinnäytetyön aiheena on lipemian vaikutus kalium- ja natriummääriytyksiin Cobas® 6000- ja ABL800 FLEX-analysointilaitteilla vertailtuna. Aihe saatiin Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastuualueelta. Opinnäytetyö haluttiin tehtäväksi, sillä laboratoriossa epäiltiin, että lipemia häiritsee natrium- ja kaliummääriytyksiä erityisesti Cobas® 6000-analysointilaitteen kohdalla. Työn tavoitteena oli tuottaa tietoa lipemian vaikutuksista Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastuualueella käytössä oleviin kaliumin ja natriumin määrittämenetelmiin. Opinnäytetyön tarkoituksena oli vertailla lipeemisiä ja kirkastettuja K- ja Na-näytteitä Cobas® 6000-analysointilaitteella ja ABL800 FLEX-verikaasu-analysointilaitteella.

Opinnäytetyömme on kvantitatiivinen eli määrällinen työ. Kokeellisessa osuudessa määritettiin lipeemisistä näytteistä kalium- ja natriumarvot Cobas® 6000-analysointilaitteella sekä ABL800 FLEX-analysointilaitteella. Aineisto koostui 29 lipeemisestä näytteestä, jotka valittiin satunnaisotannalla. Lipeemiset näytteet kirkastettiin ultrasentrifugin avulla, minkä jälkeen ne määritettiin uudelleen. Analysointilaitteen antaman virheilmoituksen vuoksi 29 näytteestä vain 22 pystyttiin määrittämään molemmilla kerroilla ABL800 FLEX-analysointilaitteella.

Tulokset käsiteltiin taulukoimalla ne Microsoft Excel-taulukkolaskentaohjelmalla. Saaduista arvoista laskettiin muutosprosentit kirkastamattoman eli alkuperäisen ja kirkastetun tuloksen välillä, laskettiin korrelaatiokerroimet sekä muodostettiin regressioanalyysi tuloksen muutoksen ja kirkastamattoman näytteen lipemiasaindeksin välille. Kalium- ja natriumarvot nousivat jonkin verran näytteiden kirkastamisen jälkeen molemmilla analysointilaitteilla. Tämä voi häiritä tulosten kliinistä tulkintaa.

Pienen aineistomäärän vuoksi opinnäytetyön tulokset ovat lähinnä suuntaa antavia. Eritään lipeemisten näytteiden kirkastaminen ultrasentrifugin avulla voi olla suotavaa kalium- ja natriummääriytyksiä tehdessä. Ehdotamme jatkotutkimusaiheeksi tutkimuksen toistamista laajemmalla aineistolla. Lisäksi aineisto voitaisiin valita lipemiasaindeksin avulla, jolloin aineistoon pystytään valitsemaan sellaiset näytteet, joiden lipemiasaindeksi ylittää tietyn arvon.

Asiasanat: ioniselektiivinen elektrodi, kalium, natrium, lipemia

ABSTRACT

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

JOHANSSON, ANETTE & MÄKELÄ, MARIA:
Effects of Lipaemia on Measurement of Sodium and Potassium
Compared with Cobas® 6000- and ABL800 FLEX-analysers

Bachelor's thesis 49 pages, appendices 4 pages
September 2013

The objective of this study was to gather information about the effects of lipaemia on measurement of sodium and potassium. Ion-selective electrodes are used to measure sodium and potassium. The study was assigned from Fimlab Medical Laboratories Ltd.

The study was quantitative in nature. The sample of the study consisted of 29 lipaemic blood samples. Sodium and potassium of the samples were assayed using Cobas® 6000- and ABL800 FLEX-analysers. Lipaemic samples were ultracentrifuged and then assayed again with both analysers.

The data were analysed using Microsoft Excel spread-sheet program. The results revealed that the concentration of sodium and potassium in the samples increased after the ultracentrifugation. It seems that lipaemia has a minor effect on the concentrations. This may impede clinical interpretation of the results.

Results of the study are only approximate because of the relatively small amount of samples. We recommend that remarkably lipaemic samples should be ultracentrifuged when assaying sodium and potassium.

Key words: ion-selective electrode, potassium, sodium, lipaemia

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	5
2	OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA KYSYMYKSET	7
3	TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT	8
3.1	Kalium	8
3.2	Natrium	11
3.3	Ioniselektiivinen elektrodi, ISE	13
3.3.1	Cobas® 6000-analysaattori.....	18
3.3.2	ABL800 FLEX-verikaasuanalyysiaattori.....	20
3.4	Lipeemiset näytteet ja ioniselektiivinen elektrodi	21
4	AIEMMIN TEHTY TUTKIMUS	23
5	MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT	25
6	OPINNÄYTETYÖN VAIHEET.....	27
7	TULOKSET	30
7.1	Muutosprosentit	30
7.2	Korrelaatiokertoimet	32
7.3	Regressioanalyysit	33
7.4	Tulosten yhteenveto	36
8	LUOTETTAVUUS JA EETTISYYS	38
9	POHDINTA.....	40
	LÄHTEET.....	43
	LIITTEET	46
	Liite 1. Cobas® 6000-analysaattorin natriumtulokset.....	46
	Liite 2. Cobas® 6000-analysaattorin kaliumtulokset.....	47
	Liite 3. ABL800 FLEX-analysaattorin natriumtulokset.....	48
	Liite 4. ABL800 FLEX-analysaattorin kaliumtulokset.....	49

1 JOHDANTO

Seerumista ja plasmasta voidaan määrittää useita eri elektrolyyttejä. Elektrolyytit jaetaan anioneihin, jotka ovat negatiivisesti varautuneita ioneja, sekä kationeihin, jotka puolestaan ovat positiivisesti varautuneita ioneja. Fysiologisiin elektrolyytteihin kuuluvat muun muassa kalium, natrium, kalsium, magnesium ja kloridi sekä joitakin orgaanisia anioneja, kuten laktaatti. Osa elektrolyyteistä, kuten kalium, natrium ja kloridi, esiintyvät yleensä vapaina ioneina, kun taas esimerkiksi kalsiumista, magnesiumista ja hiivenaineista merkittävät määrät kulkevat sidottuna proteiineihin, kuten albumiiniin. (Scott, LeGrys & Klutts 2006, 983.)

Seerumin ja plasman elektrolyyteistä määritetään yleisimmin kalium- ja natriumpitoisuudet. Natrium on tärkein solunulkoisen kationi. Natriumin tärkeimpiä tehtäviä ovat osmoottisen paineen ja happo-emästasapainon ylläpitäminen sekä hermoimpulssien kuljettaminen. Kalium puolestaan on tärkein solunsisäinen kationi. Kaliumia tarvitaan solujen nestetasapainon säätelyyn, lihasten toimintaan sekä happo-emästasapainon säätelyyn. (Gaw ym. 2004, 12–13.)

Kaliumia ja natriumia määritetään yleisimmin potentiometriaan perustuvien ioniselektiivisten elektrodien eli ISE:n avulla. Elektrodi reagoi tiettyihin ioneihin nesteessä. Määrittystä voidaan tehdä kahdella eri menetelmällä: suoran ISE:n tai epäsuoran ISE:n avulla. Suorassa ISE:ssä näytettä ei laimenneta ennen määrittystä, kun taas epäsuorassa ISE:ssä näyte laimennetaan. (Kaplan & Pesce 2010, 222, 230–231.)

Osa tutkittavista näytteistä voi olla lipeemisiä. Näyte on lipeeminen, jos siinä esiintyy merkitsevästi lipidejä, joita on esimerkiksi very low density-lipoproteiineissa (VLDL) ja kylomikroneissa. Lipemia tekee näytteestä samean. Normaalisti plasmasta noin 93 prosenttia on vettä. Mikäli näyte on hyvin lipeeminen, plasman vesipitoisuus on matalampi kuin normaalisti. Tällöin analysaattorit, joissa käytetään menetelmänä epäsuoraa ISE:ä, antavat virheellisen matalia tuloksia. Suoraa ISE:ä käytettäessä lipeemisyys ei häiritse. (Marshall & Bangert 2004, 23; Kaplan & Pesce 2010, 130, 230–231.)

Opinnäytetyön aiheena on lipemian vaikutus kalium- ja natriummäärityksissä Cobas® 6000-analysaattorin c 501-moduulilla sekä verikaasuanalysaattorilla (ABL800 FLEX)

vertailtuna. Työ tehdään Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastuualueelle. Tällä hetkellä laboratoriossa käytössä olevat analysaattorit eivät hälytä lipeemisten näytteiden kohdalla kalium- ja natriummäärityksiä tehtäessä, joten lipeemisten näytteiden tulosta-soa ja vertailtavuutta normaalinäytteisiin on vaikea seurata. Opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa tietoa työn tilaajalle siitä, miten näytteen lipemia vaikuttaa tuloksen luotettavuuteen kalium- ja natriummäärityksiä tehdessä.

Molemmissa analysaattoreissa on käytössä potentiometriaan perustuvat ioniselektiiviset elektrodit eli ISE:t, joiden avulla kalium- ja natriumpitoisuudet määritetään. Cobas® 6000-analysaattorissa käytetään epäsuoraa ISE:ä ja verikaasuanalysaattorissa suoraa ISE:ä. Fimlab Laboratoriot Oy:ssä kalium ja natrium määritetään plasmasta. Tutkimukset tehdään pääosin Cobas® 6000-analysaattorilla. ABL800 FLEX-analysaattorilla määritetään lähinnä esimerkiksi leikkaussaleista tulevia kokoverinäytteitä. Analysaattorilla määritetään myös ionisoitunut kalsium.

Työn teoriaosuudessa käsitellään tarkemmin elimistön kaliumia ja natriumia, lipemiaa sekä analysaattoreita ja niiden toimintaperiaatteita. Tavoitteena on kerätä kokeellista osuutta varten 20–30 lipeemistä näytettä, jotka määritetään molemmilla analysaattoreilla, kirkastetaan ja määritetään uudelleen molemmilla analysaattoreilla.

2 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE, TARKOITUS JA KYSYMYKSET

Opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa tietoa lipemian vaikutuksista Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastuualueella käytössä oleviin kaliumin ja natriumin määrittämissä menetelmiin. Lipeemiset näytteet kirkastetaan, ja niistä saatuja arvoja käytetään opinnäytetyössä. Työmme avulla toimeksiantaja saa tarkempaa tietoa lipemian vaikutuksista määrittämissä, menetelmien eroista lipeemisiä näytteitä tutkittaessa ja lipeemisten näytteiden tulosten käyttökelpoisuudesta.

Opinnäytetyön tarkoituksena on vertailla lipeemisiä ja kirkastettuja kalium- ja natriumnäytteitä Cobas® 6000-analysointilaitteella ja ABL800 FLEX-verikaasuanalysointilaitteella. Epäsuoralla ISE:llä lipeemisistä näytteistä saadaan matalampia tuloksia kuin normaalisti, joten kirkastettujen näytteiden tulosten pitäisi olla lähempänä todellisia arvoja.

Opinnäytetyötä ohjailevia kysymyksiä:

- Miten lipemia vaikuttaa tulostasoon?
- Miten tulokset muuttuvat kirkastamisen jälkeen?
- Vaikuttaako lipemia eri tavalla Cobas® 6000-analysointilaitteella saatuihin tuloksiin kuin ABL800 FLEX-verikaasuanalysointilaitteen tuloksiin?

Opinnäytetyö haluttiin tehtäväksi, sillä laboratoriossa epäiltiin, että lipemia häiritsee natrium- ja kaliummäärittämissä erityisesti Cobas® 6000-analysointilaitteen kohdalla. Menetelmäeroista johtuen kirjallisuuden mukaan epäsuoralla menetelmällä määritettyihin tuloksiin lipemia voi aiheuttaa muutoksia, kun taas suoralla menetelmällä tuloksiin lipemian ei pitäisi vaikuttaa (Kaplan & Pesce 2004, 230–231).

3 TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT

3.1 Kalium

Kalium on hallitseva solunsisäinen kationi ihmisen elimistössä. Kudossoluissa kaliumin pitoisuus on noin 150 mmol/l ja punasoluissa noin 105 mmol/l, mikä on 23-kertainen määrä verrattuna plasman kaliumpitoisuuteen. (Marshall & Bangert 2004, 14; Scott ym. 2006, 984; Kaplan & Pesce 2012, 581.) Kokonaiskaliumin määrään vaikuttavia tekijöitä ovat ikä, sukupuoli ja lihasmassa, sillä suuri osa kaliumista sijaitsee lihaksissa (Kaplan & Pesce 2012, 543). Kalium vaikuttaa muun muassa sydämen lihasaktiivisuuteen (Turgeon 2007, 207).

Elimistön koko kaliummäärästä 90 prosenttia on vapaana ja siten vaihdettavissa. Loput kaliumista on sitoutuneena punasoluihin, luuhun ja aivokudokseen. Suurin osa kaliumista sijaitsee intrasellulaaritulassa eli solun sisäisessä tilassa. Ainoastaan noin 2 prosenttia kokonaiskaliumista sijaitsee ekstrasellulaaritulassa eli solun ulkoisessa tilassa, josta kalium on siis mitattavissa. Korkeat solunsisäiset pitoisuudet ylläpidetään Na^+ , K^+ -ATPaasin eli natrium-kalium-pumpun avulla, joka siirtää kaliumia takaisin solujen sisään nousevaa konsentraatiota vastaan. Natrium-kalium-pumppu on tärkeässä asemassa ylläpidettäessä ja säädettyä ionien pitoisuutta. Hermoimpulssin kulku ja sydän- sekä luurankolihasien supistumiskyky on tästä riippuvainen. (Marshall & Bangert 2004, 14; Scott ym. 2006, 984.) Natrium-kalium-pumppu siirtää kaliumioneja soluun ja natriumioneja ulos solusta (Oh 2007, 155).

Kaliumin diffuusio ulos solusta ylittää natrium-kalium-pumpun välityksellä otetun kaliumin määrän aina, kun natrium-kalium-pumpun aktiivisuus on jostain syystä alentunut. Aktiivisuus voi alentua ATP:n eli adenosiniinifosfaatin tuottoon tarvittavien metabolisten substraattien, kuten glukoosin, puutteen takia. Syynä voi olla myös natrium-kalium-pumpun ja muiden energiaa solussa kuluttavien tapahtumien välinen kilpailu energiasta tai solun aineenvaihdunnan hidastuminen, mitä tapahtuu esimerkiksi jäädyttämisen yhteydessä. (Scott ym. 2006, 984.)

Elimistön tarvitsema kalium saadaan ravinnon kautta. Kaliumia saadaan päivittäin noin 50–150 mmol. Kaliumia poistuu elimistöstä ruuansulatuskanavan, ihon sekä munuaisten

kautta. Suurin osa kaliumin erityksestä tapahtuu munuaisissa. (Scott ym. 2006, 985; Kaplan & Pesce 2012, 543–545.) Glomerulusten kautta suodatettu kalium imeytetään takaisin verenkiertoon lähes kokonaan proksimaalisissa tubuluksissa, minkä jälkeen jäljellä oleva kalium eritetään distaalisissa tubuluksissa, joissa se korvataan natriumilla aldosteronin vaikutuksesta. Aldosteroni parantaa kaliumin eritystä ja natriumin imeytymistä takaisin verenkiertoon. (Oh 2007, 155.)

Plasman kaliumin viitearvo on 3,3–4,8 mmol/l (Fimlab Laboratoriot Oy 2011a). Hypokalemialla tarkoitetaan normaalia matalampia kaliumpitoisuuksia. Hyperkalemia puolestaan tarkoittaa kohonnutta kaliumin määrää. Munuaiset jatkavat kaliumin eritystä myös puutetilassa, sillä keholla ei ole mitään tehokasta keinoa suojata itseään liialliselta kaliumin menetykseltä. Siksi päivittäinen kaliumin saanti on tärkeää. (Turgeon 2007, 207.) Hypokalemia voi aiheutua esimerkiksi pidentyneestä ripulista, oksentelusta tai kaliumin huonosta imeytymisestä. Hypokalemia voi aiheutua myös silloin, jos esimerkiksi diureettien takia kaliumia menetetään elimistöstä. Hyperkalemia taas aiheutuu esimerkiksi munuaisten vajaatoiminnasta, ketoasidoosista, metabolisesta asidoosista, leukemiasta tai vilkkaasta lihastoiminnasta. (Arneson & Brickell 2007, 226; Turgeon 2007, 207.)

Munuaiset vastaavat lähes välittömästi kaliumin ylimäärään elimistössä, jolloin ne lisäävät kaliumin eritystä. Puuttilojen yhteydessä munuaisvaste kaliumin säästämiseksi on puolestaan hyvin hidas. Tubuluksilla voi kestää jopa viikko vähentää kaliumin eritystä normaalista säästävälle tasolle. Kaliumin eritystä sääteleviä tekijöitä ovat kaliumin ja natriumin saanti, mineralokortikoidien pitoisuus plasmassa ja happo-emästasapaino. (Scott ym. 2006, 985.)

Kaliumin määrittämiseen Fimlab Laboratoriot Oy:ssa käytetään ioniselektiivisiä elektrodreja. Käytössä oleva mittausmenetelmä on epäsuora, eli näyte laimennetaan ennen mittausta. Näytteenä kaliummääritystä varten käytetään litiumhepariiniplasmaa. (Fimlab Laboratoriot Oy 2011a.) Hyytymisen aikana vapautuu kaliumia, mistä johtuen seerumin kaliumpitoisuus voi olla 0,1–0,7 mmol/l korkeampi kuin plasman kaliumpitoisuus. Eron suuruus riippuu trombosyyttien määrästä, sillä korkeampi pitoisuus on pääasiassa seurausta trombosyyttien hajoamisesta hyytymisen aikana. Tämä voidaan välttää käyttämällä näytteenotossa heparinisoitua putkea näytteen hyytymisen estämiseksi. Tästä syystä myös raportoinnissa on tärkeää huolehtia siitä, että näytteen laatu mainitaan huo-

llesesti. (Bishop, Fody & Schoeff 2005, 324; Scott ym. 2006, 985.) Plasma- ja seeruminäytteille on käytössä eri viitearvot. Plasmanäyte säilyy jääkaappilämpötilassa sentrifugoituna geelin päällä vuorokauden tai eroteltuna viikon. (Fimlab Laboratoriot Oy 2011a.)

Koska solunsisäisen ja solunulkoisen kaliumin pitoisuuseron ylläpitäminen riippuu natrium-kalium-pumpun aktiivisuudesta, vaikuttaa näytteenoton jälkeinen näytteen säilytys kaliumpitoisuuteen. Jos näyte jäädytetään ennen erottamista, natrium-kalium-pumpun aktiivisuus laskee glykolyysin estyessä ja plasman kaliumpitoisuus nousee, kun natrium-kalium-pumppu ei pysty enää estämään kaliumin vuotamista ulos punasoluista plasmaan. Virheellisen matalia kaliumpitoisuuksia sen sijaan voi esiintyä, jos erottamaton näytettä säilytetään 37 °C:ssa, sillä tällöin glykolyysia pääsee tapahtumaan ja kalium vaihtuu solunsisäisesti. Leukosytoosi voi aiheuttaa jopa huoneenlämmössä virheellisen matalia kaliumarvoja. Kaliumarvojen alenemisen suuruus riippuu leukosyyttien määrästä, lämpötilasta ja veren sokeripitoisuudesta. Tämä prosessi on kuitenkin kaksivaiheinen. Aluksi plasman kaliumpitoisuus laskee, mutta kun glukoosi on kulutettu, kalium vuotaa ulos solusta, jolloin plasman kaliumpitoisuus nousee jälleen. Näiden tekijöiden takia on suositeltavaa sentrifugoida näyte mahdollisimman nopeasti. Käytännössä tunnin sisällä erotetussa ja huoneenlämmössä säilytetyssä näytteessä ei pitäisi ilmetä suuria virheitä kaliumpitoisuuksissa. (Scott ym. 2006, 985.)

Kaliumin määrittämisen yhteydessä on tärkeää kiinnittää huomiota huolelliseen näytteenottoon ja näytteen käsittelyyn, sillä monet tekijät voivat tuottaa artefaktana hyperkalemiaa näytteeseen. Pitkä staasin käyttö tai potilaan pumppaavat kädenliikkeet näytteenoton aikana voivat lisätä näytteen kaliumpitoisuutta, sillä luurankoli hasten aktiivisuus aiheuttaa kaliumin vuotoa lihassoluista plasmaan. Lihasten aktiivisuudesta johtuen kaliumarvo voi nousta 2 mmol/l. Molemmat virhelähteet voidaan välttää huolellisella toiminnalla näytteenottotilanteessa. Hemolyysia tulee välttää punasolujen korkean kaliumpitoisuuden vuoksi. Heikko hemolyysi nostaa kaliumarvoa noin 3 prosenttia, merkittävä hemolyysi 12 prosenttia ja täydellinen hemolyysi jopa 30 prosenttia. Siksi näkyvä hemolyysi on tärkeää huomioida näytteitä määritettäessä. Mikäli kaliumarvoja määritetään ISE-tekniikalla kokoverinäytteestä verikaasulaitteella tai vierianalytiikkaan tarkoitetulla laitteella, hemolyysin aiheuttama kaliumarvojen nousu voi jäädä huomaamatta. Aina kun tällaisessa näytteessä epäillä hemolyysia, osa näytteestä tulee sentrifu-

goida ja arvioida näytteen laatu silmämääräisesti. (Bishop, Fody & Schoeff 2005, 324; Scott ym. 2006, 985–986.)

3.2 Natrium

Natrium on tärkein solunulkoinen kationi (Gaw ym. 2004, 16). Elimistön natriumista 70 prosenttia on vapaana ja vaihdettavissa. Loput natriumista on sitoutuneena luuhun. Suurin osa vapaasta natriumista sijaitsee ekstrasellulaarinessä. Solukalvot ovat suhteellisen läpäisemättömiä, mutta vähäistä siirtymistä ekstrasellulaaritalasta intrasellulaaritalaan tapahtuu. Tasapainoa kyseisten nesteiden välillä ylläpidetään pumppaamalla aktiivisesti natriumia intrasellulaaritalasta ekstrasellulaaritalaan Na^+, K^+ -ATPaasi:n eli natrium-kalium-pumpun avulla. (Marshall & Bangert 2004, 14.) Elimistössä natriumilla on suuri rooli nestetasapainon, elektrolyyttitasapainon ja solunulkoisen nesteen osmoottisen paineen ylläpidossa (Scott ym. 2006, 984; Turgeon 2007, 207).

Natriumtasapainoa ylläpidetään säännöstelemällä sen erityistä munuaisissa. Natriumia voidaan menettää isotonisesti esimerkiksi plasmasta tai hypotonisesti esimerkiksi hien tai virtsan mukana. Molemmissa tapauksissa ekstrasellulaarinessen määrä vähenee. (Marshall & Bangert 2004, 18.) Natriumin määrä elimistössä riippuu saadun ja menetetyt natriumin tasapainosta. Saadun natriumin määrä riippuu ruokavalion laadusta. Natriumin erityys tapahtuu pääosin ruuansulatuskanavan, ihon ja munuaisten kautta. Normaalisti suurin osa erityksestä tapahtuu munuaisten kautta. Natriumin määrään elimistössä voi vaikuttaa myös muun muassa sydämen vajaatoiminta, maksasairaus, munuais-sairaus tai raskaus. (Kaplan & Pesce 2012, 539–543.) Natriumia saadaan normaalisti ravinnon kautta 130–269 mmol päivässä, josta suurin osa imeytyy elimistöön ruuansulatuskanavan kautta. Ihminen tarvitsee päivittäin vain 1–2 mmol natriumia, joten ylimäärä eritetään pois elimistöstä munuaisten kautta. (Scott ym. 2006, 984.)

Natrium suodattuu vapaasti munuaisissa glomerulusten kautta. Suodatetusta natriumista 70–80 prosenttia palautuu elimistöön aktiivisesti proksimaalisissa tubuluksissa, kloridin ja veden seuratessa. Henlen lingossa 20–25 prosenttia natriumista palautuu verenkiertoon jälleen kloridin ja veden kanssa. (Scott ym. 2006, 984.) Natriumin eritystä munuaisten kautta säädellään hormonien avulla (Turgeon 2007, 207). Distaalisissa tubuluksissa aldosteronin ja $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ sekä $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ -parien vuorovaikutuksen johdosta jäljellä ole-

va natrium imeytyy takaisin verenkiertoon. Tämä johtaa myös epäsuorasti kloridin imeytymiseen. Distaalisissa tubuluksissa suodatetun natriumin takaisin imeytymisen säätely määrittää pääasiassa myös virtsaan eritetyn natriumin määrän. Lisäksi virtsaan suodatetun natriumin määrään vaikuttaa ravinnosta saatu natriumin määrä. (Scott ym. 2006, 984.)

Plasman natriumpitoisuutta tulisi seurata silloin, kun potilaalla on nestehukka tai massiivinen nesteen poistuminen esimerkiksi ripulin tai oksentelun takia. Tällöin määrityksen avulla saadaan ohjausta oikeanlaiseen nesteen korvaamiseen. Lisäksi natriumpitoisuutta olisi hyvä seurata potilailla, jotka eivät kykene itse kertomaan janontunteestaan kuten tajuttomat, vauvat ja vanhukset. Myös potilailla, joilla on selittämätöntä sekavuutta, epänormaalia käytöstä tai merkkejä keskushermosto-oireista on natriumin määrittäminen suotavaa. (Gaw ym. 2004, 23.)

Plasman natriumin viitearvo on 137–144 mmol/l (Fimlab Laboratoriot Oy 2011b). Matalaa plasman natriumpitoisuutta kutsutaan hyponatremiaksi ja hypernatremialla puolestaan tarkoitetaan korkeaa plasman natriumpitoisuutta. Matalia pitoisuuksia esiintyy esimerkiksi runsasvirtsaisuuden tai Addisonin taudin eli lisämunuaisen vajaatoiminnan yhteydessä. Korkeita pitoisuuksia puolestaan mitataan esimerkiksi vakavan nestehukan, ripulin, laajojen palovammojen tai munuaisperäisten sairauksien yhteydessä. (Arnedon & Brickell 2007, 225; Turgeon 2007, 207.)

Natriumin määrittämiseen Fimlab Laboratoriot Oy:ssä käytetään ioniselektiivisiä elektrodeja. Käytössä oleva menetelmä on epäsuora, eli näyte laimennetaan ennen mittausta. Näytteenä määrityksessä käytetään litiumhepariiniplasmaa. Plasma- ja seeruminäytteille on käytössä eri viitearvot. Näyte säilyy jääkaappilämpötilassa viikon. (Fimlab Laboratoriot Oy 2011b.) Litiumhepariini on sopiva antikoagulantti plasman ollessa näytemuotona. Hemolyysi ei aiheuta merkittävää muutosta seerumin tai plasman natriumtulokseen, sillä punasolut sisältävät vain kymmenesosan natriumia verrattuna plasman natriumpitoisuuteen. (Bishop ym. 2005, 320; Scott ym. 2006, 984.) Lipeemiset näytteet tulisi ultracentrifugoida ennen analysointia, mikäli käytössä on epäsuora ISE (Scott ym. 2006, 984).

3.3 Ioniselektiivinen elektrodi, ISE

Sähkökemialla tarkoitetaan spesifien ionien aktiivisuuden mittaamista sähkövirran tai jännitteen avulla. Sähkökemiallisiin tekniikoihin kuuluu potentiometria, koulometria, voltammetria, amperometria ja konduktometria. (Sunheimer, Threatte, Lifshitz & Pincus 2007, 42.) Potentiometriassa käytetään tekniikkaa, jolla mitataan kahden eri elektrodin eli puolikennon välistä jännite-eroa vakioituissa olosuhteissa sähkökemiallisessa kennossa kennon sähkövirran ollessa nolla. Kennon kaksi elektrodia on yhdistetty elektrolyyttiliuoksen välityksellä. Elektrodi voi koostua yksittäisestä metallijohtimesta, joka on suoraan kosketuksissa elektrolyyttiliuoksen kanssa. Elektrodi voi myös koostua yhdestä tai useammasta osasta, jotka ovat joko suoraan kosketuksissa toistensa kanssa tai erotettuina toisistaan membraaneilla, joista vain tietyt kationit tai anionit pääsevät lävitse. (D’Orazio & Meyerhoff 2006, 93.) Tulostuksessa käytetään hyväksi Nernstin yhtälöä.

Nernstin yhtälö (Virtanen 1982, 28):

$$E_{ISE} = E_0 + S \cdot \lg a_i$$

jossa E_{ISE} = mitattu kennojännite

E_0 = vakiojännite

S = kulmakerroin eli $2.302 \cdot \frac{RT}{ZF}$, jossa R = kaasuvakio

T = absoluuttinen lämpötila (K)

Z = varaus

F = Faradayn vakio

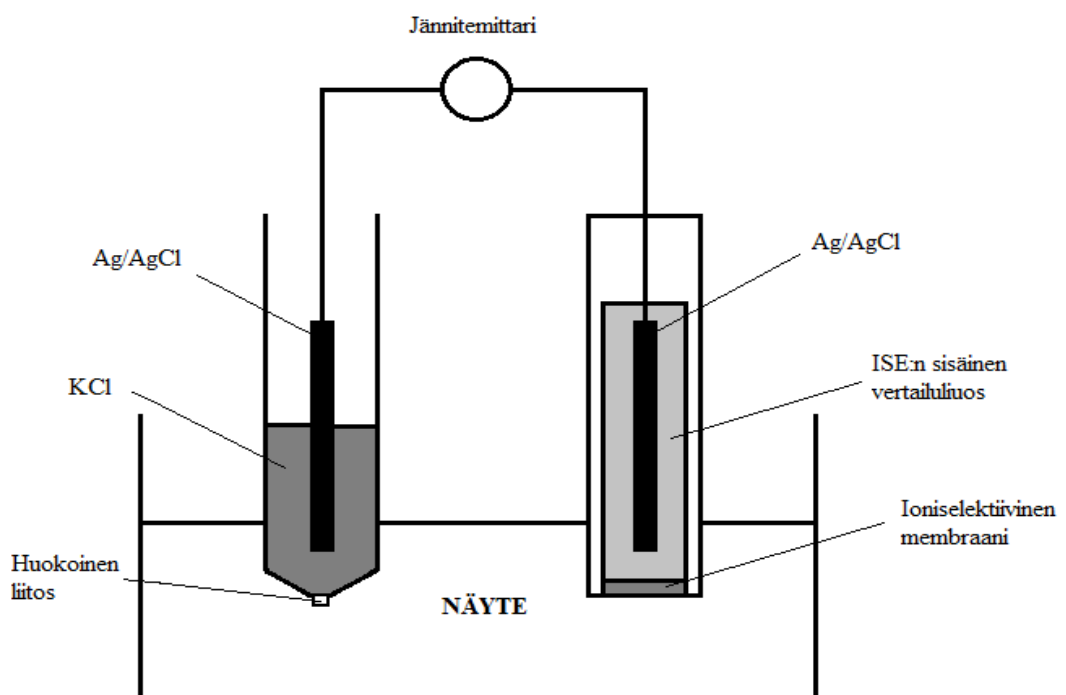
a_i = näytteestä mitattavan ionin aktiivisuus

Lähdejännite (EMF) on määritetty maksimijännite-eroksi kahden elektrodin välillä, joka vallitsee kennon sähkövirran ollessa nolla. Kennon jännitettä mitataan käyttämällä potentiometria, joka mittaa kennon jännitettä eli jännitettä kahden elektrodin välillä. Tarkan mittaustuloksen saamiseksi on välttämätöntä, ettei kennon läpi kulje sähkövirtaa. Tämä toteutetaan yhdistämällä riittävän suuri vastus jännitemittariin. Missä tahansa johdattavassa osassa jännite on vakio niin kauan kun sähkövirta on nolla. Kuitenkin jänniteero nousee kahden toisissaan kosketuksissa olevan eri osan välillä. Sähkökemiallisen kennon kokonaisjännite on kaikkien kennon eri osien välillä vallitsevien jännite-erojen summa. Vain kahden elektrodin eli puolikentöjen väliset jännite-erot voidaan mitata.

Nykyiset suoraan luettavat potentiometrit ovat tarkkoja ja niihin voidaan yhdistää digitaalset näytöt tai printterit tulostusta varten. (D’Orazio & Meyerhoff 2006, 93–94.)

Ioniselektiivisiä elektrodeja käytetään potentiometriassa mittaamaan tiettyjä ioneja liuoksessa (Kaplan & Pesce 2004, 222). Ioniselektiiviset elektrodit eli ISE:t määrittävät mitattavan aineen aktiivisuutta eli niiden atomien määrää, jotka toimivat ioneina vakioidussa vesimäärässä (Marshall & Bangert, 2004, 23). ISE:t eivät ole spesifisiä tietylle ionille vaan niillä on tietty selektiivisyys annettua ionia kohtaan. ISE:t mittaavat näytteestä siis määritettävän analyytin aktiivisuutta eivätkä niinkään konsentraatiota. Elektrodin selektiivisyydestä johtuen toiset ionit voivat häiritä määrittystä. (Christian 2004, 395, 407.) Elektrodin selektiivisyys on sitä parempi, mitä paremmin se valikoi halutun ionin eikä muita analyytteja (Kaplan & Pesce 2004, 224–226).

Jännitettä mitataan tunnettua jännitettä vastaan, joka luodaan referenssielektrodin avulla. Ihanteellisen referenssielektrodin tulisi olla palautuva ja toteuttaa Nernstin yhtälöä. Jännitteen tulee pysyä vakiona koko ajan ja elektrodin tulee palautua alkuperäiseen potentiaaliin jouduttuaan alttiiksi sähkövirralle. (Sunheimer ym. 2007, 43.) Yleensä elektrodit merkitään piirroksissa niin, että vasemmanpuoleinen elektrodi on referenssielektrodi, ja oikeanpuoleinen elektrodi on indikaattori eli mittaava elektrodi (D’Orazio & Meyerhoff 2006, 93). Kuviossa 1 on esitetty kennon rakenne.



KUVIO 1. Ioniselektiivinen kenno (D’Orazio & Meyerhoff 2006, muokattu)

Elektrodin selektiivisyyttä saadaan parannettua ympäröimällä elektrodi selektiivisellä membraanilla. Esimerkiksi pH-elektrodilla membraani on selektiivisempi vetyioneille kuin natriumioneille. Membraanin päätarkoitus on maksimoida selektiivisyys, jotta muiden samankaltaisten ionien aiheuttamilta häiriöiltä vältyttäisiin. (Hirst 2005, 384–385.) Ioniselektiiviset membraanit tehdään yleensä lasista, kiteistä tai polymeeristä. Lasi- ja polymeerielektrodit ovat kaksi yleisimmin käytössä olevaa ISE-tyyppiä, joita käytetään kliinisessä kemiassa. Lasielektrodien membraanit koostuvat silika-sulatteesta ja alumiinioksidista, johon on sekoitettu alkaalimetallikationeja. Muuttamalla lasin koostumusta saadaan elektrodeja, jotka ovat eri ioneille selektiivisiä. Polymeerimembraanielektrodi on vallitsevin ISE-tyyppi kliinisen kemian sovellutuksissa. Näiden ioniselektiivisten elektrodien herkkyyden mekanismit voidaan jaotella kolmeen eri kategoriaan, jotka ovat: 1) varautunut, erotettu ioninvaihdin, 2) varautunut, yhdistetty ioninvaihdin ja 3) neutraali ioninkantaja, joka on ionin membraanin läpäisykykyä lisäävä aine. Usein polymeerimembraanit ovat PVC-pohjaisia. (D’Orazio & Meyerhoff 2006, 96.)

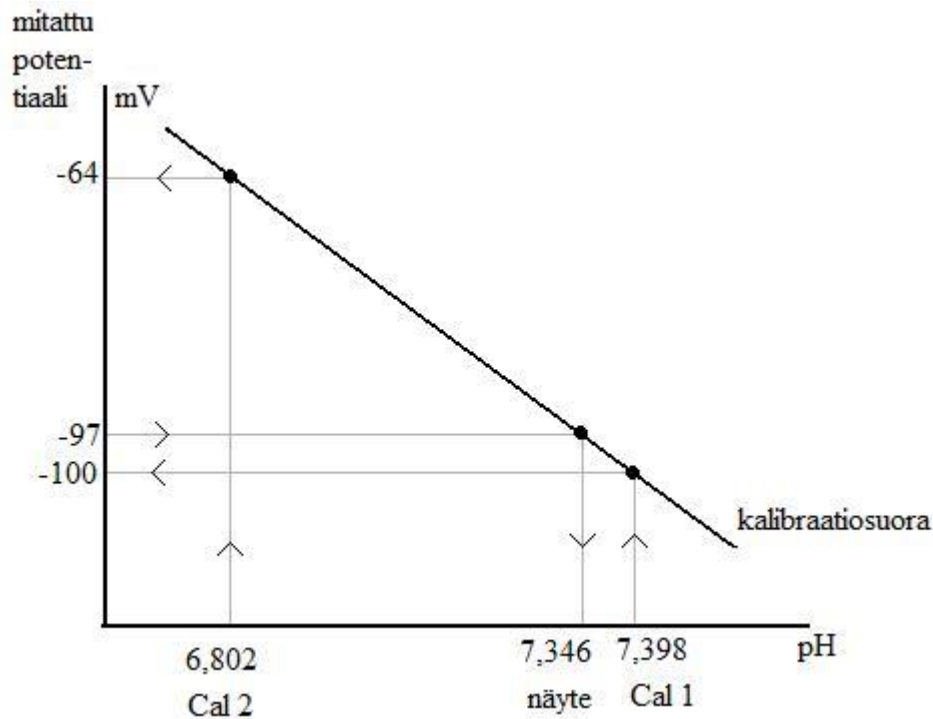
Vaikka ISE mittaakin ionin aktiivisuutta eikä niinkään konsentraatiota, konsentraatio on logaritmisesti riippuvainen jännitteestä, kun ionivahvuus on muuttumaton vakioiden ja näytteen välillä. Lisäämällä kalibraationesteeseen pieni määrä liuosta, jossa on korkea ioniaktiivisuus, saadaan korkean ja matalan arvon välinen käyrä. Käyrää käyttäen pystytään määrittämään näytteen konsentraatio aktiivisuuden avulla. (Kaplan & Pesce 2004, 229.)

Kliinisessä käytössä tavoitteena on saada käsiteltyä suuri määrä näytteitä ja tehdä mittaukset mahdollisimman nopeasti. Usein ISE:t on liitetty automaatteihin, joita käytetään näytteiden analysointiin. (Kaplan & Pesce 2004, 230.) ISE:n käytöstä on laboratorion kannalta useita etuja. ISE:t toimivat myös sameissa tai värillisissä ympäristöissä, joissa taas fotometrisiä menetelmiä ei voida käyttää. Mittaus pystytään suorittamaan melko nopeasti ja pienestä näytemäärästä. Näyte ei tuhoudu mittauksen aikana. Toisaalta elektrodit vaativat toistuvaa kalibrointia ja huoltoa. (Christian 2004, 407.) Elektrodin huolto on melko samanlainen riippumatta siitä, mitä ionia sillä mitataan. Elektrodia käsiteltäessä ja huollettaessa on oltava varovainen, sillä elektrodin mittauspää on usein tehty herkästi särkyvästä materiaalista. Säilytys ja puhdistus riippuvat elektrodin käyttöasteesta ja elektrodityypistä. (Kaplan & Pesce 2004, 229.) Nykyään käytetään melko paljon kertakäyttöelektrodeja.

Tulosten luotettavuuteen vaikuttaa standardien ja näytteiden analysointilämpötila. Yleisin virhelähde on ISE:n reagoiminen ei-analyyttiseen tai häiritsevään ioniin näytteessä. Siksi on tärkeää tietää käytössä olevien elektrodien selektiivisyysominaisuudet. Tietyt aineet, kuten proteiinit, voivat myös takertua elektrodiin kiinni ja estää näin mitattavien analyttien pääsyn elektrodille, jolloin voi aiheutua virheellinen tulos. (Kaplan & Pesce 2004, 230.)

Elektrodit tulee kalibroida säännöllisesti. Elektrodeista saadut signaalit voivat muuttua esimerkiksi proteiinin kertymisen, kuluneiden membraanien tai ikääntyneiden elektrodien takia. Kalibroinnin avulla tarkistetaan, että elektrodeista tuleviin signaaleihin voidaan luottaa myös potilasnäytteiden kohdalla. Kalibraatiosuora ilmaisee suhdetta elektrodilla mitatun jännitteen ja elektrodille spesifisten aineiden konsentraation välillä. Jokaisella elektrodilla on omanlaisensa kalibraatiosuora. Kuvatakseen elektrodin todellista kuntoa, kalibraatiosuoraa verrataan teoreettisen elektrodin kalibraatiosuoraan. Elektrodin herkkyyttä havainnollistetaan vertaamalla kalibraatiosuoran kulmakerrointa teoreettisen elektrodin kalibraatiosuoran kulmakertoimeen. Teoreettisen elektrodin herkkyys olisi 100 prosenttia. Jokaisella elektrodilla on omat herkkyysrajansa. Elektrodin vakautta ja tulosten toistettavuutta seurataan vertaamalla uusinta kalibraatiota edelliseen kalibraatioon. (Radiometer Medical Aps 2004, 1–4, 1–5, 1–6.)

Kuviossa 2 on esitetty kalibraatiosuoran muodostuminen käyttämällä esimerkkinä pH-elektrodia. Kyseessä on kahden pisteen kalibrointi, joka suoritetaan käyttämällä kahta kalibraatioliuosta, joiden pH tunnetaan. Mittaamalla kalibraatioliuosten pH:t saadaan määritettyä tietyt pisteet, joilta nähdään myös elektrodin potentiaali eli jännite. Pisteiden kautta voidaan piirtää lineaarinen kalibraatiosuora. Sijoittamalla näytteestä mitattu jännite kalibraatiosuoralle saadaan selville näytteen pH-arvo. Sama periaate toimii myös muiden elektrodien kalibroinnissa. Kalibroidessa voidaan käyttää myös yhden pisteen kalibrointia. Tällöin saadaan selville vain kalibraatiosuoran paikka, kun taas kahden pisteen kalibrointia käyttämällä saadaan määritettyä myös kalibraatiosuoran kulmakerroin. (Radiometer Medical Aps 2004, 1–4.)



KUVIO 2. Kalibraatio-suora, x-akselilla pH ja y-akselilla mitatun potentiaalin suuruus. Kuvaajassa näkyy kalibraatioliuos 1:n (Cal 1), kalibraatioliuos 2:n (Cal 2) ja näytteen sijoittuminen kalibraatio-suoralle. (Radiometer Medical Aps 2004, muokattu.)

Määrittystä voidaan tehdä kahdella eri menetelmällä: suoran ISE:n tai epäsuoran ISE:n avulla. Suorassa ISE:ssä näytettä ei laimenneta ennen määrittystä, kun taas epäsuorassa ISE:ssä näyte laimennetaan. Laimentamattomilla näytteillä tehdyn ISE-määrittelyn tulokset voivat poiketa laimennettujen näytteiden ISE-määrittelyn tuloksista. Laimennuksen avulla kaikki näytteet saadaan mitattavaan ionivahvuuteen, kliinisesti merkittävää on plasma-vesi-konsentraatio eikä plasma-konsentraatio. Plasmasta 93,3 prosenttia on vettä. (Kaplan & Pesce 2004, 230–231.)

Automaation vastualueella Fimlab Laboratoriot Oy:ssa on käytössä Cobas® 6000-analysointilaitteisto ja ABL800 FLEX-verikaasuanalysointilaitteisto, joissa on yhtenä mittausmenetelmänä ISE. Cobas® 6000-analysointilaitteistolla voidaan tehdä useita eri kemian ja immunokemian määrittämiä (MyLabOnline 2012). ABL800 FLEX-analysointilaitteistoilla voidaan mitata useita eri parametreja liittyen muun muassa verikaasuihin, elektrolyytteihin sekä aineenvaihduntatuotteisiin (Radiometer 2011). Työssä keskitytään molempien laitteiden osalta vain natrium- ja kaliummäärittämiin.

3.3.1 Cobas® 6000-analysaattori

Fimlab Laboratoriot Oy:ssä käytetään natriumin ja kaliumin määrittämiseen pääasiassa Cobas® 6000-analysaattoria. Analysaattorissa on käytössä epäsuora ISE mittausmenetelmänä. Cobas® 6000-analysaattorissa c501-moduulin ISE-yksikkö on tarkoitettu natriumin, kaliumin ja kloridin kvantitatiiviseen määrittämiseen seerumista, plasmasta tai virtsasta ioniselektiivisiä elektrodeja käyttäen. Menetelmän mittausalue plasman natriumille on 80–180 mmol/l. Mittausalue kaliumille on 1,5–10,0 mmol/l. Virhelähteinä mittauksille on hemolyysi kaliumin kohdalla sekä huomattava lipeemisyys natriumin kohdalla. (Roche Diagnostics 2011.)

Cobas® 6000-analysaattorissa käytettäviä reagensseja ovat referenssiluos, laimennusliuos, sisäinen vakioliuos sekä pesuliuos. Referenssiluosta käytetään joka mittauksen yhteydessä tasaamaan referenssisignaalia. Laimennusliuosta käyttämällä näytteet laimennetaan 1:31 kyvetissä. Sisäisellä vakioliuoksella laite tekee yhden pisteen kalibroinnin ennen varsinaista näytemittausta sekä huuhtelee laitteiston näytemittauksen jälkeen. Pesuliuosta käytetään neulojen, letkujen ja elektrodien puhdistukseen. (Fimlab Laboratoriot Oy 2011a; Kallela 2013.)

Analysaattorin ISE-yksikkö koostuu kolmesta mittauskasetista sekä yhdestä referenssikasetista. Jokainen mittauskasetti sisältää ioniselektiivisen elektrodin. Kasetit on yhdistetty siten, että ne muodostavat virtaustien laimennetulle näytteelle ja sisäiselle vakio-liuokselle. Referenssikasetti sisältää referenssielektrodin. (Roche Diagnostics, A-79.) Natriumelektrodissa on PVC-membraani, joka sisältää ioninkantajana kruunueetteriä. Kaliumelektrodin PVC-membraani puolestaan sisältää ioninkantajana valinomysiiniä. Referenssielektrodi tehdään laitteen kloridielektrodista, jossa on ammonium-suolaa sisältävä PVC-membraani. (Kallela 2013.)

Näytemittauksessa näyte pipetoidaan aluksi erilliseen reaktioastiaan, minkä jälkeen laimennusliuos pipetoidaan näytteen kanssa samaan astiaan. Tämän jälkeen analysaattori sekoittaa näytteen ja laimennusliuoksen keskenään. Seuraavaksi analysaattori lämmittää sisäisen vakioliuoksen ja suorittaa yhden pisteen kalibraatiomittauksen. Sisäisen vakio-mittauksen jälkeen analysaattori määrittää laimennetusta näytteestä halutut parametrit. Analysaattori mittaa lähdejännitteen arvon, joka kuvastaa ioniselektiivisen elektrodin ja referenssielektrodin välistä jännite-eroa. Tulokset lasketaan sisäisen vakioliuoksen ja

laimennetun näytteen lähdejännitteiden avulla. Tämän jälkeen ISE-laitteisto on valmis uuteen määrittelykseen. Mikäli analysoitavia näytteitä ei ole enempää, analysaattori suorittaa sisäisen vakioliuoksen mittauksen ja pysähtyy. (Roche Diagnostics, A-80.)

Analysaattori kalibroidaan kerran vuorokaudessa. Käytössä ovat matalan tason ja korkean tason kalibrointiliuokset. Kalibraattoreista tehdään automaattisesti kolme rinnakkaista mittausta. Kalibraattorin arvo mitataan viisi kertaa, joista matalin ja korkein arvo hylätään. Kolmesta rinnakkaisesta arvosta ensimmäinen hylätään ja kahdesta jäljelle jääneestä lasketaan keskiarvo. Laitteen vakiokuvaaja piiryy matalan ja korkean tason kalibraatioiden kautta saatujen pisteiden läpi. (Kallela 2013).

Hemolyysi, ikteria ja lipemia häiritsevät usein spektrofotometrisiä menetelmiä. Hemolyysi on näistä häiriötekijöistä yleisin. Kliinisesti merkittävin ongelma on hemolyysi, joka aiheutuu näytteenoton aikana ja sen jälkeen. Bilirubiini puolestaan voi häiritä sekä fotometrisiä määrittelyksiä että kemiallisia määrittelyksiä. Hyperbilirubinemiolla tarkoitetaan tilannetta, jossa bilirubiinikonsentraatio on yli 35 $\mu\text{mol/l}$. Ikterisyys sen sijaan on tilanne, jossa bilirubiinikonsentraatio on yli 100 $\mu\text{mol/l}$. Lipemia voi häiritä mitä tahansa määrittelyä, joka perustuu valon läpikulun tai sironnan mittaukseen. Näytteessä olevat hemoglobiini, bilirubiini ja lipidit voivat aiheuttaa positiivista tai negatiivista häiriötä usean eri analyysin määrittelytuloksiin, mistä voi aiheutua vääriä tulosten tulkintoja sekä vääriä hoitovalintoja. (Ji & Meng 2011, 1550.)

Cobas® 6000-analysaattori kykenee havaitsemaan hemolyysin, ikterian ja lipemian näytteissä ja voi luoda laskennallisen arvon plasman hemoglobiinin, bilirubiinin ja lipidien aiheuttamalle häiriölle. Nämä arvot ilmaistaan hemolyysin H-indeksinä, ikterian I-indeksinä ja lipemian L-indeksinä. Yhdellä H-indeksin yksiköllä tarkoitetaan plasman hemoglobiinin konsentraatiota 0,621 $\mu\text{mol/l}$ ja yhdellä I-indeksin yksiköllä plasman bilirubiinin konsentraatiota 17,1 $\mu\text{mol/l}$. Lipemian L-indeksi määräytyy plasman sameuden perusteella, eikä lipidien konsentraation avulla, joten lipemiaindeksille ei ole vastaavaa konsentraatioarvoa. (Ji & Meng 2011, 1551.)

3.3.2 ABL800 FLEX-verikaasuanalysaattori

Natriumia ja kaliumia voidaan määrittää myös ABL800 FLEX-verikaasuanalysaattorilla Fimlab Laboratoriot Oy:ssä. Menetelmänä analysaattorissa on suora ISE. Laite antaa tuloksen yksikössä mmol/l. Kaliumin kohdalla mittausalue on 0,5–25,0 mmol/l. Natriumilla vastaava alue on 7–350 mmol/l. Elektrodirin mittausaika riippuu elektrodityypistä. Elektrolyyttiparametrien ja pH:n mittauksessa käytetään referenssielektrodia. Analysaattori muuttaa automaattisesti aktiivisuuden konsentraatioksi. (Radiometer Medical Aps 2004, 1-3, 1-7, 1-8, 6-10.)

ABL800 FLEX analysaattorissa on käytössä huuhteluliuos, pesuliuos, kalibraatioliuos sekä neljän eri tason kontrolliliuoksia. Huuhteluliuos huuhtelee näytekannan ja poistaa sieltä näytteiden tai muiden liuosten jäämiä. Pesuliuoksen avulla näytekannasta ja elektrodeista poistetaan lipidisakkaa. Analysaattorille voidaan tehdä myös proteiinipesu hypokloriittiliuoksen avulla. Neljä kontrolliliuosta kattavat koko mittausalueen, sillä käytössä on matalan, korkean ja normaalin tason kontrollit. (Radiometer Medical Aps 2012, 5-2, 7-20.)

Referenssielektrodi on tehty hopealangasta, joka on päällystetty hopeakloridilla. Elektrodissa on kolmekerroksinen membraani, joka koostuu kolmesta erillisestä membraanista. Kaliumielektrodissa on PVC-membraani, jossa on kaliumneutraali ioninkantaja. (Radiometer Medical Aps 2004, 1-8, 1-22.) Usein kaliumielektrodeissa ioninkantajana käytetään valinomysiinia, joka mahdollistaa kaliumionien läpipääsyn, mutta sulkee muiden ionien kulun elektrodille (Schroeder, Osypiw & Challand 2005, 420–421). Natriumielektrodissa on Na⁺-sensitiivinen keraaminen kärki elektrodikuoreessa (Radiometer Medical Aps 2004, 1-22).

ABL800 FLEX analysaattorilla mittaus tapahtuu suoraan plasmasta ilman laimentamista. Näyte kulkeutuu erilaisten pumppujen avulla näytekannavaa pitkin mittausyksikköön. Analysaattorin kalibrointi tapahtuu automaattisesti tietyin väliajoin. Analysaattorilla voidaan tehdä sekä yhden pisteen että kahden pisteen kalibrointeja. (Radiometer Medical Aps 2012, 2-3, 2-5, 6-2.)

3.4 Lipeemiset näytteet ja ioniselektiivinen elektrodi

Lipemian aiheuttama sameus on yksi tavallisimmista tulosten luotettavuuteen vaikuttavista häiriötekijöistä (Leino 2008, 68). Sameus johtuu näytteen VLDL-partikkelien ja kylomikronien valonsirontaominaisuuksista (Leino 2008, 68; Kaplan & Pesce 2012, 310). Näytteen lipemia aiheutuu yleensä ravinnosta saaduista triglyserideistä, jotka ovat yleensä korkeimmillaan kahden tunnin kuluttua ruokailusta, mutta niitä voi esiintyä vielä kahdeksan tunnin jälkeen (Arneson & Brickell 2007, 222). Muita yleisiä lipemian syitä ovat esimerkiksi diabetes, alkoholin käyttö, krooninen munuaisten vajaatoiminta, kilpirauhasen vajaatoiminta, haimatulehdus, maksakirroosi, estrogeenit ja steroidit (Kroll 2004, 1969).

Lipeemisissä näytteissä suuret lipidipartikkelit syrjäyttävät osan plasman tilavuudesta laimennettaessa (Arneson & Brickell 2007, 221). Siksi lipeemisissä näytteissä plasman vesipitoisuus on matalampi kuin normaalisti ja laskettu ionikonsentraatio on matala. Suora ISE ei kärsi tästä, sillä määrittys tehdään suoraan plasmasta. Laimennettujen näytteiden tulokset voivat poiketa laimentamattomista. (Kaplan & Pesce 2004, 230–231.) Laimennettaessa näytettä voidaan saada virheellisen matalia tuloksia (Arneson & Brickell 2007, 221).

Cobas® 6000-analysaattori pystyy havaitsemaan hemolyysin, ikteerisyyden ja lipeemisyden näytteissä ja luo niitä kuvaavan numeerisen indeksiarvon. Laite määrittää lipemiaindeksin näytteen sameuden perusteella. (Ji & Meng 2011.) Kaikki epätavallisen korkean lipemiaindeksin omaavat näytteet tulisi tarkastaa aina jälkikäteen. Joskus korkeita lipemiaindeksejä tavataan myös kirkkaissa näytteissä johtuen näytteen kohonneesta paraproteiinimäärästä tai muista häiritsevistä tekijöistä. (Lippi ym. 2013.)

Epäiltäessä tuloksen luotettavuutta, näyte täytyy määrittää uudelleen. Uudelleenmäärittämisessä käytetään joko häiriövapaata menetelmää, uudelleen otettua näytettä tai näytettä, josta häiritsevä tekijä on poistettu. (Leino 2008, 68.) Roche Diagnosticin (2011) mukaan huomattava lipemia aiheuttaa virheellistä hyponatremiaa tuloksissa, jolloin lipeemiset näytteet tulisi kirkastaa. Fimlab Laboratoriot Oy:ssä näytteen lipeemisyden vähentämiseksi näyte voidaan sentrifugoida ultrasentrifugilla. Laboratoriossa on käytössä Beckman Airfuge® ultrasentrifugi. Ultrasentrifugin roottorin maksimikierronopeus on 95000 kierrosta minuutissa. Ultrasentrifugia voidaan käyttää lipeemisten näytteiden

kirkastamiseen, sillä keskipakoisvoiman avulla pystytään erottamaan kevyet kylomikronit seerumin tai plasman pinnalle. (Beckman 1985, 2.)

4 AIEMMIN TEHTY TUTKIMUS

Vuonna 2011 Clinica Chimia Acta –lehdessä julkaistiin Jing Zhang Jin ja Qing H. Mengin tutkimus ”Evaluation of the Interference of Hemoglobin, Bilirubin and Lipids on Roche Cobas 6000 Assays”. Tutkimuksessa tarkasteltiin, miten hemolyysi, ikteria ja lipemia vaikuttavat Cobas® 6000-analysaattorilla tehtyihin määrittäisiin. Olemme käsitelleet tutkimusta ainoastaan lipemian sekä kalium- ja natriummääritysten tulosten osalta.

Jotta häiriötekijöiden vaikutusta pystyttiin arvioimaan, halutut analyytit mitattiin näytteestä, johon oli lisätty keinotekoisesti valmistettua liuosta, jonka avulla hemolyysi, ikteerisyys tai lipemia saatiin aikaiseksi. Näytteenä käytettiin litiumhepariiniplasmaa. Lipeemiset näytteet valmistettiin lisäämällä plasmaan Intralipid®-liuosta. (Ji & Meng 2011, 1550–1553.) Intralipid® on yleisesti käytetty keino tutkia lipemian vaikutuksia.

Intralipid® on synteettinen, steriili rasvaemulsio suonensisäiseen ravitsemukseen. Litra Intralipid®-emulsiota sisältää 200 ml soijaöljyä, 12 ml munankeltuaisen fosfolipidejä ja 22 ml glyserolia. Loput emulsiosta on vettä. Partikkelien koko vaihtelee 200 nm ja 600 nm välillä, keskiarvon ollessa noin 345 nm. Intralipid®-emulsiota voidaan lisätä näytteeseen lipemian luomiseksi. (Kroll 2004, 1969.)

Ei kuitenkaan täysin tiedetä, kuinka hyvin Intralipid® vastaa luonnollisen lipemian vaikutuksia näytteessä. On esimerkiksi esitetty, että keinotekoisesti aiheutettu lipemia ja luonnollinen lipemia samassa pitoisuudessa lipemiaindeksillä mitattuna eivät aiheuta samanlaista poikkeamaa mitatuissa tuloksissa. (Bornhorst, Roberts & Roberts 2004; Lippi ym. 2013.) Analyyttien arvot mitattiin Roche Cobas® 6000-analysaattorilla (c501 ja e601 moduuleilla) ja tämän jälkeen arvoista laskettiin muutos verrattuna alkuperäiseen arvoon. (Ji & Meng 2011, 1550–1553.)

Tutkimuksessa pyrittiin löytämään sellainen lipemiaindeksin arvo, jolla häiriötekijän aiheuttama muutos verrattuna alkuperäiseen tulokseen nousisi yli 10 prosenttiin. Tällöin eroa voitaisiin pitää merkittävänä. Tutkimuksesta saatujen tulosten perusteella lipemia näytteessä ei aiheuta merkittävää muutosta kalium- ja natriummääritysten tuloksiin. (Ji & Meng 2011, 1550–1553.)

Ji ja Meng (2011) huomauttavat tutkimuksessaan, että kokeellisissa olosuhteissa tulokset eivät välttämättä noudata sitä, mitä elimistössä voi tapahtua. Vaikka Intralipid® on yleisesti hyväksytty käytettäväksi kokeellisissa olosuhteissa, se ei välttämättä ole täysin verrattavissa elimistön luonnolliseen lipemiaan. Intralipid® ei esimerkiksi vastaa täysin lipeemisten näytteiden VLDL:ä ja kylomikroneja partikkelien koon suhteen. Lipeemiset näytteet ovat paljon monimutkaisempia kuin näytteet, joihin on keinotekoisesti luotu lipemia Intralipid®-liuoksella. Siksi havaittu lipemian aiheuttama häiriö analyyteissa ei välttämättä vastaa täysin sitä, mitä elimistössä tapahtuu. (Ji & Meng 2011, 1550–1553.)

5 MENETELMÄLLISET LÄHTÖKOHDAT

Ammattikorkeakoulujen opinnäytetöissä käytännönläheisyys painottuu enemmän ja tieteellisyys vähemmän verrattuna tiedekorkeakoulujen opinnäytetöihin. Opinnäytetyön tekemiseen voidaan käyttää erilaisia tutkimusmenetelmiä. Tutkimuksen avulla pyritään selvittämään tutkimuskohteen lainalaisuuksia ja toimintaperiaatteita. Tutkimus voi olla teoreettinen tai empiirinen. Teoreettisessa tutkimuksessa käytetään valmiina olevaa tietomateriaalia ja empiirisessä tutkimuksessa voidaan esimerkiksi testata, miten jokin teoriasta johdettu hypoteesi toteutuu käytännössä. Empiirinen tutkimus voidaan edelleen jakaa kvantitatiivisiin ja kvalitatiivisiin tutkimuksiin. Tutkimusongelmasta ja tutkimuksen tarkoituksesta riippuen valitaan tutkimuksessa käytettävä menetelmä. (Heikkilä 2010, 13, 16, 24.)

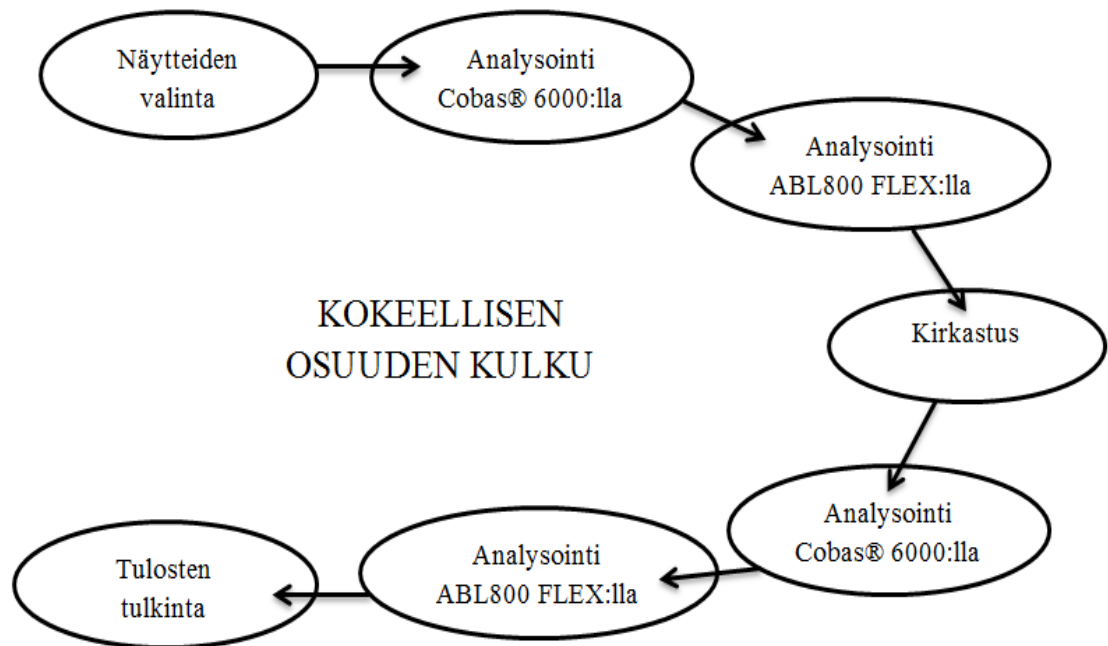
Opinnäytetyömme on kvantitatiivinen eli määrällinen työ. Tutkimuksessa tehdään ensin johtopäätöksiä aiemmista tutkimuksista ja selvitetään jo aiemmin olemassa olevat teorit sekä määritellään käsitteet. Kvantitatiivinen tutkimus vastaa kysymyksiin: Mikä? Missä? Paljonko? Kuinka usein? Koejärjestelyillä tai aineiston keruulla saadun havaintoaineiston avulla pyritään vastaamaan lukumääriin ja prosentiosuuksiin liittyviin kysymyksiin eli aineiston tulee soveltua numeeriseen mittaamiseen. Numeeristen suureiden avulla kuvataan tutkittavia asioita ja taulukoin sekä kuvin havainnollistetaan tuloksia. Tutkimuksella voidaan selvittää tarkasteltavassa ilmiössä tapahtuneita muutoksia tai eri asioiden välisiä riippuvuuksia. (Hirsjärvi ym. 2009, 140; Heikkilä 2010, 16.)

Tutkittavista kohteista tulee määritellä perusjoukko, johon tutkimustulosten pitää päteä. Kyseisestä perusjoukosta otetaan otos. Aineisto ja muuttujat muokataan tilastollisesti käsiteltäviksi. Lopuksi havaintoaineistosta tehdään päätelmät, jotka perustuvat tilastolliseen analysointiin. Tulokset voidaan esittää esimerkiksi prosenttilukoiden avulla. (Hirsjärvi ym. 2009, 140.) Perusjoukolla tarkoitetaan sitä joukkoa, joka on tutkimuksen kohteena ja josta halutaan tietoa. Kokonaistutkimuksessa tutkitaan koko perusjoukko kun taas otantatutkimuksessa tarkastellaan vain tiettyä osajoukkoa perusjoukosta eli otosta. Otoksen tulee olla edustava ja riittävän suuri. Saatuja tuloksia pyritään yleistämään perusjoukkoon tilastollisen päättelyn keinoin. (Heikkilä 2010, 14, 16.) Otantatutkimukseen sisältyy aina virhemahdollisuus. Mitä pienemmästä otoksesta yritetään muo-

dosta päätelmiä, sitä suurempi on virheen riski. Sen takia otoskoko halutaan saada mahdollisimman suureksi. (Holopainen & Pulkinen 2002, 36.)

Otantatutkimuksessa käytettävä otantamenetelmä on harkittava tarkkaan, sillä epäsopiva menetelmä voi aiheuttaa esimerkiksi systemaattisia virheitä. Otannan vaiheisiin kuuluu perusjoukon määrittäminen, otosyksikön määrittäminen, otantamenetelmän valinta, otoksen koon ja toteutuksen suunnittelu sekä otannan suoritus. Erilaisia otantamenetelmiä ovat yksinkertainen satunnaisotanta, systemaattinen eli tasavälinen otanta, ositettu eli stratifioitu otanta ja ryväotanta eli klusteriotanta. (Heikkilä 2010, 35.)

Opinnäytetyömme kokeellisessa osuudessa määritetään lipeemisistä näytteistä kalium- ja natriumarvot Cobas® 6000-analysaattorilla sekä ABL800 FLEX-analysaattorilla. Aineisto koostuu 20–30 lipeemisestä näytteestä, jotka valitaan satunnaisotannalla. Lipeemiset näytteet kirkastetaan ultrasentrifugin avulla ja ne määritetään uudelleen molemmilla laitteilla. Kokeellisen osuuden kulku on esitetty kuviossa 3.



KUVIO 3. Kokeellisen osuuden kulku

6 OPINNÄYTETYÖN VAIHEET

Opinnäytetyöprosessi alkoi syyskuussa 2012 aiheiden valinnalla. Aiheeksi valikoitui Fimlab Laboratoriot Oy:n tilaama opinnäytetyö ”lipemian vaikutus kalium- ja natriummäärityksiin Cobas® 6000- ja ABL800 FLEX-analysaattoreilla”. Työelämän edustajat opinnäytetyöprosessissa Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastuualueelta ovat laboratorioesimies Marja-Leena Torkki ja kemisti Päivi Holm.

Laboratoriossa suurin osa kalium- ja natriummäärityksistä tehdään Cobas® 6000-analysaattorilla. Tällä hetkellä laite ei anna hälytystä lipeemisistä näytteistä kyseisten määritysten kohdalla. Laboratoriossa haluttiin tietää, miten lipeemisten näytteiden tulokset eroavat eri analysaattoreilla määritettynä ja vaikuttaako kirkastaminen tuloksiin. Kävimme tapaamassa työelämän edustajaa 8.10.2012 automaation vastuualueella. Samalla myös opinnäytetyön aihe tarkentui. Tapaamisen yhteydessä sovittiin, että laboratoriossa kerätään lipeemisten näytteiden tuloksia valmiiksi, sillä erityisen lipeemisiä näytteitä tulee laboratorioon päivittäin.

Syksyn aikana kirjoitimme opinnäytetyösuunnitelmaa lupahakemusta varten ja aloitimme teoriapohjan keräämisen. Lopullisen opinnäytetyösuunnitelman ja lupahakemuksen saimme valmiiksi 19.12.2012. Lupa opinnäytetyötä varten myönnettiin hakemuksen mukaisesti 20.12.2012.

Kävimme joulukuussa 2012 laboratoriossa tekemässä määrityksiä potilasnäytteistä kahdena peräkkäisenä päivänä. Tavoitteena oli kerätä 20–30 lipeemistä näytettä sekä saman verran normaaleja näytteitä määritettäviksi. Keräsimme vanhoista, jo määritetyistä potilasnäytteistä samean näköiset näytteet. Näytteistä eroteltiin plasma uusiin putkiin ja putket numeroitiin juoksevalla numerolla. Näin huolehdittiin potilaiden tietosuojasta, sillä putket eivät tämän jälkeen olleet enää jäljitettävissä alkuperäiseen näytteeseen, vaan näytteitä käsiteltiin ainoastaan niille annettulla juoksevalla numerolla.

Näytteet määritettiin ensin sekä Cobas® 6000-analysaattorilla että ABL800 FLEX-verikaasuanalysaattorilla. Cobas® 6000-analysaattorilla näytteistä määritettiin kalium- ja natriumarvojen lisäksi lipemiaindeksi. Seuraavaksi näytteet kirkastettiin ultrasentri-

fugoimalla ne Beckman Airfuge®-ultrasentrifugilla, minkä jälkeen ne analysoitiin uudelleen molemmilla laitteilla.

Analysoitaessa näytteitä ABL800 FLEX-verikaasuanalyysaattorilla ongelmaksi muodostui analyysaattorin antama hypokloriitti-hälytys. Aluksi laboratorion kemistit epäilivät syyksi joko näytteen lipeemisyttä tai korkeita natriumarvoja. Ongelma kuitenkin toistui molempina päivinä, eikä syystä saatu varmuutta. Tämän takia osa näytteistä analysoitiin ainoastaan Cobas® 6000-analyysaattorilla. Kemistit olivat selvitelleet asiaa edelleen, ja myöhemmin meille lähetettiin sähköpostia aiheesta. Analyysaattori antaa kyseisen hälytyksen, kun näytteen pH on korkeampi kuin 8,5 ja hiilidioksidi pCO₂ on alle 0,4 kPa (kemisti Holm, 2013a). Tämä johtui luultavasti siitä, että määrittelyyn käytettiin 1-3 päivän vanhoja näytteitä, jotka olivat olleet avonaisina huoneenlämmössä.

Joulukuuhun mennessä valmiiksi kerättyjä ja molemmilla laitteilla analysoituja näytteitä oli kolme kappaletta. Ensimmäisen päivän aikana keräsimme yhdeksän näytettä. Kaikki näytteet analysoitiin Cobas® 6000-analyysaattorilla sekä kirkastamattomina että kirkastettuina. Toistuvien hypokloriitti-hälytysten takia vain viisi näytettä analysoitiin kirkastamisen jälkeen ja kaksi jätettiin kokonaan analysoimatta ABL800 FLEX-analyysaattorilla. Toisena päivänä keräsimme neljä näytettä, jotka kaikki analysoitiin Cobas® 6000-analyysaattorilla. Kaikki toisen päivän näytteet analysoitiin kirkastamattomina myös ABL800 FLEX-analyysaattorilla, mutta vain kaksi näytettä analysoitiin kirkastamisen jälkeen ABL800 FLEX-analyysaattorilla hypokloriitti-hälytysten takia.

Hypokloriitti-hälytysten vuoksi päätettiin, että määrittelyyn käytetään jatkossa ainoastaan saman päivän näytteitä. Huhtikuussa 2013 olimme uudelleen laboratoriossa keräämässä tuloksia. Valmiita tuloksia oli kerätty kahdestatoista näytteestä. Laboratoriossa ollessamme löysimme yhden analysoitavan näytteen, joten yhteensä tuloksia kertyi keväällä kolmetoista. Koko prosessin aikana määritettyjä näytteitä kertyi yhteensä 29 kappaletta. Kaikki nämä näytteet määritettiin Cobas® 6000-analyysaattorilla sekä ennen kirkastamista että kirkastamisen jälkeen. Hälytysten vuoksi ABL800 FLEX-analyysaattorilla määritettiin ennen kirkastamista 27 näytettä ja kirkastamisen jälkeen 22 näytettä.

Tulokset taulukoitiin Microsoft Excel-tilukkolaskentaohjelmalla. Taulukoihin (ks. Liitteet 1–4) kirjattiin alkuperäisten eli kirkastamattomien näytteiden tulokset, kirkastet-

tujen näytteiden tulokset, kirkastamattoman näytteen lipemiaindeksi sekä kirkastetun näytteen lipemiaindeksi. Lisäksi taulukoihin laskettiin alkuperäisen ja kirkastetun näytteen tulosten välinen muutosprosentti ja samoin lipemiaindeksien välinen muutos. Lisäksi laskettiin korrelaatiokertoimet ja tehtiin regressioanalyysit käyttämällä muuttujina alkuperäisen näytteen lipemiaindeksiä sekä alkuperäisen ja kirkastetun näytteen välistä muutosprosenttia. Korrelaatiokertoimet ja muutosprosentit laskettiin Microsoft Excel:n avulla. Regressioanalyysin tekemiseen käytettiin Excel:n apuohjelmaa Tixel:ä.

Keskusteltuamme Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastuualueen kemistin kanssa, tulimme siihen tulokseen, ettei normaaleja näytteitä ole tarpeen kerätä rinnalle vertailua varten, sillä laboratoriossa suoritetaan jatkuvaa laitevertailua Cobas® 6000-analysaattorin ja ABL800 FLEX-analysaattorin välillä. Laitevertailussa useampi näyte määritetään rinnan Cobas® 6000-analysaattorilla ja ABL800 FLEX-analysaattorilla. Näytteistä määritetään glukoosi-, laktaatti-, kalium- ja natriumarvot. Tuloksista lasketaan tulosten välinen ero prosentteina.

Helmi-toukokuussa 2013 jatkoimme lähdemateriaalin keräämistä ja teoriapohjan kirjoittamista. Tulosten taulukointi, käsittely ja tarkastelu ajoittuivat huhti-toukokuulle 2013. Opinnäytetyön viimeistely tehtiin syyskuussa 2013.

7 TULOKSET

Tulokset käsiteltiin taulukoimalla ne Microsoft Excel-taulukkolaskentaohjelmalla (ks. Liitteet 1–4). Saaduista arvoista laskettiin muutosprosentit kirkastamattoman eli alkuperäisen ja kirkastetun tuloksen välillä ja laskettiin korrelaatiokertoimet sekä muodostettiin regressioanalyysi tuloksen muutosprosentin ja alkuperäisen näytteen lipemiaindeksin välille. Lisäksi muutosprosentit on esitetty laatikko-jana -kuvaajassa.

7.1 Muutosprosentit

Saaduista tuloksista laskettiin, kuinka monta prosenttia tulos muuttui kirkastamisen jälkeen. Muutosprosentit on laskettu Cobas® 6000-analysaattorilla ja ABL800 FLEX-analysaattorilla tehdyistä määrytyksistä sekä kalium- että natriummääritysten kohdalla. Fimlab Laboratoriot Oy:n kemistin Päivi Holmin (2013b) mukaan Roche käyttää muutosten rajana kymmenen prosentin laskua tai nousua eli jos tulosten välillä on yli kymmenen prosentin ero, on se merkitsevä. Fimlab Laboratoriot Oy puolestaan käyttää sisäisessä laaduntarkkailussaan 2,5 prosentin eroa. (Holm 2013b.)

Muutosprosentti (x) laskettiin käyttämällä kaavaa:

$$x = \frac{b - a}{a} \times 100\%$$

jossa a = alkuperäisen näytteen tulos

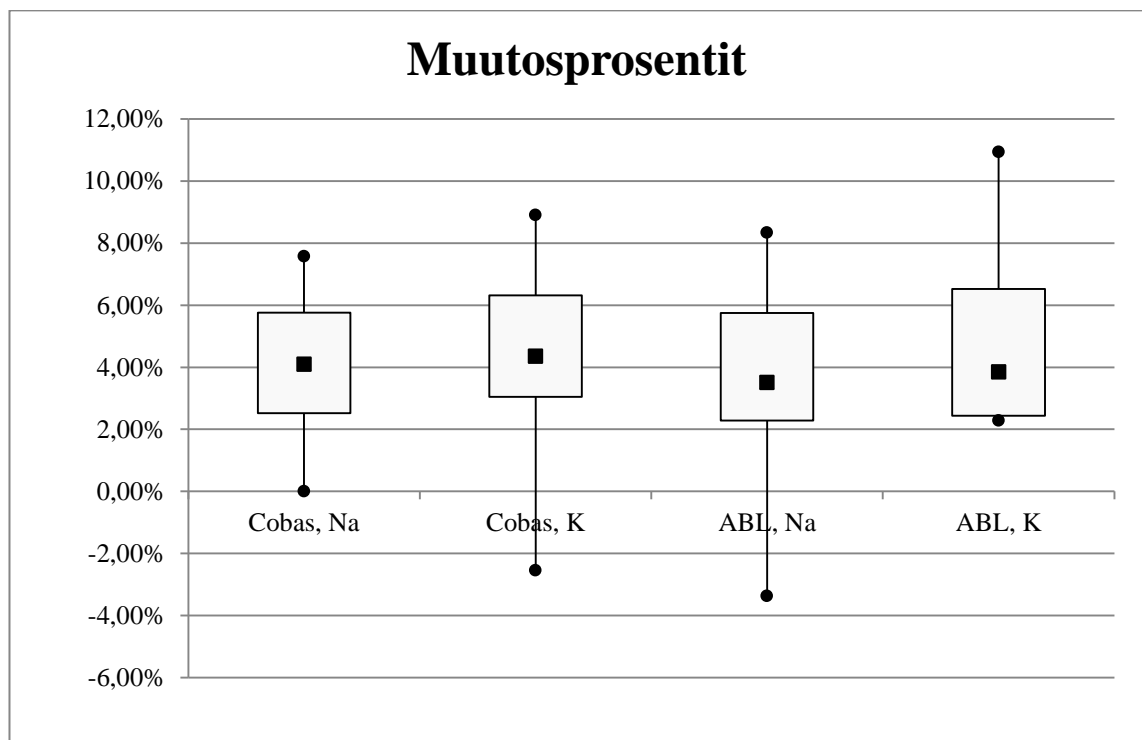
b = kirkastetun näytteen tulos

Liitteissä 1 ja 2 on esitetty Cobas® 6000-analysaattorin tuloksista lasketut muutosprosentit taulukkona. Mitkään tuloksista eivät eronneet toisistaan yli kymmentä prosenttia. Natriumin kohdalla muutosprosenttien keskiarvo on 4,17 prosenttia ja kaliumin kohdalla 4,41 prosenttia. Liitteissä 3 ja 4 on esitetty ABL800 FLEX-analysaattorin tuloksista lasketut muutosprosentit taulukkona. Natriumin kohdalla muutosprosenttien keskiarvo on 3,09 prosenttia ja kaliumin kohdalla 4,05 prosenttia. Suurimmassa osassa näytteitä muutosprosentti ylittää Fimlab Laboratoriot Oy:n sisäisen laaduntarkkailun 2,5 prosen-

tin rajan. Näistä tuloksista voidaan päätellä, että alkuperäisen ja kirkastetun tuloksen välinen ero saattaa olla merkittävä. Yksittäisten näytteiden kohdalla muutosprosentti on lähellä jopa kymmentä prosenttia.

Laatikko-jana -kuvion avulla voidaan esittää jakauman sijainti ja hajonta. Samaan kuvaajaan piirrettyjä useamman muuttujan laatikko-jana -kuvaajia on erittäin helppo verrata keskenään. (Nummenmaa 2009, 83.) Tämän vuoksi muutosprosentit esitetään laatikko-jana -kuvaajalla. Kuvaajassa esitetään rinnakkain Cobas® 6000-analysaattorilla ja ABL800 FLEX-analysaattorilla saatujen kalium- ja natriumtulosten muutosprosenttien jakauma.

Kuvaajassa laatikon sisällä on 50 prosenttia havainnoista. Laatikon sisällä oleva piste tarkoittaa havaintoarvojen mediaania. Jana yläpäähän on merkitty havaintoarvojen maksimi ja alapäähän minimi. (Nummenmaa 2009, 84.) Mitä pidempi jana on, sitä suurempi hajonta havaintoarvojen välillä on. Kuviosta 4 nähdään, että Cobas® 6000-analysaattorilla määritettyjen kaliumarvojen ja ABL800 FLEX-analysaattorilla määritettyjen natriumarvojen muutosprosenttien sisällä on melko suurta hajontaa.



KUVIO 4. Cobas® 6000-analysaattorin Na- ja K-tulosten sekä ABL800 FLEX-analysaattorin Na- ja K-tulosten muutosprosentit. Y-akselilla muutosprosentti.

7.2 Korrelaatiokertoimet

Korrelaation avulla kuvataan kahden eri tilastomuuttujan keskinäistä riippuvuutta. Riippuvuuden kuvaamiseen voidaan käyttää ristiintaulukointia, graafista kuvaajaa eli siron-takuviota tai korrelaatiokerrointa. Korrelaatiokerroin kuvaa sitä, kuinka hyvin vertailta-vien arvoparien pisteet asettuvat samalle suoralle. Korrelaatiokertoimen (r) arvo vaihte-lee arvon -1 ja 1 välillä. Jos korrelaatiokertoimen arvo on suurempi kuin 0 , vallitsee muuttujien välillä positiivinen korrelaatio. Tällöin toisen muuttujan kasvaessa toinenkin muuttuja kasvaa. Mikäli arvo on pienempi kuin 0 , vallitsee muuttujien välillä negatiivi-nen korrelaatio. Tällöin toisen muuttujan kasvaessa toinen muuttuja pienenee. Jos taas korrelaatiokertoimen arvo on 0 tai lähellä sitä, ei muuttujien välillä ole lineaarista korre-laatiota. (Ernvall, Ernvall & Kaukkila 2002, 69, 77–78; Heikkilä 2012, 91.) Nummen-maan (2009, 279) mukaan korrelaatiokerroin lasketaan yleensä käyttäen Pearsonin kor-relaatiokerrointa, joka lasketaan kaavalla:

$$r = \frac{s_{xy}}{s_x \times s_y}$$

jossa $r = x:n$ ja $y:n$ välinen korrelaatiokerroin
 $s_{xy} = x:n$ ja $y:n$ välinen kovarianssikerroin
 $s_x = x$ -muuttujan keskiarvo
 $s_y = y$ -muuttujan keskiarvo

Korrelaatiokerroin laskettiin alkuperäisen ja kirkastetun näytteen tulosten välisen muu-tosprosentin ja alkuperäisen näytteen lipemiaindeksin välille. Cobas® 6000-analysointilaitteen natriumtulosten kohdalla korrelaatiokerroin on $-0,11$ ja kaliumtulosten kohdalla $0,08$. ABL800 FLEX-analysointilaitteen natriumtulosten korrelaatiokerroin on $-0,27$ ja kaliumtulosten korrelaatiokerroin $-0,25$. Muuttujien välillä vallitsee heikko kor-relaatio, mutta näin pienet korrelaatiokertoimet eivät kuvasta merkittävää riippuvuutta muuttujien välillä.

Havaintoaineiston ollessa riittävän suuri korrelaatio voidaan tulkita vahvaksi, kun korre-laatiokertoimen itseisarvo on suurempi tai yhtä suuri kuin $0,8$. Korrelaatio on kohtalai-nen itseisarvon ollessa $0,3$ – $0,8$ välillä ja heikko, kun itseisarvo jää alle $0,3$. (Ernvall ym.

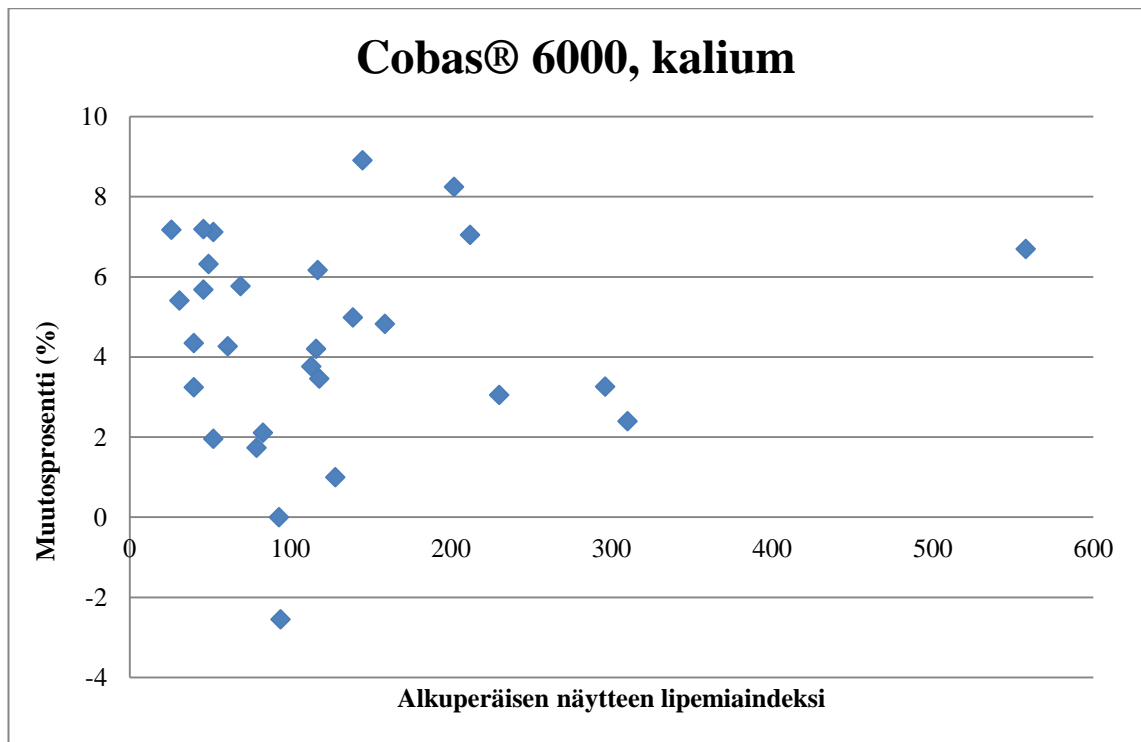
2002, 78.) Vaikka korrelaatiokertoimen arvo olisi lähellä nollaa, muuttujien välillä voi kuitenkin olla yhteys. Niiden välillä ei vain ole lineaarista riippuvuutta. (Holopainen & Pulkkinen 2002, 209.)

Korrelaatiokertoimen tulkinta tulee suorittaa kuitenkin kriittisesti. Korrelaatiokertoimen laskemiseen käytetty aineisto on melko pieni, mikä tulee ottaa huomioon tulkinnassa. ABL800 FLEX-analysaattorilta saatu aineisto on vielä pienempi kuin kokonaisaineisto, sillä kaikkia näytteitä ei voitu määrittää analysaattorilla.

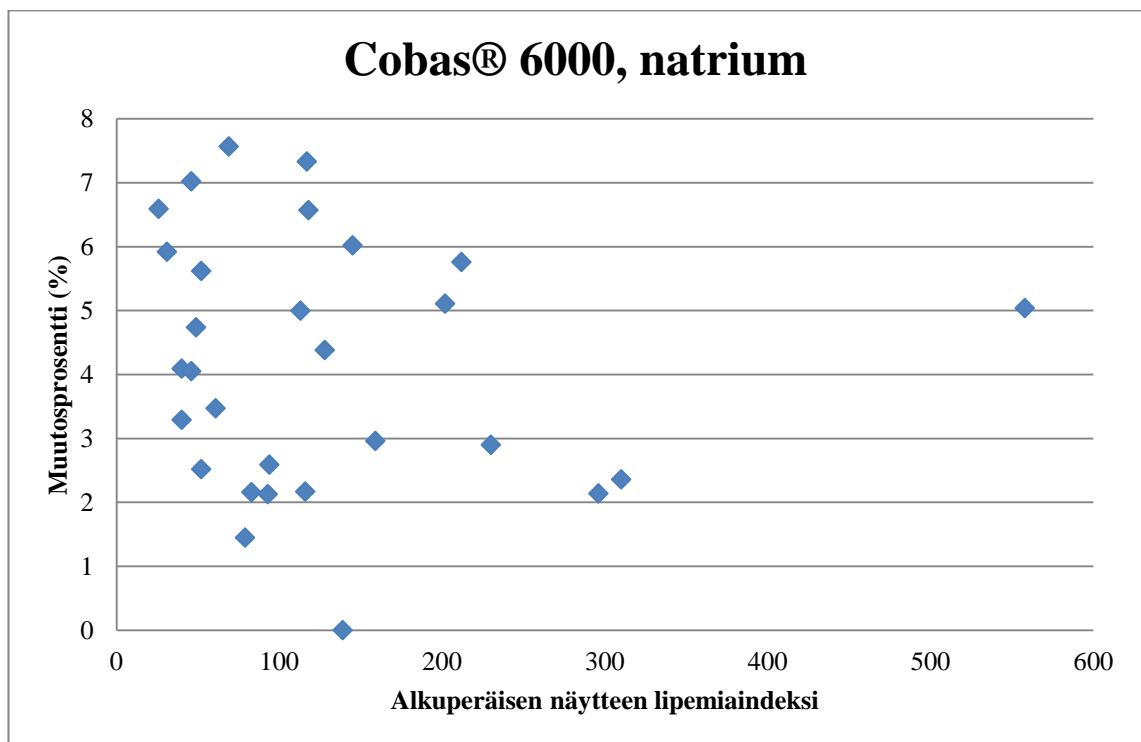
7.3 Regressioanalyysit

Regressioanalyysin avulla pyritään löytämään muuttujien välillä vallitseva yhteys, jota kuvataan matemaattisen mallin avulla. Jos muuttujia on kaksi, sanotaan toista muuttujaa selittäväksi (x) ja toista selitettäväksi (y) tekijäksi. Jos hajontakuviot eivät ole suoria, vaan taipuu selvästi johonkin suuntaan, täytyy harkita muita malleja kuten polynomimallia, eksponentiaalista mallia tai logaritmista mallia. (Holopainen & Pulkkinen 2002, 218, 224.) Jos lineaarinen korrelaatio on voimakas, sijoittuvat havaintopisteet tietyn suoran ympärille. Kun pisteet keskittyvät suoran ympärille täydellisesti, kutsutaan syntynyttä suoraa regressiosuoraksi. (Ernvall ym. 2002, 72 - 73.)

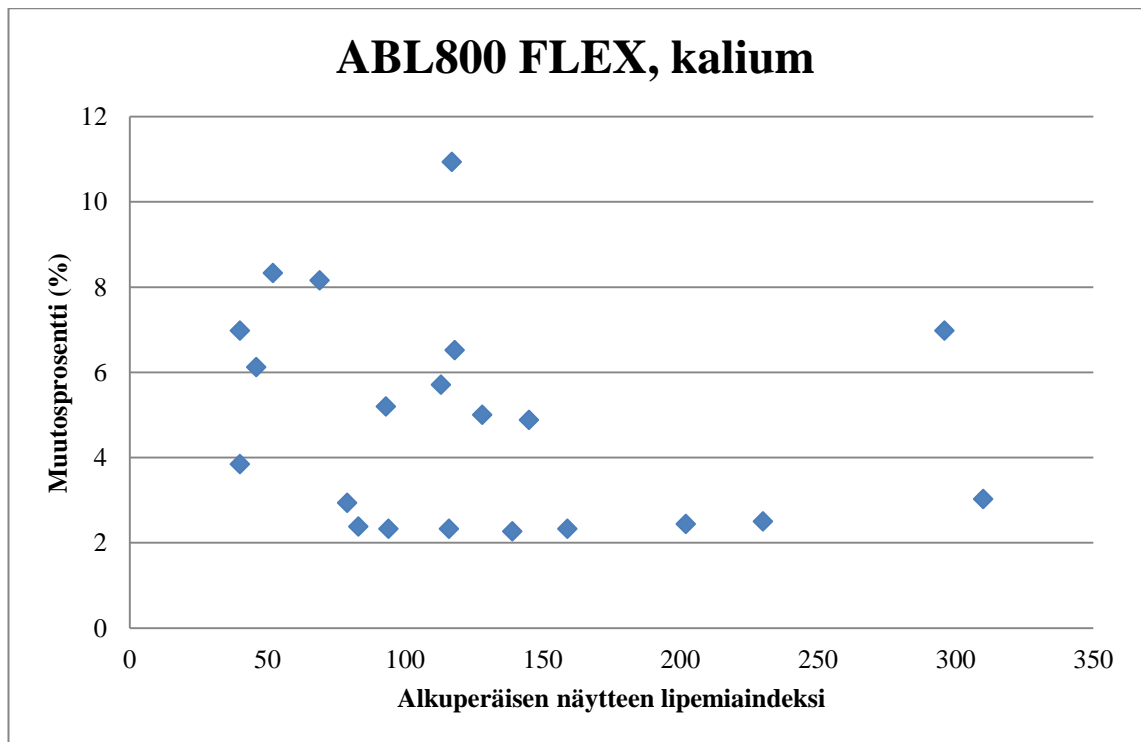
Regressioanalyysit tehtiin Microsoft Excel:n apuohjelma Tixel:n avulla. Muuttujina käytettiin alkuperäisen ja kirkastetun näytteen välistä muutosprosenttia ja alkuperäisen näytteen lipemisindeksiä. Muutosprosentti merkittiin selitettäväksi tekijäksi ja lipemisindeksi selittäväksi. Regressioanalyysin kautta saatujen kuvaajien perusteella muuttujien välillä ei ole lineaarista riippuvuutta, sillä havaintopisteet eivät asetu tietylle suoralle. Tätä tukee myös edellä käsitellyt korrelaatiokertoimet. Kuvioissa 5–8 on esitetty alkuperäisen näytteen lipemisindeksin sekä alkuperäisen ja kirkastetun näytteen välisen muutosprosentin regressiokuvaajat molemmilta analysaattoreilta.



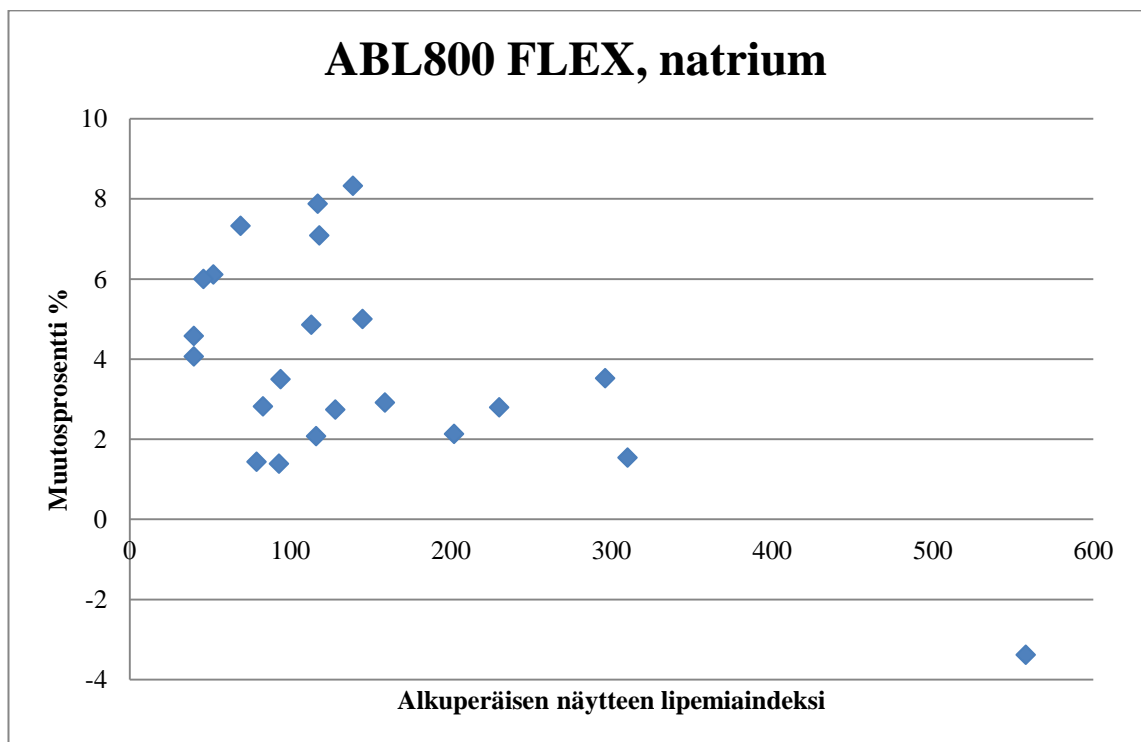
KUVIO 5. Cobas® 6000-analysoijan kaliumtulosten regressiokuvaaja.



KUVIO 6. Cobas® 6000-analysoijan natriumtulosten regressiokuvaaja.



KUVIO 7. ABL800 FLEX-analysaattorin kaliumtulosten regressiokuvaaja.



KUVIO 8. ABL800 FLEX-analysaattorin natriumtulosten regressiokuvaaja.

7.4 Tulosten yhteenveto

Muutosprosentteista nähdään, että natrium- ja kaliumtulokset nousevat jonkin verran näytteiden kirkastamisen jälkeen. Tämä tapahtuu kuitenkin molemmilla analysaattoreilla, ei pelkästään Cobas® 6000-analysaattorilla, jossa on menetelmänä epäsuora ISE. Lähdekirjallisuuden mukaan arvojen nousun tulisi näkyä vain epäsuoraa menetelmää käytettäessä (Kaplan & Pesce 2004, 230–231; Arneson & Brickell 2007, 221). Tulokset nousivat keskimäärin 3–4 prosenttia kirkastamisen jälkeen. Muutosprosenttien hajonta oli kuitenkin suurta, sillä Cobas® 6000-analysaattorilla määritettyjen natriumarvojen muutosprosentit olivat kahden näytteen osalta 3–4 prosentin välillä, kaliumarvojen kohdalla viiden näytteen muutosprosentit olivat tällä välillä. ABL800 FLEX-analysaattorilla puolestaan sekä natrium- että kaliumarvojen muutosprosentit olivat kahden näytteen osalta 3–4 prosentin välillä.

Rochen mukaan muutos on vasta silloin merkittävä, kun muutosprosentti on yli kymmenen prosenttia. Vain yksi ABL800 FLEX-analysaattorilla määritetyistä kaliumarvoista nousi kirkastamisen jälkeen yli kymmenen prosenttia alkuperäiseen arvoon verrattuna. Toisaalta Fimlab Laboratoriot Oy:n sisäisessä laaduntarkkailussa Cobas®-analysaattorien natrium- ja kaliumtulosten välillä ei tulisi olla isompaa eroa kuin 2,5 prosenttia, sillä natriumin ja kaliumin viiteväli on kapea (Holm 2013b). Cobas® 6000-analysaattorilla sekä natrium- että kaliumarvojen muutosprosentit olivat yli 2,5 prosenttia 22 näytteen kohdalla. ABL800 FLEX-analysaattorilla määritettyjen natriumarvojen muutosprosentit olivat yli 2,5 prosenttia 16 näytteen kohdalla, kaliumarvojen osalta 2,5 prosenttia ylittyi 14 näytteen kohdalla. Koska kirkastettujen näytteiden tulokset olivat keskimäärin noin 3–4 prosenttia korkeammat kuin alkuperäiset tulokset ja näytteistä suurimman osan muutosprosentit olivat yli Fimlab Laboratoriot Oy:n käyttämän 2,5 prosentin (ks. Liitteet 1–4), voi näytteen lipeemisyys haitata tulosten kliinistä tulkintaa.

Alkuperäisten näytteiden lipemaiindeksit vaihtelevat välillä 26–558 (ks. Liite 1). Korrelaatiokertoimien ja regressioanalyysien perusteella pääteltiin, että alkuperäisen ja kirkastetun näytteiden tulosten muutoksen sekä lipemaiindeksin välillä ei ole lineaarista riippuvuutta. Tuloksia käsiteltäessä korrelaatiokertoimen ja regressioanalyysin avulla pyrittiin selvittämään, onko olemassa sellaista lipemaiindeksiä, jonka ylityksen jälkeen muutos tulosten välillä kasvaisi merkittävän suureksi. Tiettyä lipemaiindeksiä ei kuitenkaan löytynyt.

Joukossa oli myös muutamia täysin muista poikkeavia tuloksia. Näytteen 21 natriumarvo ei muuttunut lainkaan kirkastamisen jälkeen Cobas® 6000-analysointilaitteella määritettäessä. Ennen kirkastamista lipemisindeksi oli 139 mutta lipemisindeksiä kirkastamisen jälkeen ei ole tiedossa. Kyseessä oli jo valmiiksi määritetty näyte. Näytteessä 18 kaliumarvo ei muuttunut kirkastamisen jälkeen Cobas® 6000-analysointilaitteella määritettynä. Näytteen lipemisindeksi ennen kirkastamista oli 93, kirkastamisen jälkeen lipemisindeksi oli 71. Näytteen 25 kaliumarvo oli laskenut kirkastamisen jälkeen 2,55 prosenttia Cobas® 6000-analysointilaitteella määritettynä. Näytteen 27 natriumtulos oli puolestaan laskenut 3,38 prosenttia kirkastamisen jälkeen ABL800 FLEX-analysointilaitteella määritettäessä. Emme osaa sanoa mistä nämä yksittäiset poikkeukset johtuvat.

8 LUOTETTAVUUS JA EETTISYYS

Hyvän kvantitatiivisen tutkimuksen perusvaatimuksina on tutkimuksen validiteetti ja reliabiliteetti. Validiteetti tarkoittaa tutkimuksen pätevyyttä eli sitä, kuinka hyvin valitulla menetelmällä mitataan haluttua asiaa ja kuinka oikeita saadut tulokset ovat. Tutkimuksen validius tulee varmistaa huolellisella suunnittelulla, sillä sitä on vaikea arvioida jälkikäteen. Esimerkiksi tarkka perusjoukon määrittely ja edustava otos ovat validiutta edistäviä asioita. Reliabiliteetti puolestaan tarkoittaa tutkimuksen luotettavuutta eli viittaa tulosten tarkkuuteen ja tutkimuksen toistettavuuteen. Luotettava tutkimus on toistettavissa, tarkkuus ja kriittisyys tutkimuksen teon aikana ovat tärkeitä. Tuloksia tarkastellessa on myös tärkeää, ettei tuloksia yleistetä niiden pätevyysalueen ulkopuolelle. (Heikkilä 2010, 29–30.)

Työn ja tulosten luotettavuuteen vaikuttavat useat eri tekijät. Luotettavien tulosten saamiseksi työn tulee olla hyvin suunniteltu ja toteutettu suunnitelman mukaisesti. Opin- näytetyön osalta suunnittelua olisi voinut parantaa tekemällä ennen varsinaista kokeellista osuutta esitutkimuksen, jonka avulla esimerkiksi ABL800 FLEX-analysaattorilla ilmenneen hypokloriittihälytyksen syy olisi voitu saada selville aikaisemmin ja kokeellisessa osuudessa kaikki näytteet olisi voitu määrittää myös ABL800 FLEX-analysaattorilla, mikä lisäisi tutkimuksen luotettavuutta. Tutkimus on toistettavissa, sillä kokeellisen osuuden kulku on kuvattu vaihe vaiheelta opinnäytetyössä. Kaikki kokeellisen osuuden vaiheet on suoritettu Fimlab Laboratoriot Oy:n käytäntöjen ja työohjeiden mukaisesti. Tulosten luotettavuutta lisää se, että määritykset näytteistä tekivät laboratorion työntekijät, jotka ovat perehdytettyjä analysaattorien käyttöön. Lisäksi meillä oli mahdollisuus käydä läpi saamiemme arvoja ja niiden käsittelyä työelämäohjaajamme kemisti Päivi Holmin kanssa.

Aineisto työtä varten valittiin tarkastelemalla näytteitä silmämääräisesti lipemian varalta. Tämän vuoksi työssä käytetty aineisto on epätasainen lipemian suhteen, koska aineistossa on mukana myös hyvin matalan lipemiaindeksin omaavia näytteitä. Lisäksi aineiston koko on melko pieni ($n=29$), sillä hyvin lipeemisiä näytteitä tulee laboratorioon harvoin. Vaikka aineistolle asettamamme tavoitemäärä täyttyi (20–30 lipeemistä näytettä), olisi tutkimus hyvä toistaa laajemmalla aineistolla, jotta tuloksista voitaisiin

muodostaa luotettavampia johtopäätöksiä. Meidän työmme tulokset ovat lähinnä suuntaa antavia.

Osa näytteistä jäi määrittämättä kokonaan ABL800 FLEX-analysaattorilla. Tämä johtui analysaattorin antamasta hypokloriitti-ilmoituksesta, joka aiheutui näytteiden hiilidioksid- ja pH-arvojen vuoksi. Pohdimme ongelman johtuvan siitä, että määrityksiin käytetyt näytteet oli valikoitu parin päivän vanhoista näytteistä, joita oli säilytetty huoneenlämmössä.

Lähdemateriaalia työtä varten oli runsaasti saatavilla ja helppo löytää. Työssä on käytetty pitkälti ulkomaalaisia lähteitä, sillä luotettavien suomenkielisten lähteiden löytäminen oli haastavaa. Internetlähteitä on käytetty rajoitetusti työssä. Työssä on käytetty lähteinä monipuolisesti sekä kirjoja että alan artikkeleita. Suurin osa käytetyistä lähteistä on tuoreita, alle kymmenen vuotta vanhoja. Kaksi käytetyistä lähteistä on peräisin 80-luvulta. Lähteiden käyttö on kuitenkin perusteltua, sillä toinen on Moodin artikkeli, jossa mainitut perusasiat eivät ole muuttuneet vuosikymmenten aikana. Toinen lähde on Fimlab Laboratoriot Oy:ssä käytössä olevan Beckman-ultrasentrifugin käyttöohje. Kaikki lähteet on merkitty Tampereen ammattikorkeakoulun kirjallisen raportoinnin ohjeen mukaisesti tekstiviitteillä tekstiin.

Työssä käytettyjä näytteitä ei voida jäljittää alkuperäisiin potilasnäytteisiin, sillä näytteiden plasma eroteltiin uusiin putkiin ja putket numeroitiin juoksevalla numerolla. Tämän jälkeen näytteitä käsiteltiin vain niille annetun numeron avulla. Näin huolehdittiin potilaiden tietosuojasta. Opinnäytetyöprosessin alkuvaiheessa opinnäytetyölle tehtiin suunnitelma ja haettiin lupa opinnäytetyötä varten Tampereen ammattikorkeakoulun käytäntöjen mukaisesti.

9 POHDINTA

Opinnäytetyö ja sen tekeminen muodostavat oppimisprosessin, joka vaatii monia erilaisia taitoja kuten tiedonhankintataitoja, organisointikykyä sekä yhteistyökykyä. Opinnäytetyöllä mitataan opiskelijan kykyä yhdistää teoria ja käytäntö. Prosessin aikana opiskelijat harjaantuvat tieteelliseen ajatteluun, oppivat hyväksikäyttämään tietoa sekä perehtyvät johonkin omaan alaan liittyvään erityiskysymykseen. Ammattikorkeakoulussa tehtävän opinnäytetyön tavoitteena on kehittää opiskelijan valmiuksia soveltaa tietojaan ammattiopintoihin liittyvissä asiantuntijatehtävissä. (Heikkilä 2010, 24.)

Opinnäytetyön tarkoituksena oli vertailla lipeemisiä ja kirkastettuja K- ja Na-näytteitä Cobas® 6000-analysaattorilla ja ABL800 FLEX-verikaasuanalysaattorilla. Tavoitteena oli tuottaa tietoa lipemian vaikutuksista Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastuualueella käytössä oleviin kaliumin ja natriumin määrittämenetelmiin.

Valitsimme tämän opinnäytetyön, koska olimme kiinnostuneita tekemään kokeellisen osuuden sisältävän työn. Meidän mielestämme oli mielenkiintoista nähdä, millaisia tuloksia loppujen lopuksi työllemme saamme ja eroavatko lipeemisten näytteiden arvot normaalien näytteiden arvoista. Prosessin aikana olemme päässeet syventämään tietojamme liittyen ioniselektiivisiin elektrodeihin ja niiden avulla tehtäviin määrittäksiin. Lipemian vaikutuksista meillä ei ollut aluksi mitään tietoa, joten työ on tarjonnut paljon uutta informaatiota. Työn avulla ymmärrämme paremmin preanalyyttisten tekijöiden merkityksen määrittäysten kannalta.

Vaikka työssä käytetty aineisto on melko pieni, saatiin lipeemisiä näytteitä kerättyä työtä varten sen verran kuin tavoitteena oli. Ongelmia näytteiden määrittäyksissä ilmeni, kun ABL800 Flex-analysaattori ilmoitti toistuvasti havainneensa hypokloriittia näytteessä. Ilmoituksen syy selvisi myöhemmin, mutta 29 näytteestä vain 22 on määritetty ABL800 Flex-analysaattorilla myös kirkastamisen jälkeen. Cobas® 6000-analysaattorilla saatiin määritettyä kaikki 29 näytettä. Halusimme kuitenkin ottaa tarkasteluun mukaan myös näytteet, jotka oli määritetty vain Cobas® 6000-analysaattorilla, sillä natrium- ja kaliummäärittäykset tehdään pääasiassa kyseisellä analysaattorilla Fimlab Laboratoriot Oy:ssä.

Saaduista arvoista laskettiin muutosprosentit kirkastamattoman eli alkuperäisen ja kirkastetun tuloksen välillä ja laskettiin korrelaatiokertoimet sekä muodostettiin regressioanalyysi tuloksen muutosprosentin ja kirkastamattoman näytteen lipemaiindeksin välille. Lipeemisten näytteiden tulokset olivat keskimäärin 3–4 prosenttia matalampia kuin kirkastettujen näytteiden tulokset. Korrelaatiokertoimen ja regressioanalyysin avulla ei löydetty sellaista lipemaiindeksiä, jonka ylityksen jälkeen muutos tuloksissa kasvaisi merkittävän suureksi.

Laimennettaessa suuret lipoproteiinipartikkelit syrjäyttävät osan plasman tilavuudesta, jolloin plasman vesipitoisuus on matalampi kuin normaalisti. Tällöin myös lasketusta ionikonsentraatiosta saadaan matalampi. Laimennettujen näytteiden tulokset voivat poiketa laimentamattomista tuloksista ja laimennettaessa voidaan saada virheellisen matalia tuloksia. Suora ISE ei kärsi, sillä määrittäminen tehdään suoraan plasmasta. (Kaplan & Pesce 2004, 230–231; Arneson & Brickell 2007, 221.) Määritetyt arvot nousivat kirkastamisen jälkeen. Tämä tapahtui kuitenkin molemmilla laitteilla, eikä pelkästään Cobas® 6000-analysaattorilla, jossa on käytössä epäsuora ISE mittaussuunnitelmana. Joskus kohonneita lipemaiindeksejä voidaan kuitenkin tavata myös kirkkaissa näytteissä johtuen näytteen kohonneesta paraproteiinimäärästä tai muista häiritsevistä tekijöistä (Lippi ym. 2013). Pohdimme, voiko näytteissä olla joitakin tällaisia tekijöitä, jotka vaikuttavat myös suoralla ISE:llä tehtyihin määrittäksiin. Muutos näkyi kuitenkin suurella osalla tuloksista, minkä takia mietityttää, että voiko lähes kaikissa näytteissä olla jokin muu lipemaiindeksiä nostava tekijä.

Tuloksissa näkyvät muutokset olivat samansuuntaisia kuin kirjallisuuden mukaan lipemia aiheuttaa. Rocheen mukaan muutos olisi merkittävä vasta, kun muutosprosentti on yli kymmenen, mitä käytimme aluksi tulosten tarkastelun pohjana. Tällöin näytti, että lipemia ei aiheuta merkittävää muutosta tuloksiin. Myöhemmin keskustelimme Fimlab Laboratoriot Oy:n kemisti Päivi Holmin kanssa. Fimlab Laboratoriot Oy:n sisäisessä laaduntarkkailussa kalium- ja natriumtulosten välillä ei tulisi olla 2,5 prosenttia suurempaa eroa Cobas® 6000-analysaattorilla määritettynä (Holm 2013b). Kun tuloksia tarkastellaan tämän prosentin avulla, voidaan tulla siihen johtopäätökseen, että lipemia voi haitata tulosten kliinistä tulkintaa. Sekä kaliumin että natriumin viiteväli on kapea, jolloin prosentuaalinen muutos on melko suuri vaikka absoluuttinen muutos vaikuttaisi pieneltä.

Lipeemisiä näytteitä saapuu laboratorioon päivittäin ja laboratoriossa tehdään satoja kalium- ja natriummäärityksiä joka päivä (Holm 2013b). Vaikka opinnäytetyön tulokset ovat lähinnä suuntaa antavia, saattaa erittäin lipeemisten näytteiden kirkastaminen ultracentrifugin avulla olla suotavaa kalium- ja natriummäärityksiä tehdessä.

Ehdotamme jatkotutkimusaiheeksi opinnäytetyölle tutkimuksen toistamista laajemmalla aineistolla. Lisäksi aineisto voitaisiin valita lipemaiindeksin avulla. Tällöin aineistoon pystytään valitsemaan sellaiset näytteet, joiden lipemaiindeksi ylittää esimerkiksi arvon 100. Opinnäytetyössä aineisto valittiin pelkän silmämääräisen tarkastelun perusteella, ja joukossa oli myös näytteitä, joiden lipemaiindeksi on hyvin matala. Mikäli tässä työssä olisi ollut käytössä lipemaiindeksin rajana arvo 100, lähes puolet näytteistä olisi jäänyt pois aineistosta. Lisäksi tutkimus voitaisiin toteuttaa käyttämällä Intralipid®-emulsiota, jota voidaan lisätä kirkkaaseen näytteeseen lipemian luomiseksi. Toisaalta luonnollisen lipemian vaikutuksia on hyvä tutkia, sillä keinotekoisien lipemian vaikutukset eivät välttämättä vastaa täysin luonnollista lipemiaa. Lipin ym. (2013) mukaan valmistajien suositukset lipemiaan liittyen eivät ole yhtenäisiä, ja useimmissa tapauksissa ne kuvailevatkin lisätyn Intralipid®-emulsion vaikutuksia. Jokaisen laboratorion tulisi tarkastaa nämä suositukset lipeemisiin näytteisiin liittyen ja laboratorioissa tulisi olla ohjeet lipeemisten näytteiden tunnistamiseen, lipemian poistamiseen ja tulosten raportointiin. (Lippi ym. 2013.)

Opinnäytetyön tekeminen on kehittänyt tiedonhakutaitojamme ja lähdekritiikkiämme. Olemme oppineet tekemään tutkimusta ja arvioimaan sen avulla saatuja tuloksia. Opinnäytetyön avulla olemme saaneet hyvät valmiudet tehdä jatkossakin laajempia kirjallisia töitä. Yhteistyö prosessin aikana on sujunut hyvin sekä työelämän edustajien että koululla toimineiden ohjaajien kanssa. Työelämän kanssa työskentely helppoa, sillä he kertoivat selkeästi, mitä työltä haluavat. Keskinäinen yhteistyömme on sujunut hyvin ja työmäärä prosessin aikana on jakautunut tasaisesti meille molemmille.

Haluamme kiittää Fimlab Laboratoriot Oy:n automaation vastuualueen työntekijöitä sekä erityisesti laboratorioesimies Marja-Leena Torkkia ja kemisti Päivi Holmia.

LÄHTEET

Arneson, W. & Brickell, J. 2007. *Clinical Chemistry. A Laboratory Perspective*. United States: F.A. Davis Company.

Beckman. 1985. *Instructions for using the A-95 Rotor in the Airfuge Ultracentrifuge*. Palo Alto: Spinco Division of Beckman Instruments.

Bishop, M., Fody, E. & Schoeff, L. 2005. *Clinical Chemistry. Principles, procedures, correlations*. 5. painos. United States: Lippincott Williams & Wilkins

Bornhorst, J., Roberts, R. & Roberts, W. 2004. Assay-Specific Differences in Lipemic Interference in Native and Intralipid-Supplemented Samples. *Clinical Chemistry* 50 11/2004, 2197–2201.

Christian, G. 2004. *Analytical Chemistry*. 6. painos. United States: John Wiley & Sons Inc.

D’Orazio, P. & Meyerhoff, M. 2006. *Electrochemistry and Chemical Sensors*. Teoksessa Burtis, C., Ashwood, E. & Bruns, D. (ed.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. United States: Elsevier Saunders, 93–120.

Ernvall R., Ernvall S. & Kaukkila H. 2002. *Tilastollisia menetelmiä sosiaali- ja terveysalalle*. Helsinki: WSOY.

Fimlab Laboratoriot Oy. 2011a. Kalium. Tutkimusohjekirja. Tulostettu 9.10.2012.

Fimlab Laboratoriot Oy. 2011b. Natrium. Tutkimusohjekirja. Tulostettu 9.10.2012.

Gaw, A., Murphy, M. Cowan, R., O’Reilly, D., Steward, M. & Shepherd, J. 2004. *Clinical Biochemistry, An illustrated colour text*. 3. painos. Edinburgh: Churchill Livingstone.

Heikkilä, T. 2010. *Tilastollinen tutkimus*. 7.–8. painos. Helsinki: Edita Prima Oy.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. *Tutki ja kirjoita*. 15. painos. Hämeenlinna: Kariston Kirjapaino Oy.

Hirst, A. 2005. Ion-Selective Electrodes. Teoksessa Crocker, J. & Burnett, D. (ed.) *The Science of Laboratory Diagnosis*. United Kingdom: John Wiley & Sons, 381–394.

Holm, P. Kemisti. 2013a. Hypokloriitti-ilmoitus, lipemiatyö. Sähköpostiviesti. pavi.holm@fimlab.fi. Tulostettu 9.1.2013.

Holm, P. Kemisti. 2013b. Opinnäytetyön tuloksista, K & Na. Sähköpostiviesti. pavi.holm@fimlab.fi. Tulostettu 30.5.2013.

Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2004. *Tilastolliset menetelmät*. 1.–4. painos. Helsinki: WSOY.

- Ji, J. & Meng, Q. 2011. Evaluation of the Interference of Hemoglobin, Bilirubin, and Lipids on Roche Cobas 6000 Assays. *Clinica Chimica Acta* 412/2011, 1550–1553.
- Kallela, M. Järjestelmäasiantuntija. 2013. Cobas 6000 c501, ISE-yksikkö. Sähköpostiviesti. mia.kallela@roche.com. Tulostettu 22.5.2013.
- Kaplan, L. & Pesce, A. (ed.) 2012. *Clinical Chemistry*. 5. painos. United States: Mosby Elsevier
- Kroll, M. 2004. Evaluating Interference Caused by Lipemia, *Clinical Chemistry* 50, 11/2004, 1968-1969.
- Leino, A. 2008. Ikteerinen, lipeeminen tai hemolyyttinen näyte kemian analyyseissä. *Moodi* 1/2008, 68.
- Lippi, G., Becan-McBride, K., Behúlová, D., Bowen, R., Church, S., Delanghe, J., Grankvist, K., Kitchen, S., Nybo, M., Nauck, M., Nikolac, N., Palicka, V., Plebani, M., Sandberg, S. & Simundic, A. 2013. Preanalytical Quality Improvement: In Quality We Trust. *Clin Chem Lab Med* 51/2013, 229–241.
- Marshall, W. & Bangert, S. 2004. *Clinical Chemistry*. 5.painos. United States: Mosby Elsevier.
- MyLabOnline. 2012. Cobas 6000 analyzer series. Luettu 15.11.2012.
<https://www.mylabonline.com/products/cobas6000/c6000.php>
- Nummenmaa, L. 2009. Käyttäytymistieteiden tilastolliset menetelmät. 1. painos. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.
- Oh, M. 2007. Evaluation of Renal Function, Water, Electrolytes and Acid-Base Balance. Teoksessa McPherson, R. & Pincus, M. (ed.) *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. United States: Saunders Elsevier, 147–169.
- Radiometer Medical Aps. 2004. ABL800 FLEX Reference Manual. Bronshøj: Radiometer Copenhagen.
- Radiometer Medical Aps. 2012. ABL800 FLEX Operator's Manual. Bronshøj: Radiometer Copenhagen.
- Radiometer. 2011. ABL800 FLEX analyzer. Luettu 15.11.2012.
<http://www.radiometer.com/en/products/blood-gas/abl800-flex-analyzer>
- Roche Diagnostics. 2011. ISE indirect Na, K, CL for Gen.2. Cobas C Systems. Tulostettu 16.4.2013.
- Roche Diagnostics. n.d. Operators Manual. Cobas® 6000 analyzer series.
- Schroeder, J., Osypiw, J. & Challand, G. 2005. Dry Reagent Chemistry Techniques. Teoksessa Crocker, J. & Burnett, D. (ed.) *The Science of Laboratory Diagnosis*. United Kingdom: John Wiley & Sons, 417–427.

Scott, M., LeGrys, W. & Klutts, J. 2006. Electrolytes and Blood Gases. Teoksessa Burtis, C., Ashwood, E. & Bruns, D. (ed.) Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. United States: Elsevier Saunders, 983–1014.

Sunheimer, R., Threatte, G., Lifshitz, M. & Pincus, M. 2007. Analysis: Principles of Instrumentation. Teoksessa McPherson, R. & Pincus, M. (ed.) Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. United States: Saunders Elsevier, 31–55.

Turgeon, M. 2007. Linné & Ringsrud's Clinical Laboratory Science. 5. painos. United States: Mosby Elsevier.

Virtanen, R. 1982. Ionisektiiviset elektrodit. *Moodi* 3–4/1982, 26–50.

LIITTEET

Liite 1. Cobas® 6000-analysaattorin natriumtulokset

	Alkuperäinen näyte (mmol/l)	Kirkastettu näyte (mmol/l)	Tulosten välinen muutosprosentti	Alkuperäisen näytteen lipemia-indeksi	Kirkastetun näytteen lipemia-indeksi	Lipemia-indeksin muutos
Näyte 1	135	139	2,96	159	13	146
Näyte 2	139	147	5,76	212		
Näyte 3	137	144	5,11	202	25	177
Näyte 4	191	205	7,33	117	19	98
Näyte 5	178	188	5,62	52	11	41
Näyte 6	185	199	7,57	69	12	57
Näyte 7	171	178	4,09	40	10	30
Näyte 8	190	199	4,74	49	10	39
Näyte 9	171	183	7,02	46	20	26
Näyte 10	169	179	5,92	31	9	22
Näyte 11	167	178	6,59	26	8	18
Näyte 12	140	143	2,14	296	20	276
Näyte 13	152	157	3,29	40	9	31
Näyte 14	148	154	4,05	46	8	38
Näyte 15	159	163	2,52	52	12	40
Näyte 16	144	149	3,47	61	21	40
Näyte 17	137	143	4,38	128	20	108
Näyte 18	141	144	2,13	93	22	71
Näyte 19	138	141	2,17	116	55	61
Näyte 20	138	142	2,90	230	17	213
Näyte 21	132	132	0,00	139		
Näyte 22	127	130	2,36	310	16	294
Näyte 23	138	140	1,45	79	18	61
Näyte 24	133	141	6,02	145	12	133
Näyte 25	135	138,5	2,59	94	38	56
Näyte 26	137	146	6,57	118	10	108
Näyte 27	129	135,5	5,04	558	71	487
Näyte 28	140	147	5,00	113	9	104
Näyte 29	139	142	2,16	83	14	69

Liite 2. Cobas® 6000-analysaattorin kaliumtulokset

	Alkuperäinen näyte (mmol/l)	Kirkastettu näyte (mmol/l)	Tulosten välinen muutosprosentti	Alkuperäisen näytteen lipemia-indeksi	Kirkastetun näytteen lipemia-indeksi	Lipemia-indeksin muutos
Näyte 1	4,14	4,34	4,83	159	13	146
Näyte 2	3,69	3,95	7,05	212		
Näyte 3	3,88	4,2	8,25	202	25	177
Näyte 4	6,16	6,54	6,17	117	19	98
Näyte 5	6,04	6,47	7,12	52	11	41
Näyte 6	4,85	5,13	5,77	69	12	57
Näyte 7	4,37	4,56	4,35	40	10	30
Näyte 8	5,54	5,89	6,32	49	10	39
Näyte 9	6,26	6,71	7,19	46	20	26
Näyte 10	6,1	6,43	5,41	31	9	22
Näyte 11	5,99	6,42	7,18	26	8	18
Näyte 12	4,29	4,43	3,26	296	20	276
Näyte 13	5,25	5,42	3,24	40	9	31
Näyte 14	4,93	5,21	5,68	46	8	38
Näyte 15	4,59	4,68	1,96	52	12	40
Näyte 16	4,68	4,88	4,27	61	21	40
Näyte 17	4,01	4,05	1,00	128	20	108
Näyte 18	4,01	4,01	0,00	93	22	71
Näyte 19	4,05	4,22	4,20	116	55	61
Näyte 20	3,94	4,06	3,05	230	17	213
Näyte 21	4,21	4,42	4,99	139		
Näyte 22	3,33	3,41	2,40	310	16	294
Näyte 23	3,46	3,52	1,73	79	18	61
Näyte 24	3,93	4,28	8,91	145	12	133
Näyte 25	4,31	4,2	-2,55	94	38	56
Näyte 26	4,62	4,78	3,46	118	10	108
Näyte 27	3,58	3,82	6,70	558	71	487
Näyte 28	3,46	3,59	3,76	113	9	104
Näyte 29	4,27	4,36	2,11	83	14	69

Liite 3. ABL800 FLEX-analysaattorin natriumtulokset

	Alkuperäinen näyte (mmol/l)	Kirkastettu näyte (mmol/l)	Tulosten välinen muutosprosentti
Näyte 1	137	141	2,92
Näyte 2	147		
Näyte 3	141	144	2,13
Näyte 4	203	219	7,88
Näyte 5	180	191	6,11
Näyte 6	191	205	7,33
Näyte 7	172	179	4,07
Näyte 8	199		
Näyte 9	178		
Näyte 10			
Näyte 11			
Näyte 12	142	147	3,52
Näyte 13	153	160	4,58
Näyte 14	150	159	6,00
Näyte 15	162		
Näyte 16	149		
Näyte 17	146	150	2,74
Näyte 18	144	146	1,39
Näyte 19	144	147	2,08
Näyte 20	143	147	2,80
Näyte 21	132	143	8,33
Näyte 22	130	132	1,54
Näyte 23	139	141	1,44
Näyte 24	140	147	5,00
Näyte 25	143	148	3,50
Näyte 26	141	151	7,09
Näyte 27	148	143	-3,38
Näyte 28	144	151	4,86
Näyte 29	142	146	2,82

Liite 4. ABL800 FLEX-analysaattorin kaliumtulokset

ABL, K	Alkuperäinen näyte (mmol/l)	Kirkastettu näyte (mmol/l)	Tulosten välinen muutosprosentti
Näyte 1	4,3	4,4	2,33
Näyte 2	3,9		
Näyte 3	4,1	4,2	2,44
Näyte 4	6,4	7,1	10,94
Näyte 5	6	6,5	8,33
Näyte 6	4,9	5,3	8,16
Näyte 7	4,3	4,6	6,98
Näyte 8	5,7		
Näyte 9	6,3		
Näyte 10			
Näyte 11			
Näyte 12	4,3	4,6	6,98
Näyte 13	5,2	5,4	3,85
Näyte 14	4,9	5,2	6,12
Näyte 15	4,6		
Näyte 16	4,8		
Näyte 17	4	4,2	5,00
Näyte 18	4	4,1	2,50
Näyte 19	4,3	4,4	2,33
Näyte 20	4	4,1	2,50
Näyte 21	4,4	4,5	2,27
Näyte 22	3,3	3,4	3,03
Näyte 23	3,4	3,5	2,94
Näyte 24	4,1	4,3	4,88
Näyte 25	4,3	4,4	2,33
Näyte 26	4,6	4,9	6,52
Näyte 27	4,1		
Näyte 28	3,5	3,7	5,17
Näyte 29	4,2	4,3	2,38